

Ritmos, relojes y relojeros. Una introducción a la Cronobiología.

J. A. Madrid y M. A. Rol

Laboratorio de Cronobiología, Cronolab. Universidad de Murcia. Instituto de Investigación Biomédica-Arrixaca

El número de accidentes mortales en carretera y algunas de las grandes catástrofes ocurridas en la segunda mitad del siglo XX, son más frecuentes durante las horas de la madrugada, momentos en los que nuestro cerebro reacciona con mayor lentitud.

La sociedad actual, con su tendencia a mantener los servicios abiertos 24 horas al día y 7 días por semana, está obligando a muchas personas a trabajar en horarios para los que su biología no está preparada. Así, no debe resultar extraño que los trastornos de sueño afecten a las personas cada vez a edades más tempranas, siendo la frecuencia de consumo de hipnóticos y la automedicación extraordinariamente frecuente.

Los nacimientos, las muertes, los infartos de miocardio, los episodios de asma, son otros fenómenos rítmicos, cuya frecuencia sucede tanto a escala diaria como estacional.

La biología celular, al igual que la del organismo completo se organiza temporalmente, de acuerdo con arcaicos ciclos impuestos por la selección natural, tras millones de años de evolución en entornos rítmicos. Por tanto, no debería sorprendernos que los tratamientos médicos, incluyendo algunos tan agresivos como la quimioterapia, puedan ser más o menos eficaces a unas horas que a otras.

Recientemente, una hormona, descubierta en los años 60, la melatonina, salta a los titulares de la prensa y la televisión por sus propiedades antioxidantes y antienvjecimiento, y a pesar de que millones de personas la toman cotidianamente en todo el mundo, son poco conocidos sus efectos y sus mecanismos de acción.

¿Qué tienen en común todos estos hechos? Todos, en un momento u otro, han saltado a los titulares de los medios de comunicación y todos ellos son objeto de estudio de una nueva ciencia, la Cronobiología. Su objetivo principal es el estudio de los ritmos biológicos, acontecimientos cíclicos, repetitivos, con cadencias perfectamente predecibles. Curiosamente, a pesar del interés que despiertan este tipo de

noticias, la Cronobiología encuentra aún una cierta resistencia para ser integrada entre las disciplinas biológicas y en la medicina. Probablemente, el alejamiento de los modos de vida actuales de la naturaleza, con ambientes en los que la temperatura y la luz se controlan y se mantienen constantes en todo momento, la confusión existente entre ritmos biológicos y los biorritmos de feria, o la astrología y los horóscopos, o, a otro nivel, el éxito del principio de la homeostasis como paradigma que ha dominado la Biología del siglo XX han sido algunas de las razones que han retrasado la integración del tiempo, como una nueva dimensión, en la biología moderna. Sin duda, los próximos años verán cómo una nueva ventana se abre al conocimiento biológico, la ventana de la biología temporal, si esto ocurre, sus beneficios, sobre todo en el ámbito médico, no se harán esperar.

1. INTRODUCCIÓN : EL SISTEMA CIRCADIANO

Dada su importancia para la supervivencia de las especies, la selección natural ha favorecido que todos los organismos posean estructuras, integradas en lo que se denomina sistema circadiano, capaces de generar y sincronizar oscilaciones en las variables biológicas con un periodo de aproximadamente 24 horas. El sistema circadiano proporciona fundamentalmente dos ventajas, la primera es que permite que los organismos se anticipen a los cambios periódicos y predecibles en el ambiente, como por ejemplo la salida y la puesta del sol, la disponibilidad de comida en un determinado momento o la llegada del invierno; y la segunda es que permite la separación temporal de procesos antagónicos que ocurren en un mismo lugar del organismo, como por ejemplo la activación de enzimas lipolíticas y lipogénicas en un mismo hepatocito: si ocurre de forma simultánea su efecto sobre el metabolismo sería absolutamente ineficaz.

Aunque las bases moleculares del sistema circadiano de muchas especies comparten mecanismos comunes, existen importantes diferencias anatómicas y funcionales entre los distintos animales. En el caso de mamíferos, se compone de tres elementos principales: relojes, las vías de entrada (implicadas en la sincronización con el ambiente), y las vías de

salida que transmiten las señales temporales al resto de los efectores (figura 1).

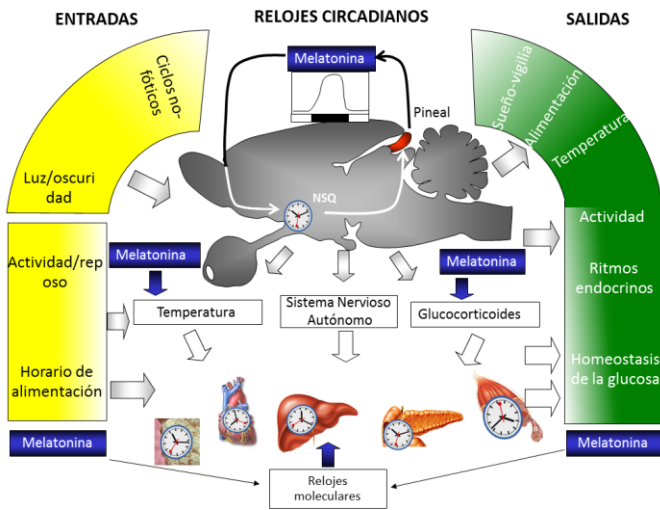


Figura 1. Organización general del sistema circadiano. Señales de entrada: los ciclos ambientales pueden sincronizar la actividad de los relojes circadianos. Relojes circadianos: la maquinaria del reloj está compuesta por un marcapasos central, localizado en el núcleo supraquiasmático de hipotálamo (NSQ) y por osciladores periféricos, localizados en tejidos y órganos fuera del sistema nervioso central. El NSQ envía señales sincronizadoras a los osciladores periféricos mediante el sistema nervioso autónomo, señales físicas como el ritmo de temperatura y señales humORALES como el cortisol y la melatonina. Salidas: los relojes circadianos son responsables de los ritmos observados en la mayoría de las variables comportamentales, fisiológicas y bioquímicas del organismo. Modificado de Hardeland, Madrid, Tan y Reiter. J. Pineal Research 2012; 52:139-166.

1.1.-Relojes circadianos.

En mamíferos, el reloj o marcapasos principal se localiza en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (NSQ), se trata de dos pequeños núcleos compuestos unos pocos miles de neuronas, situados a ambos lados del tercer ventrículo y en posición dorsal al quiasma óptico. Con su actividad rítmica el NSQ es responsable de la mayoría de los ritmos de mamíferos, ya que si se lesionan se genera arritmicidad en la mayoría de las variables, mientras que el trasplante del NSQ de un donante a un receptor con su núcleo lesionado le permite recuperar la ritmicidad.

Además del reloj principal, el sistema circadiano está compuesto de numerosos osciladores periféricos, ya sea en el propio cerebro (como por ejemplo el córtex cerebral) o en otros órganos o tejidos (hígado, riñón, tejido adiposo...) que aunque pueden generar oscilaciones de forma autónoma durante varios días, se encuentran bajo el control del NSQ (figura 1).

1.2.- Vías de Entrada.

Gracias a la actuación del NSQ, aparecen los ritmos circadianos. Sin embargo, para que los ritmos estén sincronizados con los ciclos ambientales, el reloj debe ponerse en hora de forma periódica mediante sincronizadores o zeitgebers (palabra alemana que significa dador de tiempo), que oscilan rítmicamente y que en conjunto constituyen las vías de entrada. El más importante de estos sincronizadores es el ciclo luz-oscuridad, aunque el horario de comida, el ejercicio programado, el patrón de sueño o los contactos sociales, estos últimos de forma muy débil, también pueden actuar como tales.

La vía de entrada principal de la información fótica al NSQ es el tracto retinohipotalámico (TRH), formado por los axones de una subpoblación de células ganglionares de la retina y que no intervienen en la formación consciente de las imágenes. Estas células fotosensibles contienen un fotopigmento, la melanopsina, que no está presente en conos y bastones, y permiten explicar por que las ratas ciegas mantienen sus ritmos sincronizados con el ciclo luz-oscuridad (figura 1).

1.3.- Vías de Salida.

Las vías de salida del NSQ transmiten información a las zonas del cerebro que intervienen en la regulación de los patrones de comportamiento, sueño-vigilia y de temperatura corporal, a los centros neuroendocrinos y a los órganos periféricos. Para ello, el NSQ envía proyecciones nerviosas, mediadores humORALES, como la melatonina o el cortisol, y señales físicas con el propio ritmo de temperatura central.

El mediador mejor caracterizado es la melatonina, cuya síntesis está regulada por el NSQ, mediante una vía multisináptica que llega hasta la glándula pineal, tras hacer relevo en el ganglio cervical superior. Esta hormona está implicada en la regulación del sueño y en la ritmicidad circadiana y circanual y su síntesis está sujeta a una regulación doble, por un lado responde a la estimulación noradrenérgica del NSQ y por otro a la acción inhibitoria directa de la luz. Así, su producción presenta un marcado ritmo circadiano con bajos niveles durante el día y máximos durante la noche independientemente del carácter diurno o nocturno del animal. Por ello, también se la conoce como la "oscuridad química". La gran estabilidad de su ciclo de secreción y el hecho de que se produzca durante la noche significa que los organismo la utilizan como un reloj diario que les informa de la llegada de la noche y como un calendario que se indica en la estación en la que se encuentran (figura 1).

2. EL RELOJ MOLECULAR

Tanto en el NSQ como en los osciladores periféricos, cada célula se comporta como un oscilador circadiano autónomo. A escala celular, los osciladores circadianos son el resultado de lazos de retroalimentación positivos y negativos en los que los productos de la expresión de determinados genes inhiben su propia transcripción, generando una ritmicidad de aproximadamente 24h (figura 2). Los principales componentes que se han identificado en el reloj de mamíferos son: los elementos positivos, los genes Clock y Bmal1, y los genes (Per1, Per2 y Per3) y los criptocromos (Cry1 y Cry2) como los elementos negativos.

Las proteínas CLOCK y BMAL1 se heterodimerizan en el citosol y se traslocan al núcleo, donde activan la transcripción de determinados genes diana (Per, Cry, Rev-Erb α) y de genes controlados por el reloj (clock controlled genes o CCG, incluyendo reguladores clave del ciclo celular y el metabolismo). Los CCG constituyen entre el 10% y el 30% del genoma dependiendo del tejido. El bucle de retroalimentación negativo implica al heterodímero PER:CRY que se trasloca al núcleo reprimiendo su propia transcripción al desacoplar CLOCK y BMAL1 del promotor. Al mismo tiempo, la proteína REV-ERB α suprime la transcripción de Bmal1 al unirse a los elementos que conforman la respuesta a Rev-erb α /ROR presentes en su promotor. En consecuencia, los niveles del RNA de Bmal1 disminuyen, mientras que los de Per y Cry aumentan. Cuando los heterodímeros PER:CRY inhiben su transcripción a nivel nuclear (vía CLOCK-BMAL1), también inhiben la transcripción de Rev-erb α , lo que a su vez activa la de Bmal1.

La ritmicidad cercana a las 24 horas del reloj molecular deriva también de modificaciones post-transduccionales que afectan a la estabilidad y a la translocación de los genes reloj al núcleo. En este sentido, la caseína quinasa 1 epsilon (CK1 ϵ) y la caseína quinasa 1 delta (CK1 δ) son los factores críticos que modulan el funcionamiento del reloj. La importancia de estas modificaciones post-transduccionales de los componentes del reloj se ha puesto de manifiesto gracias a los estudios que muestran que las mutaciones en CK1 ϵ afectan a la periodicidad circadiana. Así, CK1 ϵ fosforila a la proteína PER, de tal forma que ya no está disponible para formar dímeros, alargando el periodo del ciclo circadiano. Cuando la mutación de este gen reduce la fosforilación, las proteínas PER se internalizan en el núcleo más rápidamente acortando el ciclo. En humanos, se ha asociado el síndrome de avance de fase del sueño con una mutación en el gen Per2, lo que genera una proteína mutada que CK1 ϵ no puede fosforilar de forma eficaz, llevando a una acumulación más rápida de PER2 y a un ciclo más corto. En el caso del síndrome de retraso de fase, se ha encontrado una correlación con un polimorfismo del gen Per3, aunque el mecanismo por el que se genera el retraso

aún no se conoce. El cronotipo matutino o vespertino también tiene una base genética, y se ha sugerido que un polimorfismo del gen Clock podría estar implicado.

Además de sus funciones en la maquinaria del reloj, estos genes también ejercen efectos no relacionados con la cronobiología. Así polimorfismos del gen Clock se asocian a obesidad, el gen Bmal1 a envejecimiento acelerado y el gen Per2 a susceptibilidad de sufrir cáncer, entre otras muchas asociaciones

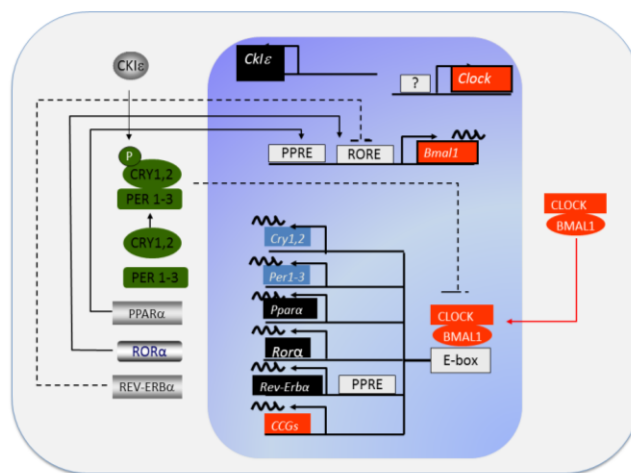


Figura 2. Organización del reloj molecular circadiano. La maquinaria básica del oscilador celular está compuesta por elementos positivos (CLOCK y BMAL1) y por elementos negativos (PER1–3 and CRY1, 2). Los dímeros CLOCK–BMAL1, tras su unión a secuencias de ADN E-box favorecen la expresión de varios genes reloj Cry1-2, Per1-3, Rev-Erb α y de numerosos genes controlados por el reloj (CCGs). Las proteínas PERs y CRYs dimerizan en el citosol y penetran en el núcleo donde se unen a CLOCK–BMAL1 y los desacoplan de E-box, inhibiendo así su propia transcripción. Cuando los niveles de PERs y de CRYs declinan CLOCK–BMAL1 activa de Nuevo su transcripción. Un bucle de retroalimentación secundario es el generado por el efecto inhibitor de REV-ERB α sobre la transcripción de Bmal1. El reloj molecular controla la activación rítmica de numerosos genes CCGs que no forman parte de la maquinaria del reloj, pero son responsables de la generación de un orden temporal interno en la fisiología, bioquímica y comportamiento del organismo. Modificado de Garaulet M & Madrid JA. 2009. Current Opinion in Lipidology, 20:127-134)

3. ALGUNOS CONCEPTOS BÁSICOS EN CRONOBIOLOGÍA.

Cronobiología (del griego Kronos= tiempo; bios=vida and logos=ciencia) es la disciplina científica que estudia los cambios rítmicos (ritmos biológicos) en los distintos niveles de organización de los organismos. Un ritmo biológico es la recurrencia de un fenómeno biológico en intervalos regulares (35). Entre los parámetros que caracterizan un ritmo biológico los más utilizados son, el periodo, que es el tiempo que se tarda en completar la oscilación, y su inversa, la frecuencia, que se corresponde con el número de ciclos por unidad de tiempo. En Cronobiología, la unidad de frecuencia

más utilizada es el día. En este sentido, los ritmos se pueden clasificar como circadianos, con una frecuencia cercana al día (entre >20 y <28 h), ultradianos, con una frecuencia superior a un ciclo por día (<20 h) e infradianos, que son aquellos con una frecuencia menor de un ciclo por día (>28 h). Entre estos últimos se encuentran los ritmos circalunares (≈ 28 días), circanuales (365 días) y los circaseptanos (7 años).

Una de las principales propiedades de los ritmos biológicos es que persisten bajo condiciones ambientales constantes (pero entran en curso libre o free running), es decir, tienen un carácter endógeno. De todos modos, para que un ritmo mantenga una relación de fase determinada con el ambiente, el sistema circadiano tiene que ajustarse a esos ciclos ambientales, debe, por tanto, poseer capacidad de sincronización, que automáticamente permite corregir los retrasos o adelantos producidos en el normal funcionamiento del reloj. Para que un factor sea considerado un sincronizador o zeitgeber (dador de tiempo en alemán), su periodo debe ser muy estable, por lo que no resulta sorprendente que el principal sincronizador sea el ciclo luz-oscuridad. Una tercera propiedad de los ritmos biológicos es que el reloj circadiano muestra compensación de temperatura, es decir, no se ve afectado de forma significativa por cambios en la temperatura ambiental.

4. MONITORIZACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA CIRCADIANO.

Dada la importancia del sistema circadiano en el mantenimiento de la salud, es necesario desarrollar técnicas que permitan su evaluación objetiva, de igual forma que existen para evaluar la función respiratoria o cardiovascular. El principal desafío, que implica múltiples medidas y que preferiblemente no interfiera con las rutinas diarias del sujeto. Por ello, lo más conveniente es la medida de las salidas del reloj, los denominados ritmos circadianos marcadores, que serían como las manecillas del reloj. Entre estos ritmos, la temperatura corporal central, la actividad motora, la secreción de melatonina o cortisol y la expresión de los genes reloj son las que más comúnmente se utilizan, y que por ello se desarrollan en un artículo específico de este monográfico.

Además es estas técnicas, también existen cuestionarios autocompletados que evalúan las preferencias matutina-vespertina, la somnolencia o la calidad del sueño.

5. ANÁLISIS DE LOS RITMOS CIRCADIANOS.

El análisis de los datos rítmicos requiere su propia metodología que difiere de la estadística convencional. Para este propósito se utilizan fundamentalmente dos procedimientos: uno basado en el ajuste a una función sinusoidal, (el método de cosinor) y en otro en base a un

análisis no paramétrico.

El análisis de Cosinor es un procedimiento matemático que se basa en el ajuste por mínimos cuadrados de los datos originales a una función coseno. Los principales parámetros que se definen son: MESOR (Midline Estimating Statistic of Rhythm), amplitud y acrofase acrophase. Puesto que se puede aplicar a datos no equidistantes, el Mesor, o valor medio del ritmo ajustado a la sinusoide, no siempre coincide con la media aritmética de los datos. La amplitud es la diferencia entre el Mesor y el valor máximo o mínimo de la función coseno. La acrofase se corresponde con el momento en el que se produce el valor máximo de la función. Puesto que el ritmo de actividad descanso en humanos presenta una distribución asimétrica en las 24 horas del día (aproximadamente 8 de descanso frente a 16 horas de actividad) y su forma se asemeja más a una onda cuadrada que a una sinusoide, el método cosinor sólo proporciona una descripción general y un tanto somera del ritmo. No obstante, es un método relativamente fiable que permite obtener más que suficiente información cuantitativa del ritmo (figura 3).

Pero para conseguir una estimación más precisa de los parámetros rítmicos de las funciones fisiológicas que no presentan una onda simétrica, se está utilizando cada vez más el análisis no paramétrico. Aunque inicialmente ese desarrolló para los datos de actimetría, también resulta útil para otras variables biológicas. Los parámetros que se obtienen incluyen: la estabilidad interdiaria (interdaily stability o IS), la variabilidad intradiaria (intradaily variability o IV), las cinco horas consecutivas de menor, (L5), o de mayor actividad, (M10), el punto central de L5 y M10, la amplitud (AMP) y la amplitud relativa (RA). IS cuantifica la regularidad del ritmo, es decir, el grado de similitud del patrón entre los diferentes días, y su valor puede encontrarse entre 0 y 1 (un valor típico para actimetría para un adulto sano es de aproximadamente 0.6; IV determina la fragmentación del ritmo y su valor está comprendido entre 0 y 2, (para un sujeto sano suele encontrarse por debajo de 1); L5 indica la media de los valores de las 5 horas consecutivas de menor actividad en un ciclo de 24 horas; M10 es la media de actividad de las 10 horas consecutivas más activas en un ciclo de 24 horas; el punto central de L5 y M10 indica de forma fiable la fase del ritmo, del mismo modo que lo hace la acrofase y el nadir del método cosinor; AMP es la diferencia entre M10 y L5, mientras que RA se calcula dividiendo AMP por la suma de L5 y M10, y su valor se haya comprendido entre 0 y 1, de tal forma que cuanto más cercano a la unidad mayor es la amplitud del ritmo (figura 3).

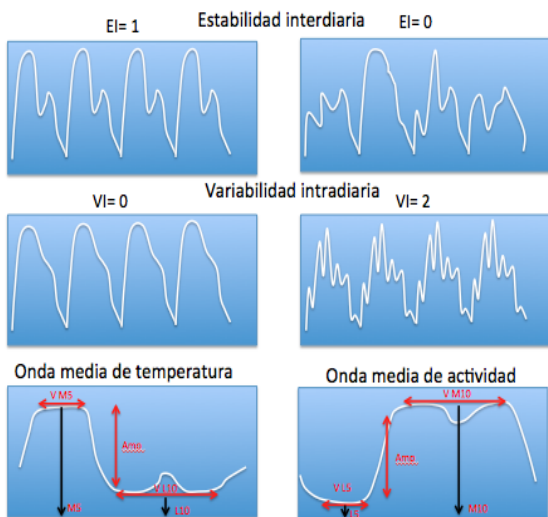
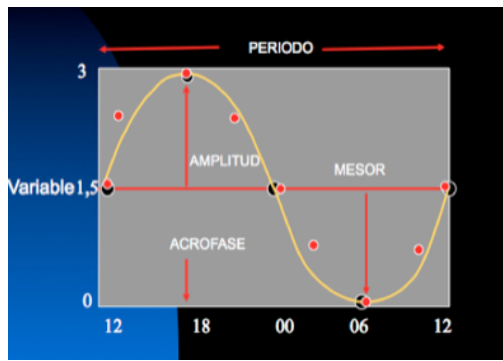


Figura 3. Procedimientos para la monitorización, análisis e intervención de los ritmos circadianos. En aquellas variables cuya oscilación se aproxima a una senoide (gráfica superior), se suele utilizar el método del cosinor. Consiste en el ajuste de una función coseno a los datos originales. A partir de la función se determinan el periodo o tiempo que tarda una oscilación completa; el mesor o media del ritmo; la amplitud o diferencia entre el máximo o mínimo valor de la función y el mesor, y la acrophase, o localización en la escala de tiempo del máximo valor de la función.

En los casos en los que la variable se aproxima más a una onda cuadrada o es asimétrica (graficas inferiores), se suelen emplear métodos no paramétricos en los que se determina su estabilidad interdiaria (EI) o regularidad del ritmo; la variabilidad intradiaria (VI) o fragmentación del ritmo; VM5 o VM10, que la media de las cinco horas (o diez horas) consecutivas de máximos valores; VL10 o VL5, que es la media de las 10 horas (o cinco horas) consecutivas de mínimos valores; y la amplitud relativa (AR) que cuantifica la diferencia entre los valores VL y VM. El equivalente a la acrophase en este caso sería el valor central de M5 o L5.

6.- EVALUACIÓN E INTERVENCIÓN EN EL SISTEMA CIRCADIANO HUMANO.

Está claro que para que la Cronobiología se implante como disciplina médica, necesitamos técnicas que permitan el análisis objetivo de los ritmos biológicos humanos para poderlos utilizar como marcadores de patologías y envejecimiento y para poder intervenir corrigiendo algunas

de sus alteraciones. Para ello, el Laboratorio de Cronobiología de la Universidad de Murcia ha desarrollado un conjunto de dispositivos, técnicas y procedimientos que facilitan esta tarea y constituyen una de las señas de identidad de este grupo (figura 4).

Para el registro de los ritmos en humanos utilizamos el dispositivo Kronowise que permite registrar de forma cómoda los ritmos de temperatura, actividad, posición, luz y sueño en los pacientes. En el caso de sujetos que no puedan ser monitorizados de este modo (recién nacidos, pacientes críticos, encamados...) disponemos de un dispositivo (Kronobed) que registra información a partir de sensores colocados en el colchón y sensores ambientales. Los datos generados son subidos a la plataforma Kronowizard de la Universidad de Murcia que de forma automática, o supervisada por un experto, genera un informe Cronobiológico completo de la persona. Con esta información, el médico puede mejorar su diagnóstico de patologías de sueño y determinar los cambios a introducir en los hábitos de vida de la persona. Además, con el fin de mejorar la adherencia a los tratamientos, hemos desarrollado una aplicación para dispositivos electrónicos portátiles, Kronohelper, que de forma interactiva aconseja acerca de los cambios en hábitos de vida que contribuyen a potenciar el funcionamiento del reloj biológico del paciente.

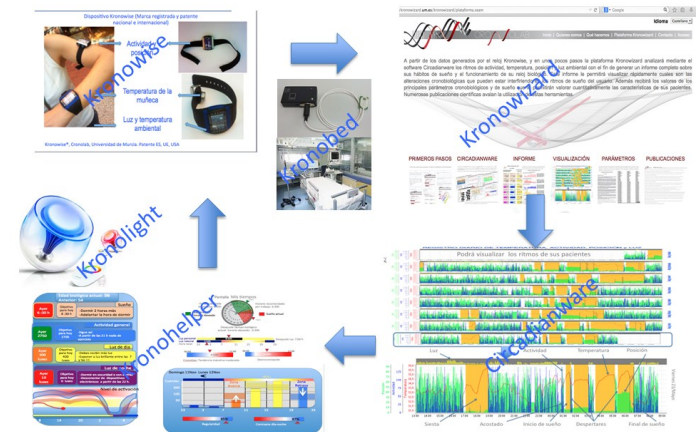


Figura 4. Dispositivos desarrollados por el Laboratorio de Cronobiología de la Universidad de Murcia para la monitorización circadiana ambulatoria de sueño y ritmos circadianos. Se basa en: a) unos equipos para el registro de los ritmos (reloj Kronowise y dispositivo para sensorización de la cama Kronobed); b) plataforma on-line para el análisis de ritmos circadianos y sueño y generación de informes (Kronowizard.um.es); c) aplicación móvil para la mejora del sueño a partir de cambios en hábitos de vida (Kronohelper) y dispositivo de iluminación circadiana con capacidad para modificar el espectro y la intensidad en función de la hora del día y de los ritmos del sujeto (Kronolight).

Dado que uno de los sincronizadores más importantes del sistema circadiano es la luz, nuestro laboratorio también

ha desarrollado un sistema de iluminación circadiano Kronoligh que puede ser utilizado como luz de día o luz nocturna con el fin de sincronizar el reloj biológico de sujetos con problemas cronobiológicos como pueden ser individuos con retrasos o avances de fase o pacientes de UCIs.

7.- UN RECORRIDO POR LA CRONOBIOLOGÍA A TRAVÉS DE LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS EN ESTE NÚMERO DE EUBACTERIA.

La Cronobiología surge en Murcia a partir de la incorporación en 1992 de Juan Antonio Madrid, quien desde 1980, primero en la Universidad de Granada y más tarde en la de Extremadura, comenzó a desarrollar trabajos cronobiológicos sobre ritmos en secreciones digestivas y comportamiento alimentario. En el Departamento de Fisiología de la Universidad de Murcia los estudios Cronobiológicos encuentran un terreno abonado gracias a la implicación de Salvador Zamora, quien con su visión de futuro, comprendió inmediatamente las posibilidades de esta nueva disciplina. Los primeros pasos de esta ciencia en la Universidad de Murcia, pronto se centraron en la Cronobiología de peces, si bien en paralelo se desarrollaron estudios en roedores, especialmente a partir de la incorporación de un roedor diurno, el *Octodon degus*. Los trabajos con este roedor constituyen a partir de este momento una de nuestras señas de identidad, siendo Pedro Lax (actualmente profesor de la Universidad de Alicante) y Rosa García Allegue los primeros doctorandos que lo estudiaron.

Los ritmos de alimentación en peces como la lubina y el carpín situaron la Cronobiología que se hacía en Murcia en primera línea internacional. El empuje de Francisco Javier Sánchez, el primer doctor de esta nueva línea, formado como post doc en Tokio bajo la dirección de Mitsuo Tabata, y quien lidera en la actualidad esta línea (ver artículo: *Cronobiología de peces y sus aplicaciones en acuicultura*) junto con la experiencia de Salvador Zamora, Javier Martínez, Jorge de Costa y Pilar Mendiola dieron lugar a los primeros trabajos de Mezian Azzaydi, Ana Aranda, José Fernando López, Luisa Vera, Veracruz Rubio y Pedro Almada. Para ello, el apoyo de Culmarex y de Benjamín García del Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar fue decisivo. Estos trabajos nos enseñaron que la lubina era capaz de invertir su ritmo de alimentación estacionalmente (diurna en verano y nocturna en invierno), que podía autoalimentarse en jaulas flotantes con una gran eficacia y que, incluso, seleccionaba una dieta completa a partir de macronutrientes puros.

La llegada al Laboratorio de M^a Ángeles Rol procedente de la Complutense de Madrid, con su capacidad organizativa y su dominio de las técnicas de análisis endocrinológico supuso la incorporación de los estudios de envejecimiento a este Laboratorio. La Cronobiología del

Envejecimiento utilizando, tanto modelos de peces como de roedores y humanos, y las sucesivas ediciones de los cursos “El reloj Biológico del Envejecimiento” de la Universidad del Mar, arrancan con su incorporación. De esta época son las largas charlas con Pablo Vivanco para entender por qué los degus mostraban los imprevisibles cambios de fase diurno-nocturno. Degus heredados por Beatriz Baño, hoy en la Universidad de Manchester, quien llegó a profundizar en el cerebro del degu más que nadie anteriormente; sin embargo, a pesar de sus esfuerzos los degus siguen ocultando parte de sus respuestas.

Nuestros alumnos de Biología y de Medicina fueron también protagonistas de esta historia. En 2004 los registros de temperatura de la piel mediante los iButtons revelaron que los ritmos y el sueño también podían estudiarse en las personas. A la temperatura le siguieron los actímetros y los luxómetros y la integración de tres señales: Temperatura, Actividad y Posición (TAP), lo que permitió a Elisabet Ortiz (hoy en el Hospital Paul Brouse de París) detectar el sueño de forma ambulatoria sin molestias para el paciente y aplicar dicha técnica a sus estudios en pacientes con cáncer (ver artículo: *Ritmos biológicos, cáncer y cronoterapia*). Los miles de datos generados por cada sensor nos habrían saturado de no ser por la habilidad de Antonio Martínez para su procesamiento y abstracción. Sus trabajos nos han enseñado la importancia del contraste, regularidad y sincronización para retrasar el envejecimiento (ver artículo 5: *La hora de nuestro cuerpo. Monitorización Ambulatoria Circadiana*). Para llegar a estas conclusiones nos ayudó mucho un vertebrado de ciclo de vida extremadamente corto, el pez del género *Nothobranchius*. Este pez y la paciencia y tenacidad de Alejandro Lucas y sus directores Jorge de Costa y Pilar Mendiola, han escrito unas interesantes historias sobre la Cronobiología del Envejecimiento (ver artículo: *El reloj biológico marcapasos de la vida, cronobiología y envejecimiento*). Los degus y los peces nos han enseñado la importancia de los turnos de trabajo alterando los ritmos biológicos y generando envejecimiento prematuro Pero han sido cientos de enfermeras de varios hospitales de España las que nos han aportado los datos que necesitábamos para entender cuáles son los turnos más cronodisruptores y cómo podemos mejorar su diseño para minimizar su impacto en el reloj biológico. El trabajo que está realizando M^a José Martínez junto con Mayte Moreno del ISCiii constituye un hito en los trabajos cronobiológicos por la gran cantidad de datos que se manejan y el elevado número de personas implicadas (ver artículo: *Cronodisrupción y trabajo a turnos*). Entender las alteraciones cronobiológicas del sueño en nuestros pacientes ha sido posible gracias al trabajo que está llevando a cabo Beatriz Rodríguez (Ver capítulo: *¿Cuándo, cuánto y cómo dormir?*) con el equipo de la Clínica del Sueño Estivill (Eduard y Carla). Equipo que ha sido pionero en la incorporación de estas nuevas técnicas de registro

ambulatorio en el diagnóstico de trastornos de sueño.

Un esfuerzo especial es el que ha dedicado Alfonso Blázquez a los estudios de monitorización ambulatoria de presión arterial y a las polisomnografías desarrolladas en medio de su trabajo hospitalario (ver artículo : *La hora de nuestro cuerpo. Monitorización Ambulatoria Circadiana*).

A menudo, las nuevas técnicas son las que abren las puertas a nuevos descubrimientos. Esto ocurrió con el desarrollo de los equipos de monitorización circadiana ambulatoria implementados en un reloj de pulsera (Kronowise), pero también con la incorporación de la inteligencia artificial, de la mano de Manuel Campos a nuestro Laboratorio. Su programa Circadianware, pionero en el análisis de ritmos biológicos en humanos, la plataforma Kronowizard de análisis on-line de ritmos y el entrenador de hábitos Kronohelper han sido algunas de sus colaboraciones con nuestro Laboratorio.

El hecho de que la Cronobiología abra la ventana temporal a la vida hace que sus aplicaciones estén en continuo crecimiento. La actitud inquieta de Marta Garaulet, unida a las colaboraciones de investigadores del Hospital Virgen de la Arrixaca y de las Universidades de Tuffs y de Harvard, fueron las que permitieron que, de nuevo, se produjese un nuevo avance en las aplicaciones de la Cronobiología en la Universidad de Murcia. La hora del día a la que comemos, los polimorfismos de genes reloj y los ritmos de las hormonas metabólicamente activas importan a la hora de explicar las alteraciones metabólicas en personas obesas y de entender por qué unos pierden peso mientras que otros se resisten a hacerlo. Estas ideas en las que Purificación Gómez, Cristina Bandín, Jesús López y Beatriz Montoya han trabajado se plasman en el artículo: *Cronobiología y obesidad*. Otro ejemplo de transversalidad, en la que se vuelven a unir el Hospital Virgen de la Arrixaca, en este caso la Pediatría liderada por Manuel Solís, con la Cronobiología, es la línea de ritmos en recién nacidos dirigida por Elvira Larqué con la colaboración de Matilde Zornoza y Silvia Fuentes. Los recién nacidos muestran sus ritmos a las pocas semanas de vida (ver artículo: *La diabetes durante el embarazo puede afectar a la maduración de los ritmos circadianos de sus hijos*) y su velocidad de maduración puede ser un indicador de neurodesarrollo.

Arrojar luz a los problemas cronobiológicos, en sentido figurado, pero también en sentido real ha sido una constante en los más de 30 años que llevamos estudiando los relojes biológicos. Mirando directamente a la luz es como se está desarrollando nuestra nueva línea de trabajo. La búsqueda de una luz invisible para el sistema circadiano, que nos permita

ver durante la noche pero sin afectar a nuestros ritmos biológicos es el objetivo de las interesantes historias que está escribiendo M^a Ángeles Bonmatí y al que se ha unido recientemente Raquel Argüelles (ver artículo: *La luz en el sistema circadiano y Melatonina, la hormona de la noche*).

Esta pequeña historia, a la que aún le faltan muchos capítulos, como los que se acaban de abrir con la incorporación de Rosa Sánchez (Narcolepsia) y de Carlos J. Madrid (Enfermedad de Parkinson), es la que se está escribiendo por las muchas personas que han dado lo mejor de sí mismas a este Laboratorio de Cronobiología.

7. RESUMEN

1.- En respuesta a la selección natural, los organismos han desarrollado relojes biológicos, lo que proporciona a los organismos dos ventajas competitivas: i) anticiparse a los cambios periódicos en el ambiente, y ii) generar un orden interno en los procesos fisiológicos, bioquímicos y comportamentales.

2.- Los estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado la asociación existente entre la disrupción del sistema circadiano y algunas de las patologías frecuentes en los países desarrollados, tales como cáncer, obesidad, síndrome metabólico, insomnio, alteraciones cognitivas y afectivas y envejecimiento prematuro.

3.- El papel clave que juega el sistema circadiano en mantener la salud subraya la importancia de la puesta a punto de técnicas que permitan evaluar su funcionamiento de forma objetiva. No obstante, la estandarización del registro ambulatorio basado en sensores vestibles, todavía constituye un desafío para el desarrollo de la cronobiología clínica.

REFERENCIAS

Azevedo CVM, Sousa I, Ketema P, McLeish MY, Mondéjar MT, Madrid JA, et al. Teaching chronobiology and sleep habits in school and university. *Mind Brain Educ* 2008; 2:34-47.

Blazquez A, Martinez-Nicolas A, Salazar FJ, Rol MA, Madrid JA. Wrist skin temperature, motor activity, and body position as determinants of the circadian pattern of blood pressure. *Chronobiol Int* 2012; 29:747-56.

Cardinali DP, Furio AM, Brusco LI. The use of chronobiotics in the resynchronization of the sleep/wake cycle. Therapeutic application in the early phases of Alzheimer's disease. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov* 2011; 5:80-90.

Deschenes CL, McCurry SM. Current treatments for sleep disturbances in individuals with dementia. *Curr Psychiatry Rep* 2009; 11:20-6.

Foster RG, Peirson SN, Wulff K, Winnebeck E, Vetter C, Roenneberg T. Sleep and circadian rhythm disruption in social jetlag and mental illness. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013; 119:325-46.

Garaulet M, Madrid JA. Chronobiology, genetics and metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol* 2009; 20:127-34.

Hardeland R, Madrid JA, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling. *J Pineal Res* 2012; 52:139-66.

Krauchi K, Deboer T. The interrelationship between sleep regulation and thermoregulation. *Front Biosci* 2010; 15:604-25.

Kohyama J. Neurochemical and neuropharmacological aspects of circadian disruptions: an introduction to asynchronization. *Curr Neuropharmacol* 2011; 9:330-41.

Lack LC, Gradisar M, Van Someren EJ, Wright HR, Lushington K. The relationship between insomnia and body temperatures. *Sleep Med Rev* 2008;12: 307-17.

Ortiz-Tudela E, Martinez-Nicolas A, Campos M, Rol MA, Madrid JA. A new integrated variable based on thermometry, actimetry and body position (TAP) to evaluate circadian system status in humans. *PLoS Comput Biol* 2010; 6(11):e1000996.

Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, Erren TC, Piekarski C, Tamura H, Manchester LC. Light at night, chronodisruption, melatonin suppression, and cancer risk: a review. *Crit Rev Oncog* 2007; 13:303-28.

Reiter RJ, Tan DX, Madrid JA, Erren TC. When the circadian clock becomes a ticking time bomb. *Chronobiol Int* 2012; 29:1286-7.

Sack RL, Auckley D, Auger RR, Carskadon MA, Wright KP Jr, Vitiello MV, et al.; American Academy of Sleep Medicine. Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders. An American Academy of Sleep Medicine review. *Sleep* 2007; 30:1460-83.

Sack RL, Auckley D, Auger RR, Carskadon MA, Wright KP Jr, Vitiello MV, et al.; American Academy of Sleep Medicine. Circadian rhythm sleep disorders: part II, advanced sleep phase disorder, delayed sleep phase disorder, free-running disorder, and irregular sleep-wake rhythm. An American Academy of Sleep Medicine review. *Sleep* 2007; 30:1484-501.

Sarabia JA, Rol MA, Mendiola P, Madrid JA. Circadian rhythm of wrist temperature in normal-living subjects A candidate of new index of the circadian system. *Physiol Behav* 2008; 95:570-80.

Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Nedergaard M, et al. Sleep drives metabolite clearance from adult brain. *Science* 2013; 342:373-7.