

RITMICIDAD EN LA FUNCIÓN ANIMAL.

Dra. Ester Fernández Gimeno
Unitat de Fisiologia Veterinària
Universitat Autònoma de Barcelona

HOMEOSTASIS Y CICLOS BIOLÓGICOS.

La vida en la Tierra se ha desarrollado y ha evolucionado en un entorno caracterizado por la sucesión cíclica de determinados eventos. Esta sucesión cíclica es consecuencia de los principales movimientos de la Tierra: el de rotación sobre su eje, que determina la secuencia día/noche, y el de translación alrededor del sol que determina las estaciones del año. En los seres vivos también se producen una serie de variaciones cíclicas en las funciones orgánicas. Entre ellas, encontramos algunas que *aparentemente* responden a variaciones del entorno, como por ejemplo el ritmo sueño/vigilia en humanos, o el ciclo de hibernación en algunas especies animales.

Uno de los conceptos básicos que fundamentan la Fisiología es el concepto de homeostasis, entendido clásicamente como *el mantenimiento de la constancia del medio interno*. La conciliación del concepto de homeostasis con la existencia de fenómenos cíclicos intrínsecos a los seres vivos ha dado lugar al desarrollo de la Cronobiología, ciencia que describe y analiza los fenómenos cíclicos de los seres vivos y su regulación.

Cuando estudiamos los sistemas de control definimos una serie de conceptos fundamentales: Llamamos nivel de referencia al valor con respecto al cual se regulan los parámetros funcionales. Por ejemplo, el descenso de la temperatura corporal activa una serie de mecanismos, lo que da como resultado un incremento en la producción de calor. Esta producción de calor puede, eventualmente ser excesiva, lo que activa una serie de mecanismos de pérdida de calor, de forma que finalmente el organismo vuelve a alcanzar la temperatura inicial, es decir el nivel de referencia. En todo sistema de control existe pues un nivel de referencia y los valores que a lo largo del tiempo presenta la variable biológica fluctúan alrededor del mismo. La amplitud de esta fluctuación será tanto menor cuanto más perfeccionado sea este sistema de control. Las fluctuaciones en el valor de la variable son en principio fortuitas, en función de las eventualidades que se produzcan en el entorno.

Cuando nos referimos a *cambios cíclicos* en las funciones orgánicas no nos referimos a este tipo de fluctuaciones sino a *cambios definidos en el nivel de referencia de una determinada variable biológica*. Así, un animal que vive en un medio con fuertes diferencias de temperatura entre el invierno y el verano puede adaptar su nivel de referencia de temperatura a valores distintos en distintas épocas del año, lo que le reportará un importante ahorro de energía y por ello, unas mayores expectativas de supervivencia. Este mecanismo permite a animales como la marmota o el murciélago subsistir en las estaciones frías en las que la disponibilidad de alimentos es baja, manteniendo una temperatura corporal muy por debajo de los 37°C, y por lo tanto un gasto de energía mucho menor.

En la actualidad se han descrito oscilaciones cíclicas para numerosas variable biológicas, tanto en organismos unicelulares como en vegetales y animales superiores. Estas oscilaciones se mantienen en ausencia de fluctuaciones en el entorno (condiciones ambientales constantes), lo que indica que su programación depende de un *reloj endógeno*.

Desde el punto de vista evolutivo, parece lógico pensar que si las oscilaciones que presentan las funciones de un organismo vivo se acomodan a las variaciones del medio externo, el resultado será una mejor adaptación a la dichas condiciones. Desde el punto de vista termodinámico, un sistema oscilante gasta menos energía que un sistema estable. La termodinámica muestra también que cuando es necesario satisfacer dos o más requerimientos excluyentes, se alcanzan mayores rendimientos respondiendo alternativamente a cada uno de ellos que situándose en una situación intermedia de compromiso. Por ejemplo, un animal que presenta muda de pelo en la estación cálida, estaría mucho peor adaptado al medio si en vez de cambiar la densidad de su pelaje mantuviese una densidad

intermedia a lo largo de todo el año.

Así pues podemos aproximarnos al estudio de la fisiología desde una óptica que contemple la ritmicidad en las funciones animales como un mecanismo que mejora de forma sustantiva la adaptación al medio.

TIPOS DE RITMOS BIOLÓGICOS Y PARAMETROS QUE LOS CARACTERIZAN.

Un ritmo tiene una serie de parámetros que lo caracterizan y permiten su expresión como función matemática de tipo cosinusoidal.

Mesor: es la media ponderada de los valores que va tomando u parámetro a lo largo de cada momento del ciclo. Representa el valor alrededor del cual se produce la oscilación

Amplitud: Es la máxima variabilidad debida al ritmo y representa la diferencia entre el valor extremo que puede alcanzar la variable y el mesor

Período: tiempo necesario para que se dé una oscilación completa.

Acrofase: tiempo en el que se alcanza el valor máximo para un período determinado.

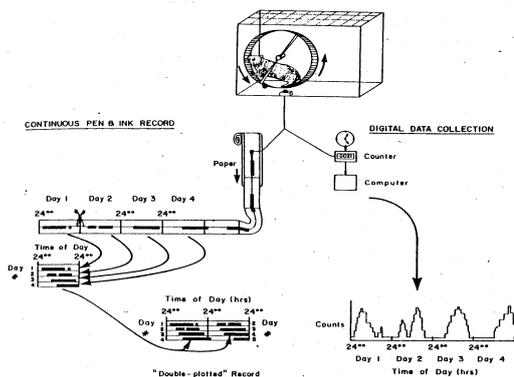


Figura 1: Para la recogida de datos acerca de los ritmos circadianos suele registrarse la actividad motora de roedores, variable cuyo seguimiento puede hacerse de forma no invasiva con dispositivos electrónicos relativamente simples. Los registros que se obtienen pueden ser actogramas (izquierda de la imagen) o bien registros espectrales (derecha).

Además de estos parámetros, existen otros que también contribuyen a la definición del ritmo. Se llama α a la duración de la fase de actividad de un ritmo y ρ a la duración de la fase de reposo. Para representar de forma esquemática la sucesión de varios ciclos de un determinado ritmo se utiliza el *actograma*. En el *actograma* se representa horizontalmente la duración estimada del ciclo y verticalmente hacia abajo la sucesión de períodos consecutivos. En cada línea del *actograma* se representa sombreada la zona correspondiente al tiempo durante el cual se desarrolla la fase activa del ciclo (α).

Los ciclos biológicos se clasifican según la duración de su período, es decir, el tiempo que tarda en producirse una oscilación completa.

- Ritmos ultradianos: aquellos cuyo ciclo es inferior a 20 horas, como por ejemplo el ritmo de la respiración.
- Ritmos circadianos: aquéllos cuyo período es aproximadamente de 24 horas (entre 20 y 28). Por ejemplo el ritmo sueño vigilia en el hombre.
- Ritmos infradianos. Su período es superior a las 28 horas. Dentro de los ritmos infradianos se encuentran los ciclos circanuales, como por ejemplo los ritmos de hibernación de algunas especies animales, y los ritmos circanlunares, como por ejemplo el ciclo menstrual.

Nos centraremos particularmente en la descripción de los ritmos circadianos puesto que han sido muy ampliamente estudiados. Las características fundamentales de los ciclos biológicos son: 1) su naturaleza endógena, 2) su capacidad de sincronizarse (*entrainment*) con respecto a

las oscilaciones que presentan determinados estímulos (zeitgebers) y 3) su naturaleza hereditaria.

RITMOS CIRCADIANOS

1- *Naturaleza endógena*: Aunque los primeros experimentos llevados a cabo para estudiar la naturaleza de los ciclos biológicos se remontan al siglo XVIII, no fue hasta entrado el siglo XX que se llegó a un reconocimiento unánime de la naturaleza endógena de los ritmos biológicos. En la segunda década del siglo XX se describió la conservación del ciclo de actividad motora en ratones mantenidos durante meses, años e incluso durante varias generaciones en condiciones de oscuridad constante. Estas condiciones, en las que los animales no tienen referencias temporales exógenas, se denominaron condiciones de *curso libre*. Curiosamente el período del ritmo de actividad motora de los animales en curso libre nunca era de 24 horas. En general cuando nos referimos a animales mantenidos en dichas condiciones empleamos la letra griega τ (thau) para denominar el valor del período.

Por lo que se refiere a humanos, existían observaciones muy antiguas de la existencia de un ritmo de temperatura corporal independiente del medio. Sin embargo, la confirmación de la existencia de un sistema circadiano endógeno en humanos fue realizada en este siglo por Aschoff y Weber, que mantuvieron a voluntarios sanos en condiciones de aislamiento y confirmaron la existencia de un sistema circadiano endógeno en el ritmo sueño/vigilia en el hombre. De nuevo se observó que en estas condiciones el ritmo tiene un período que no sólo es distinto al que se observa cuando el entorno es cíclico sino que su valor es muy estable, difícil de modificar y característico de cada especie animal y de cada ritmo.

2- *Capacidad de sincronización (entrainment)*: A pesar de su naturaleza endógena, los ritmos circadianos responden a determinados estímulos cíclicos del medio, y es gracias a esto que el ritmo endógeno oscila de acuerdo con el exterior: esto es lo que llamamos *entrainment*. El *entrainment* sólo puede producirse si el cambio cíclico externo presenta un período relativamente similar al período τ . Al tipo de estímulo que se presenta de forma variable y es capaz de producir *entrainment* se le denomina *zeitgeber*. La luz es sin duda el *zeitgeber* más potente, lo que permite que los animales se adapten a períodos de luz/oscuridad de hasta 18 horas. Otros *zeitgebers* son también importantes: por ejemplo el acceso a la comida es capaz de producir un *entrainment* es decir, sincronizar el ritmo de actividad motora, de bebida y de corticosterona en plasma en ratas mantenidas en condiciones de oscuridad constante.

La presencia de campos magnéticos variables también puede actuar como *zeitgeber* con respecto a determinados ritmos, como el de melatonina en plasma en el hámster y el de sueño-vigilia en humanos. La temperatura ambiental es capaz de sincronizar los ritmos en especies poiquilotermas. Finalmente, los factores sociales pueden determinar también la sincronización de ritmos en animales y humanos. En humanos este es el sincronizador más importante de la mayor parte de ritmos.

Así pues, los ciclos luz/oscuridad y también otros *zeitgebers* del entorno constituyen "pistas" que ayudan al animal a acomodar sus ciclos endógenos a los del medio. De esta manera, el ritmo endógeno se acomodará de forma precisa al ritmo externo de 24 h. Este proceso es lo que llamamos *sincronización o entrainment*.

3- *Naturaleza hereditaria de los ritmos*: Los ritmos biológicos se mantienen también en animales que han nacido en un entorno constante y cuyos padres habían sido mantenidos también en condiciones constantes. El cruzamiento de dos cepas que presentan distintos períodos para un determinado ritmo, da lugar a una generación híbrida cuyo período es intermedio entre el de las 2 cepas progenitoras. Las evidencias acerca de la hereditaria de los ritmos no solo se basan en observaciones sino que también encuentran apoyo

Figura 2: Genes de *Drosophila* para los que se ha mostrado una implicación en aspectos relacionados con la presentación de los ritmos circadianos (izquierda) y genes homólogos en los mamíferos.

en el campo molecular. Así, en experimentos realizados sobre *Drosophylla melanogaster* se ha demostrado la existencia de diversos genes (*per*, *tim*, *cyc*, *dbt*, *Cry*) cuya mutación se traduce en cambios significativos en la expresión de los ritmos de actividad motora y eclosión de la pupa y la actividad. Aunque en mamíferos todavía no existe una información exhaustiva, si que se ha demostrado que determinados genes (como el gen *clk* del ratón), tienen una homología importante con alguno de los genes reloj de *Drosophylla melanogaster* (Figura 2). Las posibilidades de diseñar animales *knockout* proporcionará sin duda información muy relevante en lo que se refiere a la expresión de los ritmos endógenos y su control.

En resumen, estos hechos demuestran que los animales tienen una capacidad intrínseca y propia de medir el tiempo, que no depende de las condiciones cíclicas del entorno y que es heredable incluso en ausencia de un entorno cíclico.

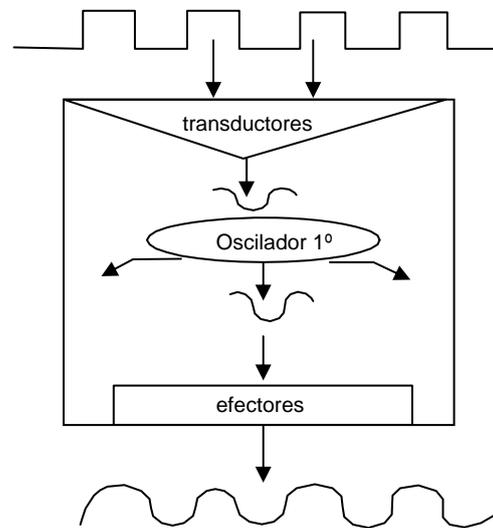
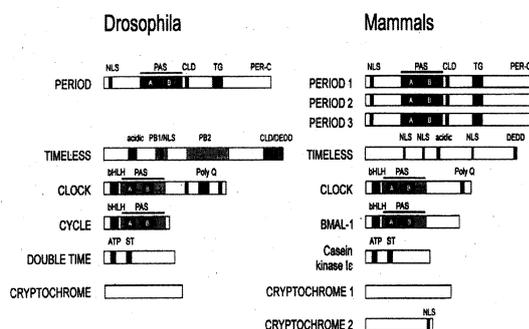


Figura 3: Esquema funcional teórico del sistema circadiano. Se parte de la base de que existe en el organismo un oscilador primario capaz de oscilar en ausencia de inputs oscilante y sin embargo sensible a cambios ambientales (zeitgebers). Esta estructura debe pues mantener una conexión con órganos capaces de transducir las señales externas y originar mensajes codificados inteligibles para el oscilador. Este ha de estar a su vez, conectado con sistemas efectores dando lugar a la oscilación rítmica que observamos en la variable biológica considerada

CONTROL ENDOGENO DEL TRANSCURSO DEL TIEMPO: la búsqueda del reloj endógeno

El concepto de reloj endógeno fue hipotético durante muchos años. A pesar de que la ritmicidad funcional había sido descrita incluso en seres unicelulares, la búsqueda del oscilador endógeno se realizó sobre el sistema nervioso y el sistema endocrino. Después de llevar a cabo numerosos estudios basados en lesionar selectivamente distintas áreas del sistema nervioso y endocrino y valorar hasta qué punto resultaban afectados los ritmos funcionales, en 1972 se identificó una estructura en el hipotálamo anterior de la rata que era esencial para el mantenimiento de los ritmos de actividad motora y de secreción de diversas hormonas: los núcleos supraquiasmáticos (NSQ).

Los NSQ están formados por una serie de neuronas de pequeño tamaño, denominadas parvocelulares, densamente agrupadas y que presentan una actividad espontánea según un patrón circadiano. Este patrón de actividad, que puede valorarse indirectamente a través del consumo de glucosa, se inicia ya prenatalmente y es muy manifiesto al cabo de pocos días del nacimiento. Las terminaciones de las células de los



NSQ están poco mielinizadas, lo que hace que un impulso eléctrico pueda transmitirse con facilidad de neurona a neurona por comunicación efáptica (axo-axónica). Esta especial arquitectura hace posible que se dé un acoplamiento entre los distintos osciladores que constituyen los NSQ, incluso antes de que se establezcan las sinapsis o que se desarrollen plenamente las vías nerviosas aferentes y eferentes. La destrucción parcial de los NSQ produce en los ritmos efectos proporcionales al área afectada por la lesión, lo que parece indicar que no existe una zona específica para el control de cada tipo de ritmo, sino que las distintas zonas de los NSQ aportan parte de la ritmicidad de forma no dirigida.

En resumen, numerosos datos apoyan la idea de que NSQ tienen un papel fundamental en la regulación de la ritmicidad circadiana. Sin embargo, la destrucción de los NSQ, a pesar de ocasionar la pérdida de gran parte de los ritmos circadianos, no comporta la pérdida del ritmo de temperatura corporal ni de actividad motora en primates. Dentro de los mamíferos existen datos de otras especies que apoyarían esta idea, razón por la cual se ha postulado la existencia de otro(s) oscilador(es). Entre las estructuras que se han propuesto como osciladores circadianos alternativos en los mamíferos se encuentran el núcleo ventromedial del hipotálamo, el núcleo arcuato, el núcleo geniculado lateral y el rafe. Para cada uno de ellos se ha descrito la capacidad de sincronizar al menos un ritmo tras la destrucción de los NSQ.

Por otra parte, la existencia de otros osciladores circadianos o ultradianos podría deducirse del fenómeno de disociación de ritmos. En determinadas condiciones los ritmos circadianos se disocian dando lugar a la aparición de varios componentes con un patrón ultradiano, lo que podría sugerir la manifestación de varios osciladores, que en condiciones normales se hallarían acoplados por efecto de un oscilador jerárquicamente superior, que podría ser el NSQ. Sin embargo, existen datos que apoyan una participación del sistema endocrino, y en particular de las gónadas y la glándula pineal o las hormonas por ellas producidas en el fenómeno de disociación de los ritmos circadianos.

Otro hecho que apoya la existencia de varios osciladores es el fenómeno de la desincronización endógena. En condiciones ambientales cíclicas determinadas funciones siguen patrones paralelos. En cambio, cuando se establecen condiciones de curso libre, cada ritmo manifiesta su tau endógeno. Esto puede hacer que ritmos que normalmente eran sincrónicos se encuentren desfasados. Por ejemplo, la excreción de calcio sigue un ritmo sincronizado con el de la actividad motora en condiciones normales. En cambio, en curso libre ambos ritmos tienen *thaus* distintos, lo que conduce a una desincronización interna de ambos.

En humanos se han llegado a sugerir modelos de organización jerárquica de los ritmos circadianos. Cabe mencionar que en las aves, los reptiles, los anfibios y los peces, la glándula pineal tiene un importante papel en la regulación de los ritmos circadianos. En los vertebrados no mamíferos los pinealocitos son fotorreceptores y su extirpación provoca la pérdida de ritmicidad en muchas variables. En los mamíferos, el papel de la pineal se relaciona con la regulación de las funciones que presentan ritmos circanuales, particularmente los relacionados con el fotoperíodo. En estas especies, cuyos pinealocitos no son fotorreceptores, la pineal depende de la información relativa a la longitud del día, información que llega en forma de impulsos nerviosos originados en el NSQ y quizás otras áreas del hipotálamo. La pineal transforma la información nerviosa en señales endocrinas, principalmente secreción de melatonina. También se han encontrado receptores de melatonina en el hipotálamo, a nivel de los NSQ.

CONTROL NERVIOSO DE LA ACTIVIDAD CIRCADIANA.

En los mamíferos, el sistema circadiano puede recibir información fótica procedente de los fotorreceptores de la retina, información que alcanza los NSQ a través de vías nerviosas ópticas o no ópticas

Aferentes a los NSQ: Los NSQ reciben varias aferencias. Existen dos

proyecciones nerviosas de la retina que alcanzan los NSQ: Una de ellas es una vía directa bilateral que abandona el quiasma óptico dorsalmente para acabar en una serie de fibras poco mielinizadas que se extienden por la parte ventral de los NSQ. Estas vías constituyen el llamado tracto retinohipotalámico (TRH). La segunda aferencia visual es una proyección retinofuga hacia el área latero-ventral del núcleo geniculado que constituye el tracto geniculohipotalámico (TGH). En el nacimiento el TRH no se encuentra totalmente desarrollado, mientras que el TGH sí lo está, al menos en ratas recién nacidas. En estos animales la exposición a la luz inmediatamente después del nacimiento determina un incremento de la incorporación de 2-deoxi-D-glucosa, por lo que la mediación de este fenómeno se ha atribuido al TGH. La respuesta de los NSQ a la luz aumenta en los primeros 21 días de vida, lo que va ocurriendo paralelamente al progresivo desarrollo del TRH. En la rata los ojos se abren a los 14 días y al parecer la información visual que llega a los NSQ a esta edad es más o menos completa.

Aparte de las aferencias visuales, los NSQ reciben terminaciones procedentes del área anterior del hipotálamo, el cerebro medio, la materia gris periacueductal, el área retroquiasmática, el núcleo paraventricular y otras áreas hipotalámicas cuya función es hasta el momento desconocida pero que podría estar relacionada con el acceso de información no fótica (la luz no es el único *zeitgeber*, tal y como hemos señalado anteriormente). Existe también una proyección que proviene de los núcleos del rafe y que esta constituida por fibras serotoninérgicas. Los núcleos del rafe también reciben innervación de la retina, lo que podría indicar que los NSQ reciben información fótica a través de dichos núcleos, o que estos pueden ser importantes osciladores circadianos secundarios.

La actividad eléctrica detectada en células de los NSQ responde a la iluminación de la retina y también a la estimulación eléctrica del nervio óptico. La mayor parte (73%) de células responde con incrementos de la actividad espontánea a los incrementos de la iluminación mientras que otras responden disminuyendo su actividad espontánea. La aplicación de pulsos de luz de corta duración da lugar a respuestas menos efectivas que la aplicación de pulsos de larga duración. Esto indica que los NSQ son capaces de detectar cambios duraderos en las intensidades luminosas. La innervación ambos tipos de células supraquiasmáticas no corresponde exclusivamente al TRH o al TGH, ya que se ha comprobado que lesionando el TGH se observan aun respuestas en ambos tipos de células.

La exposición de un animal a intensidades luminosas crecientes provoca un aumento de la descarga de las células supraquiasmáticas activadas por la luz, pero se llega a un nivel de saturación, a partir del cual incrementando la intensidad luminosa no aumenta la descarga de dichas células. Así pues entre determinados rangos de intensidad luminosa las células visuales pueden codificar para la luminancia.

El nivel umbral a partir del cual se obtiene una respuesta de las células visuales de los NSQ es de 10 lux en el hámster y de 0.1 lux en la rata. La saturación se alcanza con intensidades de 500 lux. Este rango de intensidades es muy pequeño con el que se da en la naturaleza que oscila entre los 4 x 10⁻⁵ y los 10⁺⁵ lux. El rango de intensidades reconocibles por estas células es muy parecido con las intensidades luminosas que se dan al amanecer y al atardecer. Así pues las células de los NSQ no distinguen entre días soleados y nubosos. Tampoco pueden integrar información de la distribución espacial de la luz sino únicamente de la intensidad luminosa. La respuesta de estas células es muy lenta, lo que corresponde a la escasa velocidad de conducción de las fibras amielínicas del TRH.

Neurotransmisores implicados: Los estudios neuroquímicos muestran la implicación de un número importante de neurotransmisores como la acetilcolina, aminoácidos excitatorios, GABA, serotonina, vasopresina, NPY, VIP y óxido nítrico. El estudio detallado de los neurotransmisores y sus receptores aporta información relevante acerca de cómo se regulan los diferentes parámetros que caracterizan un ritmo y permiten vislumbrar posibilidades de modificar farmacológicamente la expresión de los ritmos endógenos en determinadas situaciones.

Vías eferentes: La existencia de numerosas vías eferentes que conectan los NSQ con otras áreas hipotalámicas permite vislumbrar como se producen la llegada de información rítmica a zonas relacionadas con la

secreción de determinadas hormonas, o con en control de determinadas funciones viscerales. Sin pretender hacer una descripción exhaustiva de estas vías eferentes, la enumeración de algunas de ellas permite comprender como algunos ritmos observables pueden ser regulados desde los NSQ. Existen terminaciones nerviosas que llegan a las áreas anterior y posterior del hipotálamo y al núcleo dorsomedial donde se encuentran los centros que regulan las respuestas al frío y al calor, la temperatura corporal y la secreción de TRF en sangre. Estas vías posibilitan el control del ritmo de temperatura corporal y de hormonas del eje hipotálamo-hipofiso-tiroideo en sangre. Otras vías llegan al núcleo ventromedial y al hipotálamo lateral donde encontramos centros nerviosos relacionados con la saciedad y el hambre, lo que posibilita un control por parte de los NSQ de los ritmos de ingestión de alimentos. También se han descrito vías nerviosas que llegan a los núcleos supraóptico y paraventricular, donde se secretan diversas hormonas como el CRF, la vasopresina y la oxitocina que intervienen en numerosas funciones relacionadas con la osmoregulación, la sed, la secreción de otras hormonas. El área preóptica, donde se segrega la GnRH, hormona liberadora de gonadotropinas, también recibe *inputs* de los NSQ, que pueden estar relacionados con la regulación de ritmos en la reproducción. La glándula pineal, el núcleo periventricular y muchas otras zonas del hipotálamo e incluso los propios NSQ reciben también inervación, que contribuyen a modular su propio funcionamiento.

Otros osciladores endógenos: Aunque se considera que los NSQ tienen un papel preponderante en el control de la ritmicidad circadiana, está bien documentado el hecho de que algunas determinados tipo celulares pueden presentar oscilaciones espontáneas incluso en cultivo. Este es el caso de células de la corteza adrenal, el hígado y el riñón. Así, las células de la corteza adrenal exhiben un ritmo de secreción de esteroides que oscila con un *tau* característico. Sin embargo, la adición al medio de corticotropina actuaría como *zeitgeber* y provocaría un desplazamiento de fase en el ritmo de secreción de esteroides.

En definitiva, lo que este ejemplo ilustra es el hecho de que la ritmicidad no es un fenómeno exclusivo de un determinado tipo celular sino que probablemente muchos tipos celulares pueden manifestarlo en determinadas condiciones, si bien en general los ritmos inherentes a los distintos tejidos están acoplados. *La base genética de los ritmos ya ha sido comentada, con lo que la ritmicidad no es una simple curiosidad científica sino un fenómeno fundamental desde el punto de vista evolutivo.*