

UN TEMA DE BIOLOGIA GENERAL: LA RITMICA CIRCADIANA Y EL RELOJ FISIOLÓGICO

por el Prof. ERWIN BÜNNING

De la Universidad de Tübingen

I Introducción

Hace ya mucho tiempo que fue comprobado el hecho de que ritmos fisiológicos de veinticuatro horas pueden prolongarse incluso faltando la rítmica exterior, es decir: que podemos hablar de una rítmica endógena del día natural. También hace mucho tiempo que sabemos que la rítmica de libre curso, la que procede sin el sincronizante cambio de luz y oscuridad o de alta y baja temperatura, por lo tanto, no dura exactamente, sino aproximadamente veinticuatro horas. Se trata, pues, de una rítmica sólo "circa diurnale" (con duración "aproximada" del día natural) y a esto se debe que se introdujera la denominación de "rítmica circadiana".

Hace sólo algunos años que ha llegado a ser realmente grande el interés por estos fenómenos. Desde entonces puede decirse que este interés ha aumentado con casi vertiginosa celeridad. El que se haya tardado en iniciar rigurosas investigaciones obedece a dos motivos. Por una parte en la mayoría de los laboratorios no estaban dadas las posibilidades de establecer condiciones constantes para registrar con continuidad las magnitudes fisiológicas sin perturbación para estas mismas magnitudes. Por otra parte se creía —en cuanto la rítmica diurna endógena era considerada y no negada sencillamente como una especie de mística biológica— que se trata sólo de una leve modificación de magnitudes fisiológicas bajo el influjo de la rítmica diurna endógena, modificación más o menos omisible en trabajos de biología y medicina.

Hoy debemos juzgar de modo muy distinto. La rítmica diurna endógena fue por lo pronto estudiada sobre la base de su influjo sobre magnitudes poco importantes o que parecían poco importantes. Se estudió la periodicidad de la rítmica diurna de los movimientos de las hojas, de las actividades de la motilidad en los animales o las oscilaciones de la actividad en el metabolismo, por ejemplo. Ahora bien, con gran frecuencia se corrió ya aquí el peligro de ver en los procesos del caso mismo un reloj autónomo, por decirlo así, no sólo un indicador, sino un proceso gobernado, periférico. Se creyó, por ejemplo, que una fase de alta actividad de movimiento es la causa de una fase consiguiente de movimiento contrario. O se pretendió que una fuerte acumulación de azúcar es finalmente la causa de la preponderante síntesis de almidón y glucosa en el transcurrir del día, y a su vez esta acumulación causa de la elaboración en forma de azúcar que comienza algunas horas más tarde, etc. No se comprendió, pues, que en estos y otros muchos procesos endógenos de

periodicidad diurna registrados no se trata de procesos que se mantienen autónomamente, sino sólo de procesos gobernados por una más elemental o central rítmica, por una especie de reloj principal. Si los procesos registrados, los movimientos de las hojas, las actividades de la motilidad animal, etc. son reprimidos mecánicamente por el choque eléctrico o por medio de venenos, algunos días después, al restablecerse las condiciones normales, se advierte que las fases de los procesos del caso se reanudan exactamente en los lapsos calculables sobre la base de la duración de los anteriores periodos registrados.

El organismo entero evidencia una "organización circadiana" importante para el comportamiento fisiológico normal, y cuya perturbación, ya sea por carencia de relación o por no fisiológica relación con la rítmica exterior, condiciona serios efectos patológicos.

II Magnitudes fisiológicas que pueden ser gobernadas por el reloj

Hoy sabemos que algunas docenas, incluso podríamos decir más de 100 magnitudes fisiológicas muy diversas en las plantas, los animales y el hombre, son gobernadas por la rítmica diurna endógena, es decir: pueden estar acopladas al reloj. Sabemos, además, que a menudo puede tratarse, además, no sólo de influjos cuantitativos, sino de la presencia de ciclos diurnales con diversos estados cualitativos. Hemos averiguado, pues, que es erróneo considerar al organismo como algo fundamentalmente idéntico en todas las fases de un ciclo de 24 horas. Debe ser tenida en cuenta la "organización circadiana" al verificar un experimento biológico, al someter a plantas, animales o seres humanos a determinadas condiciones, cuando probamos o administramos medicamentos, etc. El comportamiento del organismo y su modo de reaccionar a factores externos pueden oscilar, en forma considerable, antagónicamente, cuantitativa, más también cualitativamente, según la periodicidad dentro del día.

Si queremos estudiar la rítmica diaria endógena no nos queda otro recurso que registrar los procesos periféricos de este tipo. Son grandes las posibilidades que aquí se nos brindan, justamente porque muy diversas magnitudes fisiológicas pueden estar acopladas al "reloj central" o —para hablar con más cautela— tener conexión con la organización circadiana. Debido a la simplicidad metódica se suelen registrar en las plantas movimientos de las hojas de periodicidad dia-

ria: en su estudio incluso fue descubierta la rítmica diaria endógena. Se añadieron en trabajos botánicos numerosos estudios sobre el vaciado de esporas de los esporangios, sobre las oscilaciones que pueden manifestarse en la actividad de la fermentación, de la capacidad fotosintética, respiración, intensidad luminosa, etc., de periodicidad diaria. En los animales se incluyen, por ejemplo, actividades de movimiento y frecuencia del escurrimiento de las crisálidas, así como a su vez, igualmente, procesos metabólicos, según lo de preferencia expresado por los indicadores del reloj. Sólo relativamente tarde, y recientemente con gran intensidad, han sido estudiados componentes de más honda trascendencia de la organización circadiana, como, por ejemplo, ciclos de la actividad suprarrenal con sus múltiples y fisiológicamente muy radicales consecuencias, así como ciclos en otros órganos que son importantes para el gobierno del funcionamiento hormonal.

En los más diversos seres vivos, desde los flagelantes monocelulares, las algas y los hongos inferiores, hasta las plantas y animales superiores, incluido el hombre, naturalmente, se ha podido comprobar, la presencia una rítmica endógena diaria por los correspondientes estudios, y también demostrar la importancia que debe atribuirse desde el momento en que puede decidir sobre salud, enfermedad y capacidad de vida. Sólo donde la rítmica no tienen ningún valor de selección, como en los animales adaptados a la vida cavernaria o en algunas plantas de las regiones polares, por ejemplo, la rítmica diaria puede faltar más o menos o hacerse imperceptible, ser reemplazada por ritmos de duración periódica distinta, etc.

III Cualidades del reloj fisiológico

Diremos por lo pronto algo sobre las cualidades del reloj fisiológico en cuanto podemos conocerlas por la observación de los mencionados procesos periféricos, es decir, al registrar los procesos por él gobernados.

1. Las longitudes de los periodos son notablemente diversas. Siendo las condiciones de laboratorio constantes, es decir, si con temperatura constante reinan constante luz o constante oscuridad, se evidencian las longitudes individuales de los periodos que en general se incluyen entre unas 23 y unas 27 horas. En condiciones exteriores que se mantienen idénticas la longitud del período individual se mantiene, día a día, bastante exacta. Las diferencias de un día a otro sólo alcanzan, a menudo, a unos pocos minutos. El dato de que un animal determinado, digamos un turón, evidencie sobre la base de su rítmica de actividad una longitud periódica de 24 horas y 5 minutos y otro animal un período de 24 horas y 15 minutos, puede ser de todo punto fijado experimentalmente y establecido con un mediano promedio de latitud de error.

2. Bajo estas condiciones constantes los ritmos pueden mantenerse observables en plantas y animales durante semanas y meses.

3. El influjo del nivel de la temperatura constante sobre la longitud de los periodos es relativamente escaso, en contraste con el influjo de la temperatura sobre la mayoría de los demás procesos fisiológicos.

4. Con luz constante la longitud de los periodos puede ser algunas horas mayor o menor que con oscuridad constante.

5. El cambio de luz a oscuridad y en menor medida, el cambio de temperatura más alta a temperatura más baja, son los más importantes, pero no los únicos factores sincronizantes. Breves señales luminosas de pocos minutos o segundos, incluso pequeñas fracciones de segundo, bastan para la sincronización de la rítmica endógena con la rítmica exterior. Al principio no fue esto advertido cuando en condiciones de ensayo una luz de control hizo sentir su influjo diariamente durante unos pocos minutos, condicionando una sincronización y dándose los resultados sobre la base de indicadores exteriores de tiempo desconocidos. Hoy mismo no han podido ser eliminadas siempre estas fuentes de error en algunos trabajos.

La factibilidad de sincronización sólo es posible dentro de estrecha latitud de límites, llegando raramente a extremos mayores de aproximadamente 18 o aproximadamente 30 horas de longitud de los periodos y frecuentemente ni siquiera de más de 22 ó 26 horas de longitud de los periodos.

6. La sincronización se verifica por un influjo de la luz o de la temperatura en la situación de la fase de la rítmica endógena. Según en qué fase del ciclo endógeno haga sentir su influjo la señal de la luz o de la temperatura, tiene lugar un pequeño retraso o una aceleración en la marcha del reloj, por lo tanto un transitorio alargamiento o acortamiento de los periodos. Para la sincronización total, para la inserción de las fases, por ejemplo, en un ciclo de luz-oscuridad experimentalmente maniobrado, se necesitan varios días, incluso, a menudo, una o dos semanas. Vale también esto, por lo demás, para la sincronización de los ritmos diarios en el hombre en viaje aéreo en una zona con distinto tiempo local.

IV Correlación en el cuerpo de los organismos superiores

Para la comprensión de la organización circadiana de los seres vivos y su significación para la fisiología normal y patológica es importante el hecho de que en el interior del cuerpo de los organismos superiores existe, ciertamente, una coordinación del comportamiento rítmico de determinados órganos, pudiendo, no obstante, estos órganos determinados adquirir una cierta independencia entre sí. Diversos órganos pueden, pues, en lo que se refiere a la rítmica, evidenciar una autonomía. Esta capacidad se manifiesta del modo más claro en la continuación de la rítmica en partes aisladas del cuerpo. Incluso en tejidos aislados y en cultivos de tejidos de plantas y animales, los ritmos diurnales pueden continuar bajo condiciones constantes. Algo semejante ocurre en el comportamiento de órganos y partes de órganos aisla-

dos de los animales superiores. Existen datos equivalentes para partes de intestino, para suprarrenales e hipófisis.

Se sobreentiende que para un comportamiento fisiológico normal tienen que estar dadas ciertas relaciones entre las fases en las oscilaciones circadianas de los distintos órganos. La producción de fermentos, por ejemplo, debe estar afinada al ritmo recíproco o bien a la constitución y suministro de las sustancias que deben ser elaboradas. Otro tanto puede decirse en lo que se refiere a las hormonas. De la coordinación fisiológica normal se encargan influjos de guía que pueden provenir de las glándulas. En los mamíferos, por ejemplo, desempeñan aquí un gran papel las suprarrenales, en los insectos parece que la *corpora allata*. A su vez la actividad de estos órganos de dirección está sincronizada normalmente con el cambio luz-oscuridad.

V Relaciones perturbadas entre las fases

La relación normal entre las fases en la oscilación de los diversos órganos puede ser perturbada. Puede ser perjudicada cuando los indicadores exteriores de tiempo, que normalmente se encargan de la sincronización, faltan o son de nueva naturaleza y no sincronizan a los distintos órganos con la misma rapidez. Pero también es posible una perturbación de la relación normal entre las fases cuando son defectuosos los órganos que representan un papel en la elaboración de los indicadores exteriores de tiempo.

Algún ejemplo sobre la perturbación de la relación normal entre las fases. La sincronización por la luz tiene lugar en los animales superiores y en el hombre sobre todo por los ojos y por la transmisión a través de la hipófisis. Si es desplazado experimentalmente el cambio luz-oscuridad, transportado el organismo como si dijéramos a un nuevo tiempo local, se evidencia (lo mismo que en un rápido vuelo en una zona con tiempo local distinto) que la situación de las fases de los ritmos en determinadas funciones fisiológicas no se desplaza con la misma rapidez. Algunas funciones han alcanzado por completo el nuevo valor de la situación de sus fases en 2 a 3 días, otras sólo al cabo de 7 a 9 días. Ensayos y observaciones en el hombre han permitido aclarar las perturbaciones fisiológicas que se producen durante estos lapsos de transición debido a una sincronización de desigual rapidez. Las empresas aéreas tienen en cuenta este factor, más cada día, en lo que se refiere a su personal.

No sólo puede tener efectos patológicos la desigual rapidez en el desplazamiento de las fases, puede tenerlo igualmente la posibilidad de sincronización, desigualmente fina, de las distintas funciones en ritmos con períodos no exactamente de 24 horas. Si animales y hombres viven en un ciclo luz-oscuridad algunas horas más corto que el ciclo de 24 horas, esto no basta, a menudo, para una sincronización de todos los ritmos fisiológicos. Consecuencia de ello es que en ciertas distancias de algunos días o semanas se produce de nuevo una coincidencia de determinadas fases fisiológicas entre sí o también una coincidencia de determinadas fases fisiológicas

con determinados factores externos. Quiere decirse que se produce algo así como una situación en suspenso. También casos de perturbaciones de la glándula tiroides, de la hipófisis, o debido a tumores cerebrales, pueden dar lugar a equivalentes relaciones perturbadas de las fases con la consecuencia de fenómenos similares a una situación en suspenso, a la manifestación, por lo tanto, de síntomas de enfermedad en intervalos de algunas semanas.

VI Oscilaciones circadianas de los modos de reacción a factores exteriores a consecuencia de la sensibilidad gobernada por el reloj fisiológico

Para la comprensión de las consecuencias patológicas de las relaciones rítmicas perturbadas es importante añadir que no sólo magnitudes fisiológicas de la índole mencionada pueden ser maniobradas por la rítmica circadiana: pueden serlo también los modos de reacción a factores exteriores. Aquí el modo de reacción puede cambiar no sólo cuantitativa, sino incluso cualitativamente.

Para la medicina práctica y experimental, lo cardinal, y lo de interés más inmediato, son las muy recientes investigaciones que nos demuestran que pueden existir fuertes oscilaciones de periodicidad diaria de la reacción a venenos o de la réplica a medicamentos y hormonas. Estas oscilaciones son tan grandes que no puede responderse de las pruebas de medicamentos en ratas que no son mantenidas en un cambio luz-oscuridad exactamente controlado, es decir, en las que la situación faseológica de la rítmica endógena en la hora del día de la prueba no es inequívocamente conocida. Es ineludible tener en cuenta esta situación faseológica en las pruebas y en la formulación de sus resultados. Las virtudes amortiguadoras o generadoras de venenos respecto del cáncer pueden ser de todo punto diversas cuantitativamente según en qué fase de la rítmica endógena sean administrados. Igualmente puede la acción nociva y amortiguadora de altas dosis de rayos Röntgen y otras irradiaciones de energía estar sometida a una oscilación de diaria periodicidad.

En plantas y animales los requerimientos de temperatura pueden oscilar diaria-periódicamente. De noche una baja temperatura suele ser más favorable que de día.

VII Oscilaciones circadianas de los modos de reacción a la luz a consecuencia del gobierno de la sensibilidad a la luz por el reloj fisiológico

Las oscilaciones diarias periódicas en el reaccionar a la luz se incluyen entre los procesos más concienzudamente investigados entre los gobernados por la rítmica diurna endógena. Han sido establecidos cambios en la intensidad de las reacciones a la luz en la investigación de la fototaxis (atracción por la luz) vegetal y animal, por ejemplo. Hay fases del ciclo circadiano en las cuales los monocelulares, incluso más altamente desarrollados animales terrícolas o acuáticos, reaccionan débilmente por fototaxis o no reaccionan en ab-

soluto, quiere decirse en el sentido de ser atraídos por un foco luminoso. En la oscuridad constante, por la correspondiente presencia de la luz de prueba en tiempos diversos, se manifiesta la continuación endógena de este modo rítmico de reacción durante varios días.

La nueva posibilidad de que en algunas fases del ciclo endógeno de 24 horas los organismos reaccionen a la luz cualitativamente de modo distinto a como reaccionan en otras fases, es, biológicamente, de especial importancia. Constituye el fundamento decisivo para la medida del tiempo en las llamadas reacciones fotoperiódicas.

Entendemos por reacciones fotoperiódicas el control de los procesos de desarrollo vegetal y animal durante el transcurso del día. Hay dos tipos. La iniciación de un determinado proceso de desarrollo está vinculada a una mínima longitud crítica del día de, por ejemplo, 10, 11 ó 12 horas, o bien, inversamente, la manifestación del proceso de desarrollo es sólo posible cuando no es rebasada una determinada longitud crítica del día.

Este modo de orientación, sobre el transcurso de las estaciones del año es sumamente seguro. Las longitudes críticas de los días, por ejemplo, no son fuertemente influidas por la temperatura, circunstancia que hace ya referencia a la importancia de la rítmica diurna endógena para esta mensura del tiempo. Justamente en la rítmica diurna endógena conocimos la amplia independencia de la temperatura. Tampoco la intensidad de la luz, en la esfera normal de intensidad, tiene influjo perturbador en esta mensura del tiempo. Las mencionadas relaciones rigen para intensidades lumínicas que responden a la plena luz del sol lo mismo que a las atenuadas por un cielo totalmente cubierto, o experimentalmente reducidas a una pequeña fracción de aquel valor. El organismo puede, pues, realmente medir con buena seguridad el lapso temporal desde el crepúsculo matutino al crepúsculo vespertino e insertar así los ciclos de desarrollo en las estaciones del año. Pueden, por tal manera, ser controladas muy diversas clases de procesos de desarrollo: formación de los brotes, reposo de los capullos, letargo invernal de los animales, migraciones de los animales según la estación, ciclos de reproducción de los animales, etc.

Estas reacciones son logradas en virtud del acoplamiento del reloj de una índole específica de sensibilidad a la luz. En algunas fases del ciclo circadiano reacciona el organismo a la luz no sólo cuantitativamente, sino cualitativamente, de modo distinto a como lo hacen en otras fases. La luz, que en algunas horas del día estimula un proceso de la índole mencionada, debe, pues, frenarle, en horas distintas.

Puede demostrarse manteniendo plantas o animales en oscuridad constante y comprobar luego cómo reaccionan a una luz de prueba a horas distintas. Veremos luego en el influjo sobre el desarrollo que la fuerza y el modo de la acción de esta luz de prueba oscilan con periodicidad diurna endógena. Quiere esto decir que la luz que afecta a las fases de la rítmica diurna endógena, que normalmente coinciden con la noche, puede, en verdad, obrar en forma cualitativamente

antagónica en lo que se refiere a las fases de la rítmica diurna endógena que normalmente se suceden durante el día. Sabemos esto de las plantas y los animales y también de muchos vertebrados. Se comprende que el hombre apenas haya sido estudiado en este aspecto.

VIII *Acoplamiento de magnitudes fisiológicas al reloj. Desacoplamiento*

Digamos, de paso, que en procesos como los que acabamos de considerar podemos comprobar perfectamente el acoplamiento de magnitudes fisiológicas al reloj. Hemos dicho que los procesos periódicos diurnales que evidencian un carácter endógeno, se basan, ciertamente, en una dirección por el reloj, pero que estos procesos fueron injustamente identificados al principio con el reloj mismo. Quisiera esclarecerlo con el ejemplo de la mencionada sensibilidad a la luz: podemos suspender también el acoplamiento. Se consigue con determinadas sustancias químicas, por ejemplo, o recurriendo a temperaturas extremas. Repentinamente deja entonces de manifestarse la oscilación periódica diurna de la sensibilidad. El proceso que se desarrolla no es ya manio-brable fotoperiódicamente. Pero también para todos los demás tipos de procesos fisiológicos que pueden estar acoplados al reloj existe la posibilidad del desacoplamiento. Hay también la posibilidad normal fisiológica de que determinados procesos sólo en determinadas fases del desarrollo estén acoplados al reloj. El dormir y despertar en el hombre, por ejemplo, sólo al cumplir la edad de seis semanas es de periodicidad diurna. En algunos animales la actividad de movimiento, puede ser, en forma por completo independiente de la rítmica diurna, aproximadamente idéntica de modo constante, mientras en los mismos animales otros procesos se convierten en periódico-diurnales por acoplamiento al reloj.

Valdría la pena, indudablemente, una más circunstanciada investigación de la naturaleza de estos acoplamientos. Pero ciertamente sería aún más urgente e interesante una localización del reloj mismo, de los presuntos procesos elementales que acaecen independientemente con periodicidad diurna acoplados o no al reloj, registrables según nuestros métodos. Este "reloj central" puede realmente seguir marchando independientemente de la mayoría de los procesos periféricos investigados. Comprobamos esto por el hecho de que procesos como actividades de movimiento, etc. reprimidos por baja temperatura o por venenos de la respiración, en determinadas circunstancias se reanudan sin esenciales desplazamientos faseológicos una vez restablecidas las condiciones normales. Aún en los lapsos de reposo de las crisálidas o del letargo invernal puede, en ciertos casos, seguir marchando el reloj.

IX *"Mecanismo" del reloj*

Sobre el difícil problema del mecanismo del reloj no diremos más. Los escasos conocimientos de que disponemos, basados

en los resultados de los análisis hechos hasta hoy, deberán buscarse en la literatura especializada.

Una vez que haya sido reconocida la gran importancia de la organización circadiana de los seres vivos inferiores y superiores y haya sido investigada concienzudamente, es de esperar que nos vayamos acercando a la solución del problema de los fundamentos celulares.

X La ritmica circadiana como problema dotado de unidad de la biología general

Todo el material experimental de que se dispone hasta ahora justifica la presunción de que los fundamentos celulares de la organización circadiana en plantas y animales, en flagelantes y seres humanos, son siempre los mismos desde el punto de vista bioquímico o biofísico y que por lo tanto, por así decirlo, no se han inventado relojes distintos. Las investigaciones en las plantas pueden contribuir tanto al esclarecimiento de los fundamentos del reloj circadiano como las in-

vestigaciones en animales. Habrá que insistir en esto ya que las plantas brindan considerables ventajas en el aspecto metodológico de estas investigaciones. Cabalmente debido a estas ventajas la ritmica circadiana fue por lo pronto descubierta en las plantas.

Entre las ventajas de los objetos botánicos de investigación se cuentan, por ejemplo, procesos como movimientos de hojas periódico-diurnales, o la producción luminosa periódico-diurnal en los flagelantes, fácilmente registrables en continuidad, y en los cuales es más fácil deducir que en los animales factores exteriores de perturbación o "caprichos". Ya en las plantas fue bastante difícil excluir factores de perturbación como la luz de observación de escasa intensidad o de duración cortísima, por ejemplo, al punto de que los componentes endógenos de la ritmica diurna pudieron ser fijados con claridad perfecta. Debemos, pues, esperar que también aquí nos encontremos ante una esfera de trabajo en la que, mano a mano, podrán seguir laborando en forma directa la biología vegetal, animal y humana.

BIBLIOGRAFÍA

Aschoff, J. (Ed.): *Circadian Clocks*. Amsterdam. North Holland Publ. Comp. 1965. *Biological Clocks*, Cold Spring Harbor Symposium on Quant. Biol. Vol. 25, Cold Spring Harbor, N. Y. 1960.

Bünning, E.: *Die physiologische Uhr*, 2. Aufl., Berlin-Heidelberg (Springer-Verlag) 1963.
Sollberger, A.: *Biological Rhythm Research*. Amsterdam-London-New York (Elsevier Publ.) 1965

NUEVAS ADQUISICIONES DE LA GALERÍA DE ARTE MODERNO DE ROMA

Las nuevas adquisiciones del anterior año, obtenidas por donación o compra, son exhibidas en exposición especial por la Galería Nacional de Arte Moderno de Roma. Se trata de un conjunto de 54 obras.

El arte del siglo XIX aparece enriquecido por un delicioso álbum de bosquejos, con ágiles dibujos al crayón, de Giacomo Favretto, de los últimos años de la década del setenta.

Cuatro nuevas adquisiciones completan la colección de obras del período temprano del arte moderno: el primoroso esbozo para una naturaleza muerta de Giorgio Morandi, el espléndido cuadro "Luz en España" de Gino Severini (1912), el retrato de Samminiatielli de Pamprolini (1917) y una característica creación del constructivista Laszlo Moholy-Nagy (1922), "Cruz amarilla".