

Un Nobel para el tiempo biológico

El premio Nobel en Fisiología o Medicina de 2017 fue otorgado a tres investigadores norteamericanos pioneros en el descubrimiento del mecanismo de los ritmos circadianos. Ya era hora... y es una excelente excusa para destacar la importancia de la Cronobiología – la ciencia que estudia los ritmos y relojes biológicos – tanto en la vida cotidiana en general como en las ciencias médicas en particular.

Comencemos por hacer un poco de historia temporal. La observación de que la fisiología y comportamiento de todas las especies varía en forma periódica de acuerdo con los movimientos de rotación y – en muchos casos – traslación terrestre es conocida desde la antigüedad. La floración estacional, la aparición de presas y predadores en distintos momentos del día o el año, los ciclos de sueño y vigilia, entre muchos otros, fueron observados por todos los que tuvieran ojos científicos para comprender la naturaleza. Como no podía ser de otra manera, fueron reportados y analizados por los antiguos griegos (comenzando por Andróstenes describiendo el movimiento de flores y hojas del tamarindo), quienes también los hicieron presentes en sus historias mitológicas. Uno de estos mitos es el de la ninfa Clythie, quien, agotada de seguir a Febo por su derrotero celestial, se fue transformando en un heliotropo (girasol) condenado a girar junto al dios sol día tras día. Estas observaciones vegetales fueron coronadas por el experimento del astrónomo francés Jean d'Ortoús de Mairan, quien reportó en 1729 que las hojas de la planta sensitiva *Mimosa* se seguían moviendo aun dentro de un recinto aislado de la luz solar. El mismísimo Charles Darwin se ocupó de estos ritmos en su obra "El poder del movimiento en las plantas", y las descripciones de ritmos diarios (de exactamente 24 horas) o circadianos (de "cerca de un día"), aquellos ciclos que se mantienen aún en condiciones constantes de luz y temperatura fueron engrosando un bestiario de periodicidades que resultaron ser la regla y no la excepción en la naturaleza.

Estos ritmos circadianos exhiben tres propiedades fundamentales, independientemente de la variable o la especie que se registre: 1) son capaces de ser sincronizados a exactamente 24 horas por alguna variable ambiental, siendo la más notable aquella que corresponde al ciclo de luz y oscuridad generado por la rotación del planeta; 2) se mantienen en condiciones constantes, aun con una pequeña variación en el período, que podía ser ligeramente menor (como en

el caso de los ratones) o mayor (como los humanos o las ratas) a 24 horas; 3) a diferencia de muchas reacciones bioquímicas, pueden compensar cambios en la temperatura externa, manteniendo su período extremadamente estable aun con cambios de varios grados en el ambiente. De esta manera, estudiando el comportamiento circadiano en especies tan distantes como moscas, ratones o humanos, se fue avanzando en la descripción más detallada de los ritmos biológicos, de la mano de gigantes como Colin Pittendrigh en los EE. UU. o Jürgen Aschoff en Alemania (quien aprovechó un búnker abandonado de la Segunda Guerra Mundial para analizar la intimidad de los ritmos circadianos en humanos).

También se avanzó notablemente en la localización de los relojes biológicos, particularmente, en mamíferos: a través de una ingeniosa serie de experimentos de lesiones y trasplantes (partiendo de la idea cortazariana de que "el tiempo entra por los ojos", y avanzando metódicamente por la vía visual en busca de posibles osciladores) se determinó que los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo eran la sede inequívoca de un reloj maestro que gobernaba los ritmos circadianos del organismo.

Esta aventura extraordinaria en busca del tiempo perdido resultaba, sin embargo, incompleta, dada la falta de mecanismos intracelulares y moleculares que explicaran la base de los ritmos circadianos. Convencidos del origen genético de estos ritmos, el extraordinario Seymour Benzer y su no menos extraordinario estudiante Ronald Konopka decidieron producir mutaciones al azar en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, para estudiar si dichos cambios afectaban los ciclos circadianos. Y así fue: trabajosamente hallaron un gen cuyas mutaciones generaban ritmos extremadamente largos, cortos o, directamente, arritmicidad. La simplicidad de la escritura merece reproducir íntegramente el resumen del trabajo publicado en 1971 en la revista PNAS (Konopka & Benzer, 1971): "*Tres mutantes han sido aislados en los que la ritmicidad normal de 24 horas es drásticamente cambiada. Un mutante es arrítmico; otro tiene un período de 19 h; el tercero un período de 28 h. Tanto el ritmo de eclosión de la población como la actividad locomotora de moscas individuales están afectadas. Todas estas mutaciones parecen involucrar el mismo gen funcional en el cromosoma X.*"

Autor de correspondencia a: dgolombek@unq.edu.ar



El gen fue denominado “per” (por el “período” circadiano que era afectado) y, aunque el trabajo resultaba un paso fundamental para analizar la genética del comportamiento cronobiológico, la tecnología no estaba aún madura como para identificar completamente al gen en cuestión. Aquí entran en juego nuestros recientes premios Nobel: en 1984 Jeff Hall y Michael Rosbash, en la Universidad Brandeis, y Michael Young, en la Universidad Rockefeller, secuenciaron de manera independiente el gen *per* (Bargiello *et al.*, 1984; Bargiello & Young, 1984; Reddy *et al.*, 1984). Aunque fueron más allá: el grupo de Rosbash y Hall descubrió el inicio de un maravilloso mecanismo de retroalimentación negativa mediante el cual la proteína PER era capaz de inhibir su propia expresión, un bellissimo ejemplo de la elegancia de la naturaleza: *per* se transcribe en su proteína PER, la cual (por mecanismos que en ese momento eran desconocidos) se acumula, transforma o aparece a lo largo de 24 horas para inhibir periódicamente su producción y *voilà...* un ritmo circadiano (Hardin *et al.*, 1990). Unos años más tarde el grupo de Young agregó un nuevo actor a la obra, descubriendo el gen *timeless*, cuya proteína TIM dimeriza con PER favoreciendo su reentrada al núcleo celular (Myers *et al.*, 1995), así como el grupo de Rosbash aportó datos sobre la participación del criptocromo CRY (Emery *et al.*, 1998). A partir de entonces, comenzó la fiebre del oro genético para desentrañar nuevos elementos de este ciclo molecular del reloj circadiano; aún hoy se agregan nuevos jugadores al juego. Algo notable fue el descubrimiento del gen *per* y su proteína en mamíferos, con una curiosamente elevada homología con su par de moscas, sugiriendo un origen evolutivo muy pero muy cercano. Si bien el modelo de la mosca ha resultado extremadamente útil para desentrañar esta madeja de genética del comportamiento, y eventualmente identificarla en otros animales, en alguna ocasión el camino ha sido inverso, como con el hallazgo del gen *clock* (“circadian-like output cycles kaput”) en ratones, por el grupo de Joseph Takahashi (King *et al.*, 1997; Vitaterna *et al.*, 1994). La proteína CLOCK (y su pareja BMAL) resultaban fundamentales para activar la expresión de *per* (entre otros genes); muy pronto se descubrió su homólogo en moscas, con el mismo tipo de funcionalidad. Esto abría sorprendentes posibilidades: el ciclo de retroalimentación entre CLOCK-BMAL y PER-TIM (en moscas) o PER-CRY (en mamíferos) ¡no era un círculo cerrado! El mismo mecanismo podía escaparse para generar ciclos en la expresión de numerosos genes con funciones todo a lo largo y ancho del cuerpo y de la fisiología. Esto, por supuesto, ocurría tanto en los núcleos supraquiasmáticos de mamíferos y

en el grupo de neuronas relojeras de moscas; ambos representan un reloj central o maestro. Pero lejos de ser un solista, estos relojes son en realidad directores de orquesta de osciladores que se encuentran en todo el organismo (llamados “relojes periféricos”), con influencia principalmente local, pero que pueden interactuar entre sí de manera que todo nuestro cuerpo sea un reloj caminante (o reptante, o volador, o nadador).

Sin embargo, y más allá de esta extraordinaria aventura en busca de las bases moleculares del reloj, la gesta correspondiente a las aplicaciones de la cronobiología se está escribiendo en este mismo momento. Los “genes reloj” afectan todo nuestro comportamiento y fisiología; los ritmos biológicos se encuentran presentes e influyen en el metabolismo, el sistema cardiovascular, el sistema inmune, el desempeño cognitivo y una larga lista que coincide sugestivamente con todas las funciones corporales. Para un uso eficiente de los recursos (incluyendo reparaciones, crecimientos y desarrollos), la orquesta temporal debe estar sincronizada tanto entre sí como con el ambiente externo que la cobija: todo alejamiento crónico de esta sincronización tiene efectos importantes sobre nuestro funcionamiento. El desfase entre el tiempo interno y el externo (como sucede en el caso de los turnos de trabajo rotativos, o el *jet-lag* crónico) puede ser perjudicial a largo plazo, incluyendo su incidencia sobre determinados tipos de cáncer. Asimismo, la medicina no solo debe conocer las variaciones cronobiológicas, sino aprovecharlas al máximo. Por ejemplo, es bien sabido que el efecto de los fármacos depende de su horario de administración, tanto para su rol deseado como para su toxicidad, definiendo así una cronofarmacología que puede llegar a revolucionar los tratamientos con drogas (Dallmann *et al.*, 2014). Otro ejemplo muy reciente indica que el horario de la realización de determinadas cirugías puede modificar radicalmente su resultado, algo que no ha sido considerado cabalmente hasta el momento por el mundo de la clínica.

Bienvenido el premio Nobel a estos tres gigantes relojeros, sí, pero sobre todo bienvenido si nos abre las puertas y los ojos al mundo temporal de la naturaleza, sus implicancias ecológicas y, en particular, sus aplicaciones médicas, que hasta el momento no han recibido su adecuada atención.

El tiempo no espera a nadie.

Diego A. Golombek

Universidad Nacional de Quilmes / CONICET, Argentina

Referencias

- Bargiello TA, Jackson FR & Young MW (1984). Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature* **312**: 752–754.
- Bargiello TA & Young MW (1984). Molecular genetics of a biological clock in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **81**: 2142 – 2146.
- Dallmann R, Brown SA & Gachon F (2014). Chronopharmacology: new insights and therapeutic implications. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **54**: 339-361
- Emery P, So WV, Kaneko M, Hall JC & Rosbash M (1998). CRY, a *Drosophila* clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity. *Cell* **95**: 669–679.
- Hardin PE, Hall JC & Rosbash M (1990). Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* **343**: 536–540.
- King DP, Zhao Y, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TDL, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW & Takahashi JS. (1997) Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell* **89**: 641–653.
- Konopka RJ & Benzer S (1971). Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **68**: 2112–2116.
- Myers MP, Wager-Smith K, Wesley CS, Young MW & Sehgal A (1995). Positional cloning and sequence analysis of the *Drosophila* clock gene timeless. *Science* **270**: 805–808.
- Reddy P, Zehring WA, Wheeler DA, Pirrotta V, Hadfield C, Hall JC & Rosbash M (1984). Molecular analysis of the period locus in *Drosophila melanogaster* and identification of a transcript involved in biological rhythms. *Cell* **38**: 701–710.
- Vitaterna MH, King DP, Chang AM, Kornhauser JM, Lowrey PL, McDonald JD, Dove WF, Pinto LH & Turek FW (1994). Takahashi JS. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science* **264**: 719–725.