

Artículo original

El alimento como sincronizador de los ritmos biológicos: su relevancia para la identificación de un oscilador circadiano

Carolina Escobar,¹ María Teresa Martínez-Merlos,² Manuel Ángeles,³ Jorge Y Mendoza⁴

¹Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina UNAM, ²Universidad Veracruzana,

³Instituto de Ciencias Biomédicas, ⁴Facultad de Psicología, UNAM

Resumen

Aparte de las variaciones cíclicas tales como día-noche, estaciones y cambios de temperatura y humedad, los organismos vivos han desarrollado adaptaciones para ajustar su fisiología y su conducta a otros cambios exteriores y para ello aparecieron en la evolución los relojes biológicos, cuyo prototipo –y hasta ahora el único bien caracterizado–, es el ubicado en el núcleo supra-quiasmático del hipotálamo, que percibe señales aferentes de la retina e informa al resto del sistema nervioso central.

Hay otros marcapasos locales identificados *in vitro* en el pulmón y el hígado, que muestran oscilaciones circadianas y se acepta que actúan como sincronizadores de otros ritmos biológicos del organismo.

Los autores demuestran, en experimentos en ratas, que la llegada del alimento actúa como sincronizador, al restringir el mismo o cambiar la alternancia de su administración. Esto afecta los procesos de balance energético, los estados de anabolismo o catabolismo, reflejados en los niveles de ácidos grasos y cuerpos cetónicos en sangre, la glucosa, la insulina y la leptina. Es más, parece que el hígado contiene un sistema de estimación del tiempo que lo convierte en un oscilador circadiano.

Palabras clave: *Relojes biológicos, ritmo de alimentos.*

Summary

Besides the adaptation to cyclic variations such as day-night, seasons or temperature and humidity changes, living beings have developed adjusting mechanisms of their physiology and conduct to other changes. In the process of evolution there appear biological clocks, whose prototype is the supra-chiasmatic nucleus of the hypothalamus which reacts to afferent signals from the retina and informs the central nervous system.

There are others local pace-makers in organs like the liver or the lung that show circadian oscillations and represent syn-

chronizers of different rhythms. Through experiments in rats the AA demonstrate that the act of feeding is one of those synchronizers and that food restriction or changes in the time of feeding affects energy balance, anabolism or catabolism periods reflected in fat-acids and cetonic bodys levels in blood as well as those of glucose, insuline and leptin. The liver can be considered a circadian oscillator by means of a system capable of computing time.

Key words: *Biological clocks, feeding rhythms.*

Introducción

Todos los organismos vivimos expuestos a las variaciones cíclicas del ambiente, entre ellas las más evidentes son la alternancia día-noche, los cambios de temperatura y de humedad y los cambios de las estaciones. Debido a que los ciclos de estas fluctuaciones ambientales son hasta cierto punto un reto para la supervivencia, los organismos han generado como estrategia adaptativa, mecanismos que les permiten ajustar su conducta y sus procesos fisiológicos a estas variaciones cíclicas e inclusive anticiparse a ellas. El resultado es que si se monitorea con regularidad un proceso fisiológico o conductual se observan fluctuaciones, que se conocen como ritmos biológicos y que, según su periodo, pueden ser circadianos, circamensuales, circanuales, etc. (figura 1).

Los relojes biológicos

La expresión de los ritmos biológicos es una capacidad intrínseca de los seres vivos, ya que bajo condiciones de aislamiento se siguen expresando independientemente de los ciclos ambientales, y mantienen un periodo similar al que muestran antes, asociados a los ciclos geofísicos. Se sabe que la expresión de los ritmos biológicos depende de relojes endógenos o marcapasos, los cuales le confieren al organismo un orden temporal. Hasta ahora se ha podido caracterizar en los mamíferos sólo un reloj biológico que es el núcleo supraquias-

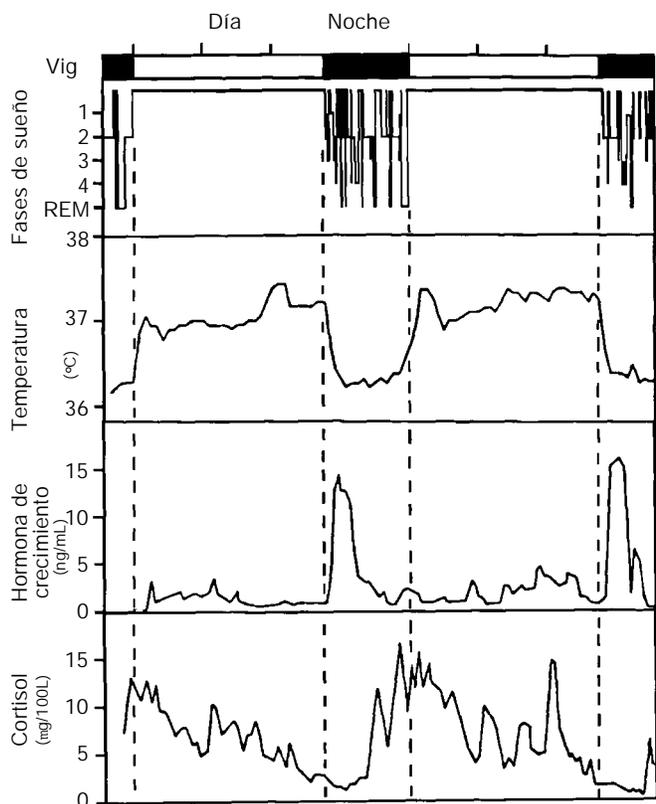


Figura 1. Ritmos sincronizados al ciclo luz oscuridad de las fases del sueño, temperatura corporal, hormona de crecimiento y cortisol plasmático en humanos. Las barras negras y claras indican la noche y el día respectivamente (modificada de Czeisler, 1978, en Aschoff 1981).

mático del hipotálamo (NSQ), el cual es capaz de conferirle este orden temporal a los procesos internos y a la conducta.¹ Para ello, los relojes biológicos cuentan con vías aferentes que transmiten el paso del tiempo hacia los relojes endógenos y ajustan continuamente sus oscilaciones al tiempo geofísico, este proceso se conoce como sincronización. Para el núcleo NSQ la señal principal es la alternancia día y noche y para ello recibe aferencias directas de la retina.² También se sabe que el NSQ es capaz de responder a estímulos no fóticos, como señales auditivas, sociales, estresantes y farmacológicas³ que recibe de aferencias provenientes del tálamo.

Diversas observaciones con animales y seres humanos indican que deben existir otros relojes biológicos, aunque hasta el momento no se han podido identificar. Por ahora se han caracterizado otros marcapasos locales que confieren capacidades. Por ahora se han caracterizado otros marcapasos locales que confieren capacidades especiales a algunos tejidos, por ejemplo la retina a los fotorreceptores.⁴ También se ha podido determinar que algunos tejidos como el pulmón y el hígado mantienen oscilaciones en la expresión del promotor

genómico Per 1 en preparaciones *in vitro*, aunque sus oscilaciones se atenúan después de 5-7 ciclos.⁵

Una evidencia sólida de la existencia de otro oscilador circadiano se ha obtenido de experimentos en los que se restringe el acceso al alimento por unas cuantas horas al día. Bajo estas condiciones el alimento adquiere relevancia como principal sincronizador de los ritmos biológicos, aparte del ciclo luz-oscuridad, por lo que los ritmos circadianos conductuales y fisiológicos modifican sus oscilaciones moviendo sus momentos de máxima secreción alrededor de las horas de alimentación. En algunos casos se observa una curva bimodal, mostrando un componente asociado al ciclo diurno y otro componente asociado a las horas de alimentación, lo cual sugiere la expresión de dos relojes desacoplados (figura 2).

La sincronización por alimento

Los primeros estudios dirigidos a explorar la potencia del alimento como sincronizador se realizaron en ratas y se vio que al restringir el acceso del alimento diariamente se modifica la distribución temporal de su conducta al desplegar intensa actividad locomotora y de búsqueda durante las 3-4 horas previas al acceso de alimento, la cual se conoce como actividad de anticipación al alimento.⁶ Esta anticipación depende de un oscilador circadiano ya que persiste en animales con lesión bilateral del NSQ y bajo condiciones constantes de iluminación⁷ y se produce únicamente cuando el acceso a la comida se permite en rangos cercanos a las 24 horas y persiste por varios ciclos bajo condiciones de ayuno.⁸ Por sus características de sincronización, resulta evidente que este fenómeno depende de un oscilador circadiano independiente del NSQ.

La imposición de horarios restringidos de alimento también sincroniza procesos fisiológicos asociados al balance energético y la digestión. En especial se ha estudiado el ritmo plasmático de corticosterona en ratas, el cual muestra, bajo condiciones de libre acceso al alimento, un ritmo diurno con un pico al iniciar la noche. Al restringir a las ratas el acceso a la comida, el pico de corticosterona se desfasa y se presenta durante el intervalo en que los animales anticipan el alimento.⁹ De igual manera se ha observado que los horarios restringidos de alimento sincronizan la actividad del duodeno y la secreción de enzimas gástricas,^{10,11} también como una respuesta de anticipación al alimento.

Datos obtenidos por nuestro grupo han mostrado que cuando el alimento se restringe a dos horas diarias durante 2-3 semanas los ritmos circadianos de procesos endocrinos y de balance energético¹² se sincronizan preferentemente a los horarios de alimentación y por lo tanto pierden su ajuste hacia la alternancia día-noche (figura 3). Los procesos de balance energético adquieren una dinámica temporal en la que los organismos cursan por un estado de catabolismo durante las horas previas al alimento seguido de un estado anabólico posterior

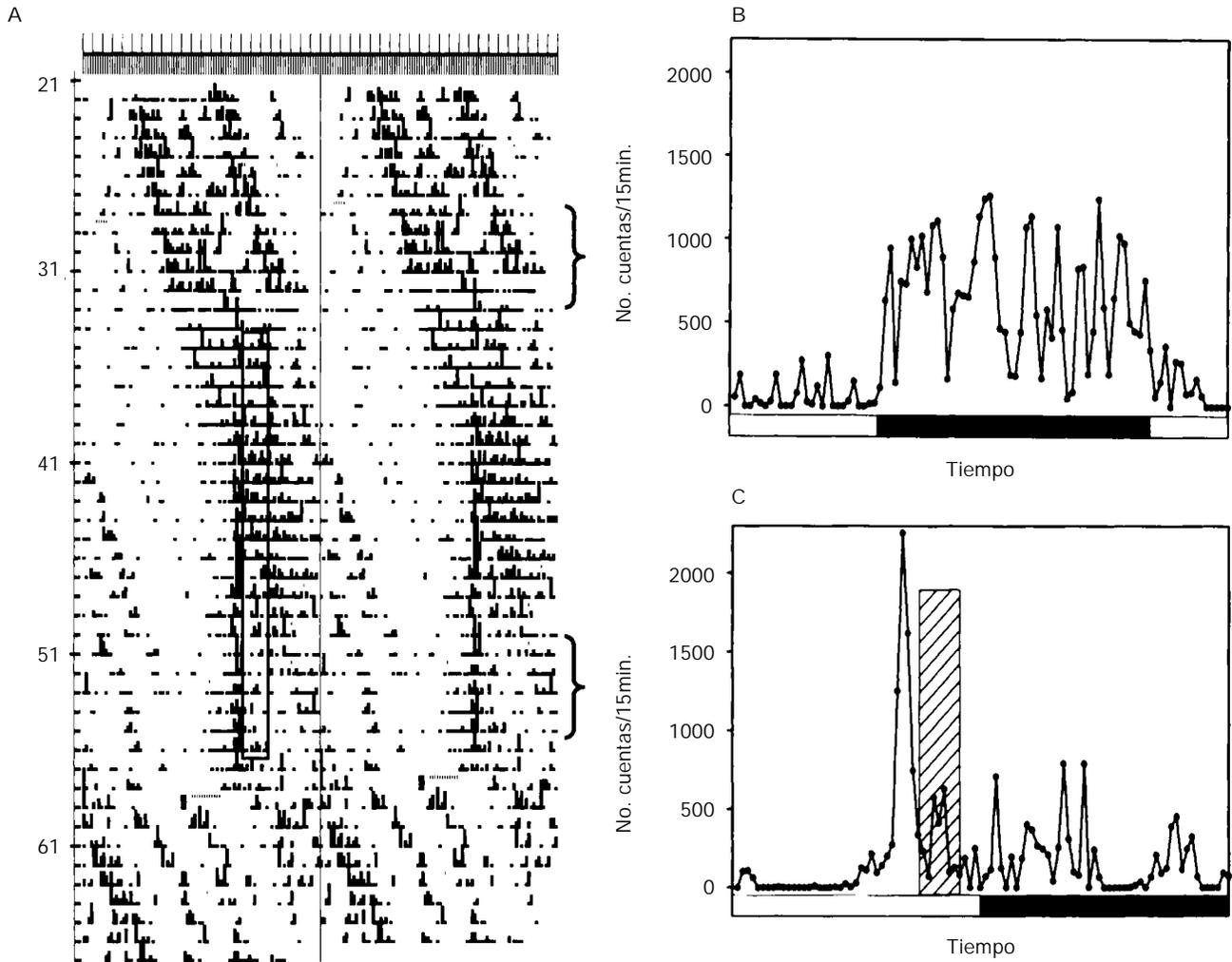


Figura 2. Doble representación de un actograma (A) de la conducta de ingestión de agua de una rata en condiciones constantes (oscuridad) donde cada línea en el eje X representa una hora y las líneas en el eje Y representan los días de registro. La rata se mantuvo bajo condiciones de oscuridad constante y libre acceso al alimento (21-32); y posteriormente bajo un horario restringido de alimento de 2 h diarias (32-56, el rectángulo indica la hora de alimentación). B) Promedio de actividad de los animales en condiciones de alimentación: ad lib (día 27-32); la barra negra indica la fase de actividad y la barra blanca la fase de reposo. C) Promedio de actividad del animal bajo un horario de restricción de alimento (de 12-14 h) donde se puede observar claramente la aparición de 2 componentes de actividad: la anticipación al alimento y el componente de locomoción nocturno. El rectángulo indica el horario de alimentación.

a la ingestión. La alternancia de ambos estados se refleja en la cinética temporal que adquieren los diversos procesos de balance energético asociados a las horas de alimentación, por ejemplo durante la fase de anticipación se observa el estómago vacío y niveles altos de ácidos grasos y cuerpos cetónicos en sangre.¹³ En contraste, después del acceso al alimento aumentan la glucosa, la insulina y la leptina. La alternancia diaria de esta dinámica metabólica, de depleción y repleción de posas energéticas y de algunas hormonas¹⁴ pudiera ser la señal interna de sincronización, o inclusive fungir como un reloj de arena. Sin embargo, las observaciones conductuales y

fisiológicas sugieren que el proceso de sincronización por alimento depende de un reloj autosostenido.

El oscilador sincronizado por alimento

La identidad del reloj sincronizado por alimento es hasta el momento incierta. Diversos grupos han enfocado sus esfuerzos a tratar de localizar estructuras del sistema nervioso central que pudieran ser el sustrato anatómico de este reloj. Principalmente se ha explorado la participación de núcleos hipotalámicos involucrados en procesos de balance energético

co, el hambre y la saciedad, entre ellos el núcleo ventromedial y el área lateral. En algunos de ellos se ha podido determinar un ritmo diurno en su actividad multiunitaria que persiste por varios ciclos *in vitro*,^{15,16} sin embargo, la lesión de estos núcleos no abole el fenómeno de sincronización por alimento.¹⁷ Alternativamente se han explorado zonas que pudieran mediar procesos de aprendizaje temporal, gustativo o visceral, tales como la amígdala y el hipocampo, sin embargo lesiones de estas estructuras tampoco interfieren con la sincronización por alimento.¹⁸ De manera que la posibilidad de que el oscilador dependiente de alimento tenga una localización circunscrita a un núcleo es factible y estudios futuros tendrán que explorar la participación de otras estructuras centrales asociadas con el balance energético.

Se ha podido determinar que este oscilador se manifiesta únicamente bajo condiciones catabólicas, ya sea por restricción de alimento o durante el ayuno. En contraste, no se observa en condiciones *ad libitum*, ni en animales obesos. También se sabe que para que el pulso de alimento adquiera propiedades como sincronizador, debe aportar la carga principal de calorías del día (Stephan, 1997). Con base en todos estos antecedentes nosotros hemos planteado la posibilidad de que este reloj circadiano esté constituido por un sistema distribuido formado de asas de retroalimentación en el que participen varias estructuras del sistema nervioso central interactuando

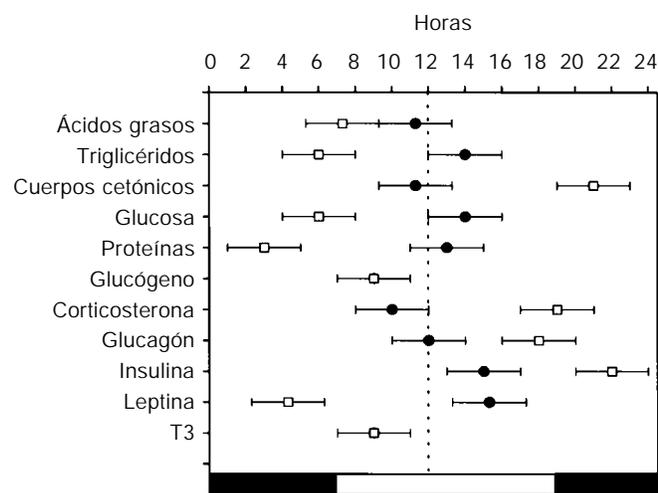


Figura 3. Acrofase, o momento en que se alcanza el valor máximo en los niveles de metabolitos energéticos y hormonas en ratas mantenidas bajo un ciclo luz-oscuridad (12:12) y bajo dos condiciones de alimentación: *ad libitum* (•) y restricción de alimento (◻) de 2h diarias por 15 días. En la gráfica se observa que en los animales con alimentación *ad libitum* las acrofases se concentran alrededor de la fase de oscuridad y en los animales restringidos de alimento hay una sincronización de la expresión metabólica y endocrina hacia las horas alrededor del pulso de alimento. La línea punteada indica el inicio del pulso de alimentación y las barras claras y negras los días y la noche respectivamente. Los símbolos representan la media \pm el error estándar.

con órganos periféricos de integración metabólica. Entre estos últimos se ha considerado que el estómago, el hígado y el páncreas sean importantes reguladores metabólicos periféricos que pudieran señalar hacia el sistema nervioso central los cambios en el estado de balance energético. Dentro de este modelo la comunicación entre la periferia y el sistema nervioso central podría depender del sistema nervioso autónomo, así como de procesos endocrinos y metabólicos.

Datos recientes de nuestro grupo indican que bajo condiciones de sincronización por alimento el hígado es capaz de anticipar la llegada del alimento por medio de un aumento en la síntesis de ATP y AMP durante las horas previas al acceso al alimento, a pesar de encontrarse en un estado de catabolismo por las 22 horas de ayuno transcurridas entre una comida y otra.¹⁴ Estos datos apoyan fuertemente la posibilidad de que el hígado contenga un sistema de estimación del tiempo y que por lo tanto sea un oscilador circadiano. Un hallazgo reciente⁵ apoya esta hipótesis, ya que se demostró que el hígado tiene la capacidad de expresar ritmos circadianos por varios ciclos en condiciones *in vitro*. Estudios futuros tendrán que determinar la función del hígado como oscilador en el paradigma de sincronización por alimento, así como determinar los mecanismos de interacción entre los procesos de balance energético periféricos y centrales para conferirle un orden temporal al organismo.

Agradecimientos

Algunos de los datos que aquí se reportan se obtuvieron con apoyo del donativo DGAPA IN-206697.

Referencias

1. Klein DC, Moore RY y Reppert SM. *Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock*, Oxford University Press, New York, 1991.
2. Moore RY y Klein DC, Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin n-acetyltransferase activity, *Brain Res* 1974; 17-33.
3. Moore RY. Entrainment pathways and the functional organization of the circadian system. *Progress in Brain Res* 1996; 111: 103-19.
4. Tosini G y Menaker M. Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science* 1996; 272: 419-21.
5. Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M y Tei H. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 2000; 288: 682-85.
6. Bolles RC y Stokes LW. Rat's anticipation of diurnal and a-diurnal feeding. *J Comp Physiol Psychol* 1965; 60: 290-94.
7. Stepahn FK, Swann JM y Sisk CL. Anticipation of 24 hr feeding schedules in rats with lesions of the suprachiasmatic nucleus. *Behav Neural Biol* 1979; 25: 346-63.
8. Stephan FK. Resetting of a circadian clock by food pulses. *Physiol Behav* 1992; 52: 997-1008.
9. Krieger DT. Regulation of circadian periodicity of plasma corticosteroid concentrations and of body temperature by time of food presentation. In: *Biological Rhythms and their Central Mechanism*, edited by M. Suda, O. Hayaishi and H. Nakagawa. Amsterdam: Elsevier, 1979, p 247-59.

10. Comperatore CA y Stephan FK. Entrainment of duodenal activity to periodic feeding. *J Biol Rhythms* 1987; 2: 227-42.
11. Saito M., Murakami E, Nishida T, Fujisawa K, and Suda M. Circadian Rhythms of digestive enzymes in the small intestine of the rat. Effects of fasting and refeeding. *J Biochem* 1976; 80: 563-68.
12. Escobar C, Díaz-Muñoz M, Encinas F y Aguilar-Roblero R. Persistence of metabolic rhythmicity during fasting and its entrainment by restricted feeding schedules in rats. *Am J Physiol* 1998; 274 (Regulatory Integrative Comp Physiol 43): R1309-R16.
13. Escobar C, Hudson R, Martínez-Gómez M y Aguilar Roblero R. Metabolic correlates of the circadian pattern of suckling-associated arousal in young rabbits. *J. Comp. Physiol* 2000; 186: 33-38.
14. Díaz-Muñoz M, Vázquez Martínez O, Aguilar-Roblero R, Escobar C. Anticipation of liver metabolism in food restricted rats: role of insulin, glucagon and corticosterone. *Am J Physiol* 279 (Regulatory Integrative and Comparative Physiol) 2000; (en prensa).
15. Inouye ST. Does the ventromedial hypothalamic nucleus contain a self-sustained circadian oscillator associated with periodic feedings? *Brain Research* 1983; 279: 53-63.
16. Kurumiya S y Kawamura H. Damped oscillation of the lateral hypothalamic multineuronal activity synchronized to daily feeding schedules in rats with suprachiasmatic nucleus lesions. *J Biol Rhythms* 1991; 6: 115-27.
17. Mistlberger RE y Rechtschaffen A. Recovery of anticipatory activity to restricted feeding in rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Physiol Behav* 1984; 33: 227-35.
18. Mistlberger RE y Mumby DG. The limbic system and food anticipatory circadian rhythms in the rat: ablation and dopamine blocking studies. *Behav Brain Res* 1992; 47: 159-68.
19. Stephan FK. Calories affect zeitgeber properties of the feeding entrained circadian oscillator. *Physiol Behav* 1997; 62: 995-1002.
20. Ashoff J. (1981): *Biological Rhythms, Handbook of Behavioral Neurobiology*, Plenum Press.