

Cronobiología del sistema inmune

Immune system chronobiology

Dra. María Antonia Ramos Ríos¹, Dr. Aniso León Lobeck²

¹ Hospital General Docente "Iván Portuondo". San Antonio, Artemisa, Cuba.

² Instituto Medicina Deportiva, La Habana, Cuba.

RESUMEN

La cronobiología es la disciplina que ha estudiado la organización temporal de los procesos que ocurren en los seres vivos, los mecanismos que las originan y sus alteraciones. En 1832, Agustín de Candolle demostró que bajo condiciones constantes el período de los ciclos de movimientos de las plantas duraba unas 24 horas, con lo que añadió una evidencia de la naturaleza endógena de los ritmos biológicos. En los mamíferos, se ha estimado que aproximadamente el 10 % del genoma está bajo un control circadiano. Desde la década de los años 70 's se observó que la respuesta inmune dependía de la hora del día en la cual se analizaba y que la susceptibilidad a las infecciones dependía también de la hora en la cual el organismo fuera infectado. Recientemente se ha establecido una relación entre el ciclo circadiano y la respuesta inmune. Este trabajo trata las ventajas del conocimiento del ritmo circadiano de los mecanismos inmunitarios y la importancia del uso de la cronoterapia sobre los osciladores de las células del sistema inmune en los trastornos inmunitarios, lo cual pudiera evitar complicaciones en los pacientes.

Palabras clave: cronobiología, ritmo circadiano, sistema inmune, cronofarmacología.

ABSTRACT

Chronobiology is the science that studies temporary organization of the processes that happen in organisms, the mechanisms that originate them and its disorders. Austin of Candolle demonstrated that under constant conditions the period of the cycles of the plants' movements it lasted some 24 hour, adding an evidence of the endogenous nature of the biological rhythms in 1832. In mammals, has been considered approximately 10% of genome under circadian control. Since decade of 70 's, was observed that immune response depends of day 's hours in which it was

analyzed, and the susceptibility to infections also depends of the hour in which an organism is infected. It has begun to establish relationship between circadian cycle and immune response recently. This work intends to give us the advantages of the knowledge of circadian rhythms of immune mechanisms and the importance of the chronotherapy's use on the oscillators of the immune system's cells in immunity dysfunctions and it would avoid complications in the patients.

Keywords: chronobiology, circadian rhythm, immune system, chronopharmacology.

INTRODUCCIÓN

La cronobiología es la disciplina que estudia la organización temporal de los procesos que ocurren en los seres vivos, los mecanismos que las originan y sus alteraciones. El conocimiento del concepto de tiempo y periodicidad de los fenómenos naturales y ambientales data de épocas muy primitivas de la historia de la humanidad. Los egipcios inventaron su calendario hacia el 4200 a.c. El tiempo y la variación periódica de los fenómenos biológicos en la salud y en la enfermedad ocupaban un lugar muy importante en las doctrinas de los médicos de la antigüedad. Estos conceptos fueron recogidos y ampliados con observaciones propias de los naturalistas griegos. Así, por ejemplo, Aristóteles y Galeno escribieron sobre la periodicidad del sueño, centrándola en el corazón, el primero, y en el cerebro, el segundo¹. En 1832, Agustín de Candolle le añadió una segunda evidencia de la naturaleza endógena de los ritmos biológicos, cuando demostró que bajo condiciones constantes el período de los ciclos de los movimientos de las plantas duraba unas 24 horas. No es hasta finales del siglo XIX, cuando Aschoff, Wever y Siffre desarrollaron las primeras investigaciones en humanos y aparecieron las primeras descripciones sobre los ritmos diarios de temperatura en trabajadores por turnos o en soldados durante las guardias nocturnas².

En los mamíferos, se ha estimado que aproximadamente el 10 % del genoma está bajo un control circadiano³. Durante los últimos 15 años, han surgido evidencias sobre las oscilaciones de un regulador íntegro circadiano en los componentes del sistema inmune que tiene el potencial para impactar el ataque de la enfermedad y las terapias⁴. Los estudios recientes sugieren que el reclutamiento cíclico de células inmunes en los tejidos puede afectar la enfermedad. Los ritmos circadianos en los tejidos se orquestan a través de las oscilaciones tejido-específicas en la expresión de moléculas de adhesión y citocinas por las células endoteliales, las que parecen sincronizarse globalmente a través de los nervios simpáticos⁵. Estos ritmos son marcados por osciladores endógenos que conducen la expresión de factores promigratorios de las células inmunes, lo que aumenta la probabilidad de su alojamiento en los tejidos en las fases específicas del ciclo circadiano. Datos adicionales apuntan la importancia de la expresión circadiana de componentes del sistema inmune innato para el ataque de trastornos inflamatorios⁶.

Esta revisión aborda las ventajas que puede proporcionar el conocimiento de la ritmicidad circadiana en los mecanismos inmunitarios y el uso de la cronoterapia sobre los osciladores de las células del sistema inmune en los trastornos inmunitarios.

DESARROLLO DE LOS RITMOS BIOLÓGICOS

La mayoría de las funciones biológicas no son constantes, se alternan periodos de máxima actividad y otros de baja actividad. Estas variaciones regulares, rítmicas y altamente predecibles constituyen los ritmos biológicos, que pueden ser diarios, mensuales, estacionales o anuales¹. De estos ritmos, los más estudiados son los denominados circadianos, que son aquellos con período cercano a las 24 horas (en general, con períodos de 20 a 28 horas); los ultradianos aquellos con períodos menores (como las secreciones pulsátiles hormonales) y los infradianos que tienen períodos mayores (como los ritmos estacionales). Estos ritmos están comandados por los relojes biológicos que reúnen ciertas características esenciales y comunes: 1) son innatos; 2) conservados evolutivamente a lo largo de todo el árbol filogenético desde las cianobacterias hasta el hombre; 3) se mantienen en condiciones ambientales constantes; 4) no se ven afectados por cambios en la temperatura (compensación térmica); 5) son sincronizables, se ponen en hora mediante señales que provienen del medio ambiente como la luz, la alimentación, la temperatura, etc.⁷

Ritmo circadiano central y periférico

En los mamíferos, el hipotálamo posee un grupo de neuronas especializadas en la regulación del ritmo circadiano central, en una región anatómica denominada núcleo supraquiasmático (NSQ) que funciona como un reloj biológico. El NSQ recibe señales desde las células ganglionares retinianas estimuladas por la luz; este es el mecanismo que dirige el ritmo circadiano central. Se ha demostrado que la eliminación del NSQ causa arritmia conductual, que se manifiesta como trastornos alimenticios y del sueño, entre otros⁸.

El trasplante de NSQ fetal en hámsteres cuyo NSQ fue previamente lesionado, restablece la conducta circadiana⁹. Estudios posteriores demostraron que el NSQ del hámster donador determina los patrones conductuales del hámster receptor¹⁰. A partir de estos trabajos se concluyó que las neuronas del NSQ forman un marcapasos de todo el organismo, con capacidad para controlar los ciclos de sueño y vigilia, de hambre y saciedad, la termorregulación y la liberación de corticosteroides.

A su vez, el NSQ es susceptible a diversos estimuladores extrínsecos, denominados en conjunto como *zeitgebers*, del alemán generadores de tiempo. El *zeitgeber* más común es la luz, que determina los patrones fisiológicos asociados al día y a la noche⁹.

Sin embargo, el ritmo circadiano responde también a estimuladores internos, que se encuentran cerca de todas las células del organismo, incluidas las células del sistema inmune, corazón, tejido adiposo, páncreas e hígado. Todas estas células se sincronizan a través de sustancias que interactúan con ellos, como son las hormonas, los neurotransmisores, los receptores de melatonina, etc., lo que permite que algunas funciones biológicas mantengan un comportamiento cíclico aún en ausencia de un *zeitgeber* extrínseco. Este proceso se describió por primera vez al observar que un grupo de ratones de experimentación no perdieron su ritmo de sueño-vigilia al ser mantenidos en ausencia de ciclos definidos de luz-oscuridad, o bien cuando fueron sometidos a periodos prolongados de oscuridad. Actualmente se sabe que esto ocurre debido a la existencia de *zeitgeber* intrínsecos, que participan en el mantenimiento del ritmo circadiano¹⁰⁻¹² y que son proteínas que pertenecen a la familia CLOCK (del inglés *circadian locomotor output cyclekaput*). Las proteínas con función de osciladores tienen una localización intracelular, un grupo de ellas regula positivamente (osciladores positivos) y otro grupo regula negativamente (osciladores negativos) los ritmos circadianos^{13,14}.

Algunas de las proteínas que se han descrito como osciladores positivos son: CLOCK, BMAL1 (del inglés *brain and muscle ARNT-like protein 1*) y ROR α (del inglés *ROR-related orphan receptor gene alpha*). Algunos de los osciladores negativos son Per1 y Per2 (*period homologous 1, 2*), CRY1 y CRY2 (*cryptochrome 1, 2*), y REV-ERB α (*nuclear orphan receptor alpha*). Los osciladores positivos regulan a los negativos y viceversa, mediante el tiempo de activación y la concentración de cada uno de ellos^{14,15}.

La señalización se lleva a cabo de la siguiente manera: la síntesis de BMAL1 se favorece por la unión de ROR α al sitio promotor y regiones del gen *Bmal1*, esta síntesis puede inhibirse por la acción de REV-ERB α ya que esta proteína compite por los mismos sitios de unión al DNA que ROR α ^{14,15}.

Los osciladores positivos CLOCK y BMAL1, son factores de transcripción que al formar el heterodímero CLOCK: BMAL1 favorecen la transcripción de ROR α , REV-ERB α , Per1, Per2, CRY1 y CRY2. Por su parte, los osciladores negativos Per y CRY también forman heterodímeros que, una vez formados, se unen a proteínas como la isoforma 1 de la caseína (CK1 δ y CK1 ϵ)¹⁶, el factor NONO y la proteína con unidades de repetición de triptófano (W) y ácido aspártico (D) llamada WDR5¹⁷, formando un complejo que se asocia al heterodímero CLOCK: BMAL1, de ese modo impide la unión a sus sitios promotores. De esta forma, se establece una especie de "circuito cerrado" en el que las proteínas con función de osciladores son autorreguladas. Cabe mencionar que las proteínas Per1 y Per2 así como CRY1 y CRY2 tienen función redundante, ya que ambas isoformas participan indistintamente en la regulación del ritmo circadiano^{16,17}.

RITMO CIRCADIANO EN LOS COMPONENTES INMUNITARIOS

Componentes solubles celulares y humorales

Los parámetros séricos del sistema inmune exhiben un ritmo circadiano, que es notable en las células hematopoyéticas, así como en las hormonas y las citocinas. Este ritmo oscila acorde a la fase de actividad-reposo de las especies, o sea si es diurna (como los humanos) o nocturna (como los roedores).

Los componentes humorales y celulares de la sangre presentan ritmos opuestos: el número de células madre hematopoyéticas (CMHP) y aún más los leucocitos maduros (con excepción de células T CD8+) presentan su pico máximo de circulación en la fase de reposo (durante la noche en los humanos y durante el día en los roedores) y disminuye durante la fase de actividad (el día en los humanos y la noche en los roedores)^{17,18}. Además las CMHP y las células inmunes maduras son liberadas desde la médula ósea hacia la sangre al inicio de la fase de reposo¹⁹. Esta liberación depende de la inervación local, que media la inhibición de la ritmicidad de la expresión del ligando de quimiocina CXCL 12, (previamente conocido como SDF1), principal factor quimiotáctico de células hematopoyéticas en la médula ósea. Esto coincide con la reducción de la expresión del receptor CXCR4 en CMHP, también como en células T CD4+ y T CD8+.

Estudios recientes han demostrado que en macrófagos estimulados con lipopolisacáridos la síntesis de citocinas como FNT- α (factor de necrosis tumoral) e IL-6, sigue un patrón circadiano¹⁶. Además, las células asesinas naturales (NK) sintetizan granzima B, perforina, IFN- γ (Interferón) y TNF- α siguiendo un patrón circadiano; sin embargo, aún no se conoce específicamente en qué fase actividad-reposo ocurre su máxima concentración en ambos tipos celulares²⁰.

Respecto a los niveles de glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en ratones), epinefrina y norepinefrina, además de las citocinas proinflamatorias: FNT y la interleucina -1β (IL- 1β) presentan su pico máximo durante la fase activa^{19,20}.

Estas observaciones permiten implicar asociaciones de los trastornos inmunitarios con el ritmo circadiano.

Ritmo circadiano en el tejido

La migración de células hematopoyéticas a los tejidos ocurre en la fase de actividad. Respecto a los leucocitos es regulada localmente por inervación simpática y mediada por la expresión rítmica de células endoteliales, moléculas de adhesión y citocinas^(5,6).

La expresión de moléculas de adhesión es diferente en los distintos tejidos: en la médula ósea la expresión de receptores de P-selectina, E-selectina y molécula adhesión celular vascular 1 (MACV 1) es contraria al músculo esquelético donde la expresión de estos receptores ocurre más tarde^{5,6}.

Algunos estudios reportan la presencia de oscilaciones según el ritmo circadiano en la expresión de moléculas como los receptores de quimiocinas CX3CR1 en las células T CD8+ y CXCR4 en T CD4+²¹.

Existen conflictos acerca de si la regulación del número de linfocitos en los tejidos linfoides ocurre de forma cíclica, estudios en roedores reportan aumento en la proliferación de linfocitos en los linfonodos y en el bazo durante el día, por lo contrario más linfocitos han sido reportados en el timo y en el bazo durante la noche^{20,21}.

CRONOCINÉTICA Y CRNOTERAPIA

Todos los organismos vivos, incluido el hombre, se organizan en función del tiempo. Por ello es lógico establecer que no solo la cantidad correcta de la sustancia adecuada ha de estar en el lugar indicado, sino también en el tiempo correcto, lo que permitirá optimizar el uso de fármacos, las concentraciones a usar y reducir los efectos adversos. Muchos compuestos se metabolizan en el hígado: el paracetamol se metaboliza más activamente en horas de la mañana por lo que la eficiencia de este medicamento disminuye el 15 % en estos horarios^{22,23}.

Esto cobra mayor importancia cuando un organismo o individuo tiene que actuar o reaccionar lo más favorablemente posible ante condiciones ambientales o bióticas, que ya son por sí mismas extremadamente periódicas. Por este motivo, los compuestos exógenos, incluso los fármacos, pueden variar su finalidad en dependencia del tiempo de exposición. En los últimos años se ha puesto de manifiesto que tanto la farmacocinética como la farmacotoxicidad de varios fármacos, pueden variar en función de la hora del día de su administración.

La *cronocinética* de un fármaco hace referencia a las diferencias producidas en cuanto a absorción, distribución y eliminación, según su hora de administración; esta puede variar según la dosis y la formulación en la que ha sido preparado. Así, la actividad de algún preparado se modifica según se administre por la mañana o por la noche.

La *cronoterapia* supone una aproximación al tratamiento que tenga en cuenta las variaciones circadianas. Más específicamente, se define como la liberación de cantidades del fármaco a lo largo de las 24 horas que tenga en consideración la presentación circadiana de la enfermedad o de los síntomas del proceso patológico en cuestión^{23,24}.

Estudios como los realizados por Buttgereit *et al.*, informaron que la administración de glucocorticoides es habitual entre las 6:00h y las 8:00h en los pacientes con artritis reumatoide, pero sería conveniente la administración de prednisona alrededor de las 22:00h para lograr la supresión de citocinas inflamatorias como la IL-6 lo que reduciría las artralgias y la rigidez articular, síntomas más pronunciados en horario matutino²⁵.

CRONOFARMACOLOGÍA

Los genes CLOCK se encuentran asociados a la expresión de citocinas proinflamatorias, IL-6, TNF y CXCL138, que están implicadas en una amplia variedad de trastornos como el desarrollo del cáncer.

En humanos, el impacto en la salud de los ritmos alterados ha sido relativamente bien caracterizado y es generalmente aceptado. Frecuentemente la desincronización por vuelo transmeridiano (*jetlag*) y el cambio de trabajo han sido asociados significativamente con el desarrollo de cáncer^{23,24}.

El tiempo de la administración de las drogas debe ser acorde a su pico máximo de eficacia, lo cual disminuye los efectos secundarios²⁵.

En un modelo de vacunación se demostró que en los cultivos de linfocitos obtenidos de ratones inmunizados con un ligando de TLR9 como adyuvante, aumentó la expresión de TLR9 y la producción de IFN- γ por cuatro semanas después. Los oligodesoxinucleótidos sintéticos que activan TLR9 permiten lograr efectos duraderos al aumentar los títulos de anticuerpos cuando se administran en las estrategias de vacunación, con lo que se obtiene una expresión de TLR9 más alta (probablemente por la mañana en los humanos)^{26, 27}.

El uso de β 3 agonistas de receptores adrenérgicos induce la expresión de receptores de alojamiento (P-selectina, E-selectina y VCAM1) por la médula ósea y células endoteliales. El ligando REV-ERB de GSK4112 suprime la expresión de IL-6, CXCL11, CCL2 y CXCL6 en los macrófagos humanos primarios ante la respuesta a lipopolisacáridos^{26,27}.

El conocimiento de los estudios expuestos invita a analizar la influencia de la inmunoterapia en afecciones inmunológicas, tomando en cuenta el ritmo circadiano de los componentes celulares y moleculares del sistema inmune. Además, a través del comportamiento de este ritmo se puede precisar el momento del día ideal para realizar la extracción de sangre a los pacientes con determinada afección inmunológica ^{26,27}.

El estudio de la cronobiología permite conocer el concepto del tiempo y la periodicidad en que ocurren los fenómenos fisiológicos en los seres vivos. En el sistema inmune los parámetros séricos exhiben un ritmo circadiano, los cuales son notables en las células hematopoyéticas, así como en las hormonas y las citocinas, aspecto fundamental a tener en cuenta para el uso de fármacos inmunomoduladores, ya que de esta forma su administración sería en el tiempo acorde a su pico máximo de eficacia lo que disminuiría los efectos secundarios. Otro elemento a considerar es la hora idónea para la extracción de muestras en los pacientes pendientes de estudios inmunológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Kellera M, Mazucha J, Abraham U, Eoma G, Herzog E, Volk HD. A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses. PNAS. 2009;50:21407-21412
- 2- Edgar RS, Green EW, Zhao Y, van Ooijen G, Olmedo M, Qin X, et al. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. Nature. 2012;485(7399):459-64.
- 3- Arjona A, Silver AC, Walker WE, Fikrig E. Immunity's fourth dimension: approaching the circadian-immune connection. Trends Immunol. 2012 Dec;33(12):607-12.
- 4- Scheiermann C, Kunisaki Y, Lucas D, Chow A, Jang JE, Zhang D, Hashimoto D, et al. Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. Immunity. 2012;37(2):290-301.
- 5- Scheiermann C, Kunisaki Y, Frenette PS. Circadian control of the immune system. Nat Rev Immunol. 2013;13(3):190-8.
- 6- Guido ME, Garbarino E, Contin MA, Valdez D, Nieto P, Verra D. Inner retinal circadian clocks and non-visual photoreceptors: novel players in the circadian system. Progr Neurobiol. 2010;92(4):484-504.
- 7- Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Carvalho LA, Pariante CM. Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2011 Apr 29;35(3):722-9.
- 8- Lehman M, Silver R, Glasstone W, Kahan R, Gibson M, Bittman EJ. Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. J Neurosci. 1987 Jun;7(6):1626-38.
- 9- Neu D, Mairesse O, Hoffmann G, Valsamis JB, Verbanck P, Linkowski P. Do 'sleepy' and 'tired' go together? Rasch analysis of the relationships between sleepiness, fatigue and non-restorative sleep complaints in a nonclinical population sample. Neuroepidemiology. 2010;35:1-11.

- 10- Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:517-49.
- 11- Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science.*1990;247:975-8.
- 12- Moore-Ede MC, Czeisler CA, Richardson GS. Circadian timekeeping in health and disease. Part 2. Clinical implications of circadian rhythmicity. *N Engl J Med.* 1983;309(9):530-6.
- 13- Moore-Ede MC, Czeisler CA, Richardson GS. Circadian timekeeping in health and disease. Part 1. Basic properties of circadian pacemakers. *NewEngl J Med*,1983;309(8):469-76.
- 14- Lantero Abreu MI. Cronobiología: Consideraciones para un enfoque terapéutico diferente. *VITAE.* 2001;8(1-2):55-61.
- 15- Keller M, Mazuch J, Abraham U, Eom GD, Herzog ED, Volk HD, et al. A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(50):21407-12.
- 16- Cho H, Zhao X, Hatori M, Yu RT, Barish GD, Lam MT, Chong LW, et al. Regulation of circadian behaviour and metabolism by REV-ERB-alpha and REVERB-beta. *Nature.*2012; 485(7396):123-7.
- 17- O'Neill JS, Reddy AB. Circadian clocks in human red blood cells. *Nature.*2011;469(7331):498-503.
- 18- Mendez-Ferrer S, Lucas D, Battista M, Frenette PS. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature.*2008;452:442-7.
- 19- Lucas D, Battista M, Shi PA, Isola L, Frenette PS. Mobilized hematopoietic stem cell yield depends on species-specific circadian timing. *Cell Stem Cell.* 2008;3:364-6.
- 20- Dimitrov S, Benedict C, Heutling D, Westermann J, Born J, Lange T. Cortisol and epinephrine control opposing circadian rhythms in T cell subsets. *Blood.* 2009 May; 113(21):5134-43.
- 21- Focan C. Circadian Rhythms and Cancer Chemotherapy. *Pharmac Ther.* 1995;67(1):1-52.
- 22- Dallmann R, Viola AU, Tarokh L, Cajochen C, Brown SA. The human circadian metabolome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Feb;109(7):2625-9.
- 23- Chen Z, Yoo SH, Park YS, Kim KH, Wei S, Buhr E, et al. Identification of diverse modulators of central and peripheral circadian clocks by high-throughput chemical screening. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Jan;109(1):101-6.
- 24- Knutsson A, Alfredsson L, Karlsson B, Akerstedt T, Fransson EI, Westerholm P, et al. Breast cancer among shift workers: results of the WOLF longitudinal cohort study. *Scand J Work Environ Health.* 2013 Mar;39(2):170-7.
- 25- Buttgereit F, Smolen JS, Coogan AN, Cajochen C. Clocking in: chronobiology in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2015 Jun;11(6):349-56.

26- Janich P, Pascual G, Merlos-Suárez A, Batlle E, Ripperger J, Albrecht U, et al. The circadian molecular clock creates epidermal stem cell heterogeneity. Nature.2011;480(7376):209-14.

27- Solt LA, Wang Y, Banerjee S, Hughes T, Kojetin DJ, Lundasen T, Shin Y, et al. Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists. Nature. 2012 Mar;485(7396):62-8.

Recibido: agosto 3, 2015.

Aceptado: febrero 29, 2016.

Dra. María Antonia Ramos Ríos . Hospital General Docente "Iván Portuondo", San Antonio de los Baños, Artemisa, Cuba.Email: yosvanyslr@infomed.sld.cu