

SINCRONIZACIÓN LUMINOSA.

CONCEPTOS BÁSICOS. PRIMERA PARTE

Alberto Salazar-Juárez*, Leticia Parra-Gámez**, Susana Barbosa-Méndez*, Philippe Leff*, Benito Antón*

SUMMARY

The periodic fluctuations in diverse physiological parameters are a general property of all organisms. Furthermore, when these fluctuations occur to intervals regulates these are considered as «biological rhythms». The biological rhythms are generated by an endogenous mechanism of the organism.

The biological rhythms appear in wide interval in frequencies of oscillation, which go from a cycle by millisecond to a cycle per year. Additionally, the geophysical environment is characterized by the existence of cycles deriving from movements of the earth and the moon with regard to sun. These environmental or geophysical cycles are the days, tides, lunar phases and seasons of the year. When the frequency of a biological rhythm approaches that of an environmental cycle, the prefix “circa” is used to refer to it. Likewise, 24-hour biological rhythms are designated as circadian rhythms.

The circadian rhythms represent one of the most ubiquitous adaptive characteristics of the organism. In mammals, they represent an important process through which events of the internal milieu are organized in an appropriate temporary sequence, thus enhancing a maximum adaptation to external milieu.

This characteristic allows organisms to predict and to be prepared for changes in the geophysical environment associated with the day and the night.

To carry out this adaptive role, the circadian rhythms require the biological system having the capacity to measure the biological time. Thus, the circadian rhythm should be generated endogenously, adjusting the geographical time. Moreover, under usual environmental conditions, the period of the oscillator is adjusted to the period of the environmental cycle.

The endogenous origin of the biological rhythms is based on the fact that, in temporary environmental signs isolation conditions, the biological rhythm persists with a light but significant variation in the value of the period of oscillation.

The afore mentioned considerations suggest that the rhythm observed does not depend on cyclic geophysical phenomena. Thus, the rhythm maintained under constant conditions reflects an internal organism's process. This essential ability of the organism to maintain circadian rhythms, even in the absence of periodic

environmental cues, is known as rhythm in spontaneous oscillation or free-running.

Nevertheless, the organism is never isolated from temporary signals and it keeps a narrow temporary relation with the environmental cues by which the phase and the period of the overt rhythm can be adjusted to the phase and period of the environmental cyclic changes. This process is called «entrainment».

It is considered that the three fundamental properties of circadian rhythms are the persisting free-running rhythm, the temperature compensation and the entrainment.

Literally, the word entrainment means «to get aboard a train» (from the French word *entraîner*: «to carry along»). In this context, the entrainment of a biological clock is generated through a controllers stimuli train with a specific period, which induces a biological clock with a different endogenous period from 24 hours to be adjusted for the period of the periodic environmental cycle.

The entrainment of the biological clock provides to internal milieu of a reckoned of the external time. This process can occur for a modulation of the period and/or of the phase of the biological rhythm, that is, the endogenous period of the biological rhythm is adjusted to the period of the zeitgeber with a relation phase stable (or phase angle) between the zeitgeber and the oscillation entrained.

Studies where subjects were submitted to a rigorous temporary isolation indicated that only certain environmental variables are capable of acting as temporary signals for the circadian system.

In 1951, Aschoff coined the word «Zeitgeber» from the German «given of time», which describes an environmental cycle capable of affecting the period and the phase of a biological clock.

In nature, multiple environmental cues oscillate under a daily cycle, including light, darkness, temperature, humidity, availability of food and social signals. Some of these factors may act as zeitgebers of the biological clock, but the most consistent and predictable environmental signal is the 24-hour cycle of light-darkness (L:O) (photoc entrainment).

Nevertheless, organisms can be entrained for other stimuli (non-photoc entrainment) such as temperature, electromagnetic fields, environmental pressure, sound, availability of food and social signals.

*División de Investigaciones Clínicas, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.

**Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, UNAM.

Correspondencia: Alberto Salazar Juárez, División de investigaciones Clínicas. Laboratorio de Neurobiología Molecular y Neuroquímica de las Adicciones. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370, México, DF. TEL: (5255) 5655-2811(Ext. 528 o 105), Fax: (5255) 5513-3722, Email:asalazar@ifc.unam.mx

Recibido: 28 de febrero de 2006. Aceptado: 23 de mayo, 2006.

Researchers have developed two theoretical models to explain the mechanism(s) by which the circadian clock is entrained to an environmental cycle: the discrete model (non-parametric or phasic) and the continuous model (parametric or tonic).

The model of continuous entrainment is based on the observation that the period in free running (POE) to depend of the intensity light and suggests that the light has a continuous action on the biological clock to entrain it to a cycle light-darkness (L:D).

The mechanism suggested for this is the acceleration and deceleration of the POE (angular velocity), due to daily changes in the intensity of the light, these permit to circadian pacemaker is continuously adjusted along the environmental cycle.

The discrete model has been the most utilized model to explain the entrainment to environmental cycles. The basic premise of this model is that the circadian pacemaker entrained this in equilibrium with the cycle light: darkness (L:D), which consists of brief pulses of light (zeitgeber). When a brief pulse of light falls in a specific phase of the biological clock, this produces an phase response equal to the difference between the POE and the period of the cycle entrained.

The day-night cycles generated by the rotation of the earth around its axis influence the life of the organism to a large extension. Many organisms coordinate their activities to these cycles. Some of them are diurnal, while other ones nocturnal. Moreover other animals escape from the daily periodic environment and they organize their life in constant environments as in the depth of the ocean or in natural caverns.

It is not clear how and because biological clocks with a period of approximately 24 hours evolved in cyclic environments of exactly 24 hours. A possible explanation is that the cycles L:D provide an optimum stability for their expression.

There has been as were that the cycle L:D is the first environmental signal behind the emergency and maintenance of the circadian clocks.

A large number of cell functions are affected by the light, and is being speculated that the original organisms could have restricted some of their outstanding metabolic processes at night, thus avoiding the adverse effects of the light.

In fact, some organisms adjust several of their sensitive cell processes to the light. For example, there is an augmented replication of the DNA, at night to avoid the exposition to deleterious ultraviolet radiation.

Thus it is possible to propose a hypothesis of how the circadian clocks could evolve at phylogenetically level: the ancient organisms generated a temporary program, where sensitive processes to the light were temporarily restricted to avoid the damage induced by the sunlight; these temporary programs turned out to be advantageous and thus they were selected through evolution of species.

Key words: Entrainment, biological rhythms, photic entrainment, biological clock.

RESUMEN

Las fluctuaciones periódicas en diversos parámetros fisiológicos son una propiedad general de la materia viva; cuando estas fluctuaciones ocurren a intervalos regulares se consideran como «ritmos biológicos». Los ritmos biológicos son generados por un mecanismo endógeno del organismo.

Los ritmos biológicos se presentan en un amplio intervalo en frecuencias de oscilación, desde un ciclo por milisegundo a un ciclo por año. Por otra parte, el ambiente geofísico se caracteriza también por la existencia de ciclos que derivan de movimientos de la tierra y la luna en relación con el sol. Estos ciclos ambientales o geofísicos son los días, las mareas, las fases lunares y las estaciones del año. Cuando la frecuencia de un ritmo biológico se aproxima a la de un ciclo ambiental se le denomina con el prefijo “circa”; por esta razón, a los ritmos biológicos cercanos a las 24 horas se les llama ritmos circadianos.

Los ritmos circadianos representan uno de los rasgos adaptativos más ubicuos de los organismos. Así, en los mamíferos representan un importante proceso por medio del cual eventos del medio interno se organizan en una secuencia temporal apropiada que permite una máxima adaptación al medio externo. Esta característica permite al organismo predecir cambios en el ambiente geofísico asociado con el día y la noche, y prepararse para ellos.

Para llevar a cabo este papel adaptativo, los ritmos circadianos requieren que el sistema tenga la capacidad de medir el tiempo biológico, es decir, que el ritmo circadiano sea generado endógenamente, y que se pueda ajustar al tiempo geográfico, esto es, que en condiciones ambientales usuales, el periodo del oscilador se ajuste al periodo del ciclo ambiental.

El origen endógeno de la ritmicidad biológica se basa en el hecho de que, en condiciones de aislamiento de señales ambientales temporales, la ritmicidad biológica persiste, con una ligera pero significativa variación, en el valor del periodo de la oscilación. Lo anterior indica que el ritmo observado no depende de fenómenos geofísicos cíclicos, sino que el ritmo que se mantiene en condiciones constantes refleja un proceso interno del organismo. Esta capacidad esencial de los organismos para mantener la ritmicidad circadiana, aun en ausencia de señales ambientales periódicas, es conocida como ritmo en oscilación espontánea o en corrimiento libre (*free running*).

Sin embargo, los organismos no se encuentran aislados de señales temporales, sino que mantienen una estrecha relación temporal con las señales ambientales. Por lo anterior la fase y el periodo del ritmo transmitido puede ajustarse a la fase y al periodo de los cambios cíclicos ambientales: proceso llamado sincronización.

Se considera que las tres propiedades fundamentales de los ritmos circadianos son la persistencia del ritmo en corrimiento libre, la compensación de temperatura y la sincronización.

La palabra sincronización significa «acción de sincronizar» y ésta: «hacer que coincidan en el tiempo dos o más movimientos o fenómenos» (el término inglés *entrainment* proviene de la palabra francesa *entraîner*, «acarrear, generar»). En este contexto, la sincronización de un reloj biológico se genera por medio de un tren de estímulos controladores con un periodo determinado, que inducen a que un reloj biológico, con un periodo endógeno diferente de 24 horas, se ajuste al periodo del ciclo ambiental periódico.

La sincronización del reloj biológico proporciona al medio interno un estimado del tiempo externo. Este proceso puede ocurrir por una modulación del periodo y/o de la fase del ritmo biológico. Es decir, el periodo endógeno del ritmo biológico se ajusta al periodo del estímulo sincronizador con una relación de fase estable (o ángulo de fase) entre el sincronizador y la oscilación sincronizada.

Palabras clave: Sincronización, ritmos biológicos, sincronización luminosa, reloj biológico.

SINCRONIZACIÓN

La sincronización del reloj biológico proporciona al medio interno un estimado del tiempo externo. Este proceso puede ocurrir por una modulación del periodo y/o de la fase del ritmo biológico, es decir, el periodo endógeno del ritmo biológico se ajusta al periodo del estímulo sincronizador con una relación de fase estable (o ángulo de fase) entre el sincronizador y la oscilación sincronizada (2, 7, 23) (Figura 1).

Debido a que la función principal de la sincronización es proveer al medio interno de un estimado del tiempo ambiental externo, la sincronización se convierte en una propiedad fundamental para el organismo. De hecho las alteraciones de este proceso les pueden generar problemas de salud. Por ejemplo, la sin-

cronización puede explicar los patrones de sueño-vigilia de familias humanas que presentan el síndrome de avance en la fase de inicio del sueño, en la cual una mutación en el gen reloj *Per2* resulta en una fase temprana del inicio del sueño (32). La sincronización difiere de un simple acoplamiento entre dos sistemas biológicos oscilatorios, pues un sistema oscilatorio puede acoplarse a cambios diarios en el ambiente por respuestas pasivas a cambios en el ciclo de iluminación y de temperatura. En cambio, el proceso de sincronización requiere la presencia de un reloj biológico que genere oscilaciones autosostenidas y que responda en forma discriminada a los estímulos externos que puedan generar específicamente respuestas de fase por parte del mismo (27).

Las respuestas de fase de un reloj biológico a un estímulo externo son formalmente predecibles y son muy distintas a las respuestas pasivas. Por ejemplo, el reloj biológico tarda algunos ciclos en establecer una relación de fase estable con su sincronizador y responde inmediatamente con un sistema que reacciona pasivamente a una señal.

El término **fase** se refiere a un estado espontáneo en una oscilación. La fase de un ciclo puede definirse por algún punto de referencia de ritmo observable. En un ciclo luz: oscuridad, el amanecer y el anochecer se usan con frecuencia como puntos de referencia externa, donde el inicio de la actividad o el punto máximo de síntesis de una proteína pueden servir como puntos de referencia interna. La fase del reloj biológico en sincronización relaciona la fase interna con la externa y define el tiempo relativo de un evento circadiano dado (inicio de la actividad) dentro de las 24 horas del día del ciclo externo (8).

La fase del reloj biológico en sincronización no es fija, pues muestra una plasticidad que depende de algunos parámetros como: el periodo endógeno del reloj biológico (τ), el periodo del sincronizador (T), la proporción de luz y de oscuridad (fotoperiodo), así como de la potencia del sincronizador y su amplitud. La capacidad de los ritmos circadianos para ser sincronizados se refiere a la condición en la cual el periodo endógeno ($\tau = T$) y la fase ($\phi = \Phi$) del reloj biológico se ajustan al periodo (T) y la fase del estímulo cíclico externo (Φ) (donde $\tau^* = T$). Los osciladores pueden establecer diferentes fases de sincronización dependiendo de su periodo endógeno (τ) y del ciclo del sincronizador (T) predecido por la curva de respuesta de fase (CRF). De tal forma, cuando el oscilador tiene un periodo endógeno de 24 horas ($\tau = 24$) y el periodo del sincronizador es más corto o más largo que las 24 horas ($T = 23$ o $T = 25$), la sincronización estable se genera cuando el cambio de fase ($\Delta\phi$) corrige la diferencia entre τ y T , $\Delta\phi = \tau$, $T = 24 - 23 = -1$ o $\Delta\phi = \tau$, $T = 24 -$

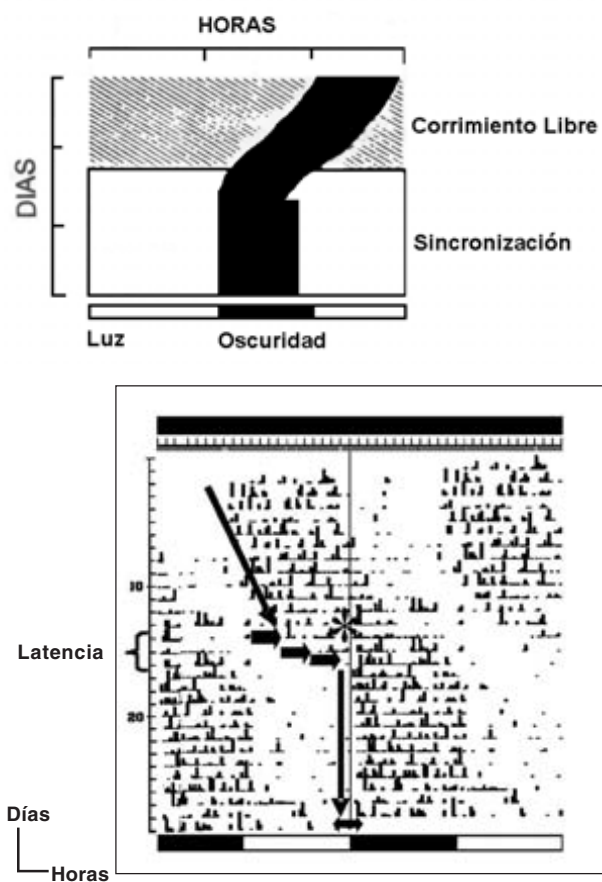


Fig. 1. Representación gráfica (A) de un ritmo en corrimiento libre (parte superior), el cual posteriormente se sincroniza en respuesta a un ciclo luz-oscuridad (parte inferior). En B se observa un actograma representativo de la conducta de ingesta de agua de una rata en oscuridad continua, la cual se coloca en condiciones de luz-oscuridad (*). Se pueden ubicar los días que tarda un ritmo en sincronizarse (latencia o transitorios), así como el ángulo de fase (el valor de la fase de una oscilación con referencia a un punto arbitrario) del ritmo en sincronización (flecha).

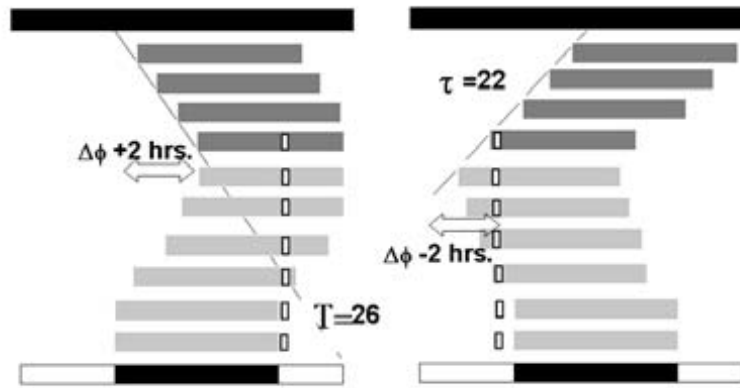


Fig. 2. Representación esquemática de la respuesta de dos relojes biológicos con diferente periodo endógeno ($\tau=26$; $\tau=22$) a una señal ambiental periódica con un periodo de 24 horas. Si el reloj circadiano tiene un periodo endógeno de 26 ($\tau=26$) o 22 horas, y el periodo del sincronizador es de 24 horas, la sincronización estable se genera cuando el cambio de fase ($\Delta\phi$) corrige la diferencia entre τ y T , ($\Delta\phi=\tau-T$) = $22-24=-2$ o ($\Delta\phi=\tau-T$) = $26-24=+2$. Los cuadros en blanco representan el momento del ciclo en que la luz afecta el reloj, el cual responde con adelantos o retrasos de fase con el fin de sincronizarse a la luz.

$25=+1$. En otras palabras, $\Delta\phi=(\tau-T)$: respuesta de fase=periodo endógeno-periodo del sincronizador (19, 24) (figura 2).

La relación de fase estable mantenida entre el sincronizador y un ritmo circadiano depende del período del sincronizador y del período endógeno del reloj biológico que transmite el ritmo (35). La relación de fase se define en términos de la diferencia en tiempo (hrs.) o de la diferencia en ángulo de fase (grados) entre la referencia de fase de las dos oscilaciones (4). La referencia de fase indica normalmente el inicio de la luz en un ciclo luz-oscuridad o el inicio de la fracción de actividad (CT 12) en un ritmo en oscilación espontánea. De esta forma, una de las funciones más relevantes del sistema circadiano es asegurar que la conducta y el medio interno se ajusten apropiadamente a los eventos diarios en el ambiente. Por medio del mecanismo de sincronización, muchas especies adoptan un nicho temporal que complementa su nicho espacial. Es por ello que los mamíferos pueden ser nocturnos, diurnos o crepusculares, o bien pueden limitar su actividad a tiempos determinados del día. Las relaciones entre los ritmos circadianos y las señales temporales ambientales maximizan la supervivencia de cada especie a su nicho temporal, dado que la disponibilidad de alimento y la actividad de los predadores son también cíclicas (9).

SINCRONIZADORES

Estudios en que se sometió a los sujetos a un aislamiento temporal riguroso indicaron que sólo ciertas variables ambientales son capaces de actuar como señales temporales para el sistema circadiano. En 1951, Aschoff acuñó el termino *Zeitgeber*: «Sincronizador»

(del alemán «indicador de tiempo»), el cual describe un ciclo ambiental periódico capaz de afectar el periodo y la fase de un reloj biológico (10). En la naturaleza, múltiples señales ambientales oscilan bajo un ciclo diario, que incluye la luz, la oscuridad, la temperatura, la humedad, la disponibilidad de alimento y las señales sociales. Aunque algunos de estos factores pueden actuar como sincronizadores del reloj biológico, la señal ambiental más predecible y consistente es el ciclo de 24 horas de luz-oscuridad (L:O). Casi todos los ritmos circadianos endógenos pueden ser sincronizados al ciclo L:O (22).

En los mamíferos, la primera exposición a una señal ambiental cíclica se da en el útero; en este caso, la concentración de nutrientes y hormonas que pasan de la placenta al torrente sanguíneo del feto refleja la ritmicidad circadiana de la madre. Estas señales representan aparentemente una fuerte señal que sincroniza el reloj biológico del feto (26) con el reloj biológico de la madre.

Como se mencionó anteriormente, debido a que el amanecer y el ocaso son los indicadores más precisos y confiables de los cambios diarios en el ambiente, no es sorprendente que la luz sirva como la principal señal temporal responsable de la sincronización del reloj biológico con el ambiente. En todas las especies de mamíferos, nocturnas y diurnas (sólo en el humano es controversial su efecto [6, 34]), el ciclo L:O es la principal señal de sincronización. Esto se debe a su estabilidad en el periodo y la fase, lo que la vuelve más predecible, por lo que se considera la principal señal de sincronización del reloj biológico (*sincronización luminosa*) (22, 24).

Sin embargo, los organismos pueden ser sincronizados por otros estímulos (*sincronización no luminosa*) como la temperatura, los campos electrostáticos,

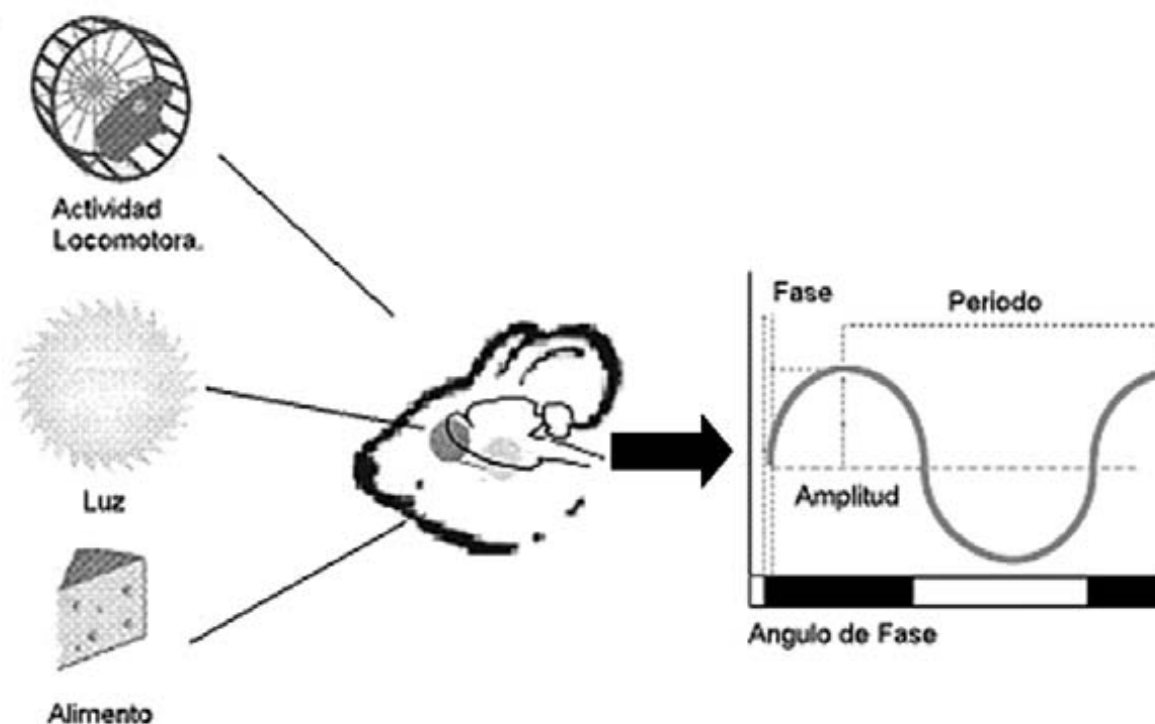


Fig. 3. Esquema que representa tres tipos distintos de sincronizadores que afectan el reloj biológico localizado en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo de los mamíferos.

la presión ambiental, el sonido, la disponibilidad de alimento (13) y las señales sociales, aun en la presencia del ciclo L:O (14). De hecho, estos estímulos pueden preservar en algunos casos la función circadiana aun después de la ablación del reloj biológico (núcleo supraquiasmático, NSQ) en roedores (15, 31) (figura 3).

Para demostrar que la oscilación de una variable ambiental actúa como una señal sincronizadora del sistema circadiano, deben ocurrir los siguientes eventos:

1. Que el periodo del ritmo en oscilación espontánea sea el mismo antes y después de exponerse a la señal temporal.
2. Que el periodo endógeno del ritmo circadiano (τ) se ajuste al periodo del ciclo ambiental (T), igualando su valor.
3. Que se establezca y se mantenga una relación de fase estable entre el ritmo y el sincronizador.
4. Que al retirarse la señal temporal, el ritmo inicie su oscilación espontánea en la fase determinada por el ciclo ambiental y no por el ritmo previo a la sincronización.

El ajuste de tau sólo es posible dentro de ciertos límites de frecuencia del periodo del sincronizador (T). Estos límites conforman el *intervalo de sincronización* para el marcapaso circadiano (de 21 a 28 hrs. para la luz). Sólo cuando la frecuencia de la señal temporal se en-

cuentra dentro de este intervalo, puede ser efectiva ésta y sincronizar un ritmo biológico (20, 21). Este efecto se incrementa al aumentar la potencia del sincronizador. A su vez, esta potencia afecta la ritmicidad en tres parámetros: a) en la velocidad de los cambios de fase, b) en la estabilidad del control de la fase y c) en el intervalo de sincronización (4, 24).

EVOLUCIÓN DE LA SINCRONIZACIÓN A LA LUZ

Los ciclos día-noche generados por la rotación de la tierra alrededor de su eje influyen en la vida de los organismos en una gran extensión. Muchos organismos coordinan sus actividades a partir de estos ciclos. Algunos son diurnos otros nocturnos, en tanto que otros más se escapan del ambiente periódico diario y organizan su vida en ambientes constantes como la profundidad del océano o las cavernas naturales.

No es claro cómo y por qué los relojes biológicos, con un periodo de aproximadamente 24 horas, evolucionaron en ambientes cíclicos de exactamente 24 horas. Una posible explicación es que los ciclos L:O proveen de una óptima estabilidad para su expresión.

La relación de fase (ψ) entre la fase del reloj biológico y el ciclo L:O depende del POE (τ , del periodo del ciclo L:O [T] y de la CRF inducida por la luz) (22,

24, 30). Como consecuencia, una pequeña fluctuación en τ , cuando τ es igual a 24 horas, puede causar grandes cambios en Ψ . En cambio, grandes fluctuaciones en τ , cuando es diferente a 24 horas, sólo causa cambios ligeros en Ψ . Por lo tanto, los relojes circadianos con una τ diferente a 24 horas son usualmente más estables que los que muestran τ iguales a 24 horas. Esto sugiere que la selección natural seleccionó los relojes biológico que tenían la capacidad de mantener una Ψ estable entre las fluctuaciones internas y el ambiente periódico externo. Por lo anterior, podría decirse que los relojes biológicos con un POE diferente a 24 horas pudieron ser una estrategia bien planeada de la selección natural más que un error.

Se cree que el ciclo L:O es la primera señal medioambiental detrás del surgimiento y mantenimiento de los relojes circadianos (12). Como gran número de funciones celulares son afectadas por la luz, se ha especulado que los organismos primigenios pudieron haber restringido algunos de sus procesos metabólicos relevantes a la noche para evitar los efectos adversos de la luz (25). De hecho, algunos organismos ajustaron varios de sus procesos celulares sensibles a la luz -como la replicación del ADN- a la noche para evitar la exposición a radiaciones ultravioleta deletéreas (16).

Esto sugiere una hipótesis de la evolución de los relojes circadianos: los primeros organismos generaron un programa temporal, según el cual los procesos sensibles a la luz se restringían temporalmente para evitar el daño inducido por la luz solar. Este programa temporal resultó ventajoso y por ello fue seleccionado.

Alternativamente, el origen de los relojes circadianos también puede atribuirse a la presión de la selección debida a un incremento en los niveles de oxígeno en el ambiente (17). Acorde a esta hipótesis, en el caso del aumento en los niveles de oxígeno libre en la evolución temprana de los eucariontes, se cree que éstos se vieron forzados a minimizar los efectos deletéreos de la exposición fotooxidativa a causa del desarrollo de la ritmicidad circadiana en sus procesos metabólicos. Así, los eucariontes más primitivos restringieron su actividad para protegerse de los efectos nocivos de la luz y el oxígeno libre. De acuerdo con esta misma hipótesis, los relojes circadianos pudieron haber evolucionado en respuesta a sus ciclos L:O diarios.

Considerando que los relojes circadianos son cruciales para medir el tiempo fotoperiódico, se ha propuesto que éstos emergieron en asociación con los mecanismos de medición del tiempo fotoperiódico (5). De hecho, algunos organismos multicelulares y pocos organismos unicelulares, como las clamidomonas y el *goniaulax* (sujetos unicelulares fotosintéticos), presentan fotoperiodismo. En cambio, pocos organismos

multicelulares y unicelulares que poseen relojes circadianos son fotoperiódicos (12). Lo anterior sugiere que los relojes circadianos emergieron a la par que la medición del tiempo fotoperiódico. De esta manera, la aparición en los organismos de un mecanismo de generación de oscilaciones autosostenidas les permitió sobrevivir aun en ausencia de señales fotoperiódicas.

Otra hipótesis es que la presión de la selección natural generó los relojes circadianos con el fin de coordinar internamente los procesos celulares relevantes para el organismo. De tal forma, dos procesos incompatibles, que requieren diferentes condiciones fisicoquímicas para funcionar, están separados eficientemente en tiempo y espacio.

Agradecimiento:

Los autores agradecen el apoyo de la Fundación Gonzalo Ríos Arronte, proyecto INP-2040 y SEP-CONACYT, proyecto 2004-CO1-47804.

REFERENCIAS

1. AGUILAR-ROBLERO R: Teorías básicas de los ritmos biológicos. *Psiquis*, 2:121-132, 1993.
2. ASCHOFF J: Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 25:11-28, 1960.
3. ASCHOFF J: A survey on biological rhythms. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Edit. Aschoff J. Plenum Press. Vol.4:3-10, Nueva York, Londres, 1981a.
4. ASCHOFF J: Freerunning and entrained circadian rhythms. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Edit. Aschoff J. Plenum Press, Vol. 4:81-92, Nueva York, Londres, 1981b.
5. BUNNING E: *The Physiological Clock*. English University Press, 258-275, Londres, 1973.
6. CZEISLER CA, RICHARDSON GS, ZIMMERMAN JC, MOORE-EDE MC, WEITZMAN ED. Entrainment of human circadian rhythms by light-dark cycles: a reassessment. *Photochem Photobiol*, 34(2):239-47, 1981.
7. DAAN S, ASCHOFF J: The Entrainment of Circadian Rhythms. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Takahashi JS, Turek FW, Moore RY (eds.). Plenum Press, Vol. 12:7-40, Nueva York, Londres, 2001.
8. DAAN S, MERROW M, ROENNEBERG T: External time-internal time. *J Biol Rhythms*, 17(2):107-9, 2002.
9. DECOURSEY PJ: Light-sampling behavior in photoentrainment of a rodent circadian rhythm. *J Comp Physiol*, 159(2):161-9, 1986.
10. GRIFFITHS RA: Natural environmental cues and circadian rhythms of behaviour-a perspective. *Chronobiol Int*, 3(4):247-53, 1986.
11. HALBERG F: Chronobiology. *Ann Rev Physiol*, 31:675-725, 1969.
12. HASTINGS MH: Neuroendocrine rhythms. *Pharmacol Ther*, 50(1):35-71, 1991.
13. KRIEGER DT: Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity and brain amine periodicity. *Endocrinology*, 95(5):1195-201, 1974.
14. MOORE RY: Suprachiasmatic nucleus, secondary synchronizing stimuli and the central neural control of

- circadian rhythms. *Brain Res*, 183(1):13-28, 1980.
15. MOORE RY: Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. *Fed Proc*, 42(11):2783-9, 1983.
 16. NIKAIDO SS, JOHNSON CH: Daily and circadian variation in survival from ultraviolet radiation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Photochem Photobiol*, 71(6):758-65, 2000.
 17. PAIETTA J: Photooxidation and the evolution of circadian rhythmicity. *J Theor Biol*, 97(1):77-82, 1982.
 18. PITTENDRIGH CS: Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 25:159-84, 1960.
 19. PITTENDRIGH CS, MINIS DH: The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. *Am Nat*, 98:261-294, 1964.
 20. PITTENDRIGH CS, MINIS D: Circadian systems: longevity as a function of circadian resonance in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 69(6):1537-9, 1972.
 21. PITTENDRIGH CS, CALDAROLA P: General homeostasis of the frequency of circadian oscillations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 70(9):2697-701, 1973.
 22. PITTENDRIGH CS, DAAN S: A functional analysis of circadian pacemaker in nocturnal rodents. I-V. *J Comp Physiol*, 106:223-355, 1976.
 23. PITTENDRIGH CS: Circadian systems: General perspective. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Edit. Aschoff J. Plenum Press, Vol.4:95-123, Nueva York, Londres, 1981a.
 24. PITTENDRIGH CS: Circadian systems: Entrainment. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Edit. Aschoff J. Plenum Press, Vol.4:95-123, Nueva York, Londres, 1981b.
 25. PITTENDRIGH CS: Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annu Rev Physiol*, 55:16-54, 1993.
 26. REPPERT SM, CHEZ RA, ANDERSON A, KLEIN D: Maternal-fetal transfer of melatonin in the non-human primate. *Pediatr Res*, 13(6):788-91, 1979.
 27. ROENNEBERG T, DAAN S, MERROW M: The art of entrainment. *J Biol Rhythms*, 18(3):183-94, 2003.
 28. RUSAK B, ZUCKER I: Biological rhythms and animal behavior. *Annu Rev Psychol*, 26:137-71, 1975.
 29. RUSAK B, ZUCKER I: Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol Rev*, 59(3):449-526, 1979.
 30. SHARMA VK, CHIDAMBARAM R: Intensity-dependent phase-adjustments in the locomotor activity rhythm of the nocturnal field mouse *Mus booduga*. *J Exp Zool*, 292(5):444-59, 2002.
 31. STEPHAN FK, SWANN JM, SISK CL: Entrainment of circadian rhythms by feeding schedules in rats with suprachiasmatic lesions. *Behav Neural Biol*, 25(4):545-54, 1979.
 32. TOH KL, JONES CR, HE Y, EIDE EJ, HINZ WA y cols.: An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science*, 291(5506):1040-3, 2001.
 33. TUREK FW: Circadian rhythms. *Recent Prog Horm Res*, 49:43-90, 1994.
 34. WEVER R: The influence of self-controlled changes in ambient temperature on autonomous circadian rhythms in man. *Pflugers Arch*, 352(3):257-66, 1974.
 35. WINFREE AT: Phase control of neural pacemakers. *Science*, 197(4305):761-3, 1977.