

ENMASCARAMIENTO. UN TIPO DE SINCRONIZACIÓN.

PRIMERA PARTE*

Alberto Salazar-Juárez¹, Leticia Parra-Gámez², Susana Barbosa Méndez¹, Philippe Leff¹, Benito Antón¹

SUMMARY

Organisms adapt their temporary niche with two complementary mechanisms. The first mechanism is referred to as *entrainment of the endogenous biological clock*, which circumscribes temporarily the activity of the subject into day or night. The second mechanism is defined as masking, and this refers to an alternative route which does not involve the activity of the pacemaker. It involves, instead, a sharp response of the animal during light-time, inhibiting or enhancing the expression of locomotor activities in nocturnal or diurnal species, respectively. *Masking* describes the direct and immediate effects on the expression of any biological rhythm induced by the season-dependent signals present in the environment. Moreover, this masking mechanism appears to complement the biological clock *entrainment*, which is used by organisms to adapt to their specific nocturnal or diurnal niche.

Several constraints arise when trying to study the biological clock entrainment or the light-associated oscillators system. These are due to the fact that the *zeitgeber* influences the biological clock and affects the output response of the circadian clock. According to the aforementioned description, it appears the masking effects occur as a natural event and result from an inevitable consequence to the season-dependent life of living organisms. Circadian rhythms do not only reflect the physiological output responses of the biological clocks as their activities also result from a mixture of responses arising either from the masking effects and/or from the entrainment mechanisms driving the timing of the biological clock within the animal.

Although conspicuous differences do exist between masking- and entrained- rhythms, both rhythms follow a similar time-course. Nevertheless, the transition between light and darkness (environmental change) under the masking rhythm results in abrupt changes in the animal behavior activity (i.e., from a resting to an ambulatory activity or viceversa). In contrast, when the environment acts as a *zeitgeber* under the biological clock entrainment, the behavioural transition of the animal appears to be less abrupt and, therefore, the environment factors affecting the biological rhythms never match.

Based on different chronobiological studies in animals, several authors have described different forms of masking mechanisms used by the brain, and classified according to the light-induced

decrease or increase locomotor activity responses: a) *Positive Masking* refers to the increase or decrease of locomotor activity response in a diurnal or nocturnal animal, respectively, as a result of the increase in lighting; b) *Negative Masking* refers to the decrease of locomotor activity responses as a result of decrease in lighting in a diurnal animal, or an increase in lighting in a nocturnal animal; c) *Paradoxical Positive Masking* refers either to the increase locomotor activity responses of a nocturnal animal exposed to increase lighting or an increase in locomotor activity responses in a diurnal animal after lighting decreases; d) *Paradoxical Negative Masking* refers to the decrease of locomotor activity responses in a nocturnal animal when lighting is decreased, or to the decrease of locomotor activity responses in a diurnal animal when lighting is increased.

In addition to the aforementioned classification of different masking mechanisms on the behavioral locomotor activity responses in both diurnal and nocturnal animals, other authors classify different forms of masking, based on the neural mechanisms that generate the masking effects. Authors defined the occurrence of different forms of masking effects when environmental factors (i.e., light, darkness) produce direct or indirect effects on the circadian rhythm in an animal. Thus, a) *Type I masking* occurs when the environment produces a direct effect on the circadian rhythm output; b) *Type II masking* occurs when behavioral changes in the animal affect other physiological brain-rhythms, for instance, an increase or decrease of behavioral locomotor activity may affect the temperature rhythm of an organism, enhancing the expression of an altered activity on the biological clock; c) *Type III masking* occurs when physiological or biochemical changes alter the neural output of the biological clock that conveys the time-related information of the biological rhythm; for instance, physiological or pathological conditions have been shown to affect the functional activity of specific neural pathways and their membrane receptors involved in the regulation of the body temperature. Such situations appear to modify the phase of the body temperature rhythm with the phase of the biological clock, which both rhythms appear to match under basal conditions.

The sensibility limits necessary to generate the inhibition of the synthesis and release of melatonin, in rats and hamster, suggest the involvement of the rods, the predominant photore-

1. Subdirección de Investigaciones Clínicas. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.

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

Correspondencia: Alberto Salazar Juárez. Subdirección de Investigaciones Clínicas. Laboratorio de Neurobiología Molecular y Neuroquímica de las Adicciones. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Calz. México-Xochimilco 191, San Lorenzo Huipulco, 14370, México DF. Tel: (5255) 5655-2811(Ext. 528 o 105), Fax: (5255) 5513-3722, Email: asalazar@ifc.unam.mx

*Las referencias bibliográficas aparecerán en la segunda parte de este artículo. Vol. 30, No. 1, enero-febrero de 2007.

Recibido: 24 de julio del 2006. Aceptado: 14 de agosto del 2006.

ceptor in the rodent retina. Nevertheless, studies the mutant mice rd/rd (the mutation rd generates the total loss of photoreceptors type rods and a considerable loss of photoreceptors type cones) presented an inhibition in the synthesis and release of the melatonin and locomotor activity induced by the light. This suggests that the photoreceptors type cones and rods are not necessary to mediate the effects of the light on the locomotor activity and that the light masking depends on another type of contained photoreceptor in the retina.

Some studies report the loss of the rhythmycity in drinking, locomotion or sleep-wakefulness, not only when the animals are kept in light constant, also when the animals are kept under light-darkness cycles (L:D).

Other studies that involve to mutant mice of the two genes cryptocromos, which they are arrhythmic in constant conditions; they show a SCN functional diminished, light pulses applied in the subjective night do not generate alterations in the inhibition of the locomotor activity induced by the light. This suggests the loss of the masking responses induced by light. Certainly, these results point to a loss or attenuation of the masking by the SCN lesion. On the other hand, other works showing a persistence of the masking pd drinking and locomotor activity in L:D conditions after the SCN lesions.

The lesions of other structures of the rodent visual system alter the light masking. It is more a significant increase of the masking in subjects with IGL lesion is observed. Subsequently, it was reported that the masking induced by the light was more significant in mice that were submitted to an NGLd lesions, which suggests that the increase in the masking to the light observed after the IGL lesions are probably due to an incidental damage of the NGLd. It also has been reported that the light masking increase after the visual cortex lesions in hamster and mice.

The mutant mice clock shows brilliant light pulses: between 100 to 1600 lux they induce a complete suppression of the locomotor activity (negative masking). On the other hand, dim light pulses induce an increment of the basal levels of the locomotor activity (positive masking) in a similar way to that of the normal subjects. The participation of other genes clock in the regulation of the light-masking has not been specific.

The masking is not a limited phenomenon to conditions of laboratory. There are few examples of the direct effects of light on the temporary organization of the behavior in wildlife. An impressive case is the owl primate (*Aotus lemurinus griseimembra*), which shows a pattern of locomotor activity that depends on the lunar cycle. This primate is nocturnal, but its activity increases (positive masking) when the luminescence is found between 0.1 and 0.5 lux, the luminescence generated precisely by the brightness of the moon. Intensities of light lower to this diminish the locomotor activity (negative masking) of the subject.

The masking mechanism is an important process in the adaptation of an organism to its environment as it confers this the capacity to respond quickly to a sudden change in environmental conditions.

Since the functional point of view the masking contributes to an increment in the amplitude of a entrainment rhythm, promotes direct responses to geophysical variables that the organism selects that they optimize its evolution and its adaptation to its temporary niche, all this contributes to an increase in the probability of survival of the subject to its environment.

Key words: Masking, biological rhythms, photic entrainment and biological clock.

RESUMEN

Una de las más importantes funciones del sistema circadiano es asegurar que las variables fisiológicas y conductuales se ajusten apropiadamente a las señales ambientales periódicas, fenómeno denominado sincronización. Por medio de este mecanismo, muchas especies adoptan un nicho temporal que complementa a su nicho espacial. De este modo, los mamíferos pueden ser nocturnos, diurnos o crepusculares, o bien pueden confinar su actividad a tiempos limitados del día. En algunas condiciones, los estímulos sincronizadores pueden generar una aparente sincronización del organismo a su ambiente. En estas circunstancias, el estímulo actúa directamente sobre los efectores del reloj biológico sin afectarlo, fenómeno llamado enmascaramiento. De tal modo, las señales ambientales periódicas tienen un efecto dual sobre los ritmos circadianos. En 1978, Aschoff describió: "Una de las dificultades de analizar la sincronización de un reloj biológico a una señal ambiental es el hecho de que el sincronizador no afecta sólo al reloj biológico, sino que usualmente afecta también a los efectores del mismo, que expresan el ritmo biológico". Por lo anterior, se puede considerar que los efectos del enmascaramiento son una consecuencia natural e inevitable de la vida en ambientes rítmicos. De tal forma, los ritmos biológicos expresados por los efectores del reloj biológico son una mezcla de efectos debidos al enmascaramiento y de aquéllos de un sistema temporal interno del animal. Existe una importante diferencia entre el patrón temporal de expresión de un ritmo sincronizado y uno enmascarado. Cuando una señal ambiental periódica enmascara un ritmo biológico, el curso temporal es muy similar, mas no idéntico, a cuando un ritmo circadiano se sincroniza a la misma señal ambiental. En el caso de un ritmo enmascarado, la transición entre los dos estados conductuales es abrupta como el cambio en la señal ambiental. En cambio cuando el ambiente actúa como sincronizador, la transición conductual es gradual y la relación de fase entre la señal ambiental periódica y el ritmo circadiano es inexacta. Existen dos procesos que compiten por el control de los efectores (osciladores periféricos) que expresan a los ritmos circadianos en un organismo: un proceso inhibitorio que está relacionado con una iluminación brillante (enmascaramiento negativo) y un proceso estimulatorio relacionado con una iluminación muy tenue, debajo de 1 lux (enmascaramiento positivo). La reducción inmediata de la liberación de la melatonina, por la acción de la luz sobre la glándula pineal, y la inhibición de la actividad locomotora, en roedores nocturnos después de un pulso de luz en la noche, son ejemplos de esto. Los límites de sensibilidad espectral necesarios para generar la inhibición en la síntesis y la liberación de melatonina y de la actividad locomotora, en ratas y hamsters, sugieren la participación de fotorreceptores tipo bastones, esto es el fotorreceptor predominante en la retina del roedor. Sin embargo, los ratones mutantes rd/rd, muestran una supresión de la liberación de la melatonina y de la actividad locomotora después de un pulso luz. Esto sugiere que los fotorreceptores tipo conos y bastones no son necesarios para mediar los efectos agudos de la luz sobre la síntesis y la liberación de melatonina y de la actividad locomotora y que el enmascaramiento a la luz depende de otro tipo de fotorreceptor contenido en la retina. La lesión del NSQ induce la pérdida de diferentes ritmos circadianos en ciclos de luz-oscuridad (L:O). Otros trabajos reportan, en cambio, la persistencia del enmascaramiento inducido por la luz en condiciones de L:O después de la lesión del NSQ. La lesión de otras estructuras del sistema visual del roedor altera la respuesta de enmascaramiento a la luz. De hecho, la lesión de la IGL y de la corteza visual induce un aumento significativo del enmascaramiento en hamsters y ratones.

A los ratones mutantes del gen CLOCK, pulsos de luz brillante, entre 100 a 1600 lux, inducen una disminución de la actividad locomotora del sujeto, pero no la suspenden completamente. Por otro lado, pulsos de luz tenue inducen un incremento de los niveles basales de la actividad locomotora (enmascaramiento positivo) de manera similar a los sujetos normales. No ha sido determinada la participación de otros genes reloj en la regulación del enmascaramiento a la luz.

Palabras clave: Enmascaramiento a la luz, sincronización, ritmos biológicos, reloj biológico.

La adaptación de un organismo a su nicho temporal depende de dos mecanismos complementarios. El primero se refiere a la sincronización de un reloj endógeno, el cual a su vez organiza temporalmente la actividad del sujeto y la circumscribe al día o a la noche. Este mecanismo se denomina **sincronización**. El segundo mecanismo se refiere a una ruta alternativa en que no interviene un marcapaso, pues implica una respuesta aguda de parte del sujeto a la luz, la cual inhibe o promueve la expresión de la actividad locomotora dependiendo de si la especie es nocturna o diurna. Este mecanismo se llama **enmascaramiento** (9, 11, 63). De tal manera, el término enmascaramiento es usado normalmente para describir los efectos directos e inmediatos ejercidos por una señal periódica ambiental externa sobre la expresión de un ritmo (8, 115). Ejemplo de ello es el incremento en la actividad locomotora observado comúnmente en algunas especies que coincide con el momento en que son presentados la luz o el alimento (95). Es obvio que el enmascaramiento complementa el mecanismo de sincronización de un reloj biológico a las señales ambientales externas, como una vía alterna que ayuda a los organismos a especializarse en un nicho específico (nocturno o diurno) (72). De hecho, el enmascaramiento se presenta en sujetos con lesiones electrolíticas del reloj biológico (núcleo supraquiasmático-NSQ) (93) y en ratones arrítmicos, a los cuales les falta un componente de la maquinaria molecular que conforma el reloj biológico (el gen Cry, criptocromo) (79). Esto sugiere que los mecanismos de sincronización y enmascaramiento a la luz son procesos conductuales y fisiológicos independientes, que permiten al organismo responder de diferentes maneras a la luz. Además, sugiere que la regulación de cada uno de estos mecanismos se localiza en distintas regiones del Sistema Nervioso Central.

Definición y clasificaciones

Una de las dificultades de analizar la sincronización de un reloj biológico o un sistema de osciladores a la luz, es el hecho de que el sincronizador no sólo influye en el reloj biológico, pues éstos también afectan usual-

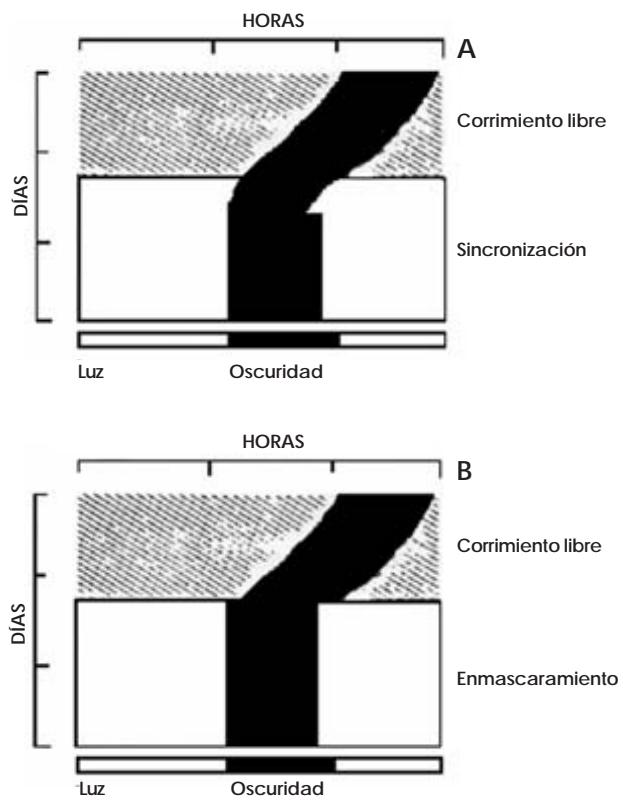


Fig. 1. Curso temporal de un ritmo sincronizado y de un ritmo enmascarado; en ambos casos es muy similar. La diferencia radica en que, en el caso del enmascaramiento (B), la transición es abrupta como el cambio ambiental. En cambio, cuando el ambiente actúa como sincronizador del reloj biológico, la transición no es abrupta, es decir, tarda varios días en ajustarse al sincronizador (A).

mente a los efectores del reloj circadiano (6). Considerando lo anterior, los efectos del enmascaramiento son una consecuencia natural e inevitable de la vida en un ambiente rítmico. Los ritmos expresados por los efectores, regulados por el reloj biológico en estas condiciones, pueden resultar de una mezcla de los efectos del enmascaramiento y los debidos a la sincronización de un sistema temporal interno del animal. Sin embargo, existen importantes diferencias entre un ritmo enmascarado y un ritmo sincronizado. En ambos el curso temporal es muy similar. En el enmascaramiento, la transición entre los dos estados conductuales es abrupta, similar a los cambios en la señal ambiental. En cambio, cuando el ambiente actúa como sincronizador y sincroniza un reloj biológico, la transición conductual es menos abrupta y la coincidencia entre factores ambientales y ritmos expresados es inexacta (8, 76, 115) (figura 1).

El enmascaramiento puede ser excluido de los protocolos de investigación mediante medidas de control de fase como la oscuridad continua y el fotoperiodo esqueleto (76). Desde el punto de vista funcional, el enmascaramiento contribuye a un incremento en la

amplitud de un ritmo en sincronización, pues promueve respuestas directas e inmediatas a variables geofísicas que el sujeto selecciona y que optimizan su evolución y su adaptación a su nicho temporal. Todo esto contribuye a un aumento en la probabilidad de supervivencia del sujeto a su ambiente. En general, el enmascaramiento es un fenómeno importante, que se relaciona cercanamente con el control del reloj en niveles fisiológicos. El término enmascaramiento fue usado y discutido primero en relación con los ritmos circadianos por Aschoff en 1960. Sin embargo, él citó un reporte previo de 1947 (35), en el cual el enmascaramiento se definía de manera muy general como: "Un factor enmascarador es una vía por la cual una segunda identidad opera sobre el organismo y amplía las capacidades de éste, como si este factor no estuviera presente" (35). En este caso, la definición necesita ampliarse con el fin de determinar la dirección del efecto sobre las variables rítmicas. Estas pueden ser aumentadas o disminuidas por el estímulo ambiental externo. De aquí nace el término enmascaramiento positivo y negativo usado para explicar los efectos de activación e inhibición de la actividad locomotora debidos a los cambios de iluminación en especies diurnas y nocturnas (10, 64). La luz ejerce efectos opuestos en algunas especies. Así, el enmascaramiento positivo se usa para describir un aumento en la actividad locomotora inducido por la luz en especies diurnas y por la oscuridad en especies nocturnas. A su vez, el enmascaramiento negativo se usa para describir la supresión de la actividad locomotora inducida por la oscuridad en especies diurnas y por la luz en especies nocturnas (10). Cabe decir que existen reservas acerca de estas definiciones. En primer lugar, cuando uno describe un enmascaramiento positivo o negativo, puede tratarse o no de procesos separados; es decir, cuando un sujeto diurno aumenta su actividad locomotora en respuesta a la luz, el fenómeno puede ser el resultado de un enmascaramiento positivo inducido por la luz. Este efecto puede eliminarse posteriormente por un enmascaramiento negativo debido a la oscuridad. Por lo anterior, el término enmascaramiento positivo y negativo indica simplemente el fenómeno de que uno no observa el proceso fundamental que lo origina. Además, la dirección de la respuesta de enmascaramiento es específico del patrón conductual estudiado, ya que no es específico del tipo de estímulo usado, sea luz u oscuridad (10, 76). Esto sugiere que el enmascaramiento complementa y maximiza la sincronización de una conducta circadiana a su ambiente.

En ciertas ocasiones, algunos animales nocturnos aumentan su actividad locomotora cuando se les aplica un pulso de luz en oscuridad continua; este fenómeno se designa como enmascaramiento paradójico

(75). Si se observa un aumento en la actividad locomotora en respuesta a la luz, en el caso de un animal nocturno, uno puede calificarlo como enmascaramiento paradójico positivo. La dirección de la respuesta del enmascaramiento paradójico se determina cuando, al igual que en el caso del enmascaramiento negativo y positivo, se observa un incremento o una disminución en la actividad locomotora en especies diurnas y nocturnas (76).

En resumen, estos son los distintos tipos de enmascaramiento que se basan en el criterio de disminución o aumento de la actividad locomotora en respuesta a la luz:

- *Enmascaramiento positivo.* Es un incremento en la actividad debido a un aumento en la iluminación en un animal diurno o a una disminución en la iluminación en un animal nocturno.
- *Enmascaramiento negativo.* Es un decremento en la actividad debido a una disminución en la iluminación en un animal diurno o a un incremento en la iluminación en un animal nocturno.
- *Enmascaramiento positivo paradójico.* Es un aumento en la actividad después de un incremento en la iluminación en un animal nocturno o un incremento en la actividad después de un decremento en la iluminación en un animal diurno.
- *Enmascaramiento negativo paradójico.* Es una disminución en la actividad después de un decremento en la iluminación en un animal nocturno o una disminución en la actividad después de un incremento en la iluminación en un animal diurno (figura 2).

En la bibliografía se han reportado relativamente pocos ejemplos de estos tipos de enmascaramiento. En animales diurnos, el enmascaramiento positivo o negativo se presenta como un aumento de la actividad locomotora después de la transición de la oscuridad a la luz, así como una disminución de la actividad locomotora después de la transición inversa (14). Para sujetos nocturnos, el enmascaramiento positivo y negativo han sido reportados en muchos estudios (9, 31, 73). El enmascaramiento paradójico se ha reportado en aves diurnas como una inhibición del movimiento de estos sujetos en presencia de la luz (33). En mamíferos, el enmascaramiento paradójico se puede observar en las transiciones entre la luz y la oscuridad en las ratas *Nile grass* (*Arvicantis noloticus*). Estos sujetos presentan un patrón diurno de actividad, esto es, son generalmente activos durante el día, pero su actividad locomotora aumenta al final de la oscuridad. Es decir, la actividad se inicia antes de que las luces se enciendan, lo cual puede considerarse como una sincronización con un ángulo de fase positivo al sincronizador; sin embargo, su actividad locomotora disminuye cuando

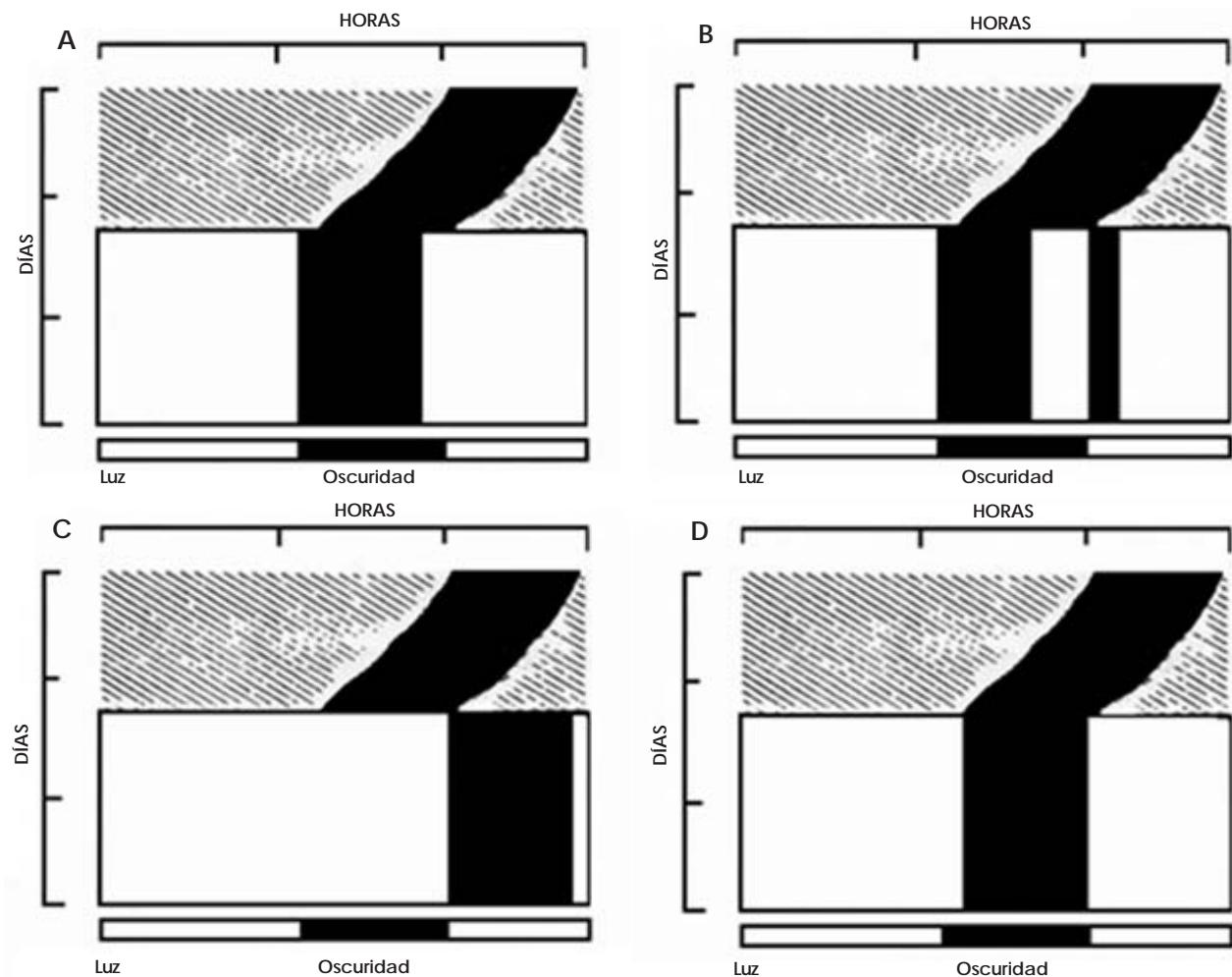


Fig. 2. Clasificación del enmascaramiento con base en el efecto de la luz sobre la actividad locomotora. En A se presenta un ejemplo de enmascaramiento positivo, en el cual se observa un incremento en la actividad debido a una disminución en la iluminación en un animal nocturno. En B se muestra un ejemplo de enmascaramiento negativo. En este caso se advierte un decremento en la actividad debido a una disminución en la iluminación en un animal diurno. En C se presenta un ejemplo de enmascaramiento positivo paradójico, en que se observa un aumento en la actividad después de un incremento en la iluminación en un animal nocturno. Finalmente, en D se muestra un ejemplo de enmascaramiento negativo paradójico, en que se muestra una disminución en la actividad después de un decremento en la iluminación en un animal nocturno.

las luces se encienden (47, 97). El enmascaramiento paradójico en sujetos nocturnos se ha reportado en diferentes especies (31, 38, 84, 87). Los primates nocturnos *owl* son más activos cuando se encuentran en luz tenue que en oscuridad total. Este ejemplo ilustra el valor adaptativo del enmascaramiento paradójico, ya que estos primates sólo son activos durante la noche, por lo cual pueden clasificarse como una especie nocturna. Aun así, su actividad nocturna está más o menos confinada a cuando se presenta la luna o cuando se estimulan en laboratorio con intensidades de luz cercanas a la intensidad de la luz de luna. Lo anterior aumenta la capacidad visual de un animal arbóreo, el cual brinca entre las ramas o corre a lo largo de ellas, actividad que podría ser peligrosa en oscuridad total. En cambio, es probable que a un animal nocturno,

con las extremidades firmes sobre el suelo, no le sea necesario tener luz tenue para moverse en oscuridad total (31).

Otra clasificación de enmascaramiento fue planteada por Minors y Waterhouse en 1989 (63). Ellos usaron el término enmascaramiento para incluir "todos los procesos que distorsionan la salida original del reloj biológico; estos procesos pueden originarse dentro o fuera del organismo". Esto ocasiona que, en estas condiciones, la expresión de los ritmos circadianos sea una representación imperfecta del reloj biológico. Otros autores prefirieron un término que "implicara un efecto directo de un estímulo externo sobre una variable rítmica, en vez de enmascaramiento" (100). Sin embargo, la palabra "directo" es usada en muchos contextos, es demasiado ambigua y general para ser usada

con el fin de distinguir entre las influencias controladas por un reloj de otras influencias o variables. Con base en lo anterior, se generó otra forma de clasificar los diferentes tipos de enmascaramiento. Esta se basa principalmente en los mecanismos que generan el enmascaramiento antes que en el efecto de éste sobre la actividad locomotora. De tal forma se distinguen varios tipos de enmascaramiento:

- Tipo I. Ocurre cuando existe un efecto directo de las señales ambientales sobre los efectores que expresan el ritmo circadiano.
- Tipo II. Se presenta cuando algunos cambios conductuales en el animal ejercen un efecto sobre otras variables rítmicas; por ejemplo, cuando un aumento o una disminución de la actividad locomotora induce a que el ritmo de temperatura sea una representación imperfecta del reloj.
- Tipo III. Ocurre cuando cambios fisiológicos o bioquímicos dentro del organismo pueden afectar los mecanismos de transmisión de la información temporal del reloj biológico a los efectores que expresan el ritmo; por ejemplo, cambios fisiológicos o patológicos que afectan la función o el número de receptores en una vía termogénica pueden modificar la relación fase entre el ritmo de temperatura corporal y la fase del reloj biológico sin afectar el reloj.

Los enmascaramientos tipo II y III han sido llamados también *enmascaramiento interno* (84).

I. Enmascaramiento por la luz

Los ritmos circadianos fisiológicos y conductuales son controlados por el reloj biológico. En los mamíferos, en el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo anterior, se encuentra el mecanismo de reloj biológico (2). Los ritmos circadianos son sincronizados predominantemente por el ciclo luz-oscuridad (L:O) ambiental. El sistema fotorreceptivo que sustenta la sincronización a la luz involucra la participación de una proyección visual específica: el tracto retinohipotalámico (TRH) (66). Esta proyección es completamente independiente de las proyecciones visuales clásicas que participan en la formación de las imágenes de los objetos (visión) (70). Sin embargo, la luz no solamente sincroniza el sistema circadiano, puesto que también ejerce efectos directos sobre los efectores que expresan a ritmos circadianos como: la reducción inmediata de la liberación de la melatonina y la inhibición de la actividad locomotora en roedores nocturnos después de un pulso de luz en la noche. La respuesta directa de enmascaramiento anula el control del reloj biológico y genera un ajuste de fase apropiado e inmediato a las condiciones de iluminación.

A) El efecto de la luz sobre la liberación de melatonina

La glándula pineal es el sitio neural en que se produce y libera a la circulación la hormona melatonina (5). La glándula pineal libera exclusivamente la melatonina durante la noche sin considerar si la especie es activa durante la noche o el día. La producción y la liberación de melatonina son controladas por el NSQ (el reloj circadiano). Por lo anterior, se considera que la melatonina es una señal rítmica que refleja la condición en que se encuentra el reloj biológico (periodo-fase y sincronización a un fotoperiodo específico) (5). En la noche, cuando los niveles de melatonina son altos, un pulso de luz es capaz de suprimir instantáneamente la producción y la liberación de melatonina. Esto sugiere que la luz induce un enmascaramiento negativo sobre el ritmo de síntesis y liberación de melatonina. Este fenómeno se presenta en todas las especies de mamíferos estudiados, incluidos ratas (51), hamsters, ratones (13), cabras (25), ovejas (4), ardillas (99) y humanos (56). De hecho, la actividad de la enzima limitante de la producción de melatonina, la N-acetyltransferasa, disminuye rápidamente después de un pulso luz de un minuto dentro de los primeros 10 minutos de oscuridad total. Además, se ha reportado que la luz es capaz de afectar (enmascaramiento negativo) el ritmo de síntesis y liberación de melatonina de manera dependiente de la fase, lo cual sugiere que esta respuesta a la luz queda determinada por la curva de respuesta de fase (10). El efecto de enmascaramiento (negativo) inducido por la luz sobre el ritmo de síntesis y liberación de melatonina, muestra una duración más prolongada que la duración del pulso de luz, lo que resulta en una recuperación de los niveles de melatonina, tiempo después de que termina el pulso de luz (45, 48) (figura 3).

B) El efecto de la luz sobre la actividad locomotora

Uno de los indicadores del ciclo actividad-repozo es la presencia o ausencia de actividad locomotora, la cual puede medirse y cuantificarse fácilmente. De esta manera, la fase de inicio de esta actividad es un indicador muy preciso de la fase del reloj circadiano, particularmente en roedores nocturnos. La mayoría de los efectos de la luz sobre los parámetros del ciclo actividad-repozo dependen de si las especies son nocturnas o diurnas. En roedores nocturnos, un pulso de luz aplicado en la noche reduce rápidamente los niveles de actividad locomotora (enmascaramiento negativo) (92). En cambio, la luz provoca un aumento en esta actividad en mamíferos diurnos (enmascaramiento positivo) (37, 91). Lo anterior sugiere que si animales nocturnos, activos en la oscuridad, llegaran a percibir luz mientras son activos, contradeciría la información temporal endógena ("la noche") transmitida por el reloj circadiano en sincronización, la cual puede entonces

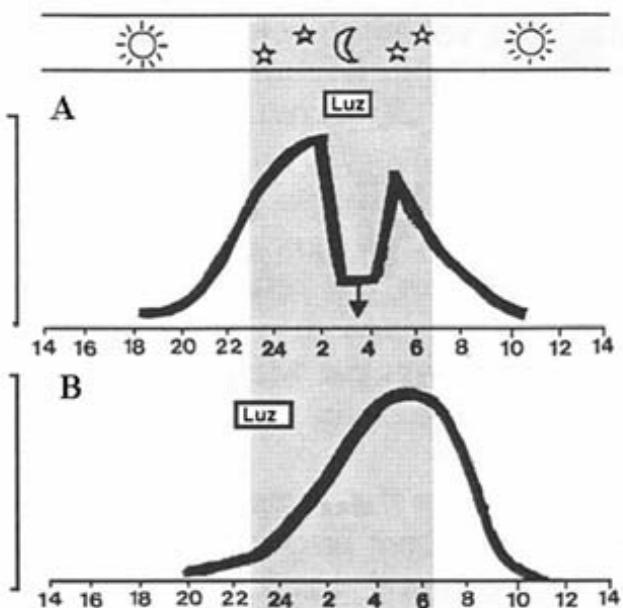


Fig. 3. La luz aplicada en la noche, ya sea a la mitad (A) o al inicio (B), cuando son altos los niveles de melatonina, suprime instantáneamente la producción y la liberación de la melatonina en diferentes especies de vertebrados.

ser corregida inmediatamente por una respuesta de enmascaramiento. En la naturaleza, esta respuesta tendría gran importancia para la supervivencia de los organismos. En un estudio en *Octodon degus* (46), se reportó que los efectos del enmascaramiento a la luz pueden diferir dependiendo del individuo, el cual puede expresar espontáneamente un fenotipo nocturno o diurno. El fenotipo circadiano en este roedor es ambiguo, pero puede categorizarse principalmente como diurno. Cuando es "diurno", estos sujetos aumentan su actividad locomotora después de un pulso de luz durante el día subjetivo, pero la disminuyen después de un pulso de luz en la noche cuando tienen acceso a ruedas de ejercicio y se consideran "nocturnos". Este fenómeno es más bien endeble y se aprecia únicamente en un subconjunto de animales. Al igual que la observada sobre el ritmo de liberación de la melatonina, la inhibición de la actividad locomotora inducida por la luz (enmascaramiento negativo) persiste tiempo después de que ha finalizado el pulso luz (92). Esto sugiere que la luz altera el acoplamiento entre los efectores (osciladores periféricos) que expresan los ritmos circadianos con el reloj biológico, lo que provoca que el reloj circadiano pierda el control de estos osciladores periféricos (efectores).

Sin embargo, no sólo la luz afecta la expresión de la actividad locomotora, pues los pulsos de oscuridad generan también efectos inmediatos sobre la misma variable conductual. Por ejemplo, pulsos de oscuridad aplicados durante el día inducen un aumento en la actividad locomotora (enmascaramiento positivo) de

roedores nocturnos. Por otro lado, la luz no afecta (disminuyéndolo) nada más el ritmo de actividad locomotora en la noche subjetiva, ya que altera además otras variables rítmicas. Así, pulsos de luz de una hora, aplicados en la noche, inducen un aumento en el sueño de ondas lentas (16) y en la temperatura corporal (7, 111), cuando lo que se habría esperado sería una disminución de la misma. Lo anterior sugiere que la luz afecta a diferentes efectores del reloj biológico y propicia ajustes a todo lo largo del día en diferentes parámetros fisiológicos.

El enmascaramiento de la actividad locomotora inducido por la luz varía acorde con la especie usada en el estudio. Por ejemplo, el hamster es más sensible que el ratón a los efectos inhibitorios de la luz sobre la actividad locomotora. Pulsos de luz de un lux de intensidad aplicados en la noche en el hamster son suficientes para inducir una considerable respuesta de enmascaramiento (92). En cambio, en varias cepas de ratón estos niveles de iluminación no generan enmascaramiento (75). De hecho, en el hamster la duración del efecto de la luz sobre la actividad locomotora va a menudo más allá del final del pulso de luz. En contraste, en el ratón la disminución de la actividad locomotora pospulso no es tan pronunciada (73, 75). Por otro lado, en el hamster no hay un incremento consistente en la actividad locomotora a intensidades bajas de luz (enmascaramiento positivo) como se ha observado en diversas cepas de ratón. Esto sugiere que, en el hamster, el sistema visual clásico parece no ser tan importante para regular el enmascaramiento positivo de la actividad locomotora inducida por la luz en comparación con el ratón.

La persistencia de la disminución de la actividad después de un pulso de luz se considera como un efecto agudo de la luz. Aschoff (8) sugirió que "los efectos del enmascaramiento perduran el tiempo que la señal luminosa esté presente", de tal forma que el enmascaramiento observado pospulso no es meramente una consecuencia de la inhibición de la actividad locomotora durante el pulso de luz (92). El mayor efecto de la luz (enmascaramiento negativo) sobre la actividad locomotora ocurre en la fase de inicio de la oscuridad (CT12). En 1988, Aschoff y Von Gotez (10) estudiaron la respuesta circadiana a la cual roedores nocturnos son más sensibles al enmascaramiento positivo inducido por pulsos de oscuridad en función de la fase circadiana. Si el efecto de los pulsos de oscuridad se considera opuesto al efecto de los pulsos de luz por medio de un simple efecto desenmascarador de la luz, se esperaría que la luz y la oscuridad tuvieran sus efectos en la misma fase del ciclo. Sin embargo, los pulsos de oscuridad inducen un aumento en la actividad locomotora en dos fases circadianas: CT12 y CT20-22

(92). Desde el punto de vista funcional, el incremento en la inhibición de la actividad locomotora por la luz en CT12 sugiere que, en esta fase circadiana, tanto el reloj circadiano como sus efectores aumentan su sensibilidad a la luz, ya sea sincronizando el reloj biológico o enmascarando la actividad de los efectores. Esta sensibilidad estaría determinada por la CRF del reloj biológico a la luz o por la expresión de un oscilador periférico inducido por la luz en esta fase circadiana. El hecho de que el efecto de enmascaramiento sea más pronunciado cuando el sujeto va a iniciar su actividad, al inicio de la noche subjetiva, sugiere un valor adaptativo. Distintas variables fisiológicas y conductuales de un sujeto nocturno empiezan su expresión al inicio de la oscuridad, que es el momento en que el sujeto inicia su actividad y busca alimento. En cambio, si se induce la expresión de estas variables en momentos en que el sujeto no está activo de manera natural (final de la noche subjetiva) y tampoco forma parte de un programa temporal, entonces el efecto sería inapropiado para el sujeto ya que estaría a merced de sus predadores. Por ello, Aschoff sugiere que el enmascaramiento complementa el sistema circadiano.

C) *El enmascaramiento de la actividad locomotora en el ambiente natural*

Aunque el enmascaramiento no es un fenómeno limitado a condiciones de laboratorio, hay pocos ejemplos de los efectos directos de la luz sobre la organización temporal de la conducta en la vida silvestre. Un caso impresionante es el mono *owl* (*Aotus lemurinus griseimembra*), el cual muestra un patrón de actividad que depende del ciclo lunar (30). Este primate es nocturno, pero su actividad aumenta (enmascaramiento positivo) cuando la luminiscencia se encuentra entre 0.1 y 0.5 lux, la luminiscencia justa generada por el resplandor de la luna llena. Intensidades de luz inferiores a ésta disminuyen la actividad (enmascaramiento negativo) del sujeto (30, 31). Por otro lado, en su hábitat natural, las ratas canguro reducen su actividad (enmascaramiento negativo) a la luz de la luna (20). En este caso, el efecto inhibitorio de la luz sobre la actividad se llama "prevención de la luz de luna", el cual parece reducir el riesgo de predación.

II. Enmascaramiento por la oscuridad

La actividad locomotora del pez verde es nocturna. Al inicio de la noche, estos organismos toman alimento y lo depositan dentro de un nido para ocultarlo de predadores nocturnos. Aunque esta conducta puede inducirse en el laboratorio aplicando pulsos de oscuridad (enmascaramiento positivo) a la mitad del día, la magnitud de la respuesta de enmascaramiento inducida por la oscuridad es menor que la que se presenta de

manera natural al inicio de la noche. De tal manera la penumbra no es sólo un evento en donde se disminuye la intensidad de iluminación en el ambiente inmediato al animal. Por ejemplo, la iluminación disminuye cuando el pez entra a un área sombreada cercana a una corriente, cuando busca alimento bajo un leño o simplemente cuando entra al nido. Sin embargo, estos movimientos no están necesariamente correlacionados con un incremento en la actividad de un predador. Es necesario un mecanismo endógeno para indicar al animal que sólo un decremento en la intensidad de la luz que ocurra al final del día implicaría un verdadero riesgo de predadores nocturnos. Esto sugiere que, al igual que el enmascaramiento negativo inducido por la luz, la respuesta de enmascaramiento positivo generada por los pulsos de oscuridad no es la misma a lo largo del ciclo circadiano. Lo anterior sugiere que la respuesta de enmascaramiento depende de la participación de un reloj endógeno.

Modelos. El modelo oscilatorio que explica la sincronización de un reloj biológico consiste en dos osciladores similares con una frecuencia similar, acoplados y cada uno con la misma oportunidad de ser sincronizados. La sincronización involucra control de fase y periodo de la oscilación sincronizada y en general ésta sólo puede ser afectada dentro de un restringido rango de periodos del sincronizador, cercanos al periodo natural del sistema sincronizado. En cambio, el modelo teórico que trata de explicar el enmascaramiento consiste en un oscilador débil (Y) –el oscilador asociado a la actividad locomotora– y otro fuerte (X) –el oscilador asociado al ritmo de temperatura corporal–, el cual ejerce una gran influencia sobre los ritmos circadianos (55). Normalmente estos osciladores están acoplados cercanamente, lo cual resulta en un mecanismo temporal interno para el animal. De esta manera, el ritmo expresado por los efectores es el resultado de la expresión de ambos osciladores pero, como éstos tienen diferente jerarquía, los ritmos expresados por el oscilador débil pueden ser enmascarados fácilmente por el ambiente (115). Los ritmos transmitidos por el oscilador fuerte pueden ser influidos indirectamente por el ambiente por medio de cambios inducidos en la conducta de los animales. Estos cambios conductuales generan un amplio rango de modificaciones en las variables fisiológicas y bioquímicas del individuo. Por su parte, estas modificaciones pueden alterar la expresión de los ritmos y ocasionar que no reflejen el estado exacto en que se encuentra el reloj biológico. Los componentes endógenos derivan de la actividad del reloj biológico. Los ritmos biológicos con altos componentes endógenos (temperatura corporal), se usan normalmente como marcadores del oscilador fuerte. A su vez, los componentes exógenos

se originan por lo regular fuera del sujeto. En este caso, un componente exógeno puede incluir los efectos debidos al ambiente, sean directos (enmascaramiento) o indirectos vía la conducta (enmascaramiento interno) (115).

Importancia biológica. Aun cuando el enmascaramiento se ha estudiado sólo en pocas especies, se puede especular que los cambios en el ciclo actividad-repozo inducidos por la luz son universales en los mamíferos (88). Los seres humanos no son la excepción: la luz ejerce efectos profundos en el ciclo sueño-vigilia. La iluminación en la noche puede reducir el sueño y aumentar la vigilia. Aunque estos efectos pueden ser secundarios a la supresión inducida por la luz en la síntesis y liberación de melatonina, parece inverosímil pensar que este efecto dependa totalmente de una disminución en los niveles de melatonina. Sin embargo, es razonable asumir que los mecanismos que median los efectos directos de la luz sobre los ritmos circadianos, como el ritmo circadiano de temperatura corporal y el ciclo sueño-vigilia, son similares en todos los mamí-

feros. Desde un punto de vista funcional, el enmascaramiento merece más atención como un proceso que complementa el sistema circadiano. El enmascaramiento puede facilitar un orden temporal apropiado para variables conductuales y fisiológicas, puede corregir el efecto de las sincronizaciones inexactas o equivocadas del reloj circadiano y puede afinar patrones de actividad. De tal modo, los ritmos circadianos regulados por el reloj biológico y las respuestas directas del sistema a la luz han quedado sujetas a la selección natural y a su perfeccionamiento durante la evolución. Con estas implicaciones en mente, es sorprendente que exista tan poco conocimiento acerca de los mecanismos por los que la luz afecta directamente los patrones diarios conductuales y fisiológicos. Asimismo, tampoco hay mucha información acerca de la importancia del enmascaramiento por la luz sobre la organización temporal en la naturaleza.

Apoyado por los proyectos: Fundación Gonzalo Ríos Arronte, INP-2040 Y SEP-CONACYT 2004-CO1-47804.