

Actividad y sueño: un ciclo diario y un ritmo circadiano

Sara Bernárdez Noya

Chronobiology and Sleep Institute, Perelman School of Medicine,
University of Pennsylvania, United States.

Circadiano, diario, ciclo de 24 horas, controlado por el reloj... Los términos pueden ser confusos. Algunos significan lo mismo, otros tienen implicaciones diferentes y hablar de ciclos de sueño y actividad puede ayudarnos a clarificar tales sutilezas.

Prácticamente todos los animales duermen y el sueño en todos ellos comparte ciertas características: quiescencia, respuesta reducida a estímulos externos y un umbral de excitación más elevado que aquel de cuando simplemente están relajados. Una cualidad que a menudo se omite a pesar de ser ubicua es que ocurre cada día. De hecho, es uno de los comportamientos diarios más evidentes.

Este ritmo tiene particularidades en función de la especie que observemos. Por ejemplo, animales diurnos como los humanos, duermen durante la noche. Lo mismo ocurre en el caso de la mosca de la fruta (*Drosophila*), un organismo que ha proporcionado grandes avances en la investigación básica sobre el sueño. Otro de los modelos más utilizados, el ratón, es nocturno, es decir, duerme durante el día. También son particulares la duración y distribución de los episodios de sueño. Los humanos consolidamos nuestro sueño en un solo episodio donde se identifican principalmente dos estados que se suceden alternativamente: el sueño REM (de sus siglas en inglés “rapid eye movement”) y el sueño NREM (en contraposición “non-rapid eye movement”). En la mosca, estos estados todavía no se han encontrado, aunque estudios recientes sugieren que podrían existir fases equivalentes. En roedores, REM y NREM sí están presentes y con características muy similares a las de los humanos, no obstante, su sueño es fragmentado. Los ratones presentan episodios de sueño distribuidos a lo largo de las 24 h, siendo los episodios de sueño diurnos los más duraderos y profundos.

Con esta información en nuestras manos podemos afirmar que el sueño es un comportamiento diario. Para decir que es circadiano necesitamos conocer un poco más sobre su naturaleza.

Desde el siglo 18, la expresión “ritmo circadiano” se utilizó para referirse no solo a ritmos diarios sino a aquellos que además persisten en ausencia de señales como por

ejemplo ritmos de luz o temperatura. Y hubo que esperar más de un siglo para confirmar que el sueño es de hecho un ritmo circadiano.

Hasta los 80 se creía que el principal motor de la periodicidad del sueño era una causa homeostática. Una persona estaría despierta hasta que el cansancio fuese tal que el sueño apareciese. Ese cansancio sería un reflejo de una necesidad interna por la actividad de las horas desde el despertar. Retomando la discusión semántica, los ciclos de sueño y actividad serían ciclos diarios, de 24 horas, pero no necesariamente circadianos. Estudios de polisomnografía a lo largo de múltiples días obtenidos en humanos, donde no tenían acceso a señales temporales, revelaron que el momento de quedarse dormido y también el momento en el que el sueño REM ocurría era siempre el mismo, independientemente de la actividad previa de dichos sujetos. Tales estudios correlacionaron diferentes características del sueño con parámetros circadianos como la temperatura corporal y demostraron que la probabilidad de quedarse dormido o de entrar en sueño REM era máxima cuando la temperatura corporal era mínima. Habían demostrado que hay un momento ideal para dormirse que se repite cada 24 horas y que es independiente de señales externas o de la necesidad de acostarse. Todo ello contribuyó a que el sueño se consolidase con un comportamiento circadiano.

Si el sueño sigue un patrón circadiano, el estado complementario debe serlo también. De hecho, el análisis de patrones de actividad en *Drosophila* fue el ensayo utilizado para estudiar ritmos circadianos por los investigadores galardonados con el premio Nobel en 2017. Primero describieron los ritmos de actividad de la mosca que se caracterizan por mostrar dos picos que anticipan las transiciones entre el día y la noche. Curiosamente, cuando se mantienen en condiciones constantes de luz, es decir, se eliminan las señales externas, únicamente uno de los picos se mantiene y repite con un ritmo de aproximadamente 24h. Al escrutar este periodo en un panel de mutagénesis, se encontró que la mayoría de las modificaciones genéticas se atribuían a unos pocos genes. Entre ellos *per* (*period* = periodo), *tim* (*timeless* = sin tiempo), *cry* (*cryptochrome* = criptocromo) y *cyc* (*cycle* = ciclo) pasaron a formar los componentes principales

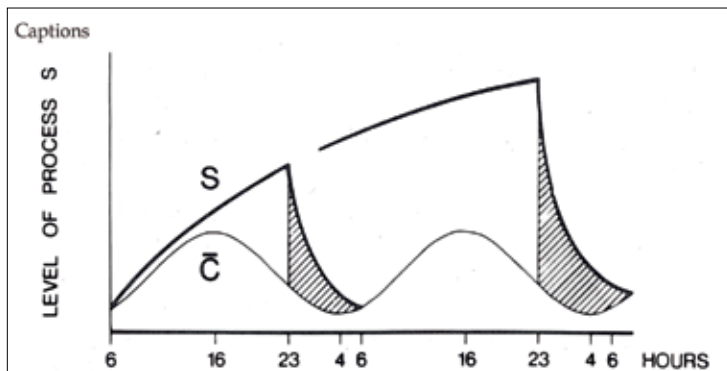


Figura 1

Representación clásica del modelo de dos procesos. En el se muestran el Proceso S y C. El proceso S, depende en la cantidad de sueño que se haya experimentado previamente. Se incrementa con el tiempo de vigilia y reduce exponencialmente durante el sueño. El proceso C, como toda oscilación circadiana, se ajusta a una función coseno. Esta tendencia no se ve afectada por cuanto sueño se haya experimentado anteriormente, y su ajuste a la hora del día se ha estimado en experimentos en humanos (ver Para leer más Borbely 1982). Para visualizar mejor la teoría detrás de este modelo, el proceso C se representa como su función negativa. La tendencia a dormirse es la suma de S y C, que en la figura está representada por el área rayada y se encuadra entre las 11 de la noche y las 6 de la mañana. (modificado de Borbely, 1982).

del reloj circadiano de la mosca y simultáneamente (o casi) se identificaron también en mamíferos (per = per, tim = cry, clock = clock, cycle = Bmal1). Este fue el principio de la expansión de la investigación en ritmos circadianos.

INTEGRANDO EL RELOJ EN EL CUADRO DEL SUEÑO

La prueba más evidente de que el reloj controla los ciclos de sueño viene de la mano de mutaciones en los principales componentes del reloj. La caracterización del sueño en mutantes de tales genes es todavía una tarea incompleta, sin embargo, los ejemplos de los que disponemos ponen en evidencia que el reloj es una parte esencial para entender el sueño.

Ratones que carecen de las dos isoformas del gen cry, de las dos isoformas de per, o bmal1 carecen de ritmos de actividad y sueño, pero también presentan una distribución anormal de NREM y REM. Esta descripción es superficial y al ahondar en detalles se encuentra que las alteraciones son muy particulares para cada modelo y se sabe poco o nada de tales diferencias.

Para dificultar aún más la situación, el desarrollo exponencial de técnicas de manipulación genética ha permitido en los últimos años la eliminación y re inserción de tales genes en tejidos específicos y en momentos específicos del desarrollo. Por ejemplo, la re inserción de bmal1 en el músculo de ratones que

carecían de tal gen es suficiente para restaurar los déficits en la duración, pero no los ritmos de sueño. Este es solo un ejemplo de muchos y refleja el cambio de perspectiva de interés en el cerebro hacia otros tejidos periféricos, un cambio que se ha extendido en todos los ámbitos de la investigación sobre ritmos circadianos y sueño.

UN MARCO PARA ENTENDER LOS RITMOS DEL SUEÑO: EL MODELO DE DOS PROCESOS

Nuestro entendimiento de la intensidad y temporalidad del sueño se suele explicar utilizando el modelo de dos procesos. En dicho modelo, el sueño se mide como impulso de dormir o tendencia a quedarse dormido. Este impulso se controla por dos fuerzas: el proceso S (homeostático) y el proceso C (circadiano). Según el proceso homeostático, nos quedamos dormidos al estar despiertos independientemente del momento del día. Gracias al proceso C, durante la primera parte del ciclo de 24 h, hay una fuerza que se opone a tal tendencia y como consecuencia el sueño solo se manifiesta en la segunda parte del día (*Figura 1*).

En los años 80, investigaciones en roedores evidenciaron que ambos procesos existen y que son independientes. En aquel momento se sabía que el proceso C depende en gran medida del núcleo supraquiasmático (SCN, de sus siglas en inglés), un agregado de neuronas en la base del cerebro que funciona como un director de orquesta para coordinar los relojes circadianos presentes en cada célula del organismo. Sin las órdenes del SCN, cada reloj marca una hora aleatoria y los ritmos circadianos no son aparentes. En el caso del sueño, el SCN es la región del cerebro que representa el proceso C.

Lesiones en las conexiones del SCN con otras áreas cerebrales supondría eliminar la coordinación de los ciclos de sueño y vigilia y por tanto perturbar su ritmicidad. Esto fue lo que se demostró. Roedores nocturnos y diurnos tras ser intervenidos para lesionar las conexiones de sus SCNs experimentaron alteraciones en la regulación circadiana de los ritmos de sueño. En estos mismos experimentos donde se dañaron las conexiones entre el proceso C con el resto del cerebro también se evaluó la integridad del proceso S. Para ello, se sometió a los animales a una privación de sueño. En estos experimentos la fuerza del proceso S se incrementa y la inducción del sueño aparece, aunque el proceso C se oponga. Aun sin las conexiones del SCN los animales respondieron igualmente a la privación de sueño indicando que el homeostato estaba intacto. >>>

Con el tiempo, más intervenciones fueron definiendo en detalle las interacciones entre C y S y a pesar de cierta independencia existe un “*crosstalk*” entre ambos. Por ejemplo, en humanos y ratones, el procedimiento de privación de sueño hace que se reduzca la magnitud de los cambios de fase inducidos por los ciclos de luz y oscuridad (como el “*jet lag*”), un cambio que depende del reloj. En la otra dirección, cómo el proceso C cambia el proceso S, tenemos todos los ejemplos descritos anteriormente acerca de los defectos en la intensidad y cantidad de sueño que presentan los diferentes modelos animales con mutaciones o deleciones en los genes del reloj.

A pesar de los esfuerzos para entender la influencia mutua entre la fuerza circadiana y homeostática en el sueño y la medida en la que cada una de ellas modifica otros aspectos de nuestra biología, estamos muy lejos de comprenderlo y puede que haya una razón que esté complicando el escenario. Aunque tenemos un reloj molecular capaz de explicar las oscilaciones circadianas y un coordinador (el SCN), todavía no se han identificado componentes o estructuras similares para el homeostato.

EN BUSCA DEL HOMEOSTATO

El homeostato debe ser un sistema que durante la vigilia lleva cuenta de la duración y la intensidad de la actividad. Siendo reduccionistas y pensando en el cerebro, el homeostato debería percibir señales de comunicación o subproductos del metabolismo de las neuronas y otras células. No se sabe si tales señales existen, cómo interaccionan o cómo se transmiten a áreas cerebrales específicas que sean importantes para a posteriori iniciar el sueño.

¿Son estas señales manifestadas como cambios en la expresión génica? ¿Son medibles a través del RNA mensajero (mRNA), de la producción de sus proteínas o modificaciones postraduccionales en ellas? ¿Siguen la misma trayectoria que el incremento en el sueño o cambian repentinamente una vez que se ha cruzado un umbral de cansancio?

Responder a estas cuestiones no es sencillo, debido a que el proceso homeostático cambia con el tiempo y cómo predice el modelo de dos procesos, lo hace al mismo tiempo que la fuerza circadiana. Esto incrementa la posibilidad de confundir las señales del homeostato con los cambios de derivados del reloj. Una estrategia para evitar tal confusión ha sido mantener uno de los procesos constantes, por ejemplo, comparar diferentes tiempos circadianos donde la necesidad de sueño es la misma. En roedores esto se ha conseguido realizando privaciones de sueño de la misma duración, pero comenzando y terminando a diferentes horas del día. En tales experimentos, al medir la actividad cortical de los ratones

se observó que realizando 4 o 6 horas de privación de sueño a cualquier hora del ciclo circadiano la fuerza homeostática se eleva hasta el mismo nivel. A lo largo de este protocolo se pueden medir y comparar parámetros en animales que había con o sin privación de sueño, es decir con mayor o menor presión homeostática, pero ambos en el mismo tiempo circadiano. Otros diseños, en lugar de realizar privaciones, ponen a los animales en ciclos de luz y oscuridad que son menores de 24 horas. Con esto se consigue que el reloj mantenga la cuenta del tiempo, pero su comportamiento de sueño y actividad se ajusta a los ciclos de luz. En días consecutivos de tales ciclos se podrían obtener mediciones donde los animales tendrían el mismo tiempo circadiano interno pero la cantidad de sueño acumulado sería diferente. Esto se asemeja mucho a la de-sincronía forzada empleada en humanos con la que se describió por primera vez la característica circadiana del sueño REM.

Otras alternativas emplean modelos genéticos que tienen una necesidad homeostática mayor. Estos modelos son especialmente interesantes y el mecanismo y consecuencias de tales modificaciones son en sí cuestiones intrínsecamente complejas. ¿Por qué un organismo no reduce su necesidad de dormir por mucho que duerma? ¿Qué señales están alteradas que confunden al homeostato? ¿O es que tienen su homeostato afectado? Analizando los proteomas y fosforilaciones de miles de péptidos en los cerebros de dichos ratones, se ha visto que la mayoría de las alteraciones se encuentran en componentes de las sinapsis, encargadas de la liberación de neurotransmisores y de la plasticidad neuronal. Lo interesante es que los estudios que emplearon privaciones de sueño encontraron también que las sinapsis son regiones donde se acumulan cambios muy evidentes.

Aunque nuestro conocimiento acerca de los mecanismos moleculares que dan cuenta de la necesidad de dormir es incompleto, un mensaje claro de estos últimos estudios es que las sinapsis neuronales son un buen lugar para empezar a buscar al homeostato. ■

PARA LEER MÁS

- Artículo en revista: Allada Ravi, Jerome M Siegel. Unearthing the phylogenetic roots of sleep. *Current biology*: CB vol. 18,15 (2008): R670-R679. doi:10.1016/j.cub.2008.06.033
- Artículo en revista: Borbély AA. A two process model of sleep regulation. *Human neurobiology* vol. 1,3 (1982): 195-204.
- Artículo en revista: Czeisler, C A et al. Human sleep: its duration and organization depend on its circadian phase. *Science* (New York, N.Y.) vol. 210,4475 (1980): 1264-7. doi:10.1126/science.7434029
- Artículo en revista: Scammell, Thomas E et al. Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep. *Neuron* vol. 93,4 (2017): 747-65.