

El núcleo supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos en roedores

Raúl Aguilar-Roblero, Parménides Guadarrama,
Clara Mercado y José Luis Chávez

Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

Los seres vivos presentan una clara organización temporal en su conducta y los procesos fisiológicos bioquímicos y morfológicos subyacentes, que se manifiesta en los ritmos biológicos. Estos se denominan ritmos circadianos cuando persisten con un periodo cercano a las 24 h en condiciones libres de señales ambientales de tiempo. Por lo que podemos asegurar que los ritmos circadianos son endógenos, es decir se generan por el organismo y no dependen del ambiente que lo rodea (1, 18).

La naturaleza endógena de los ritmos circadianos indica la existencia de procesos capaces de medir el tiempo con gran precisión. El concepto de reloj biológico se refiere a estos procesos. También se han empleado los términos de marcapaso u oscilador circadiano como sinónimos de reloj biológico (2, 18). No obstante, como veremos mas adelante, existen diferencias sustanciales en las implicaciones del uso de uno u otro término, las cuales nos permiten mayor precisión y claridad en la interpretación de los hallazgos experimentales recientes.

En los vertebrados, dependiendo de la especie se han propuesto a la retina, la glándula pineal y el núcleo supraquiasmático como posibles marcapasos circadianos. En anfibios, reptiles y aves se ha documentado ampliamente el papel de marcapaso de la retina y la pineal, mientras que los mamíferos –principalmente en los roedores- la evidencia señala al núcleo supraquiasmático (10). Es interesante que en diversas especies de anfibios, reptiles y aves la glándula pineal presente fotorreceptores y también funcione como marcapaso circadiano (9), mientras que en los mamíferos que carecen de fotorreceptores en la pineal el papel de marcapaso se halla perdido (17).

El interés en la participación de la pineal en la regulación de los ritmos biológicos en mamíferos se reinició cuando se demostró la participación de la melatonina - principal hormona secretada por la pineal- en la regulación de la reproducción estacional y la medición del fotoperiodo (19). Así, entre los primeros experimentos de lesión que demostraron el papel del supraquiasmático como marcapaso circadiano, algunos emplearon como variables dependientes la secreción de la melatonina y la actividad de la N-acetil-transferasa, la enzima de paso limitante de su síntesis (10).

En el presente trabajo revisaremos la interacción entre el núcleo supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos de los roedores. En particular, en la sincronización a la luz y en el acoplamiento entre los diversos osciladores para mantener una adecuada organización temporal.

El núcleo supraquiasmático como reloj biológico de los roedores

En los mamíferos, el núcleo supraquiasmático es una estructura bilateral que se localizan en la porción ventral del hipotálamo anterior, ventrolateral al receso óptico del tercer ventrículo y dorsal al quiasma óptico (Fig. 1). Las neuronas del NSQ expresan diversas sustancias neuroactivas, principalmente péptidos, que se distribuyen en dos poblaciones neuronales: una dorsomedial caracterizada por la presencia de vasopresina, y una ventrolateral caracterizada por la presencia del péptido intestinal vasoactivo (VIP); la mayoría de las neuronas – sintetizan GABA, por lo que la colocalización de GABA y

por lo menos otros dos péptidos son el común en las neuronas del NSQ (10).

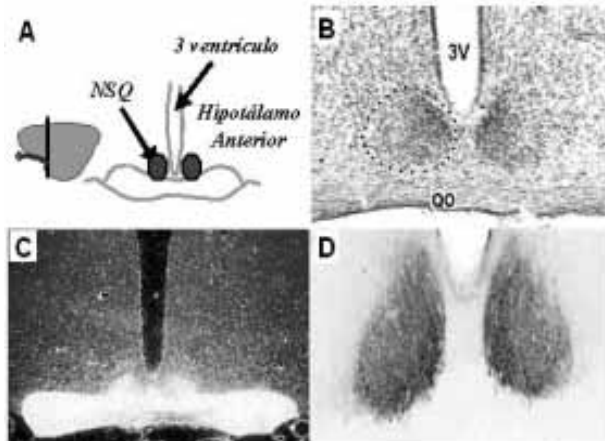


Figura 1. Localización y características del núcleo supraquiasmático (NSQ) en la rata. **A)** Esquema de un corte coronal del hipotálamo que muestra las relaciones anatómicas del NSQ, el nivel del corte está indicado en la vista lateral del cerebro. **B)** corte histológico teñido con la técnica de Nissl, las líneas punteadas indican el NSQ del lado derecho. 3V, tercer ventrículo. QO, quiasma óptico. **C)** Autorradiografía obtenida 48 h después de la inyección de ^3H -prolina en la cámara vítrea del ojo, se puede observar las terminales de la vía retino-hipotalámica en el NSQ. **D)** Corte horizontal del hipotálamo a la altura del NSQ, que muestra una doble tinción con inmunohistoquímica para detectar vasopresina (células claras) y péptido intestinal vasoactivo (VIP; células oscuras). Se puede observar claramente la distribución de las neuronas con vasopresina en la región dorso medial del NSQ, mientras que las neuronas con VIP en la región ventromedial.

La lesión bilateral de los núcleos supraquiasmáticos produce la desorganización del patrón circadiano que caracteriza diversas conductas y parámetros fisiológicos, mientras que el trasplante del NSQ fetal en animales lesionados restablece algunos de los ritmos desorganizados por dicha lesión (5). Así mismo, la estimulación eléctrica o química de estos núcleos induce cambios de fase similar a los provocados por la exposición a la luz. Las neuronas del NSQ presentan variaciones circadianas en su actividad eléctrica y metabólica, cuyos valores máximos ocurren durante el día (10). Estos ritmos persisten aún cuando los sujetos se exponen a condiciones de iluminación constante e incluso en explantes del NSQ mantenidos *in vitro* (Fig. 2). La capacidad de generar el patrón circadiano de actividad es inherente a cada una de las neuronas del NSQ, aunque las interacciones sinápticas dentro del núcleo parecen participar hasta cierto grado en el acoplamiento de los osciladores individuales (23).

El ritmo circadiano de la actividad de las neuronas del NSQ es consecuencia de la oscilación de un conjunto de genes "reloj" que forman asas de retroalimentación

transcripción-traducción. Actualmente se considera que los productos dimerizados de los genes *clock* y *bmal-1* (CLOCK/BMAL1) funcionan como factores de transcripción que se unen al elemento E-Box en los promotores de los genes *per1*, *per2*, *cry1*, *cry2*. Las proteínas producto de los genes *per* y *cry* forman heterodímeros ($\text{PER}_1/\text{CRY}_1$ o $\text{PER}_2/\text{CRY}_2$) que son fosforilados por las quinasas de caseína δ y ξ . Los dímeros fosforilados son más estables que los monómeros o que los dímeros no fosforilados, y además son capaces de ser trasladados al núcleo donde inhiben su propia transcripción al desplazar al complejo CLOCK/BMAL1 del E-box. El periodo de la oscilación parece depender principalmente de la tasa de degradación de las proteínas reloj, dicha degradación se relaciona en forma inversa a la formación y fosforilación de los dímeros y su traslocación hacia el núcleo (15).

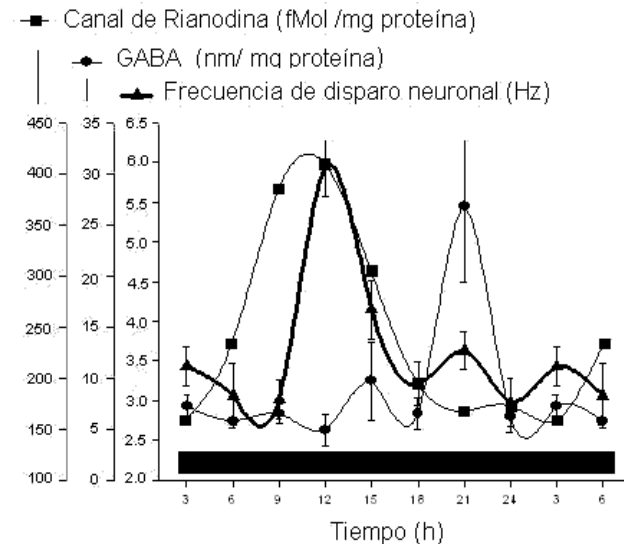


Figura 2. Ritmos de actividad eléctrica y metabólica en explantes del núcleo supraquiasmático en rebanadas *in vitro*. La actividad eléctrica (\blacktriangle) y la apertura del canal intracelular de Ca^{++} sensible a rianodina (\blacksquare) presentan su máxima actividad durante el día subjetivo, mientras que la concentración máxima de GABA (\bullet) ocurre durante el inicio de la noche. La barra horizontal negra indica que los sujetos estaban en oscuridad constante antes de preparar las rebanadas.

Las neuronas del NSQ sincronizan su actividad con el ciclo día-noche. La cantidad de luz ambiental es detectada en la retina por fotorreceptores circadianos diferentes a los que intervienen en la visión. Los fotorreceptores circadianos son un tipo especial de célula ganglionar que poseen el fotopigmento melanopsina, y que se caracterizan por tener un campo receptivo visual muy amplio y codificar la cantidad de luz (20). Los axones de estas células ganglionares forman el tracto retino-hipotalámico que llega a la porción ventrolateral del NSQ, estos axones liberan un aminoácido excitador -probablemente glutamato- y el

péptido hipofisiario activador de la adenilato ciclasa (PCAP) (14). Como era de esperarse, la sección selectiva del tracto retino-hipotalámico impide la sincronización de los ritmos circadianos al ciclo de iluminación ambiental sin afectar la visión espacial.

Algunas colaterales del tracto retino-hipotalámico proyectan bilateralmente a una región del cuerpo geniculado lateral del tálamo llamada hojuela intergeniculada (IGL). A partir de la hojuela se origina otra aferente del NSQ denominada tracto genículo hipotalámico. Otras aferencias al supraquiásmático se originan del complejo del rafe y el núcleo paraventricular del tálamo. Tanto la hojuela intergeniculada como el núcleo del rafe proyectan a la región ventrolateral del NSQ con fibras que contienen respectivamente neuropéptido-Y y serotonina. Estas aferentes también participan en ajustar el inicio de la actividad de los ritmos circadianos con el inicio de la oscuridad. También se ha propuesto que la IGL puede ser

un relevo - junto con el PVT - para transmitir información no-fótica hacia el NSQ, es decir información de índole sensorial diferente a la luz, como pueden ser ruidos, temperatura o movimiento. A través de estas vías se posibilita que diversos estímulos también puedan ejercer influencia como sincronizador de los ritmos circadianos.

Estudios de nuestro laboratorio hemos demostrado que PVT participa como modulador de la respuesta del NSQ a la luz, principalmente durante el final de la noche; además de ser una vía de entrada de información visceral y de modalidades sensoriales no fóticas hacia el NSQ. La lesión del PVT anterior invierte el efecto de pulsos de luz aplicados al final de la noche, mientras que su estimulación eléctrica o química induce cambios similares a los producidos por pulsos de luz (21). Como era de esperarse, la estimulación eléctrica del PVT modifica la actividad espontánea de las neuronas del NSQ y su respuesta a la estimulación de la retina con pulsos de luz (Fig. 3).

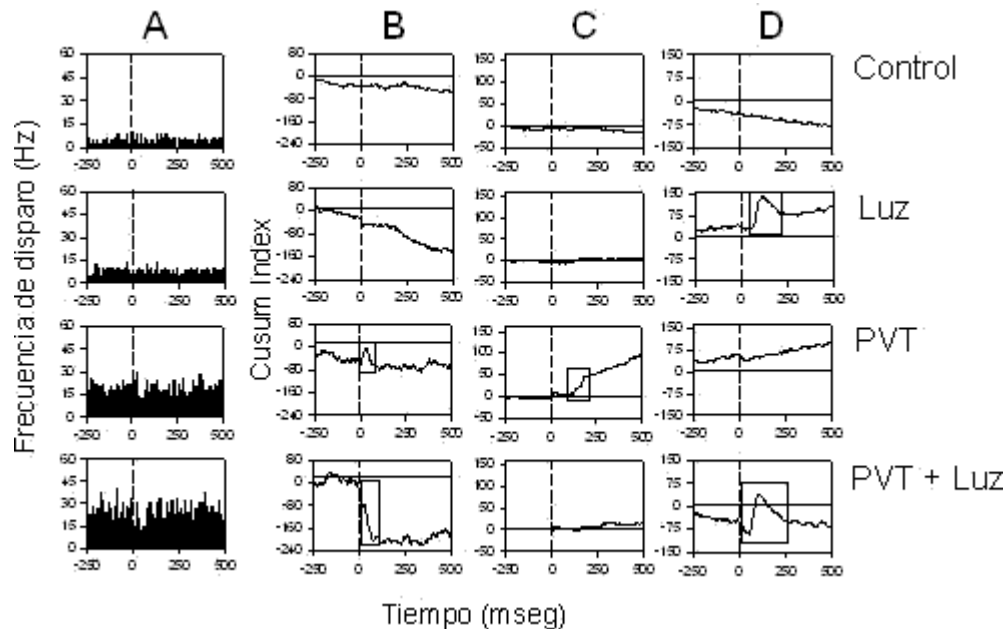


Figura 3. El tálamo paraventricular (PVT) modula la respuesta a la luz de las neuronas del núcleo supraquiásmático. En el panel A se muestran los histogramas periestímulo obtenidos durante el registro control, y en respuesta a pulsos de luz (5 mseg, 1500 lux), a pulsos eléctricos en PVT (tren de 30 seg, 2 Hz, 5 mA), y a la combinación de pulsos de luz + estimulación en PVT. En el panel B se muestra la grafica del análisis de CUSUM (sumas acumuladas) de la misma neurona, en el que los cambios en la frecuencia de disparo se observan como un cambio súbito en la pendiente de la curva (indicado por el recuadro). Se puede observar que la estimulación con luz no produjo efecto, la estimulación de PVT produjo una respuesta de excitación, y la combinación de ambas aferentes cambio la respuesta a una inhibición de la frecuencia de disparo. La línea punteada vertical indica el momento del estímulo. Los paneles C y D muestran los análisis de otras dos neuronas.

El proceso de sincronización a la luz ha sido estudiado a través de la curva de respuestas de fase, que divide al ciclo circadiano en tres segmentos: uno donde la aplicación de pulsos de luz no produce respuestas y que corresponde con la mayor parte del día, una zona en la que el estímulo retrasa el reloj y que se extiende desde el crepúsculo

vespertino hasta la primera mitad de la noche, y una zona en la que el estímulo avanza al reloj circadiano y se extiende desde la mitad de la noche hasta el crepúsculo matutino (Fig. 4, barras negras). Mediante el uso de la curva de respuestas de fase, se ha determinado que los pulsos de luz actúan en todas las fases del ciclo sobre las neuronas

del supraquiasmático a través receptores glutamatérgicos, tanto NMDA como AMPA. No obstante, dentro de las neuronas del núcleo supraquiasmático se activan diferentes vías de señalización intracelular en forma dependiente del momento del ciclo en que se presentan los estímulos (16).

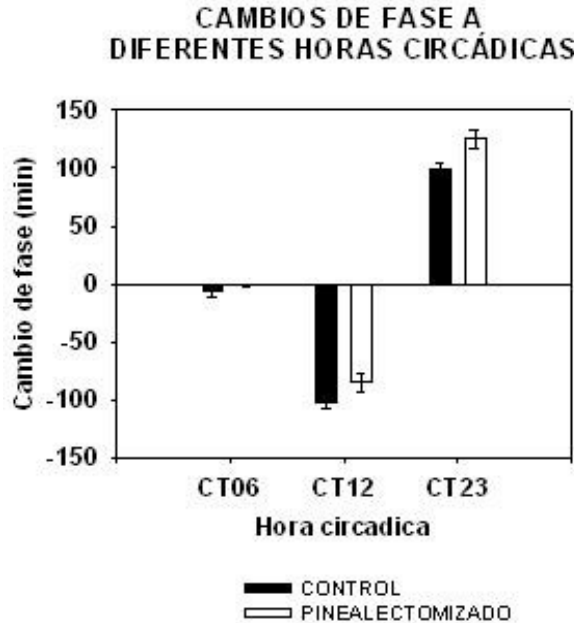


Figura 4. La pinealectomía altera las respuestas de fase a pulsos de luz. Se ilustran las tres zonas características de la curva de respuestas de fase en sujetos control (■) y en sujetos con pinealectomía (□); la zona muerta en CT 06, la zona de retrasos en CT 12 y la zona de avances en CT 23. Se puede observar que los sujetos pinealectomizados muestran disminución en la amplitud de retrasos del reloj y aumento en los avances, aunque no altera la respuesta a la luz en CT 06.

El sistema específico de segundos mensajeros que es activado determina la dirección en que el reloj cambiará su fase. Se ha propuesto que durante la primera mitad de la noche, el Ca^{++} ingresa a la neurona y activa directamente los canales de calcio sensibles a la rianodina (RyR), localizados en el retículo endoplásmico, donde induce la movilización de los depósitos intracelulares de Ca^{++} . Esta liberación del Ca^{++} intracelular eventualmente conduce a la fosforilación de CREB y al retraso del reloj. Mientras que cuando los pulsos de luz se aplican en la segunda mitad de la noche, la entrada de Ca^{++} extracelular induce la síntesis de óxido nítrico el cual induce la formación de GMP cíclico. Este último induce la activación de la Proteína Quinasa G (PKG) que fosforila el CREB, y tiene como resultado el avance del reloj (16).

Uno de los aspectos menos comprendidos del sistema circadiano es como se transmite la señal de tiempo generada por el NSQ hacia el resto del organismo. Aunque la

transmisión sináptica es en principio la vía natural de comunicación en el sistema nervioso, debido a sus características de largo plazo por su naturaleza circadiana, también se ha considerado como posible mecanismo a la transmisión química, ya sea por vía neuroendocrina o por transmisión de volumen. Existen datos que apoyan la participación de los distintos procesos de comunicación intercelular antes mencionados, por lo que lo más probable es que el proceso de transmisión de la señal de tiempo desde el oscilador hasta el resto del organismo involucre una mezcla de ambos mecanismos (13).

En cuanto a la transmisión neural, el NSQ no proyecta hacia ninguna de las regiones involucradas directamente en el control de los sistemas efectores. Por el contrario las proyecciones del NSQ se mantienen en estructuras diencefálicas que modulan tanto conductas motivadas como procesos de regulación homeostática. Este patrón de conectividad permite que reloj modifique el punto de ajuste (set point) en un sistema de retroalimentación negativa para lograr la modulación de la función en el tiempo, lo cual es congruente con el modelo de cronostasia (6). Así, las eferentes hacia el área preóptica, el hipotálamo ventromedial, dorsomedial, la región retroquiasmática y el arqueado participarían en la modulación de los procesos homeostáticos. Mientras que las eferentes hacia el área preóptica ventrolateral, el septum, el núcleo paratenial y el tálamo paraventricular, modularían diversos aspectos de la función del sistema límbico y el fascículo medio del cerebro anterior involucrados en las conductas motivadas (10).

La glándula pineal como regulador neuroendocrino en mamíferos

La glándula pineal se localiza en la porción dorsal de la unión entre el mesencéfalo y el diencefalo. Presenta la forma de un pequeño cono de pino, de donde proviene su nombre. Esta unida al techo del diencefalo mediante un pequeño tallo que en su base presenta la intrusión del tercer ventrículo en el llamado receso pineal. El tallo de la pineal se compone principalmente de axones originados en la habénula y por aquellos que cursan por la comisura posterior. No obstante, la regulación funcional de la pineal depende principalmente de su innervación simpática. Las fibras simpáticas que inervan esta glándula forman dos grupos principales a saber: a) fascículos pequeños que penetran la cápsula junto con los vasos sanguíneos, y b) el *nervus conarii*, originado por las ramas de los nervios de los ganglios cervicales superiores, los cuales cursan intracranalmente a los lados de la tienda del cerebelo y se fusionan en la línea media para penetrar en la glándula por su polo distal posterior. La mayor parte del parénquima de la pineal está constituido por los pinealocitos. En los mamíferos, los pinealocitos presentan dos o más prolongaciones protoplasmáticas unas son

cortas y delgadas que se extienden hacia las células cercanas; las otras son más largas y gruesas que se extienden hacia los espacios perivasculares y a los conductos intercelulares cercanos a la trama capilar (4).

La pineal transmite información referente al fotoperiodo del medio ambiente y los ritmos circadianos a las diferentes glándulas endocrinas y a diversas estructuras cerebrales. Dicho proceso se efectúa a través de la modulación funcional tanto del eje hipotálamo-hipófisis como por efectos directos sobre diversos órganos blanco. Actualmente se acepta que la pineal funciona como un transductor neuroendocrino, en cuanto a que responde a impulsos nerviosos con la síntesis y secreción de la hormona denominada melatonina (22).

El principal producto sintetizado y liberado por la pineal es la melatonina. El control de la síntesis y liberación de melatonina por la glándula pineal proviene principalmente de su inervación simpática. En las especies estudiadas, la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas actúa sobre los receptores beta adrenérgicos en la membrana del pinealocito causando un incremento en el AMPc intracelular. Este aumento en el AMPc incrementa la producción y la actividad de la enzima de síntesis N-acetiltransferasa (NAT) a través del aumento en la transcripción de su RNA mensajero, así como un aumento en la fosforilación de la NAT existente, lo que trae como consecuencia un aumento en la concentración de melatonina. Además, la noradrenalina también estimula receptores alfa-1 que potencian al receptor beta-1 a través de la acción de la proteína quinasa C (8, 9).

La actividad de la glándula pineal es regulada por el fotoperiodo, en todos los animales estudiados, la secreción de melatonina ocurre exclusivamente durante la fase de oscuridad. De tal forma que el alargamiento o acortamiento del día tiene consecuencias en la duración del pulso de secreción de melatonina, mientras que sujetos mantenidos en luz continua presentan una inhibición casi completa de su secreción. En oscuridad continua, sin embargo, no se observan valores sostenidos de melatonina sino un patrón circádico, que desaparece después de la lesión del núcleo supraquiasmático. En los mamíferos, la regulación de la actividad de la pineal tanto por el ciclo de iluminación ambiental como por el sistema circadiano comparten el mismo sustrato anatómico. La información sobre el ciclo de iluminación ambiental es detectada en los fotorreceptores circadianos y transmitida al núcleo supraquiasmático y de ahí al núcleo paraventricular del hipotálamo. Las neuronas de este último proyectan hacia las células del asta lateral en los segmentos espinales cervicales de la médula. Estas neuronas forman las fibras preganglionares que inervan el ganglio cervical superior, el cual proyecta hacia la pineal (10).

Ya que la melatonina tiene un potente efecto

antigonadotrópico, la regulación fotoperiodica de la actividad de la glándula pineal resulta de gran importancia en la adaptación del sujeto con su medio ambiente, en particular respecto a las funciones reproductoras. Lo anterior resulta evidente en el caso de animales con reproducción estacional, es decir aquellos que solo son capaces de reproducirse en ciertas estaciones del año. Por ejemplo, en el caso del hámster dorado, el acortamiento del fotoperiodo produce que la secreción de melatonina ocurra por lapsos prolongados durante la noche, lo cual finalmente induce regresión gonadal con la correspondiente incapacidad para reproducirse. Por otra parte, se ha determinado que el aumento en la duración del pulso de secreción de melatonina junto con otros procesos desencadenados por la disminución de la temperatura ambiental aún no bien conocidos, son determinantes en el inicio del proceso de hibernación de diversas especies (19, 22).

Papel de la pineal en la regulación de los ritmos circadianos

Además de la regulación de la pineal por el núcleo supraquiasmático, la glándula pineal también influye sobre el supraquiasmático, formándose así un circuito neuroendocrino entre ambas estructuras. En ratas mantenidas en oscuridad continua, la inyección diaria de melatonina es capaz de sincronizar el ritmo locomotor (7). Estudios posteriores demostraron que el efecto de la melatonina depende de la integridad del NSQ, y que la inyección de melatonina produce la inhibición de su actividad eléctrica y metabólica durante las horas que normalmente presenta sus valores máximos (8). Además, se ha determinado la existencia de receptores específicos a la melatonina en el núcleo supraquiasmático (12).

En sujetos mantenidos en ciclos de luz-oscuridad o en oscuridad o luz tenue constante, la actividad locomotora diaria del hámster se consolida en un bloque que dura de 3 a 8 h, dependiendo de las condiciones de iluminación. Sin embargo, cuando los sujetos se colocan en luz brillante constante, al cabo de algunos días el bloque de actividad se parte en dos componentes que se separan progresivamente entre sí hasta alcanzar entre 8 y 12 h de diferencia. A este fenómeno se le llama partición (splitting) (18). La lesión de uno de los lados del supraquiasmático abole la partición inducida por luz brillante, además de que durante la partición ocurre el desacoplamiento en el ritmo de expresión de los genes reloj entre el ambos lados del supraquiasmático. Por lo que se considera que la partición en el hámster resulta de la desacoplamiento funcional entre ambos lados del supraquiasmático que previamente funcionaban como una sola unidad osciladora. En otras palabras, en los hámsteres la luz brillante produce el desacoplamiento de los osciladores circadianos que controlan el ritmo circadiano de locomoción. Por otra parte,

en ratas la luz brillante constante produce la desorganización de diversos ritmos circadianos de conducta, y se ha propuesto que esto resulta del desacoplamiento funcional de las neuronas del supraquiasmático (1).

En nuestro laboratorio usamos la partición del ritmo locomotor en hámsteres inducida por luz brillante constante como un modelo para estudiar la relevancia del circuito de retroalimentación entre el supraquiasmático y la glándula pineal. se observó que en comparación con sujetos control, en los sujetos pinealectomizados transcurrían menos días entre el inicio de la luz constante y el inicio de la partición

del ritmo locomotor, y por el contrario, transcurría mucho más tiempo para que los sujetos pinealectomizados mantuvieran una separación constante entre los bloques de actividad locomotora (Tabla 1). Observaciones similares se han reportado en el ritmo de ingestión de agua en ratas pinealectomizadas mantenidas en luz brillante (8). En conjunto estos resultados indican que la pineal es necesaria para el acoplamiento de los osciladores circadianos en roedores. Así, es posible que la melatonina o alguna otra sustancia secretada por la pineal funcione como señal de acoplamiento entre los osciladores circadianos (3).

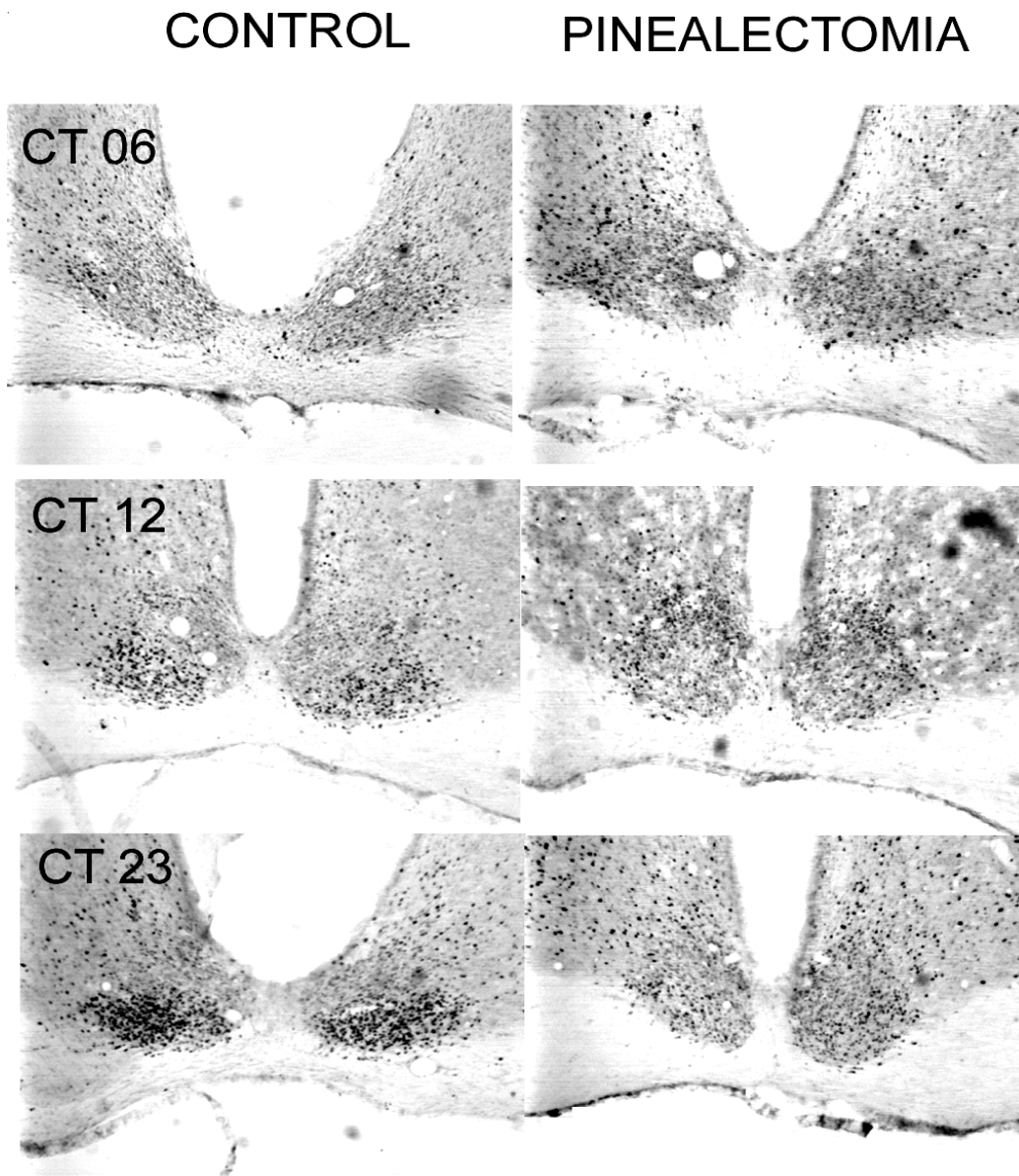


Figura 5. Cortes coronales del NSQ muestran células inmunorreactivas a *c-Fos* en sujetos control y pinealectomizados, que han sido expuestos a pulsos de luz en CT 06, CT12 y CT 23. Se puede observar una clara fotoinducción de *c-Fos* en el NSQ en CT12 y CT23, con respecto a los valores observados en CT 06 que son similares al de sujetos que no recibieron pulsos de luz. La expresión de *c-Fos* en los sujetos pinealectomizados fue mucho menor a la observada en los controles.

	Latencia al inicio (días)	Duración de transitorios (días)
Intactos	15.6 ± 3.3	47.8 ± 18.3
Pinealectomía falsa	24.2 ± 12.3	32.6 ± 13.7
Pinealectomía	3.2 ± 3.8	87.3 ± 6.4

Tabla 1. Efecto de la Pinealectomía sobre el desarrollo de la partición del ritmo circadiano de locomoción en hámsteres.

Estudios realizados en aves demostraban que la extirpación de la glándula pineal facilitaba la sincronización de los ritmos circadianos de conducta a cambios en la hora de encendido de la luz en ciclos de luz-obscuridad. Dichas observaciones nos condujeron a estudiar el efecto de la pinealectomía en la curva de respuestas de fase a la luz en ratas. Para ello comparamos el efecto de pulsos de luz de 800 lux de intensidad y 1 h de duración aplicados a animales mantenidos en luz roja constante. Los pulsos se aplicaron en tres momentos del ciclo circadiano: a la mitad del día subjetivo, es decir cuando el sujeto se comporta como si fuera el día en su ambiente natural, denominado CT 06; al inicio de la noche subjetiva, denominado CT 12; y hacia el final de la noche subjetiva, denominado CT 23, y medimos la respuesta en el ritmo circadiano de ingestión a agua. Los resultados que se muestran en la Figura 4 nos indican claramente que en comparación con los controles la pinealectomía altera la magnitud de las respuestas de fase, ya que disminuye la magnitud del retraso del reloj causado por la luz en CT 12 y aumenta el avance del reloj causado por la luz en CT 23. La pinealectomía no alteró la respuesta a la luz en CT 06. Una posible interpretación de estos resultados es que alguna señal de la pineal modula la sensibilidad de las neuronas del supraquiasmático a la luz, de tal forma que esta aumenta al inicio de la noche subjetiva y disminuye hacia el final de esta.

Con el fin de probar la hipótesis anterior, estudiamos el efecto de la pinealectomía sobre la fotoinducción de c-Fos en el núcleo supraquiasmático a distintos momentos del ciclo circadiano. La expresión en las neuronas del gen de expresión temprana *c-fos* es un índice muy confiable de la actividad neuronal, tanto espontánea como en respuesta a la estimulación transináptica, y en el caso particular del núcleo supraquiasmático también podría tener relevancia en cuanto los mecanismos de adelantos y retrasos del reloj circadiano. Para ello usamos nuevamente el protocolo de la curva de respuestas de fase descrito en el párrafo anterior, se determinó la expresión de la proteína c-Fos en el cerebro mediante inmunohistoquímica, y se cuantificó el número de células inmunorreactivas dentro del núcleo supraquiasmático mediante estereología. Como se observa en la figura 5, en sujetos control los pulsos de luz aplicados

en CT 12 y CT 23 inducen una robusta expresión de c-Fos en las neuronas del supraquiasmático, mientras que los pulsos de luz aplicados en CT 06 no aumentan significativamente su expresión en relación a los valores observados en luz roja constante. Por otra parte, los sujetos pinealectomizados presentaron una reducción de aproximadamente el 50% en el número de neuronas que expresaban c-Fos a todas las fases del ciclo. La cuantificación estereológica de las neuronas inmunorreactivas a c-Fos en el supraquiasmático se muestra en la Fig. 6. Estos resultados indican que la pinealectomía disminuye la sensibilidad a la luz en las neuronas del supraquiasmático, este efecto podría ocurrir a nivel de la retina o directamente en las neuronas del supraquiasmático. Actualmente se están realizando experimentos orientados a determinar si la pinealectomía afecta las expresión funcional de receptores glutamatérgicos tipo NMDA en el supraquiasmático, ya que como se menciono con anterioridad, estos son los receptores involucrados en la transmisión sináptica entre las terminales de la vía retino-hipotalámica y las neuronas del supraquiasmático.

En conjunto, los resultados de los experimentos de la curva de respuesta de fases y fotoinducción de c-Fos, indican que la pineal participa en el mecanismo de sincronización a la luz del sistema circádico de los mamíferos. Dicha participación consistiría en primera instancia en modular la sensibilidad del supraquiasmático a la luz ya sea directa o indirectamente. De tal forma que durante la obscuridad, cuando la melatonina se secreta, las neuronas del supraquiasmático son más sensibles a la luz. Además, es posible que la inhibición de la secreción de la melatonina durante la aplicación de los pulsos de luz, también facilite la respuesta de las neuronas del supraquiasmático a la estimulación de la vía retino-hipotalámica, ya que como se mencionó anteriormente, la melatonina inhibe la actividad de las neuronas del NSQ. Aunque los dos mecanismos anteriores estarían aparentemente en contraposición, esto no es necesariamente el caso ya que el efecto modulador de la sensibilidad del supraquiasmático crearía un contraste sobre el cual la disminución de la melatonina durante los pulsos de luz tendría el efecto facilitador propuesto.

Conclusiones

Al igual que en otros vertebrados como los peces, anfibios, reptiles y aves, en los mamíferos la glándula pineal es un componente muy importante del sistema circádico, que junto con el núcleo supraquiasmático forma un asa de retroalimentación neuroendocrina. Esta asa participa principalmente en la sincronización del supraquiasmático a la luz y en el acoplamiento de diversos osciladores circadianos. En la sincronización a la luz la pineal participa como modulador de la sensibilidad del supraquiasmático a

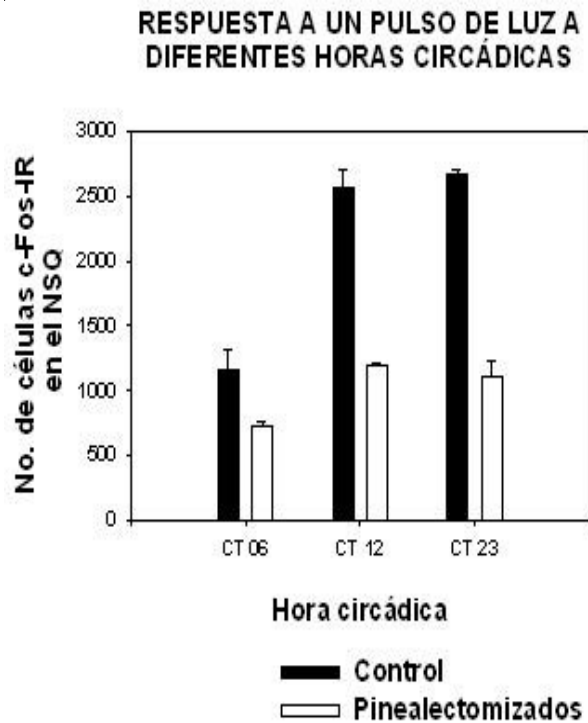


Figura 6. Cuantificación estereológica de la proteína c-Fos en tres diferentes horas circádicas. En sujetos control (■) los pulsos de luz aplicados en CT12 y CT23 inducen una robusta expresión de c-Fos en las neuronas del NSQ, mientras que los animales pinealectomizados (□) presentan una reducción de aproximadamente el 50% en el número de neuronas inmunorreactivas. Los estímulos aplicados en CT 06 no aumentan de una forma significativa la expresión de c-Fos, aunque la pinealectomía también afecta esta expresión basal.

los estímulos que codifican la iluminación ambiental, la inhibición de la secreción de melatonina por la exposición a pulsos de luz podría permitir la adecuada transmisión en la vía retino-hipotalámica. En el acoplamiento la melatonina y otras hormonas producidas por la pineal, transmiten la fase del ciclo circadiano a todo el organismo, que en caso particular de los osciladores circadianos ubicados en el supraquiasmático les permiten funcionar como un reloj circadiano coherente.

Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado gracias al apoyo del proyecto IN209104 del PAPIIT/ UNAM y el CONACYT.

Referencias

1. A Gruart, JM Delgado, C Escobar, R Aguilar Roblero. Los Relojes Que Gobiernan La Vida. SEP-Fondo de Cultura Económica (la Ciencia para todos/188), México, 2002.
2. Aguilar-Roblero R. En la búsqueda del tiempo: Sobre los mecanismos que regulan el orden temporal en los mamíferos. *Ciencia y Desarrollo* 20: 30-45. 1994.
3. Aguilar-Roblero R. Vega-Gonzalez A. Splitting of locomotor rhythmicity in Hamsters is facilitated by Pinelectomy. *Brain Research* 605: 229-236. 1993.
4. Aguilar-Roblero R, Chávez-Juárez JL. Epifisis: La Glándula Pineal en la regulación de procesos endocrinos. en: *Fisiología Humana: Endocrinología y Metabolismo*. J Ninomiya, I Zarco, R Aguilar-Roblero (Eds.) El Manual Moderno. México. 1995. pp 411-431.
5. Aguilar-Roblero R. Morin LP. Moore RY. Morphological correlates of circadian rhythm restoration induced by transplantation of the suprachiasmatic nucleus in hamsters. *Experimental Neurology*, 136: 1-11. 1994.
6. Aguilar Roblero R. Escobar C. Torner C. Granados Fuentes D. Salazar Juárez A. Caldelas I. Mecanismos generales de regulación fisiológica: Acoplamiento de sistemas en oscilación. En: *Actualización en Fisiología*. M Hiriart. J García Sarzosa. E Martínez. S Velázquez. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. México. 1997. pp. 241-254.
7. Armstrong SM. Melatonin: the internal zeitgeber of mammals? *Pineal Research Reviews* 7: 157-209, 1989.
8. Cassone VM. Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. *Trends in Neuroscience* 13: 457-463. 1990.
9. Collin JP. Voisin P. Pineal transducers in the course of evolution: Molecular organization, rhythmic metabolic activity and role. *Arch. Histol. Cytol.* 52: 441-449. 1989.
10. DC Klein, RY Moore, SM Reppert. *Suprachiasmatic Nucleus. The Mind's Clock*. Oxford University Press. USA. 1991.
11. Díaz-Muñoz M. Dent M. Granados-Fuentes D. Hall A. Hernández-Cruz A. Harrington M. and Aguilar-Roblero R. Circadian Modulation of the Ryanodine Receptor Type 2 in the SCN of rodents. *NeuroReport* 10: 481-486. 1999.
12. Dubokovich M. Pharmacology and function of melatonin receptors. *FASEB* 2: 2765-2773. 1988.
13. Granador Fuentes D. Salazar Juárez A. Vergara Aragón P. Escandón Calderón J. Vega González A. y Aguilar Roblero R. Los Ritmos Circádicos en Mamíferos: conceptos, implicaciones y bases biológicas. en: *Temas Selectos de Neurociencias J. Velázquez Moctezuma (Ed.)*. UAM. México. 1995. pp 433-458,
14. Hannibal J. Neurotransmitters of the retino-hypothalamic tract. *Cell Tissue Research* 309: 73-88. 2002.
15. Leloup JCH, Goldbeter A. Toward a detailed computational model for the mammalian circadian clock. *PNAS* 100: 7051-7056. 2003.
16. Meijer JH, Schwartz W. In search of the pathways for Light-Induced pacemaker resetting in the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Biological Rhythms* 18: 235-249. 2003.
17. Okshe A. The pineal complex – the “third” or “first” eye of vertebrates? A conceptual analysis. *Biomedical Research* 10: 184-194, 1989.
18. Pittendrigh CS. Temporal organization: Reflections of a Darwinian clock-watcher. *Ann Rev Physiol* 55: 17-54, 1993.
19. Reiter RJ. The pineal gland: a regulator of regulators. *Progress in Psychobiology and Physiological Psychology* 9: 323-355. 1980.
20. Rollag M, Berson D, Provenci I. Melanpsin, Ganglion-cell photoreceptors, and mammalian photoentrainment. *Journal of Biological Rhythms* 18: 227-234. 2003.
21. Salazar-Juarez A. Escobar C. Aguilar-Roblero R. The anterior paraventricular thalamus modulates light-induced phase shifts in circadian rhythmicity in rats. *American Journal of Physiology (Regul Integ Comp Physiol)* 283: R897-R904. 2002.
22. Wutman R. The pineal gland as a neuroendocrine transducer. En: D. Krieger H. Hughes (Eds.) *Neuroendocrinology*. HP Publishing Co. Nueva York. 1980. 102-119.
23. Zhang L. Aguilar-Roblero R. Barrio RA. Maini PK. Rhythmic firing patterns in SCN: The role of circuit interactions. *International Journal of Bio-Medical Computing* 38: 23-31. 1995.

Correspondencia para el autor

Dr. Raúl Aguilar-Roblero,
Neurociencias/IFC. UNAM
Apdo. Postal 70-253
México D.F. 04510
México.

Tel.: 5622 5650
Fax: 5622 5607

Correo Electrónico: raguilar@ifc.unam.mx



