

## Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2017 Nuestros complejos ritmos interiores

Desde la antigüedad se conoce el hecho de que la vida en la Tierra sufre variaciones vinculadas a la rotación del planeta. Se ha comprobado que todos los seres vivos, incluidos por supuesto los humanos, poseen un reloj biológico interior que contribuye a que logren anticiparse y adaptarse al ritmo regular de los días. Como ha señalado la Asamblea del Instituto Karolinska de Estocolmo, encargada de otorgar el premio Nobel de Fisiología o Medicina 2017, “*Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash y Michael W. Young lograron escudriñar nuestros relojes biológicos y aclarar su mecanismo de funcionamiento. Sus descubrimientos explican el modo en que las plantas, los animales y los seres humanos adaptan su ritmo biológico de modo que esté sincronizado con las revoluciones de la Tierra*”.

Estos científicos, premiados por sus descubrimientos relacionados con los mecanismos moleculares que controlan el ritmo circadiano –así denominado porque su duración espontánea se aproxima a un día– utilizaron en sus estudios como modelo la *Drosophila melanogaster*, la mosca de la fruta, insecto en el que lograron identificar los genes que controlan el ritmo diario normal por medio de las proteínas cuya producción determinan. Luego de estos estudios pioneros se ha demostrado que los relojes biológicos de otros organismos multicelulares, incluidos los seres humanos, funcionan sobre la base de los mismos principios básicos. De manera muy precisa, el reloj interior adapta el funcionamiento de nuestro organismo a las diferentes etapas del día, regulando funciones esenciales como los niveles de hormonas circulantes, el sueño y la vigilia, la temperatura corporal, el metabolismo, la presión arterial y el comportamiento. La importancia de este mecanismo resulta evidente cuando se producen desajustes entre el entorno exterior y el reloj interno, como es el caso de las alteraciones que acompañan al fenómeno del “jet-lag” que resulta del cruce acelerado de varios husos horarios. Ese desajuste entre nuestro estilo de vida y el ritmo interior se ha asociado con un incremento en el riesgo de padecer numerosas enfermedades.

¿Cómo se logró identificar los procesos moleculares responsables de mantener un ritmo circadiano en la actividad celular? Como se ha mencionado, la existencia de ese mecanismo interior, independiente de las señales externas, es conocida desde hace mucho tiempo. El astrónomo francés Jean Jacques d’Ortous de Mairan observó en 1729 que las hojas de la planta de mimosa se cerraban por la noche y se abrían durante el día. Tuvo la idea de colocar una planta en la oscuridad y, al analizar su comportamiento, comprobó que sus hojas seguían abriéndose y cerrándose de manera rítmica en los momentos adecuados del día aún sin estar expuestas a la luz, lo que le permitió sugerir que ese ciclo respondía a señales endógenas. La idea de que los organismos biológicos, plantas, animales, incluidos los seres humanos, poseen un reloj biológico que adapta su fisiología a los cambios que se producen durante el día, se consolidó durante el siglo XX y generó una nueva disciplina, la cronobiología.

A comienzos de la década de 1970, Seymour Benzer y su estudiante Ronald Konopka, trabajando en el “California Institute of Technology” (CALTECH) en los EE.UU., lograron aislar tres mutantes de la *Drosophila* que mostraban claras alteraciones en el ciclo de su actividad locomotora: una carecía de ritmo, otra tenía un periodo más breve de 19 horas y otra uno más prolongado de 28 horas. Esas alteraciones del ritmo circadiano parecían ser el resultado de mutaciones en un solo gen, al que denominaron “period”. Es decir que estaban en presencia de un hallazgo revolucionario para ese entonces: modificaciones en la conducta de la mosca respondían a alteraciones de un gen.

Esos investigadores no disponían entonces de procedimientos experimentales que les permitieran analizar en detalle ese fenómeno. Fue recién a comienzos de la década de 1980 cuando se comenzaron a generalizar las herramientas que hicieron posible avanzar de manera decisiva en estas investigacio-

nes. Dos científicos amigos, que practicaban basquetbol en el campus de la “Brandeis University” en Boston, EE.UU., fueron quienes dieron un impulso fundamental a estos estudios: Jeffrey Hall (Nueva York, 1945), que trabajaba con moscas, y Michael Rosbash (Kansas City, 1944), un biólogo molecular que investigaba mutantes en levaduras. Al cabo de una conversación mantenida en el vestuario, decidieron colaborar en un intento de caracterizar los cambios en el gen “period” que habían descrito Benzer y Konopka más de una década atrás. Casi simultáneamente, en Nueva York, Michael Young (Miami, 1949), biólogo molecular que trabajaba en la “Rockefeller University”, decidió embarcarse en un análisis similar al intuir que se aproximaba la era de los estudios moleculares en la *Drosophila*. Pensó que el gen “period” era el más apropiado para emprenderlos iniciando así una competencia con el grupo de Boston.

Los experimentos de estos investigadores realizados a partir de los primeros años de la década de 1980 –sus trabajos fundamentales fueron publicados en 1984<sup>1, 2</sup>– permitieron aislar el gen “period” de la mosca de la fruta comenzando así la disección a nivel molecular del mecanismo mediante el cual las células llevan a cabo actividades de manera cíclica. Jeffrey Hall y Michael Rosbash encontraron que ese gen “period” es responsable de la producción de una proteína, PER, cuya concentración en la célula aumenta durante la noche y disminuye durante el día, es decir, que oscila en un ciclo cuya duración es cercana a las 24 horas. Ese incremento es precedido por una elevación de la concentración de ácido ribonucleico (ARN), molécula que contiene las instrucciones para sintetizar la proteína PER<sup>3</sup>.

¿Cómo se generan y mantienen esas oscilaciones? Hall y Rosbash elaboraron la hipótesis de que la proteína PER tiene la capacidad de bloquear el gen que, ubicado en el ADN nuclear, contiene las instrucciones para sintetizarla. Comprobaron que, cuando la proteína PER alcanza niveles elevados en el citoplasma de la célula, ingresa a su núcleo donde se acumula e inhibe la síntesis de nueva proteína. En otras palabras, se genera un circuito de retroalimentación negativa que regula la síntesis proteica.

Michael Young identificó en 1994<sup>4</sup> otro gen responsable de la producción de una proteína que interviene en este ciclo. Se trata del gen que denominó “timeless” que codifica la proteína TIM, necesaria para mantener el ritmo normal. Esa proteína, que tiene la capacidad de unirse firmemente a la proteína PER, es la que permite que ésta ingrese al núcleo y bloquee el funcionamiento del gen “period”. ¿Cómo se controla la frecuencia de estas oscilaciones? Michael Young identificó otro gen denominado “double-time” que codifica la proteína DBT que retrasa la acumulación de la proteína PER<sup>5</sup>.

En términos generales, se podría describir el proceso de esta manera:

1. Cuando la mosca es expuesta a la luz, los complejos moleculares formados por la unión de las proteínas PER (por “period”) y TIM (por “timeless”) comienzan a separarse en las células de su cerebro. Esos complejos PER/TIM forman parte de un circuito de retroalimentación que controla la actividad de los genes *per* y *tim* que contienen las instrucciones para sintetizar las proteínas PER y TIM.

2. Al mediodía todas las proteínas PER y TIM se han degradado y otras dos proteínas llamadas CYCLE y CLOCK<sup>6</sup> se unen para formar un complejo que se asocia a los genes *per* y *tim* para activarlos. Cuando esos genes *per* y *tim* se activan, sintetizan los ARN mensajeros que migran al citoplasma con la instrucción para sintetizar ambas proteínas.

3. Una vez en el citoplasma de las células, los ARN mensajeros *per* y *tim* se fijan a los ribosomas donde se sintetizan las proteínas PER y TIM que, uniéndose entre sí, forman nuevos complejos PER/TIM en el crepúsculo.

4. Durante la noche, los nuevos complejos PER/TIM, acumulados en el citoplasma, ingresan al núcleo donde bloquean la actividad de CYCLE y CLOCK, impidiendo la producción de PER y TIM. Cuando al día siguiente aparece la luz, los complejos PER/TIM se separan y recomienza el ciclo.

De esta manera, ambos grupos, el de Boston y el de Nueva York, lograron descifrar este “ballet” de delicados y complejos mecanismos moleculares que intervienen en este ciclo de retroalimentación que involucra a la transcripción (formación de ácido ribonucleico sobre el gen de ADN) y la traducción (síntesis citoplasmática de la proteína), ciclo que se ha denominado genéricamente TTFL (“transcription translation feedback loop”)<sup>7</sup>.

La existencia de ese mecanismo básico, descrito en la mosca de la fruta, pudo ser demostrada en células de numerosos organismos vivos. Con pequeñas variantes, se ha encontrado también en

los seres humanos. Precisamente el hecho de que se trate de un sistema conservado en la evolución constituye una señal de su importancia biológica. Los estudios pioneros de Hall, Rosbash y Young sobre la naturaleza molecular de los ritmos circadianos – que los hicieron merecedores del premio Nobel – constituyen una importante contribución a la comprensión de ese proceso biológico fundamental. No solo descubrieron los componentes básicos y los mecanismos del reloj circadiano de la *Drosophila* sino que realizaron numerosas contribuciones adicionales a nuestro conocimiento del modo en que estos mecanismos están regulados para asegurar ciclos de 24 horas en las variables fisiológicas y del comportamiento. Como se ha señalado, hoy sabemos que muchos de los genes involucrados en el reloj circadiano de la mosca están presentes no solo en los insectos sino también en los mamíferos, donde parecería que desempeñan un papel similar. Dos homólogos humanos del gen “period” de la mosca han sido asociados con síndromes hereditarios que afectan los patrones circadianos del sueño, lo que sugiere que la actividad de estos y otros genes del reloj, descubiertos por primera vez en la mosca de la fruta, podría arrojar luz sobre los mecanismos que regulan el sueño, proceso que se encuentra bajo el control circadiano en los humanos.

Es importante señalar que estos mecanismos moleculares tienen un carácter anticipatorio, es decir, que los cambios se producen inmediatamente antes de que, por ejemplo, se instalen la luz o la oscuridad en el medio en el que se encuentra el organismo y contribuyen de este modo a la sincronización del ritmo biológico con las revoluciones del planeta, proceso que se altera, por ejemplo, en el ya citado “jet-lag”.

Los experimentos de los tres premiados han abierto un nuevo campo de estudio y han permitido analizar aspectos básicos de los múltiples fenómenos biológicos que muestran carácter rítmico. Esos osciladores circadianos presentes en las células responden a las señales que participan en el control fisiológico de muy diversas funciones. Estas adaptaciones circadianas constituyen un mecanismo fisiológico básico con importantes implicancias para el mantenimiento de la salud y la génesis de diversas enfermedades.

El premio Nobel de este año reconoce a científicos que han intentado explicar el extraño hecho de que los organismos vivos son capaces de detectar la hora del día, buscando conexiones causales entre diferentes niveles de organización: el de los mecanismos moleculares en el interior de las células y los cambios a nivel planetario. Una vez más, se distinguen investigaciones emprendidas con el solo objeto de comprender mecanismos biológicos básicos –los estudios en la mosca de la fruta ya han recibido seis premios Nobel– hecho que resulta muy significativo en una época en la que los gobiernos inducen a los científicos a trabajar en “problemas relevantes para la realidad nacional”, sin comprender que es de estos estudios fundamentales de donde surgen, de manera inesperada, soluciones a esos problemas como lo muestra de manera reiterada la historia de la ciencia.

Guillermo Jaim Etcheverry

e-mail: jaimet@retina.ar

1. Zehring WA, Wheeler DA, Reddy P, et al. P-element transformation with period locus DNA restores rhythmicity to mutant, arrhythmic *Drosophila melanogaster*. *Cell* 1984; 39: 369-76.
2. Bargiello TA, Jackson FR, Young MW. Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature* 1984; 312: 752-4.
3. Hardin PE, Hall JC, Rosbash M. Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* 1990; 343: 536-40.
4. Vosshall LB, Price JL, Sehgal A, Saez L, Young MW. Block in nuclear localization of period protein by a second clock mutation, timeless. *Science* 1994; 263: 1606-9.
5. Price JL, Blau J, Rothenfluh A, Abodeely M, Kloss B, Young MW. double-time is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell* 1998; 94: 83-95.
6. King DP, Zhao Y, Sangoram AM, et al. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell* 1997; 89: 641-53.
7. Young MW. The tick-tock of the biological clock. *Sci Am* 2000; 282: 64-71.