

## Tesis de Licenciatura

# Ritmos biológicos y sincronización en pilotos de líneas aéreas sujetos a vuelos transmeridianos de larga duración

Chiesa, Juan José

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Six-Year Bachelor's Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Chiesa, Juan José. (). Ritmos biológicos y sincronización en pilotos de líneas aéreas sujetos a vuelos transmeridianos de larga duración. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario\\_nBIO000646\\_Chiesa](http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000646_Chiesa)

**Cita tipo Chicago:**

Chiesa, Juan José. "Ritmos biológicos y sincronización en pilotos de líneas aéreas sujetos a vuelos transmeridianos de larga duración". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. .

[http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario\\_nBIO000646\\_Chiesa](http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000646_Chiesa)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

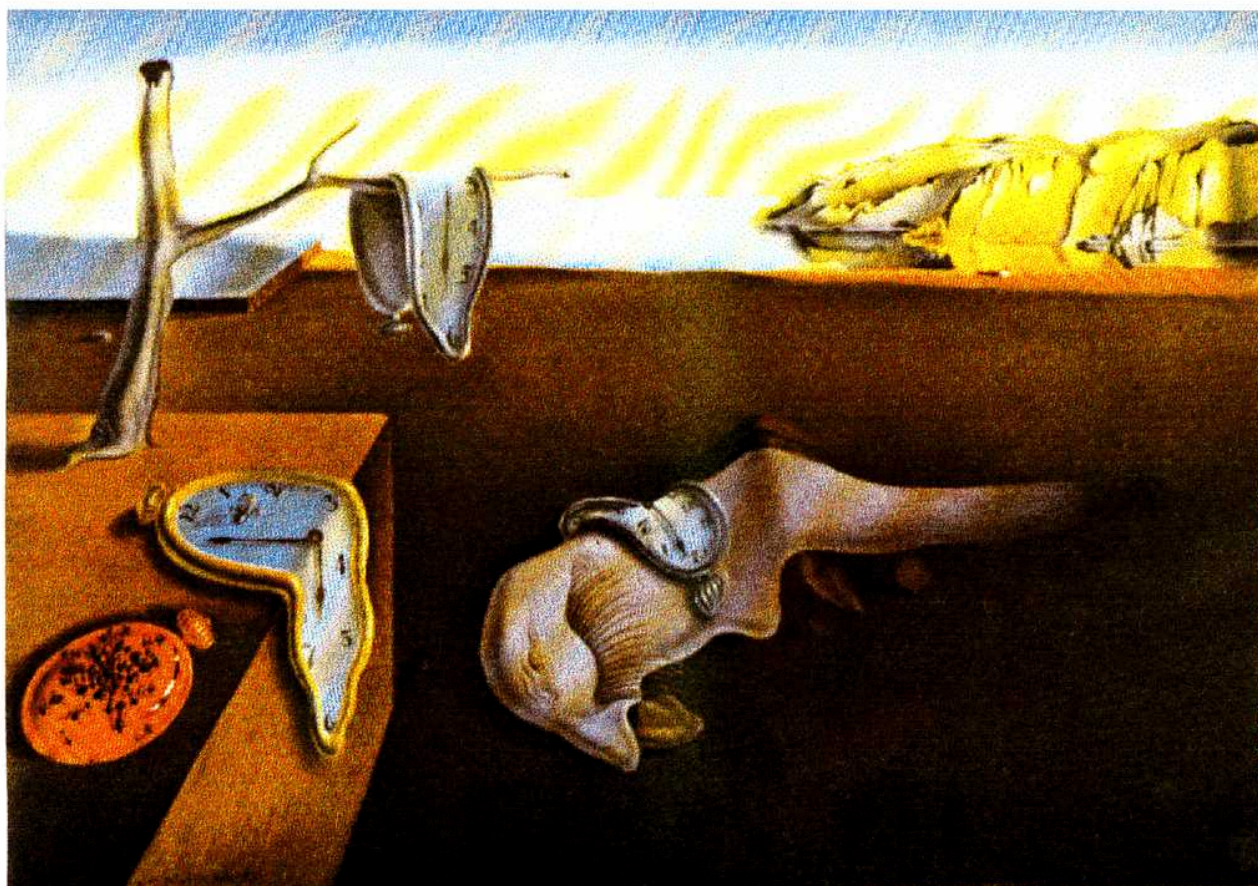


**UBA**

Universidad de Buenos Aires

**Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Ciencias Biológicas**

***Ritmos biológicos y sincronización en pilotos de  
líneas aéreas sujetos a vuelos transmeridianos de  
larga duración***



Autor: Juan José Chiesa

Director: Diego A. Golombek

Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina, U.B.A.

Tesis de Licenciatura en Cs. Biológicas

-1999-

Nº 06464

## AGRADECIMIENTOS

A mi padre Juan Carlos y a mi madre Ema, por haberme apoyado en mis estudios y sobre todo, concederme el don más maravilloso: la vida

A mi hermana Silvina, por su comprensión para otorgarme el tiempo que me fuera necesario, "su tiempo". A mi hermana Paula y a Berna, por ser siempre tan compañeros, y por Felipe y Tomás.

A mis amigos compañeros de cursada: Guillermo "el tero" Zaccardi, Gastón "pupi" Mougabure, Fernandito Ruiz Selmo, Juan Manuel "taco" Cruses, Luciano "flaco" Marpegan, Martín Galasso, Osmar Santoro, Pablo "el arbusto" Rodríguez, María Paglilla, Lorena Arrunategui, Gabriela Rozenberg, Paola Bacalini, Mariana Ripol, Ariana Rosen, Valeria F. Ahrex.

A mis amigos de la vida: José M. Muñoz, Pablo Cecchi, Miguel Posse, Guillermo Requena, Nicolás Rithner, Juan P. Astete, los de General Roca; Sergio De Raco, Wálter Balcedo, Martín Marpegan, Martín Passaggio, Javier Mazzeo, Ricardo Gómez, los de Buenos Aires.

A mi novia Graciela por soportarme y quererme.

A Diego, por los ritmos, el tiempo, la tolerancia, y por saber conducirme en esto de ir a ciegas por el conocimiento de la naturaleza habiéndome "dejado hacer".

Al grupo de ritmos, especialmente a Gabriela, Paola y Ruth. Al Dr. Daniel (melatol) Cardinali, por permitir que una breve parte de este trabajo fuera realizada en su laboratorio.

A los pilotos participantes del estudio, que demostraron ser poseedores de una paciencia sin límites y contribuyeron con su mejor predisposición para el desarrollo de la investigación. A los miembros del Sindicato Español de Pilotos de Líneas Aéreas (S.E.P.L.A) por su permanente colaboración. A líneas aéreas IBERIA por poner a disposición de los investigadores el espacio y los medios técnicos para poder desarrollar este trabajo.

Al equipo de la Universidad Complutense de Madrid, integrado entre otros por la Dra. Carmen Ariznavarreta Ruiz, el Dr. Granados Fagundo, la Dra. Mercedes Martín del Moral y el Profesor Dr. Jesús A. F. Tresguerres, por haberme brindado la posibilidad de utilizar la totalidad de los datos del estudio.

A mí, por la perseverancia y el tesón ante los imprevistos, las condiciones desfavorables y por no resignarme en ningún momento

## INDICE

RESUMEN.....	5
1. INTRODUCCION.....	7
1.1 Ritmos en la naturaleza.....	7
1.2 Parámetros de un ritmo.....	8
1.3 ¿Ritmos exógenos o endógenos? - Homeostasis predictiva y valor adaptativo.....	9
1.4 Clasificación de los ritmos biológicos - Los circarritmos.....	13
1.5 El reloj biológico.....	14
1.5.1 Sincronización del reloj	
1.5.1.1 Sincronización paramétrica	
1.5.1.2 Sincronización no paramétrica	
1.5.2 Los núcleos supraquiasmáticos	
1.5.3 La glándula pineal	
1.6 El ser musical: Ritmos en humanos.....	23
1.6.1 Introducción y generalidades rítmicas	
1.6.2 ¿Ritmos endógenos?	
1.6.3 Orden temporal interno	
1.6.3.1 Mapas de fase del sistema circadiano	
1.6.3.2 Temperatura, fatiga y sueño	
1.6.3.3 Sueño y hormonas	
1.6.3.4 Ritmos cardiovasculares	
1.6.4 Sincronización y claves temporales: sobre métrica y compases.....	31
1.6.5 Alteraciones en la sincronización.....	33
1.6.5.1 Alteraciones endógenas	
1.6.5.2 Alteraciones exógenas	
1.6.5.2.1 Trabajo en turnos	
1.6.5.2.2. El síndrome del <i>jet lag</i> .....	36
2. OBJETIVOS.....	41
3. MATERIALES Y METODOS.....	42
3.1 Animales (con perdón del lector).....	42
3.2 Procedimiento experimental.....	42
3.2.1 Cronograma del estudio	
3.2.2 Monitoreo cronobiológico.....	43
3.2.2.1 Actividad locomotora	
3.2.2.2 Temperatura corporal	
3.2.2.3 Frecuencia cardíaca	
3.2.3 Endocrinología.....	46
3.2.4 Presentación de los datos	
3.2.5 Análisis de los datos	
3.2.6 Estimación subjetiva del tiempo.....	48
4. RESULTADOS.....	50

A- Vuelos a México.....	50
4.1 Monitoreo cronobiológico.....	50
4.1.1 Actividad locomotora	
4.1.1.1 Detección del ritmo	
4.1.1.2 Parámetros del ritmo	
4.1.2 Temperatura	
4.1.2.1 Detección del ritmo	
4.1.2.2 Parámetros del ritmo	
4.1.3 Frecuencia cardíaca	
4.1.3.1 Detección del ritmo	
4.1.3.2 Parámetros del ritmo	
4.1.4 Mapa de acrofases	
4.2 Endocrinología.....	63
4.2.1 Ritmo de melatonina	
4.2.2 Ritmo de cortisol	
4.3 Estimación subjetiva del tiempo.....	65
B- Vuelos a Tokio.....	68
4. Monitoreo cronobiológico.....	68
4.4.1 Actividad locomotora	
4.4.1.1 Detección del ritmo	
4.4.1.2 Parámetros del ritmo	
4.4.2 Temperatura	
4.4.2.1 Detección del ritmo	
4.4.2.2 Parámetros del ritmo	
4.4.3 Frecuencia cardíaca	
4.4.3.1 Detección del ritmo	
4.4.3.2 Parámetros del ritmo	
4.4.4 Mapa de acrofases	
4.5 Endocrinología.....	81
4.5.1 Ritmo de melatonina	
4.5.2 Ritmo de cortisol	
4.6 Estimación subjetiva del tiempo.....	82
5. DISCUSION.....	85
5.1 Cronofisiología.....	85
5.2 Edad y sincronización.....	91
5.3 Sincronización y dirección del vuelo.....	91
5.4 Estimación subjetiva del tiempo - Ansiedad y cansancio.....	92
5.5 Tolerancia - adaptación.....	94
5.6 Terapéutica.....	95
5.6.1 Utilización de luz brillante	
5.6.2 Utilización de melatonina	
5.7 Estrategias de trabajo.....	97
5.8 Guía para el viajero.....	97
5.9 Consideraciones finales.....	100
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	102

## RESUMEN

Los ritmos biológicos son una propiedad conservada en todos los niveles de organización, desde organismos unicelulares procariontes hasta mamíferos y plantas superiores, desde el nivel celular hasta el organismo como un todo. En situaciones experimentales de constancia ambiental, diversas variables fisiológicas y conductuales muestran ritmos con períodos similares al período del ritmo geofísico más relevante para el organismo (se los denomina con el prefijo *circa*, p. ej. aquellos con períodos de 25hs., *circadianos*, se aproximan a un día), y su naturaleza endógena se manifiesta al mantenerse por períodos prolongados en aislamiento. Los procesos biológicos con funciones de "medición del tiempo" que constituyen el componente endógeno de los ritmos, son denominados *reloj biológico* o *marcapasos*. El reloj es capaz de generar ritmos en aislamiento, pero el valor adaptativo de su funcionamiento reside en su capacidad de sincronizarse con los ciclos ambientales. Los ritmos biológicos hallados en la naturaleza son el resultado de un reloj endógeno que ha sido "puesto en hora" por claves temporales del ambiente. Esta sincronización permite el ajuste o adecuación del tiempo biológico con el ambiental y provee a los relojes biológicos de un mecanismo para reconocer la hora local y generar una referencia temporal interna, permitiendo la adecuada interacción en el dominio del tiempo entre el organismo y el ambiente. El sincronizador (o *zeitgeber*) más estable en período y fase y por ende más predecible es la variación de iluminación del ciclo día/noche, y ejerce sus efectos sincronizadores sobre estructuras neuronales específicas alojadas en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo (NSQ), considerado el reloj biológico. La conexión anatómica y fisiológica mejor descrita es la que vincula a los NSQ con la glándula pineal o *epiphysis cerebri* (hallada en muchos vertebrados), que en humanos se halla profundamente situada entre los hemisferios cerebrales, mediante una vía multi-sináptica que releva en el ganglio cervical superior del sistema simpático. La hormona melatonina, liberada y sintetizada por la pineal, actúa como un *zeitgeber* interno proporcionando un acople neuroendócrino a partir de la actividad del reloj, regulando entre otros al ritmo de actividad/reposo. Otros ritmos fisiológicos importantes son el de temperatura central, que indica ajustadamente la actividad del reloj, ritmos en funciones cardiovasculares como la frecuencia cardíaca, la presión arterial, en funciones endócrinas como catecolaminas y cortisol circulantes en plasma, etc. La generación de ritmos endógenos es un proceso dependiente de claves de tiempo externas que ejercen efectos sobre mecanismos activos del reloj, el cual proporciona la fase de oscilación a otros osciladores secundarios. El sistema circadiano humano es un multioscillador de arreglo jerárquico, que consta de varios osciladores con distintas relaciones de acoplamiento al reloj. De acuerdo a esto al cambiar las condiciones de sincronización o alterarse los procesos subyacentes, las distintas variables circadianas comprometidas manifestarán tasas de ajuste diferentes de acuerdo a la predicción del modelo teórico, ocurriendo una desincronización interna característica. Desde un punto de vista cronobiológico, el estado de normalidad (salud) se define como la correcta relación de fases, tanto entre los ritmos del propio organismo como entre éstos y el ciclo ambiental, ya que los procesos mutuamente interdependientes deben ocurrir con una apropiada sincronización. El estudio del orden temporal interno es de gran utilidad para describir anomalías producidas por alteraciones circadianas ya sean de origen endógeno (ceguera, vejez, maníaco-depresión) o exógeno, en particular las inversiones del ciclo luz/oscuridad producidas por la rotación de los turnos de trabajo o por la adopción de una nueva localización geográfica impuesta por vuelos transmeridianos de larga duración. La resincronización del reloj al nuevo horario ambiental y por consiguiente de los ritmos que controla no es inmediata, manifestándose un estado de desincronización interna fisiológica que es característica durante el *jet lag*, y es asociada con el malestar y los disturbios del sueño experimentados por los viajeros. Para describir este estado cronobiológico, fue desarrollado un análisis multivariado en campo sobre el

sistema circadiano de pilotos de líneas aéreas en vuelos al Oeste (Madrid-México-Madrid, -7 hs. la diferencia horaria entre Madrid y México, n=12) y vuelos al Este (Madrid-Tokio-Madrid, +8 hs. de diferencia, n=21) dividiendo en grupos de edad, mayores y menores de 50 años. Se registraron por telemetría la actividad locomotora, temperatura cutánea y la frecuencia cardíaca, y mediante radioinmunoensayo la concentración plasmática de cortisol y de melatonina, obteniendo 6 días de registro continuo, divididos en tres niveles experimentales: dos días antes del vuelo en Madrid, dos días en la escala (México o Tokio) y dos días después del vuelo de regreso a Madrid. Las series de tiempo fueron analizadas por cosinor (regresión cosenoidal), y los parámetros obtenidos de los ritmos (amplitud, acrofase, mesor) fueron comparados mediante ANOVA y contrastes de Tukey dentro de cada categoría. También se realizaron evaluaciones en parámetros cognitivos como la estimación subjetiva del tiempo, ansiedad y cansancio, de los cuales sólo los resultados de estimación del tiempo se consideran en el presente trabajo. Se halló una rápida sincronización de la actividad locomotora, fuertemente enmascarada por un *zeitgeber* social, y de otras variables de ajuste reactivo como la frecuencia cardíaca y la concentración plasmática de cortisol, mientras que la temperatura cutánea y la concentración plasmática de melatonina expresaron un gran componente endógeno al no sincronizarse con las nuevas condiciones ambientales, evidenciando una respuesta de fase de tipo circadiana. Las sobrestimaciones del tiempo encontradas no mostraron componentes circadianos, y fueron atribuidas a mecanismos ligados al cansancio y al estrés. Algunos resultados muestran variabilidad en la fisiología de los ritmos relacionada a la edad, mientras que no se observó el efecto asimétrico en la sincronización de los ritmos debido a la dirección del vuelo.

## 1. INTRODUCCION

### 1.1 Ritmos en la naturaleza

Los *ciclos* o *ritmos* pueden definirse como repetición de situaciones, eventos y fenómenos en intervalos regulares o periodos de tiempo. La ritmicidad es regla en el universo, tanto en sus dimensiones microcósmicas como macrocósmicas: los átomos oscilan con frecuencias características, el universo se contrae y expande con un período del orden de los millones de años. Según el mito griego nuestro planeta fue creado por la danza de la diosa *Gaia*, una nebulosa de remolinos turbulentos envuelta entre velos blancos que giraba a través de una oscuridad que llamaban *Caos* (128). La diosa permitió a la vida auto-organizarse al ritmo de su danza, y diariamente nos encontramos interpretando uno de sus compases.

La naturaleza cíclica del universo impone variaciones ambientales periódicas sobre la Tierra, manifestadas como cambios estacionales (consecuencia de la traslación del planeta en una órbita elíptica alrededor del sol) que se alternan en los hemisferios debido a la inclinación del eje del planeta respecto al plano de la órbita, y como cambios diarios en la exposición de la superficie terrestre al campo electromagnético generado por el sol, consecuentes con la rotación de la Tierra sobre su eje, esto último ya establecido en el siglo IV por Heráclides del Ponto (126). El período medio de revolución del planeta en la actualidad es de 24 horas y define al día solar, que se halla caracterizado entonces por fluctuaciones periódicas en las horas de luz y oscuridad. Otro ciclo geofísico conspicuo es el de mareas, producido por la influencia gravitacional desplegada por la luna en su órbita alrededor del planeta (106).

Existen cambios ambientales que se dan en forma irregular y no manifiestan una periodicidad, como variaciones en temperatura, luz, humedad y otros factores físicos asociados con los sistemas meteorológicos. Debido a su característica aperiódica, estos factores no pueden considerarse como presiones selectivas que operen sobre la evolución biológica. Se ha propuesto que los cambios ambientales periódicos son los que han tenido mayor influencia en el modelado evolutivo (2, 116), y es de esperar entonces que la fisiología y el comportamiento de la inmensa mayoría de las especies se

haya adaptado y muestre periodicidades acorde con los ciclos geofísicos más relevantes para su biología.

En el contexto biológico los ritmos son una propiedad conservada en todos los niveles de organización, desde organismos unicelulares procariontes hasta mamíferos y plantas superiores, desde el nivel celular hasta el organismo como un todo. Por ahora, es conveniente detenerse aquí para establecer los parámetros que caracterizan a un ritmo.

## 1.2 Parámetros de un ritmo

Para estudiar un ritmo, es conveniente realizar su ajuste estadístico a una función matemática adecuada, con una variable dependiente (la variable biológica) que tome valores entre una cota superior y una inferior en intervalos regulares de tiempo. Las funciones cosenoidales son las más indicadas en la mayoría de los casos, de ellas se desprende una representación matemática de la función biológica y se detectan parámetros para su análisis (61, 151) (Fig. 1):

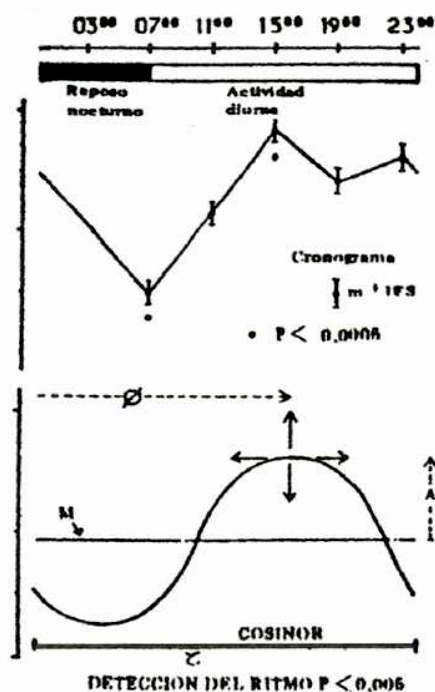


Figura 1. Gráfico de un ritmo biológico y de una función coseno.

- 1) Amplitud: es la diferencia entre el valor máximo (o mínimo) de la variable y el mesor, medida en sus unidades correspondientes (grados centígrados, latidos/minuto, concentración en orina o plasma, índices de estados de ánimo, etc.).
- 2) Mesor: valor medio estimado de la variable a lo largo de un período. Cuando se obtienen regresiones cosenoidales, la amplitud se obtiene como la diferencia entre el valor máximo y el mesor (M).
- 3) Período: tiempo transcurrido desde que la función atraviesa un valor determinado de su amplitud, hasta que vuelve a alcanzarlo. Se representa por la letra griega tau ( $\tau$ ), y se mide en unidades de tiempo (milisegundos, horas, meses, etc.). El gráfico dibujado por la variable en un período de tiempo define a un ciclo de la función, y el período del sincronizador ambiental se simboliza como T.
- 4) Frecuencia: es el número de ciclos que ocupan una determinada unidad de tiempo, o la inversa del período. Muchas veces es más cómodo hablar de frecuencias en lugar de períodos, generalmente para caracterizar ritmos mas bien rápidos (p. ej. ondas del electroencefalograma, o del electrocardiograma). Cuando la frecuencia se mide en ciclos por segundo, la unidad es el "hertz" (Hz): un ritmo de 3.2 Hz es aquel en el que se dan 3.2 períodos de la variable rítmica por segundo.
- 5) Fase: este parámetro describe la posición en la escala de tiempo del ritmo biológico en estudio, y se simboliza con la letra griega fi ( $\phi$ ). Es claro que la fase debe estar referida a alguna otra función periódica relacionada, que puede ser externa (hora del día) o bien interna (otro ritmo biológico). Como la fase no es otra cosa que alguna posición temporal de la variable rítmica, se la ubica por conveniencia cuando ésta alcanza un máximo, y se la denomina "acrofase".

Iremos introduciendo, cuando corresponda, el valor teórico y analítico de los parámetros mencionados, para no entrar en detalles que hasta el momento puedan hallarse fuera de contexto.

### 1.3 ¿Ritmos exógenos o endógenos? - Homeostasis predictiva y valor adaptativo

Al considerar las respuestas adaptativas de los organismos a un ambiente cíclico, surge una dicotomía sobre el origen de las variaciones biológicas rítmicas con correlatos geofísicos: ¿son simplemente una respuesta al ambiente de tipo "causa-efecto", o poseen una raíz orgánica producto de elementos periódicos impresos por el ambiente en el curso de la evolución? Para estudiar las

causas endógenas de los ritmos se los estudia en ausencia de variaciones ambientales, o sea en condiciones constantes de exposición a la luz (luz constante se simboliza por LL), oscuridad (OO), temperatura, humedad, etc. En esta situación experimental, se dice que el organismo se encuentra en libre curso, y se define al período del ritmo medido como  $\tau$  = período de libre curso (FRP, del inglés *free running period*). Se manifiestan ritmos conspicuos con  $\tau$  aproximados a las 24 horas, por lo que se los ha denominado ritmos circadianos (*circa*, del latín, cercano; *diem* del latín, diano). Las primeras evidencias que sostienen la hipótesis acerca del origen endógeno de los ritmos, surgen del estudio de dichos "circarritmos" (10, 16):

- i- Se mantienen por períodos prolongados de aislamiento: de tratarse de un mecanismo pasivo, al suprimir la influencia externa la ritmicidad debería desaparecer, como si se tratase de una oscilación amortiguada.
- ii- Se observa una gran variabilidad intraespecífica de  $\tau$ , y es siempre constante para los distintos ritmos del mismo individuo, por lo tanto habiéndose eliminado la fuente de variación ambiental, aquélla es explicada por diferencias genéticas.
- iii- El período de libre curso exhibe poca variación a lo largo de series de tiempo prolongadas, como consecuencia de un "mecanismo de precisión".

Jurgen Aschoff propuso reglas empíricas para caracterizar los hábitos de animales de acuerdo a sus ritmos circadianos de actividad/reposo en libre curso (aunque existen excepciones), conocidas en Cronobiología como las "Reglas de Aschoff" (12, 16):

**$\tau > 24$  horas : animales de hábitos diurnos ( $\tau_{LL} < \tau_{DD}$ )**

**$\tau < 24$  horas : animales de hábitos nocturnos ( $\tau_{LL} > \tau_{DD}$ )**

Existen evidencias de componentes genéticos predeterminados que expresan ritmos en determinados organismos, como aquellos hallados en la eclosión de huevos de insectos mantenidos en ambientes constantes. Gemelos univitelinos criados y educados en ambientes familiares separados muestran la misma ritmicidad en sus frecuencias cardíacas (107). Plantas seleccionadas con distintos períodos de libre curso dan origen a progenies con fenotipos de períodos cortos, largos e intermedios, que continúan el acervo genético parental. Por otra parte, se han aislado y caracterizado mutantes con

FRP diferentes al normal en *Drosophila* sp., *Neurospora* sp., hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) y otros organismos (84, 58, 118). En general, los ritmos biológicos son considerados una propiedad de naturaleza endógena e incondicionada de los organismos: se presentan aún sin la influencia de variables ambientales, y pueden mantenerse estables por tiempos prolongados.

En este contexto, los ritmos biológicos pueden haber surgido en el curso de la evolución en respuesta a determinadas variables ambientales cíclicas (exposición a la luz, temperatura, humedad, salinidad, magnetismo, etc.), que actúan como claves temporales o *zeitgeber* (dadores de tiempo) modelando en el organismo una representación endógena del tiempo externo. Colin Pittendrigh plantea el problema de la naturaleza exógena vs. endógena de los ritmos biológicos desde la perspectiva de la evolución, de modo que en sus orígenes los seres vivos se someterían al orden temporal impuesto por el ambiente, y conforme evolucionaron "asimilando" el tiempo externo dieron origen a su propia organización temporal. Así el correlato biológico-geofísico se explica por la impresión original del ambiente, mientras que sus diferencias se deben a las características particulares de los organismos para adaptarse al medio ambiente (116).

Considerados según un principio de homeostasis predictiva, la regulación del medio interno se basa en la capacidad de los ritmos para sincronizarse con el ambiente, ya que de expresarse su período endógeno se iría desfasando continuamente de las condiciones periódicas ambientales. Entonces el valor adaptativo de los ritmos biológicos reside en su sincronicidad con el programa temporal del ambiente, que resulta predecible para los organismos en pro de elaborar respuestas fisiológicas y conductuales anticipatorias.

La evolución biológica es considerada como un proceso unidireccional respecto del tiempo. De acuerdo a la ley de la optimización de los recursos, las especies se han configurado adaptativamente explotando una miríada de nichos ecológicos disponible en la biósfera. Las fases diurna y nocturna del día solar posibilitan una compartimentalización del ambiente en nichos temporales: existen organismos de hábitos diurnos, que manifiestan ritmos de actividad/reposo de 24 horas con la fase de actividad durante las horas del día, otros de hábitos nocturnos que se muestran activos durante la noche, y los que prefieren las transiciones luminosas del amanecer y el crepúsculo. Ejemplos clásicos

de coevolución como el de las angiospermas y sus polinizadores muestran adaptaciones morfológicas recíprocas, así como también ritmos sincronizados de apertura de flores y de actividad recolectora de los insectos o aves polinizadores. La apertura y cierre de las flores de ciertas plantas inspiró a Carolus Linneo el diseño de su "reloj floral", en el que la hora se mide mediante la observación de flores que se abren o cierran a horas precisas del día (Fig. 2).



**Figura 2.** Reloj floral de Carolus Linneo.

Otra propiedad importante de los ritmos reside en la base de los fenómenos fotoperiódicos, que ocurren especialmente en zonas de estacionalismo marcado, como la floración de las plantas angiospermas, la diapausa y los morfos estacionales de los insectos holometábolos, el aletargamiento invernal (torpor, hibernación) en mamíferos de los órdenes Chiróptera, Rodentia e Insectívora (60). Ante la ocurrencia de un ambiente predecible, los organismos pueden realizar ajustes en sus funciones para anticiparse a períodos de condiciones extremas desfavorables. El rol de los ritmos en estos fenómenos es generar un modelo endógeno de coincidencia para establecer la dirección del cambio ambiental (26, 116, 123).

Hemos de introducirnos en aspecto teóricos de la Cronobiología, para poder dar un marco conceptual a nuestro presente tema de investigación: las alteraciones circadianas producidas por transiciones horarias debidas a vuelos transmeridianos, denominadas *síndrome del jet-lag*.

1.4 Clasificación de los ritmos biológicos - Los circarritmos

Los ritmos biológicos medidos en ambientes controlados, sean respuestas comportamentales o fisiológicas, muestran períodos de libre curso similares al período del ritmo geofísico más relevante para el organismo. Franz Halberg introdujo el prefijo "circa" para caracterizar esta periodicidad endógena relacionada a la variable ambiental de influencia, en sus experiencias de aislamiento el ciclo diario de luz/oscuridad, por lo que los ritmos hallados eran "circadianos" (70). Por otro lado, Jurgen Aschoff extendió el concepto, hallando periodicidades "circamareales", "circalunares" y "circanuales" (11). Los ritmos biológicos se presentan abarcando un amplio rango de frecuencias, y pueden ser clasificados de acuerdo a ellas (Tabla 1).

Tabla 1: Frecuencias de ritmos biológicos

	ALTA FRECUENCIA $\tau < 0.5 \text{ hs.}$	FRECUENCIA MEDIA $0.5 < \tau < 3 \text{ días}$	BAJA FRECUENCIA $\tau > 3 \text{ días}$
Regiones de los ritmos	$\tau \approx 0.10 \text{ seg.}$ $\tau \approx 0.01 \text{ seg.}$ etc.	Ultradiano: $0.5 < \tau < 20\text{h}$ Circadiano: $20 < \tau < 28 \text{ h}$ Infradiano: $\tau > 28 \text{ hs.}$ Circamareal: $\tau \approx 12 \text{ hs.}$	Circaseptano: $\tau \approx 7 \text{ días}$ Circadisepiano: $\tau \approx 14 \text{ d}$ Circavigintiano: $\tau \approx 20 \text{ d}$ Circatrigintano: $\tau \approx 30 \text{ d}$ Circanual: $\tau \approx 1 \text{ año}$
Ritmos en:	Electroencefalograma Electrocardiograma Respiración Peristalsis	Sueño-Vigilia Reposo-actividad Movimientos oculares Componentes en sangre, orina, etc. Temperatura Procesos metabólicos	Apareamiento Migración Menstruación

Para que un ritmo biológico sea un "circarritmo", no sólo debe demostrarse que el período sea el adecuado, sino que la oscilación es endógena y autosostenida, es decir, permenece en condiciones de constancia ambiental. Muchas de las funciones de los ritmos biológicos se manifiestan al poner énfasis en sus frecuencias: los mecanismos de transducción sensorial involucrados en la percepción auditiva y visual se basan en una recepción por muestreo de frecuencias de las ondas acústica y electromagnética incidentes en los mecanorreceptores del órgano de Corti y los fotorreceptores retinianos, los cuales convierten el estímulo en códigos neurales, que no son sino frecuencias de potenciales de acción; el pulso mantenido por las células marcapasos del corazón conduce la

frecuencia de contracción del órgano como un todo, en un ejemplo de interrelación de ritmos de distinta frecuencia (60).

### 1.5 El reloj biológico

La ocurrencia de ritmos en situación de aislamiento, separados de sus influencias externas, permite suponer la existencia de procesos biológicos con funciones de "medición del tiempo" que constituyen su componente endógeno, denominado *reloj biológico* o *marcapasos*. Una forma de estudiar las propiedades del reloj es a través de su salida, es decir los ritmos bioquímicos, fisiológicos y conductuales que regula. Hemos mencionado ritmos de frecuencia y períodos variados, pero los relojes más estudiados son los circadianos, que "miden" el período de rotación de la Tierra sobre su eje. Ya en el año 1960, Colin Pittendrigh propuso las siguientes propiedades de dichos relojes (114):

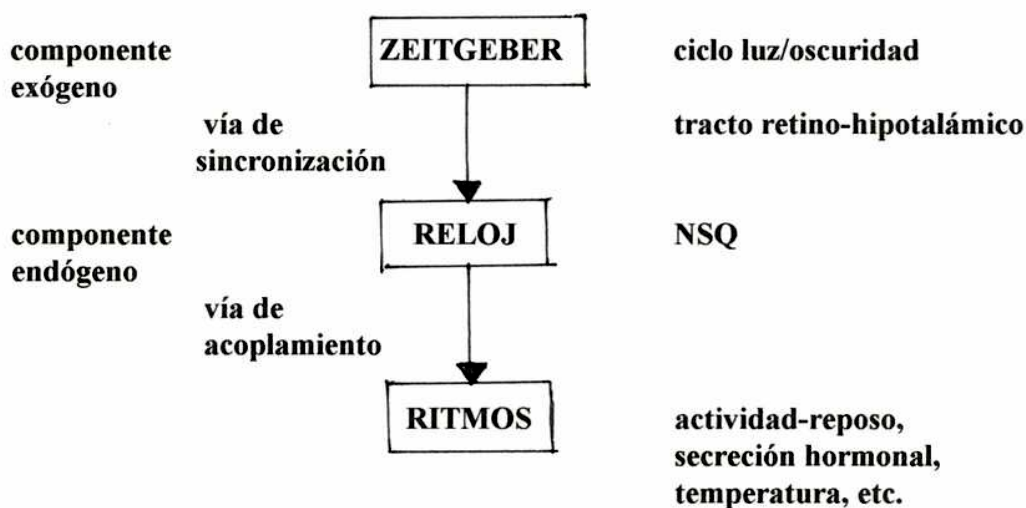
- i- los ritmos circadianos (RC's) se definen como aquellos ritmos biológicos cuyo  $\tau$  *ES UNA APROXIMACION AL PERIODO DE ROTACION DE LA TIERRA*.
- ii- los RC's son *UBICUOS* en los sistemas vivientes.
- iii- los RC's son *ENDOGENOS* en los sistemas vivientes.
- iv- los RC's son usualmente *OSCILACIONES AUTO-SOSTENIDAS*.
- v- los RC's son *INNATOS*.
- vi- los RC's se producen de forma autónoma en *TODOS LOS NIVELES DE ORGANIZACION* de un organismo.
- vii- el período de libre curso ( $\tau_{FR}$ ) se caracteriza por una muy pequeña variación en una secuencia de ciclos en aislamiento; el sistema subyacente despliega una gran *PRECISION* ( $ES \approx 2$  minutos/día).
- viii- el  $\tau_{FR}$  no es una característica fija e inalterable de un organismo; es susceptible a cambios espontáneos e inducidos dentro de un rango de valores característico.
- ix- algunas especies difieren claramente de otras en sus rangos de  $\tau_{FR}$  (nocturnas, diurnas, etc.).
- x- el  $\tau_{FR}$  puede mostrar la historia previa de sincronización, o "*POST-EFECTO*" del *zeitgeber*.
- xi- el  $\tau_{FR}$  es (casi) *INDEPENDIENTE DE LA TEMPERATURA*, es decir, compensa sus variaciones ( $1.2 > Q_{10} > 0.9$ ).
- xii- el  $\tau_{FR}$  es *DEPENDIENTE DE LA INTENSIDAD LUMINICA* (Reglas de Aschoff:  $\tau_{LL} > \tau_{OO}$  en animales nocturnos,  $\tau_{LL} < \tau_{OO}$  en animales diurnos).

- xiii- los RC's son *SINCRONIZABLES* ( $T = t$ ) por una *RESTRINGIDA CLASE DE PERIODICIDADES AMBIENTALES*, en especial el ciclo luz/oscuridad, existiendo rangos de sincronización (donde  $T - \tau$  es el límite) característicos de las especies; en general las especies "más complejas" tienen rangos más estrechos.
- xiv- la *FASE* ( $\phi$ ) de los RC's puede ser *CAMBIADA POR UNA PERTURBACION SIMPLE* del *zeitgeber* externo.
- xv- el alcance de un nuevo estado estacionario, luego de un  $\Delta\phi$  del *zeitgeber*, siempre es precedido por reajustes *TRANSITORIOS* o graduales del  $\tau_{FR}$ .

En virtud de lo expuesto, es el momento de plantear uno de los modelos centrales en Cronobiología. Se propone la existencia de un componente exógeno dador de tiempo o *zeitgeber*, y un componente endógeno o *reloj biológico* que interactúan para generar ritmos en los organismos (12). Algunos autores como Pittendrigh ó Aschoff propusieron la existencia de estructuras orgánicas que funcionarían como marcapasos capaces de imponer período y fase a los procesos orgánicos, mientras que para otros como Halberg ó Reinberg, las propiedades que definen al reloj biológico son el resultado de múltiples procesos fisiológicos oscilatorios que ajustan sus fases (10, 114, 71).

El reloj es capaz de generar ritmos en aislamiento, pero el valor adaptativo de su funcionamiento reside en su capacidad de sincronizarse con los ritmos ambientales, para acoplar su oscilación con las funciones orgánicas de manera que éstas se presenten en armonía entre sí y con el ambiente. Los ritmos biológicos hallados en la naturaleza son el resultado de un reloj endógeno que ha sido "puesto en hora" por claves temporales del ambiente.

El dador de tiempo ambiental más relevante es el ciclo luz/oscuridad, cuya conexión anatómica y fisiológica con el reloj, en mamíferos, es el tracto retino-hipotalámico (TRH) de la vía visual. La información fótica transducida en los fotorreceptores retinianos es conducida por el TRH, alcanzando estructuras específicas localizadas en el hipotálamo, las cuales conforman grupos de neuronas con actividad neurosecretoria, llamados núcleos supraquiasmáticos (NSQ) (103). La figura 3 resume lo expuesto, representando el modelo central en Cronobiología:



**Figura 3.** Componentes endógeno y exógeno de los ritmos biológicos.

### 1.5.1 Sinronización del reloj

La sincronía o la calidad de sincrónico (del griego *syn*, con, y *chronos*, tiempo) se refiere a aquellos fenómenos que ocurren al mismo tiempo. En condiciones naturales la ritmicidad biológica no manifiesta su oscilación espontánea, sino que presenta una estrecha relación temporal con el ambiente geofísico. Esta sincronización permite el ajuste o adecuación del tiempo biológico con el ambiental y provee a los relojes biológicos de un mecanismo para reconocer la hora local y generar una referencia temporal interna, permitiendo la adecuada interacción en el dominio del tiempo entre el organismo y su ambiente (26, 116, 123).

Una variedad de fenómenos ambientales pueden funcionar como estímulos sincronizadores de los ritmos endógenos, entre otros la luz (sincronización fótica), la temperatura, la disponibilidad de alimento, las relaciones ecológicas y las señales de comunicación social (11, 17, 109). Las más estables en período y fase y por ende más predecibles, son las variaciones de iluminación del ciclo día/noche. Se considera entonces a la sincronización fótica como la más relevante para los organismos epigeos. Los efectos sincronizadores de estímulos ambientales sobre los osciladores biológicos pueden explicarse desde dos mecanismos de acción distintos, los cuales se denominan sincronización paramétrica y sincronización no paramétrica:

### 1.5.1.1 Sincronización paramétrica

La sincronización de un ritmo por el *zeitgeber* consiste, según Aschoff (16), en el ajuste realizado por el reloj sobre su período de oscilación ( $\tau$ ) con el del ritmo ambiental ( $T$ ), de tal forma que el período del ritmo sincronizado sea  $\tau^* = T$ , estableciéndose además una relación o ángulo de fase ( $\Phi_{o,z}$ ) constante entre la fase del ritmo endógeno ( $\phi_o$ ) y la fase del ritmo ambiental ( $\phi_z$ ); como lo indica su notación,  $\Phi_{o,z}$  se hace positivo o negativo en referencia al oscilador biológico: si el *zeitgeber* lo precede es positivo, si lo antecede es negativo. Esta relación de fase depende de la intensidad del estímulo sincronizador (de ahí la denominación "paramétrica", ya que depende de los parámetros de la luz) y de la relación entre  $\tau$  y  $T$ , y ambos factores determinan la *potencia del sincronizador*. Como se hace cuando existe algún fenómeno que se halla en función de dos variables, se fija una y se estudia la dependencia con la otra. Se halló que para una intensidad determinada del sincronizador:

- 1) cuando  $\tau < T$  el ritmo endógeno antecede al ambiental, siendo  $\Phi_{o,z}$  positivo.
- 2) cuando  $\tau > T$  el ritmo endógeno sigue la oscilación más rápida del *zeitgeber*,  $\Phi_{o,z}$  es negativo.

Por otro lado si la intensidad del estímulo sincronizador se disminuye en la proporción de horas de luz (p. ej. de LO = 50:50 % a 25:75 %), pero manteniendo constante la relación  $\tau, T$ , la relación de fases se incrementa, como si el ciclo LO con sólo 25% de luz se tratara de un *zeitgeber* "débil". Aschoff propone también que la intensidad del estímulo sincronizador, para un ciclo LO = 50:50 %, está determinada por la intensidad de la luz (medida en unidades lux = 1/10 de una "bujía/pie", la intensidad de iluminación vista a doce pulgadas de una bujía incandescente), la que mantiene la misma relación con el ángulo de fase.

Los estímulos sincronizadores pueden afectar al organismo directamente sobre sus sistemas efectores de la ritmicidad, sin modificar la oscilación del reloj. A este fenómeno descrito por Aschoff se le denomina *efecto de enmascaramiento*, y es distinguishable de la sincronización por que cuando el ritmo enmascarado se deja en libre curso, muestra un salto súbito retomando la fase previa al supuesto estímulo sincronizador.

Luego de un cambio súbito en la fase del estímulo sincronizador ( $\Delta\phi_z$ ), en particular el ciclo luz/oscuridad, la fase del ritmo endógeno se ajusta progresivamente ( $\Delta\phi_o$ ), perdiéndose así la relación de fase estable ( $\Phi_{o,z}$ ) con el *zeitgeber* mientras el período del ritmo cambia ciclo a ciclo en forma transitoria (a estos ciclos se los denomina *transitorios*), hasta que se restablece una relación de fase constante entre los osciladores o *estado estacionario*. Hoffmann (cita) halló que los retrasos ( $-\Delta\phi_z$ ) y avances ( $+\Delta\phi_z$ ) de fase del sincronizador menores de 6 a 9 horas inducen transitorios cuyo cambio de fase sigue al del sincronizador, mientras que si son mayores pueden inducir transitorios en dirección opuesta al *zeitgeber*. El mayor determinante para que esto último ocurra parece ser la longitud de  $\tau$  en oscilación espontánea: individuos con  $\tau$  corto se ajustan por transitorios en avance, mientras que aquellos con  $\tau$  largo lo hacen por retrasos.

De interés particular en nuestro tema de tesis, se introduce la *velocidad aparente de resincronización*, o sea el número de transitorios necesarios para alcanzar el estado estacionario luego de un cambio de fase del ciclo luz/oscuridad, que depende de la dirección del mismo ( $-\Delta\phi_z$  = vuelos en dirección oeste,  $+\Delta\phi_z$  = vuelos en dirección este) así como también del período endógeno del oscilador.

### 1.5.1.2 Sincronización no paramétrica

En el apartado anterior nos referimos a la luz como estímulo sincronizador cuando se aplica en fotoperíodos completos (p.ej. en un ciclo 12:12, la luz se presenta en forma continua durante 12 horas). El efecto del pulso de luz diario produce un cambio del período de libre curso  $\tau$  de la oscilación circadiana en una cantidad igual a  $\tau - T$  ( $T = 24$  hs.), la entrada del *zeitgeber* al oscilador es *continua* y ejerce un control mediante un cambio continuo en la velocidad angular del oscilador, acelerándolo en un sentido o en el otro. Como alternativa, Pittendrigh (115) propone que el estímulo sincronizador puede ser *discreto*, hallando ritmos circadianos de eclosión en *Drosophila* susceptibles de ser sincronizados tanto por un fotoperíodo prolongado como por pulsos de luz de corta duración, planteándose si la acción de un fotoperíodo "natural" (p.ej., un "pulso" de 12 hs.) es de naturaleza continua, discreta, o una mezcla de ambas.

Pittendrigh describe el fenómeno del *fotoperíodo "esqueleto"*, en el cual un ritmo en libre curso puede sincronizarse proporcionando dos pulsos cortos de luz, separados por una distancia de tiempo correspondiente a un fotoperíodo ( $< 11$  horas), de manera que el efecto neto de un fotoperíodo completo es la suma de dos de los efectos discretos asociados con su comienzo y su final.

Continuando con su análisis sobre los efectos sincronizadores discretos de la luz, Pittendrigh estudió la respuesta de fase de ritmos en oscilación espontánea ante estímulos de corta duración (pulsos de luz de 15 min.) presentados en diferentes fases sucesivas del ritmo circadiano. Los resultados obtenidos se representan como cambios de fase ( $\Delta\phi$ ) en función de la hora circadiana (una HC =  $1/24 \tau$ ), en una gráfica denominada *Curva de Respuesta de Fase (CRF)*, que en este caso por ser una respuesta a la luz, es una curva de respuestas de fase fótica.

El período circadiano del organismo en estudio se divide en dos fases:

- el *día subjetivo*, o el lapso de tiempo que correspondería a cuando el animal está expuesto a la luz en condiciones naturales (por convención, entre las 0 y las 12 HC).
- la *noche subjetiva*, lapso en el cual el animal en condiciones naturales se encuentra en oscuridad (por convención, entre las 12 y las 24 HC).

El estudio de CRF a agentes ambientales, físicos, químicos o biológicos, proporcionó las siguientes leyes:

- i- las CRF son universales, están presentes en todos los seres vivos. Esto sugiere que el origen de los osciladores circadianos fue un evento muy temprano en la evolución.
- ii- Son similares en un animal de hábitos nocturno o diurno.
- iii- Muestran diferencias intra e interespecíficas en cuanto a la magnitud de los cambios de fase.
- iv- Son asimétricas, es decir, en ciertas especies los avances pueden predominar sobre los retrasos y viceversa.
- v- las CRF fóticas dependen de la intensidad del estímulo luminoso aplicado.
- vi- los retardos de fase pueden manifestarse inmediatamente, mientras que los adelantos de fase se manifiestan al cabo de unos días.

La CRF fótica se caracteriza por una región relativamente refractaria al estímulo sincronizador, que ocurre durante el día subjetivo; se presentan retrasos de fase al final del día subjetivo y comienzo de la noche subjetiva, y adelantos de fase durante la segunda mitad de la noche subjetiva. Puede destacarse entonces que los períodos de eficacia luminosa se encuentran hacia las transiciones luz-oscuridad u oscuridad-luz, como si los organismos fueran más sensibles para "interpretar" la información del *zeitgeber* durante el alba y el crepúsculo (pueden recordarse las experiencias con fotoperíodos "esqueleto"). Estas consideraciones son importantes en el diseño de estrategias de rehabilitación mediante la aplicación de pulsos de luz (luminoterapia), para corregir alteraciones circadianas producidas en individuos que sufren cambios horarios, como los pilotos de vuelos transmeridianos o los trabajadores en turnos.

### 1.5.2 Los núcleos supraquiasmáticos

¿Es posible identificar al reloj biológico como una entidad física discreta y diferenciable del resto del organismo? Se han hallado en varios organismos y a distintos niveles de complejidad funcional, elementos que cumplen con los requisitos de un reloj biológico: a nivel molecular, el gen *per* en *Drosophila melanogaster*, a nivel celular y sistémico, el ganglio cerebral en la polilla, los ojos en *Bulla* sp (74, 29). En hámsters, la lesión o la ablación de los núcleos supraquiasmáticos provoca la desaparición de los ritmos circadianos de secreción hormonal, actividad locomotora y bebida, entre otros (83). El trasplante de tejido hipotalámico fetal o neonatal conteniendo NSQ realizado sobre animales cuyos núcleos son lesionados, produce la reaparición de los ritmos (117), pero esto aún no aportaba evidencias suficientes.

La demostración definitiva de que los ritmos eran consecuencia de la actividad de los NSQ se produjo cuando los experimentos de lesión y trasplante se realizaron con hámsters que expresaban períodos de libre curso considerablemente distintos a los circadianos, y que mostraron ser portadores de una mutación puntual. Los experimentos consistieron en lesionar los NSQ de hámsters normales ( $\tau = 24$  hs.) y mutantes ( $\tau = 20$  o  $22$  hs.), y realizarles trasplantes de genotipo distinto: el ritmo resultante correspondió al tejido injertado y no al hospedador (117), quedando confirmada la función de los NSQ como relojes biológicos en mamíferos.

El objetivo inmediato fue dilucidar las posibles vías de acoplamiento entre el reloj y los ritmos, siguiendo un modelo de comunicación entre osciladores, en el cual existe un oscilador primario (los NSQ) que transduce información temporal de *zeitgebers* ambientales en códigos de naturaleza neural o humoral, los cuales proporcionan la fase de oscilación para los ritmos endógenos u osciladores secundarios, pudiendo existir vías de acoplamiento entre estos últimos. La velocidad de recuperación de la ritmicidad (menos de una semana), y la reinstauración de ritmos circadianos en animales con trasplantes de NSQ dentro de cápsulas poliméricas (133), son evidencias consistentes que soportan la comunicación humoral entre el reloj y los ritmos, debido a que en orden respectivo, los procesos de desarrollo neural necesarios para restablecer la conexión anatómica perdida en la lesión serían más lentos, y a que el polímero permite el pasaje de sustancias químicas que alcanzan la circulación sanguínea, pero impide el crecimiento neurítico.

Cabe destacar que registros electrofisiológicos realizados en los NSQ en aislamiento muestran oscilaciones del potencial de membrana de las neuronas, o sea cambios rítmicos de las propiedades eléctricas de las mismas, con períodos de alrededor de 24 horas, pero al realizarse los registros en cultivos de células disgregadas se pierde el acoplamiento y cada neurona manifiesta un ritmo propio también de 24 horas (75, 147).

### 1.5.3 La glándula pineal

Hasta el momento la conexión anatómica y fisiológica mejor descrita es la que vincula a los NSQ con la glándula pineal o *epiphysis cerebri* (hallada en muchos vertebrados), que en humanos se halla profundamente situada entre los hemisferios cerebrales, mediante una vía multi-sináptica que releva en el ganglio cervical superior del sistema simpático (140). En aves se demostró que la pineal funciona como un reloj, y exhibe variaciones estacionales en su actividad (138), mientras que en mamíferos muestra un ritmo circadiano de producción y secreción de la hormona melatonina así como uno de sensibilidad, con valores máximos durante la noche y variaciones estacionales del valor medio en plasma, describiéndose su función regulatoria en el fenómeno fotoperiódico de la reproducción (11, 26, 81, 123). Esencialmente, los organismos portan un *calendario biológico*, siendo el ritmo de melatonina un código endócrino de el ciclo luz/oscuridad y de su variación

estacional que transmite información fótica para las bases de la organización temporal circadiana y estacional.

Fueron descriptos además efectos comportamentales de la hormona en hámsters (como sedante, ansiolítico, anticonvulsivo, analgésico), así como decrementos de amplitud del ritmo de libre curso de actividad locomotora de manera fase-dependiente (mayor durante la noche subjetiva), y lo más importante en el contexto de este trabajo, efectos sincronizadores: el ritmo mencionado de animales mantenidos en luz difusa constante (LL) podía sincronizarse mediante inyecciones diarias de melatonina, sugiriendo que la hormona imita el efecto del inicio de la fase de oscuridad, en especies nocturnas. El mismo protocolo para animales de hábitos diurnos produce sincronización hacia *offsets* de actividad (66).

Estos efectos mencionados son dosis-dependiente, hecho relacionado con la regulación de la melatonina sobre la actividad de los NSQ, los cuales expresan receptores para la misma (124). Además, la hormona produce el adelanto del *onset* de actividad en un modelo animal de síndrome de fase de sueño atrasada, y en hámsters y ratas, acelera la tasa de resincronización luego de adelantos de fase del *zeitgeber*. También posee efectos sincronizadores sobre otros ritmos endógenos, incluido el de su propia síntesis. Inyecciones de melatonina en hámsters preñados pinealectomizados sincronizan la ritmicidad circadiana de los fetos in útero, sugiriendo que la hormona es parcialmente responsable de la sincronización materna sobre el feto y posiblemente de las crías neonatas (66).

Sobre la base de la capacidad sincronizadora de la melatonina, la hormona ha sido propuesta como un *zeitgeber* interno en mamíferos (9), a pesar de que la pinealectomía tuvo efectos despreciables en los ritmos de actividad de libre curso de ratas y hámsters en oscuridad constante (OO), pero afectó la tasa de sincronización del ritmo luego de un cambio de fase en el ciclo luz/oscuridad (LO) (66).

En ratas pinealectomizadas en condiciones LL, se manifiesta una desorganización de los ritmos circadianos de actividad en componentes ultradianos, que se reacoplan en condiciones OO (36). En un experimento análogo, se halló lo mismo para ritmos de actividad en LL en hámsters (66). Estos experimentos sugieren que la pineal podría afectar por retroalimentación el funcionamiento integral de los NSQ y de sus conexiones (124). Alternativamente, también modularía la entrada al reloj

actuando a nivel de los fotorreceptores, debido a que existe un sistema de melatonina en la retina (141).

Se ha propuesto a la melatonina como un posible agente terapéutico para el tratamiento de ciertos desórdenes circadianos en base a su condición de *zeitgeber* interno y a su capacidad de sincronizador, en el contexto de nuestro trabajo, aquellos producidos por cambios horarios luego de vuelos transmeridianos de larga duración (4, 5, 6, 7, 38, 67, 113).

## **1.6 El ser musical: Ritmos en humanos**

### **1.6.1 Introducción y generalidades rítmicas**

Los biólogos solemos cuestionarnos, inevitablemente, cuánto de "humano" hay en los animales. Nos proporcionamos explicaciones sobre los hechos de la naturaleza mientras mantenemos en un delicado equilibrio una posición de "observador en detalle" y "sujeto observable", en un compromiso de exponer nuestra naturaleza humana al orden creado por dichas explicaciones. Cabe preguntarse también sobre lo que tal vez sean nuestras expresiones rítmicas más conspicuas: los ritmos musicales. ¿Hasta qué punto no son biológicos un tango, una salsa, un vals o un candombe? O dicho de otra manera, ¿como transforma nuestra percepción e integración armónica y métrica (si es que existe) la temporalidad externa, en una expresión musical con ritmo y melodía? Obviamente, esto está fuera de nuestro trabajo (tal vez sea desarrollado por otro tesista más inspirado), pero la pregunta resulta inevitable.

Fuera de esta retórica, volvamos a lo nuestro. Es importante aclarar, en razón de dar fundamento a la metodología planteada en el presente trabajo de investigación, que el organizador temporal más importante en la naturaleza son las fluctuaciones luminosas producidas por la rotación terrestre, que imponen un ritmo diario de horas de luz y de oscuridad (éstas en magnitud dependiente de la posición latitudinal y estacional). El hombre no es una excepción: a pesar de que los hábitos de los seres humanos están extremadamente influidos por el ambiente social, es esencialmente diurno como consecuencia de su evolución biológica: despliega normalmente sus actividades coincidiendo con la

fase de luz del día solar y su fase de reposo ocurre en la noche, manteniendo un ritmo estable de sueño/vigilia.

En el mundo moderno existen además otros factores que independizan parcialmente al hombre de las claves temporales de la naturaleza, como la luz artificial, la comida envasada, los medios de comunicación social, etc. Sin embargo, el ciclo ambiental de luz/oscuridad adquiere mayor protagonismo en virtud de las alteraciones circadianas originadas como consecuencia de cambios bruscos de horario, las cuales son un aspecto común luego de vuelos transmeridianos de larga duración.

### **1.6.2 ¿Ritmos endógenos?**

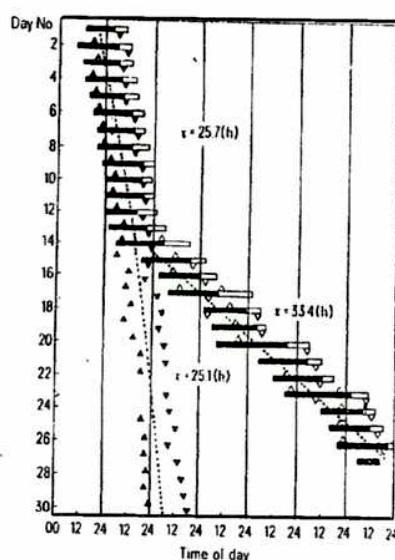
Las primeras experiencias con humanos se realizaron en cámaras de aislamiento, nuevamente en el intento por separar las causas endógenas y exógenas de los ritmos. Los voluntarios eran en general estudiantes, y los experimentos duraban entre 12 a 22 días. Se disponía en las mismas elementos de confort básicos, así como libre acceso a la comida, tiempos de ocupación y descanso a elección de los individuos, los cuales preparaban sus exámenes, escuchaban música, usaban juegos de mesa, etc. No se permitía radio o televisión, y se proporcionaban diarios fuera de fecha en intervalos aleatorios, de manera tal que no hubiera claves sobre el pasaje del tiempo externo. Se mantenía también un suministro de aire a flujo, temperatura y humedad constantes, y la cámara estaba montada sobre blocks de goma que amortiguaban las vibraciones producidas por el tráfico, etc. (13, 143, 149).

Los ritmos de libre curso mejor estudiados fueron los de temperatura corporal, hormonales (catecolaminas, cortisol), excreción y flujo urinario, y el de sueño/vigilia: todos mantuvieron el componente endógeno sin volverse erráticos (13, 20, 49, 95, 145, 149). El valor promedio del período de los ritmos fue de 25 horas, y mostraron decrementos de amplitud respecto de los sincronizados a un ciclo luz/oscuridad de 24 horas. A pesar de hallarse ritmos conservados y robustos, no podía afirmarse que los mismos tuvieran una raíz endógena: 1) el ritmo podría responder a alguna influencia externa no controlada (p. ej. campos magnéticos, presión atmosférica, influencia de la luna), pero esto se contradice con la variabilidad del período de libre curso hallado

(además no se han establecido vías de transducción sensorial alternativas a la visual, que sincronicen la ritmicidad), 2) el ritmo podría ser el resultado de un estilo de vida estructurado regularmente, es decir, de una historia previa de sincronización, siendo la ritmicidad influida principalmente por la alternancia de sueño/vigilia (reposo y actividad) pero no causada por ésta, ya que se han observado ritmos en funciones fisiológicas y psicológicas durante experiencias de privación del sueño y de reposo continuo (11, 21, 143, 149).

El ritmo de sueño/vigilia, que parece ser el mayor condicionante de la estructura circadiana humana, muestra una gran regularidad en experiencias de largo plazo; además en individuos sometidos a vigiliadas largas se observó que la fase de sueño no se prolongaba, respetando la hora circadiana (generalmente se encuentra en los organismos una correlación negativa entre la duración del intervalo de actividad ( $\alpha$ ) y la duración del tiempo de reposo ( $\rho$ )). Esto se corresponde más con la hipótesis de un reloj biológico que genera los ritmos, y despertaría al individuo cuando un cierto estado del ciclo sueño/vigilia es alcanzado (18, 143).

Como se observa en otros vertebrados, el sistema circadiano del hombre está caracterizado por el orden temporal de sus componentes: en condiciones normales, el ritmo de temperatura rectal exhibe su valor máximo durante la tarde, y el mínimo durante la segunda mitad del sueño. En libre curso, en algunos casos estos extremos pueden adelantarse varias horas en relación al ciclo de sueño/vigilia, produciéndose una *desincronización espontánea* (20) (Fig. 4). Estos cambios en la relación de fases interna fueron descritos para varios ritmos, y contradice la hipótesis de una relación de causa-efecto simple entre el ritmo de actividad y otras funciones rítmicas, sino más bien que el sistema es multioscilario, de arreglo jerárquico, y depende de varios osciladores que controlan a los distintos ritmos cambiando su relación de fases de acuerdo a las condiciones de sincronización (20, 148).



**Figura 4.** Desincronización interna espontánea entre los ritmos de actividad/reposo (barras) y de temperatura rectal (triángulos).

Experimentos realizados en aislamiento proponen un modelo constituido por un oscilador  $x$ , el cual controla al sueño REM y a los ritmos de temperatura central, concentración plasmática de cortisol y excreción urinaria de potasio, y por un oscilador  $y$ , que controla al sueño lento y tiene efectos sobre la temperatura cutánea, la concentración de GH plasmática, la excreción urinaria de calcio y la actividad locomotora. Luego de cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad el ciclo de actividad/reposo se ajusta más rápido que el de temperatura, considerándose entonces al oscilador  $x$  como "fuerte" y al oscilador  $y$  como "débil" (50, 82, 85, 142).

### 1.6.3 Orden Temporal Interno

La organización temporal de los eventos fisiológicos es un aspecto de los organismos en el que las funciones adquieren una relación en el tiempo. Procesos mutuamente interdependientes deben ocurrir no sólo en una localización espacial precisa, sino también con una apropiada sincronización; eventos que requieran diferentes contextos fisiológicos deben estar separados efectivamente en el tiempo y en el espacio. En palabras de Franz Halberg: "la regulación fisiológica comprende, a partir de la totalidad de las provisiones corporales, transportar y suplementar la cantidad correcta del material correcto hacia el lugar correcto. La evaluación de la sincronización interna y externa de los ritmos incluye una nueva dimensión temporal para esta regulación" (71).

El estudio del orden temporal interno es de gran utilidad para describir anomalías producidas por alteraciones circadianas. Desde un punto de vista cronobiológico, el estado de normalidad (salud) se define como la correcta relación de fases, tanto entre los ritmos del propio organismo como entre éstos y el ciclo ambiental. El parámetro que mejor describe la relación temporal de los ritmos es la fase. El máximo del ritmo al ser ajustado a una función cosenoidal (acrofase) es el que se utiliza como punto característico de cada ciclo (105).

1.6.3.1 Mapas de fase del sistema circadiano

Los mapas de fase se construyen dibujando la acrofase de cada variable rítmica en su posición circadiana, y revelan que los ritmos de una amplia variedad de variables fisiológicas, bioquímicas y conductuales alcanzan sus acrofases en distintos momentos del día (Fig. 5).

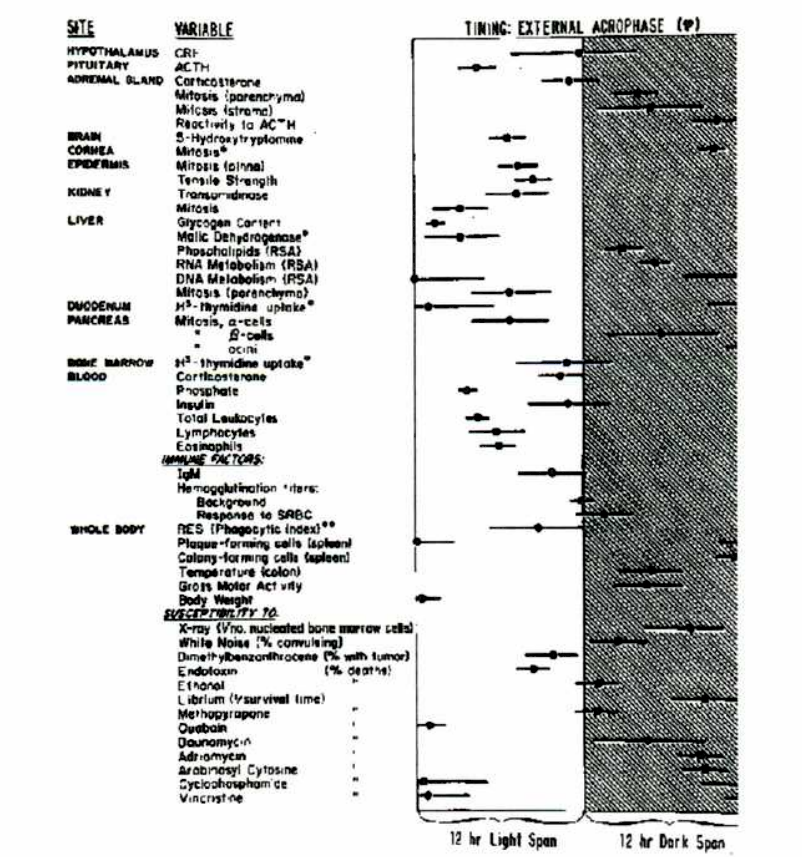


Figura 5. Mapa de acrofases del sistema circadiano del ratón

Cuando los individuos son mantenidos en sincronización con un *zeitgeber* fuerte como un ciclo luz/oscuridad de 24 hs., cada ritmo circadiano del organismo asume una relación estable con aquel y una consecuencia obvia es que mantengan una relación de fases estable entre sí. En la mayoría de los casos en situación de libre curso esta sincronía interna no se pierde: estudios en humanos indican que los ritmos en libre curso de sueño/vigilia, temperatura corporal, y concentración plasmática de cortisol mantienen la misma periodicidad y relaciones de fase estables durante períodos prolongados (13, 49, 105). Al no depender de la presencia de un *zeitgeber*, este hecho sugiere la existencia de fuertes mecanismos de acople interno entre los osciladores.

La fase de un ritmo se halla determinada por su acople al ciclo sincronizador, y por la periodicidad endógena característica del ritmo en cuestión. La diferencia  $\tau$ -T es determinante de la fase, de modo que ritmos con  $\tau$  cortos tienden a adelantarse mientras que aquellos "más lentos", con  $\tau$  largos, tienden a atrasarse respecto al *zeitgeber* (11). Como consecuencia de un sistema multioscilariorio, existen relaciones o ángulos de fase internos entre los distintos osciladores, que se sincronizan entre sí dependiendo de sus respectivas diferencias  $\tau$ -T. En el contexto del "jet-lag", esto es de considerar ya que la resincronización de los individuos al nuevo ambiente depende de variables sujetas a osciladores con respuestas diferenciales en su ajuste de fase, produciéndose una *desincronización interna* característica, que es más notoria (persistente) ante la exposición a *zeitgebers* débiles o en individuos "menos sincronizables" (ancianos, ciegos) (13, 89, 139, 143).

### 1.6.3.2 Temperatura, fatiga y sueño

El ritmo de temperatura ha sido ampliamente estudiado, por ser un buen indicador cronobiológico del desempeño psicofísico. Los ritmos de alerta/fatiga se hallan estrechamente correlacionados con la temperatura corporal, con valores elevados durante el día y bajos a la noche; lo mismo se aplica para el despliegue de actividades motoras que involucran esfuerzo muscular. En general se asume que los ritmos en el desempeño psicofísico poseen componentes circadianos, aunque tal vez en virtud de la relación hallada entre la temperatura y el sueño REM (50, 82, 85), y teniendo en cuenta la modulación que éste último ejerce sobre los procesos de aprendizaje y sobre la adquisición y recuperación de la información adquirida a corto término (157), las variaciones en el desempeño

psicofísico podrían relacionarse indirectamente a causas circadianas como la influencia de un reloj resincronizándose al nuevo horario, y más directamente a un patrón anormal y a una estructura alterada del sueño (137).

Las alteraciones del sueño, como el insomnio, pueden relacionarse a una desincronización entre el ritmo de temperatura y el de sueño/vigilia. En experiencias de aislamiento se halló que si los individuos intentan conciliar el sueño cuando su temperatura central se halla descendiendo o en su mínimo, la fatiga es elevada y el sueño fácil de iniciar, mientras que si los individuos intentaban dormirse alrededor de las 10 de la mañana durante la fase de ascenso del ritmo de temperatura, el sueño tenía una muy corta duración y tendía a fragmentarse (98, 143). Los sujetos que experimentan vuelos transmeridianos, usualmente deben conciliar el sueño o estar activos por imposición del nuevo horario, durante el ascenso o el pico y el descenso o el valle de su ritmo de temperatura respectivamente.

### **1.6.3.3 Sueño y hormonas**

El sueño implica profundos ajustes de la funciones cerebrales, y su rol todavía no es bien conocido. Se ha sugerido que es un estado en el cual la actividad cerebral cambia de la adquisición, interpretación y acción sobre la información obtenida del ambiente durante la vigilia, hacia procesos de consolidación y categorización de la misma en memorias y experiencias (157). En los mamíferos, el sueño se asocia a una disminución de la temperatura corporal y de la sensibilidad hipotalámica a la misma. En animales cuyos costes metabólicos son elevados durante la actividad diurna y que deben tolerar descensos de la temperatura ambiente durante la noche, existen manifestaciones fisiológicas análogas que son formas de heterotermia temporal, como el torpor (disminución de la temperatura corporal y la tasa metabólica), el cual es practicado por muchas aves y mamíferos pequeños, y el sueño invernal o hibernación, que involucra también ajustes en la referencia hipotalámica pero más duraderos, durante toda la estación fría (60).

En humanos lo antedicho se circunscribe en una alteración patológica conocida como trastorno afectivo estacional (SAD, del inglés *seasonal affective disorder*) que ocurre en individuos de zonas de latitudes extremas en los polos geográficos, que será luego descripta. Un tercer rol hipotético del

sueño reside en las bases de los procesos reparadores y de crecimiento tisular. Esto es controlado en particular por la hormona del crecimiento (GH), y la testosterona (principalmente en el hombre). La GH incrementa las reacciones anabólicas del metabolismo celular de todos los tejidos, es liberada por la adenohipófisis (bajo el control hipotalámico) en respuesta a factores externos más que a un reloj, y se asocia con el estado de sueño profundo (51). El ejercicio físico durante la fase de vigilia está asociado en ocasiones con una mayor cantidad de sueño profundo, en relación con lo expuesto (60, 143).

Una hormona que exhibe un ritmo de liberación y que responde ajustadamente a un marcapasos endógeno es el glucocorticoide cortisol, que se sintetiza y libera en la corteza suprarrenal y tiene acciones generalizadas, incluyendo la movilización de aminoácidos y glucosa a la sangre. El nivel basal de secreción de cortisol está sometido a un ritmo diario, resultado de la variación cíclica de su factor liberador hipotalámico (CRH) controlada por el reloj (60, 146). Los niveles de cortisol en el hombre son máximos en las primeras horas de la mañana antes del despertar, lo cual indicaría su rol en la predisposición del organismo al estrés durante la actividad diurna (146). Lo mismo ocurre con la adrenalina (70, 145), una catecolamina liberada por la médula suprarrenal en respuesta a estímulos simpáticos que tiene numerosos efectos fisiológicos ante situaciones de estrés, como el incremento del gasto cardíaco, de la glucogenólisis en músculo esquelético, de la lipólisis y la glucólisis, la dilatación de las vías respiratorias, entre otros (60).

La hormona melatonina deriva del aminoácido esencial triptófano y es sintetizada y liberada a la circulación por la glándula pineal bajo condiciones de oscuridad o de baja luminosidad (34, 65, 123). En exposición a luz brillante la síntesis se suprime (88, 92), de modo que los niveles plasmáticos son bajos durante el día y elevados durante la noche, por lo que se relaciona a la hormona con el ciclo de sueño/vigilia. La pineal mantiene un ritmo circadiano de secreción cuyo valor medio es proporcional a la longitud de la fase de oscuridad, alcanzando su pico estacional durante el invierno (11, 26, 81). La melatonina plasmática, así como su principal producto urinario, la 6-sulfatoximelatonina, guardan una buena correlación con los niveles plasmáticos de melatonina y son representativos de la producción diaria y de la magnitud del pico nocturno de la hormona (62).

#### 1.6.3.4 Ritmos cardiovasculares

El control central del sistema cardiovascular gira en torno a la regulación de la presión sanguínea arterial, que se ajusta para mantener un flujo de sangre en los capilares adecuado al cerebro y al corazón principalmente, y al resto de los órganos del cuerpo. Existen sensores arteriales de distensión de la pared del vaso (barorreceptores), de O<sub>2</sub> y de pH (quimiorreceptores), que envían información a centros integratorios ubicados a nivel del bulbo raquídeo y del puente, los cuales se hallan bajo la influencia del hipotálamo y la corteza (60). Cabe aclarar que los ritmos de presión arterial están bien descriptos y estudiados como variable cronobiológica de interés clínico, p. ej. para el caso de afecciones crónicas como la hipertensión arterial en la cual sube el valor medio (mesor) del ritmo, siendo posible realizar monitoreos para predecir picos de presión. El ritmo de presión arterial, con un valor máximo durante el día, podría hipotéticamente producirse como consecuencia de un oscilador secundario sujeto a un control neurovegetativo central que responde al reloj.

La frecuencia cardíaca esta íntimamente relacionada con los ajustes de la presión arterial en el control del flujo sanguíneo capilar, y es controlada por células musculares marcapasos localizadas en el nódulo sinoauricular que manifiestan despolarizaciones rítmicas y continuas, y reciben inervación vagal parasimpática (60). Los ritmos diarios de frecuencia cardíaca están sin duda relacionados con el sistema nervioso autónomo, y resulta atractivo pensar en un posible acoplamiento de osciladores secundarios, uno de ellos el nódulo sinoauricular, que responden a la fase de oscilación proporcionada por un reloj maestro localizado en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo.

#### 1.6.4 Sincronización y claves temporales: sobre métrica y compases

Los seres humanos son más independientes del ambiente “natural” que las plantas y animales en cuanto a su sincronización: hay toda una estructura social asociada al estilo de vida humano, momentos convenientes para dormir (sin actividad comercial y laboral) en un ambiente más tranquilo, las necesidades laborales, etc. De esta manera, se ha propuesto que la estructuración de los tiempos de sueño puede afectar los momentos de alimentación, actividad, exposición a la luz, etc., produciéndose una combinación de influencias sincronizadoras, una vez establecido el ciclo de sueño/vigilia (95, 143). La interacción social como sincronizador produce en grupos de sujetos en

aislamiento, ritmos de libre curso cuyos períodos son casi indistinguibles (3, 17). Sin embargo, se ha encontrado en condiciones experimentales que el ciclo luz/oscuridad es un *zeitgeber* muy eficaz : individuos en aislamiento mantienen ritmos de libre curso aún si se les permite hablar con los investigadores cuando lo deseen, pero son sincronizados a un ciclo impuesto de luz/oscuridad (48, 152), pulsos de luz pueden producir cambios de fase en los ritmos circadianos humanos, obteniéndose una curva de respuesta de fase a la luz de ritmos humanos (47, 99). Podemos referirnos también a Julio Cortázar, pionero de la Cronobiología, quien visionariamente propuso que "el tiempo entra por los ojos. Eso lo sabe cualquiera" (43).

Algunos investigadores proponen a los "horarios de comidas" como posibles *zeitgebers*: cambios en ciertos ritmos circadianos, como los de insulina y glucagon fueron observados luego de tomar un desayuno o un almuerzo (64, 69). Sin embargo, otros ritmos como el de temperatura o el de cortisol plasmático no fueron directamente afectados, por lo que es probable que los "horarios de comidas" solo produzcan un efecto de enmascaramiento a través de las variaciones producidas en los niveles de glucosa plasmática, más que afectar a los correspondientes osciladores de insulina y glucagon. Los horarios de comidas parecen ser sincronizadores débiles: seres humanos viviendo en aislamiento muestran ritmos circadianos en libre curso, a pesar de que las comidas son proporcionadas regularmente cada día (96). Existe una relación entre la ingesta de aminoácidos y su concentración plasmática, y se propone que puede afectar la tasa de síntesis de catecolaminas, estableciéndose así un posible nexo entre la ingesta de comidas a determinados horarios y la síntesis de neurotransmisores que afecten la actividad de las neuronas del reloj (145).

Se sugiere que los NSQ podrían recibir información temporal desde otras zonas del cerebro, como las que controlan los ritmos de sueño y el comportamiento social, de modo que cambios rítmicos de actividad neural pueden transducir la influencia que ejerce el estilo de vida de un determinado individuo como clave de tiempo sobre su propio reloj (143). La tendencia a la socialización desarrollada por aquellos individuos más extrovertidos, provoca ritmos robustos en virtud de dicha interacción social, mientras que individuos menos comprometidos con los "ritmos sociales" presentan ritmos con períodos cercanos o superiores a 25 horas, como en situación de libre curso. Esto adquiere relevancia al considerar la capacidad para adaptarse y tolerar los cambios de horario,

ya que los ritmos más robustos de aquellos individuos extrovertidos son más plásticos y sincronizables que los de individuos solitarios (22, 40).

Durante el fin de semana desaparecen las restricciones horarias de la semana, y es muy probable que nuestra vida social nocturna sea más intensa. Teniendo en cuenta además que las funciones del reloj biológico tienden a ser más lentas, las noches se prolongan junto con el tiempo de permanencia en la cama. El resultado de todo esto es un leve retraso en la oscilación del reloj, que se manifiesta el domingo por la noche cuando nos vemos obligados a ir a la cama "más temprano" (de acuerdo al horario biológico), y se hace difícil conciliar el sueño. A la mañana siguiente, el despertador sonará "temprano" y nos hará padecer la "Tristeza del Lunes por la mañana". Este fenómeno pone énfasis en la interacción que por lo general tiene lugar entre nuestro reloj biológico, nuestros compromisos sociales y claves temporales como el ciclo diario de luz/oscuridad (143). Este último es también un *zeitgeber* fuerte, lo cual se manifiesta en ciertas alteraciones exógenas de la sincronización por situaciones de cambios horarios en turnos rotativos de trabajo, y de importancia central en esta tesis, por transiciones rápidas de husos horarios debidas a vuelos transmeridianos.

### **1.6.5 Alteraciones en la sincronización**

#### **1.6.5.1 Alteraciones endógenas**

Las alteraciones endógenas se deben en general a un funcionamiento incorrecto del reloj biológico. El insomnio es una afección bastante común en la que el individuo tiene un sueño escaso, el cual suele fragmentarse varias veces durante el curso de la noche. No existen evidencias en la gran mayoría de los casos de un reloj corporal alterado, pero sí en una rara forma de insomnio denominada Síndrome de Retraso en la Fase de Sueño, en la cual los individuos muestran dificultades para dormir hasta cerca o pasadas las 2 de la mañana, incluso si se acuestan temprano. Estos individuos no se hallan en libre curso sino estabilizados con respecto al día de 24 horas, sólo que presentan una sincronización tardía del ritmo de sueño/vigilia con respecto a *zeitgebers* normales. Aparentemente poseen un reloj biológico que corre más lento, vías de sincronización poco

desarrolladas o un reloj insensible a claves de tiempo normales. La forma opuesta, denominada Síndrome de Fase de Sueño Avanzada, es menos común (143).

Muchas formas de depresión se hallan conectadas con relojes biológicos anormales. En la maníaco-depresión, los pacientes alternan sus estados de ánimo entre manía y depresión, y algunos lo hacen con regularidad (23, 25). Esto se manifiesta en correlación con un ritmo de temperatura corporal que se adelanta en días sucesivos, como si se hallara bajo el control de un reloj rápido. Cuando el pico de temperatura se halla en su posición normal, el paciente muestra una remisión temporaria de los síntomas, si la temperatura se halla sincronizada muy temprano tiende a sentirse deprimido, lo opuesto ocurre cuando el pico se halla más tarde. En algunos casos de depresión endógena, el problema reside en la posición anormal de la ventana de sensibilidad a la luz: existe un período crítico en horas de la mañana cuando la luz es “requerida” por el reloj. En pacientes con este tipo de depresión el período crítico se adelanta y cae durante el sueño, ya que algunos sujetos manifiestan mejorías permaneciendo levantados alrededor de las 4 de la mañana para recibir un pulso de luz brillante durante una hora (143).

Existe un tipo de depresión en la que se manifiestan cambios más regulares en los ritmos, llamada Trastorno Afectivo Estacional (SAD, del inglés *seasonal affective disorder*). Se caracteriza por una depresión acompañada de fatiga, sueño excedido y de una dieta incrementada en hidratos de carbono, que es recurrente durante el otoño e invierno y desaparece en primavera y verano, y ocurre en aquellos individuos susceptibles que no disponen de suficiente luz natural durante los meses de invierno debido al acortamiento del fotoperíodo (132, 125), hecho relacionado con un incremento en la incidencia del SAD entre las diferentes poblaciones desde zonas ecuatoriales hacia altas latitudes (31). El tratamiento de este desorden consiste en la exposición de los individuos afectados a luz brillante en la mañana, imitando el alargamiento del día durante el verano (23, 79). Sin embargo, se ha encontrado que la luz brillante en otros momentos del día, como en la tarde (que también imita la luz en verano) y en la noche (que no alargaría las horas de luz del día), también tiene efectos terapéuticos (25, 127).

Los individuos con ceguera total (ambliopía) o parcial, a pesar de llevar un estilo de vida regular, muestran irregularidades en los ritmos diarios de temperatura corporal y las concentraciones

plasmáticas de melatonina y cortisol, a menudo como si estuvieran en libre curso. Si bien la explicación obvia de la ritmicidad anormal reside en que estas personas carecen del ciclo luz/oscuridad como dador de tiempo, lo observado indica además que las otras claves temporales como factores sociales, actividad, u horarios de comidas no son suficientes (143).

El envejecimiento es otra de las causas que produce disturbios en los ritmos diarios. Los cambios generales observados en las funciones circadianas se manifiestan en la amplitud de los ritmos, la cual tiende a decrecer, y en una mayor variabilidad en la sincronización día a día de los ritmos. Se produce además una pérdida en la capacidad de respuesta y ajuste a cambios impuestos sobre el reloj, como los producidos por transiciones horarias por trabajo en turnos y por vuelos transmeridianos (63, 100, 139). La posibilidad más atractiva para explicar estas alteraciones es que el envejecimiento produce directamente el deterioro de el reloj, cuyas células componentes son neuronas y como tales incapaces de reproducirse (108). Un reloj joven y bien constituido, con mayor número de neuronas y sus correctas conexiones, es capaz de generar ritmos robustos de gran amplitud, mientras que la fuerza de un reloj envejecido decrece junto con la amplitud de los ritmos que controla. Por ejemplo, es común la pérdida de la "polaridad" producida entre las fases del ritmo de sueño/vigilia, manifestándose sueños cortos durante el día e interrupciones y decrementos del sueño nocturno (89). Existen pocos estudios sobre relojes en ancianos realizados en experimentos de libre curso, que sugieren un reloj más rápido en su funcionamiento. Esto explicaría la tendencia de los ancianos para acostarse y levantarse temprano (120).

#### **1.6.5.2 Alteraciones exógenas**

Las alteraciones exógenas se deben a cambios en los procesos de sincronización, en particular inversiones del ciclo luz/oscuridad, producidas por rotación de los turnos de trabajo, o por la adopción de una nueva localización geográfica longitudinal impuesta por vuelos transmeridianos de larga duración. En el caso de el trabajo en turnos, lo que se invierte en realidad es el ciclo de actividad/reposo respecto al *zeitgeber* luz/oscuridad, mientras que los vuelos transmeridianos producen la situación opuesta.

### **1.6.5.2.1 Trabajo en turnos**

Los seres humanos somos esencialmente diurnos, razón por la cual la mayoría adoptamos el trabajo durante el día entre las 9 y las 18 horas. Sin embargo, diversas actividades del hombre requieren turnos de trabajo, incluyendo las horas de la noche. También existen trabajadores nocturnos permanentes, los cuales son los más afectados. Los problemas principales ocasionados son sociales, familiares, de salud y fatiga crónica o cansancio: la vida familiar y comunitaria está orientada hacia el horario de trabajo y descanso de la mayoría, por lo que los trabajadores nocturnos se hallan generalmente excluidos de los ritos familiares y de participar en actividades recreativas, deportivas, culturales, etc., experimentando un verdadero aislamiento social, siendo frecuentes los problemas sexuales y matrimoniales (143).

Los problemas de salud más conspicuos son los desórdenes gastrointestinales, con síntomas tales como dolores de estómago, pérdida del apetito, movimientos intestinales inadecuados, constipación, etc. Se produce una gran incidencia de úlceras gástricas y duodenales en comparación con individuos con un estilo de vida "normal". Esto ocurre por adquirir horarios de comida inadecuados de acuerdo al estado cronofisiológico, contribuyendo además la escasa disponibilidad de comida saludable, el consumo de infusiones estimulantes (café, té, mate) y tabaco para combatir la somnolencia, y de alcohol para promover el sueño. También surgen a corto término desórdenes en el sueño, mientras que a largo plazo existen riesgos incrementados de accidentes cardiovasculares y psiconeuróticos (44, 143). Los individuos poco tolerantes presentan manifestaciones patológicas crónicas características, conocidas como Síndrome de Maladaptación al Cambio, debido a una pérdida de coherencia interna en el sistema multioscilar circadiano ante una situación de sincronización conflictiva y permanente (104).

### **1.6.5.2.2 El síndrome del *jet-lag***

Los que habitamos este planeta sabemos que los tiempos y hábitos que desarrollamos están condicionados por nuestra localización geográfica. La hora local está definida por una delimitación de 15 grados respecto al eje terrestre que constituye un huso horario, y está referida a las 12 horas en el meridiano de Greenwich (1200 GMT). Momentos del día previos a las 12 son horas "antes del

meridiano" (AM), las posteriores son "pasado el meridiano" (PM). Aquellos afortunados que hayan volado cruzando meridianos, debieron ajustar sus relojes pulsera para ser coherentes con el lugar de destino, adelantando o atrasando las agujas del reloj.

Paralelamente el sistema circadiano experimenta el mismo ajuste como fue descrito anteriormente, restableciéndose gradualmente las relaciones de fase normales de los ritmos entre sí y con el nuevo *zeitgeber*. El "jet-lag" es definido como un conjunto de síntomas dominado por una disrupción del patrón de sueño, que ocurre cuando ciertos ritmos biológicos se hallan fuera de fase entre sí y con el ciclo ambiental de luz/oscuridad como consecuencia de vuelos transmeridianos de larga duración (112), produciéndose así un conflicto transitorio entre el tiempo "interno" y el "externo"; también puede denominarse *desincronización* o *disrritmia circadiana*.

Como se ha descrito, la generación de ritmos endógenos es un proceso dependiente de claves de tiempo externas que ejercen efectos sobre mecanismos activos del reloj, el cual proporciona la fase de oscilación a otros osciladores secundarios. Podemos recordar también los cambios transientes del período de libre curso de ritmos circadianos luego de un cambio de fase del *zeitgeber*, para concordar con lo anterior: el "jet-lag" involucra a estos fenómenos, la resincronización del reloj al nuevo horario ambiental y por consiguiente de los ritmos que controla. El ajuste del reloj no es inmediato, y las distintas variables circadianas comprometidas en el proceso de sincronización muestran tasas diferentes: por ejemplo, los ritmos de frecuencia cardíaca, presión arterial, actividad locomotora, catecolaminas plasmáticas, entre otros, se ajustan más rápidamente que los ritmos de temperatura central, 6-sulfatoximelatonina urinaria (un metabolito de la hormona pineal) y cortisol plasmático (19, 20, 68, 96, 102, 156). Nuevamente Julio Cortázar revoluciona la Cronobiología, proponiendo que "cuando tu viajas a Europa, el alma tarda alrededor de tres días en llegar" (59).

En general, los ritmos observados en distintas variables son producto de la interacción entre un componente endógeno, es decir de la expresión de una período y una amplitud característica, y un componente exógeno determinado por la naturaleza del estímulo sincronizador y la sensibilidad del oscilador al mismo: por ejemplo, se sabe que la secreción de melatonina se suprime y el desempeño mental aumenta en presencia de luz brillante (88, 92, 131), muchas hormonas son estimuladas por la ingesta de comida (64, 69), la frecuencia cardíaca y la temperatura rectal son influidas por la

actividad física y por el sueño REM (82, 98, 142, 50). Estas influencias exógenas que producen un enmascaramiento sobre los ritmos fueron mencionadas anteriormente: el estímulo afecta al oscilador y no al marcapasos, por lo que la tasa de ajuste de un ritmo dado no estará determinada sólo por el acoplamiento al reloj. Los ritmos con un gran componente exógeno mostrarán un ajuste más rápido, y sólo aquellos con un escaso componente exógeno evidenciarán directamente la sincronización del reloj.

En general se asume que la disociación entre las fases de diversos ritmos y el ciclo de actividad/reposo asumido en la nueva localidad, junto a la disociación interna entre los diferentes ritmos durante el estado transiente de resincronización son responsables del malestar general, decrementos en el desempeño mental y físico, y de otros síntomas sufridos por los viajeros transmeridianos (11, 119, 158, 130). El *jet-lag* es dominado por la disrupción del patrón normal de sueño (68, 110), por lo cual los individuos experimentan somnolencia durante el día, e insomnio en la nueva y paradójica noche.

Otras consecuencias de los vuelos transmeridianos son el mayor cansancio durante el día, menor grado de concentración y alerta, desorientación, destemporalización, así como también irritabilidad y depresión (40, 101, 109). Son frecuentes también los desórdenes gastrointestinales derivados de la ingesta de alimentos en un horario inusual, como indigestión, diarrea, constipación, acidez estomacal y riesgo de úlceras gástricas y duodenales (91). En varios estudios de campo se han encontrado resultados similares para ciertos ítems que permiten estandarizar algunos síntomas del *jet-lag*, como el mayor cansancio, dificultad en la concentración y menor grado de alerta durante el día, así como amnesia temporal, debilidad general y ansiedad (136).

Los decrementos en el desempeño mental y físico se hallan frecuentemente asociados a la dificultad experimentada por los pilotos de líneas aéreas para adquirir un patrón normal de sueño durante la escala, y son causa de un mayor riesgo de accidentes aéreos por errores de pilotaje (56, 1). En particular durante los vuelos nocturnos hacia el Este, se hallaron decrementos en el desempeño de los pilotos vinculados al cansancio, e incluso se detectaron frecuentes microeventos de sueño durante la fase "crucero" del vuelo (24).

El *jet-lag* ocurre por un cambio de fase súbito en el ciclo luz/oscuridad. Como fue detallado en el apartado de "Sincronización no paramétrica", los ritmos biológicos de los viajeros se resincronizarán gradualmente mediante transitorios con el nuevo *zeitgeber*, siguiendo el sentido del cambio de fase del estímulo sincronizador si la magnitud del mismo es de 6 a 9 horas. Es de esperar teóricamente, que la adaptación al nuevo destino sea más rápida (mayor la velocidad de sincronización) de producirse un atraso de fase del ciclo luz/oscuridad, como ocurre luego de los vuelos en dirección Oeste. Este *efecto asimétrico* sobre los ritmos es atribuido generalmente a la tendencia del reloj endógeno "para atrasarse" cuando se lo deja en libre curso, en ausencia de estímulos sincronizadores, generando un ciclo de sueño/vigilia de aproximadamente 25 horas (11, 14), aunque se han encontrado resultados opuestos (27), no existiendo todavía una explicación clara del fenómeno. Tal vez sea como dicen, que "todo tiempo pasado fue mejor".

Otro de los factores que puede modificar la adaptación de los viajeros transmeridianos es la edad. En general los síntomas se intensifican y el tiempo de adaptación suele dilatarse en las personas de mayor edad. Estos hechos son consecuentes con lo expuesto anteriormente sobre el envejecimiento como una causa de alteraciones endógenas, tanto en la generación de los ritmos como en los procesos de sincronización: la organización temporal de los procesos fisiológicos cambia con la edad, existiendo una mayor tendencia a la desincronización interna con el envejecimiento (13, 139, 150), así como un decremento en la amplitud e incluso la desaparición de ciertas funciones circadianas (30, 51, 90). La amplitud es un indicador de la "fuerza del oscilador" o de la resistencia ante manipulaciones exógenas (122, 21), de modo que los ritmos de menor amplitud (más "débiles") indican una menor tolerancia de los ancianos a los cambios de horario.

Por último, existen diferencias interindividuales en la organización temporal de los ritmos circadianos. En base a cuestionarios que permiten caracterizar los hábitos de los individuos (78), y a correlatos cronofisiológicos hallados en la acrofase de los ritmos de temperatura y de actividad/reposo (22, 82), los cronobiólogos disponemos de tres categorías o *cronotipos* para estudiar y manejar la variabilidad entre los individuos:

- individuo tipo *alondra*: muestra una tendencia a levantarse y acostarse temprano, prefiere desarrollar sus tareas en horas de la mañana, y la acrofase del ritmo de temperatura central ocurre, paralelamente al pico de desempeño físico y mental, en horas tempranas.

- individuo tipo búho: lo opuesto al anterior: se levanta y acuesta más tarde, elige horarios vespertinos para su trabajo, la acrofase de temperatura ocurre durante la tarde.
- individuo neutro: es un intermedio entre los dos anteriores. Cabe aclarar que sólo el 10% de la población corresponde estrictamente a los tipos búho y alondra, siendo la gran mayoría individuos neutros (22).

En general se asume que los tipo alondra presentan una mayor tolerancia a los cambios de horario, ya sea los provocados por vuelos transmeridianos o por turnos de trabajo (22). También se sostiene, como fue expresado anteriormante, que los individuos extrovertidos que muestran una mayor tendencia a comunicarse y socializar, presentan menos dificultades con los cambios de horario y se adaptan más rápido que aquellos más introvertidos y solitarios, que presentan una menor capacidad para interactuar en sociedad.

## 2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente seminario de licenciatura son los siguientes:

- 1- Estudiar los ritmos circadianos de temperatura corporal, frecuencia cardíaca, actividad locomotora, excreción urinaria de 6-sulfatoximelatonina (un metabolito de la hormona pineal melatonina) y de cortisol, en pilotos que realizan vuelos transmeridianos en dirección Este y Oeste.
- 2- Describir el estado de desincronización interna y externa de los ritmos luego de los cambios de horario producidos por los vuelos, durante el proceso transiente de resincronización.
- 3- Analizar la respuesta de variable psicométricas, en especial la estimación subjetiva del tiempo (presentado en intervalos de corta, media y larga duración) en función de los cambios del ciclo luz/oscuridad introducidos por los vuelos.
- 4- Proponer posibles estrategias de trabajo de acuerdo a la evaluación cronobiológica de las variables fisiológicas y psicológicas, teniendo en cuenta el tiempo de descanso necesario durante las escalas, que permitan mejorar las condiciones laborales de los pilotos. Diseñar terapias de rehabilitación mediante el uso de melatonina y luz brillante para favorecer la adaptación de los individuos que sufren el síndrome del *jet-lag*.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Animales (con perdón del lector)

Las unidades experimentales sobre las que se realizaron las mediciones fueron seres humanos (*Homo sapiens*) de sexo masculino que se desempeñan como pilotos de IBERIA, Líneas Aéreas Españolas, y se prestaron voluntariamente al estudio. Los pilotos participantes en el estudio se dividieron en dos grupos de edad: mayores y menores de 50 años, y en categorías denominadas "dirección del vuelo" (vuelos al Oeste y al Este). Las edades estuvieron comprendidas entre los 31 y los 59 años. Tres pilotos de la muestra tenían la edad límite superior.

En la Tabla 1 se consigna la distribución de edades de los individuos participantes en el estudio:

Tabla 1: Distribución de los pilotos participantes en el estudio.

	<50 años	>50 años	comandantes	copilotos	Total
Vuelos a México	5	7	6	6	12
Vuelos a Tokio	11	10	8	13	21

En los vuelos hacia México, la media de edad del grupo < de 50 años es  $38.6 \pm 5.7$  con un rango de 31 a 47, y la media de edad del grupo > de 50 años es  $58.0 \pm 1.0$  con un rango de 57 a 59.

(\* comandantes:  $58.2 \pm 1.0$  [57-59] \* copilotos  $41.7 \pm 9.1$  [31-57] ). En los vuelos hacia Tokio , la media de edad del grupo < de 50 años es  $38.7 \pm 2.1$  con un rango de 35 a 42, y la media de edad del grupo > de 50 años es  $55.1 \pm 2.2$  con un rango de 53 a 58.

(\* comandantes:  $55.5 \pm 2.3$ , [53-58] \* copilotos  $41.0 \pm 5.9$ , [35-54] )

3.2 Procedimiento experimental

3.2.1 Cronograma del estudio

La duración del estudio fue de 5 días: el día previo a la salida del vuelo, el día del vuelo de salida de Madrid, los dos días que transcurrían en el destino (México o Tokio), y el día siguiente al regreso en Madrid.

El tipo de avión en el que se realizaron los estudios fue el Jumbo Boeing 747. En él se llevaron a cabo los vuelos de larga duración hacia el Oeste y hacia el Este. En los vuelos hacia el Oeste se hizo el trayecto Madrid-México-Madrid, estudiándose 12 pilotos. La duración del vuelo era de 12 horas, y la diferencia horario respecto a España es de 7 horas ( $\Delta\phi_z = -7$ ). Los vuelos hacia el Este recorrieron el trayecto Madrid-Moscú-Tokio-Moscú-Madrid y en ellos se estudiaron 21 pilotos. La duración del vuelo completo, incluida la escala en Moscú, fue de 18 horas, y la diferencia horaria respecto a España es de 8 horas ( $\Delta\phi_z = +8$ ). El procedimiento de análisis tanto gráfico como estadístico se realizó dividiendo en "vuelos a México" y "vuelos a Tokio", además de estratificar en grupos de edad (mayores y menores de 50 años).

### 3.2.2 Monitoreo cronobiológico

El objetivo del análisis en Cronobiología es conocer todas las características de una oscilación, como forma de la onda, período, mesor, amplitud y fase. La secuencia de eventos o números que representan el comportamiento del cambio en el tiempo obtenida por el muestreo de la variable de interés se denomina serie de tiempo, y se representa como:

$$X(n) = X_1, \dots, X_m$$

La serie de tiempo debe obtenerse a partir de una frecuencia de muestreo que caracterice satisfactoriamente al ritmo descrito por la variable. En el presente estudio se analizaron los ritmos biológicos de actividad locomotora, temperatura, frecuencia cardíaca y de variables hormonales (que serán luego descriptas) experimentados por los pilotos en situación de trabajo real, por lo que el muestreo de las variables se realizó mediante el uso de técnicas no invasivas por telemetría que permitieran un correcto desempeño laboral. Se eligió un intervalo muestral de 5 minutos debido a la capacidad de almacenamiento de las memorias utilizadas en la telemetría.

Los fundamentos por los que hemos utilizado dicha metodología en el presente estudio son los siguientes: (1) cada uno de los fenómenos analizados ha sido previamente estudiado en ambientes controlados a fin de identificar las variables que lo afectan; (2) los datos a obtener ambulatoriamente tienen una especificidad suficiente como para ser significativos en un ambiente no controlado, como el de un

tripulante aéreo en actividad; (3) las señales relevantes pueden ser distinguidas de los artefactos; (4) el método de recolección es de fácil aceptación para los voluntarios (35).

Los aparatos se desconectaban y retiraban transitoriamente por breves períodos de tiempo durante el aseo de los pilotos participantes en el estudio. En la Fig. 1 se presenta un diagrama de los componentes del sistema de registro utilizado:

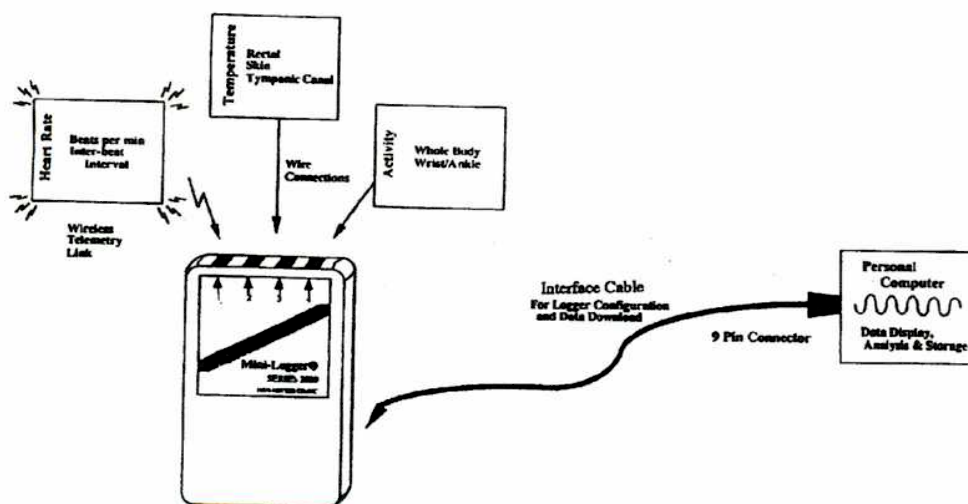


Figura 1. Sistema Minilogger utilizado para el registro de las variables.

### 3.2.2.1 Actividad locomotora

Para el registro del ritmo de actividad-vigilia se utilizaron como sensores acelerómetros de muñeca (de tipo reloj de pulsera) provistos de un cristal piezoeléctrico de mercurio, que funciona como un transductor de la señal vibratoria ocasionada por el movimiento del sujeto en una señal eléctrica, la cual es convertida

y almacenada en una memoria digital. Estos dispositivos ofrecen la posibilidad de registrar con facilidad la actividad locomotora por períodos prolongados y permiten el almacenamiento de 16K de información, pudiendo registrarse medidas realizadas con intervalos de 5 minutos durante varios días (Mini-Logger® de Mini Mitter, series 2000).

### **3.2.2.2 Temperatura corporal**

Una dificultad a tener en cuenta consiste en el tipo de datos de temperatura que pudimos obtener. El sistema con el que contábamos permite la determinación del ritmo de temperatura corporal a través de sondas rectales, lo cual da una idea exacta de las variaciones del oscilador circadiano endógeno. Lamentablemente, este tipo de medición no constituye algo practicable en un ámbito laboral durante un *tiempo tan prolongado*, y menos aún en el caso de los pilotos de líneas aéreas.

Por este motivo, se decidió utilizar el registro de la temperatura cutánea mediante termistores calibrados en baños de agua controlados con termómetros de precisión. Los sensores se mantenían adheridos a la piel en la zona claviclar aislados mediante apósitos protectores, y enviaban señales también cada 5 minutos a la memoria digital (40). Esta medición se ve modificada (aunque en baja medida debido al aislamiento) por las variaciones en la temperatura ambiente. Los valores correspondientes a la temperatura cutánea no son la mejor forma de obtener datos fisiológicos exactos; sin embargo dan una idea bastante aproximada del patrón cronobiológico de la variable.

### **3.2.2.3 Frecuencia cardíaca**

En los primeros vuelos se intentó registrar las variables cardiovasculares por medio de un Holter de frecuencia cardíaca, que permite la evaluación de la funcionalidad del sistema nervioso autónomo a través de análisis de Fourier y el análisis del intervalo R-R de la señal que se registra en el electrocardiograma (107). Lamentablemente esta medida no fue completamente aceptada por los voluntarios, dado que involucraba la presencia de un grabador analógico voluminoso que los pilotos debían llevar consigo día y noche durante todo el tiempo del estudio.

Por esta razón, se decidió evaluar exclusivamente la variación de la frecuencia cardíaca en el tiempo, por

medio de un MiniLogger (Mini-mitter, U.S.A.) (35). Este tipo de sensor envía las señales a la memoria digital por vía telemétrica, hecho no conveniente en la cabina de los aviones ya que podría interferir con los instrumentos de medición. Por este motivo se encargó la confección de un sensor de frecuencia cardíaca que enviara la señal por vía eléctrica (el cual debió ser calibrado expresamente a tal fin) a través de un cable conectado a la memoria.

### 3.2.3 Endocrinología

Toda la orina fue recogida diariamente en períodos de 6 horas, midiéndose el volumen urinario emitido en cada muestra (de 0:00-6:00 h, la 1ª muestra, de 6:00-12:00, la 2ª, de 12:00-18:00, la 3ª y de 18:00-24:00, la 4ª muestra). Las muestras fueron mantenidas en hielo seco y transportadas en contenedores durante todo el experimento. Tras la medición y anotación del volumen total de las seis horas, se conservó una alícuota de cada fracción para las determinaciones hormonales de 6-sulfatoxi-melatonina (6-SM) mediante radioinmunoensayo. Las muestras fueron diluidas 1:250, utilizándose  $^{125}\text{I}$ -6-SM como marcador y carbón dextrano para la separación de la fracción pegada de la libre (Stockgrand, Surrey, UK). La curva estándar utilizada tuvo una sensibilidad de 1 picogramo, y un coeficiente de variación del 8% (Incstar Corporation, Minnesota USA). También se obtuvieron muestras de saliva en los mismos intervalos, y se determinó la concentración de cortisol por radioinmunoensayo.

### 3.2.4 Presentación de los datos

El Minilogger ofrece la posibilidad de representar gráficamente los datos obtenidos en función del tiempo. Dada la irregularidad natural de las variables en estudio, se procedió a un alisado de las mismas mediante un promedio temporal (media móvil) aumentando el intervalo de muestreo a 50 minutos, y los gráficos obtenidos son los que se presentan en la sección de resultados. Con estos datos se realizaron promedios para obtener un patrón característico de la variable en la categoría de edad y dirección del vuelo considerada.

Una forma típica de presentar los datos en Cronobiología es la de los actogramas. En ellos se expresa el valor de la variable en días sucesivos ordenados verticalmente, con cada ciclo de 24 horas representado uno debajo de otro. De esta manera, se obtiene una figura en cuyas ordenadas se encuentran los días

sucesivos de la medición, y en las abscisas las 24 horas de cada ciclo. Este tipo de gráfico es muy útil para visualizar los cambios de fase producidos por los cambios transmeridianos.

Se construyeron mapas de fase para las variables actividad locomotora y temperatura. Estos gráficos permiten observar los cambios en el tiempo del ritmo en cuestión, y las relaciones de fase entre las dos variables consideradas. Se tomó el valor máximo (acrofase) como punto para caracterizar la posición temporal de los ritmos, graficando entonces la acrofase obtenida en cada día del experimento en función del horario de Madrid.

### 3.2.5 Análisis de los datos

Un primer paso en el análisis estadístico de los datos muestreados es comprobar que las series de tiempo obtenidas describen a un ritmo. Para ello se utilizó el método de cosinor (del programa Cosana 1996, para análisis de series temporales en computadora desarrollado por Ana Amélia Benedito-Silva, Grupo Multidisciplinario de Desarrollo en Ritmos Biológicos, Departamento de Fisiología y Biofísica, ICB/Univ. de San Pablo), que consiste en un ajuste de curva por mínimos cuadrados para determinar la función de mejor aproximación cosenoidal a los datos, mediante el siguiente modelo:

$$y(t_i) = M + A \cos(\omega t_i + \phi)$$

donde  $t_i$  tiempo,  $\phi$  acrofase,  $A$  amplitud,  $\omega$  frecuencia angular ( $\omega = 2\pi/\tau$ ,  $\tau$  período,  $1/\tau$  frecuencia),  $M$  mesor.

El método elabora una prueba de hipótesis, tomando como  $H_0$ : Amplitud = 0, y como  $H_a$ :  $A \neq 0$ , siendo la evidencia para la detección del ritmo aceptada cuando  $H_0$  se rechace al 5% de significación. En otras palabras, el ritmo es validado para un período considerado  $\tau = 24$  horas. Este procedimiento se realizó para todos los registros individuales de cada variable. La salida del programa proporciona una estimación con sus límites de confianza de los parámetros del ritmo ajustado (amplitud, acrofase, mesor), utilizados para el análisis estadístico de la evolución cronobiológica de los ritmos ante los cambios de horario.

Estos parámetros se compararon mediante ANOVA de 1 factor con 3 niveles o tratamientos denominados "MAD1" (día previo al vuelo en Madrid + día del vuelo), "MEX" o "TOK" (dos días de escala en México o Tokio), y "MAD2" (día del vuelo de regreso + día siguiente en Madrid). Se realizaron contrastes *a posteriori* por el método de Tukey, para detectar las diferencias entre las tres situaciones experimentales. La amplitud de los ritmos fue comparada entre las situaciones MAD1 vs. MEX o TOK mediante un t-test para muestras dependientes (134).

Los mapas de acrofases fueron analizados mediante regresiones lineales, tomando como variable dependiente la acrofase de cada ritmo y como variable independiente el día del estudio realizándose la regresión en el intervalo comprendido entre el primero y el cuarto día. De este modo fue posible estimar las tasas de sincronización del ritmo de temperatura y de actividad locomotora y así obtener un criterio estadístico para comparar la sincronización de ambas variables. La prueba de hipótesis para el modelo de regresión a una función lineal,  $H_0: \beta = 0$  vs.  $H_a: \beta \neq 0$ , permitió estimar el proceso de sincronización del ritmo cuando  $H_0$  se rechaza al 5% de confianza (134).

### 3.2.6 Estimación subjetiva del tiempo

El programa que permite determinar la estimación subjetiva del tiempo fue realizado en sistema "basic" y compilado como ejecutable, para así poder implementarlo en un ordenador portátil. El programa ofrece al sujeto series de tiempos de duración variable en forma de sonidos de frecuencia e intensidad regulables por el programador. A continuación de cada sonido se ofrece una señal de duración ilimitada que el sujeto debe interrumpir (presionando cualquier tecla) cuando juzgue que transcurrió el mismo tiempo que en el primer tono ofrecido.

Para el presente protocolo hemos utilizado series de 20 tonos de duración preestablecida tomada a partir de una tabla de números al azar, entre 1 y 20 segundos. Para cada estímulo el ordenador computa y almacena la duración real del mismo, la duración estimada, el cociente absoluto entre ambas y el cociente relativo (o sea, el cociente absoluto dividido por la duración del estímulo). Los datos se resumen como el promedio de los cocientes absolutos o relativos, y es posible estratificar los estímulos de acuerdo a su duración en cortos (0 a 5 segundos), intermedios (5 a 15 segundos) y largos (más de 15 segundos).

El análisis estadístico de los datos de la variable “estimación subjetiva del tiempo” incluyó:

- pruebas t de Student de una sola muestra, en la cual se compara la media de una serie contra la hipótesis nula de que sea igual a 1 (es decir una estimación perfecta). Si es mayor, se considera una sobreestimación del tiempo, en caso contrario, una subestimación).
- análisis de la varianza (ANOVA) de 1 factor (estimación del tiempo en función de los días del estudio, a partir de la salida de Madrid hasta el regreso).
- ANOVA multifactorial considerando la edad de los pilotos, divididos en grupos de más y menos de 50 años.
- contribución relativa de las distintas duraciones de los estímulos a la sobre o subestimación del tiempo subjetivo.

## **4. RESULTADOS**

### **A- Vuelos a México**

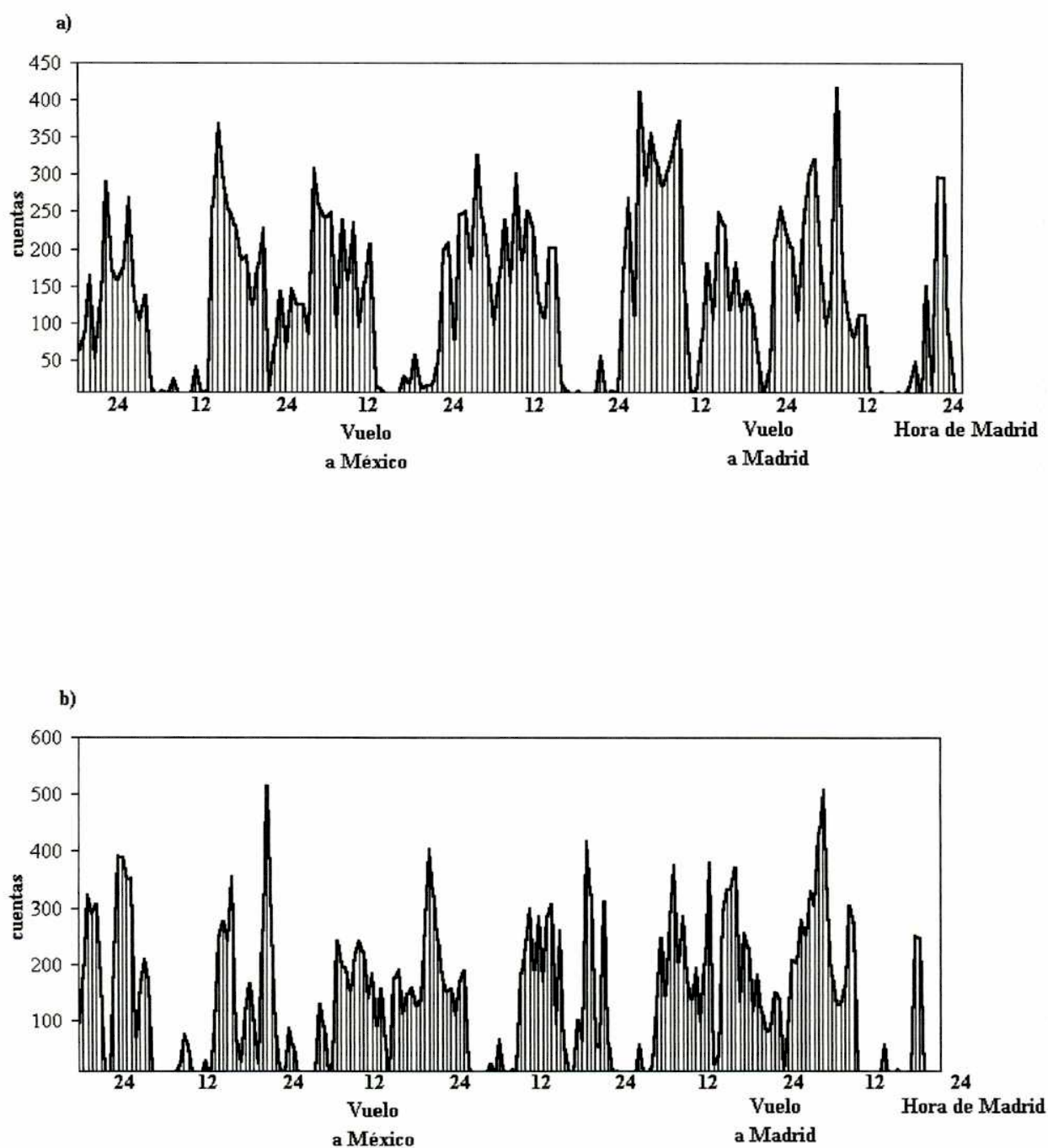
#### **4.1 Monitoreo cronobiológico**

##### **4.1.1 Actividad locomotora**

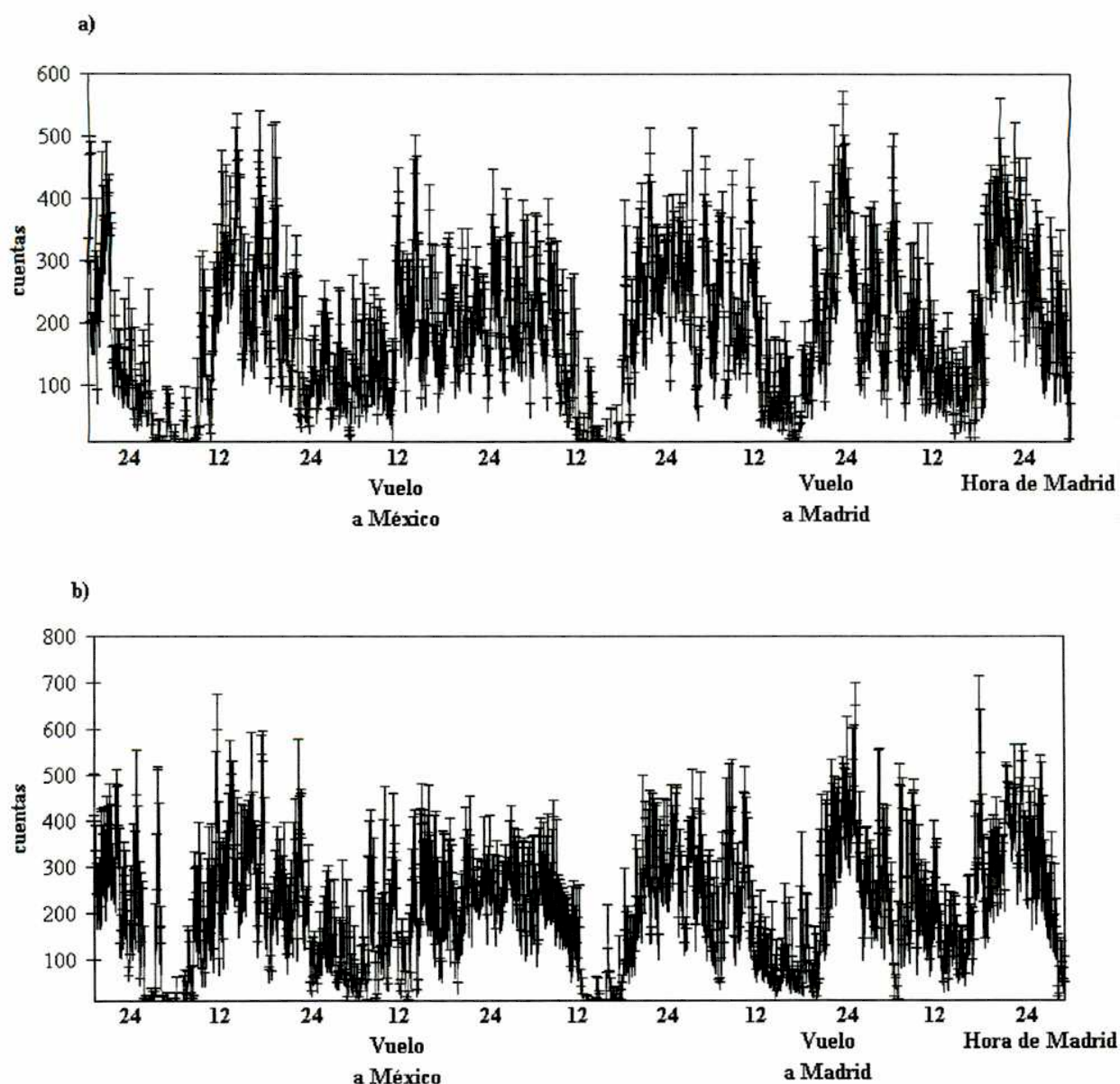
###### **4.1.1.1 Detección del ritmo**

Las series de tiempo obtenidas para la actividad locomotora muestreadas por telemetría fueron representadas gráficamente, y se hallaron comportamientos cíclicos de la variable, tanto para los registros individuales como para promedios obtenidos por categorías de edad. Se observan ritmos claros durante toda la serie temporal. Las fluctuaciones espontáneas de la variable pudieron eliminarse disminuyendo la frecuencia de muestreo, sin que se modifique su descripción circadiana. De esta manera se obtuvieron gráficos con una mayor relación señal/ruido, presentados como la envolvente de la variable que mejor describe al ritmo.

La inspección de estos gráficos proporciona una primera aproximación hacia el análisis de parámetros que describen a los ritmos, como su posición temporal circadiana (acrofase) y el rango o amplitud de la variable cronobiológica a lo largo de los seis días del curso experimental. La Figura 1 muestra la variación de la actividad locomotora de pilotos en vuelo a México. Se observa un retraso de la fase después del vuelo, así como una tendencia a la disminución de la amplitud y a una fragmentación del ritmo durante los dos días de permanencia en dicha localidad. Luego del vuelo de regreso a Madrid, la fase de los ritmos de actividad se adelanta.

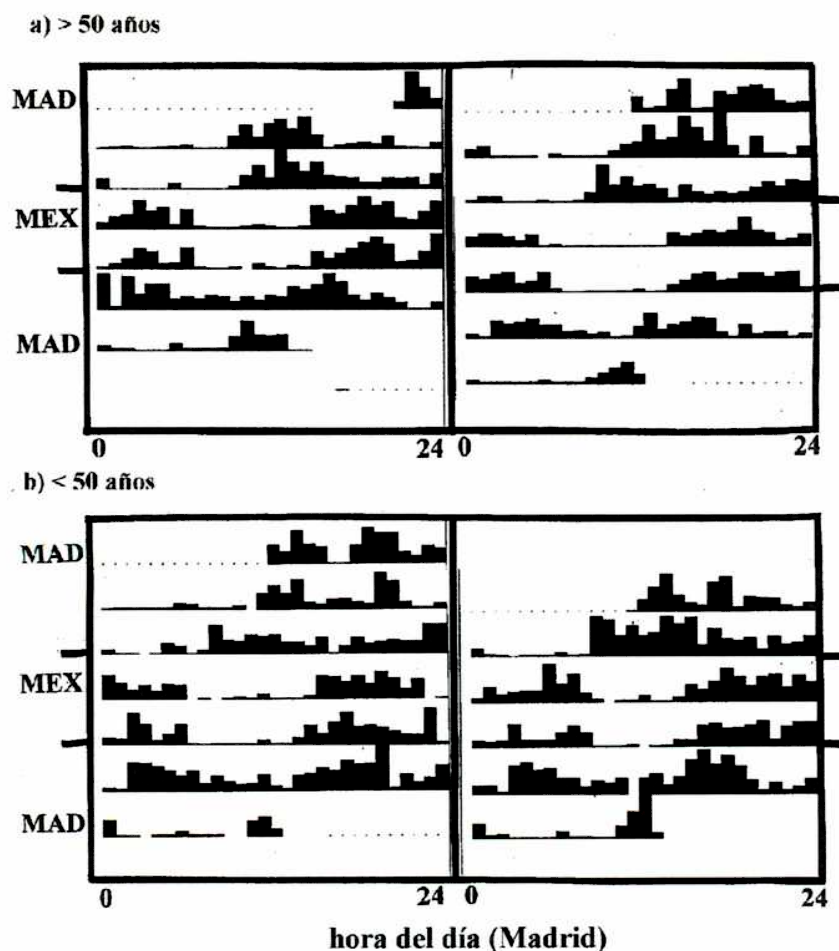


Se construyeron gráficos promedio de los ritmos estudiados, para observar si las variaciones interindividuales introducidas por fuentes de variación no aisladas ocultaban la descripción cronobiológica del *jet-lag*. La Fig. 2 muestra el ritmo promedio de actividad locomotora para los vuelos a México. Se observa que la curva promedio se comporta de manera similar a lo expuesto anteriormente para un individuo representativo, y que el perfil es bastante homogéneo en la población.



**Fig. 2.** Ritmo promedio de actividad locomotora de los individuos mayores (a) y menores de 50 años (b), sujetos al itinerario Madrid-México-Madrid. La descripción del ritmo es similar a la observada en los registros individuales.

Para observar con mayor claridad los cambios de fase ocurridos después de cada vuelo, se representa el ritmo de actividad locomotora bajo la forma de actograma. La Figura 3 muestra los ritmos mencionados de individuos representativos: se observa un retraso súbito en la fase (salto de fase) de la actividad locomotora tras el vuelo a México. El retorno a Madrid es precedido por un adelanto inmediato de fase.



**Figura 3.** Actogramas de dos individuos mayores (a) y dos menores de 50 años (b), que experimentan el itinerario Madrid-México-Madrid. Son notorios los cambios de fase del ritmo tras los vuelos.

#### 4.1.1.2 Parámetros del ritmo

**Mesor.-** El mesor o valor medio de la actividad locomotora no presenta diferencias significativas y se mantiene constante durante los seis días del curso experimental (Tabla 1).

**Acrofase.-** La acrofase del ritmo de actividad locomotora difiere significativamente entre las tres situaciones experimentales para los dos grupos de edad, hallándose estas diferencias entre MAD1 y MAD2 vs. MEX: se produce un considerable retraso durante la situación MEX, y la fase de Madrid 1 se restablece luego del regreso de los pilotos a esta localidad (Tabla 1).

**Amplitud.-** No se hallaron diferencias significativas en la amplitud del ritmo entre las situaciones experimentales, aunque puede observarse una tendencia a la disminución (Tabla 1).

**Tabla 1.** Parámetros del ritmo de actividad locomotora

	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	MEX	MAD2	MAD1	MEX	MAD2
MESOR	133.9 ± 11.4 n = 5	149.6 ± 4.56 n = 5	143.2 ± 7.9 n = 5	162.3 ± 18.5 n = 4	162.7 ± 15.3 n = 4	166.6 ± 13.7 n = 4
ACROFASE	16:06 ± 54' n = 5	22:09 ± 26' n = 5 *	16:36 ± 26' n = 5	14:30 ± 30' n = 4	22:02 ± 13' n = 4 **	17:07 ± 1 n = 4
AMPLITUD	0.74 ± 0.06 n = 5	0.58 ± 0.03 n = 5	0.7 ± 0.08 n = 5	0.75 ± 0.13 n = 4	0.65 ± 0.05 n = 4	0.75 ± 0.18 n = 4

Los valores corresponden a medias y desvíos estándar, en las unidades correspondientes (lo mismo para las tablas mostradas a continuación). La amplitud sólo fue comparada entre las situaciones Madrid 1 y México. Se hallaron diferencias significativas en la acrofase para los mayores de 50 años ( $p < 0.001$ ,  $F_{2,12} = 25.77$ ) y para los menores de 50 años ( $p < 0.001$ ,  $F_{2,9} = 35.21$ ).

\* MEX vs. MAD1:  $p < 0.001$ , MEX vs. MAD2:  $p < 0.001$

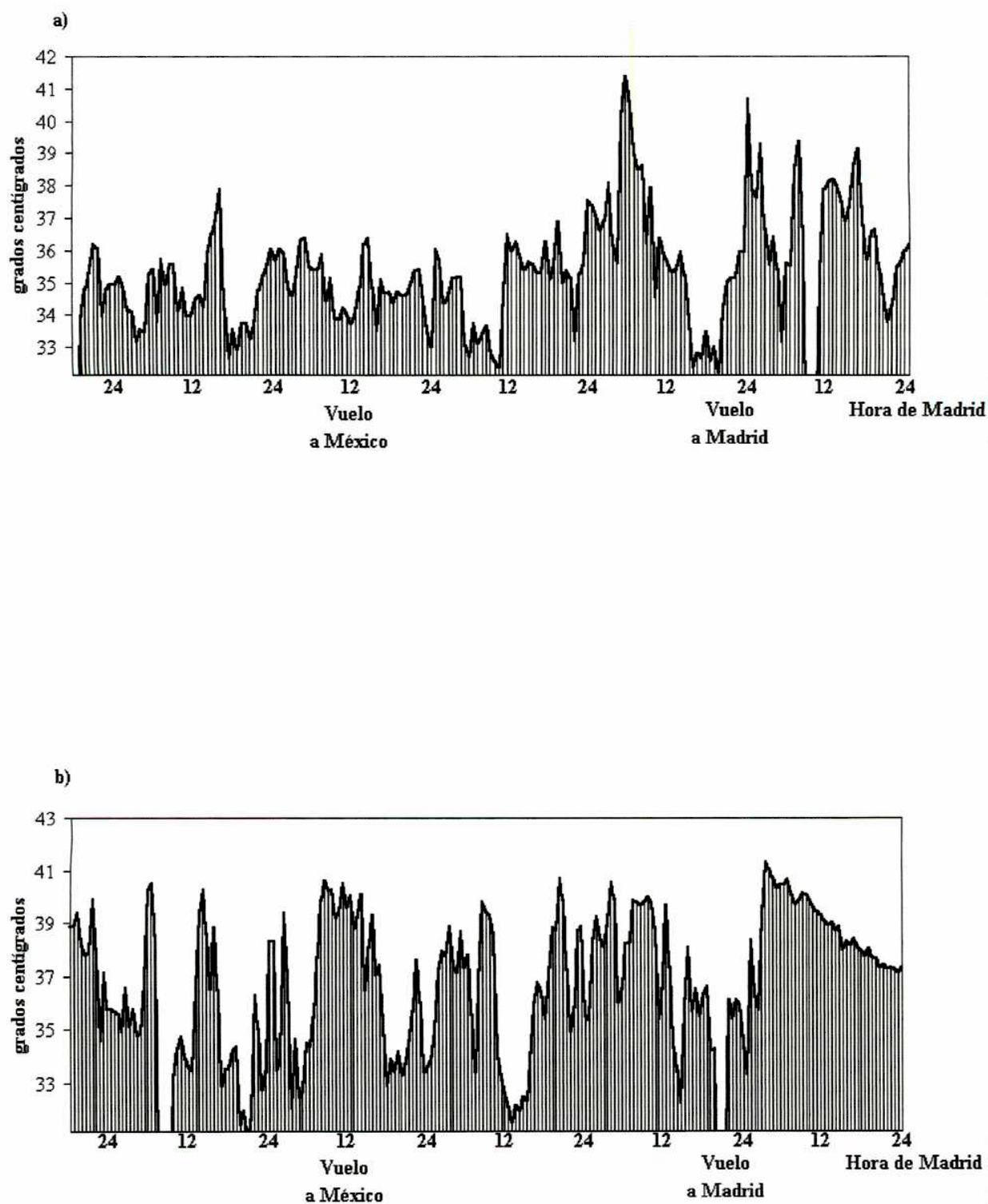
\*\* MEX vs. MAD1:  $p < 0.001$ , MEX vs. MAD2:  $p < 0.001$

#### 4.1.2 Temperatura

##### 4.1.2.1 Detección del ritmo

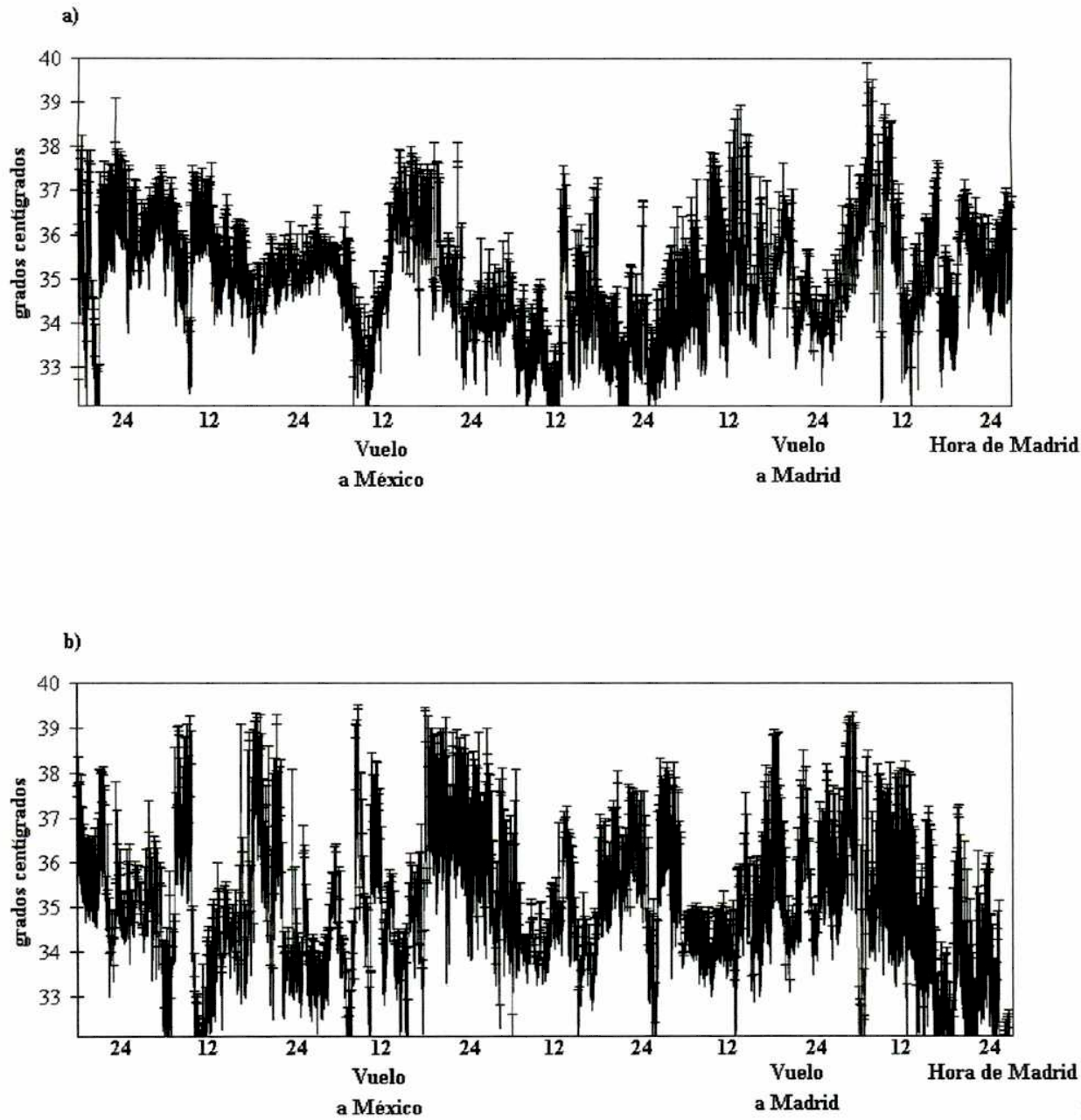
La Fig. 4 muestra la variación de la temperatura cutánea a lo largo de los seis días del curso experimental, en individuos representativos. El perfil cronobiológico de la variable no es tan claro como el de la actividad locomotora. Se observan irregularidades debidas a fluctuaciones ambientales, que no pudieron eliminarse mediante el proceso de alisado. El valor medio se mantiene cerca de dos

grados por debajo del valor fisiológico normal, como es de esperar tratándose de un registro de temperatura periférica.



**Figura 4.** Temperatura cutánea de individuos representativos que experimentan el itinerario Madrid-México-Madrid, (a) mayor de 50 años y (b) menor de 50 años.

La curva promedio del ritmo de temperatura muestra un perfil circadiano durante los seis días del estudio, en especial para los pilotos menores de 50 años (Fig. 5).



**Figura 5.** Ritmo promedio de temperatura cutánea de individuos sujetos al itinerario Madrid-México-Madrid, (a) mayores y (b) menores de 50 años.

### 4.1.2.2 Parámetros del ritmo

**Mesor.-** No se hallaron diferencias significativas en el valor medio del ritmo de temperatura entre las tres situaciones experimentales, lo que permite afirmar que la técnica de medición funciona correctamente pese a que no corresponde valores fisiológicos (Tabla 2).

**Acrofase.-** El ritmo de temperatura no modifica significativamente la posición de su valor máximo luego de los vuelos, en ambos grupos de edad. Se observa que la acrofase conserva el horario de Madrid, entre las 12 y las 16 horas (Tabla 2).

**Amplitud.-** Se hallaron diferencias significativas en la amplitud del ritmo de temperatura de los individuos mayores de 50 años (Tabla 2).

**Tabla 2.** Parámetros del ritmo de temperatura cutánea.

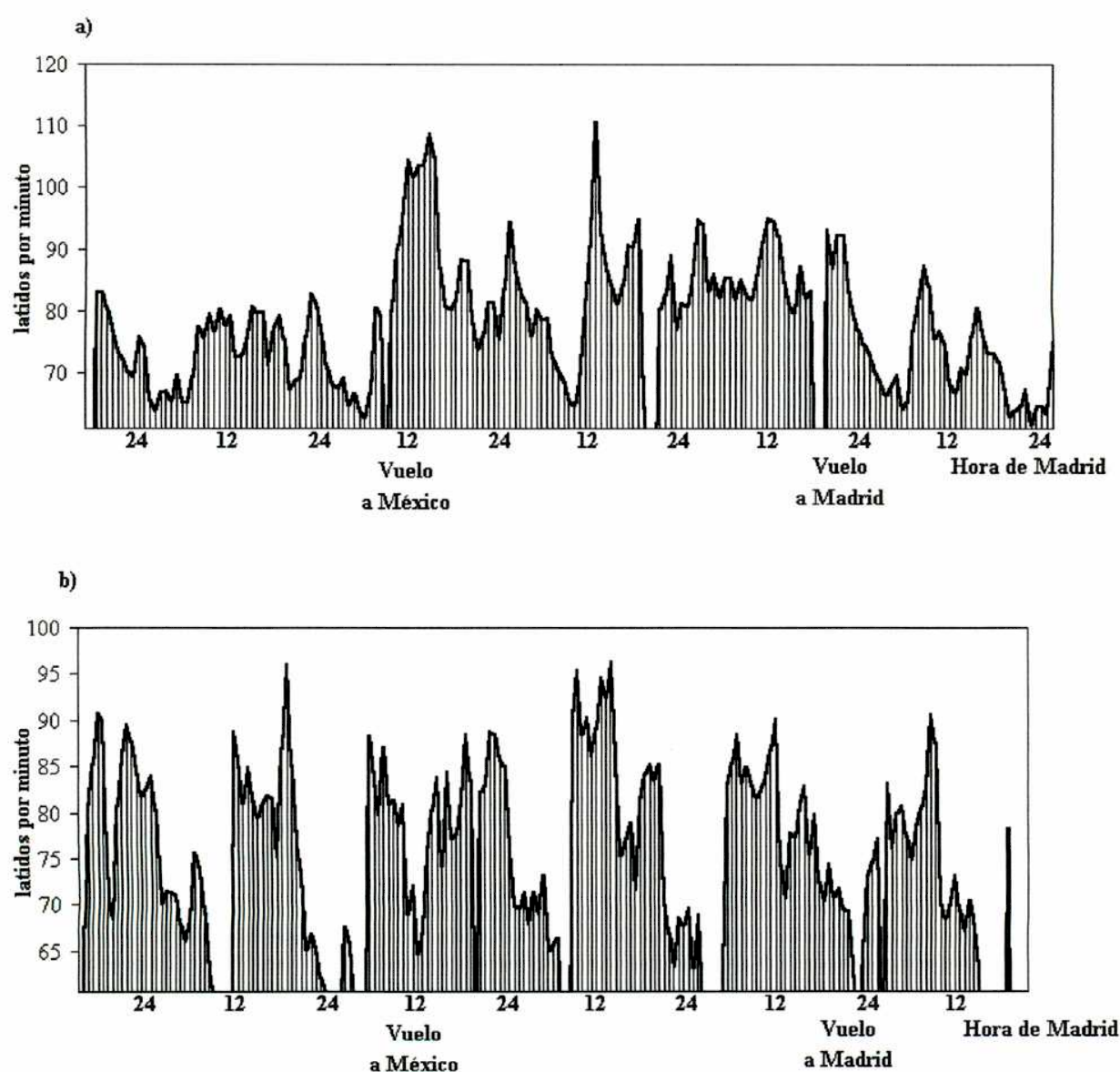
	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	MEX	MAD2	MAD1	MEX	MAD2
MESOR	34.9 ± 1.23 n = 8	34.2 ± 1.2 n = 8	34.5 ± 1.23 n = 8	34.8 ± 0.9 n = 4	34.5 ± 1.3 n = 4	35.3 ± 2.1 n = 4
ACROFASE	11:42 ± 3 n = 7	13:20 ± 2 n = 7	10:39 ± 2 n = 7	12:11 ± 4 n = 4	16:00 ± 3 n = 4	15:00 ± 3 n = 4
AMPLITUD	0.015±0.001 n = 8	0.01± 0.002 n = 8 *	0.02 ± 0.004 n = 8	0.046±0.015 n = 4	0.032±0.016 n = 4	0.033±0.016 n = 4

Existen diferencias significativas en la amplitud del ritmo de temperatura para los mayores de 50 años ( \* MEX vs. MAD1:  $p < 0.04$ ,  $t = 2.63$ ).

### 4.1.3 Frecuencia cardíaca

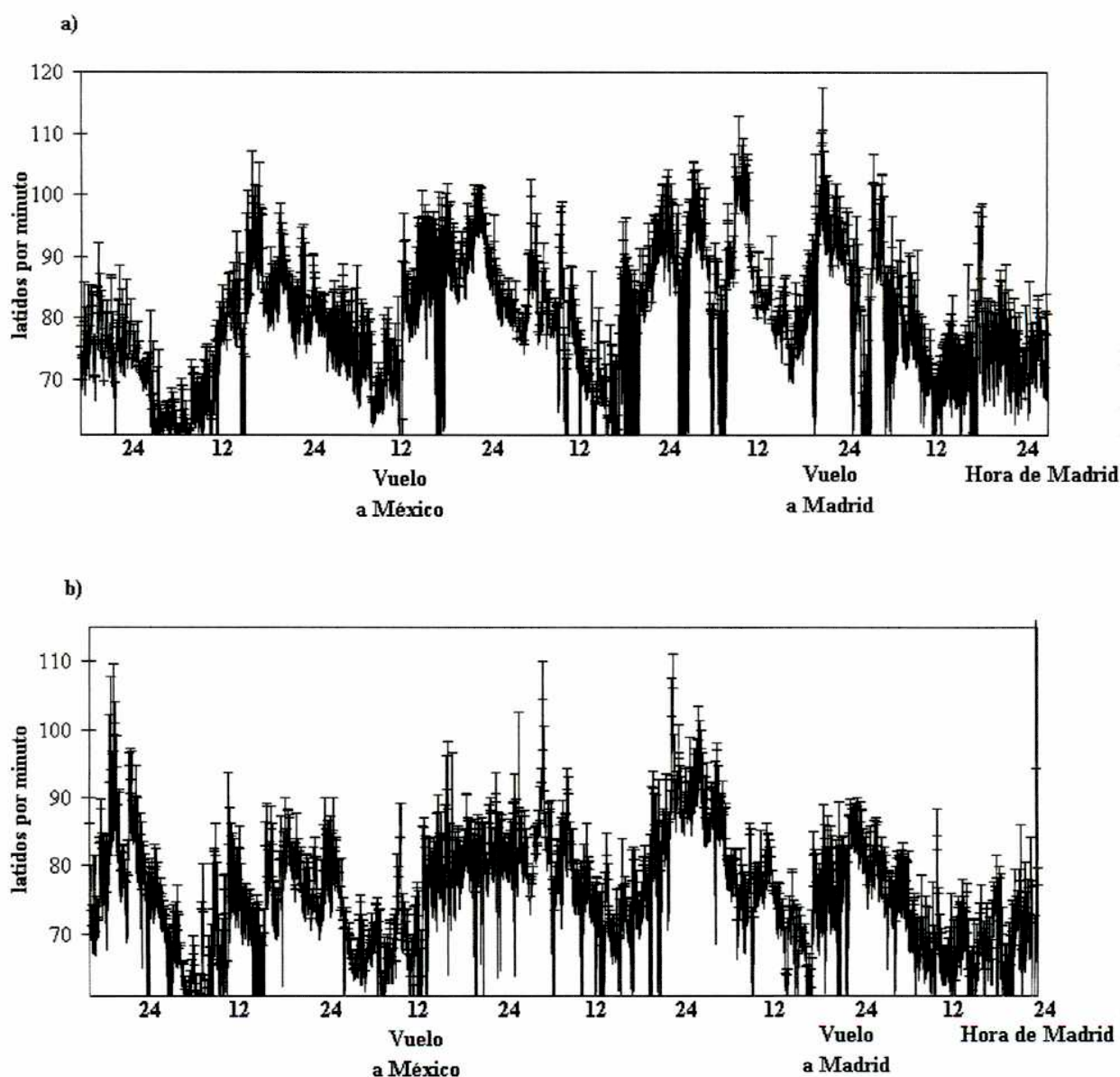
#### 4.1.3.1 Detección del ritmo

Los registros individuales de frecuencia cardíaca muestran las dificultades metodológicas que presentó la medición de esta variable durante el curso experimental. Se observan registros nulos que corresponden con la desconexión transitoria del sensor, por las ocasionales molestias que les producía a los pilotos. A pesar de que no pudieron eliminarse por medio del promedio móvil, los picos espontáneos de la variable no son relevantes en el contexto de su descripción circadiana, la cual de todos modos no es evidente (Fig. 6).



**Figura 6.** Frecuencia cardíaca de individuos representativos que experimentan el itinerario Madrid-México-Madrid, (a) mayor de 50 años y (b) menor de 50 años.

El ritmo biológico de frecuencia cardíaca puede observarse en la curva promedio, en donde se manifiestan el pico diurno y el valle nocturno de la variable en ambos grupos de edad, y un rango de oscilación acorde a valores fisiológicos (Fig. 7). Durante la etapa en México presenta su valor mínimo cerca de las 12 horas, y se evidencia una fragmentación del ritmo al segundo día.



**Figura 7.** Ritmo promedio de frecuencia cardíaca de individuos sujetos al itinerario Madrid-México-Madrid, (a) mayores y (b) menores de 50 años. El patrón promedio del ritmo se halla dentro de los límites fisiológicos normales.

#### 4.1.3.2 Parámetros del ritmo

**Mesor.-** El valor medio del ritmo de frecuencia cardíaca se mantiene constante durante toda la serie temporal, exhibiendo valores consistentes con procesos fisiológicos (Tabla 3).

**Acrofase.-** Los individuos mayores de 50 años no muestran variaciones de la acrofase, mientras que este parámetro difiere significativamente entre las situaciones Madrid 1 y México en los menores de 50 años, evidenciando el ajuste del ritmo al nuevo horario mexicano (Tabla 3).

**Amplitud.-** No se hallaron diferencias significativas en la amplitud del ritmo en los dos grupos de edad (Tabla 3).

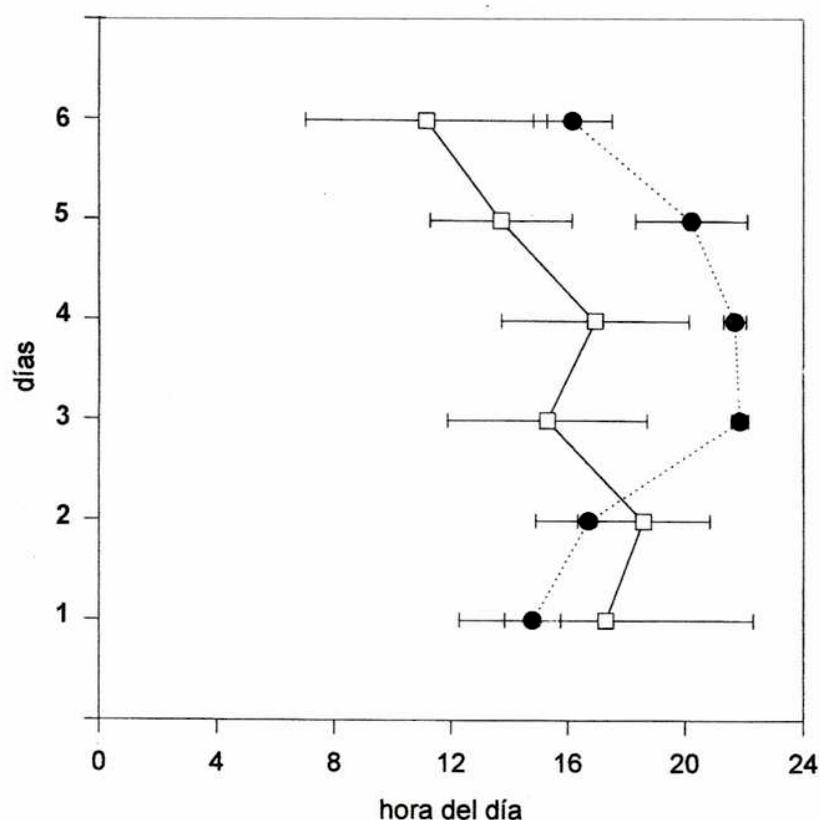
**Tabla 3.** Parámetros del ritmo de frecuencia cardíaca.

	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	MEX	MAD2	MAD1	MEX	MAD2
MESOR	70.1 ± 2.35 n = 5	72.7 ± 5.23 n = 5	70.9 ± 1.74 n = 5	66.1 ± 5.4 n = 3	75.9 ± 5.5 n = 3	62.6 ± 1.2 n = 3
ACROFASE	16:13 ± 2 n = 5	12:26 ± 5 n = 5	19:00 ± 53' n = 5	16:21 ± 2 n = 4	22:40 ± 17' n = 4 *	19:34 ± 1 n = 4
AMPLITUD	0.13 ± 0.02 n = 4	0.13 ± 0.04 n = 4	0.18 ± 0.05 n = 4	0.15 ± 0.03 n = 3	0.12 ± 0.03 n = 3	0.14 ± 0.02 n = 3

La acrofase de los individuos menores de 50 años difiere significativamente ( $p < 0.013$ ,  $F_{2,9} = 7.3$ ) entre las situaciones MAD1 vs. MEX (\*  $p < 0.01$ ).

**4.1.4 Mapa de acrofases**

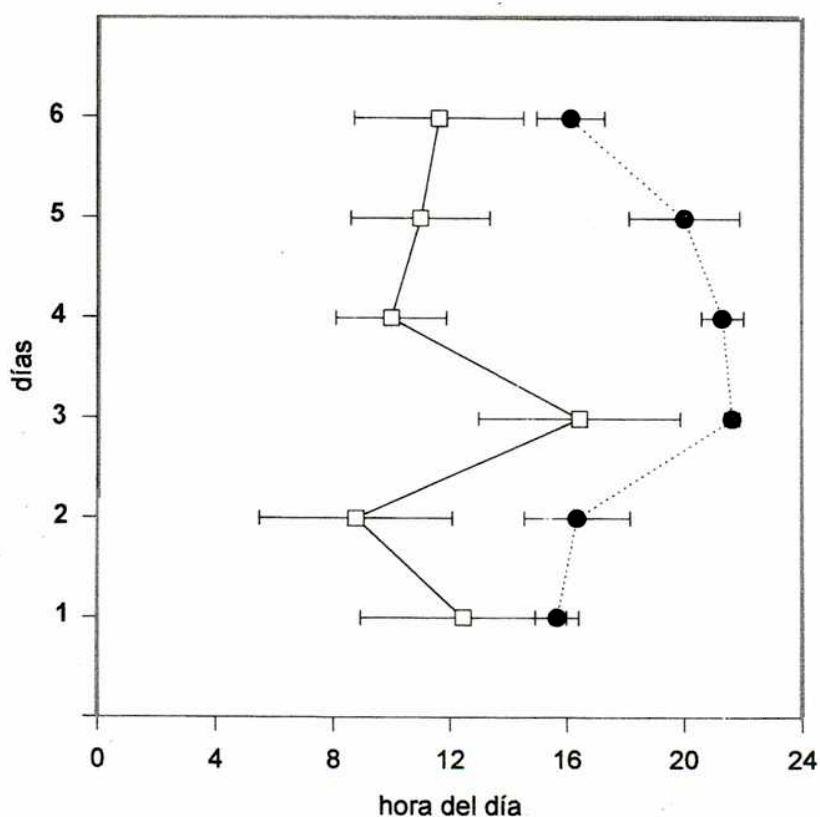
**Menores de 50 años.-** Durante los dos días previos en Madrid, se observa una relación de fase estable entre los ritmos de actividad locomotora y de temperatura ( $+\Phi_{A,T}$ ). Después del vuelo a México el ritmo de actividad se ajusta rápidamente manifestando su acrofase en el nuevo horario mexicano ( $-\Delta\phi_A$ ), y la acrofase de temperatura fluctúa alrededor de su posición de Madrid ( $\Delta\phi_T = 0$ ). El vuelo de regreso es precedido por un ajuste inmediato del ritmo de actividad mediante un adelanto de la acrofase ( $+\Delta\phi_A$ ), mientras que el ritmo de temperatura se muestra refractario para modificar su fase, y se mantiene dentro del intervalo horario de Madrid, entre las 12 y las 16 horas (Fig. 8). El ajuste a una función lineal de la acrofase en relación al día del experimento (realizado entre el primero y el cuarto día), permite establecer un criterio estadístico para sostener la descripción cualitativa del mapa.



**Figura 8.** Mapa de acrofases de los pilotos menores de 50 años. Se representa la posición del valor máximo de los ritmos de actividad locomotora (círculos negros) y de temperatura cutánea (cuadrados blancos) en los seis días del experimento (días 1-2: MAD1, días 3-4: MEX, días 5-6: MAD2), en función de la hora del día en Madrid. Este gráfico permite visualizar tanto la posición de la acrofase de los ritmos, como la relación en el tiempo entre ambos, en relación a las condiciones ambientales de sincronización. Los ritmos pierden su relación de fase normal tras el vuelo a México. La regresión lineal de la acrofase del ritmo de temperatura en relación al día del experimento fue no significativa ( $p < 0.72$ ,  $F 1, 14 = 0.13$ ,  $R^2 = 0.01$ ), indicando que el ritmo mantiene la acrofase de Madrid, y para la actividad locomotora fue significativa ( $p < 0.0001$ ,  $F 1, 14 = 25.8$ ,  $R^2 = 0.62$ , pendiente de la recta ajustada  $\beta = 0.8$ ), por lo que la variable se sincroniza durante la escala en México.

**Mayores de 50 años.-** De manera similar a los pilotos menores, el ritmo de actividad locomotora exhibe una gran plasticidad ante los cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad: tras el vuelo de ida, el ritmo se sincroniza rápidamente y manifiesta el valor máximo en el horario correspondiente al día mexicano, adquiriendo una relación de fase estable con el nuevo *zeitgeber* ( $\Phi_{A,Z}$ ). El vuelo de regreso es precedido por un adelanto de fase de la actividad ( $+\Delta\phi_A$ ), retomando la situación temporal de Madrid. Si bien se observa un atraso importante del ritmo de temperatura el primer día en

México, esto no sería atribuible a procesos activos dependientes de un reloj en sincronización con el *zeitgeber* mexicano, sino más bien a un efecto de enmascaramiento ejercido por la actividad locomotora sobre el oscilador de temperatura. Esto puede proponerse en virtud de lo observado en los días sucesivos, en los cuales el ritmo de temperatura tiende a mantenerse estable en su posición de Madrid (Fig. 9).



**Figura 9.** Mapa de acrofases de los individuos mayores de 50 años en vuelos a México, en el que se representan los valores máximos del ritmo de temperatura periférica (cuadrados blancos) y de actividad locomotora (círculos negros) en función de la hora del día de Madrid. Se observa que el ritmo de actividad locomotora exhibe una gran plasticidad de fase, mientras que el ritmo de temperatura se muestra más refractario ante los cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad. La regresión lineal de la acrofase del ritmo de temperatura en relación al día del experimento fue no significativa ( $p < 0.717$ ,  $F_{1, 26} = 0.13$ ,  $R^2 = 0.005$ ), y significativa para la actividad locomotora ( $p < 0.002$ ,  $F_{1, 15} = 13.56$ ,  $R^2 = 0.47$ ,  $\beta = 0.69$ ).

## 4.2 Endocrinología

### 4.2.1 Ritmo de melatonina

En algunos de los pilotos menores de 50 años se detectó un ritmo excretor de melatonina alterado, ya antes de efectuarse el vuelo de ida a México, presentando la acrofase retrasada a las 9:30 horas. Después del vuelo el ritmo no se modifica, mantiene el horario español y las diferencias día/noche en la cantidad eliminada ( $p < 0.05$ ). Durante el segundo día en México se inició un reajuste horario evidenciado por un adelanto en la acrofase.

Los pilotos mayores de 50 años presentaron una menor excreción urinaria de melatonina y un ritmo más rígido, (con menor adaptación al entorno durante el viaje). Sin embargo presentaron en forma más evidente el atraso del pico excretor máximo durante el segundo día en México. El vuelo de regreso a Madrid coincidió con el pico máximo de excreción urinaria de melatonina, tanto en los mayores como en los menores de 50 años, y la acrofase se había retrasado al volver a Madrid a las 12:00 horas.

**Mesor.-** No se encuentran diferencias significativas en el valor medio del ritmo de melatonina entre las tres situaciones experimentales (Tabla 4)

**Acrofase.-** Es deseable recordar que la determinación cronobiológica de melatonina se realiza sobre uno de sus metabolitos excretados en la orina (la 6-sulfoxi-melatonina), por lo cual la acrofase corresponde con un atraso de aproximadamente 4 horas respecto al valor máximo de la hormona en la circulación sanguínea, el cual en situación de sincronización normal se produce alrededor de las 5 de la mañana. Los individuos mayores de 50 años muestran un atraso significativo de la acrofase del ritmo (Tabla 4).

**Amplitud.-** En ninguno de los grupos se hallaron decrementos significativos de la amplitud del ritmo luego de los cambios de horario, sin embargo puede observarse que en los mayores tiende a disminuir durante la etapa mexicana, y teniendo en cuenta la modificación de la acrofase del ritmo, estos hallazgos podrían relacionarse a procesos de sincronización con el nuevo *zeitgeber* de México (Tabla 4).

**Tabla 4.** Parámetros del ritmo de excreción de melatonina, individuos en vuelos a México.

	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	MEX	MAD2	MAD1	MEX	MAD2
MESOR	2.33±0.36 n = 7	1.83± 0.31 n = 7	2.35 ±0.3 n = 7	3.25± 0.46 n = 5	2.62 ±0.74 n = 5	3.21 ±0.77 n = 5
ACROFASE	9:20 ± 50' n = 7	10:14 ± 34' n = 7	12:00 ± 34' n = 7 *	9:19 ± 2 n = 5	9:46 ± 49' n = 5	11:43±1:15 n = 5
AMPLITUD	1.01±0.13 n = 7	0.90 ± 0.1 n = 7	1.14± 0.12 n = 7	0.87 ± 0.1 n = 5	1.02 ± 0.1 n = 5	1.09± 0.15 n = 5

Los mayores de 50 años presentan diferencias significativas en la posición del valor máximo (acrofase) del ritmo (  $p < 0.033$ ,  $F_{2,18} = 4.13$ ), entre las situaciones MAD2 vs. MAD1 (\*  $p < 0.028$ ).

**4.2.2 Ritmo de cortisol**

La excreción urinaria de cortisol se vio alterada desde la línea de base, con desajuste del ritmo excretor día/noche y cambios en el tiempo de acrofase. En los pilotos mayores de 50 años se observaron alteraciones evidentes en el ritmo excretor, y tanto en éstos como en los menores de 50 años se evidenció un incremento importante de la excreción urinaria de cortisol durante el vuelo de vuelta, posiblemente dependiente de los mayores niveles de estrés (Tabla 5).

**Mesor.-** Los pilotos menores de 50 años muestran un aumento significativo en la excreción de cortisol: se observa que el valor medio sube en la etapa mexicana, y se mantiene elevado hasta el final del experimento en Madrid (Tabla 5).

**Acrofase y amplitud.-** - No se hallaron cambios significativos en la posición del valor máximo ni en la amplitud del ritmo. Teniendo en cuenta lo que ocurre con el mesor, este hecho sugiere que la variable responde a mecanismos fisiológicos involucrados en procesos de homeostásis reactiva, y no a efectos sincronizadores dependientes del sistema circadiano (Tabla 5).

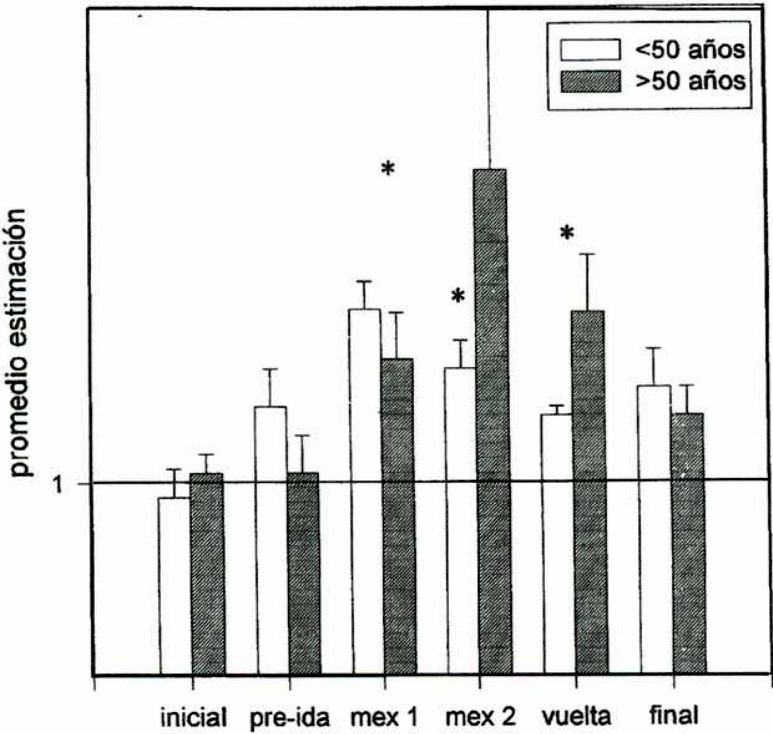
**Tabla 5.** Parámetros del ritmo de excreción de cortisol, vuelos a México.

	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	MEX	MAD2	MAD1	MEX	MAD2
MESOR	36.63 ± 3.7 n = 7	46.5 ± 7.3 n = 7	39.8± 8.12 n = 7	43.34±1.2 n = 4	60.9±1.45 n = 4 *	60.8 ± 5 n = 4 *
ACROFASE	15:50 ± 2 n = 6	13:24 ± 2 n = 6	15:30 ± 2 n = 6	17 ± 48' n = 4	12:20 ± 2 n = 4	19 ± 1:30 n = 4
AMPLITUD	0.7 ± 0.11 n = 7	0.5 ± 0.1 n = 7	0.7 ± 0.19 n = 7	0.73±0.13n = 5	0.66±0.13 n = 5	0.8 ± 0.15 n = 5

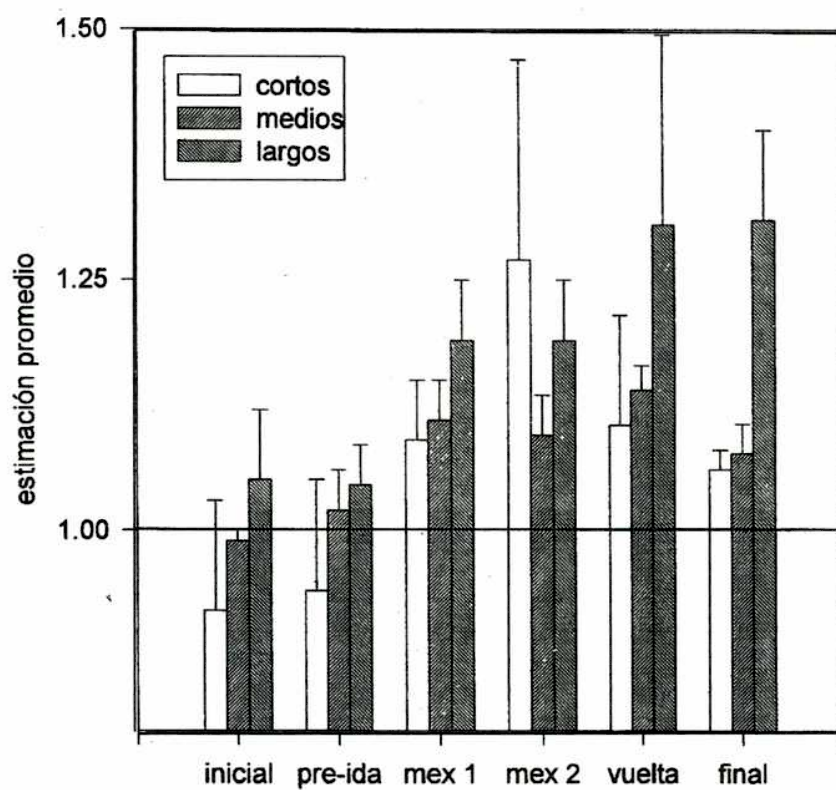
Se hallaron diferencias significativas en el valor medio del ritmo ( $p < 0.004$ ,  $F_{2,9} = 10.7$ ), entre las situaciones indicadas (\* MEX y MAD2 vs. MAD1 = 0.008).

**4.3 Estimación subjetiva del tiempo**

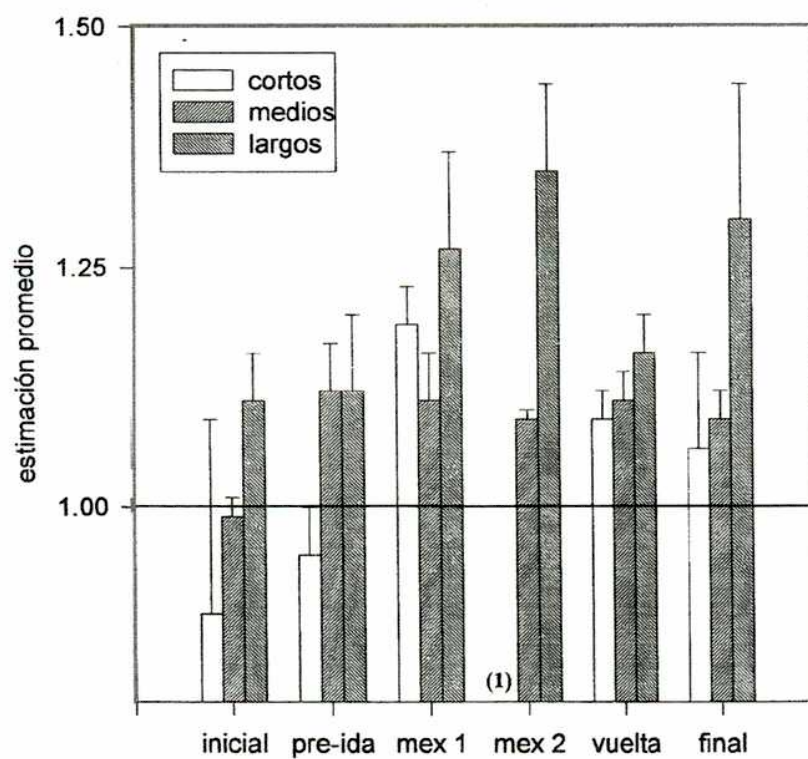
Se observó una sobreestimación significativa del tiempo después de la llegada a México. Este aumento del cociente tiempo estimado/tiempo real tendió a recuperar los valores normales después del regreso a Madrid (Fig. 10). En los dos grupos de edad, las diferencias son mas evidentes en los tiempos más largos (Fig. 11 y 12). En ambos grupos etarios, se halló que el cociente absoluto es significativamente diferente de la media ideal (“1”) (prueba t de Student de 1 muestra,  $p < 0.005$ ) (Fig. 10).



**Figura 10.** Estimación subjetiva del tiempo.



**Figura 11.** Estimación subjetiva del tiempo, mayores de 50 años.



**Figura 12.** Estimación subjetiva del tiempo, menores de 50 años.

La Tabla 6 resume los resultados de las pruebas de estimación del tiempo para los vuelos a México. Un ANOVA de dos vías (edad del piloto y día de la muestra) indica que el factor “día del vuelo” produce diferencias significativas en la estimación del tiempo, no habiendo diferencias significativas en conjunto entre ambos grupos etarios, ni interacción entre ambos factores. Las mayores diferencias se encuentran entre la prueba inicial y la del primer o segundo día en la escala, donde si puede llegar a detectarse una mayor variación en el grupo de pilotos mayores de 50 años.

**Tabla 6.** Estimación subjetiva del tiempo, vuelos a México.

	inicial	prevuelo	México 1	México 2	regreso	final
<50 años	0.98±0.03	1.08±0.04	1.18±0.03	1.12±0.03	1.07±0.01	1.10±0.04
>50 años	1.01±0.02	1.01±0.04	1.13±0.05	1.33±0.23	1.18±0.06	1.07±0.03

ANOVA:  $F_{1,40}$  (edad) =0.24,  $p = 0.62$   
 $F_{5,40}$  (día) =3.24,  $p < 0.015$   
Interacción  $F = 1.57$ ,  $p < 0.19$   
Día 1 vs. Día 4,  $p < 0.016$

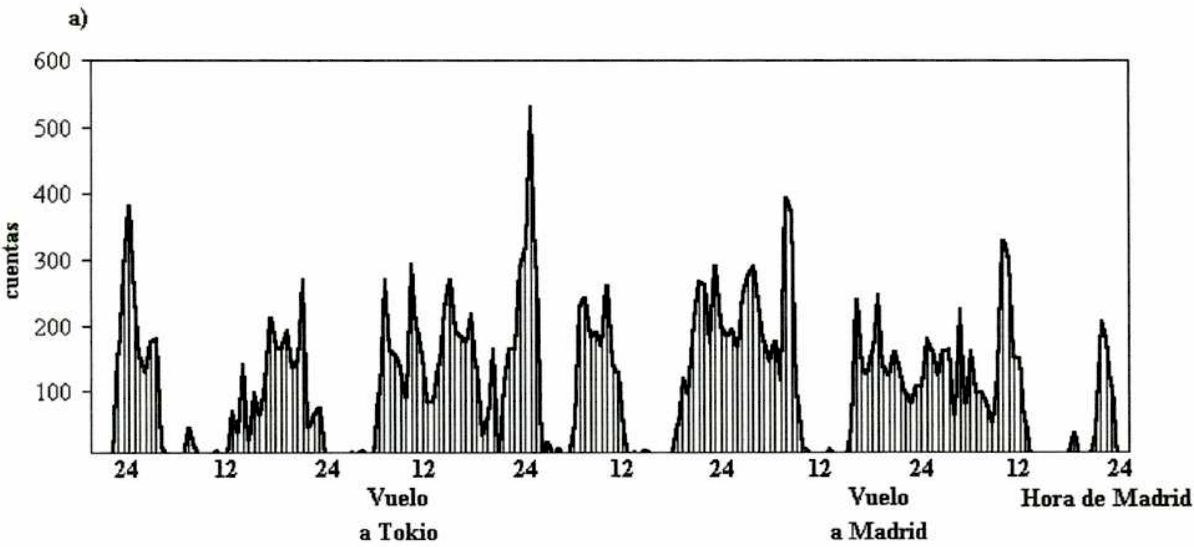
**B- Vuelos a Tokio**

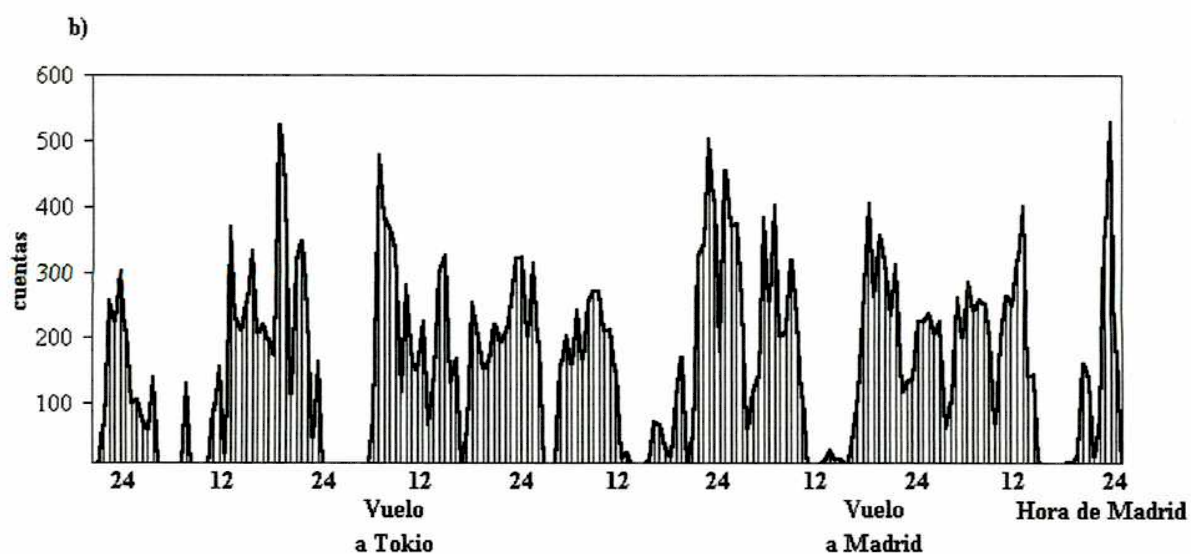
**4.4 Monitoreo cronobiológico**

**4.4.1 Actividad locomotora**

**4.4.1.1 Detección del ritmo**

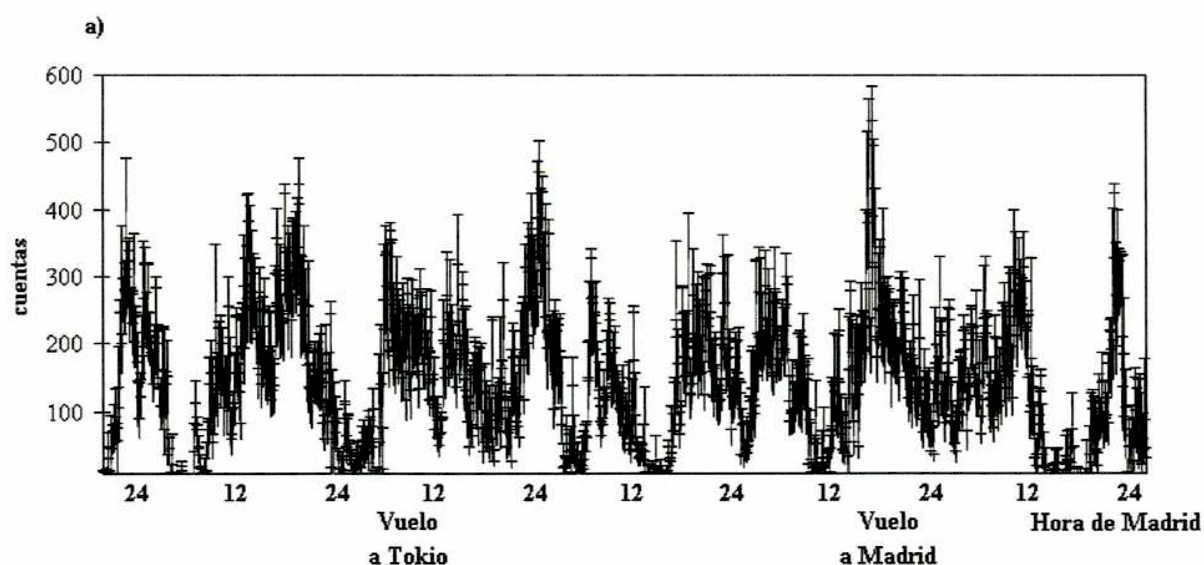
Los ritmos de pilotos en vuelos a Tokio modifican su posición temporal en sentido contrario respecto a los anteriores de México, debido a que los cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad ocurren en forma opuesta. La Figura 13 muestra los ritmos de actividad locomotora en pilotos representativos. Después del vuelo a Tokio se observa una pérdida de la ritmicidad, en donde no son claramente distinguibles la fase de reposo y la de actividad: durante la primera noche se presentan eventos de actividad, que muestran la dificultad de los pilotos para conciliar el sueño durante la "noche". El segundo día en Tokio exhibe un perfil robusto del ritmo de actividad, en sincronía con el nuevo horario.

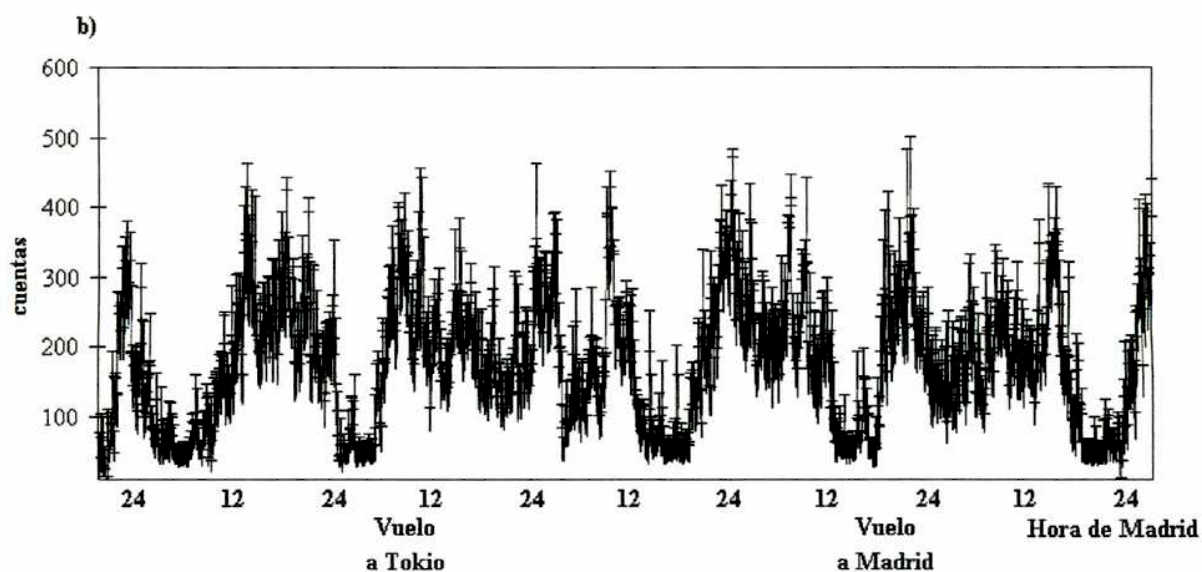




**Figura 13.** Ritmos de actividad locomotora de individuos representativos que experimentan el itinerario Madrid-Tokio-Madrid, a) mayor de 50 años, b) menor de 50 años.

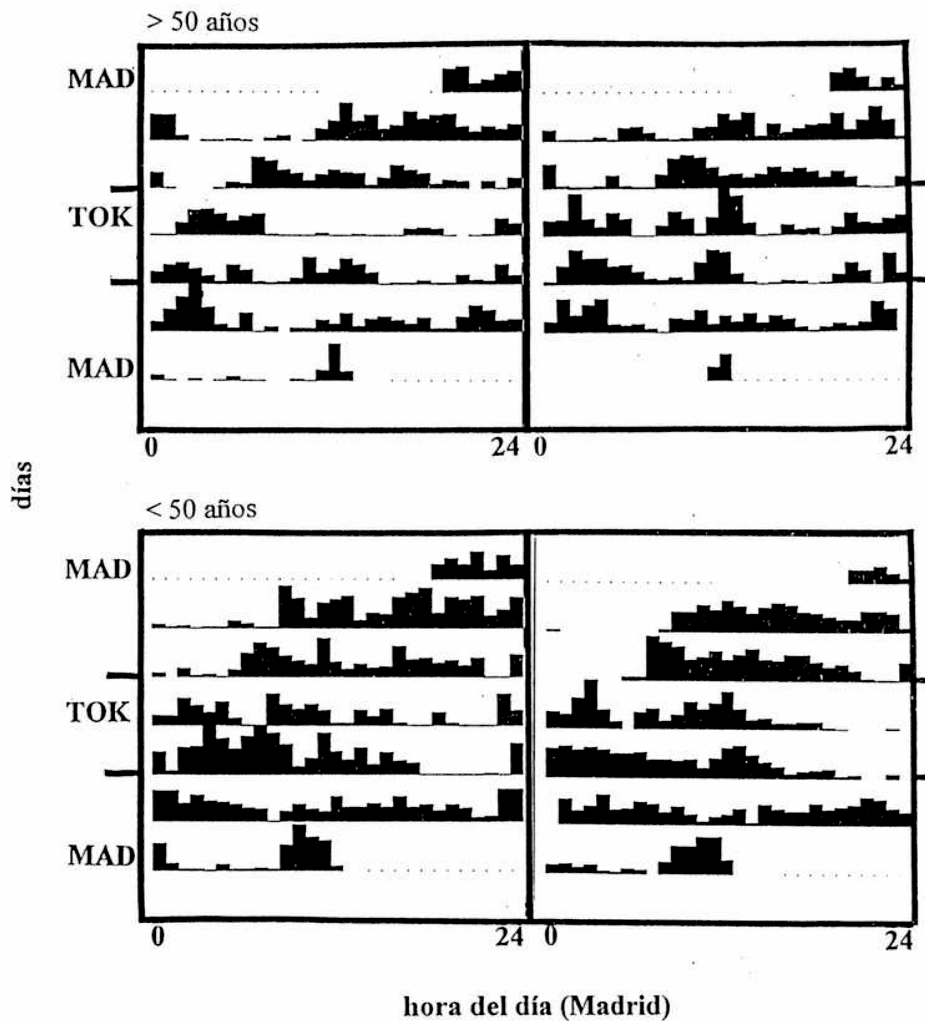
La Fig. 14 muestra la curva promedio de actividad locomotora para cada grupo de edad. Se observa un perfil circadiano mas claro de la variable, en especial en lo menores de 50 años, que evidencian con mayor fidelidad los cambios de fase producidos tras los vuelos, mientras que los mayores muestran ritmos más fragmentados.





**Figura 14.** Ritmo promedio de actividad locomotora, pilotos mayores (a) y menores de 50 años (b).

Los actogramas muestran con mayor claridad los cambios de fase ocurridos tras los vuelos. Se observa que el pico de actividad se produce “más temprano” respecto al horario de Madrid, ocurriendo un adelanto en la fase del ritmo visible en ambos grupos de edad. Los pilotos mayores de 50 años exhiben cierta fragmentación del ritmo durante la estadía en Tokio. El retorno a Madrid ocasiona un nuevo ajuste de la actividad por un atraso de fase del ritmo (Fig. 15).



**Figura 15.** Actogramas de dos individuos mayores (a) y dos menores de 50 años (b), que experimentan el itinerario Madrid-Tokio-Madrid. Luego de la llegada a Tokio se observa un adelanto en la fase del ritmo, que mantiene la nueva posición en el tiempo durante la estadía en dicha localidad; tras el vuelo de regreso, se produce un retraso de fase y el ritmo de actividad adquiere nuevamente el horario de Madrid.

#### 4.4.1.2 Parámetros del ritmo

**Mesor.-** el valor medio del ritmo de actividad locomotora no se modifica durante el curso experimental (Tabla 7).

**Acrofase.-** las acrofases del ritmo de actividad locomotora se modifican luego de el vuelo a Tokio y de regreso a Madrid, por adelantos y atrasos significativos respectivamente; estas diferencias entre las situaciones Madrid 1 y Madrid 2 vs. Tokio se presentan en ambos grupos de edad (Tabla 7).

**Amplitud.-** la amplitud de el ritmo de actividad locomotora exhibe diferencias significativas en ambos grupos de edad tras los vuelos a Tokio (Tabla 7).

**Tabla 7.** Parámetros del ritmo de actividad locomotora de pilotos en vuelos a Tokio.

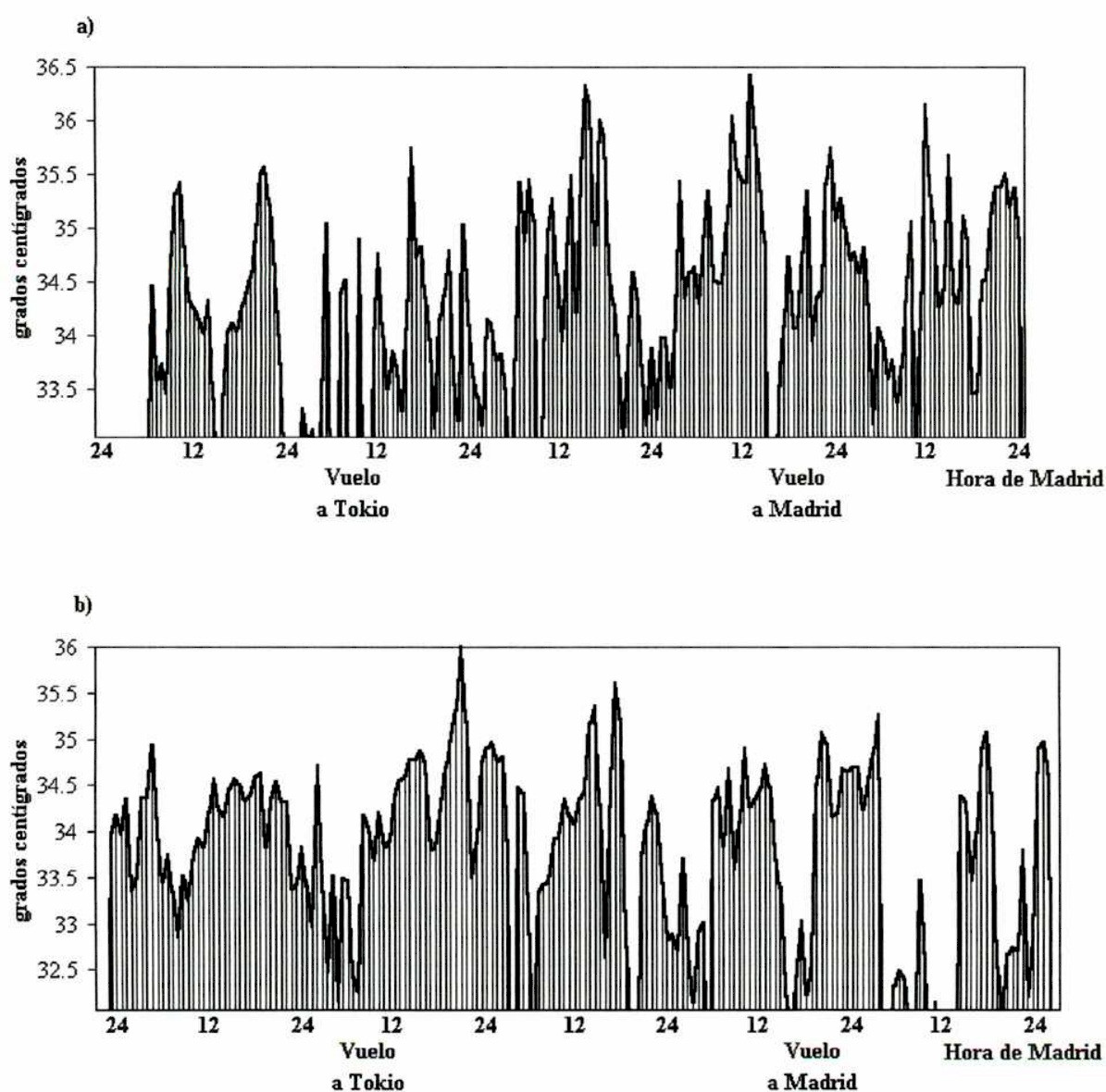
	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	TOK	MAD2	MAD1	TOK	MAD2
MESOR	118 ± 9.55 n = 6	131.6 ± 13 n = 6	125.7 ± 14.1 n = 6	139 ± 9.8 n= 10	143.6 ± 12 n = 10	136.2 ± 11 n = 10
ACROFASE	16:37 ± 26' n = 5	7:24 ± 26' n = 5 *	12:18 ± 2 n = 5	15:20 ± 19' n = 10	7:42 ± 56' n = 10 *	13:07 ± 1:34 n = 10
AMPLITUD	0.69 ± 0.10 n = 6	0.28 ± 0.06 n = 6 *	0.27 ± 0.06 n = 6	0.63 ± 0.08 n=10	0.46 ± 0.05 n=10 *	0.32 ± 0.03 n = 10

Se hallaron diferencias significativas en la acrofase de los mayores ( $p < 0.005$ ,  $F_{2, 12} = 8.67$ , \* TOK vs. MAD1:  $p < 0.003$ , TOK vs. MAD2:  $p < 0.05$ ) y menores de 50 años ( $p < 0.000$ ,  $F_{2, 27} = 11.52$ , \* TOK vs. MAD1:  $p < 0.000$ , TOK vs. MAD2:  $p < 0.007$ ). El ritmo de actividad locomotora muestra diferencias significativas en la amplitud de los individuos mayores (\* TOK vs. MAD1:  $p < 0.023$ ,  $t = 3.24$ ) y menores de 50 años (\* TOK vs. MAD1:  $p < 0.008$ ,  $t = 3.39$ ).

#### 4.4.2 Temperatura

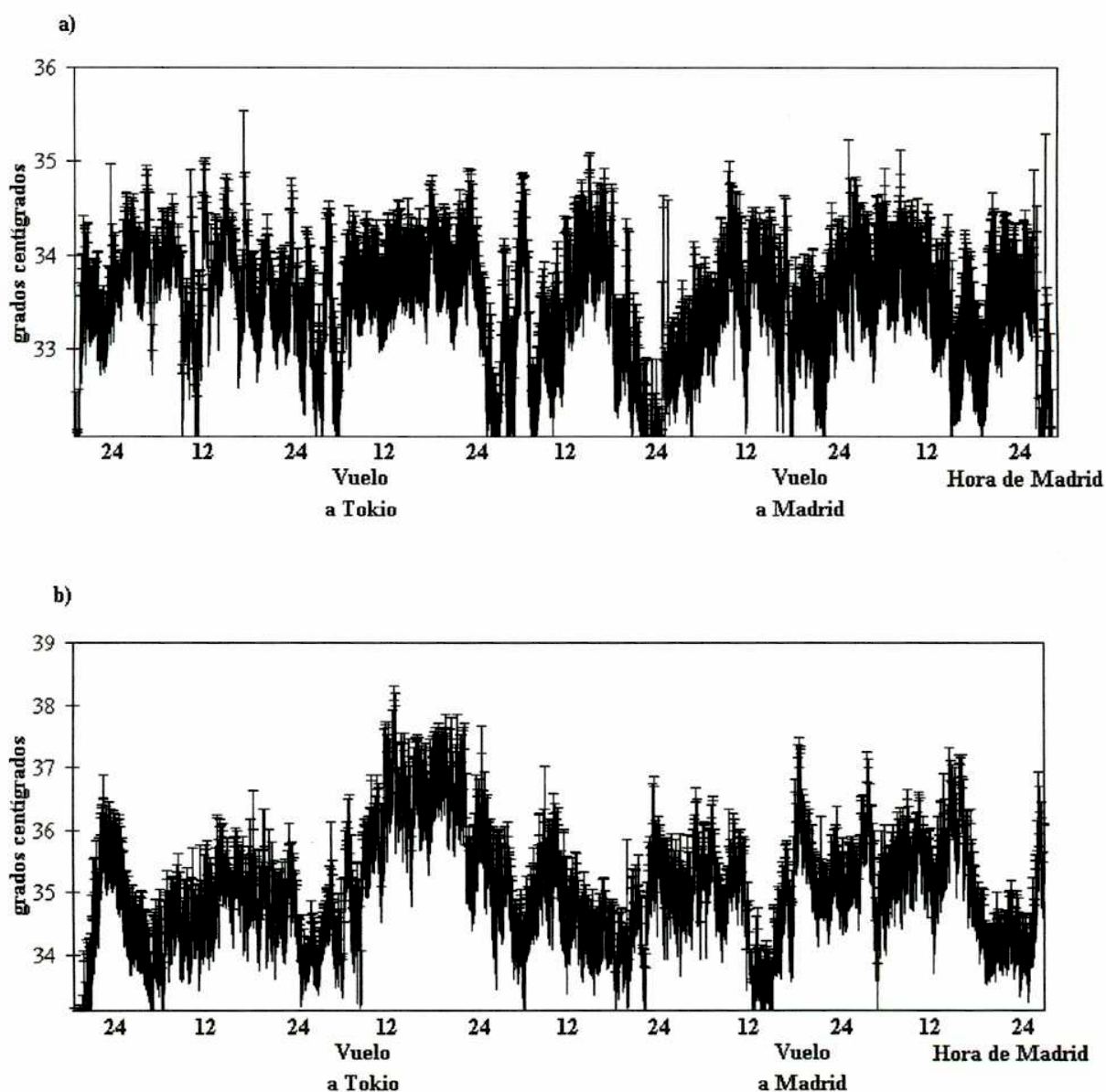
##### 4.4.2.1 Detección del ritmo

Los registros individuales reflejan nuevamente las dificultades metodológicas para el muestreo de esta variable, la cual no describe un ritmo claro (Fig. 16). Para estudiar la respuesta circadiana de la temperatura, es conveniente analizar la curva promedio y los parámetros estimados del ritmo.



**Figura 16.** Temperatura cutánea de individuos representativos, (a) mayor de 50 años, (b) menor de 50 años. No se observa un perfil circadiano claro de la variable.

La curva promedio muestra las irregularidades descritas para los registros individuales, atribuibles a dificultades metodológicas y a la heterogeneidad de la población en estudio. Puede apreciarse que la variable toma valores dentro de un rango fisiológico normal, y que éste es mayor en los menores de 50 años (Fig. 17).



**Figura 17.** Ritmo promedio de temperatura cutánea de individuos mayores (a) y menores de 50 años (b). Las fluctuaciones de la variable se hallan alrededor de valores fisiológicos, de acuerdo a lo esperado para una determinación periférica de la misma.

#### 4.4.2.2 Parámetros del ritmo

**Mesor.-** El mesor se mantiene invariable en ambos grupos de edad, lo cual permite estimar que el sistema de registro funciona correctamente (Tabla 8).

**Acrofase.-** No existen diferencias significativas en la posición del valor máximo del ritmo luego de las transiciones horarias en los menores de 50 años. En los mayores, las diferencias son significativas, pero cabe destacar que la acrofase de Madrid 1 no corresponde con la posición normal del pico circadiano de temperatura, en determinaciones controladas (en aislamiento) de la misma (Tabla 8).

**Amplitud.-** El ritmo de temperatura no presenta modificaciones en la amplitud en ambos grupos de edad, luego de las transiciones horarias experimentadas tras los vuelos (Tabla 8).

**Tabla 8.** Parámetros del ritmo de temperatura de pilotos en vuelos a Tokio.

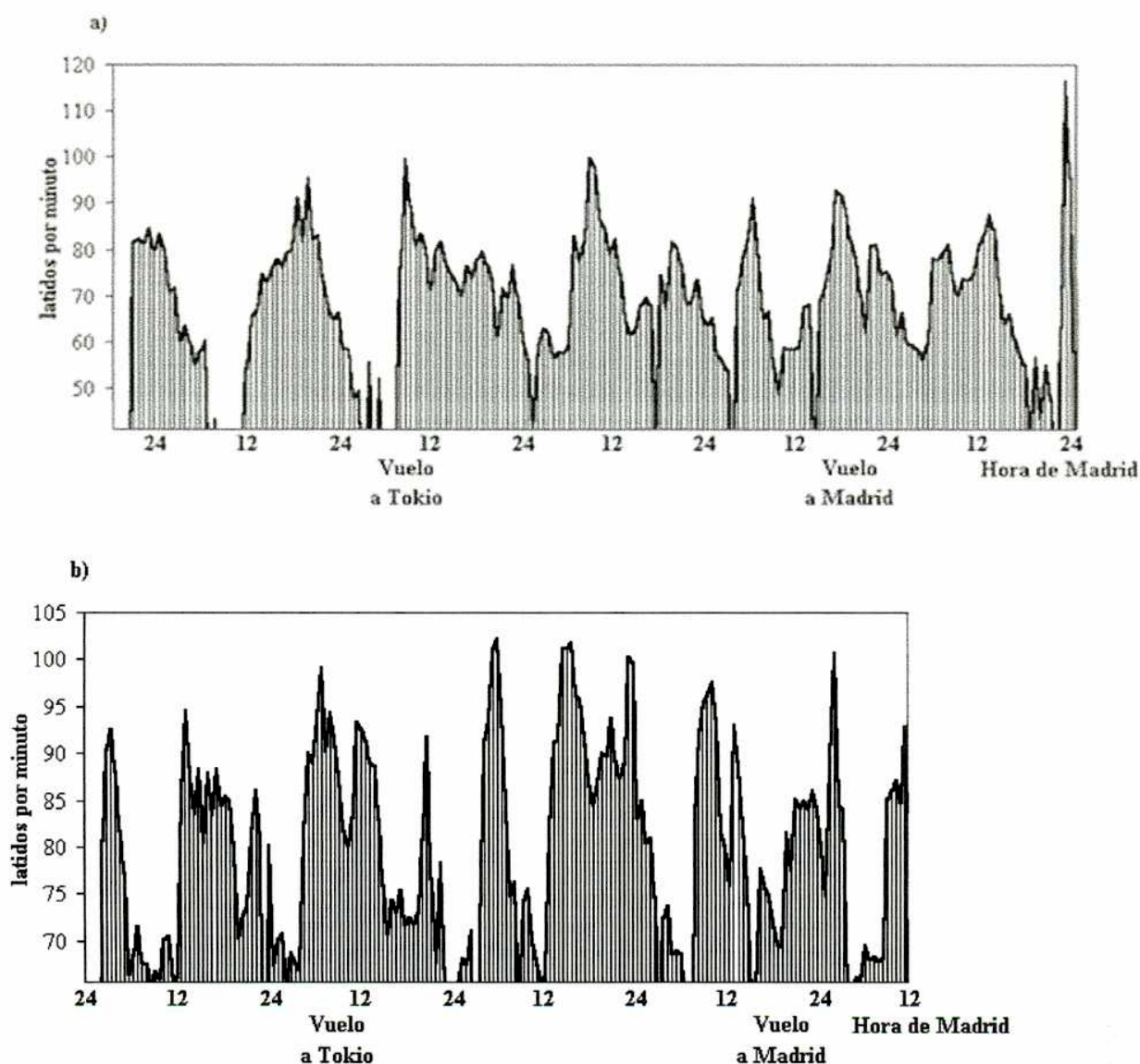
	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	TOK	MAD2	MAD1	TOK	MAD2
MESOR	32.9 ± 0.66 n = 9	33.5 ± 0.63 n = 9	33.8 ± 0.63 n = 9	34.2 ± 0.63 n = 10	34.4 ± 0.63 n = 10	34.6 ± 0.47 n = 10
ACROFASE	6:49 ± 1:40 n = 9	17:52 ±1:20 n = 9	11:34 ± 1:40 n = 9 *	14:38 ±1:20 n = 9	15 ± 2:20 n = 9	15:25 ± 1:40 n = 9
AMPLITUD	0.023±0.004 n = 9	0.025±0.005 n = 9	0.02 ± 0.004 n = 9	0.028±0.003 n = 10	0.022±0.003 n = 10	0.024±0.003 n = 10

Se hallaron diferencias significativas entre las acrofases del ritmo de temperatura en los mayores de 50 años ( $p < 0.000$ ,  $F_{2,24} = 12.55$ ), pero cabe destacar que el valor de MAD1 no corresponde con el parámetro circadiano en situación de sincronización normal. \* MAD2 vs. TOK = 0.023.

4.4.3 Frecuencia cardíaca

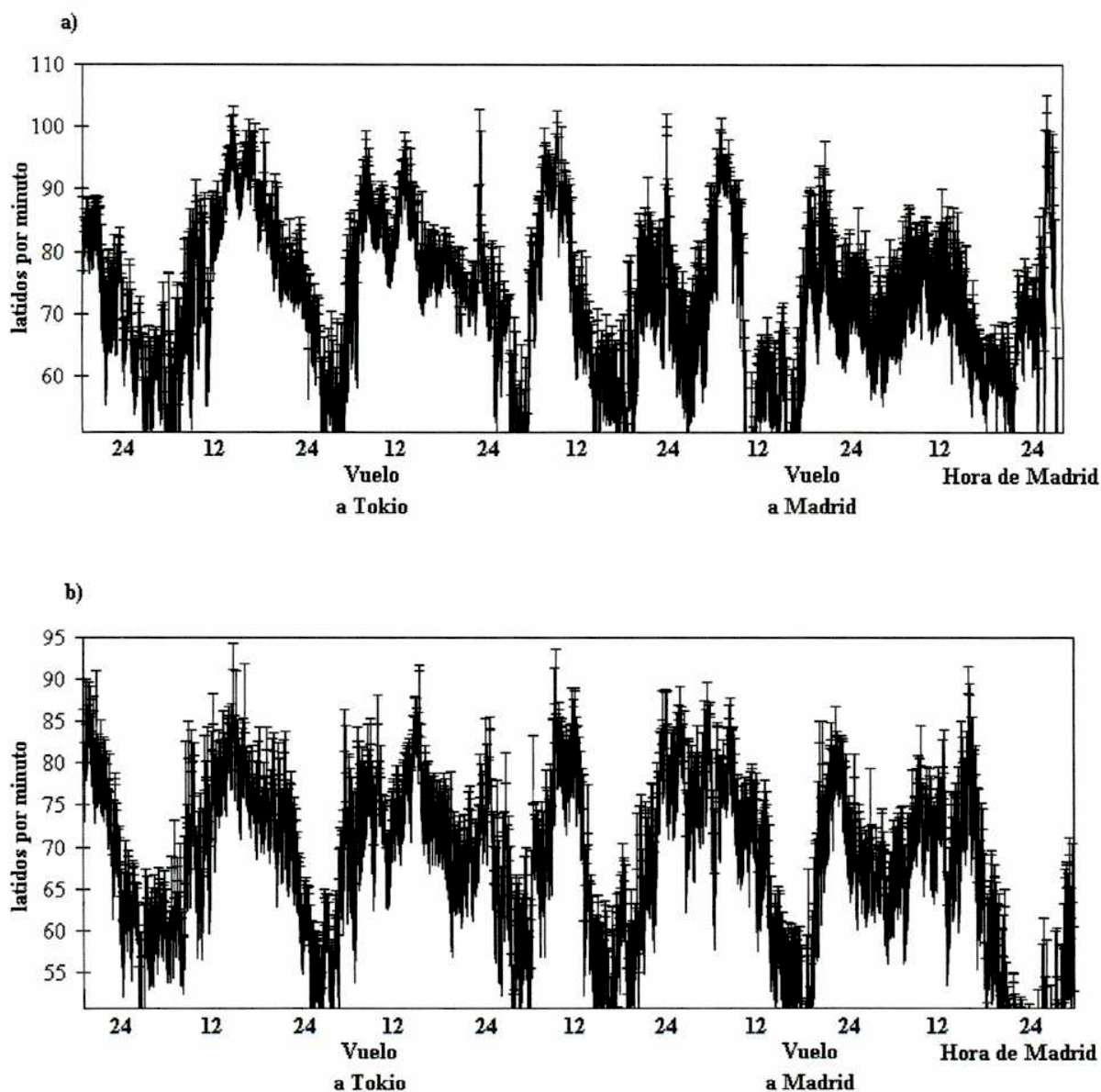
4.4.3.1 Detección del ritmo

El análisis de registros individuales sugiere una gran variabilidad entre los pilotos. No se observan componentes circadianos claros de la onda, ocultos por la presencia de numerosos picos espontáneos, y valles pronunciados que corresponden con la desconexión transitoria del sensor (Fig. 18).



**Figura 18.** Ritmo de frecuencia cardíaca de pilotos en vuelos a Tokio: (a) mayor, (b) menor de 50 años. No se aprecia una descripción circadiana clara de la variable.

La curva promedio proporciona una estimación del ritmo biológico de frecuencia cardíaca de los individuos. Se observa un perfil circadiano durante el día previo al vuelo, con un mínimo durante las horas nocturnas de reposo y un máximo pasado el mediodía, en correlación con la fase de actividad. Luego del vuelo a Tokio se aprecia una pérdida de la ritmicidad en los mayores y un adelanto de fase durante el segundo día en los menores (Fig. 19).



**Figura 19.** Ritmo promedio de frecuencia cardíaca en pilotos mayores (a) y menores de 50 años (b). Se observa una fragmentación del ritmo en los mayores durante la estadía en Tokio, y un relativo ajuste de fase en los menores.

#### 4.4.3.2 Parámetros del ritmo

**Mesor.-** El mesor no presenta diferencias significativas entre las localidades (Tabla 9).

**Acrofase.-** No se hallaron diferencias en la acrofase entre las tres situaciones experimentales, aunque se aprecia un adelanto en la posición del máximo durante la situación Tokio en los menores de 50 años (Tabla 9).

**Amplitud.-** Los pilotos menores de 50 años muestran diferencias significativas en la amplitud del ritmo, la cual disminuye luego del vuelo a Tokio (Tabla 9).

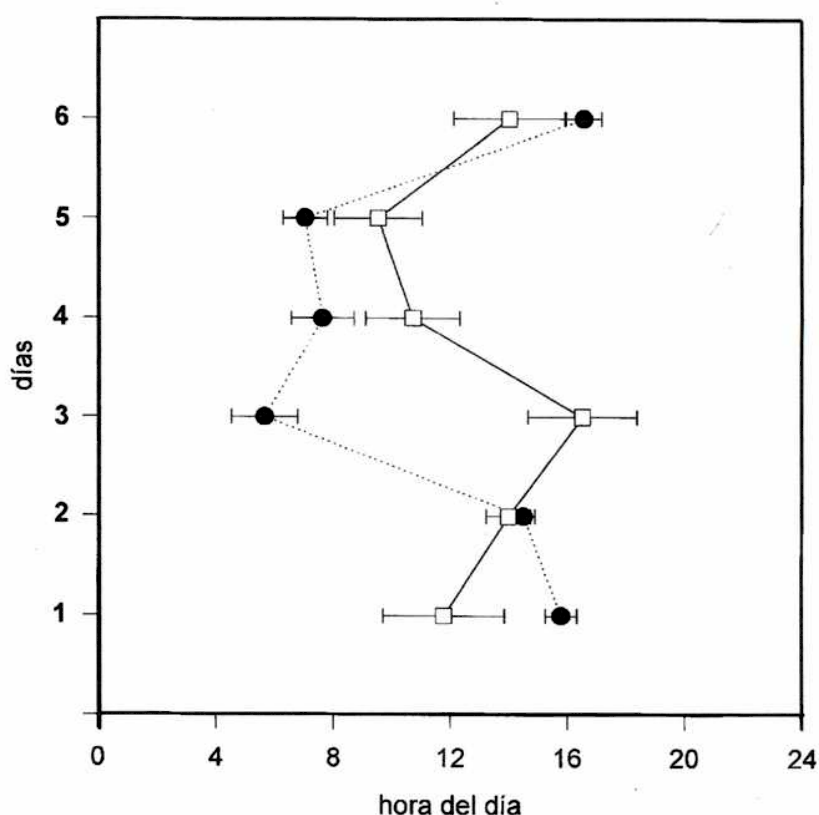
**Tabla 9.** Parámetros del ritmo de frecuencia cardíaca.

	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	TOK	MAD2	MAD1	TOK	MAD2
MESOR	63.1 ± 11.4 n = 8	64.7 ± 13.9 n = 8	67.5 ± 11.1 n = 8	62.6 ± 15.5 n = 8	72.4 ± 10.2 n = 8	71.1 ± 5.4 n = 8
ACROFASE	13:45 ± 6 n = 8	14 ± 4 n = 8	14:27 ± 4 n = 8	11 ± 6 n = 9	10:48 ± 3 n = 9	14:43 ± 4 n = 9
AMPLITUD	0.13 ± 0.1 n = 8	0.09 ± 0.07 n = 8	0.13 ± 0.11 n = 8	0.18 ± 0.09 n = 7	0.1 ± 0.05 n = 7 *	0.12 ± 0.09 n = 7

La amplitud del ritmo difiere en los menores de 50 años (\* TOK vs. MAD1:  $p < 0.021$ ,  $t = 3.1$ ).

4.4.4 Mapa de acrofases

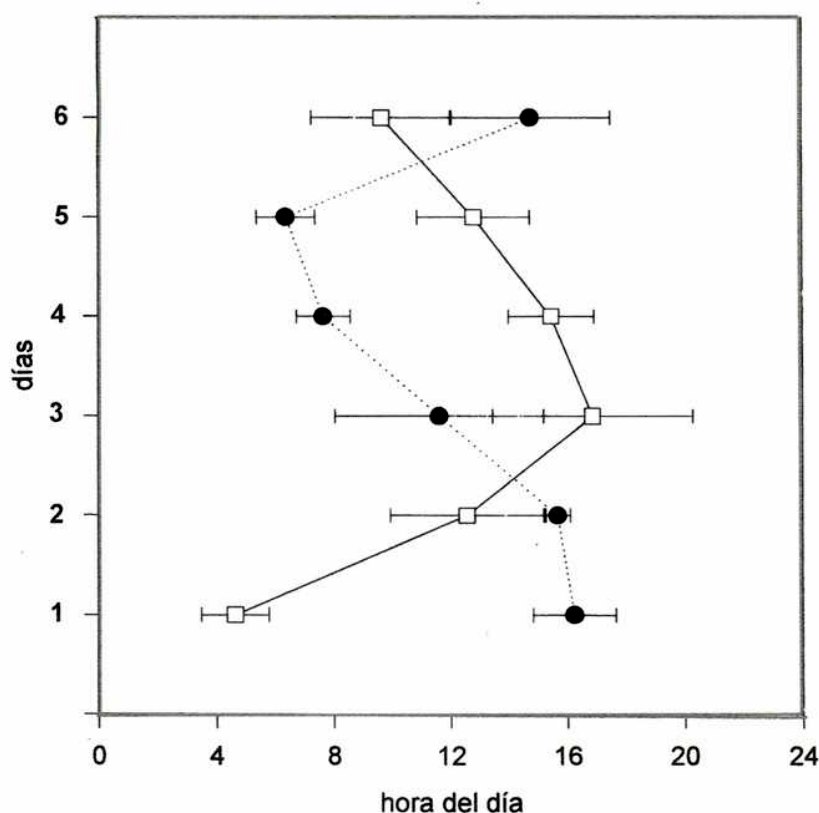
**Menores de 50 años.-** Durante los dos días previos al vuelo los valores máximos de actividad locomotora y temperatura se hallan próximos, entre las 12 y las 16 horas, y conservan una relación o ángulo de fase ( $-\Phi_{A,T}$ ) estable, según el estado estacionario alcanzado en situación de sincronización normal. Luego del vuelo, durante el primer día en Tokio se produce un cambio en la fase del ritmo de actividad locomotora ( $+\Delta\phi_A$ ) coincidente con el adelanto de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad ( $+\Delta\phi_Z$ ), mientras que el ritmo de temperatura conserva la fase de Madrid ( $\Delta\phi_T = 0$ ). Durante el segundo día en Tokio se observa un  $+\Delta\phi_T$ , tal vez debido a un posible enmascaramiento del ritmo ejercido por la actividad locomotora, y luego se mantiene en la nueva posición temporal hasta el momento previo al vuelo de regreso a Madrid, en situación de acoplamiento al ritmo de actividad, habiéndose alcanzado un nuevo estado estacionario pero con un ángulo de fase invertido en signo ( $+\Phi_{A,T}$ ) respecto a la situación Madrid 1. Finalmente, luego del vuelo de regreso a Madrid ambos ritmos se sincronizan rápidamente con el nuevo horario por retrasos de fase, siguiendo el  $-\Delta\phi_Z$  y alcanzan nuevamente la relación de fases normal de Madrid 1 (Fig. 20).



**Figura 20.** Mapa de acrofases de los pilotos menores de 50 años. Se representa la posición del valor máximo de los ritmos de actividad locomotora (círculos negros) y de temperatura cutánea (cuadrados blancos) en los seis días del experimento (días 1-2: MAD1, días 3-4: TOK, días 5-6: MEX), en función de la hora del día en Madrid. Este gráfico permite visualizar tanto la posición de la acrofase de los ritmos, como la relación en el tiempo entre ambos, en relación a las condiciones ambientales de sincronización. El ritmo de temperatura exhibe cierta plasticidad para modificar la acrofase ante los cambios de horario, aunque la regresión lineal de la acrofase del ritmo de temperatura en relación al día del experimento fue no significativa ( $p < 0.9$ ,  $F 1, 48 = 0.02$ ,  $R^2 = 0.0004$ ), mientras que se halló una regresión significativa para la acrofase de actividad locomotora ( $p < 0.001$ ,  $F 1, 38 = 47.8$ ,  $R^2 = 0.55$ ,  $\beta = -0.75$ ), evidenciándose la sincronización del ritmo.

**Mayores de 50 años.-** La acrofase del ritmo de temperatura se halla ubicada alrededor de las 5 horas durante el primer día en Madrid, lejos de su posición normal entre las 12 y las 16 horas, hecho que refleja la heterogeneidad de la población. La línea de base fue considerada entonces desde el segundo día, donde la acrofase de temperatura se halla en su horario correcto. El ritmo de actividad se muestra poco flexible en su sincronización con el nuevo *zeitgeber* ambiental de Tokio durante el

primer día, y se sincroniza adquiriendo una relación de fase estable con el mismo ( $\Phi_{A,Z}$ ) durante el segundo día en Tokio. El ritmo de temperatura tiende a conservar la acrofase de Madrid luego del  $+\Delta\phi_z$  y exhibe una escasa plasticidad de fase los días siguientes, por lo cual no se sincroniza finalmente con el *zeitgeber* de Tokio. A la llegada a Madrid, el ritmo de actividad se re-sincroniza rápidamente siguiendo el  $-\Delta\phi_z$ , mientras que el oscilador de temperatura recién alcanza la fase de Tokio (Fig. 21).



**Figura 21.** Mapa de acrofases de los individuos mayores de 50 años en vuelos a Tokio, en el que se representan los valores máximos del ritmo de temperatura periférica (cuadrados blancos) y de actividad locomotora (círculos negros) en función de la hora del día de Madrid. Los días corresponden a: 1-2: MAD1, 3-4: TOK, 4-5: MAD2. Se observa que el ritmo de actividad locomotora exhibe una gran plasticidad de fase, mientras que el ritmo de temperatura se muestra más rígido ante los cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad. La regresión lineal fue realizada desde el segundo día en México, y el ajuste fue no significativo para la acrofase de temperatura ( $p < 0.4$ ,  $F 1, 22 = 0.73$ ,  $R^2 = 0.03$ ), mientras que se halló una regresión significativa para la acrofase de actividad locomotora ( $p < 0.015$ ,  $F 1, 16 = 7.43$ ,  $R^2 = 0.32$ ,  $\beta = -0.56$ ), evidenciándose la sincronización del ritmo al horario de Tokio.

## 4.5 Endocrinología

### 4.5.1 Ritmo de melatonina

Las diferencias en la cantidad de melatonina eliminada durante el día y la noche fueron significativas ( $p < 0.01$ ). Los registros individuales de los pilotos que volaron hacia Tokyo mostraron ya inicialmente una alteración del ritmo basal, con excreción máxima entre las 6:00 y las 12:00 hs., situación que se mantiene durante el día del vuelo (datos no mostrados).

En los mayores de 50 años de nuevo tiende a mantenerse el ritmo excretor de Madrid, aunque se observa en un principio la pérdida de un único pico excretor nocturno, apareciendo dos máximos durante la noche. Después, a partir del segundo día en Tokyo se recupera un patrón normal, aunque adaptado al horario de Madrid. Los pilotos menores de 50 años presentaron en Tokio alteraciones todavía mas evidentes que los mayores de 50 años, con disminución de las cantidades hormonales excretadas y ausencia total del ritmo excretor: se observa una disminución del valor medio, la cual es significativa luego del vuelo de regreso a Madrid, además de un descenso significativo de la amplitud durante la escala en Tokio (Tabla 10)

**Tabla 10.** Parámetros del ritmo de melatonina de pilotos en vuelos a Tokio.

	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	TOK	MAD2	MAD1	TOK	MAD2
MESOR	2.44±0.73 n = 6	2.36±1.22 n = 6	2.01±1.00 n = 6	6.38 ± 2.1 n = 10	4.73±2.31 n = 10	3.41±1.88 n = 10 *
ACROFASE	8:22±2:21 n = 9	9:35±2:26 n = 9	11:21±3:15 n = 9	8:33±1:00 n = 8	7:32±2:40 n = 8	11:27±2:56 n = 8
AMPLITUD	0.78±0.33 n = 9	0.81±0.35 n = 9	1.01±0.43 n = 9	1.02±0.21 n = 10	0.72±0.32 n = 10 *	0.9±0.23 n = 10

El valor medio del ritmo (mesor) difiere significativamente en los individuos menores de 50 años ( $p < 0.014$ ,  $F_{2,27} = 4.99$ ) entre las situaciones MAD2 vs. MAD1 (\*  $p < 0.01$ ).

### 4.5.2 Ritmo de cortisol

En los pilotos mayores de 50 años se observa un ritmo excretor de cortisol aplanado en Madrid, que se

mantiene durante el vuelo de ida a Tokyo y se desorganiza al llegar a destino. El vuelo de vuelta coincide con un incremento marcado de la excreción urinaria de cortisol. En ambos grupos a lo largo del viaje y al llegar al destino, se conserva cierta sincronía con el horario de Madrid, y se produce un incremento significativo en el valor medio del ritmo durante la escala en Tokio en los mayores de 50 años, y en la llegada a Madrid en los menores de 50 años (Tabla 11).

**Tabla 11.** Parámetros del ritmo de cortisol de pilotos en vuelos a Tokio.

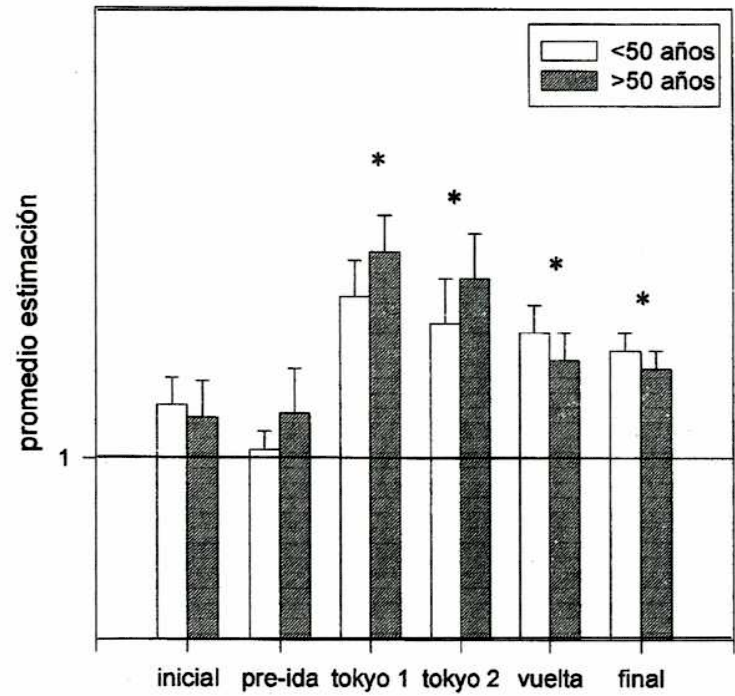
	individuos > 50 años			individuos < 50 años		
	MAD1	TOK	MAD2	MAD1	TOK	MAD2
MESOR	49.1±9.65 n = 7	71.12±14.1 n = 7 *	72.58±17.2 n = 7 **	54.42±16 n = 7	69.43±8.6 n = 7	81.57±19 n = 7 *
ACROFASE	15:40±2:51 n = 9	17:30±3:40 n = 9	17:28±3:28 n = 9	17:30±2:40 n = 8	17:15±3:21 n = 8	13:36±3:14 n = 8 *
AMPLITUD	0.48±0.26 n = 10	0.74±0.26 n = 10	0.73±0.25 n = 10	0.7±0.24 n = 9	0.75±0.32 n = 9	0.51±0.2 n = 9

El mesor difiere significativamente tanto en los mayores ( $p < 0.009$ ,  $F_{2,18} = 6.18$ , \* TOK vs. MAD1:  $p < 0.022$ , \*\* MAD2 vs. MAD1:  $p < 0.015$ ) como en los menores de 50 años ( $p < 0.002$ ,  $F_{2,18} = 5.08$ , \* MAD2 vs. MAD1:  $p < 0.013$ ). En los individuos menores de 50 años la acrofase del ritmo difiere significativamente ( $p < 0.035$ ,  $F_{2,21} = 3.95$ ), y estas diferencias se producen entre MAD2 vs. MAD1 (\*  $p < 0.05$ ) y entre MAD2 vs. TOK (\*  $p < 0.05$ ).

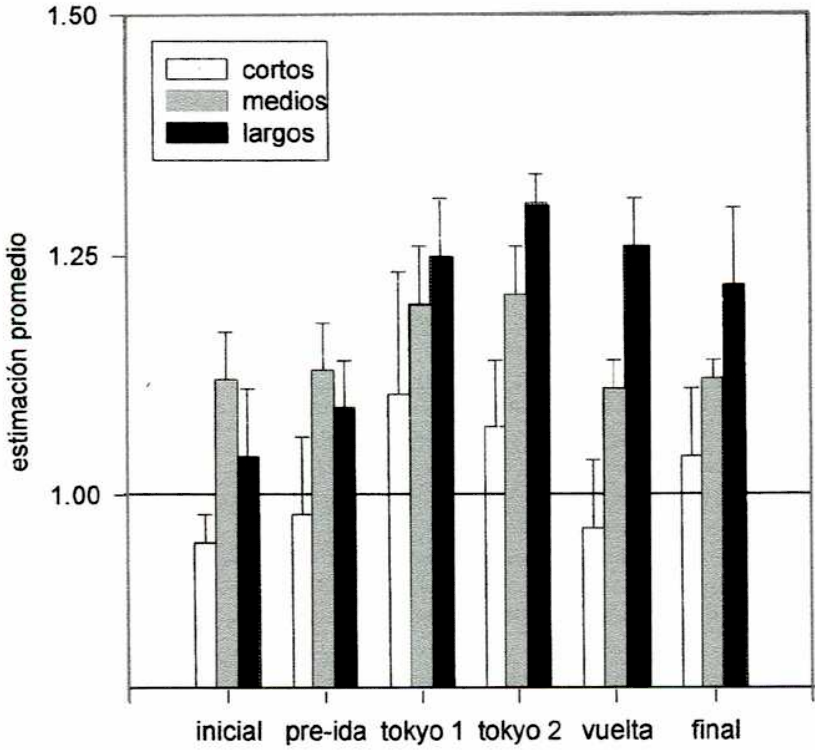
**4.6 Estimación subjetiva del tiempo**

Se observó una sobreestimación significativa del tiempo después de la llegada a destino. Este aumento del cociente tiempo estimado/tiempo real se mantuvo hasta el final después de los viajes a Tokyo (Figs. 22, 23 y 24), al contrario de lo que había sucedido en México, donde se normalizaba la situación a las 24 horas de retornar a Madrid.

En ambos grupos etarios, se nota que el cociente absoluto es significativamente diferente de la media ideal (“1”) (Fig. 22). Al igual que sucede en los viajes a México, las alteraciones son mucho mas evidentes en las estimaciones de los tiempos largos (Figs. 23 y 24).



**Figura 22.** Estimación subjetiva del tiempo, promedio de los tres intervalos objetivos. Existen diferencias significativas entre el cociente absoluto y la media ideal (1) (\* prueba t de Student de 1 muestra,  $p < 0.005$ )



**Figura 23.** Estimación subjetiva del tiempo, mayores de 50 años. Las sobreestimaciones son mayores a tiempos largos

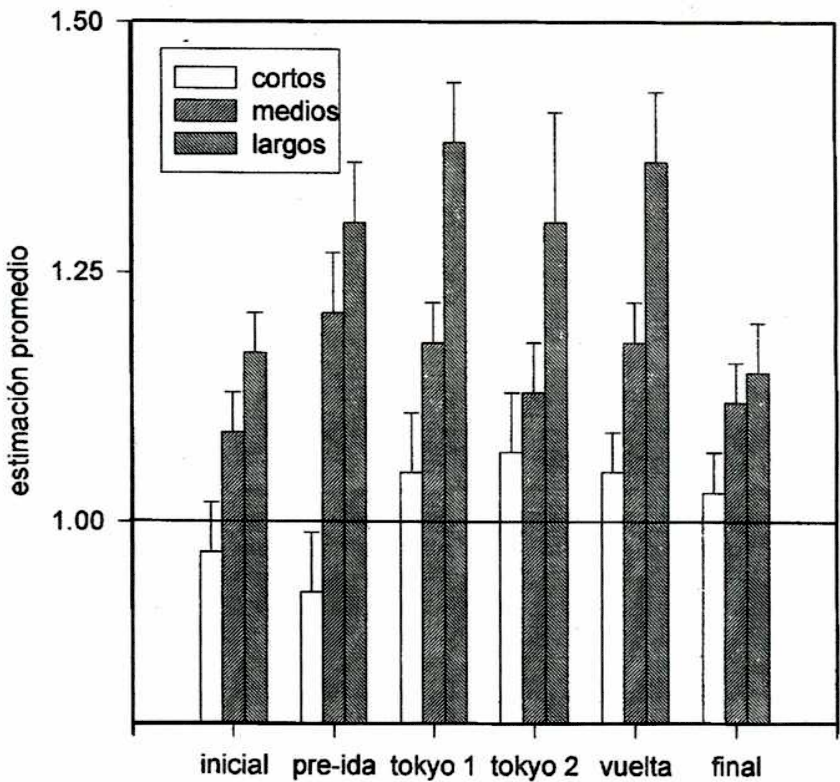


Figura 24. Estimación subjetiva del tiempo, menores de 50 años. La sobreestimación es mayor a tiempos largos.

La Tabla 12 resume los resultados de las pruebas de estimación del tiempo para los vuelos a Tokyo. Un ANOVA de doble vía (edad del piloto y día de la prueba) indica que la prueba varía significativamente entre los días de la experiencia, no habiendo diferencias significativas entre ambos grupos etarios, ni interacción entre ambos factores. Las mayores diferencias se encuentran entre la prueba inicial y la del primer o segundo día en la escala.

Tabla 12. Estimación subjetiva del tiempo, vuelos a Tokio.

	inicial	prevuelo	Tokyo 1	Tokyo 2	regreso	final
<50 años	1.06±0.03	1.01±0.02	1.18±0.04	1.15±0.05	1.14±0.03	1.12±0.02
>50 años	1.05±0.04	1.05±0.05	1.23±0.04	1.20±0.05	1.11±0.03	1.10±0.02

ANOVA:  $F_{1,99}$  (edad) = 0.04,  $p < 0.82$   
 $F_{5,99}$  (día) = 2.09,  $p < 0.07$   
Interacción:  $F = 0.66$ ,  $p < 0.65$   
Día 1 vs. Día 3:  $p < 0.03$

## 5. DISCUSION

### 5.1 Cronofisiología

Varios investigadores circadianos han propuesto modelos matemáticos y simulaciones por computadora basadas en características de los ritmos, con buen suceso en la predicción de las respuestas circadianas. Estos modelos sugieren que las leyes físicas de la teoría de osciladores son aplicables a los ritmos biológicos. En palabras de Rutger Wever: "La concordancia entre las predicciones del modelo y las propiedades derivadas empíricamente de los ritmos circadianos indica que las leyes de la teoría de osciladores gobiernan la aparentemente muy compleja ritmicidad en el comportamiento de los organismos, incluyendo a los seres humanos. Es atractivo concluir de estos resultados que los mecanismos básicos para la generación y el control de los ritmos circadianos son también simples, y la dinámica evaluada de los sistemas biológicos debería facilitar el descubrimiento de estos mecanismos" (151).

Los cambios de horario impuestos por vuelos transmeridianos ofrecen la posibilidad de estudiar la dinámica y la organización del sistema circadiano, a partir de su salida, los ritmos biológicos. En la sección introductoria se ha propuesto un modelo formal que describe al sistema circadiano humano como un multi-oscilador de arreglo jerárquico, en el cual un oscilador (los NSQ) es sincronizado por claves de tiempo ambientales (el ciclo luz/oscuridad). Este oscilador primario actúa como marcapasos, analogando dicho estímulo sincronizador en mediadores neurales y endócrinos, que sincronizan otros osciladores fisiológicos mediante mecanismos de control de fase.

Los ritmos biológicos estudiados en el presente trabajo de tesis responderían a estos osciladores secundarios (los cuales excepto el que representa la glándula pineal, son de difícil y hasta ahora improbable localización), aunque debe tenerse en cuenta que el modelo planteado no considera otras influencias exógenas que puedan afectar al oscilador en forma directa ("enmascaramiento" del ritmo). De hecho, el ritmo de concentración urinaria de melatonina es una función combinada del ritmo de secreción de la pineal, el ritmo de volemia, el ritmo de degradación hepática y finalmente, el ritmo de excreción renal. Sin embargo, nuestro análisis se centró en parámetros característicos de los ritmos y

no en las complejidades de la forma de onda, las cuales de todos modos no podían detectarse en el caso de las hormonas debido a la baja frecuencia de muestreo.

En la sección de materiales y métodos se explicaron las dificultades metodológicas que existieron durante el experimento. No obstante las variaciones de temperatura cutánea representaron en general un buen estimador del ritmo de temperatura central, el cual responde a un oscilador circadiano, en virtud de la respuesta de fase observada después de los cambios de horario, hecho que será luego detallado. Lo mismo ocurre con las variables hormonales medidas en orina, que manifestaron ritmos conspicuos a pesar de la baja frecuencia de muestreo utilizada, ocurriendo sus acrofases con un retardo consecuente de 4 horas respecto al valor máximo de la concentración hormonal en plasma. Por otro lado, la frecuencia cardíaca no pudo obtenerse como una variable cronobiológica clara en los individuos aunque algunos parámetros poblacionales fueron consistentes con las hipótesis planteadas. Los experimentos con modelos animales y las observaciones en laboratorio de seres humanos permiten buenas aproximaciones teóricas, pero los estudios de campo proporcionan el monitoreo del patrón de comportamiento real (fisiológico y cognitivo) de los individuos.

Las diferencias interindividuales en la expresión de los ritmos y en la plasticidad de la organización temporal humana deben considerarse para relativizar el valor teórico de las conclusiones obtenidas en el presente trabajo. Como fue mencionado en la sección introductoria, el perfil cronobiológico de un individuo tiene un origen multifactorial, con bases genéticas y socioecológicas (22, 82). Sumado a esto debe considerarse la heterogeneidad de la población en estudio debida a la historia previa de sincronización, influida en forma variable de acuerdo a la dirección y la magnitud de los cambios de horario impuestos por vuelos transmeridianos realizados previamente por los pilotos, y por la cantidad de días de descanso otorgada a cada uno en particular. Sin embargo los parámetros poblacionales obtenidos permitieron contrastar las hipótesis biológicas planteadas *a priori* de acuerdo a los criterios estadísticos usuales, permitiendo obtener inferencias teóricas consistentes que deben aceptarse con cierto cuidado debido a que se basan en superponer en humanos algunos principios básicos deducidos de modelos animales, que conducen a una visión simplificada del fenómeno. El análisis de diferencias interindividuales con respecto a la sincronización de los ritmos y a la variabilidad de reacción ante manipulaciones ambientales de la estructura temporal, presenta

implicancias prácticas importantes a la hora de diseñar estrategias laborales y de rehabilitación de un individuo afectado en particular (22, 82, 101).

A pesar de hallarse vinculada a un oscilador biológico, la actividad locomotora se ve influida además por el estado motivacional de los individuos y la condición novedosa del ambiente. En todos los casos de edad y dirección del vuelo el ritmo de actividad/reposo mostró una notable plasticidad de fase, sincronizándose rápidamente con el nuevo *zeitgeber* luz/oscuridad mediante un salto de fase de igual magnitud y sentido, en paralelo con una gran disminución de la amplitud. Teóricamente cuanto más rápido sea el cambio de fase, mayor será el decremento en la amplitud del ritmo (11, 148). Una variable rítmica que responda estrictamente a procesos fisiológicos ajustará su fase de oscilación gradualmente por transitorios, frente a un estímulo sincronizador dado. Obviamente esto no ocurre con la actividad locomotora, debido a estar fuertemente enmascarada por un *zeitgeber* social: los individuos se hallan activos o no dependiendo de los nuevos compromisos asumidos en el lugar de destino.

Puede proponerse sin embargo que existen procesos activos subyacentes de sincronización que estén afectando al oscilador de actividad/reposo, aunque no son evidentes debido al enmascaramiento del ritmo. De este modo, la disminución de amplitud (observada principalmente en los vuelos a Tokio), se halla relacionada principalmente a una disrupción del ritmo y no a un proceso de sincronización, acaecida por la dificultad de los pilotos para conciliar el sueño y mantenerse despiertos en horarios conflictivos. El ciclo de sueño/vigilia, que no debe confundirse con el de actividad/reposo medido en nuestra investigación, mantiene una estructura temporal determinada por procesos dependientes de un reloj (155), del mismo modo que otras variables fisiológicas relacionadas con la entrada y la salida de la fase de sueño (melatonina, cortisol, temperatura). De este modo los individuos adoptan horarios inadecuados para dormir o estar activos respecto a la estructura temporal del organismo, constituyéndose una "paradoja fisiológica".

Es de esperar que la actividad física de los pilotos pudiera afectar un registro periférico de temperatura como el utilizado, de manera que los ritmos de temperatura cutánea y de actividad locomotora se hallen acoplados. Observando los mapas de acrofases se ve claramente que esto no ocurre, y que la sincronización de ambos ritmos funciona de manera independiente. El ritmo

circadiano de temperatura central es considerado un indicador robusto de la actividad del reloj (13, 149, 153); en personas de actividad diurna la temperatura central se incrementa durante el día hasta alcanzar valores máximos cerca de la tarde, y decrece durante la noche hasta el mínimo entre las 3:00 y las 5:00 (32'). El ritmo de temperatura cutánea resultó en general un buen estimador del ritmo de temperatura central, aunque teóricamente en condiciones experimentales de aislamiento responderían a osciladores distintos: un oscilador  $x$ , que maneja el ritmo de temperatura central, y un oscilador  $y$ , que origina los de temperatura cutánea y de actividad/reposo (20, 50). De esta manera, el ritmo de temperatura cutánea se halló vinculado a un oscilador "fuerte", que se manifiesta refractario para modificar su fase de oscilación ante los cambios de horario.

A pesar de las dificultades metodológicas para su determinación, se pudieron realizar algunas inferencias de los resultados obtenidos para la variación de frecuencia cardíaca. En términos estrictamente cronobiológicos, esta variable se halla más propensa a respuestas de índole reactiva, debido a su crítica función de ajuste inmediato ante situaciones de estrés. De este modo, más que estar vinculada a mecanismos de sincronización dependientes de un oscilador, el ritmo de frecuencia cardíaca presenta un fuerte componente exógeno determinado por la actividad locomotora. Entonces, de existir un oscilador de frecuencia cardíaca, se hallaría estrechamente relacionado al oscilador que maneja el ritmo de actividad/reposo, o como se ha propuesto anteriormente ambos ritmos son producidos por el mismo oscilador  $y$ , caracterizado como "débil" debido a la mayor plasticidad de fase de los ritmos que genera. Puede agregarse al observar lo que ocurre en los pilotos que vuelan al Este, que la componente predictiva del ritmo de frecuencia cardíaca (que responde a entradas circadianas) no se pierde totalmente, debido a que el ritmo no se sincroniza con el horario de Tokio, y tiende a mantener el de Madrid; esto será luego detallado al estudiar la sincronización de los ritmos de acuerdo a la dirección del cambio de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad.

Los ritmos circadianos de cortisol plasmático se hallan bien documentados (146), y ha sido postulada la presencia de un oscilador circadiano endógeno en la corteza adrenal (70), sitio de síntesis y liberación de la hormona, postulándose además la presencia de elementos pasivos que responden a entradas no circadianas como el estrés. Los resultados obtenidos de la determinación urinaria de cortisol se adecuan bastante bien a esta descripción, teniendo en cuenta que no se hallaron modificaciones significativas de la acrofase y la amplitud del ritmo que permitan inferir un proceso

activo de sincronización estimulado por el nuevo ciclo luz/oscuridad. Por otro lado, el valor medio del ritmo aumentó significativamente a lo largo de todo el itinerario en forma independiente de la dirección del vuelo transmeridiano, lo que indica una respuesta reactiva dependiente del estrés ocasionado por los vuelos y por el proceso de adaptación al nuevo ambiente. Paralelamente, los niveles de ansiedad de los pilotos tendieron a aumentar (mostrando picos al final de cada vuelo en cualquier dirección) durante el periplo (datos no mostrados), y esto podría correlacionarse con lo hallado para el cortisol.

Como se ha descrito en la introducción, la secreción de melatonina por la glándula pineal responde ajustadamente a estímulos fóticos como la longitud del fotoperíodo (26). El dogma central de la fisiología de los ritmos circadianos en mamíferos, propone a la pineal como un oscilador secundario sujeto al control de un marcapasos alojado en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo, el cual es sincronizado por el ciclo luz/oscuridad (26, 65). Además, la melatonina pineal puede regular por retroalimentación negativa la actividad de los núcleos en la mayoría de las especies estudiadas, e incluso en humanos (124, 124'). Como el de temperatura, el ritmo de melatonina es un indicador directo de la actividad de un reloj en sincronización.

Se ha demostrado también en humanos que la luz inhibe la síntesis de melatonina (46, 88), y que luz de suficiente intensidad (2000-2500 lux) suprime completamente el pico nocturno de la hormona (88). Tal vez esto sea lo que ocurre en los pilotos menores de 50 años en vuelos a Tokio, ya que el vuelo en dirección Este produce un atraso de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad, por lo que el día en Tokio se superpone con la noche subjetiva de los pilotos y con la fase de secreción de la hormona, reduciéndose entonces la amplitud del ritmo. No se evidencia sin embargo un cambio de fase asociado que pudiera sugerir un proceso activo de sincronización al horario de Tokio. Por el contrario se observa en los vuelos al Oeste en los mayores de 50 años, hecho consistente con la hipótesis de los efectos asimétricos sobre los ritmos debidos a la dirección del vuelo, que serán luego detallados.

Debido a que el ritmo de melatonina muestra la misma relación de fase con el ciclo luz/oscuridad tanto en especies diurnas como nocturnas, la melatonina no es considerada un inductor universal del sueño; sin embargo, el ritmo de la hormona puede ser considerado un sincronizador endógeno del

ciclo de sueño/vigilia (8, 65) Se halló en seres humanos que la melatonina es capaz de inducir avances de fase del ritmo endógeno de la hormona así como del ritmo de sueño/vigilia y de temperatura corporal, sugiriéndose así sus propiedades sincronizadoras sobre dichos ritmos (4, 5, 6, 7, 8, 32', 54, 159). En condiciones de sincronización normal, la caída de temperatura coincide con el ascenso de la concentración plasmática de la melatonina, el pico de secreción se corresponde con el nadir del ritmo de temperatura central y el ascenso de la temperatura es coincidente con el descenso de la concentración de la hormona (32'), por lo que existe una estricta dependencia fisiológica entre ambas variables ya que se conocen además mecanismos de acción de la melatonina sobre la temperatura corporal (124, 139').

En general se halló que los ritmos de temperatura y de melatonina parecen sincronizarse a la misma velocidad, mostrándose refractarios ante los cambios de fase. Por otro lado, existen evidencias experimentales en humanos de que la respuesta de fase de ambos ritmos a la luz es la misma (99, 131'). La desincronización entre ambos ritmos pudo observarse sin embargo durante la situación basal, en algunos registros individuales, debido tal vez a un descanso insuficiente de los pilotos afectados por otros vuelos transmeridianos previos al estudio, y a otros factores no controlados. Durante las escalas de Tokio y de México, los mecanismos que perturban el patrón normal de sueño parecen estar vinculados a una desincronización exógena del ritmo de actividad/reposo.

En el apartado "Temperatura, fatiga y sueño" de la introducción, ya fue mencionada la relación de el ritmo de temperatura con el de sueño/vigilia (y con el de alerta/fatiga). La dificultad de los pilotos para conciliar el sueño o mantenerse despiertos podría relacionarse con la pérdida de la relación de fases entre ambos ritmos durante el proceso transiente de resincronización, aunque esto no es evidente en el presente trabajo. Además, existe una desincronización del ritmo de sueño/vigilia con el de actividad/reposo asumido en la nueva localidad, que evidentemente es lo que ocurre durante los primeros dos días luego de un cambio de horario: el día de llegada, los individuos que vuelan al Este tienen dificultades para dormirse, ya que su día subjetivo ocurre en la nueva y adelantada "noche", mientras que los que vuelan al Oeste deben mantenerse despiertos durante un día más largo que de costumbre. En ambos casos, durante los primeros dos días luego del cambio de horario la sincronización de los ritmos aún es incipiente.

## 5.2 Edad y sincronización

Tanto en experimentos de campo, como de simulaciones controladas en laboratorio del *jet-lag*, se halló que la tasa de sincronización de ritmos de temperatura corporal luego de cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad se correlaciona negativamente con la amplitud del ritmo (21). Este parámetro resulta un indicador de la "fuerza del oscilador", o sea de la resistencia del ritmo en cuestión contra manipulaciones exógenas (86, 121). La capacidad del sistema circadiano para mantener un orden ajustado entre las relaciones de fase de los ritmos disminuye con la edad (debido a un acoplamiento deficiente), lo cual conduce a una menor tolerancia de los individuos mayores a los cambios de horario (63, 73, 100, 139).

Por ejemplo, los ritmos de frecuencia cardíaca y de actividad locomotora en los pilotos menores de 50 años que vuelan a México se ajustan con la misma tasa manteniendo una relación de fase estable debido a un acoplamiento fuerte de los ritmos, no ocurriendo así en los mayores de 50 años, en los cuales la fase del ritmo de frecuencia cardíaca no se atrasa en correlación con la actividad locomotora y tiende a conservar el horario de Madrid. La posición anormal de la acrofase del ritmo de temperatura observada en los mayores de 50 años antes del vuelo de ida a Tokio, podría atribuirse a un oscilador "débil" de temperatura, tal vez evidenciando una mayor tendencia a la desincronización interna en este grupo de edad.

## 5.3 Sincronización y dirección del vuelo

El efecto asimétrico en la resincronización de los ritmos biológicos debido a la dirección del vuelo transmeridiano fue observado en numerosos trabajos, y consiste en un ajuste más rápido en los vuelos al Oeste (26, 11). Sin embargo, algunos investigadores encontraron lo opuesto e incluso en experimentos de aislamiento la tasa de adelanto de los ritmos (luego de un  $+\Delta\phi_z$  = vuelo al Este) fue mayor que la tasa de atraso (luego de un  $-\Delta\phi_z$  = vuelo al Oeste) (27). No existe una explicación clara sobre el origen de este fenómeno, aunque usualmente se propone que el ajuste de los ritmos ante un atraso de fase del ciclo luz/oscuridad se ve facilitado debido a la tendencia natural del reloj para atrasarse (recordar que el período de libre curso del ritmo de actividad locomotora es de 25 horas) en ausencia de un ciclo sincronizador (10, 11).

Para confirmar esta hipótesis debemos recurrir a los resultados obtenidos en los ritmos de temperatura y de melatonina, debido a que éstos son buenos indicadores del marcapasos endógeno. Cabe aclarar que para estudiar las distintas tasas de ajuste de los ritmos es conveniente medirlos lo más precisamente posible (utilizar, p. ej., sondas rectales para la temperatura corporal), y mediante técnicas de rutinas constantes (ambientes tranquilos de temperatura y humedad constante, comidas idénticas y equiespaciadas, etc.) que permitan remover efectos exógenos, y utilizar una mayor frecuencia de muestreo (46, 94). Los mapas de acrofases de temperatura no exhiben resultados consistentes con los posibles efectos asimétricos originados por los vuelos en distintas direcciones; de hecho se observa en los menores de 50 años, que en los vuelos a Tokio muestran una mayor tasa de sincronización comparados con los que vuelan a México. El ritmo de melatonina muestra un atraso significativo de fase en los pilotos mayores que vuelan a México, sugiriendo tal vez la más rápida sincronización luego de los vuelos al Oeste.

#### **5.4 Estimación subjetiva del tiempo**

Una de las variables psicométricas que fueron evaluadas en el presente proyecto es la de estimación subjetiva del tiempo. El “tiempo interno” corresponde a un reloj, posiblemente ubicado en el cerebro, cuyo funcionamiento se desconoce por el momento. La estimación subjetiva del tiempo es una variable de interés en diversas condiciones psiquiátricas y neurológicas (como por ejemplo, síndromes cerebelosos o enfermedad de Parkinson) y también se ha propuesto que puede modificarse de acuerdo al perfil de estrés y de fatiga de las personas.

En la situación del “jet-lag” en particular, el tipo de desorientación producida es fundamentalmente de índole temporal, y es común la situación de que el viajero, además de poseer sus ritmos desincronizados entre sí y/o con el ambiente, experimente una sensación de “destemporalización”.

Independientemente de la edad, hemos encontrado que luego de viajes de larga duración se produce una sobreestimación subjetiva de estímulos temporales presentados en serie. En ambos casos, los errores de la estimación provienen de fallas en la reproducción de tiempos de más de 5-10 segundos, en comparación con los tiempos más breves que fueron estimados correctamente. Este efecto fue

máximo al primer o segundo día de la llegada a la escala, tanto sea México o Tokyo, y fue disminuyendo paulatinamente a continuación.

Podría suponerse la hipótesis de que los cambios en la duración del día estarían relacionados con cambios en la estimación de tiempos de duración relativamente breve (esto es, menos de 20 segundos). Una interpretación posible es que el alargamiento del día tenga como consecuencia subjetiva un alargamiento concomitante en la percepción del pasaje del tiempo. Sin embargo dado que observamos el mismo tipo de efecto en vuelos hacia el este o hacia el oeste, descartaríamos esta hipótesis, sugiriendo por el contrario que las fallas en la estimación temporal se deberían a mecanismos relacionados con la fatiga o el estrés de los vuelos de larga duración.

Se realizaron evaluaciones subjetivas de los niveles de ansiedad y cansancio de los pilotos, mediante el Inventario de Ansiedad Rasgo-Estado de Spielberger (STAI) (135). Este cuestionario consta de 40 preguntas, que se agrupan en dos secciones: una del rasgo de ansiedad en la persona y otra del estado de ansiedad en el momento de la prueba. Cada pregunta es valorada como 0 = nada, 1 = algo, 2 = bastante y 3 = mucho.

Para el estudio de las variables ‘ansiedad’ y ‘cansancio’ se han utilizado dos pruebas no paramétricas de comparación de rangos, a saber:

- La prueba U de Mann-Whitney (muestras no relacionadas) en el caso de la comparación de las diferencias entre los 2 grupos de edad considerados ( $> 50$  años y  $< 50$  años) en cada uno de los momentos transversales de estudio, en total 6.
- La prueba de Wilcoxon (muestras relacionadas) se ha utilizado en el caso de la comparación de los cambios de puntuación de la “variable psicológica” en los distintos registros. Esta prueba considera, tanto el propio cambio existente de la variable, como la intensidad del mismo.

Los resultados obtenidos no se presentaron en este trabajo, debido a que tanto la evaluación como el análisis de ansiedad y cansancio, así como de otras variables psicométricas de rendimiento y atención fueron realizadas por el grupo colaborador español del Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid. Los resultados hallados en la evaluación del cansancio de los pilotos

podrían correlacionarse a los de estimación del tiempo, y parecen apoyar lo inferido para esta variable.

### 5.5 Tolerancia - adaptación

El estado transiente de resincronización se halla caracterizado por un desorden temporal de las funciones del organismo, debido a que los diferentes ritmos se ajustan a diferentes velocidades. Este estado de desincronización interna se asocia frecuentemente a indisposiciones y al malestar general sufrido por los viajeros así como con decrementos en el desempeño psicofísico (19, 40, 109, 119, 130, 158). Se ha propuesto que la tolerancia a los cambios de horario ya sean impuestos por turnos rotativos de trabajo o por el *jet-lag*, se halla relacionada con una menor tendencia de los individuos a la desincronización interna, debido a que dichos sujetos tolerantes exhiben ritmos de mayor amplitud ya sea como una característica genética o por el resultado de un estilo de vida ordenado (22, 86, 122).

Como fue expresado anteriormente, la edad es un factor a tener en cuenta para analizar la organización temporal de los ritmos luego de alteraciones exógenas de los procesos de sincronización. Se propone entonces que los individuos más viejos son más susceptibles a los malestares ocasionados por el *jet-lag*, en virtud de los ritmos menos robustos que generan. En función del perfil circadiano de un determinado sujeto, considerando también el cronotipo, se pueden establecer predicciones sobre su potencial tolerancia a los cambios de horario. De acuerdo a esto, se eligen estrategias terapéuticas adecuadas para aliviar los síntomas experimentados por el viajero, y mejorar la calidad de vida de los trabajadores en turnos, aunque esto será detallado en el apartado siguiente.

Se considera adaptación a un conjunto de respuestas fisiológicas activas desplegadas ante un cambio de las condiciones ambientales, y que se manifiestan a largo plazo. En el contexto de este trabajo y como se ha descripto, la sincronización activa de los ritmos se manifestó como un proceso incipiente, que requiere de una mayor cantidad de días de exposición al nuevo *zeitgeber* luz/oscuridad. Es decir, que los individuos no logran adaptarse a corto plazo a las nuevas condiciones, debido a la inercia del sistema circadiano. Se estima usualmente el requerimiento de un día por huso horario atravesado

(independientemente de la dirección, los ritmos se sincronizan a una velocidad de 1 hora por día) (19, 26) para una resincronización completa de los ritmos con el nuevo horario. Algunas estrategias terapéuticas consisten en acelerar este proceso, mediante el uso de agentes sincronizadores como la luz y la melatonina.

## 5.6 Terapéutica

### 5.6.1 Utilización de luz brillante

El ciclo luz/oscuridad es el *zeitgeber* más efectivo de los ritmos circadianos. Existe una vasta evidencia experimental derivada de modelos animales, de que los efectos sincronizadores de la luz pueden ser predecidos mediante el uso de curvas de respuesta de fase (CRFs) (52, 55) (ver el apartado "Sincronización no paramétrica" de la introducción). Utilizando luz brillante de 2500-3000 lux en condiciones de laboratorio se han obtenido CRFs fóticas para los ritmos de sueño/vigilia (77, 97) y de temperatura en humanos (88, 152, 154). Las CRFs a la luz demuestran que es posible adelantar o atrasar el sistema circadiano mediante pulsos de luz, dependiendo de la posición circadiana en la que se aplique. El ritmo de temperatura se utiliza como referencia circadiana, y del uso de CRFs, se estima que pulsos de luz proporcionados entre las 20:00 hora circadiana (HC) y las 3:00 HC (posición del mínimo de temperatura), producen atrasos de fase de los ritmos, mientras que los adelantos de fase ocurren durante el ascenso del ritmo de temperatura, entre las 3:00 y las 8:00 HC, siendo los efectos más pronunciados alrededor del mínimo (77, 99).

A pesar de que no existen suficientes evidencias derivadas de estudios de campo, algunos resultados preliminares sugieren que el uso de luminoterapia resulta efectivo para acelerar el proceso de resincronización al nuevo horario (39, 45, 76, 131, 154), mejorando la calidad del sueño y promoviendo una más rápida adaptación al nuevo ambiente con el consecuente bienestar de los viajeros. Cabe aclarar que en simulaciones controladas en laboratorio el rango de sincronización usando luz brillante hallado fue de  $\pm 4$  horas), mientras que superponiendo otros *zeitgebers* (socialización, dietas, ejercicio físico) los límites pueden extenderse hasta  $\pm 6$  horas (153).

### 5.6.2 Utilización de melatonina

Existen numerosas evidencias experimentales indicando que la melatonina ejerce efectos antagónicos a los producidos por la luz. De hecho, la capacidad de la luz para inducir cambios de fase se correlaciona con los efectos inhibitorios que ejerce sobre la síntesis de melatonina (88, 92). Los cambios de fase inducidos por la luz, pueden reducirse e incluso bloquearse si se administra melatonina junto con el pulso de luz (32, 33). La curva de respuesta de fase de los ritmos circadianos humanos a la hormona es opuesta a la de la luz: la administración de melatonina reduce la actividad eléctrica de las neuronas de los núcleos supraquiasmáticos de manera dosis dependiente (37, 80), y la sensibilidad de los núcleos exhibe un ritmo circadiano dependiente de la presencia de la hormona con un pico durante la transición día/noche, de modo que la administración de melatonina en dosis farmacológicas entre las 18:00 y las 22:00 HC induce avances de fase de los ritmos y luego del mínimo de temperatura central, durante la segunda mitad de la noche subjetiva, induce retrasos de fase (87, 159): la hormona actúa como un *cronobiótico*, produciendo modificaciones en las "agujas" del reloj.

Varios estudios tanto en simulaciones controladas como en campo, han arrojado resultados satisfactorios en cuanto al tratamiento del *jet-lag* mediante el uso de melatonina (4, 5, 6, 38, 53, 54, 113, 129), hallándose una adaptación más rápida observada en distintos indicadores comportamentales como la duración y calidad de sueño, el estado de ánimo, el desarrollo de tareas, disminución de la fatiga, y fisiológicos (ritmos de temperatura, cortisol). El uso de la CRF es crítico para determinar los efectos sincronizadores de la melatonina, así como para evitar proporcionarla en horarios incorrectos que puedan producir efectos deletéreos. No está claro aún si es conveniente comenzar el tratamiento antes del vuelo, aunque dado que la melatonina puede especificar la dirección de la resincronización (8, 129), se piensa que esto es deseable antes de que el sujeto se exponga al nuevo ciclo luz/oscuridad. Sin embargo, la estrategia más conveniente en general consiste en tomarla a la noche antes de dormir, independientemente de la CRF. En este caso la hormona actuaría como un *hipnótico*, produciendo un enmascaramiento sobre el ritmo de sueño/vigilia.

## 5.7 Estrategias de trabajo

Las alteraciones del sistema circadiano son causa de una menor productividad, mayor incidencia de alteraciones emocionales, y diversos trastornos neurovegetativos. Las estrategias de trabajo diseñadas por las compañías aéreas son de interés tanto para una mejora de la calidad de vida de los pilotos y de la tripulación, como para disminuir el riesgo de accidentes aéreos. Para ello, es crítico que los pilotos se hallen descansados, ya que las funciones de pilotaje de un avión de pasajeros requieren un alto grado de alerta y de concentración. Las compañías aéreas pueden optar por distintas estrategias para promover el adecuado desempeño de sus pilotos: 1) dependiendo del número de husos horarios atravesados, los individuos permanecen en la escala los días necesarios para resincronizarse totalmente, utilizando luminoterapia y melatonina 2) asignar los vuelos de larga duración a los pilotos más tolerantes, seleccionados de acuerdo a una evaluación cronobiológica previa, y evitar que se adapten al horario de destino mediante un relativo "aislamiento", que consiste en mantener los hábitos de la localidad de partida (horarios de comidas, exposición a la luz), ejercido durante una breve escala.

La estrategia usada en general, consiste en una situación de compromiso entre ambas. De optar por la 1), los pilotos se hallarían expuestos sistemáticamente a procesos de resincronización, lo cual provocaría una agresión constante al sistema circadiano y a las funciones que regula, disminuyendo la calidad y expectativa de vida de los individuos. Si se eligiera la 2), los pilotos no tendrían el descanso necesario para poder realizar el vuelo de regreso en buenas condiciones. Lo que se hace entonces es asignar una escala intermedia, de dos o tres días, y promover el sueño mediante el uso de melatonina e hipnóticos (57, 110, 111), complementando el tratamiento con "baños de luz" durante el vuelo.

## 5.8 Guía para el viajero

En esta sección presentaremos una serie de consejos útiles para el viajero transmeridiano. Cabe aclarar que éstos son válidos en los casos de vuelos que atraviesen 4 o más husos horarios en ambas direcciones, y que no se realicen escalas intermedias prolongadas. Existen básicamente dos estrategias para lidiar con el *jet-lag*:

1) en el caso que la persona tenga planeado quedarse más de dos días en el nuevo destino, la estrategia consiste en **ajustar lo antes posible** el reloj biológico, es decir, acortar el tiempo de adaptación al nuevo horario, durante el cual se presentan los problemas asociados al *jet-lag*. Para lograrlo, el viajero puede proceder de la siguiente manera:

- de ser posible, tomar un vuelo nocturno e intentar dormir durante el mismo. En este caso si el vuelo es hacia el oriente llegará durante la tarde y deberá adelantar sus relojes pulsera y biológico. Si viaja hacia el poniente, en su destino será de madrugada y atrasará su reloj.
- es conveniente no recluirse en el hotel y realizar actividades (en lo posible recreativas) durante los primeros días, permitiendo la interacción con los *zeitgebers* sociales de la nueva localidad. Si se viaja por trabajo, deberá arribar al destino con dos o tres días de anticipación a los compromisos laborales para obtener un buen descanso y afrontarlos con la mayor lucidez posible, mientras que si se trata de un viaje de placer, las expectativas generadas por conocer el novedoso lugar favorecerán el proceso de adaptación.
- si el viaje es hacia el Este, deberá intentar dormir y despertarse un par de horas más temprano que lo habitual, lo contrario si es hacia el Oeste. Pueden tomarse siestas cortas de no más de tres horas en los momentos de mayor cansancio durante el día (noche subjetiva del viajero), ya que un mayor tiempo de sueño forzaría al reloj a conservar la hora del lugar de residencia.
- es conveniente modificar los horarios de comidas gradualmente, ya que es de esperar que los ritmos fisiológicos involucrados en los procesos de digestión, asimilación, almacenamiento y distribución se resincronizen con el nuevo *zeitgeber* mediante transitorios y no por saltos de fase. Para ello se tomarán las comidas una ó dos horas más tarde (vuelo hacia el Oeste) o más temprano (vuelo hacia el Este) por día de acuerdo al horario del lugar de residencia. Se recomienda ingerir alimentos ricos en hidratos de carbono y con bajo contenido en grasas y proteínas para una fácil digestión y asimilación.
- utilizando una tabla con las rutinas del lugar de residencia, puede estimar "su amanecer" y "su atardecer" para manipular su reloj biológico mediante luz brillante y melatonina: con la hora del lugar de residencia, puede exponerse a luz brillante y/o utilizar melatonina para promover el adelanto (viaje al Este) o el atraso (viaje al Oeste) de fase de su reloj biológico. El tratamiento recomendado en general es el siguiente:

- como una variante de lo anterior, e incluso tal vez más efectivo: realizar ejercicios o caminatas a la luz natural del día durante los primeros dos o tres días, en horarios adecuados para promover el ajuste del reloj biológico y conciliar el sueño en el nuevo horario, así como evitar exponerse a la luz en momentos del día que produzcan efectos opuestos a los deseados. La Tabla 1 proporciona los horarios recomendados de actividad y de reposo durante los primeros tres días en la nueva localidad (143).

**Tabla 1** Horarios recomendados de actividad y exposición a la luz natural durante los primeros tres días en la nueva localidad, de acuerdo a la dirección y magnitud de cambio de horario.

	horario inconveniente para exponerse a la luz natural	horario conveniente para exponerse a la luz natural
<b>diferencia horaria hacia el Oeste</b>		
4 horas	0100-0700*	1700-2300†
8 horas	2100-0300*	1300-1900†
12 horas	1700-2300*	0900-1500†
<b>diferencia horaria hacia el Este</b>		
4 horas	0100-0700†	0900-1500*
8 horas	0500-1100†	1300-1900*
12 horas	como 12 horas hacia el Oeste	

\* tiende a avanzar el reloj biológico, † tiende a retrasar el reloj biológico.

2) si el tiempo de permanencia en el nuevo destino es de dos días o menor, lo más conveniente es **mantener los hábitos** del lugar de residencia, o sea conservar las rutinas de casa evitando adoptar el nuevo horario. Como esto significa vivir "a contramano", las actividades deberán ser programadas con anticipación al viaje mediante su contacto en el nuevo destino. Se recomienda:

- mantener la hora del lugar de residencia en el reloj pulsera, ya que éste será su tiempo.
- las horas para acostarse y despertarse serán las indicadas por su reloj, y por su ciclo habitual de actividad/reposo (sueño/vigilia); lo mismo deberá ocurrir con los horarios de comidas.
- deberá evitar exponerse al nuevo fotoperíodo, estrictamente durante "su amanecer y atardecer" donde ocurre la mayor sensibilidad del reloj biológico a la luz.

- puede facilitarse el sueño mediante el uso de hipnóticos y sedantes (ej. benzodiazepinas), pero no es recomendable usar cronobióticos como la melatonina para inducir el sueño, ya que además produce efectos sincronizadores sobre el reloj biológico.

## 5.9 Consideraciones finales

El presente trabajo de tesis consistió en la descripción del síndrome del *jet-lag* en cuanto a los procesos de sincronización de los ritmos biológicos y de posibles factores que los modifiquen, como la edad y la dirección del vuelo. Se intentó evidenciar el funcionamiento del sistema circadiano, es decir del marcapasos biológico y de las funciones rítmicas que comanda, mediante manipulaciones exógenas producidas por los vuelos transmeridianos. La desorganización temporal de ciertas funciones fisiológicas se halló asociada en general a un proceso transiente de resincronización, que ocurrió luego de los vuelos como consecuencia de un cambio de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad. La respuesta de los ritmos al estímulo sincronizador, depende de cuán acoplado se halle el oscilador que genera el ritmo a los mecanismos de control de fase ejercidos por la actividad del reloj biológico.

La índole principalmente descriptiva de este trabajo de campo no impide algunas conclusiones sobre los ritmos fisiológicos de los pilotos, que adquieren relevancia al ser obtenidas durante la situación real de trabajo de los mismos. Además, pueden complementarse con las surgidas de modelos experimentales de simulaciones controladas en laboratorio, y de este modo comprender en forma detallada el problema del *jet-lag* y las consecuencias psicofisiológicas que experimentan aquellos que sistemáticamente se exponen a los cambios de horario. Habiéndose dilucidado los mecanismos que operan los procesos de resincronización, es posible manipularlos para corregir la alteración circadiana en forma rápida y efectiva, minimizando los problemas que ocasiona. Se propone entonces en instancias futuras, poner a prueba estrategias de rehabilitación en base a luminoterapia y al uso de cronobióticos como la melatonina, que permitan una mejor adaptación de los pilotos al *jet-lag*.

El *jet-lag* pone de manifiesto algo interesante de nuestra naturaleza humana: la separación entre la evolución biológica y la tecnológica. Nos encontramos "viajando en el tiempo" con cuerpos que han alcanzado su éxtasis evolutivo hace 30 mil años, y que hasta el momento no parecen cambiar significativamente. El hombre se halla en una meseta evolutiva en términos biológicos, mientras que

la tecnología avanza a pasos agigantados en la búsqueda de mejoras en las condiciones de vida, de alternativas en la cura de enfermedades, de sistemas de comunicación más rápidos y eficientes. Hasta el momento, los ritmos biológicos aparecen como aspectos rígidos del comportamiento, no modificables por la experiencia. Es interesante proponer que la exposición sistemática a los cambios de fase del *zeitgeber* luz/oscuridad, constituya al *jet-lag* en un proceso de aprendizaje que introduce una mayor plasticidad en el sistema circadiano y por lo tanto de los ritmos fisiológicos y comportamentales que controla. Tal vez a esto le llamen efectivamente "viajar en el tiempo".

"El hombre es un animal de costumbres" expresa el dicho popular. Cortazar dice que "las costumbres, Andrée, no son más que una parte del ritmo, aquella que nos ayuda a vivir" (41). El tiempo es nuestra condición permanente: nos obliga a actuar en forma coherente en el momento indicado, a la vez que nos permite generar expectativas sobre lo que va a ocurrir, nos convierte en seres históricos llenos de recuerdos y experiencias pasadas. El tiempo no vivido se transforma en melancolía, el tiempo por vivir tal vez sea el miedo, o "la angustia frente a lo desconocido" según Marcelino Cereijido (28). En fin, somos seres temporales que aún no hemos desarrollado la capacidad de independizarnos de los segundos que pasan. Ilya Prigoyne sostiene que el tiempo es "tan sólo una ilusión", y que sólo puede ser percibida en los procesos que involucren disipación de energía (p.ej., lo que ocurriría si se observa un péndulo simple oscilar en forma amortiguada hasta que queda inmóvil en su posición de equilibrio). ¿Será cierto lo que dice Prigoyne y aunque parezca trivial, el tiempo percibido estaría en función de una conciencia sobre el paso de los años, es decir, sobre nuestro envejecimiento? Como dice Julio Cortázar, un adelantado en Cronobiología: "allá en el fondo del reloj está la muerte, pero no tenga miedo" (42). Cabe aclarar que esta no sería sólo una visión idealista producto de "mentes perceptivas", ya que el tiempo adquiere un *status* ontológico como una propiedad objetiva de la naturaleza e independiente de nuestra relación a través de leyes de causalidad con la misma. De este modo el tiempo "penetra" en la multiplicidad morfológica y funcional de la vida (los ritmos endógenos), generándose configuraciones de tiempo-entropía que evolucionan en forma particular (93), y hacen a su vez del tiempo una dimensión perceptual que les permite elaborar respuestas adaptativas adecuadas, para que finalmente, el tiempo continúe...




## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - Åkerstedt, T. Work hours, sleepiness and accidents. *Journal of Sleep Research*, 1995; 4(2): 1-3.
- 2 - Anshkin, P. Biology and neurophysiology of the conditioned reflex and its role in adaptive behavior. Oxford: Pergamon Press, 1974: 1-24.
- 3 - Apfelbaum, M., Reinberg, A., Nillus, P., Halberg, F. Rythmes circadiens de l'alternance veille-sommeil pendant l'isolement souterrain de sept jeunes femmes. *Presse méd.*, 1969; 77: 879-882.
- 4 - Arendt, J. Use of melatonin in circadian rhythms disturbances. *Biogenic amines*, 1993; 9, 5/6: 469-471.
- 5 - Arendt, J., Aldhous, M., Marks, M., Folkard, S., English, J., Marks, V., Arendt, J. Some effects of jet-lag and their treatment by melatonin. *Ergonomics*, 1987; 30: 1379-1393.
- 6 - Arendt, J., Aldhous, M., Markus, V. Alleviation of jet-lag by melatonin: Preliminary results of controlled double-blind trials. *British Medicine Journal*, 1986; 292: 1170.
- 7 - Armstrong, S.M. Entrainment of vertebrate circadian rhythms by melatonin. *Adv. Pineal Res.*, 1991; 5:259-266.
- 8 - Armstrong, S.M. Melatonin and circadian control in mammals. *Experientia*, 1989; 45: 932-939.
- 9 - Armstrong, S.M. Melatonin: The internal zeitgeber in mammals? En Reiter, RJ (ed.). *Pineal Research Review*, New York: Liss, 1989; 157-202.
- 10 - Aschoff, J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1960; 25: 11-28.
- 11 - Aschoff, J. (ed.). *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Vol. 4: Biological Rhythms. Plenum Press, 1981.
- 12 - Aschoff, J. Circadian rhythms: influences of internal and external factors on the period measured in constant conditions. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 1979; 49: 225-249.
- 13 - Aschoff, J. Circadian rhythms in man. *Science*, 1965a; 148: 1427-1432.
- 14 - Aschoff, J. Circadian rhythms: General features and endocrinological aspects. En Krieger, D. (ed.), *Endocrine Rhythms*. New York: Raven Press, 1979, pp. 1-61.
- 15 - Aschoff, J. Circadian rhythms: Interference with and dependence on work-rest schedules. En Johnson, L.C., Tepas, D.I., Colquhoun, W.P., Colligan, M.J. (eds.). *The 24 Hour Workday. A Symposium on Variations in Work-Sleep Schedules*. Washington, DC: National
- 16 - Aschoff, J. Freerunning and entrained circadian rhythms. En Aschoff J. (ed.). *Handbook of behavioral neurobiology*. Vol. 4: Biological rhythms. Plenum Press, 1981.
- 17 - Aschoff, J., Fatranska, M., Doerr, P., Stamm, D., Wisser, H. Human circadian rhythms in continuous darkness: entrainment by social cues. *Science*, 1971; 171: 213-215.
- 18 - Aschoff, J., Gerecke, U., Pohl, H., Rieger, P., Saint Paul, U. von, Wever, R. Interdependent parameters of circadian activity rhythms in birds and man. En Menaker (ed.), *Biochronometry*. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1971, 3-27.
- 19 - Aschoff, J., Hoffman, K., Pohl, H., Wever, R. Re-entrainment of circadian rhythms after phase-shifts of the zeitgeber. *Chronobiologia*, 1975; 2: 23-78.
- 20 - Aschoff, J., Wever, R. Human circadian rhythms: A multioscillatory system. *Federation Proceedings*, 1976; 35: 2326-2332.
- 21 - Aschoff, J., Wever, R. Über Reproduzierbarkeit circadianer Rhythmen beim Menschen. *Klinische Wochenschrift*, 1980.
- 22 - Ashkenazi, Y., Reinberg, A., Motohashi, Y. Interindividual differences in the flexibility of human temporal organization: pertinence to jet-lag and shiftwork. *Chronobiology International*, 1997; 14(2): 99-113.

- 23 - Kripke, D.S., Risch, S., Janowsky, D. Bright white light alleviates depression. *Psychiatry Research*, 1983; 10: 105-112.
- 24 - Samel, A., Wegmann, H.M., Vejvoda, M. Jet lag and sleepiness in aircrew. *Journal of Sleep Research*, 1995; 4(2): 30-36.
- 25 - Wehr, T., Sack, D., Rosenthal, N., Duncan, W., Gillin, J. Circadian rhythm disturbances in manic-depression illness. *Federation Proceedings*, 1983; 42: 2809-2814.
- 26 - Binkley, S. *The clockwork sparrow*. Prentice-Hall, 1990.
- 27 - Binkley, S., Moshier, K. Advancing schedules and constant light produce faster resynchronization of circadian rhythms. Abstract 67, Society for Research on Biological Rhythms, 1988.
- 28 - Blanck-Cereijido, F., Cereijido M. *La vida, el tiempo y la muerte*. Fondo de Cultura Económica, México, 1988.
- 29 - Block, G., Geusz, M., Sat Bir, K., Stephan, M. A clockwork Bulla: cellular study of a model circadian system. *Seminars in The Neurosciences*, 1995; 7: 37-42.
- 30 - Boyar, R.M., Rosenfeld, R.S., Kapen, S., Finkelstein, J.W., Roffwarg, H., Weitzman, E.D., Hellman, L. Human puberty: simultaneous augmented secretion of LH and testosterone during sleep. *Journal of Clinical Investigation*, 1974; 54: 609-618.
- 31 - Boyce, P., Parker, G. Seasonal affective disorder in the southern hemisphere. *American Journal of Psychiatry*, 1987; 22: 473-478.
- 32 - Cagnacci, A., Soldani, R., Yen, S.S. Bright light induced circadian phase-shift is antagonized by contemporaneous melatonin administration. En 77th Annual Meeting of the Endocrine Society, June 14-17, 1995, Wasington DC, pp 1-97.
- 32' - Cagnacci, A., Elliott, J.A., Yen, S.S. Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 75: 447-452.
- 33 - Cagnacci, A., Soldani, R., Yen, S.S. Contemporaneous melatonin administration modifies the circadian response to nocturnal bright light stimuli. *Am J Physiol*, 1997; 272 (in press).
- 34 - Cardinali, D.P. Melatonin. A mammalian pineal hormone. *Endocrinology Review*, 1981; 2: 327-346.
- 35 - Cardinali, D.P., Golombek, D.A., Escolar, E., Vozzi, M., Ortega, G., Bonanni Rey, R.A. El monitoreo cronobiológico como técnica diagnóstica en patología neurovegetativa. *La Prensa Médica Argentina*, 1992; 79: 182-192.
- 36 - Cassone, V.M. The pineal gland influences rat circadian activity rhythms in constant light. *Journal of Biological Rhythms*, 1986; 1: 219-229.
- 37 - Cassone, V.M., Roberts, M.H., Moore, R.Y. Effects of melatonin on 2-deoxy-(1-14C) glucose uptake within rat suprachiasmatic nuclei. *Am J Physiol*, 1988; 255: 332-337.
- 38 - Claustrat, B., Brun, J., David, M., Sassolas, G., Chazot, G. Melatonin and jet-lag: Confirmatory results using a simplified protocol. *Biological Psychiatry*, 1992; 32: 705-711.
- 39 - Cole, R.J., Kripke, D.F. Amelioration of jet lag by bright light treatment: effects on sleep consolidation. *Sleep Res*, 1989; 18: 411.
- 40 - Colquhoun, W.P. Effects of personality on body temperature and mental efficiency following transmeridian flights. *Aviat. Space Environ. Med.*, 1984; 55: 493-496.
- 41 - Cortázar, J. *Bestiario*. Buenos Aires: Ed. Sudamericana, 1951.
- 42 - Cortázar, J. *Historia de cronopios y de famas*. Buenos Aires: Ed. Sudamericana, 1964.
- 43 - Cortázar, J. *Los premios*. Buenos Aires: Ed. Sudamericana, 1960.
- 44 - Costa, G. The problem: shiftwork. *Chronobiology International*, 1997; 14(2): 89-98.
- 45 - Czeisler, C.A., Allan, J.S. Acute circadian phase reversal in a man via bright light exposure: application to jet lag. *Sleep Res*, 1987; 16: 605.

- 46 - Czeisler, C.A., Allan, J.S., Strogatz, S.H. Bright light resets the human circadian pacemaker independent of the timing of the sleep-wake cycle. *Science*, 1986; 233: 667-671.
- 47 - Czeisler, C.A., Kronauer, R.E., Allen, J.S., Duffy, J.F., Jewitt, M.E., Brown, E.N., Ronda, J.M. Bright light induction of strong (type 0) resetting of the human circadian pacemaker. *Science*, 1989; 244: 1328-1333.
- 48 - Czeisler, C.A., Richardson, C.R., Zimmerman, J.C., Moore-Ede, M.C., Weitzman, E.D. Light: and information source for circadian clocks. *Photochemistry Photobiology*, 1981; 34: 237-238.
- 49 - Czeisler, C.A., Weitzman, E.D., Moore-Ede, M.C., Fusco, R. Phase angle and euded waveform relationship among the circadian rhythms of plasma cortisol, body temperature and sleep under free-running conditions in man. *Vth. International Congress of Endocrinology*, 1976.
- 50 - Czeisler, C.A., Zimmerman, J.C., Ronda, J.M., Moore-Ede, M.C., Weitzmann, E.D. Timing of R.E.M. sleep is coupled to the circadian rhythm of body temperature in man. *Sleep*, 1980; 2(3): 329-346.
- 51 - D'Agata, R., Vigneri, R., Polosa, P. Chronobiological study on growth hormone secretion in man: its relation to sleep-wake cycles and to increasing age. En Schevin, L.E., Halberg, F., Pauly, J. (eds.). *Chronobiology*, Tokyo: Iguku Shoin, 1974.
- 52 - Daan, S., Pittendrigh, C.S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. II. The variability of phase response curves. *J Comp Physiol*, 1976; 106: 253-266.
- 53 - Deacon, S., Arendt, J. Adapting to phase shifts. II. Effects of melatonin and conflicting light treatment. *Physiol. Behav.*, 1995; 59: 675-682.
- 54 - Deacon, S., Arendt, J. Adapting to phase-shifts. I. An experimental model for jet lag and shift work. *Physiol Behav*, 1995; 59: 665-673.
- 55 - DeCoursey, P.J., Pittendrigh, C.S. An atlas of phase response curves for circadian pacemakers. Pacific Grove: Hopkins Marine Station Mimeograph, 1977.
- 56 - Dinges, D. An overview of sleepiness and accidents. *Journal of Sleep Research*, 1995; 4 (suppl 2): 4-14.
- 57 - Donaldson, E., Kennaway, D.J. Effects of temazepam on sleep, performance and rhythmic 6-sulphatoxymelatonin and cortisol excretion after transmeridian travel. *Aviat Space Environ Med*, 1991; 62: 654-660.
- 58 - Dunlap, J.C., Feldman, JF. On the role of protein synthesis in the circadian clock of *Neurospora crassa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 1988; 85: 1096-1100.
- 59 - Dunlop, C., Cortázar, J. Los autonautas de la cosmopista o un viaje atemporal París-Marsella. Buenos Aires: Muchnik, 1983.
- 60 - Eckert, R., Randall, D., Augustine, G. *Fisiología Animal. Mecanismos y adaptaciones*. Interameicana-Mc. Graw-Hill, 1990.
- 61 - Enright, J.T. The search for rhythmicity in biological time-series. *Journal of Theoretical Biology*, 1965; 8: 426-468.
- 62 - Fellenberg, A.J., Phillipou, G., Seamark, R.F. Urinary 6-sulphatoxymelatonin excretion and melatonin production rate: studies in sheep and man. En Matthews, C.D., Seamark, R.F. (eds.). *Pineal Function*. Amsterdam: Elsevier, 1981; 143-149.
- 63 - Gander, P.H., Nguyen, D., Rosekind, M., Connell, L. Age, circadian rhythms, and sleep in flight crews. *Aviation Space Enviromental Medicine*, 1993; 64: 89-95.
- 64 - Goetz, F., Bishop, J., Halberg, F., Sothorn, R., Brunning, R., Senske, B., Greenberg, B., Minors, D., Stoney, P., Smith, Y., Rosen, G., Cressey, D., Haus, E., Apfelbaum, M. Timing of single daily meal influences relations among human circadian rhythms.
- 65 - Goldman, B.D. Physiology of melatonin in mammals. *Pineal Research Review*, 1983; 1: 145-182.

- 66 - Golombek, D., Pévet, P., Cardinali, D. Melatonin effects on behavior: possible mediation by the central GABAergic system. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 1996; 20, 3: 403-412.
- 67 - Golombek, D.A., Cardinali, DP. Melatonin accelerates resynchronization after phase advances in the LD cycle: Antagonism by flumazenil. *Chronobiology International*, 1993a; 10: 435-441.
- 68 - Graeber, R.C. Jet lag and sleep disruption. En Kryger, M.H., Roth, T., Dement, W.C. (eds.). *Principles and practice of sleep medicine*. Philadelphia: WB Saunders, 1989: 324-331.
- 69 - Graeber, R.C., Gatty, R., Halberg, F., Levine, H. Human Eating Behavior: Preferences, Consumption Patterns and Biorhythms. Food Sciences Laboratory, Technical Report Natick TR-78/022, U.S. Army Natick Research and Development Command, Natick Command, Mass.
- 70 - Halberg, F. Physiologic 24- hour periodicity: General and procedure considerations with reference to the adrenal cycle. *Zeitschrift für vitamin, Hormon und Fermentforschung*, 1959; 10: 225-296.
- 71 - Halberg, F. Temporal coordination of physiologic function. *Cold Spring Harbor Symposium*, 1960; 25: 289-310.
- 72 - Halberg, F., Caradente, F. Cornelissen, G., Katinas GS. Glossary of chronobiology. *Cronobiología* 1977; 4 (Supp. 1): 189 pp.
- 73 - Halberg, F., Nelson, W. Chronobiologic optimization of aging. En Samis, J.R., Capobianco, S. (eds.). *Aging and Biological Rhythms*, New York and London: Plenum Press, 1978.
- 74 - Hardin, P., Siiwicki, K. The multiple roles of *per* in the *Drosophila* circadian clock. *Seminars in The Neurosciences*, 1995; 7: 15-25.
- 75 - Hiroshige, T., Honma, K., Honma, S. SCN-independent circadian oscillators in the rat. *Brain Research Bulletin*, 1991; 27: 441-445.
- 76 - Honma, K., Honma, S., Wada, T. Entrainment of human circadian rhythms by artificial bright light cycles. *Experientia*, 1987; 43: 572-574.
- 77 - Honma, K., Honma, S.A. A human phase-response curve for bright light pulses. *J Psychiatr Neurol*, 1988; 42: 167-168.
- 78 - Horne, J.A., Östberg, O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology*, 1976; 4: 97-110.
- 79 - Isaacs, G., Stainer, D., Sensky, T., Moor, S., Thompson, C. Phototherapy and its mechanism of action in seasonal affective disorder. *Journal of Affective Disorders*, 1988; 14: 13-19.
- 80 - Jiang, Z-G., Nelson, C.S., Allen, C.N. Melatonin activates an outward current and inhibits  $I_h$  in rat suprachiasmatic nuclei neurons. *Brain Res*, 1995; 687: 125-132.
- 81 - Karsch, F.J., Bittman, E.L., Foster, D.L., Goodman, R.L., Legan, S.J., Robinson, J.E. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Rec. Prog. Horm. Res.*, 1984; 40: 185-222.
- 82 - Kerkhof, G., Lancel, M. EEG slow wave activity, REM sleep and rectal temperature during night and day sleep in morning-type and evening-type subjects. *Psychophysiology*, 1991; 28: 678-688.
- 83 - Klein, D., Moore, RY. Reppert, S.M. Suprachiasmatic nucleus. *The mind's clock*. Oxford Univ. Press., New York, 1991, 496 pp.
- 84 - Konopka, R.J., Benzer, S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 1971; 68: 2112-2116.
- 85 - Kronauer, R.E. A quantitative model for the effects of light and the amplitude and phase of the deep circadian pacemaker in humans. En Horne, J. (ed.). *Sleep '90: proceedings of the 10th European Congress on Sleep Research*. Düsseldorf: Pontenagel, 1990: 30
- 86 - Léonard, R. Amplitude of the temperature circadian rhythms and tolerance to shift work. En: Reinberg, A., Vieux, N., Andlauer, A. (eds.). *Night and shift work. Biological and social aspects*. Oxford: Pergamon Press, 1981: 323-329.

- 87 - Lewy, A.J., Ahmed, S., Jackson, M.L., Sack, R.L. Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase-response curve. *Chronobiol Int*, 1992; 9: 380-392.
- 88 - Lewy, A.J., Wehr, T.A., Goodwin, F.K., Newsome, D.A., Markey, S.P. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science*, 1980; 210: 1267-1269.
- 89 - Lieberman, H.R., Wurtman, J.J., Teicher, M.H. Circadian rhythms of activity in health young and elderly humans. *Neurobiology Aging*, 1989; 10: 259-265.
- 90 - Lobban, M.C., Tredre, B.E. Diurnal rhythms of renal excretion and of body temperature in aged subjects. *Journal of Physiology*, 1967; 188: 48-49.
- 91 - Mayes, K. *Beat jet lag*. Thorsons: Harper Collins Manufacturing, Glasgow, 1991.
- 92 - McIntyre, I.M., Norman, T.R., Burrows, G.D., Armstrong, S.M. Quantal melatonin suppression by exposure to low intensity light in man. *Life Sci*, 1989; 45: 327-332.
- 93 - Mendes, E.G. El tiempo y la vida. En Marques, N., Menna-Barreto, L., Golombek, D.A. (eds.) *Cronobiología. Principios y aplicaciones*. Editorial Eudeba, 1997.
- 94 - Mills, J.N., Minors, D.S., Waterhouse, J.M. Adaptation to abrupt time shifts of the oscillator(s) controlling human circadian rhythms. *J Physiol (Lond)*, 1978; 285: 455-470.
- 95 - Minors, D.S., Waterhouse, J.M. *Circadian rhythms and the human*. Bristol: Wright PSG, 1981.
- 96 - Minors, D.S., Waterhouse, J.M. *Circadian rhythms and their mechanisms*. *Experientia*, 1986; 42, 1: 1-108.
- 97 - Minors, D.S., Waterhouse, J.M. Deriving a "phase response curve" from adjustment to simulated time zone transitions. *Journal of Biological Rhythms*, 1994; 9: 275-282.
- 98 - Minors, D.S., Waterhouse, J.M., Åkerstedt, T. The effect of the timing, quality and quantity of sleep upon the depression (masking) of body temperature on an irregular sleep/wake schedule. *Journal of Sleep Research*, 1994; 3: 45-51.
- 99 - Minors, D.S., Waterhouse, J.M., Wirz-Justice, A. A human phase-response curve to light. *Neuroscience Letters*, 1991; 133: 36-40.
- 100 - Moline, M.L., Pollack, C.P., Monk, T.H., et al. Age-related differences in recovery from simulated jet lag. *Sleep*, 1992; 15: 28-40.
- 101 - Monk, T.H., Leng, V.C. Interactions between inter-individual and inter-task differences in the diurnal variations of human performance. *Chronobiology International*, 1986; 3: 171-177.
- 102 - Monk, T.H., Moline, M.L., Graeber, R.C. Inducing jet lag in the laboratory: patterns of adjustment to an acute shift in routine. *Aviation Space Environmental Medicine*, 1988; 59: 701-10.
- 103 - Moore, R.Y. The suprachiasmatic nucleus and the organization of CNS circadian rhythm. *Trends Neurosci.*, 1983; 5: 404-407.
- 104 - Moore-Ede, M., Richardson, G. Medical implications of shift-work. *Annual Review of Medicine*, 1985; 36: 607-617.
- 105 - Moore-Ede, M., Sulzman, F.M. Internal Temporal Order. En Aschoff J. (ed.). *Handbook of behavioral neurobiology*. Vol. 4: *Biological rhythms*. Plenum Press, 1981.
- 106 - Morgan, E. An appraisal of tidal activity rhythms. *Chronobiology International*, 1991; 8:283-306.
- 107 - Moriguchi, A., Otsuka, A., Kohara, K., Mikami, H., Katahira, K., Tsunetoshi, T., Higashamori, K., Ohishi, M., Yo, Y., Ogihara, T. Spectral change in heart rate variability in response to mental arithmetic before and after the beta-adrenoceptor blocker, car.
- 108 - Morin, L.P. Age-related changes in hamster circadian period, entrainment and rhythm splitting. *Journal of Biological Rhythms*, 1988; 3: 237-248.
- 109 - Mrosovsky, N., Reebs, S., Honrado, G.I., Salmon, P.A. Behavioral entrainment of circadian rhythms. *Experientia*, 1989; 45: 696-702.

- 110 - Nicholson, A. Pascoe, P., Spencer, M., Stone, B., Roehrs, T., Roth, T. Sleep after transmeridian flights. *Lancet*, 1986; 2: 1205-1208.
- 111 - Nicholson, A.N., Pascoe, P.A., Spencer, M.B., Turner, C., Roehrs, T., Roth, T. Effect of a rapidly eliminated hypnotic on sleep after transmeridian flights. *Proc of the 10th Congress of the European Sleep Research Society*, Strasbourg, France, May 20-25, 1990.
- 112 - Palmer, J., Brown, F., Edmunds, L. *An introduction to Biological Rhythms*. New York: Academic Press, 1976.
- 113 - Petrie, K., Dawson, A.G., Thompson, L., Brook, R. A double blind trial of melatonin as a treatment for jet-lag in international cabin crew. *Biological Psychiatry*, 1993; 33: 526-530.
- 114 - Pittendrigh, C. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1960; 25: 159-182.
- 115 - Pittendrigh, C. Circadian systems: entrainment. En Aschoff J. (ed.). *Handbook of behavioral neurobiology*. Vol. 4: Biological rhythms. Plenum Press, 1981.
- 116 - Pittendrigh, C. Circadian systems: general perspective. En Aschoff J. (ed.). *Handbook of behavioral neurobiology*. Vol. 4: Biological rhythms. Plenum Press, 1981.
- 117 - Ralph, M., Lehman, M. Transplantation: a new tool in the analysis of the mammalian hypothalamic circadian pacemaker. *Trends in neuroscience*, 1991; 14: 362-366.
- 118 - Ralph, M.R., Menaker, M. A mutation of the circadian system in Golden hamsters. *Science* 1988; 241: 1225-1227.
- 119 - Reilly, T., Atkinson, G., Waterhous, J. *Biological rhythms and exercise*. Oxford: Oxford University Press, 1997.
- 120 - Reinberg, A., Andlauer, P., Guillet, P. Oral temperature circadian rhythm amplitude, ageing and tolerance to shift-work. *Ergonomics*, 1980; 23: 55-64.
- 121 - Reinberg, A., Vieux, N., Ghata, J., Chaumont, A., Laporte, A. Circadian amplitude and individual ability to adjust to shift work. *Ergonomics*, 1978; 21: 763-766.
- 122 - Reinberg, A., Vieux, N., Ghata, J., Chaumont, A.J., Laporte, A. Is the rhythm amplitude related to the ability to phase-shift circadian rhythms of shift-workers? *Journal of Physiologie Paris*, 1978; 74: 405-409.
- 123 - Reiter, R.J. The melatonin message: Duration versus coincidence hypothesis. *Life Sciences*, 1987; 40: 2119-2131.
- 124 - Reppert, S.M., Rivkees, S.A., Weaver, D.R.. Melatonin: sites and mechanism of action. *Discussion Neurosciences*, 1992; 8: 61-66.
- 124' - Reppert, S.M., Weaver, D.R., Rivkees, S.A., Stopa, E.G. Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science* 1988; 242: 78-81.
- 125 - Rosenthal, N., Wehr, T. Seasonal affective disorders. *Psychiatric annals*, 1987; 17: 670-674
- 126 - Russell, B. *El conocimiento humano*. Planeta-Agostini, 1992.
- 127 - Sack, D., Rosenthal, N., Parry, B., Wehr, T. Biological rhythms in psychiatry. En Meltzer, H. (ed.). *Psychopharmacology*, 1987; New York: Raven Press, 669-685.
- 128 - Sahtouris, E. *Gaia, la tierra viviente*. Planeta-Nueva conciencia, 1994.
- 129 - Samel, A., Wegman, H.M., Vejvoda, M., Maas, H., Influence of melatonin treatment on human circadian rhythmicity before and after a simulated 9 hour time shift. *Journal of Biological Rhythms*, 1991; 6: 235-248.
- 130 - Samel, A., Wegmann, H.M. Circadian rhythms, sleep and fatigue in aircrews operating on long-haul routes. En Jensen, R.S. (ed.). *Aviation psychology*. Aldershot: Gower Technical, 1989; 404-422.

- 131 - Sasaki, M., Kurosaki, Y., Onda, M., Yamaguchi, O., Nishimura, H., Kashimura, K., Graeber, R.C. Effects of bright light on circadian rhythmicity and sleep after transmeridian flight. *Sleep Res*, 1989; 18: 442.
- 131' - Shanahan, T.L., Czeisler, C.A. Light exposure induces equivalent phase shifts of the endogenous circadian rhythms of circulating plasma melatonin and core body temperature in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991; 73: 227-235.
- 132 - Sherer, M., Weingartner, S., James, S., Rosenthal, N. Effects of melatonin on performance testing in patients with seasonal affective disorder. *Neuroscience Letters*, 1985; 58: 277-282.
- 133 - Silver, R., Le Sauter, J., Tresco, P., Lehman, M. A diffusible coupling signal from the transplanted suprachiasmatic nucleus controlling circadian locomotor rhythms. *Nature*, 1996; Vol. 382.
- 134 - Sokal, R., Rohlf, F. *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Reverté, 1980.
- 135 - Spielberger, C.D., Gorsuch, R.L., Iushene, R.E. *STAI Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Self-Evaluation Questionnaire)*. Palo Alto, California: Consulting Psychologists Press, 1970.
- 136 - Spitzer, R.L., Terman, M., Terman, J., Williams, J.B. Columbia jet lag scale. *Biometrics Research*, NY State Psychiatric Institute, 1997.
- 137 - Stone, B., Turner, C. Promoting sleep in shiftworkers and intercontinental travellers. *Chronobiology International*, 1997; 14(2): 133-143.
- 138 - Takahashi, J. Neural and endocrine regulation of avian circadian system. Ph. D. diss, Univ. of Oregon, 1981; 187 pp.
- 139 - Touitou, Y. Some aspects of the circadian time structure in the elderly. *Gerontology*, 1982; 1: 53-67.
- 139' - Viswanathan, M., Laitinen, J.T., Saavedra, J.M. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1990; 87: 6200-6203.
- 140 - Vollrath, L. *The pineal organ*. Berlin: Springer, 1981.
- 141 - Warren, W.S., Cassone, V.M. The pineal gland: Photoreception and coupling of behavioral, metabolic, and cardiovascular circadian outputs. *Journal of Biological Rhythms*, 1995; 10: 64-79.
- 142 - Waterhouse, J.M., Minors, D.S., Åkerstedt, T., Kerkhof, G., Hume, K., Weinert, D. Relationship between sleep stages and short-term changes in rectal temperature in humans. *Biological Rhythms Research*, 1995; 26: 32-47.
- 143 - Waterhouse, J.M., Minors, D.S., Waterhouse, M.E. *Your body clock*. Oxford University Press, 1990.
- 144 - Wehr, T., Jacobsen, F., Sack, J., Arendt, J., Tamarkin, L., Rosenthal, N. Phototherapy of seasonal affective disorder. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1986; 43: 870-875.
- 145 - Weitzman, E.D. Circadian rhythms and episodic hormone secretion in man. *Annual Review of Medicine*, 1976; 27: 225-243.
- 146 - Weitzmann, E.D., Fukushima, D.K., Nogeire, C., Roffwarg, H., Gallagher, T., Hellman, L. Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1971; 33:14-22.
- 147 - Welsh, D.K., Logothetis, D.E., Meister, M., Reppert, S.M. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 1995; 14: 697-706.
- 148- Wever, R. Fractional desynchronization as a method for evaluating functional interdependencies. *Proceedings of the XIV International Conference of the International Society of Chronobiology*. Hannover, 1979.

- 149 - Wever, R. The Circadian System of Man. Berlin-Heilderberg-New York: Springer Verlag, 1979a.
- 150 - Wever, R. The meaning of circadian rhythmicity with regard to aging. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie*, 1975; 59: 160-180.
- 151 - Wever, R. Toward a mathematical model of circadian rhythmicity. En Moore-Ede, M., Czeisler, C. (eds.). *Mathematical Models of the Circadian Sleep-Wake Cycle*, New York: Raven Press, 1984.
- 152 - Wever, R., Polasek, J., Wildbruger, C. Bright light affects human circadian rhythms. *Pflügers Arch.*, 1983; 396: 85-87.
- 153 - Wever, R.A. Light effects on human circadian rhythms: a review of recent andechs experiments. En: Daan, S., Gwinner, E. (eds.). *Biological clocks and enviromental time*. New York: Guilford Press, 1989: 49-73.
- 154 - Wever, R.A. Use of light to treat jet-lag: differential effects of normal and bright artificial light on human circadian rhythms. *Ann NY Acad Sci*, 1985; 453: 282-304.
- 155 - Williams, W., Karacan, Y., Hirsch, C. EEG and human sleep. New York: Wiley, 1974.
- 156 - Winget, C.M., de Roshia, C.W., Markley, C.L., Holley, D.C. A review of human physiological and performance changes associated with desynchronosis of biological performance. *Aviation Space Enviromental Medicine*, 1984; 55: 1085-1096.
- 157 - Winson, J. *Brain and Psyche: The Biology of Unconscious*. Anchor Press, Doubleday, 1985.
- 158 - Wright, J.E., Vogel, J.A., Sampson, J.B., Knapik, J.J., Patton, J.F., Daniels, W.L. Effects of travel across time zones (jet lag) on exercise capacity and performance. *Aviation Space Enviromental Medicine*, 1983; 54: 132-137.
- 159 - Zaidan, R., Geoffriau, M., Brun, J., Taillard, J., Bureau, C., Chazot, G., Claustrat, B. Melatonin is able to influence its secretion in humans: description of a phase-response curve. *Neuroendocrinology*, 1994; 60: 105-112.