



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**RITMOS CIRCADIANOS Y EL CÁNCER:
POTENCIAL DE LA CRONOTERAPIA**

-

**CIRCADIAN RHYTHMS AND CANCER:
CHRONOTHERAPY'S POTENTIAL**

Rubén Miguélez Pérez

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

Septiembre, 2021

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	2
3. METODOLOGÍA	3
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
4.1 Bases moleculares y celulares del Ritmo Circadiano	4
4.2 Interacción funcional entre el reloj circadiano y la progresión tumoral	7
4.21 Ritmo Circadiano y la regulación del ciclo celular.....	12
4.22 Ritmo Circadiano y la reparación del ADN.....	12
4.23 Ritmo Circadiano y la regulación del metabolismo celular	13
4.24 Ritmo Circadiano y la regulación de la apoptosis	13
4.3 Medicina circadiana o Cronoterapia: terapias anti-cancerígenas basadas en la regulación del reloj circadiano.....	14
5. CONSIDERACIONES FINALES	24
6. CONCLUSIONES.....	25
7. REFERENCIAS	26

RESUMEN

Los ritmos circadianos conforman un mecanismo biológico de coordinación entre multitud de procesos fisiológicos y metabólicos del organismo con respecto a los sucesos del ambiente que lo rodean para adaptarlo de manera eficiente. Si bien su concepto lleva años establecido, su vínculo con la salud y la enfermedad se ha vislumbrado hace pocas décadas. El presente Trabajo de Fin de Grado presenta como hipótesis la existencia de una correlación entre la desregulación circadiana y la progresión tumoral, razón del potencial de la cronoterapia. Para apoyarla, y mediante una extensa revisión bibliográfica, se recoge el funcionamiento a nivel molecular del ritmo circadiano como base para contrastarlo con el desarrollo tumoral, y así establecer cuáles y cómo los diferentes genes del entramado circadiano están involucrados en los procesos celulares que conforman los principales *hallmarks* del proceso cancerígeno. Se discuten las posibles relaciones causa-efecto entre ambos apoyado también en varios ejemplos. Asimismo, y tomando las nociones de los ritmos circadianos y la cronobiología, se define y se propone el concepto de cronoterapia como método en segunda línea de optimización de la quimioterapia y radioterapia tradicionales contra el cáncer, y para ello se recoge su nacimiento como enfoque alternativo y se exponen varios casos que apoyan su fundamento, así como varios métodos mediante los cuales incrementar su efectividad para, por último, discutir su viabilidad clínica presente y futura.

Palabras clave: cáncer, cronoterapia, genes reloj, ritmos circadianos.

ABSTRACT

Circadian rhythms constitute a biological mechanism that allows the coordination of the organisms's physiology with the surrounding environmental cues. Although the concept itself has been well known for many years, its connection with health and disease was discerned but a few decades ago. In this Final Degree Project, it is hypothesized that there's a correlation between circadian disruption and tumoral development, and thus chronotherapy's potential. To support it, and by means of an extensive bibliographic research, the circadian rhythm's molecular framework is presented as the basis for comparison to the tumor development process, with the purpose of establishing which and how the different circadian genes are involved in the cellular processes that comprise the so-called cancer hallmarks. Possible cause and effect relation between both is also discussed, backed by a few examples. Likewise, and with circadian rhythms and cronobiology as grounding, the concept of chronotherapy is defined and introduced as an auxiliary method devised to optimize traditional chemotherapy and radiotherapy against cancer, and with that purpose, its emergence as an alternative approach is presented, along with a variety of cases that support its foundation and a few methods by which to enhance its effectiveness, to ultimately discuss its clinical feasibility at present and for the future.

Keywords: cancer, chronotherapy, clock genes, circadian rhythms.

1. INTRODUCCIÓN

El concepto de “ritmo” es inherente a la vida y la existencia tal y como la percibimos, desde las dimensiones microscópicas hasta las estaciones del año, el día y la noche, o el compás de la música. No en balde, un sistema tan complejo como el cuerpo humano rige y manifiesta su actividad no como un continuo, sino como un conjunto de eventos conductuales, fisiológicos y bioquímicos orquestados bajo los hilos de una periodicidad. Estos eventos o ritmos biológicos son denominados circadianos (del latín *circa* – “alrededor de” y *diem* – “día”) cuando se dan en resonancia con el día solar, y conforman un sistema determinado genéticamente y autosostenible diseñado para anticipar y acompañar los cambios ambientales diarios. Los ritmos circadianos son un reloj biológico, evolutivamente conservado, que controla y coordina la fisiología, el metabolismo y el comportamiento de los organismos para adaptarlos de manera eficiente a las variaciones asociadas con los ciclos diurnos, cuando se realizan los procesos catabólicos y daño genotóxico, y los nocturnos, cuando se llevan a cabo funciones anabólicas de crecimiento y de reparación del ADN (Takahashi, 2017). Se teoriza que su origen se remonta a las células procariotas millones de años atrás, al desarrollar un mecanismo que, al limitar la replicación del ADN para solo tener lugar durante la noche, permitiese minimizar el daño por radiación ultravioleta solar, así como para conservar energía separando temporalmente vías metabólicas en conflicto. Se trata por ende de un sistema evolutivamente muy conservado, desde organismos unicelulares a todo tipo de invertebrados y mamíferos (Patke *et al.*, 2020). Se ha propuesto que organismos como *Neurospora*, un género de hongos ascomicetos, ya presentan un sistema circadiano con semejanzas al desarrollado en mamíferos (Lee *et al.*, 2000). De esta manera, el reloj circadiano parece ser el resultado de una evolución convergente, ya que la pauta central de la regulación del sistema, basado en la existencia de lazos de retroalimentación con retraso, es común en los distintos organismos de ramas evolutivas diferentes, variándose los componentes específicos que los constituyen (Bell-Pedersen *et al.*, 2005).

El concepto de ritmo circadiano lleva décadas vigente, pero ha sido en los últimos veinte años de investigación cuando se ha alcanzado a comprender su verdadero alcance: el reloj circadiano molecular reside en prácticamente todas las células del organismo, y abarca una serie de eventos coordinados y secuenciales que finalizan con la regulación de la cronología de miles vías de señalización celular y molecular absolutamente determinantes para el metabolismo y la fisiología del organismo, vinculadas también con el devenir de la salud y la

enfermedad del individuo, razón lo que las alteraciones en el ritmo circadiano se han relacionado con diversas patologías, entre las que se incluye el cáncer (Masri y Sassone-Corsi, 2018). Aunque desde hace tiempo se conoce la influencia de los ritmos circadianos en los procesos fisiológicos de los mamíferos, solo recientemente se ha demostrado que también afectan el daño y reparación del ADN y al crecimiento de algunos tumores (Iurisci *et al.*, 2006; Kiessling y Cermakian, 2017). Ante la mayor comprensión de las ramificaciones patológicas del reloj circadiano, ésta se ha propuesto como base de la denominada “cronomedicina”, un enfoque médico que propone emplear el conocimiento de las variaciones circadianas como parte del diagnóstico y tratamiento (Erren *et al.*, 2012). Así nace el concepto de la cronoterapia, aplicable a diversas patologías, incluido el cáncer, en un intento por optimizar el régimen farmacológico del paciente oncológico. Para ello, es crucial entender las interacciones funcionales (*cross-talk*) entre los mecanismos que regulan el ritmo circadiano y los factores pro- y anti-oncogénicos que regulan la progresión tumoral y la respuesta quimioterapéutica (Ye *et al.*, 2018), lo que permitirá diseñar mejores herramientas que fomenten impulsar su uso.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Nuestra hipótesis de trabajo es que existe una correlación entre la desregulación de los ritmos circadianos y el desarrollo y progresión de un tumor, así como con la respuesta de las células tumorales a la quimioterapia, razón por la cual el uso de la cronoterapia puede optimizar el tratamiento. Con ello, el objetivo general del trabajo será realizar un estudio en profundidad que nos permita comprender el concepto de Ritmo Circadiano y cómo éste afecta las dinámicas moleculares en las células sanas. En particular nos centraremos en la correlación entre el Ritmo Circadiano y las vías de señalización celular, especialmente aquellas cuya desregulación está asociada al proceso de carcinogénesis. Finalmente, definiremos el concepto de cronoterapia y su posible utilidad terapéutica y viabilidad clínica.

Para afrontar el objetivo de partida, se plantean varios objetivos específicos que se desarrollarán a lo largo del trabajo:

1. Realizar un estudio de las bases moleculares y celulares del Ritmo Circadiano.
2. Analizar la interacción funcional entre los mecanismos que regulan el reloj circadiano celular y las vías de señalización desreguladas durante la progresión tumoral.
3. Estudiar las alteraciones de la regulación del Ritmo Circadiano asociadas a la progresión tumoral en base a los principales *hallmarks* del proceso cancerígeno.
4. Analizar el concepto de cronoterapia y su posible utilidad terapéutica y viabilidad clínica presente y futura.

3. METODOLOGÍA

La posible relación funcional entre los ritmos circadianos y el cáncer, y especialmente su potencial aplicación clínica en forma de cronoterapia, es un campo de investigación relativamente nuevo. Con ello, para llevar a cabo nuestros objetivos hemos realizado una amplia revisión bibliográfica, primando en la medida de lo posible que las fuentes compiladas sean recientes, para ofrecer una perspectiva actualizada. Las búsquedas se realizaron en *Google Scholar* y en las bases de datos *PubMed* y *Science Direct*.

Se optó por una estrategia de búsqueda adaptada a las bases de datos utilizando varias palabras clave unidas por los operadores booleanos AND y OR. Se emplearon palabras clave tales como “*circadian*”, “*chronotherapy*”, “*clock*”, “*molecular*”, “*regulation*”, “o “*diseases*”. Una vez realizada una búsqueda intensiva de revisiones para estructurar el trabajo, se realizó una segunda búsqueda más específica en las bases de datos mencionadas y en las referencias de las revisiones para profundizar en determinados aspectos.

Los criterios de inclusión que se utilizaron fueron los siguientes: artículos publicados en inglés a partir del 2000 (excepto ejemplos históricos remarcables) y que respondiesen a los objetivos planteados. Se excluyeron todos los artículos que no cumplieron estos requisitos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Bases moleculares y celulares del Ritmo Circadiano

En respuesta a los ciclos de 24 horas de luz/oscuridad, los organismos vivos han desarrollado un programa denominado Ritmo Circadiano, que permite la coordinación de la fisiología y el comportamiento de los organismos con su medio ambiente. En mamíferos, el punto de control principal de este reloj circadiano se localiza en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, sistema nervioso central (SNC), pero prácticamente todas las células expresan los genes que regulan este reloj, los denominados genes reloj, y son capaces de generar ritmos circadianos propios (Welsh *et al.*, 2004), siendo el SNC el sincronizador central de estos “relojes periféricos” que conforman células repartidas en multitud de tejidos (Kowalska y Brown, 2007; Mohawk *et al.*, 2012). Aunque este “reloj celular” es intrínseco, distintos estímulos del medio como la alimentación, el ejercicio, la estimulación mecano-sensorial o la luz, pueden inducir oscilaciones, siendo éste último el más potente (**Figura 1**) (Sulli *et al.*, 2019). La señal lumínica detectada en las células ganglionares de la retina, que expresan el foto-pigmento melanopsina, es transmitida a las neuronas de los núcleos supraquiasmáticos del SNC. Esta señal es traducida mediante factores neurales o humorales, como los glucocorticoides o la melatonina, lo cual sincroniza los relojes periféricos para mantener el ritmo de ciclos diurnos en todo el cuerpo, asegurando una sincronización con respecto a los cambios de luz entre día y noche y a la duración del día en las diferentes estaciones (Sulli *et al.*, 2019). Todo ello afecta, de manera directa o indirecta, a múltiples funciones fisiológicas como la temperatura corporal, los patrones de neurosecreción y los ritmos hormonales, sincronizando los relojes circadianos del resto del cerebro, órganos y tejidos periféricos, y generando unos ritmos biológicos comunes y adecuados a la situación ambiental (Xie *et al.*, 2019; Arafa y Emar, 2020).

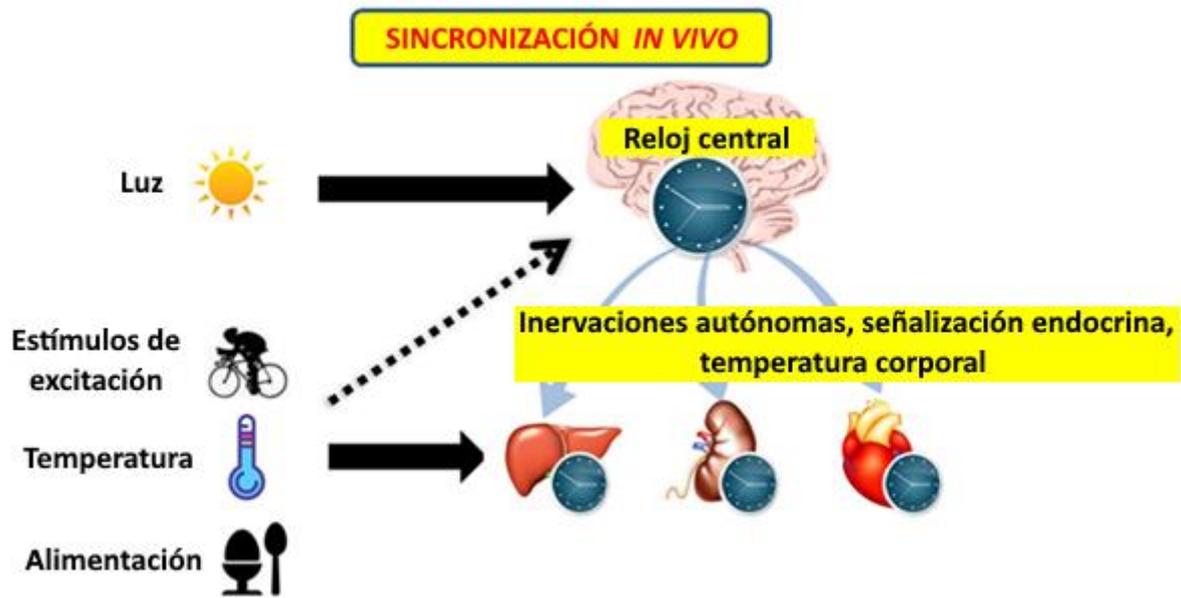


Figura 1. Diagrama de la sincronización *in vivo* del Ritmo Circadiano. La luz es el factor de sincronización principal del reloj central, que a su vez regula jerárquicamente el resto de relojes periféricos, vía inervaciones del sistema autónomo, señales endocrinas y temperatura. El resto de estímulos no lumínicos se corresponden mayormente con los relojes periféricos. Adaptado de Xie *et al.*, 2019.

Desde el punto de vista molecular, las oscilaciones del ritmo circadiano están reguladas por lazos de retroalimentación, tanto transcripcionales como post-transcripcionales (Umemura y Yagita, 2020). En mamíferos, el reloj circadiano está regulado mediante un lazo de retroalimentación compuesto por una rama de regulación positiva constituida por los factores de transcripción CLOCK (**Figura 2**, círculos marrones) y BMAL1 (círculos azules), también conocidos como genes reloj, y una rama de regulación negativa constituida por los factores de transcripción CRYPTOCHROME (CRY1/2) y PERIOD (PER1/2) (círculos verde oscuro y verde, respectivamente) (Umemura y Yagita, 2020). Como se observa en la figura 2, durante el día, CLOCK y BMAL1 forman heterodímeros que regulan la expresión génica mediante su unión a elementos de respuesta tipo E-box (CACGTG), en las regiones reguladoras de sus genes diana, activando su transcripción. Dichos genes diana se conocen como *Clock controlled genes* (CCG) o *Clock output genes* que regularán los múltiples procesos celulares que siguen el ritmo circadiano. Entre los genes regulados por BMAL1/CLOCK se encuentran *PER1/2* y *CRY1/2*. La transactivación por BMAL1/CLOCK de estos genes hacen que las proteínas codificadas por ellos, PER y CRY, se acumulen en el citoplasma durante el día, donde dimerizarán. Estos dímeros se unen a la proteína CASEINA KINASA 1δ/ε (CK1δ/ε) que permite la translocación de los mismos al núcleo al final de la tarde. Así, se habrán acumulado en el núcleo al principio de la noche donde se unirán e inactivarán el complejo

CLOCK/BMAL1, y la inhibición de estos factores a su vez suprime la transactivación de *PER* y *CRY* (Albrecht y Ripperger, 2009). Posteriormente, la degradación paulatina de PER y CRY relaja la represión negativa del complejo CLOCK/BMAL1, con lo que, a la mañana siguiente el ciclo comienza de nuevo induciéndose la transcripción de *PER1/2*, *CRY1/2* y de los demás *CCGs* con una periodicidad aproximada de 24 horas. Estos ritmos persisten en ausencia de señales fisiológicas por alrededor de 24 horas (*free-running period*) (Dierickx *et al.*, 2018).

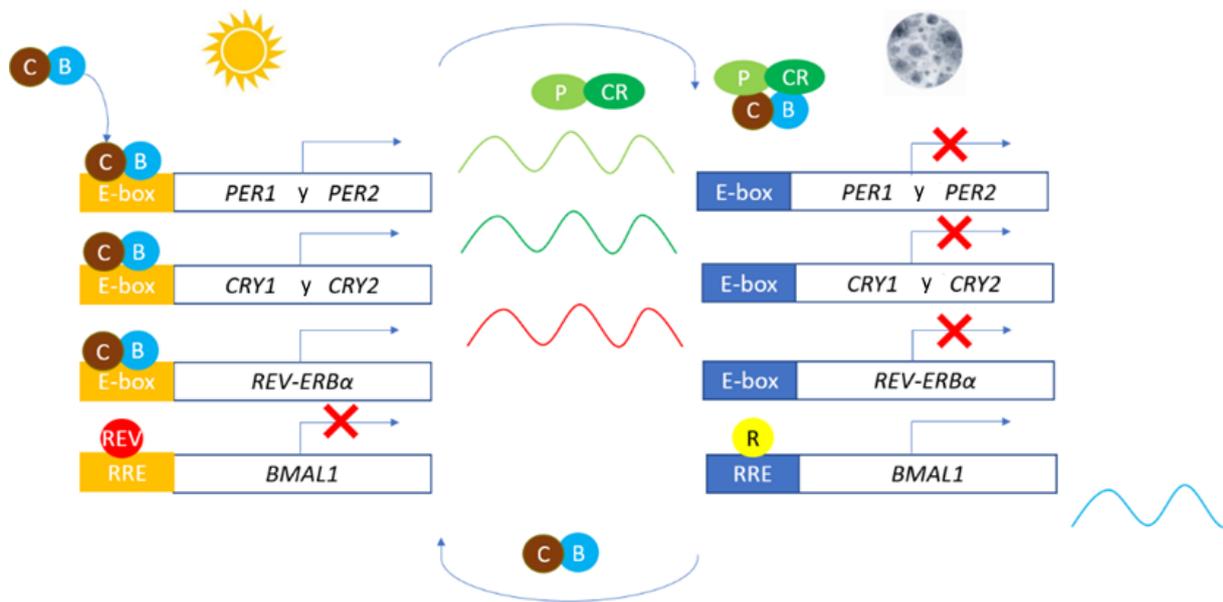


Figura 2. Mecanismos moleculares del reloj circadiano en mamíferos. Los dos lazos de retroalimentación, activación y represión transcripcional, con respecto a la fase del día terrestre: durante el día, el heterodímero CLOCK/BMAL1 se une a los sitios E-box presentes en genes reloj tales como *PER*, *CRY* y *REV-ERBα* promoviendo su transcripción. A su vez, la proteína REV-Erbα inhibe la transcripción de *BMAL1* al unirse al sitio RRE en el promotor de *BMAL1*. Durante la noche, PER y CRY forman heterodímeros, entran al núcleo y se unen a CLOCK/BMAL1, inhibiendo indirectamente la transcripción de *PER*, *CRY* y *REV-ERBα*, de manera que los niveles de la proteína BMAL1 aumentan, y por tanto dando lugar a que el ciclo comience de nuevo. Las abreviaturas corresponden a: BMAL, proteína Brain and Muscle ARNT-Like 1; CLOCK, Circadian Locomotor Output Cycles Kaput; C:B, heterodímero CLOCK:BMAL1; PER, Period, CRY, Cryptochrome; P:CR, heterodímero PER/CRY; *REV-ERBα*, retinoic acid receptor-related orphan; REV, proteína REV-ERBα; R, proteína RORa; RRE, Response Element to Rev-Erbα/ROR. Adaptado de Hernández-Rosas y Santiago-García, 2010.

A pesar de los múltiples niveles de regulación, el gen *BMAL1* es el componente central del reloj circadiano y la eliminación de éste, pero no de ningún otro de los reguladores circadianos, es suficiente para que se pierda el ritmo de oscilación circadiana celular (Albrecht y Ripperger, 2009). El reloj periférico de cada órgano resulta en la expresión de un set de genes *CCGs* que se expresarán rítmicamente, y estudios ómicos demuestran que alrededor del 15% de los transcritos expresados están, directa o indirectamente, regulados por

los genes reloj (Panda *et al.*, 2002; Storch *et al.*, 2002). Por tanto, todos estos genes *CCGs* tejido-específicos integran información circadiana en múltiples procesos fisiológicos como la secreción hormonal, el envejecimiento, el control del metabolismo, el control del ciclo celular y la respuesta a estrés celular e, inevitablemente, su disfunción conlleva enfermedades asociadas, entre ellas la neurodegeneración o el cáncer (Gery y Koeffler, 2010).

Tan reciente como en los últimos cinco años se han identificado dos nuevos candidatos al esquema del Ritmo Circadiano: *CHRONO*, también conocido como represor circadiano de la transcripción, y *PASD1*. El primero también está involucrado en la regulación del heterodímero *CLOCK/BMAL1*, y al parecer actúa de manera similar a las proteínas *CRY*, inhibiéndolo, pero a través de mecanismos epigenéticos; de hecho, *CHRONO* es el gen que se expresa rítmicamente en el mayor número de tejidos en un primate diurno, superando incluso a otros componentes del reloj más conocidos. Por otro lado, *PASD1* parece ser un amortiguador de las oscilaciones del reloj molecular, lo cual es consistente con su bajo perfil de expresión en tejidos sin ritmicidad circadiana, véase las células de líneas germinales o los tejidos somáticos transformados oncogénicamente (Patke *et al.*, 2020).

4.2 Interacción funcional entre el reloj circadiano y la progresión tumoral

Históricamente, los datos epidemiológicos han asociado las alteraciones del Ritmo Circadiano como el *jet-lag*, los turnos nocturnos de trabajo o la exposición a luz durante la noche, como un incremento en el riesgo de padecer cáncer, y la Organización Mundial de la Salud las ha identificado como un factor de riesgo independiente y un “posible” carcinógeno (revisado en Shafi y Knudsen 2019). Uno de los primeros estudios que implicó al reloj circadiano como factor en el desarrollo de enfermedades se realizó en Noruega en 1996, y en él se sugiere una incidencia mayor de cánceres de mama en operadoras de telefonía y radio al estar expuestas ante factores como impulsos lumínicos, frecuencias de radio y campos electromagnéticos durante los turnos de noche, desafiando los ritmos naturales (Tynes *et al.*, 1996). Desde entonces numerosos estudios epidemiológicos han tomado el testigo, profundizando en la relación entre los trabajos con turnos diurnos/nocturnos y el riesgo de desarrollar cáncer de próstata en hombres, o de mama en mujeres (**Tabla I**) (Albuquerque *et al.*, 2021). En esa línea, la hipótesis *light-at-night* (LAN) postula que la exposición nocturna a la luz blanca influencia los mecanismos de regulación del Ritmo Circadiano en el SNC y altera la síntesis

de melatonina, teniendo como resultado un incremento de riesgo de padecer ciertos tipos de patologías, incluido cáncer (Roenneberg y Merrow, 2016). La producción de melatonina, factor importante también en los mecanismos antioxidantes celulares, ocurre naturalmente durante la noche y se ve afectada cuando un individuo se expone a impulsos lumínicos durante las horas de oscuridad terrestre, siendo suprimida como resultado su producción (Roenneberg y Merrow, 2016).

El estilo de vida contemporáneo de las sociedades modernas parece estar poniendo a prueba la sincronización natural entre ritmos circadianos endógenos y los ciclos medioambientales, dándose un fenómeno acuñado como *jet-lag* social (Patke *et al.*, 2020). En efecto, está exacerbado por el uso masificado de aparatos electrónicos con luz artificial propia, y está asociado con riesgos cardiovasculares, psiquiátricos y de morbilidad, especialmente pronunciados en los denominados “cronotipos” tardíos; esto es, individuos que desarrollan gran parte de sus actividades diarias a horas intempestivas dado su perfil preferencial de sueño y vigilia (Erren *et al.*, 2019). De esta manera, la exposición a los riesgos que antes solo se daba en una parte de la población por necesidades laborales, se está convirtiendo en un fenómeno endémico (Patke *et al.*, 2020).

Esta desincronización circadiana generalizada que está ocurriendo en nuestros tiempos puede ser, en mayor o menor medida, causante o partícipe en el desarrollo de otro mal endémico: la depresión, y precisamente, la cronoterapia (sobre la que se profundiza más adelante) está oficialmente recomendada como tratamiento de primera línea para aquellos pacientes con trastornos depresivos en los que no se tolere la medicación, o bien esté contraindicada (Khalifeh, 2017). Tanta es la relevancia de los ritmos circadianos en el desarrollo de enfermedades que, hasta en cuestiones de absoluta actualidad como la presente pandemia de COVID-19 están involucrados, al existir interacción entre el papel regulador del Ritmo Circadiano con ambas replicación viral y respuesta inmune del anfitrión ante la infección (Lacout *et al.*, 2021; Sengupta *et al.*, 2021).

En síntesis, la importancia del Ritmo Circadiano en el desarrollo de patologías y enfermedades, y concretamente la disrupción de su regulación, es un asunto de categórica actualidad y concerniente a toda la sociedad y su estilo de vida, y la evidencia epidemiológica que lo apoya concretamente en relación al cáncer es amplia (**Tabla I**).

Factores de la dieta	Cáncer de colon	La disrupción circadiana causada por patrones de alimentación anómalos predispone a la carcinogénesis asociada a grupos alcohol.	Ratón
	Cáncer de mama	Un ayuno nocturno más largo en mujeres se asocia de manera significativa con una mejoría del metabolismo glucémico, y con un factible menor riesgo de cáncer.	Humano
	Cáncer de próstata y de mama	La tendencia a mantener un patrón de alimentación más diurno, y guardar un lapso mayor de tiempo entre la última comida y el sueño nocturno se asocia a un menor riesgo de cáncer.	Humano

Aunque la regulación molecular del Ritmo Circadiano es bien conocida, la naturaleza de la interacción funcional entre las alteraciones circadianas y la progresión tumoral está comenzando a ser comprendida. En las células normales, el reloj circadiano ejerce un control estricto sobre varios de los pilares fundamentales que al desregularse dan lugar a la transformación celular, y que han sido denominados como “hallmarks of cancer”, entre los cuales se incluyen: la regulación del ciclo celular, la reparación del daño al ADN y la inducción de la muerte celular (apoptosis) y la regulación del metabolismo celular (**Figura 3**) (Astone y Santoro, 2021). La hipótesis de partida es que la alteración de los genes reguladores del Ritmo Circadiano, y por tanto del reloj fisiológico, afectará a estos procesos celulares, confiriéndole a las células transformadas nuevas capacidades que les permitan competir y superar a las células vecinas normales de su entorno, favoreciendo así la progresión tumoral (Altman, 2016). Por esta razón, es interesante analizar hasta qué punto los elementos reguladores del Ritmo Circadiano tienen también una función reguladora en cada uno de estos procesos elementales.

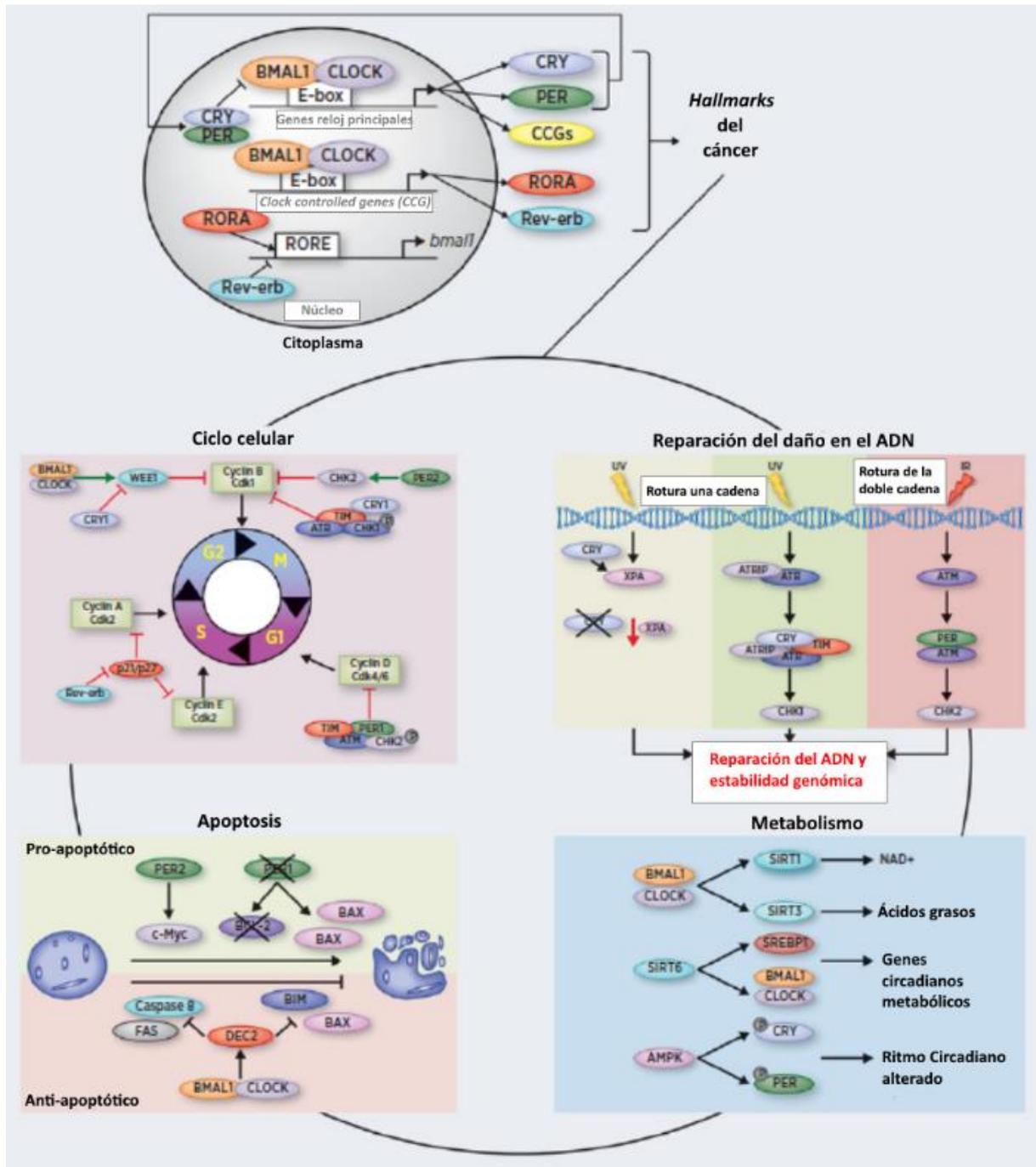


Figura 3. Cross-talk de los genes reloj y los Hallmarks del Cáncer. La red circadiana conformada por las dos asas reguladoras confiere ritmicidad diaria para el mantenimiento de la homeostasis fisiológica. Los genes del reloj central (*core clock genes*, *CLOCK/BMAL1* y *CRY/PER*) están involucrados directa o indirectamente en todos los *hallmarks* del cáncer, participando en numerosas vías de señalización involucradas. Consecuentemente, el Ritmo Circadiano controla un enorme número de procesos cruciales en el desarrollo tumoral y su progresión, por lo que su disrupción se asocia a una mayor incidencia cancerígena, y como tal, puede suponer un factor de riesgo independiente para la formación del cáncer en humanos. Adaptado de Shafi & Knudsen 2019.

4.21 Ritmo Circadiano y la regulación del ciclo celular

Tanto el ciclo celular como el Ritmo Circadiano son procesos periódicos, y la conexión entre ambos se empezó a establecer hace décadas (Shafi y Knudsen, 2019). En mamíferos adultos, y especialmente en los tejidos proliferantes (piel, epitelio intestinal), se han observado variaciones circadianas diarias en la distribución de las células en proliferación en diferentes fases del ciclo celular (Khapre *et al.*, 2010). La evidencia acumulada indica que el principal punto de enlace entre el ciclo celular y el Ritmo Circadiano es el heterodímero CLOCK/BMAL1 (Khapre *et al.*, 2010). En fibroblastos embrionarios de ratones transgénicos en los que el gen *Clock* está inactivado, se observa un incremento en la expresión de genes inhibidores de la progresión del ciclo tales como *p21* o *p27*, y una disminución para el caso de *Cdk2* y las ciclinas *D2* y *E1* (Miller *et al.*, 2007). Estas células no responden a señales mitogénicas y sufren un bloqueo en la fase G1/S del ciclo celular (Miller *et al.*, 2007). Por otro lado, en experimentos con líneas de células tumorales humanas, se ha observado que BMAL1, en condiciones de daño genotóxico en el ADN, actúa como inductor de p53, cuya activación a su vez es responsable de mayores niveles de p21. De esta manera, una reducción en la expresión de *BMAL1* atenúa la activación de p21 vía p53, fomentando reanudar la progresión del ciclo celular (Khapre *et al.*, 2010).

4.22 Ritmo Circadiano y la reparación del ADN

Cuando los sistemas de respuesta a daño del ADN son defectuosos o inoperantes, se contribuye a aumentar la acumulación de mutaciones, acelerando por tanto la progresión tumoral (Shafi y Knudsen, 2019). En ese sentido, los genes *PER* y *CRY* parecen estar involucrados en los sistemas de reparación, principalmente ante radiaciones causantes de rupturas de la doble cadena (Shafi y Knudsen, 2019). Se ha demostrado que existe una fuerte correlación entre la expresión de *CRY1* y los factores responsables de la reparación por recombinación homóloga, al observarse que promueve su expresión de manera directa (Shafi *et al.*, 2021). Por otro lado, la expresión del gen supresor tumoral *TP53*, que constituye el nodo central de la respuesta al daño genotóxico y la reparación del ADN, es regulada por BMAL1, por lo que es necesario para la activación del sistema de reparación (Khapre *et al.*, 2010). Dado que existe control circadiano sobre la reparación de la escisión de nucleótidos, podría ser de utilidad clínica contra el cáncer, ya que la susceptibilidad al daño en el ADN varía para cada gen en base a sus ritmos de transcripción, y se podría usar esa información contra la integridad génica de las células tumorales (Sancar y Van Gelder, 2021).

4.23 Ritmo Circadiano y la regulación del metabolismo celular

El Ritmo Circadiano y el metabolismo tienen un vínculo esencial que permite anticipar los periodos de alimentación o de descanso del organismo (Shafi y Knudsen, 2019). Por ejemplo, es reseñable el caso de REV-ERB α y ROR α , receptores nucleares comúnmente expresados en tejido adiposo, hígado, músculo esquelético y células endoteliales, y que están involucrados en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, la adipogénesis y la inflamación vascular (Duez y Staels, 2008). Otro ejemplo de la interacción del ritmo circadiano con el metabolismo celular se ha descrito en un estudio con células de ratón en las que se produjo una mutación dominante negativa de la proteína CLOCK, y como resultado tras los cruzamientos, se observaron individuos con un metabolismo del colesterol irregular y mayor propensión a desarrollar aterosclerosis (Pan *et al.*, 2013). También se tiene constancia de que la vía AMPK, sensor de niveles de ATP involucrado en múltiples rutas metabólicas así como en la resistencia a los fármacos quimioterápicos en el tratamiento del cáncer (Carling, 2017), es capaz de enviar señales dependientes de la energía disponible al reloj circadiano en forma de interacción con CRY1 y PER2, pudiendo desestabilizarlos vía fosforilación, y alterando con ello el Ritmo Circadiano (Jordan y Lamia, 2013).

4.24 Ritmo Circadiano y la regulación de la apoptosis

El mantenimiento de la homeostasis de los tejidos depende del equilibrio entre proliferación y muerte celular, siendo la muerte programada, o apoptosis, crucial para decidir el destino celular (Shafi y Knudsen, 2019). De esta manera, la disrupción del equilibrio entre las señales pro- y anti-apoptóticas es una de las características o *hallmarks* de la progresión tumoral (Soták *et al.*, 2014), y los genes que codifican dichas señales exhiben ritmicidad circadiana (**Figura 4**) (Soták *et al.*, 2014), de lo cual se puede aducir que el ritmo circadiano es esencial para mantener el equilibrio entre señales pro- y anti-apoptóticas. Los reguladores del ritmo circadiano pueden tener un papel de promoción o restricción de la apoptosis dependiendo del estatus del ritmo y del contexto celular (Shafi y Knudsen, 2019). Por ejemplo, CRY1/2 y PER1 tienen influencia positiva en las vías apoptóticas (extrínseca e intrínseca respectivamente), mientras que PER2 participa en la respuesta de las células tumorales al daño genotóxico por radiación (Shafi y Knudsen, 2019). Por el contrario, CLOCK puede actuar como inhibidor de la apoptosis, tal y como se observó en ratones carentes de *Clock* funcional en cuyo caso se daba una expresión reducida de factores pro-apoptóticos y por tanto un mayor crecimiento tumoral (Matsunaga *et al.*, 2011).

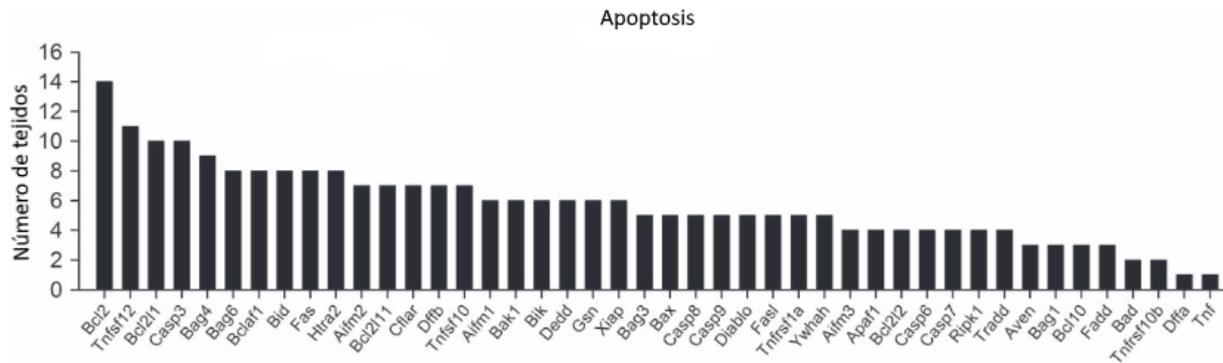


Figura 4. Frecuencia de casos representativos de genes con expresión rítmica involucrados en procesos apoptóticos respecto a su presencia en diferentes tejidos. El Ritmo Circadiano ayuda a mantener el correcto balance entre señales pro- y anti-apoptóticas. Se observan elementos de sendas cascadas apoptóticas extrínseca (p. ej. Tnf, fas, caspasa 8) e intrínseca (p. ej. Bax, Bad, caspasa 9). Tomado de Soták *et al.* 2014.

4.3 Medicina circadiana o Cronoterapia: terapias anti-cancerígenas basadas en la regulación del reloj circadiano

Como se ha visto anteriormente, las alteraciones en los ritmos circadianos se asocian al desarrollo del cáncer, pero también a la respuesta a quimioterápicos. Esto ha sido evaluado en modelos de ratón en los que individuos con mutación de *Clock* y delección de *Bmal1* (*Bmal1*KO), son sensibles a la quimio independientemente del momento el día en que se administra (Gorbacheva *et al.*, 2005), mientras que *Cry1* y *Cry2* KOs son más resistentes (Ko y Takahashi, 2006). Esto sugiere la aplicación de la cronoterapia, es decir, la adaptación de las intervenciones terapéuticas a momentos óptimos del ciclo circadiano para optimizar sus efectos. La cronoterapia, una aproximación aún experimental ante el cáncer, se define como la administración del tratamiento al paciente según los tiempos óptimos de los ritmos circadianos para maximizar los efectos antitumorales de las sustancias o técnicas empleadas y reducir al mínimo posible la toxicidad que acarrearán (Ye *et al.*, 2018). Todo proceso biológico que determina la eficacia de las sustancias anticancerígenas, desde su distribución y absorción, al metabolismo intracelular y su posterior eliminación, sigue pautas circadianas, y de hecho, una vez dentro de las células tumorales, y aún incluso en tumores en estados avanzados, con gran capacidad de autorregeneración y desdiferenciación, la acción citotóxica depende en gran medida de la fase de proliferación, porque la progresión circadiana del ciclo sigue, hasta cierto punto, temporalmente vigente (Fu y Kettner, 2013). Por esa razón, aplicar el tratamiento basándose en las variaciones circadianas de la fisiología del paciente podría optimizar su desempeño (**Figura 5**).

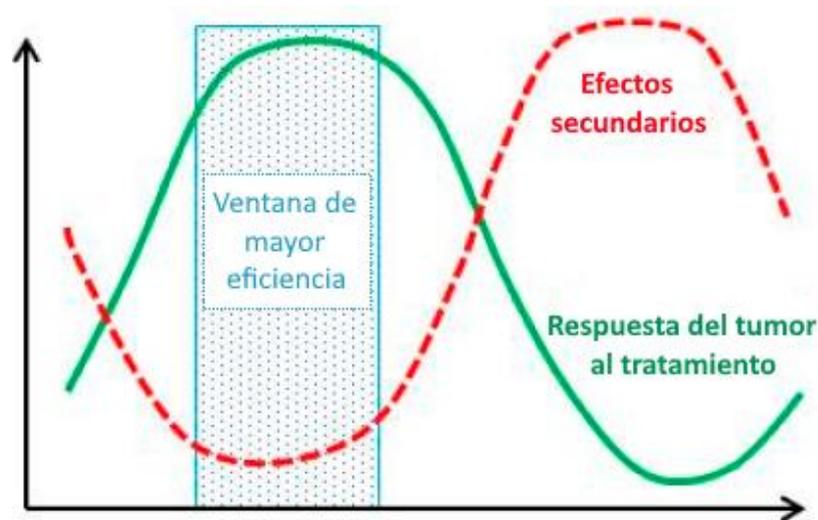


Figura 5. Gráfica conceptual de la cronoterapia. La respuesta del tumor al tratamiento de quimioterapia o radioterapia depende de la hora en el día. Los efectos secundarios tóxicos también se ven influenciados por los ritmos. Conjugar ambos tiempos (efectos secundarios mínimos y respuesta máxima) ayudará a identificar la ventana óptima para el tratamiento. Adaptado de Patel y Kondratov, 2021.

En particular, dada la relación entre el reloj circadiano y la proliferación celular y la respuesta a daño genotóxico, se planteó la hipótesis de que el momento de aplicación de la quimioterapia, elegidos en función del estado óptimo del Ritmo Circadiano, podría mejorar el efecto terapéutico y disminuir la toxicidad del tratamiento. Atendiendo al tiempo como nuevo parámetro a tener en cuenta, el concepto de la cronoterapia se basa en dos nociones fundamentales de la cronofarmacología, relativas a los medicamentos empleados: la farmacocinética, que hace referencia a las oscilaciones diarias en la cantidad de proteínas y/o receptores, determinante para la capacidad de absorción, metabolismo, distribución y excreción de los fármacos, y la farmacodinámica, que se refiere a las oscilaciones en los propios sistemas fisiológicos dianas de los fármacos dependiendo de su concentración y sitio de acción. Dicho de otra manera, la farmacocinética es “lo que el organismo le hace a los fármacos” mientras que la farmacodinámica es “lo que los fármacos le hacen al organismo” (Mehrotra *et al.*, 2006). Por otro lado, las variaciones genéticas, sexo, edad, comportamiento y factores ambientales determinan el cronotipo del individuo, que a su vez influye en la respuesta al tratamiento, por lo que la cronoterapia exige un mínimo de medicina personalizada ajustada a los ritmos del paciente, de manera que el enfoque cronofarmacológico ayudará a diseñar las dosis correctas y aplicarlas en la situación que asegure una mayor eficiencia (**Figura 6**) (Albuquerque *et al.*, 2021).

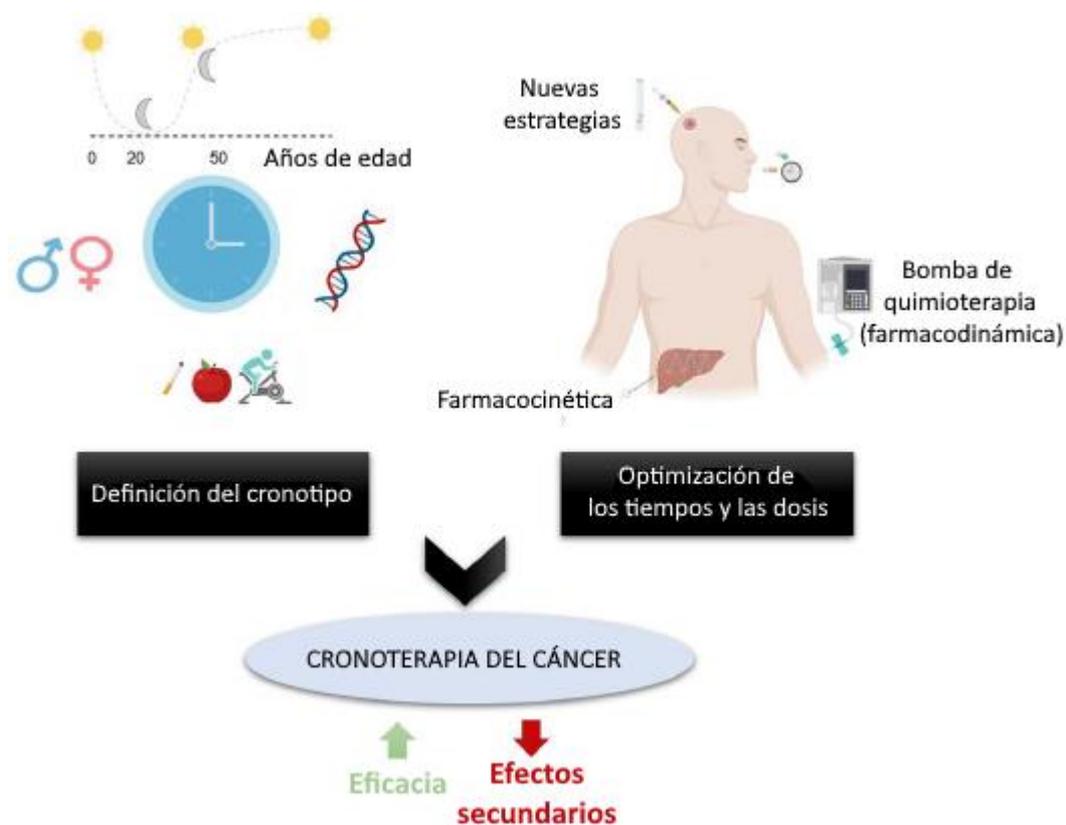


Figura 6. Esquema resumen de la cronoterapia. La regulación de los horarios en los tratamientos del cáncer ha mostrado una tolerancia y eficacia potencialmente incrementadas. El cronotipo del paciente es un factor determinante en la respuesta al tratamiento, y por otro lado, la cronofarmacología (cinética y dinámica de los fármacos) también contribuirá en el diseño de las dosis correctas en los momentos de mayor efectividad. Adaptado de Albuquerque *et al.*, 2021.

La introducción del concepto de cronoterapia tuvo lugar poco antes del nuevo milenio, y uno de los primeros casos que demostró la importancia de considerar los tiempos circadianos, fue el empleo del compuesto químico antineoplásico, oxaliplatino, análogo del cisplatino, y uno de los fármacos de primera línea contra el cáncer colorrectal (Stordal *et al.*, 2007). Inicialmente el oxaliplatino fue rechazado por toxicidad excesiva en la Fase 1 de las pruebas clínicas realizadas por una gran farmacéutica (Rhone-Poulenc-Rorer, Francia) (Extra *et al.*, 1990), pero posteriormente, su patente fue vendida a una farmacéutica de reciente creación (Debiopharm, Suiza), que tuvo la idea de demostrar su seguridad y eficacia siguiendo un enfoque cronofarmacológico. Tras numerosas pruebas, se estableció la hora de administración ideal sobre las 16:00, que sumado a ciertos cambios en la forma de administración, supuso un incremento de eficacia terapéutica y una minimización de efectos adversos, y por tanto, un cambio de paradigma en el empleo del oxaliplatino (Cederroth *et al.*, 2019).

Desde entonces, el interés por la investigación sobre el campo de la cronobiología, dentro del que se adscribe el de la cronofarmacología y la cronoterapia, está subiendo notablemente en los últimos tiempos (**Figura 7**) (Kaur *et al.*, 2013).

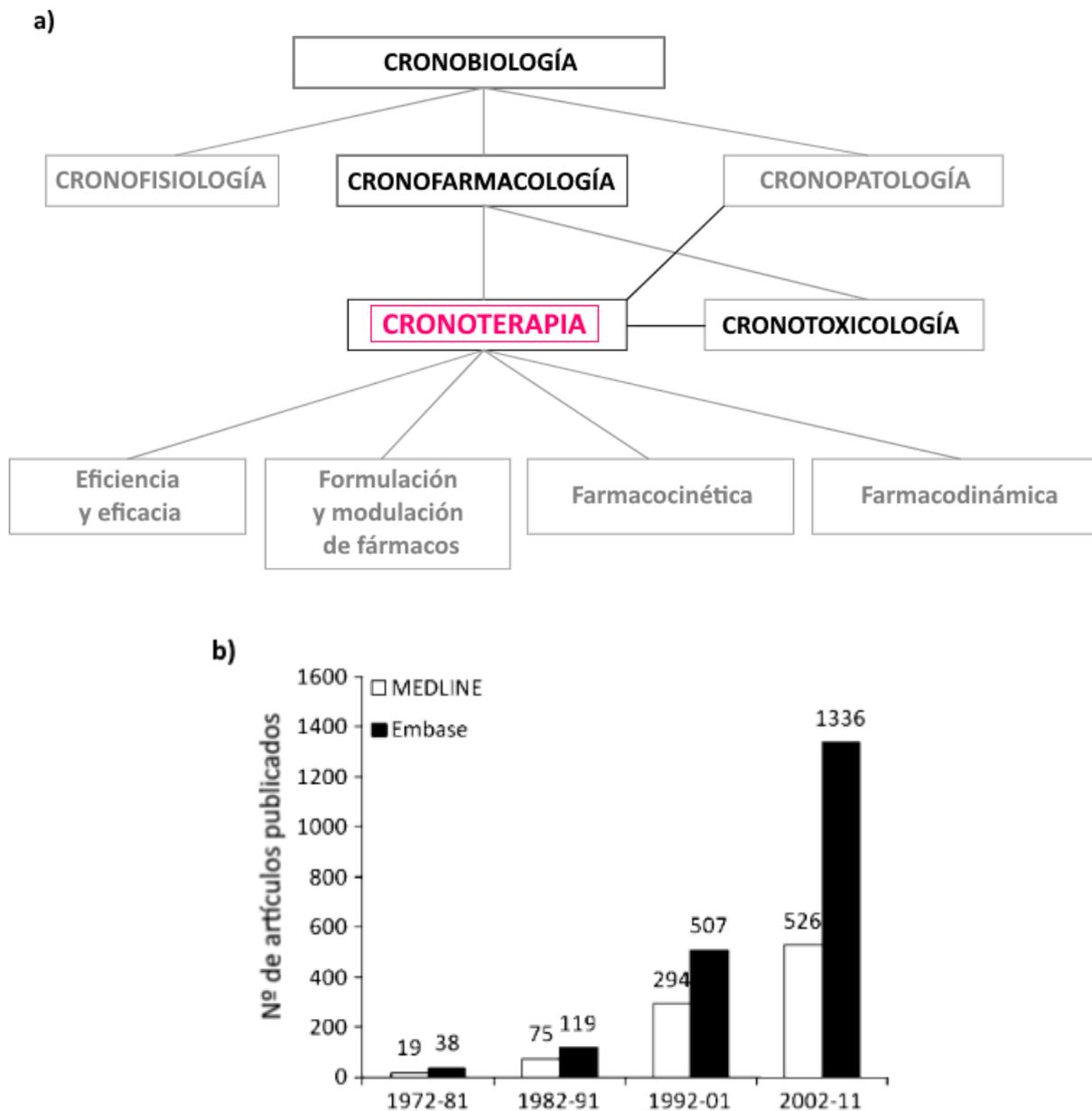


Figura 7. (a) Mapa relacional de los términos del campo de la cronobiología. Cronofisiología hace referencia al papel general de los ritmos circadianos en los procesos fisiológicos y bioquímicos, y cronopatología se refiere a su papel con respecto a las enfermedades y/o síntomas. La cronoterapia se fundamenta en cuatro pilares fundamentales: la búsqueda de la optimización de la eficacia y eficiencia del tratamiento, la formulación y modulación de los fármacos y su sistema de transporte hacia las dianas en las mayores concentraciones posibles en los momentos de mayor necesidad, y la farmacodinámica y cinética que determinan el modo de acción del fármaco de manera muy específica para cada paciente. (b) Número de artículos sobre cronoterapia publicados en el servicio de información MEDLINE y en la base de datos Embase en cada una de las últimas cuatro décadas. La misma tendencia es de esperar hasta hoy, 2021. Adaptado de Kaur *et al.*, 2013.

En 2018, un grupo de investigación desarrolló un protocolo algorítmico para identificar el perfil de transcripción rítmica en una colección de 13 tipos de tejidos provenientes de 632 donantes, y se identificó que casi la mitad de genes codificantes mostraban un patrón cíclico en alguno de los tejidos, y siendo mil de estas proteínas codificadas, o bien diana de varios tipos de fármacos, o bien relacionadas con el transporte y metabolismo de los mismos (Ruben *et al.*, 2018). Así, se puede establecer una analogía: igual que el código epigenético determina la expresión génica específica de cada tejido, parece que una especie de “código circadiano” determina la expresión específica de cada momento (**Figura 8**). El 80% de los genes codificantes muestran variaciones diurnas en sus niveles de ARNm, apuntando a la presencia de coordinación temporal entre procesos compatibles y separación temporal entre procesos incompatibles (Sulli *et al.*, 2018; Panda, 2019).

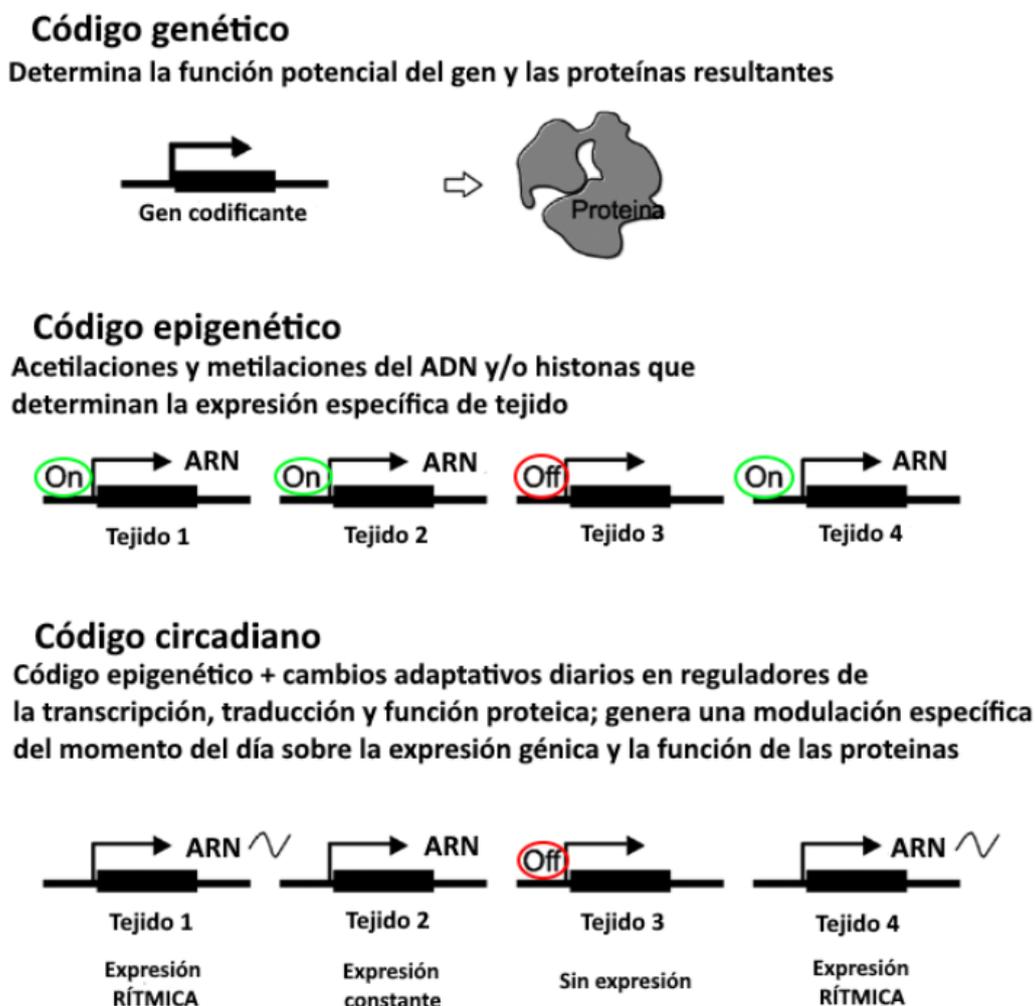


Figura 8. Conceptualización de los diferentes códigos a nivel de genoma. La regulación resultante es una adición consecutiva de los tres, y determina las proteínas codificadas, la identidad funcional del tejido, y las repercusiones fisiológicas y metabólicas afines a la situación, respectivamente. El código circadiano se hace ejercer a través de las proteínas codificadas por los genes reloj y/o CCG. Adaptado de Sulli *et al.*, 2018.

Precisamente, uno de los tipos de tumores malignos en los que está fehacientemente involucrada la regulación epigenética, y en cuyo tratamiento se ha estudiado ampliamente la introducción de las nociones de la cronoterapia, es el glioblastoma (Wagner *et al.*, 2021). Se trata del tipo de tumor cerebral más común y agresivo que existe, grado IV en la clasificación de tumores del sistema nervioso de la OMS, y se caracteriza por su alta vascularización, heterogeneidad e invasividad, razón por la que su pronóstico es mala (Sturm *et al.*, 2014), y por ello, se han planteado estrategias crono-quimioterápicas en un intento de incrementar la eficacia del tratamiento. Algunos estudios apuntan a que *BMAL1* puede actuar como un gen supresor de tumores durante la oncogénesis y/o progresión del glioblastoma, de manera que una reducción en la expresión de *BMAL1* está asociada con formas más agresivas del tumor, mientras que inversamente, *CLOCK* se sobreexpresa en los tumores (Wagner *et al.*, 2021). Estudios recientes en glioblastomas han estipulado los tiempos óptimos de administración de la Temozolomida (TMZ), fármaco alquilante del ADN usado como primera línea en estos tumores, y siguiendo pautas circadianas se han obtenido resultados favorables (Slat *et al.*, 2017). En efecto, en modelos murinos, el tratamiento con TMZ generaba un pico máximo de inhibición del crecimiento tumoral y activación de la apoptosis coincidiendo con el pico de expresión diaria del gen *Bmal1*. Paralelamente, el silenciamiento de *Bmal1* neutralizaba completamente la ritmicidad circadiana y por tanto impedía a la TMZ ejercer ningún tipo de efecto sobre la apoptosis y el crecimiento (Slat *et al.*, 2017).

La evidencia experimental apoya la idea de la cronoterapia, teniéndose en cuenta no solamente el momento de la aplicación, si no también, utilizando como dianas terapéuticas algunos de los genes reloj (Sulli *et al.*, 2019; Chan y Lamia, 2020). Un ejemplo de ello es la inhibición de las proteínas CRY con la molécula inhibitoria KS15, la cual parece tener consecuencias en células de cáncer de mama, teniendo efectos anti-proliferación y pro-apoptóticos y aumentando la sensibilidad ante diversos fármacos quimioterápicos (Chun *et al.*, 2015). Estos efectos parecen deberse a la inducción de la expresión de *PER2*, el cual ha demostrado ejercer una función de supresión tumoral en respuesta al tratamiento de KS15 (Chun *et al.*, 2015). A su vez, estudios en células troncales de glioblastoma *in vitro* sugieren que centrarse en *CLOCK* y *BMAL1* también puede ser útil, pues la proliferación celular y la supervivencia dependen de su expresión. De esta manera, la aplicación de KL001, un estabilizador de CRY y por tanto inductor de la inhibición funcional de *CLOCK* y *BMAL1*, supone una reducción de la proliferación celular (Dong *et al.*, 2019). También se ha evaluado con anterioridad los grados de respuesta a la terapia en ratones carentes de ciertos genes reloj

(Ko y Takahashi, 2006). Los ratones con mutaciones o eliminación de los genes *Clock* o *Bmal1* son sensibles a la terapia independientemente de los tiempos de administración, previsiblemente por un desacople total del ritmo, mientras que los ratones que carecen de *Cry1/2* eran más refractarios ante la cronoterapia, además de mostrar un patrón arrítmico en oscuridad constante al perjudicar la función del SNC (Ko y Takahashi, 2006). En síntesis y de nuevo, toda esta evidencia apoya la idea de que la eficacia de los fármacos no depende solo de su cinética en el tiempo, sino también del status interno de cada uno de los genes reloj implicados, que determinarán la sensibilidad de las dianas (Cederroth *et al.*, 2019).

Por otro lado, los procesos de biotransformación y detoxificación de quimioterápicos involucran modificaciones de las sustancias o xenobióticos en varios órganos como el intestino, los riñones y el hígado, en los que se metabolizan para ulteriormente aumentar su solubilidad en agua y facilitar su excreción en heces, orina y bilis; procesos que también están sometidos a control circadiano (**Figura 9**) (Ozturk *et al.*, 2017). Las enzimas encargadas de estas reacciones metabólicas pertenecen a diferentes familias genéticas, y entre ellas se encuentran la citocromo P-450, transferasas y oxidorreductasas, la *ATP-Binding Casette* (ABC) o distintos portadores de solutos, todos ellos con una expresión circadiana regulada por diversos factores de transcripción cuya ausencia resulta en una disminución de la capacidad de amortiguar los efectos dañinos de los fármacos anticancerígenos (Ozturk *et al.*, 2017). Esto conecta además con el hecho de que las células cancerígenas utilizan nutrientes a un ritmo metabólico muy elevado, por lo que numerosas de las rutas metabólicas controladas por el reloj circadiano que se ven involucradas, como pueden ser las relacionadas con la creación y disponibilidad de aminoácidos, podrían verse parcialmente restauradas con la aplicación de cronoterapia (Masri y Sassone-Corsi, 2018).

Paralelamente, estudios de los perfiles de expresión de genes circadianos a nivel genómico tanto en ratones, como en primates y en tejidos de pulmón e hígado humanos, indican que al menos un 80% de los fármacos aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos estadounidense (FDA) muestran un comportamiento rítmico en sus dianas, así como en las funciones desencadenadas aguas abajo (Shafi y Knudsen, 2019), y algunas pruebas clínicas en cánceres avanzados revelan que la cronoterapia anticancerígena puede ser más beneficiosa en aquellos pacientes que mantienen estables sus ritmos circadianos endógenos (Shafi y Knudsen, 2019). Cuando el reloj funciona, el efecto de las sustancias es dependiente de los tiempos de administración, ya que los ritmos circadianos determinan numerosos factores como la cantidad de ciertos receptores específicos de sustrato, la

permeabilidad de membrana, la fracción de plasma libre de unirse a medicamentos, los canales iónicos, la viabilidad de reacciones limitantes en reacciones metabólicas, mensajeros secundarios, señales de transducción, etc (**Figura 9**) (Ozturk *et al.*, 2017). Un ejemplo de ello son los efectos antitumorales dependientes de los tiempos de administración del interferón- β (IFN- β), íntimamente supeditados a la cambiante presencia de receptores de IFN y del factor génico estimulado por interferón (ISGF); también varios estudios en roedores demuestran cómo una misma dosis puede ser letal cuando se administra en ciertos momentos del día, mientras que apenas tiene efectos adversos en otro momento (Ozturk *et al.*, 2017).

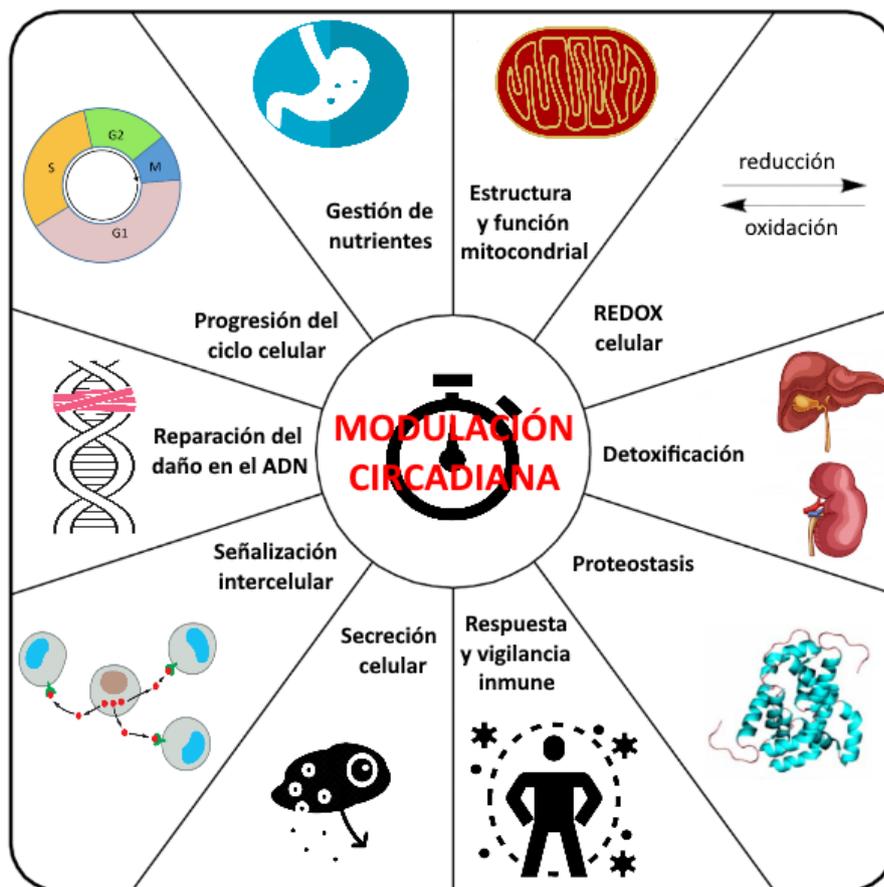


Figura 9. Esquema del papel de la modulación circadiana sobre varios procesos celulares. La transcripción rítmica de multitud de genes determina la actividad celular en tejidos diversos. Por esa razón, se cree que restaurar la modulación circadiana es una manera de recuperar el control de las células ante el ejercido por la progresión tumoral, así como de facilitar que los fármacos empleados surtan efecto sobre sus dianas, y se eliminen más fácilmente. Adaptado de Sulli *et al.*, 2018.

Todo esto apoya la idea de que preservar o restaurar la ritmicidad circadiana es una manera de prevenir o incluso afrontar el desarrollo tumoral, y por ende, son varias las estrategias que han sido diseñadas para resincronizar tanto reloj central como relojes periféricos (**Figura 10**) (Ballesta *et al.*, 2017). Como prueba de concepto, en un reciente estudio en células de melanoma, la restauración de los ritmos circadianos previamente al tratamiento resultó en una reducción de su capacidad de proliferación, tanto *in vitro* como *in vivo*, lo cual muestra dependencia de la expresión de *Bmal1*, y demostrando por extensión que había influencia del Ritmo Circadiano (Kiessling *et al.*, 2017).



Figura 10. Estrategias conductuales y farmacológicas posibles para restaurar el Ritmo Circadiano. Las estrategias conductuales afectan a la función del reloj central y/o relojes periféricos en mayor o menor medida. Los agonistas sintéticos o las formulaciones modificadas de las hormonas melatonina y cortisol se pueden emplear para dirigirse al reloj central, así como a los tejidos con los receptores pertinentes. Recientemente también se pueden emplear pequeñas moléculas dirigidas a las proteínas del entramado circadiano, véase agonistas de REV-ERB o activadores de CRY. A su vez, el sistema nervioso central también puede ser objetivo de diversos fármacos (p. ej. agonistas ansiolíticos, litio) que interactúen con los receptores de las neuronas o bien activen áreas del cerebro que generen inputs reconocibles. Adaptado de Ballesta *et al.*, 2017.

Aun con todo, sin embargo, los estudios clínicos que concuerdan en los beneficios de la cronoterapia son, a día de hoy, no muy abundantes. Por un lado, la cronoterapia radiactiva apunta a mejores síntomas, pero con resultados no concluyentes con respecto al ratio de supervivencia general. Por otro lado, varios estudios de los tiempos de administración de la quimioterapia muestran un número menor de efectos adversos tales como leucopenia o inflamación en numerosos cánceres. Al final, la gran heterogeneidad de tumores, junto con la variedad de respuestas al tratamiento y los cuellos de botella propios de la técnica y tecnología, hacen de la aplicación de la cronoterapia algo difícil a nivel clínico aún en nuestros días (Patel y Kondratov, 2021).

Se han propuesto varias estrategias conductuales y farmacológicas para intentar restaurar el Ritmo Circadiano de los pacientes y establecer firmemente el empleo de la cronoterapia. Por un lado, el interés en las ya mencionadas estrategias de sincronización del Ritmo Circadiano está creciendo, pues cada vez hay más evidencia de que los estímulos con capacidad para determinar los ritmos biológicos (estímulos *pacemaker*) pueden influenciar la progresión de las enfermedades, razón por la que entra en juego la cronoterapia para reforzar o debilitar, según sea conveniente para el tipo de trastorno o enfermedad, la sincronía entre el reloj biológico y las señales ambientales circadianas (Ballesta *et al.*, 2017). De nuevo, es imposible desvincular el efecto que tienen estímulos inevitables como la hora de las comidas, las interacciones sociales y profesionales o la actividad física sobre la función de los neurotransmisores del cerebro y la transcripción de los genes reloj, por lo que controlar de manera estricta la exposición a estímulos para que actúen en favor del tratamiento del paciente se debe tener en cuenta (Ballesta *et al.*, 2017).

Por otro lado, una idea emergente es el uso de los llamados crono-fármacos (“clock drugs” o cronomoduladores), compuestos que, de manera directa o indirecta, modulen el reloj circadiano como parte de la quimioterapia, y cuyo empleo ha mostrado reducir la proliferación en varios tipos de cáncer al restaurar el Ritmo Circadiano (Patel y Kondratov, 2021). Apoyando este concepto, y como ejemplo de modulador, se ha demostrado que la melatonina, hormona producida rítmicamente en la glándula pineal, al ser administrada durante la noche disminuyendo así los efectos de LAN, reduce la metástasis pulmonar en cáncer de mama en modelos murinos (Patel y Kondratov, 2021). No obstante, el rol de la melatonina en modelos de roedores es discutido, porque las cepas de ratones comúnmente empleadas no sintetizan melatonina de manera natural debido a alteraciones genéticas acumuladas generación tras generación de cría en condiciones de luz artificial (Chan y Lamia, 2020). Aun así, también en humanos, se tiene constancia de que los valores de melatonina y su secreción rítmica se ven notablemente afectados en pacientes que sufren de carcinoma colorrectal (Kos-Kudla *et al.*, 2002), o de que puede actuar como promotor de la estabilidad genómica, ejercer efectos oncoestáticos y funcionar como supresor del metabolismo tumoral en células humanas de cáncer de mama (Hill *et al.*, 2015).

Eventualmente, se prevé que la clave en el campo de la medicina circadiana sea el avance de la tecnología informática que permita el desarrollo de biosensores implantables para monitorizar cientos de marcadores circadianos oscilantes en tiempo real, y así esbozar el futurible “circadioma” del individuo y su evolución paralela a la enfermedad (Turek, 2016).

5. CONSIDERACIONES FINALES

Se puede decir que hay mucha evidencia epidemiológica y experimental que apoya la idea de que el reloj circadiano juega un papel en la génesis tumoral, pues claramente se ve afectada por los mecanismos circadianos, y ciertamente, desarrollar un desfase con respecto a los ciclos naturales del día terrestre puede tener efectos negativos sobre la salud. No obstante, no es recomendable concluir que la disrupción circadiana sea carcinógena por definición. Más bien, la función de algunos genes reloj depende de los mecanismos específicos del tumor en particular, a tenor de los resultados experimentales generalmente señalando que la falta de algunos componentes del reloj circadiano supone un incremento o una disminución de la tumorigénesis dependiendo del componente en cuestión y del status de control circadiano de las células implicadas. No en vano, se ha corroborado que ciertos genes reloj pueden actuar como supresores tumorales, mientras que otros tienen potencial pro-oncogénico, por lo que su uso como dianas terapéuticas debe ser estudiado individualmente.

Por otra parte, muchas de las dianas de los fármacos empleados contra el cáncer muestran una expresión rítmica, y se ha demostrado que la eficiencia en el transporte y eliminación de los mismos varía a lo largo del día según los ritmos. Por esa razón, y apoyado en amplia literatura, el concepto de la cronoterapia tiene un gran potencial, pero no sin escepticismo y con un grado de adopción clínica actual limitado. La complejidad del vínculo entre el reloj circadiano y el cáncer hace complicado predecir los tiempos y efectos del régimen de tratamiento, sumado a la exigencia que se requiere en la personalización y adaptación al paciente según su tipo de patología, cronotipo y adhesión a los estímulos ambientales.

Ulteriormente, en este trabajo se ha apoyado la hipótesis planteada, y lo cierto es que hay amplia literatura a favor, pero de nuevo, no se debe clasificar categóricamente la desregulación circadiana como carcinógena, y se recomienda una aproximación adaptada caso por caso. Igualmente, la investigación sobre el campo de los ritmos circadianos y concretamente sobre la cronoterapia es cada vez mayor, y los indicios que hay hasta ahora son suficientes como para justificar seguir invirtiendo e investigando. En el futuro, con el avance de la técnica y tecnología en la medicina personalizada, se podrá realizar un seguimiento más fidedigno del status de los ritmos circadianos y su interacción con el entramado molecular cancerígeno y las dianas terapéuticas, con la esperanza de poder nutrir el aspecto cronofarmacológico que se espera fundamental en la futura implantación de la cronoterapia.

6. CONCLUSIONES

1. La interacción funcional entre los mecanismos celulares del Ritmo Circadiano y las vías de señalización involucradas en la progresión tumoral está fundamentada en la evidencia experimental y epidemiológica que lo sostienen.
2. Los genes reguladores del Ritmo Circadiano son también reguladores de procesos frecuentemente alterados durante la progresión tumoral, conocidos como los *hallmarks* del cáncer. Por ello, estos crono-genes se alteran frecuentemente durante la oncogénesis y progresión tumoral, lo que los convierte en posibles dianas terapéuticas.
3. La cronoterapia es una aproximación aún experimental, pero avalada por numerosos estudios, cuya función es auxiliar a las terapias más convencionales para el tratamiento del cáncer con el fin de optimizar los efectos de los fármacos empleados y reducir su toxicidad.

7. REFERENCIAS

- Albrecht, U. y Ripperger, J. A. (2009) "Clock Genes", *Nippon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 67(8), pp. 759-762.
- Albuquerque, T., Neves, A. R., Quintela, T. y Costa, D. (2021) "Exploring the link between chronobiology and drug delivery: effects on cancer therapy", *Journal of Molecular Medicine*, 1, pp. 1-23.
- Altman, B. J. (2016) "Cancer Clocks Out for Lunch: Disruption of Circadian Rhythm and Metabolic Oscillation in Cancer", *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4(62), pp. 1-9.
- Arafa, K. y Emara, M. (2020) "Insights About Circadian Clock and Molecular Pathogenesis in Gliomas", *Frontiers in Oncology*, 10(199), pp. 1-16.
- Astone, M. y Santoro, M. M. (2021) "Time to fight: targeting the circadian clock molecular machinery in cancer therapy", *Drug Discovery Today*, 26(5), pp. 1164-1184.
- Ballesta, A., Innominato, P. F., Dallmann, R., Rand, D. A. y Lévi, F. A. (2017) "Systems chronotherapeutics", *Pharmacological Reviews*, 69(2), pp. 161-199.
- Bell-Pedersen, D., Cassone, V. M., Earnest, D. J., Golden, S. S., Hardin, P. E., Thomas, T. L. y Zoran, M. J. (2005) "Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms", *Nature Reviews Genetics*, 6(7), pp. 544-556.
- Carling, D. (2017) "AMPK signalling in health and disease", *Current opinion in cell biology*, 45, pp. 31-37.
- Cederroth, C. R., Albrecht, U., Bass, J., Brown, S. A., Dyhrfeld-Johnsen, J., Gachon, F., Green, C. B., Hastings, M. H., Helfrich-Förster, C., Hogenesch, J. B., Lévi, F., Loudon, A., Lundkvist, G. B., Meijer, J. H., Rosbash, M., Takahashi, J. S., Young, M. y Canlon, B. (2019) "Medicine in the Fourth Dimension", *Cell Metabolism*, 30(2), pp. 238-250.
- Chan, A. B. y Lamia, K. A. (2020) "Cancer, hear my battle CRY", *Journal of Pineal Research*, 69(1), p. e12658.
- Chun, S. K., Chung, S., Kim, H. D., Lee, J. H., Jang, J., Kim, J., Kim, D., Son, G. H., Oh, Y. J., Suh, Y. G., Lee, C. S. y Kim, K. (2015) "A synthetic cryptochrome inhibitor induces anti-proliferative effects and increases chemosensitivity in human breast cancer cells", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 467(2), pp. 441-446.
- Dierickx, P., Laake, L. W. Van y Geijsen, N. (2018) "Circadian clocks: from stem cells to tissue homeostasis and regeneration", *EMBO reports*, 19(1), pp. 18-28.
- Dong, Z., Zhang, G., Qu, M., Gimple, R. C., Wu, Q., Qiu, Z., Prager, B. C., Wang, X., Kim, L. J. Y., Morton, A. R., Dixit, D., Zhou, W., Huang, H., Li, B., Zhu, Z., Bao, S., Mack, S. C., Chavez, L., Kay, S. A. y Rich, J. N. (2019) "Targeting glioblastoma stem cells through disruption of the circadian clock", *Cancer Discovery*, 9(11), pp. 1556-1573.
- Duez, H. y Staels, B. (2008) "The nuclear receptors Rev-erbs and RORs integrate circadian rhythms and metabolism:", *Diabetes and Vascular Disease Research*, 5(2), pp. 82-88.
- Erren, T. C., Koch, M. S., Groß, J. V., Kämmerer-Cruchon, S., Fuchs, A., Pinger, A. y Reiter, R. J. (2012) "Chronomedicine: an old concept's fledging? A selective literature search", *Neuro endocrinology letters*, 33(4), pp. 357-360.
- Erren, T. C., Morfeld, P., Groß, J. V., Wild, U. y Lewis, P. (2019) "IARC 2019: «Night shift work» is probably carcinogenic: What about disturbed chronobiology in all walks of life?", *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 14(1), pp. 1-3.
- Extra, J. M., Espie, M., Calvo, F., Ferme, C., Mignot, L. y Marty, M. (1990) "Phase I study of oxaliplatin in patients with advanced cancer", *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 25, pp. 299-303.
- Fu, L. y Kettner, N. M. (2013) "The circadian clock in cancer development and therapy", *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 119, pp. 221-282.
- Gery, S. y Koeffler, H. P. (2010) "Circadian rhythms and cancer", *Cell Cycle*, 9(6), pp. 1097-1103.
- Gorbacheva, V. Y., Kondratov, R. V., Zhang, R., Cherukuri, S., Gudkov, A. V., Takahashi, J. S. y Antoch, M. P. (2005) "Circadian sensitivity to the chemotherapeutic agent cyclophosphamide depends on the functional status of the CLOCK/BMAL1 transactivation complex", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(9), pp. 3407-3412.
- Hill, S. M., Belancio, V. P., Dauchy, R. T., Xiang, S., Brimer, S., Mao, L., Hauch, A., Lundberg, P. W., Summers, W., Yuan, L., Frasn, T. y Blasko, D. E. (2015) "Melatonin: an inhibitor of breast cancer", *Endocrine-Related Cancer*, 22(3), pp. R183-R204.
- Iurisci, I., Filipinski, E., Reinhardt, J., Bach, S., Gianella-Borradori, A., Iacobelli, S., Meijer, L. y Lévi, F. (2006) "Improved Tumor Control through Circadian Clock Induction by Seliciclib, a Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor", *Cancer Research*, 66(22), pp. 10720-10728.

- Jordan, S. D. y Lamia, K. A. (2013) "AMPK at the crossroads of circadian clocks and metabolism", *Molecular and cellular endocrinology*, 366(2), pp. 163-169.
- Kaur, G., Phillips, C., Wong, K. y Saini, B. (2013) "Timing is important in medication administration: a timely review of chronotherapy research", *International journal of clinical pharmacy*, 35(3), pp. 344-358.
- Khalifeh, A. H. (2017) "The effect of chronotherapy on depressive symptoms. Evidence-based practice", *Saudi medical journal*, 38(5), pp. 457-464.
- Khapre, R. V., Samsa, W. E. y Kondratov, R. V. (2010) "Circadian regulation of cell cycle: Molecular connections between aging and the circadian clock", *Annals of Medicine*, 42(6), pp. 404-415.
- Kiessling, S., Beaulieu-Laroche, L., Blum, I. D., Landgraf, D., Welsh, D. K., Storch, K. F., Labrecque, N. y Cermakian, N. (2017) "Enhancing circadian clock function in cancer cells inhibits tumor growth", *BMC Biology*, 15(1), pp. 1-18.
- Kiessling, S. y Cermakian, N. (2017) "The tumor circadian clock: a new target for cancer therapy?", *Future Oncology*, 13(29), pp. 2607-2610.
- Ko, C. H. y Takahashi, J. S. (2006) "Molecular components of the mammalian circadian clock", *Human Molecular Genetics*, 15(2), pp. R271-R277.
- Kos-Kudla, B., Ostrowska, Z., Kozłowski, A., Marek, B., Ciesielska-Kopacz, N., Kudla, M., Kajdaniuk, D., Strzelczyk, J. y Staszewicz, P. (2002) "Circadian rhythm of melatonin in patients with colorectal carcinoma.", *Neuro Endocrinology Letters*, 23(3), pp. 239-242.
- Kowalska, E. y Brown, S. A. (2007) "Peripheral Clocks: Keeping Up with the Master Clock", *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 72, pp. 301-305.
- Lacout, A., Marcy, P. Y. y Perrone, C. (2021) "Chronotherapy in COVID-19 Disease", *Journal of general internal medicine*, 36(8), pp. 2466-2467.
- Lee, K., Loros, J. J. y Dunlap, J. C. (2000) "Interconnected feedback loops in the Neurospora circadian system", *Science*, 289(5476), pp. 107-110.
- Masri, S. y Sassone-Corsi, P. (2018) "The emerging link between cancer, metabolism, and circadian rhythms", *Nature Medicine*, pp. 1795-1803.
- Matsunaga, N., Kohno, Y., Kakimoto, K., Hayashi, A., Koyanagi, S. y Ohdo, S. (2011) "Influence of CLOCK on cytotoxicity induced by diethylnitrosamine in mouse primary hepatocytes", *Toxicology*, 280(3), pp. 144-151.
- Mehrotra, N., Gupta, M., Kovar, A. y Meibohm, B. (2006) "The role of pharmacokinetics and pharmacodynamics in phosphodiesterase-5 inhibitor therapy", *International Journal of Impotence Research*, 19(3), pp. 253-264.
- Miller, B. H., McDearmon, E. L., Panda, S., Hayes, K. R., Zhang, J., Andrews, J. L., Antoch, M. P., Walker, J. R., Esser, K. A., Hogenesch, J. B. y Takahashi, J. S. (2007) "Circadian and CLOCK-controlled regulation of the mouse transcriptome and cell proliferation", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(9), pp. 3342-3347.
- Mohawk, J. A., Green, C. B. y Takahashi, J. S. (2012) "Central and Peripheral Circadian Clocks in Mammals", *Annual Review of Neuroscience*, 35, pp. 445-462.
- Ozturk, N., Ozturk, D., Kavakli, I. H. y Okyar, A. (2017) "Molecular aspects of circadian pharmacology and relevance for cancer chronotherapy", *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), p. 2168.
- Pan, X., Jiang, X.-C. y Hussain, M. M. (2013) "Impaired cholesterol metabolism and enhanced atherosclerosis in clock mutant mice", *Circulation*, 128(16), pp. 1758-1769.
- Panda, S. (2019) "The arrival of circadian medicine", *Nature Reviews Endocrinology*, 15(2), pp. 67-69.
- Panda, S., Antoch, M. P., Miller, B. H., Su, A. I., Schook, A. B., Straume, M., Schultz, P. G., Kay, S. A., Takahashi, J. S. y Hogenesch, J. B. (2002) "Coordinated Transcription of Key Pathways in the Mouse by the Circadian Clock", *Cell*, 109(3), pp. 307-320.
- Patel, S. A. y Kondratov, R. V. (2021) "Clock at the core of cancer development", *Biology*, 10(2), pp. 1-16.
- Patke, A., Young, M. W. y Axelrod, S. (2020) "Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms", *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(2), pp. 67-84.
- Roenneberg, T. y Mrosovsky, M. (2016) "The circadian clock and human health", *Current Biology*, 26(10), pp. R432-R443.
- Ruben, M. D., Wu, G., Smith, D. F., Schmidt, R. E., Francey, L. J., Lee, Y. Y., Anafi, R. C. y Hogenesch, J. B. (2018) "A database of tissue-specific rhythmically expressed human genes has potential applications in circadian medicine", *Science Translational Medicine*, 10(458), p. eaat8806.
- Sancar, A. y Van Gelder, R. N. (2021) "Clocks, cancer, and chronochemotherapy", *Science*, 371(6524).
- Sengupta, S., Ince, L., Sartor, F., Borrmann, H., Zhuang, X., Naik, A., Curtis, A. y McKeating, J. A. (2021) "Clocks, Viruses, and Immunity: Lessons for the COVID-19 Pandemic:", *Journal of Biological Rhythms*, 36(1), pp. 23-34.
- Shafi, A. A. y Knudsen, K. E. (2019) "Cancer and the circadian clock", *Cancer Research*, 79(15), pp. 3806-

3814.

- Shafi, A. A., McNair, C. M., McCann, J. J., Alshalalfa, M., Shostak, A., Severson, T. M., Zhu, Y., Bergman, A., Gordon, N., Mandigo, A. C., Chand, S. N., Gallagher, P., Dylgjeri, E., Laufer, T. S., Vasilevskaya, I. A., Schiewer, M. J., Brunner, M., Feng, F. Y., Zwart, W. y Knudsen, K. E. (2021) "The circadian cryptochrome, CRY1, is a pro-tumorigenic factor that rhythmically modulates DNA repair", *Nature Communications*, 12(1), pp. 1-15.
- Slat, E. A., Sponagel, J., Marpegan, L., Simon, T., Kfoury, N., Kim, A., Binz, A., Herzog, E. D. y Rubin, J. B. (2017) "Cell-intrinsic, Bmal1-dependent Circadian Regulation of Temozolomide Sensitivity in Glioblastoma:", *Journal of Biological Rhythms*, 32(2), pp. 121-129.
- Soták, M., Sumová, A. y Pácha, J. (2014) "Cross-talk between the circadian clock and the cell cycle in cancer", *Annals of Medicine*, 46(4), pp. 221-232.
- Storch, K.-F., Lipan, O., Leykin, I., Viswanathan, N., Davis, F. C., Wong, W. H. y Weitz, C. J. (2002) "Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart", *Nature*, 417(6884), pp. 78-83.
- Stordal, B., Pavlakakis, N. y Davey, R. (2007) "Oxaliplatin for the treatment of cisplatin-resistant cancer: A systematic review", *Cancer Treatment Reviews*, 33(4), pp. 347-357.
- Sturm, D., Bender, S., Jones, D. T. W., Lichter, P., Grill, J., Becher, O., Hawkins, C., Majewski, J., Jones, C., Costello, J. F., Iavarone, A., Aldape, K., Brennan, C. W., Jabado, N. y Pfister, S. M. (2014) "Paediatric and adult glioblastoma: Multifocal (epi)genomic culprits emerge", *Nature Reviews Cancer*, 14(2), pp. 92-107.
- Sulli, G., Lam, M. T. Y. y Panda, S. (2019) "Interplay between Circadian Clock and Cancer: New Frontiers for Cancer Treatment", *Trends in Cancer*, 5(8), pp. 475-494.
- Sulli, G., Manoogian, E. N. C., Taub, P. R. y Panda, S. (2018) "Training the Circadian Clock, Clocking the Drugs, and Drugging the Clock to Prevent, Manage, and Treat Chronic Diseases", *Trends in pharmacological sciences*, 39(9), pp. 812-827.
- Takahashi, J. S. (2017) "Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock", *Nature Reviews Genetics*, 18(3), pp. 164-179.
- Turek, F. W. (2016) "Circadian clocks: Not your grandfather's clock", *Science*, 354(6315), pp. 992-993.
- Tynes, T., Hannevik, M., Andersen, A., Vistnes, A. I. y Haldorsen, T. (1996) "Incidence of breast cancer in Norwegian female radio and telegraph operators", *Cancer Causes and Control*, 7(2), pp. 197-204.
- Umemura, Y. y Yagita, K. (2020) "Development of the Circadian Core Machinery in Mammals", *Journal of Molecular Biology*, 432(12), pp. 3611-3617.
- Wagner, P. M., Prucca, C. G., Caputto, B. L. y Guido, M. E. (2021) "Adjusting the Clock: the Importance of Circadian Rhythms in the Development of Glioblastomas and Its Intervention as a Therapeutic Strategy", *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), p. 8289.
- Welsh, D. K., Yoo, S.-H., Liu, A. C., Takahashi, J. S. y Kay, S. A. (2004) "Bioluminescence imaging of individual fibroblasts reveals persistent, independently phased circadian rhythms of clock gene expression", *Current Biology*, 14(24), pp. 2289-2295.
- Xie, Y., Tang, Q., Chen, G., Xie, M., Yu, S., Zhao, J. y Chen, L. (2019) "New Insights Into the Circadian Rhythm and Its Related Diseases", *Frontiers in Physiology*, 10(682), pp. 1-19.
- Ye, Y., Xiang, Y., Ozguc, F. M., Kim, Y., Liu, C. J., Park, P. K., Hu, Q., Diao, L., Lou, Y., Lin, C., Guo, A. Y., Zhou, B., Wang, L., Chen, Z., Takahashi, J. S., Mills, G. B., Yoo, S. H. y Han, L. (2018) "The Genomic Landscape and Pharmacogenomic Interactions of Clock Genes in Cancer Chronotherapy", *Cell Systems*, 6(3), pp. 314-328.e2.