

## RITMOS CIRCADIANOS EN EL HOMBRE<sup>1</sup>

DR. JOSÉ CARLOS PEÑA<sup>2</sup>

Se hace una introducción a los ritmos biológicos en general y se define lo que es un ritmo circadiano de acuerdo con la proposición de Halberg. Además, se discuten las interrelaciones temporales de la función suprarrenal y ciertas funciones de excreción renal. En un estudio "transversal" de ocho sujetos normales estudiados durante un total de 55 días, se observó un ritmo paralelo de 17-hidroxycorticoides y potasio urinarios, semejantes en horario a los informados en la literatura. Por el contrario, el sodio y el volumen urinario están desincronizados con respecto a los ritmos mencionados. Se probó el efecto de diversas drogas sobre los ritmos en sujetos normales. Los estrógenos no introducen ningún cambio a las oscilaciones de los 17-hidroxycorticoides o el potasio. La dexametasona por el contrario, altera los ritmos anteriores tanto en los estudios "transversales" como "longitudinales". La corticotrofina hace aparecer las oscilaciones muy irregulares para 17-hidroxycorticoides y potasio y muy aplazadas para sodio y volumen urinario. Los pacientes con enfermedad de Addison con terapia sustitutiva repartida en dosis iguales ingeridas cada 4 horas, no tienen ritmo circadiano. La misma alteración se presentó en las pacientes con panhipopituitarismo que no recibieron tratamiento sustitutivo. En el síndrome de Cushing también está perdido el ritmo normal de 17-hidroxycorticoides y de potasio. El estudio de los ritmos demuestra que tanto el déficit como el exceso de glucocorticoides hacen desaparecer los ritmos normales de 17-hidroxycorticoides y potasio urinarios. Se hace notar que en el futuro este tipo de trabajos elaborados con análisis periódicos en computadoras electrónicas permitirá conocer el tiempo óptimo de aplicación de medicamentos y las horas en que el organismo se defiende mejor de agentes agresores. (Gac. Méx. 98: 168, 1968.)

**L**A EXISTENCIA de los ritmos biológicos y su importancia en los fenómenos vivientes nunca ha sido sub-

estimada. Su origen, aunque impreciso, seguramente se remonta hasta el origen mismo del mundo. En el Génesis ya se relata que Dios trabajó seis días y descansó el séptimo. El hombre de la edad de piedra regulaba su actividad de acuerdo con las estaciones y los fenó-

<sup>1</sup> Trabajo presentado en sesión conjunta de la Academia Nacional de Medicina y el Instituto Nacional de la Nutrición, el 18 de noviembre de 1966.

<sup>2</sup> Académico numerario. Instituto Nacional de la Nutrición.

ritmos, pero la palabra reloj evoca una imagen mecánica, lo que hace que su uso sea objetable cuando se trata de aplicar a fenómenos biológicos.

Entre los ritmos biológicos, aquellos que fluctúan en una forma regular a lo largo de las 24 horas, ocupan una posición clave, por lo cual se consideró que era de importancia primaria calificarlos adecuadamente.

El término ritmo diurno o ritmo diario desorienta, porque se refiere tanto a la fase nocturna como a la fase diurna que encontramos en las 24 horas. El uso de expresiones tales como ritmo de 24 horas, ritmo nictameral, aun cuando engranan dentro de un fenómeno cósmico, no toman en cuenta que los ritmos biológicos no duran exactamente 24 horas, sino 24 horas minutos u horas más o menos. Como una gran mayoría de los autores,<sup>4-7</sup> hemos adoptado el calificativo de *circadiano* propuesta por Franz Halberg;<sup>2</sup> este término está formado por la unión de dos raíces latinas, *circa* (alrededor de) y *dies* (días). Su uso está perfectamente justificado para designar una variación cíclica de un proceso biológico cuyo período es cercano a 24 horas.

La mayoría de los hombres están sometidos a lo largo de su existencia a alternancias de luz y oscuridad, con un ciclo de 24 horas de duración. Esto determina un comportamiento caracterizado por períodos de reposo, actividad, comidas, que afectan hasta nuestra esfera social. Aschoff<sup>8</sup> refiere hasta cuarenta variables circadianas en nuestro medio ambiente. Por tanto, en un momento dado pueden existir multiplicidad de "Zeitgeber", o sea "sincroniza-

dores" de una función periódica, y sin embargo, en un momento dado, sólo una ser dominante.

El estudio de los ritmos introduce en la biología y la medicina una noción complementaria indispensable. La anatomía, histología y la fisiología localizan el fenómeno dentro de un organismo y limitan el centro donde el fenómeno acaece. La bioquímica y la biofísica tratan de contestar cómo es que funciona tal o cual fenómeno. El análisis de los ritmos nos permitirá localizar el fenómeno dentro de un "tiempo" fisiológico y contestar a la pregunta. ¿En qué momento ocurre este fenómeno, en relación a otro que le precede o le sigue? Está claro que las respuestas a las tres preguntas donde, cuándo y cómo están íntimamente relacionadas.

Si consideramos una función hormonal, la fisiología clásica analiza la cantidad, calidad, modo de transporte de la hormona, su sitio de acción y receptibilidad tisular. Sin embargo, todos estos fenómenos varían a través del tiempo en forma rítmica. Los máximos y mínimos de estos diferentes ritmos internos, tienen relaciones precisas en la escala del tiempo de unos con otros. Sin embargo, estas relaciones pueden ser modificadas y en el ejemplo presente la eficiencia de la función hormonal se incrementa cuando encuentra una mayor receptividad<sup>9</sup> en el tejido correspondiente; por el contrario, la función hormonal pierde su eficacia cuando las fases no coinciden.

La función hormonal es armoniosa sólo cuando existe una relación de tiempo entre los diferentes ciclos. En otras

menos cósmicos. Plutarco se refirió a Osiris como la diosa buena que con su calor y humedad hacía florecer las plantas. Artemisa entre los griegos representaba una deidad con atributos similares. Cicerón menciona que las ostras y los moluscos aumentan su tamaño durante la luna llena; lo mismo han afirmado Plinio, San Agustín y Francis Bacon. Estas afirmaciones con o sin fundamento han sido adoptadas por la creencia popular de que los fenómenos cósmicos tienen influencia sobre el comportamiento, las enfermedades y el alumbramiento.

Es por tanto indiscutible aceptar que la actividad de los organismos vivos no es constante, por el contrario, es cambiante y algunas de estas variaciones caecen a intervalos de tiempo fijo, de tal forma que es posible hablar de actividad cíclica o rítmica. Las revoluciones cardíacas, el sueño y la vigilia y la función ovárica, son ejemplos de fenómenos que se repiten periódicamente, con intervalos de tiempo que pueden variar desde segundos, hasta minutos, horas, días o años.

"La fixeté du milieu interieur", es un concepto entronizado y sostenido firmemente por Claudio Bernard; Cannon introdujo el término Homeostasis para designar a la supuesta estabilidad del ser vivo, para tal como Richet afirmaba "no ser destruido, disuelto o desintegrado por las fuerzas colosales, a menudo adversas que nos rodean". Para mantener esta estabilidad, el ser vivo debe de reaccionar y adaptarse continuamente a estos cambios. Ya que en sentido estricto se es modificable para poder ser estable. En la ac-

tualidad concebimos este medio interno como una entidad cambiante, constituida por un ritmo de diferente duración que resulta de la suma de un sinúmero de componentes de duración más o menos variable.

La importancia de la periodicidad en los fenómenos vivos nunca ha sido subestimada, pero sólo recientemente ha sido estudiada científicamente y sistemáticamente.

Un concepto fundamental es aquel que se refiere a la duración o período de un fenómeno cíclico. En este trabajo nuestra principal preocupación ha sido el análisis de fenómenos en los cuales el intervalo de tiempo que separa dos hechos fisiológicos pueda ser considerado constante.

Aun cuando la mayoría de los autores aceptan<sup>1-5</sup> que debe de crearse una terminología internacional, en la actualidad esto no se ha logrado; ritmo, ciclo y período se usan en forma indiferente para designar las variaciones regulares de un proceso fisiológico o biológico.

Kleitman<sup>1</sup> propone reservar la palabra ciclo, para referirse a variaciones regulares intrínsecas o sea para aquellas que pertenecen al sistema biológico estudiado. La palabra ritmo estaría dedicada a designar variaciones de origen extrínseco, es decir, las impuestas al organismo por las condiciones ambientales. Esta proposición no puede ser aceptada, ya que de acuerdo con los conocimientos actuales, parece ser que la mayoría de los ciclos y ritmos biológicos son intrínsecos.<sup>2</sup>

Bunning<sup>3</sup> recomienda y usa la expresión "reloj fisiológico"; esta expresión aclara la característica intrínseca de los

palabras, existe una coordinación temporal entre los diferentes ritmos. Halberg denomina "tiempo interno" a las relaciones temporales entre las fases de los distintos ciclos en el mismo periodo.

El tiempo externo o sea, las variaciones rítmicas ambientales día y noche, las estaciones, las modificaciones de la

endógenos y ciertas variaciones cíclicas del medio ambiente, por medio de su análisis periódico en computadoras electrónicas.<sup>11</sup>

El análisis espectral de los ritmos permite disociarlos, en lapsos de tiempo de diferente duración. Desde un punto de vista puramente homeostático la me-

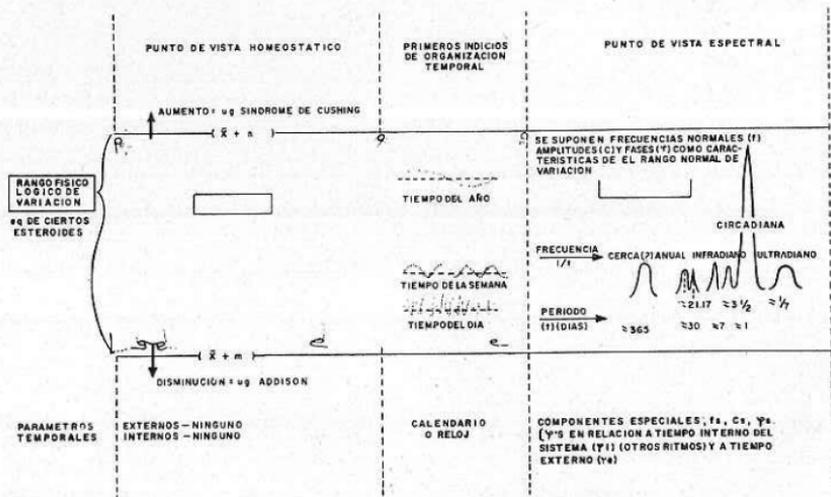


Fig. 1. Explicaciones en el texto.

temperatura, humedad, etc., contribuyen a la coordinación de los distintos ritmos internos. Tal como Halberg<sup>10</sup> lo define, el tiempo interno expresa la diferencia entre el tiempo del punto máximo de un ritmo con respecto al de otro ritmo, mientras que el tiempo externo se refiere al tiempo de un ritmo marcado en horas de reloj.

Uno de los méritos más grandes de F. Halberg es haber llamado la atención, sobre la relación que existe, primero entre los diferentes ritmos endógenos y segundo entre estos ritmos

día aritmética o rango normal, sólo se altera cuando sus valores aumentan o disminuyen significativamente alrededor de este valor. En la Fig. 1 tomada de Halberg<sup>12</sup> se ejemplifica el concepto de enfermedad corticosuprarrenal. Cuando los 17-hidroxycorticoides ascienden por arriba del rango normal, aparece la enfermedad de Cushing. Cuando por el contrario estos corticoesteroides están deprimidos, el paciente acusará los síntomas de la enfermedad de Addison.

En la parte media de la Fig. 1, se muestran los primeros indicios de orga-

nización temporal, con la aparición del calendario o reloj (tiempo externo), que nos permite reconocer la existencia de ciertas variaciones cíclicas alrededor del año, el mes, la semana o el día. Desde el punto de vista espectral, el rango normal posee frecuencias normales, amplitudes y fases, como características del tiempo normal de variación. Además del tiempo de reloj, existe el tiempo interno del sistema con respecto a otros ritmos o al tiempo externo. Por último, pueden disociarse los ritmos en períodos de 1 día, fracciones de día, 7 días, 30 días o 365 días con una frecuencia de  $1/t$ , ultradiana, circadiana, infradiana y anual. Como se comprende, el análisis espectral permite reconocer infinidad de ritmos que yacen escondidos en la media aritmética de nuestras dosificaciones sanguíneas, urinarias o de otro tipo. Por lo tanto, su reconocimiento implica el conocimiento de todo un mundo insospechado de rangos y variaciones cíclicas.

Algunos autores han considerado que la acción de las suprarrenales afecta los ritmos, pero por medio de una acción permisiva,<sup>13, 14</sup> y consideran que no es necesaria una acción fluctuante de estas glándulas para producir ciertos ritmos de excreción renal.

Otros autores<sup>15, 16</sup> han demostrado persistencia del ritmo hormonal en pacientes Addisonianos tratados con dosis fraccionadas de esteroides; sin embargo, Bartter y col.,<sup>17</sup> que estudian también varios Addisonianos, no encuentran ritmo circadiano en estos enfermos. Además la mayoría de los autores están de acuerdo en que los ritmos urinarios

normales están ausentes en presencia de niveles altos de esteroides, ya sea exógenos o endógenos.<sup>16, 18</sup>

Estudios realizados en nuestro Departamento<sup>7, 19</sup> en sujetos normales, sometidos a una dieta líquida repartida en raciones iguales, nos permitió encontrar un mapa circadiano para los 17 hidrocorticoides urinarios, el sodio, el potasio y el volumen urinario.

La Fig. 2 muestra un estudio trans-

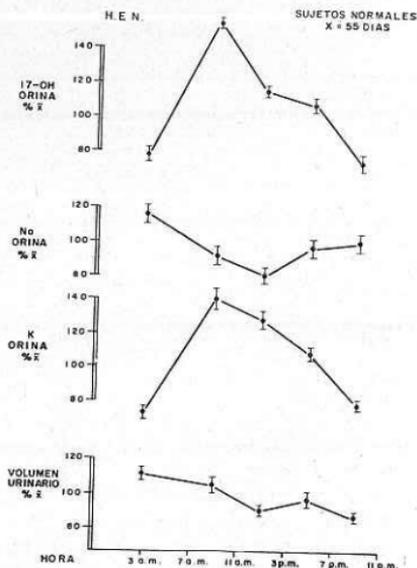


FIG. 2. Explotaciones en el texto.

versal<sup>12</sup> en el que la graficación empleada fue la siguiente: a) se calculó la media de cada día individual con su desviación en por ciento de variación de la media; b) después de cada valor tomado a la misma hora y en diferentes días expresado en por ciento de la media, se obtuvo un valor promedio

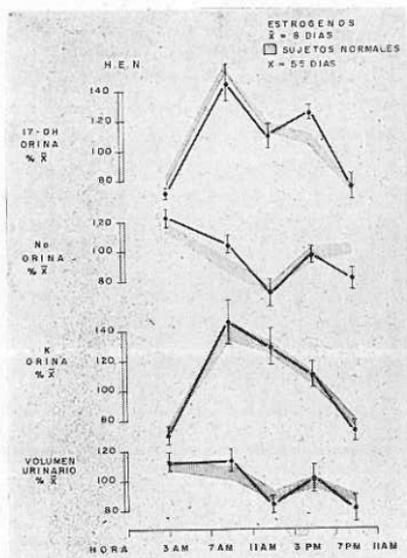


FIG. 3. Explicaciones en el texto.

para cada una de las fracciones de día estudiadas; *c*) finalmente se tomó el error "estandar" para cada valor y se graficaron en un solo día los valores obtenidos en todos los días estudiados bajo las mismas condiciones metabólicas.

La figura representa 55 días de estudios en ocho sujetos normales (7 mujeres y un hombre). Sobre las ordenadas se graficó el valor promedio ( $\bar{X}$ ) de cada fracción de día, con su error "estándar" y sobre las abscisas el tiempo en horas del día.

La forma general de la curva de los 17-hidrocorticoides, tiene su máxima excreción entre las 7 y 11 a.m. y su mínima excreción entre las 7 y 11 p.m. Si consideramos a las 17-hidrocorticoides como el "tiempo interno" o sin-

cronizador, observamos que el potasio es paralelo en excreción a los 17-hidrocorticoides, con valores máximos de potasio entre las 7 y 11 a.m. y valores mínimos entre las 7 y 11 p.m.

El sodio y el volumen urinario están fuera de fase con respecto a los 17-hidrocorticoides y el potasio por más de 100°.

Esta curva normal fue comparada, contra la curva de sujetos normales, sometidos a la acción de los estrógenos, como se observa en la Fig. 3. Como claramente se demuestra, ambas curvas se superponen.

Por el contrario, cuando se administra dexametasona los ritmos se desincronizan con respecto al normal. La Fig. 4 es un ejemplo de este efecto; los 17-hidrocorticoides están fuera de fa-

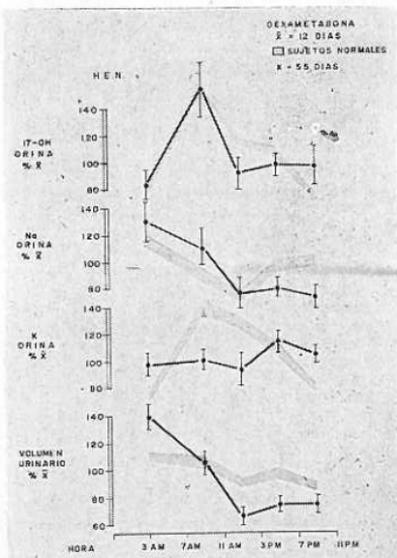


FIG. 4. Explicaciones en el texto.

se con respecto al ritmo normal y al ritmo de potasio, que está aplastado, sin poder precisar sus puntos de máxima o de mínima excreción.

Para hacer este efecto más claro, en

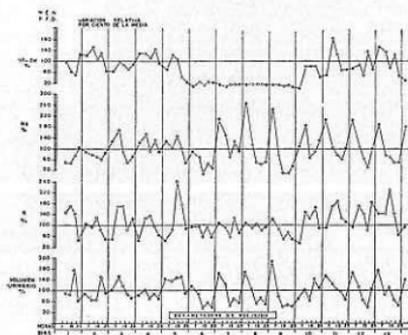


FIG. 5. Explicaciones en el texto.

la fig. 5 se presenta un estudio "longitudinal",<sup>12</sup> graficado en variación por ciento de la media. Sobre las ordenadas y sobre las abscisas, el tiempo en horas y en días. Esta figura demuestra el ritmo paralelo de los 17-hidroxicorticoides y del potasio, perfectamente sincronizados, de tipo diurno-nocturno. Cuando se somete al sujeto a dexametasona constante, el ritmo se aplanan y desaparece, para reaparecer con las mismas características una vez suspendido el medicamento. También es interesante señalar la ausencia de efecto del esteroide sobre los ritmos de sodio y volumen urinario. Este hecho sería una demostración más de la falta de paralelismo entre 17-hidroxicorticoides y potasio contra sodio y volumen urinario.

Estos mismos parámetros fueron estudiados en pacientes con enfermedad

de Addison sometidos a una ingestión e 6.25 mg. de acetato de cortisona cada 6 horas. En la Fig. 6 se compara nuevamente la curva normal punteada contra la línea continua. Los valores de 17-hidroxicorticoides son planos a las 7 a.m. lo que contrasta con los normales que tienen su máxima excreción a esa hora. El potasio también se

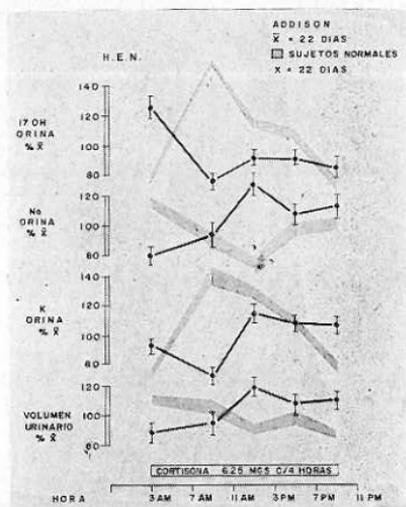


FIG. 6. Explicaciones en el texto.

observa aplanado, su excreción es inversa a los normales y guarda cierto paralelismo con los 17-hidroxicorticoides. El sodio y el volumen urinario son paralelos con su máxima excreción a las 11 a.m. El sodio y el volumen urinario tienen su mínima excreción a las 11 a.m. Lo más importante de señalar, es la ausencia de ritmo en los tres enfermos estudiados. Nótese, además, que los errores estándar son pequeños.

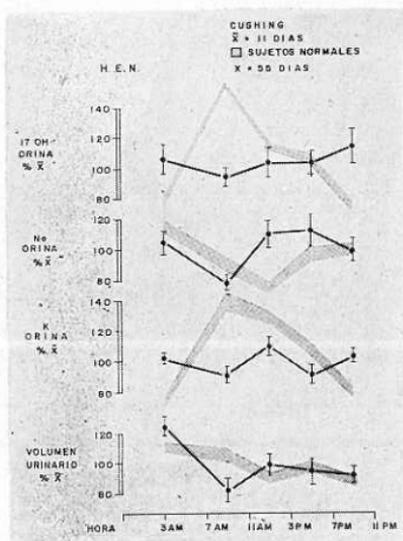


Fig. 7. Explicaciones en el texto.

La fig. 7 es un ejemplo de tres enfermos con Síndrome de Cushing, en que las variaciones de los 17-hidroxicorticoides y el potasio están perdidas, con respecto al ritmo normal.

Numerosos autores han demostrado variaciones circadianas en distintas funciones de la corteza suprarrenal. Halberg, Visscher y Bittner,<sup>20</sup> demuestran que el número de eosinófilos circulantes muestran una típica variación circadiana, con el mínimo por la mañana y el máximo por la noche. Halberg y col.<sup>9, 17</sup> en otros estudios demuestran la actividad cíclica de la suprarrenal con máxima respuesta en los horas de trabajo intenso y mínimo durante las horas de reposo. Nuestros resultados son compatibles con una mayor actividad suprarrenal por la mañana y mínima por la noche.

También se ha encontrado que los corticoesteroides plasmáticos tienen su máxima concentración entre las 4 a.m. y 6 a.m. y su mínimo, alrededor de la media noche. Las variaciones en orina están retrasadas unas horas con respecto a las oscilaciones sanguíneas, tal como se demuestra en nuestros datos, en que la máxima está entre las 7 y las 11 a.m. y la mínima entre las 7 y las 11 p.m. Es importante señalar que el aumento en la secreción de corticoesteroides sanguíneos precede por unas horas el despertar del sujeto en estudio.<sup>17</sup>

También es claro por estos y otros estudios que la eliminación de los 17-hidroxicorticoides es mayor durante las horas de trabajo que de reposo. Esto ha sido demostrado en trabajadores que cambian de turno cada dos o cuatro semanas, sin embargo, siempre se observa un claro retraso en la actividad suprarrenal mientras se ajustan al nuevo horario.<sup>21</sup>

Comentario especial merece el hecho de que el ritmo de excreción de los 17-hidroxicorticoides y el potasio fue paralelo en todas las condiciones estudiadas. En los sujetos normales con y sin estrógenos, el ritmo se mantuvo inalterable. Sin embargo el exceso de esteroides inhibe la hipófisis tal como se observó en el sujeto tratado con dexametasona y hace desaparecer rápidamente las oscilaciones rítmicas tanto de los 17-hidroxicorticoides como del potasio. Esta alteración es semejante a la encontrada en enfermos con síndrome de Cushing en que el ritmo de los 17-hidroxicorticoides y del potasio han desaparecido. Ambas situaciones hablan de que tanto la hiperfunción de

la glándula como la administración exógena de corticosteroides provocan un trastorno muy semejante en el ritmo de la corteza suprarrenal. Por otra parte, la insuficiencia suprarrenal secundaria a panhipopituitarismo<sup>7, 19</sup> o a enfermedad de Addison, traen como consecuencia una pérdida en los ritmos de excreción de 17-hidroxycorticoides y de potasio. Esto sugiere que tanto el déficit hipofisiario como suprarrenal, es capaz de producir pérdida del ritmo, en lo que se refiere a la excreción de los 17-hidroxycorticoides y del potasio urinarios. Los pacientes con enfermedad de Addison recibieron dosis iguales de acetato de cortisona a lo largo del día, lo que lógicamente haría desaparecer la ritmicidad habitual de la glándula. Esto sugeriría que de acuerdo con el comportamiento rítmico normal de la suprarrenal, el tratamiento más adecuado de estos pacientes sería con dosis máximas de esteroides por la mañana y dosis mínimas por la noche. Si el ritmo de la suprarrenal estuviera dado por el consumo horario tisular, con dosis máximas y repartidas en tomas iguales existiría un ritmo de consumo, pero obviamente este no es el caso ya que a pesar de administrar el esteroide en esa forma el ritmo normal no aparece ni para 17-hidroxycorticoides, ni para potasio.

Es indispensable señalar que una de las razones para que se administren los esteroides en las primeras horas de la mañana, el prevenir la aparición de hipercorticismismo, ya que administrados de ese modo alterarían mínimamente el ritmo circadiano en los pacientes bajo tratamiento.

Otra relación importante es la excreción de sodio y agua en los estudios presentados en que casi siempre guardan cierto paralelismo. El ritmo de sodio es entre los electrolitos el más irregular y muchos autores aceptan que durante la noche la excreción de sodio y cloro es menor que durante el día. Wessen y Lauer,<sup>22</sup> relacionan la excreción de sodio a variaciones en la filtración glomerular. Sin embargo, Sirota y col.<sup>23</sup> no encontraron cambios importantes en la filtración glomerular durante las 24 horas.

Como se observa en la Fig. 2, el sodio tuvo su máxima excreción por la noche, mínima en el día en los 55 días de estudio acumulados en ocho sujetos normales; y estos hallazgos no coinciden con los resultados de otros autores.<sup>17, 22, 23</sup> Sin embargo, el ritmo de sodio es muy irregular de uno a otro sujeto estudiado por unos y otros investigadores.

En un caso estudiado<sup>7</sup> después de la estimulación con HACT a las 8 a.m. y a las 8 p.m. la eliminación de 17-hidroxycorticoides fue mayor por la mañana y menor por la noche, lo que dio a la curva una morfología irregular. Galicich y col.<sup>9</sup> encontraron que si se extraen las suprarrenales de ratones a distintas horas del día y se incuban con una cantidad constante de HACT, la producción de cortisol es mayor en las glándulas extraídas a las 8 a.m. que en las resecaadas de las 8 p.m. en adelante. Volviendo a nuestro caso, es posible aceptar que los resultados obtenidos con una estimulación semejante, fueran diferentes, porque la capacidad de respuesta de la suprarrenal

está en relación con sus variaciones rítmicas endógenas. Esta observación estaría de acuerdo con el hecho de que la suprarrenal tiene una secreción máxima por la mañana y mínima por la noche en los sujetos con un horario de actividad diurno-nocturno y en condiciones semejantes. O sea, que los órganos endocrinos, en este caso la suprarrenal, tendrán un ritmo de respuesta que dependerá en gran parte de su ciclo circadiano y no necesariamente del estímulo trófico-exógeno por intenso que éste sea.

Es indudable que el análisis periódico de los ritmos biológicos por medio de computadoras electrónicas permitirá que los datos presentados sean analizadas en forma más adecuada y en el futuro podremos hablar del tiempo interno de los ritmos, de su período, de su sincronización o del "escape" de los mismos, Y además, permitirá conocer el tiempo óptimo de aplicación de medicamentos y las horas en que el organismo se defiende mejor de agentes agresores.

#### SUMMARY

An introduction to biologic rhythms is made and the circadian rhythm is discussed according to Halberg's definition. The temporary interrelationship between adrenal function and certain details of renal excretion are discussed.

In a "transversal" study of eight normal persons studied for fifty-five days, a parallel rhythm of 17-hydroxycorticoids and urinary potassium was found in accordance with the findings of other authors. On the other hand,

sodium values and urinary volume were not synchronized with the before mentioned rhythms.

The effect of different drugs on normal individuals and their rhythms were studied. Estrogens do not change the oscillations of 17-hydroxycorticoids or potassium, but dexametasone does change the rhythms in both the "transversal" and "longitudinal" studies. Corticotrophin makes the oscillations irregular for hydroxycorticoids and potassium, and flattens them for sodium and urinary volume.

Patients with Addison's disease under treatment do not have circadian rhythm. This same abnormality was observed in patients with panhypopituitarism who were not under treatment. In patients with Cushing's disease the normal rhythm of 17-hydroxycorticoids and potassium is absent.

This study of the rhythms shows that both excess and deficit of glucocorticoids abolish the normal rhythms of 17-hydroxycorticoids and urinary potassium hydroxycorticoids and urinary potassium.

The author stresses the fact that in the future, this type of study elaborated with periodic analysis with electronic computers will allow us to know the moment drugs should be prescribed and the hours in which the human body defends itself best from aggression.

#### REFERENCIAS

1. Kleitman, N.: *Biological rhythms and cycles*. *Physiol. Rev.* 29: 1, 1949.
2. Halberg, F.: *The 24 hour scale: A time dimension of adaptive functional organization*. *Perspective in Biology and Medicine* 3: 491, 1960.

3. Bunning, E.: *Die physiologische Uhr. Zeitmessung in Organism mit ungejähr tagesperiodischen Schwankungen.* Vol. 1, Berlin, Springer, 1963.
4. Bunning, E.: *Mechanisms in circadian rhythms: functional and pathological changes resulting from beats and from rhythm abnormalities.* New York, Acad. Sc. 98: 901, 1962.
5. Imrie, M.J., Mills, J. N. y Williamson, R.S.: *Circadian variations in renal and adrenal function. Are they connected?* En: Williams, P. C.: Hormones and the kidney. London, New York, 1963.
6. Mills, J. N.: *Human circadian rhythms.* Phys. Rev. 46: 178, 1966.
7. Peña, J.C., Herrera, J., Pancardo, R. M., Rojo, B. y Gual, C.: *Variación circadiana en la excreción urinaria de sodio y potasio, agua y 17-hidroxycorticoides urinarios, en diferentes condiciones metabólicas.* Rev. Inv. Clin. 18: 141, 1966.
8. Aschoff, J.: *Exogene und endogene Komponente der 24-Stunden-Periodik bei Tier und Mensch.* Naturwissenschaftler. 42: 569, 1955.
9. Galicich, J.H., Halberg, F., French, L. R. y Ungar, I.: *Effect of cerebral ablation on a circadian pituitary adrenocorticotrophic rhythm in C mice.* Endocrinology 76: 895, 1965.
10. Halberg, F.: *Temporal coordination of physiological function.* Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol 25: 289, 1960.
11. Halberg, F.: *Periodicity analysis. A potential tool for biometerologists.* Int. J. Biometerol. 7: 167, 1963.
12. Halberg, F.: *Some aspects of biological data analyses; longitudinal and transverse profiles of rhythms.* Circadian Clocks. Amsterdam, North-Holland Publishing, Co. 1965, p. 13.
13. Nabarro, J.: *Diurnal rhythm of renal excretion.* En: *Modern views on the secretion of the urine.* Ed. P.R. Winton, London, Churchill. 1956, p. 172.
14. Ingle, D.J.: *The role of the adrenal cortex in homeostasis.* J. Endocrin. 8: 23, 1952.
15. Rosenbaum, J.D., Papper, S. y Ashley, M.M.: *Variation in renal excretion of sodium independent of change in adrenocortical hormone dosage in patients with Addison's disease.* J. Clin. Endocrin. 15: 1459, 1955.
16. Doe, R.P., Vennes, J.A. y Flink, E.B.: *Diurnal variation of 17-hydroxycorticosteroids, sodium, potassium, magnesium and creatinine in normal subjects and cases of treated adrenal insufficiency and Cushing's syndrome.* J. Clin. Endocrin. 20: 253, 1960.
17. Bartter, F.C., Delea, C.S. y Halberg, F.: *A map of blood and urinary changes related to circadian variations in adrenal cortical function in normal subjects.* New York Acad. of Sc. 98: 96, 1962.
18. Rosenbaum, J.D., Ferguson, B.C., Davis, R.R. y Rossmesil, E.C.: *The influence of cortisone upon the diurnal rhythms of renal excretory function.* J. Clin. Invest. 31: 507, 1952.
19. Peña, J.C., Gual, C., Herrera, J., Vaca, M. y Monge, B.: *Circadian variation in the urinary excretion of Na, K, water and 17-hydroxycorticosteroids in different metabolic conditions.* (Resumen). VI Congreso Panamericano de Endocrinología, México, Ed. Excerpta Médica Int. Congress Series, No. 99, Amsterdam, 1965, p. 137.
20. Halberg, F., Bittner, J.J. y Visscher, M.B.: *Diurnal rhythm in tail blood eosinophil levels.* Cancer Res. 2: 253, 1951.
21. Lewis, P.R. y Lobban, M.C.: *Dissociation of diurnal rhythms in human subjects living an abnormal time routines.* Quart. J. Exp. Physiol. 42: 371, 1957.
22. Wesson, L.G. y Lauler, D. P.: *Diurnal cycle of glomerular filtration rate and sodium and chloride excretion during responses to altered salt and water balance in man.* J. Clin. Invest. 40: 1967, 1961.
23. Sirota, H., Baldwin, D. S. y Villarreal, H.: *Diurnal variation of renal function in man.* J. Clin. Invest. 29: 187, 1950.