

## Cronobiología en medicina y cirugía

Agustín Portela,\* Edwin Martín,\* Hugo Aréchiga,\*\* Germaine Cornelissen,\* David Sutherland,  
Juan Carlos Illera, Martín Illera, Franz Halberg\*

### Resumen

*La cronobiología estudia variaciones predecibles que se producen en todas las formas de vida, es decir, los ritmos y las tendencias. Cada variable o sistema fisiológico presenta una estructura en el tiempo la cual está cifrada genéticamente, y puede expresarse en ausencia de variaciones cíclicas ambientales sin embargo, normalmente, los ritmos biológicos están ajustados a ciclos geofísicos. La cronobiología también cuantifica las características de los ritmos biológicos, aportando medidas de la amplitud y del tiempo (fase y período) y una media normalmente más precisa y más correcta que la media aritmética. La correcta medida de los ritmos biológicos ha permitido avances de consideración en el conocimiento de sus mecanismos fisiológicos de origen y expresión. El empleo de la información sobre estos ritmos en medicina está abriendo nuevas perspectivas en la prevención diagnóstica y tratamiento de las enfermedades. Asimismo la cronobiología tiene aplicaciones en el mejoramiento de la calidad de vida pues facilita al individuo el realizar un autocontrol de su estado de salud.*

**Palabras clave:** Cáncer, cirugía, cronobiología, cronoma, nieidicrna, rrtmocircádico, tensión arterial

### Summary

*Chronobiology studies predictable variations, rhythms and trends in all forms of life. Each physiologic variable or system in an organism has a time structure which is genetically anchored and capable of being expressed in the absence of external cycles. However, it is normally adjusted by geophysical changes. Chronobiology quantifies rhythms by providing measures of amplitude and timing (phase and period), and a mean more precise than the arithmetic mean. The correct measurement of biological rhythms has led to considerable advances in the understanding of their underlying mechanisms of generation and expression. The use of information on rhythms is opening new opportunities in the prevention, diagnosis and treatment of disease. Chronobiology is also effective in the improvement of the quality of life by teaching self-help to the healthy individual.*

**Keywords:** Blood pressure, cancer, circadian rhythm, chronobiology, medicine, surgery

\* Laboratorios de Cronobiología, Universidad de Minnesota, MN, USA.

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España.

\*\* División de Estudios de Posgrado e Investigación Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México México, D. F.

Hospital 12 de Octubre Madrid, España

Departamento de Cirugía, Universidad de Minnesota, Minneapolis, MN, USA

Correspondencia a: suscritores de Diálogo Aréchiga División de Estudios de Posgrado e Investigación Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Posgrado de la Facultad de Medicina y Cirugía, 04510 México D. F.

## Introducción

En numerosos estudios se ha demostrado que los fenómenos de la vida varían de manera rítmica en una amplia gama de frecuencias, desde  $10^{-3}$  Hz hasta  $10^6$  Hz. Algunos de estos ritmos están claramente vinculados con ciclos geofísicos, como los de rotación y traslación terrestres.

Sin embargo, también dependen de factores genéticos, persisten en ausencia de cambios rítmicos ambientales, geofísicos o sociales, incluso se mantienen en la oscuridad o en luz continua;<sup>1-8</sup> además, se ajustan a dichos cambios de una manera estructurada. En ausencia de ciclos ambientales (p.e. en estudios de aislamiento realizados en cuevas) estos ritmos persisten, aunque con periodos diferentes a los que se expresan bajo la influencia de los ciclos ambientales. Se denominan ritmos 'circa' por dos razones, a) por su proximidad a un cierto período geofísico o social (p.e. los circádicos o circadianos, son cercanos pero diferentes de 24 horas; los circaseptanos, de aproximadamente 1 semana, pero no exactamente; los circanuales, de aproximadamente 1 año), y b) por la incertidumbre estadística de la duración del período, que resulta de la interacción de diferentes factores que contribuyen a éste cada día. El sustrato fisiológico de la generación de estos ritmos ha sido ampliamente analizado. Se conoce la existencia de regiones específicas en el sistema nervioso, dotada; de la propiedad de producir señales de tiempo periódicas y se tiene ya amplia información sobre los mecanismos celulares y moleculares que generan a los ritmos biológicos.<sup>9</sup> Se han descrito múltiples y complejas interacciones en el orden temporal de las distintas funciones corporales.<sup>6, 10, 11</sup>

La cronobiología tiene como objeto de estudio las variaciones que ocurren en el tiempo en todas las formas de vida. Su objetivo es cuantificar e investigar los cambios y los mecanismos temporales de la estructura biológica, el cronoma.<sup>12</sup> Así, el cronoma de una variable o de un sistema fisiológico se define como el conjunto de variaciones predecibles y de variaciones no resueltas. La variación aún no resuelta es la varianza residual o ruido, y la variación predecible es el conjunto de ritmos y tendencias que presenta dicha variable o sistema. Para la detección de estos ritmos y ten-

dencias se emplea una serie de métodos matemáticos, que sirven, además para estimar las características del ritmo (ver apéndice) o crones.<sup>13</sup> Los ritmos constituyen un espectro matemático de frecuencias y en sus características se pueden observar las tendencias que se presentan con la edad, el aumento del riesgo, la enfermedad y con el tratamiento, entre otros.

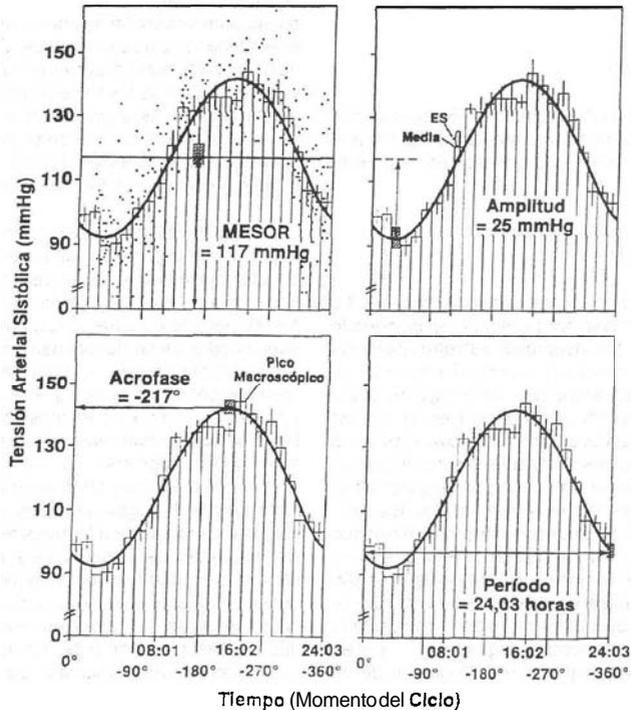
Considerando estos hechos, parece razonable pensar que la cronobiología tiene la capacidad de responder a la necesidad de estudiar los mapas rítmicos, para poder interpretar el riesgo de enfermedad guiada por unos patrones rítmicos de referencia. Además, puede emplear los ritmos para monitorizar la integridad de nuestro ambiente, e incluso manipularlo para disminuir los riesgos,<sup>14</sup> p.e. en el caso de la contaminación ambiental que conduce a una alteración del flujo respiratorio máximo.

Para una mejor comprensión de estos nuevos conceptos y métodos, se ha desarrollado un glosario especial, que se presenta en el apéndice de este artículo.<sup>13</sup> A continuación revisaremos brevemente las características temporales de los ritmos biológicos en las frecuencias más comunes, y en la figura 1 se ilustran las características más comúnmente estudiadas en ritmos biológicos.

### Ritmo circádico

Ritmo cuyo período es aproximadamente de 24 horas ( $24 \pm$  aproximadamente 4 horas). Por ejemplo, el ritmo circádico de la tensión arterial, el cual normalmente está sincronizado por la vida social con un período medio de 24 horas<sup>15, 16</sup> y que persiste durante el aislamiento social con un período en libre curso que suele ser mayor que 24 horas. En la figura 1 el período estimado es ligeramente diferente de las 24 horas exactas y, en este caso, el intervalo de confianza del 95% incluye las 24 horas, lo cual significa que el ritmo de 24:03 horas no es estadísticamente diferente de las 24 horas. Es importante mencionar además, que la persona estudiada dormía diariamente desde aproximadamente las 22:30 hasta aproximadamente las 06:30, y que la pequeña desviación del período (0,03 horas) no se añadía día a día hasta originar una desincronización del día social. Para demostrar la presencia de una desincronización

Características de los ritmos en cronobiología. Esta figura muestra los cambios en la tensión arterial diaria de una mujer sana (mesor, amplitud, acrofase y periodo) desde un punto de vista cronobiológico



Intervalo de confianza (95%)

Figura 1. La cronología proporciona un mesor e igual que en el sistema, al menos una información más precisa y correcta que la media aritmética, y nuevos parámetros o normas con diferentes márgenes de normalidad.

circádica, el período debe ser estadísticamente diferente de 24 horas y la fase debe estar a la deriva; es decir, la fase se producirá cada vez más tarde si el período es mayor que 24 horas (retraso de la fase) y cada vez más temprano si el período es menor que 24 horas (avance de la fase). Si el electrocardiograma (ECG) y el electroencefalograma (EEG), que normalmente se miden en la consulta del médico durante intervalos cortos, se midiesen no sólo durante un día sino durante varios días, quedaría de

manifiesto un amplio espectro de ritmos y también de tendencias.

#### Ritmo ultradiano

Ritmo cuyo período es menor de aproximadamente 20 horas. Por ejemplo, los ciclos de sueño/vigilia de aproximadamente 90 minutos<sup>5</sup>.<sup>17</sup> en pacientes con narcolepsia. Los clásicos ritmos

específicos del electrocardiograma y el electroencefalograma también están calificados como ultradianos.<sup>3, 15</sup>

### Ritmo infradiano

Ritmo con un ciclo en más de 28 horas aproximadamente. Esta es una amplia categoría, que comprenda dominios temporales como los siguientes:

#### Ritmo multiseptano

Ritmo con período de aproximadamente 3.5 días (circa-semiseptano) y ritmos con un período de  $\approx 1$  semana (circaseptano) o en otros múltiplos del período circaseptano, como el ritmo de  $\approx 28$ -30 días (ritmo circatrigentano). Un ejemplo de estos ritmos multiseptanos se observa en la tensión arterial humana, cuyo cronoma incluye además de estos componentes multiseptanos otro infradiano (circanual). Para el ritmo circádico y algunos ultradianos en el caso de los recién nacidos, los componentes multiseptanos son más prominentes que los circádicos, mientras que en los adultos el ritmo circádico es el más notorio. En el caso de la tensión arterial de las mujeres, es interesante mencionar que el ritmo circaseptano e incluso el circatrigentano persisten también durante la gestación,<sup>18</sup> aun en ausencia de la menstruación. Otro ejemplo de los ritmos multiseptanos se observa en los episodios de rechazo de trasplante renal en ratas, los cuales son más probables en el 7°, 14°, 21° día o en otros intervalos de 7 días después de la operación.<sup>19, 46, 48</sup> Los ritmos de la muerte súbita o de las muertes por enfermedades cardíacas en la población, son circasemiseptanos y/o circaseptanos.<sup>20</sup> Y como otros ejemplos de ritmicidad circatrigentana tenemos el ciclo menstrual o el peso corporal en ambos sexos.<sup>21</sup>

#### Ritmo circanual

Ritmo con período de aproximadamente un año. Estos componentes del cronoma son muy importantes como clasificadores de riesgo de en-

fermedad, observando p.e. que el componente circanual del cronoma de la aldosterona es menos prominente cuanto más alto es el riesgo familiar o personal de desarrollar hipertensión arterial u otras enfermedades cardiovasculares. Otros ejemplos de ritmicidad circanual son el incremento de peso y el crecimiento de los recién nacidos, particularmente durante los primeros años de vida,<sup>22</sup> así como el número de neuronas de los núcleos supraquiasmáticos que producen vasopresina,<sup>23</sup> y el peso gonadal en diferentes animales.<sup>24</sup>

Aunque la clasificación de los ritmos en estas tres grandes categorías -ultradiana, circádica e infradiana- se suele hacer de acuerdo con su frecuencia, en este caso se ha hecho de acuerdo con su período para mejor comprensión. Los ritmos ultradianos se denominan así por analogía con los ultrasonidos y las radiaciones ultravioleta (para frecuencias mayores que las audibles y las visibles) y los ritmos infradianos por analogía con las radiaciones infrarrojas (para frecuencias menores que las audibles y las visibles).

Asimismo, es importante tener en cuenta que cada función biológica presenta un cronoma o conjunto de ritmos de diferentes frecuencias, los cuales pueden ser observados si el intervalo de tiempo investigado es suficientemente largo. Así por ejemplo, si se mide la tensión arterial durante años o décadas, se pueden observar las variaciones que ésta experimenta, no sólo en un día (circádica), sino en una semana (circaseptana), un mes (circatrigentana), un año (circanual) y en un ciclo solar (11 años), la cual ha sido demostrada recientemente.<sup>25</sup> Si estas mediciones se llevan a cabo desde el nacimiento, se puede observar cómo en la tensión arterial de los recién nacidos, los ritmos multiseptanos son más prominentes que el ritmo circádico.<sup>24</sup>

En la figura 2, se contrasta la visión cronobiológica de la biología (derecha) con el punto de vista habitual, basado en escasas medidas ocasionales (izquierda). La homeostasis sostiene que una serie de mecanismos reguladores mantiene la constancia del medio interno corporal, por lo que cualquier cambio que se produzca en las funciones biológicas será compensado, tendiéndose a mantener un equilibrio, el cual se ha interpretado erróneamente como invariancia. Cuando se usan

monitores fisiológicos, los cuales proporcionan gran densidad de datos durante largo tiempo, suele observarse una gran variabilidad que puede ser resuelta, en parte, en ritmos macro y microscópicos y en tendencias. Por tanto, estas variaciones no son el resultado de la regulación para el mantenimiento de la constancia, sino que son mecanismos fundamentales de la vida que aseguran la coordinación en el tiempo, integrando funciones tan diferentes como el latido del corazón y el ajuste de las funciones endócrinas según las estaciones del año.

Debido a las dificultades existentes para medir los cambios fisiológicos en el tiempo, los fisiólogos del siglo XIX (y muchos en el siglo XX), no sabían que en el cuerpo se da un conjunto de cambios rítmicos. Pero aun que estos cambios tengan lugar de forma predecible, una sola medida de la temperatura corporal o una sola muestra sanguínea, por

ejemplo, obtenidas sin conocer los patrones rítmicos de un individuo y sin especificación del tiempo, no proporcionan una información realista y dinámica de su estado de salud.<sup>14</sup> El estudio de las tendencias rítmicas en las diversas funciones corporales, tiene evidentes implicaciones para la medicina y la calidad de la vida.<sup>26</sup>

### Importancia médica de la cronobiología

Gracias a la cuantificación de los ritmos, hoy en día se pueden diagnosticar algunas enfermedades que antes pasaban inadvertidas. A continuación se expondrán algunos, entre los muchos ejemplos de contribuciones de la cronobiología a la medicina. Según la Organización Mundial de la Salud, los límites para el diagnóstico de hipertensión

## DE LA HOMEOSTASIS A LA CRONOBIOLOGÍA

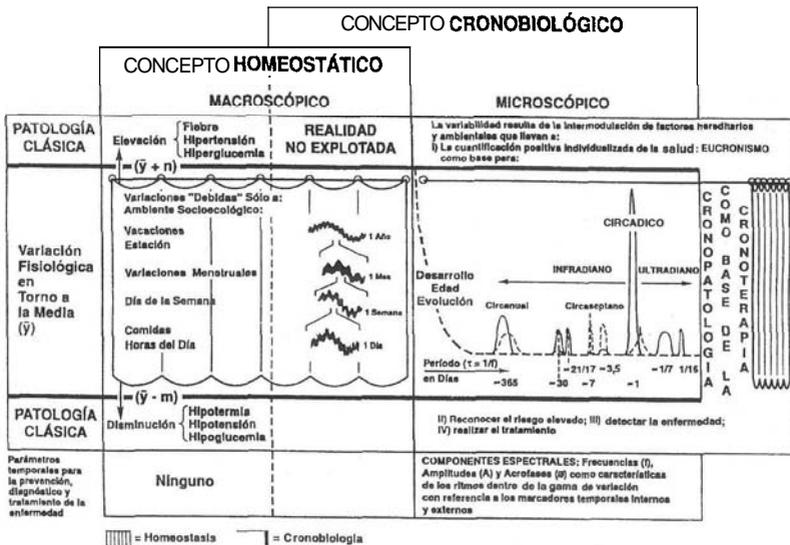


Figura 2 La interpretación fisiológica de los cambios diarios (circádicos) de muchas variables así como los cambios de baja frecuencia (infradianos) necesitan ser revueltos por los nuevos conceptos cronobiológicos. Estos cambios no pueden ser ignorados por las suposiciones simplistas sobre la homeostasis.

arterial en una persona, son 140 mmHg para la tensión arterial sistólica y 90 mmHg para la tensión arterial diastólica. Por tanto, las personas cuyos valores de tensión arterial (TA) se encuentren dentro de estos límites, son consideradas como normotensas. Desde el punto de vista hemostático, una medida de la TA por encima de estos valores indica hipertensión, mientras que una medida por debajo de estos valores normales indica hipotensión. La cronobiología considera, sin embargo, que las medidas aisladas proporcionan una información importante pero insuficiente; por lo que resulta conveniente compararlas medidas aisladas de la TA (baja o alta) en un momento del día con un patrón conocido del ciclo de la TA diaria; este patrón para medidas especificadas en el tiempo se denominará cronodesmo (Figura 3). De esta forma se podrá determinar realmente si esa medida está fuera o dentro del margen aceptable. En la figura 3 por ejemplo, un valor que se encuentre en la mitad de la figura de la izquierda, dentro de la zona gris y próximo al límite superior (aceptable), unas horas antes estaría por encima de dicho límite superior (no aceptable). Pero para determinar las características del ritmo se necesitan, al menos, 3 medidas equidistantes, aunque sea preferible tener muchas más. Se puede determinar de esta forma la incertidumbre de los parámetros del ritmo.

Los ritmos pueden abrir perspectivas a métodos nuevos y altamente efectivos para el manejo de las alteraciones de la TA.<sup>15</sup> Con el uso de metodología cronobiológica actualmente se ha podido diferenciar un grupo de individuos, considerados como normotensos, pues sus valores sistólico y diastólico medios de la TA no exceden los límites normales, sin embargo presentan una amplitud excesiva (fuera de los márgenes cronobiológicos considerados como normales, es decir, los cronodesmos). Los valores de la TA de estos individuos presentan una gran oscilación durante el día, alcanzando valores máximos normalmente por la tarde, y mínimos normalmente durante las primeras horas de sueño. Se cuantificó cronobiológicamente la excesiva variación de la TA sistólica, pero más importante fue la demostración de que el exceso de amplitud circádica es un signo previo al desarrollo de hipertensión arterial, y está asociado también al desarrollo de una hipertrofia ventricular izquierda.<sup>27</sup>

Un caso interesante fue el estudiado en una mujer embarazada que presentaba una excesiva amplitud de la TA sistólica, esto hizo sospechar posibles complicaciones, por lo cual parecía aconsejable recomendar reposo a la paciente, pero debido al desconocimiento de estos nuevos conceptos y a que presentaba unos valores de TAS dentro de los normales (115 mmHg), no se consideró oportuna dicha recomendación. Posteriormente desarrolló una eclampsia cuya consecuencia fue el nacimiento de un bebé prematuro, además del riesgo materno que esto supuso.<sup>28</sup> Se ha comprobado que las probabilidades de desarrollar nefropatías e isquemia cerebral<sup>29</sup> son mayores en individuos que presentan una excesiva amplitud diastólica, tanto los diagnosticados como normotensos como en los que se identifica hipertensión arterial.

Con el empleo de la metodología cronobiológica tenemos al alcance nuevos métodos de diagnóstico y también de tratamiento.

Muchos de los datos cronobiológicos van a permitir nuevas aplicaciones en Medicina. Diversos autores han comprobado que los infartos de miocardio son más frecuentes alrededor de las 9 de la mañana que sobre las 11 de la noche<sup>20</sup> y se producen con mayor frecuencia los lunes<sup>20,27</sup>. Así, el conocimiento de estos ciclos cronobiológicos y de los mecanismos fisiológicos que los determinan, pueden ser muy importantes en el diagnóstico, tratamiento y prevención de algunas de las enfermedades de mayor relevancia en la actualidad.

## Diagnóstico

El diagnóstico temprano de dos enfermedades muy comunes hoy en día, como son la hipertensión arterial y el cáncer de mama, se afina considerablemente si se cuenta con información sobre las fluctuaciones rítmicas de algunas variables fisiológicas (como la TA, la temperatura superficial o los marcadores tumorales) durante largo tiempo, para así observar el cambio aue se produce en sus patrones diarios o semanales, p.e., y obtener además las características del ritmo (mesor, amplitud y acrofase) de estas variables.

Para poder realizar un diagnóstico temprano sería conveniente la monitorización inicial de las

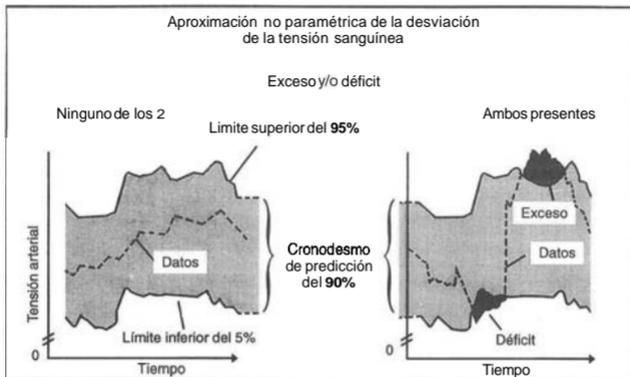


Figura 3. Los cronodismos son límites de referencia especificados en el tiempo, que tienen en cuenta los cambios de los ritmos a lo largo del tiempo.

variables fisiológicas escogidas, durante más de 24 horas. En el caso de la hipertensión arterial sería preferible hacerla con un monitor automático y si esto no fuese posible, mediante mediciones manuales que pueden ser realizadas y analizadas cronobiológicamente por el propio individuo. En cuanto al diagnóstico temprano de los tumores, se propuso una clasificación para determinar en las personas el riesgo de desarrollar tumores de mama, mediante el control endócrino de una muestra sanguínea especificada en el tiempo,<sup>3c</sup> determinando en ese momento la intermodulación de diferentes ritmos. Es decir, el análisis de estos marcadores endócrinos de riesgo, las hormonas, así como los marcadores tumorales\* promete ser una alternativa para futuros trabajos. En el caso de que empleando esta clasificación endócrina, una sola muestra de sangre sugiera que existe una elevación del riesgo, se recomiendan entonces otra serie de procedimientos y un seguimiento cercano del desarrollo de la enfermedad.

Actualmente el costo de las determinaciones de los marcadores tumorales es muy elevado para usarlos de manera habitual, en el diagnóstico o en la cronoterapia. La ritmometría de los marcadores todavía necesita documentarse con nuevas investigaciones y a veces que la profesión médica y el público estén convencidos de la utilidad de la ritmometría mediante el empleo de marcadores. La demanda de ésta reducirá el costo y hará que el procedimiento sea asequible, sobre todo si la obtención de muestras se lleva a cabo por parte de pacientes sin que exista costo alguno (como es la obtención de muestras de saliva y orina).

Es necesario conocer las fluctuaciones propias de cada paciente, así como las características individuales del ritmo (mesor, amplitud y acrofase) de cada variable, para poder comparar, en sucesivas ocasiones, estas características con las obtenidas en nuevas monitorizaciones o análisis y lograr un rápido diagnóstico ante cualquier alteración de las mismas.

Como se observa en la figura 4, dos individuos pueden presentar patrones diarios de la TA muy diferentes: ambos pueden tener el mismo mesor ( $M = 130$  mmHg), pero sus amplitudes pueden ser realmente diferentes ( $A = 30$ ,  $1$  y  $A = 8$ ,  $1$  mmHg). En caso de presentarse alguna alteración, cada uno de ellos deberá recibir un cuidado distinto. Pero hoy en día, aunque se conozcan las fluctuaciones rítmicas de la TA, la práctica más frecuente es tomar una sola medida de la TA en un momento indeterminado. Esta práctica necesita ser reemplazada por una monitorización, que en muchas ocasiones debería extenderse no sólo durante las 24 horas, sino también día a día, puesto que a veces una monitorización corta no es suficiente para un diagnóstico apropiado del momento del tratamiento. Hay pacientes que presentan una TA elevada sólo durante la noche, y a menos que se monitorice la TA durante un período de 48 horas y se interpreten los datos adecuadamente, estas tensiones anormales pueden no ser detectadas o también puede ocurrir que pacientes quienes sim-

plemente tengan una "hipertensión de consulta" estén bajo tratamiento.

### Tratamiento

El momento en que el paciente recibe el tratamiento puede ser crucial. Existe una larga lista de fármacos que pueden ser administrados y tolerados en un momento dado, sin que produzcan

Asimismo, se ha observado que una dosis de radiación, que en un momento del día es capaz de matar un ratón, resulta mucho menos tóxica en otro momento.<sup>1, 35, 36</sup> Esta mayor sensibilidad de las células tumorales a la radiación en un momento del día que en otro, se demostró también en pacientes con un cáncer perioral en estado avanzado, a los cuales se administró radioterapia en el momento en que la temperatura (ritmo marcador) del tumor presentaba su pico; a los dos años de

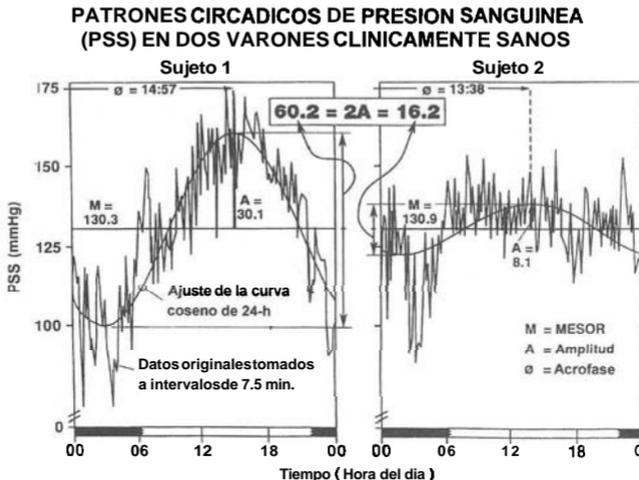


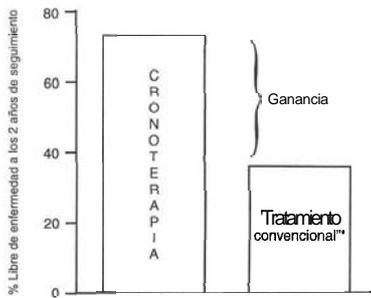
Figura 4. La amplitud del ritmo circadiano en un individuo puede ser grande o pequeña, pero de betenene cuenta al medir la tensión arterial.

efectos secundarios obvios, pero la misma dosis administrada 12 horas antes o después, puede matar a la mayoría de los animales expuestos a ella.<sup>31 - 34</sup> En el tratamiento contra el cáncer, son válidos argumentos similares, ya que existen momentos en los cuales las células tumorales son más vulnerables y los tejidos sanos más resistentes. La vulnerabilidad de las células tumorales debe ser el objetivo principal de la quimioterapia. Por consiguiente, la administración de fármacos en el momento adecuado, puede reducir significativamente la toxicidad de éstos en los tejidos sanos, pero no debe ser a costa de perder su máxima acción en las células tumorales.

seguimiento de la enfermedad, el tiempo de supervivencia fue el doble que el de un grupo de pacientes tratados no cronobiológicamente<sup>34</sup> (Figura 5). Al igual que para la quimioterapia, en el caso de la radioterapia, el tratamiento para obtener una mejor eficacia es crítico (sobre todo cuando éste puede ser guiado por ritmos marcadores), mientras que el tratamiento en el momento en que la tolerancia es óptima, debe ser únicamente una consideración secundaria. Los ritmos de algunos marcadores tumorales no invasivos, p. e. de la orina o la saliva,<sup>37, 38</sup> han sido ya determinados y se han preparado mapas en forma de cronomas, documentando no sólo los cambios de éstos du-

rante las 24 horas, sino también sus ritmos de baja frecuencia; estos mapas sirven para guiar el uso de la cronoterapia. Los marcadores, empleados como nuevas herramientas, y el precedente de la figura 5, sirven de base para la realización de trabajos prospectivos, que combinen la cronoterapia tras la cirugía; proponiendo incluso la combinación de pruebas de quimiosensibilidad y cronosensibilidad.<sup>37</sup>

La cronoradioterapia en el momento del pico circádico de la temperatura del tumor perioral humano duplica el beneficio del tratamiento



\* Principal conclusión de un estudio realizado en 52 pacientes con cáncer oral (34)

Figura 5. El beneficio de la cronoterapia.

Portanto, la cronobiología aporta a la medicina un elemento fundamental: cuándo tratar a un paciente es tan importante como la manera en que se le trate.

## Prevención

Con el fin de localizar en un grupo de recién nacidos, aquellos que presentan un riesgo familiar elevado de hipertensión arterial, es decir, que pudiesen desarrollar el padecimiento en la madurez, se les midió la TA y frecuencia cardiaca cada media hora durante 48 horas. Se observó que los recién nacidos expuestos durante la vida intrauterina a betamiméticos y los de familias con una historia de hipertensión arterial, mostraban una mayor amplitud circádica (siempre en los primeros y solamente en algunos estudios

infradianos los segundos), que los recién nacidos de familias sin historia de hipertensión arterial o no expuestos a betamiméticos.<sup>15</sup> Así, empleando estos métodos cronobiológicos en la realización de estudios en los recién nacidos, los médicos podrán identificar aquellos niños vulnerables a desarrollar hipertensión arterial. Con esta información se podrán recomendar medidas preventivas, tales como la modificación de la dieta, entre otras.

El empleo de los métodos cronobiológicos también ha permitido la demostración de la existencia no sólo de elevación del mesor circádico (aumento extremo de los valores de la TA en un día), sino de un exceso de la amplitud circádica (variación muy grande de la TA durante el día). Demostrando que en la vida adulta, el exceso de amplitud circádica va acompañado de aumento en el tamaño del corazón (observado mediante ecocardiografía)<sup>27</sup>, y este exceso de la amplitud precede a la elevación del mesor (media de 24 horas) de la TA<sup>29</sup>. Es en este momento cuando se recomienda un tratamiento preventivo especificado en el tiempo, el tratamiento debe realizarse únicamente en el momento en que la TA es alta; por ejemplo, no tiene sentido un tratamiento antihipertensivo durante las 24 horas del día si sólo existe hipertensión arterial nocturna. Inicialmente se recomienda una modificación del estilo de vida y posteriormente, si con esta medida no se obtiene un buen resultado, se recomienda la administración de fármacos para prevenir la hipertensión arterial. Asimismo, la monitorización cronobiológica de las contracciones ventriculares prematuras puede revelar la existencia de grupos de pacientes de alto riesgo cardiovascular, permitiendo establecer medidas adecuadas de naturaleza preventiva o terapéutica.

Se ha comprobado que el espectro completo de los ritmos, el cronoma, sufre alteraciones cuando existe una historia familiar de hipertensión arterial y/o de depresión emocional<sup>39</sup>, y también en los casos de historia familiar positiva de cáncer de mama o de próstata. Las mujeres que tienen un riesgo familiar elevado de desarrollar cáncer de mama presentan unos ritmos circanales sanguíneos de amplitud pequeña en la prolactina y grande en la Hormona Estimulante de la Tiroides<sup>40</sup>. Estos datos, debidamente interpretados y usados podrían ayudar a prevenir esta enfermedad.

Hacia una optimización cronobiológica de la cirugía

La cronobiología sugiere al cirujano un cambio, tanto en los métodos (principalmente los empleados para la obtención y el análisis de los datos) como en las implicaciones conceptuales. La cronobiología propone la monitorización continua de los ritmos durante largo tiempo, días en vez de minutos, antes y después de la cirugía. Esta forma de actuar puede complementarse e incluso sustituir a la monitorización que sólo se realiza momentos antes, durante y después de la cirugía. El estado del paciente podrá ser determinado no como una desviación del margen normal homeostático, sino como una desviación de los cronodismos, contrastados con las bases de datos del propio paciente.

Al investigar las complicaciones más frecuentes en cirugía, se observó que los problemas cardiovasculares son la causa más frecuente de mortalidad tras la anestesia y la cirugía: afectando no sólo a la cirugía cardiovascular sino todas las demás.<sup>41</sup> Porello se ha tratado de comprobar si los problemas cardiovasculares observados antes de la cirugía, aumentan las complicaciones en intervenciones cardíacas, buscando también qué tipo de determinaciones pre, intra y postquirúrgicas se pueden utilizar para predecir cuándo pueden ocurrir estas complicaciones.<sup>41</sup>

### Cronobiología prequirúrgica

La hospitalización y la cirugía crean situaciones que producen tensión en el paciente, por lo que las medidas de los signos vitales que se toman el mismo día o en las horas previas a la operación, pueden no proporcionar una información confiable de su estado de salud. Por este motivo, y ya que sabemos que dichos signos vitales muestran ritmos, resulta útil la monitorización de los mismos durante los días previos a la operación.

El período prequirúrgico ha sido el más estudiado para tratar de prevenir las complicaciones cardiovasculares después de la cirugía, empleando para ello la historia clínica del paciente y una serie de pruebas de diagnóstico. En cuanto a la historia del paciente, se tiene en cuenta la edad, si ha sufrido o no infarto de miocardio, angina, insu-

ficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial, diabetes, arritmias, hipercolesterolemia, o si es fumador, entre otras. Las pruebas de diagnóstico más empleadas para evaluar el estado del paciente antes de someterse a cirugía no cardíaca son las pruebas de esfuerzo, la ecocardiografía, el ECG y las cineangiografías con iones radioactivos. Empero, no es raro que proporcionen datos contradictorios, aparte de aumentar de forma excesiva el costo de las intervenciones.

La hipertensión arterial, además de ser un factor de riesgo de aparición de isquemia cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva y accidentes vasculares cerebrales es la enfermedad que produce mayores complicaciones preoperatorias, que podrían prevenirse realizando una monitorización de la TA y la frecuencia cardíaca durante cierto tiempo antes de someterse a cirugía y no sólo momentos antes de ella. Según se ha visto anteriormente, la TA y la frecuencia cardíaca presentan variaciones rítmicas diarias, por lo que no basta con una o con escasas determinaciones previas a una intervención quirúrgica. La monitorización de cada individuo, previa a la intervención, permite conocer las características del ritmo de su TA, por lo que será más sencillo controlar su evolución intra y postoperatoria, evitando así algunas complicaciones cardiovasculares.

En la cirugía cardíaca, sobre todo en trasplantes de corazón, es interesante saber cómo evoluciona el ritmo circádico de la TA antes y después de la operación, para conocer en qué momento se vuelve a restablecer el funcionamiento rítmico fisiológico, para lo cual se considera necesaria una monitorización pre y postquirúrgica.<sup>42, 43</sup>

Otra consideración prequirúrgica importante, es que al igual que ocurre con los fármacos, los efectos de la anestesia son estado-dependientes<sup>1</sup> a lo largo del ciclo circádico. Esto se ha demostrado no sólo en roedores sino también en humanos, por lo que la hora del día y probablemente el día del ciclo menstrual de la mujer en que se realice la cirugía tienen importancia<sup>43, 44</sup> para la programación quirúrgica.

Durante la cirugía, cobra importancia la detección inmediata de la hipotensión y la taquicardia, las cuales pueden determinarse mejor si se ha realizado una monitorización prequirúrgica del individuo, al comparar las características de sus

signos vitales durante la cirugía con los obtenidos previamente. Por otra parte, la aparición de hipotensión y taquicardia pueden predecir complicaciones postquirúrgicas.

### Cronobiología postquirúrgica

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los estudios relacionados con la predicción de las complicaciones asociadas con la cirugía no cardiovascular, se han realizado en todos los períodos pre e intraoperatorios, pero no se han identificado métodos para predecir éstas durante el período postoperatorio. Aquí el manejo es difícil, ya que la operación misma produce tensión, el despertar de la anestesia produce alteración en los líquidos corporales, en la temperatura y en la función respiratoria. Se alteran también, la hemodinámica, la función ventricular y la coagulación. Todas estas circunstancias sitúan al paciente en un alto riesgo de desarrollar una complicación cardíaca tras la operación, por lo que parece recomendable también la monitorización continua de la TA y de la frecuencia cardíaca del paciente tras la cirugía.

El efecto que una operación tiene en el organismo puede conocerse sólo mediante la monitorización de su TA y frecuencia cardíaca, sino controlando también el sistema metabólico circádico inmediatamente después de la operación. Mediante estas monitorizaciones se pueden descubrir alteraciones en las características del ritmo, no sólo en el mes sino también en la amplitud y/o en la acrofase ( $\phi$ ) de las variables que se estén controlando. El efecto de la cirugía se puede determinar midiendo, p.e., la temperatura rectal/ o superficial, comprobando que la elevación del mesor de la temperatura es más informativa que las medidas esporádicas tomadas a intervalos arbitrarios, y que una infección produce antes una alteración en la fase y en la amplitud que en el mesor de la temperatura.<sup>45</sup> Por tanto, las infecciones postquirúrgicas podrían ser diagnosticadas y tratadas tempranamente, si se monitorizan en las características del ritmo circádico de la temperatura rectal y/o axilar.

Los fenómenos inmunológicos muestran un espectro de diversas frecuencias (circádica, circaseptana) que diferencian entre el rechazo y la

tolerancia a un trasplante renal, pancreático, cardíaco o de piel. Como se citó al comienzo de este artículo, se ha comprobado que el rechazo de trasplante humano y murino presenta un componente de 7 días. Estos ritmos circaseptanos y circádicos de rechazo han sido demostrados experimentalmente en transplantes de riñón en roedores.<sup>46-48</sup> Estos componentes rítmicos son biológicos y estadísticamente significativos, como se aprecia en la figura 6, por lo que la medicación contra el rechazo podría ser administrada de forma circaseptana estadio-dependiente

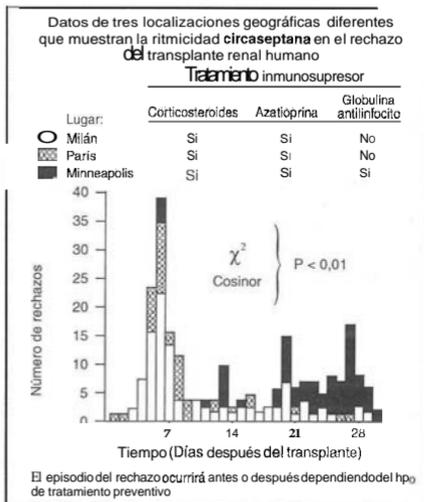


Figura 6 Los episodios de rechazo de transplantes alrededor del mesor, presentan unos patrones circaseptanos en el tiempo, de aproximadamente 7 días

Frey, en 1929, observó que la mortalidad postquirúrgica humana era más frecuente entre las 9 de la noche y 6 de la mañana (315 de 500 muertes), que entre las 12 del mediodía y las 3 de la tarde.<sup>49</sup> Estos datos fueron presentados de forma macroscópica, observando claramente que las muertes postquirúrgicas no ocurren al azar. Si el análisis se realiza de forma microscópica (en tiempo), ajustando una curva coseno de 24 horas

a estos datos, se demuestra que la mortalidad post-quirúrgica presenta un ritmo circádico. De estos análisis cronobiológicos (ver apéndice) se obtiene (Figura 7) una media ajustada al ritmo de 4.2% (como % total/h) y una A de 1.7%. También se obtiene la acrofase que mide el tiempo en que existe un alto riesgo postquirúrgico, ésta ocurre a -13°; si 360° = 24 h, 15° = 1 h, portanto, la mayor mortalidad postoperatoria se produce 52 min después de medianoche (-13°), extendiéndose el intervalo de confianza (del 95%) desde -350" a -36° (teniendo como tiempo de referencia, 0°, la medianoche). Factores propios del paciente (como una disminución de la TA) y externos a él (disminución en la vigilancia nocturna), contribuyen a tales resultados. Se necesitaría una estadística más moderna que la empleada en 1929 para analizar los patrones actuales y buscar los mecanismos que contribuyen a ellos.

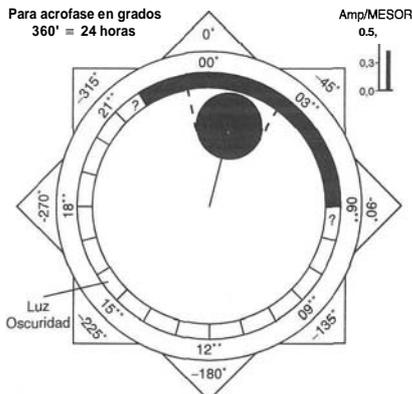
Todos estos aspectos pueden ser de gran utilidad en el cuidado perioperatorio del paciente, tanto para detectar exacerbaciones post-quirúrgicas de un padecimiento preexistente, como para reconocer y prevenirla aparición de una complicación quirúrgica e iniciar, por ello, adecuadas medidas terapéuticas.

## Conclusiones

Los ritmos biológicos están presentes en todos los organismos. En el humano: se han observado ritmos en prácticamente todas las variables fisiológicas. En medicina, la cronobiología explora las relaciones existentes entre los ritmos, con el objetivo de optimizar el cuidado de la salud. En la actualidad, el diagnóstico médico está sujeto a una gran proporción de falsos positivos y falsos negativos, ya que se suele obtener una sola muestra en un momento arbitrario del día, en lugar de realizar el muestreo teniendo en cuenta las variaciones rítmicas de las variables fisiológicas.

La bioingeniería moderna permite medidas y análisis precisos para encontrar de forma fácil y rápida, la relación entre los distintos ritmos circádicos y los de otro tipo, en una misma o en diferentes variables.<sup>28,50</sup> Portanto, la cronobiología puede proporcionar nuevas dimensiones al cuidado de la salud.

Ritmo circádico en la mortalidad postoperatoria



Demostración original por Frey de la distribución de la mortalidad humana postoperatoria (50)

P	No. casos	% Ritmo	MESOR ± SE	Amplitud (95% IC*)	Acrofase (°)
< 0,001	24	88	4,2 ± 0,2	1,70 (1,03-2,38)	-13° (-350, 36)

\*IC = Intervalo de confianza

Figura 7 Las horas de máximo riesgo postquirúrgico representadas en una gráfica polar.

Más de la mitad de las enfermedades graves y las muertes que ocurren en la edad media de la vida, están asociadas a conductas que pueden cambiarse o a estados que se pueden prevenir o tratar, como por ejemplo la hipertensión arterial. Pero también, al igual que la TA, muchas de nuestras variables fisiológicas experimentan grandes variaciones, nos sólo en un período de 24 horas sino en una semana, un mes y/o un año. En México, la tasa más alta de mortalidad corresponde ya a las enfermedades cardiovasculares y en segundo lugar al cáncer,<sup>51</sup> y dentro del primer grupo, el mayor porcentaje se relaciona con hipertensión arterial. Teniendo en cuenta estas consideraciones, conociendo el costo económico tan grande de estos problemas y teniendo a disposición las técnicas cronobiológicas y de monitorización necesarias, conviene analizar seriamente las ventajas de reemplazar el control actual, episódico, por una actitud cronobiológica.

Desde luego, el costo de la atención aumentaría al tomarse más muestras y hacerse más análisis, pero también se incrementaría el beneficio para la salud.

La cronobiología puede ser de gran ayuda a la medicina y a la cirugía, en la prevención, el diagnóstico y en el tratamiento, proporcionando nuevas soluciones a problemas por ahora irresolubles y contribuyendo a mejorar la calidad de la práctica médica y de la salud en general.

## Apéndice

La cronobiología tiene un lenguaje propio, empleado para describir las características de los ritmos y las tendencias o cronos. A continuación se ofrecen algunos de los métodos y de los parámetros más frecuentemente empleados en esta disciplina.<sup>14</sup>

### Metodología del cosinor

Conjunto de fórmulas matemáticas empleadas para verificar la recurrencia de los ritmos y para estimar las características del ritmo. Por ejemplo, el método cosinor individual usado para analizar series de datos de tiempo y de meso o de población para resolver problemas temporales de datos. Este método consiste en encontrar la función coseno que mejor se ajusta a los datos. Para comprobar la existencia del ritmo se emplea una prueba de hipótesis nula en donde la amplitud se iguala a cero (ausencia de ritmo), y en caso de que la hipótesis nula se rechace, los resultados de la prueba soñan estimaciones de las características del ritmo (mesor, amplitud, acrofase, periodo, etc.) algunas de las cuales se observan en la figura 1.

Estas estimaciones soñan la existencia del método cosinor individual

### Mesor M (midline estimating statistic of rhythm)

Valor medio de la curva coseno ajustada a los datos mediante el método de los mínimos cuadrados normal. Menos se define como a línea media del ritmo estimada estadísticamente. El mesor puede ser: gual a la media aritmética, sin embargo difiere de ésta (es más aproximativo) cuando los datos soñan equidistantes y/o no cubren un número entero de ciclos, cuando los datos están equidistantes y cubren un número entero de ciclos y el mesor es gual a la media aritmética pero normalmente presenta una menor dispersión. En la figura 1, el mesor sería mayor que 117 mmHg si únicamente se midiese la TA durante el día, y mucho más pequeño si solamente se midiese por anoche durante las horas de sueño.

### Amplitud A

Medida de la mitad de la variación predecible que se produce en un ritmo. Se estima mediante la amplitud del coseno ajustado a los datos. Se puede observar en la figura 1 que el camino total (doe amplitud) predecible de la TA en un día sería de aproximadamente 50 mmHg.

### Acrofase $\phi$

Medida del tiempo en el que aproximadamente ocurren los valores más altos, que ocurren periódicamente, estimada mediante la función coseno

ajustada a los datos. La figura 1 muestra a la acrofase circadiana, es decir, el momento en el que se producen los valores más altos durante el tiempo investigado. Si el periodo difiere de las 24 horas mucho más de 0.03 horas, y expresamos la acrofase en horas de reloj, está cambiando con el tiempo tomando o ferentes va ores (horas de retraso) cada día (se producirá un poco más tarde cada día). Mientras que si la acrofase se expresa en grados y 360° equivalen al período investigado, la acrofase puede describirse como un solo número, -217° en el caso de la figura 1.

### Periodo $\tau$

Duración de un ciclo en un ritmo completo, medido en la función que mejor se ajusta a los datos biológicos, p.e., de pico a pico de la función o de un tiempo de referencia al siguiente tiempo de referencia correspondiente. También es la duración anticipada de un ciclo ajustado a los datos, verificada mediante el método cosinor.

### Acción lateral

Es la interacción entre los ritmos existentes en un organismo y/o su adaptación al medio ambiente. Las interacciones que ocurren entre ritmos con diferentes frecuencias en una misma variable, pueden aparecer con diferentes frecuencias al superponerse una modificación de amplitud o de la fase.

## Referencias

1. Halberg F. Chronobiology. *Ann Rev Physiol*. 1969;31:675-725.
2. Cornelissen G, Halberg F, Halberg J, Sampson M, Holliman D, Nelson W, et al. Chronobiology: a frontier in biology and medicine. *Chronobiologia* 1989;16:383-408.
3. Ahlgren A, Halberg F. Cycles of Nature. An Introduction to Biological Rhythms. National Science Teachers Association, Washington, DC, 1990, 87 pp.
4. Reinberg A, Smolensky MH. Biological rhythms and medicine. Cellular, metabolic, physiopathologic, and pharmacologic aspects. Springer, New York, 1983, 305 PP.
5. Touitou Y, Haus E. (eds.). Biological Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine. Springer-Verlag, Berlin, 1992, 730 pp.
6. Halberg F. The 24-hour scale: A time dimension of adaptive functional organization. *Perspect Biol Med*. 1960;3:491-527.
7. Halberg F, Barnum CP. Continuous light or darkness and circadian periodic mitosis and metabolism in C and D8 mice. *Amer J Physiol*. 1961;201:227-230.
8. Halberg F, Reinberg A, Haus E, Ghata J, Siffre M. Human biological rhythms during and after several months of isolation underground in natural caves. *Nat speleol Soc Bull*. 1970;32:89-115.
9. Archigaya H. Circadian rhythmic. *Current Opinion in Neurobiology* 1993;3:1005-1010.
10. Halberg F, Guillaume F, Sánchez de la Peña S, Cavallini M, Cornelissen G. Cephaloadrenal interactions in the broader context of pragmatic and theoretical rhythm models. *Chronobiologia* 1986;13:137-154.

11. Sánchez de la **Peña S.** The feedsideward of cephalo-adrenal immune interactions. *Chronobiologia* 1993;20: 1-52.
12. Halberg F, **Cornéllissen G, Carandente F.** Chronobiology leads toward preventive health care for all: cost reduction with quality improvement. A challenge to education and technology via chronobiology. *Chronobiologia* 1991;18: 187-193.
13. Halberg F, **Carandente F, Cornéllissen G, Katinas GS.** Glossary of chronobiology. *Chronobiologia* 4 (Suppl.1), 1977. 189 pp.
14. Cornéllissen G, **Delmore P, Bingham C, Rutledge G, Kumagai Y, Kuwajima I, et al.** A response to the health care crisis: a 'health start' from womb to tomb'. *Chronobiologia* 1993;20:277-291
15. Halberg F, **Cornéllissen G, Halberg E, Halberg J, Delmore P, Faherty J, et al.** Chronobiology of human blood pressure. The Sphygmocron. *A Medtronic Seminar*, 1990, 242 pp.
16. Halberg F, **Bakken E, Cornéllissen G, Halberg J, Halberg E, Jinyi W, et al.** Chronobiologic blood pressure assessment with a cardiovascular summary, the sphygmochron. En: *Blood Pressure Measurements*. W. **Meyer-Sabellek, M. Anlauf, R. Gotzen, L. Steinfeld** (eds.) Steinkopff Verlag Darmstadt, 1990, pp. 297-326.
17. Halberg F. More on educative chronobiology, health and the computer. *Int J Chronobiol.* 1974;2:87-105.
18. **Ayala D, Hermida RC, Halberg F.** Built-in time structure (chronome) of blood pressure in human pregnancy. En: *Chronocardiology and Chronomedicine: Humans in Time and Cosmos*, Otsuka K, Cornéllissen G, Halberg F. (eds.) Life Science Publishing, Tokyo, 1993, pp. 50-51.
19. Halberg F. Chronobiology: methodological problems. *Acta Med Rom.* 1980;18:399-440.
20. Cornéllissen G, **Breus TK, Bingham C, Zaslavskaya R, Varshitsky M, Mirsky B, et al.** International Womb-to-Tomb Chronome Initiative Group: Beyond circadian chronorisk: worldwide circaseptan-circasemiseptan patterns of myocardial infarctions, other vascular events, and emergencies. *Chronobiologia* 1993;20:87-115.
21. **Kuhl JF, Lee JK, Halberg F, Günther R, Knapp E.** Circadian and lower-frequency rhythms in male grip strength and body weight. En: *Biorhythms and Human Reproduction*, Int. Inst. for the Study of Human Reproduction Conference Proceedings. M. Ferin, F. Halberg, RM Richart and R. Van de Wiele (eds.) John Wiley and Sons, Inc., New York. 1974; pp. 529-548.
22. Garcia Alonso L, **Hillman D, Cornéllissen G, Gloria Penalta X, Wang T, Halberg F.** Nature. Not Solely Nurture: Chronome as Well as Season Governs Growth Patterns of Infants. En: *Chronocardiology and Chronomedicine-Humans in Time and Cosmos*.-Otsuka K, Cornéllissen G, Halberg F. (eds.) Life Science Publishing Co. Ltd., Tokyo, 1993, pp. 71-75
23. **Portela A, Cornéllissen G, Hofman MA, Swaab DF, Halberg F.** Meta-analysis of circannual and circasemianual characteristics of human suprachiasmatic vasopressin-containing neurons. (enviado para su publicación)
24. **Cornéllissen G, Halberg F.** Introduction to chronobiology. *Medtronic Chronobiology Seminar No. 7*, 1994, 53 pp.
25. Halberg F, **Breus T, Cornéllissen G, Bingham C, Rigatuso J, Delmore P, Bakken E.** Chronobiology in space. *University of Minnesota/Medtronic Chronobiology Seminar No. 1*, 1991, 70 pp.
26. Halberg J, Halberg E, **Hayes DK, Smith RD, Halberg F, Delea CS, et al.** Schedules shifts, life quality and quantity - modeled by murine blood pressure elevation and arihropod life span. *Int J Chronobiol.* 1985;7:17-64.
27. **Kumagai Y, Shiga T, Sunaga K, Cornéllissen G, Ebihara A, Halberg F.** Usefulness of circadian amplitude of blood pressure in predicting hypertensive cardiac involvement. *Chronobiologia* 1992 19 43-58
28. **Halberg F, Cornéllissen G, Carandente F.** Chronobiology leads toward preventive health care for all: cost reduction with quality improvement. A challenge to education and technology via chronobiology - *Chronobiologia* 18: 187-193, 1991. (Versión revisada, coregrida extendada from meetings: Preventive health care for all: Cost reduction with quality improvement. A challenge to education and technology via chronobiology - *Chronobiologia* 1991;18:110-113.
29. Otsuka K, **Shinagawa M, Kubo Y.** Circadian BP profiles and target organ damage. *Cardiac Practice* 1994;5:197-204.
30. **Hermida RC, Halberg F, Halberg E.** Closer to a psychoneuroendocrine hemopsy? *Biochim Clin* 1986;10:1053-1066.
31. Halberg F. Physiologic 24-hour rhythms: a determinant of response to environmental agents. En: *Man's Dependence on the Earthly Atmosphere*, K.E. Schaefer ed., Macmillan, New York, 1962, pp. 43-98
32. **Haus E.** Periodicity in response and susceptibility to environmental stimuli. *Ann NY Acad Sci.* 1964;117:281-291.
33. **Scheving LE.** The dimension of time in biology and medicine: chronobiology. *Endeavour* 1976;35:66-72.
34. Halberg F, **Gupta BD, Haus E, Halberg E, Deka AC, Nelson W, et al.** Steps toward a cancer chronoproliferation therapy. En: *Proc. XIVth International Congress of Therapeutics*. Montpellier, France, L'Expansion Scientifique Française. 1977. pp.151 -196.
35. Halberg F. Temporal coordination of physiologic function. *Cold Spr Harb Symp quant Biol.* 1960;25:289-310.
36. **Haus E, Halberg F, Loken MK, Kim US.** Circadian rhythmometry of mammalian radiosensitivity. *En Space Radiation Biology A Toiasand P Toda eos Academic Press, New York, 1973; pp. 435-474.*
37. Halberg E, **Cornéllissen G, Haus E, Fine RL, Walker R, Von Hoff D, et al.** Amplification on comments by Berry DA. Power of chronobiologic pilots: a statistician's opinion. *Chronobiologia* 1993;20:214-218.
38. Halberg F, **Cornéllissen G, Bingham C, Fujii S, Halberg E.** From experimental units to unique experiments: Chronobiologic pilots complement large trials - in vivo 1992;6:403-428.
39. Halberg F. Quo vadis basic and clinical chronobiology: promise for health maintenance. *Amer J Anat.* 1983;168: 543-594.
40. Halberg F, **Cornéllissen G, Sothorn RB, Wallach LA, Halberg E, Ahlgren A, et al.** International geographic studies of oncological interest on chronobiological varia-

- bles. En: *Neoplasms Comparative Pathology of Growth in Animals, Plants and Man*. H. Kaiser (ed.), Williams and Wilkins, Baltimore. 1981, pp. 553-596.
41. **Mangano DT**. Perioperative Cardiac Morbidity. *Anesthesiology* 1990;72:153-184.
  42. Farr LA, **Campbell-Grossman C**, Mack JM. Circadian disruption and surgical recovery. *Nursing Research* 1988;37:170-175.
  43. Hrushesky WJM. Breast cancer and the menstrual cycle. *J. Surgical Oncology* 1993;53:1-3.
  44. **Krzanowski M**. Low human T4:T8 lymphocyte ratios around ovulation time. *Chronobiologia* 12: #53, 1985.
  45. Halberg E, Fanning R, Halberg F, Cornelissen G, Wilson D, **Griffits K**, Simpson H. Toward a chronopsy: Part III. Automatic monitoring of rectal, axillary and breast surface temperature and of wrist activity; effects of age of ambulatory surgery followed by nosocomial infection. *Chronobiologia* 1981;8:253-271.
  46. Ratte J, Halberg F, Kühl JFW, Najarian JS. Circadian variation in the rejection of rat kidney allografts. *Surgery* 1973;73:102-108.
  47. Halberg J, Halberg E, **Runge W**, Wicks J, **Cadotte L**, Yunis E, et al. Transplant chronobiology. En: *Chronobiology, Proc. Int. Soc. for the Study of Biological Rhythms*, Little Rock, Ark. L. E. Scheving, F. Halberg and J. E. Pauly, eds. Georg Thieme Publishers, Stuttgart; Igaku Shoin, Ltd., Tokyo, 1974; pp.115-122.
  48. Ratte J, Halberg F, Kühl JFW, Najarian JS. Circadian and circaseptan variations in rat kidney allograft rejection. En: *Workshop 2 on Chronobiology and Allergy*. Proc. of Int. Con. of Allergy. Tokyo, 1973, abstract no. 313.
  49. Frey S. Der Tod des Menschen in seinen Beziehungen zu den Tages in Jahreszeiten. *Deutsch. Zeit. für Chirurgie* 1929;218:366-369.
  50. **Cornelissen G**, Bakken E, **Delmore P**, **Orth-Gomér K**, Akerstedt T, Carandente O, et al. From various kinds of heart rate variability to chrono-cardiology *Am J Cardiol*. 1990;66:863-868.
  51. Sepúlveda J. (Coordinador): *Atlas de la Salud*. Secretaría de Salud. México. 1993.