



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CRONOFARMACOLOGIA: ADMINISTRAÇÃO DE
MEDICAMENTOS AO RITMO BIOLÓGICO**

Trabalho submetido por
Catarina de Brito Borges e Nóbrega
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Isabel Margarida Costa

outubro de 2015

Dedico este Mestrado, com amor e carinho, aos meus Avós.

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece.”

Benjamin Disraeli

Agradecimentos

Sendo esta dissertação a etapa final de um longo percurso que contou com contribuições a vários níveis, não poderia deixar de expressar o meu profundo agradecimento a todas as pessoas, que, de uma ou outra forma, me ajudaram a concretizar mais um sonho.

Em primeiro lugar, à Prof.^a Doutora Isabel Margarida Costa pela ajuda e dedicação em todas as etapas desta dissertação, pela compreensão e pela confiança que depositou em mim para a realização deste trabalho.

À minha família, por tudo o que me ensinou durante estes meus 23 anos de existência, posso afirmar que muito do que sou hoje a eles o devo. À minha mãe, por todo o apoio e orientação nas decisões ao longo deste Mestrado, pela educação e carácter que me ensinou a ter e pela liberdade de escolha que me deu durante todas as etapas da minha vida. Ao meu pai, em primeiro lugar pela ajuda na formatação da dissertação, pela enorme paciência que teve, pela parte divertida de todas as minhas etapas, e por ser quem é. À minha Avó Guiomar, pelo seu sentido de altruísmo e pela sua preocupação. À minha Avó Cesaltina. Ao meu Avô Carlos e ao meu Avô Fernando.

Ao Diogo Costa, pela amizade e apoio constantes durante estes cinco anos de Mestrado. Pela paciência que soube ter em todos os momentos de crise. Pelos momentos de diversão que proporcionou. Sem ele, estes cinco anos não teriam o mesmo significado.

Por fim, a todas as pessoas que tive oportunidade de conhecer durante o meu percurso académico, que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a finalização deste Mestrado.

Resumo

A maior parte dos processos fisiológicos, como a tensão arterial, a função pulmonar e a secreção ácida gástrica, varia de acordo com os ritmos circadianos, gerados por um relógio biológico interno. Este é controlado por diversos factores, nomeadamente a luz, que influencia a secreção de melatonina, hormona responsável pelo bom funcionamento das funções circadianas corporais. A desregulação desses ritmos circadianos (cronodesregulação) pode afetar a progressão de doenças crónicas, de que são exemplo a hipertensão arterial, a asma e a úlcera péptica. O conhecimento da variação destes ritmos biológicos e a sua influência a nível dos sintomas e da secreção de hormonas permite uma abordagem terapêutica racional e custo-efetiva. Surge, então, o conceito de cronofarmacoterapia ou cronoterapia, cujo principal objetivo é a administração de fármacos segundo os ritmos circadianos, de modo a maximizar o efeito terapêutico e, simultaneamente, minimizar os efeitos adversos, útil principalmente em fármacos com margem terapêutica estreita. Embora esta abordagem seja uma alternativa viável e com diversas vantagens relativamente à terapêutica convencional, a sua adaptação à prática clínica ainda se encontra limitada.

Palavras-chave: ritmo circadiano, cronofarmacoterapia, melatonina, cronodesregulação.

Abstract

Most of the physiological processes of the human body, such as blood pressure, lung function and gastric acid secretion, vary according to the circadian rhythms, generated by an internal biological clock. This is controlled by external factors like light, which influences the secretion of melatonin, the main hormone responsible for the smooth running of the circadians' body functions. The deregulation of these rhythms (chronodisruption) leads to the development of chronic diseases, such as hypertension, asthma and peptic ulcer. The knowledge of the variation of biological rhythms, regarding the symptoms and the secretion of hormones that affect the progression of chronic diseases allows a rational and cost-effective therapeutic approach. It was therefore developed the concept of cronopharmacotherapy or cronotherapy, whose main purpose is the administration of drugs according to circadian rhythms, in order to maximize therapeutic efficacy while minimizing adverse effects, primarily useful in drugs with narrow therapeutic margin. Although this approach is a viable alternative with several advantages in relation to conventional therapy, the adaption to clinical practice is still limited.

Key words: circadian rhythm, chronopharmacotherapy, melatonin, chronodisruption.

Índice Geral

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO	17
1. Ritmo circadiano: aspetos gerais.....	17
1.1. O ciclo sono-vigília	18
1.1.1. <i>A influência de turnos noturnos e de viagens no ritmo biológico interno....</i>	19
1.2. As principais hormonas implicadas na manutenção dos ritmos circadianos.....	21
1.3. Componentes moleculares e genéticas do ritmo circadiano.....	22
1.4. Cronofarmacologia e Cronofarmacoterapia	24
CAPÍTULO II: CRONOFARMACOTERAPIA	27
1. Ritmos circadianos nos sistemas fisiológicos e consequências da sua alteração	27
2. Cronoterapia em doenças crónicas	34
2.1. Cronoterapia na hipertensão arterial.....	34
2.1.1. <i>Padrão dipper e non-dipper</i>	36
2.1.2. <i>Administração de antihipertensores segundo o ritmo circadiano.....</i>	37
2.1.2.1. <i>Cronoterapia com diuréticos</i>	39
2.1.2.2. <i>Cronoterapia com fármacos que atuam no Sistema Nervoso Simpático.....</i>	40
2.1.2.3. <i>Cronoterapia com fármacos que atuam no eixo renina-angiotensina-aldosterona</i>	40
2.1.2.4. <i>Cronoterapia com bloqueadores dos canais de cálcio</i>	43
2.1.3. <i>Cronoterapia da hipertensão em grupos especiais: diabéticos, doentes renais crónicos e hipertensão resistente.....</i>	45
2.2. Cronoterapia na asma brônquica	47
2.2.1. <i>Cronoterapia com agonistas beta 2.....</i>	49
2.2.2. <i>Cronoterapia com corticosteróides</i>	50
2.2.3. <i>Cronoterapia com metilxantinas</i>	51
2.2.4. <i>Cronoterapia com anticolinérgicos, agentes estabilizadores dos mastócitos e antagonistas dos leucotrienos.....</i>	52
2.3. Cronoterapia nas doenças gastrointestinais	53
2.4. Cronoterapia na dislipidémia.....	59
2.5. Cronoterapia na artrite reumatóide.....	62
2.5.1. <i>A contribuição do sistema imunitário na artrite reumatóide</i>	63
2.5.2. <i>O cortisol na artrite reumatóide.....</i>	64
2.5.3. <i>Corticosteróides: cronoterapia na artrite reumatóide</i>	65
2.6. Cronoterapia no cancro	67
2.6.1. <i>A relação entre trabalhos por turnos e jet lag e o cancro.....</i>	67
2.6.2. <i>O papel da melatonina no cancro</i>	68
2.6.3. <i>O cortisol e o cancro</i>	70
2.6.4. <i>Fármacos utilizados no tratamento do cancro – cronoquimioterapia.....</i>	71
CAPÍTULO III: CONCLUSÕES.....	76
BIBLIOGRAFIA	79

Índice de Figuras

Figura 1. Regulação do eixo hipotalâmo-hipófise-adrenal e influência dos ritmos circadianos na libertação de cortisol.....	22
Figura 2. Relação entre o SCN (controlador principal) localizado no hipotálamo e os controladores periféricos	22
Figura 3. Rede de ansas de feedback de transcrição-tradução presente no relógio circadiano dos mamíferos	24
Figura 4. Variação das funções fisiológicas do corpo humano consoante a altura do dia.....	26
Figura 5. Alteração dos ritmos circadianos no sistema gastrointestinal e desenvolvimento de patologias	30
Figura 6. Relação entre os ritmos circadianos, a alternância entre a alimentação e o jejum e a biosíntese do colesterol	32
Figura 7. Principais causas de morte em Portugal	48
Figura 8. Degraus terapêuticos na asma brônquica e fármacos utilizados para cada degrau	49
Figura 9. Influência da alteração dos ritmos circadianos na diminuição da proteção gástrica	54
Figura 10. Opções terapêuticas para a DRGE, dependendo da sua etiologia	55
Figura 11. Opções terapêuticas para a síndrome do cólon irritável	58
Figura 12. Metabolismo do 5-FU e o papel da DPD como enzima catabolizadora do fármaco	73

Índice de Tabelas

Tabela 1. Funções gastrointestinais controladas por ritmos circadianos	29
Tabela 2. Classificação da hipertensão segundo os valores de pressão arterial sistólica e diastólica	35
Tabela 3. Estudos de cronoterapia com diuréticos.	39
Tabela 4. Estudos de cronoterapia com alfa-bloqueadores e beta-bloqueadores	40
Tabela 5. Estudos de cronoterapia com Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina.	42
Tabela 6. Estudos de cronoterapia efetuados em grupos especiais de hipertensos.	46
Tabela 7. Características das três formas de úlcera péptica	56

Lista de Abreviaturas

- 5-FU:** 5-fluoruracilo
5-FU-FA: 5-fluoruracilo-ácido fólico
ADA: *American Diabetes Association*
ADN: ácido desoxirribonucleico
AINE: anti-inflamatório não esteroide
AMPc: adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
AR: artrite reumatóide
ARA: antagonista dos receptores da angiotensina II
BCC: bloqueadores dos canais de cálcio
BMAL1: *brain and muscle aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocation-like 1*
CCNPP: carcinoma de células não pequenas do pulmão
CLOCK: *circadian locomotor output cycle*
CRY: criptocromo
DMARD: *disease-modifying antirheumatic drug*
DPD: dihidropirimidina desidrogenase
DRGE: doença de refluxo gastroesofágico
Eixo HPA: eixo hipotálamo-hipófise-adrenérgico
Eixo RAA: eixo renina-angiotensina-aldosterona
ESC: *European Society of Cardiology*
ESH: *European Society of Hypertension*
FEV₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo
GI: gastrointestinal
GITS: *Gastrointestinal therapeutic system*
gpP: glicoproteína P
HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA
HOPE: *Heart Outcomes Prevention Evaluation*
IBP: inibidor da bomba de prótons
IECA: inibidor da enzima conversora de angiotensina
IL-12: interleucina 12
IL-6: interleucina 6
LDL: *low density lipoprotein*
LP: liberação prolongada
OMS: Organização Mundial de Saúde
PA: pressão arterial
PER: período
ROR: receptores órfãos nucleares relacionados com o ácido retinoico
SCI: síndrome do cólon irritável
SCN: núcleo supraquiasmático
SNS: sistema nervoso simpático
TFG: taxa de filtração glomerular
TNF α : fator de necrose tumoral alfa
TTFL: ansa de *feedback* de transcrição-tradução
VEGF: fator de crescimento endotelial vascular

Capítulo I: Introdução

1. Ritmo circadiano: aspetos gerais

O ritmo circadiano (do latim *circa diem*, que significa cerca de um dia) é definido como um conjunto de alterações nas funções bioquímicas, fisiológicas (temperatura corporal, ciclos de sono-vigília e pressão sanguínea) e comportamentais que ocorrem em diversos tipos de organismos – desde os microrganismos até ao Homem –, sendo que cada variação tem uma periodicidade de 24 horas (Thresher et al., 1998; Cermakian & Boivin, 2003; Triqueneaux et al., 2004; Youan, 2010; Cho et al., 2012). Estes ciclos periódicos endógenos estão sincronizados com ciclos externos, sendo o de claridade-escuridão o mais importante no equilíbrio rítmico das funções corporais (Roenneberg & Foster, 1997; Scheiermann et al., 2013). Não obstante, o ritmo circadiano mantém-se mesmo na ausência de estímulos externos, como a luz (Cermakian & Boivin, 2003; Triqueneaux et al., 2004; Peschel & Helfrich-Förster, 2011; Sato, Matsuo, Atmore & Akashi, 2014).

Já em 1971, Konopka e Benzer descrevem alterações nos genes da mosca *Drosophila melanogaster* que estão implicados em reacções e funções envolvidas no ritmo circadiano (Konopka & Benzer, 1971). No seu estudo, os autores isolaram três mutantes e verificaram que o ritmo de 24 horas se encontrava alterado. As mutações encontravam-se no mesmo *locus* do gene localizado no cromossoma X, ao qual os autores deram o nome de *locus period*, constituindo na descoberta do “gene relógio”. A utilização da *Drosophila* na maioria dos estudos que avaliam o ritmo circadiano, prende-se com a sua organização simples a nível dos neurónios, permitindo uma investigação mais fácil e rápida. Mais tarde, verificou-se que *locus period* não se encontrava somente na *Drosophila*, mas também nos humanos e outros animais (Peschel & Helfrich-Förster, 2011), o que levou à conclusão de que também nos mamíferos existe um ritmo circadiano responsável pela manutenção da homeostase celular e que este deve ser tido em conta como factor importante na resposta a diversos estímulos externos, como a luz e os fármacos.

No contexto da cronofarmacologia, o conhecimento dos ritmos biológicos permite a administração de fármacos num momento específico, de forma não só a potencializar o efeito terapêutico como também minimizar os efeitos adversos inerentes a cada fármaco

(Nainwal, Nanda & Rana, 2011), permitindo um melhor controlo de patologias crónicas.

Os ciclos biológicos rítmicos são definidos por quatro características: o período, o nível, a amplitude e a fase (Smolensky & Peppas, 2007). O período é definido pelos autores como o “intervalo de tempo necessário para completar um único ciclo” (Smolensky & Peppas, 2007). O ciclo mais frequentemente descrito e estudado é o ciclo circadiano, que tem uma duração entre 20 a 28 horas, sendo a média 24 horas. Além deste, existem os ritmos ultradianos (entre meia hora e 20 horas), os ritmos infradianos (entre 28 horas e 6 dias), entre outros. O nível de um ciclo biológico é a linha de base que serve como ponto de referência para as alterações rítmicas. Esta linha de base sofre variações ao longo do ano ou ao longo do mês e é diferente entre homens e mulheres. A amplitude é determinada como “a medida da magnitude da variabilidade previsível no tempo devida a um ritmo biológico” (Smolensky & Peppas, 2007). Por fim, a fase de um ciclo biológico diz respeito aos picos e vales de um determinado ritmo e às horas a que os mesmos acontecem.

O factor mais importante na regulação do ciclo circadiano em geral é a luz. Este estímulo externo em alternância com a escuridão serve como orientação para a reposição dos ritmos circadianos em cada órgão e em cada célula, de modo a que se encontrem todos sincronizados. Assim sendo, estabelece-se o ciclo sono-vigília, responsável pela ritmicidade em quase todos os sistemas fisiológicos.

1.1. O ciclo sono-vigília

O sono é definido genericamente como “um estado natural, caracterizado por uma redução da atividade motora voluntária e uma redução da resposta à estimulação” (Fuller, Gooley & Saper, 2006). Os ritmos mantêm-se mesmo na ausência de estímulos externos e o ciclo de sono-vigília não é excepção. Desde que as estruturas presentes no hipotálamo estejam intactas, não é necessário haver alternância de luz/escuridão para se manter o ritmo circadiano do padrão de sono (Mistlberger, 2005).

As estruturas hipotalâmicas essenciais para a manutenção do ciclo do sono são o hipotálamo anterior, que contém os núcleos gabaérgicos e o núcleo supraquiasmático (SCN); o hipotálamo posterior com o núcleo túbero-mamilar histaminérgico; e o hipotálamo lateral com o sistema das hipocretinas, neurotransmissores essenciais na regulação do sono e da vigília (Ebrahim, Howard, Kopelman, Sharief & Williams,

2002; Alóe, Azevedo & Hasan, 2005). O ciclo sono-vigília é controlado pelo hipotálamo, sendo, no entanto, o estado de sono e o estado de vigília controlados por estruturas diferentes. Durante a fase ativa, o controlo é feito pelo sistema ascendente reticular, localizado no diencéfalo e no tronco cerebral (Dimech, 2013). No caso da fase de repouso, é o núcleo pré-ótico ventrolateral que, através dos seus neurónios, controla a inibição do sistema ascendente reticular, induzindo assim a fase do sono (Schwartz & Roth, 2008). O sono é constituído por duas fases, que se alternam entre si: a fase de *rapid eye movement* e a fase *non-rapid eye movement* (Lavie, 2001; Dimech, 2013). Os principais factores que influenciam a manutenção do ciclo sono-vigília e a sua sincronização com outros ritmos circadianos são a luz e a melatonina, sendo que a última actua no caso de os factores externos se encontrarem ausentes. A melatonina é uma hormona produzida pela glândula pineal, sendo a sua secreção ativada pela escuridão e inibida pela presença de luz (Lavie, 2001). Esta hormona é comumente referida como “cronobiótico”, uma vez que tem a função de sincronização entre os ritmos circadianos e o SCN (Arendt, Van Someren, Appleton, Skene & Akerstedt, 2008; Dimech, 2013).

A conservação do ciclo sono-vigília de acordo com os factores externos constitui uma medida essencial para um estilo de vida saudável. No entanto, nem sempre é possível manter os ritmos circadianos intactos, como é o caso dos indivíduos que trabalham à noite, estando sujeitos a uma constante fonte de luz. Consequentemente, a produção de melatonina é reduzida, provocando uma alteração nos ritmos circadianos (Dumont, Lanctôt, Cadieux-Viau & Paquet, 2012).

1.1.1. A influência de turnos noturnos e de viagens no ritmo biológico interno

A manutenção de um ritmo biológico correto e o seu equilíbrio com os factores externos são essenciais para um estilo de vida saudável. No entanto, a sociedade exige muitas vezes a realização de horários de trabalho noturnos, de forma a garantir serviços 24h (Brum, Filho, Schnorr, Bottega & Rodrigues, 2015), não sendo sempre possível manter a homeostase dos ritmos circadianos. Exemplo disso são os indivíduos cujo horário de trabalho exige um estado vigilante durante a noite. O mesmo sucede nos casos em que as viagens entre fusos horários muito distantes provocam uma alteração repentina nos ritmos circadianos internos, principalmente no ciclo de sono-vigília – *jet lag* (Smolensky & Peppas, 2007; Liira et al., 2015).

Os efeitos do trabalho por turnos na saúde tem sido estudado por diversos autores, contudo ainda não foram estabelecidos os mecanismos que levam ao desenvolvimento de doenças metabólicas relacionadas com a alteração dos ritmos circadianos. A nível cardiovascular, tem sido observado que os indivíduos com alteração no ciclo biológico devido ao seu horário de trabalho apresentam um risco aumentado de doença coronária, enfarte agudo do miocárdio e acidentes cerebrovasculares (Brum et al., 2015). No entanto, é preciso ter em conta que os hábitos tabágicos, etanólicos e alimentares podem minimizar o impacto negativo que os turnos de trabalho exercem na saúde cardiovascular. Não obstante, o ajuste do ritmo circadiano a horários noturnos permanentes pode nunca ser total, levando a uma dessincronização crónica do ritmo biológico (Haus & Smolensky, 2006). Um estudo com 7839 indivíduos de nacionalidade inglesa nascidos em 1958 concluiu que o risco cardiovascular não está somente relacionado com a perturbação nos ritmos circadianos causada pelos turnos de trabalho noturno. Os autores demonstraram que os hábitos e o estilo de vida influenciam positiva ou negativamente os aspetos referidos (Thomas & Power, 2010). Não obstante, a influência dos turnos noturnos na saúde tem sido referida como uma das principais causas para o aparecimento de doenças a nível cardiovascular. A nível de danos no ácido desoxirribonucleico (ADN), também os indivíduos que trabalham de noite apresentam níveis aumentados de marcadores de *stress* oxidativo (Subramanian, Jayapalan & Hashim, 2014).

O efeito do *jet lag* no ciclo de sono-vigília também tem sido largamente analisado. Este ocorre quando o sistema circadiano não se consegue adaptar de imediato às variações extremas de fuso horário (M. Kim, Lee & Duffy, 2013). A ressincronização do sistema circadiano depende do número de fusos horários atravessados, da direção da viagem, entre outros factores, e pode demorar alguns dias (Sack et al., 2007). Dependendo da direção do voo, o ajuste ao ambiente externo pode levar mais ou menos tempo, sendo a adaptação mais difícil quando a viagem é de oeste para este. A influência do *jet lag*, tipicamente presente em pilotos de aviões está associada ao desenvolvimento de hipertensão arterial (Ekstrand, Boström, Arborelius, Nilsson & Lindell, 1996), hipercolesterolemia (Morgan, Hampton, Gibbs & Arendt, 2003) e cancro (Haus & Smolensky, 2006).

Tanto nos trabalhadores por turnos, como nos indivíduos que sofrem de uma forma crónica de *jet lag*, a dessincronização do ritmo biológico está alterada, sendo em alguns casos possível a adaptação a essa nova realidade. A melatonina tem sido apontada como

medida farmacológica eficaz e natural no tratamento dos sintomas de *jet lag*, visto ser uma hormona que regula o ritmo circadiano (Srinivasan et al., 2014).

1.2. As principais hormonas implicadas na manutenção dos ritmos circadianos

As principais hormonas do ritmo circadiano são a melatonina e o cortisol, estando a primeira relacionada com a sincronização dos diversos ritmos biológicos, principalmente o ritmo do ciclo sono-vigília (Cajochen, Kräuchi & Wirz-Justice, 2003). Devido a esta função, a **melatonina** é um marca-passo interno dos ritmos circadianos de cada sistema fisiológico. A secreção desta hormona, produzida pelo metabolismo do triptofano pela glândula pineal (Reiter, 1991; Reiter et al., 2003) através da enzima arilalquilamina N-acetiltransferase (Klein et al., 1997), está aumentada durante a noite, com o pico entre as 03:00 e as 04:00 horas. A sua secreção depende de um fator externo – a luz –, sendo a melatonina considerada um mensageiro indicador da variação entre luz e escuridão no ambiente externo (Corbalán-Tutau, Madrid, Nicolás & Garaulet, 2014). O aumento da concentração de melatonina no sangue está relacionado com o início de comportamentos noturnos, como a indução do sono (Skene & Arendt, 2006). Além disso, a melatonina exibe funções de ativação do sistema imunitário (Haus, Sackett-Lundeen & Smolensky, 2012). A presença de luz inibe a produção de melatonina, alterando o ritmo circadiano, razão pela qual nos indivíduos que trabalham de noite e que estão expostos a luz noturna, os ritmos se encontram alterados. Devido ao seu papel regulador, o uso de melatonina tem sido avaliado como possibilidade terapêutica para diversas patologias. A administração de melatonina tem funções antihipertensoras, diminui o peso corporal, diminui a concentração sérica de lípidos e diminui a glicemia, conferindo-lhe um papel protetor (Tamura et al., 2008).

Já no caso do **cortisol**, o seu ritmo circadiano é precisamente o oposto do da melatonina. O cortisol é uma hormona esteroide endógena, cuja secreção é controlada pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (*hypothalamic-pituitary-adrenal* – HPA), que estimulado por *stress*, inicia a produção de cortisol (Chan & Debono, 2010). O pico do cortisol dá-se por volta das 08:30 horas e está ligado ao início das atividades diárias (Chung, Son & Kim, 2011). Ao contrário do ritmo circadiano da melatonina, a secreção de cortisol não é influenciada por fatores ambientais externos, para além de situações de *stress* e alerta (Refinetti, 2006). A libertação rítmica de cortisol está intrinsecamente ligada aos ritmos circadianos existentes no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, que

promove a produção de hormona libertadora de corticotrofina, que por sua vez controla a libertação da hormona adrenocorticotrófica e consequentemente cortisol. Este ciclo encontra-se com maior atividade nas primeiras horas da manhã, sendo inibido ao longo do dia pelo neuropéptido arginina vasopressina libertado pelos neurónios do SCN (Haus et al., 2012). Na figura 1 encontra-se esquematizada a regulação do eixo HPA e a influência dos ritmos circadianos e de outros factores na libertação de cortisol.

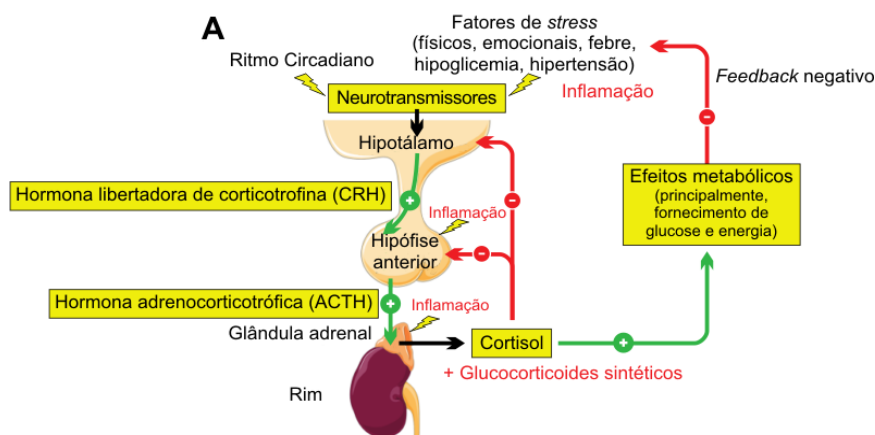


Figura 1. Regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e influência dos ritmos circadianos na libertação de cortisol (Spies, Straub, Cutolo & Buttgereit, 2014).

1.3. Componentes moleculares e genéticas do ritmo circadiano

O controlo do ritmo circadiano envolve diversas estruturas encadeadas entre si: é controlado por relógios biológicos periféricos presentes nos tecidos e nos órgãos (Nagoshi et al., 2004; Welsh, Yoo, Liu, Takahashi & Kay, 2004), que são, por sua vez, regulados pelo SCN, localizado no hipotálamo anterior (Yoo et al., 2004), por cima do nervo ótico (Cermakian & Boivin, 2003). A localização do SCN e a sua sincronização com outros componentes periféricos estão esquematizadas na figura 2.

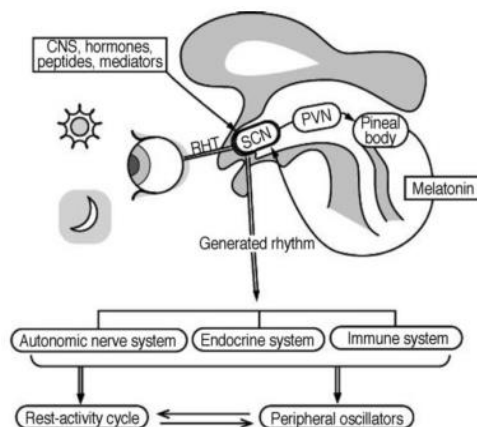


Figura 2. Relação entre o SCN (controlador principal) localizado no hipotálamo e os controladores periféricos (adaptado de Eriguchi et al., 2003).

RHT=eixo retinohipotalâmico; SCN=núcleo supraquiasmático; PVN=núcleo paraventricular; Pineal body=glândula pineal; melatonin=melatonina; Autonomic nerve system=sistema nervoso autônomo; Endocrine system=sistema endócrino; Immune system=sistema imunológico; Rest-activity cycle=ciclo sono-vigília; Peripherhal oscillators=controladores do ritmo circadiano periféricos

Os ritmos circadianos são gerados pelo SCN, que ao receber informação através do eixo retinohipotalâmico relativamente à presença de luz, sinaliza os osciladores periféricos, para que estes produzam os seus ritmos biológicos nos tecidos correspondentes (Albrecht, 2012).

Os componentes moleculares do SCN são genes que têm como função a expressão de proteínas, essenciais para a regulação dos ritmos circadianos existentes nas células corporais (Takahashi, 2004). O SCN, considerado o relógio circadiano principal, é composto pela ansa de *feedback* de transcrição-tradução (TTFL), regulada tanto por ativadores de transcrição, de que é exemplo o complexo CLOCK:BMAL1 (CLOCK: *circadian locomotor output cycles kaput*; BMAL1: *brain and muscle aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1*) (Chen & Yang, 2015), como por inibidores da transcrição (proteínas do gene do criptocromo (CRY) e do gene *period* (PER)) (Reppert & Weaver, 2002; Cho et al., 2012; Partch, Green & Takahashi, 2014). A ansa estabelecida por estes dois tipos de componentes (ativadores e inibitórios) é regulada da seguinte forma: o complexo CLOCK:BMAL1 presente no núcleo ativa a transcrição da sequência *period* e da sequência do criptocromo, formando-se o complexo PER:CRY (King et al., 1997; Gekakis et al., 1998; Kume et al., 1999; Zheng et al., 2001). Este complexo, por sua vez, inibe a sua própria transcrição, pelo *feedback* negativo que exerce sobre o complexo CLOCK:BMAL1 (Kume et al., 1999; Lee, Etchegaray, Cagampang, Loudon & Reppert, 2001; Preitner et al., 2002; Sato et al., 2006). O complexo CLOCK:BMAL1 está também envolvido noutra ansa reguladora secundária, que por sua vez, ativa a transcrição de recetores órfãos nucleares relacionados com o ácido retinóico (RORs), de que são exemplo o Rev-erba e o Rora. Estes dois recetores permitem a ligação de elementos de resposta, presentes no promotor Bmal1 (Preitner et al., 2002; Cho et al., 2012). Quando o Rev-erba se liga, ocorre uma inibição da transcrição do complexo CLOCK:BMAL1 (Preitner et al., 2002; Triqueneaux et al., 2004; Guillaumond, Dardente, Giguère & Cermakian, 2005). Por outro lado, a ligação do Rora ativa a transcrição deste complexo (*feedback* positivo) (Akashi & Takumi, 2005; Guillaumond et al., 2005; Cho et al., 2012). Estas vias estão esquematizadas na figura 3.

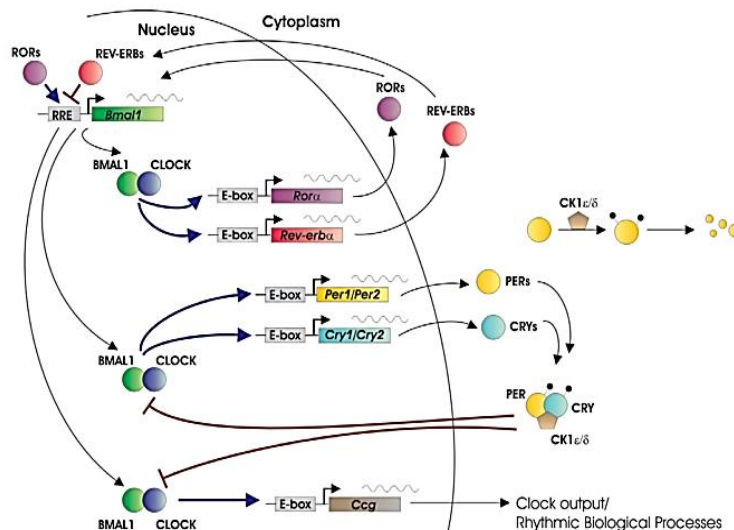


Figura 3. Rede de ansas de feedback de transcrição-tradução presente no relógio circadiano dos mamíferos (Ko & Takahashi, 2006).

O ritmo circadiano é regulado tanto a nível molecular como a nível genético, estando ambos intrinsecamente ligados. A existência de genes que expressam as suas respetivas proteínas de uma forma rítmica é crucial para o equilíbrio das funções fisiológicas do corpo humano. Assim, a relação entre o SCN e os osciladores periféricos controla a existência de todos os ritmos biológicos existentes no corpo humano, sincronizando-os com os fatores externos, como por exemplo a existência de luz.

1.4. Cronofarmacologia e Cronofarmacoterapia

A maioria dos aspetos fisiológicos dos mamíferos, tais como o sono, a respiração, a tensão arterial, entre outros, varia de acordo com a hora do dia, sendo estes controlados por ritmos biológicos internos (Dallmann, Brown, & Gachon, 2014). A absorção gástrica e intestinal é uma das funções controlada ritmicamente, nomeadamente o esvaziamento gástrico e a mobilidade gastrointestinal são mais marcadas durante o dia o que facilita a absorção dos fármacos (Goo, Moore, Greenberg & Alazraki, 1987).

A **cronofarmacologia** é definida por vários autores como o estudo dos efeitos farmacológicos e farmacodinâmicos que os fármacos exercem, quando administrados de acordo com os ciclos e ritmos circadianos existentes (Smolensky & Peppas, 2007; Ohdo, 2010; Nainwal et al., 2011; Tahara & Shibata, 2014). No contexto da cronofarmacologia, surge o conceito da **cronofarmacoterapia** (ou cronoterapia), definido como a administração de fármacos de acordo com o ritmo biológico dos doentes, de forma a não só maximizar os efeitos terapêuticos como também minimizar

os efeitos adversos inerentes ao fármaco (Ohdo, 2007; Bairy, 2013), particularmente importante a nível de fármacos com margem terapêutica estreita, como é o caso dos citotóxicos (Smolensky & Peppas, 2007). A influência dos ritmos circadianos existentes em processos bioquímicos, fisiológicos e comportamentais, na eficácia e toxicidade associada aos fármacos tem sido demonstrada para diversas moléculas. Mais precisamente ao nível da metabolização de fármacos, sabe-se que a atividade das enzimas metabólicas de fase I e fase II apresentam periodicidade, o que influencia, em último caso, a toxicidade dos fármacos (Tanimura, Kusunose, Matsunaga, Koyanagi & Ohdo, 2011). Com base no conhecimento adquirido ao longo dos anos acerca da periodicidade de 24 horas presente em processos indispensáveis à absorção, distribuição, metabolização e eliminação de fármacos, desenvolveu-se o conceito de cronoterapia, que tem sido estudado como alternativa às administrações convencionais de fármacos (Ohdo, 2007).

A farmacocinética e farmacodinâmica são dois fatores influenciados pelos ritmos circadianos. Outro dos objetivos da cronoterapia passa pela correção de ritmos que estejam alterados através da administração de fármacos no *timing* correto (Ohdo, 2007) e, ao mesmo tempo, determinar o tempo de administração de fármacos mais adequado, de modo a que a toxicidade seja diminuída e/ou a eficácia seja aumentada. Contudo, os próprios fármacos podem interferir com o ritmo biológico (Duncan, 1996), não significando necessariamente que essa interferência possa resultar em efeitos adversos. Exemplo disso são os fármacos antidepressivos que exercem o seu efeito terapêutico pela alteração no ritmo de reabsorção de neurotransmissores (Ohdo, 2007).

O conceito da cronofarmacologia está presente na comunidade científica há algumas décadas. Já em 1971, Reinberg & Halberg estabelecem a relação entre a cronobiologia e a cronofarmacologia, considerando que os ritmos biológicos são a base para a análise dos efeitos dos mesmos na farmacocinética e farmacodinâmica dos fármacos. Nesta altura, já se assumia os horários noturnos e as exigências da vida social moderna como sendo uma influência na dessincronização do normal funcionamento do ritmo circadiano. Mais tarde, Reinberg (1976) define a cronofarmacologia como sendo a análise dos efeitos dos fármacos nos ritmos circadianos. Os estudos que se seguiram incluíram a pesquisa de diversos fármacos e a sua relação com a cronoterapia, nomeadamente ao nível da cronoquimioterapia (Halberg et al., 1973; Halberg et al., 1980), da cronoterapia na asma (Steinijans, Trautmann, Johnson & Beier, 1987), da cronoterapia com corticosteróides (Smolensky & Reinberg, 1976), entre muitos outros.

A maior parte dos sistemas fisiológicos apresenta ritmos circadianos marcados e conhecidos (figura 4). A alteração dos mesmos pode levar ao aparecimento de doenças, muitas delas com caráter crónico. O conhecimento dos ritmos circadianos de cada sistema (gastrointestinal, cardiovascular, respiratório, entre outros) constitui a principal base para o desenvolvimento de esquemas terapêuticos, que tenham em conta o pico de hormonas ou de moléculas, passíveis de ser controladas com fármacos, desde que estes sejam administrados no *timing* apropriado.

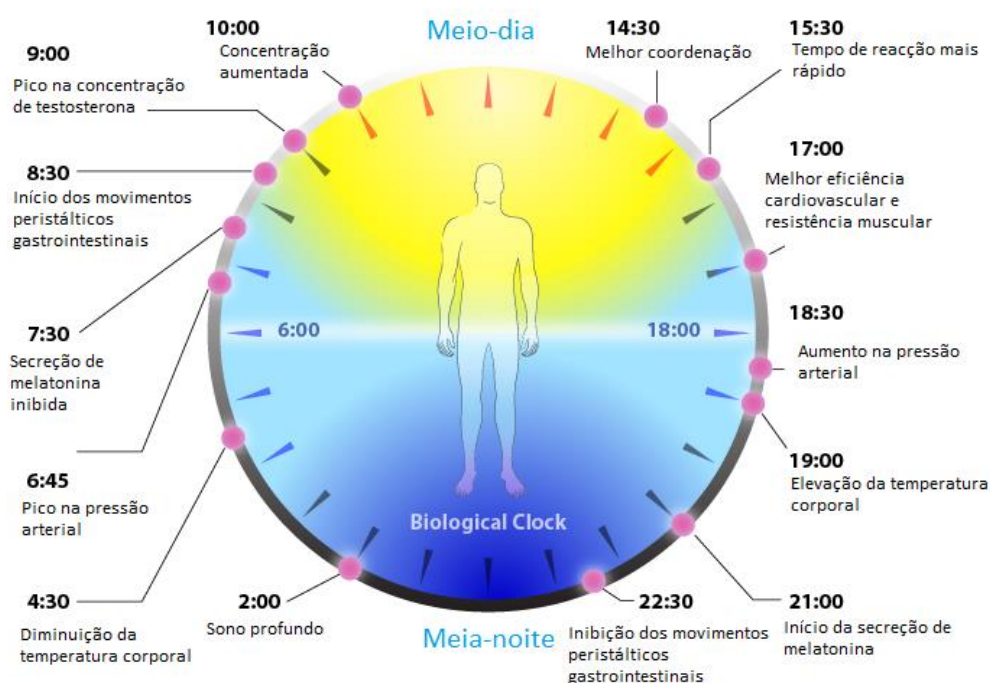


Figura 4. Variação das funções fisiológicas do corpo humano consoante a altura do dia (adaptado de Eshelman School of Pharmacy of The University of North Carolina, 2014 - <https://learn.pharmacy.unc.edu/insomnia/node/6>)

Esta monografia teve como objetivo sistematizar os diversos estudos relativos à cronofarmacologia e cronoterapia, de modo a elucidar e efetuar uma descrição detalhada da relação entre os ritmos circadianos e a possibilidade de adaptar esquemas posológicos de acordo com os ritmos biológicos. Para tal, foi realizada uma revisão sistemática da literatura científica, comparando diversos estudos relacionados com a cronoterapia, aplicada sobretudo às doenças mais comuns em Portugal.

Capítulo II: Cronofarmacoterapia

1. Ritmos circadianos nos sistemas fisiológicos e consequências da sua alteração

Estando a principal fonte de luz e calor apenas presente durante um certo período do dia, os organismos rapidamente adaptaram os seus sistemas fisiológicos de forma a sincronizá-los com a periodicidade destes fatores indispensáveis à vida (Dallmann et al., 2014). O controlador principal do ritmo circadiano normal é o SCN, no entanto sabe-se que, na maior parte dos órgãos e tecidos existem controladores específicos (Gibbs et al., 2009), que exercem funções independentes (Nagoshi et al., 2004; Kowalska & Brown, 2007; Chen & Yang, 2015). Como consequência, os sistemas fisiológicos apresentam ritmos que diferem entre si, tendo sido descrita a existência destes padrões rítmicos em tecidos como o fígado, o pulmão, a glândula pituitária e o rim (Yoo et al., 2004). Apesar de a ritmicidade estar bem estabelecida em vários sistemas fisiológicos e de estes estarem interligados entre si, a alteração de hábitos de vida, como viagens para países com fusos horários distintos ou indivíduos que trabalham por turnos, leva a uma alteração dos ritmos circadianos e, em última instância, ao desenvolvimento de patologias crónicas.

O **sistema cardiovascular** é o sistema fisiológico mais bem documentado no que concerne a existência de ritmicidade e periodicidade nas suas funções de controlo da pressão arterial e da frequência cardíaca (Takeda & Maemura, 2011; Chen & Yang, 2015). McNamara et al. (2001) e Young, Razeghi & Taegtmeier (2001) descreveram ritmos circadianos controlados por genes na aorta e no coração de ratinhos. Mais precisamente ao nível da pressão arterial, esta apresenta um pico matinal, sendo que a ocorrência de eventos cardiovasculares, como o enfarte do miocárdio, coincide, na maior parte das vezes com este aumento repentino da pressão arterial (Reavey, Saner, Paccaud & Marques-Vidal, 2013; Chen & Yang, 2015), bem como da frequência cardíaca que, da mesma forma, segue o padrão de elevação matinal, apresentando valores mais altos durante as primeiras horas da manhã (Tsimakouridze, Alibhai & Martino, 2015). A hipertensão é considerada um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do enfarte agudo do miocárdio (Nicolau, Baracioli, Costa &

Hernandes, 1999; Avezum, Piegas & Pereira, 2005), sendo que este evento cardiovascular em particular tende a ser mais comum nas primeiras horas da manhã. Além disso, a atividade do eixo renina-angiotensina-aldosterona (RAA), do sistema nervoso simpático, a agregação plaquetar e a resistência vascular (Sato et al., 2014) também contribuem para uma maior pressão arterial matinal. Por outro lado, sabe-se que uma perturbação do ritmo circadiano normal conduz a funções cardíacas anormais (Martino et al., 2007; Zhang, Lahens, Ballance, Hughes & Hogenesch, 2014), o que é frequente em trabalhadores por turnos e pessoas que viajam com regularidade para zonas de diferentes fusos horários. A importância dos genes responsáveis pela criação de um ritmo está descrita na literatura. Foi demonstrado que a deleção dos genes responsáveis pela expressão de proteínas presentes nos cardiomiócitos e nas células endoteliais do coração tem como resultado a alteração nas funções cardíacas, nomeadamente a alteração na variação da pressão arterial (Westgate et al., 2008; Schroder et al., 2013; Xie et al., 2015). A variação na pressão arterial, um dos marcadores mais utilizados para avaliação da função cardiovascular, apresenta ritmos marcados. No entanto, estes apresentam variações inter e intraindividuais, estando mais alterados em indivíduos hipertensos. A alteração do ritmo circadiano da pressão arterial leva a um aumento no risco cardiovascular (Izzedine, Launay-Vacher & Deray, 2006), sendo o objetivo principal na cronoterapia da hipertensão restabelecer o seu padrão normal.

Outro sistema fisiológico que apresenta ritmo circadiano é o **sistema respiratório**, mais precisamente o pulmão, como órgão principal. Yoo et al. (2004), Bendová & Sumová (2006) e Bando et al. (2007) descreveram a existência de controladores tecidulares responsáveis pela periodicidade de certas funções pulmonares, no entanto a localização dos mesmos ainda se encontra por esclarecer (Gibbs et al., 2009). O epitélio pulmonar é constituído pelos pneumócitos tipo I e tipo II e pelas células secretoras de Clara, responsáveis pela eliminação de toxinas pulmonares, estando estas células também encarregues do controlo do ritmo circadiano pulmonar (Gibbs et al., 2009). Os autores verificaram que a destruição das células de Clara leva a uma alteração ou perda do ritmo circadiano em amostras de tecido pulmonar ectópico. A possibilidade de existência de ritmos circadianos no sistema respiratório foi cedo estudada devido à clara predominância de sintomas noturnos em indivíduos asmáticos (Spengler & Shea, 2000), sabendo-se hoje que a função pulmonar apresenta o seu pico por volta das 16 horas,

estando na sua máxima capacidade durante este período de tempo. Por outro lado, à noite, apresenta uma diminuição da sua função (Kelly, Houtman & Jarjour, 2004). Em relação aos parâmetros indicadores da função pulmonar, tanto o volume expiratório forçado no primeiro segundo (FEV₁) como o índice de Tiffeneau-Pinelli (rácio entre o FEV₁ e a capacidade vital forçada) têm o seu mínimo durante o período de descanso (Spengler & Shea, 2000). Mortola (2004) refere que o padrão respiratório está dependente da taxa metabólica, que diminui durante o sono em cerca de 10 a 30%. Assim sendo, a ventilação pulmonar também se encontra reduzida durante este período. Por outro lado, a diminuição da adrenalina circulante durante a noite resulta numa redução da defesa contra a broncoconstrição e libertação de mastócitos, responsáveis pela exacerbação dos sintomas noturnos da asma. Outros fatores que contribuem para isso incluem o aumento no tônus vagal – responsável pela broncoconstrição –, e a diminuição do cortisol – hormona com propriedades anti-inflamatórias (Barnes, 1985). Em indivíduos asmáticos, as variações acima descritas apresentam ritmos circadianos pronunciados, o que faz com que nesses casos a diminuição da função pulmonar resulte num controlo mais difícil da patologia. É necessário ter em conta os parâmetros respiratórios em cada indivíduo, de forma a obter um melhor controlo através da cronoterapia, tendo em conta que esta deve ser direcionada para o período da noite, durante o qual os sintomas se agravam.

A nível do **sistema gastrointestinal** (GI), os ritmos biológicos controlam funções como a motilidade GI, a secreção gástrica ácida, produção de enzimas digestivas, entre outros (tabela 1). Também a produção de saliva e o seu pH são controlados ritmicamente, estando os seus níveis reduzidos durante a noite (Vaughn, Rotolo & Roth, 2014).

Tabela 1. Funções gastrointestinais controladas por ritmos circadianos (adaptado de Konturek et al., 2011).

Funções gastrointestinais controladas por ritmos circadianos
<ul style="list-style-type: none"> • Motilidade gastrointestinal • Secreção gástrica ácida • Manutenção e restauração da barreira protetora da mucosa gástrica • Produção de enzimas digestivas • Transporte de nutrientes no intestino delgado • Controlo do sistema imunológico gastrointestinal

Como órgão principal do sistema GI, o estômago tem como funções principais a secreção ácida gástrica, que facilita a digestão, e a motilidade, que contribui para o trânsito do bolo alimentar. No caso da secreção gástrica, esta encontra-se aumentada ao fim do dia e durante a noite (Saini, 2014). Os ritmos biológicos neste sistema fisiológico influenciam em grande parte a absorção e distribuição de fármacos. Mais precisamente, a nível do esvaziamento gástrico e da motilidade GI, estes parâmetros têm a sua atividade aumentada durante o dia, o que resulta numa maior absorção de fármacos. Além disso, o aporte sanguíneo ao trato GI também está aumentado no início do dia, o que influencia a distribuição de fármacos durante o dia (Dallmann et al., 2014). A alteração do ritmo circadiano que controla este sistema corporal pode levar à manifestação de sintomas como dor abdominal, obstipação e diarreia e em casos mais graves pode levar ao desenvolvimento de doenças como a síndrome do cólon irritável (SCI), a doença de refluxo gastroesofágico (DRGE) e ao aparecimento de úlceras pépticas (Konturek et al., 2011; Vaughn, Rotolo & Roth, 2014), como ilustrado na figura 5. No caso da DRGE, o seu desenvolvimento advém do aumento de tempo de contacto entre o ácido gástrico e a mucosa esofágica. Como durante a noite, tanto a deglutição como o tónus muscular do esfíncter esofágico diminuem (Vaughn et al., 2014), o ácido produzido durante a digestão tende a entrar em contacto com o esófago, pelo que a principal recomendação não farmacológica em caso de DRGE passa pela elevação da cabeceira da cama.

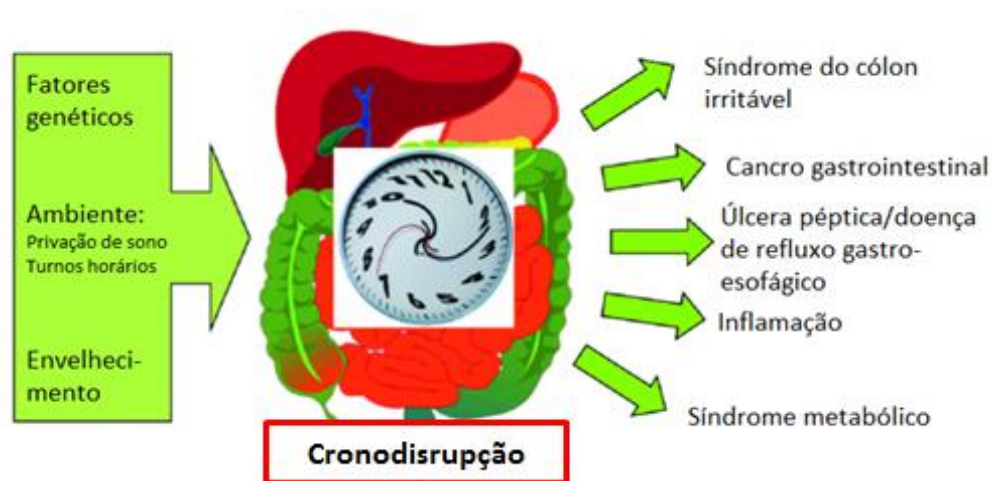


Figura 5. Alteração dos ritmos circadianos no sistema gastrointestinal e desenvolvimento de patologias (adaptado de Konturek et al., 2011)

Da mesma forma que o sistema GI controla a absorção e a distribuição de fármacos, também o **sistema hepático** e o **sistema renal** desempenham um papel fundamental na metabolização e eliminação de fármacos. A metabolização de fármacos envolve o sistema do citocromo P450, com proteínas de fase I (oxidases, redutases e hidroxilases), de fase II (sulfotransferases, glucoronotransferases, glutathione-S-transferases e N-acetiltransferases) e de fase III (proteínas transportadoras), cuja expressão é regulada por genes do ritmo circadiano, induzidos pela presença de fármacos (Dallmann et al., 2014). Neste caso, não há uma altura específica do dia em que ocorra maior expressão de proteínas metabolizadoras. No que concerne a eliminação dos fármacos, esta já depende de vários factores fisiológicos, como o fluxo sanguíneo renal, a taxa de filtração glomerular (TFG), a capacidade de reabsorção e secreção renal, o fluxo urinário e o pH urinário. Tanto o fluxo sanguíneo renal como a TFG têm o seu pico de manhã (Koopman et al., 1989), apesar de permanecerem ativos durante a noite. No caso do pH urinário, este é mais ácido durante a manhã (Dallmann et al., 2014), o que favorece a reabsorção de fármacos alcalinos. Estes dois sistemas mencionados influenciam, sobretudo, a farmacocinética dos medicamentos, pelo que é necessário ter em conta os parâmetros de cada um deles aquando da sua adaptação a um esquema cronomodulado. Uma vez que cada fármaco tem o seu tempo de semi-vida específico, as alterações na farmacocinética podem levar a um aumento neste parâmetro e alterar assim a eficácia terapêutica. A nível do sistema hepático ocorre a biosíntese do colesterol, que apresenta variação na sua concentração ao longo do dia. A taxa de síntese do colesterol diminui de manhã e durante o dia e tem o seu pico à meia-noite (Cella, Van Cauter & Schoeller, 1995; Gnocchi, Pedrelli, Hurt-Camejo & Parini, 2015), que se deve principalmente aos ritmos circadianos da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase) e da colesterol-7- α -hidroxilase (Mayer, 1976). A alternância entre a alimentação e o jejum também desempenha um papel importante na biosíntese hepática do colesterol, bem como noutras funções desempenhadas pelo fígado, ilustrado na figura 6.

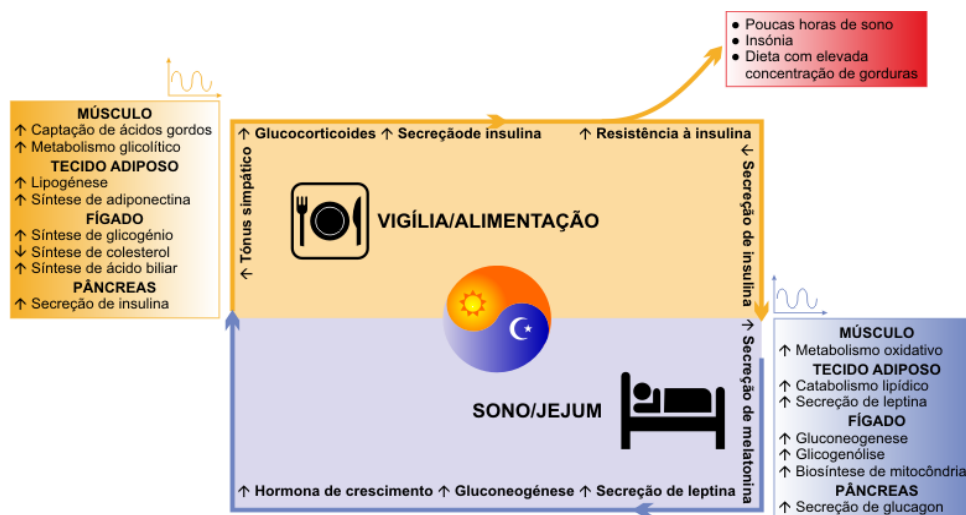


Figura 6. Relação entre os ritmos circadianos, a alternância entre a alimentação e o jejum e a biosíntese do colesterol (Gnocchi et al., 2015).

Tal como para outros sistemas fisiológicos, também a biosíntese hepática do colesterol pode sofrer alterações resultantes da desregulação dos ritmos circadianos. Tendo em conta que a taxa de síntese do colesterol é mais elevada durante a noite, a cronoterapia associada aos fármacos antilipidémicos passa pela administração destes à noite.

Também no **sistema imunitário** foi documentada a existência de ritmos circadianos, nomeadamente a nível dos monócitos, neutrófilos, citocinas – interleucinas e o fator de necrose tumoral alfa (IL-6, IL-12 e TNF- α) e nas células mononucleares do sangue periférico (Lange, Dimitrov, Fehm, Westermann & Born, 2006; Gibbs & Ray, 2013). Tanto os granulócitos como os monócitos apresentam ritmos circadianos com um pico na sua atividade durante o dia. Já no caso dos linfócitos, estes aumentam durante a noite (Suzuki et al., 1997). A nível das citocinas, mais precisamente a IL-6, apresenta o seu pico nas primeiras horas da manhã. Em indivíduos saudáveis, o pico dá-se por volta das 06:00 horas (Straub & Cutolo, 2007). Já no caso da IL-2 e do interferão gama, o seu pico é entre as 00:00 e as 02:00 horas (Haus et al., 2012). A alteração dos ritmos circadianos imunitários devido a descanso noturno insuficiente pode levar a um estado de imunossupressão (Vgontzas et al., 2007), o que aumenta a susceptibilidade para infeções oportunistas e desenvolvimento de doenças crónicas, como a asma, que está relacionada com os níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias. Outra condição inflamatória muito associada à alteração dos ritmos circadianos das citocinas pró-inflamatórias é a artrite reumatóide, que apresenta

marcada variação nos seus sintomas (Spies et al., 2014). Nesta patologia, os ritmos circadianos das citocinas encontram-se atrasados por umas horas, apresentando níveis aumentados no início da manhã (07:00 horas), sendo a redução dos seus níveis mais demorada.

A **nível celular**, nomeadamente na divisão mitótica, também está descrita a existência de ritmos circadianos. Temos o caso da mucosa oral, onde a fase G1 do ciclo apresenta maior atividade de manhã e a fase M de noite (Subramanian et al., 2014). Como resultado de agressões externas pela luz ultravioleta, a replicação do ADN pode não ocorrer de forma correta, sendo necessário o sistema de reparação do ADN. Este sistema inclui diversos mecanismos através dos quais a estrutura do ADN é corrigida aquando do aparecimento de uma mutação. No entanto, até hoje só se conhece a existência de ritmos circadianos para o mecanismo de reparação através de excisão nucleotídica (Sancar et al., 2010). Cada célula tem o seu próprio ritmo circadiano, controlado por genes específicos. Estes genes estão envolvidos em diversos processos fisiológicos a nível celular, como por exemplo na regulação do ciclo celular (Ortiz-Tudela, Mteyrek, Ballesta, Innominato & Levi, 2001). Mais precisamente, o dímero CLOCK:BMAL1, componente essencial na produção e manutenção dos ritmos circadianos celulares, ativa a expressão de genes responsáveis pela proliferação celular e pela apoptose (Khapre, Samsa & Kondratov, 2010). Além disso, este dímero é também responsável pela ativação de um gene proapoptótico e de um gene que impede a transição da fase G2 para a mitose, ao inativar a fosforilação do complexo CDC2/ciclinaB1 (Hunt & Sassone-Corsi, 2007). O ciclo celular é um sistema organizado essencial para a manutenção e proliferação celular e os danos no seu ritmo circadiano por raios ultravioleta podem induzir alterações significativas no ciclo de reparação e replicação do ADN (Geyfman et al., 2012), estando estas intrinsecamente ligadas ao possível desenvolvimento tumoral. Consequentemente, a cronoquimioterapia é uma abordagem alternativa aos esquemas convencionais, uma vez que a existência de ritmos circadianos a nível do ciclo celular requer uma administração de fármacos de acordo com esses mesmos ritmos.

2. Cronoterapia em doenças crónicas

A cronoterapia, como nova abordagem terapêutica, veio trazer novas perspetivas para o tratamento de doenças crónicas, como a asma, a úlcera péptica, as doenças cardiovasculares, a artrite reumatóide e a hipercolesterolemia. Esta nova abordagem terapêutica revelou ser particularmente pertinente para as doenças crónicas, cujo desenvolvimento e aparecimento de sintomas se dê de acordo com os ritmos circadianos existentes (Nainwal, 2012). No caso das doenças crónicas, associadas muitas vezes a uma diminuição da qualidade de vida ou mesmo resultando num aumento de mortalidade (Levi & Schibler, 2007), é necessário otimizar os esquemas terapêuticos, uma vez que a medicação é destinada a ser administrada para o resto da vida. Assim sendo, é essencial conhecer os ritmos circadianos da doença crónica em questão, de forma a proporcionar um melhor controlo da mesma.

Neste capítulo serão abordadas as doenças crónicas mais prevalentes em Portugal e para as quais foram efetuados estudos acerca da possibilidade de adaptação a um esquema cronomodulado, como a hipertensão, a asma, as doenças gastrointestinais, a hipercolesterolemia, a artrite reumatóide e os tumores malignos/cancro (INE & INSA, 2009). Dados recentes referem que, em 2013, as duas principais causas de morte foram as doenças do aparelho circulatório e os tumores malignos (INE, 2015), com 29,5% e 24,3% de óbitos, respetivamente (PORDATA, 2015). No relatório “Óbitos por algumas causas de morte” (PORDATA, 2015), a percentagem de óbitos por doenças do aparelho respiratório e do aparelho digestivo em 2013 foi 11,8% e 4,3%, estando estas patologias bem documentadas a nível de cronoterapia. Em relação à hipercolesterolemia, um estudo epidemiológico transversal verificou que a prevalência desta patologia é de 56% numa amostra representativa da população portuguesa (Perdigão, Duarte & Santos, 2010).

2.1 Cronoterapia na hipertensão arterial

A hipertensão é definida como a elevação crónica da pressão arterial (PA) (Latha, Uhumwangho, Sunil, Srikanth & Ramana Murthy, 2010) e está relacionada com o aparecimento de morbilidades e eventos cardiovasculares como o enfarte do miocárdio e o acidente vascular cerebral (Hermida, Ayala & Portaluppi, 2007). Na tabela 2 encontra-se a classificação dos graus de hipertensão, segundo os valores de pressão arterial sistólica e diastólica, de acordo com as *Guidelines* da *European Society of*

Hypertension (ESH) e da *European Society of Cardiology* (ESC) (Mancia et al., 2013). Segundo o Programa Nacional para as Doenças Cérebro-Cardiovasculares no âmbito do estudo “A Hipertensão Arterial em Portugal 2013” (Macedo & Ferreira, 2013), a taxa de prevalência da hipertensão arterial é 26,9%, sendo uma das doenças crónicas mais comuns em Portugal. A hipertensão arterial encontra-se entre as dez principais causas de morte no mundo (OMS, 2014), razão pela qual o controlo adequado desta doença crónica é da maior importância.

Tabela 2. Classificação da hipertensão segundo os valores de pressão arterial sistólica e diastólica (adaptado de Mancia et al., 2013)

Categoria	Pressão Sistólica (mmHg)		Pressão Diastólica (mmHg)
Ideal	<120	e	<80
Normal	120-129	e/ou	80-84
Normo-alta	130-139	e/ou	85-89
Hipertensão grau 1	140-159	e/ou	90-99
Hipertensão grau 2	160-179	e/ou	100-109
Hipertensão grau 3	≥180	e/ou	≥110
Hipertensão sistólica isolada	≥140	e	<90

A cronofarmacologia aplicada ao controlo da hipertensão arterial e prevenção de eventos cardiovasculares tem sido discutida ao longo dos anos por diversos autores. Sabe-se que, tal como outros fatores fisiológicos, a tensão arterial exhibe comportamento e variações que estão sincronizados com o ritmo circadiano corporal (Orias & Correa-Rotter, 2011; Carter et al., 2014). A frequência cardíaca e a pressão arterial são dois fatores relevantes no que toca à determinação da tensão arterial, sendo que estes dois aspetos fisiológicos apresentam um ritmo biológico de 24 horas (Takeda & Maemura, 2010). Relativamente à pressão sanguínea, na maioria dos indivíduos, esta apresenta o seu pico no início da manhã (Hermida et al., 2007; Patel, Wong & Arora, 2008; Tsimakouridze, Alibhai & Martino, 2015), com uma elevação na ordem dos 20-25mmHg (Latha et al., 2010). A sua variação ao longo do dia é regulada pelo sistema nervoso autónomo (Hartikainen et al., 1993; Hermida et al., 2007), pelo péptido intestinal vasoativo (Kretschmannova, Svobodova, Balik, Mazna & Zemkova, 2005), pelo cortisol sanguíneo e pela aldosterona (Charloux, Gronfier, Lonsdorfer-Wolf, Piquard & Brandenberger, 1999). O pico da pressão sanguínea é explicado pelo facto de a ativação máxima do sistema nervoso simpático (SNS) e do RAA se dar no início da manhã (Hartikainen et al., 1993; Patel et al., 2008), em indivíduos normotensos ou com hipertensão primária (Hermida et al., 2012). O aumento da atividade do sistema RAA provoca a retenção de água e sódio, o que por sua vez aumenta o volume sanguíneo e a

resistência vascular periférica, com consequente aumento da PA. Outros autores explicam o aumento da pressão arterial matinal como consequência do aumento da agregação plaquetária, dos níveis de catecolaminas plasmáticas, da resistência coronária e vascular, contribuindo para o risco aumentado de eventos cardiovasculares matinais (Tofler et al., 1987). Fatores externos, como o consumo de cafeína, também afetam a PA, devido à interação desta com receptores de adenosina, o que provoca um aumento na agregação plaquetária (Varani et al., 2000). Durante o decorrer do dia, a tensão arterial decresce para atingir o seu mínimo à noite (Hermida et al., 2007; Carter et al., 2014). A redução noturna da PA à noite é uma consequência de diversos mecanismos, tais como a diminuição do tónus do SNS, em simultâneo com o aumento do tónus vagal, a redução da atividade do eixo RAA, e o aumento na concentração de vasodilatadores, como o péptido intestinal vasoactivo e o óxido nítrico (Hermida, Ayala, Fernández, Portaluppi, et al., 2011). Existem, contudo, casos em que essa redução noturna não acontece. Apesar de a redução noturna da pressão arterial ocorrer na maioria dos indivíduos normotensos ou com hipertensão primária, em condições fisiopatológicas, isso nem sempre se verifica. De acordo com o padrão circadiano da pressão arterial, classifica-se os indivíduos hipertensos em *dippers* e *non dippers*.

2.1.1 Padrão dipper e non-dipper

Os indivíduos *dippers* são aqueles que apresentam o pico de pressão sanguínea de manhã e um mínimo durante a noite, evidenciando um ritmo circadiano normal (embora com valores elevados, classificados como hipertensos *dippers*). Nestes casos, ocorre uma redução noturna da PA em 10%, comparando com a PA diurna (Flack & Nasser, 2011). O perfil *dipper*, como padrão fisiológico, contribui para o normal funcionamento do ritmo circadiano da PA, evitando os picos súbitos da mesma durante a noite e durante as primeiras horas da manhã, constituindo um mecanismo de defesa contra eventos cardiovasculares (Stranges, Drew, Rafferty, Shuster & Brooks, 2014). Os *non-dippers* são os indivíduos cuja pressão arterial não apresenta uma redução noturna, mais precisamente são aqueles em que a redução noturna da pressão sanguínea é menos de 10% da pressão sanguínea diurna (Izzedine, Launay-Vacher & Deray, 2006; Flack & Nasser, 2011). Cerca de 50% dos hipertensos apresentam perfil *non-dipper* (Hermida, Ayala, Mojón & Fernández, 2010), sendo que nestes indivíduos, o prognóstico é menos favorável em relação a eventos cardiovasculares (Verdecchia et al., 1994). O perfil *non-*

dipper acarreta não só risco cardiovascular, como também pode resultar em danos cerebrais (Kario et al., 2001). Para além disso, a incidência de albuminúria e progressão para insuficiência renal nos *non-dippers* é mais elevada (Agarwal & Andersen, 2006; Takeda & Maemura, 2010b), pelo que o objetivo terapêutico passa pela alteração do padrão *non-dipper* para *dipper* (Hermida, Ayala & Portaluppi, 2007).

2.1.2 Administração de antihipertensores segundo o ritmo circadiano

De um modo geral, os antihipertensores são administrados uma vez por dia de manhã (Flack & Nasser, 2011), atingindo o seu pico sérico em 60-90 minutos. No entanto, têm surgido ao longo dos anos diversas tentativas para provar que a melhor abordagem no controlo da hipertensão passa pela administração noturna destes fármacos. Este tipo de abordagem baseia-se no facto de o pico da pressão arterial, que normalmente se verifica nas primeiras horas da manhã, ocorrer antes da absorção do fármaco, o que leva a um menor efeito protetor do fármaco, quando este é administrado pela manhã (Carter et al., 2014). São exemplos de fármacos que seguem este perfil a hidroclorotiazida, o enalapril, o atenolol, o labetalol, o nadolol, o pindolol, o propranolol e a nifedipina. Por apresentarem tempos de semi-vida curtos, não reduzem a pressão arterial matinal quando administrados num regime de toma única (Hornung, Gould, Kieso & Raftery, 1982; Raftery, Mann, BalaSubramanian & Craig, 1982; Applegate et al., 1991; Ernst et al., 2006). Os esquemas terapêuticos típicos na prática clínica incluem a administração de um ou mais anti-hipertensores pela manhã. No entanto estes regimes só se aplicam no caso de hipertensos com padrão normal na pressão arterial (padrão *dipper*) e no caso de fármacos que apresentem uma eficácia terapêutica uniforme durante 24 horas, o que não acontece para a maioria dos anti-hipertensores (Hermida, 2007).

Outras explicações para o facto de os anti-hipertensores terem um melhor efeito terapêutico quando administrados à noite incluem a existência de ritmos circadianos a nível do pH gástrico, do esvaziamento e motilidade gástrica e no fluxo sanguíneo gástrico, que se encontram diminuídos durante a noite, fazendo com que a farmacocinética do anti-hipertensor esteja alterada. No caso dos parâmetros gástricos, a sua redução tem como consequência a diminuição da absorção dos fármacos, o que leva, em última instância, ao atraso do pico sérico do fármaco (Smolensky, Hermida, Ayala, Tiseo & Portaluppi, 2010). A nível da eliminação, a TFG e o fluxo renal

diminuem durante a noite, o que resulta numa excreção mais lenta dos fármacos, podendo estes exercer os seus efeitos anti-hipertensores durante mais tempo (Koopman et al., 1989), particularmente útil no caso dos hipertensos *non-dippers*.

O principal estudo de cronoterapia na hipertensão arterial é o estudo MAPEC (*Monitorización Ambulatoria para Predicción de Eventos Cardiovasculares*) por Hermida, Ayala, Fontao, Mojón & Fernández (2010), que avaliaram a possibilidade de a administração noturna de um ou mais antihipertensores resultar num controlo mais eficaz da pressão arterial e numa redução do risco cardiovascular, comparativamente à administração convencional ao acordar. Este estudo incluiu 2156 hipertensos de nacionalidade espanhola, que foram divididos aleatoriamente em dois grupos: administração matinal e administração noturna. Os fármacos avaliados foram escolhidos de acordo com os prescritores de cada indivíduo, pertencendo às seguintes classes: antagonistas dos recetores da angiotensina II (ARA) (valsartan, telmisartan e olmesartan); inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) (ramipril e espirapril); bloqueadores dos canais de cálcio (BCCs) (amlodipina e nifedipina); beta-bloqueadores (neбиволол); e diuréticos (torasemida). Os conselhos prestados aos participantes no estudo incluíram a perda de peso, a dieta com restrição de sódio, a limitação do consumo de álcool e a cessação tabágica, entre outros. Os autores constataram que em todas as classes de antihipertensores, a administração ao deitar alcançava melhores resultados a nível de pressão arterial, principalmente no indivíduos com perfil *non-dipper*.

Ainda, segundo as *guidelines* da *American Diabetes Association* (ADA), a administração noturna de fármacos antihipertensores constitui uma medida para atingir um controlo de 24 horas da pressão arterial, bem como para melhorar o padrão *non-dipper*, resultando não só na melhoria deste parâmetro, mas também prevenindo a elevação matinal da PA (American Diabetes Association, 2013). Uma revisão *Cochrane* que avaliou 21 estudos com 1993 indivíduos, comparou os efeitos da administração noturna de antihipertensores com os efeitos da administração matinal típica destes fármacos. Na maioria dos estudos, a conclusão foi que a pressão arterial, em geral, reduziu, no caso dos indivíduos submetidos a administração noturna (Zhao, Ping, Chaomin & Zhengrong, 2011).

Os principais fármacos utilizados para o controlo da tensão arterial elevada incluem os diuréticos, os bloqueadores adrenérgicos (alfa e beta), os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), os antagonistas da angiotensina II (ARA) e os

bloqueadores dos canais de cálcio (BCCs). Apesar de existirem outras classes de antihipertensores, as classes descritas são as mais usadas nos estudos de cronoterapia.

2.1.2.1 Cronoterapia com diuréticos

Os diuréticos atuam na hipertensão arterial pela diminuição do volume intravascular e da concentração de sódio no sangue (Katzung, Masters & Trevor, 2012). A nível de cronoterapia, foram estudados os diuréticos tiazídicos e os diuréticos de ansa, sendo a hipótese de que existem diferenças a nível da absorção renal tubular durante o ciclo sono-vigília, a base para a aplicação de esquemas cronomodulados com estes fármacos (Stranges et al., 2014). No caso dos diuréticos tiazídicos, sabe-se que estes são uma alternativa terapêutica particularmente útil para hipertensos de nacionalidade ou descendência africana, sendo que estes indivíduos tendem a ter um prognóstico menos favorável no seu perfil de hipertensão (Ferdinand & Ferdinand, 2008). Na cultura ocidental, os diuréticos tiazídicos são utilizados, habitualmente, como adjuvantes terapêuticos de outros anti-hipertensores, pelo que não existem praticamente nenhum estudo de cronoterapia com diuréticos em indivíduos caucasianos (Okeahialam, Ohihoin & Ajuluchukwu, 2012). Uma das limitações do uso de diuréticos à noite prende-se com o facto de estes aumentarem a diurese, o que pode perturbar o sono e alterar o ritmo circadiano da pressão arterial. No entanto, este efeito secundário é temporário, pelo que é essencial apostar no aconselhamento aos doentes em relação à administração noturna, ao contrário da prática habitual – a toma de anti-hipertensores ao acordar (Okeahialam et al., 2012). Na tabela 3 encontram-se os estudos mais relevantes a nível de cronoterapia com diuréticos.

Tabela 3. Estudos de cronoterapia com diuréticos.

Fármaco	Dose (mg)	Amostra	Administração	Efeitos terapêuticos	Referência bibliográfica
Hidroclorotiazida	50	165	10:00 horas vs 22:00 horas	22:00h: melhor controlo da PA e outros parâmetros cardiovasculares	Okeahialam et al., (2012)
Torasemida	2,5 – 5	113	Matinal vs noturna	Noturna: melhor controlo da PA	Hermida, Ayala, Mojón, et al., (2008)

2.1.2.2 Cronoterapia com fármacos que atuam no Sistema Nervoso Simpático

Os fármacos que atuam ao nível do sistema nervoso simpático incluem os bloqueadores alfa-1 e os beta-bloqueadores, que atuam por vasodilatação no caso dos bloqueadores alfa-1 e por diminuição da frequência e débito cardíacos e de pressão sanguínea, no caso dos beta-bloqueadores. A doxazosina, um bloqueador adrenérgico alfa-1, é utilizado comumente no controlo dos sintomas da hiperplasia benigna da próstata (RCM *Cardura GITS*[®], 2012), mas também pode ser usado em caso de hipertensão. Os estudos de cronoterapia aplicada aos bloqueadores alfa-1 não são abundantes, uma vez que esta classe de fármacos não é muito utilizada a nível da hipertensão arterial. Já para o caso dos beta-bloqueadores vários autores compararam a administração noturna com a matinal, não havendo consenso em relação à altura do dia que melhores resultados atinge, podendo dever-se ao facto de os beta-bloqueadores apresentarem uma curva de dose-resposta plana. Assim sendo, neste caso a cronoterapia apresentaria apenas benefício adicional para os hipertensos sensíveis a beta-bloqueadores. Na tabela 4 encontram-se os estudos mais relevantes a nível de cronoterapia com esta classe de fármacos.

Tabela 4. Estudos de cronoterapia com alfa-bloqueadores e beta-bloqueadores.

Fármaco	Dose (mg)	Amostra	Administração	Efeitos terapêuticos	Referência bibliográfica
Doxazosina GITS	4	91	Matinal vs noturna	Noturna: melhor controlo da PA durante 24 h	Hermida et al., (2004)
Propranolol LP e propranolol convencional	80 e 120	41	Propranolol convencional 08:00h vs propranolol LP 22:00h	Sem diferenças entre as duas formulações	Neutel & Rotenberg, (2005)
Propranolol LP e placebo	80, 120, 160 e 640	427	21:30-22:30 h	< PA diastólica matinal e do esforço cardíaco (propranolol LP vs placebo)	Sica, Neutel, Weber, & Manowitz, (2004)
Nebivolol	5 e 10	38	Matinal vs noturna	Sem diferenças	Acelajado et al., (2013)

< : Diminuição

2.1.2.3 Cronoterapia com fármacos que atuam no eixo renina-angiotensina-aldosterona

Os IECA atuam pela inibição da enzima conversora de angiotensina, diminuindo a concentração de angiotensina II, potente vasoconstritor com capacidade de retenção de

sódio (Katzung et al., 2012). Como fármacos direcionados para o controlo do sistema RAA, são muito eficazes quando administrados antes de dormir, uma vez que durante o sono, o mecanismo da PA depende, em grande parte, da atividade do sistema RAA (Hermida, Ayala, Mojón & Fernández, 2011; Martino et al., 2011). Outro aspeto que influencia a eficácia desta classe de fármacos é o facto de serem pró-fármacos e terem, conseqüentemente, de ser ativados pela via hepática na sua forma ativa. Visto que o fluxo hepático se encontra diminuído durante a noite, é necessário ter em conta que a ativação dos IECA se encontra diminuída e, pela mesma lógica, o seu pico plasmático é retardado (Palatini et al., 1992). Os estudos confirmam que os IECA devem ser preferencialmente administrados no período da noite, apesar de na prática clínica isso não se verificar. Na tabela 5 encontram-se resumidos os estudos de cronoterapia com IECA. No caso do ramipril, o estudo que se destaca na avaliação da cronoterapia para este fármaco é o estudo HOPE (*Heart Outcomes Prevention Evaluation*), no qual os autores concluíram que este IECA diminui o risco cardiovascular e mortalidade associada à hipertensão (Yusuf et al., 2000) e mais tarde, num subgrupo do HOPE com 38 hipertensos que tinham terminado o estudo principal, a vantagem terapêutica da administração noturna de ramipril (Svensson, de Faire, Sleight, Yusuf & Ostergren, 2001). Relativamente aos efeitos adversos da administração de IECA, sabe-se que esta classe de fármacos em particular, dá origem ao aparecimento de tosse seca devido à sua intervenção no ciclo das bradicininas. Também a este nível, a alteração do esquema posológico traz vantagens, nomeadamente a alteração da administração matinal para uma administração noturna reduz não só a gravidade como a frequência dos efeitos adversos associados à toma de IECA (Ohmori & Fujimura, 2005). A principal explicação para o facto de os IECA serem mais eficazes durante a noite relaciona-se com a ativação do sistema RAA em hipertensos *non-dippers*, tendo nestes casos uma abordagem cronomodulada resultados mais custo-efetivos.

Tabela 5. Estudos de cronoterapia com Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina.

Fármaco	Dose (mg)	Amostra	Administração	Efeitos terapêuticos	Referência bibliográfica
Quinalapril	20	18	08:00h vs 22:00h	22:00h: controlo PA mais constante 08:00h: perda parcial de eficácia durante a noite e início da manhã	Palatini et al., (1992)
Ramipril	5	115	Matinal vs noturna	Ao deitar: > controlo da PA noturna e reversão do padrão <i>non-dipper</i> sem alterar eficácia durante o dia	Hermida & Ayala (2009)
Benazepril	10	10	09:00h vs 21:00h	09:00h - maior efeito antihipertensor	Palatini et al., (1993)
Captopril	15mg/kg	Ratinhos	07:00h vs 19:00h	07:00h (descanso) - maior proteção do miocárdio	Martino et al., (2011)
Captopril ou placebo	12,5	121	22:00h	Captopril às 22:00h: < PA noturna e reversão de 70% <i>non-dippers</i> para <i>dippers</i>	Qiu et al., (2005)
Trandolapril	1 e 2	37	Após pequeno-almoço vs ao deitar	Ao deitar: < pico da PA ao acordar sem redução excessiva da PA noturna	Kuroda et al., (2004)

Da mesma forma, os ARA, ao interferirem com o sistema RAA, devem ser administrados preferencialmente à noite, de forma a contrariarem os efeitos vasoconstritores da ativação deste sistema. Para o caso do valsartan, existem diversos estudos que comprovam o benefício acrescido da administração noturna deste fármaco. Wang et al. (2013) avaliaram 60 hipertensos com padrão *non-dipper* quanto à administração de valsartan ao deitar (de acordo com os horários pessoais dos indivíduos em estudo) e concluíram que esta tinha como resultados não só a diminuição da PA noturna e consequente reversão do perfil *non-dipper* para *dipper*, como também a proteção renal com diminuição da proteinúria nos indivíduos com insuficiência renal crónica. Outro estudo com 90 hipertensos comprovou que a administração ao deitar, apesar de atingir um controlo da PA semelhante à administração ao acordar, é mais eficaz na redução da PA noturna, o que se torna bastante útil nos hipertensos *non-dippers*, cujo perfil acarreta um maior risco cardiovascular (Hermida et al., 2003). Suzuki & Aizawa (2011) avaliaram três períodos diferentes para a administração de valsartan em hipertensos com diabetes *mellitus* tipo 2 – 160 mg após o pequeno-almoço, 160 mg após o jantar e 80 mg após o pequeno-almoço e 80 mg após o jantar –, verificando que apesar de a nível da PA não haver diferenças entre os três horários, a administração de 160 mg após o jantar diminui a albuminúria. Também para o caso da

combinação valsartan/hidroclorotiazida foi avaliada a possibilidade de ajuste cronomodulado. A vantagem terapêutica da utilização de dois antihipertensores de classes diferentes é o facto de terem mecanismos de ação diferentes e consequentemente alcançar um incremento na redução da PA (Wagstaff, 2006). Além disso, a hipocaliémia induzida pela hidroclorotiazida é equilibrada pela ação do valsartan. Num estudo com 204 hipertensos, foram avaliados dois períodos de administração de valsartan/hidroclorotiazida, ao acordar e ao deitar, sendo que neste último os autores verificaram uma maior taxa de conversão de hipertensos com perfil *non-dipper* para *dipper* (Hermida, Ayala, Mojón, Fontao & Fernández, 2011). Da mesma forma, para outros ARA, a administração noturna demonstrou ser mais eficaz comparativamente à administração matinal desta classe de fármacos, nomeadamente para o olmesartan (Hermida, Ayala, Chayan, Mojon & Fernandez, 2009) e para o telmisartan (Hermida, Ayala, Fernández & Calvo, 2007), comprovando que esta característica é comum entre a maioria dos ARA utilizados para o tratamento da hipertensão.

2.1.2.4 Cronoterapia com bloqueadores dos canais de cálcio

Os BCCs diminuem a resistência vascular periférica e a pressão arterial pela inibição do influxo de cálcio para as células do músculo liso (Katzung et al., 2012), sendo divididos em três grupos: as fenilalquilaminas (verapamilo), as benzotiazepinas (diltiazem) e as dihidropiridinas (amlodipina, nifedipina, entre outros). Enquanto os dois primeiros têm mais efeitos a nível cardíaco, as dihidropiridinas apresentam mais predominância de efeitos hemodinâmicos, nomeadamente efeitos vasodilatadores. Para o caso do verapamilo, os estudos indicam que a formulação de libertação controlada permite um controlo da PA matinal quando esta é administrada ao deitar. Num estudo com 250 hipertensos, os autores avaliaram a administração de verapamilo LP entre as 21:00 e as 23:00 horas, tendo esta formulação alcançado um controlo da PA durante as primeiras horas da manhã, críticas no desenvolvimento de eventos cardiovasculares (Smith, Neutel & Weber, 2001). A particularidade desta formulação passa pelo atraso na libertação de fármaco por 5 horas, fazendo com que o pico plasmático não seja logo após a toma, o que poderia levar a uma redução excessiva da pressão arterial durante o sono. Através da libertação prolongada, o pico plasmático do verapamilo dá-se entre as 06:00 e as 12:00 horas, conferindo uma proteção cardiovascular mais eficaz. Mais tarde, numa análise *post-hoc* (Prisant, Weber, & Black, 2005) do ensaio CHRONO

(*Controlling Hypertension in the morning with a Chrono medication*) de Prisant, Black, Messerli & Weber (2002) com 2556 hipertensos de várias etnias, os autores concluíram que a administração de verapamilo LP ao deitar permitiu uma redução da pressão arterial matinal. O fármaco representativo da classe das benzotiazepinas, o diltiazem, também foi estudado quanto à sua possível aplicação à cronoterapia, tendo os estudos demonstrado que a formulação LP desenvolvida se adequa a uma administração noturna (ao deitar), reduzindo o pico de pressão arterial matinal (Claas & Glasser, 2005; Ezeugo & Glasser, 2009). Por fim, o grupo das dihidropiridinas e ao contrário dos outros antihipertensores, nos quais a administração noturna demonstrou ser mais eficaz e benéfica a nível cardiovascular, a administração matinal para o caso da amlodipina é mais eficaz. Qiu, Chen, Zhu & Yao (2003) referem no seu estudo com 62 hipertensos, que a administração às 07:00 horas apresentou melhores resultados no ritmo circadiano da pressão arterial, comparativamente com a administração às 21:00 horas. Contudo, existem mais estudos a nível de cronoterapia para a combinação de amlodipina com outros fármacos do que para a amlodipina em monoterapia. No caso da amlodipina/olmesartan, um estudo com 38 hipertensos concluiu que a administração da terapêutica combinada ao deitar reduz o pico abrupto na PA matinal (Hoshino, Nakamura & Matsubara, 2010). Além disso, os hipertensos com perfil *dipper* não sofreram uma redução excessiva na PA noturna, que pode levar a situações de hipoperfusão e isquémia e, por outro lado, os hipertensos com perfil *non-dipper* melhoraram o seu padrão circadiano na pressão arterial. Já para o caso da combinação amlodipina/valsartan, os resultados dos estudos analisados não estão em concordância. Hermida, Ayala, Fontao, Mojón & Fernández (2010) no estudo em que analisaram 203 hipertensos quanto ao melhor *timing* de administração de amlodipina/valsartan, concluíram que o efeito antihipertensor era mais marcado no caso da administração ser feita ao deitar, alcançando uma maior percentagem de hipertensos controlados. Já Asmar, Gosse, Queré & Achouba (2011) verificaram que não houve diferenças entre os períodos de administração no seu estudo com 546 hipertensos, tendo chegado à conclusão que a administração matinal atingia um melhor controlo da PA durante o dia e, do mesmo modo, a administração noturna atingia melhores resultados durante a noite. No entanto, não é possível comparar os dois estudos, por terem amostras diferentes, condições de estudo diferentes e análise de períodos de administração diferentes. O outro fármaco referido da classe das dihidropiridinas é a nifedipina, um BCC de primeira geração com um tempo de semi-vida bastante curto, dos mais curtos entre esta

classe de fármacos (2 a 5 horas). Como consequência do seu curto tempo de semi-vida, torna-se necessário administrar mais do que uma dose diária para atingir o efeito antihipertensor desejável ao longo das 24 horas (Hermida, Calvo, et al., 2007). Para ultrapassar o obstáculo da falta de adesão por parte do doente, foi desenvolvida a formulação nifedipina GITS. Esta formulação evita picos plasmáticos que poderiam ocorrer logo após a toma e originar efeitos adversos como a taquicardia e cefaleias, uma vez que ocorre a libertação de fármaco a uma taxa constante no trato GI. Apesar de não ser recente (Greminger, Suter, Holm, Kobelt & Vetter, 1994), um estudo em 2007 demonstrou que a administração desta formulação ao deitar atinge um efeito antihipertensor ligeiramente mais marcado comparativamente à sua administração ao acordar (Hermida, Calvo, et al., 2007). Ao contrário das outras classes de antihipertensores, os BCCs não apresentam resultados homogêneos no que se relaciona com o melhor período de administração dos fármacos, sendo a adaptação à cronoterapia, na maioria das vezes, alcançada através do desenvolvimento de formulações de libertação prolongada, que permitam uma concentração de fármaco constante ao longo das 24 horas, de forma a normalizar o ritmo circadiano da pressão arterial.

2.1.3. Cronoterapia da hipertensão em grupos especiais: diabéticos, doentes renais crónicos e hipertensão resistente

Também no caso dos diabéticos, doentes renais crónicos e na hipertensão resistente é necessário atingir valores de pressão arterial estabilizados, principalmente para não agravar a patologia já existente. No caso dos diabéticos, sabe-se que nestes indivíduos o ritmo circadiano da pressão arterial encontra-se alterado (Knudsen et al., 2002) e que o aumento da pressão arterial noturna pode ter efeitos a nível renal, como o aparecimento de microalbuminúria (Lurbe et al., 2002). O risco cardiovascular está também aumentado em indivíduos com doença renal crónica, constituindo a cronoterapia um meio eficaz para a redução da mortalidade e de eventos cardíacos neste grupo de hipertensos. A hipertensão resistente é definida como “hipertensão não controlada com a administração de pelo menos três antihipertensores” (Muxfeldt, Bloch, Nogueira & Salles, 2003). Nestes casos a cronoterapia tem também um papel importante na reconstituição de um ritmo circadiano fisiológico da pressão arterial (Hermida et al., 2005; Hermida, Ayala, Fernández & Calvo, 2008; Almirall, Comas, Martínez-Ocaña, Roca & Arnau, 2012). Nestes indivíduos o ritmo circadiano da pressão arterial pode ser

reorganizado com a alteração da administração de pelo menos um antihipertensor da manhã para a noite, como comprovado por Hermida et al. (2005). Na tabela 6 encontram-se alguns estudos efetuados nos grupos especiais de hipertensos.

Tabela 6. Estudos de cronoterapia efetuados em grupos especiais de hipertensos.

Grupo especial	Amostra	Fármacos	Efeito da administração noturna	Referência bibliográfica
Hipertensos com diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	448	Vários*	Normalização do ritmo da PA e < do risco cardiovascular	Hermida, Ayala, Mojon & Fernandez, (2011)
	32	Vários*	< da proteinúria, diminuição da prevalência de <i>non-dippers</i>	Minutolo et al., (2007)
Hipertensos com insuficiência renal crónica	661	Vários*	< do risco cardiovascular, diminuição da prevalência de <i>non-dippers</i>	Hermida, Ayala, Mojon & Fernandez, (2011a)
	90	Valsartan	< da prevalência de <i>non-dippers</i> , proteção renal (melhoria na TFG)	Wang et al., (2013)
Hipertensão resistente	700	Vários*	< da prevalência de <i>non-dippers</i> e melhor controlo da PA	Hermida et al., (2005)

* Várias classes de antihipertensores; < : Diminuição

Assim, apesar de os hipertensos com comorbilidades como a diabetes *mellitus* e a doença renal crónica ou mesmo em casos de hipertensão resistente apresentarem um risco cardiovascular mais elevado em relação à restante população de hipertensos, a cronoterapia consiste numa alternativa terapêutica com resultados animadores no que se relaciona com o perfil de pressão arterial, provando, que mesmo em casos complicados é possível reduzir o risco.

A cronoterapia na hipertensão arterial é uma matéria largamente estudada, sendo um dos campos da cronoterapia mais bem desenvolvido e analisado. Hoje em dia, os profissionais de saúde prescritores têm uma variedade de classes de antihipertensores à sua disposição, com eficácia e segurança demonstradas. Não obstante, poucas são as formulações desses mesmos fármacos que são desenvolvidas de modo a manter um efeito antihipertensor durante 24 horas concomitante com a diminuição do pico matinal na pressão arterial, característico do ritmo circadiano da mesma (Claas & Glasser, 2005; Ezeugo & Glasser, 2009). Com o desenvolvimento de novas formulações LP, o desafio da adesão à terapêutica tem sido ultrapassado, permitindo uma toma única diária. A posologia habitual dos antihipertensores passa pela toma única matinal, uma prática há muitos anos estabelecida na sociedade entre profissionais de saúde e os doentes.

Contudo, muitos são os estudos que referem o contrário – os fármacos antihipertensores devem, na sua maioria, ser administrados ao deitar. O facto de ainda não se verificar esta premissa na prática clínica tem como base várias explicações, nomeadamente: o hábito rotineiro de tomar a medicação de manhã, hábito esse difícil de quebrar apesar de não ter qualquer justificação clínica; a ausência de *guidelines* que aconselhem a administração ao deitar ou recomendações pouco salientadas – a única associação que recomenda especificamente a administração noturna de pelo menos um antihipertensor como melhor escolha para o controlo da hipertensão arterial é a *American Diabetes Association* (Stranges et al., 2014); e a dificuldade em classificar os hipertensos em *dippers* e *non-dippers*, essencial para determinar se a administração ao deitar é crucial no controlo da hipertensão – nem sempre é possível classificar os hipertensos quanto ao seu perfil de uma forma reprodutível (Mochizuki et al., 1998), sendo os hábitos dos doentes como o ciclo sono-vigília, trabalho noturno, consumo de cafeína e adesão à terapêutica fatores essenciais no sucesso da cronoterapia (Stranges et al., 2014). Outra razão que justifica a dificuldade em aplicar à prática o que os autores já verificaram na teoria passa pelas limitações dos seus próprios estudos. Na sua maioria, os estudos são efetuados em hipertensos de grau 1 e grau 2, havendo uma exclusão de hipertensos com outras comorbilidades ou com eventos cardiovasculares recentes, não sendo razoável a extrapolação dos resultados para qualquer hipertenso. Independentemente desses aspetos, cada vez mais são os estudos que demonstram que a cronoterapia apresenta vantagens terapêuticas a nível da redução do risco cardiovascular, pelo que se torna iminente a revisão das *guidelines* e da prática clínica atual, de forma a atingir um melhor controlo da hipertensão e, assim, reduzir a mortalidade associada.

2.2 Cronoterapia na asma brônquica

A asma brônquica é caracterizada pela inflamação crónica das vias aéreas, sendo os sintomas principais a tosse, dispneia, broncospasmo e aumento da secreção de muco (Smolensky, Lemmer & Reinberg, 2007). Segundo o Programa Nacional para as Doenças Respiratórias, “em Portugal, a mortalidade por doenças respiratórias constitui a terceira principal causa de morte a seguir às doenças cardiovasculares e aos tumores” (Direcção-Geral da Saúde, 2013), como ilustrado na figura 7.

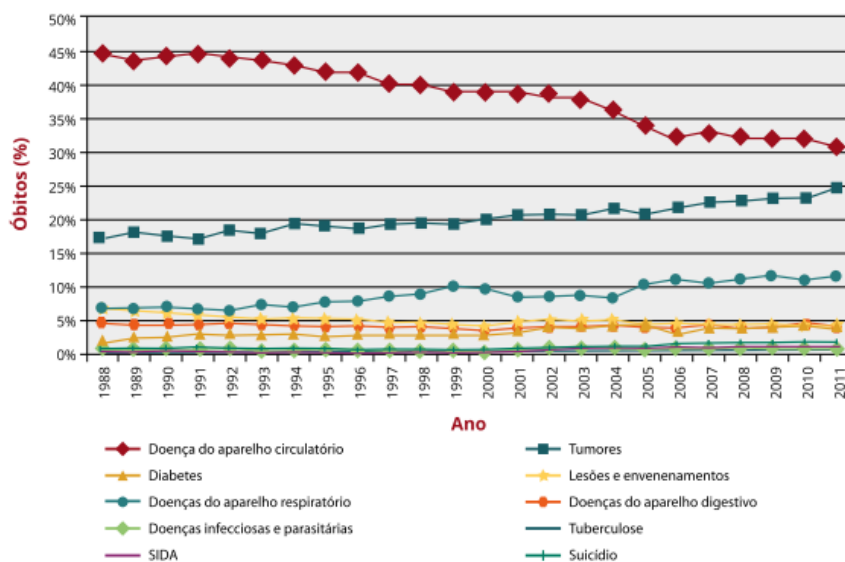


Figura 7. Principais causas de morte em Portugal (INE, INP, 2013)

A cronoterapia na asma tem sido estudada por diversos autores, uma vez que esta condição patológica apresenta marcada variação de acordo com o ritmo circadiano. Os indivíduos asmáticos apresentam exacerbações e sintomas noturnos, devido a diversos fatores: aumento do número de linfócitos durante a noite (Kelly et al., 2004), diminuição da função pulmonar, aumento da sensibilidade e reatividade brônquica a alérgenos (Jarjour, 1999) devido à menor concentração de cortisol, adrenalina, aumento da inflamação e do tônus colinérgico (Martin & Banks-schlegel, 1998), diminuição do tônus do músculo inspiratório, levando ao desenvolvimento de episódios de obstrução reversível das vias aéreas (Nainwal, 2012). O pico dos sintomas noturnos ocorre por volta das 04:00 horas, com consequente declínio no FEV₁ e no débito expiratório máximo instantâneo (DEMI), cujos ritmos circadianos se encontram bastante ampliados em indivíduos asmáticos (Durrington, Farrow & Ray, 2014). Uma vez que os episódios de asma podem pôr em risco a função pulmonar e mesmo a vida, é necessário um bom controlo não só dos episódios como da inflamação crónica. Ao contrário do que habitualmente se possa pensar, a administração noturna dos fármacos não é benéfica em todos os casos, pelo que é necessário avaliar cada classe de fármaco quanto à melhor altura para a sua administração. Além disso, as *guidelines* no tratamento de controlo da asma atualmente não preconizam a cronoterapia como regime posológico mais eficaz, defendendo um algoritmo terapêutico linear, como ilustrado na figura 8.

Degrau 1	Degrau 2	Degrau 3*	Degrau 4	Degrau 5
Educação Controlo do Meio Ambiente				
Agonista beta 2 de ação rápida quando necessário				
Opções de Controle	<i>Selecionar uma...</i>	<i>Selecionar uma...</i>	<i>Acréscetar uma ou mais ao degrau anterior...</i>	<i>Acréscetar uma ou mais ao degrau anterior...</i>
	Dose baixa de CI	Dose baixa de CI + beta 2 agonista de ação longa	Dose média ou alta de CI + beta 2 agonista de ação longa	Glucocorticóide oral (dose baixa)
	Antileucotrieno	Dose média ou alta de CI	Antileucotrieno	Tratamento anti- IgE**
		Dose baixa de CI + antileucotrieno	Teofilina libertação lenta	
		Dose baixa de CI + teofilina libertação lenta		

CI = corticosteróides inalados; *Degrau 3: Em crianças com menos de 4 anos de idade, constitui primeira opção a duplicação da dose inicial de CI ou associar à dose inicial de CI um antileucotrieno;

**Omalizumab, indicado na asma grave de idade ≥ 6 anos.

Figura 8. Degraus terapêuticos na asma brônquica e fármacos utilizados para cada degrau (adaptado de Norma nº 016/2011, DGS, 2012).

As principais classes de fármacos para o controlo e tratamento da asma brônquica são os agonistas beta 2 de longa e de curta duração de ação, os corticosteróides, as metilxantinas, os anticolinérgicos, os inibidores dos mastócitos e os anti-leucotrienos (Wells, Dipiro, Schwinghammer & Dipiro, 2009). O uso de cada classe de fármaco varia de acordo com a gravidade da asma (figura 8).

2.2.1. Cronoterapia com agonistas beta 2

Os agonistas beta 2 dividem-se em dois grupos principais: os de curta duração de ação e os de longa duração de ação. O seu mecanismo de ação passa pela ligação aos recetores adrenérgicos beta 2, inibindo a contração do músculo liso brônquico (Prontuário Terapêutico 11, Infarmed IP, 2012). Os de curta duração de ação incluem o salbutamol e a terbutalina, enquanto os de longa duração de ação são o salmeterol, o formoterol, entre outros. Desde cedo que a cronoterapia foi estudada como esquema terapêutico para o controlo da asma, tendo sido os estudos iniciais conduzidos com estes fármacos. Vários autores avaliaram a cronoterapia da terbutalina, referindo o seguinte esquema posológico como sendo uma estratégia cronomodulada eficaz: um terço da dose era administrado às 08:00 horas, quando o calibre das vias aéreas começava a aumentar e os restantes dois terços às 20:00 horas (regime posológico assimétrico), verificando-se um aumento no DEMI e no FEV₁ (Koëter, Postma, Keyzer & Meurs,

1985; Postma, Koëter, Mark, Reig & Sluiter, 1985; Postma, Koëter, Keyzer & Meurs, 1986; Dahl, Harving, Säwedal & Anehus, 1988). Ainda para o caso da terbutalina, uns anos mais tarde, após o desenvolvimento do bambuterol (pró-fármaco da terbutalina), foi efetuado um estudo que confirmou a eficácia da administração de bambuterol às 22:00 horas, em relação ao DEMI e ao FEV₁, em comparação com a administração às 07:00 horas (D'Alonzo, Smolensky, Feldman, Gnospelius & Karlsson, 1995). O bambuterol é um pró-fármaco com efeito broncodilatador durante 24 horas e que apresenta menor incidência de efeitos adversos comparativamente à terbutalina (Pedersen, Laursen, Gnospelius, Faurschou & Weeke, 1985). Também para o caso do salmeterol, os resultados são idênticos. Num estudo com 41 asmáticos, a administração de 100 µg à noite apresentou melhor eficácia nos parâmetros de controlo da asma comparativamente à terapêutica convencional de 50 µg de 12 em 12 horas, embora sem significância estatística (Faurschou, Engel & Haanaes, 1994). Até à data, existem poucos estudos recentes que avaliem a cronoterapia para os agonistas beta 2 (Durrington et al., 2014), embora os estudos que existem refiram a administração noturna como a mais vantajosa e eficaz.

2.2.2. Cronoterapia com corticosteróides

Os corticosteróides atuam a nível da inflamação das vias aéreas, característica da asma crónica, podendo exercer efeitos tópicos (por via inalatória) ou sistémicos (por via oral). Os corticosteróides inalados são terapêutica de primeira linha na asma ligeira a moderada, enquanto os orais estão reservados para formas mais severas de asma e asma mal controlada com outros fármacos. A cronoterapia com corticosteróides tem três principais focos: o equilíbrio da supressão do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal; o aumento na função das vias aéreas, especialmente durante a noite e nas primeiras horas da manhã; e o controlo da asma noturna (Smolensky et al., 2007). Uma vez que o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal controla a secreção de cortisol endógeno, apresentando marcada variação ao longo do dia, é necessário ter em conta que a administração de corticosteróides pode afetar o ritmo circadiano do cortisol. Esta hormona apresenta um aumento na sua secreção pela manhã e diminui à noite. Reinberg, Smolensky, D'Alonzo & McGovern (1988) referem que a administração de corticosteróides no início do período de atividade não causa supressão adrenocortical, mas quando a administração é dividida em quatro períodos (três às refeições e um ao deitar) ocorre maior supressão do

eixo. Assim, conclui-se que a administração ao fim do dia pode levar ao desenvolvimento de mais efeitos adversos e que a administração matinal acarreta menor risco. Desta forma, contrariamente ao verificado para os agonistas beta 2, os corticosteróides não devem ser administrados à noite. Este facto foi verificado num estudo com 7 asmáticos, em que a administração oral de prednisolona às 15:00 horas atenuou o declínio noturno da função pulmonar e diminuiu a concentração de marcadores inflamatórios, comparativamente com a administração às 08:00 horas e às 20:00 horas (Beam, Weiner & Martin, 1992). Também para os corticosteróides inalados foi analisada a vantagem da cronoterapia como esquema posológico. Em relação à triamcinolona por via inalatória, um estudo verificou que a administração diária às 15:00 horas, em comparação com o regime convencional de administrações *qid*, melhorou o DEMI noturno, embora ambos os esquemas tenham tido eficácia semelhante (Pincus, Szeffler, Ackerson & Martin, 1995). Não obstante, o esquema de inalação única representa uma vantagem no que se relaciona com a adesão à terapêutica. Também no caso do furoato de mometasona não foram descobertas diferenças a nível posológico (uma vez por dia *versus* duas vezes por dia) (D'Urzo et al., 2005). Como os episódios de asma tendem a ser mais severos à noite, a tendência é assumir que a corticoterapia em altas doses à noite é mais eficaz, um pressuposto que é contrariado pelos estudos acima referidos. Embora sem significância estatística, a maioria aponta para uma maior eficácia e, essencialmente, menor incidência de efeitos adversos, quando os corticosteróides são inalados ou tomados às 15:00 horas. Uma vez que um dos focos principais da cronoterapia é minimização dos efeitos adversos associados, uma possível abordagem na corticoterapia passa pela cronoterapia com foco nos efeitos adversos, visto que, sendo primeira linha na asma ligeira a moderada, os corticosteróides são amplamente utilizados, não deixando de ter efeitos adversos que podem ter gravidade variável. É, portanto, necessário ter em conta a melhor altura para a corticoterapia, não tanto como um meio para atingir a melhor eficácia anti-inflamatória, mas sim de forma a minimizar a supressão adrenocortical e as infeções oportunistas associadas à imunossupressão característica desta classe de fármacos.

2.2.3. Cronoterapia com metilxantinas

As metilxantinas têm ação broncodilatadora no músculo liso brônquico e estimuladora do centro respiratório (Prontuário Terapêutico - 11, Infarmed IP, 2012).

Além disso, diminuem a libertação de mediadores pró-inflamatórios e inibem a proliferação de linfócitos T (Smolensky et al., 2007). Tal como para os agonistas beta 2, também para as metilxantinas foram estudados regimes posológicos assimétricos: administração de um terço da dose de manhã e os restantes dois terços ao deitar (Philip-Joet, Bruguerolle, Parrel, Vestri & Arnaud, 1988; Wang, Qi, Zhong & Fang, 2003). Apesar de serem tipicamente administradas de 12 em 12 horas e de este regime posológico atingir concentrações constantes durante as 24 horas, não protegem durante a noite quando os sintomas da asma tendem a piorar. Assim, deve-se adotar o esquema terapêutico de dose única administrada à noite, de forma a atingir o pico durante a noite e ao mesmo tempo mantendo concentrações terapêuticas durante o dia (Smolensky et al., 2007). Uma vez que as metilxantinas, especialmente a teofilina, apresentam margem terapêutica estreita e a sua absorção é influenciada pela presença de alimentos, o esquema posológico pode tornar-se complexo, pelo que as formulações LP administradas à noite atingem os melhores resultados a nível do DEMI e do FEV₁, sem os efeitos adversos associados ao regime posológicos bidiário (Burioka, Suyama, Sako & Shimizu, 2000; Panwar, Agrawal, Nagori, Darwhekar & Jain, 2011; Nainwal, 2012).

2.2.4. Cronoterapia com anticolinérgicos, agentes estabilizadores dos mastócitos e antagonistas dos leucotrienos

Para estes três grupos de fármacos poucos estudos foram publicados no que se relaciona com a cronoterapia até à data. Os agentes anticolinérgicos são úteis na asma noturna, uma vez que é durante a noite que o tónus colinérgico aumenta, contribuindo para a broncoconstrição noturna, resultante da ativação dos recetores muscarínicos (Smolensky et al., 2007). A falha dos esquemas tradicionais (intervalos equidistantes e doses iguais) deve-se, em grande parte, ao aumento do tónus vagal durante o sono, fazendo com que as posologias habituais não exerçam efeito protetor durante a noite (Durrington et al., 2014). Os agentes estabilizadores dos mastócitos atuam prevenindo a desgranulação dos mastócitos, responsáveis pela libertação de mediadores inflamatórios na asma. Um estudo que comparou a eficácia entre a administração diária de cromoglicato de sódio à noite comparativamente ao placebo refere que não houve diferenças entre os dois, relativamente à melhoria do FEV₁ (Morgan et al., 1986). Os leucotrienos intervêm em processos inflamatórios e broncoconstritores, estando a sua concentração aumentada durante a noite (Smolensky et al., 2007). Os estudos que

avaliam a cronoterapia com antagonistas dos leucotrienos referem que não existem diferenças na eficácia entre a administração única diária em relação à administração bidiária, pelo que nesta classe de fármacos a cronoterapia não traz qualquer vantagem em relação aos esquemas tradicionais (Reiss et al., 1998; Pajaron-Fernandez, Garcia-Rubia, Sanchez-Solis & Garcia-Marcos, 2006).

Tendo em conta que a asma é uma patologia com marcada variação ao longo do dia seria de esperar que a cronoterapia se apresentasse como uma abordagem eficaz no seu tratamento e controlo. A cronoterapia na asma baseia-se em diferentes aspetos, nomeadamente a variação dos sintomas ao longo do dia, os ritmos circadianos que modulam a libertação de citocinas pró-inflamatórias nas vias aéreas e os efeitos da administração em diferentes períodos (Smolensky et al., 2007). Isto verifica-se para a maioria das classes utilizadas no controlo da asma, sendo recomendada a sua administração noturna, de forma a minimizar os sintomas que frequentemente diminuem a qualidade de sono e a concentração durante o dia. Para os corticosteróides, contudo, a administração noturna não traz vantagens terapêuticas, apresentando mesmo risco a nível de efeitos adversos. A melhor altura para a administração destes fármacos é pelas 15:00 horas, uma vez que é neste período que se verifica menor supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Smolensky et al., 2007). Assim, para esta classe de fármacos a cronoterapia é considerada como um meio de minimizar os efeitos adversos, um dos objetivos principais desta abordagem terapêutica. Apesar de inúmeros estudos existentes na área da cronoterapia na asma, a maioria deles só compara dois momentos de administração: de manhã e à noite, excluindo outras alturas do dia que poderiam ser benéficas a nível de eficácia broncodilatadora e anti-inflamatória. Não obstante, os esquemas posológicos que preconizam a administração de fármacos à noite apresentam resultados satisfatórios nos parâmetros de monitorização do controlo da asma, não significando, no entanto, que não haja necessidade de estudos adicionais que avaliem outros regimes posológicos e que utilizem diferentes fármacos.

2.3 Cronoterapia nas doenças gastrointestinais

A desregulação dos ritmos circadianos do sistema GI pode levar ao desenvolvimento de doenças gastrointestinais, como a doença de refluxo gastroesofágico, dispepsia, úlcera péptica e a síndrome do cólon irritável (Konturek et al., 2011), explicado pela diminuição dos fatores protetores gástricos, como a

melatonina, o muco protetor do estômago, entre outros, ilustrado na figura 9. Apesar de não apresentarem risco de mortalidade, as doenças gastrointestinais podem perturbar a qualidade de vida. A nível de cronoterapia nas doenças gastrointestinais, esta foca-se principalmente no uso de melatonina como terapêutica promissora. O uso de melatonina baseia-se principalmente no facto de esta hormona ser produzida em grandes concentrações pelo trato GI, desempenhando um papel ativo neste local (Siah, Wong & Ho, 2014).

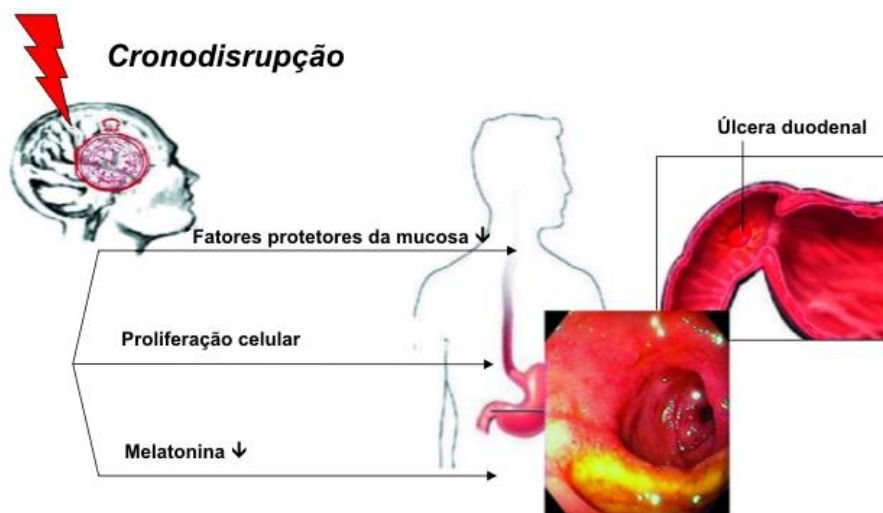


Figura 9. Influência da alteração dos ritmos circadianos na diminuição da proteção gástrica (adaptado de Konturek et al., 2011).

A DRGE é a doença gastrointestinal mais comum, sendo multisintomática. Os principais sintomas associados são pirose, regurgitação e dispepsia. Outros sintomas não relacionados com o trato GI incluem tosse crónica e laringite crónica, pelo contacto frequente entre o ácido e o esófago (Katz, Gerson & Vela, 2013). O seu mecanismo fisiopatológico passa pelo retrocesso de ácido gástrico ou de outras substâncias irritativas do estômago para o esófago, podendo estar associado à diminuição do tónus do esfíncter esofágico (DiPiro et al., 2005). A terapêutica farmacológica da DRGE inclui diversas classes de fármacos, como ilustrado na figura 10.

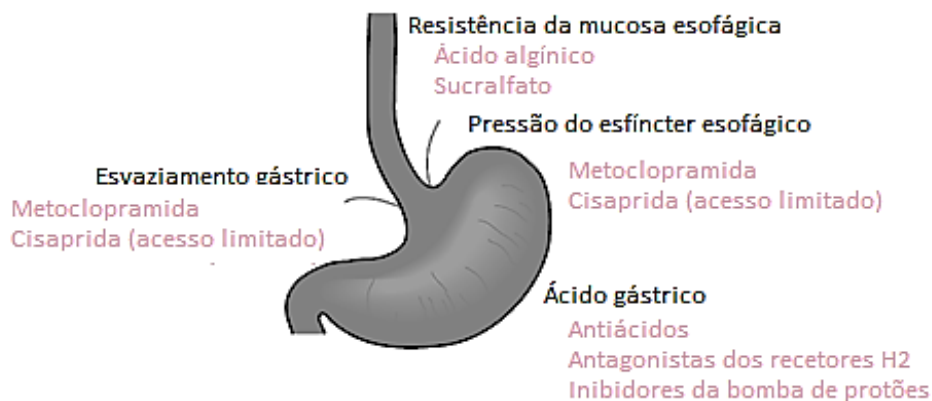


Figura 10. Opções terapêuticas para a DRGE, dependendo da sua etiologia (DiPiro et al., 2005).

A cronoterapia aplicada à DRGE baseia-se no ritmo circadiano gástrico, nomeadamente a secreção gástrica que se encontra aumentada durante a noite. É precisamente por este motivo, que se recomenda como medida não farmacológica a elevação da cabeceira da cama, de modo a evitar o contacto prolongado do ácido com a mucosa esofágica (Katz et al., 2013). Relativamente aos bloqueadores dos recetores H₂, estes fármacos impedem a ação destes recetores das células parietais do estômago, inibindo a secreção de ácido clorídrico. A toma destes fármacos deve ser feita à noite, de forma a coincidir com o aumento da secreção gástrica (Rohan, Parul & Farhatjan, 2012). Já no caso dos inibidores da bomba de protões (IBP), estes inibem a secreção ácida por atuarem a nível da ATPase de H⁺ e potássio (bomba de protões) das células parietais do estômago (Adachi et al., 2003). Na prática clínica é comum a prescrição de omeprazol, recomendando-se a toma diária em jejum. No entanto, uma vez que o pH gástrico se encontra diminuído (mais ácido) durante a noite (Vaughn et al., 2014), a toma de IBP deve ser feita à noite, já que desta forma o pico da sua ação coincide com o pico no ritmo circadiano da variação de pH gástrico. Alguns estudos sugerem que para o controlo do pH gástrico ser completo durante as 24 horas, é necessário esquemas bidiários: administração de um IBP antes do pequeno-almoço e outra antes do jantar (Kuo & Castell, 1996; Hatlebakk, Katz, Kuo & Castell, 1998). Outro estudo mais recente refere que a melhor altura para a administração de IBP, nomeadamente o rabeprazol, é antes do jantar, para doentes com DRGE e com sintomas noturnos (Pehlivanov, Olyae, Sarosiek & McCallum, 2003).

A úlcera péptica é caracterizada por sintomas como a dor epigástrica, descrita como ardor no estômago, frequentemente noturna, náuseas e vômitos, sendo as causas multifatoriais. As três principais formas de úlcera péptica são: úlcera associada ao *Helicobacter pylori*; úlcera induzida pela utilização crônica de anti-inflamatórios não esteroides (AINE); e úlcera por *stress* (DiPiro et al., 2005). As características de cada uma encontram-se esquematizadas na tabela 7.

Tabela 7. Características das três formas de úlcera péptica (adaptado de DiPiro et al., 2005)

Caraterística	Úlcera induzida por <i>H. pylori</i>	Úlcera induzida por AINE	Úlcera por <i>stress</i>
Condição	Crónica	Crónica	Aguda
Local	Duodeno	Estômago	Estômago
pH gástrico	Dependente	Pouco dependente	Pouco dependente
Sintomas	Dor epigástrica	Assintomática	Assintomática
Profundidade da úlcera	Superficial	Profunda	Superficial
Hemorragia gastrointestinal	Menos severa	Severa	Severa

A terapêutica padrão para a úlcera péptica consiste na administração de dois antibióticos e um IBP – terapêutica tripla –, nomeadamente claritromicina, amoxicilina e pantoprazol (Prabhu & Shivani, 2014), uma vez que na maioria das vezes, os doentes com úlcera duodenal ou gástrica têm infeção por *H. pylori*, sendo a erradicação recomendada nestes casos (Prontuário Terapêutico 11, Infarmed IP, 2012). No entanto, é necessário reduzir o contacto entre o ácido estomacal com a úlcera, pelo que a administração de bloqueadores dos recetores H₂ é benéfica, inibindo a secreção ácida e prevenindo a recidiva da úlcera gástrica. Para esta última classe de fármacos referida, existe na literatura um estudo que comparou a administração de 800 mg de cimetidina, 300 mg de ranitidina e 40 mg de famotidina quanto ao tempo de administração: manhã *versus* ao deitar, em 186 indivíduos com úlcera péptica. Os autores verificaram que a taxa de cura era maior no caso da administração noturna relativamente à toma matinal (86% *vs* 59% para a cimetidina; 94% *vs* 83% para a ranitidina; e 97% *vs* 93% para a famotidina), embora só no caso da cimetidina os resultados se revelaram estatisticamente significativos (Khasawneh & Affarah, 1992). A melhoria na taxa de cura para a administração noturna é explicada pelo facto de a secreção ácida estar aumentada durante a noite, sendo a toma noturna mais eficaz, uma vez que inibe a secreção quando esta se encontra no seu pico, podendo levar à erosão da mucosa gástrica. Contudo, diversos autores têm vindo a referir a melatonina como hormona essencial no tratamento desta condição (Klupinska et al., 2006; Pereira, 2006; Vaughn et al., 2014). A melatonina é uma hormona responsável pela manutenção do ritmo

circadiano, sendo produzida pela glândula pineal mas também, em grande concentração, pelas células da mucosa estomacal e intestinal. A sua função passa pela manutenção da ritmicidade do sistema GI, coordenando a alimentação com o ritmo mioelétrico do trato GI. Pela inibição da secreção gástrica e pelo aumento do fluxo gástrico, esta hormona permite a regeneração da mucosa ulcerada. Além disso, a melatonina inibe a síntese de óxido nítrico, que tem ação miorelaxante do esfíncter esofágico e aumenta, conseqüentemente, o tempo de contacto entre o ácido e as paredes da mucosa estomacal (Konturek, Konturek, Brzozowski & Bubenik, 2007). Conseqüentemente, a administração de melatonina tem um efeito protetor e regenerador da mucosa GI. Um estudo conduzido em doentes com úlcera péptica, demonstrou que a melatonina exerce uma melhoria nos sintomas associados: 176 doentes foram tratados com um suplemento de melatonina e 175 com 20mg de omeprazol (Pereira, 2006). No primeiro grupo, todos os doentes descreveram melhoria dos sintomas, o que comprova que a melatonina consiste numa terapêutica alternativa à convencional. A grande vantagem desta nova abordagem consiste na segurança da utilização da melatonina, sendo os efeitos adversos mais comuns as cefaleias e o *rash* cutâneo (Siah et al., 2014). Outro estudo que incluiu 21 voluntários sem qualquer patologia GI, observou que o pré-tratamento com melatonina ou com L-triptofano (percursor da melatonina) induziu efeito gastrorregenerador, na medida em que reduziu a lesão ulcerada provocada pela administração de 1g de aspirina duas vezes por dia (Konturek et al., 2008). Apesar de na prática clínica a terapêutica padrão da úlcera péptica ser a administração de antibióticos (em indivíduos *H. pylori* positivos), combinada com IBP ou bloqueadores dos recetores H₂ e de ser recomendada a administração noturna, o uso crónico destes fármacos é desaconselhado devido aos seus efeitos adversos (Bandyopadhyay, Bandyopadhyay, Das & Reiter, 2002). A melatonina, como hormona reguladora do trato GI, tem vindo a ser apontada como terapêutica alternativa no tratamento das úlceras pépticas, com vantagens acrescidas: poucos efeitos adversos, melhoria da adesão à terapêutica e efeitos não só a nível GI, mas também a nível da regulação dos ritmos circadianos, o que faz desta hormona um forte candidato para o tratamento desta condição, na maioria das vezes crónica. As suas ações a nível do trato GI incluem, entre outras, a captação de radicais livres e a alteração da atividade das enzimas peroxidase gástrica e superóxido dismutase (Bandyopadhyay et al., 2002). Estas enzimas, em condições de *stress* levam à acumulação de peróxido de hidrogénio, que afeta a barreira protetora da mucosa gástrica. No que se relaciona com a prática clínica, um estudo aponta a possível sinergia

entre a melatonina e a ranitida ou o omeprazol (Bandyopadhyay et al., 2002), pelo que o uso destas classes de fármacos não tem de ser totalmente substituído pelo uso de melatonina. Em vez disso, o uso concomitante tanto dos IBP como dos bloqueadores dos recetores H2 com a melatonina consiste numa melhor abordagem terapêutica, pois combina ações de diferentes classes de fármacos.

A síndrome do cólon irritável é uma doença de etiologia desconhecida, cujos sintomas mais comuns incluem dor e distensão abdominal, diarreia em alternância com obstipação, sendo o diagnóstico efetuado de acordo com os sintomas descritos (DiPiro et al., 2005). A terapêutica convencional desta patologia encontra-se ilustrada na figura 11. Apesar de a terapêutica convencional permitir o controlo dos sintomas, os efeitos adversos e os custos associados à terapêutica crónica podem muitas vezes comprometer a adesão à terapêutica (Siah et al., 2014).

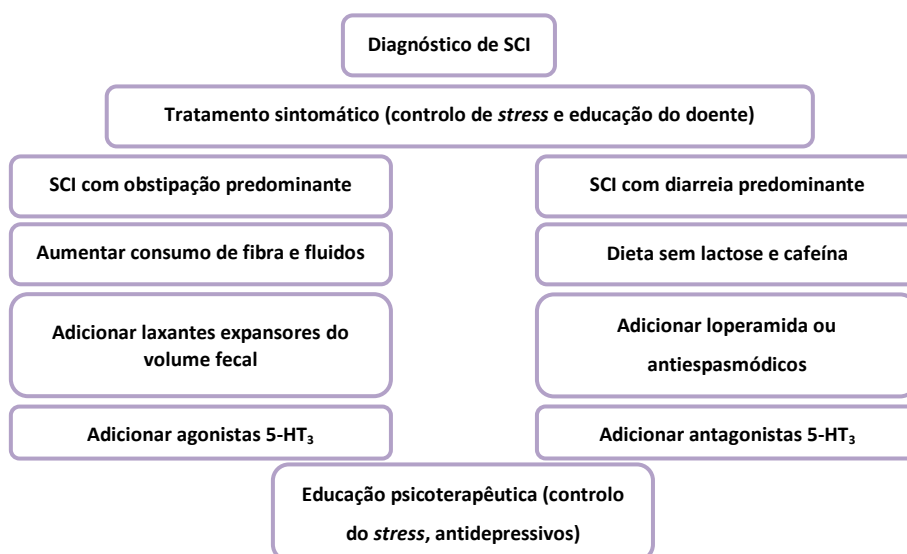


Figura 11. Opções terapêuticas para a síndrome do cólon irritável (adaptado de DiPiro et al., 2005).

Como terapêutica alternativa, a comunidade científica tem vindo a estudar a melatonina para várias patologias gastrointestinais. Mais precisamente ao nível da SCI, um estudo com 24 indivíduos comparou a administração de 3 mg de melatonina ao deitar com a administração de placebo, tendo os autores verificado que a melatonina apresentou eficácia a nível de melhoria dos sintomas de dor e distensão abdominal (Lu, Gwee, Mochhalla & Ho, 2005), facto explicado pela sua ação moduladora da motilidade GI (Thor, Krolczyk, Gil, Zurowski & Nowak, 2007) e da sensibilidade visceral e pelos efeitos analgésicos da melatonina (Siah et al., 2014). Além disso, por ser uma hormona promotora do sono, condição muitas vezes perturbada pela ansiedade e *stress* associados à SCI, a melatonina desempenha um papel importante a nível

psicológico. Outro estudo mais recente avaliou 80 indivíduos do sexo feminino divididos em dois grupos: SCI com obstipação predominante e SCI com diarreia predominante. A ambos os grupos foram administrados 3 mg de melatonina em jejum e 5 mg ao deitar, tendo os autores verificado que no caso da SCI com obstipação predominante, a melatonina diminuiu a dor visceral e a distensão abdominal em 70% das mulheres e a obstipação em 50%. No caso da SCI com diarreia predominante, houve melhorias em 45%, no entanto estes efeitos não apresentaram diferenças em relação à administração de placebo (Chojnacki et al., 2013). Tendo em conta o efeito que a SCI tem a nível da qualidade de sono, Song, Leng, Gwee, Moochhala & Ho (2005) avaliaram 40 indivíduos com SCI, cujo padrão de sono se encontrava alterado, comparando a eficácia de 3 mg de melatonina relativamente ao placebo ao deitar, concluindo que a administração de melatonina diminuiu a dor e distensão abdominais e reduziu a sensibilidade à dor retal, sem efeitos a nível do sono. Não obstante, a melhoria dos sintomas associados à SCI levam, inevitavelmente, à melhoria do padrão de sono, uma vez que este está, na maior parte das vezes, associado aos sintomas gastrointestinais presentes nesta patologia. Assim, a cronoterapia na SCI não aborda diferentes alturas do dia para a administração dos fármacos convencionais (antidiarreicos, antiespasmódicos, antidepressivos, entre outros), mas sim o uso da principal hormona reguladora dos ritmos circadianos e do trato GI, constituindo numa alternativa promissora e custo-efetiva para o tratamento desta patologia.

A nível do trato GI, mais precisamente das doenças gastrointestinais, a cronoterapia ainda não se encontra desenvolvida como no caso da hipertensão. Apesar de apresentar marcadas variações nas suas funções fisiológicas ao longo do dia, o sistema GI e as suas patologias não têm sido foco da atenção da comunidade científica nesta área. Não obstante, vários estudos recentes demonstram o papel da melatonina como potencial terapêutica nas doenças gastrointestinais, com variadas vantagens em relação aos esquemas convencionais.

2.4 Cronoterapia na dislipidemia

As dislipidémias são um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose, contribuindo para o aumento do risco cardiovascular (Rajesh & Rajasekhar, 2011). As dislipidémias podem dividir-se em dislipidémias primárias ou secundárias (Fernandes, 2011). As primárias têm origem familiar ou genética e as

secundárias são devidas de outras patologias, como a diabetes *mellitus*, o hipotireoidismo, doenças renais ou hepáticas, entre outras (Norma 019/2011, DGS, 2011). As dislipidémias mais comuns são a hipercolesterolemia isolada, a hipertrigliceridemia isolada, a hipercolesterolemia combinada com hipertrigliceridemia e a hipoalfalipoproteinemia familiar (Fernandes, 2011). Um estudo que avaliou 16 856 utentes dos cuidados de saúde primários em Portugal apurou que cerca de 47% apresentava hipercolesterolemia (Cortez-Dias, Martins, Belo & Fiúza, 2013), sendo o objetivo terapêutico para esta patologia a diminuição dos valores de colesterol total para menos de 190 mg/dL (Norma 019/2011, DGS, 2011). É frequente ter de se recorrer à terapêutica farmacológica para atingir os níveis recomendados de colesterol.

A cronoterapia na hipercolesterolemia baseia-se no facto de a produção de colesterol aumentar durante a noite (Ferrell & Chiang, 2015), sendo o pico da síntese entre as 00:00 e as 03:00 horas (Parker et al., 1982). A síntese de colesterol também está associada à alimentação, havendo uma diminuição quando não há ingestão de alimentos (Wallace, Chinn & Rubin, 2003), que geralmente coincide com o período da noite. Do mesmo modo, a variação diurna do colesterol LDL (*low density lipoprotein*) fundamenta a utilização dos antidislipidémiantes à noite, uma vez que os seus níveis aumentam no fim do dia (Miettinen, 1980).

Os fármacos utilizados para o controlo das dislipidémias incluem as estatinas ou inibidores da HMG-CoA redutase, as resinas sequestradores de ácidos biliares, o ácido nicotínico, os fibratos e os inibidores seletivos da absorção do colesterol (Schachter, 2005). Os fármacos mais prescritos são as estatinas, sendo terapêutica de primeira linha para esta patologia, constituindo, por isso, o foco dos estudos relacionados com a cronoterapia. As estatinas atuam pela inibição competitiva da HMG-CoA redutase, enzima que intervém na biossíntese do colesterol (Rajesh & Rajasekhar, 2011). Apesar de esse processo fisiológico ocorrer com maior intensidade durante a noite, a administração noturna das estatinas nem sempre apresenta vantagens comparativamente à administração matinal, estando dependente do tipo de estatina e do seu respetivo tempo de semi-vida. Assim, para estatinas com tempo de semi-vida curto – sinvastatina (< 5h), lovastatina (2h) e fluvastatina (3h) – recomenda-se que a sua administração seja após o jantar (Plakogiannis & Cohen, 2006; Rajesh & Rajasekhar, 2011). Já no caso das estatinas com tempo de semi-vida longo – atorvastatina (14 horas), rosuvastatina (19 horas) e pravastatina (22 horas) – a altura do dia em que estas são administradas é indiferente, uma vez que a sua ação é mais prolongada comparativamente às estatinas

com tempo de semi-vida mais curto (Plakogiannis & Cohen, 2006). Mais precisamente no caso da atorvastatina, os metabolitos deste fármaco são ativos e apresentam um tempo de semi-vida entre 14 a 30 horas, o que prolonga ainda mais a sua duração de ação (Rajesh & Rajasekhar, 2011). O mesmo se aplica à sinvastatina LP, que não apresentou diferenças entre a administração matinal ou noturna num estudo com 132 indivíduos com hipercolesterolemia (Kim et al., 2013).

No caso da sinvastatina, a recomendação de que deve ser administrada ao fim do dia, de forma a atingir o melhor efeito antilipidémico, está bem estabelecida entre a comunidade médico-científica (Plakogiannis & Cohen, 2006). Do mesmo modo, os estudos com este fármaco demonstram claramente que a toma noturna melhora o perfil lipídico de indivíduos com colesterol elevado. Saito, Yoshida, Nakaya, Hata & Goto (1991) avaliaram 172 indivíduos com hiperlipidemia, dividindo-os em cinco grupos de acordo com a altura da toma de sinvastatina: dois grupos com administração de 2,5 mg de sinvastatina uma vez por dia – uns de manhã e outros ao fim do dia –, dois grupos com administração de 5 mg uma vez por dia (de manhã ou ao fim do dia) e um grupo de controlo, ao qual foi administrado placebo. Os autores verificaram que naqueles grupos em que a toma era feita ao fim do dia (independentemente da dose), o efeito antilipidémico era mais marcado. Apesar dos resultados, as doses utilizadas não correspondem às doses atualmente preconizadas para utilização clínica. Para ultrapassar esta limitação, um outro estudo comparou também o efeito da administração matinal em comparação com a administração noturna em 57 indivíduos, utilizando doses mais elevadas (10 ou 20 mg). Os autores confirmaram que a administração noturna apresentava melhores resultados terapêuticos (Wallace et al., 2003). Atualmente, as doses mais utilizadas de sinvastatina são entre os 20 e os 40 mg. Também para estas, a recomendação referida é válida (Lund et al., 2002). Mais recentemente, outro estudo conduzido numa amostra de 122 indivíduos com hipercolesterolemia e doença renal crónica comparou dois tipos de formulação de sinvastatina: libertação imediata administrada à noite *versus* libertação prolongada administrada de manhã. Os autores observaram que não existiu diferenças entre as duas formulações quanto à eficácia e aos efeitos adversos, sugerindo que a administração matinal alcança melhores resultados a nível de adesão à terapêutica (Yi et al., 2014). Assim, para a sinvastatina na sua formulação típica, de libertação imediata, é recomendada a sua administração noturna, para que o pico na sua concentração coincida com o pico da biossíntese do colesterol e assim atingir maior efeito terapêutico com menor incidência de efeitos adversos. Esta

recomendação estende-se a todas as estatinas com tempo de semi-vida curto. No entanto, para o caso de estas serem desenvolvidas como formulações LP, a administração noturna não traz vantagens relativamente à administração matinal tanto para a sinvastatina como para a fluvastatina (Fauler et al., 2007), pelo que se torna opcional o *timing* de administração. O mesmo se aplica às estatinas com longa duração de ação, como é o caso da atorvastatina, rosuvastatina e pravastatina (Cilla, Gibson, Whitfield & Sedman, 1996; Martin, Mitchell & Schneck, 2002; Plakogiannis, Cohen & Taft, 2005).

Até à data, ainda não foram desenvolvidos estudos de cronoterapia para outros grupos de fármacos antilipidémiantes, exceto para o caso da ezetimiba, cuja administração não exige nenhuma especial atenção no que se relaciona com a melhor altura do dia para a sua toma (Stein, 2001). Assim, para a área da hipercolesterolemia, a cronoterapia encontra-se bem estabelecida apenas num grupo de fármacos – as estatinas ou inibidores da HMG-CoA redutase. Para estes fármacos as recomendações relativamente ao momento de administração são atualmente seguidas pelos prescritores, fruto da descoberta de longa data da existência de um ritmo circadiano na síntese do colesterol. Ao contrário das outras patologias, para as quais a cronoterapia ainda constitui um campo por explorar e por aplicar à prática clínica, na hipercolesterolemia, esta abordagem terapêutica parece estar bem incutida entre os doentes e os profissionais de saúde.

2.5 Cronoterapia na artrite reumatóide

A artrite reumatóide (AR) é definida como “uma doença inflamatória crónica de etiologia desconhecida, ocorrendo em todas as idades e apresentando, como manifestação predominante, o envolvimento repetido, e habitualmente crónico, das estruturas articulares e periarticulares podendo, contudo, afetar o tecido conjuntivo em qualquer parte do organismo e originar as mais variadas manifestações sistémicas” (Circular Normativa nº 12/DGCG, DGS, 2004). Desde cedo foi descoberta a existência de ritmos biológicos na artrite reumatóide, tanto nos seus sintomas como nos seus biomarcadores (Gibbs & Ray, 2013). Os sintomas associados a esta patologia incluem dor articular, rigidez e edema, que apresentam marcada variação diurna, com maior incidência durante as primeiras horas da manhã, como consequência do aumento noturno gradual das citocinas pró-inflamatórias e do ritmo circadiano do cortisol

(Spies et al., 2014). Além destes, a beta endorfina, um analgésico endógeno μ -opioidérgico, diminui durante a noite (Straub & Cutolo, 2007), o que também contribui para um aumento dos sintomas matinais, uma vez que esta substância inibe as citocinas pró-inflamatórias e ao encontrar-se diminuída durante a noite não tem capacidade para exercer o seu efeito nas primeiras horas da manhã (Haus et al., 2012). Atualmente, as opções terapêuticas para a AR incluem fármacos antireumáticos modificadores da doença (*disease-modifying antirheumatic drug* – DMARD) como o metotrexato, a hidroxicloroquina, a sulfazalina e a leflunomida (Wells et al., 2009). Em casos mais avançados e severos os fármacos biológicos também constituem uma opção terapêutica, em alternativa aos DMARDs. Os AINE e os corticosteróides são utilizados no alívio dos sintomas. A cronoterapia na artrite reumatóide tem como base o conhecimento não só do ritmo biológico dos seus sintomas, como também das hormonas reguladoras desses mesmos sintomas, como as interleucinas, o cortisol e a melatonina.

2.5.1 A contribuição do sistema imunitário na artrite reumatóide

O sistema imunitário desempenha um papel fundamental na progressão da artrite reumatóide, principalmente a nível dos ritmos circadianos dos seus constituintes. A nível das citocinas pró-inflamatórias, estas apresentam marcada variação ao longo do dia e sendo biomarcadores da atividade da AR, o conhecimento do seu ritmo circadiano é fundamental para o controlo da patologia. Mais precisamente a nível das interleucinas, a IL-6 tem os seus níveis aumentados durante a noite e nas primeiras horas da manhã – entre as 06:00 e as 07:00 horas –, o que contribui para o aparecimento dos sintomas inflamatórios matinais, como a rigidez e a dor articular (Haus et al., 2012). Os níveis de concentração destas citocinas encontram-se aumentados quando comparados com os níveis séricos em indivíduos saudáveis (20-50 pg/mL *versus* 2-5 pg/mL) (Straub & Cutolo, 2007). Outra alteração na AR é o facto de a duração destes níveis aumentados ser maior do que em indivíduos saudáveis, o que leva a uma demorada adaptação ao exercício físico e às atividades diárias nestes doentes. Ainda a nível imunológico, os ritmos circadianos da imunoglobulina A e da imunoglobulina M do fator reumatóide, com o seu pico às 08:00 e as 02:00 horas, respetivamente (Olsen, Brooks & Furst, 1993), são também importantes elementos na compreensão da variação rítmica da AR. Vários autores referem o papel da melatonina na ativação do sistema imunitário, que ao

aumentar durante a noite promove a libertação de citocinas inflamatórias (Straub & Cutolo, 2007; Haus et al., 2012; Spies et al., 2014), comprovando que apesar de ser uma hormona reguladora dos ritmos circadianos e apresentar benefícios em algumas patologias, na AR a melatonina é uma hormona com implicações negativas na progressão da doença e no aparecimento de sintomas matinais. Em indivíduos com AR, os níveis de melatonina encontram-se aumentados e o ritmo circadiano apresenta um pico desviado (Sulli et al., 2002) quando comparado com o ritmo biológico da melatonina em indivíduos normais, o que explica o aumento das citocinas pró-inflamatórias.

A contribuição do sistema imunitário na AR é revelada principalmente a nível das citocinas pró-inflamatórias e nas imunoglobulinas do fator reumatóide, onde a existência de ritmos circadianos proporciona uma visão mais clara da variação marcada dos sintomas.

2.5.2 O cortisol na artrite reumatóide

Como componente essencial na produção de glucocorticóides endógenos, responsáveis pelo alívio nos sintomas da artrite reumatóide, a existência de ritmos circadianos no eixo HPA constitui uma característica essencial para a compreensão do controlo da doença. Embora o ritmo circadiano da secreção de cortisol na AR de baixa atividade não apresente alterações, o mesmo não se verifica para formas mais avançadas da doença. Nestes casos, o ritmo circadiano apresenta menor amplitude e pode mesmo haver duplicação de picos na concentração de cortisol, que apesar de proporcionar um aumento na sua concentração não tem efeito terapêutico suficiente nos tecidos afetados (Haus et al., 2012). O cortisol, hormona com propriedades anti-inflamatórias, encontra-se diminuído durante a noite, o que explica o aumento da inflamação nas primeiras horas da manhã. Por outro lado, ao aumentar com o início das atividades diárias promove a diminuição dos sintomas da AR durante o dia (Spies et al., 2014). Apesar dessa sua função anti-inflamatória, a quantidade de cortisol secretada em indivíduos com AR é insuficiente para exercer ação contrária às citocinas pró-inflamatórias. A diferença entre indivíduos saudáveis e com AR é que, apesar de em ambos a concentração de cortisol ser semelhante, nos indivíduos com AR, por esta ser uma patologia com inflamação crónica, os níveis de citocinas são de tal modo elevados que

o cortisol não consegue, por si só, reverter a condição inflamatória instalada (Straub, Paimela, Peltomaa, Schölmerich & Leirisalo-Repo, 2002).

A resposta insuficiente na secreção de cortisol face ao aumento das citocinas é a principal explicação para os sintomas da AR serem mais marcados de manhã. Surge, então, a necessidade da administração de fármacos anti-inflamatórios que mimetizem a ação do cortisol e que, em sincronização com o ritmo biológico deste, proporcionem controlo adequado da AR.

2.5.3 Corticosteróides: cronoterapia na artrite reumatóide

A cronoterapia na artrite reumatóide tem como principal objetivo a administração de fármacos de acordo com o ritmo biológico do cortisol, de forma a potencializar o efeito anti-inflamatório deste. Os corticosteróides são os fármacos mais utilizados para esse efeito na AR e a sua aplicação à cronoterapia foi cedo avaliada como esquema terapêutico viável. A cronoterapia foca-se também na minimização dos efeitos adversos, que no caso dos corticosteróides é essencial. Um dos efeitos adversos mais graves e mais associados ao uso prolongado de corticosteróides é a supressão do eixo HPA e tendo em conta que na AR o uso destes fármacos pode ser crónico, é necessário avaliar qual a melhor altura para a sua toma. Alguns autores afirmam que a administração matinal é a que parece acarretar menor risco de supressão da HPA, bem como de outros efeitos adversos (Ceresa, Angeli, Boccuzzi & Molino, 1969). Estabeleceu-se então que a administração matinal seria o melhor esquema posológico para os corticosteróides, no que se relaciona com os efeitos adversos. Harter, Reddy & Thorn (1963) sugeriram um esquema terapêutico com doses elevadas de corticosteróides, mas em dias alternados, o que, mais tarde, viria a ser o primeiro esquema cronoterapêutico aceite, levando ao desenvolvimento de uma formulação com diferentes dosagens de prednisolona, destinada a ser administrada às 08:00 e às 15:00 horas. Com esta formulação, a libertação de prednisolona mimetizava o ritmo biológico do cortisol. No entanto, a utilização da formulação nunca foi bem aceite devido à fraca adesão à terapêutica por parte dos doentes (Haus et al., 2012). Apesar de a administração matinal acarretar menor risco de supressão da HPA, este esquema posológico parece não atingir o melhor controlo, uma vez que a libertação de citocinas é iniciada de manhã, estando o efeito terapêutico da administração matinal dessincronizado da condição inflamatória matinal. Esta hipótese foi confirmada, uns anos mais tarde por alguns autores que verificaram

que a administração noturna de baixas doses de corticosteróides tem melhor eficácia que a administração matinal (De Silva, Binder & Hazleman, 1984; Arvidson, Gudbjörnsson, Larsson & Hällgren, 1997). O estudo de cronoterapia mais relevante na área da AR foi o *Circadian Administration of Prednisone in Rheumatoid Arthritis* (CAPRA). O CAPRA-1 (Buttgereit et al., 2008) avaliou a eficácia de uma formulação inovadora de prednisona em LP administrada à noite *versus* administração de prednisona de liberação imediata de manhã. O estudo incluiu 288 indivíduos com AR, divididos em dois grupos: administração de prednisona LP às 22:00 horas e administração de prednisona convencional entre as 06:00 e as 08:00 horas. Os autores verificaram, reafirmando o que outros autores já tinha pressuposto, que a administração as 22:00 horas melhorava o perfil de sintomas matinais, nomeadamente a duração da rigidez e dor articular. Além disso, o estudo permitiu também observar que os níveis de IL-6 tinham permanecido inalterados no esquema de prednisona convencional, o que leva a crer que a formulação LP exerce efeitos na IL-6, citocina pró-inflamatória com papel importante na fisiopatologia da AR. A nível de efeitos adversos, os autores também verificaram que o perfil de segurança era semelhante entre as duas formulações. A formulação desenvolvida de prednisona LP, quando administrada às 22:00 horas permite uma liberação de fármaco quatro horas após (às 02:00 horas), começando a aumentar os níveis da sua concentração até atingir um pico semelhante ao do cortisol (por volta das 08:30 horas), reproduzindo o seu ritmo biológico. No estudo CAPRA-2 (Buttgereit et al., 2013), os autores avaliaram a eficácia da nova formulação comparando-a com a administração de placebo (ambos à noite) em 323 indivíduos com AR, constatando que a nova formulação reduzia a duração da rigidez matinal de duas horas para 46 minutos, com menor incidência de efeitos adversos.

A cronoterapia na AR baseia-se principalmente nos ritmos biológicos do cortisol e das citocinas pró-inflamatórias, especialmente a IL-6. Apesar de inicialmente os estudos terem indicado que a melhor altura para a administração de corticosteróides seria de manhã, de forma a evitar supressão da HPA, atualmente sabe-se que a administração noturna apresenta melhores resultados em termos de eficácia. A nova formulação de prednisona LP mimetiza o ritmo biológico do cortisol, que nos indivíduos com AR não é suficiente para contrariar o efeito inflamatório da IL-6. Além disso, esta formulação apresenta um perfil de segurança semelhante a outras formulações convencionais. O ritmo circadiano na AR é evidenciado principalmente a nível dos sintomas, pelo que a cronoterapia com corticosteróides é a que se adapta

melhor ao controlo destes. Apesar disso, é importante ter em conta que, apesar de os estudos demonstrarem que a formulação LP de prednisona apresenta um bom perfil de segurança, estes não foram conduzidos durante um período de tempo suficiente para inferir se o uso crónico destes fármacos, ainda que em regime cronomodulado, acarreta riscos de efeitos adversos a longo prazo.

1.6. Cronoterapia no cancro

Segundo um relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS) (International Agency for Research on Cancer, 2012), houve em 2012 mais de oito milhões de mortes devido a doenças oncológicas, sendo que 30% dos cancros podem ser prevenidos através de um estilo de vida saudável. No entanto, há vários fatores que influenciam o desenvolvimento de tumores e de neoplasias, como é o caso das alterações dos ritmos circadianos. Os ritmos circadianos anormais são, para além de fatores de risco para o desenvolvimento do cancro, obstáculos à própria cronoterapia, podendo comprometer a eficácia da mesma (Lévi, Okyar, Dulong, Innominato & Clairambault, 2010). Por outro lado, sabe-se que um estilo de vida saudável contribui, em grande parte, para a manutenção da homeostase corporal e circadiana, que, por sua vez, desacelera o desenvolvimento tumoral (Lévi et al., 2007).

A cronoterapia no cancro tem sido estudada por diversos autores como nova abordagem terapêutica. O objetivo, tal como em outras áreas da cronoterapia, passa pela maximização dos efeitos terapêuticos e simultaneamente a redução dos efeitos adversos frequentemente associados à quimioterapia (náuseas, vômitos, mielossupressão, alopecia, entre outros). No entanto, antes de analisar a cronoterapia no cancro é necessário entender como os ritmos circadianos influenciam a sua progressão.

2.1.3 A relação entre trabalhos por turnos e jet lag e o cancro

As alterações do ritmo circadiano normal podem levar à expressão de diversas doenças, podendo essas mesmas alterações resultar de padrões de sono anormais, como é o caso de indivíduos cujos horários de trabalho exijam a exposição à luz durante a noite. Um estudo conduzido em ratos demonstrou a correlação entre a exposição à luz durante a noite e o desenvolvimento de adenocarcinomas mamários. Os autores verificaram que a exposição constante a uma fonte de luz tinha como consequência o aumento da velocidade de crescimento dos tumores (Cos et al., 2006). Da mesma forma,

o *jet lag* pode induzir carcinogenicidade, conforme demonstrado no estudo de Filipki et al. (2009), no qual os autores submeteram uma população de ratos a *jet lag* crónico e a um carcinogénio hepático – a dietilnitrosamina –, verificando o desenvolvimento de hepatocarcinogenicidade. Com a regularização e sincronização dos ritmos circadianos, foi também demonstrada a possibilidade de regressão dos danos hepáticos após exposição ao carcinogénio. Alguns autores referem, para o caso do cancro da mama e cancro prostático, a relação entre luz constante e turnos noturnos com o desenvolvimento destas patologias (Sahar & Sassone-Corsi, 2007; Greene, 2012).

O mecanismo de ação através do qual a fonte de luz constante pode dar origem ao aparecimento de cancro ainda não é totalmente conhecido. No entanto, alguns autores indicam a inibição da produção de melatonina pela luz como possível causa de desenvolvimento de células cancerígenas (Stevens, 2009), hipótese formulada há mais de vinte anos (Stevens, Davis, Thomas, Anderson & Wilson, 1992). Para além desse aspeto, também as alterações nos ritmos endócrinos do cortisol e de outras hormonas podem estar na origem de vários tipos de cancro (Innominato, Palesh, Dhabhar, Lévi & Spiegel, 2010).

As principais hormonas reguladoras do ritmo circadiano são a melatonina e o cortisol. O seu papel no cancro tem sido estudado por vários autores. Ambas as hormonas apresentam propriedades marcadamente diferentes a nível de progressão tumoral: a melatonina funciona como antioxidante e inibidor do desenvolvimento tumoral, especialmente em cancros hormono-dependentes; já o cortisol, como hormona do *stress* por natureza, regula os níveis de *stress*, sendo a sua desregulação um fator de risco evidente para o cancro.

2.1.4 O papel da melatonina no cancro

Tal como para a úlcera péptica, os estudos têm vindo a demonstrar que a melatonina desempenha um papel importante no cancro. Esta hormona apresenta, entre outros, efeitos antioxidantes, imunomoduladores, antiproliferativos e oncostáticos (Vijayalaxmi, Thomas, Reiter & Herman, 2002; Srinivasan, Spence, Pandi-Perumal, Trakht & Cardinali, 2008). O mecanismo de ação pelo qual a melatonina exerce os seus efeitos antitumorais prende-se com a inibição da produção de AMPc (adenosina 3',5'-monofosfacto cíclico). Ao inibir o AMPc, não há absorção de ácido linoleico, molécula que depois de oxidada serve como fonte de energia para sinalização de tumores e para o

crescimento tumoral (Blask, Sauer & Dauchy, 2002; Cutando, López-Valverde, Arias-Santiago, De Vicente & De Diego, 2012). Além desta inibição, também a regulação da expressão de recetores de estrogénios, a modulação de enzimas envolvidas na síntese de estrogénios, a modulação do ciclo celular e da apoptose, a inibição da atividade da telomerase, a anti-angiogénese pela inibição do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF – *vascular endothelial growth factor*), a prevenção de alterações no ritmo circadiano e a ativação do sistema imunitário constituem mecanismos de ação da melatonina na prevenção do cancro (Ravindra, Lakshmi & Ahuja, 2006; Mediavilla, Sanchez-Barcelo, Tan, Manchester & Reiter, 2010). Outra propriedade da melatonina que lhe confere ação anti-carcinogénica é o carácter antioxidante desta hormona: tem capacidade de eliminar espécies reativas de oxigénio e de nitrogénio, que são a causa mais frequente de *stress* oxidativo (Karbownik, Lewinski & Reiter, 2001; Galano, Tan & Reiter, 2011); preserva a integridade de enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase, a glutathione reductase, a superóxido dismutase e catalase (Rodríguez, Mayo, Sainz, Herrera & Antoli, 2004); retarda a transição da fase G1 para a fase S do ciclo celular (Blask et al., 2002); e diminui a expressão de enzimas oxidativas, como a óxido nítrico sintase, ação também modulada pela calmodulina (Pozo, Reiter, Calvo & Guerrero, 1997). No sistema imunitário, a melatonina promove a ativação de linfócitos e monócitos (García-Mauriño, Pozo, Calvo & Guerrero, 2000).

A nível do **cancro da mama**, a melatonina foi estudada quanto aos seus efeitos inibitórios nos recetores de estrogénio. Tal como os moduladores seletivos dos recetores de estrogénio, a melatonina tem propriedades antiestrogénicas, nomeadamente a redução da ligação dos estrogénios aos seus recetores (Hardeland et al., 2011; Sanchez-Barcelo, Mediavilla, Alonso-Gonzalez & Reiter, 2012). As propriedades antiestrogénicas passam também pela ligação à calmodulina, proteína que se liga ao cálcio e que regula a ligação aos recetores estrogénicos (L. Li & Sacks, 2007). A melatonina, como antagonista da calmodulina (Soto-Vega, Meza, Ramírez-Rodríguez & Benitez-King, 2004), inibe a expressão e ativação destes recetores. Para o tratamento do cancro da mama, também são utilizados fármacos moduladores seletivos das enzimas reguladoras do estrogénio (examestano, anastrozol, letrozol), sendo que a melatonina também partilha propriedades com estas moléculas, nomeadamente no que se relaciona com a expressão e atividade da aromatase, da 17 β -hidroxisteroide deidrogenase tipo 1 e da estrogénio sulfatase, que são inibidas na presença da melatonina. Uma vez que estas

enzimas intervêm na formação de estrogénios e estão presentes em elevadas concentrações no tecido tumoral mamário, a presença de melatonina diminui a síntese de estrogénios, constituindo numa hipótese terapêutica em cancros estrogenodependentes (Sanchez-Barcelo et al., 2012).

No **cancro colorretal**, a melatonina apresenta, do mesmo modo, propriedades inibitórias, nomeadamente no que diz respeito à inibição da expressão de genes angiogénicos e angiostáticos. Num estudo que avaliou os efeitos da melatonina nos genes de enzimas pro-oxidantes, os autores verificaram que a expressão de genes angiogénicos é inibida na presença de melatonina, prevenindo, dessa forma, a progressão tumoral (Lin & Chuang, 2010).

As propriedades anticancerígenas e antioxidantes da melatonina têm vindo a suscitar interesse entre a comunidade médica, pelo que esta hormona, num futuro próximo, pode vir a ser uma alternativa às terapêuticas convencionais ou ser utilizada como adjuvante na cronoterapia do cancro.

2.1.5 O cortisol e o cancro

O cortisol é comumente designado como a hormona do *stress*. Assim, o cortisol está implicado no desenvolvimento e progressão tumoral, principalmente em condições alteradas do ritmo circadiano, consistindo um indicador de prognóstico de evolução do cancro (Mazzoccoli, Giuliani & Sothern, 2012). A maior parte dos indivíduos com cancro em estado avançado apresentam o ritmo circadiano do cortisol alterado. A deterioração do ritmo circadiano do cortisol – que em condições normais apresenta um pico matinal (Chan & Debono, 2010) – tem sido apontada como fator de risco para o aumento na progressão tumoral e mortalidade precoce (Sephton et al., 2013).

Como hormona essencial à manutenção dos ritmos circadianos e à sincronização entre o SCN e os diversos *pacemakers* celulares desses ritmos, a alteração do ritmo do cortisol leva à descoordenação dos mesmos, o que pode, em última instância ser fator de risco de desenvolvimento tumoral. Um estudo que analisou o papel do cortisol no cancro da mama concluiu que o ritmo no cortisol e a sua variabilidade pode constituir um marcador de evolução tumoral a longo prazo no cancro da mama (Sephton, Sapolsky, Kraemer & Spiegel, 2000). A nível do ovário, também se constatou que

mulheres com cancro do ovário apresentam ritmos alterados de secreção do cortisol, apresentando picos noturnos, como demonstrado pelo estudo de Weinrib et al. (2010).

2.1.6 Fármacos utilizados no tratamento do cancro – cronoquimioterapia

As opções terapêuticas atuais para o tratamento do cancro incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia, imunoterapia, terapia dirigida, terapia hormonal e transplante com células indiferenciadas (*stem cells*) (National Cancer Institute, 2015). No presente capítulo apenas será abordada a quimioterapia no contexto da cronoterapia.

A quimioterapia com citotóxicos inclui fármacos agentes alquilantes, antimetabolitos, inibidores da topoisomerase I e II, citotóxicos que interferem com a tubulina e citotóxicos que se intercalam no ADN. No entanto, só alguns grupos de citotóxicos são adequados para cronoquimioterapia. Um dos maiores desafios da cronoquimioterapia é atingir máxima eficácia com a menor incidência de efeitos adversos, contudo, nem sempre isso se verifica. Com a cronoquimioterapia é possível desenvolver esquemas terapêuticos que apresentem a melhor relação eficácia/toxicidade, baseados nas diferenças entre os ritmos circadianos dos ciclos celulares de células saudáveis e de células tumorais, bem como a duração de cada fase do ciclo (Li, Chen, Ji, Zou & Zhu, 2015).

Para o caso dos agentes alquilantes, de que são exemplo a cisplatina e a oxaliplatina, vários estudos demonstram que estes fármacos são facilmente adaptáveis a um esquema cronomodulado. Os agentes alquilantes ligam-se irreversivelmente a todas as bases de ADN, formando aductos, responsáveis pela morte celular (Altinok, Lévi & Goldbeter, 2009) e atuando em qualquer fase do ciclo celular (Clairambault, 2007). No meio intracelular, ligam-se a grupos tiol como a glutathione reduzida. Esta molécula tem como mecanismo de ação a proteção do ambiente intracelular contra a exposição a agentes tóxicos. Ao ligar-se a estes grupos tiol, os compostos de platina perdem a sua atividade, reduzindo conseqüentemente a sua toxicidade associada. Desta forma, é essencial que se tenha em conta o ritmo circadiano da glutathione reduzida (Li, Metzger, Filipinski, Lemaigre & Lévi, 1998) – esta apresenta o seu pico por volta do meio-dia (Zeng et al., 2005). Os esquemas terapêuticos com compostos de platina constituem a primeira linha no carcinoma de células não pequenas do pulmão (CCNPP) em estado avançado, sendo os efeitos adversos o maior problema inerente ao uso destes citotóxicos. De um modo geral, o esquema terapêutico é composto por quatro a seis ciclos de quimioterapia, tendo cada ciclo uma duração de 21 dias, o que resulta em toxicidade cumulativa. Um estudo

com 41 indivíduos com CCNPP analisou a administração de cisplatina a diferentes tempos, verificando que a cronoterapia constitui uma alternativa viável à terapêutica convencional, com menos efeitos adversos como a leucopenia, a neutropenia e toxicidade GI (Li et al., 2015). Os efeitos adversos associados aos compostos de platina são dose-dependentes e, como demonstrado, tempo-dependentes. Granda et al. (2002) avaliaram a relação entre a cronotolerabilidade e a eficácia tumoral da oxaliplatina em ratinhos com osteossarcoma de Glasgow, observando que a toxicidade deste fármaco duplicava quando a administração era feita durante o dia, que nos ratinhos corresponde à sua fase de descanso. Este estudo confirma as hipóteses anteriormente referidas de que os compostos de platina devem ser administrados durante a fase ativa, de forma a atingirem maior taxa de resposta. Tal como este, muitos outros estudos comprovam a eficácia de esquemas terapêuticos cronomodulados em diversos tipos de carcinomas, como o carcinoma de células escamosas da cabeça e do pescoço (Chen, Cheng, Yang, Ma & Yang, 2013) e o carcinoma de células escamosas da cavidade oral (Yang, Zhao, Zhao, Chen & Li, 2013), concluindo todos eles que a melhor altura para administração é durante o dia, quando a atividade da glutathione reduzida se encontra no seu máximo, de forma a reduzir a toxicidade associada aos compostos de platina.

A nível dos antimetabolitos, o 5-fluoruracilo (5-FU) é o citotóxico deste grupo em que mais estudos se focaram, no que se relaciona com a possibilidade de adaptação a um regime cronomodulado. Chen et al. (2013) referem que a infusão contínua deste citotóxico durante a noite reduz os efeitos adversos associados, como os efeitos gastrointestinais, alopecia, mielossupressão e síndrome pé-mão-boca, quando comparada com a quimioterapia convencional durante o dia. O 5-FU é um antimetabolito das pirimidinas (atua por inibição da timidilato sintetase, enzima necessária à síntese de ácidos nucleicos) que, para exercer atividade farmacológica, precisa de ser ativado intracelularmente (Milano & Chamorey, 2002). Após ativação intracelular, o 5-FU inibe a síntese de ADN, sendo específico da fase S do ciclo celular (Altinok et al., 2009). Este fármaco está indicado como primeira linha para o cancro colorretal, o carcinoma da cavidade oral e para o cancro da mama (Milano & Chamorey, 2002). A eliminação do 5-FU é feita essencialmente pela enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD), sendo mais de 80% da dose administrada eliminada por catabolismo pela DPD, como ilustrado na figura 12. Assim sendo, tal como para os compostos de platina é necessário ter em conta o ritmo circadiano da glutathione reduzida, para o 5-FU é útil analisar a variabilidade da DPD ao longo do dia. Esta

enzima apresenta a atividade máxima entre as 00:00 e as 04:00 horas (Zeng et al., 2005). Além deste aspeto, também o ciclo celular apresenta variabilidade circadiana – sendo que a menor fração de células que se encontram na fase S do ciclo celular é entre as 01:00 e as 05:00 horas, é de esperar que a citotoxicidade do 5-FU também seja menor durante este período de tempo (Altinok et al., 2009). Num ensaio de fase II foi analisada a tolerabilidade, a atividade e eficácia do esquema cronomodulado de 5-FU com ácido fólico (5-FU-FA) em 80 doentes com cancro colorretal, divididos em dois grupos: doentes não previamente tratados e doentes previamente tratados (Terzoli et al., 2004). A administração de 5-FU-FA foi feita de modo contínuo entre as 22 horas e as 10 horas, com um pico na concentração às 04:00 horas. Os autores verificaram que não se manifestaram efeitos adversos como a leucopenia e a neutropenia no esquema cronomodulado e que a taxa de resposta era significativa em termos de eficácia em ambos os grupos de doentes. Assim, conclui-se que a toxicidade associada ao 5-FU pode ser reduzida se a administração do mesmo for durante o período de descanso, devendo-se ter em conta que: a) os órgãos-alvo apresentam suscetibilidade diferente ao fármaco de acordo com o tempo de administração (Burns & Beland, 1984); b) o ritmo circadiano da DPD e do ciclo celular influencia a toxicidade do 5-FU (Fleming et al., 1992); e c) a administração por infusão de 5-FU dá origem a variações plasmáticas, ocorrendo um pico a uma determinada altura (Bressolle et al., 1999).

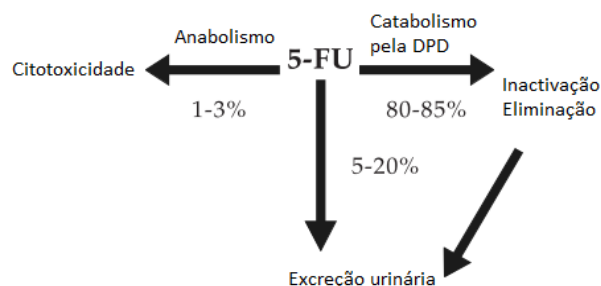


Figura 12. Metabolismo do 5-FU e o papel da DPD como enzima catabolizadora do fármaco (adaptado de Saif, Syrigos, Mehra, Mattison & Diasio, 2007)

Também para os inibidores da topoisomerase foram descritas vantagens da cronoterapia, nomeadamente para o irinotecano. Este citotóxico, ao inibir a topoisomerase I, inibe o desenrolamento do ADN para a transcrição e replicação (Ballesta et al., 2011). A sua principal aplicação é em tumores gastrointestinais (Filipski et al., 2014). Os efeitos adversos são marcados e incluem toxicidade hematológica, intestinal e sistémica (Granda et al., 2002). Quanto ao momento de administração em que o irinotecano é mais bem tolerado, alguns autores referem que este deve ser durante

a fase de descanso/sono (Granda et al., 2002; Filipski et al., 2004). Uma das explicações relaciona-se com o ritmo circadiano da transcrição da glicoproteína P (gpP) (Ando et al., 2005), uma vez que esta é responsável pelo metabolismo do irinotecano. A gpP desempenha um papel ao nível do transporte/efluxo de irinotecano através das células, sendo a secreção deste transportador mais pronunciada durante a fase ativa/diurna (Okyar et al., 2012). Seria de esperar, seguindo a lógica dos citotóxicos acima descritos, que a melhor altura para administração fosse quando os níveis de gpP estivessem mais elevados. No entanto, os estudos apontam que de forma a atingir maior eficácia citotóxica, o irinotecano deve ser administrado à noite.

De entre os citotóxicos que se intercalam no ADN, a doxorrubicina é o fármaco mais descrito a nível de adaptação à cronoquimioterapia. A doxorrubicina é comumente utilizada para o tratamento de cancro da mama, do ovário e para a leucemia linfocítica (Högberg, Glimelius & Nygren, 2001; Kimby, Brandt, Nygren & Glimelius, 2001; Cresta et al., 2004). Os efeitos adversos associados à terapêutica com este citotóxico incluem insuficiência cardíaca congestiva, mielossupressão, náuseas e vómitos (Granda et al., 2001; To et al., 2005). Um estudo com mulheres japonesas com cancro da mama comparou a administração de doxorrubicina às 09:30 horas com a administração às 16:30 horas (To et al., 2005), tendo sido observada maior incidência de efeitos adversos no período de administração da tarde (16:30 horas). Assim, para este citotóxico sugere-se que a administração seja feita pela manhã.

Na maior parte dos cancros e tumores, no entanto, não se recorre à monoterapia, sendo frequentes os esquemas com associação de dois ou mais citotóxicos. Estas associações permitem a diminuição do aparecimento de resistências, por combinarem fármacos com diferentes mecanismos de ação. Para o caso das associações de citotóxicos também foi estudada a possibilidade de um esquema cronomodulado, tendo-se em muitos casos verificado que a cronoterapia constitui uma alternativa viável e mais vantajosa em relação aos esquemas terapêuticos habituais. Chen et al. (2013), num estudo que comparou a administração cronomodulada com a convencional em indivíduos com carcinoma das células escamosas do pescoço e da cabeça, verificaram que o primeiro esquema apresentava melhores resultados em termos de eficácia, com menor incidência e gravidade de efeitos adversos associados. O grupo de doentes com a administração cronomodulada recebeu infusão contínua de paclitaxel das 03:00 às 05:00 horas, carboplatina das 04:00 às 08:00 horas e de 5-FU das 22 às 07 horas. No grupo do esquema convencional, foram administrados os mesmos fármacos mas a administração

foi feita nas horas de expediente, ou seja, com início entre as 09 e as 11 horas e término às 17:30 horas. Para o esquema FOLFOX (5-FU, ácido fólico e oxaliplatina) também foi estudado a possibilidade de ser adaptado à cronoterapia. Num estudo com indivíduos com cancro colorretal metastático, comparou-se o esquema convencional FOLFOX 2 (durante 2 dias) com o chronoFLO 4 (esquema cronomodulado durante 4 dias) (Giacchetti et al., 2006). Os autores verificaram que o esquema FOLFOX 2 convencional tinha maior incidência de neutropénia. O facto de o chronoFLO 4 apresentar menor toxicidade da medula óssea pode dever-se à menor proliferação de células durante a noite, altura em que ocorreu a administração de 5-FU, citotóxico específico da fase S do ciclo celular. Curiosamente, os autores verificaram também que o esquema cronomodulado obteve melhores resultados para os homens em comparação com as mulheres, o que pode ser explicado, entre outros fatores, pela menor concentração de DPD nas mulheres e consequentemente menor tolerabilidade ao 5-FU.

A cronoterapia em quimioterapia, ou cronoquimioterapia, é um tema largamente discutido, como sendo uma alternativa viável aos esquemas convencionais de quimioterapia. Diversos autores demonstraram que a eficácia antitumoral é melhor em esquemas cronomodulados, assim como os efeitos adversos associados aos citotóxicos são menos pronunciados. Este facto é explicado sobretudo pela diferença nos ritmos circadianos entre células saudáveis e células tumorais (Ortiz-Tudela et al., 2001). Apesar dos resultados animadores e favoráveis à administração cronomodulada, nem sempre é possível implementar este esquema, uma vez que é necessário o uso de bombas de infusão cronomodulada que permitam ao doente receber em infusão contínua durante a noite os citotóxicos que mais bem se adaptam a uma administração noturna. Além disso, é comum os doentes serem internados em Hospital de Dia Médico para fazer os ciclos de quimioterapia, sendo que este internamento apenas ocorre durante as horas de expediente, de acordo com os horários dos profissionais de saúde responsáveis pela administração de quimioterapia (Lévi et al., 2010). Outro obstáculo que se põe é o facto de poder haver variabilidade inter- e intraindividual nos ritmos circadianos das enzimas responsáveis pelo metabolismo dos citotóxicos (Ortiz-Tudela et al., 2001), fazendo com que nem sempre os esquemas cronomodulados sejam bem tolerados por todos os doentes. Não obstante, os estudos indicam que a cronoquimioterapia consiste numa boa aposta e alternativa à quimioterapia convencional, tanto em termos de eficácia como de efeitos adversos, melhorando, em geral, a qualidade de vida dos indivíduos com cancro.

Capítulo III: Conclusões

Muitos dos processos fisiológicos internos são cíclicos, sendo regulados por ritmos biológicos. Estes ritmos biológicos, ou ritmos circadianos, encontram-se sincronizados com os ciclos externos de luz-escurecimento, apresentando uma duração média de 24 horas. A desregulação desses mesmos ritmos, em indivíduos sujeitos a turnos noturnos e a *jet lag* constante, está envolvida no desenvolvimento de doenças crônicas, como a hipertensão, a hipercolesterolemia e até mesmo o cancro. O conhecimento dos ritmos biológicos e da sua desregulação por fatores externos levou, desde cedo, ao aparecimento do conceito de cronofarmacologia e cronofarmacoterapia ou cronoterapia.

A cronoterapia é uma abordagem emergente na área da terapêutica clínica e tem vindo a desempenhar um papel de destaque em doenças com ritmos biológicos evidentes, como é o caso da hipertensão, a asma, a úlcera péptica, entre outras. O principal objetivo da cronoterapia é a administração de fármacos de acordo com o ritmo biológico, de modo a maximizar os efeitos terapêuticos e minimizar os efeitos secundários. Apesar de o benefício desta abordagem terapêutica demonstrado em diversos estudos, a comunidade médica ainda não adota esta alternativa nas suas recomendações. Em muitos casos, os medicamentos são prescritos segundo uma posologia que não tem em conta a melhor altura do dia para a sua administração.

Não obstante, a cronoterapia revela ser a abordagem mais custo-efetiva, com diversas vantagens não só a nível de efeitos terapêuticos, como também na minimização de efeitos adversos, relevante principalmente na cronoquimioterapia. É essencial a aplicação da teoria à prática clínica, com o intuito de atingir um melhor controlo de doenças crônicas, que exigem uma utilização de fármacos a longo prazo.

No caso da hipertensão, esta patologia tem sido estudada por diversos autores relativamente à cronoterapia. Na prática clínica atual, é aconselhada a toma de antihipertensores de manhã, um hábito há muitos anos enraizado na comunidade médica e nos doentes. Apesar disso, é essencial enfatizar a importância de alterar este esquema para um esquema de administração noturna, que revela ser mais eficaz no controlo dos parâmetros cardiovasculares, útil principalmente no caso dos *non-dippers*. Os estudos efetuados a este nível, no entanto, foram efetuados em hipertensos de grau 1 e grau 2, não se podendo extrapolar para outros tipos de hipertensos ou para outras

comorbilidades existentes. Além disso, são poucos os estudos que avaliam a cronoterapia em polimedicação, situação muito comum entre os hipertensos.

Para a asma, uma patologia com ritmos biológicos marcados, estando a função pulmonar diminuída durante a noite, a cronoterapia preconiza a administração de fármacos à noite, exceto no caso dos corticosteróides. Para esta classe de fármacos, a cronoterapia é avaliada como um meio de minimização dos efeitos adversos, nomeadamente a supressão do eixo HPA, sendo a melhor altura do dia para a sua administração de manhã ou às 15:00 horas.

No caso da artrite reumatóide, a administração matinal não controla os sintomas inflamatórios matinais, pelo que nesta patologia se recomenda a administração destes fármacos à noite. Para as doenças GI, apesar de a cronoterapia se aplicar aos fármacos mais utilizados (IBPs e bloqueadores dos receptores H₂), nesta área os estudos têm-se focado no papel da melatonina, cada vez mais relevante nestas patologias, pelo seu papel gastroregenerador e regulador dos ritmos circadianos.

No caso da dislipidémia, a cronoterapia é uma abordagem há muito estudada e aplicada na prática clínica, sendo a administração noturna recomendada no caso das estatinas com tempo de semi-vida curto. Não obstante, para as restantes classes de fármacos, não estão disponíveis dados que se refiram à melhor altura do dia para a sua administração.

A cronoquimioterapia é uma área com alguns estudos que apresentam resultados promissores e mais vantajosos que os esquemas terapêuticos convencionais. Para a maior parte dos citotóxicos, recomenda-se a administração durante a fase de descanso, uma vez que é nesta altura que as enzimas metabolizadoras se encontram mais ativas, evitando a elevada toxicidade associada a estes fármacos. O 5-FU é o citotóxico para o qual mais estudos foram efetuados relativamente à sua possível adaptação a esquemas cronomodulados, tendo a administração durante a fase ativa menos riscos associados. Um dos principais obstáculos à implementação da cronoquimioterapia é o facto de haver a necessidade de utilização de bombas de infusão cronomoduladas – muitas vezes, a quimioterapia é feita em Hospital de Dia Médico, cujo horário depende dos

profissionais de saúde responsáveis pela administração de citotóxicos, e que muitas vezes, como o nome do próprio serviço hospitalar indica, é durante o dia.

Em geral, as principais limitações dos estudos de cronoterapia prendem-se com o número de indivíduos analisados, sendo frequentemente a amostra demasiado reduzida sem possibilidade de extrapolação para a população em geral. Além disso, os estudos muitas vezes reúnem indivíduos com uma só patologia, o que pode limitar a transposição à população portuguesa, cujos doentes habitualmente se encontram em situações de polimedicação. Torna-se, então, imprescindível a realização de investigação mais aprofundada, nomeadamente estudos que utilizem grupos controlo, com um maior número de doentes analisados, com diferentes classes de fármacos, bem como analisar a influência dos fármacos nos seus ritmos circadianos e nos ritmos biológicos de cada doente.

Apesar de a cronoterapia aplicada às doenças crónicas ainda se encontrar na sua fase inicial, a evidência das suas vantagens em termos de eficácia e minimização de efeitos adversos tem vindo a aumentar entre a comunidade científica. O futuro da cronoterapia passa pelo desenvolvimento de formulações específicas para esquemas cronomodulados ou pela administração dos fármacos numa altura específica do dia, situação que, hoje em dia, é frequentemente desprezada. A cronoterapia alcança maior eficácia com menor incidência de efeitos adversos, constituindo uma alternativa custo-efetiva relativamente aos esquemas convencionais atualmente adoptados. O próximo passo na área da cronoterapia é a inclusão das recomendações dos estudos apresentados na prática clínica, embora esse seja um passo que requer não só a adesão dos doentes, como dos profissionais de saúde, quer prescritores, quer dispensadores de medicação, de forma que todos reforcem a ideia de que a altura do dia em que se toma a medicação é de extrema importância para o controlo da doença.

Bibliografia

- Acelajado, M., Pisoni, R., Dudenbostel, T., Oparil, S., Calhoun, D., & Glasser, S. (2013). Both morning and evening dosing of nebivolol reduces trough mean blood pressure surge in hypertensive patients. *Journal Am Soc Hypertens*, 6(1), 66–72.
- Adachi, K., Komazawa, Y., Fujishiro, H., Mihara, T., Ono, M., Yuki, M., ... Kinoshita, Y. (2003). Nocturnal gastric acid breakthrough during the administration of rabeprazole and ranitidine in *Helicobacter pylori* -negative subjects: effects of different regimens. *Journal of Gastroenterology*, 38(9), 830–835.
- Agarwal, R., & Andersen, M. (2006). Prognostic importance of ambulatory blood pressure recordings in patients with chronic kidney disease. *Kidney International*, 69(7), 1175–1180.
- Akashi, M., & Takumi, T. (2005). The orphan nuclear receptor ROR α regulates circadian transcription of the mammalian core-clock *Bmal1*. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12, 441–448.
- Albrecht, U. (2012). Timing to Perfection: The Biology of Central and Peripheral Circadian Clocks. *Neuron*, 74(2), 246–260.
- Almirall, J., Comas, L., Martínez-Ocaña, J., Roca, S., & Arnau, A. (2012). Effects of chronotherapy on blood pressure control in non-dipper patients with refractory hypertension. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 27(5), 1855–9.
- Alóe, F., Azevedo, A. P. de, & Hasan, R. (2005). Mecanismos do ciclo sono-vigília. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 27(SUPPL. 1), 33–39.
- Altinok, A., Lévi, F., & Goldbeter, A. (2009). Identifying mechanisms of chronotolerance and chronoefficacy for the anticancer drugs 5-fluorouracil and oxaliplatin by computational modeling. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36, 20–38.
- American Diabetes Association. (2013). Standards of medical care in diabetes - 2013. *Diabetes Care*, 36.
- Ando, H., Yanagihara, H., Sugimoto, K., Hayashi, Y., Tsuruoka, S., Takamura, T., ... Fujimura, A. (2005). Daily rhythms of P-glycoprotein expression in mice. *Chronobiology International*, 22(4), 655–665.
- Applegate, W., Borhani, N., DeQuattro, V., Kaihlanen, P., Oishi, S., Due, D., & Sirgo, M. (1991). Comparison of labetalol versus enalapril as monotherapy in elderly patients with hypertension: results of 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. *The American Journal of Medicine*, 90(2), 198–205.
- Arendt, J., Van Someren, E. J. W., Appleton, R., Skene, D. J., & Akerstedt, T. (2008). Clinical update: Melatonin and sleep disorders. *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London*, 8(4), 381–383.
- Arvidson, N., Gudbjörnsson, B., Larsson, A., & Hällgren, R. (1997). The timing of glucocorticoid administration in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 56, 27–31.

- Asmar, R., Gosse, P., Queré, S., & Achouba, A. (2011). Efficacy of morning and evening dosing of amlodipine/valsartan combination in hypertensive patients uncontrolled by 5 mg of amlodipine. *Blood Pressure Monitoring*, 16(2), 80–86.
- Avezum, A., Piegas, L., & Pereira, J. (2005). Fatores de risco associados com infarto agudo do miocárdio na Região Metropolitana de São Paulo. Uma revisão. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 84(3), 206–213.
- Bairy, L. (2013). Chronotherapeutics: A Hype or future of chronopharmacology? *Indian Journal Pharmacology*, 45(6), 545–546.
- Ballesta, A., Dulong, S., Abbara, C., Cohen, B., Okyar, A., Clairambault, J., & Levi, F. (2011). A combined experimental and mathematical approach for molecular-based optimization of irinotecan circadian delivery. *PLoS Computational Biology*, 7(9), 1–12.
- Bando, H., Nishio, T., van der Horst, G. T. J., Masubuchi, S., Hisa, Y., & Okamura, H. (2007). Vagal regulation of respiratory clocks in mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(16), 4359–4365.
- Bandyopadhyay, D., Das, P. K., & Reiter, R. J. (2002). Melatonin protects against gastric ulceration and increases the efficacy of ranitidine and omeprazole in reducing gastric damage. *Journal of Pineal Research*, 33(1), 1–7.
- Barnes, P. J. (1985). Circadian variation in airway function. *The American Journal of Medicine*, 79(6A), 5–9.
- Beam, W. R., Weiner, D. E., & Martin, R. J. (1992). Timing of prednisone and alterations of airways inflammation in nocturnal asthma. *The American Review of Respiratory Disease*, 146(6), 1524–1530.
- Bendová, Z., & Sumová, a. (2006). Photoperiodic regulation of PER1 and PER2 protein expression in rat peripheral tissues. *Physiological Research*, 55(6), 623–632.
- Blask, D. E., Sauer, L. a, & Dauchy, R. T. (2002). Melatonin as a chronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical, and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2(2), 113–132.
- Bressolle, F., Joulia, J. M., Pinguet, F., Ychou, M., Astre, C., Duffour, J., & Gomeni, R. (1999). Circadian rhythm of 5-fluorouracil population pharmacokinetics in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 44(4), 295–302.
- Brum, M. C. B., Filho, F. F. D., Schnorr, C. C., Bottega, G. B., & Rodrigues, T. C. (2015). Shift work and its association with metabolic disorders. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 7(1), 1–7.
- Burioka, N., Suyama, H., Sako, T., & Shimizu, E. (2000). Circadian rhythm in peak expiratory flow: alteration with nocturnal asthma and theophylline chronotherapy. *Chronobiology International*, 17(4), 513–9.
- Burns, E. R., & Beland, S. S. (1984). Effect of biological time on the determination of the LD50 of 5-fluorouracil in mice. *Pharmacology*, 28(5), 296–300.
- Buttgereit, F., Doering, G., Schaeffler, A., Witte, S., Sierakowski, S., Gromnica-Ihle, E., ... Alten, R. (2008). Efficacy of modified-release versus standard prednisone to reduce duration of morning stiffness of the joints in rheumatoid arthritis (CAPRA-1): a double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*, 371(9608), 205–214.

- Buttgereit, F., Mehta, D., Kirwan, J., Szechinski, J., Boers, M., Alten, R., ... Saag, K. (2013). Low-dose prednisone chronotherapy for rheumatoid arthritis: a randomised clinical trial (CAPRA-2). *Annals of the Rheumatic Diseases*, 72(2), 204–10.
- Cajochen, C., Kräuchi, K., & Wirz-Justice, A. (2003). Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(4), 432–437.
- Carter, B., Chrischilles, E., Rosenthal, G., Gryzlak, B., Eisenstein, E., & Weg, M. (2014). Efficacy and Safety of Nighttime Dosing of Antihypertensives: Review of the Literature and Design of a Pragmatic Clinical Trial. *Journal of Clinical Hypertension*, 16(2), 115–121.
- Cella, L. K., Van Cauter, E., & Schoeller, D. A. (1995). Diurnal rhythmicity of human cholesterol synthesis: normal pattern and adaptation to simulated “jet lag”. *The American Journal of Physiology*, 269(3 Pt 1), E489–98.
- Ceresa, F., Angeli, a, Boccuzzi, G., & Molino, G. (1969). Once-a-day neurally stimulated and basal ACTH secretion phases in man and their response to corticoid inhibition. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(September), 1074–1082.
- Cermakian, N., & Boivin, D. (2003). A molecular perspective of human circadian rhythm disorders. *Brain Research Reviews*, 42, 204–220.
- Chan, S., & Debono, M. (2010). Replication of cortisol circadian rhythm: new advances in hydrocortisone replacement therapy. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 1(3), 129–138.
- Charloux, A., Gronfier, C., Lonsdorfer-Wolf, E., Piquard, F., & Brandenberger, G. (1999). Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans. *The American Journal of Physiology*, 276(3), E43–E49.
- Chen, D., Cheng, J., Yang, K., Ma, Y., & Yang, F. (2013). Retrospective analysis of chronomodulated chemotherapy versus conventional chemotherapy with paclitaxel, carboplatin, and 5-fluorouracil in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *OncoTargets and Therapy*, 6, 1507–1514.
- Chen, L., & Yang, G. (2015). Recent advances in circadian rhythms in cardiovascular system. *Frontiers in Pharmacology*, 6(April), 1–7.
- Cho, H., Zhao, X., Hatori, M., Yu, R., Barish, G., Lam, M., ... Evans, R. (2012). Regulation of circadian behaviour and metabolism by REV-ERB- α and REV-ERB- β . *Nature*, 485(7396), 123–127.
- Chojnacki, C., Walecka-Kapica, E., Lokieć, K., Pawłowicz, M., Winczyk, K., Chojnacki, J., & Klupińska, G. (2013). Influence of melatonin on symptoms of irritable bowel syndrome in postmenopausal women. *Endokrynologia Polska*, 64(2), 114–20.
- Chung, S., Son, G. H., & Kim, K. (2011). Circadian rhythm of adrenal glucocorticoid: its regulation and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1812(5), 581–91.
- Cilla, D., Gibson, D., Whitfield, L., & Sedman, J. (1996). Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of atorvastatin after administration to normocholesterolemic subjects in the morning and evening. *Journal of Clinical Pharmacology*, 36, 604–609.
- Claas, S. a, & Glasser, S. P. (2005). Long-acting diltiazem HCl for the chronotherapeutic treatment of hypertension and chronic stable angina pectoris. *Expert Opinion on*

Pharmacotherapy, 6(5), 765–776.

- Clairambault, J. (2007). Modeling oxaliplatin drug delivery to circadian rhythms in drug metabolism and host tolerance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 1054–1068.
- Corbalán-Tutau, D., Madrid, J. A., Nicolás, F., & Garaulet, M. (2014). Daily profile in two circadian markers “melatonin and cortisol” and associations with metabolic syndrome components. *Physiology and Behavior*, 123, 231–235.
- Cortez-Dias, N., Martins, S., Belo, A., & Fiúza, M. (2013). Caracterização do perfil lipídico nos utentes dos cuidados de saúde primários em Portugal. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 32(12), 987–996.
- Cos, S., Mediavilla, D., Martínez-Campa, C., González, A., Alonso-Gonzalez, C., & Sánchez-Barceló, E. (2006). Exposure to light-at-night increases the growth of DMBA-induced mammary adenocarcinomas in rats. *Cancer Letters*.
- Cresta, S., Grasselli, G., Mansutti, M., Martoni, a., Lelli, G., Capri, G., ... Gianni, L. (2004). A randomized phase II study of combination, alternating and sequential regimens of doxorubicin and docetaxel as first-line chemotherapy for women with metastatic breast cancer. *Annals of Oncology*, 15(3), 433–439.
- Cutando, A., López-Valverde, A., Arias-Santiago, S., De Vicente, J., & De Diego, R. G. (2012). Role of melatonin in cancer treatment. *Anticancer Research*, 32(7), 2747–2754.
- D’Alonzo, G. E., Smolensky, M. H., Feldman, S., Gnosspeilius, Y., & Karlsson, K. (1995). Bambuterol in the treatment of asthma: A placebo-controlled comparison of once-daily morning vs evening administration. *Chest*, 107(2), 406–412.
- D’Urzo, A., Karpel, J. P., Busse, W., Boulet, L.-P., Monahan, M. E., Lutsky, B., & Staudinger, H. (2005). Efficacy and safety of mometasone furoate administered once-daily in the evening in patients with persistent asthma dependent on inhaled corticosteroids. *Current Medical Research and Opinion*, 21(8), 1281–1289.
- Dahl, R., Harving, H., Säwedal, L., & Anehus, S. (1988). Terbutaline sustained-release tablets in nocturnal asthma--a placebo-controlled comparison between a high and a low evening dose. *British Journal of Diseases of the Chest*, 82(3), 237–41.
- Dallmann, R., Brown, S., & Gachon, F. (2014). Chronopharmacology: new insights and therapeutic implications. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 54(1), 339–61.
- De Silva, M., Binder, A., & Hazleman, B. (1984). The timing of prednisolone dosage and its effect on morning stiffness in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 43(6), 790–793.
- Dimech, M. (2013). Melatonin and Sleep Disorders : The Neurobiology of Sleep , Circadian Rhythm Sleep Disorders , and Various Treatment Methods. *Student Pulse*, 5(7), 1–15.
- DiPiro, J., Talbert, R., Yee, G., Matzke, G., Wells, B., & Posey, L. (Eds.). (2005). *Pharmacotherapy - A Pathophysiologic Approach* (6th ed.). McGraw-Hill.
- Direção-Geral de Saúde. (2004). *Circular Normativa n° 12/DGCG de 02/07/04: Programa Nacional Contra as Doenças Reumáticas*.
- Direção-Geral de Saúde. (2011). *Norma da Direção-Geral da Saúde 019/2011: Abordagem Terapêutica das Dislipidemias no Adulto*.

- Direção-Geral de Saúde. (2012). Abordagem e Controlo da Asma. *Norma N° 016/2011 Da Direção-Geral Da Saúde de 27/09/2011 Atualizada a 14/06/2012*, 2, 1–14.
- Direção-Geral de Saúde. (2013). *Portugal: Doenças Respiratórias em números – 2013. Programa Nacional para as Doenças Respiratórias*. Lisboa - Portugal.
- Dumont, M., Lanctôt, V., Cadieux-Viau, R., & Paquet, J. (2012). Melatonin Production and Light Exposure of Rotating Night Workers. *Chronobiology International*, 29(2), 203–210.
- Duncan, W. C. (1996). Circadian rhythms and the pharmacology of affective illness. *Pharmacology and Therapeutics*.
- Durrington, H., Farrow, S., & Ray, D. (2014). Recent advances in chronotherapy for the management of asthma. *Chronophysiology and Therapy*, 4, 125–135.
- Ebrahim, I. O., Howard, R. S., Kopelman, M. D., Sharief, M. K., & Williams, a J. (2002). The hypocretin/orexin system. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 95(5), 227–230.
- Ekstrand, K., Boström, P. A., Arborelius, M., Nilsson, J. A., & Lindell, S. E. (1996). Cardiovascular risk factors in commercial flight aircrew officers compared with those in the general population. *Angiology*, 47(11), 1089–94.
- Eriguchi, M., Levi, F., Hisa, T., Yanagie, H., Nonaka, Y., & Takeda, Y. (2003). Chronotherapy for cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 57, 92–95.
- Ernst, M., Carter, B., Goerdt, C., Steffensmeier, J., Phillips, B., Zimmerman, B., & Bergus, G. (2006). Comparative antihypertensive effects of hydrochlorothiazide and chlorthalidone on ambulatory and office blood pressure. *Hypertension*, 47(3), 352–358.
- Eshelman School of Pharmacy of The University of North Carolina. (2014). Circadian rhythm & sleep cycle | Insomnia. Retrieved August 27, 2015, from <https://learn.pharmacy.unc.edu/insomnia/node/6>
- Ezeugo, U., & Glasser, S. P. (2009). Clinical benefits versus shortcomings of diltiazem once-daily in the chronotherapy of cardiovascular diseases. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 10(3), 485–491.
- Fauler, G., Abletshauer, C., Erwa, W., Löser, R., Witschital, K., & März, W. (2007). Time-of-intake (morning versus evening) of extended-release fluvastatin in hyperlipemic patients is without influence on the pharmacodynamics (mevalonic acid excretion) and pharmacokinetics. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 45(6), 328–34.
- Faurschou, P., Engel, a M., & Haanaes, O. C. (1994). Salmeterol in two different doses in the treatment of nocturnal bronchial asthma poorly controlled by other therapies. *Allergy*, 49(10), 827–832.
- Ferdinand, K., & Ferdinand, D. (2008). Race-Based Therapy for Hypertension: Possible Benefits and Pitfalls. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 6(10).
- Fernandes, M. (2011). *Hipercolesterolemia - Para além do tratamento farmacológico*. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto.
- Ferrell, J., & Chiang, J. (2015). Circadian rhythms in liver metabolism and disease. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(2), 113–122.
- Filipski, E., Berland, E., Ozturk, N., Guettier, C., van der Horst, G. T. J., Lévi, F., & Okyar, A.

- (2014). Optimization of irinotecan chronotherapy with P-glycoprotein inhibition. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 274(3), 471–479.
- Filipski, E., Lemaigre, G., Liu, X.-H., Méry-Mignard, D., Mahjoubi, M., & Lévi, F. (2004). Circadian rhythm of irinotecan tolerability in mice. *Chronobiology International*, 21(4-5), 613–30.
- Filipski, E., Subramanian, P., Carrière, J., Guettier, C., Barbason, H., & Lévi, F. (2009). Circadian disruption accelerates liver carcinogenesis in mice. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 680(1-2), 95–105.
- Flack, J., & Nasser, S. (2011). Benefits of once-daily therapies in the treatment of hypertension. *Vascular Health and Risk Management*, 7(1), 777–787.
- Fleming, R. a, Milano, G., Thyss, A., Demani, F., Renã, N., & Schneider, M. (1992). Correlation between Dihydropyrimidine Dehydrogenase Activity in Peripheral Mononuclear Cells and Systemic Clearance of Fluorouracil in Cancer Patients Correlation between Dihydropyrimidine Dehydrogenase Activity in Peripheral Mononuclear Cells and Systemi, (July 1991), 2899–2902.
- Fuller, P. M., Gooley, J. J., & Saper, C. B. (2006). Neurobiology of the Sleep-Wake Cycle: Sleep Architecture, Circadian Regulation, and Regulatory Feedback. *J Biol Rhythms*, 21(482).
- Galano, A., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2011). Melatonin as a natural ally against oxidative stress: A physicochemical examination. *Journal of Pineal Research*, 51(1), 1–16.
- García-Mauriño, S., Pozo, D., Calvo, J. R., & Guerrero, J. M. (2000). Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines. *Journal of Pineal Research*, 29(3), 129–137.
- Geyfman, M., Kumar, V., Liu, Q., Ruiz, R., Gordon, W., Espitia, F., ... Andersen, B. (2012). Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1) controls circadian cell proliferation and susceptibility to UVB-induced DNA damage in the epidermis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(29), 11758–11763.
- Giacchetti, S., Bjarnason, G., Garufi, C., Genet, D., Iacobelli, S., Tampellini, M., ... Lévi, F. (2006). Phase III Trial Comparing 4-Day Chronomodulated Therapy Versus 2-Day Conventional Delivery of Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin As First-Line Chemotherapy of Metastatic Colorectal Cancer: The European Organisation for Research and Treatment of Can. *Journal of Clinical Oncology*, 24(22), 3562–3569.
- Gibbs, J., Beesley, S., Plumb, J., Singh, D., Farrow, S., Ray, D., & Loudon, S. (2009). Circadian timing in the lung; A specific role for bronchiolar epithelial cells. *Endocrinology*, 150(1), 268–276.
- Gibbs, J., & Ray, D. (2013). The role of the circadian clock in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 15(1), 205.
- Gnocchi, D., Pedrelli, M., Hurt-Camejo, E., & Parini, P. (2015). Lipids around the Clock: Focus on Circadian Rhythms and Lipid Metabolism. *Biology*, 4(1), 104–132.
- Goo, R., Moore, J., Greenberg, E., & Alazraki, N. (1987). Circadian variation in gastric emptying of meals in humans. *Gastroenterology*, 93(3), 515–518.
- Granda, T., Filipski, E., Attino, R., Vrignaud, P., Anjo, A., Bissery, M., & Levi, F. (2001).

- Experimental Chronotherapy of Mouse Mammary Adenocarcinoma MA13 / C with Docetaxel and Doxorubicin as Single Agents and in Combination Experimental Chronotherapy of Mouse Mammary Adenocarcinoma MA13 / C with Docetaxel and Doxorubicin as Single Agents and. *Cancer Research*, 61, 1996–2001.
- Granda, T. G., D'Attino, R.-M., Filipinski, E., Vrignaud, P., Garufi, C., Terzoli, E., ... Lévi, F. (2002). Circadian optimisation of irinotecan and oxaliplatin efficacy in mice with Glasgow osteosarcoma. *British Journal of Cancer*, 86(6), 999–1005.
- Greene, M. (2012). Circadian rhythms and tumor growth. *Cancer Lett*, 318(2), 115–123. doi:10.1016/j.canlet.2012.01.001
- Greminger, P., Suter, P. M., Holm, D., Kobelt, R., & Vetter, W. (1994). Morning versus evening administration of nifedipine gastrointestinal therapeutic system in the management of essential hypertension. *The Clinical Investigator*, 72(11), 864–9.
- Guillaumond, F., Dardente, H., Giguère, V., & Cermakian, N. (2005). Differential control of Bmal1 circadian transcription by REV-ERB and ROR nuclear receptors. *Journal of Biological Rhythms*, 20(5), 391–403.
- Halberg, F., Haus, E., Cardoso, S., Scheving, L., Kühl, J., Shiotsuka, R., ... Good, A. (1973). Toward a Chronotherapy of Neoplasia: Tolerance of Treatment Depends upon Host Rhythms. *Experientia*, 29(1964), 909–934.
- Halberg, F., Nelson, W., Levi, F., Culley, D., Bogden, A., & Taylor, D. J. (1980). Chronotherapy of mammary cancer in rats. *International Journal of Chronobiology*, 7(2), 85–99.
- Hardeland, R., Cardinali, D., Srinivasan, V., Spence, W., Brown, G., & Pandi-Perumal, S. (2011). Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in Neurobiology*, 93(3), 350–384.
- Harter, J., Reddy, W., & Thorn, G. (1963). Studies on an intermittent corticosteroid dosage regimen. *The New England Journal of Medicine*, 269(12).
- Hartikainen, J., Tarkiainen, I., Tahvanainen, K., Mantysaari, M., Lansimies, E., & Pyörala, K. (1993). Circadian variation of cardiac autonomic regulation during 24-h bed rest. *Clinical Physiology*, 13(2), 185–96.
- Hatlebakk, J., Katz, P., Kuo, B., & Castell, D. (1998). Nocturnal gastric acidity and acid breakthrough on different regimens of omeprazole 40 mg daily. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 12(12), 1235–40.
- Haus, E., Sackett-Lundeen, L., & Smolensky, M. (2012). Rheumatoid arthritis - Circadian Rhythms in Disease Activity, Signs and Symptoms, and Rationale for Chronotherapy with Corticosteroids and Other Medications. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, 70(1), 3–10.
- Haus, E., & Smolensky, M. (2006). Biological clocks and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects. *Cancer Causes and Control*, 17(4), 489–500.
- Hermida, R. (2007). Ambulatory blood pressure monitoring in the prediction of cardiovascular events and effects of chronotherapy: rationale and design of the MAPEC study. *Chronobiology International*, 24(4), 749–775.
- Hermida, R., & Ayala, D. (2009). Chronotherapy with the angiotensin-converting enzyme

- inhibitor ramipril in essential hypertension: Improved blood pressure control with bedtime dosing. *Hypertension*, 54(1), 40–46.
- Hermida, R., Ayala, D., Calvo, C., López, J., Mojón, A., Fontao, M., ... Fernández, J. (2005). Effects of time of day of treatment on ambulatory blood pressure pattern of patients with resistant hypertension. *Hypertension*, 46(4), 1053–1059.
- Hermida, R., Ayala, D., Chayan, L., Mojon, A., & Fernandez, J. (2009). Administration-time-dependent effects of olmesartan on the ambulatory blood pressure of essential hypertension patients. *Chronobiology International*, 26(1), 61–79.
- Hermida, R., Ayala, D., Fernández, J., & Calvo, C. (2007). Comparison of the efficacy of morning versus evening administration of telmisartan in essential hypertension. *Hypertension*, 50(4), 715–722.
- Hermida, R., Ayala, D., Fernández, J., & Calvo, C. (2008). Chronotherapy improves blood pressure control and reverts the nondipper pattern in patients with resistant hypertension. *Hypertension*, 51(1), 69–76.
- Hermida, R., Ayala, D., Fernández, J., Mojón, A., Smolensky, M., Fabbian, F., & Portaluppi, F. (2012). *Administration-Time Differences in Effects of Hypertension Medications on Ambulatory Blood Pressure Regulation*. *Chronobiology International*.
- Hermida, R., Ayala, D., Fernández, J., Portaluppi, F., Fabbian, F., & Smolensky, M. (2011). Circadian rhythms in blood pressure regulation and optimization of hypertension treatment with ACE inhibitor and ARB medications. *American Journal of Hypertension*, 24(4), 383–391.
- Hermida, R., Ayala, D., Fontao, M., Mojón, A., & Fernández, J. (2010). Chronotherapy with valsartan/amlodipine fixed combination: improved blood pressure control of essential hypertension with bedtime dosing, 27(6), 1287–1303.
- Hermida, R., Ayala, D., Mojón, A., Chayan, L., Domínguez, M., Fontao, M., ... Fernandez, J. (2008). Comparison of the effects on ambulatory blood pressure of awakening versus bedtime administration of torasemide in essential hypertension. *Chronobiology International*, 25(6), 950–970.
- Hermida, R., Ayala, D., Mojon, A., & Fernandez, J. (2011a). Bedtime Dosing of Antihypertensive Medications Reduces Cardiovascular Risk in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(12), 2313–2321.
- Hermida, R., Ayala, D., Mojon, A., & Fernandez, J. (2011b). Influence of time of day of blood pressure-lowering treatment on cardiovascular risk in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 34(6), 1270–1276.
- Hermida, R., Ayala, D., Mojón, A., & Fernández, J. (2010). Influence of circadian time of hypertension treatment on cardiovascular risk: results of the MAPEC study. *Chronobiology International*, 27(8), 1629–1651.
- Hermida, R., Ayala, D., Mojón, A., & Fernández, J. (2011). Decreasing sleep-time blood pressure determined by ambulatory monitoring reduces cardiovascular risk. *Journal of the American College of Cardiology*, 58(11), 1165–1173.
- Hermida, R., Ayala, D., Mojón, A., Fontao, M., & Fernández, J. (2011). Chronotherapy With Valsartan/Hydrochlorothiazide Combination in Essential Hypertension: Improved Sleep-

- Time Blood Pressure Control With Bedtime Dosing. *Chronobiology International*, 28(7), 601–610.
- Hermida, R., Ayala, D., & Portaluppi, F. (2007). Circadian variation of blood pressure: The basis for the chronotherapy of hypertension. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 904–922.
- Hermida, R., Calvo, C., Ayala, D., Domínguez, M., Covelo, M., Fernández, J., ... López, J. (2003). Administration time-dependent effects of valsartan on ambulatory blood pressure in hypertensive subjects. *Hypertension*, 42(3), 283–290.
- Hermida, R., Calvo, C., Ayala, D., Domínguez, M., Covelo, M., Fernández, J., ... López, J. (2004). Administration-time-dependent effects of doxazosin GITS on ambulatory blood pressure of hypertensive subjects. *Chronobiology International*, 21(2), 277–96.
- Hermida, R., Calvo, C., Ayala, D., López, J., Rodríguez, M., Chayan, L., ... Fernández, J. (2007). Dose- and administration time-dependent effects of nifedipine gits on ambulatory blood pressure in hypertensive subjects. *Chronobiology International*, 24(3), 471–493.
- Högberg, T., Glimelius, B., & Nygren, P. (2001). A systematic overview of chemotherapy effects in ovarian cancer. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 40(2-3), 340–60.
- Hornung, R., Gould, B., Kieso, H., & Raftery, E. (1982). A study of nadolol to determine its effect on ambulatory blood pressure over 24 hours, and during exercise testing. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 14(1), 83–88.
- Hoshino, A., Nakamura, T., & Matsubara, H. (2010). The bedtime administration ameliorates blood pressure variability and reduces urinary albumin excretion in amlodipine-olmesartan combination therapy. *Clinical and Experimental Hypertension*, 32(7), 416–422.
- Hunt, T., & Sassone-Corsi, P. (2007). Riding Tandem: Circadian Clocks and the Cell Cycle. *Cell*, 129(3), 461–464.
- INE, I. N. de E. (2015). *Estatísticas da Saúde 2013*.
- INE, I. N. de E., & INSA, I. N. de S. D. R. J. (Eds.). (2009). *Inquérito Nacional de Saude 2005/2006*. Lisboa - Portugal.
- Infarmed IP. (2012). *Prontuário Terapêutico - 11*. (I. / M. INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde & D. Saúde, Eds.).
- Innominato, P. F., Palesh, O., Dhabhar, F. S., Lévi, F., & Spiegel, D. (2010). Regulation of circadian rhythms and hypothalamic-pituitary-adrenal axis: An overlooked interaction in cancer. *The Lancet Oncology*, 11(9), 816–817.
- International Agency for Research on Cancer. (2012). *Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*.
- Izzedine, H., Launay-Vacher, V., & Deray, G. (2006). Abnormal blood pressure circadian rhythm: A target organ damage? *International Journal of Cardiology*, 107, 343–349.
- Jarjour, N. N. (1999). Circadian variation in allergen and nonspecific bronchial responsiveness in asthma. *Chronobiology International*, 16(5), 631–639.
- Karbownik, M., Lewinski, A., & Reiter, R. (2001). Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes: Comparison with other antioxidants. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 33(8), 735–753.

- Kario, K., Pickering, T. G., Matsuo, T., Hoshide, S., Schwartz, J. E., & Shimada, K. (2001). Stroke prognosis and abnormal nocturnal blood pressure falls in older hypertensives. *Hypertension*, 38(4), 852–857.
- Katz, P., Gerson, L., & Vela, M. (2013). Guidelines for the Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux Disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 108(3), 308–328.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Basic and clinical Pharmacology*. (B. G. Katzung, Ed.) (12th ed.). McGraw-Hill.
- Kelly, E., Houtman, J. J., & Jarjour, N. N. (2004). Inflammatory changes associated with circadian variation in pulmonary function in subjects with mild asthma. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 34(2), 227–233.
- Khapre, R. V., Samsa, W. E., & Kondratov, R. V. (2010). Circadian regulation of cell cycle: Molecular connections between aging and the circadian clock. *Annals of Medicine*, 42(6), 404–415.
- Khasawneh, S. M., & Affarah, H. B. (1992). Morning versus evening dose: a comparison of three H₂-receptor blockers in duodenal ulcer healing. *The American Journal of Gastroenterology*, 87(9), 1180–2.
- Kim, M., Lee, J., & Duffy, J. (2013). Circadian Rhythm Sleep Disorders. *J Clin Outcomes Manag*, 20(11), 513–528.
- Kim, S., Kim, M., Seo, H., Hyun, M., Han, K., Cho, S., ... Hoon Park, S. (2013). Efficacy and safety of morning versus evening dose of controlled-release simvastatin tablets in patients with hyperlipidemia: a randomized, double-blind, multicenter phase III trial. *Clinical Therapeutics*, 35(9), 1350–60.e1.
- Kimby, E., Brandt, L., Nygren, P., & Glimelius, B. (2001). A systematic overview of chemotherapy effects in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 40(2-3), 224–30.
- King, D., Zhao, Y., Sangoram, A., Wilsbacher, L., Tanaka, M., Antoch, M., ... Takahashi, J. (1997). Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell*, 89(4), 641–653.
- Klein, D. C., Coon, S. L., Roseboom, P. H., Weller, J. L., Bernard, M., Gastel, J. A., ... Baler, R. (1997). The melatonin rhythm-generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland. *Recent Progress in Hormone Research*, 52, 307–57; discussion 357–8.
- Klupinska, G., Wisniewska-Jarasinska, M., Harasiuk, A., Chojnacki, C., Stec-Michalska, K., Blasiak, J., ... Chojnacki, J. (2006). Nocturnal secretion of melatonin in patients with upper digestive tract disorders. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(5), 41–50.
- Knudsen, S., Poulsen, P., Hansen, K., Ebbelohj, E., Bek, T., & Mogensen, C. (2002). Pulse pressure and diurnal blood pressure variation: Association with micro- and macrovascular complications in type 2 diabetes. *American Journal of Hypertension*, 15(3), 244–250.
- Koëter, G. H., Postma, D. S., Keyzer, J. J., & Meurs, H. (1985). Effect of oral slow-release terbutaline on early morning dyspnoea. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 28(2), 159–62.

- Konopka, R., & Benzer, S. (1971). Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68(9), 2112–2116.
- Konturek, P., Brzozowski, T., & Konturek, S. (2011). Gut Clock: Implication of Circadian Rhythms in the Gastrointestinal Tract. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 62(1), 139–150.
- Konturek, P., Celinski, K., Cichoz-Lach, M., Burnat, G., Naegal, A., Bielanski, W., ... Konturek, S. (2008). Melatonin and its precursor L-tryptophan prevent acute gastric mucosal damage induced by aspirin in humans. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59(2), 67–75.
- Konturek, S., Konturek, P., Brzozowski, T., & Bubenik, G. (2007). Role of melatonin in upper gastrointestinal tract. *Journal of Physiology and Pharmacology : An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 58 Suppl 6, 23–52.
- Koopman, M. G., Koomen, G. C., Krediet, R. T., de Moor, E. a, Hoek, F. J., & Arisz, L. (1989). Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 77(1), 105–111.
- Kowalska, E., & Brown, S. (2007). Peripheral clocks: Keeping up with the master clock. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 72, 301–305.
- Kretschmannova, K., Svobodova, I., Balik, A., Mazna, P., & Zemkova, H. (2005). Circadian rhythmicity in AVP secretion and GABAergic synaptic transmission in the rat suprachiasmatic nucleus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1048, 103–115.
- Kume, K., Zylka, M. J., Sriram, S., Shearman, L., Weaver, D., Jin, X., ... Reppert, S. (1999). mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell*, 98, 193–205.
- Kuo, B., & Castell, D. (1996). Optimal dosing of omeprazole 40 mg daily: effects on gastric and esophageal pH and serum gastrin in healthy controls. *The American Journal of Gastroenterology*, 91(8), 1532–8.
- Kuroda, T., Kario, K., Hoshida, S., Hashimoto, T., Nomura, Y., Saito, Y., ... Shimada, K. (2004). Effects of bedtime vs. morning administration of the long-acting lipophilic angiotensin-converting enzyme inhibitor trandolapril on morning blood pressure in hypertensive patients. *Hypertension Research : Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, 27(1), 15–20.
- Lange, T., Dimitrov, S., Fehm, H.-L., Westermann, J., & Born, J. (2006). Shift of monocyte function toward cellular immunity during sleep. *Archives of Internal Medicine*, 166(16), 1695–1700.
- Latha, K., Uhumwangho, M., Sunil, S., Srikanth, M., & Ramana Murthy, K. (2010). Chronobiology and Chronotherapy of Hypertension - A Review. *International Journal of Health Research*, 3(3), 121–31.
- Lavie, P. (2001). Sleep-Wake as a Biological Rhythm. *Annual Review of Psychology*, 52, 277–303.
- Lee, C., Etchegaray, J.-P., Cagampang, F., Loudon, A., & Reppert, S. (2001). Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock. *Cell*, 107, 855–867.
- Lévi, F., Focan, C., Karaboué, A., de la Valette, V., Focan-Henrard, D., Baron, B., ...

- Giacchetti, S. (2007). Implications of circadian clocks for the rhythmic delivery of cancer therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 1015–1035.
- Lévi, F., Okyar, A., Dulong, S., Innominato, P. F., & Clairambault, J. (2010). Circadian timing in cancer treatments. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 50, 377–421.
- Levi, F., & Schibler, U. (2007). Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47, 593–628.
- Li, J., Chen, R., Ji, M., Zou, S., & Zhu, L. (2015). Cisplatin-based chronotherapy for advanced non-small cell lung cancer patients: a randomized controlled study and its pharmacokinetics analysis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 1–5.
- Li, L., & Sacks, D. B. (2007). Functional interactions between calmodulin and estrogen receptor-alpha. *Cellular Signalling*, 19(3), 439–443.
- Li, X. M., Metzger, G., Filipski, E., Lemaigre, G., & Lévi, F. (1998). Modulation of nonprotein sulphhydryl compounds rhythm with buthionine sulphoximine: Relationship with oxaliplatin toxicity in mice. *Archives of Toxicology*.
- Liira, J., Verbeek, J., Costa, G., Driscoll, T., Sallinen, M., Isotalo, L., & Ruotsalainen, J. (2015). Pharmacological interventions for sleepiness and sleep disturbances caused by shift work. *Sao Paulo Medical Journal*, 133(1).
- Lin, Z. Y., & Chuang, W. L. (2010). Pharmacologic concentrations of melatonin have diverse influence on differential expressions of angiogenic chemokine genes in different hepatocellular carcinoma cell lines. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 64(10), 659–662.
- Lu, W. Z., Gwee, K. a., Moochhalla, S., & Ho, K. Y. (2005). Melatonin improves bowel symptoms in female patients with irritable bowel syndrome: a double-blind placebo-controlled study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 22(10), 927–934.
- Lund, T., Torsvik, H., Falch, D., Christophersen, B., Skardal, R., & Gullestad, L. (2002). Effect of morning versus evening intake of simvastatin on the serum cholesterol level in patients with coronary artery disease. *American Journal of Cardiology*, 90(7), 784–+.
- Lurbe, E., Redon, J., Kesani, A., Pascual, J. M., Tacons, J., Alvarez, V., & Battle, D. (2002). Increase in Nocturnal Blood Pressure and Progression to Microalbuminuria in Type 1 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 347(11), 797–805.
- Macedo, M., & Ferreira, R. (2013). A Hipertensão Arterial em Portugal 2013 - Análise epidemiológica nos cuidados de Saúde Primários. *Direção-Geral Da Saúde*.
- Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., ... Wood, D. a. (2013). 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 34(28), 2159–2219.
- Martin, P., Mitchell, P., & Schneck, D. (2002). Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of a new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, after morning or evening administration in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 54, 472–477.
- Martin, R., & Banks-Schlegel, S. (1998). NHLBI Workshop Summary - Chronobiology of Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 158, 1002–1007.

- Martino, T. a., Tata, N., Belsham, D. D., Chalmers, J., Straume, M., Lee, P., ... Sole, M. J. (2007). Disturbed diurnal rhythm alters gene expression and exacerbates cardiovascular disease with rescue by resynchronization. *Hypertension*, *49*(5), 1104–1113.
- Martino, T., Tata, N., Simpson, J., Vanderlaan, R., Dawood, F., Kabir, M., ... Sole, M. (2011). The primary benefits of angiotensin-converting enzyme inhibition on cardiac remodeling occur during sleep time in murine pressure overload hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology*, *57*(20), 2020–2028.
- Mayer, D. (1976). The circadian rhythm of synthesis and catabolism of cholesterol. *Archives of Toxicology*, *36*(3-4), 267–76.
- Mazzoccoli, G., Giuliani, F., & Sothorn, R. B. (2012). Determination of whole body circadian phase in lung cancer patients: Melatonin vs. cortisol. *Cancer Epidemiology*.
- McNamara, P., Seo, S. B., Rudic, R. D., Sehgal, A., Chakravarti, D., & FitzGerald, G. a. (2001). Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: A humoral mechanism to reset a peripheral clock. *Cell*, *105*(7), 877–889.
- Mediavilla, M. D., Sanchez-Barcelo, E. J., Tan, D. X., Manchester, L., & Reiter, R. J. (2010). Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Current Medicinal Chemistry*, *17*(36), 4462–4481.
- Miettinen, T. A. (1980). Diurnal variation of LDL and HDL cholesterol. *Annals of Clinical Research*, *12*(6), 295–8.
- Milano, G., & Chamorey, A.-L. (2002). Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil with consideration of chronopharmacokinetics. *Chronobiology International*, *19*(1), 177–189.
- Minutolo, R., Gabbai, F. B., Borrelli, S., Scigliano, R., Trucillo, P., Baldanza, D., ... De Nicola, L. (2007). Changing the timing of antihypertensive therapy to reduce nocturnal blood pressure in CKD: an 8-week uncontrolled trial. *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, *50*(6), 908–17.
- Mistlberger, R. (2005). Circadian regulation of sleep in mammals: Role of the suprachiasmatic nucleus. *Brain Research Reviews*, *49*(3), 429–454.
- Mochizuki, Y., Okutani, M., Dongfeng, Y., Iwasaki, H., Takusagawa, M., Kohno, I., ... Tamura, K. (1998). Limited reproducibility of circadian variation in blood pressure dippers and nondippers. *American Journal of Hypertension*, *11*(4 I), 403–409.
- Morgan, A., Connaughton, J., Catterall, J., Shapiro, C., Douglas, N., & Flenley, D. (1986). Sodium cromoglycate in nocturnal asthma. *Thorax*, *41*, 39–41.
- Morgan, L., Hampton, S., Gibbs, M., & Arendt, J. (2003). Circadian aspects of postprandial metabolism. *Chronobiology International*, *20*(5), 795–808.
- Mortola, J. (2004). Breathing around the clock: An overview of the circadian pattern of respiration. *European Journal of Applied Physiology*, *91*(2-3), 119–129.
- Muxfeldt, E., Bloch, K., Nogueira, A., & Salles, G. (2003). Twenty-four hour ambulatory blood pressure monitoring pattern of resistant hypertension. *Clinical Methods and Pathophysiology*, *8*(5), 181–185.
- Nagoshi, E., Saini, C., Bauer, C., Laroche, T., Naef, F., & Schibler, U. (2004). Circadian gene expression in individual fibroblasts: Cell-autonomous and self-sustained oscillators pass time to daughter cells. *Cell*, *119*, 693–705.

- Nainwal, N. (2012). Chronotherapeutics - A chronopharmaceutical approach to drug delivery in the treatment of asthma. *Journal of Controlled Release*, 163(3), 353–360.
- Nainwal, P., Nanda, D., & Rana, V. (2011). Fundamentals of Chronopharmacology and Chronopharmacotherapy. *Journal of Pharmacy Research*, 4(8), 2692–2695.
- National Cancer Institute. (2015). Types of Cancer Treatment - National Cancer Institute. Retrieved August 7, 2015, from <http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
- Neutel, J. M., & Rotenberg, K. (2005). Comparison of a chronotherapeutically administered beta blocker vs. a traditionally administered beta blocker in patients with hypertension. *Journal of Clinical Hypertension*, 7(7), 395–400.
- Nicholas, G., Staknis, D., Nguyen, H., Davis, F., Wilsbacher, L., King, D., ... Weitz, C. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science (New York, N.Y.)*, 280, 1564–1569.
- Nicolau, J., Baracioli, L., Costa, O., & Hernandez, M. (1999). Infarto do miocárdio em hipertensos. *HiperAtivo*, 6(1).
- Ohdo, S. (2007). Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: chronopharmacological findings on antitumor drugs. *Journal of Pharmacological Sciences*, 103, 155–158.
- Ohdo, S. (2010). Chronopharmaceutics: pharmaceuticals focused on biological rhythm. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 33(2), 159–167. doi:10.1248/bpb.33.159
- Ohmori, M., & Fujimura, A. (2005). ACE inhibitors and chronotherapy. *Clinical and Experimental Hypertension*, 27(2-3), 179–85.
- Okeahialam, B., Ohihoin, E., & Ajuluchukwu, J. (2012). Diuretic drugs benefit hypertensive patients more with night-time dosing. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 273–278.
- Okyar, A., Dressler, C., Hanafy, A., Baktir, G., Lemmer, B., & Spahn-Langguth, H. (2012). Circadian Variations in Exsorpative Transport: In Situ Intestinal Perfusion Data and In Vivo Relevance. *Chronobiology International*, 29(4), 443–453.
- Olsen, N., Brooks, R., & Furst, D. (1993). Variability of immunologic and clinical features in patients with rheumatoid arthritis studied over 24 hours. *The Journal of Rheumatology*, 20(6), 940–3.
- OMS. (2014). *Fact Sheet n° 310: The top 10 causes of death*. World Health Organization.
- Orias, M., & Correa-Rotter, R. (2011). Chronotherapy in Hypertension: A Pill at Night Makes Things Right? *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(12), 2152–2155.
- Ortiz-Tudela, E., Mteyrek, A., Ballesta, A., Innominato, P., & Levi, F. (2001). Cancer Chronotherapeutics: Experimental, Theoretical, and Clinical Aspects. *Cell*, 106(2), 141–143.
- Pajaron-Fernandez, M., Garcia-Rubia, S., Sanchez-Solis, M., & Garcia-Marcos, L. (2006). Montelukast administered in the morning or evening to prevent exercise-induced bronchoconstriction in children. *Pediatric Pulmonology*, 41(3), 222–227.
- Palatini, P., Mos, L., Motolese, M., Mormino, P., Del Torre, M., Varotto, L., ... Pessina, A. C. (1993). Effect of evening versus morning benazepril on 24-hour blood pressure: a comparative study with continuous intraarterial monitoring. *International Journal of*

- Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology*, 31(6), 295–300.
- Palatini, P., Racioppa, a, Raule, G., Zaninotto, M., Penzo, M., & Pessina, a C. (1992). Effect of timing of administration on the plasma ACE inhibitory activity and the antihypertensive effect of quinapril. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 52(4), 378–383.
- Panwar, A. S., Agrawal, A., Nagori, V., Darwhekar, G. N., & Jain, D. K. (2011). Chronopharmaceuticals In Nocturnal Asthma- A Review. *Internation Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 2(2), 630–638.
- Parker, T., McNamara, D., Brown, C., Garrigan, O., Kolb, R., Batwin, H., & Ahrens, E. (1982). Mevalonic acid in human plasma: relationship of concentration and circadian rhythm to cholesterol synthesis rates in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(9), 3037–3041.
- Partch, C., Green, C., & Takahashi, J. (2014). Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends in Cell Biology*.
- Patel, P. V., Wong, J. L., & Arora, R. (2008). The morning blood pressure surge: Therapeutic implications. *Journal of Clinical Hypertension*, 10(February 2007), 140–145.
- Pedersen, B. K., Laursen, L. C., Gnospelius, Y., Faurschou, P., & Weeke, B. (1985). Bambuterol: effects of a new anti-asthmatic drug. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 29(4), 425–7.
- Pehlivanov, N., Olyae, M., Sarosiek, I., & McCallum, R. (2003). Comparison of morning and evening administration of rabeprazole for gastro-oesophageal reflux and nocturnal gastric acid breakthrough in patients with reflux disease: a double-blind, cross-over study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 18(9), 883–890.
- Perdigão, C., Duarte, J. S., & Santos, A. (2010). Prevalência e caracterização da Hipercolesterolemia em Portugal. Estudo HIPÓCRATES. *Revista Factores de Risco*, 17(ABR-JUN), 12–19.
- Pereira, R. D. S. (2006). Regression of gastroesophageal reflux disease symptoms using dietary supplementation with melatonin, vitamins and aminoacids: Comparison with omeprazole. *Journal of Pineal Research*, 41(3), 195–200.
- Peschel, N., & Helfrich-Förster, C. (2011). Setting the clock - By nature: Circadian rhythm in the fruitfly *Drosophila melanogaster*. *FEBS Letters*, 585(10), 1435–1442.
- Philip-Joet, F., Bruguerolle, B., Parrel, M., Vestri, R., & Arnaud, A. (1988). [Time-related distribution of delayed-action theophylline in the treatment of chronic obstructive bronchopneumopathies]. *Presse Médicale (Paris, France : 1983)*, 17(5), 193–6.
- Pincus, D., Szeffler, S., Ackerson, L., & Martin, R. (1995). Chronotherapy of asthma with inhaled steroids: the effect of dosage timing on drug efficacy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 95(6), 1172–8.
- Plakogiannis, R., & Cohen, H. (2006). Optimal Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering-- Morning Versus Evening Statin Administration. *Annals of Pharmacotherapy*, 41(1), 106–110.
- Plakogiannis, R., Cohen, H., & Taft, D. (2005). Effects of morning versus evening administration of atorvastatin in patients with hyperlipidemia. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 62(23), 2491–2494.

PORDATA. (2015). *Óbitos por algumas causas de morte*.

Postma, D. S., Koëter, G. H., Keyzer, J. J., & Meurs, H. (1986). Influence of slow-release terbutaline on the circadian variation of catecholamines, histamine, and lung function in nonallergic patients with partly reversible airflow obstruction. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 77(3), 471–477.

Postma, D. S., Koëter, G. H., Mark, T. W., Reig, R. P., & Sluiter, H. J. (1985). The effects of oral slow-release terbutaline on the circadian variation in spirometry and arterial blood gas levels in patients with chronic airflow obstruction. *Chest*, 87(5), 653–657.

Pozo, D., Reiter, R. J., Calvo, J. R., & Guerrero, J. M. (1997). Inhibition of cerebellar nitric oxide synthase and cyclic GMP production by melatonin via complex formation with calmodulin. *Journal of Cellular Biochemistry*, 65(3), 430–442.

Prabhu, V., & Shivani, A. (2014). An Overview of History, Pathogenesis and Treatment of Perforated Peptic Ulcer Disease with Evaluation of Prognostic Scoring in Adults. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 4(1), 22–29.

Preitner, N., Damiola, F., Luis-Lopez-Molina, Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110, 251–260.

Prisant, L. M., Black, H. R., Messerli, F., & Weber, M. (2002). Chrono: a community-based hypertension trial of a chronotherapeutic formulation of verapamil. *American Journal of Therapeutics*, 9(6), 476–483.

Prisant, L. M., Weber, M., & Black, H. (2005). Chronotherapeutic oral drug absorption system verapamil is effective in reducing morning blood pressure in African Americans: a post hoc analysis of the chrono trial. *Journal of the National Medical Association*, 97(3), 377–383.

Qiu, Y., Chen, J., Zhu, J., & Yao, X. (2003). Differential effects of morning or evening dosing of amlodipine on circadian blood pressure and heart rate. *Cardiovascular Drugs and Therapy / Sponsored by the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy*, 17(4), 335–41.

Qiu, Y., Zhu, J., Tao, Q., Zheng, P., Chen, J., Hu, S., ... Yao, X. (2005). Captopril administered at night restores the diurnal blood pressure rhythm in adequately controlled, nondipping hypertensives. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 19(3), 189–195.

Raftery, E., Mann, S., BalaSubramanian, V., & Craig, M. (1982). Once-daily pindolol in hypertension: an ambulatory assessment. *American Heart Journal*, 104(2 Pt 2), 417–420.

Rajesh, P., & Rajasekhar, P. (2011). Chronotherapy studies of atorvastatin on antioxidant markers in cholesterol-fed rabbit models. *International Journal Pharm & Ind. Res*, 1(3), 251–260.

Ravindra, T., Lakshmi, N., & Ahuja, Y. (2006). Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer. *Indian J Med Sci*, 60(12), 523–535.

Reavey, M., Saner, H., Paccaud, F., & Marques-Vidal, P. (2013). Exploring the periodicity of cardiovascular events in Switzerland: Variation in deaths and hospitalizations across seasons, day of the week and hour of the day. *International Journal of Cardiology*.

- Refinetti, R. (2006). *Circadian Physiology* (2nd ed.). CRC Press.
- Reinberg, A. (1976). Advances in human chronopharmacology. *Chronobiologia*, 3(2), 151–166.
- Reinberg, A., & Halberg, F. (1971). Circadian Chronopharmacology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 455–492.
- Reinberg, A., Smolensky, M. H., D'Alonzo, G. E., & McGovern, J. P. (1988). Chronobiology and asthma. III. Timing corticotherapy to biological rhythms to optimize treatment goals. *The Journal of Asthma : Official Journal of the Association for the Care of Asthma*, 25(4), 219–48.
- Reiss, T. F., Chervinsky, P., Dockhorn, R. J., Shingo, S., Seidenberg, B., & Edwards, T. B. (1998). Montelukast, a once-daily leukotriene receptor antagonist, in the treatment of chronic asthma: a multicenter, randomized, double-blind trial. Montelukast Clinical Research Study Group. *Archives of Internal Medicine*, 158(11), 1213–20.
- Reiter, R. J. (1991). Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, 12(2), 151–180.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Leon, J., & Czarnocki, Z. (2003). Melatonin as an antioxidant: Biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochimica Polonica*, 50(4), 1129–1146.
- Reppert, S., & Weaver, D. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418, 935–941.
- Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Herrera, F., & Antolín, I. (2004). Regulation of antioxidant enzymes : a significant role for melatonin, 1–9.
- Roenneberg, T., & Foster, R. (1997). Twilight times: light and the circadian system. *Photochemistry and Photobiology*, 66(5), 549–561.
- Rohan, S., Parul, P., & Farhatjan, S. (2012). Chronotherapeutical approach: Circadian rhythm in human and its role in occurrence and severity of diseases. *Internation Journal of PharmTech Research*, 4(2), 765–777.
- Sack, R. L., Auckley, D., Auger, R. R., Carskadon, M. a, Wright, K. P., Vitiello, M. V, & Zhdanova, I. V. (2007). Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders. An American Academy of Sleep Medicine review. *Sleep*, 30(11), 1460–1483.
- Sahar, S., & Sassone-Corsi, P. (2007). Circadian clock and breast cancer: a molecular link. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 6(11), 1329–1331.
- Saini, S. (2014). Chronotherapy: A Review. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 4(3), 47–57.
- Saito, Y., Yoshida, S., Nakaya, N., Hata, Y., & Goto, Y. (1991). Comparison between morning and evening doses of simvastatin in hyperlipidemic subjects. A double-blind comparative study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 11(4), 816–826.
- Sancar, A., Lindsey-Boltz, L., Kang, T., Reardon, J., Lee, J., & Ozturk, N. (2010). Circadian Clock Control of the Cellular Response to DNA Damage. *FEBS Letters*, 584(12), 2618–2625.
- Sanchez-Barcelo, E., Mediavilla, M., Alonso-Gonzalez, C., & Reiter, R. (2012). Melatonin uses

- in oncology: breast cancer prevention and reduction of the side effects of chemotherapy and radiation. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 21(6), 819–831.
- Sato, M., Matsuo, T., Atmore, H., & Akashi, M. (2014). Possible contribution of chronobiology to cardiovascular health. *Frontiers in Physiology*.
- Sato, T., Yamada, R., Ukai, H., Baggs, J., Miraglia, L., Kobayashi, T., ... Hogenesch, J. (2006). Feedback repression is required for mammalian circadian clock function. *Nat Genet.*, 38(3), 312–319.
- Schachter, M. (2005). Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 19(1), 117–125.
- Scheiermann, C., Kunisaki, Y., & Frenette, P. (2013). Circadian control of the immune system. *Nat Rev Immunol*, 13(3), 190–198.
- Schroder, E. a, Lefta, M., Zhang, X., Bartos, D. C., Feng, H.-Z., Zhao, Y., ... Delisle, B. P. (2013). The cardiomyocyte molecular clock, regulation of *Scn5a*, and arrhythmia susceptibility. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 304(10), C954–65.
- Schwartz, J. R. L., & Roth, T. (2008). Neurophysiology of Sleep and Wakefulness: Basic Science and Clinical Implications. *Current Neuropharmacology*, 6(4), 367–378.
- Sephton, S. E., Lush, E., Dedert, E. a., Floyd, A. R., Rebholz, W. N., Dhabhar, F. S., ... Salmon, P. (2013). Diurnal cortisol rhythm as a predictor of lung cancer survival. *Brain, Behavior, and Immunity*, 30(SUPPL.), S163–S170.
- Sephton, S., Sapolsky, R., Kraemer, H., & Spiegel, D. (2000). Diurnal cortisol rhythm as a predictor of breast cancer survival. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(12).
- Siah, K., Wong, R., & Ho, K. (2014). Melatonin for the treatment of irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology*, 20(10), 2492.
- Sica, D., Neutel, J., Weber, M., & Manowitz, N. (2004). The antihypertensive efficacy and safety of a chronotherapeutic formulation of propranolol in patients with hypertension. *Journal of Clinical Hypertension*, 6(5), 231–241.
- Skene, D. J., & Arendt, J. (2006). Human circadian rhythms: physiological and therapeutic relevance of light and melatonin. *Annals of Clinical Biochemistry*, 43(Pt 5), 344–353.
- Smith, D. H. G., Neutel, J. M., & Weber, M. a. (2001). A new chronotherapeutic oral drug absorption system for verapamil optimizes blood pressure control in the morning. *American Journal of Hypertension*, 14(1), 14–19.
- Smolensky, M., Hermida, R., Ayala, D., Tiseo, R., & Portaluppi, F. (2010). Administration–time-dependent effects of blood pressure-lowering medications: basis for the chronotherapy of hypertension. *Blood Pressure Monitoring*, 15(4), 173–180.
- Smolensky, M., Lemmer, B., & Reinberg, A. (2007). Chronobiology and chronotherapy of allergic rhinitis and bronchial asthma. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 852–882.
- Smolensky, M., & Peppas, N. (2007). Chronobiology, drug delivery, and chronotherapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(9-10), 828–851.
- Smolensky, M., & Reinberg, A. (1976). The chronotherapy of corticosteroids: practical application of chronobiologic findings to nursing. *The Nursing Clinics of North America*, 11(4), 609–19.

- Song, G., Leng, P., Gwee, K., Moochhala, S., & Ho, K. (2005). Melatonin improves abdominal pain in irritable bowel syndrome patients who have sleep disturbances: a randomised, double blind, placebo controlled study. *Gut*, *54*(10), 1402–1407.
- Soto-Vega, E., Meza, I., Ramírez-Rodríguez, G., & Benitez-King, G. (2004). Melatonin stimulates calmodulin phosphorylation by protein kinase C. *Journal of Pineal Research*, *37*(2), 98–106.
- Spengler, C. M., & Shea, S. a. (2000). Endogenous circadian rhythm of pulmonary function in healthy humans. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *162*(3 Pt 1), 1038–1046.
- Spies, C., Straub, R., Cutolo, M., & Buttgereit, F. (2014). Circadian rhythms in rheumatology – a glucocorticoid perspective, *16*(Suppl 2).
- Srinivasan, V., Singh, J., Brzezinski, A., Zakaria, R., Shillcutt, S. D., & Brown, G. (2014). *Melatonin and Melatonergic Drugs in Clinical Practice*.
- Srinivasan, V., Spence, W., Pandi-Perumal, S., Trakht, I., & Cardinali, D. (2008). Therapeutic actions of melatonin in cancer: possible mechanisms. *Integrative Cancer Therapies*, *7*(3), 189–203.
- Stein, E. (2001). Results of phase I/II clinical trials with ezetimibe, a novel selective cholesterol absorption inhibitor. *European Heart Journal Supplements*, *3*(Suppl E), E11–E16.
- Steinijans, V. W., Trautmann, H., Johnson, E., & Beier, W. (1987). Theophylline steady-state pharmacokinetics: recent concepts and their application in chronotherapy of reactive airway diseases. *Chronobiology International*, *4*(3), 331–347.
- Stevens, R., Davis, S., Thomas, D., Anderson, L., & Wilson, B. (1992). Electric power, pineal function, and the risk of breast cancer. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *6*(3), 853–860.
- Stevens, R. G. (2009). Light-at-night, circadian disruption and breast cancer: Assessment of existing evidence. *International Journal of Epidemiology*, *38*(4), 963–970.
- Stranges, P., Drew, M., Rafferty, P., Shuster, J., & Brooks, D. (2014). Treatment of Hypertension With Chronotherapy: Is It Time of Drug Administration? *Annals of Pharmacotherapy*, *49*(3), 323–334.
- Straub, R., & Cutolo, M. (2007). Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: Implications for pathophysiology and therapeutic management. *Arthritis and Rheumatism*, *56*(2), 399–408.
- Straub, R., Paimela, L., Peltomaa, R., Schölmerich, J., & Leirisalo-Repo, M. (2002). Inadequately low serum levels of steroid hormones in relation to interleukin-6 and tumor necrosis factor in untreated patients with early rheumatoid arthritis and reactive arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, *46*(3), 654–62.
- Subramanian, P., Jayapalan, J. J., & Hashim, O. H. (2014). Chronotherapy: a noteworthy focal point in the treatment of cancer? *Biological Rhythm Research*, (July 2015), 1–21.
- Sulli, A., Maestroni, G., Villaggio, B., Hertens, E., Craviotto, C., Pizzorni, C., ... Cutolo, M. (2002). Melatonin serum levels in rheumatoid arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *966*, 276–283.
- Suzuki, K., & Aizawa, Y. (2011). Evaluation of dosing time-related anti-hypertensive efficacy of valsartan in patients with type 2 diabetes. *Clinical and Experimental Hypertension*,

33(1), 56–62.

- Suzuki, S., Toyabe, S., Moroda, T., Tada, T., Tsukahara, a, Iiai, T., ... Abo, T. (1997). Circadian rhythm of leucocytes and lymphocytes subsets and its possible correlation with the function of the autonomic nervous system. *Clinical and Experimental Immunology*, 110(3), 500–508.
- Svensson, P., de Faire, U., Sleight, P., Yusuf, S., & Ostergren, J. (2001). Comparative effects of ramipril on ambulatory and office blood pressures: a HOPE Substudy. *Hypertension*, 38(6), E28–E32.
- Tahara, Y., & Shibata, S. (2014). Chrono-biology, Chrono-pharmacology, and Chrono-nutrition. *Critical Review*, 124, 320–335.
- Takahashi, J. S. (2004). Finding new clock components: past and future. *Journal of Biological Rhythms*, 19(5), 339–347.
- Takeda, N., & Maemura, K. (2010). Cardiovascular disease, chronopharmacotherapy, and the molecular clock. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(9-10), 956–966.
- Takeda, N., & Maemura, K. (2010). Circadian clock and vascular disease. *Hypertension Research : Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, 33(7), 645–651.
- Takeda, N., & Maemura, K. (2011). Circadian clock and cardiovascular disease. *Journal of Cardiology*, 57(3), 249–256.
- Tamura, H., Nakamura, Y., Narimatsu, A., Yamagata, Y., Takasaki, A., Reiter, R. J., & Sugino, N. (2008). Melatonin treatment in peri- and postmenopausal women elevates serum high-density lipoprotein cholesterol levels without influencing total cholesterol levels. *Journal of Pineal Research*, 45(1), 101–105.
- Tanimura, N., Kusunose, N., Matsunaga, N., Koyanagi, S., & Ohdo, S. (2011). Aryl hydrocarbon receptor-mediated Cyp1a1 expression is modulated in a CLOCK-dependent circadian manner. *Toxicology*, 290(2-3), 204–208.
- Terzoli, E., Garufi, C., Zappalà, A. R., Vanni, B., Pugliese, P., Cappellini, G. A., ... Giannarelli, D. (2004). High-dose chronomodulated infusion of 5-fluorouracil (5-FU) and folinic acid (FA) (FF5-16) in advanced colorectal cancer patients. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 130, 445–452.
- Thomas, C., & Power, C. (2010). Shift work and risk factors for cardiovascular disease: A study at age 45 years in the 1958 British birth cohort. *European Journal of Epidemiology*, 25(5), 305–314.
- Thor, P. J., Krolczyk, G., Gil, K., Zurowski, D., & Nowak, L. (2007). Melatonin and serotonin effects on gastrointestinal motility. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 58, 97–103.
- Thresher, R., Vitaterna, M., Miyamoto, Y., Kazantsev, A., Hsu, D., Petit, C., ... Sancar, A. (1998). Role of mouse cryptochrome blue-light photoreceptor in circadian photoresponses. *Science (New York, N.Y.)*, 282(November), 1490–1494.
- To, H., Saito, T., Shigehiro, O., Higuchi, S., Fujimura, A., & Kobayashi, E. (2005). Doxorubicin Chronotherapy in Japanese Outpatients with Breast Cancer. *Drugs R D*, 6(2), 101–107.
- Tofler, G., Brezinski, D., Schafer, I., Czeisler, C., Rutherford, J., Willich, S., ... Muller, J. (1987). Concurrent morning increase in platelet aggregability and the risk of myocardial

- infarction and sudden cardiac death. *The New England Journal of Medicine*.
- Triqueneaux, G., Thenot, S., Kakizawa, T., Antoch, M., Safi, R., Takahashi, J. S., ... Laudet, V. (2004). The orphan receptor Rev-erba gene is a target of the circadian clock pacemaker. *Journal of Molecular Endocrinology*, 33(3), 585–608.
- Tsimakouridze, E., Alibhai, F., & Martino, T. (2015). Therapeutic applications of circadian rhythms for the cardiovascular system. *Frontiers in Pharmacology*, 6(April), 1–10.
- Varani, K., Portaluppi, F., Gessi, S., Merighi, S., Ongini, E., Belardinelli, L., & Borea, P. a. (2000). Dose and time effects of caffeine intake on human platelet adenosine A(2A) receptors : functional and biochemical aspects. *Circulation*, 102(3), 285–289.
- Vaughn, B., Rotolo, S., & Roth, H. (2014). Circadian rhythm and sleep influences on digestive physiology and disorders. *Chronophysiology and Therapy*, 4, 67–77.
- Verdecchia, P., Porcellati, C., Schillaci, G., Borgioni, C., Ciucci, A., Battistelli, M., ... Reboldi, G. (1994). Ambulatory Blood Pressure - An Independent Predictor of Prognosis in Essential Hypertension. *Hypertension*, 24(6).
- Vgontzas, N., Pejovic, S., Zoumakis, E., Lin, H. M., Bixler, E. O., Basta, M., ... Chrousos, G. (2007). Daytime napping after a night of sleep loss decreases sleepiness, improves performance, and causes beneficial changes in cortisol and interleukin-6 secretion. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 292(1), E253–E261.
- Vijayalaxmi, C., Thomas, C., Reiter, R., & Herman, T. (2002). Melatonin: From Basic Research to Cancer Treatment Clinics. *Journal of Clinical Oncology*, 20(10), 2575–2601.
- Wagstaff, A. J. (2006). Valsartan/hydrochlorothiazide: a review of its use in the management of hypertension. *Drugs*, 66(14), 1881–901.
- Wallace, A., Chinn, D., & Rubin, G. (2003). Taking simvastatin in the morning compared with in the evening: randomised controlled trial. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 327(7418), 788.
- Wang, C., Zhang, J., Liu, X., Li, C. C., Ye, Z. C., Peng, H., ... Lou, T. (2013). Effect of Valsartan With Bedtime Dosing on Chronic Kidney Disease Patients With Nondipping Blood Pressure Pattern. *Journal of Clinical Hypertension*, 15(1), 48–54.
- Wang, P., Qi, M., Zhong, D., & Fang, L. (2003). Pharmacokinetics of a new sustained-release formulation of theophylline sodium glycerinate in healthy subjects with a new asymmetric dosage regimen. *Biomedical Chromatography*, 17(1), 58–61.
- Weinrib, A. Z., Sephton, S. E., DeGeest, K., Penedo, F., Bender, D., Zimmerman, B., ... Lutgendorf, S. K. (2010). Diurnal cortisol dysregulation, functional disability, and depression in women with ovarian cancer. *Cancer*, 116(18), 4410–4419.
- Wells, B., Dipiro, J., Schwinghammer, T., & Dipiro, C. (2009). *Pharmacotherapy Handbook. Pharmacotherapy Handbook (7th ed.)*. McGraw-Hill.
- Welsh, D. K., Yoo, S. H., Liu, A. C., Takahashi, J. S., & Kay, S. a. (2004). Bioluminescence imaging of individual fibroblasts reveals persistent, independently phased circadian rhythms of clock gene expression. *Current Biology*, 14(24), 2289–2295.
- Westgate, E. J., Cheng, Y., Reilly, D. F., Price, T. S., Walisser, J. a., Bradfield, C. a., & FitzGerald, G. a. (2008). Genetic components of the circadian clock regulate thrombogenesis in vivo. *Circulation*, 117(16), 2087–2095.

- Xie, Z., Su, W., Liu, S., Zhao, G., Esser, K., Schroder, E. a, ... Stauss, H. M. (2015). Smooth-muscle BMAL1 participates in blood pressure circadian rhythm regulation, *125*(1).
- Yang, K., Zhao, N., Zhao, D., Chen, D., & Li, Y. (2013). The drug efficacy and adverse reactions in a mouse model of oral squamous cell carcinoma treated with oxaliplatin at different time points during a day. *Drug Design, Development and Therapy*, *7*, 511–517.
- Yi, Y., Kim, H., Jo, S., Kim, S., Song, Y., Chung, W., ... Oh, K. (2014). Comparison of the Efficacy and Safety Profile of Morning Administration of Controlled-release Simvastatin Versus Evening Administration of Immediate-release Simvastatin in Chronic Kidney Disease Patients With Dyslipidemia. *Clinical Therapeutics*, *36*(8), 1182–1190.
- Yoo, S.-H., Yamazaki, S., Lowrey, P. L., Shimomura, K., Ko, C. H., Buhr, E. D., ... Takahashi, J. S. (2004). PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*, 5339–5346.
- Youan, B.-B. (2010). Chronopharmaceutical drug delivery systems: Hurdles, hype or hope? *Advanced Drug Delivery Reviews*, *62*(9-10), 898–903.
- Young, M. E., Razeghi, P., & Taegtmeyer, H. (2001). Clock genes in the heart: characterization and attenuation with hypertrophy. *Circulation Research*, *88*(11), 1142–1150.
- Yusuf, S., Sleight, P., Pogue, J., Bosch, J., Davies, R., & Dagenais, G. (2000). Effects of an Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitor, Ramipril, on Cardiovascular Events in High-Risk Patients. *The New England Journal of Medicine*, *342*(5), 145–153.
- Zeng, Z.-L., Sun, J., Guo, L., Li, S., Wu, M., Qiu, F., ... Xian, L. (2005). Circadian rhythm in dihydropyrimidine dehydrogenase activity and reduced glutathione content in peripheral blood of nasopharyngeal carcinoma patients. *Chronobiology International*, *22*(4), 741–754.
- Zhang, R., Lahens, N. F., Ballance, H. I., Hughes, M. E., & Hogenesch, J. B. (2014). A circadian gene expression atlas in mammals: Implications for biology and medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, (642).
- Zhao, P., Ping, X., Chaomin, W., & Zhengrong, W. (2011). Evening versus morning dosing regimen drug therapy for hypertension. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (10), 2011.
- Zheng, B., Albrecht, U., Kaasik, K., Sage, M., Lu, W., Vaishnav, S., ... Lee, C. C. (2001). Nonredundant roles of the mPer1 and mPer2 genes in the mammalian circadian clock. *Cell*, *105*, 683–694.