

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento

Débora Barroggi Constantino

INVESTIGAÇÃO DE PARÂMETROS CIRCADIANOS ASSOCIADOS A
ALTERAÇÕES METABÓLICAS E OBESIDADE

Porto Alegre, 2021

Débora Barrogi Constantino

INVESTIGAÇÃO DE PARÂMETROS CIRCADIANOS ASSOCIADOS A
ALTERAÇÕES METABÓLICAS E OBESIDADE

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento.

Orientadora: Professora Doutora Maria Paz Loayza Hidalgo

Coorientadora: Doutora Luísa Klaus Pilz

Porto Alegre, 2021

CIP - Catalogação na Publicação

Constantino, Débora
Investigação de Parâmetros Circadianos Associados a
Alterações Metabólicas e Obesidade / Débora
Constantino. -- 2021.
105 f.
Orientadora: Maria Paz Loayza Hidalgo.

Coorientadora: Luísa Klaus Pilz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do
Comportamento, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Ritmos Circadianos. 2. Metabolismo. 3.
Obesidade. 4. Urbanização. I. Loayza Hidalgo, Maria
Paz, orient. II. Klaus Pilz, Luísa, coorient. III.
Título.

Agradecimentos

À minha mãe, Artemise, pessoa mais importante da minha vida, agradeço por nunca medir esforços para apoiar meus sonhos, por me amparar, por me dar clareza e por ser o maior exemplo de dedicação e amor que eu poderia ter. Ao meu pai, Marcos, por todo apoio e incentivo que sempre recebi e por sempre demonstrar seu orgulho. À Laura, Sylvia, avó Magali por todo companheirismo, paciência e carinho comigo.

À minha orientadora Maria Paz Loayza Hidalgo, por ter me incentivado a acreditar na minha capacidade, por todas as oportunidades e dedicação ao grupo. À minha coorientadora Luísa Klaus Pilz, agradeço por toda a paciência, pela disponibilidade para me ensinar, por confiar em mim e por ter me apresentado caminhos lindos na ciência. Foi um prazer enorme trabalhar contigo!

A todos os colegas do Laboratório de Cronobiologia e Sono que, mesmo fisicamente distantes durante esse período, sempre estiveram presentes, tornando minhas rotinas mais leves e contribuindo imensamente para minha formação. Agradeço especialmente ao André, Nicoli, Mel, Gui e Ju Freitas por sempre estarem sempre “ali” quando precisei. O apoio e companhia de vocês é extremamente importante para mim.

À Laura, Carol e Jé pela amizade de mais de 10 anos. Sou muito grata por poder compartilhar minha vida com vocês há tanto tempo e por toda sinceridade, carinho e amor que temos umas com as outras. À Bruna, Amanda, Júlio e Brenda por terem me acompanhado desde a graduação, dividido comigo todos os momentos bons e ruins que envolvem fazer uma pós-graduação e pelas conversas diárias que sempre melhoram o dia! Morro de saudades de todos. Ao Carlos, que foi uma grata surpresa na minha vida nos últimos tempos, por me querer sempre bem e ser um lugar de calma, conforto e carinho quando eu mais preciso.

À equipe da Unidade de Experimentação Animal do HCPA, por todo ensinamento e apoio durante os experimentos. Ao PPG em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da UFRGS por possibilitar a realização do meu mestrado.

A todos amigos, colegas e familiares que não foram contemplados aqui, mas que contribuíram de alguma forma para a minha formação e fizeram parte da minha vida, agradeço a tudo que fizeram por mim. Muito obrigada!

RESUMO

Relevância: Oscilações comportamentais e fisiológicas diárias são uma característica fundamental da biologia de mamíferos. Para permitir que estes ritmos estejam sincronizados com o ambiente externo, mamíferos desenvolveram um relógio circadiano endógeno que responde a pistas ambientais, como o ciclo claro-escuro e os horários de alimentação. No entanto, com a adoção de um estilo de vida moderno, caracterizado por exposição à luz inadequada, jetlag social, hábitos alimentares irregulares, sedentarismo e estresse, a organização dos ritmos circadianos tem sido ameaçada. Estas mudanças ambientais contribuem para o desenvolvimento de diversas patologias, incluindo depressão, obesidade, doenças cardiovasculares e câncer.

Objetivos: avaliar a influência de diferentes padrões de iluminação sobre a fisiologia e metabolismo de ratas Wistar. Além disso, identificar associações entre padrões de ritmos de atividade-reposo, exposição à luz e urbanização com índice de massa corporal em comunidades rurais e urbanas.

Métodos: Estudo 1: ratas Wistar foram alocadas desde a gestação em quatro padrões de iluminação: combinação de cores RGB (vermelho, *red*; verde, *green*; azul, *blue*) que variam sua composição espectral ao longo do dia (RGB-v; N = 14), RGB durante o fotoperíodo com uma temperatura de cor fixa (RGB-f; N = 13), escuro constante (DD; N = 13) e claro constante (LL; N = 15). Os experimentos foram realizados em fêmeas desde o dia pós-natal (PND) 22 ao 50. Peso corporal, abertura vaginal, ciclicidade estral e parâmetros metabólicos séricos foram mensurados. Estudo 2: Foram coletados dados antropométricos de moradores de comunidades quilombolas rurais e urbanas para calcular o índice de massa corporal, que foi categorizado em: ≥ 18.5 kg/m² to < 25 kg/m² = peso normal; ≥ 25 kg/m² to < 30 kg/m² = sobrepeso; ≥ 30 kg/m² = obesidade. Os participantes também foram questionados a respeito das suas rotinas de sono e exposição à luz utilizando o Questionário de Cronotipos de Munique (n = 244). Por fim, foram analisados dados de actimetria de 121 participantes com 7 dias de registros consecutivos.

Resultados: Estudo 1: o grupo RGB-f apresentou o primeiro ciclo estral completo mais cedo quando comparado ao grupo RGB-v. Fêmeas expostas ao claro constante apresentaram peso corporal mais baixo do PND 33 ao 47 quando comparadas ao restante dos grupos. Foram observados níveis plasmáticos de triglicerídeos maiores no grupo exposto ao escuro constante, quando comparado aos grupos RGB-v e RGB-f. O colesterol total foi mais baixo no

grupo RGB-v em relação aos outros grupos. Por fim, a gordura visceral foi maior no grupo RGB-f quando comparado ao grupo LL. Estudo 2: Viver em áreas mais urbanizadas e ter maior variabilidade nos ritmos de atividade-repouso foram associados a maior risco para sobrepeso/obesidade, controlando para sexo e idade. **Conclusões:** Este trabalho contribui para o conhecimento sobre o papel da exposição à luz e das características dos ritmos circadianos sobre o desenvolvimento de alterações metabólicas e obesidade. Além disso, estes resultados apontam para novas estratégias na prevenção da obesidade e promoção de perfis metabólicos saudáveis. **Apoio Financeiro:** FIPE/HCPA, CNPq, CAPES.

Palavras-chave: Ritmos Circadianos; Metabolismo; Obesidade; Exposição à Luz.

ABSTRACT

Relevance: Daily behavioral and physiological fluctuations are a fundamental feature of the mammalian biology. For synchronizing these rhythms with the external environment, mammals have developed an endogenous circadian clock that responds to environmental cues such as the light-dark cycle and feeding schedules. However, with the adoption of modern lifestyles, characterized by inadequate light exposure, social jetlag, irregular eating habits, sedentary lifestyle and stress, the organization of circadian rhythms has been threatened. These environmental changes contribute to the development of several pathologies, including depression, obesity, cardiovascular disease and cancer.

Objectives: to evaluate the influence of different lighting patterns on the physiology and metabolism of Wistar rats. Furthermore, to identify associations between patterns of activity-rest rhythms, light exposure and urbanization with body mass index in rural and urban communities.

Methods: Study 1: Female Wistar rats were allocated from gestation into four lighting patterns: RGB color combination (red, red; green, green; blue, blue) varying their spectral composition throughout the day (RGB-v; N = 14), RGB during the photoperiod with a fixed color temperature (RGB-f; N = 13), constant dark (DD; N = 13) and constant light (LL; N = 15). The experiments were performed on females from postnatal day (PND) 22 to 50. Body weight, vaginal opening, estrous cyclicity and serum metabolic parameters were measured. Study 2: Anthropometric data were collected from residents of rural and urban quilombolas communities to calculate the body mass index, which was then categorized into: $\geq 18.5 \text{ kg/m}^2$ to $< 25 \text{ kg/m}^2$ = normal weight; $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ to $< 30 \text{ kg/m}^2$ = overweight; $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ = obesity. Participants were also asked about their sleep routines and light exposure using the Munich Chronotype Questionnaire (n = 244). Finally, actimetry data from 121 participants with 7 days of consecutive records were analyzed.

Results: Study 1: the RGB-f group presented the first complete estrous cycle earlier when compared to the RGB-v group. Females exposed to constant light had lower body weight from PND 33 to 47 when compared to the rest of the groups. Higher plasma triglyceride levels were observed in the group exposed to constant dark, when compared to the RGB-v and RGB-f groups. Total cholesterol was lower in the RGB-v group than in the other groups. Finally, visceral fat was higher in the RGB-f group when compared to the LL group. Study 2: Living in more urbanized areas and having higher variability in activity-rest rhythms were associated with a higher risk of overweight/obesity, controlling for sex and age.

Conclusions: This work contributes to the knowledge about the role of

light exposure and the circadian rhythms features on the development of metabolic alterations and obesity. Furthermore, these results point to new strategies aiming to prevent obesity and promote healthy metabolic profiles. **Financial Support:** FIPE/HCPA, CNPq, CAPES.

Keywords: Circadian Rhythms; Metabolism; Obesity; Light Exposure.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES DA REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1. Representação dos ritmos circadianos de alguns processos fisiológicos e bioquímicos (página 15). Adaptada de Skene; Arendt, 2006.

Figura 2. Corte coronal do núcleo supraquiasmático de um roedor, mostrando a região ventral e a região dorsal (página 16). Adaptado de Karatsoreos et al, 2004.

Figura 3. Componentes moleculares do relógio circadiano de mamíferos (página 17). Adaptado de Masri; Sassone-Corsi, 2018.

Figura 4: Distribuição de cronotipos na população geral (página 19). Adaptado de Roenneberg et al.

Figura 5: Curva de fase-resposta (PRC) da atividade motora de um roedor (página 20). Adaptado de Moore-Ede, M. C., Sulzman, F. M., & Fuller, C. A. (1982). *The clocks that time us: Physiology of the circadian timing system*. Cambridge, MA: Harvard University Press.

Figura 6: Sincronização do sistema circadiano pela luz e pela alimentação (página 21). Adaptado de Laermans; Depoortere, 2016.

Figura 7: Regulação da síntese de melatonina pela glândula pineal (página 23). Adaptado de Shinari; Loius, 2009.

Figura 8: Relógios circadianos regulam o metabolismo de glicose, sensibilidade à insulina e secreção de insulina (página 25). Adaptado de Stenvers et al., 2018.

Figura 9: Esquema das alterações metabólicas e circadianas encontradas em roedores submetidos a diferentes protocolos de iluminação (página 31). Adaptado de Plano et al., 2017.

Figura 10: Representação do impacto da luz à noite e de padrões alterados de alimentação nos ritmos circadianos e metabolismo de roedores noturnos e humanos (página 32). Adaptado de Plano et al., 2017.

LISTA DE ABREVIATURAS EM PORTUGUÊS DA REVISÃO DA LITERATURA

GSK-3 β – glicogênio sintase quinase 3 beta

HPG – hipotálamo-pituitária-gônadas

IMC – índice de massa corporal

LAN – luz à noite

NSQ – núcleo supraquiasmático

SNA – sistema nervoso autônomo

LISTA DE ABREVIATURAS EM INGLÊS DA REVISÃO DA LITERATURA

AANAT - Aralkylamine N-acetyltransferase

BMAL - Brain and muscle ARNT-like protein

CLOCK - Circadian Locomotor Ouptup Cycles Kaput

CRY - Cryptochrome protein

FSH - Follicle stimulating hormone

GnRH - Gonadotropin-releasing hormone

HIOMT - Hydroxyindol-O-metiltransferase

ipRGC - Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells

LH - Luteinizing hormone

PER - Period protein

PRC – Phase response curve

ROR - Retinoic acid receptor-related orphan receptors

TRE – Time restricted eating

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 O SISTEMA CIRCADIANO E A REGULAÇÃO DOS RITMOS BIOLÓGICOS	15
2.2 REGULAÇÃO CIRCADIANA DO SISTEMA REPRODUTIVO.....	24
2.3 REGULAÇÃO CIRCADIANA DO METABOLISMO.....	25
2.4 CRONODISRUPÇÃO E METABOLISMO	29
3. JUSTIFICATIVA	35
4. HIPÓTESE	Erro! Indicador não definido.
5. OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
5.1 OBJETIVOS GERAIS.....	Erro! Indicador não definido.
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS – ARTIGO 1	Erro! Indicador não definido.
5.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS – ARTIGO 2	Erro! Indicador não definido.
6. ARTIGO 1	Erro! Indicador não definido.
7. ARTIGO 2	Erro! Indicador não definido.
8. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA .	Erro! Indicador não definido.
ANEXO A - Carta de aprovação do projeto pela CEUA/HCPA referente ao Artigo 1 1	Erro! Indicador não definido.
ANEXO B – Comprovante de recebimento do Artigo 1 pela revista <i>Physiology and Behavior</i>	Erro! Indicador não definido.

1. INTRODUÇÃO

Durante os últimos 3 bilhões de anos, o sistema circadiano, nome dado à variação nas funções biológicas de diversos seres vivos, evoluiu na presença de luz natural e escuridão. O sucesso evolutivo depende de duas atribuições: prever mudanças regulares que se repetem no ambiente e responder e se adaptar a essas mudanças para garantir a sobrevivência (Bell-Pedersen et al., 2005). Assim, nossos ancestrais recebiam fortes pistas ambientais para sincronizar seus ritmos endógenos e organizar suas rotinas de acordo com as flutuações de fatores externos (ciclo claro-escuro, horários de alimentação e exercício físico). Esta sincronização é essencial para manter a saúde e um bom funcionamento das funções fisiológicas do corpo (Duffy; Czeisler, 2010). Desde a invenção da luz elétrica, há pouco mais de 100 anos atrás, seguida pela invenção da televisão, da Internet e de tecnologias relacionadas, a forma como o ser humano interage com a luz se transformou drasticamente.

Na sociedade moderna, a maioria das pessoas passa a maior parte do tempo em ambientes fechados, expostas a luzes artificiais de baixa intensidade durante o dia e ausência de escuridão durante a noite. Além disso, as sociedades industrializadas também se caracterizam pelo maior consumo de cafeína, maior acesso a alimentos, uso rotineiro de despertadores, agendas de trabalho noturnas (Touitou et al., 2017). Consequentemente, a força das pistas externas que sincronizam nossos ritmos é reduzida e o relógio circadiano da maioria das pessoas sofre mudanças de fase, tornando-as mais vespertinas, enquanto as agendas de trabalho se mantêm similares (Roenneberg; Merrow, 2016).

Em condições naturais, os ritmos endógenos são sincronizados com as variações de fatores externos (ciclo claro-escuro, horário de alimentação e rotinas sociais). No entanto, sob rotinas sociais que vão contra o relógio endógeno, a sincronização dos ritmos internos é afetada, podendo causar prejuízos à saúde (Albrecht; Rippeger, 2018). De fato, diversos estudos mostram que a cronodisrupção, isto é, o estado de desalinhamento entre ritmos circadianos internos e pistas externas, está associado a uma série de doenças, como depressão, diabetes, obesidade, doenças neurodegenerativas e câncer (Rüger; Scheer, 2009). Ainda não se sabe quais os mecanismos por trás da relação entre cronodisrupção e ganho de peso, mas diversos estudos experimentais e epidemiológicos demonstram que exposição irregular à luz e padrões alterados nos ritmos de atividade-reposo associam-se a piores desfechos metabólicos (Rybnikova et al., 2016; Froy, 2012). Deste modo,

destaca-se a importância de entender como a exposição à luz e o estilo de vida de centros urbanos impactam a fisiologia e o metabolismo, de modo a auxiliar na busca por estratégias que busquem prevenir o aumento nas taxas de obesidade e doenças metabólicas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O SISTEMA CIRCADIANO E A REGULAÇÃO DOS RITMOS BIOLÓGICOS

A rotação da Terra em torno do seu próprio eixo causa alterações cíclicas e previsíveis na luz e na temperatura de ambientes naturais. Como resposta adaptativa a estas mudanças dinâmicas, a seleção natural favoreceu a evolução de organismos capazes de antecipar as mudanças ambientais diárias e, assim, adaptar o seu comportamento e a sua fisiologia para os horários apropriados do dia (Panda et al., 2002). A temperatura corporal, o fluxo sanguíneo, a produção de urina, os níveis hormonais, as taxas metabólicas e o ciclo sono-vigília são exemplos de processos fisiológicos e bioquímicos que apresentam flutuações, isto é, elevam-se e declinam-se de acordo com os horários do dia (Aschoff, 1981; Skene; Arendt, 2006) (**Figura 1**). Todos estes ritmos são orquestrados por uma organização temporal endógena, conhecida como sistema circadiano (do Latim *circa* = “cerca de” e *diem* = “dia”), que está presente em praticamente todas as formas de vida; desde bactérias a plantas, invertebrados e mamíferos. Os ritmos circadianos são os mais estudados na literatura, embora existam outros ritmos na natureza que se repetem com um ciclo maior de 24 horas, os infradianos, enquanto outros se repetem com um ciclo menor, os ultradianos (Laje et al., 2018).

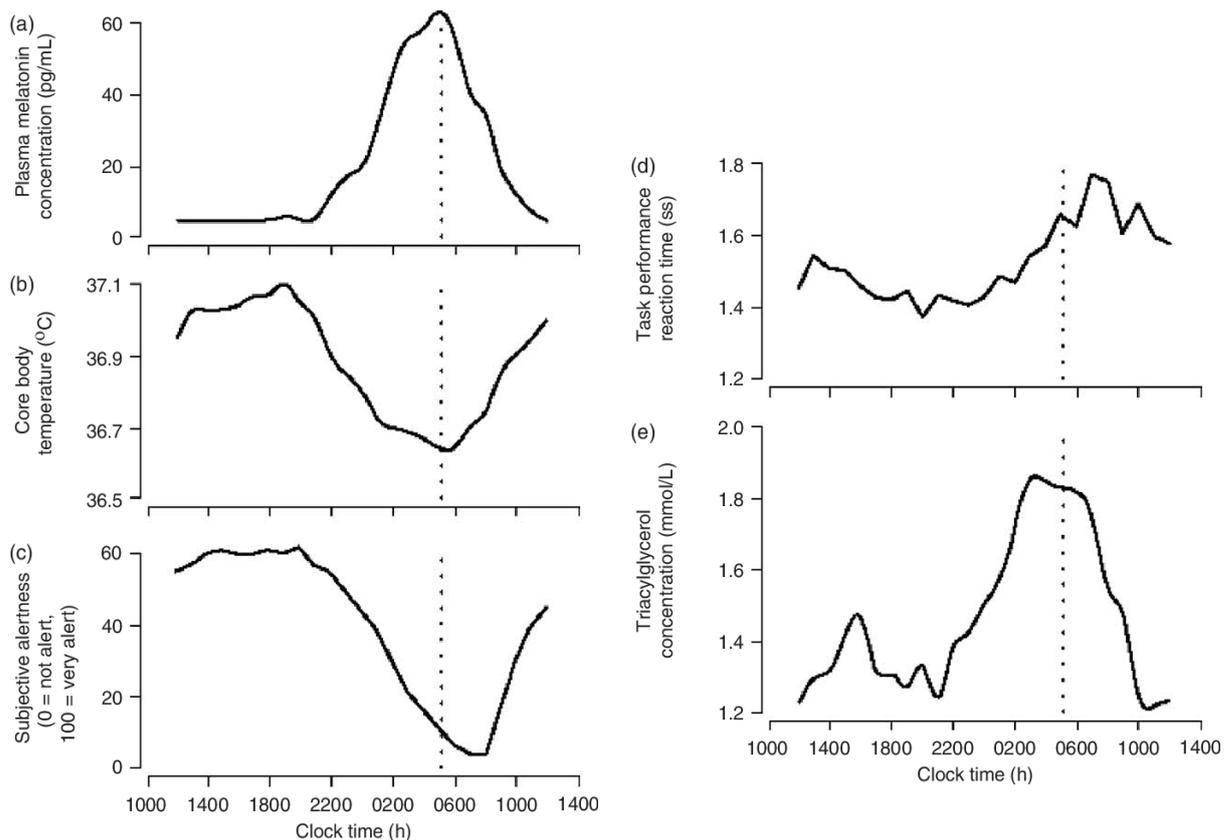


Figura 1: Representação dos ritmos circadianos de melatonina plasmática (a), temperatura corporal (b), estado de alerta subjetivo (c), tempo de reação no desempenho de tarefa (d) e concentração de triacilgliceróis (e). Em condições normais, estes ritmos são caracterizados por um horário de pico e nadir em um intervalo de tempo definido (relação de fase) entre os diferentes ritmos. Adaptada de Skene; Arendt, 2006.

Inicialmente, o sistema circadiano era visto como uma capacidade difusa de medição do tempo do organismo como um todo. A partir de 1960, Pittendrigh divulgou o conceito de que existe um oscilador sensível à luz capaz de servir como um “marcapasso” do organismo (Saunders, 2016). A partir de então, começou-se uma investigação, por meio de experimentos com lesões cerebrais em roedores, de estruturas que poderiam ser responsáveis por sincronizar as funções fisiológicas. Estes experimentos levaram a identificação do núcleo supraquiasmático (NSQ), estrutura composta por um grupo de neurônios especializados e localizada no hipotálamo anterior, logo acima do quiasma óptico (Stephan; Zucker, 1972) (**Figura 2**). O papel desta estrutura foi demonstrado quando neurofisiologistas submeteram roedores à lesão cirúrgica deste núcleo e registraram sua atividade locomotora. Como resultado, detectou-se o desaparecimento da ritmicidade, ou seja, os momentos de atividade locomotora tornaram-se aleatórios. Os

mesmos resultados são obtidos para outras funções circadianas além da atividade locomotora; ritmos endócrinos também são abolidos (Moore; Eichler, 1972). Desta forma, concluiu-se que o núcleo supraquiasmático é o local de regulação primária da ritmicidade circadiana, conferindo periodicidade às diversas funções fisiológicas e comportamentais dos mamíferos.

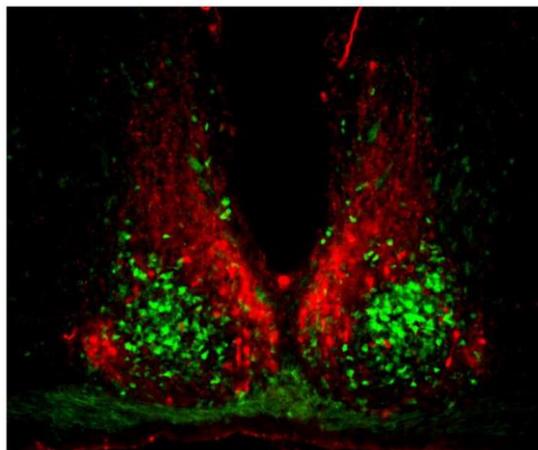


Figura 2: Corte coronal do núcleo supraquiasmático de um roedor, mostrando a região ventral (em verde) e a região dorsal (em vermelho). Adaptado de Karatsoreos et al, 2004.

A regulação do sistema circadiano a nível molecular é bem conhecida e seu esclarecimento rendeu o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 2017 para três pesquisadores da área (The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2017. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2021. Wed. 28 Jul 2021. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/summary/>). A maquinaria circadiana dos mamíferos é controlada por dois ‘*loops de feedback*’ (alças de retroalimentação) positivos e negativos que interagem a nível de transcrição gênica, tradução e pós-tradução (**Figura 3**). Estes *loops* consistem em proteínas que estimulam ou inibem a sua própria síntese a partir da sua interação com os genes-relógio. Foram identificados 14 genes centrais do relógio circadiano de mamíferos, pertencentes às famílias *Per*, *Cry*, *Bmal*, *Clock*, *Ror* e *Rev-Erb* (Ye et al., 2018). As proteínas CLOCK e BMAL (sintetizadas a partir dos genes *Clock* e *Bmal*) associam-se como heterodímeros e ativam a síntese de duas famílias de proteínas PER e CRY. Estas últimas são reguladores negativos, que inibem a sua própria síntese a partir dos genes *Per* (*Per1*, *Per2*, *Per3*) e *Cry* (*Cry 1*, *Cry 2*). A síntese das proteínas PER e CRY só reinicia (sob a influência de BMAL e CLOCK) quando seus níveis intracelulares são baixos o suficiente, ou seja, após

a degradação destas proteínas. BMAL1 e CLOCK também promovem a transcrição dos genes precursores da proteína REV-ERB, que inibe a transcrição do gene *Bmal1* (Eide et al., 2005; Ko; Takahashi, 2006; He et al., 2016). Estes eventos moleculares são regulados por uma série de mecanismos. As proteínas PER e CRY são fosforiladas por várias enzimas, como por exemplo a GSK-3B (Glicogênio sintase quinase – 3 beta), o que influencia sua estabilidade e sua taxa de entrada no núcleo (Hirota et al., 2008). Estes *loops* ocorrem de forma concomitante produzindo oscilações com período de 24 horas (Balsalobre et al, 1998).

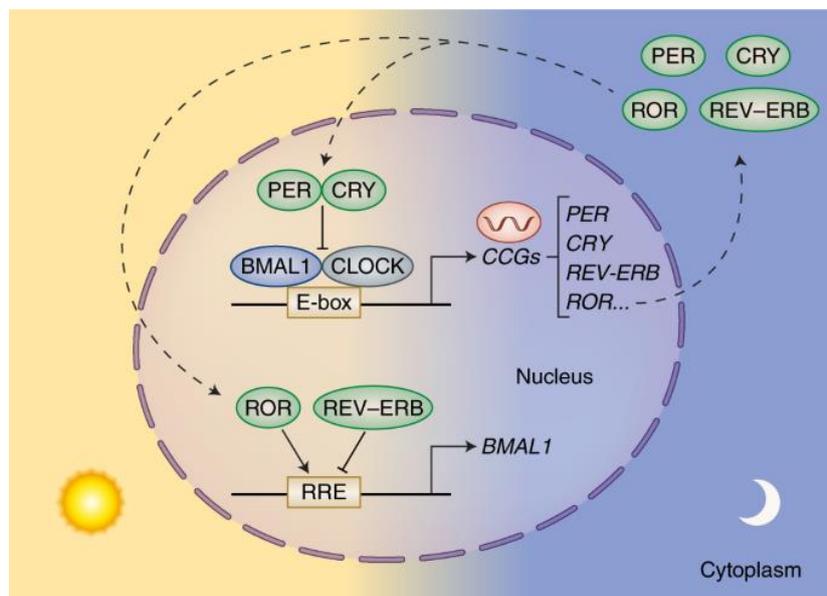


Figura 3: Componentes moleculares do relógio circadiano de mamíferos e regulação da ritmicidade pelos ‘*loops de feedback*’ de transcrição e tradução dos genes do relógio dentro de um período de 24 horas. Adaptado de Masri; Sassone-Corsi, 2018.

A sincronia entre o relógio interno e fatores ambientais externos é fundamental para a sobrevivência e bem-estar dos animais. Para isso, as células osciladoras do núcleo supraquiasmático devem receber sinalização de células que detectam as variações ambientais para integrar esta informação e enviar sinais apropriados aos tecidos (Morse; Sassone-Corsi, 2002). Assim, pela ação de vias de sinalização de entrada (aférentes), marcapassos e vias de sinalização de saída (eferentes), os relógios biológicos são ajustáveis ao ambiente. Estes são os três componentes principais do sistema circadiano que permitem a operação de funções e comportamentos em ritmos sincronizados com os ciclos externos (Dibner et al., 2010). Os sinais ou pistas provenientes do ambiente são conhecidos como *zeitgebers* (do alemão “doador de tempo”).

A principal pista responsável pela sincronização do sistema circadiano de mamíferos é a luz. Estes recebem informação luminosa principalmente pela retina, onde as células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis (ipRGCs) detectam mudanças de luminosidade do ambiente através de um pigmento fotossensível, chamado melanopsina. A luz é captada pela melanopsina das ipRGCs, cujos axônios (excitatórios) estendem-se até o NSQ, via trato retino-hipotalâmico, e ativam os neurônios do NSQ (Berson et al., 2002; Kuse et al., 2014). Estes, portanto, aumentam sua taxa de disparo durante o dia e diminuem durante a noite (Welsh et al., 1995). Por fim, esta informação é transmitida, via axônios eferentes que emergem do NSQ, para diversas regiões do cérebro, incluindo a área pré-óptica e o núcleo paraventricular do hipotálamo e, via secreção de neuropeptídeos e sinalização humoral, para osciladores presentes em diversos órgãos periféricos (Buijs et al., 2003; Hastings et al., 2003).

Para terem valor adaptativo, os relógios endógenos precisam ser sincronizados aos dias externos, uma vez que o período circadiano intrínseco pode ser de *cerca de* 24 horas, sendo o da maioria das pessoas um pouco mais longo (aproximadamente 11 minutos) (Czeisler et al., 1999). Dependendo do período endógeno e do ciclo claro-escuro externo, a sincronização aos ciclos de 24 horas pode produzir diferentes relações de fase entre relógio endógeno e tempo externo, ou seja, diferentes relações temporais do indivíduo com o *zeitgeber* – ciclo claro-escuro. Esta variabilidade de relações de fase também descreve as diferenças interindividuais nos horários de dormir e acordar e caracteriza o que se chama de cronotipo (Morrow et al., 2003). Os cronotipos variam amplamente dentro da população, criando uma distribuição que varia de cronotipos matutinos extremos até cronotipos vespertinos extremos, com a maioria da população localizada entre estes extremos (**Figura 4**). Os fatores que produzem estas diferenças interindividuais são polimorfismos genéticos em genes do relógio, idade e pistas ambientais, especialmente exposição à luz (Roenneberg; Morrow, 2016).

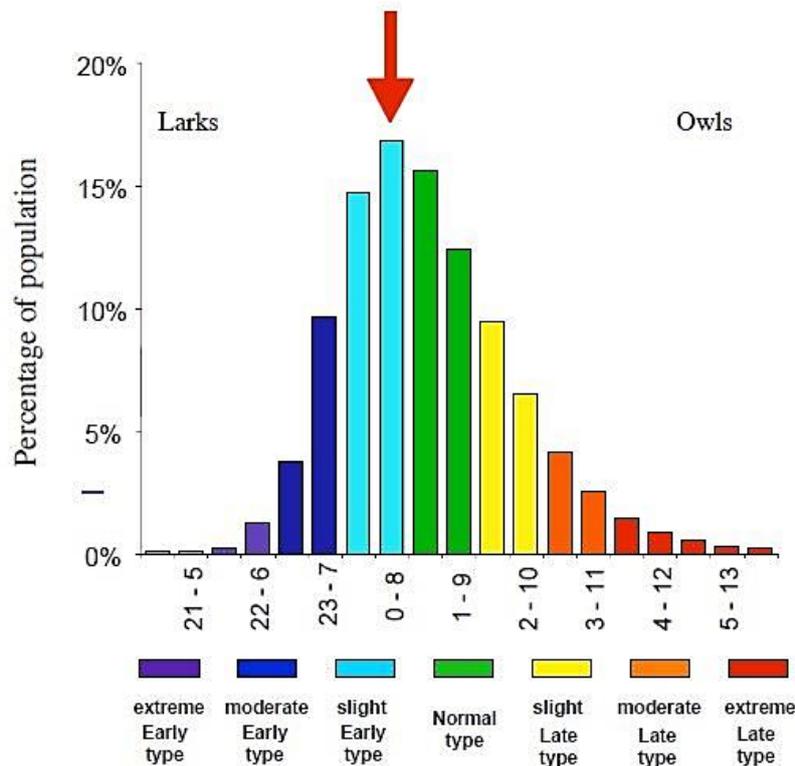


Figura 4: Distribuição de cronotipos na população geral. Existem poucas pessoas que são extremamente matutinas ou extremamente vespertinas. A seta vermelha indica onde a maior parte da população se encontra: entre os extremos e com um cronotipo intermediário. Este grupo dorme, em média, das 00:00 às 8h. Adaptado de Roenneberg et al.

Estudos sobre os efeitos da luz no sistema circadiano de insetos, plantas e animais demonstraram que o momento de um estímulo luminoso possui uma influência importante na resposta das atividades rítmicas a este estímulo (De Coursey, 1960; Pittendrigh, 1960). A curva de fase-resposta (PRC, do inglês *phase response curve*) é uma ferramenta da Cronobiologia que descreve a magnitude e a direção das mudanças de fase dos ritmos circadianos conforme o horário de exposição a um *zeitgeber* (Pittendrigh; Daan, 1976). Por exemplo, em humanos a PRC para luz é caracterizada por avanços de fase quando a exposição a este estímulo ocorre durante a manhã, atrasos de fase quando a exposição acontece durante o fim da tarde/noite e respostas menores ou insignificantes quando a exposição é feita no meio do dia (Dumont; Carrier, 1997; Kripke et al., 2007; Revell et al., 2005) (**Figura 5**). Estas mudanças de fase também são fortemente influenciadas pela intensidade, duração e comprimento de onda da luz (Boivin et al., 1996; Dewan et al., 2011; Rüger et al., 2013).

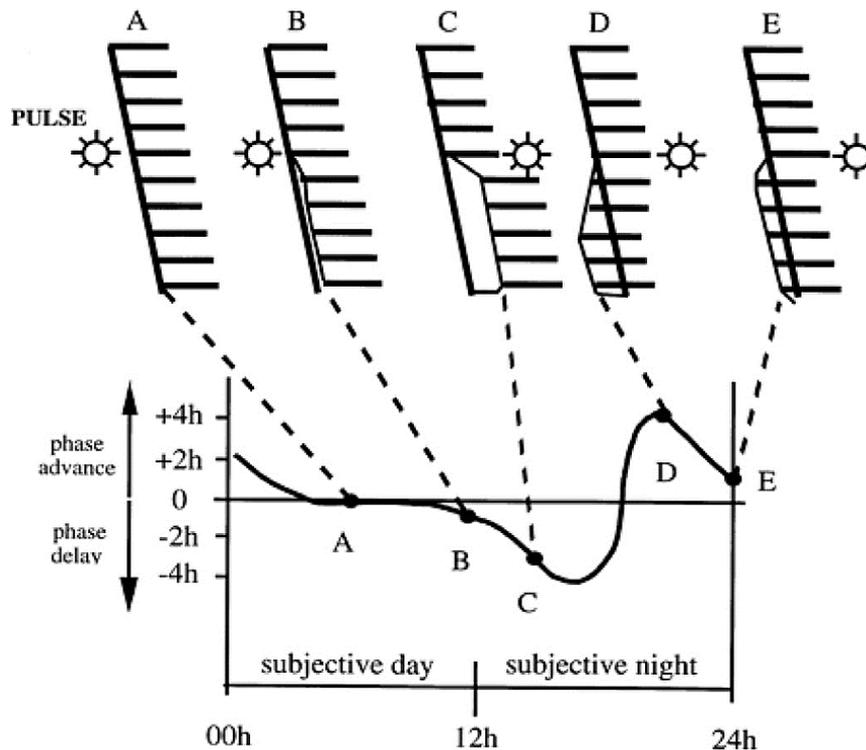


Figura 5: Curva de fase-resposta (PRC) da atividade motora de um roedor. O mesmo pulso de luz administrado em 5 momentos diferentes (A, B, C, D, E) produz diferentes respostas: nenhum efeito (A), atraso de fase (B, C) e avanço de fase (D, E). Adaptado de Moore-Ede et al (1982).

Embora o núcleo supraquiasmático (NSQ) seja usualmente conhecido como “marcapasso central”, a presença de relógios funcionais em diversos tecidos do corpo é indispensável para a manutenção dos ritmos circadianos. Isso explica o fato de osciladores circadianos estarem presentes senão em todas, na maioria das células do corpo (Yoo et al., 2004). É importante considerar, no entanto, que apesar do termo “periférico”, estes relógios estão presentes em outros locais do sistema nervoso central (fora do NSQ). Em condições normais, o SCN fica no topo da hierarquia circadiana transmitindo informação temporal para todos os relógios periféricos (Buijs et al., 2013). Na ausência de NSQ, a ritmicidade das funções é perdida e os tecidos periféricos perdem a relação de fase de um em relação ao outro. No entanto, interessante, a disponibilidade restrita de alimentos em horários programados (TRE, do inglês *time restricted eating*) é capaz de organizar os ritmos circadianos na ausência de NSQ, o que indica que pistas relacionadas à comida podem ser potentes sincronizadores dos ritmos endógenos (Stephan, 2002) (**Figura 6**). Além disso, experimentos *in vitro* também demonstraram mudanças de fase

na expressão de *clock genes* no fígado, rim, pâncreas e outros tecidos em animais submetidos ao TRE (Kohsaka et al., 2007).

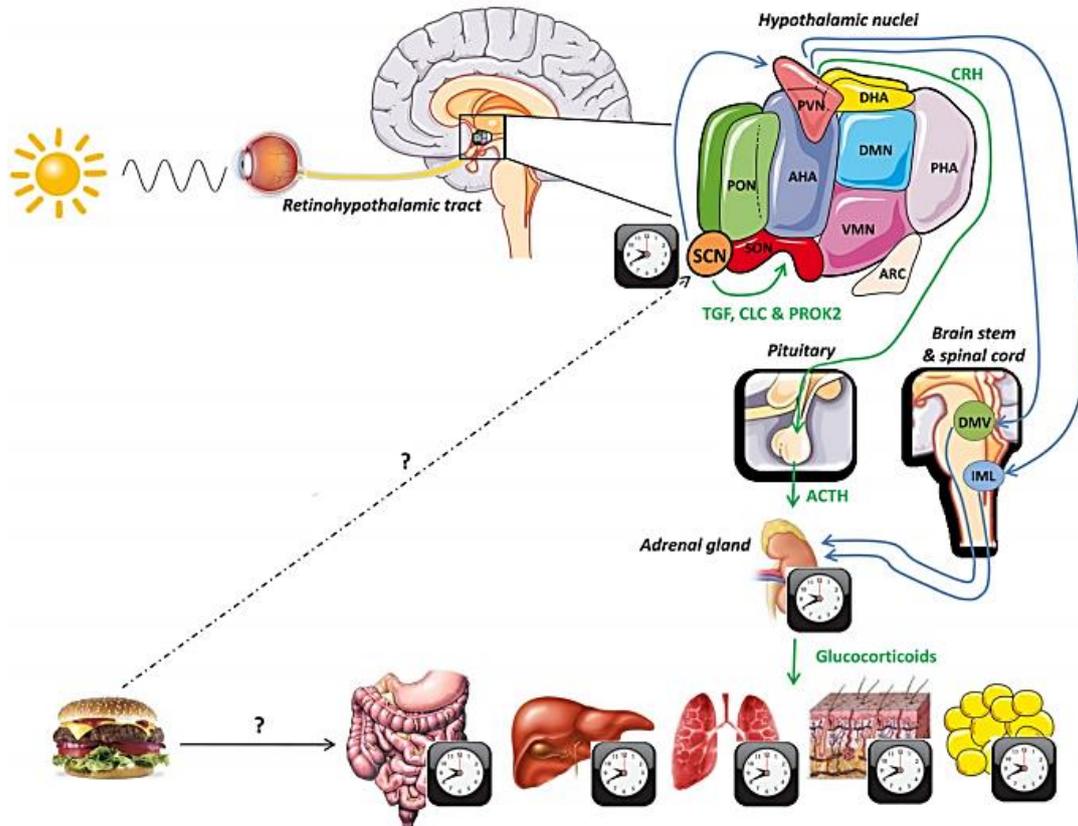


Figura 6: Sincronização do sistema circadiano pela luz e pela alimentação. A luz é absorvida pela retina e transmitida para o relógio central localizado no NSQ via trato retino-hipotalâmico. O NSQ sincroniza relógios periféricos via sinalização neural (flechas azuis) e hormonal (flechas verdes). Além da luz, pistas alimentares atuam como potenciais *zeitgebers* de relógios periféricos (linha preta) e, na ausência de pistas luminosas, algumas evidências sugerem que comida pode se tornar um sincronizador para o relógio central também (linha preta pontilhada). Adaptado de Laermans; Depoortere, 2016.

Além da luz e da alimentação, outros fatores externos também contribuem para a sincronização dos ritmos circadianos. O exercício físico programado vem sendo estudado como potencial pista para sustentar ritmos circadianos robustos, uma vez que o horário do exercício impacta nas vias metabólicas do músculo esquelético e na homeostase energética sistêmica (Sato et al., 2019). Além disso, camundongos e humanos apresentam uma variação diária na capacidade de se exercitar com boa performance (Ezagouri et al., 2019). Outro *zeitgeber* não-fótico é o contato social. As interações sociais são estímulos complexos que podem determinar o horário de dormir, de acordar, de comer e de se exercitar e, como consequência, afetar os ritmos circadianos. No entanto, estudos com

voluntários submetidos a condições de iluminação constantes demonstram que o contato social não é suficiente para manter seus ritmos sincronizados. Isso indica que, ao contrário das pistas fóticas, as pistas sociais são fracas e apenas a sua presença não é suficiente para causar uma sincronização (Mistlberger; Skene, 2004; Middleton et al., 1996). As pistas sociais podem, por outro lado, indiretamente influenciar a sincronização ao ambiente por modular a exposição à luz. Estímulos auditivos também já foram apontados como *zeitgebers*, principalmente estímulos com significado social, por exemplo gongos sinalizando horário das refeições, mas estes estudos são inconclusivos e com potenciais confundidores (Aschoff et al., 1975).

Um importante sinalizador gerado pelo NSQ, quando este recebe informação fótica, é a supressão da síntese de melatonina, também conhecida como “hormônio da escuridão”, essencial para o funcionamento do relógio. A síntese e secreção de melatonina pela glândula pineal é estimulada pela ausência de luz que, via ação noradrenérgica, ativa a enzima *aralkylamine N-acetyltransferase* (AANAT), que converte serotonina em *n*-acetil-serotonina (NAS, a qual é convertida em melatonina pela enzima *hydroxyindol-O-metiltransferase* (HIOMT) (Klein et al., 1992). A melatonina produzida no escuro é diretamente liberada na corrente sanguínea (onde se liga à albumina) e no líquido cefalorraquidiano, enviando a informação temporal do período noturno para todo o organismo e servindo como comando biológico para regular o horário do ciclo sono-vigília (Cippola-Neto; Amaral, 2018). O estímulo luminoso (principalmente luz azul, com comprimento de onda de 450 nm) inibe a síntese de melatonina (Lockley et al., 2003). Visto que os níveis plasmáticos deste hormônio são baixos durante o dia e altos durante a noite, a melatonina possui um papel fisiológico essencial na temporização circadiana do ciclo sono-vigília e das funções metabólicas diárias. Este sistema neural complexo é produto da seleção natural que tornou o perfil noturno de secreção de melatonina como um representante interno da noite externa (Tordjman et al., 2017) (**Figura 7**). Além do importante papel temporizador circadiano da melatonina, é bem estabelecido seu papel temporizador sazonal. A duração da secreção noturna de melatonina segue a duração da noite e, assim, varia ao longo do ano, fornecendo uma pista para a organização de funções rítmicas sazonais, como por exemplo a reprodução e o crescimento do pelo em alguns animais (Lincoln; Loudon, 2015).

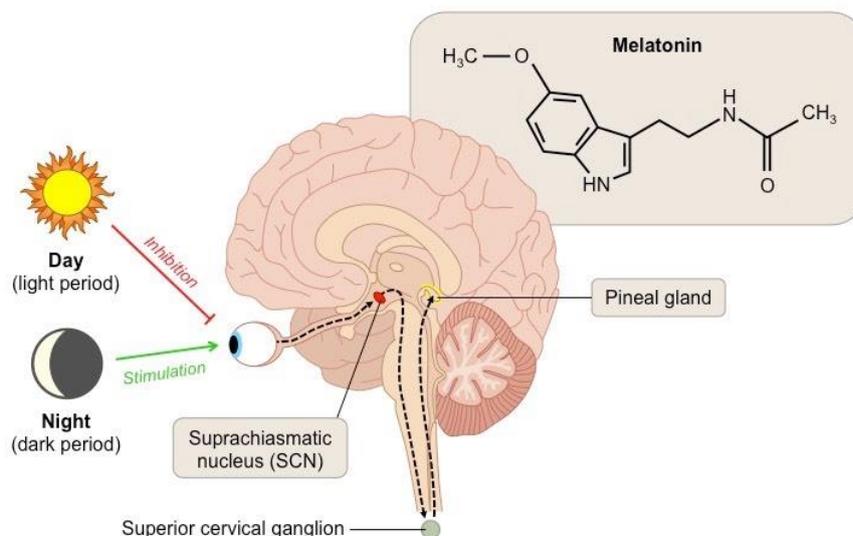


Figura 7: Regulação da síntese de melatonina pela glândula pineal. (Adaptado de Shinari; Loius, 2009)

2.2 REGULAÇÃO CIRCADIANA DO SISTEMA REPRODUTIVO

Os ritmos circadianos regulam diversos aspectos da reprodução, incluindo o horário de liberação hormonal, ovulação, acasalamento. Por sua vez, os hormônios do sistema reprodutivo também influenciam o sistema circadiano. Em mamíferos, o sistema reprodutivo é controlado por hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HPG). O hipotálamo libera pulsos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) que, por sua vez, estimula a liberação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) pela pituitária anterior. Por fim, o FSH e o LH sanguíneos estimularão um ambiente hormonal propício para a reprodução. Os hormônios esteroides produzidos pelos testículos (testosterona, di-hidrotestosterona) e pelos ovários (estradiol e progesterona) também são requeridos no hipotálamo e na pituitária para regular sua própria produção (Hagenauer; Lee, 2012).

Em fêmeas adultas, a produção hormonal varia ao longo do ciclo reprodutivo. Em roedores de laboratório (ratos e camundongos), este ciclo é referido como ciclo estral, possui uma duração curta (4-5 dias) e é dividido em quatro etapas: proestro, estro, metaestro e diestro (Cora et al., 2015). Nestas espécies, ocorre um pico de estradiol no proestro, aproximadamente 12 horas da ovulação, que é seguido por um pico de progesterona algumas horas depois. A ovulação é seguida por um período de maior

receptividade sexual (estro) e uma queda concomitante dos níveis de estradiol (Toms et al., 2018).

A regulação circadiana do eixo HPG é fundamental para que ocorram ciclos reprodutivos regulares. Sabe-se que lesões no NSQ eliminam a ovulação e produzem um estado de estro persistente, o que indica que os ciclos reprodutivos são vulneráveis a ruptura circadiana (Mills; Kuohung, 2019). Além disso, o NSQ envia sinais diários para neurônios do hipotálamo que produzem GnRH para conduzir o pico de GnRH/LH que leva à ovulação. Recentemente, foram identificados *clock genes* expressos em todos os níveis do eixo HPG, que parecem desempenhar um papel importante na geração de pulsos hormonais sincronizados e na preparação do ovário para a ovulação (Hagenauer et al., 2011).

Os hormônios gonadais, em contrapartida, afetam a atividade do sistema circadiano. Um dos efeitos mais conhecidos é o aumento da atividade no estro, após níveis elevados de estradiol em ratas fêmeas. Quando os níveis hormonais caem, as fêmeas atrasam o início da atividade e diminuem seus níveis de atividade (Sen; Hoffman, 2020). Hormônios gonadais também podem influenciar outros parâmetros circadianos, incluindo o período endógeno, a amplitude dos ritmos, a sincronização com pistas externas e a sensibilidade a *zeitgebers* (Crowley et al., 2015).

2.3 REGULAÇÃO CIRCADIANA DO METABOLISMO

O relógio circadiano regula o metabolismo e a homeostase energética em tecidos periféricos. Esta fisiologia inerentemente integrativa requer que uma rede de células especializadas, órgãos e tecidos comuniquem-se entre si via sistema nervoso e endócrino para desempenhar diferentes papéis no comportamento, consumo e armazenamento de energia, entre outros (Gerhart-Hines; Lazar, 2015). O núcleo NSQ desempenha um papel central na regulação circadiana do metabolismo ao sustentar ritmos de aproximadamente 24 horas de atividade-reposo e alimentação-jejum. Como consequência, processos metabólicos opostos (como anabolismo e catabolismo) são separados temporalmente e os ciclos recorrentes de alimentação-jejum são antecipados pelo sistema circadiano para otimizar a eficiência metabólica. Estudos pioneiros demonstraram que lesões no núcleo supraquiasmático eliminam a ritmicidade dos níveis de glicose, insulina e glucagon, indicando que esta estrutura é essencial para gerar mudanças diárias nas concentrações destas substâncias (Yamamoto et al., 1987; La Fleur et al., 1999). Assim, uma série de

processos metabólicos, incluindo sensibilidade à insulina, secreção de insulina, síntese de colesterol, oxidação de ácidos graxos, gasto energético, segue um ritmo ao longo das 24 horas do dia, modulado por um sistema de relógios presentes no marcapasso central do cérebro (NSQ) e em diversos tecidos do corpo, como fígado, músculo, tecido adiposo (Figura 8).

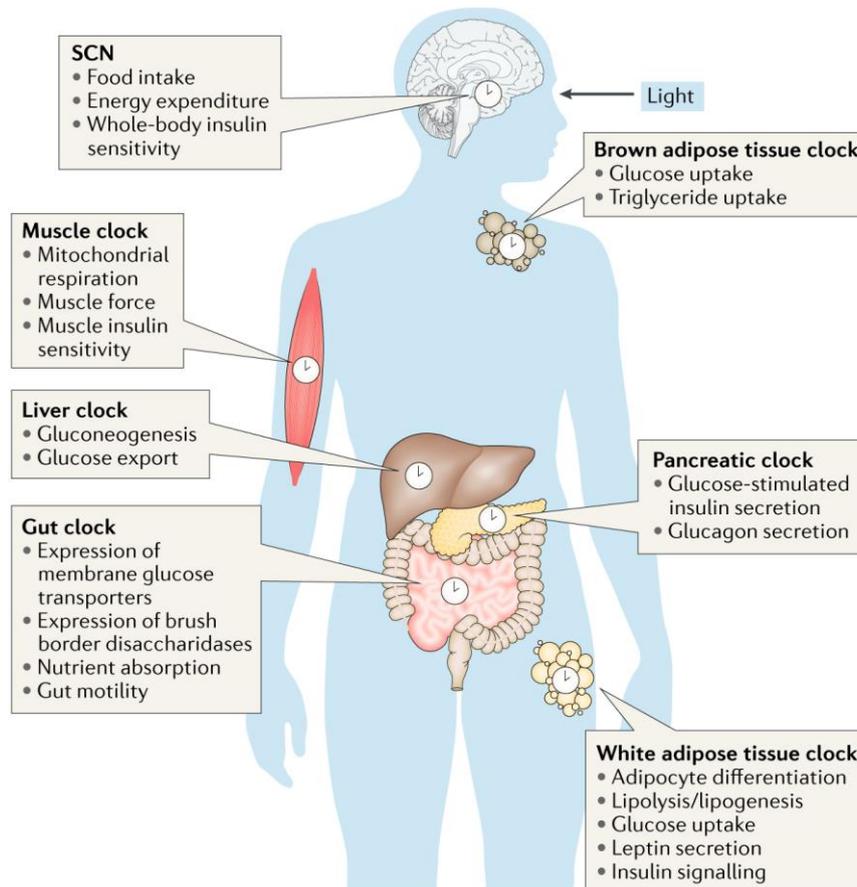


Figura 8: Relógios circadianos regulam o metabolismo de glicose, sensibilidade à insulina e secreção de insulina. Relógios centrais e periféricos são responsáveis por uma variedade de funções. SCN: núcleo supraquiasmático. Adaptado de Stenvers et al., 2018.

Como descrito anteriormente, osciladores moleculares estão presentes em todas as células do corpo e, fora do NSQ, são usualmente referidos como osciladores periféricos, uma vez que conferem ritmicidade circadiana a diversas funções específicas de cada tecido. Por exemplo, nos rins, o relógio circadiano modula o fluxo sanguíneo, a taxa de filtração glomerular e a excreção de água e íons (Solocinski; Gumz, 2015). No pâncreas, a secreção de insulina e glucagon está sob controle circadiano (Petrenko et al., 2017). No músculo, a respiração e a autofagia – processos que permitem uma produção robusta de energia e mantêm a homeostase das organelas, respectivamente – seguem uma ritmicidade circadiana (Mayeuf-Louchart et al., 2015). Igualmente importante é a síntese

e secreção rítmica de hormônios e de outras moléculas ativas em tecidos periféricos, os quais possibilitam a comunicação entre órgãos. No tecido adiposo, a mobilização de lipídeos é mediada pela ação de genes do relógio, especialmente *Clock* e *Bmal* (Shostak et al., 2013).

Um órgão central, com grande repertório de funções fisiológicas e um dos modelos mais estudados na cronobiologia é o fígado (Zwighaft et al., 2016). Para atingir o balanço entre síntese e armazenamento de lipídeos e fontes de carboidratos, o fígado recebe pistas do NSQ e do comportamento de alimentação-jejum dos animais para manter a homeostase de glicose no sangue e induzir antecipadamente o armazenamento ou depleção de glicogênio, de acordo com o consumo alimentar (Stokkan et al., 2001). O metabolismo de glicose também ilustra a intrincada regulação circadiana do metabolismo periférico. O pico de expressão dos transportadores de glicose e de receptores de glucagon acontece no início da fase ativa, o que coincide com o consumo de alimento (Panda et al., 2002). O armazenamento do excesso de carboidratos e a síntese de glicose (via gliconeogênese) são processos que ocorrem tipicamente no início da fase ativa e durante o repouso, respectivamente, e são modulados por proteínas CRY, CLOCK e pelo receptor nuclear REV-ERBA α , um componente do relógio responsável pela interface entre sistema circadiano e regulação metabólica no fígado (Storch et al., 2002).

A nível sistêmico, o abastecimento de células e de tecidos com oxigênio e nutrientes também exhibe flutuações diárias para que a absorção seja mais intensa durante a fase ativa e reduzida durante a fase de repouso (Rivera-Coll et al., 1994). No entanto, não só o sistema circadiano impõe ritmicidade a processos metabólicos, como sinais e estados metabólicos também retornam informações para o relógio central. O efeito do metabolismo no marcapasso central ou nos relógios periféricos se origina da alimentação, metabólitos dos alimentos ou hormônios cuja secreção é controlada pela presença ou ausência de comida. Isto explica o fato de alguns metabólitos sistêmicos atuarem como *zeitgebers* de relógios periféricos: dois nutrientes que circulam em abundância para gerar energia são o glutamato e o lactato. Ambos estão ligados a vias de sinalização de controle circadiano e apresentam seu fluxo intensificado ou atenuado de acordo com o estado metabólico (alimentado ou jejum). Diversos estudos identificaram nutrientes capazes de resetar ou alterar a fase dos ritmos circadianos, como a glicose (Hirota et al., 2002), aminoácidos (Iwanaga et al., 2005), sódio (Waddington et al., 2007), etanol (Chen et al., 2004), cafeína (Antle et al., 2001).

Além da função de sincronizar os ritmos circadianos em tecidos periféricos, a composição dos alimentos, o horário e a frequência em que são consumidos influencia o relógio circadiano. Em roedores, limitar o acesso à alimentação para um certo período do dia induz o desenvolvimento de uma atividade antecipatória que precede o evento de alimentação e se caracteriza por maior atividade locomotora, maior comportamento exploratório, pico de corticosterona e grelina e redução de insulina plasmática precedendo a refeição diária (Mistlberger, 2009; Blum et al., 2009; Díaz-Muñoz et al., 2000). Além disso, quando submetidos a dietas ricas em gordura, roedores mudam seu padrão de alimentação e passam a ingerir boa parte do seu alimento durante sua fase usual de sono/repouso (Manoogian et al., 2019). Estudos em humanos demonstraram que comer durante a noite, quando os níveis de melatonina começam a aumentar está associado a maior gordura corporal, maiores níveis de glicose no sangue e pior saúde cardiometabólica (McHill et al., 2017; Yoshida et al., 2018). Em relação à composição das refeições, sabe-se que ingerir um café da manhã rico em proteínas otimiza o controle de glicose no sangue e a perda de peso em indivíduos com Diabetes tipo II (Jakubowicz et al., 2017). Apesar de não se ter identificado uma estrutura anatômica oscilatória que seja sincronizada pela alimentação e não se saber os mecanismos por trás do efeito da composição e horário das alimentações no sistema circadiano, esclarecer isto pode ser importante para fazer ajustes que permitam melhores desfechos em saúde, dado os benefícios plausíveis de se ingerir refeições com as composições adequadas em horários apropriados.

Do ponto de vista da evolução, é benéfico para organismos multicelulares manterem uma rede de relógios organizada de forma mais complexa, ao invés de uma organização hierárquica “direta” com um regulador/marcapasso principal controlando toda a fisiologia do corpo. Uma possível explicação para isto é o fato de que os relógios celulares assumiram funções adaptativas adicionais resultando em um aumento da aptidão geral. Outra justificativa seria a maior resiliência a *zeitgebers* conflitantes e maior plasticidade em resposta a ambientes complexos e, portanto, demandas ambientais, uma vez que diferentes relógios respondem de forma diferente a certos estímulos (ex: locomoção é sincronizada principalmente pela luz). Esta organização permite que cada processo fisiológico seja sincronizado por aqueles sinais que são mais relevantes para o processo específico, resultado em uma resposta personalizada e melhor adaptada (Hushe et al., 2015).

2.4 CRONODISRUÇÃO E METABOLISMO

A partir de uma perspectiva evolutiva, a organização molecular e fisiológica do sistema circadiano foi estabelecida para se adaptar e prosperar sob as pressões seletivas da escassez de alimentos, mudanças sazonais na disponibilidade de luz solar e variações de temperatura. Embora este sistema ajustado tenha sido adequado por milhares de anos, foram desenvolvidas condições sociais que excedem as limitações adaptativas da nossa programação circadiana. A introdução à eletricidade, restaurantes *fast food* funcionando 24 horas por dia, refeições baratas com alto teor calórico disponíveis a qualquer horário do dia combinados com uma população crescente de trabalhadores noturnos, viagens regulares entre diferentes fusos horários, constante exposição à poluição luminosa artificial e estilo de vida sedentário criaram um ambiente substancialmente diferente da realidade que nossos ancestrais enfrentaram. Ao mesmo tempo que a tecnologia tem efeitos positivos no dia a dia, tem sido proposto que estas mudanças nos parâmetros ambientais de luz, nutrição e comportamento contribuem significativamente para o aumento da prevalência de “doenças relacionadas ao estilo de vida”, como por exemplo, doenças metabólicas, distúrbios do sono, transtornos psiquiátricos e alguns tipos de câncer (Wang et al., 2011; Sahar; Sassone-Corsi, 2009; Roenneberg et al., 2012).

Os ritmos diários da sociedade moderna interferem na coordenação temporal de processos fisiológicos do corpo. Esta perturbação do sistema circadiano é frequentemente referida como “cronodisrupção” ou “desalinhamento circadiano” ou “disrupção circadiana”. Estes termos têm sido utilizados desde os anos 80 para sugerir a falta de sincronização entre pistas ambientais externas e processos fisiológicos internos (de Castro et al., 1978). Além disso, sabe-se que a cronodisrupção pode também resultar de fatores internos, como por exemplo cegueira pré-quiásmática, tumores ou lesões que danifiquem o NSQ e variações genéticas deletérias (Rüger; Scheer, 2009). Este desalinhamento pode ainda ocorrer em diversos níveis: 1) Disrupção ambiental: ocorre quando uma pista ambiental (e.g., ciclo claro-escuro) está fora de sincronia com a fase do NSQ; 2) Disrupção comportamental: quando ciclos como alimentação-jejum ou sono-vigília estão desalinhados com a fase do NSQ; 3) Disrupção a nível celular: quando os ritmos do marcapasso central estão desalinhados aos ritmos dos relógios periféricos (Vetter, 2020). Ainda, esta condição pode ser caracterizada por uma perda total de ritmicidade, uma redução na amplitude dos ritmos ou, como descrito anteriormente, por diferenças de fase entre o relógio do NSQ e os relógios periféricos. As manifestações de desalinhamento

circadiano incluem sonolência diurna, distúrbios de sono, performance cognitiva reduzida, queixas gastrointestinais e sensação geral de mal-estar (Rüger; Scheer, 2009).

Uma das formas de estimar cronodisrupção é através do *jetlag social*, termo cunhado por Roenneberg et al (2006) para medir a diferença entre os horários de sono dos dias de trabalho e dias livres. Considera-se que o sono nos dias livres reflete o ciclo natural de sono, servindo como uma aproximação do tempo interno, enquanto o sono nos dias de trabalho reflete o tempo externo, social. Assim, o *jetlag social* representa a discrepância entre o tempo interno e o tempo social. Estudos epidemiológicos demonstram que o *jetlag social* está associado a maior índice de massa corporal (IMC) (Roenneberg et al., 2012; Parsons et al., 2015) e a biomarcadores de saúde cardiometabólica (Rutters et al., 2014).

Perturbações ao sistema circadiano foram citadas pela primeira vez como um fator envolvido em doenças através de estudos epidemiológicos que mostraram maior incidência de câncer em trabalhadores de turno (Tynes et al., 1996); a Organização Mundial da Saúde atualmente sugere uma série de riscos para a saúde associados ao trabalho de turno (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/97940/1/9789241501729_eng.%20pdf?ua=1). No geral, humanos são ativos durante o dia e, rotinas envolvendo trabalho noturno são bastante desafiadoras para o sistema circadiano. Trabalho noturno sugere exposição à luz durante a noite, ingestão calórica em horários inapropriados, estar acordado e ativo em momentos que usualmente estaria dormindo, dormir durante o dia (o que diminui a qualidade e duração do sono) e maior ingestão de estimulantes à base de cafeína. Tudo isso causa um desalinhamento entre o ritmo endógeno e o ciclo claro-escuro. Existe uma vasta literatura com estudos epidemiológicos associando trabalho de turno com doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade (Knutsson, 2003; Wolk et al., 2005).

Além do trabalho de turno, alguns aspectos da exposição à luz também vêm sendo associados à ruptura circadiana. Com o estilo de vida moderno, a intensidade e composição espectral da luz elétrica são frequentemente inadequados durante o dia para sincronizar o sistema circadiano e muito fortes durante a noite (Takahashi et al., 2008). Diversos estudos experimentais desenharam protocolos de exposição à luz durante a noite para simular a poluição luminosa de ambientes urbanos (**Figura 9**). Sob condições padrão de iluminação (ciclo 12:12 claro-escuro), os ritmos de atividade-reposo, bem como expressão de genes do relógio e liberação de hormônios se mantêm sincronizados com o

ciclo externo. No entanto, reduzir o contraste entre claro e escuro ao se inserir iluminação fraca à noite impacta na organização dos ritmos circadianos. Os efeitos da luz à noite (LAN) incluem redução na amplitude da expressão de genes relógio, bem como mudanças na amplitude dos ciclos de melatonina e glicocorticoides (Bedrosian et al., 2013). Além disso, estudos demonstraram que a LAN promove o aumento do peso corporal, da gordura epididimal e reduz a tolerância à glicose em camundongos (Fonken et al., 2010). Já a exposição à luz constante induz um comportamento *free running* (livre-curso) dos ritmos de atividade-reposo, que se caracteriza por um ritmo não sincronizado a pistas ambientais e que oscila em um ciclo diferente de 24 horas. Além disso, os ritmos de alimentação são alterados, a amplitude da expressão de genes do relógio é reduzida e esta dessincronização também está associada a distúrbios metabólicos, como maiores níveis de tecido adiposo, alterações no gasto energético, resistência à insulina e metabolismo de glicose alterado (Sudo et al., 2003; Coomans et al., 2013; Shi et al., 2013). Em protocolos de dessincronização forçada, onde animais são submetidos a períodos diferentes de 24 horas também são observados ganho de peso, maior gordura corporal e maiores níveis de triglicérides (Casiraghi et al., 2016).

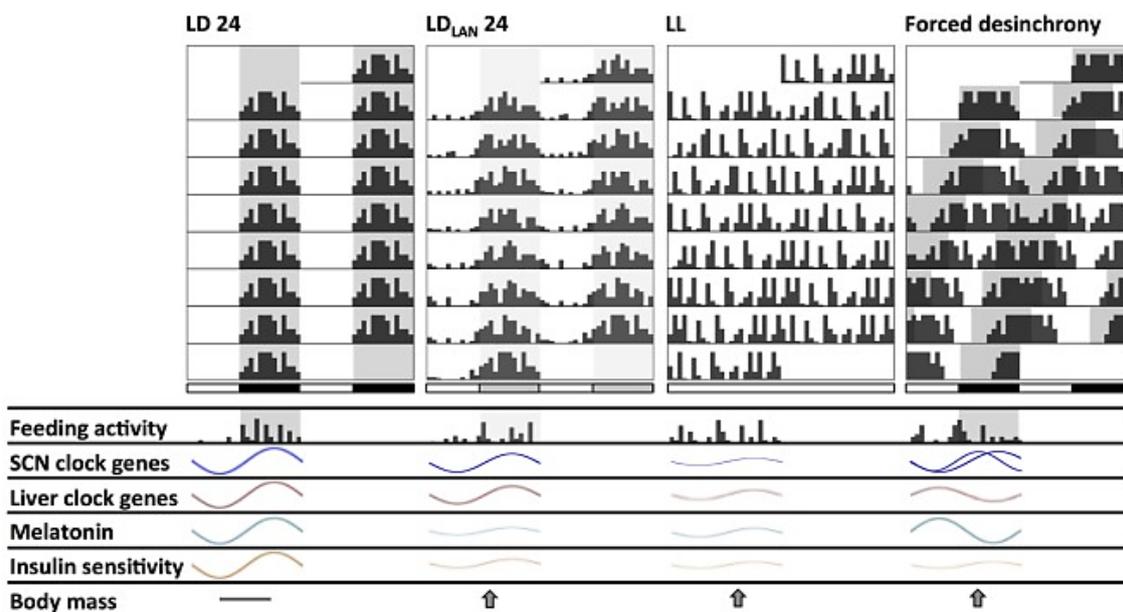


Figura 9: Esquema das alterações metabólicas e circadianas encontradas em roedores submetidos a diferentes protocolos de iluminação. LD 24: Condição padrão de claro-escuro; LD_{LAN}24: Claro-escuro com luz fraca à noite; LL: Claro constante. (Adaptado de Plano et al., 2017).

As alterações de iluminação e ruptura de ritmos não são os únicos fatores capazes de causar alterações metabólicas e obesidade (**Figura 10**). O desenvolvimento de grandes centros urbanos e o estilo de vida moderno também englobam hábitos alimentares que afetam a saúde e os ritmos. Dentro destes hábitos, alguns aspectos devem ser considerados: irregularidade (inconsistências nas rotinas alimentares), frequência, horário e composição da alimentação (Pot, 2017). Um estudo epidemiológico demonstrou que pessoas com rotinas de refeições mais irregulares apresentam maior risco para obesidade mesmo consumindo menos calorias do que pessoas com rotinas de alimentação mais regulares (Pot et al., 2014). Além disso, sabe-se que a glicemia pós-prandial está sob controle circadiano. Em humanos, há uma redução na tolerância à glicose à noite, como resultado da diminuição na secreção de insulina. Portanto, a ingestão calórica em horários em que o corpo não está organizado para armazenar/mobilizar estes nutrientes pode levar à resistência a insulina e obesidade (Bo et al., 2014).

Dietas ricas em gordura também são uma característica comum da sociedade moderna. Estudos experimentais mostram que alimentar ratos com dietas altas em gordura leva à redução nos níveis de insulina, leptina, adiponectina e interleucina-1 e o padrão diário de concentração plasmática destes fatores fica alterado. (Cano et al., 2009). Resultados similares são obtidos para insulina e leptina de humanos após um dia com três refeições ricas em gordura (Havel et al., 1999).

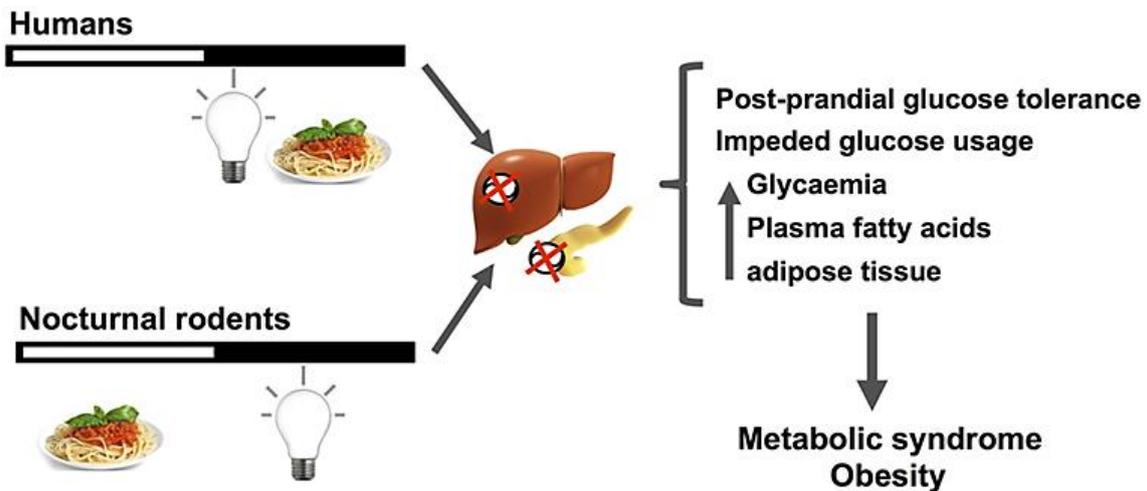


Figura 10: Representação do impacto da luz à noite e de padrões alterados de alimentação nos ritmos circadianos e metabolismo de roedores noturnos e humanos. Quando roedores e humanos recebem pistas alimentares e luminosas em horários inadequados, ocorre uma dessincronização nas funções de órgãos que regulam o balanço energético, causando uma redução na tolerância à glicose pós-prandial e diminuindo a utilização de glicose. Os principais desfechos destas alterações são aumento da glicemia basal, dos ácidos graxos plasmáticos e do tecido adiposo. Quando isto é estabelecido de forma crônica, aumentam os riscos para desenvolver obesidade e doenças metabólicas. Adaptado de Plano et al., 2017.

Os mecanismos precisos que explicam a associação entre cronodisrupção e alterações metabólicas ainda não são bem conhecidos, no entanto algumas hipóteses foram propostas. Um estudo mostrou que a melatonina reduziu a obesidade e melhorou o perfil metabólico em uma linhagem de ratos com Diabetes tipo II, sem afetar a ingestão alimentar e a atividade (Jiménez-Aranda et al., 2013). Isso indica que a exposição à luz durante a noite pode estar associada a maior ganho de peso devido a maior supressão de melatonina. Outra hipótese está relacionada às vias neurais conectando o sistema nervoso autônomo (SNA) aos órgãos periféricos. Sabe-se que os neurônios do SNA se projetam tanto para os compartimentos intra-abdominais quanto subcutâneos do corpo e, estas sinalizações podem variar dependendo do horário do dia. Assim, em condições de cronodisrupção, órgãos intra-abdominais, como gordura visceral, fígado e pâncreas, podem receber estímulos diferentes em horários inapropriados (Perez-Tilve et al., 2006). Da mesma forma, porém relacionado a via pineal-hipotálamo-adipócito, Scott e Grant (2006) propuseram uma hipótese com base no fato de que animais que hibernam acumulam gordura seguindo um ritmo sazonal, sincronizado pela luz ambiental. Assim, foi hipotetizado que o homem moderno ocidental está sempre se preparando para um

estado de privação de comida (inverno) que nunca chega. No entanto, a grande maioria das hipóteses presentes na literatura para explicar a relação entre obesidade e cronobiologia apontam para uma dessincronização entre os diferentes ritmos circadianos envolvidos no metabolismo. Hábitos atuais como alta frequência de alimentação, redução na duração de sono, pouca exposição à luz natural durante o dia e exposição à luz artificial à noite enfraquecem o contraste em ritmos internos e externos, levando a distúrbios metabólicos, incluindo obesidade.

Tendo em vista os efeitos das perturbações do sistema circadiano sobre o metabolismo, com este estudo pretendemos investigar a influência de diferentes padrões de iluminação sobre a fisiologia e perfil metabólico de ratas Wistar. Além disso, considerando os desafios ocasionados pelo avanço da urbanização e industrialização, pretendemos avaliar a relação entre parâmetros circadianos e de exposição à luz com o índice de massa corporal (IMC) de comunidades rurais e urbanas.

3. JUSTIFICATIVA

Diante da importância da luz na regulação fisiológica dos organismos vivos e tendo em vista o crescente aumento no tempo de exposição à iluminação e a qualidade desta, faz-se necessário ampliar os estudos que busquem entender sua influência no metabolismo e no ganho de peso.

Tendo em vista os desafios que a vida moderna impõe ao sistema circadiano, os efeitos da cronodisrupção sobre a fisiologia e o comportamento devem ser investigados.

As taxas de obesidade vêm crescendo nas últimas décadas, tornando esta doença uma epidemia global. Estudos que avaliem parâmetros circadianos associados a esta condição ainda são inconclusivos, tornando necessária a investigação de características ambientais e endógenas envolvidas na patofisiologia da obesidade.

Estudos que avaliem o comportamento de atividade-reposo e exposição à luz tanto em populações rurais quanto em populações urbanas são escassos. Avaliar populações em diferentes níveis de urbanização contribui para esclarecer questões relacionadas ao impacto da urbanização nos ritmos biológicos e no metabolismo.

Pelas razões apresentadas, justifica-se a realização do presente estudo com o propósito de investigar diferentes padrões de iluminação na fisiologia e no metabolismo de ratas, bem como investigar características dos ritmos circadianos que possam estar associadas a um maior índice de massa corporal (IMC) em populações quilombolas que vivem em diferentes níveis de urbanização.