



Teresa Castilho Melo Marques

## Relógios Biológicos, Ritmo Circadiano e Envelhecimento

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Cláudia Cavadas e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Teresa Castilho Melo Marques

# Relógios Biológicos, Ritmo Circadiano e Envelhecimento

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Cláudia Cavadas e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**Monografia**  
**Declaração de Integridade**

Eu, Teresa Castilho Melo Marques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010125190, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Setembro de 2015.

---

(Teresa Castilho Melo Marques)

## **A Tutora**

---

(Professora Doutora Cláudia Cavadas)

## **A Aluna**

---

(Teresa Castilho Melo Marques)

## **Agradecimentos**

No final desta etapa tão importante da minha vida, não posso deixar de agradecer a todos aqueles que a tornaram possível e tão enriquecedora.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, em especial à Comissão de Estágios, o meu agradecimento por todo o trabalho desenvolvido no sentido de proporcionarem aos estudantes a realização desta unidade curricular.

À Professora Doutora Cláudia Cavadas, minha orientadora, um enormíssimo obrigada pela exemplar orientação, por toda a sua disponibilidade, ajuda e compreensão.

Por fim, tão ou mais importante, aos meus pais, à minha família e amigos, visto que sem eles nada desta realidade seria possível.

---

**ÍNDICE**

<b>Abreviaturas</b>	<b>5</b>
<b>Resumo</b>	<b>6</b>
<b>Abstract</b>	<b>7</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>8</b>
<b>2. Ritmos Circadianos e Relógios Biológicos</b>	<b>9</b>
<b>3. A Dessincronização do Sistema Circadiano</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Alterações Relacionadas com a Idade</b>	<b>12</b>
<b>3.2 O Sistema Circadiano e a Idade Reprodutiva</b>	<b>14</b>
<b>3.3 Restrição Alimentar</b>	<b>15</b>
<b>4. Dessincronização do Relógio Circadiano e Doenças Neurodegenerativas</b>	<b>16</b>
<b>5. Perspetivas Futuras</b>	<b>19</b>
<b>6. Conclusão</b>	<b>20</b>
<b>7. Referências Bibliográficas</b>	<b>20</b>

---

## **Abreviaturas**

**NSQ**- Núcleo Supraquiasmático

**ROS**- Espécies Reativas de Oxigênio

**GnRH**- Hormona Gonadotrofina

**LH**- Hormona Luteinizante

**DA**- Doença de Alzheimer

**DP**- Doença de Parkinson

**DH**- Doença de Huntington

**RC**- Restrição Calórica

**JI**- Jejum Intermitente

**PIV**- Peptídeo Intestinal Vasoativo

**AVP**- Arginina-Vasopressina

**Resumo**

A maioria das características da fisiologia e comportamento dos mamíferos variam de acordo com a hora do dia, graças a um relógio endógeno circadiano (3). Os ritmos circadianos são gerados por um mecanismo celular intrínseco que controla uma grande variedade de processos fisiológicos e metabólicos. O sistema circadiano é composto por um *pacemaker*, no núcleo supraquiasmático (NSQ), que está em constante coordenação com osciladores circadianos periféricos. A fisiologia circadiana inadequada pode ser provocada por defeitos genéticos (mutações nos genes do relógio) ou deficiências fisiológicas (dessincronização entre NSQ e osciladores periféricos) (11).

Observações clínicas têm reforçado a associação entre aspetos fisiopatológicos de várias doenças, bem como o processo de envelhecimento, com o controlo dos ritmos circadianos. Perturbações crónicas na função circadiana estão associadas a um aumento de uma grande variedade de doenças, incluindo doenças cardíacas, neuro-degenerativas, gastrointestinais e diabetes.

Com a idade, a regulação do ritmo circadiano é comprometido e ocorre uma diminuição da capacidade de sincronização dos relógios biológicos (1). Assim, o reajuste do relógio circadiano leva ao bem-estar enquanto que a disfunção do relógio biológico está associada com o envelhecimento e morbilidade (2).

Esta monografia incide sobre descobertas recentes sobre as relações entre os ritmos circadianos e o envelhecimento.

**Palavras-chave:** genes do relógio, ritmo circadiano, envelhecimento



**Abstract**

Most of mammal's physiologic and behavior characteristics change according to the hour of the day thanks to an endogenous circadian clock (3). Circadian rhythm is generated through an intrinsic cellular mechanism which controls a wide range of physiologic and metabolic processes. The circadian system is composed by a pacemaker, localized within the suprachiasmatic nucleus (SCN), which is in constant coordination with the peripheral circadian oscillators. Inadequate circadian physiology might be caused by genetic defects (mutations in genes of the clock) or by physiologic handicaps (flaws of coordination between the SCN and the peripheral oscillators) (11).

Clinical observations have reinforced the association between physiopathological aspects of several diseases, as well as the aging process, with the control of circadian rhythm. Chronic perturbations within the circadian function are associated with an increase of a considerable amount of diseases, including cardiovascular, neurodegenerative and gastrointestinal disorders and also diabetes.

The aging process compromises the regulation of the circadian rhythm and causes a decrease in the synchronization capacity of the biological clock (1). Given that, an adjusted circadian rhythm is associated with well-being, while dysfunctions in the biological clock are associated with aging and morbidity (2).

The present monograph looks at recent research regarding the link between circadian rhythm and the aging process.

**Key words:** clock genes, circadian rhythm, ageing

## I. Introdução

Nos mamíferos, os relógios circadianos influenciam os principais sistemas de órgãos, e esta influência traduz-se diretamente na patologia da doença que também varia com a hora do dia. Hipócrates já em 400 aC percebeu que a sonolência diurna é indicativo de doença, e insônia noturna pode indicar dor e sofrimento (3).

Os seres vivos vivem num mundo rodeado por ciclos naturais. Ao longo do processo evolutivo criaram mecanismos que lhes permitiram apresentar um comportamento adaptativo frente a variações ambientais. As funções dos seres vivos obedecem de forma geral a variações rítmicas endógenas e são influenciadas e modificadas pela presença de certos estímulos ambientais. Estes fatores são capazes de alterar os ritmos, tais como, a duração do dia e da noite, a intensidade luminosa, a temperatura, os hábitos alimentares, etc (4).

Existem também ritmos endógenos, inerentes aos seres vivos, independentes das variáveis ambientais e que se continuam a manifestar mesmo na ausência destes estímulos. Os ritmos endógenos não se modificam imediatamente após uma mudança brusca ambiental, ou de hábitos do organismo. Independentemente das influências do ciclo claro/escuro o relógio biológico mantém a ritmicidade circadiana das suas funções (4).

A cronobiologia estuda os ritmos circadianos e tem várias linhas de interesse:

- Cronobiologia Molecular: identificação dos mecanismos moleculares que contribuem para o controlo da ritmicidade circadiana;
- Cronobiologia Fisiológica: identificação dos principais mecanismos biológicos influenciados pela luz;
- Cronobiologia Psicológica: identificação da importância da ritmicidade biológica nas funções cognitivas (aprendizagem e memória);
- Cronobiologia Médica: caracterização tanto no diagnóstico como no tratamento de distúrbios de ritmicidade e doenças relacionadas.

No ser humano os elementos de sincronização mais importantes que diariamente ajustam o ritmo do relógio biológico são aqueles ligados à vida social, familiar e profissional em conjunto com o ciclo claro/escuro (4).

Nos mamíferos, o relógio circadiano central é um mecanismo celular encontrado no núcleo supraquiasmático do hipotálamo (NSQ). A informação externa é percebida pela retina e transmitida para o NSQ através do trato retiniano (RHT) (2).

O relógio circadiano controla uma grande variedade de sistemas fisiológicos e comportamentais, incluindo o metabolismo energético, motilidade do trato gastrointestinal,

ciclos de sono-vigília, atividade cardiovascular, secreção endócrina, temperatura corporal, atividade renal e atividade locomotora. Este controlo é enfatizado por manifestações programadas de certas patologias, tais como crises hipertensivas, enfarte do miocárdio e asma (2).

Ritmos circadianos interrompidos por inversão contínua do ciclo claro / escuro resultaram numa diminuição do tempo de sobrevivência de hamsters cardiomiopáticos. Em contraste, animais idosos transplantados com núcleos supraquiasmáticos fetais viveram mais e os seus ritmos foram restaurados. Assim, a disfunção circadiana está associada ao aumento da morbidade e mortalidade (2,5).

A absorção e distribuição de substâncias ativas é sujeita a variação diurna em roedores e seres humanos. Por exemplo, o paracetamol e a teofilina mostram diferentes farmacocinéticas na parte da manhã em comparação com a noite. Estas alterações são os resultados de várias modificações dependentes do tempo, dos aspetos fisiológicos e moleculares que influenciam a absorção e distribuição da substância ativa (3).

Considerando o vasto âmbito de fisiologia circadiana, é lógico que a farmacodinâmica e farmacocinética (PK/PD) de muitas substâncias seria circadiana também e, portanto, que a eficácia destas e perfis de segurança também variam de acordo com a hora do dia. No entanto, essa variação é raramente tida em conta. Em parte, essa apatia pode advir de uma falta de conhecimento sobre os mecanismos moleculares que regulam esse controlo (3).

## **2. Ritmo Circadiano e Relógios Biológicos**

O relógio biológico é composto por estruturas no Sistema Nervoso Central, tais como o núcleo supraquiasmático e hipófise, que juntos contribuem para a sincronização de ritmos fisiológicos e comportamentais.

As variações fisiológicas e o comportamento apresentado por todos os seres vivos são rítmicas, sendo que o ciclo claro/escuro é um dos mais importantes que influencia o comportamento dos ritmos biológicos (6). Os seres vivos recebem um certo número de sinais, muitos dos quais são rítmicos por estarem ligadas à rotação da Terra. Outras informações do nicho socio-ecológico do indivíduo podem intervir, como a alternância ruído-silêncio, calor-frio, trabalho-lazer, levantar-deitar (6,7).

Alguns ritmos biológicos mantêm relações estreitas com os ciclos ambientais, como é o caso do ciclo sono/vigília. Por exemplo, em caso de mudança de fuso horário o nosso ciclo de sono/vigília sofre uma alteração para o novo horário numa relação de sincronização entre o ciclo ambiental e o relógio endógeno. Se não existisse a sincronização do relógio interno

haveria um contínuo desajuste entre os nossos tempos interno e externo. Um indivíduo saudável, do ponto de vista do seu biorritmo, é aquele que preserva tanto a organização temporal interna quanto a externa, ou seja, as relações temporais entre ritmos internos e ritmos ambientais são mantidas de forma estável (6,7).

Graças ao nosso sistema circadiano, vários processos fisiológicos ocorrem de forma rítmica, variando consoante a altura do dia, por exemplo, a temperatura corporal apresenta o seu pico ao anoitecer, enquanto que o pico de secreção de cortisol ocorre a meio da manhã (7).

A organização da função circadiana é desempenhada por um conjunto de estruturas nervosas designadas de sistema circadiano. Este sistema tem duas funções principais: produção de ritmos por *pacemakers* endógenos, e alinhamento ou sincronização por estímulos do meio ambiente, particularmente o ciclo luz-obscuridade (9).

O sistema circadiano faz parte do Sistema Nervoso Central e compreende três componentes essenciais:

- 1) Fotorreceptores e vias visuais aferentes mediando o alinhamento ou sincronização fótica ao *pacemaker*;
- 2) *Pacemaker* localizado no Núcleo Supraquiasmático do hipotálamo;
- 3) Projeções eferentes do *pacemaker* levando um sinal rítmico a mecanismos que controlam as funções fisiológicas e comportamentais (9).

### 3. A Dessincronização do Sistema Circadiano

Se há algum ajustamento ou sincronização, o sistema circadiano leva tempo a recuperar, e durante o tempo de ajustamento o organismo permanece num estado de “desarmonia circadiana” que pode induzir prejuízo do desempenho, mal-estar e sono (10).

Os distintos ritmos endógenos não se ajustam às novas rotina com a mesma velocidade. Por exemplo, a frequência cardíaca é dependente do ciclo atividade-reposo e ajusta-se de um modo relativamente rápido. Outros ritmos são mais dependentes do relógio biológico interno, tais como a temperatura corporal e a melatonina e levam muito mais tempo para se modificarem (por exemplo para o ritmo sono-vigília 2 a 4 dias; para a temperatura corporal 5 a 10 dias) (9).

Isto determina um estado de dessincronização interna temporária, provocando desarmonias entre os vários ritmos e dificuldade para uma inversão, mesmo parcial, das funções biológicas. As consequências podem ser sentidas a curtíssimo prazo, sendo os sintomas mais frequentes o mal-estar, fadiga, variações de humor, nervosismo, dificuldade

em dormir, falta ou aumento de apetite, dificuldade em realizar um trabalho habitual e perturbações de memória.

A duração e a intensidade da dessincronização são variáveis e tem implicações negativas várias na saúde e no bem-estar: agrava os distúrbios de sono, tem consequências no desenvolvimento, no desempenho físico e mental, no estado de humor, na percepção da dor e aumenta a incidência de cefaleias, doenças mentais, hematológicas, imunológicas, alergológicas, infecciosas, cardiovasculares, endócrinas, metabólicas, oncológicas, digestivas, etc. Além disso, estas alterações no ciclo luz/escuridão induzem uma significativa mortalidade em animais idosos (2).

Assim, a interrupção circadiana está associada com o aumento da morbidade e mortalidade, enquanto ritmos circadianos sincronizados e normalizados podem levar a uma saúde melhorada e maior longevidade.

Numerosos estudos mostram que os trabalhadores por turnos têm uma maior incidência de cancro, diabetes, úlceras, hipertensão e doenças cardiovasculares, distúrbios psicológicos, e uma série de outras questões clínicas. Estes achados apontam para um papel crítico por parte do sincronismo circadiano interno na manutenção do funcionamento normal do cérebro e fisiologia periférica (1).

Um estudo recente descobriu que os ratos idosos submetidos a perturbações temporais equivalentes a um voo de Washington a Paris, uma vez por semana durante oito semanas, morrem como resultado da dessincronização dos seus organismos com o meio externo (1).

O relógio circadiano regula também o metabolismo e homeostase energética. Isto é conseguido na mediação da atividade de determinadas enzimas metabólicas e sistemas de transporte envolvidos no metabolismo do colesterol, na regulação de aminoácidos, no metabolismo de substâncias ativas e toxinas, no ciclo do ácido cítrico, do glicogénio e no metabolismo da glicose (8). Muitas hormonas envolvidas no metabolismo, tais como a insulina, glucagon e leptina, exibem oscilação circadiana (2). Além disso, lesões no núcleo supraquiasmático (NSQ) de ratos anulam variações diárias na homeostase da glicose sérica, alterando não só ritmos como taxas de utilização de glicose, assim como a produção de glicose endógena hepática (8).

### **3.1 Alterações Relacionadas com a Idade**

O envelhecimento não é controlado exclusivamente pela genética, mas sim pela interação entre esta e estímulos ambientais.

Nos seres humanos, as alterações nas propriedades circadianas associadas com o envelhecimento são: 1) redução da amplitude dos ritmos circadianos, 2) avanço de fase nos ritmos circadianos dependentes do NSQ, e 3) perturbação do sono noturno (11).

Os radicais livres e o *stress* oxidativo têm sido implicados na biologia do envelhecimento (11). O envelhecimento é caracterizado por reduções nas funções mitocondriais associadas a uma acumulação de mutações no DNA mitocondrial, e espécies reativas de oxigênio (ROS) são identificadas como sendo responsáveis por algumas dessas mudanças relacionadas com a idade. As reações pró-oxidativas associadas com níveis mais elevados de ROS poderão ser responsáveis pela dessincronização circadiana e desregulação metabólica que caracterizam o envelhecimento e as patologias relacionadas com a idade. A melatonina é um antioxidante natural com propriedades anti-envelhecimento significativas. A circulação de melatonina diminui com a idade, e o seu ritmo diurno é alterado nos idosos versus jovens seres humanos (11).

Com o avanço da idade, o sistema circadiano perde precisão temporal, contribuindo para uma variedade de patologias relacionadas com a idade. Tais alterações relacionadas com a idade não podem ser explicadas pela morte celular ou atrofia no NSQ. No entanto, o NSQ envelhecido mostra alterações na produção de peptídios (polipéptido intestinal vasoativo (PIV)), e uma redução da amplitude dos ritmos circadianos (5).

O transplante de um "novo" NSQ em animais idosos produz melhorias em numerosas funções, sugerindo que o NSQ é um locus importante nas mudanças relacionadas com a idade em roedores, podendo ser eventualmente um alvo em tratamentos para melhorar parte da deterioração observada durante o envelhecimento (1).

O NSQ tem acesso direto ao tempo ambiental através de projeções da retina para o relógio. Como os relógios centrais e periféricos subordinados não têm acesso a tais pistas temporais, é necessário que o NSQ comunique essa informação para todo o sistema nervoso central e periférico. A estabilidade desta disposição hierárquica é interrompida com o avanço da idade.

É do conhecimento comum que os idosos têm dificuldades em dormir à noite, acordando de manhã cedo. Com efeito, a interrupção do relógio circadiano tem sido associada a diversas patologias relacionadas com a idade, incluindo distúrbios do sono, diabetes, cancro e redução de memória. Por exemplo, as flutuações diárias nos níveis de

hormonas (incluindo melatonina e cortisol), a temperatura corporal, e o ciclo sono-vigília são modificados durante o envelhecimento (12).

A noção de que o relógio circadiano pode modular a taxa de envelhecimento é ainda apoiada por estudos iniciais efetuados em roedores que mostram que o enxerto de NSQ fetal em hamsters idosos restaura a ritmicidade comportamental e prolonga o tempo de vida. Em linha com esta observação, o transplante de glândula pineal, tanto em ratos jovens, como ratos velhos, prolonga a vida útil. Neste contexto, a melatonina, hormona produzida pela glândula pineal, é um sincronizador forte. A síntese e secreção de melatonina flutua com os ciclos dia / noite, e estão sob o controlo da inervação simpática do NSQ (12).

Para além das suas atividades cronobiológicas, a melatonina também exhibe propriedades de imunomodulação, neuro-endócrinas e antioxidantes. Além disso, a melatonina funciona como sequestrante de radicais livres e induz a produção e a atividade de enzimas antioxidantes. Todas estas características contribuem para as suas propriedades anti-envelhecimento. A amplitude dos ritmos de melatonina plasmática mostra redução progressiva com o envelhecimento (12).

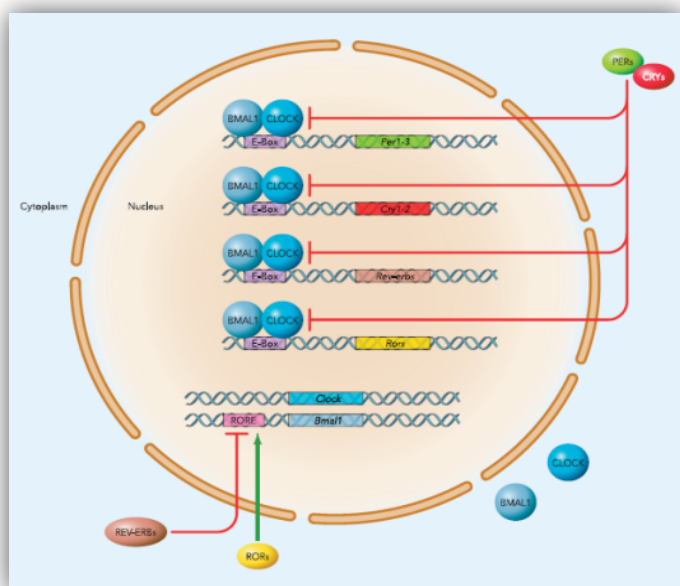
Neste contexto, uma relação funcional entre os mecanismos antioxidantes e o relógio circadiano foi estabelecida. Várias atividades de enzimas antioxidantes seguem ritmos circadianos e, para além disso, a evidência experimental mostra que as espécies reativas de oxigênio também seguem flutuações circadianas. Por isso, tem sido sugerido que o relógio circadiano regula mecanismos para proteger o organismo do *stress* oxidativo (12).

Tendo em conta os decréscimos acentuados da função rítmica observados em animais idosos, vários estudos têm investigado o impacto do envelhecimento sobre a expressão dos genes do núcleo do relógio biológico. A amplitude de expressão diária de *Bmal1* é reduzida em hamsters idosos, com menor expressão durante a noite, quando a expressão de *BMAL1* tem normalmente o seu pico, em comparação com os animais jovens (1).

Quando este gene é silenciado em animais, estes são arrítmicos, indicando a importância deste gene no ciclo circadiano normal, dando suporte à possibilidade de que mudanças relacionadas com a idade nos ritmos circadianos podem resultar da expressão anormal de *Bmal1*. A redução da expressão de *Bmal1* não está associada com mudanças de amplitude nos genes *Per1*, *Per2* e *Cry1* no NSQ de animais idosos, indicando que os alvos a jusante de *Bmal1* responsáveis pela interrupção circadiana devido a idade avançada, podem ser distintos da maquinaria do núcleo do relógio (1).

A expressão do gene *CLOCK* também é reduzida ao longo do dia no NSQ de animais idosos. Uma evidência adicional para o papel de *Bmal1* no processo de envelhecimento vem de estudos em hamsters com este gene silenciado. Nestas condições têm uma vida útil reduzida e desenvolvem uma série de patologias relacionadas com a idade, incluindo sarcopenia, cataratas e envelhecimento de órgãos significativamente mais cedo do que os seus controlos (1).

Estas patologias relacionadas com a idade indicam que algumas proteínas circadianas são importantes para os processos fisiológicos que não estão diretamente ligados à função circadiana. Uma vez que muitos tecidos periféricos expressam genes do relógio endogenamente, a compreensão do papel das oscilações de genes do relógio periférico na manutenção da homeostase do órgão irá auxiliar no desenvolvimento de estratégias para o tratamento de patologias relacionadas com a idade (1).



**Figura 1 - O mecanismo do núcleo do relógio circadiano em mamíferos (adaptado de 2).**

O oscilador celular é composto por um membro positivo: *CLOCK* e *BMAL1*, e um membro negativo: *CRY*s e *PER*s. *CLOCK* e *BMAL1* dimerizam-se no citoplasma e são translocados para o núcleo. O heterodímero *CLOCK:BMAL1*, em seguida, liga-se para promover o aumento de sequências *E-box*, localizadas na região promotora dos genes *Per* e *Cry* para ativar sua transcrição. As proteínas *PER* e *CRY* são submetidas a translocação nuclear e inibem o *CLOCK:BMAL1*, resultando numa diminuição da transcrição dos seus próprios genes. O heterodímero *CLOCK:BMAL1* também induz a transcrição de *REV-ERBs* e *RORs*. *RORs* e *REV-ERBs* regulam a expressão de *Bmal1*. *RORs* estimulam mas *REV-ERBs* inibem a transcrição de *Bmal1* (2).

### 3.2 O Sistema Circadiano e a Idade Reprodutiva

O declínio reprodutivo relativo à idade é comum entre as espécies, com o início desse declínio normalmente ocorrendo no meio da vida. Como as fêmeas são afetadas mais cedo na vida e em maior medida do que os machos, a investigação até à data centrou-se sobre o envelhecimento reprodutivo feminino e o sistema circadiano.

No ciclo regular de roedores fêmeas, um sinal circadiano emitido diariamente a partir do SCN coincide com um nível limiar de estrogénio iniciando a libertação da hormona gonadotrofina (GnRH) e hormona luteinizante (LH), necessárias para a ovulação (1).

Em roedores idosos do sexo feminino, a capacidade do NSQ para estimular este aumento enfraquece. Um atraso no tempo, e atenuação da amplitude do pico de LH são



característicos de envelhecimento reprodutivo. Em hamsters de meia-idade, por exemplo, o nível de pico de LH é retardado por até três horas, em comparação com o início do aumento em animais jovens, saudáveis reprodutivamente (1).

A cadência observada no momento e a amplitude do pico de LH em animais de meia-idade tem sido associada a alterações na ativação da GnRH por sinais neuropeptidérgicos do SNC. O sistema da GnRH representa a via final no controlo do eixo reprodutivo na maioria das espécies de mamíferos. Seria razoável supor que o défice no aumento de amplitude de LH poderia ser uma consequência direta de uma redução na liberação do peptídeo GnRH. No entanto, as concentrações de péptido de GnRH não mostram um declínio relacionado com a idade. Em vez disso, a diminuição da capacidade reprodutiva parece ser devido a alterações na própria ativação do sistema de GnRH pelo mecanismo do relógio circadiano (1).

Estudos sugerem que o NSQ não consegue fornecer estimulação adequada para ativar o sistema de GnRH em animais idosos. Dois péptidos do NSQ, PIV e AVP (arginina-vasopressina), têm sido implicados na estimulação do eixo reprodutivo. A supressão de PIV em hamsters fêmeas jovens resulta em défices acelerados na ativação da GnRH e de picos de LH que imitam uma população envelhecida. Estes resultados sugerem que défices relacionados com o envelhecimento nos mecanismos neuro-endócrinos que medeiam a ovulação podem resultar da perda de função ao nível do NSQ (1).

### 3.3 Restrição alimentar

A restrição calórica (RC) é uma poderosa intervenção ambiental que atrasa os efeitos do envelhecimento em modelos experimentais, tais como leveduras, vermes, moscas, roedores e macacos.

O sistema metabólico que atua sobre a geração de adaptações celulares benéficas durante a RC e que conseqüentemente retarda o envelhecimento, também modula o relógio central. Por exemplo, os ratos alimentados com dieta rica em gordura apenas durante o período de atividade mostram menos peso e melhor metabolismo da glicose, acompanhado por ritmos circadianos mais robustos em comparação com ratos alimentados *ad libitum* (12).

A sincronização do relógio circadiano pelo ambiente parece crucial para o controlo correto da homeostase celular e corporal. Neste contexto, dados experimentais recentes em humanos demonstraram a associação entre a duração do sono curto e o desenvolvimento de desequilíbrios metabólicos (5,12).

Durante o jejum intermitente (JI), a comida está disponível *ad libitum* a cada dois dias. Ratos alimentados a JI comem nos dias em que têm acesso a alimentos, aproximadamente o dobro do que aqueles que têm acesso contínuo à alimentação. Da mesma forma que animais que são sujeitos a RC, animais alimentados a JI exibem aumento da esperança de vida em comparação com o controle *ad libitum*, bem como melhoria do metabolismo da glicose, da proteção neuro e cardiovascular e aumento da resistência ao cancro (2,8).

Por conseguinte, quando as calorias são reduzidas ou quando se restringe a alimentação ao período de atividade do ser vivo, como acontece durante os regimes de RC e JI ocorre uma sincronização do relógio que pode influenciar uma ampla variedade de sistemas, sendo que os sistemas celulares e fisiológicos executam de uma forma mais sincronizada e adequada as suas funções, influenciando positivamente o envelhecimento (5).

Atualmente, a crono-nutrição é uma nova estratégia de estilo de vida alimentar usado para neutralizar as ações prejudiciais do *stress* oxidativo em sistemas fisiológicos durante o envelhecimento (11), apesar de que os mecanismos exatos que regem o efeito destes regimes na ritmicidade circadiana e longevidade requeem mais estudos.

#### **4. Dessincronização do Relógio Circadiano e Doenças Neurodegenerativas**

Com o avançar da idade, os animais exibem inúmeras dessincronizações circadianas que contribuem para consequências para a saúde e senescência acelerada. Tal como referido a cima, a longevidade é diminuída por perturbações circadianas e aumentada pela restauração de comportamento circadiano juvenil por transplante de um relógio fetal em cérebros de animais idosos (8).

Tem sido relatado que ratos idosos são 20 vezes menos sensíveis ao efeito de sincronização da luz em comparação com os animais jovens. Quando o NSQ se torna menos sensível, o relógio endógeno torna-se extremamente importante (8).

Numerosos estudos ao longo dos últimos 30 anos descrevem uma ampla variedade de alterações do ciclo circadiano de sono-vigília que ocorrem no envelhecimento e em doenças neurodegenerativas. Esses ritmos circadianos são frequentemente interrompidos em doentes com doenças neurodegenerativas, incluindo doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson (DP) e doença de Huntington (DH) (13).

Enquanto ritmos de todo o organismo são conhecidos por serem interrompidos em muitas doenças neurodegenerativas, existe menos informações sobre alterações específicas na expressão e funções de proteínas relógio, nestas condições. Além disso, ainda não está claro se, ou como, perturbações circadianas podem influenciar o próprio processo

neurodegenerativo, ou se o núcleo do relógio representa um alvo terapêutico razoável para o tratamento ou prevenção da neurodegeneração.

Um mecanismo proposto de disfunção circadiana na DA é a degeneração do NSQ, com perda de AVP e PIV. A oscilação circadiana dos genes do relógio na glândula pineal humana foi interrompida, mesmo em fases muito precoces da DA, espelhando perda de secreção de melatonina rítmica (13).

No caso da DP, a segunda condição neurodegenerativa relacionada com a idade mais comum no mundo, há uma ampla evidência de ritmos circadianos interrompidos e perturbações sono-vigília em humanos e em modelos roedores. Pacientes com DP apresentam perturbações progressivas dos ritmos de atividade, bem como oscilações circadianas tanto da libertação de melatonina como da expressão de Bmal1 em monócitos do sangue periférico. Modelos voadores e roedores com DP expressam uma proteína humana mutante, a alfa-sinucleína, implicada na patogênese da doença, desenvolvendo dessincronizações circadianas comportamentais no início do curso da doença (13).

A doença de Huntington (DH), ao contrário da DA e DP, é uma doença autossômica causada pela expansão de trinucleotídeos no gene da huntingtina. A neurodegeneração ocorre mais cedo em doentes com DH e, inicialmente, envolve os gânglios basais. Disfunção do sono e do ritmo circadiano são comuns na DH, porém há uma escassez de estudos sobre a expressão dos genes do relógio na DH humana (13).

Muitos estudos até à data têm examinado a relação entre o envelhecimento e a função circadiana, com a diminuição da amplitude do ritmo bem como alterações na fase circadiana sendo achados comumente relatados. Estas alterações nos parâmetros circadianos são exacerbadas na DA, levando ao aumento de despertares noturnos e ataques de sono durante o dia.

Perturbações do sistema circadiano, que se manifestam como perturbações dos ritmos diários de parâmetros fisiológicos como o sono, a atividade e secreção de hormonas, têm sido observados como um sintoma de várias doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer. Anormalidades circadianas foram geralmente consideradas consequências da neurodegeneração. Evidências recentes sugerem, no entanto, que a rutura circadiana pode contribuir efetivamente para o processo neurodegenerativo, e, portanto, pode ser uma causa da lesão neural modificável (13).

Ciclos de repouso / atividade em pacientes com DA foram examinados durante mais de um ano, sendo que aqueles que apresentam demência leve exibiram ritmos não significativamente diferentes dos indivíduos do grupo controlo, enquanto que aqueles com

demência moderada exibiram fragmentação do ritmo e diminuição da amplitude do mesmo (14).

As alterações locomotoras globais que ocorrem na DA parecem estar relacionadas com alterações comportamentais mais específicas, por exemplo no tempo de alimentação, que por sua vez pode ser ligada a resultados nutricionais pobres. Os resultados de um grande estudo prospetivo indicam que as mudanças nos padrões de atividade circadiana são preditores significativos de DA ou comprometimento cognitivo leve, sugerindo que os ritmos comprometidos podem ser um fenômeno pré-clínico (14). Outro ponto de interesse é que os medicamentos anti-psicóticos, haloperidol e clozapina (15), usados no tratamento clínico da DA podem ter impacto sobre o ritmo circadiano, através do envolvimento de componentes moleculares do sistema circadiano (14).

Uma consequência potencial de ritmos circadianos alterados nos doentes com a DA é a agitação comportamental. Os doentes afetados pela DA geralmente desenvolvem sintomas variados de comportamento disruptivo, como agitação e inquietação, explosões verbais, desorientação temporo-espacial, ameaças físicas e agressões. "Sundowning" é o termo dado para a ocorrência dos sintomas acima referidos, durante o final da tarde ou início da noite. A prevalência de *sundowning* na DA é relatada como sendo de 13% a 66% (14).

Há algumas questões importantes que limitam a interpretação dos estudos funcionais de ritmos circadianos em DA. Primeiro, é a natureza do diagnóstico utilizada para selecionar populações em estudo, de demência do tipo Alzheimer provável, que não pode ser confirmada até exame pós-morte (não são rotineiramente realizados). Dado que a demência é um sintoma de muitas outras doenças da velhice e que o exame pós-morte pode não confirmar um diagnóstico de DA (por exemplo, 15% de diagnósticos não são confirmados na autópsia), parece provável que as populações examinadas nos estudos feitos representem uma população heterogénea. A segunda ressalva é a facilidade com que os ritmos podem ser mascarados por fatores ambientais, tais como cuidados de enfermagem, terapias ocupacionais, e uma série de fatores sociais (14).

Tendo em conta que há evidências consideráveis de disfunção circadiana na DA, abordagens terapêuticas que procurem solucionar anormalidades circadianas podem proporcionar novas abordagens terapêuticas co-adjuvantes para a DA.

Essas intervenções cronoterapêuticas podem envolver a componente ambiental (por exemplo, a terapia de luz), comportamental (por exemplo, o exercício físico), e / ou farmacológica (por exemplo, a melatonina) (14). A terapia de luz noturna levou à estabilização de ritmos e melhoria do sono, embora a terapia da luz da manhã também tenha

melhorado significativamente o sono. A terapia da luz da manhã também reforça os ritmos circadianos e melhora o estado mental, especialmente nas fases iniciais da doença de Alzheimer. Esta terapia também parece retardar o aparecimento de *sundowning* por uma hora e meia, embora as manifestações de agitação não sejam alteradas (14).

Mesmo em demência grave a terapia da luz da manhã pode levar à resincronização dos ritmos circadianos e melhorar os sintomas comportamentais, e ambas as terapias melhoram os parâmetros circadianos e levam à consolidação do sono.

A eficácia da terapia de luz também pode ser significativamente reforçada em combinação com o tratamento de melatonina. Ambientes de cuidados para pacientes com demência são muitas vezes mal iluminados, um fator que pode ser relevante quando se considera o potencial impacto da luz sobre a sincronização de ritmos alterados (14).

É importante realçar que os resultados obtidos a partir de animais transgênicos confirmaram a interação do relógio circadiano e o envelhecimento. Por fim, a evidência adicional revelou que alguns dos mecanismos que estão por detrás das patologias relacionadas com a idade estão também associados a alterações do ritmo circadiano. Especificamente, tal como discutido acima, os mecanismos de energia celulares parecem ser críticos no grupo de controlo circadiano e o processo de envelhecimento (12).

## 5. Perspetivas Futuras

Em que medida o conhecimento apresentado acima é traduzido em intervenções farmacêuticas eficazes? Os exemplos mais evidentes da cronoterapia são aqueles com sucesso óbvio no dia-a-dia. O tratamento da asma brônquica foi ajustado para exibir níveis plasmáticos máximos no momento de maior ocorrência de dispneia, e, por conseguinte, aliviar os sintomas de forma mais eficaz. Da mesma forma, as pressões sanguíneas mostram um pico acentuado no início da manhã, que coincide com o pico de eventos cardiovasculares. O bloqueador do canal de cálcio do tipo L verapamil, por exemplo, usa uma formulação de libertação prolongada que, ao ser administrada oralmente ao deitar, apresenta níveis plasmáticos terapeuticamente eficazes de manhã cedo, de modo a atenuar esse pico acentuado de pressão sanguínea que ocorre no início da manhã (3).

Estudos durante os últimos anos têm permitido identificar os mecanismos moleculares fundamentais do processo de envelhecimento (12). Algumas estratégias em modelos animais mostraram que é possível atrasar o envelhecimento. Estas estratégias podem incluir nutrientes e regimes alimentares e abordagens farmacológicas (12). Assim,

estratégias terapêuticas que incluem a regulação circadiana do metabolismo devem ser tomadas em consideração.

No que respeita à cronoterapêutica, há sinais encorajadores de estudos de intervenções ambientais simples, como aumentar a iluminação ambiente nos cuidados institucionais e a terapia de luz também tem mostrado alguma promessa (12). As tentativas de modular estes caminhos através da cronoterapia são suscetíveis de melhorar as propriedades de anti-envelhecimento e atenuar possíveis efeitos colaterais (12). Novos estudos envolvendo a manipulação de genes do relógio circadiano e das condições ambientais de habitação em que os animais são estudados, têm muito a oferecer no estudo do envelhecimento.

## **6. Conclusão**

Distúrbios do ritmo circadiano levam à inflamação, cancro e diminuição da esperança de vida, ao passo que ritmos sincronizados levam a bem-estar e aumento da longevidade. Com base no conhecimento gerado nos últimos vinte anos, é agora bem aceite que os ritmos circadianos, juntamente com os ajustes temporais necessários para lidar com as mudanças ambientais diárias, fazem parte do estado normal que caracteriza a resposta fisiológica na maioria dos seres vivos do nosso planeta (2).

As ligações entre as redes circadianas do relógio molecular e as redes metabólicas são agora consideradas áreas de potencial interesse para testar novas terapias e abordagens médicas que possam impedir ou melhorar diversas anomalias de saúde. Compreender as relações de causa / efeito entre os regimes alimentares, o relógio circadiano, e benefícios de saúde / longevidade são de extrema importância e pode ser imprescindível na promoção da saúde e aumento a longevidade.

De fato, é de prever num futuro próximo, um aumento do interesse tanto da comunidade científica e do público em geral sobre a interdependência entre ritmicidade circadiana, processos patológicos, e o envelhecimento (11).

Informações sobre o a intervenção do sistema circadiano em anormalidades no processo de envelhecimento é limitada e existe uma enorme oportunidade para explorarmos essas associações de genes ao comportamento. Novos estudos que investigam o impacto do envelhecimento no relógio principal do NSQ e os mecanismos de acoplamento do mesmo com relógios periféricos irão levar a um aumento da visão sobre a maximização da saúde com o avançar da idade.

## 7. Referências Bibliográficas

- (1) GIBSON, E., WILLIAMS, W., KRIEGSFELD, L. - Aging in the Circadian System: Considerations for Health, Disease Prevention, and Longevity. *Exp Gerontol.* 44 (2009) 51-6.
- (2) FROY, O. - Circadian Rhythms, Aging, and Life Span in Mammals. *Physiology.* 26 (2011) 225-35.
- (3) DALLMANN, R., BROWN, S., GACHON, F. - Chronopharmacology: New Insights and Therapeutic Implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 54 (2014) 339-61.
- (4) REINBERG A., MOTOHASHI Y., BOURDELEAU P., ANDLAUER P., LÉVI F., BICAKOVA-ROCHER A. - Alteration of period and amplitude of circadian rhythms in shift workers. *Eur J Appl Physiol* 57 (1988) 15-25.
- (5) FROY, O., MISKIN, R. - Effect of feeding regimens on circadian rhythms: Implications for aging and longevity. *Aging (Albany NY).* 11 (2010) 7-27.
- (6) MOORE-EDE, C., SULZMAN, M., FULLER A. - The clocks that time us. Cambridge, M A: Harvard University Press, 1992.
- (7) ASCHOFF J., WEVER A. - The circadian system of man. In: Aschoff J, ed. *Handbook of behavioral biology*, Vol 4. London: Plenum Press, 1981: 311-31.
- (8) FROY, O. - Circadian aspects of energy metabolism and aging. *Ageing Res Rev.* 12 (2013) 931-40.
- (9) MOORE Y. - The circadian system and sleep-wake behavior. In: *Sleep and Biological Rhythms.* Eds. Montplaisir J, Godbout R. Oxford University Press, 1990: 3-10.
- (10) ASCHOFF J., HOFFMAN K., POHL H., WEVER R. - Re-entrainment of circadian rhythms after phase shifts of the zeitgeber. *Chronobiologia*, 2 (1975) 23-78.
- (11) ARELLANES-LICEA, E., CALDELAS, I., DE ITA-PÉREZ, D., DÍAZ-MUÑOZ, M. - The Circadian Timing System: A Recent Addition in the Physiological Mechanisms Underlying Pathological and Aging Processes. *Aging Dis.* 9 (2014) 406-18.
- (12) OROZCO-SOLIS, R., SASSONE-CORSI, P. - Circadian clock: linking epigenetic to aging. *Curr Opin Genet Dev.* 26 (2014) 66-72.
- (13) MUSIEK, E. - Circadian clock disruption in neurodegenerative diseases: cause and effect? *Front Pharmacol.* 27 (2015) 6-29.
- (14) COOGAN, A., SCHUTOVÁ, B., HUSUNG, S., FURCZYK, K., BAUNE, B., KROPP, P., HABLER, F., THOME, J. - The Circadian System in Alzheimer's disease: Disturbances, Mechanisms, and Opportunities. *Biol Psychiatry.* 74 (2013) 333-9.
- (15) WIRZ-JUSTICE, A., WERTH, E., SAVASKAN, E., KNOBLAUCH, V., GASIO, P., MULLER-SPAHN, F. - Haloperidol disrupts, clozapine reinstates the circadian rest-activity

cycle in a patient with early-onset Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 14 (2000) 212-215.