

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ASPECTOS CRONOBIOLOGICOS
DA SÍNDROME DO COMER NOTURNO**

ANA BEATRIZ CAUDURO HARB

Porto Alegre, 02 de setembro de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ASPECTOS CRONOBIOLOGICOS
DA SÍNDROME DO COMER NOTURNO**

ANA BEATRIZ CAUDURO HARB

Orientador: Maria Paz Loayza Hidalgo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, como requisito para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, 02 de setembro de 2013

CIP – Catalogação na Publicação

Harb, Ana Beatriz Cauduro

Aspectos cronobiológicos da Síndrome do Comer Noturno / Ana Beatriz Cauduro Harb – Porto Alegre: 2013.

142f.

Orientadora: Maria Paz Loayza Hidalgo.

Tese (Doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR- RS, 2013.

1. Síndrome do Comer Noturno. 2. Ritmos Circadianos. 3. Cronobiologia. 4. Relógios Biológicos. 5. Expressão Gênica. I. Hidalgo, Maria Paz Loayza, orient. II. Título

Dedicatória

Dedico este trabalho
à todos que passaram
pelo meu caminho
e que de alguma maneira
contribuíram para o meu
crescimento profissional.

Agradecimentos

À PROF. DRA. MARIA PAZ LOAYZA HIDALGO, pela acolhida em seu grupo de pesquisa de Cronobiologia Humana, pelos ensinamentos, pelos estímulos, por me fazer acreditar em minha capacidade, mesmo que por vezes esta tarefa parecesse o impossível, por oportunizar através do seu conhecimento científico o desenvolvimento técnico do meu saber e pela incansável dedicação a esta pesquisa.

AOS MEUS PAIS MOHAMAD ZACHARIAS HARB E THEREZINHA YOLANDA CAUDURO HARB que me deram educação e sempre instigaram a busca pelo conhecimento e oportunizaram o meu aprendizado. Principalmente a minha mãe pela participação importante na escolha da minha profissão e pelo exemplo de mulher guerreira que ela é.

AOS MEUS IRMÃOS VERA, GUTO E LEILA, MEUS CUNHADOS FERNANDO, CLÓVIS E NÁDIA, MINHAS SOBRINHAS GRACI, FRAN E ISA E MEUS QUERIDOS AFILHADOS ICK, MATHEUS E NICHOLAS que reclamavam a minha ausência por estar dedicada a este estudo. Obrigada pela paciência e por esperar a conclusão desta tarefa entendendo os meus motivos.

UM AGRADECIMENTO ESPECIAL A MINHA IRMÃ MATHÊ, que prometeu, mas não pode cumprir, de que estaria comigo para me auxiliar em tudo o que eu precisasse nesta pesquisa, mas que foi ceifada do nosso convívio antes do término deste trabalho. Que ela esteja bem, onde estiver, e continue olhando por nós.

A COORDENAÇÃO DO CURSO DE NUTRIÇÃO DA UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS (UNISINOS), Regina Alcantara e Denise Zaffari que me motivaram e me deram forças para que eu trilhasse este caminho me incentivando a realização deste trabalho.

AS 'THE BEST, Denise Zaffari, Bruna Pontin e Zilda Albuquerque, um grupo seletivo de grandes amigas do peito e colegas, que mesmo sem a convivência diária pelos afazeres de cada uma, estiveram sempre por perto para me amparar em qualquer passo. Em especial a minha grande amiga de muito, muito tempo, Denise Zaffari, mais do que uma amiga, uma irmã, o meu carinho especial. Mesmo sem a presença física estava “comigo” pelo menos para dividir os momentos mais difíceis com palavras amigas e me dar um pouco de colo.

AS MINHAS COLEGAS E AMIGAS, Paula Campagnolo, Ruth Henn, Lovaine Rodrigues, Priscila Lora, Thais Galarraga, Ana Carolina Pio, pelo companheirismo, amizade, incentivo.

A MINHA COLEGA E COLABORADORA Fabricia Escobar pelo empenho em me ajudar em cada tarefa necessária.

AOS MEUS ALUNOS DA UNISINOS que me incentivam crescer, a ser melhor pessoa e a estudar mais para me tornar ainda mais competente nos ensinamentos da apaixonante ciência da nutrição.

AO GRUPO DE PESQUISA DE CRONOBIOLOGIA HUMANA, fonte constante de aprendizado, pelo companheirismo, amizade e incentivo. **AGRADECIMENTO ESPECIAL AS AMIGAS QUERIDAS ROSA MARIA LEVANDOVSKI E REGINA SCHIMITT** pela parceria, carinho, paciência, atenção, compreensão, ombro amigo e apoio. Meu obrigado de coração pela companhia nas viagens aos congressos, pelo crescimento, risadas e dividir os momentos de tensão.

A MINHA INICIAÇÃO CIENTÍFICA, FRANCINE HARB CORREA, minha sobrinha querida, minha “quase filha” pela pessoa especial que ela é, trabalhou com afinco

para tornar possível esta coleta de dados. Que Deus guie o seu futuro, que a torne uma médica competente, com sabedoria, mas antes de tudo humana.

A TODOS QUE ACEITARAM FAZER PARTE DESTA PESQUISA dedicando parte do seu tempo de forma tão prestativa e dedicada.

AOS MEUS PACIENTES que sempre tiveram uma palavra de incentivo para ir em frente e me fazendo acreditar que sou capaz.

AS MINHAS SECRETÁRIAS TANIA E ELAINE que me apoiaram organizando o tempo para me dividir entre todas as tarefas.

AS MINHAS AMIGAS Marcia, Lidia, Renata, Paula, Neka, Zu, Eluza que sempre me deram força, meu muito obrigado por respeitar a minha escolha.

AOS QUE ME CUIDARAM DURANTE ESTE PROCESSO, Luciane Zanon, Alex Fagundes, Juliane Marafon e muitos outros, obrigada mesmo.

AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RS, que apoiou o presente estudo.

AO COLÉGIO AMERICANO E AO INSTITUTO METODISTA DE EDUCAÇÃO E CULTURA (IMEC), atualmente Rede Metodista de Educação **IPA,** pelo desenvolvimento de minha vida acadêmica.

Agradecimento Especial

O meu especial **super obrigado** à
Leila El Khatib por estar SEMPRE ao meu lado
me cuidando, me nutrindo, me incentivando
mesmo que por muitas vezes sentia a falta
da minha presença.
Obrigada mesmo por tornar tudo isto possível
e pela pessoa maravilhosa que és.

“There is grandeur in this view of life, with its several powers, having been originally breathed into a few forms or into one; and that, whilst this planet has gone cycling on according to the fixed law of gravity, from so simple a beginning endless forms most beautiful and most wonderful have been, and are being, evolved.”

Charles Darwin (1859). The Origin of Species.

RESUMO

Introdução: Os seres vivos sincronizam suas atividades com os ciclos ambientais influenciados por fatores externos como as condições de luz, horários de alimentação, interações sociais e por fatores endógenos como os genéticos, níveis hormonais e apetite, entre outros. Sensores percebem a variação temporal informando o estado de iluminação ambiental através da rede neural ou sistema endócrino mediado pelos relógios circadianos. Os genes do relógio pertencem a quatro famílias: CLOCK, BMAL1, Cryptochromes e Period onde a formação, expressão e supressão da transcrição destes e de seus heterodímeros resultam na ritmicidade de 24h. O relógio circadiano modula o metabolismo de energia através do controle da atividade de diversas enzimas, dos sistemas de transporte e de receptores nucleares envolvidos no metabolismo dos nutrientes. Alterações nos horários de alimentação podem modificar a relação entre o relógio central e os relógios periféricos podendo causar mudanças no metabolismo e afetar o sistema circadiano. Em algumas desordens alimentares como a Síndrome do Comer Noturno (SCN), reconhecida como um atraso de fase da alimentação, o ritmo de alimentação está alterado. Assim sendo, a SCN pode ser um fator que influencia na obesidade, modificando padrões do sono, padrão alimentar, apetite e regulação neuroendócrina.

Objetivos: Estudar os aspectos cronobiológicos na SCN. **Métodos:** Características, como aspectos emocionais, cronotipo e qualidade do sono foram avaliadas por meio de questionários. Variáveis de ritmicidade da atividade e exposição à luz foram avaliadas por actigrafia e a expressão dos genes do relógio CLOCK, BMAL1, Cry 1 e Per 2 foi medida em leucócitos. **Resultados:** 28 pacientes (14 com SCN - 10 mulheres e 14 controles - 9 mulheres) participaram deste estudo. A média de idade foi de $40,71 \pm 12,37$ anos e IMC foi de $26,8 \pm 5,7$ kg/m². Não foi encontrada nenhuma evidência cronobiológica nas análises realizadas relacionada à SCN. **Conclusão:** Nossos resultados não corroboram a hipótese de que o *the time system* pode ser ligado à fisiopatologia da SCN, pois a associação de sintomas que definem a SCN como uma síndrome. Os tempos e a qualidade da alimentação devem ser mais profundamente estudados para esclarecer a relação entre a alimentação e o fato de que se os seres humanos alocam a sua principal alimentação no turno da noite pode trazer consequências ao metabolismo e refletir mudanças no comportamento e

contribuir no controle da obesidade. Este é o primeiro estudo em humanos para relacionar os genes do relógio e a SCN.

PALAVRAS-CHAVE: Expressão gênica, ritmos circadianos, relógio circadiano, relógio biológico, Síndrome do Comer Noturno.

ABSTRACT

Introduction: Living beings synchronize their activities with environmental cycles influenced by external factors such as light conditions, feeding schedules, social interactions and endogenous factors such as genetics, hormone levels and appetite, among others. Sensors perceive the temporal variation informing the state of ambient lighting through the neural network or endocrine mediated by circadian clocks. The clock genes belong to four families: CLOCK, BMAL1, Cryptochromes and Period where the formation, expression and suppression of these transcriptions and their heterodimers result in 24h rhythmicity. The circadian clock modulates energy metabolism by controlling the activity of several enzymes, transport systems and nuclear receptors involved in the metabolism of nutrients. Changes in feeding schedules may modify the relationship between the central clock and peripheral clocks and cause changes in metabolism and affect the circadian system. Some eating disorders, such as Night Eating Syndrome (NES) recognized as a phase delay in the feed, the feed rhythmicity could be changed. Thus, NES may be a factor that influences in obesity, changing sleep and eating patterns, appetite and neuroendocrine regulation. **Objectives:** Cross-sectional study to examine the chronobiological aspects of NES. **Methods:** Features such as emotional aspects, chronotype and sleep quality were assessed by questionnaires. Variables rhythmicity of activity and light exposure were assessed by actigraphy and expression of clock genes CLOCK, BMAL1, Cry 1 and Per 2 was measured in leukocytes. **Results:** 28 patients (14 with SCN - 10 women and 14 controls - 9 women) participated in this study. The age average was 40.71 ± 12.37 y and BMI was 26.8 ± 5.7 kg/m². We found no evidence in chronobiological analyzes related to SCN. **Conclusion:** Our results do not support the hypothesis that the time system can be connected to the pathophysiology of NES, because the association of symptoms that define the NES as a syndrome mainly by the characteristic temporal power that is possibly involved with the time system. The timing and quality of food should be further studied to clarify the relationship between food and the fact that humans allocate their main food in the night shift may have consequences for metabolism and reflect changes in behavior and contribute to the control of obesity. This is the first study in humans to relate the clock genes and NES.

KEYWORDS: Gene expression, circadian rhythm, circadian clocks, biological clocks, Night Eating Syndrome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estratégias de busca para localizar e selecionar as informações.	27
Figura 2. Receptores de sinais.....	33
Figura 3. Ritmo circadiano.....	34
Figura 4. Genes do relógio.....	36
Figura 5. Tradução e transcrição.....	39
Figura 6. Relógio circadiano em mamíferos.....	46
Figura 7. Sistema circadiano e alimentação.....	53
Figura 8. Estímulos ambientais.....	54
Figura 9. Relógios circadianos e metabolismo.....	58
Figura 10. Conexões com o sistema endócrino.....	62
Figura 11. Relógio, funcionamento e hora do dia.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Produção realizada.....	119
Quadro 2. Expressão Gênica em Humanos.....	129

LISTA DE ABREVIATURAS

SIGLA	Significado
5-HT2C	(5-hydroxytryptamine serotonin receptors 2C) Antagonista dos receptores de serotonina
AA	Aminoácidos
ACTH	(<i>Adrenocorticotropic hormone</i>) Hormônio adrenocorticotrófico
AD	(<i>Adrenal gland</i>) Glândula adrenal
AgRP	(<i>Agouti-Related Protein</i>) Proteína Agouti relacionada
AMY	(<i>Amygdala</i>) Amígdala
ARC	(<i>Arcuate Nucleus</i>) Núcleo arqueado
ARNTL	(<i>Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator</i>) Translocador Nuclear Receptor Aril Hidrocarboneto
AVP	(<i>Arginine Vasopressin</i>) Arginina vasopressina
BAT	(<i>Brown adipose tissue</i>) Tecido adiposo marrom
BED	(<i>Binge Eating Disorder</i>) Transtorno da compulsão alimentar periódica
bHLH	(<i>Basic helix-loop-helix</i>)
BMAL1	<i>Brain and muscle Arnt-like protein 1</i>
BNST	(<i>Bed nucleus of the stria terminalis</i>) Leito do núcleo da estria terminal
Ca	Cálcio
CART	(<i>Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript</i>) Peptídeo regulador da transcrição de anfetamina e cocaína

CB	(<i>Cerebellum</i>) Cerebelo
CK	(<i>Casein kinase</i>) Caseína quinase
CLOCK	<i>Circadian locomoter output cycles kaput</i>
CREB	(<i>AMPC response element-binding protein</i>) Proteína de Ligação ao Elemento de Resposta ao AMP Cíclico
CRH	(<i>Corticotropin-Releasing Hormone</i>) Hormônio Regulador da Corticotrofina
CRY	<i>Cryptochrome</i>
CX	(<i>Cerebral Cortex</i>) Córtex cerebral
DEC1	(também chamados de BHLHB2, STRA13, or SHARP2) Fator de transcrição <i>basic helix–loop–helix</i>
DEC2	(também chamados de BHLHB3 or SHARP1) Fator de transcrição <i>basic helix–loop–helix</i>
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
DMH	(<i>Dorsomedial Hypothalamus</i>) Hipotálamo dorsomedial
DMV	(<i>Dorsal motor nucleus of the vagus</i>) Núcleo dorsal nervo vago
DRN	(<i>Dorsal raphe nucleus</i>) Núcleo dorsal da rafe
DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
E-box	<i>Enhancer Box</i>
EDE	<i>Eating Disorder Examination</i>
FA	(<i>Fat acids</i>) Ácidos graxos
HB	(<i>Habenula</i>) Glândula pineal

HIP	Hipocampo
IC	Intervalo de confinça
IGL	<i>(Intergeniculate Leaflet)</i> Folheto intergeniculado
IML	<i>(Intermediolateral nucleus)</i> Núcleo intermediolateral
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina
LH	<i>(Lateral Hypothalamus)</i> Hipotálamo lateral
Mel1 e Mel2	Melatonina 1 e 2 - Receptores
MRN	<i>(Median Raphe Nucleus)</i> Núcleo mediano da rafe
NAC	Núcleo Accumbens
NAD	<i>(Nicotinamide Adenine Dinucleotide)</i> Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (forma oxidada)
NADH	<i>(Nicotinamide Adenine Dinucleotide)</i> Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (forma reduzida)
NADP	<i>(Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate)</i> Nicotinamida Adenina dinucleótido fosfato (forma oxidada)
NADPH	<i>(Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate)</i> Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reduzida)
NE	Norepinefrina
NEQ	<i>(Night Eating Questionnaire)</i> Questionario sobre hábitos do comer noturno
NESS	<i>Night Eating Symptom Scale</i>
NPY	Neuropeptídeo Y
NSQ	Núcleo Supraquiasmático

NTS	<i>(Nucleus of the Solitary Tract)</i> Núcleo do trato solitário
OB	<i>(Olfactory Bulb)</i> Bulbo olfatório
ORX	Orexina
PAI-1	<i>(Plasminogen activator inhibitor-1)</i> Ativador do plasminogênio-1 tecidual
PAS	<i>Per-Arnt-Sim</i>
PBMCs	<i>(Peripheral blood mononuclear cells)</i> Células mononucleares do sangue periférico
PC	<i>(Piriform córtex)</i> Córtex piriforme
PER	<i>Period</i>
PGC1 α	<i>(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)</i> Receptor coativado pelos proliferadores de peroxissomas gama 1 - α
PIT	<i>(Pituitary)</i> Hipófise
POA	<i>(Pre optic area)</i> Área pré-óptica
POMC	Pro-opiomelanocortina
PPAR α	<i>(Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alfa)</i> Receptores ativados pelos proliferadores de peroxissomas alfa
PVN	<i>(Paraventricular nucleus)</i> Núcleo paraventricular do hipotálamo
RA	Restrição alimentar
RAR	<i>(Retinoic Acid Receptor)</i> Receptor do Ácido Retinóico
Redox	Redução-oxidação
RNAm	<i>(Ribonucleic Acid Messenger)</i> Ácido ribonucleico mensageiro

ROR	<i>(Retinoic Acid Receptor-related Orphan Receptor Response)</i> Receptores órfãos relacionados ao ácido retinóico
SCN	Síndrome do Comer Noturno
Sim	<i>Single-minded</i>
SM	Síndrome Metabólica
SNC	Sistema Nervoso Central
SPZ	<i>(Subparaventricular zone)</i> Zona sub paraventricular
TIM	<i>Timeless</i>
TSH	<i>(Thyroid-stimulating Hormone)</i> Hormônio estimulante da tireóide
UV	Ultravioleta
VIP	<i>(Vasoactive Intestinal Peptide)</i> Peptídeo vasoativo intestinal
VLM	<i>(Ventrolateral Medulla)</i> Medula ventrolateral
VMH	<i>(Ventromedial Hypothalamus)</i> Hipotálamo ventromedial
VTA	<i>(Ventral Tegmental Area)</i> Área tegmental ventral
WAT	<i>(White adipose tissue)</i> Tecido adiposo branco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 REVISÃO DA LITERATURA	26
2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES .	26
2.3 GENES DO RELÓGIO E SUAS PROTEÍNAS	35
2.3.1 Gene CLOCK.....	37
2.3.2 Gene BMAL1.....	37
2.3.2.1 Heterodímero CLOCK-BMAL1	38
2.3.3 Period (Per).....	40
2.3.3.1 Per1	40
2.3.3.2 Per2.....	40
2.3.3.3 Per3.....	41
2.3.4 Cryptochrome-like protein (Cry)	41
2.3.4.1 Cry1	42
2.3.4.2 Cry2.....	42
2.3.5 Timeless (TIM)	42
2.3.6 Novos genes envolvidos na regulação da ritmicidade circadiana	43
2.3.6.1 Fatores de transcrição: Caseína quinase CK ϵ e CK1 δ	43
2.3.6.2 Fatores de transcrição basic helix-loop-helix: Dec1 (Str13/Sharp2/BHLHB2) e Dec2 (Sharp1/BHLHB3)	44
2.3.6.3 Hormônios Órfãos de Receptores Nucleares	44
2.4 EXPRESSÃO GÊNICA	47
2.4.1 Expressão gênica de BMAL1	48
2.4.2 Expressão gênica de Cry1	49
2.4.3 Expressão gênica de Per2	49
2.5 METABOLISMO	51
2.5.1 Impacto da dieta na construção dos ritmos circadianos.....	58
2.5.2 Composição da dieta.....	59
2.5.3 Glicose.....	59
2.5.4 Lipídios	60
2.5.5 Influência nos hábitos alimentares.....	62

2.5.6 Tamanho das refeições	63
2.5.7 Intestino	63
2.5.8 Ritmos circadianos e peso corporal.....	63
2.6 SÍNDROME DO COMER NOTURNO.....	66
2.6.1 Histórico.....	66
2.6.2 Critérios diagnósticos	66
2.6.3 Instrumentos Utilizados	67
2.6.4 Tratamento.....	68
2.6.5 A Síndrome do Comer Noturno e os relógios circadianos.....	69
3 OBJETIVOS.....	74
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL	74
3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	74
4 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	75
5 ARTIGOS	90
5.1 Artigo 1	90
5.2 Artigo 2	95
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	116
7 PRODUÇÃO REALIZADA DURANTE O PERÍODO DE DOUTORAMENTO..	119
7.1. EVENTOS INTERNACIONAIS.....	119
7.2. EVENTOS NACIONAIS.....	121
7.3. ATIVIDADES DOCENTES	124
7.4 ARTIGOS PUBLICADOS.....	126
8 APÊNDICES	129
9 ANEXOS	130

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos seres vivos sincronizam suas atividades fisiológicas e comportamentais com os ciclos ambientais principalmente o ciclo claro/escuro, que é o sinal externo mais potente de sincronização com o meio ambiente. Estes ritmos de 24h são influenciados por uma grande variedade de fatores. Vários sinais fazem parte deste sistema e são chamados de "zeitgebers" (em alemão "doadores de tempo") que sincronizam diariamente os sistemas endógenos com pistas ambientais mantendo assim a sintonia. Como exemplo, podemos citar as condições de luz, os horários de alimentação, as interações sociais, entre outros. Há também os fatores endógenos como os fatores genéticos, níveis hormonais e do apetite, entre outros (1).

Nos seres vivos há a necessidade de sensores que percebam a variação temporal, e que, através da presença de sistemas humorais e neurais, informam a todo o organismo o estado de iluminação ambiental (2). Esta comunicação, entre os diferentes órgãos e sistemas, é feita através da rede neural ou pelo sistema endócrino, sendo mediado pelos relógios circadianos encontrados em todos os tecidos mamíferos investigados até os dias de hoje (3).

A ritmicidade circadiana necessita da presença de marca-passos. Estes exibem um padrão oscilatório geneticamente determinado, autossustentado com oscilações endógenas e ritmos de aproximadamente 24h representados pelos relógios biológicos. Os componentes do relógio têm sido encontrados em várias regiões do cérebro, além do núcleo supraquiasmático (NSQ), assim como em tecidos periféricos como fígado, rins, músculos, tecido adiposo, células sanguíneas, medula óssea, células intestinais, etc (3).

Os genes do relógio encontrados nos mamíferos pertencem a 4 famílias: *Circadian locomotor output cycles kaput* (CLOCK), *Brain and muscle Arnt-like protein 1* (BMAL1), *Cryptochromes* (Cry1 e Cry2) e *Period* (Per1, Per2 e Per3). São expressos ritmicamente no Sistema Nervoso Central (SNC) e nos tecidos periféricos (1, 4). A expressão e supressão da transcrição e a formação destes genes e seus heterodímeros de forma sequenciada resultam na ritmicidade de 24h (5).

O relógio circadiano modula o metabolismo de energia através do controle da expressão e atividade de diversas enzimas, assim como dos sistemas de transporte e de receptores nucleares envolvidos no metabolismo destes nutrientes, sendo capazes de transmitir informações sobre o seu estado metabólico para o relógio circadiano através de vários sensores (3, 4). Alterações nos horários de alimentação podem modificar a relação entre o relógio central e os relógios periféricos, sugerindo que estas podem causar mudanças no metabolismo e afetar o sistema circadiano (6).

Evidências sugerem que, em algumas desordens alimentares como a Síndrome do Comer Noturno (SCN), descrita pela primeira vez em 1955 (7), o ritmo de alimentação esteja alterado. Depois de um hiato de 40 anos, um estudo observacional-comportamental e um estudo neuroendócrino foram conduzidos para caracterizar mais profundamente a SCN (8). A partir daí os critérios diagnósticos vêm sendo modificados consideravelmente (9). Mais recentemente, dois fatores estão sendo utilizados como os mais preditivos para o diagnóstico que são a hiperfagia noturna (ingestão de pelo menos 25% do total de calorias consumidas/dia depois do jantar) e despertares noturnos com pelo menos metade das vezes acompanhados da ingestão de alimentos (10). A SCN é reconhecida como um atraso de fase da alimentação por arrastar o oscilador central. Esta modificação pode induzir a mudanças na expressão gênica circadiana, podendo ser um importante fator que influencia na obesidade, modificando padrões do sono, do padrão alimentar, do apetite e da regulação neuroendócrina (11).

A partir da importância destes fatos, nosso objetivo foi estudar os aspectos cronobiológicos da Síndrome do Comer Noturno.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES

Para apresentar o tema central deste estudo, assim como os aspectos históricos, epidemiológicos, neuroendócrinos e de diagnósticos, buscou-se suporte em artigos de revisão, estudos experimentais, observacionais, ensaios clínicos randomizados e duplo-cegos controlados.

Para localizá-los, foi utilizada a estratégia de busca *MEDLINE* (1955-2013) e o site da Livraria *COCHRANE*. Os descritores utilizados foram *night eating syndrome, circadian rhythms, chronobiology, gene expression and biological clocks*. Foram localizados 213 artigos nas bases de dados consultadas com as palavras *NIGHT EATING SYNDROME* (NES), conforme apresentado no organograma apresentado na **figura 1**. Desses foram selecionados 149 artigos que mencionavam NES no *abstract*. Foram excluídos artigos escritos em outros idiomas que não o Inglês, Espanhol, Português, Francês e Italiano. Utilizando as combinações das palavras *night eating syndrome and circadian rhythms* foram localizados 89 artigos; *night eating syndrome and chronobiology*, foram localizados 6 artigos; *night eating and gene expression* foram localizados 28 artigos; *night eating and biological clocks* foram localizados 16 artigos.

Na *BIREME* utilizando as palavras *night eating syndrome*, foram encontrados 198 artigos. No *LILACS* utilizando as palavras *night eating syndrome* foram encontrados 6 artigos. No *National Guideline Clearinghouse* foram encontrados 3 possíveis *guidelines*. No *Scielo* utilizando as palavras *night eating syndrome* foram encontrados 8 artigos. No *SUMSearch* utilizando as palavras *night eating syndrome* foram encontrados 166 referências, já localizadas nos outros sites mencionados acima.

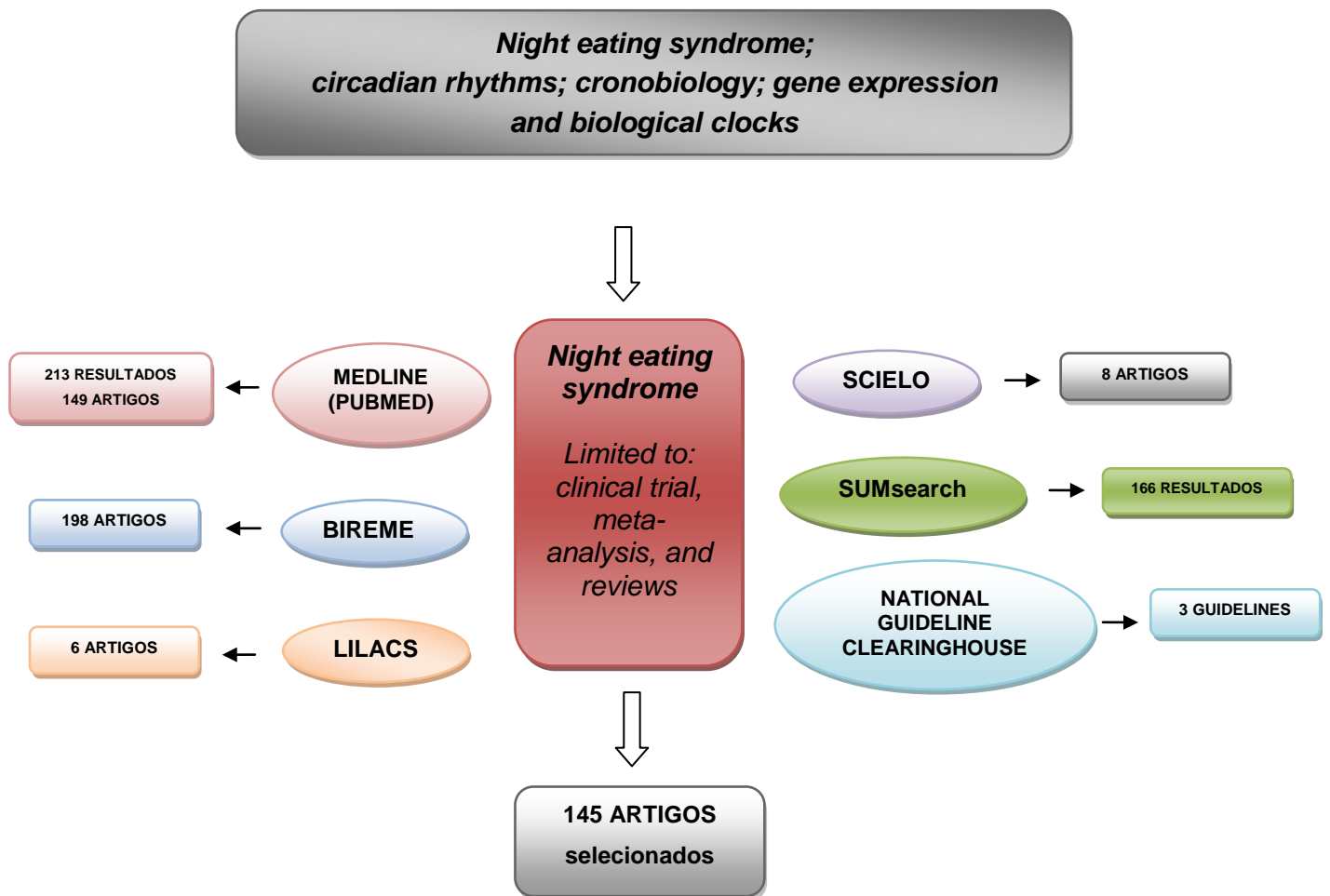


Figura 1. Estratégias de busca para localizar e selecionar as informações.

2.2 ASPECTOS CRONOBIOLÓGICOS

Cronobiologia é a ciência que tem por objetivo quantificar e investigar os mecanismos da estrutura do tempo biológico incluindo as manifestações rítmicas da vida (12). Este conceito foi introduzido em 1729, pelo astrônomo francês Jean Jacques d'Ortous Mairan, através da demonstração de que o ritmo diário de abertura e fechamento de folhas em plantas era mantido mesmo em escuro constante através da observação da planta *Mimosa* (13).

Anos mais tarde, outros estudos que datam do século 18, introduziram o conceito de fenômenos biológicos. Realizados em plantas, demonstravam que os fenômenos periódicos de 24h surgiam de osciladores biológicos controlados internamente e eram influenciados pela rotação da Terra. A esses fenômenos foi dado o nome de "relógios circadianos". Circadiana, palavra do latim: *circa* (cerca) e *dien* (*dia*) ou "cerca de um dia" diz respeito à sincronização dada pela luz e por suas oscilações (3). Por este motivo, as oscilações em torno de 24h de periodicidade foram referidas como circadianas.

A maioria dos seres vivos incluindo bactérias, fungos, plantas, insetos, animais e os seres humanos sincronizam suas atividades fisiológicas e comportamentais com os ciclos ambientais principalmente o ciclo claro/escuro. Estes ritmos inatos de 24h são influenciados por uma grande variedade de fatores. Vários sinais estão incluídos neste sistema e são chamados de "*zeitgebers*" (em alemão "doadores de tempo") ou arrastadores, ou temporalidade externa que podem sincronizar diariamente os sistemas endógenos com pistas ambientais mantendo assim a sintonia. Existem ritmos gerados endogenamente como os fatores genéticos, níveis hormonais e do apetite. Além disto, podemos citar os agentes externos como as condições ambientais de luz (sendo esta a mais potente dos estímulos ambientais), os horários de alimentação, as interações sociais, entre outros (1, 12, 13). Todos estes ritmos são essenciais para a sobrevivência.

Os ritmos sociais são resultantes da exposição regular aos *zeitgebers* sociais, uma categoria de agentes não fóticos de sincronização de ritmos biológicos.

Estímulos sociais atuam na sincronização de ritmos biológicos determinando comportamentos que afetam os padrões de exposição à luz e da ingestão alimentar (14). Além do mais determinam o início do período de vigília e em concomitância com a exposição luz matinal, podendo mimetizar o efeito da luz por um condicionamento clássico (15, 16). Os determinantes genéticos do ritmo social são desconhecidos, embora já seja conhecido que o comportamento social apresente bases biológicas. A persistência diária de *jetlag social*, onde o relógio interno não corresponde ao relógio social imposto pelo trabalho, horário de dormir, de fazer refeições, etc e pode estar está associado com aumento de peso (17).

A maquinaria do relógio controla a fisiologia em vários níveis, desde a expressão do gene e a produção de suas proteínas, até comportamentos complexos que incluem o ciclo sono-vigília, desempenho cognitivo, componentes do metabolismo, detoxificação, transdução de sinais, secreções, proliferação celular, atividades neuronais, renais e cardiovasculares, resposta imune, dentre outros processos vitais (18). Torna-se cada vez mais evidente que a homeostase metabólica depende da exatidão, acurácia e colaboração do sistema temporizador existente em cada órgão, tecido e célula (19). Assim sendo, os ritmos biológicos não afetam somente as funções fisiológicas, mas também a fisiopatologia das doenças, tornado-se crucial para a saúde e sobrevivência de todos os organismos vivos (20). O relógio circadiano disfuncional está associado a distúrbios do sono, diminuição da cognição, distúrbios psicológicos, infertilidade, malformações ósseas, tumorigênese, assim como o aumento da toxicidade de estressores químicos e radiações mutagênicas. Evidências clínicas e experimentais indicam que várias doenças como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, edema pulmonar, crises hipertensivas, entre outras, apresentam picos em determinados momentos durante o dia, demonstrando um ritmo de 24h também para a fisiopatologia de diversas doenças (4, 21).

Nos seres vivos há necessidade de sensores que percebam a variação temporal. Além disto, a presença de sistemas humorais e neurais é essencial para informar a todo o organismo o estado de iluminação ambiental e que também possa acompanhar estas variações. O ciclo de claro-escuro é o sinal externo mais forte e mais confiável de sincronização dos ritmos biológicos com o meio ambiente (2).

O organismo vivo multicelular atua de forma integrada e sincronizada. A comunicação entre diferentes órgãos e sistemas pode ser feita através da rede neural ou pelo sistema endócrino. A informação é transmitida em tempo real e os órgãos-alvo reagem segundo o estado em que se encontram no momento em que recebem o estímulo. Este processo é mediado pela maquinaria dos relógios circadianos (genes do relógio) que são definidos como um conjunto de proteínas de autotranscrição com *feedback* positivo e negativo bem coordenado em um período de 24h (19).

Entre as características do relógio circadiano estão a sua persistência em condições constantes, a periodicidade e a compensação da temperatura corporal, e seu arrastamento para a luz do sol em todos os organismos vivos. Além disto, permite que os organismos possam prever e reagir a alterações diárias de mudanças de luz externa com o ambiente escuro, tornando possível a sincronização dos processos fisiológicos e comportamentais com o meio ambiente a fim de otimizar a utilização da energia, da reprodução e sobrevivência (4, 22).

Os componentes do relógio têm sido encontrados em várias regiões do cérebro, além do núcleo supraquiasmático (NSQ) como, por exemplo, núcleos do hipotálamo, encéfalo frontal, bulbo olfatório e glândula pineal e em todas as células não neuronais de todos os tecidos periféricos dos mamíferos investigados como fígado, rins, músculos, tecido adiposo, células sanguíneas, medula óssea, células intestinais, etc. Cerca de 10% dos genes exibem padrões de expressão circadiana em alguns tecidos como fígado, coração, sistema vascular, tecido adiposo entre outros (23). O estudo de Dallmann et al. (2011) confirmou que aproximadamente 15% de todos os metabolitos identificados no plasma e na saliva demonstraram controle circadiano, principalmente os ácidos graxos no plasma e os aminoácidos na saliva (24). As contribuições destes osciladores podem variar de modo característico de acordo com cada tecido refletindo suas funções específicas (25).

O relógio circadiano é composto por três componentes: 1) uma via de entrada que realiza o ajustamento do tempo; 2) um oscilador central que gera o sinal circadiano; 3) uma via de saída responsável pela fisiologia e comportamento circadiano. As alterações na exposição à luz que ocorrem diariamente são as

principais responsáveis pelo arrastamento circadiano, que representa um mecanismo de sincronização de um indivíduo ao seu meio ambiente (12).

Como já foi dito, as células do organismo têm padrões de oscilações endógenas comportamentais e fisiológicas que marcam ritmos de aproximadamente 24h (26). Para que haja ritmicidade circadiana endógena em um ser vivo é necessária a presença de marca-passos. Estes são definidos como osciladores primários, endógenos que exibem um padrão oscilatório geneticamente determinado e autossustentado (19). A ritmicidade circadiana pode ser observada em muitos processos fisiológicos, como a temperatura corporal, a atividade, o sono, o metabolismo do fígado, a frequência cardíaca, a pressão arterial, a atividade renal, a secreção de hormônios e de neurotransmissores, entre outros (27).

No contexto de um nível estrutural, podemos afirmar que o relógio circadiano pode ser dividido em dois: o relógio-central do NSQ, que atua como um marca-passo, e os relógios periféricos presentes em quase todos os tecidos analisados até hoje. Os relógios periféricos têm capacidade de adaptação aos seus próprios estímulos externos e internos. Como exemplo podemos citar a alimentação que leva e/ou recebe pistas de órgãos relacionados como do fígado, dos rins, do pâncreas, etc. Este modelo demonstra uma relação equilibrada entre os relógios centrais e os periféricos. Estudos recentes têm fornecido fortes e crescentes evidências de que os relógios periféricos atuam de maneira independente do relógio central (28). Os osciladores periféricos podem promover um atraso de fase por 4-12h em relação aos padrões circadianos observadas no relógio central, indicando que este é o tempo necessário para que um sinal seja enviado do relógio central para a periferia arrastando os osciladores periféricos (29, 30).

Na parte ventral do hipotálamo anterior, dois pequenos aglomerados de neurônios (15 - 20.000 neurônios) constituem os marca-passos geradores autossustentados da ritmicidade circadiana em mamíferos, o núcleo supraquiasmático, representado pelos relógios biológicos circadianos. Nos mamíferos estão localizados bilateralmente na base do cérebro, imediatamente acima do quiasma óptico, na lateral do terceiro ventrículo, abaixo do nervo óptico e ocupam um volume de $0,1 \text{ mm}^3$ (19, 31, 32). Recebem informações de sinais

elétricos com informações fóticas a partir do ambiente por meio de neurônios que transcendem da retina via trato retino-hipotalâmico via sinapses glutamatérgicas e são convertidos em sinais químicos. Estes sinais são detectados por uma combinação de bastonetes, cones e um fotopigmento chamado de melanopsina, que é expresso exclusivamente nas células ganglionares, intrinsecamente fotossensíveis, da retina que se projetam para o NSQ. Desta maneira, a luz é absorvida através da retina sendo transmitida para o NSQ via trato retino-hipotalâmico. O NSQ provoca, então, o arrastamento de osciladores periféricos via fatores humorais ou através da inervação autonômica. Como resultado, as expressões de hormônios específicos em cada tecido e das secreções das vias metabólicas exibem uma oscilação circadiana. Além disso, o NSQ estabelece os ritmos de atividades locomotoras, do ciclo sono-vigília, da pressão arterial e da temperatura corporal. A alimentação e o ritmo alimentar afetam tanto os relógios periféricos como o relógio central do NSQ (**figura 2**) (33).

A melanopsina, presente na membrana plasmática do soma, dendritos e axônios forma uma vasta rede de fotorreceptores em toda a retina (34). Os receptores do glutamato ativam o influxo de Ca^{2+} e a da proteína de ligação e a ativação de um elemento resposta (*AMPc - response element-binding protein - CREB*) /mitogênio via fosforilação da proteína quinase, a qual começa uma expressão dos genes e suas proteínas (35).

Outro aspecto importante é que o NSQ pode ser ainda subdividido anatômica e funcionalmente em duas regiões: a região dorsomedial em que corpos celulares expressam a arginina vasopressina (AVP) e a região ventrolateral no qual peptídeo vasoativo intestinal (VIP) é sintetizado. Através da entrada de luz na retina o trato retino-hipotalâmico envia mensagens para o NSQ. Como resultado, o VIP é ativado e sincroniza os neurônios do NSQ coordenando os ritmos comportamentais. Por este motivo, a sinalização de VIP e seus receptores pode ser um fator particularmente importante para manter um acoplamento robusto entre neurônios do NSQ e a manutenção cronobiológica molecular dentro neurônios individuais do NSQ (36).

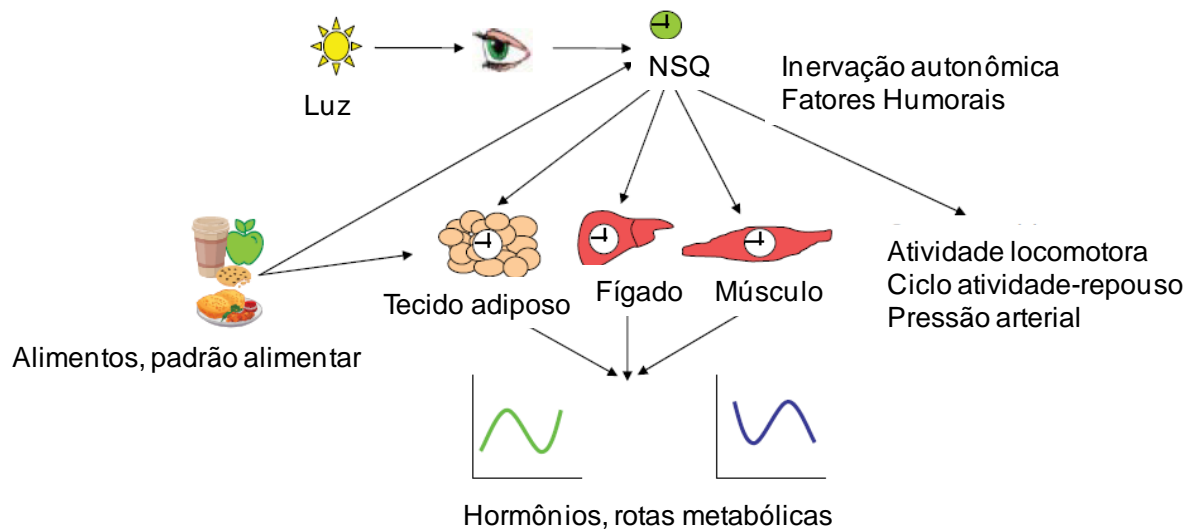


Figura 2. Receptores de sinais do relógio central e periférico. (Adaptado de Froy, 2010) (33).

O relógio circadiano controla a liberação de norepinefrina (NE) a partir de fibras aferentes simpáticas da glândula pineal (um órgão neuroendócrino). A NE desempenha um papel fundamental na síntese e secreção do hormônio melatonina, um potente sincronizador do relógio central produzido no período escuro. Sua função básica é informar ao organismo que está escuro através das células-alvo (37). Mantém então, níveis elevados durante a noite e durante o dia produz serotonina. A modulação da melatonina (*N-acetyl 5-methoxytryptamine*) tem seus efeitos mediados pela proteína G e seus receptores acoplados localizados em locais específicos da membrana plasmática. Esta transmissão é feita via glutamatérgica nos cones para células horizontais é responsável por alterações na capacidade de resposta circadiana de luz nas células da retina. As células do NSQ também expressam receptores de melatonina demonstrando que há um *feedback* entre o NSQ e as células da glândula pineal.

Evidências demonstram que o sistema circadiano é organizado hierarquicamente, o que significa que, enquanto oscilações moleculares independentes ocorrem na maioria das células e dos tecidos do organismo, as funções do NSQ como regulador-mestre, sincroniza a fase de outros tecidos oscilantes, orquestrando coerentemente os ritmos biológicos (25). Estudos de lesões nesta região revelam que ela é responsiva à supressão no comportamento do ritmo circadiano, da locomoção e do comportamento alimentar. O NSQ regula vários

ritmos circadianos incluindo o ritmo da alimentação, sono-vigília, metabolismo da glicose e da secreção de insulina, aprendizagem, memória entre outros (19). Um ritmo circadiano é representado por um período em torno de 24h. Na ausência de um ciclo ambiental é chamado de livre curso. Cada ritmo expressa uma amplitude que mede seu nível de expressão, por uma linha média chamada mesor e pelos seus picos (acima chamada de acrofase e abaixo do mesor de batfase) (**figura 3**).

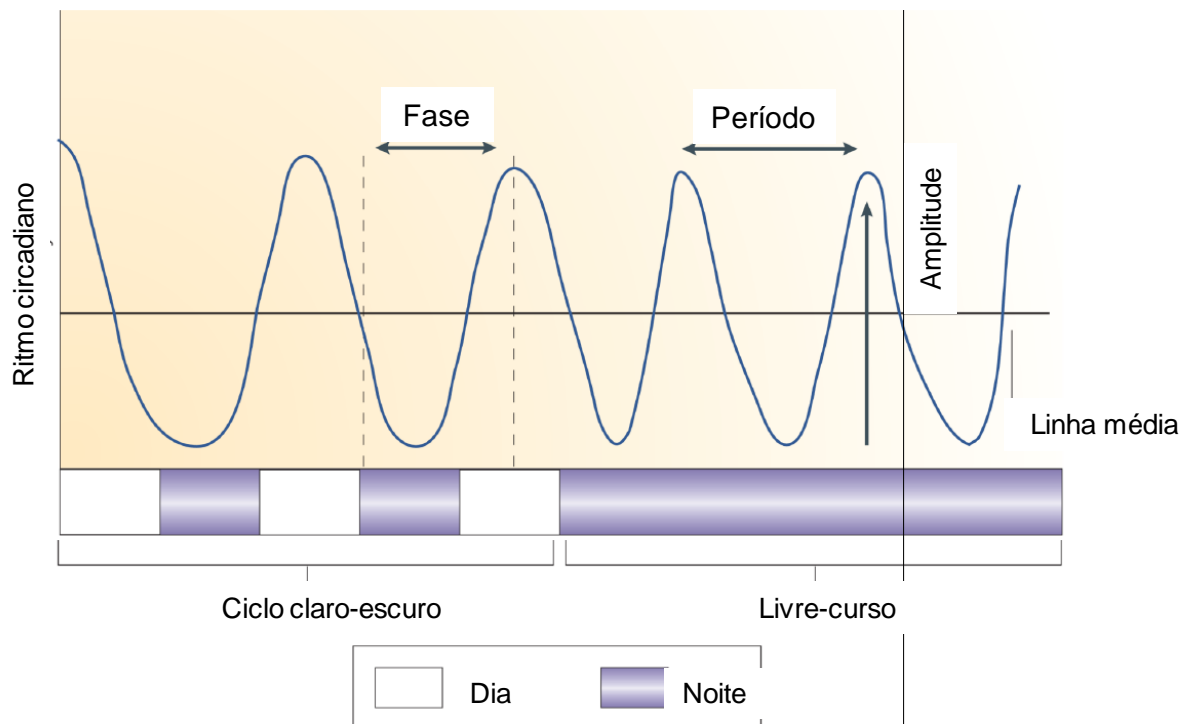


Figura 3. Ritmo circadiano. (Adaptado de Bell-Pedersen et al., 2005) (18).

2.3 GENES DO RELÓGIO E SUAS PROTEÍNAS

Em 1971 foram publicadas as primeiras evidências genéticas da regulação da ritmicidade circadiana com um estudo pioneiro em moscas da espécie *Drosophila* (38). Em 1988, Ralph e Menaker demonstraram a primeira evidência da regulação genética do ritmo circadiano no ciclo sono-vigília em mamíferos, quando observaram uma mutação da ritmicidade circadiana em hamsters, que quando colocados em livre-curso (ausência de um ciclo ambiental) apresentavam um período endógeno menor de atividade locomotora e uma sincronização anormal ao ciclo claro/escuro de 24h (39).

Em 1997, os genes do relógio foram descobertos em mamíferos (40) e revelados pela sua semelhança com fatores já conhecidos nos organismos inferiores nos estudos em moscas *Drosophila melanogaster* (41) e no fungo *Neurospora crassa* (42). A partir destes estudos as investigações moleculares da ritmicidade circadiana em mamíferos evoluíram rapidamente com a identificação de genes participantes do sistema de temporização circadiano.

Estes genes são expressos de forma rítmica e são encontrados em várias localidades no Sistema Nervoso Central (SNC), nas células somáticas em várias regiões do cérebro e também em vários tecidos periféricos. São considerados os servos-relógios. Os mecanismos celulares do NSQ e dos servo-osciladores são muito semelhantes. Apresentam o mesmo genótipo com padrão de ativação diferenciado, resultando em funcionamentos distintos e um perfil robusto de oscilação. A base de funcionamento do relógio é a interação entre alças de retroalimentação positivas e negativas, que fazem com que determinadas proteínas e fatores de transcrição sejam expressos e transcritos com diferença de 4-12 horas nos relógios periféricos (23, 27, 31). O princípio geral de transcrição de um loop autorregulatório de *feedback* está representado na **figura 4**. Estes princípios são semelhantes em todos os seres que possuem um relógio circadiano.

Os genes do relógio codificam proteínas de várias classes, incluindo peptídeos, fatores de transcrição, enzimas metabólicas, canais de íons entre outros (43).

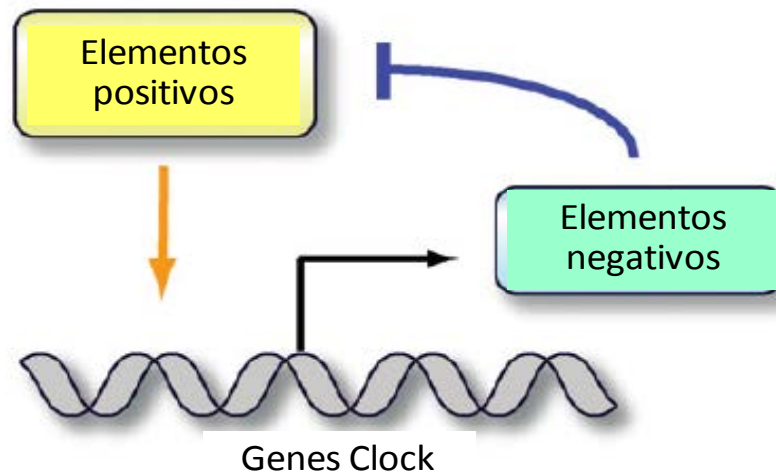


Figura 4. Genes do relógio. (Adaptado de Albrecht et al.,2008) (44).

A habilidade de prever mudanças às oscilações temporais e outros ritmos circadianos são baseadas em células autônomas-transcricionais capazes de fazer *feedback* nos relógios de células como proteínas e suas bases. Atualmente a maquinaria do relógio central nos mamíferos é formada por quatro famílias de genes do relógio e pelo menos 13 proteínas denominadas: 1) CLOCK (*Circadian Locomotor Output Cycle Kaput*); 2) BMAL1 (*Brain and muscle Arnt-like protein-1*; onde ARNT: *aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*) (ARNT1), também conhecido como *Mop3*); 3) PER1 (*Period*), PER2 e PER3; 4) CRY1 e CRY2 (*Cryptochromes*) (19). 5.1) Novos genes envolvidos na regulação da ritmicidade circadiana: 5.1.1) Caseína quinase: CK ϵ e CK1; 5.1.2) Dec1 e Dec 2; 5.1.3) Hormônios Órfãos de Receptores Nucleares: REV-ERB α e ROR (1, 19, 45).

Domínios das proteínas

Um dos domínios das proteínas é chamado de *basic helix-loop-helix* (bHLH) e o outro PAS (Per-Arnt-Sim), que são necessários para a ligação do DNA e heterodimerização. O domínio do terminal-C do relógio tem uma repetição poliglutamina (aminoácidos 751-769), característica dos domínios de ativação de muitos fatores de transcrição. O PAS foi descrito pela primeira vez em três proteínas em *Drosophila*, Per, BMAL1 e Sim (single-minded). Atualmente são encontrados em várias proteínas circadianas e possuem vários fatores de transcrição em comum. Estas proteínas têm como função modular a fosforilação (46).

Degradação das proteínas

A via da ubiquitina-proteassoma é o principal mecanismo para o catabolismo proteico no citoplasma e no núcleo de células dos mamíferos. Esta via é altamente regulada e afeta uma grande variedade de processos celulares e substratos. A degradação de uma proteína através desta via envolve duas etapas sucessivas: a marcação da proteína de substrato por meio de ligação covalente de moléculas múltiplas de ubiquitina (conjugação), e a subsequente degradação da proteína marcada pelo proteassoma 26S, um complexo de enzima multicatalítica (46).

2.3.1 Gene CLOCK

O primeiro gene do sistema de temporização em mamíferos foi identificado por Vitaterna et al. (1994), onde foi descoberto que um mecanismo oscilador era responsável por prolongar o período circadiano e abolir a persistência da ritmicidade. A este mecanismo foi dado o nome de relógio e foi responsabilizado de ser o único gene mapeado na porção média do cromossoma 5 de um rato (correspondente a região 4 no cromossoma humano). A este gene foi denominado gene CLOCK (*Circadian Locomotor Output Cycle Kaput*) (40).

Os genes CLOCK são definidos como genes cujos produtos de proteínas são necessários para a geração e regulação dos ritmos circadianos dentro de células individuais por todo o organismo, atuando como ativadores deste sistema. Tem papel central como fator de transcrição no oscilador circadiano.

2.3.2 Gene BMAL1

Outro gene que também participa como parte principal do sistema temporizador em mamíferos foi denominado de BMAL1 (ou Mop3).

Outra proteína também vem sendo estudada como o dímero do gene CLOCK denominada de BMAL2 (ou Mop9) que é dependente do BMAL1 para a regulação circadiana (47).

2.3.2.1 Heterodímero CLOCK-BMAL1

Em 1998 foi demonstrado que os genes CLOCK e BMAL1 formam um heterodímero CLOCK-BMAL1 responsável por ativar a transcrição dos genes Per e Cry (48). Estes genes são sintetizados no citoplasma e se unem antes de entrarem no núcleo das células. As proteínas derivadas de Per e Cry translocam-se de volta para o núcleo, onde as proteínas Cry interagem diretamente com os genes CLOCK e BMAL1, inibindo a sua transcrição (alça negativa). A alça positiva envolve a regulação da transcrição de BMAL1, cujo aumento na expressão de *RNAm* ocorre 12h defasado em relação aos *RNAm* dos genes Per e Cry. O heterodímero CLOCK-BMAL1, ao mesmo tempo em que ativa os genes Per e Cry, também inibe a produção do *RNAm* responsável pela síntese de BMAL1 (**figura 5 e 6**) (27, 31, 49). Um segundo loop de *feedback* também tem sido identificado, envolvendo a transcrição Rev-erb α e a repressão da transcrição do BMAL1. A expressão e supressão da transcrição e a formação destes genes e seus heterodímeros de forma sequenciada resulta na ritmicidade de 24h (5). O produto final deste ritmo gênico é uma saída neural que conecta o NSQ através de uma via polissináptica à coluna intermediolateral da medula e daí para a saída autonômica simpática, a saída neural. Os núcleos enviam informações rítmicas, com um período de aproximadamente 24h. Na fase claro, o sinal está “OFF”, e na fase escuro o sinal está “ON”. Portanto, estas fibras conduzem o período correspondente ao escuro, ou à noite subjetiva, quando o sujeito é mantido em escuro constante. Existe também uma saída humoral. Fibras que se originam no gânglio cervical superior (um gânglio simpático) inervam diretamente a glândula pineal. A liberação dos neurotransmissores noradrenalina e ATP promove a síntese de melatonina, que é sintetizada apenas na fase escura (27).

Este heterodímero está vinculado à sequência de DNA e estimula a transcrição de produção de genes que regulam positivamente a transcrição de genes

relacionados ao comportamento, ao metabolismo e à manutenção do estado fisiológico. Além disto, BMAL1 é um fator de transcrição que controla o ritmo circadiano e contribui para o controle da adipogênese e da atividade do metabolismo lipídico e da maturidade dos adipócitos. O nível de *RNAm* do BMAL1 aumenta durante a adipogênese. BMAL1 está relacionado em induzir e promover a ativação de muitos fatores envolvendo a lipogênese nos adipócitos 3T3-L1. A maximização da expressão do BMAL1 nos adipócitos aumenta a atividade da síntese dos lipídios, estando envolvidos na regulação, diferenciação e maturidade destes (1).

O heterodímero CLOCK-BMAL1 ativa a transcrição a partir de elementos da ligação com o E-box (*Enhancer Box*), sequências nucleotídicas de DNA encontrados em regiões promotoras, agindo no sítio de ligação de fatores de transcrição. O alelo negativo dominante do CLOCK mutante e o heterodímero BMAL1 formados se ligam ao DNA, sem conseguir ativar a transcrição. Assim, o heterodímero CLOCK-BMAL1 parece conduzir por oscilações de transcrição o componente positivo, que faz parte da base da ritmicidade circadiana (48). Ambas as proteínas possuem um domínio de base bHLH e dois domínios PAS necessários para a ligação ao DNA e de heterodimerização (46). Animais com o gene BMAL1 não funcionando (animais knock-out BMAL1) tornam-se totalmente arrítmicos em escuro constante e com a atividade locomotora prejudicada em condições normais de luminosidade (48).

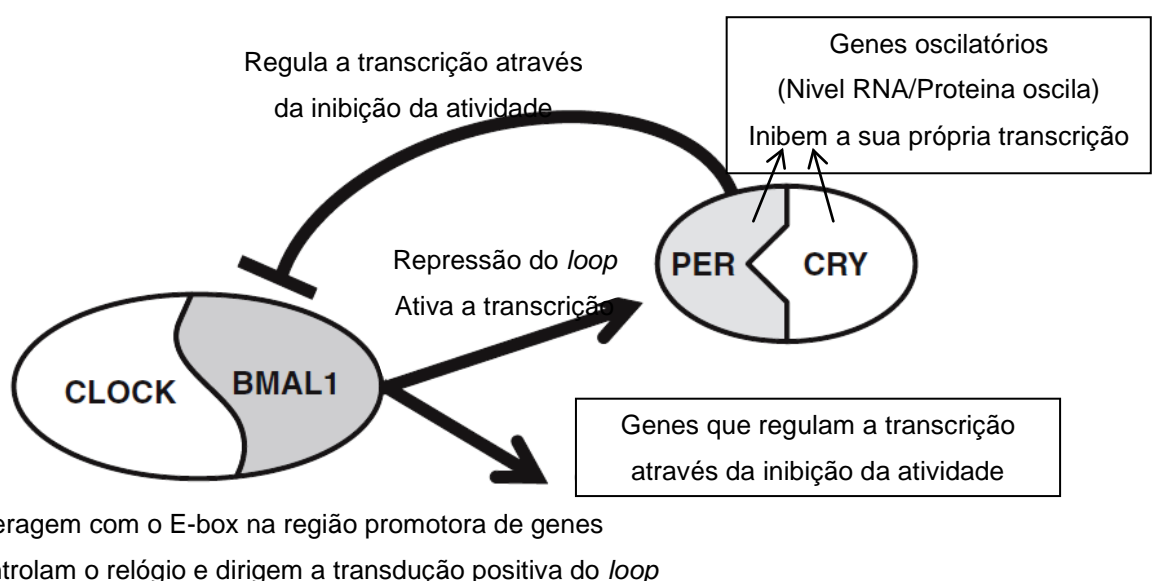


Figura 5. Transdução e transcrição. (Adaptado de Jacob Richards and Michelle L. Gumz, 2012) (28).

2.3.3 Period (Per)

A descrição completa e a caracterização do gene Per1 em mamíferos foi feita por Tei et al. (1997) (50). Em 1998, Takumi et al. (51) isolaram o segundo gene Per em mamíferos (Per2) – semelhante ao gene Per1 – e também o outro gene desta família, em mamíferos, o Per3 (29, 52).

São proteínas bastante complexas, consideradas como elementos negativos do relógio molecular por suas atividades repressoras. Possuem locais de ligação de caseína quinase (CK) na sua região central. Atualmente tem sido sugerido que estas células podem estar envolvidas em um importante papel: no crescimento de células e parecem funcionar como supressores tumorais (25).

2.3.3.1 Per1

Foi o primeiro da família a ser identificado em camundongos homólogos dos genes das *Drosophilas* como parte de uma busca do cromossoma 17 em humanos (53). Sua importância está relacionada com a possibilidade de ser um sensor integrador das variações fisiológicas do organismo com o objetivo de ajustar o relógio para o ambiente. Além disto, a regulação deste gene é considerada fundamental nas adaptações rápidas às modificações ambientais, podendo ser modulada pela ingestão de alimentos (54).

2.3.3.2 Per2

A proteína Per2 é estabilizada pela associação com o Cry. É expresso no cérebro e também em tecidos periféricos. Entre suas funções está a regulação dos processos biológicos por diferentes caminhos e influencia vários ciclos celulares e a apoptose (55). Outra característica importante é que na ausência de qualquer fator ambiental o Per2 aumenta o ritmo circadiano, estimulando a transcrição do gene que conduz o BMAL1 para a dimerização com o relógio e com a reindução de um novo ciclo circadiano. Achados indicam que o Per2 está associado à matutuidade (56).

Outra característica associada ao Per2, é que ele tem um papel protetor na susceptibilidade para o álcool e a patologias relacionadas com dependências (57).

2.3.3.3 Per3

O Per3 é um dos homólogos do gene do relógio da *Drosophila* em humanos e é considerado como um possível candidato envolvido nas desordens do sono relacionadas ao ritmo circadiano. Além disto, as evidências demonstram que este gene está associado com cronotipo matutino como foi demonstrado em um estudo brasileiro realizado por Pereira et al. (2005) (58).

2.3.4 Cryptochrome-like protein (Cry)

Estes genes derivam de uma vasta família de *photolyases*, moléculas fotoativas que utilizam a luz para a reparação do dano ultravioleta (UV) no DNA. Sofreram evoluções e atualmente estão presentes em todo o reino biológico. Codificam duas flavoproteínas membros da família de receptores de luz azul em plantas. Foram descobertos através de estudos de germinação da planta *Arabidopsis thaliana*. Ritmicamente acumulam e formam um complexo repressor interagindo com o CLOCK-BMAL1 para inibir a sua própria transcrição (57).

Em mamíferos, estes genes foram primeiramente classificados como possíveis candidatos para fotorreceptores circadianos. Posteriormente foi demonstrado que estes genes têm um papel independente da luz no sistema circadiano de mamíferos (59). De acordo com a sua atuação no sistema circadiano, os criptocromos encontrados nos animais podem ser divididos em dois grupos. O grupo I é representado pelos criptocromos sensíveis à luz que agem como fotopigmentos circadianos em *Drosophilas* e em outros insetos. Já os criptocromos tipo II estão representados por aqueles que não respondem à luz, agem como genes de relógio e funcionam como repressores da transcrição gênica como, por exemplo, em camundongos, humanos e outros vertebrados. Estes últimos são essenciais para a regulação molecular do sistema de temporização e estão envolvidos com a

regulação do período endógeno e com a sincronização ao ciclo claro-escuro, com potencial para detectar não só a luz, mas também do estado de redução-oxidação (redox) e o campo geomagnético (60).

Cry1 e 2 são proteínas dos gêneros I e II. Estruturalmente, a principal diferença entre Cry1 e Cry2 é o seu terminal-C com diferentes extensões, sugerindo que cada domínio do terminal C tem um papel específico na regulação funcional de cada Cry (46).

2.3.4.1 Cry1

É essencial para o braço negativo do circuito circadiano de retroalimentação.

2.3.4.2 Cry2

É altamente expresso no cérebro. Tem um efeito inibitório dependente da dose ativada de BMAL1.

2.3.5 Timeless (TIM)

TIM é o homólogo das *Drosophilas* em humanos, é o mais controverso do sistema de temporização dos mamíferos e a sua função ainda não está clara. Foi identificado em 1998, entretanto ainda não foi possível demonstrar um padrão de oscilação que pudesse caracterizá-lo como um gene do relógio. Alguns autores sugerem que ele seja um importante componente molecular do relógio circadiano embora não seja alterado pelos pulsos de luz capazes de alterar o comportamento circadiano. Gotter et al. (2000) propuseram que o gene TIM é essencial para o desenvolvimento embrionário, mas não para a função circadiana em mamíferos (61). Entretanto, para Barnes et al. (2003), a expressão de TIM no NSQ de ratos demonstra a importância deste como um dos componentes centrais do relógio molecular dos mamíferos e que o TIM seja necessário para a ritmicidade, já que,

participa como homólogo no *feedback* negativo do relógio molecular dos mamíferos (62).

O estudo de Utge et al. (2010) demonstrou uma relação significativa entre um polimorfismo do alelo TIM com depressão e fadiga, bem como as variações sazonais de humor, duração do sono, nível de energia e atividade social em mulheres. Também encontraram uma associação com depressão, despertares muito cedo pela manhã e fadiga no sexo masculino. Algumas evidências confirmam a interação entre genes circadianos atemporais e depressão, podendo estar relacionados com problemas de sono. Estes resultados corroboram com a ideia de que genes circadianos estão ligados à depressão (independente do sexo) e com regulação deficiente do sono (63).

2.3.6 Novos genes envolvidos na regulação da ritmicidade circadiana

2.3.6.1 Fatores de transcrição: Caseína quinase CK ϵ e CK1 δ

O papel da enzima caseína quinase está descrito como um dos fatores de transcrição importantes na mediação de processos locais dentro de um tecido específico. Os subtipos desta enzima (CK ϵ e CK1 δ) envolvidas na fosforilação das proteínas do relógio geram um *loop* autorregulador pós-transcricional desestabilizando e promovendo a translocação das proteínas Per para o núcleo, diminuindo drasticamente o período circadiano endógeno. Estas enzimas foram localizadas em uma mutação *tau* (que apresentam um período circadiano curto) em hamsters. A análise bioquímica desta enzima mutante revela diferenças marcantes na velocidade máxima da enzima e o estado autofosforilação desempenhando um papel significativo no retardo negativo do sinal de retorno dentro do laço de transcrição-tradução autorreguladora que compõe o mecanismo circadiano (64). Em mamíferos parece regular a fosforilação de Cry por CK1 δ (65).

2.3.6.2 Fatores de transcrição *basic helix-loop-helix*: Dec1 (Stra13/Sharp2/BHLHB2) e Dec2 (Sharp1/BHLHB3)

Considerados novos genes, são fatores de transcrição circadianos expressos no NSQ da base *helix-loop-helix* (bHLH) que agem como reguladores negativos do relógio molecular, reprimindo a indução da ativação do gene *Per1* em camundongos pelo heterodímero CLOCK-BMAL1 por meio de interações diretas com a proteína BMAL1 e/ou competição por elementos no E-box. Como a expressão de Dec é autorregulada pelos heterodímeros CLOCK-BMAL1, parecem ser componentes importantes de um retorno autorregulatório de um circuito adicional que se encaixa com um ciclo de *feedback* de oscilação circadiana, principalmente por ativar a produção de BMAL1 (66).

2.3.6.3 Hormônios Órfãos de Receptores Nucleares

2.3.6.3.1 Rev-Erb α

Esta proteína é membro da família Rev-erb A de receptores nucleares, executando um papel repressor transcricional. Em mamíferos, a Rev-erb α é altamente expressa no fígado, no músculo esquelético, no tecido adiposo, no cérebro e participa no desenvolvimento e regulação circadiana destes tecidos. Foi descrita como um inibidor negativo que codifica um receptor nuclear órfão da transcrição de CLOCK-BMAL1. Esta proteína também pode mediar a expressão de genes repressores através da sua capacidade de se ligar e reprimir a transcrição de genes de sequências *Retinoic Acid Receptor-related Orphan Receptor Response* (ROR) (67).

No que diz respeito ao metabolismo e sua relação com o sistema circadiano, BMAL1 modula, em conjunto com os receptores ativados pelos proliferadores de peroxissomas α (PPAR α) e o receptor coativado pelos proliferadores de peroxissomas gama 1 - α (PGC1 α), a transcrição através do circuito de

retroalimentação indicando que o Rev-erb α é um ponto nodal para a entrada metabólica no relógio (22).

2.3.6.3.2 Ror α (Retinoic Acid Receptor-related orphan receptor α)

São membros da família de receptores nucleares de fatores de transcrição intracelulares (RAR-related orphan receptors (ROREs)). Há três subtipos de Rors: ROR α (NR1F1, RORA ou RZR α), ROR β (NR1F2, RORB ou RZR β) e ROR γ (NR1F3, RORC, TOR). ROR α está presente em vários órgãos como cérebro, coração, fígado, testículos e pele. Exibe um robusto ritmo circadiano no NSQ, mas apenas uma ligeira oscilação é observada em tecidos periféricos. ROR β é encontrado nas áreas de processamento sensorial do SNC como a glândula pineal e a retina. ROR γ é altamente expresso em tecidos como o timo, fígado (hepatócitos), rins, coração, pulmão, etc., participando dos mecanismos dos relógios periféricos, porém não é expresso no NSQ. Cada um é codificado por um gene distinto (RORA, RORB e RORC respectivamente) (25).

Estão implicados na regulação de diversas vias metabólicas, homeostase energética, e timopoiese. Além disto, regulam a expressão de vários componentes do relógio circadiano e podem desempenhar um papel na integração do relógio circadiano e o padrão de expressão rítmica. Tem a função de ativar a transcrição do gene BMAL1 no NSQ, funcionando como um regulador positivo de alça (68).

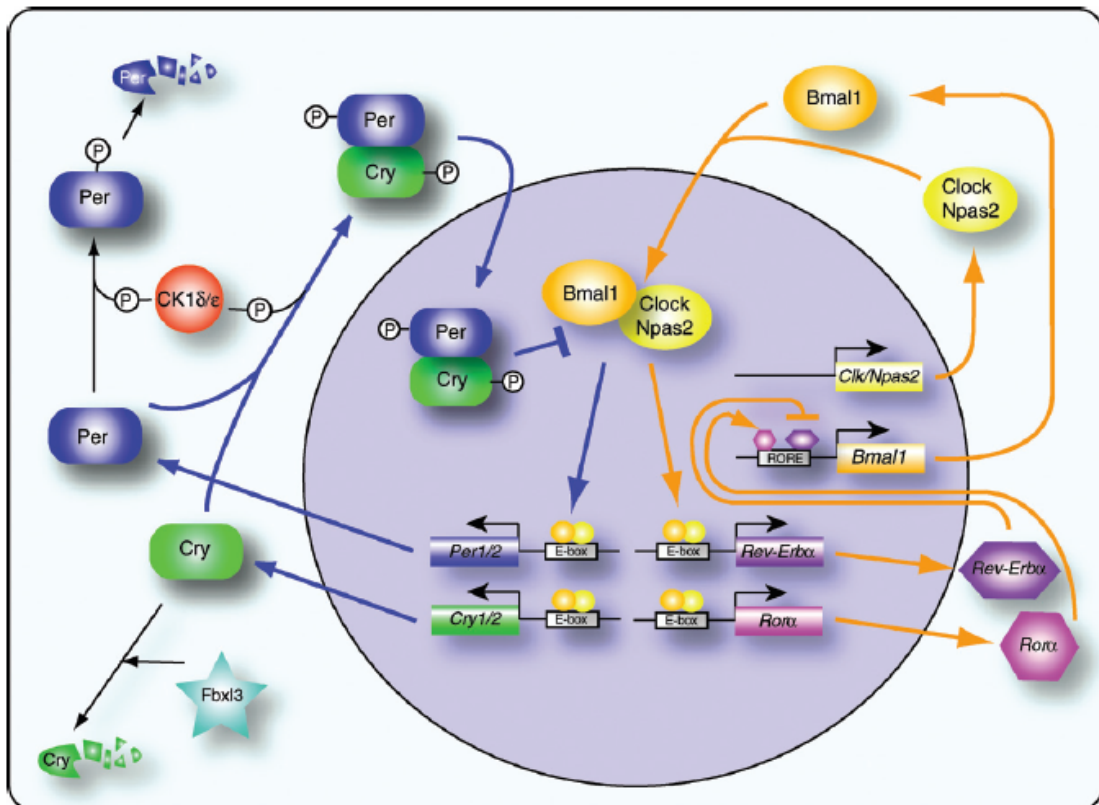


Figura 6. Relógio circadiano em mamíferos. Os dois circuitos (linhas azuis e laranjas) convergem para os ativadores de transcrição BMAL1 e CLOCK-BMAL1. (Adaptado de Albrecht et al.,2008) (44).

2.4 EXPRESSÃO GÊNICA

Independentemente da localização, os mecanismos que os relógios biológicos geram são basicamente os mesmos em todas as espécies (65).

Expressões gênicas já foram descritas previamente em ratos, em vários tecidos, como no tecido adiposo (26), fígado, cólon, estômago (69) e em leucócitos mononucleares periféricos. Fukuya e col. (2007) compararam a expressão gênica do relógio em leucócitos e homocigotos de *Cry1* em ratos que apresentaram deficiências na função do relógio circadiano. Paralelamente, também, examinaram em humanos a expressão do *RNAm* em *Per1*, *Per2* e *BMAL1* em leucócitos periféricos. As conclusões deste estudo sugeriram que a expressão do *RNAm* no *Per1* em leucócitos periféricos poderiam servir como um marcador molecular para investigar a relevância funcional do sistema de relógio circadiano em humanos (70).

Em humanos, a expressão gênica dos genes do relógio já foi estudada na pele (queratinócitos, fibroblastos, melanócitos), nos queratinócitos da raiz do cabelo, na mucosa oral, nas células do músculo liso vascular, nos leucócitos mononucleares periféricos, nos glóbulos brancos polimorfonucleares, e demais células do sangue, na mucosa intestinal em biopsia para diagnóstico de câncer de cólon e em tecidos da glândula pineal (71). As células mononucleares de sangue periférico são consideradas ideais para a investigação dos genes do relógio por não apresentarem caráter invasivo.

Os genes *CLOCK*, *BMAL1*, *Cry1* e *Per2* são partes importantes do relógio circadiano de mamíferos. Demonstram variações circadianas diárias. No NSQ os genes *CLOCK*, *Cry1* and *Per2* exibem um pico durante a fase clara, enquanto que o gene *BMAL1* demonstra-se em oposição de fase e seu pico se dá no período da noite. Em tecidos periféricos, estes ritmos apresentam-se com um atraso de várias horas (cerca de 12h) em relação ao NSQ, mas mantém uma fase relacionada semelhante (29, 30). A relação entre os genes do relógio é específica em células mononucleares de sangue periférico e é reconhecida como tendo uma grande variação de fase, em comparação com outras células de outros tecidos. Na literatura

foi possível encontrar vários estudos demonstrando estas variações na acrofase da expressão destes genes (**Quadro 1 - Apêndices**).

2.4.1 Expressão gênica de BMAL1

Um estudo avaliou a expressão dos genes do relógio em 24 sujeitos saudáveis e evidenciou que a acrofase de BMAL1 encontrou-se perto das 15h (72). Outro estudo avaliou a expressão gênica em cinco sujeitos saudáveis que foram submetidos a trocas de horário para dormir (noite pelo dia) e encontrou o pico da expressão às 8h para o horário de sono durante a noite e as 14h30min para o período do sono durante o dia (73). Takimoto et al. (2005) (74) demonstram uma grande variação do pico da expressão na coletas de dados de 12 homens, mas com um pico maior as 14h. Já Ando et al. (2009) (75) verificaram em 2 estudos a acrofase da expressão de BMAL1. No estudo 1 avaliaram 14 sujeitos, 8 com diabetes tipo 2 (DM2). Estes apresentaram ritmicidade circadiana, mas com menores níveis de expressão. A acrofase ocorreu pela manhã perto das 9h para os diabéticos e às 22h para os não diabéticos. O estudo 2 realizado em 12 homens com DM2 e 14 do grupo controle também apresentou ritmicidade circadiana com menores níveis de expressão nos portadores de DM2. Outro achado importante neste estudo foi que quanto maior o nível de hemoglobina glicada, demonstrando um pobre controle glicêmico, menor a expressão dos genes do relógio. Um estudo conduzido por Cermakian e Boivin avaliou a expressão de genes em seis pessoas saudáveis conservando o ritmo claro/escuro e em condições controladas (luz constante no período de sono) e conclui que a expressão de BMAL1 demonstrou a maior oscilação à noite (perto de 22h) em condições normais de sono durante a noite e perto das 15h em exposição à luz (76). Teboul et al. (2005) estudaram individualmente a expressão gênica de 10 homens que mantinham a sua atividade diária e eram analisados em ambiente hospitalar durante a noite. Foi encontrada uma grande oscilação durante todo o dia com horários de picos maiores perto das 10h e 21h30min (77). (**Quadro 1 - Apêndices**).

2.4.2 Expressão gênica de Cry1

Para avaliar a expressão gênica de Cry1, foram encontrados poucos estudos. Um deles, o estudo de Lamont et al. (2007) que resume uma série de estudos de expressão gênica em várias células em humanos, referem que o Cry1 apresenta um pico durante a fase de luz no NSQ. Em células periféricas mononucleares esses ritmos estão em atraso de fase por várias horas (71), entretanto apresentam ritmicidade variada conforme demonstraram Kusanagi et al. (2008) em seu estudo com oito homens jovens analisados durante sete dias com rotinas regulares e expostos a luz constante. Dos sujeitos analisados, somente dois demonstraram ritmicidade no Cry1 (78). (**Quadro 1 - Apêndices**).

2.4.3 Expressão gênica de Per2

Para o Per2 foram encontradas sete evidências demonstrando que o pico de expressão do gene se dá no início do dia entre 6 e 8h (72-76, 78, 79). Também foram encontrados outros resultados como 10h30min em cinco homens analisados (77) e 00h20min em dois sujeitos (79). Este gene parece demonstrar variações muito pequenas em sua expressão ao longo do dia, confirmando ser, entre os genes do relógio, os com menores variações nos horários estudados. (**Quadro 1 - Apêndices**).

O **quadro 1** do Apêndice contém um resumo de artigos que demonstram os diferentes horários das acrofases da expressão gênica de BMAL1, Cry 1 e Per 2 em células de sangue periférico em humanos.

2.5 METABOLISMO

A ligação entre o relógio circadiano molecular e metabolismo foi descoberta por Turek et al. (2005) em ratos mutantes que demonstraram hiperfagia, obesidade, hiperleptinemia, síndrome metabólica, dislipidemia, esteatose hepática, hiperglicemia e hipoinsulinemia. Os autores, ao analisar ratos mutantes que demonstraram ter um aumento significativo de atividade durante a fase clara e uma mudança no padrão temporal de atividade durante a fase escura (estes animais são noturnos), descobriram que estes tiveram o ritmo de alimentação noturna atenuada, assim como o ritmo do consumo de energia. O ganho de peso destes animais foi maior, independente do tipo de dieta consumida, mas principalmente quando consumiram uma dieta rica em gorduras e tiveram com isto um aumento significativo da massa gorda. Estes resultados sugeriram que os genes do relógio circadiano desempenham um papel importante no equilíbrio energético dos mamíferos (80).

A integração dos sistemas circadianos com o ambiente de iluminação (ou a ausência desta) envolve uma rede amplamente distribuída de relógios localizados no cérebro e em tecidos periféricos (3). Já está claro que os transcritos circadianos, reflexo direto da expressão gênica, são expressos ritmicamente e participam de vias metabólicas contribuindo para a sua normalidade e regulação (25).

Está bem estabelecido que hormônios como os glicocorticóides (81), a vasopressina (32), o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (82) e o hormônio estimulante da tireoide (TSH) (83), apresentam pronunciados ritmos circadianos (84), assim como a adiponectina, a insulina, a leptina, o inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1). A pressão arterial (PA) em seres humanos também é conhecida por apresentar variação circadiana (85). A exemplo disto podemos citar as doenças específicas, como o infarto do miocárdio, o edema pulmonar, as crises hipertensivas, a asma e a rinite alérgica que apresentam picos de ocorrência em determinados horários do dia (1).

O sistema endócrino e o seu papel na secreção de hormônios são elementos cruciais dos ritmos circadianos nos relógios centrais e periféricos (28). A maioria das

evidências sugere que os relógios são necessários para o funcionamento adequado dos tecidos. O relógio central sincroniza os relógios periféricos através de fatores humorais. Esta relação entre o metabolismo e os relógios circadianos não é unidirecional, pois os dois processos são interligados (24), levando-se em conta que os principais componentes da homeostase energética, tais como o metabolismo da glicose e dos lipídios da alimentação, estão sujeitos aos ritmos circadianos. Assim sendo, o relógio circadiano modula o metabolismo de energia através do controle da expressão e atividade de diversas enzimas e de sistemas de transporte e de receptores nucleares envolvidos no metabolismo destes nutrientes, sendo capazes de transmitir informações sobre o seu estado celular metabólico para o relógio circadiano através de vários sensores (3, 4). Assim sendo, é possível compreender que os componentes do relógio molecular são sensíveis aos nutrientes circulantes (6), aos hormônios relacionados com a alimentação (como insulina, grelina e leptina), ao estado redox e de energia, e aos componentes celulares (86). Pesquisas recentes sugerem que os sinais metabólicos podem agir através de receptores hormonais nucleares (NRs) que participam diretamente na regulação da maquinaria circadiana (87). Em condições contínuas de disponibilidade de alimentos, o relógio do NSQ define os relógios periféricos e as suas fases.

A arquitetura do sistema circadiano e sua relação com o controle da alimentação estão demonstradas na **figura 7**. No cérebro, muitos centros neurais de alimentação recebem informações temporais do NSQ (entradas em vermelho), e apresentam capacidade local para as funções do relógio (representados por robustos osciladores circadianos semiautônomos, em amarelo), ou por fracos osciladores (em roxo). Esta rede neural esculpe os principais sistemas a partir do relógio central, incluindo projeções autonômicas e a liberação de hormônios neuroendócrinos para conduzir os ritmos da alimentação. Também sincroniza os relógios periféricos para a alimentação e modula a sensibilidade de órgãos para sinais hormonais ou de nutrientes. As mensagens neuronais e hormonais dos órgãos periféricos retornam ao cérebro podendo atuar como incorporadores dos relógios neurais. Um dos exemplos a ser citado é a corticosterona que representa um grande sinal de arrastamento para relógios centrais e periféricos (86).

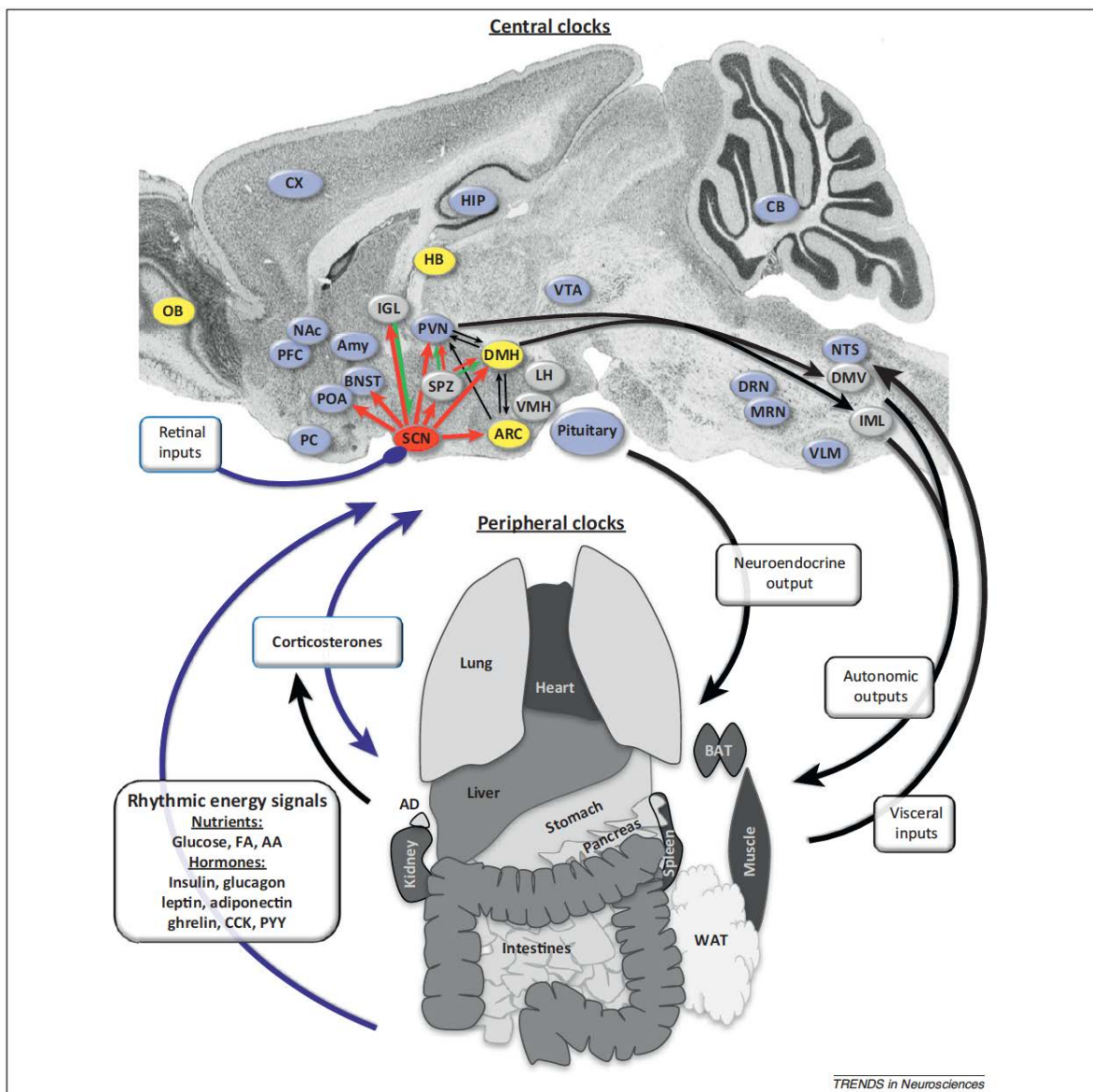


Figura 7. Sistema circadiano e alimentação. Abreviaturas: AA, aminoácidos; AD, glândula adrenal; AMY, a amígdala; ARC, núcleo arqueado; BAT, tecido adiposo marrom; BNST, núcleo da estria terminal; CB, cerebelo; CX, córtex; DMH, hipotálamo dorsomedial; DMV, núcleo dorsal nervo vago; DRN, núcleo dorsal da rafe; FA, ácidos graxos; HB, glândula pineal; IGL, folheto intergeniculado; HIP, hipocampo, IGL, folheto intergeniculado; IML, colunas intermediolaterais; LH, o hipotálamo lateral; MRN, núcleo mediano da rafe; NAC núcleo accumbens; NTS, núcleo do trato solitário; OB, bulbo olfatório, PC, córtex piriforme; POA, área pré-óptica; PVN, núcleo paraventricular do hipotálamo; SPZ, zona subparaventricular; VLM, bulbo; VMH, hipotálamo ventromedial; VTA, área tegmental ventral; WAT, o tecido adiposo branco. (Adaptado de Bechtold, D e Loudon, A. 2013) (86).

Por outro lado, os sinais produzidos pela a alimentação também sincronizam os vários relógios periféricos, tais como os do fígado, pâncreas, rins, coração, trato digestório, entre outros, tornando concreta a hipótese de que existam dois relógios

diferentes: o relógio da luz e o da alimentação. Na maioria dos seres vivos os sinais de alimentação estão sincronizados com o ritmo claro-escuro (28). Em contraste, o NSQ é sincronizado apenas pela luz, e não pela alimentação, evidenciando assim que a alimentação pode desacoplar os relógios periféricos a partir do NSQ. Esta sincronização com o ambiente é um requisito fundamental para a sobrevivência de muitas espécies. Os *zeitgebers* podem sincronizar diariamente os sistemas endógenos com as pistas ambientais. Entre eles podemos citar a alimentação (também considerada um forte *zeitgeber* dos relógios periféricos), a disponibilidade de alimentos, os níveis de glicocorticóides, a temperatura, a luz, entre outros que são capazes de influenciar os relógios periféricos (4). Desde modo, a alimentação em conjunto com os estímulos ambientais, também coordenam os genes do relógio. Esses osciladores podem arrastar os ritmos, respondendo a estímulos extrínsecos. O relógio central coordena os relógios periféricos através de sinais endócrinos e da inervação autonômica. A saída do relógio inclui respostas comportamentais e metabólicas, tais como alimentação, sono-vigília, secreção hormonal e homeostase metabólica (**figura 8**) (4).

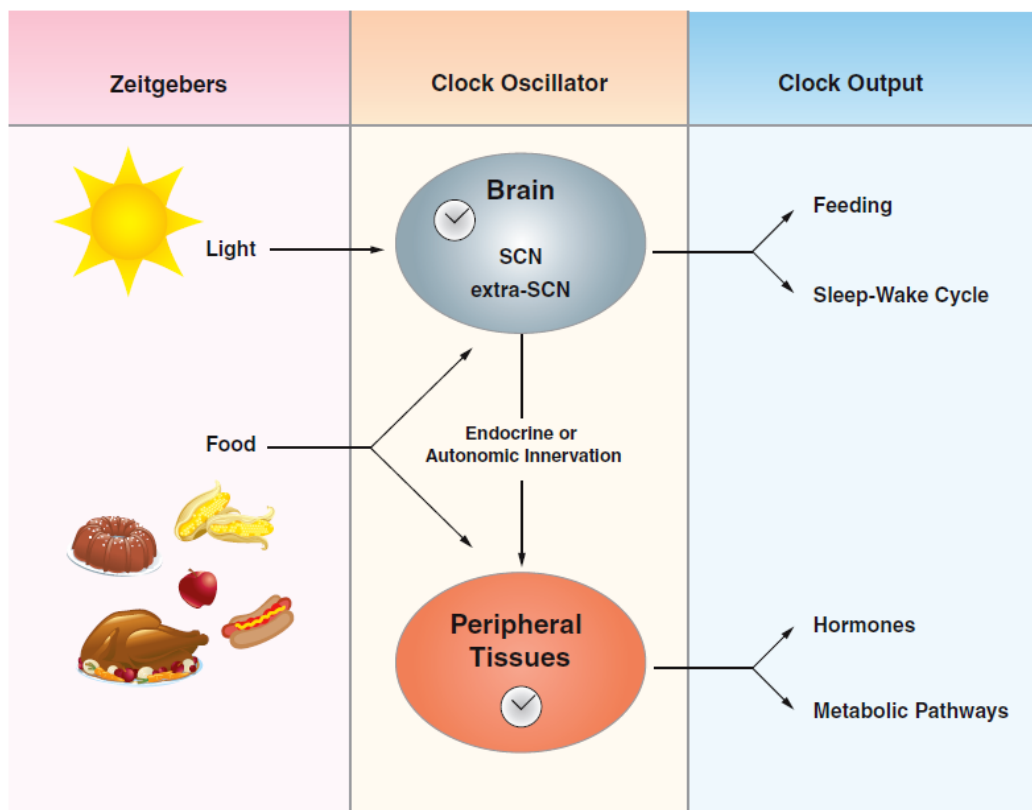


Figura 8. Estímulos ambientais. (Adaptado de Ramsey, K. M., B. Marcheva, et al., 2007) (4).

A oscilação intrínseca dos relógios nas células do fígado pode ser arrastada pelos alimentos, enquanto que, a oscilação cerebral do relógio é resiliente e é arrastada principalmente pela luz. É importante compreender que o acoplamento entre os sistemas circadianos e metabólicos encontram-se mutuamente regulados; os alimentos arrastam o relógio do fígado, enquanto que os pulsos de luz através dos relógios do cérebro controlam o tempo de alimentação (22). Um dos exemplos a ser citado é a ritmicidade da expressão gênica no fígado que são dependentes do relógio hepático nos metabólitos envolvidos com a gliconeogênese, com o metabolismo lipídico e com a fosforilação oxidativa. Estudos experimentais demonstraram que uma lesão neste relógio tem a possibilidade de alterar profundamente a homeostase da glicose porque o fígado não é mais capaz de lidar com os padrões rítmicos de alimentação. Outro aspecto a ser citado é que uma dieta rica em gordura não afeta os perfis da expressão dos genes como BMAL1 e Per2 no hipotálamo mediobasal, entretanto pode atenuar a expressão circadiana desses genes no fígado e no tecido adiposo (88).

Então, em resumo, as alterações nos horários de alimentação podem alterar a relação de fase entre o relógio central no NSQ e os relógios do fígado. Esta informação sugere que as alterações no ritmo de alimentação podem causar alterações no metabolismo afetando o sistema circadiano, já que uma das principais tarefas dos osciladores circadianos das células do fígado (e talvez em outros tipos de células periféricas) pode ser a de prever e adaptar as condições fisiológicas necessárias para o processamento de alimentos (6). Alterações grandes e rápidas no sistema circadiano em mamíferos requerem vários dias para realizar estas adaptações no fotoperíodo.

Estudos experimentais confirmam que, quando a alimentação está disponível apenas por um período limitado em cada dia, os ratos aumentam a sua atividade locomotora de 2 a 4h antes do início da disponibilidade de alimentos. Este comportamento antecipatório ocorre também em outros mamíferos e aves, sendo acompanhado pelo aumento da temperatura corporal, da secreção córtico-adrenal, da motilidade gastrointestinal e da atividade das enzimas digestórias. O arrastamento antecipatório da locomoção pela restrição alimentar (RA) ocorre independentemente do ciclo claro/escuro, ou sob luz constante, ou em animais com lesão no NSQ,

sugerindo que os osciladores circadianos que se arrastam por restrição alimentar são distintos daqueles que são arrastados pela luz (2, 35). É provável que o mecanismo que repõe diretamente a expressão do gene nos tecidos periféricos durante a alimentação restrita seja a atividade metabólica, ou seja, as proporções modificadas de NAD/NADH e de NADP/NADPH, que atuam ao nível da transdução (89).

Outros estudos demonstraram que, apesar dos efeitos marcantes na mudança no comportamento, no padrão de atividade e da alimentação, quando os ratos foram submetidos à restrição alimentar, o ritmo de fase do NSQ não foi afetado e permaneceu bloqueado para o ciclo de luz, mesmo depois de muitos dias de restrição alimentar. Estes resultados são consistentes e demonstram que a restrição alimentar não arrasta as multiunidades de atividade neuronal no NSQ e suporta a noção de que o arrastamento dos ciclos de disponibilidade de alimentos não envolve diretamente o NSQ. Entretanto, no fígado, houve um arrastamento significativo, sugerindo que este pode ter uma capacidade única de se adaptar temporalmente para alterações no padrão de alimentação (2).

Inúmeras projeções do NSQ do hipotálamo para vários grupos de células expressam neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos. Dentro do núcleo arqueado, os neurônios expressam os neuropeptídeos Y (NPY) (orexígenos que apresentam um ritmo diurno pronunciado) e a proteína Agouti relacionada (NPY/AgRP). Além destes, os anorexígenos pro-opiomelanocortina e os peptídeos da transcrição reguladora de anfetamina/cocaína (POMC/CART) formam conexões recíprocas com células localizadas no NSQ. O NPY/AgRP e POMC/CART expressam neurônios e projetam neurônios do NSQ para os corpos celulares dentro do núcleo paraventricular e a área lateral hipotalâmica que modulam o sistema nervoso autônomo, o ritmo sono-vigília e o ritmo do comportamento. Os sinais peptídicos de dentro dos neurônios NPY/AgRP e POMC/CART influenciam a manutenção do peso corporal a longo prazo. Entretanto ainda pouco se sabe sobre a modulação circadiana de sinalização dentro dessas células (3). Outro fator é a grelina, secretada 1h antes das refeições regulares por células oxínticas do estômago, levando à ativação de seus receptores NPY/AgRP expressos principalmente em neurônios do núcleo arqueado. Neste sentido, a grelina afeta não somente os

centros de integrações metabólicas do cérebro, mas também o sistema circadiano principalmente no fenômeno antecipatório da alimentação (90).

As projeções originárias do NSQ fazem sinapse diretamente com os neurônios produtores de orexina (ORX) dentro da área lateral hipotalâmica. Estes neurônios são importantes no metabolismo da glicose periférica e também participam da homeostase do peso em longo prazo. Finalmente, a sinalização dopaminérgica nos neurônios da área tegmental ventral está implicada em sistemas de recompensa associados à alimentação. Este valor de recompensa de alimentos e suas propriedades motivacionais são importantes no arrastamento alimentar, sugerindo que a unidade hedônica pode exibir similarmente uma variação corporal circadiana (3).

O metabolismo é coordenado e regulado por diferentes órgãos / tecidos em todo o organismo. Esta regulação metabólica aparentemente coordenada é essencial para a manutenção da homeostase sistêmica, especialmente o metabolismo energético. A comunicação metabólica entre órgãos / tecidos e a integração de informação metabólica em vários tecidos, parece ter importância na perturbação deste sistema de controle podendo evoluir para o desenvolvimento de desordens metabólicas (91).

A **figura 9** descreve os relógios centrais e periféricos que coordenam pistas externas através do comportamento e de saídas metabólicas. A luz arrasta o relógio-mestre no NSQ que sincroniza os mecanismos externos ao NSQ assim como os relógios periféricos. As saídas de relógio central incluem os ritmos do comportamento como o sono e a alimentação. As saídas dos relógios periféricos incluem ritmos metabólicos como a homeostase da glicose e de lípidos. A organização hierárquica dos relógios dos mamíferos, destacada pela regulação de relógios "não autônomos" dos tecidos periféricos, denota a regulação dos osciladores dos tecidos periféricos, que atuam através de sinais neurais e humorais. A regulação "autônoma" indica a regulação intrínseca dos osciladores celulares locais independentemente do relógio central.

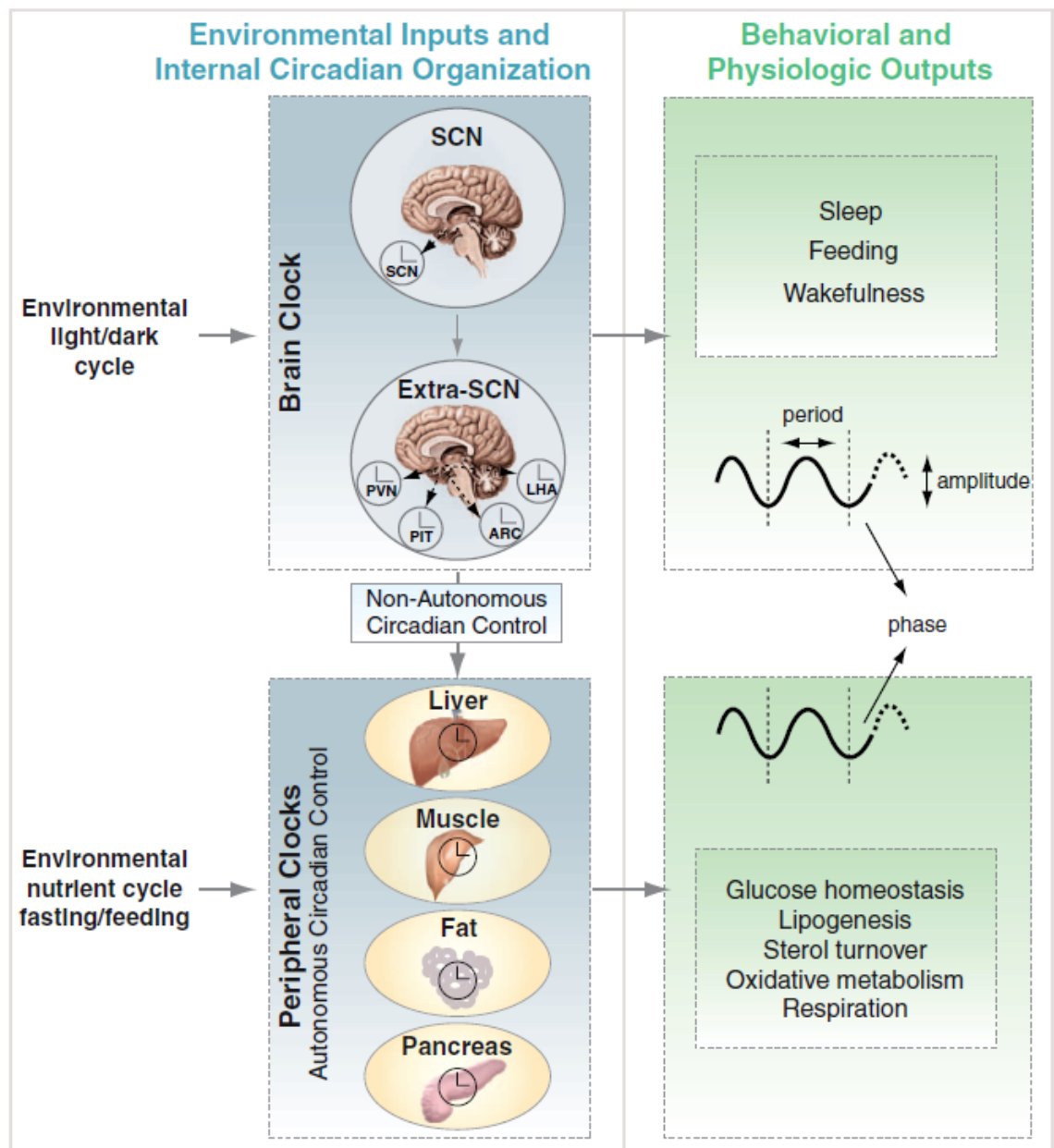


Figura 9. Relógios circadianos e metabolismo. Abreviaturas: PVN, núcleo paraventricular; PIT, hipófise; ARC, núcleo arqueado, LH, hipotálamo lateral. (Adaptado de Bass, J. and J. S. Takahashi, 2010) (22).

2.5.1 Impacto da dieta na construção dos ritmos circadianos

Vários estudos têm identificado que um simples nutriente é capaz de provocar ou restabelecer mudanças nos ritmos circadianos, tais como a glicose (92), os

aminoácidos, o sódio, o etanol, a cafeína, a tiamina e o ácido retinóico, entre outros (33), conforme o artigo de revisão de Froy, 2010 (33).

Análises moleculares recentes descobriram variações de 24h na expressão do RNA que codifica os genes envolvidos na lipogênese, catabolismo lipídico, metabolismo de esteróides e gliconeogênese, sugerindo que a capacidade das células de participarem da utilização de energia e/ou armazenagem pode estar intimamente ligada com a periodicidade da transcrição do RNA programado pelo relógio circadiano (86). A conclusão destes estudos, onde a obesidade foi induzida por dieta, sugere que o estado nutricional afete o controle do relógio circadiano (88). Além disto, interações dinâmicas garantem que o metabolismo energético é coordenado por um padrão temporal adequado e que o controle circadiano também está sujeito à modulação do estado de energia do organismo. Perturbações no relógio circadiano ou no metabolismo podem levar ao desarranjo de um ou do outro, predispondo a desordens metabólicas, tais como obesidade e DM2 (3).

2.5.2 Composição da dieta

Existem duas maneiras principais pelas quais a informação metabólica pode chegar ao NSQ: pelo sistema nervoso autônomo via simpático e parassimpático, controlando os tecidos periféricos, principalmente pelo o ciclo de atividade / repouso, que por sua vez, determina o ciclo de alimentação diária. A outra maneira é via hormonal ou através dos nutrientes, tais como a glicose, que atravessam a barreira hematoencefálica.

2.5.3 Glicose

O controle glicêmico exige tanto a ação do NSQ quanto a de um relógio local no pâncreas para controlar a ação da insulina, assim como o metabolismo do tecido adiposo (93). O controle circadiano do metabolismo da glicose foi reconhecido desde os primeiros estudos (4). Estes demonstraram variações no metabolismo da glicose e na ação da insulina ao longo do dia, comprovando que a tolerância oral à glicose

está diminuída no período da tarde e a noite quando comparada com o início do dia. (92, 94). Este efeito está implicado com o ritmo circadiano da sensibilidade à insulina (95) nos tecidos periféricos assim como a secreção de insulina. Autores concluem que é possível afirmar que em pacientes com DM2 há perda da ritmicidade circadiana da secreção de insulina e da tolerância à glicose, indicando que exista uma forte relação entre os ritmos circadianos endógenos e o diabetes (33).

Outro fator relacionado com o nível da glicose é o gene que codifica o receptor de melatonina 1B que, em humanos, influencia os níveis de glicose no plasma em jejum. Por este motivo, a melatonina é conhecida por potencializar a transdução do sinal de insulina de células no sistema nervoso central e dos tecidos periféricos além de regular o ritmo diário da secreção de insulina e sua ação (96, 97). Estudos *in vitro* descrevem que a melatonina tem a capacidade de estimular a captação de glicose pelos adipócitos e células musculares além de estimular a expressão de leptina. Além disto, vários estudos têm demonstrado que a remoção cirúrgica da glândula pineal provoca intolerância à glicose, devido à ausência de melatonina (98).

2.5.4 Lipídios

O estado metabólico realimenta o relógio, de modo que o comportamento da alimentação arrasta diretamente a função relógio molecular. Dietas inadequadas (entre elas as com excesso de gordura) podem perturbar os relógios, alterando os ritmos circadianos do comportamento e de expressão dos genes que controlam a utilização de combustível no hipotálamo, no fígado e no tecido adiposo (88). Estudos demonstraram que as alterações causadas pelo acúmulo de gordura nos órgãos intra-abdominais, como no tecido adiposo visceral e no fígado, são capazes de enviar sinais neuronais para o cérebro, levando à modulação do comportamento alimentar e do tônus simpático eferente (99). Uma dieta muito rica em gordura pode, além da ruptura da expressão do gene do relógio, inibir a um atraso de fase dos genes controlados pelo relógio central (100).

No tecido adiposo (TA) os genes do relógio são capazes de regular a expressão de algumas adipocitocinas de um modo rítmico-dependente, pelo menos ao nível de *RNA*, pois a maioria das substâncias bioativas, como a adiponectina, resistina e leptina, demonstram uma ritmicidade 24h (26).

Estudos moleculares recentes demonstraram o envolvimento de BMAL1 no controle da adipogênese e no metabolismo lipídico em adipócitos maduros. A transcrição de BMAL1 é inibida por Rev-erb α , um fator de transcrição regulado pela adipogênese e ativado por ROR α , um receptor nuclear envolvido na lipogênese e no armazenamento de lipídios (101). Ligações entre o estado nutricional e as vias de transcrição circadianas também são susceptíveis à idade, gênero e estresse (88).

A **figura 10** representa as conexões entre o relógio central, relógios periféricos e o sistema endócrino. O relógio central processa os sinais de luz e sincroniza os relógios periféricos. O relógio do sistema endócrino, por ação neuro-hormonal, produz um *feedback* para o relógio central (28).

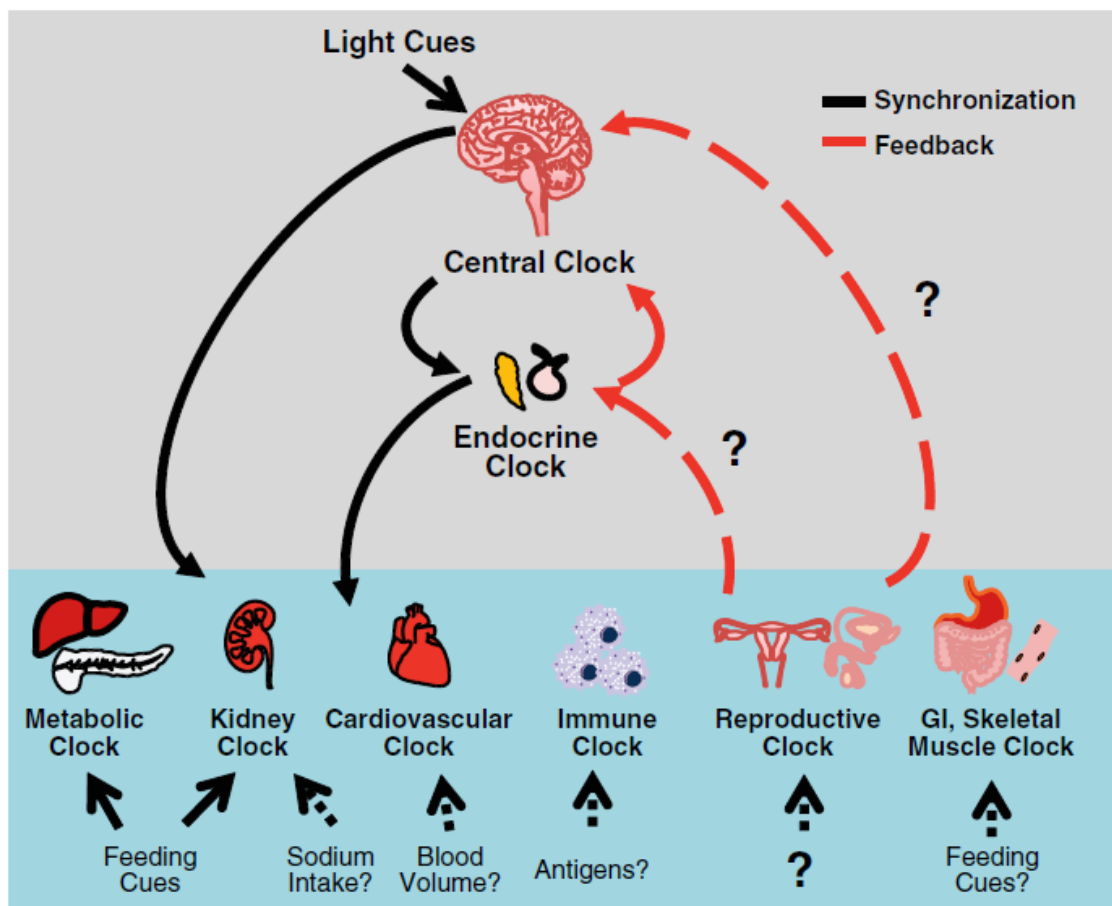


Figura 10. Conexões com o sistema endócrino. (Adaptado de Richards, J. and M. L. Gumz, 2012) (28).

2.5.5 Influência nos hábitos alimentares

O circuito neural e a geração de ritmos circadianos envolve um número de projeções do NSQ e uma vasta gama de corpos celulares, tanto dentro do hipotálamo (incluindo o núcleo arqueado, o núcleo paraventricular, a área lateral hipotalâmica, o hipotálamo dorsomedial (DMH)) como para o tronco cerebral (compreendendo a área tegmental ventral e o para o núcleo dorsomedial do vago via retransmissão da área pré-óptica medial) (3). Estas áreas regulam o ritmo sono-vigília, a alimentação, a termorregulação, a liberação de corticosteróides, entre outros (33). É possível que a oscilação dos transcritos principais seja fundamental na resposta aos hormônios anorexígenos e orexígenos, podendo estar sujeitos a um controle circadiano. Estes achados sugerem que o alinhamento circadiano da alimentação e da atividade seja fundamental no controle da homeostase do peso corporal (3). Estudos têm evidenciado que as oscilações da expressão de Per1 e Per2 no DMH são arrastadas pela restrição alimentar, sendo que o DMH pode ser a chave da estrutura da expressão do fenômeno de antecipação alimentar (102).

O comportamento alimentar, no que diz respeito à qualidade, quantidade e em que circunstâncias o alimento é consumido, é um processo complexo. Este é formado por impulsos instintivos, homeostáticos (garantindo o fornecimento adequado de energia), hedônicos e de recompensa (reforçando os aspectos prazerosos da ingestão de alimentos), bem como os mecanismos cognitivos superiores fornecendo informações contextuais e culturais (86).

Além de atuar nos centros homeostáticos da alimentação, o sistema circadiano tem uma influência estabelecida no aprendizado e na memória (103), vício e recompensa, estresse e emoção (104), os quais podem moldar hábitos alimentares.

2.5.6 Tamanho das refeições

Além da influência causada pelos tipos de alimentos nos ritmos biológicos, o valor energético da dieta também pode estar implicado na modulação dos ritmos circadianos de acordo com alguns estudos experimentais. Estes estudos estão relacionados principalmente no que se refere à restrição alimentar demonstrando que pode haver uma ligação entre a restrição calórica, relógios circadianos e modificações fisiológicas. É chamado de alimentação restrita (*restricted feeding* (RF)) quando a duração do tempo é limitada e também a disponibilidade de alimentos, mas sem a redução de calorias. Em animais, esta restrição alimentar para um determinado momento do dia, tem efeitos profundos sobre o comportamento e fisiologia intestinal (105). É importante salientar que a restrição calórica com um número reduzido de calorias (diminuídas para 65% das necessidades energéticas diárias dos animais) não deve causar desnutrição. Já está bem relatado na literatura que esta diminuição aumenta a longevidade destes animais e as patologias correlacionadas como diabetes, doença renal, câncer, etc., podem estar diminuídas, provavelmente pela redução de radicais livres que causam danos celulares. De modo contrário à RF, a restrição calórica arrasta o relógio no NSQ indicando que a redução calórica pode afetar o oscilador central (106).

2.5.7 Intestino

As atividades circadianas no intestino também são bem conhecidas e dizem respeito à ingestão de alimentos, a digestão (e atividades enzimáticas associadas), a proliferação celular, a migração de células epiteliais ao longo da unidade fisiológica como vilosidades ou criptas e apoptose. Os derivados de polipeptídeos intestinais apresentam ritmos circadianos (33).

2.5.8 Ritmos circadianos e peso corporal

As flutuações no peso corporal têm sido associadas a alterações da duração do dia em várias espécies, sugerindo um papel central para o relógio circadiano na

regulação do peso corporal e uma possível relação entre alguns tipos de obesidade e alterações na temporização circadiana (107). Como já foi citado anteriormente a leptina e resistina demonstram um ritmo circadiano consistente. A leptina está diminuída à noite e atinge seu pico mais baixo no início da manhã.

Estudos têm evidenciado que os nutrientes ingeridos no período da noite são mais lentamente metabolizados e utilizados, levando ao aumento na deposição nos tecidos de armazenamento, como o TA. Deste modo, é possível entender que os níveis pós-prandiais de triglicérides são maiores depois de uma refeição noturna, podendo explicar o aumento da mortalidade cardiovascular em pessoas em trabalhos em turnos ou comedores noturnos (35).

Uma série de estudos clínicos tem demonstrado que a restrição de sono, a manutenção de trabalho em turnos e comer à noite carregam um risco aumentado de doença metabólica, incluindo obesidade, diabetes e doença cardiovascular (86).

A alteração do sono, o envelhecimento, os horários da alimentação ou alterações na iluminação podem perturbar a sincronia do sistema circadiano, ocasionando mudanças marcantes na fase, na amplitude, na precisão dos ritmos expressos (108, 109), podendo refletir uma dessincronização do NSQ com os osciladores periféricos. Ou seja, um ciclo claro/escuro regular ou um programa estável de alimentação com horários, qualidade e quantidades regulados pode aliviar os distúrbios circadianos.

A **figura 11** evidencia a forma de como o relógio participa dos processos comportamentais e metabólicos de acordo com a hora do dia. O relógio central e os relógios periféricos coordenam respostas metabólicas apropriadas dentro dos tecidos periféricos relacionadas com o ciclo claro/escuro. Por exemplo, o relógio do fígado promove a gliconeogênese e glicogenólise durante o período de sono-vigília. A síntese de glicogênio e de colesterol é produzida durante a vigília e no período de alimentação (respectivamente). Os relógios periféricos funcionando adequadamente mantêm os processos metabólicos em sincronia com o ambiente, fundamental para manter a saúde do organismo. Diferentes tecidos apresentam distintas propriedades controladas pelo relógio, assim, a remoção do relógio em certos tecidos irá causar efeitos opostos sobre a função metabólica. Através de desafios dinâmicos em

diferentes épocas do ciclo, sob diferentes condições nutricionais, como dieta, envelhecimento e perturbações ambientais podem ser exemplificadas em trabalho em turnos que também pode afetar a integração de sistemas circadianos e metabólicos.

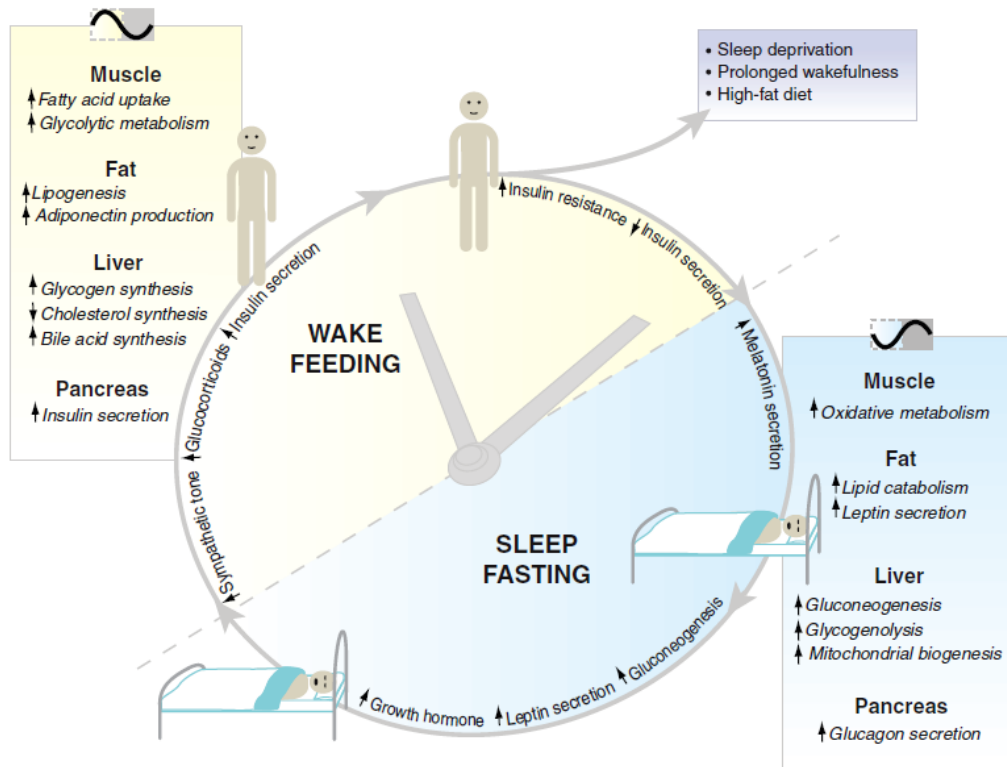


Figura 11. Relógio, funcionamento e hora do dia. (Adaptado de Bass, J. and J. S. Takahashi, 2010) (22).

2.6 SÍNDROME DO COMER NOTURNO

Um dos exemplos de ruptura dos padrões rítmicos de sono e alimentação é a Síndrome do Comer Noturno (SCN) que correlaciona o metabolismo alterado (110) ao aumento de peso (111) embora possa acontecer em qualquer pessoa, indiferentemente do peso (112).

2.6.1 Histórico

Stunkard et al. (1995) foram os primeiros a descrever a Síndrome do Comer Noturno (SCN) (7). Neste artigo original os autores relataram que, ao observar um grupo de pacientes obesas de uma clínica especializada no *New York Hospital*, notaram que 64% destas possuíam hábitos alimentares comuns entre elas e diferenciados dos demais obesos, pois apresentavam anorexia matinal, aumento do apetite noturno, insônia e dificuldade para dormir. Depois de um hiato de mais de 40 anos, em 1999, um estudo observacional-comportamental e um estudo neuroendócrino foram conduzidos para caracterizar mais intensamente a SCN. O resultado deste estudo sugeriu que os indivíduos com sobrepeso com SCN sofriam de humor deprimido e desregulação neuroendócrina, incluindo atenuação do aumento noturno de melatonina e leptina e um aumento circadiano de cortisol plasmático comparado com os pacientes com sobrepeso sem SCN (8).

2.6.2 Critérios diagnósticos

Os critérios diagnósticos da SCN vêm sendo modificados muitas vezes e mudaram consideravelmente (9). Estes compreendiam a anorexia matinal, hiperfagia noturna e insônia. Em abril de 2008, foi realizado um encontro internacional para a realização de um consenso para os critérios diagnósticos propostos para a SCN, onde dois fatores passaram a ser utilizados como os mais preditivos para o diagnóstico: a hiperfagia (ingestão excessiva e recorrente de pelo menos 25% do

total de calorias consumidas/dia depois do jantar) e os despertares noturnos com pelo menos metade das vezes acompanhadas de ingestão de alimentos. Esta descrição conceituou a SCN como um distúrbio com atraso de fase na ingestão circadiana de alimentos e possibilitou a definição de critérios para o diagnóstico. A estes critérios soma-se uma lista de fatores, dos quais três seriam necessários para o diagnóstico, entre eles a anorexia matinal, um forte desejo de comer à noite ou durante a madrugada, o início do sono ou problemas de manutenção deste, a crença de que a alimentação seja necessária para dormir e o humor deprimido, que muitas vezes piora ao longo do dia. Todas estas características devem estar presentes, pelo menos na metade do tempo, e são consideradas clinicamente significativas se ocorreram duas vezes por semana durante pelo menos três meses (10).

Apesar da SCN não estar formalmente incluída nas versões anteriores do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM), pela primeira vez, na quinta edição do DSM-5, os critérios diagnósticos propostos para a SCN estão descritos no capítulo de “Alimentação ou Transtornos Alimentares não especificados”. Estes critérios incluem: episódios recorrentes de comer noturno, incluindo a ingestão noturna caracterizada por despertares do sono e o comer ou consumo excessivo de alimentos após a refeição da noite (= jantar), consciência do consumo de alimentos durante os despertares, e sofrimento significativo ou prejuízo funcional associado à alimentação noturna (113). Para os autores destes critérios a SCN pode ser diagnosticada como uma comorbidade de outros transtornos alimentares como o BED (*Binge Eating Disorder*). Alguns estudos demonstraram que cerca de 7% a 25% dos pacientes com SCN também preencheram os critérios BED (114, 115).

2.6.3 Instrumentos Utilizados

Para triagem da SCN os instrumentos utilizados podem ser: 1) O *Night Eating Questionnaire* (NEQ) (116), um instrumento de autorrelato para triagem com 14 itens com o objetivo de avaliar a presença de comportamento alimentar noturno. As questões avaliam a fome e os padrões de desejo ao longo do dia, a porcentagem de calorias ingeridas depois do jantar, os sentimentos de depressão, insônia, despertar

noturno e compulsão alimentar. Um escore de 30 é fortemente sugestivo de SCN. Foram realizadas várias traduções e adaptações para diferentes línguas. Para o português também já foi traduzido, adaptado e validado pelo nosso grupo para ser usado na população brasileira (117). Outros questionários também podem avaliar a SCN, como *Night Eating Syndrome History and Inventory* – para uma entrevista diagnóstica e o *Night Eating Symptom Scale* (NESS), também de autorrelato baseado no NEQ, para ser usado durante o tratamento para avaliar as mudanças nos sintomas da semana anterior. Além disso, a *Eating Disorder Examination* (EDE) considerada o "padrão ouro" em transtornos alimentares avalia a presença de ingestões noturnas.

2.6.4 Tratamento

O tratamento da SCN pode envolver intervenções comportamentais e farmacológicas. As abordagens com os inibidores seletivos da recaptação da serotonina, a fototerapia e as técnicas comportamentais demonstraram algum grau de sucesso na redução ou eliminação do hábito de comer a noite. Ainda são necessários ensaios clínicos randomizados para comprovar e avaliar o nível de eficácia das intervenções, para definir nível de evidência e grau de recomendação destes tratamentos (118). Entre as terapêuticas propostas para a SCN estão as abordagens com a terapia psicodinâmica orientada e focada na redução do estresse (119). As intervenções cognitivo-comportamentais têm sido frequentemente mencionadas.

Entre as opções farmacoterápicas, uma série de medicamentos antidepressivos já foi testada como os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS). Entre eles estão a paroxetina e a fluvoxamina (120). Há também dois ensaios clínicos utilizando a sertralina (121, 122) e um estudo randomizado-controlado (123). Outro ISRS, também controlado com placebo foi testado, o escitalopram (124). O uso do topiramato (um anticonvulsivante) também foi descrito (125). Recentemente foi publicado um estudo de caso onde foi testado a agomelatina, um fármaco utilizado como antidepressivo, agonista potente dos receptores da melatonina (Mel1 e Mel2) e antagonista dos receptores de serotonina

(5-HT_{2C}). Este estudo concluiu que a agomelatina foi capaz de reduzir os sintomas de SCN e melhorar significativamente o humor durante o tratamento. Outro medicamento foi também testado por Spaggiari et al. (1994) a fenfluramina, um inibidor do apetite (126). No tratamento da SCN é comum o uso de fitoterápicos, como exemplo a *Kavain* (Kava-kava), um fitoterápico indicado para a insônia. Entra nesse espectro o uso da melatonina, especialmente porque, em muitos países, incluindo os EUA, está classificada como suplemento alimentar e não como fármaco. Sua utilização pode ser considerada devido ao fato de que a SCN pode ser considerada uma desordem de atraso do ritmo circadiano (127). Outra abordagem também utilizada foi a fototerapia (exposição a ondas de luz).

2.6.5 A Síndrome do Comer Noturno e os relógios circadianos

Pacientes com SCN consomem uma quantidade significativamente maior de alimentos durante a noite, embora a sua ingestão total diária de alimentos seja semelhante aos sujeitos que não possuem este hábito (8, 128). O padrão de comer à noite em pacientes com a SCN se assemelha à alimentação de ratos com mutações no sistema circadiano que tiveram o ritmo de alimentação diurna atenuada (estes animais tem seu ritmo circadiano noturno) no estudo de Turek et al. (2005) já citado anteriormente (80).

A alimentação induzida modifica os reguladores metabólicos que poderiam provocar um atraso de fase da melatonina e arrastar o oscilador central porque estas substâncias podem induzir mudanças na expressão gênica circadiana. Um estudo realizado por Goel et al. (2009) em 29 mulheres demonstrou que os perfis dos ritmos circadianos apresentavam anormalidades significativas na fase e amplitude circadiana de vários parâmetros analisados (11). Para avaliar a fase e a amplitude comportamental e neuroendócrina dos ritmos circadianos em pacientes com SCN, foram verificados os níveis da glicose, insulina, grelina, leptina, melatonina, cortisol, TSH e prolactina. Foi demonstrado que os sujeitos sem SCN tinham a fase e amplitudes normais para todos os ritmos circadianos investigados. Os sujeitos com SCN demonstraram mudanças significativas no tempo e amplitude de vários marcadores circadianos comportamentais e fisiológicos envolvendo o apetite e a

regulação neuroendócrina. A desregulação relacionada aos osciladores periféricos fornecem sinais centrais de regulação da ingestão alimentar tais como: 1) avanço de fase nos osciladores periféricos no estômago como a regulação de grelina, estando aumentada durante a noite, 2) atraso de fase nos osciladores periféricos do tecido adiposo regulando a liberação de leptina com diminuição noturna deste hormônio, 3) mudança de fase da insulina e do cortisol, 4) ritmos de 24h invertidos de glicose no sangue (8, 11), além de um oscilador periférico do fígado envolvendo o processo alimentar. Mais ainda, a central regulatória que ajusta o tempo e o ritmo de melatonina também apresentou atraso de fase, similar ao observado na leptina. Alterações neuroendócrinas de melatonina e de leptina induzem a uma ruptura no padrão de sono, levando à perda da supressão do apetite noturno. Então, os indivíduos com a SCN podem apresentar mecanismos anormais nos osciladores periféricos como no estômago e no fígado, e/ou no mecanismo central como exemplo no NSQ e no sistema temporizador. Entretanto, as alterações no comportamento alimentar podem ser observadas e causadas por padrões hormonais ou vice-versa; os padrões podem reforçar os ciclos; e/ou ser um terceiro fator, como romper o modelo do sono que pode ser causado simultaneamente (11). Outro fator que pode estar envolvido é o hormônio regulador da corticotrofina (CRH). Este pode estar aumentado, relacionando-se com o aumento da leptina e com o decréscimo da melatonina durante a noite (129). Pelo horário da ingestão de alimentos, a SCN pode ser um importante fator que influencia o aumento de peso, modificando padrões de sono e de padrão alimentar.

Análises circadianas confirmam um atraso de aproximadamente 1h30min na ingestão calórica total e no consumo de carboidratos e gorduras na ingestão alimentar de indivíduos com SCN. Estas evidências demonstraram que esses indivíduos mantêm a sua alimentação por um maior período de tempo durante a noite quando comparados aos não comedores noturnos, mantendo-se assim em arrastamento de fase (11, 130). Birketvedt et al. (1999) através de um estudo observacional com indivíduos obesos com SCN constatou que 56% da ingestão calórica entre os comedores noturnos se dá entre 22 e 6h. Além disto, há um aumento do número de calorias quando comparados ao grupo controle (8). Entretanto, outros estudos demonstram que a ingestão calórica total diária é similar

nos dois grupos embora a ingestão noturna seja maior e com maior número de calorias entre 20 às 8h entre os comedores noturnos (128, 131, 132).

Estudos em animais têm confirmado que variações nos genes do relógio podem causar anormalidades na regulação dos ritmos circadianos (19). As investigações em humanos têm elucidado que este sistema regula muitos processos fisiológicos, como o controle da temperatura, o comportamento alimentar, as distúrbios do sono, a secreção hormonal, o metabolismo e a utilização de drogas, a homeostasia da glicose, a formação de tumores e a progressão do ciclo celular, como já foi dito anteriormente (133). Entre as hipóteses de entendimento das anormalidades na regulação dos ritmos circadianos estão as modificações no comprimento do período endógeno que podem levar a alterações no ângulo de fase de sincronização pela luz. Fenótipos circadianos muito semelhantes aos encontrados em animais são vistos em humanos, abrindo um leque suficientemente grande para pesquisas científicas, que visam buscar associações de alterações nos genes relógio com fenótipos circadianos (19).

Embora a etiologia da Síndrome do Comer Noturno e da obesidade seja extremamente complexa e não completamente entendida, uma possível explicação poderia ser o mau funcionamento do sistema de temporização circadiano. Os processos pelos quais estes mecanismos ocorrem poderiam ser explicados pela dessincronização da ordem temporal interna e dificuldades para sincronização com os ciclos ambientais como o atraso da hora do comer produzindo os fenótipos observados nestes indivíduos. Estudos preliminares em humanos sugerem que polimorfismos do CLOCK ou mutações nos genes CLOCK ou BMAL1 poderiam estar associados com a obesidade e a síndrome metabólica (133, 134). Um grande número de genes também está envolvido com o metabolismo dos ácidos graxos, do colesterol, da glicose no fígado e são regulados por padrões circadianos, indicando que o relógio tem um amplo papel na regulação do metabolismo (133). Muitos comportamentos, incluindo a ingestão de energia, variam em intensidade ao longo do dia. Estudos utilizando o registro de ingestão diária demonstraram mudanças substanciais e importantes no comportamento alimentar no ambiente natural, ficando comprovado que há um aumento da ingestão de alimentos e consumo de energia (maior de 150%) à noite em relação à ingestão da manhã. Isso ocorre em conjunto

com o aumento do tamanho da refeição conforme o dia avança, produzindo uma modesta correlação positiva entre o momento do dia e do tamanho da refeição (135). O volume da refeição pode aumentar ao longo do dia podendo afetar o tamanho dos intervalos entre as refeições, diminuindo o tempo entre elas e interferindo na saciedade, tornando-se menor à medida que a noite avança, tanto para ratos quanto para os humanos. Torna-se claro, então, que a saciedade pode tornar-se reduzida tornando o indivíduo mais vulnerável para a ingestão excessiva de alimentos durante a noite (135). A SCN teoricamente pode levar ao ganho de peso pelo excesso de calorias consumidas durante a noite. Estudos ao longo de 6 anos demonstrou que mulheres obesas com hábitos de comer à noite tiveram um ganho de peso médio de 5,2kg (IC 95%) nos 6 anos de acompanhamento, enquanto que as mulheres obesas que não se levantaram à noite para comer ganharam apenas 0,9kg. Este estudo não demonstrou associação entre o comer noturno e alteração de peso entre os homens (136, 137). Para de Zwaan et al. (2006) (9) a obesidade é precedida em 40% dos comedores noturnos obesos.

Outros aspectos importantes da SCN são a alteração do humor e os sintomas depressivos. A verdadeira relação entre a SCN e a depressão pode aparecer mascarada e a severidade destes sintomas é frequentemente excluída nos estudos sobre a SCN (138). No estudo de Birketvedt et al. (1999) (8) foi constatado que depois de 4h, o humor dos comedores noturnos diminuía a cada hora, enquanto que no grupo controle este não se alterou, confirmando a hipótese de que comer à noite está associado a um declínio no humor e um aumento do estresse. Além disto, variações de humor durante o dia, distúrbios do sono e alterações no ritmo circadiano do cortisol, de ACTH, de melatonina e outros parâmetros endócrinos e metabólicos foram observados em pacientes com episódios depressivos (139).

Em estudos experimentais, quando o acesso à alimentação é restrito a algumas horas do dia, os animais tornam-se ativos antecipando o horário da refeição. Há também antecipação de fase da expressão circadiana de vários hormônios no fígado, rim, coração, pâncreas e outros tecidos, e, em algumas estruturas cerebrais, desacoplando-os do NSQ. O arrastamento para a luz permanece intacto (140). No entanto, as observações em seres humanos demonstram que a sincronização dos períodos de alimentação e jejum e

atividade/repouso com o ritmo claro/escuro influencia a manutenção do peso corporal (3).

O objetivo deste trabalho foi estudar a expressão gênica na Síndrome do Comer Noturno. Além de colaborar com estudos associados à regulação circadiana, nosso empenho foi de participar na construção de um mapa de variações genéticas dos genes relógio, que poderá ser aplicado à biologia circadiana humana. Através dele foi possível demonstrar que as acrofases de expressão gênica foram entre 14-15h, concluindo que talvez este seja o melhor horário para os genes do relógio apresentar um ritmo robusto de expressão.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Avaliar os aspectos cronobiológicos da Síndrome do Comer Noturno.

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Analisar a influência dos sintomas depressivos e das doenças psiquiátricas menores na SCN;
- Analisar a influência dos cronotipos e da qualidade do sono na SCN;
- Avaliar parâmetros de ritmo de atividade-repouso e de luz e comparar o acoplamento destes ritmos entre os grupos;
- Avaliar a expressão gênica dos genes associados aos ritmos biológicos CLOCK-BMAL1, Cry1 e Per2 na SCN.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ohdo S. Chronopharmacology focused on biological clock. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2007;22(1):3-14. Epub 2007/03/03.
2. Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science.* 2001;291(5503):490-3. Epub 2001/02/13.
3. Huang W, Ramsey KM, Marcheva B, Bass J. Circadian rhythms, sleep, and metabolism. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2133-41. Epub 2011/06/03.
4. Ramsey KM, Marcheva B, Kohsaka A, Bass J. The clockwork of metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2007;27:219-40. Epub 2007/04/14.
5. Mignot E, Takahashi JS. A circadian sleep disorder reveals a complex clock. *Cell.* 2007;128(1):22-3. Epub 2007/01/16.
6. Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U. Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes & development.* 2000;14(23):2950-61. Epub 2000/12/15.
7. Stunkard AJ, Grace WJ, Wolff HG. The night-eating syndrome; a pattern of food intake among certain obese patients. *Am J Med.* 1955;19(1):78-86. Epub 1955/07/01.
8. Birketvedt GS, Florholmen J, Sundsfjord J, Osterud B, Dinges D, Bilker W, et al. Behavioral and neuroendocrine characteristics of the night-eating syndrome. *JAMA.* 1999;282(7):657-63. Epub 1999/10/12.
9. de Zwaan M, Roerig DB, Crosby RD, Karaz S, Mitchell JE. Nighttime eating: a descriptive study. *Int J Eat Disord.* 2006;39(3):224-32. Epub 2006/03/03.
10. Allison KC, Lundgren JD, O'Reardon JP, Geliebter A, Gluck ME, Vinai P, et al. Proposed diagnostic criteria for night eating syndrome. *Int J Eat Disord.* 2010;43(3):241-7. Epub 2009/04/21.

11. Goel N, Stunkard AJ, Rogers NL, Van Dongen HP, Allison KC, O'Reardon JP, et al. Circadian rhythm profiles in women with night eating syndrome. *J Biol Rhythms*. 2009;24(1):85-94. Epub 2009/01/20.
12. Ohdo S. Chronotherapeutic strategy: Rhythm monitoring, manipulation and disruption. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010;62(9-10):859-75. Epub 2010/03/02.
13. Mairan J-JDd. Histoire de l'Académie royale des sciences. *Archives de l'Académie des sciences*. 1729:35.
14. Mistlberger RE, Skene DJ. Social influences on mammalian circadian rhythms: animal and human studies. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 2004;79(3):533-56. Epub 2004/09/16.
15. Amir S, Beaulé C, Arvanitogiannis A, Stewart J. Modes of plasticity within the mammalian circadian system. *Progress in brain research*. 2002;138:191-203. Epub 2002/11/16.
16. Daan S. Learning and circadian behavior. *J Biol Rhythms*. 2000;15(4):296-9. Epub 2000/08/15.
17. Roenneberg T, Allebrandt KV, Meroz M, Vetter C. Social jetlag and obesity. *Current biology : CB*. 2012;22(10):939-43. Epub 2012/05/15.
18. Bell-Pedersen D, Cassone VM, Earnest DJ, Golden SS, Hardin PE, Thomas TL, et al. Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. *Nat Rev Genet*. 2005;6(7):544-56. Epub 2005/06/14.
19. Eckel-Mahan K, Sassone-Corsi P. Metabolism and the circadian clock converge. *Physiol Rev*. 2013;93(1):107-35. Epub 2013/01/11.
20. Ohdo S. Chrono-drug-delivery focused on biological clock: intra- and inter-individual variability of molecular clock. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010;62(9-10):857-8. Epub 2010/06/18.
21. Weber F. Remodeling the clock: coactivators and signal transduction in the circadian clockworks. *Naturwissenschaften*. 2009;96(3):321-37. Epub 2008/12/05.
22. Bass J, Takahashi JS. Circadian integration of metabolism and energetics. *Science*. 2010;330(6009):1349-54. Epub 2010/12/04.

23. Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*. 2002;418(6901):935-41. Epub 2002/08/29.
24. Dallmann R, Viola AU, Tarokh L, Cajochen C, Brown SA. The human circadian metabolome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(7):2625-9. Epub 2012/02/07.
25. Ko CH, Takahashi JS. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human molecular genetics*. 2006;15 Spec No 2:R271-7. Epub 2006/09/22.
26. Gomez-Abellan P, Hernandez-Morante JJ, Lujan JA, Madrid JA, Garaulet M. Clock genes are implicated in the human metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(1):121-8. Epub 2007/07/27.
27. Hastings MH, Maywood ES, Reddy AB. Two decades of circadian time. *Journal of neuroendocrinology*. 2008;20(6):812-9. Epub 2008/07/08.
28. Richards J, Gumz ML. Advances in understanding the peripheral circadian clocks. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2012;26(9):3602-13. Epub 2012/06/05.
29. Zylka MJ, Shearman LP, Weaver DR, Reppert SM. Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron*. 1998;20(6):1103-10. Epub 1998/07/09.
30. Hastings MH, Herzog ED. Clock genes, oscillators, and cellular networks in the suprachiasmatic nuclei. *J Biol Rhythms*. 2004;19(5):400-13. Epub 2004/11/10.
31. Markus RPB, Eduardo José; Ferreira, Zulma Silva. Ritmos biológicos: entendendo as horas, os dias e as estações do ano. *Einstein*. 2003;143-148.
32. Jin X, Shearman LP, Weaver DR, Zylka MJ, de Vries GJ, Reppert SM. A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell*. 1999;96(1):57-68. Epub 1999/02/16.
33. Froy O. Metabolism and circadian rhythms--implications for obesity. *Endocrine reviews*. 2010;31(1):1-24. Epub 2009/10/27.

34. Hannibal J, Fahrenkrug J. Melanopsin: a novel photopigment involved in the photoentrainment of the brain's biological clock? *Annals of medicine*. 2002;34(5):401-7. Epub 2002/11/28.
35. Badiu C. Genetic clock of biologic rhythms. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2003;7(4):408-16. Epub 2004/02/03.
36. Moore RY, Speh JC, Leak RK. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and tissue research*. 2002;309(1):89-98. Epub 2002/07/12.
37. Altun A, Ugur-Altun B. Melatonin: therapeutic and clinical utilization. *Int J Clin Pract*. 2007;61(5):835-45. Epub 2007/02/15.
38. Konopka RJ, Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1971;68(9):2112-6. Epub 1971/09/01.
39. Ralph MR, Menaker M. A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science*. 1988;241(4870):1225-7. Epub 1988/09/02.
40. Vitaterna MH, King DP, Chang AM, Kornhauser JM, Lowrey PL, McDonald JD, et al. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, *Clock*, essential for circadian behavior. *Science*. 1994;264(5159):719-25. Epub 1994/04/29.
41. Glossop NR, Lyons LC, Hardin PE. Interlocked feedback loops within the *Drosophila* circadian oscillator. *Science*. 1999;286(5440):766-8. Epub 1999/10/26.
42. Lee K, Loros JJ, Dunlap JC. Interconnected feedback loops in the *Neurospora* circadian system. *Science*. 2000;289(5476):107-10. Epub 2000/07/07.
43. Panda S, Antoch MP, Miller BH, Su AI, Schook AB, Straume M, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*. 2002;109(3):307-20. Epub 2002/05/23.
44. Albrecht UR, Jürgen A. *Circadian Clock Genes: Marc Binder, Nobutaka Hiroka, Uwe Windohorst*; 2008.
45. Pereira DS, Tufik S, Pedrazzoli M. [Timekeeping molecules: implications for circadian phenotypes]. *Rev Bras Psiquiatr*. 2009;31(1):63-71. Epub 2009/06/10. *Moléculas que marcam o tempo: implicações para os fenótipos circadianos.*

46. Hirayama J, Sassone-Corsi P. Structural and functional features of transcription factors controlling the circadian clock. *Current opinion in genetics & development*. 2005;15(5):548-56. Epub 2005/08/13.
47. Bunger MK, Wilsbacher LD, Moran SM, Clendenin C, Radcliffe LA, Hogenesch JB, et al. Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*. 2000;103(7):1009-17. Epub 2001/02/13.
48. Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, et al. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science*. 1998;280(5369):1564-9. Epub 1998/06/11.
49. Schibler U. The daily timing of gene expression and physiology in mammals. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2007;9(3):257-72. Epub 2007/11/01.
50. Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M, et al. Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature*. 1997;389(6650):512-6. Epub 1997/10/23 22:27.
51. Takumi T, Matsubara C, Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yagita K, Maebayashi Y, et al. A new mammalian period gene predominantly expressed in the suprachiasmatic nucleus. *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms*. 1998;3(3):167-76. Epub 1998/06/10.
52. Takumi T, Taguchi K, Miyake S, Sakakida Y, Takashima N, Matsubara C, et al. A light-independent oscillatory gene mPer3 in mouse SCN and OVLT. *The EMBO journal*. 1998;17(16):4753-9. Epub 1998/08/26.
53. Sun ZS, Albrecht U, Zhuchenko O, Bailey J, Eichele G, Lee CC. RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila* period gene. *Cell*. 1997;90(6):1003-11. Epub 1997/10/10.
54. Motzkus D, Maronde E, Grunenberg U, Lee CC, Forssmann W, Albrecht U. The human PER1 gene is transcriptionally regulated by multiple signaling pathways. *FEBS letters*. 2000;486(3):315-9. Epub 2000/12/20.
55. Hua H, Wang Y, Wan C, Liu Y, Zhu B, Yang C, et al. Circadian gene mPer2 overexpression induces cancer cell apoptosis. *Cancer science*. 2006;97(7):589-96. Epub 2006/07/11.

56. Carpen JD, Archer SN, Skene DJ, Smits M, von Schantz M. A single-nucleotide polymorphism in the 5'-untranslated region of the hPER2 gene is associated with diurnal preference. *Journal of sleep research*. 2005;14(3):293-7. Epub 2005/08/27.
57. Spanagel R, Pendyala G, Abarca C, Zghoul T, Sanchis-Segura C, Magnone MC, et al. The clock gene *Per2* influences the glutamatergic system and modulates alcohol consumption. *Nature medicine*. 2005;11(1):35-42. Epub 2004/12/21.
58. Pereira DS, Tufik S, Louzada FM, Benedito-Silva AA, Lopez AR, Lemos NA, et al. Association of the length polymorphism in the human *Per3* gene with the delayed sleep-phase syndrome: does latitude have an influence upon it? *Sleep*. 2005;28(1):29-32. Epub 2005/02/11.
59. Stanewsky R, Kaneko M, Emery P, Beretta B, Wager-Smith K, Kay SA, et al. The *cryb* mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. *Cell*. 1998;95(5):681-92. Epub 1998/12/09.
60. Chaves I, Pokorny R, Byrdin M, Hoang N, Ritz T, Brettel K, et al. The cryptochromes: blue light photoreceptors in plants and animals. *Annual review of plant biology*. 2011;62:335-64. Epub 2011/04/30.
61. Gotter AL, Manganaro T, Weaver DR, Kolakowski LF, Jr., Possidente B, Sriram S, et al. A time-less function for mouse *timeless*. *Nature neuroscience*. 2000;3(8):755-6. Epub 2000/07/21.
62. Barnes JW, Tischkau SA, Barnes JA, Mitchell JW, Burgoon PW, Hickok JR, et al. Requirement of mammalian *Timeless* for circadian rhythmicity. *Science*. 2003;302(5644):439-42. Epub 2003/10/18.
63. Utge SJ, Soronen P, Loukola A, Kronholm E, Ollila HM, Pirkola S, et al. Systematic analysis of circadian genes in a population-based sample reveals association of *TIMELESS* with depression and sleep disturbance. *PloS one*. 2010;5(2):e9259. Epub 2010/02/23.
64. Lowrey PL, Shimomura K, Antoch MP, Yamazaki S, Zemenides PD, Ralph MR, et al. Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation *tau*. *Science*. 2000;288(5465):483-92. Epub 2000/04/25.

65. Sehgal A. Ac-ing the clock. *Neuron*. 2008;57(1):8-10. Epub 2008/01/11.
66. Honma S, Kawamoto T, Takagi Y, Fujimoto K, Sato F, Noshiro M, et al. Dec1 and Dec2 are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature*. 2002;419(6909):841-4. Epub 2002/10/25.
67. Lowrey PL, Takahashi JS. Mammalian circadian biology: elucidating genome-wide levels of temporal organization. *Annual review of genomics and human genetics*. 2004;5:407-41. Epub 2004/10/16.
68. Jetten AM. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nuclear receptor signaling*. 2009;7:e003. Epub 2009/04/22.
69. Scheving LA, Russell WE. It's about time: clock genes unveiled in the gut. *Gastroenterology*. 2007;133(4):1373-6. Epub 2007/10/09.
70. Fukuya H, Emoto N, Nonaka H, Yagita K, Okamura H, Yokoyama M. Circadian expression of clock genes in human peripheral leukocytes. *Biochemical and biophysical research communications*. 2007;354(4):924-8. Epub 2007/02/06.
71. Lamont EW, James FO, Boivin DB, Cermakian N. From circadian clock gene expression to pathologies. *Sleep medicine*. 2007;8(6):547-56. Epub 2007/03/31.
72. Archer SN, Viola AU, Kyriakopoulou V, von Schantz M, Dijk DJ. Inter-individual differences in habitual sleep timing and entrained phase of endogenous circadian rhythms of BMAL1, PER2 and PER3 mRNA in human leukocytes. *Sleep*. 2008;31(5):608-17. Epub 2008/06/04.
73. James FO, Cermakian N, Boivin DB. Circadian rhythms of melatonin, cortisol, and clock gene expression during simulated night shift work. *Sleep*. 2007;30(11):1427-36. Epub 2007/11/29.
74. Takimoto M, Hamada A, Tomoda A, Ohdo S, Ohmura T, Sakato H, et al. Daily expression of clock genes in whole blood cells in healthy subjects and a patient with circadian rhythm sleep disorder. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2005;289(5):R1273-9. Epub 2005/06/18.

75. Ando H, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, Shima KR, Eto T, Misu H, et al. Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009;52(2):329-35. Epub 2008/11/01.
76. Cermakian N, Boivin DB. The regulation of central and peripheral circadian clocks in humans. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2009;10 Suppl 2:25-36. Epub 2009/10/29.
77. Teboul M, Barrat-Petit MA, Li XM, Claustrat B, Formento JL, Delaunay F, et al. Atypical patterns of circadian clock gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. *J Mol Med (Berl)*. 2005;83(9):693-9. Epub 2005/08/13.
78. Kusanagi H, Hida A, Satoh K, Echizenya M, Shimizu T, Pendergast JS, et al. Expression profiles of 10 circadian clock genes in human peripheral blood mononuclear cells. *Neuroscience research*. 2008;61(2):136-42. Epub 2008/03/14.
79. Boivin DB, James FO, Wu A, Cho-Park PF, Xiong H, Sun ZS. Circadian clock genes oscillate in human peripheral blood mononuclear cells. *Blood*. 2003;102(12):4143-5. Epub 2003/08/02.
80. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science*. 2005;308(5724):1043-5. Epub 2005/04/23.
81. Ishida A, Mutoh T, Ueyama T, Bando H, Masubuchi S, Nakahara D, et al. Light activates the adrenal gland: timing of gene expression and glucocorticoid release. *Cell metabolism*. 2005;2(5):297-307. Epub 2005/11/08.
82. Oster H, Damerow S, Kiessling S, Jakubcakova V, Abraham D, Tian J, et al. The circadian rhythm of glucocorticoids is regulated by a gating mechanism residing in the adrenal cortical clock. *Cell metabolism*. 2006;4(2):163-73. Epub 2006/08/08.
83. Hastings M, O'Neill JS, Maywood ES. Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms. *The Journal of endocrinology*. 2007;195(2):187-98. Epub 2007/10/24.
84. Bozek K, Relogio A, Kielbasa SM, Heine M, Dame C, Kramer A, et al. Regulation of clock-controlled genes in mammals. *PloS one*. 2009;4(3):e4882. Epub 2009/03/17.

85. Walters J, Skene D, Hampton SM, Ferns GA. Biological rhythms, endothelial health and cardiovascular disease. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2003;9(1):RA1-8. Epub 2003/01/29.
86. Bechtold DA, Loudon AS. Hypothalamic clocks and rhythms in feeding behaviour. *Trends in neurosciences*. 2013;36(2):74-82. Epub 2013/01/22.
87. Kovac J, Husse J, Oster H. A time to fast, a time to feast: the crosstalk between metabolism and the circadian clock. *Molecules and cells*. 2009;28(2):75-80. Epub 2009/08/29.
88. Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, et al. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell metabolism*. 2007;6(5):414-21. Epub 2007/11/07.
89. Rutter J, Reick M, Wu LC, McKnight SL. Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors. *Science*. 2001;293(5529):510-4. Epub 2001/07/07.
90. Albrecht U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron*. 2012;74(2):246-60. Epub 2012/05/01.
91. Katagiri H, Yamada T, Oka Y. Adiposity and cardiovascular disorders: disturbance of the regulatory system consisting of humoral and neuronal signals. *Circulation research*. 2007;101(1):27-39. Epub 2007/07/07.
92. Bowen AJ, Reeves RL. Diurnal variation in glucose tolerance. *Archives of internal medicine*. 1967;119(3):261-4. Epub 1967/03/01.
93. Lamia KA, Storch KF, Weitz CJ. Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(39):15172-7. Epub 2008/09/10.
94. Jarrett RJ, Keen H. Diurnal variation of oral glucose tolerance: a possible pointer to the evolution of diabetes mellitus. *British medical journal*. 1969;2(5653):341-4. Epub 1969/05/10.
95. Shapiro ET, Tillil H, Polonsky KS, Fang VS, Rubenstein AH, Van Cauter E. Oscillations in insulin secretion during constant glucose infusion in normal man:

relationship to changes in plasma glucose. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1988;67(2):307-14. Epub 1988/08/01.

96. Alonso-Vale MI, Andreotti S, Borges-Silva C, Mukai PY, Cipolla-Neto J, Lima FB. Intermittent and rhythmic exposure to melatonin in primary cultured adipocytes enhances the insulin and dexamethasone effects on leptin expression. *Journal of pineal research*. 2006;41(1):28-34. Epub 2006/07/18.

97. Picinato MC, Haber EP, Cipolla-Neto J, Curi R, de Oliveira Carvalho CR, Carpinelli AR. Melatonin inhibits insulin secretion and decreases PKA levels without interfering with glucose metabolism in rat pancreatic islets. *Journal of pineal research*. 2002;33(3):156-60. Epub 2002/09/11.

98. Zanquetta MM, Seraphim PM, Sumida DH, Cipolla-Neto J, Machado UF. Calorie restriction reduces pinealectomy-induced insulin resistance by improving GLUT4 gene expression and its translocation to the plasma membrane. *Journal of pineal research*. 2003;35(3):141-8. Epub 2003/08/23.

99. Uno K, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Imai J, et al. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science*. 2006;312(5780):1656-9. Epub 2006/06/17.

100. Barnea M, Madar Z, Froy O. High-fat diet delays and fasting advances the circadian expression of adiponectin signaling components in mouse liver. *Endocrinology*. 2009;150(1):161-8. Epub 2008/09/20.

101. Shimba S, Ishii N, Ohta Y, Ohno T, Watabe Y, Hayashi M, et al. Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(34):12071-6. Epub 2005/08/12.

102. Mieda M, Williams SC, Richardson JA, Tanaka K, Yanagisawa M. The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(32):12150-5. Epub 2006/08/02.

103. Gerstner JR, Yin JC. Circadian rhythms and memory formation. *Nature reviews Neuroscience*. 2010;11(8):577-88. Epub 2010/07/22.

104. Albrecht U. Circadian clocks in mood-related behaviors. *Annals of medicine*. 2010;42(4):241-51. Epub 2010/03/31.
105. Mendoza J, Graff C, Dardente H, Pevet P, Challet E. Feeding cues alter clock gene oscillations and photic responses in the suprachiasmatic nuclei of mice exposed to a light/dark cycle. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2005;25(6):1514-22. Epub 2005/02/11.
106. Challet E, Caldelas I, Graff C, Pevet P. Synchronization of the molecular clockwork by light- and food-related cues in mammals. *Biological chemistry*. 2003;384(5):711-9. Epub 2003/06/24.
107. Bartol-Munier I, Gourmelen S, Pevet P, Challet E. Combined effects of high-fat feeding and circadian desynchronization. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(1):60-7. Epub 2005/09/15.
108. Hastings MH, Reddy AB, Maywood ES. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature reviews Neuroscience*. 2003;4(8):649-61. Epub 2003/08/02.
109. Foster RG, Wulff K. The rhythm of rest and excess. *Nature reviews Neuroscience*. 2005;6(5):407-14. Epub 2005/04/30.
110. Howell MJ, Schenck CH, Crow SJ. A review of nighttime eating disorders. *Sleep medicine reviews*. 2009;13(1):23-34. Epub 2008/09/30.
111. Colles SL, Dixon JB, O'Brien PE. Night eating syndrome and nocturnal snacking: association with obesity, binge eating and psychological distress. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31(11):1722-30. Epub 2007/06/21.
112. Striegel-Moore RH, Franko DL, Thompson D, Affenito S, Kraemer HC. Night eating: prevalence and demographic correlates. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(1):139-47. Epub 2006/02/24.
113. Berner LA, Allison KC. Behavioral management of night eating disorders. *Psychology research and behavior management*. 2013;6:1-8. Epub 2013/04/10.
114. Stunkard A, Berkowitz R, Wadden T, Tanrikut C, Reiss E, Young L. Binge eating disorder and the night-eating syndrome. *International journal of obesity and*

related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity. 1996;20(1):1-6. Epub 1996/01/01.

115. Allison KC, Grilo CM, Masheb RM, Stunkard AJ. Binge eating disorder and night eating syndrome: a comparative study of disordered eating. *Journal of consulting and clinical psychology*. 2005;73(6):1107-15. Epub 2006/01/06.

116. Allison KC, Lundgren JD, O'Reardon JP, Martino NS, Sarwer DB, Wadden TA, et al. The Night Eating Questionnaire (NEQ): psychometric properties of a measure of severity of the Night Eating Syndrome. *Eating behaviors*. 2008;9(1):62-72. Epub 2008/01/03.

117. Harb AB, Caumo W, Hidalgo MP. [Translation and adaptation of the Brazilian version of the Night Eating Questionnaire]. *Cadernos de saude publica*. 2008;24(6):1368-76. Epub 2008/06/12. Tradução e adaptação da versão brasileira do Night Eating Questionnaire.

118. Harb ABC, Caumo W, Raupp P, Hidalgo MPL. Síndrome do comer noturno: aspectos conceituais, epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos. *Revista de Nutrição*. 2010;23:127-36.

119. A.J. S. *The pain of obesity*. Palo Alto, CA: Bull Publishing Co; 1976. p. 89-111.

120. Miyaoka T, Yasukawa R, Tsubouchi K, Miura S, Shimizu Y, Sukegawa T, et al. Successful treatment of nocturnal eating/drinking syndrome with selective serotonin reuptake inhibitors. *International clinical psychopharmacology*. 2003;18(3):175-7. Epub 2003/04/19.

121. O'Reardon JP, Stunkard AJ, Allison KC. Clinical trial of sertraline in the treatment of night eating syndrome. *Int J Eat Disord*. 2004;35(1):16-26. Epub 2004/01/06.

122. Stunkard AJ, Allison KC, Lundgren JD, Martino NS, Heo M, Etemad B, et al. A paradigm for facilitating pharmacotherapy at a distance: sertraline treatment of the night eating syndrome. *The Journal of clinical psychiatry*. 2006;67(10):1568-72. Epub 2006/11/17.

123. O'Reardon JP, Allison KC, Martino NS, Lundgren JD, Heo M, Stunkard AJ. A randomized, placebo-controlled trial of sertraline in the treatment of night eating syndrome. *The American journal of psychiatry*. 2006;163(5):893-8. Epub 2006/05/02.
124. Vander Wal JS, Gang CH, Griffing GT, Gadde KM. Escitalopram for treatment of night eating syndrome: a 12-week, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of clinical psychopharmacology*. 2012;32(3):341-5. Epub 2012/05/01.
125. Winkelman JW. Treatment of nocturnal eating syndrome and sleep-related eating disorder with topiramate. *Sleep medicine*. 2003;4(3):243-6. Epub 2003/11/01.
126. Spaggiari MC, Granella F, Parrino L, Marchesi C, Melli I, Terzano MG. Nocturnal eating syndrome in adults. *Sleep*. 1994;17(4):339-44. Epub 1994/06/01.
127. O'Reardon JP, Peshek A, Allison KC. Night eating syndrome : diagnosis, epidemiology and management. *CNS drugs*. 2005;19(12):997-1008. Epub 2005/12/08.
128. O'Reardon JP, Ringel BL, Dinges DF, Allison KC, Rogers NL, Martino NS, et al. Circadian eating and sleeping patterns in the night eating syndrome. *Obesity research*. 2004;12(11):1789-96. Epub 2004/12/17.
129. Allen RP. Article reviewed: Behavioral and neuroendocrine characteristics of the night-eating syndrome. *Sleep medicine*. 2000;1(1):67-8. Epub 2000/03/25.
130. Marshall HM, Allison KC, O'Reardon JP, Birketvedt G, Stunkard AJ. Night eating syndrome among nonobese persons. *Int J Eat Disord*. 2004;35(2):217-22. Epub 2004/03/03.
131. Allison KC, Ahima RS, O'Reardon JP, Dinges DF, Sharma V, Cummings DE, et al. Neuroendocrine profiles associated with energy intake, sleep, and stress in the night eating syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(11):6214-7. Epub 2005/09/01.
132. Boston RC, Moate PJ, Allison KC, Lundgren JD, Stunkard AJ. Modeling circadian rhythms of food intake by means of parametric deconvolution: results from studies of the night eating syndrome. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;87(6):1672-7. Epub 2008/06/11.

133. Green CB, Douris N, Kojima S, Strayer CA, Fogerty J, Lourim D, et al. Loss of Nocturnin, a circadian deadenylase, confers resistance to hepatic steatosis and diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(23):9888-93. Epub 2007/05/23.
134. Takahashi JS, Hong HK, Ko CH, McDearmon EL. The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease. *Nat Rev Genet*. 2008;9(10):764-75. Epub 2008/09/20.
135. de Castro JM. The time of day of food intake influences overall intake in humans. *The Journal of nutrition*. 2004;134(1):104-11. Epub 2004/01/06.
136. Gallant AR, Lundgren J, Allison K, Stunkard AJ, Lambert M, O'Loughlin J, et al. Validity of the night eating questionnaire in children. *Int J Eat Disord*. 2012;45(7):861-5. Epub 2012/04/21.
137. Striegel-Moore RH, Thompson D, Franko DL, Barton B, Affenito S, Schreiber GB, et al. Definitions of night eating in adolescent girls. *Obesity research*. 2004;12(8):1311-21. Epub 2004/09/02.
138. Gallant AR, Lundgren J, Drapeau V. The night-eating syndrome and obesity. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2012;13(6):528-36. Epub 2012/01/10.
139. Soria V, Urretavizcaya M. [Circadian rhythms and depression]. *Actas espanolas de psiquiatria*. 2009;37(4):222-32. Epub 2009/11/21. Ritmos circadianos y depresion.
140. Hara R, Wan K, Wakamatsu H, Aida R, Moriya T, Akiyama M, et al. Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus. *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms*. 2001;6(3):269-78. Epub 2001/03/22.
141. Monteleone P, Maj M. The circadian basis of mood disorders: recent developments and treatment implications. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2008;18(10):701-11. Epub 2008/07/30.

142. Garaulet M, Sanchez-Moreno C, Smith CE, Lee YC, Nicolas F, Ordovas JM. Ghrelin, sleep reduction and evening preference: relationships to CLOCK 3111 T/C SNP and weight loss. *PloS one*. 2011;6(2):e17435. Epub 2011/03/10.
143. Garaulet M, Corbalan-Tutau MD, Madrid JA, Baraza JC, Parnell LD, Lee YC, et al. PERIOD2 variants are associated with abdominal obesity, psycho-behavioral factors, and attrition in the dietary treatment of obesity. *Journal of the American Dietetic Association*. 2010;110(6):917-21. Epub 2010/05/26.
144. Mendlewicz J. Disruption of the circadian timing systems: molecular mechanisms in mood disorders. *CNS drugs*. 2009;23 Suppl 2:15-26. Epub 2009/09/04.
145. Harb A, Levandovski R, Oliveira C, Caumo W, Allison KC, Stunkard A, et al. Night eating patterns and chronotypes: a correlation with binge eating behaviors. *Psychiatry Res*. 2012;200(2-3):489-93. Epub 2012/08/22.

5 ARTIGOS

5.1 Artigo 1 - Night eating patterns and chronotypes: A correlation with binge eating behaviors Impact Factor: 2.829

Night eating patterns and chronotypes: A correlation with binge eating behaviors

Ana Harb^{a,b}, Rosa Levandovski^b, Ceres Oliveira^c, Wolnei Caumo^d, Kelly Costello Allison^e, Albert Stunkard^e, Maria Paz Hidalgo^{b,f,n}

^a Universidade Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS) Curso de Nutrição-Area Ciências da Saúde, Unisinos Avenue 950, Sao Leopoldo-ZIP: 93022-000, Brazil

^b Laboratório de Cronobiologia do HCPA/UFRGS Ramiro Barcelos St., 2350—CPE, sala 12107-ZIP: 90035-903, Porto Alegre, Brazil

^c Programa de Pós Graduação do Hospital Moinhos de Vento (HMV), Rua Ramiro Barcelos,910, ZIP: 90035-000, Porto Alegre, RS, Brazil

^d Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Brazil, Ramiro Barcelos St., 2400 – 2rdFloor - ZIP: 90035-003

^e Perelman School of Medicine of the University of Pennsylvania, Department of Psychiatry, Center for Weight and Eating Disorders, 3535 Market St., 3rd Floor, Philadelphia, PA 19104-3309, USA

^f Faculdade de Medicina, Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil

article info

Article history:
Received 24 November 2011
Received in revised form
10 May 2012
Accepted 8 July 2012

Keywords:
Chronotype
Eating disorders
Night eating syndrome
Obesity
Circadian rhythms
Sleep

abstract

This cross-sectional study examined the association between the morningness/eveningness dimension and eating patterns. The sample consists of 100 subjects who were screened at a nutrition clinic and was composed of 77% women; mean age was 39.5 (7 11.7) years; and 66% were overweight. Significant bivariate correlations were found between the Morningness–Eveningness Questionnaire (MEQ) total score and the Binge Eating Scale (BES) and the Night Eating Questionnaire (NEQ). The NEQ and BES were also significantly correlated. Body mass index (BMI) was correlated with the NEQ and BES, but it was not a confounding variable as no associations were found between the MEQ and BMI. To control for potential multicollinearity effects among variables, we also used multivariate regression analysis in which the values of the correlation coefficients were adjusted. Only the BES remained statistically associated with the MEQ. In conclusion, these results suggest that the study of chronotype may be an important issue to be considered when characterizing disordered eating. This study serves as an impetus for examining circadian intake patterns in more detail between those with binge eating disorder (BED) and night eating syndrome (NES) to help discern these important nosological questions.

© 2012 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Humans show inter-individual differences in organizing their behaviors around the 24 h day. Some individuals prefer to go to bed early and wake up early (morning-types) and others prefer to go to bed late and wake up late (evening-types) (Horne and Ostberg, 1976; Roenneberg et al., 2007). These circadian typologies defined as chronotypes, may explain the variations in the rhythmic expression of biological or behavioral patterns (Adan and Natale, 2002; Horne and Ostberg, 1976). The relationship between the circadian system and different chronotypes is genetically well established in experimental studies in organisms ranging from unicells to mammals (Barclay et al., 2011; Layana and Diambra, 2011). Additional factors, such as social, cultural and environmental zeitgeber could modulate chronotype (Levandovski et al., 2011).

Some studies have showed that evening-types tend to skip breakfast more often when compared to morning-types (Sato-Mito et al., 2011). Other research has demonstrated that people who prefer to wake up earlier have more flexible diet control in addition to having greater control over their amount of food intake (Fleig and Randler, 2009; Schmidt and Randler, 2010). These data also suggest that staying up late at night can lead to overeating (Fleig and Randler, 2009). Chronotype can be related to lifestyle, as well as to genetic factors. Studies have demonstrated that chronotype is linked to CLOCK, PER2 and PER3 polymorphisms (Klei et al., 2005; Barclay et al., 2011). Clock genes may synchronize the metabolism and feeding (van der Veen et al., 2006). Moreover PER2 has been implicated in feeding anticipatory behavior (Froy, 2007).

Although eating behavior has been well correlated with circadian rhythm (Garaulet and Madrid, 2010), how specific eating disorders may be linked to chronicity remains unclear. One problem in differentiating the relationship between specific eating disorders and chronotype is diagnostic overlap, most often occurring between binge eating disorder (BED) and night eating syndrome (NES). For example, individuals with either BED or NES may share a feeling of loss of

ⁿ Correspondence author. Tel.: þ55 51 33598849; fax: þ55 51 3339733.
E-mail address: mpaz@cpovo.net (M.P. Hidalgo).

and 18% with night eating behaviors (Z30 on the NES). The sample characteristics are presented in Table 1.

BMI ($r = 0.101$; $p = 0.319$), time of the last weight reduction program ($r = 0.019$; $p = 0.85$) and the EAT ($r = 0.168$; $p = 0.095$) were not correlated to the MEQ (Table 2). Therefore, these variables do not confound the relationship between the MEQ and eating behaviors. However, BMI was correlated with the NEQ ($r = 0.25$; $p = 0.001$) and BES ($r = 0.32$; $p = 0.012$).

MEQ means compared by age, categorized in two groups (≤ 40 and >math>Z40</math> yr), showed no significant difference ($t = 1.77$; $p = 0.08$). As this result represented a tendency we analyzed the influence of age on the correlations between the MEQ, the BES, and the NEQ (Fig. 1a and b). Eveningness was correlated with higher BES scores in older subjects (>math>Z40</math> yr).

Examining the entire sample, significant bivariate correlations were found between the MEQ total score and the BES ($r = 0.33$; $p = 0.001$) and NEQ ($r = 0.24$; $p = 0.015$). The NEQ and BES were also significantly correlated ($r = 0.47$, $p < 0.001$) (Fig. 2).

To control for potential multicollinearity effects among variables, we used multivariate regression analysis in which the

values of the correlation coefficients were adjusted. Only the BES ($B = 0.25$; $p = 0.028$) remained statistically associated with the MEQ total score; the association with the NEQ was no longer significant. The model explains 12% of the outcome ($r^2 = 0.12$; $F = 6.8$; $p = 0.002$).

4. Discussion

This study examined the association between the morningness/eveningness dimension and eating disordered patterns and BMI. The main finding of this study suggested that persons with binge eating and night eating behaviors were more likely to endorse an eveningness chronotype than a morningness chronotype. However, the correlation between the MEQ and NEQ was not maintained when multivariate analysis was applied, possibly because the BES and NEQ scores were significantly correlated.

As previous studies have shown a relationship between the NEQ and circadian disruption (Lundgren et al., 2008; Goel et al., 2009), it was expected that the NEQ would be correlated with the MEQ, i.e., participants who reported higher scores on the NEQ would show eveningness characteristics. The previous research findings indicated that participants with NES considered themselves to function better in the latter part of the day than control participants (Lundgren et al., 2008). However, the findings in this current study only suggested a weak correlation between the morningness/eveningness dimension and night eating, which may be due to the small sample endorsing these behaviors or due to a confounding effect with binge eating behaviors as the correlation was attenuated after controlling for BES scores.

Following from this, we found a significant correlation between the BES and NEQ total scores. Previous studies suggest (Allison et al., 2007) that BED and NES appear to be two different disorders rather than variable expressions of the same underlying psychopathology. Given this, we would have expected the NES group to have a more pronounced eveningness type. However,

Table 2
Correlation between study variables and Morningness/Eveningness Questionnaire (MEQ) total score (n = 100) analyzed by Pearson correlations.

Variables	Bivariate	
	Correlation coefficient (r)	P-value
Body mass index	0.101	0.319
Time since the last weight reduction program ^a	0.019	0.855
Binge Eating Scale ^a	0.328	0.001 ^{**}
Eating Attitudes Test	0.168	0.095
Night Eating Questionnaire ^a	0.243	0.015 ^{**}

^a The variable was treated with logarithmic transformation.
Level of significance: * $p < 0.05$.

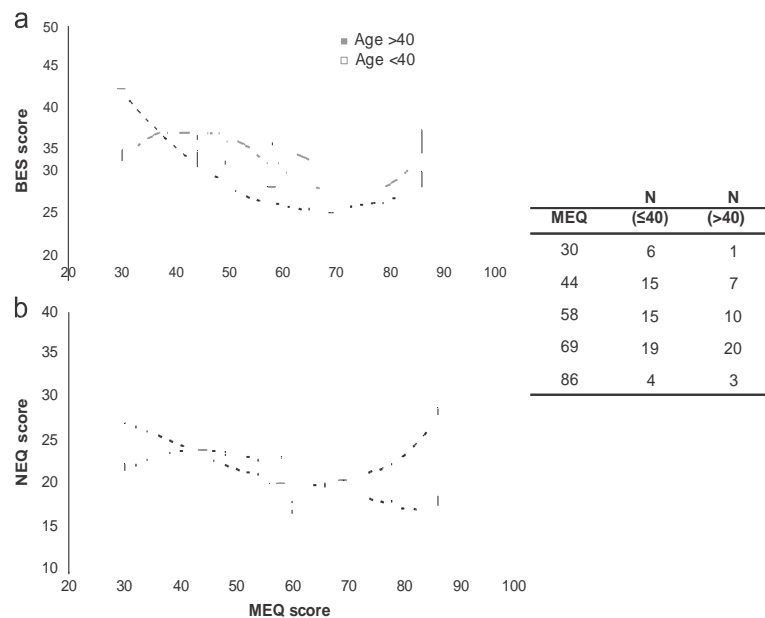


Fig. 1. The graphics show the influence of age (>math>Z40</math> yr) on the correlation between the Morningness–Eveningness Questionnaire and the Binge Eating Scale (BES score—(a)) and the Night Eating Questionnaire (NEQ score—(b)) (plots of scores). Lower scores on the MEQ were related to higher scores on the BES and NEQ in the older group (>math>Z40</math>). Total sample size was 100 subjects. n = Number of subjects; BES = Binge Eating Scale; NEQ = Night Eating Questionnaire.

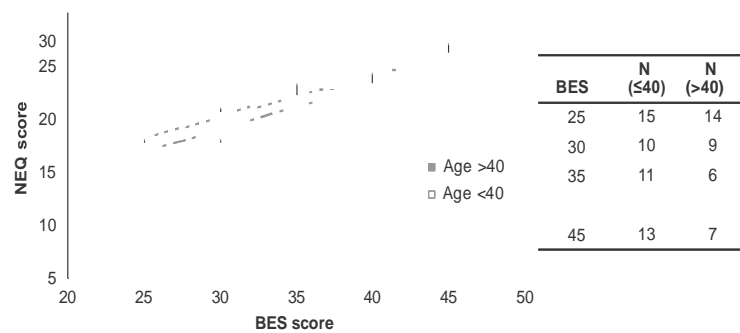


Fig. 2. Correlation plot between Night Eating Questionnaire scores and Binge Eating Scale scores. The graphic shows this correlation independent of age (Z_{40} and $r_{>40}$). Total sample size was 100 subjects. The correlation was significant ($r = 0.47$, $p < 0.001$). $n =$ Number of subjects; BES = Binge Eating Scale; NEQ = Night Eating Questionnaire.

previous studies have shown that participants with NES have similar sleep onset and offset times to those of controls (O'Reardon et al., 2004; Rogers et al., 2006), suggesting that their circadian delay may be confined to their eating as opposed to more globally affecting other aspects of their functioning.

Also, the correlation between the NEQ and MEQ may be modified according to age. Unfortunately, the sample size for those scoring above the clinical cut-score for NES was small in this study. But we observed that, comparing subjects over and under 40 yr, the curve shape (Fig. 1a and b) indicated a negative correlation with the both extreme chronotype. Therefore, we may raise the hypothesis that, age may influence this correlation, probably mediated by sexual hormone, since high testosterone levels lead to eveningness (Randler et al., in press) and menstrual symptoms were more significant in eveningness girls (Negriff and Dom, 2009).

No significant relationship was found between the EAT and MEQ total scores. No evidence of an association between restrictive behaviors and chronotype has been found in the literature so far. Also, there was no association between the MEQ and BMI, in spite of previous evidence suggesting that morningness is correlated with lower BMI (Schubert and Randler, 2008).

Limitations of this study include the use of surveys to assess eating behaviors and the low incidence of night eating behaviors. Additionally, this was a treatment-seeking population with a narrow age range. Demand characteristics may have influenced responses to questionnaires as they were completed before participants returned for treatment. In spite of the limitations, this is the first study that examining the relation between chronotype and eating behaviors on a clinical sample.

In conclusion, these findings of the current study suggest that evening-type patients endorsed more binge eating behaviors than those reporting morning-type chronicity, and they reported a weaker number of night eating behaviors. These results suggest that the study of chronotype may be an important issue to consider when characterizing disordered eating behavior. This link between chronotype and eating behavior may be regulated by leptin and ghrelin circadian rhythms. Patients with NES showed a phase delay in two food-regulatory rhythms—leptin and insulin—and, as expected, the levels of ghrelin were phase advanced (Goel et al., 2009; Jakubowicz et al., 2012).

Our results were surprising, and indicate that more work is needed to examine when binge episodes may be occurring, and what the average proportion of energy intake after dinner may be for those with BED to differentiate it and NES. Consuming 25% of intake after the evening meal (Allison et al., 2010) is adequate for diagnosing NES, or if it is not specific enough. If the latter were the case, then perhaps both evening hyperphagia and nocturnal ingestions would be required for a diagnosis of NES. In sum, this study serves as an impetus for examining circadian intake

patterns in more detail between those with BED and NES to help discern these important nosological questions.

Acknowledgments

We are grateful to nutritionists Vanessa Backes and Laise Balbinot for their contributions in helping with data collection.

References

- Adan, A., Natale, V., 2002. Gender differences in morningness–eveningness preference. *Chronobiology International* 19 (4), 709–720.
- Allison, K.C., Crow, S.J., Reeves, R.R., West, D.S., Foreyt, J.P., Dilillo, V.G., Wadden, T.A., Jeffery, R.W., Van Dorsten, B., Stunkard, A.J., 2007. Binge eating disorder and night eating syndrome in adults with type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring)* 15 (5), 1287–1293.
- Allison, K.C., Lundgren, J.D., O'Reardon, J.P., Martino, N.S., Sarwer, D.B., Wadden, T.A., Crosby, R.D., Engel, S.G., Stunkard, A.J., 2008. The Night Eating Questionnaire (NEQ): psychometric properties of a measure of severity of the Night Eating Syndrome. *Eating Behaviors* 9 (1), 62–72.
- Allison, K.C., Lundgren, J.D., O'Reardon, J.P., Geliebter, A., Gluck, M.E., Vinai, P., Mitchell, J.E., Schenck, C.H., Howell, M.J., Crow, S.J., Engel, S., Latzer, Y., Tzischinsky, O., Mahowald, M.W., Stunkard, A.J., 2010. Proposed diagnostic criteria for night eating syndrome. *International Journal of Eating Disorders* 43 (3), 241–247.
- Aronoff, N.J., Geliebter, A., Hashim, S.A., Zammit, G.K., 1994. The relationship between daytime and nighttime food intake in an obese night-eater. *Obesity Research* 2 (2), 145–151.
- Barclay, N.L., Eley, T.C., Mill, J., Wong, C.C., Zavos, H.M., Archer, S.N., Gregory, A.M., 2011. Sleep quality and diurnal preference in a sample of young adults: associations with 5HTTLPR, PER3, and CLOCK 3111. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics* 156B (6), 681–690.
- Fleig, D., Randler, C., 2009. Association between chronotype and diet in adolescents based on food logs. *Eating Behaviors* 10 (2), 115–118.
- Froy, O., 2007. The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals. *Frontiers in Neuroendocrinology* 28 (2–3), 61–71.
- Garaulet, M., Madrid, J.A., 2010. Chronobiological aspects of nutrition, metabolic syndrome and obesity. *Advanced Drug Delivery Reviews* 31 (9–10), 967–978.
- Garner, D.M., Garfinkel, P.E., 1979. The Eating Attitudes Test: an index of the symptoms of anorexia nervosa. *Psychological Medicine* 9 (2), 273–279.
- Goel, N., Stunkard, A.J., Rogers, N.L., Van Dongen, H.P., Allison, K.C., O'Reardon, J.P., Ahima, R.S., Cummings, D.E., Heo, M., Dinges, D.F., 2009. Circadian rhythm profiles in women with night eating syndrome. *Journal of Biological Rhythms* 24 (1), 85–94.
- Gormally, J., Black, S., Daston, S., Rardin, D., 1982. The assessment of binge eating severity among obese persons. *Addictive Behaviors* 7 (1), 47–55.
- Horne, J.A., Ostberg, O., 1976. A self-assessment questionnaire to determine morningness–eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology* 4 (2), 97–110.
- Jakubowicz, D., Froy, O., Wainstein, J., Boaz, M., 2012. Meal timing and composition influence ghrelin levels, appetite scores and weight loss maintenance in overweight and obese adults. *Steroids* 77 (4), 323–331.
- Klei, L., Reitz, P., Miller, M., Wood, J., Maendel, S., Gross, D., Waldner, T., Eaton, J., Monk, T.H., Nimgaonkar, V.L., 2005. Heritability of morningness–eveningness and self-report sleep measures in a family-based sample of 521 hutterites. *Chronobiology International* 22 (6), 1041–1054.
- Layana, C., Diambra, L., 2011. Time-course analysis of cyanobacterium transcriptome: detecting oscillatory genes. *Plos One* 6 (10), e26291.

control over their eating, but the time when this happens is different (Aronoff et al., 1994); in the NES group loss of control occurs in the evening and nighttime, but in the BED group, binge episodes may occur at any time of day (Allison et al., 2007).

As reported earlier, the individual differences in circadian typology may influence eating behavior as a zeitgeber (Natale et al., 2008). Studies demonstrated that persons with NES had significantly lower scores on the Morningness/Eveningness Questionnaire (MEQ), indicating that they had a higher probability of endorsing the eveningness type (Natale et al., 2008; Lundgren et al., 2008). To our knowledge, no studies have examined chronotype in relation to both binge eating and night eating symptoms, which could help clarify the question of overlap between the two disorders. Thus, in this study our aim was to investigate the correlation between chronotypes and disordered eating behavior, including binge eating and night eating, and body mass index (BMI). We hypothesized that night eating would show the strongest relationship with the eveningness type among these factors.

2. Methods

2.1. Participants

Cross-sectional data were collected from 100 participants consecutively admitted to an outpatient nutrition clinic. The inclusion criteria targeted adult patients between 18 and 65 yr. Demographic information is presented and summarized in Table 1.

2.2. Procedures

The study protocol (reference number: 226/06) was approved by the Human Research Committee at Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA) and was performed in compliance with the Helsinki Declaration. All study participants signed an informed consent form.

The participants were invited to participate in the research study when they came to the nutrition clinic for weight loss treatment or improvement of their eating habits. Their weight and height were measured on an anthropometric scale by the same evaluator (by A.H.). At the end of the evaluation, participants completed a battery of questionnaires.

2.3. Measures

2.3.1. Independent variable

The independent variable was chronotype as assessed by the Morningness–Eveningness Questionnaire (MEQ). This questionnaire provided an indication of circadian preference which is a construct developed to estimate phase tendencies in circadian rhythm. Scores range from 16 to 86, with higher scores indicating greater morningness (Horne and Ostberg, 1976).

2.3.2. Dependent variables

The dependent variables were: (1) BMI and weight related demographic information, (2) Binge Eating Scale (BES), (3) Eating Attitudes Test, and (4) Night Eating Questionnaire (NEQ).

2.4. Assessment of eating behavior and eating disorders

BMI was calculated according to the Quetelet index (weight in kilograms divided by height in meters squared). Information was also collected related to time since last weight reduction program and use of antidepressants and hypnotic drugs.

The Binge Eating Scale (BES) (Gormally et al., 1982) is a 16-item self-reported questionnaire, designed specifically to identify the behavioral and cognitive characteristics of binge eating in obese individuals. It is used as a screening tool to identify persons with binge eating, evaluate binge eating severity, and serve as a predictor of treatment outcome. A cut-off score of 18 or more is used to identify cases of BED.

The Eating Attitudes Test (EAT) (Garner and Garfinkel, 1979) assesses abnormal eating attitudes and behaviors, in particular those of a restrictive type that characterize anorexia nervosa. We used the 26-item Brazilian version which discriminates between clinically diagnosed cases of eating disorders and healthy controls at the original cut-off score of 20.

The Night Eating Questionnaire (NEQ) (Allison et al., 2008), a 14-item screening instrument for NES, was used to assess the presence of night eating behavior. The questions assess hunger and craving patterns throughout the day, percentage of calories ingested after suppertime, feelings of depression, insomnia, awakenings, and nocturnal food cravings and ingestions. A score of 30 is strongly suggestive of NES. We used the version of the NEQ that was translated and adapted to Portuguese for the Brazilian population.

2.5. Statistical analyses

Descriptive statistics were performed to describe the demographic characteristics of participants. The asymmetric variables were described with medians and inter-quartile ranges. The means or medians of the BES, EAT, NEQ and MEQ are presented in Table 1. Age was categorized in two groups ≤ 40 yr and > 40 yr. Comparisons of means were performed using Student's *t* test for independent variables. We performed logarithmic transformations due to wide standard deviations for the following variables: NEQ, BES and time since last weight reduction program.

Pearson's correlations were used to evaluate the relationships among BMI, BES, EAT, NEQ and MEQ total score (Table 2). Multilinear regression models were used to evaluate the associations among the variables with potential confounding variable (BES and NEQ) and the MEQ total score.

For all analyses, statistical significance was set at $p < 0.05$, two-tailed. Data were analyzed using SPSS version 13.0 (SPSS, Chicago, IL).

3. Results

The sample ($n = 100$) had a mean age of 39.5 ± 11.7 yr. Among these, 77% were women, 66% overweight (BMI ≥ 25 kg/m²), 43% presented with binge eating behaviors (≥ 18 on the BES), 27% with abnormal eating attitudes and behaviors (≥ 20 on the EAT)

Table 1
Demographic information for the sample and questionnaires in the study, including mean scores and descriptive analyses.

Participants' characteristics	Total sample (n=100)
Age (years)—mean \pm S.D.	39.5 \pm 11.7
Sex—n (%)	
Men	23 (23.0)
Women	77 (77.0)
Weight (kg)—mean \pm S.D.	73.3 \pm 13.9
Height (m)—mean \pm S.D.	1.65 \pm 0.08
Body mass index (kg/m ²)—mean \pm S.D.	26.8 \pm 4.02
Body mass index classifications—n (%)	
Overweight	48 (48.0)
Obese	18 (18.0)
Antidepressant medication—n (%)	26 (26.0)
Hypnotic medication and Benzodiazepines—n (%)	8 (8.0)
Time of the last weight reduction program (months)—median (P25–P75)	24.5 (16–46)
Binge Eating Scale (BES)—median (P25–P75)	14.5 (9–21.8)
Eating Attitudes Test (EAT)—mean \pm S.D.	16.7 \pm 7.81
Night Eating Questionnaire (NEQ)—median (P25–P75)	13 (9–18)
Morningness/Eveningness Questionnaire (MEQ)—mean \pm S.D.	52.4 \pm 14.0

- Levandovski, R., Dantas, G., Fernandes, L.C., Caumo, W., Torres, I., Roenneberg, T., Hidalgo, M.P., Allebrandt, K.V., 2011. Depression scores associate with chronotype and social jetlag in a rural population. *Chronobiology International* 28 (9), 771–778.
- Lundgren, J.D., Allison, K.C., O'Reardon, J.P., Stunkard, A.J., 2008. A descriptive study of non-obese persons with night eating syndrome and a weight-matched comparison group. *Eating Behaviors* 9 (3), 343–351.
- Natale, V., Ballardini, D., Schumann, R., Mencarelli, C., Magelli, V., 2008. Morningness–eveningness preference and eating disorders. *Personality and Individual Differences* 45 (6), 549–553.
- Negriff, S., Dorn, L.D., 2009. Morningness/eveningness and menstrual symptoms in adolescent females. *Journal of Psychosomatic Research* 67 (2), 169–172.
- O'Reardon, J.P., Ringel, B.L., Dinges, D.F., Allison, K.C., Rogers, N.L., Martino, N.S., Stunkard, A.J., 2004. Circadian eating and sleeping patterns in the night eating syndrome. *Obesity Research* 12 (11), 1789–1796.
- Randler, C., Ebenhöf, N., Fischer, A., Höchel, S., Schroff, C., Stoll, J.C., Vollmer, C., 2012.02.008, in press. Chronotype but not sleep length is related to salivary testosterone in young adult men. *Psychoneuroendocrinology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.psycheneu.2012.02.008>, in press.
- Roenneberg, T., Kuehnle, T., Juda, M., Kantermann, T., Allebrandt, K., Gordijn, M., Merrow, M., 2007. Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Medicine Reviews* 11 (6), 429–438.
- Rogers, N.L., Dinges, D.F., Allison, K.C., Maislin, G., Martino, N., O'Reardon, J.P., Stunkard, A.J., 2006. Assessment of sleep in women with night eating syndrome. *Sleep* 29 (6), 814–819.
- Sato-Mito, N., Sasaki, S., Murakami, K., Okubo, H., Takahashi, Y., Shibata, S., et al., 2011. The midpoint of sleep is associated with dietary intake and dietary behavior among young Japanese women. *Sleep Medicine* 12 (3), 289–294.
- Schmidt, S., Randler, C., 2010. Morningness–eveningness and eating disorders in a sample of adolescent girls. *Journal of Individual Differences* 31 (1), 38–45.
- Schubert, E., Randler, C., 2008. Association between chronotype and the constructs of the Three-Factor-Eating-Questionnaire. *Appetite* 51 (3), 501–505.
- van der Veen, D.R., Minh, N.L., Gos, P., Americ, M., Gerkema, M.P., Schibler, U., 2006. Impact of behavior on central and peripheral circadian clocks in the common vole *Microtus arvalis*, a mammal with ultradian rhythms. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A* 103 (9), 3393–3398.

5.2 Artigo 2 - CHRONOBIOLOGICAL ASPECTS OF NIGHT EATING SYNDROME

Submetido à *Chronobiology International* Fator de Impacto: 4.350

CHRONOBIOLOGICAL ASPECTS OF NIGHT EATING SYNDROME

Harb A^{1,2,3}, Levandovski R^{1,4,5}, Correa F¹, Hidalgo M P^{1,2,5,6}

¹Laboratório de Cronobiologia Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)/Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

²Programa de Pós-Graduação em Medicina, Ciências Médicas Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

³Universidade Vale do Rio dos Sinos (Unisinos), São Leopoldo, Brazil

⁴Grupo Hospitalar Conceição, Porto Alegre, Brazil

⁵Programa de Pós-Graduação Ciências Médicas, Psiquiatria Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

⁶Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal, Faculdade de Medicina (Famed), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

MSc Ana Beatriz Cauduro Harb: anaharb@anaharb.com.br

PhD, postdoctoral student Rosa Maria Levandovski: rosa.levandovski@gmail.com

Graduate student Francine Harb Correa: francineharb@gmail.com

Professor, PhD Maria Paz Loayza Hidalgo: mpaz@cpovo.net

Corresponding author:

Maria Paz Loayza Hidalgo

Laboratório de Cronobiologia - HCPA /UFRGS

Rua Ramiro Barcelos 2350, sala 12107. Fone: 51 33598849

Porto Alegre, RS, Brazil CEP: 90035-903

Mail: mpaz@cpovo.net

ABSTRACT

This study aimed to demonstrate the chronobiological aspects of night eating syndrome (NES) by examining the phenotype, activity and light-exposure rhythms and gene expression patterns (*CLOCK*, *BMAL1*, *Cry1* and *Per2*). Twenty-eight patients including 14 with NES (10 women) and 14 non-NES controls (nine women) participated in this study. The mean age of all participants was 40.71 ± 12.37 years and the mean body mass index was 26.8 ± 5.7 kg/m². Patient characteristics, including emotional aspects, chronotype, and quality of sleep were assessed by questionnaires. Activity and light-exposure rhythmicity were assessed by continuous actigraphy, and clock-gene expression was measured in leukocytes (peripheral blood mononuclear cells). There were no significant differences between the groups in terms of chronobiological parameters, refuting the hypothesis that control of the biological clock may be linked to the pathophysiology of NES. The timing and quality of food intake should be further studied to clarify the relationship between the regulation of eating and control of the biological rhythm. Further studies are also required to investigate if eating a main meal at night has a significant impact on metabolism and behavior.

Keywords: gene expression, circadian rhythm, circadian clock, biological clock, night eating syndrome.

INTRODUCTION

Living beings organize their daily physiology and behavior based on biological clocks that coordinate their circadian rhythms. These rhythms are observed in biological functions such as metabolism, hormonal function, temperature regulation, social rhythms and sleep, and are controlled by external clues, such as light and eating, or by endogenous rhythms (Dibner et al. 2010). Circadian rhythms are cyclic processes that are able to readjust in response to various circadian synchronizers. This oscillatory circadian system is determined genetically by a set of clock genes, which is essential for the generation, maintenance and synchronization of circadian pacemaker output (Czeisler & Gooley 2007).

The machinery of the circadian clock is represented by a feedback system involving coordination of the transcription-translation machineries. Changes in mRNA expression, protein stability, chromatin state and the production of metabolites use feedback mechanisms to maintain the correct time. Recent studies demonstrated that the regulation of metabolism by the biological clock and its components is accomplished in a similar manner, such that alterations in circadian metabolism are also regulated in cells at the genomic level (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi 2013). Four clock genes have been identified in mammals: *CLOCK*, *BMAL1*, *Cryptochromes* (*Cry1* and *Cry2*), and *Period* (*Per1*, *Per2* and *Per3*), which are expressed rhythmically in the central nervous system (Ohdo 2007). The expression and transcriptional suppression of these genes, and the formation of heterodimers, result in the 24-h pattern of rhythmicity (Mignot & Takahashi 2007). These complex mechanisms are coordinated by the suprachiasmatic nucleus (SCN) (Jin et al. 1999), together with clock genes from peripheral tissues, the function of which depends on

the central hypothalamus clock, to form a hierarchical circadian system (Albrecht 2012).

Eating in mammals is under homeostatic control and involves humoral factors acting on hypothalamic neurons that ultimately control the urge to eat. A typical pattern of daytime eating for diurnal organisms or nighttime eating for nocturnal organisms is important for metabolic homeostasis, and can be influenced by the circadian system from the SCN, or through local oscillators in peripheral tissues (Albrecht 2012). Mammals tend to consume most of their food and water during their normal waking period, i.e., during the day for diurnal mammals and during the night for nocturnal animals, which also coincides with food-seeking activities. Regular eating patterns can thus influence the functioning of the biological clock, and stability can alleviate the symptoms of diseases associated with circadian misalignment, such as sleep disturbances, jetlag, and various neuropsychiatric disorders (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi 2013). This suggests that realignment of the clock or strengthening of internal synchronization by exposure to light, or by regulating the hours of sleeping/waking, may help to prevent metabolic diseases such as obesity, diabetes and night eating syndrome (NES).

NES is characterized by a circadian delay in food intake (Stunkard et al. 1955). However, it is unclear if the decoupling in NES individuals occurs as a result of disruption of the peripheral oscillators and the central clock, or if the peripheral oscillators operate out of phase with each other, independently of the central clock synchronization. It is therefore necessary to clarify the mechanisms implicated in these circadian disturbances and relate them to metabolic disorders in individuals with NES (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi 2013).

The present study aimed to investigate the chronobiological aspects of NES by assessing the phenotype, activity and light-exposure rhythms, and clock gene expression patterns (*CLOCK*, *BMAL1*, *Cry1* and *Per2*).

MATERIALS AND METHODS

Subject characteristics

A total of 28 outpatients from a nutrition clinic (14 with NES and 14 non-NES controls) participated in this study. All patients were adults aged between 18 and 65 yr. Exclusion criteria for both groups were treatment-resistant psychiatric symptoms, including substance abuse and dependence in the past 6 months, medical conditions affecting appetite and eating patterns, sleep apnea, shift working and the use of antidepressant medications.

The sample size was based on previous studies that indicated a prevalence of NES of 12–26% (median 19%, assuming an error α of $\pm 7\%$. The confidence interval was 95%).

The study was approved by the Ethics Committee (protocol number 10-0192) of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), and performed according to the standard good clinical practice guidelines established in the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki). All participants signed an informed consent form.

Procedures

The patients were allocated into two groups according to the presence or absence of NES. The flowchart for the study protocol is shown in **Figure 1**.

Instruments and measurements

Independent variables

NES was evaluated as the independent variable using the Night Eating Questionnaire (NEQ) (Allison et al. 2008) based on new diagnostic criteria (Allison et al. 2010). This 14-item screening instrument score is a self-reported questionnaire for assessing night eating behavior. A score ≥ 30 is strongly suggestive of NES. The version of NEQ used was translated into Portuguese and adapted for the Brazilian population. The cutoff score for detecting NES was 20 (Harb et al. 2008).

Dependent variables

Subjects answered the Self-Reporting Questionnaire-20 (SRQ-20) adapted by Mari and Williams (Mari & Williams 1986) to detect minor psychiatric disorders, defined by scores ≥ 6 for men and ≥ 8 for women. The presence and intensity of depressive symptoms were assessed using the Beck Depression Inventory (Beck et al. 1961), which includes 21 items, with depression being classified as a score ≥ 10 .

The chronotype was assessed using the Morningness–Eveningness Questionnaire (Horne & Ostberg 1976). This questionnaire provides an indication of circadian preference, which is used to estimate phase tendencies in circadian rhythm. The scores range from 16–86 with cutoff scores of: (1) 16–41 for eveningness; (2) 42–58 for intermediate; and (3) 59–86 for morningness chronotypes.

Sleep quality was assessed using the Pittsburgh Sleep Quality Index (Buysse et al. 1989), which evaluates sleep quality over the previous 30 days, to distinguish between good and poor sleep qualities. The cutoff point was > 5 .

Assessment of activity and light rhythm

Variations in circadian rhythm were assessed by continuous actigraphy monitoring with light sensors in patients for around 12 days. The actigraph was a pulse Actiwatch® (Philips Respironics), which is designed to monitor long-term activity and ambient light exposure in human subjects. It contains an accelerometer that detects motion with a minimum resultant force of 0.01 g. Actigraph data were read primarily using the Interface Actiwatch Reader®, converted into an Excel table and processed using the specific 'El Temps' program for chronobiological analysis. The epoch length was 1 min.

Motor activity data were initially visually inspected by double-plotted graphs. For each subject, data were fitted to a cosinusoidal curve of a 24:00h rhythm (cosinor analysis). This analysis demonstrated the amplitude, mesor, and acrophase of the adjusted rhythm. The means and standard errors of the daily acrophases were calculated. The stability of the daily phases of each individual circadian rhythm was calculated using the Rayleigh z test. The resulting vector angle indicated the mean peak time for each individual rhythm, and the magnitude of the vector (r) indicated the phase coherence.

Genetic assessment

The blood samples were collected from 8:00h to 16:00h for bout groups. The expression levels of the *CLOCK*, *BMAL1*, *Cry1* and *Per2* genes were measured in leukocytes (peripheral blood mononuclear cells), which could be sampled easily and non-invasively (Teboul et al. 2005). We collected 2.5 mL of peripheral blood in PAX® tubes, containing an RNA-stabilizing substance. After collection, RNA was extracted with a commercial kit and converted into cDNA using an oligo-dT kit (Invitrogen)

(Weber et al. 2010) and reverse transcriptase (Superscript II). Gene expression analysis was performed by reverse transcription-polymerase chain reaction using the TaqMan Gene Expression Assays system (catalog number 4331182 – Life Technologies do Brasil LTDA) with gene-specific probes, and using glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase as a reference gene commercial purchased. All these reactions were performed in the Laboratório de Identificação Genética - Centro de Pesquisa Experimental HCPA.

Statistical analysis

The distribution of variables was described as mean \pm standard deviation. Fisher's exact test was used to analyze categorical variables. Continuous, normally distributed, variables were analyzed with Student's t-test for independent samples. Activity was measured by actigraphy. The amplitude, acrophase, mesor and percentage of rhythmicity were analyzed by Cosinor test (Sokolove & Bushell 1978) and the calculations were performed using the integrated Chronobiology program El Temps.

Data were analyzed using SPSS for Windows version 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) and statistical significance was set at a two-tailed p value \leq .05.

RESULTS

The characteristics of the individuals are shown in **Table 1**. A total 14 patients with NES (10 women, 71.4%) and 14 non-NES controls (nine women, 64.3%) were evaluated. The mean age of the total sample was 40.71 ± 12.37 yr. The mean body mass index (BMI) was 26.8 ± 5.7 kg/m², calculated according to the Quetelet index (weight in kilograms divided by height in meters squared). Regarding comorbid

diseases, 20.6% had hypertension, 10.7% were dyslipidemic and 3.5% had type 2 diabetes mellitus.

The two groups were analyzed in relation to medication use according to the Anatomical Therapeutic Chemical Code (ACT) (WHO 2013). There no statistical significance differences in relation to medication use and chronic pain. In the control group 7.1% of patients were using statins and 28.6% antihypertensive drugs. In the NES group 7.1% were using oral hypoglycemic drugs and 21.4% antihypertensive drugs. Chronic pain was reported by 14.3% in the NES group and 21.4% in the control group.

Regarding minor psychiatric disorders, the scores were higher in the NES group (5.29 ± 3.24) than in the control group (3.14 ± 2.77), though the difference was not significant. The same was true regarding depressive symptoms assessed by BED scores, which were $9.14 (\pm 6.38)$ and $5.14 (\pm 4.50)$, respectively.

There was no significant difference in chronotype scores between the two groups. The total score in the NES group was $51.57 (\pm 9.15)$, and that in the control group was $49.79 (\pm 13.1)$. Morningness were present in 35.7% in the NES group and 21.4% in the control group, eveningness in 14.3% in the NES group and 21.4% in the control group, and intermediate in 50% in the NES group and 57% in the control group.

Sleep quality scores were slightly higher in patients with NES than in the control group, indicating poorer sleep quality, but the difference between the groups was not significant. Actigraphy demonstrated no differences in activity levels or light exposure during the days when the subjects were evaluated (**Table 2**).

Blood samples sorted according to the hour they were collected were assessed for mRNA expression. The analyzes of mRNA expression levels were

measured in Relative Quantification (RQ) logarithms (Livak & Schmittgen 2001). *CLOCK* gene demonstrated two peaks around 10:00h and 14:00h in the NES group. The main peak in the control group occurred around 10:00h, but then expression declined throughout the day (Figure 3.A). *BMAL1* gene expression showed some similarities between the groups, with increased expression around 14:00h in both groups (Figure 3.B). However, expression levels in the NES group showed a slight increase around 11:00h and a slight drop around 12:00h, before increasing again at 14:00h, while the main peak in the control groups occurred around 08:00 h. *Cry1* gene expression levels were similar in both groups until 12:30h, after which mRNA levels increased in the NES group, but fell until 15:00h, then started to rise again in the control group (Figure 3.C). Finally, *Per2* mRNA expression levels were similar in both groups (Figure 3.D).

DISCUSSION

The current study detected no differences in age, sex, reported illnesses, medication use, chronic pain, or chronobiological parameters (phenotype and genotype) between patients with and without NES.

In addition, there were no differences in chronotype, sleep quality or BMI between NES and non-NES patients. These results corroborate the findings of our previous study (Harb et al. 2012), which reaffirming that weight gain is not associated with NES. These data could be explained by a true lack of association, or because the definition of the syndrome is fragile. By definition, a syndrome is a cluster of symptoms related to a pathogenesis, and we should not affirm that there is a pathogenesis characterized by the association of the following symptoms: consumption of $\geq 25\%$ of daily food intake after dinner, insomnia, depressive mood,

and stress. Because the characteristic symptoms of NES tend to be associated with minor psychiatric disorders and depressive symptoms, it is possible that the syndrome may be a comorbidity of another psychiatric disorder.

Given that the main feature of this syndrome is the characteristic timing of food intake, we hypothesized that the chronobiological system might be involved in its etiology, and that variables such as the pace of activity and light exposure would be related to the presence of the syndrome. However, we found no differences between the groups in terms of the parameters describing the chronobiological phase and the robustness of the circadian rhythms. The fact that night eaters get up at night did not appear to change the pace of the activity. However, our sample comprised subjects living in a major city, and it is therefore possible that both groups were exposed to light pollution during the night, resulting in homogenization of the sample.

In our sample, the acrophases of the clock genes occurred between 14:00h and 15:00h. We expected clock-gene expression to differ between the groups, but no major differences were detected. This may have been because both groups were exposed to the same lighting conditions, and light is known to be one of the most powerful synchronizers of physiological and behavioral activities in human beings, and activates the expression of clock genes. The *CLOCK* and *BMAL1* transcription factors unite to activate gene expression, while *Cry1* and *2* and *Per2* provide negative feedback. However, our study found no differences in the expression levels of these four genes between NES and non-NES patients, suggesting that they are not involved in the etiology of NES.

The groups were homogeneous in terms of age, sex, reported illnesses, medication use and chronic pain. In spite of these result need to be confirm in a

large sample, our findings do not support the hypothesis that the chronobiological system is linked to the pathophysiology of NES. May be the focus of future studies should be clarify the relationship between timing of food intake and the regulation of eating mediated by biological clock .

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Genetic Lab of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and especially Professor Maria Luiza Saraiva-Pereira, for their valuable assistance.

References

- Albrecht U (2012) Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron* 74(2):246-260
- Allison KC, Lundgren JD, O'Reardon JP, Geliebter A, Gluck ME, Vinai P, Mitchell JE, Schenck CH, Howell MJ, Crow SJ, Engel S, Latzer Y, Tzischinsky O, Mahowald MW, Stunkard AJ (2010) Proposed diagnostic criteria for night eating syndrome. *Int J Eat Disord* 43(3):241-247
- Allison KC, Lundgren JD, O'Reardon JP, Martino NS, Sarwer DB, Wadden TA, Crosby RD, Engel SG, Stunkard AJ (2008) The Night Eating Questionnaire (NEQ): psychometric properties of a measure of severity of the Night Eating Syndrome. *Eat Behav* 9(1):62-72
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J (1961) An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 4:561-571
- Buysse DJ, Reynolds CF, 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ (1989) The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 28(2):193-213
- Czeisler CA, Gooley JJ (2007) Sleep and circadian rhythms in humans. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 72:579-597
- Dibner C, Schibler U, Albrecht U (2010) The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol* 72:517-549
- Eckel-Mahan K, Sassone-Corsi P (2013) Metabolism and the circadian clock converge. *Physiol Rev* 93(1):107-135

- Harb A, Levandovski R, Oliveira C, Caumo W, Allison KC, Stunkard A, Hidalgo MP (2012) Night eating patterns and chronotypes: a correlation with binge eating behaviors. *Psychiatry Res* 200(2-3):489-493
- Harb AB, Caumo W, Hidalgo MP (2008) [Translation and adaptation of the Brazilian version of the Night Eating Questionnaire]. *Cad Saude Publica* 24(6):1368-1376
- Horne JA, Ostberg O (1976) A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 4(2):97-110
- Jin X, Shearman LP, Weaver DR, Zylka MJ, de Vries GJ, Reppert SM (1999) A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell* 96(1):57-68
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods* 25(4):402-408
- Mari JJ, Williams P (1986) A validity study of a psychiatric screening questionnaire (SRQ-20) in primary care in the city of Sao Paulo. *Br J Psychiatry* 148:23-26
- Mignot E, Takahashi JS (2007) A circadian sleep disorder reveals a complex clock. *Cell* 128(1):22-23
- Ohdo S (2007) Chronopharmacology focused on biological clock. *Drug Metab Pharmacokinet* 22(1):3-14
- Sokolove PG, Bushell WN (1978) The chi square periodogram: its utility for analysis of circadian rhythms. *J Theor Biol* 72(1):131-160
- Stunkard AJ, Grace WJ, Wolff HG (1955) The night-eating syndrome; a pattern of food intake among certain obese patients. *Am J Med* 19(1):78-86

- Teboul M, Barrat-Petit MA, Li XM, Claustrat B, Formento JL, Delaunay F, Levi F, Milano G (2005) Atypical patterns of circadian clock gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. *J Mol Med (Berl)* 83(9):693-699
- Weber DG, Casjens S, Rozynek P, Lehnert M, Zilch-Schoneweis S, Bryk O, Taeger D, Gomolka M, Kreuzer M, Otten H, Pesch B, Johnen G, Bruning T (2010) Assessment of mRNA and microRNA Stabilization in Peripheral Human Blood for Multicenter Studies and Biobanks. *Biomarker insights* 5:95-102
- WHO (2013) Methodology Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2013 In: Norwegian Institute of Public Health, Oslo, p 275

Tables and Figures legends

Table 1 Demographic and psychometric factors in night eaters and control group

Variable	Night Eaters (n=14)	Controls (n=14)	Statistic test	P
Sex (women)	10 (71.4)	9 (64.3)	-#	1.000
Age (years)	41.1 (\pm 11.9)**	40.3 (\pm 13.2)**	-1.180*	.858
BMI (kg/m ²)	27.52 (\pm 5.77)**	26.08 (\pm 5.71)**	-.667*	.510
Drugs (ATC)				
Statin	0 (.0)	1 (7.1)	-#	1.000
Oral hypoglycemic	1 (7.1)	0 (.0)	-#	1.000
Antihypertensive	3 (21.4)	4 (28.6)	-#	1.000
Chronic pain	2 (14.3)	3 (21.4)	-#	1.000
SRQ score	5.29 (\pm 3.24)**	3.14 (\pm 2.77)**	-1.88*	.071
Beck score	9.14 (\pm 6.38)**	5.14 (\pm 4.50)**	-1.916*	.066
Chronotype score	51.57 (\pm 9.15)**	49.79 (\pm 13.1)**	-.419*	.679
Morningness	5 (35.7)	3 (21.4)		
Eveningness	2 (14.3)	3 (21.4)		
Intermediary	7 (50)	8 (57)		
Sleep quality score	8.36 (\pm 3.63)**	6.21 (2.78)**	-1.754*	.091

*Student's *t*-test; #Fisher's exact test; **Variables described by median (\pm SD)

Table 2 Comparison of rest-activity and light-exposure rhythm parameters between the night eaters and control group

Variables	Night Eaters (n=13)	Control (n=13)	<i>t</i> test	<i>p</i> value
Rest-activity				
Acrophase of Activity	921.7 (± 78.6)	926.7 (± 91.0)	.15	.882
Mesor of activity	247.1 (± 55.8)	233.1 (± 64.9)	-.59	.56
Amplitude of activity	169.9 (± 38.2)	162.5 (± 45.6)	-.45	.57
% Ve of activity	46.3 (± 4.7)	44.5 (± 9.2)	-.63	.53
<i>p</i> of activity	5.61 (1.12 – 9.81)	5.61 (1.12 – 9.81)	-.78 ^a	.448
Light exposure				
Acrophase of light	802.2 (± 82.9)	830.7 (± 70.0)	.95	.35
Mesor of light	279.1 (122 – 1275)	409.6 (99 – 1772)	-.95 ^a	.362
Amplitude of light	480.3 (168 – 2266)	628.8 (131 – 3067)	-.69 ^a	.511
% Ve of light	5.7 (± 2.7)	5.4 (± 2.6)	-.29	.77
<i>p</i> of light	3.64 (1.96 – 6.81)	3.92 (1.31 – 8.98)	-.31 ^a	.762

Amplitude = difference between mesor and peak; acrophase = clock time of the peak value

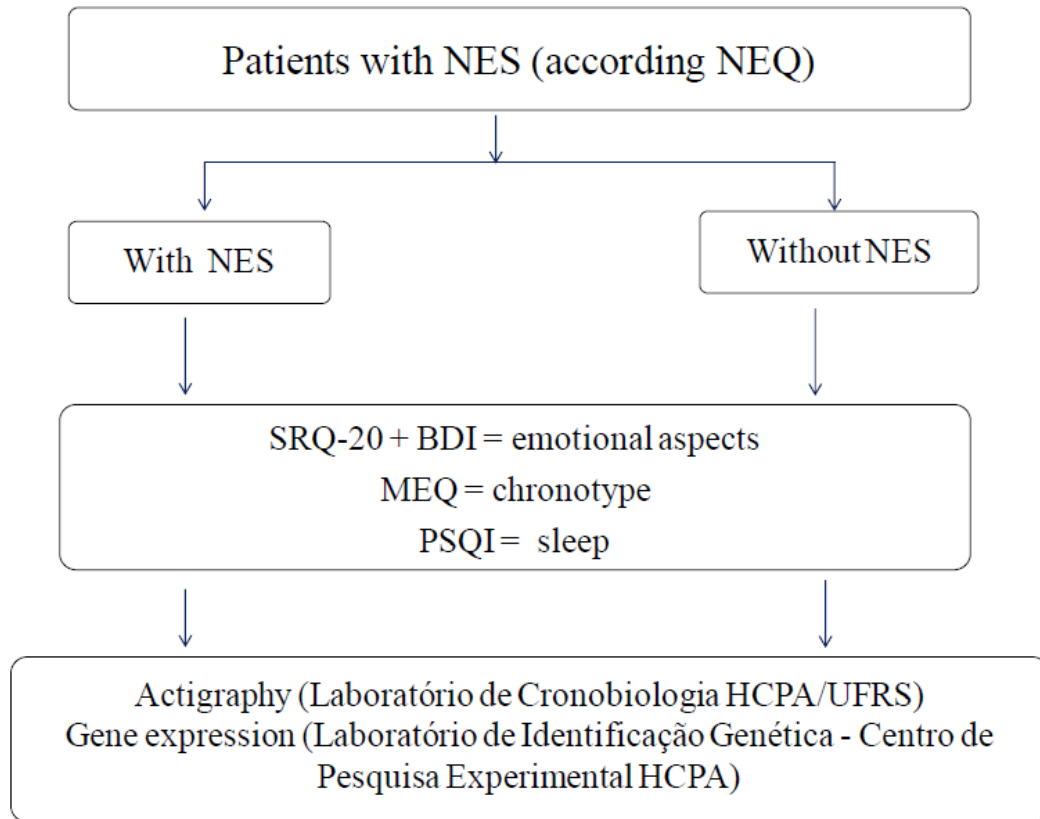
Figure 1**Figure 1** Study design

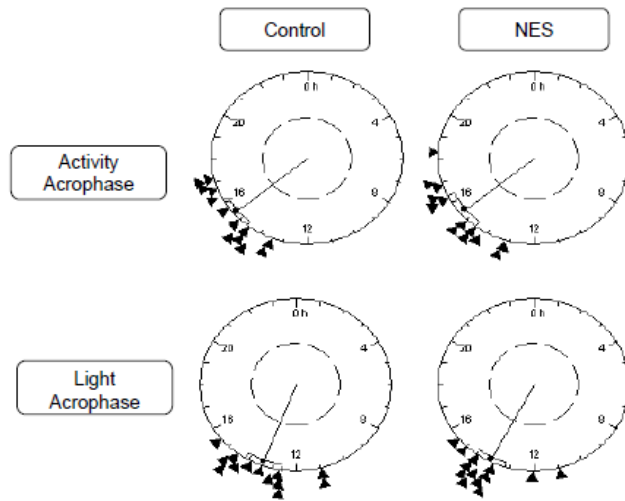
Figure 2

Figure 2 Rayleigh test represented by acrophase distributions between groups regarding light incidence and rest-activity. Each circle represents 24 hr, and each triangle indicates the position of the mean acrophase for each individual in the group. The black point of the inside vector represents the mean acrophase, and the fiducial limits are also indicated. The size of the vector indicates the grouping of the acrophases. The internal circle indicates a significance level of $p = .05$.

Figure 3

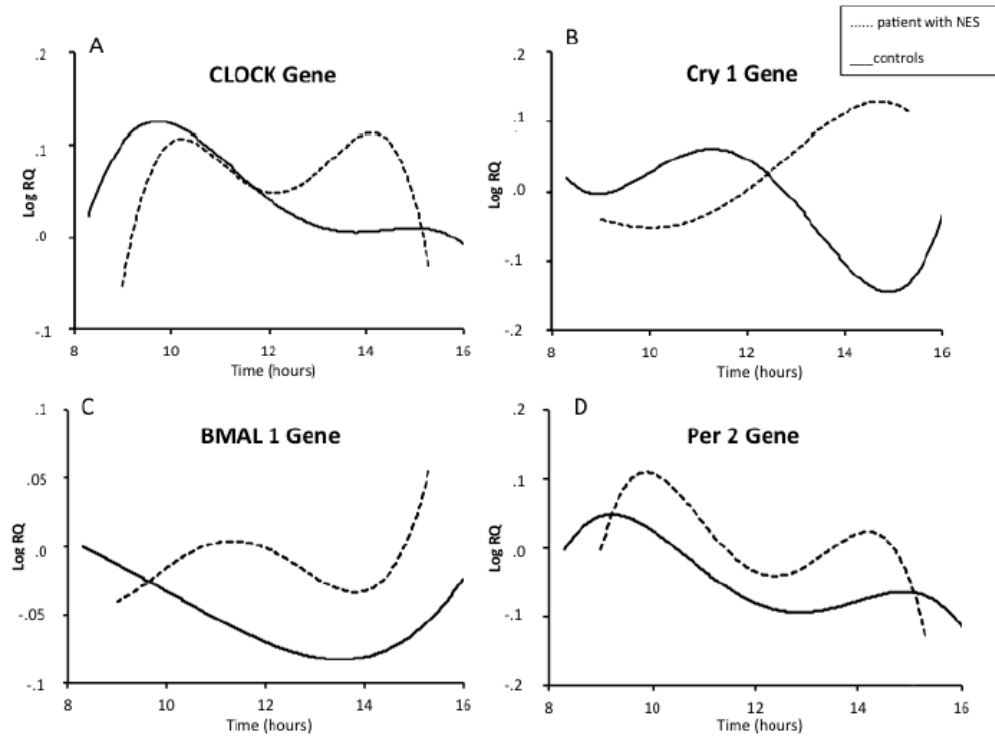


Figure 3 The mRNA expression levels as to Clock Genes evaluated from 8:00h to 16:00h. A = *Clock* gene; B = *BMAL1* gene; C = *Cry1* gene; D = *Per2* gene. Log RQ = Relative Quantification (RQ) logarithm. Dotted line: patient with NES; Plain line: controls.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em uma sociedade moderna, onde os seres humanos ignoram cada vez mais os sinais circadianos naturais alterando ou reduzindo o tempo de sono e a exposição à luz artificial, ocorre a dessincronização do alinhamento dos processos fisiológicos internos com o ambiente externo. É importante entender este sistema e as perturbações resultantes da biologia circadiana. Estes podem afetar a fisiologia tornando o homem suscetível a várias doenças. O sono está associado à recuperação de energia, por este motivo, a regulação do sono é essencial para a saúde. A organização social humana impõe uma temporalidade na qual a maioria das atividades de trabalho ou educacionais ocorre entre 8h e 18h; portanto, os indivíduos que estão sincronizados a estes horários têm uma tendência a ter um melhor desempenho. Parte da população, entretanto, está biologicamente sincronizada em horários incomuns e vive num estado de dessincronização em relação à seus horários sociais (19).

Problemas crescentes de saúde pública como o aumento de peso, as doenças crônicas não transmissíveis, os trabalhos em turnos de longo prazo, a prevalência de manifestações cardiovasculares no turno da manhã, as consequências metabólicas de dietas inadequadas, seja no conteúdo ou no horário consumido, demonstra que a regulação dos relógios biológicos são partes importantes do problema. Além disto, o estilo de vida atual, sinônimo de alto consumo de alimentos, a inatividade física, a diminuição de horas de sono, a diminuição de horas de lazer, também contribuem com a dessincronização dos relógios internos.

Incontáveis evidências têm relacionado este estilo de vida moderno à obesidade, à hiperinsulinemia e à hiperlipidemia, ao aumento do débito cardíaco levando à vasoconstrição e à hipertensão. A interrupção de ritmos biológicos adequados pode levar a alterações nos ritmos circadianos de alimentação, prejuízos ao metabolismo, propensão ao câncer e redução da expectativa de vida. Além disto, as alterações genéticas podem aumentar o risco de desenvolvimento destas

complicações. Deste modo, a ruptura do ritmo circadiano e as alterações no metabolismo com modificações dos componentes alimentares (quantidade e qualidade) e o tempo de alimentação têm a capacidade de alterar os ritmos corporais.

Como já foi dito, horários regulares e nutrição controlada podem influenciar os relógios biológicos. A estabilidade pode ajudar a aliviar os sintomas de doenças associadas com o desalinhamento circadiano, como distúrbios do sono, *jetlag* e vários distúrbios neuropsiquiátricos, já que em condições normais, cada órgão tem o seu próprio ritmo circadiano especificamente cronometrado e sincronizado pelo NSQ (141).

Luz e alimentos podem afetar significativamente o sistema circadiano. Em outras palavras, o estilo de vida afeta a saúde humana através do sistema circadiano. Sua disfunção pode ser causa ou consequência de uma patologia. Sua relação com a nutrição, atividade e exposição à luz como forma de contribuir com um estilo de vida saudável, pode prolongar a vida de maneira sincronizada com o relógio principal e seus osciladores. Dada a crescente prevalência e as taxas de mortalidade de doenças associadas à obesidade, a luta contra a desregulação do relógio circadiano tem o potencial de tornar-se um instrumento importante na batalha contra a obesidade e outras doenças críticas do mundo industrializado.

Alguns estudos já relacionaram polimorfismos genéticos com a duração do sono e obesidade demonstrando que portadores da mutação dos genes do relógio (alelo C) eram resistentes à perda de peso após uma intervenção de 12-14 semanas apresentando menor duração do tempo de sono, maiores concentrações de grelina e preferência para comer a noite (142). Outro estudo em indivíduos com polimorfismos em *Per2* apresentaram maior obesidade abdominal, horários extremos de ingestão de lanches, aumento do estresse com a dieta, aumento de ingestão quando entediados do que aqueles sem aqueles sem os polimorfismos (143). O gene *BMAL1* e *TIM* têm sido associados com distúrbios de humor, incluindo piora à noite e insônia (144).

Este é o primeiro estudo em humanos para relacionar os genes do relógio e a SCN e demonstrou que nenhum dos aspectos cronobiológicos estudados tiveram

relação com a Síndrome do Comer Noturno. Entretanto, estes resultados corroboram com os achados do estudo realizado por nós (145) onde estas diferenças estavam relacionadas com *Binge Eating Disorder* (BED) e não com a SCN. A partir destes dados podemos concluir que ideia de síndrome é muito frágil, já que por definição síndrome é um conjunto de sintomas relacionado a uma fisiopatogenia. Neste sentido, não é possível afirmar que haja uma patologia caracterizada pela associação dos sintomas que definem a síndrome como o consumo \geq de 25% da ingestão diária de alimentos após a janta, insônia, humor depressivo e estresse.

Uma vez que a principal característica desta síndrome é uma variação temporal da alimentação isto nos fez pensar que um provável sistema envolvido seria *the time system*. As acrofases da expressão dos genes do relógio analisados puderam ser observadas entre 14-15h. No nosso estudo não foram encontradas diferenças em relação aos quatro genes analisados, apoiando a ideia de que estes genes não estão implicados no que é descrito como SCN. Portanto, os nossos achados não corroboram a hipótese de que *the time system* poderia estar ligado a fisiopatogenia da Síndrome de Comer Noturno.

Finalmente, como os tempos relacionados à alimentação e a qualidade desta devem ser mais profundamente estudados a fim de esclarecer a relação entre a alimentação e a regulação do *the time system*, bem como o fato de que se os seres humanos alocarem a sua principal alimentação no turno da noite pode trazer consequências ao metabolismo e refletir mudanças no comportamento. Estudar estes aspectos pode significar contribuições no controle e prevenção da obesidade.

7 PRODUÇÃO REALIZADA DURANTE O PERÍODO DE DOUTORAMENTO**Quadro 1. Produção realizada**

DATA	EVENTO	LOCAL	TITULO	FORMA
4 e 5/5/2011	XI Latin American Symposium on Chronobiology	México		Attended

7.1. EVENTOS INTERNACIONAIS

5 a 9/5/2011	III World Congress on Chronobiology	México		Attended
5 a 9/5/2011	III World Congress on Chronobiology	México	Chronotypes: a correlation with eating behavior	Presented the work in the poster session
3 a 7/10/2012	The International Congress of Chronobiology	New Delhi		Attended
3 a 7/10/2012	The International Congress of Chronobiology	New Delhi	Can BMI be a mediator in the correlation between depression, inflammatory cytokines, and plasma Brain Derived Neurotrophic Factor levels?	Presented the work in the poster session
18 a 22/8/ 2013	XIII Congress of the European Biological Rhythms Society	Munich		Attended

7.2. EVENTOS NACIONAIS

DATA	EVENTO	LOCAL	TITULO	FORMA
11 e 12/6/2009	VIII Congresso Brasileiro de Transtornos Alimentares e Obesidade	São Paulo/ SP	Tradução e validação de conteúdo da versão em português do Night Eating Questionnaire (NEQ)	Poster
19 a 22/8/2009	XXIV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE	Águas de Lindoia/ SP	Síndrome do comer noturno: correlação entre índice de massa corporal (IMC), sono e comportamento alimentar	Poster
30/9/2009	XXV Semana Acadêmica de Medicina da UFCSPA: perspectivas na formação do médico	Porto Alegre/ RS	Síndrome do comer noturno: correlação entre índice de massa corporal (IMC), sono e comportamento alimentar	Poster
9/10/2009	29ª Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre	Porto Alegre/ RS	Síndrome do comer noturno: correlação entre índice de massa corporal (IMC), sono e comportamento alimentar	Poster
19 a 23/10/2009	XXI Salão Iniciação Científica da UFRGS	Porto Alegre/ RS	Síndrome do comer noturno: correlação entre índice de massa corporal (IMC), sono e comportamento alimentar	Apresentação Oral
7/8/2010	8º Simpósio de Nutrição em Cardiologia do Congresso da SOCERGS	Gramado/RS	Mesa-redonda Comportamento Alimentar e Cronobiologia: implicações na saúde cardiovascular	Palestrante
18/5/2010	XXV Workshop de Terapia Nutricional Universidade Corporativa Mae de Deus	Porto Alegre/ RS	Ritmos circadianos e a Síndrome do Comer Noturno	Palestrante
22/5/2010	23º Ciclo de Avanços	Porto	Cronobiologia e transtornos	Integrante do

	em Clínica Psiquiátrica	Alegre/ RS	psiquiátricos	grupo
16/4/2011	Curso de Extensao da Universidade de Caxias do Sul – UCS	Caxias do Sul/RS	Cronobiologia aplicada à saude	Palestrante
25 a 28/5/2011	14º Congresso de Obesidade e Síndrome Metabólica	São Paulo/SP	Risk factors for obesity in a rural population	Poster
25 a 28/5/2011	14º Congresso de Obesidade e Síndrome Metabólica	São Paulo/SP	The association among BMI, sleep quality and mid-sleep phase with use of antihypertensive drugs	Comunicação oral
7/7/2011	31ª Semana Científica do HCPA	Porto Alegre/RS	Tema Livre Poster	Avaliadora
15/8/2011	XXXV Workshop de Terapia Nutricional: Transtornos Alimentares	Porto Alegre/RS	Cronobiologia, ritmos circadianos e a Síndrome do Comer Noturno	Palestrante
19/08/2011	XXIII Jornada de Nutrição do HCPA	Porto Alegre/RS	Cronobiologia: Implicações clínicas para o entendimento dos ritmos circadianos no processo saúde-doença	Palestrante
18/09/2011	66º Congresso Brasileiro de Cardiologia Fórum de Nutrição Sessão Temas Livres Oraís - Hipertensão	Porto Alegre/RS	The association among BMI, sleep quality and mid-sleep phase with use of antihypertensive drugs	Apresentação Oral de Tema Livre
07/10/2011	I Jornada de Nutrição – UNISC	Santa Cruz do Sul/RS	Ritmos Circadianos e Síndrome do Comer Noturno	Palestrante
20 e 21/10/2011	IX Encontro de Nutrição e X Jornada de Nutrição Enteral e Parenteral do Grupo Hospitalar Conceição	Porto Alegre/RS	Cronobiologia Aplicada à Saúde – Comportamento Alimentar e ritmos biológicos	Palestrante
26/05/2012	25º Ciclo de Avanços em Clínica Psiquiátrica	Porto Alegre/RS	Cronobiologia dos Transtornos de Humor	Membro da comissão científica/

				Palestrante
30/06/2012	Associação Gaúcha de Sono - Reunião Científica	Porto Alegre/RS	Cronobiologia e A Síndrome Comer Noturno	Palestrante
31/8/2012	8º Fórum Nacional de Nutrição	Porto Alegre/RS	Transtornos Alimentares e Tratamento da Obesidade	Palestrante
31/08/2012	IV Jornada de Nutrição Clínica Univates	Lajeado/RS	Cronobiologia. Influência do ciclo noite/dia no metabolismo dos nutrientes	Palestrante
7/8/2013	Residência Integrada Multiprofissional em Saúde do HCPA	Porto Alegre/RS	Chronobiology in real life – Cronobiologia - Influencias no processo saúde-doença	Palestrante

7.3. ATIVIDADES DOCENTES

DATA	EVENTO	LOCAL	TITULO	FORMA
06/2012	Disciplina de Cronobiologia Aplicada a Saúde	Porto Alegre/RS	Prof. Carolina Escobar México	Montagem disciplina
12/6/2012	Disciplina de Cronobiologia Aplicada a Saúde	Porto Alegre/RS	Desordens metabólicas e transtornos do humor: Comportamento alimentar e transtornos alimentares	Palestrante
14/12/2012	Disciplina: Interconsulta Psiquiátrica I: Ritmos na clínica	Porto Alegre/RS	Alterações dos Ritmos Circadianos no Sistema Cardiovascular	Palestrante

01/2013	Disciplina: Chronobiology in real life	Porto Alegre/RS	Prof. Till Roenneberg	Montagem disciplina
4/1/2013	Disciplina: Chronobiology in real life	Porto Alegre/RS	Comportamento alimentar, transtornos alimentares e cronobiologia Influencias no processo saúde-doença	Palestrante

7.4 ARTIGOS PUBLICADOS

ANO	TITULO DO ARTIGO	REVISTA	AUTORES
-----	------------------	---------	---------

2013	Circadian Rhythm of Energy Expenditure and Oxygen Consumption	Journal of Parenteral and Enteral Nutrition	Leuck, M.; Levandovski, R.; Harb, A.; Quiles, C.; Hidalgo, M. P
2012	Night eating patterns and chronotypes: A correlation with binge eating behaviors	Psychiatry Research	Harb, Ana; Levandovski, Rosa; Oliveira, Ceres; Caumo, Wolnei; Allison, Kelly Costello; Stunkard, Albert; Hidalgo, Maria Paz
2012	A chronobiological policy to decrease the burden of hypertension and obesity in low- and middle-income population	Biological Rhythm Research	Levandovski, Rosa; Hidalgo, Maria Paz Loayza; Allebrandt, Karla V; Harb, Ana; Bernardi, Fabiana
2012	Chronobiological Aspects of Mood Disorders	Clinical, Research and Treatment Approaches to Affective Disorders	Rosa Levandovski, Ana Harb, Fabiana Bernardi and Maria Paz Loayza Hidalgo
2010	Síndrome do comer noturno: aspectos conceituais, epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos	Revista de Nutrição da PUCCAMP	Harb, Ana Beatriz Cauduro; Caumo, W. ; Raupp, P.; Hidalgo, M. P. L
2009	Transtornos alimentares e padrão circadiano alimentar: uma revisão	Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul	Bernardi, F.; Harb, Ana Beatriz Cauduro; Levandoski, R.L; Hidalgo, M. P. L
2008	Tradução e adaptação da versão brasileira do Night Eating Questionnaire	Cadernos de Saúde Pública	Harb, Ana Beatriz Cauduro; Caumo, W.; Hidalgo, M. P. L.

	Paper	n	Clock	Bmal1/ Arnt	Cry1	Per2
1.	SLEEP. 2008. Inter-Individual Differences In Habitual Sleep Timing and Entrained Phase of Endogenous Circadian Rhythms of BMAL1, PER2 and PER3 mRNA in Human Leukocytes (72)	24 sujeitos saudáveis Em leucócitos	-	15h06min ± 4h28min	-	8h06min ± 5h23min
2.	Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2005. Daily expression of clock genes in whole blood cells in healthy subjects and a patient with circadian rhythm sleep disorder (74)	12 ♂ Em células sanguíneas periféricas	CLOCK foi < às 2h	BMAL1 < às 14h		Os níveis de RNAm de hPer2 estiveram significativamente e elevados as 6:00h
3.	Diabetologia. 2009. Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes (75)	Estudo 1: 8 com DM e 6 sem DM Em células sanguíneas periféricas	< nos pacientes com DM	Um pico pela manhã 9h nos c/DM (<níveis de expressão). Um pico 22h s/DM		Um pico cedo da manhã, caindo à tardinha
4.	Diabetologia. 2009. Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes (75)	Estudo 2: 12 com DM e 14 sem DM		< níveis de expressão nos c/DM ↑ Hb A1c < níveis de expressão		
5.	Obesity reviews. 2009. The regulation of central and peripheral circadian clocks in humans (76)	6 pessoas saudáveis Em células sanguíneas periféricas	Com variedade de picos	Em condições normais de sono durante a noite: 22h Em exposição à luz constante durante a noite: 15h		Cedo, depois de levantar (perto das 6h30min) com luz do dia e luz artificial à noite
6.	J Mol Med. 2005. Atypical patterns of circadian clock gene expression in human peripheral blood mononuclear cells (77)	10 ♂ Em leucócitos		Grupo 1: 5 ♂ 21h45min Grupo 2: 5 ♂ 10h30min		1h44min 10h33min
7.	BLOOD. 2003. Circadian clock genes oscillate in human peripheral blood mononuclear cells (79)	3 homens em rotina constante				2 sujeitos: 12h30min 1 sujeito: 6h43min
8.	Sleep Medicine. 2007. From circadian clock gene expression to pathologies (71)	Em células sanguíneas periféricas		BMAL1 em oposição de fase	NSQ: Cry: pico durante a fase clara. Em PBMCs os ritmos estão em atraso de varias horas	NSQ: Per exhibe pico durante a fase clara. Nas PBMCs estes ritmos estão em atraso de varias horas

9.	Sleep Medicine. 2007. From circadian clock gene	Em células sanguíneas		BMAL1 em oposição de	NSQ: Cry: pico	NSQ: Per exibe pico durante a
----	--	--------------------------	--	-------------------------	-------------------	----------------------------------

8 APÊNDICES

8.1 QUADRO 1: HORARIOS DE EXPRESSAO GENICA EM HUMANOS

	expression to pathologies (71)	periféricas		fase	durante a fase clara. Em PBMCs os ritmos estão todos em atraso de varias horas	fase clara. Nas PBMCs estes ritmos estão em atraso de varias horas
10.	SLEEP. 2007. Circadian Rhythms of Melatonin, Cortisol, and Clock Gene Expression During Simulated Night Shift Work (73)	5 candidatos saudáveis Em células sanguíneas periféricas		9h40min ± 4h30min (dormir durante a noite) 14h30min ± 4h30min (fase sono invertida dormir durante o dia)		8h ±3h (dormir durante a noite) 9 dias depois: 0h7min ± 0.7h (fase sono invertida dormir durante o dia)
11.	Chronobiology International. 2007. Expression of Clock Genes in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells throughout the Sleep/Wake and Circadian Cycles (148)	6 ♂ e ♀ saudáveis Em células sanguíneas periféricas		Pico no período de vigília e na metade do período de vigília sob exposição à luz e durante o período habitual de sono em condições normais de sono		Pico cedo quando acordado e foi comparado com a presença ou ausência de luz
12.	Neuroscience Research. 2008. Expression profiles of 10 circadian clock genes in human peripheral blood mononuclear cells (78)	8 ♂ saudáveis Em células sanguíneas periféricas	Não foi detectada ritmicidade no gene CLOCK	Não foi detectada ritmicidade no gene BMAL1	2 sujeitos apresentar am ritmicidade em Cry1	5 sujeitos tiveram ritmicidade de Per2 expressa entre 06:23 ± 00:28h
13.	Nature. 2008. The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease Review (111)					Ao entardecer e à noite
14.	European Neuropsychopharmacology. 2001. The discovery of circadian clock genes and the use of similar strategies to discover unknown genes underlying complex behaviors and brain disorders Review (149)					Todos os picos foram durante o dia. Diminuição durante a noite subjetiva.
15.	Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2004. MAMMALIAN CIRCADIAN BIOLOGY: Elucidating Genome-Wide Levels of Temporal Organization (67)			Picos dos transcritos de BMAL1 no meio da noite		

9 ANEXOS

ANEXO NUMERO 1 - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO FAVOR PREENCHER OS DADOS A SEGUIR	
Nome: _____	Data: ____/____/____
Sexo: Masc (1) Fem (2)	No momento do preenchimento deste questionário, estás grávida? Sim () Não ()
Idade: _____	Data de nascimento: _____
Endereço Residencial: _____	Fone residencial: _____
Fone comercial: _____	Celular: _____
e-mail: _____	
Profissão: _____	Atividade: _____
Em qual (is) o(s) turnos que você desenvolve a sua atividade? Manhã () Tarde () Noite ()	
Peso atual? _____ kg	Altura? _____ m
IMC: _____ kg/m ²	Peso desejado? _____ kg
Qual a idade de início do problema com o peso? _____ anos	Qual o seu peso máximo já registrado? _____ kg
Sobre seu último tratamento nutricional. Em que data começou? _____	
Você toma algum tipo de medicação? _____	
Qual (is)? _____	
Você tem alguma doença diagnosticada? Não () Sim () Qual (is)? _____	
Você fez alguma cirurgia? Não () Sim () Qual(is)? _____	
Você tem algum tipo de doença desta lista?	
A. Neurológica?	Não () Sim () Qual(is)? _____
B. Psiquiátrica?	Não () Sim () Qual(is)? _____
C. História de dor crônica	Não () Sim ()
Você usa alguma medicação desta lista?	
A. Psicofármaco	Não () Sim ()
B. Qual(is)? _____	_____
C. Glicocorticóides	Não () Sim ()
D. Ciproheptadina (Periatin)	Não () Sim ()

ANEXO NUMERO 2 - SELF REPORTING QUESTIONNAIRE (SRQ-20)

SELF REPORTING QUESTIONNAIRE (SRQ-20)		
1. Você tem dores de cabeça com frequência?	() SIM	() NÃO
2. Tem falta de apetite?	() SIM	() NÃO
3. Dorme mal?	() SIM	() NÃO
4. Fica com medo com facilidade?	() SIM	() NÃO
5. Suas mãos tremem?	() SIM	() NÃO
6. Se sente nervoso, tenso ou preocupado?	() SIM	() NÃO
7. Tem problema digestivo?	() SIM	() NÃO
8. NÃO consegue pensar com clareza?	() SIM (concorda)	() NÃO (discorda)
9. Sente-se infeliz?	() SIM	() NÃO
10. Chora mais que o comum?	() SIM	() NÃO
11. Acha difícil gostar de suas atividades diárias?	() SIM	() NÃO
12. Acha difícil tomar decisões?	() SIM	() NÃO
13. Seu trabalho diário é um sofrimento? (tormento)	() SIM	() NÃO
14. NÃO é capaz de ter um papel útil na vida?	() SIM (concorda)	() NÃO (discorda)
15. Perdeu o interesse pelas coisas?	() SIM	() NÃO
16. Acha que é uma pessoa que não vale nada?	() SIM	() NÃO
17. O pensamento de acabar com a vida já passou por sua cabeça?	() SIM	() NÃO
18. Se sente cansado o tempo todo?	() SIM	() NÃO
19. Tem sensações desagradáveis no estômago?	() SIM	() NÃO
20. Fica cansado com facilidade?	() SIM	() NÃO

ANEXO NUMERO 3 - ESCALA DE BECK PARA DEPRESSÃO



Data: _____

Nome: _____ Estado Civil: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Ocupação: _____ Escolaridade: _____

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira que você tem se sentido na última semana, incluindo hoje. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha.

<p>1 0 Não me sinto triste. 1 Eu me sinto triste. 2 Estou sempre triste e não consigo sair disto. 3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.</p> <p>2 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro. 1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro. 2 Acho que nada tenho a esperar. 3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.</p> <p>3 0 Não me sinto um fracasso. 1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum. 2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos. 3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.</p> <p>4 0 Tenho tanto prazer em tudo como antes. 1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes. 2 Não encontro um prazer real em mais nada. 3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.</p> <p>5 0 Não me sinto especialmente culpado. 1 Eu me sinto culpado grande parte do tempo. 2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo. 3 Eu me sinto sempre culpado.</p> <p>6 0 Não acho que esteja sendo punido. 1 Acho que posso ser punido. 2 Creio que vou ser punido. 3 Acho que estou sendo punido.</p> <p>7 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo. 1 Estou decepcionado comigo mesmo. 2 Estou enojado de mim. 3 Eu me odeio.</p>	<p>8 0 Não me sinto de qualquer modo pior que os outros. 1 Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros. 2 Eu me culpo sempre por minhas falhas. 3 Eu me culpo por tudo de mal que acontece.</p> <p>9 0 Não tenho quaisquer idéias de me matar. 1 Tenho idéias de me matar, mas não as executaria. 2 Gostaria de me matar. 3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.</p> <p>10 0 Não choro mais que o habitual. 1 Choro mais agora do que costumava. 2 Agota, choro o tempo todo. 3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que o queira.</p> <p>11 0 Não sou mais irritado agora do que já fui. 1 Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava. 2 Agora, eu me sinto irritado o tempo todo. 3 Não me irrita mais com coisas que costumavam me irritar.</p> <p>12 0 Não perdi o interesse pelas outras pessoas. 1 Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar. 2 Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas. 3 Perdi todo o interesse pelas outras pessoas.</p> <p>13 0 Tomo decisões tão bem quanto antes. 1 Adio as tomadas de decisões mais do que costumava. 2 Tenho mais dificuldades de tomar decisões do que antes. 3 Absolutamente não consigo mais tomar decisões.</p>
---	---

Subtotal da Página 1 CONTINUAÇÃO NO VERSO

"Traduzido e adaptado por permissão da The Psychological Corporation, U.S.A. Direitos reservados ©1991, a Aaron T. Beck.
Tradução para a língua portuguesa. Direitos reservados ©1991 a Aaron T. Beck. Todos os direitos reservados."

Tradução e adaptação brasileira, 2001, Casa do Psicólogo* Livraria e Editora Ltda.
BDI é um logotipo da Psychological Corporation.

<p>14 0 Não acho que de qualquer modo pareço pior do que antes.</p> <p>1 Estou preocupado em estar parecendo velho ou sem atrativo.</p> <p>2 Acho que há mudanças permanentes na minha aparência, que me fazem parecer sem atrativo.</p> <p>3 Acredito que pareço feio.</p> <p>15 0 Posso trabalhar tão bem quanto antes.</p> <p>1 É preciso algum esforço extra para fazer alguma coisa.</p> <p>2 Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa.</p> <p>3 Não consigo mais fazer qualquer trabalho.</p> <p>16 0 Consigo dormir tão bem como o habitual.</p> <p>1 Não durmo tão bem como costumava.</p> <p>2 Acordo 1 a 2 horas mais cedo do que habitualmente e acho difícil voltar a dormir.</p> <p>3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.</p> <p>17 0 Não fico mais cansado do que o habitual.</p> <p>1 Fico cansado mais facilmente do que costumava.</p> <p>2 Fico cansado em fazer qualquer coisa.</p> <p>3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.</p> <p>18 0 O meu apetite não está pior do que o habitual.</p> <p>1 Meu apetite não é tão bom como costumava ser.</p> <p>2 Meu apetite é muito pior agora.</p> <p>3 Absolutamente não tenho mais apetite.</p>	<p>19 0 Não tenho perdido muito peso se é que perdi algum recentemente.</p> <p>1 Perdi mais do que 2 quilos e meio.</p> <p>2 Perdi mais do que 5 quilos.</p> <p>3 Perdi mais do que 7 quilos.</p> <p>Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: Sim _____ Não _____</p> <p>20 0 Não estou mais preocupado com a minha saúde do que o habitual.</p> <p>1 Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou constipação.</p> <p>2 Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa.</p> <p>3 Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.</p> <p>21 0 Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo.</p> <p>1 Estou menos interessado por sexo do que costumava.</p> <p>2 Estou muito menos interessado por sexo agora.</p> <p>3 Perdi completamente o interesse por sexo.</p>
---	---

_____ Subtotal da Página 2

_____ Subtotal da Página 1

_____ **Score Total.**

ANEXO NUMERO 4 - ESCALA DE COMPULSÃO ALIMENTAR PERIÓDICA. BES (BINGE EATING SCALE)

Instruções: Leia todas as afirmações em cada grupo e marque aquela que melhor descreve o modo como você se sente em relação aos problemas que tem para controlar seu comportamento alimentar.

1

1. Eu não me sinto constrangido(a) com o meu peso ou o tamanho do meu corpo quando estou com outras pessoas ().
2. Eu me sinto preocupado(a) em como pareço para os outros, mas isso, normalmente, não me faz sentir desapontado(a) comigo mesmo(a) ().
3. Eu fico mesmo constrangido(a) com a minha aparência e o meu peso, o que me faz sentir desapontado(a) comigo mesmo(a) ().
4. Eu me sinto muito constrangido(a) com o meu peso e, frequentemente, sinto muita vergonha e desprezo por mim mesmo(a). Tento evitar contatos sociais por causa desse constrangimento ().

#2

1. Eu não tenho nenhuma dificuldade para comer devagar, de maneira apropriada ().
2. Embora pareça que eu devore os alimentos, não acabo me sentindo empanturrado(a) por comer demais ().
3. Às vezes tendo a comer rapidamente, sentindo-me então desconfortavelmente cheio(a) depois ().
4. Eu tenho o hábito de engolir minha comida sem realmente mastigá-la empanturrado(a) por ter comido demais ().

#3

1. Eu me sinto capaz de controlar meus impulsos para comer, quando eu quero ().
2. Eu sinto que tenho tãhido em controlar meu impulsos para comer ().
3. Eu me sinto totalmente incapaz de controlar meus impulsos para comer ().
4. Por me sentir tão incapaz de controlar meu comportamento alimentar, entro em desespero tentando manter o controle ().

#4

1. Eu não tenho o hábito de comer quando estou chateado(a) ().
2. As vezes eu como quando estou chateado(a) ().
3. Eu tenho o hábito regular de comer quando estou chateado(a) mas, de vez em quando posso usar alguma outra atividade para afastar minha mente da comida ().
4. Eu tenho o forte hábito de comer quando estou chateado(a). Nada parece me ajudar a parar com esse hábito ().

#5

1. Normalmente quando como alguma coisa é porque estou fisicamente com fome ().

2. De vez em quando como alguma coisa por impulso, mesmo quando não estou realmente com fome ().
3. Eu tenho o hábito regular de comer alimentos que realmente não aprecio para satisfazer uma sensação de fome, mesmo que fisicamente eu não necessito de comida ().
4. Mesmo que não esteja fisicamente com fome, tenho uma sensação de fome em minha boca que somente parece ser satisfeita quando eu como um alimento, tipo um sanduíche, que enche a minha boca. Às vezes, quando eu como o alimento para satisfazer minha “fome na boca”, em seguida eu o cuspo, assim não ganharei peso ().

#6

1. Eu não sinto qualquer culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais ().
2. De vez em quando sinto culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais ().
3. Quase o tempo todo sinto muita culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais ().

#7

1. Eu não perco o controle total da minha alimentação quando estou em dieta, mesmo após períodos em que como demais ().
2. Às vezes, quando estou em dieta e com um alimento proibido, sinto como se tivesse estragado tudo e como ainda mais ().
3. Frequentemente, quando como demais durante uma dieta, tenho o hábito de dizer para mim mesmo(a): “agora que estraguei tudo, porque não irei até o fim”. Quando isto acontece, eu como ainda mais ().
4. Eu tenho o hábito de começar dietas rigorosas por mim mesmo(a), mas quebro as dietas entrando numa compulsão alimentar. Minha vida parece ser “uma festa” ou “um morrer de fome” ().

#8

1. Eu raramente como tanta comida até o ponto de me sentir desconfortavelmente empanturrado(a) depois ().
2. Normalmente, cerca de uma vez por mês, como uma tal quantidade de comida que acabo me sentindo empanturrado(a) ().
3. Eu tenho períodos regulares durante o mês, quando como grandes quantidades de comida, seja na hora das refeições, seja nos lanches ().
4. Eu como tanta comida que regularmente, me sinto bastante desconfortável depois de comer e, as vezes, um pouco enjoado(a) ().

#9

1. Em geral, minha ingestão calórica não sobe a níveis muito altos, nem desce a níveis muito baixos ().
2. As vezes, depois de comer demais, tento reduzir minha ingestão calórica para quase nada, para compensar o excesso de calorias que ingeri ().
3. Eu tenho o hábito regular de comer demais durante a noite. Parece que a minha rotina não é estar com fome de manhã, mas comer demais à noite ().
4. Na minha vida adulta, tenho tido períodos, que duram semanas, nos quais praticamente

me mato de fome. Isto se segue a períodos em que como demais. Parece que vivo uma vida de “festa” ou de “morrer de fome” ().

#10

1. Normalmente eu sou capaz de parar de comer quando quero. Eu sei quando “já chega” ().
2. De vez em quando, eu tenho uma compulsão para comer que parece que não posso controlar ().
3. Frequentemente tenho fortes impulsos para comer que parece que não sou capaz de controlar, mas, em outras ocasiões, posso controlar meus impulsos para comer ().
4. Eu me sinto incapaz de controlar impulsos para comer. Eu tenho medo de não ser capaz de parar de comer por vontade própria ().

#11

1. Eu não tenho problema algum para parar de comer quando me sinto cheio(a) ().
2. Eu, normalmente posso parar de comer quando me sinto cheio(a) ().
3. Eu tenho um problema para parar de comer uma vez que eu tenha começado e, normalmente, sinto-me desconfortavelmente empanturrado(a) depois que faço uma refeição ().
4. Por eu ter o problema de não ser capaz de parar de comer quando quero, às vezes tenho que provocar o vômito, usar laxativos e/ou diuréticos para aliviar minha sensação de empanturramento ().

#12

1. Parece que eu como tanto quando estou com os outros (reuniões familiares, sociais), como quando estou sozinho ().
2. Às vezes, quando eu estou com outras pessoas, não como tanto quanto eu quero comer porque me sinto constrangido(a) com o meu comportamento alimentar ().
3. Frequentemente eu como só uma pequena quantidade de comida quando outros estão presentes, pois me sinto muito embaraçado(a) ().
4. Eu me sinto tão envergonhado por comer demais que escolho horas para comer demais quando sei que ninguém me verá. Eu me sinto como uma pessoa que se esconde para comer ().

#13

1. Eu faço três refeições ao dia com apenas um lanche ocasional, entre as refeições ().
2. Eu faço três refeições ao dia mas, normalmente também lancho entre as refeições ().
3. Quando eu faço lanches pesados, tenho o hábito de pular as refeições regulares ().
4. Há períodos regulares em que parece que eu estou continuamente comendo, sem refeições planejadas ().

#14

1. Eu não penso muito em tentar controlar impulsos indesejáveis para comer ().
2. Pelo menos, em algum momento, sinto que meus pensamentos estão “pré-ocupados”

com tentar controlar meus impulsos para comer ().

3. Frequentemente, sinto que gasto muito tempo pensando no quanto comi ou tentando não comer mais ().

4. Parece, para mim, que a maior parte das horas que passo acordado(a) estão “pré-ocupados” por pensamentos sobre comer ou não comer. Sinto como se eu estivesse constantemente lutando para não comer ().

#15

1. Eu não penso muito sobre comida ().

2. Eu tenho fortes desejos por comida, mas eles só duram curtos períodos de tempo ().

3. Há dias em que parece que eu não posso pensar em mais nada a não ser comida ().

4. Na maioria dos dias meus pensamentos parecem estar “pré-ocupados” com comida. Sinto como se eu vivesse para comer ().

#16

1. Eu normalmente sei se estou ou não fisicamente com fome. Eu como a porção certa de cada comida para me satisfazer ().

2. De vez em quando eu me sinto em dúvida para saber se estou ou não fisicamente com fome. Nessas ocasiões é difícil saber quanto eu deveria comer para me satisfazer ().

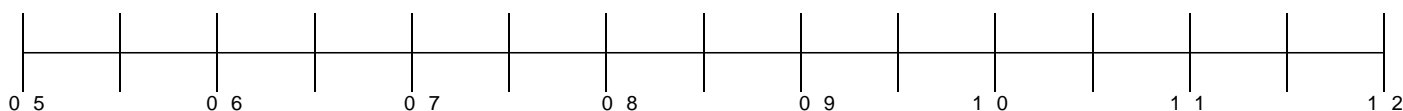
3. Mesmo que se eu pudesse saber quantas calorias eu deveria ingerir, não teria idéia alguma de qual seria a quantidade “normal” de comida para mim ().

ANEXO NUMERO 5 - TESTE DE ATITUDES ALIMENTARES

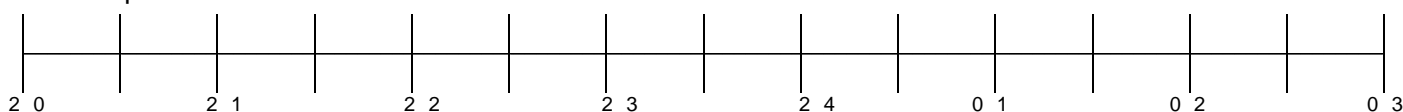
	Sempre	Muito Frequentemente	Frequentemente	Às vezes	Raro	Nunca
1. Costumo fazer dieta.						
2. Como alimentos dietéticos.						
3. Sinto-me mal após comer doces.						
4. Gosto de experimentar novas comidas engordantes.						
5. Evito alimentos que contenham açúcar.						
6. Evito particularmente alimentos com alto teor de carboidratos (pão, batata, arroz, etc.).						
7. Estou preocupado (a) com o desejo de ser mais magro (a).						
8. Gosto de estar com o estômago vazio.						
9. Quando faço exercício penso em queimar calorias.						
10. Sinto-me extremamente culpado (a) depois de comer.						
11. Fico apavorado (a) com o excesso de peso.						
12. Preocupa-me a possibilidade de ter gordura no meu corpo.						
13. Sei quantas calorias têm os alimentos que como.						
14. Tenho vontade de vomitar após as refeições.						
15. Vomito depois de comer.						
16. Já passei por situações em que comi demais achando que não ia conseguir parar.						
17. Passo muito tempo pensando em comida.						
18. Acho-me uma pessoa preocupada com a comida.						
19. Sinto que a comida controla a minha vida.						
20. Corto minha comida em pedaços pequenos.						
21. Levo mais tempo que os outros para comer.						
22. As outras pessoas acham que sou magro (a) demais.						
23. Sinto que os outros prefeririam que eu comesse mais.						
24. Sinto que os outros me pressionam a comer.						
25. Evito comer quando estou com fome.						
26. Demonstro autocontrole em relação à comida.						

ANEXO NUMERO 6 - MEQ: QUESTIONÁRIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE INDIVÍDUOS MATUTINOS E VESPERTINOS

1. Considerando apenas seu bem-estar pessoal e com liberdade total de planejar seu dia, a que horas você se levantaria?



2. Considerando apenas seu bem-estar pessoal e com liberdade total de planejar sua noite, a que horas você se deitaria?



3. Até que ponto você depende do despertador para acordar de manhã?

Nada dependente ()

Não muito dependente ()

Razoavelmente dependente ()

Muito dependente ()

4. Você acha fácil acordar de manhã?

Nada fácil ()

Não muito fácil ()

Razoavelmente fácil ()

Muito fácil ()

5. Você se sente alerta durante a primeira meia hora depois de acordar?

Nada alerta ()

Não muito alerta ()

Razoavelmente alerta ()

Muito alerta ()

6. Como é o seu apetite durante a primeira meia hora depois de acordar?

Muito ruim ()

Não muito ruim ()

Razoavelmente bom ()

Muito bom ()

7. Durante a primeira meia hora depois de acordar você se sente cansado?

Muito cansado ()

Não muito cansado ()

Razoavelmente em forma ()

Em plena forma ()

8. Se você não tem compromisso no dia seguinte e comparando com sua hora habitual, a que horas você gostaria de ir deitar?

Nunca mais tarde ()

Menos que uma hora mais tarde ()

Entre uma e duas horas mais tarde ()

Mais do que duas horas mais tarde ()

9. Você decidiu fazer exercícios físicos. Um amigo sugeriu o horário das 07:00 às 08:00 horas da manhã, duas vezes por semana. Considerando apenas seu bem-estar pessoal, o que você acha de fazer exercícios nesse horário?

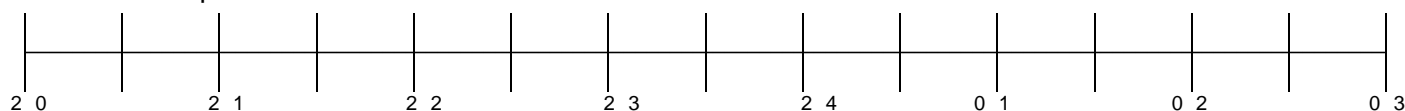
Estaria em boa forma ()

Estaria razoavelmente em forma ()

Acharia isso difícil ()

Acharia isso muito difícil ()

10. A que horas da noite você se sente cansado e com vontade de dormir?



11. Você quer estar no máximo de sua forma para fazer um teste que dura duas horas e que você sabe que é mentalmente cansativo. Considerando apenas o seu bem-estar pessoal, qual desses horários você escolheria para fazer esse teste?

Das 08:00 às 10:00 horas ()

Das 11:00 às 13:00 horas ()

Das 15:00 às 17:00 horas ()

Das 19:00 às 21:00 horas ()

12. Se você fosse deitar às 23:00 horas em que nível de cansaço você se sentiria?

Nada cansado ()

Um pouco cansado ()

Razoavelmente cansado ()

Muito cansado ()

13. Por alguma razão você foi dormir várias horas mais tarde do que é seu costume. Se no dia seguinte você não tiver hora certa para acordar, o que aconteceria com você?

Acordaria na hora normal, sem sono ()

Acordaria na hora normal, com sono ()

Acordaria na hora normal e dormiria novamente ()

Acordaria mais tarde do que seu costume ()

14. Se você tiver que ficar acordado das 04:00 às 06:00 horas para realizar uma tarefa e não tiver compromissos no dia seguinte, o que você faria?

Só dormiria depois de fazer a tarefa ()

Tiraria uma soneca antes da tarefa e dormiria depois ()

Dormiria bastante antes e tiraria uma soneca depois ()

Só dormiria antes de fazer a tarefa ()

15. Se você tiver que fazer duas horas de exercício físico pesado e considerando apenas o seu bem-estar pessoal, qual destes horários você escolheria?

Das 08:00 às 10:00 horas ()

Das 11:00 às 13:00 horas ()

Das 15:00 às 17:00 horas ()

Das 19:00 às 21:00 horas ()

16. Você decidiu fazer exercícios físicos. Um amigo sugeriu o horário das 22:00 às 23:00 horas, duas vezes por semana. Considerando apenas o seu bem-estar pessoal o que você acha de fazer exercícios nesse horário?

Estaria em boa forma ()

Estaria razoavelmente em forma ()

Acharia isso difícil ()

Acharia isso muito difícil ()

17. Suponha que você possa escolher o seu próprio horário de trabalho e que você deva trabalhar cinco horas seguidas por dia. Imagine que seja um serviço interessante e que você ganhe por produção. Qual o horário que você escolheria?

(Marque com um traço a hora do início e a hora do fim)



18. A que hora do dia você atinge seu melhor momento de bem-estar?



19. Fala-se em pessoas matutinas e vespertinas (as primeiras gostam de acordar cedo e dormir cedo; as segundas, de acordar tarde e dormir tarde). Com qual desses tipos você se identifica?

Tipo matutino ()

Mais matutino que vespertino ()

Mais vespertino que matutino ()

Tipo vespertino ()

ANEXO NUMERO 7 - QUESTIONARIO DE PITTSBURGH

As seguintes questões são relacionadas ao seu hábito de sono no **ÚLTIMO MÊS**. Suas respostas devem indicar o mais fielmente o que ocorreu na maioria dos dias e noites do **mês passado**.

1. Durante o último mês, você foi deitar a que horas?
2. Durante o último mês, a que horas pegou no sono?
3. Durante o último mês, a que horas você acordou?
4. Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (diferenciar de quanto tempo ficou deitado)

5. Durante o último mês, quantas vezes você teve problemas com seu sono, **por que:**

A. Não conseguiu pegar no sono durante 30 min

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana

B. Acordou no meio da noite ou muito cedo pela manhã

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana

C. Teve de ir ao banheiro

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana

D. Não conseguiu respirar direito

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana

E. Tosse ou ronco alto

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana

F. Sentiu muito frio

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

G. Sentiu muito calor

1. () nenhum episódio no último mês

2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

H. Teve pesadelos

1. () nenhum episódio no último mês

2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

I. Sentiu dor

1. () nenhum episódio no último mês

2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

J. Outra razão (por favor, descreva) _____

Quantas vezes durante o mês passado você teve problemas de sono por causa disso?

1. () nenhum episódio no último mês

2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

6. Durante o mês passado, como você classificaria a qualidade do seu sono?

1. () Muito boa

2. () Boa

3. () Ruim

4. () Muito ruim

7. Durante o mês passado, quantas vezes você tomou remédio, chá (descrever o que tomou) devido ao seu problema de sono?

1. () nenhum episódio no último mês

2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

8. Durante o último mês, quantas vezes você teve problema para ficar acordado enquanto dirigia, comia ou estava envolvido com atividades sociais?

1. () nenhum episódio no último mês

2. () menos do que 1 vez na semana

3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

9. Durante o último mês, quanto o seu problema de sono atrapalhou, diminuindo seu entusiasmo para fazer coisas?

1. () Não tem sido um grande problema
2. () Às vezes tem sido um problema pequeno
3. () Na maioria das vezes tem sido um problema
4. () Tem sido um grande problema

10. Você tem um companheiro (a) de quarto?

1. () Nenhum companheiro(a) no mesmo quarto
2. () Companheiro(a) em outro quarto
3. () Companheiro(a) no mesmo quarto, mas não na mesma cama
4. () Companheiro(a) na mesma cama

Se você tem um companheiro(a) de quarto/cama, pergunte quantas vezes no mês passado você...

A. Roncou alto?

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana
5. () NS

B. Teve pausas na respiração enquanto dormia?

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana
5. () NS

C. Contraindo-se bruscamente ou sacudiu-se enquanto dormia?

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana
5. () NS

D. Teve episódio de confusão ou desorientação enquanto dormia?

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana
4. () 3 ou 4 vezes na semana
5. () NS

E. Outro problema durante o sono? Por favor, descreva:

1. () nenhum episódio no último mês
2. () menos do que 1 vez na semana
3. () 1 ou 2 vezes na semana

4. () 3 ou 4 vezes na semana

5. () NS

ANEXO NUMERO 8 - QUESTIONARIOS SOBRE HÁBITOS DO COMER NOTURNO

DIRETRIZES PARA PREENCHIMENTO: POR FAVOR, CIRCULE UMA RESPOSTA PARA CADA QUESTÃO.				
1. Normalmente, como é o seu apetite de manhã?				
(0) nenhum	(1) pouco	(2) moderado	(3) muito	(4) extremo
2. Normalmente, quando você come pela 1ª vez ao dia?				
(0) antes das 9h	(1) das 9:01 ao ½ dia	(2) das 12:01 às 15h	(3) das 15:01 às 18h	(4) após as 18h
3. Depois do jantar, até a hora de dormir, você tem compulsões ou desejos de fazer lanches?				
(0) nunca	(1) raramente	(2) às vezes	(3) muitas vezes	(4) sempre
4. O quanto você consegue controlar a sua alimentação entre a janta e a hora de ir deitar?				
(0) nenhum controle	(1) pouco controle	(2) médio controle	(3) muito controle	(4) controle completo
5. Em relação à sua ingestão diária de alimentos, qual a quantidade que você costuma consumir depois de jantar?				
(0) 0% (nada)	(1) 1-25% (um quarto)	(2) 26-50% (metade)	(3) 51-75% (+ da metade)	(4) 76-100% (quase toda ela)
6. Você costumeiramente se sente triste, deprimido ou um lixo?				
(0) nunca	(1) poucas vezes	(2) às vezes	(3) muitas vezes	(4) sempre
7. Quando você se sente triste, em qual parte do dia seu humor é pior: ____ marque aqui se o seu humor não se altera durante o dia.				
(0) de manhã cedo	(1) no fim da manhã	(2) à tarde	(3) cedo da noite	(4) tarde da noite/ durante a noite
8. Com que frequência você tem dificuldades para pegar no sono?				
(0) nunca	(1) raramente	(2) às vezes	(3) muitas vezes	(4) sempre
9. Quantas vezes você acorda pelo menos uma vez no meio da noite (por outra razão que não seja usar o banheiro)?				
(0) nunca	(1) menos de 1 X por semana	(2) cerca de 1 X por semana	(3) + de 1 X por semana	(4) todas as noites
Se o escore for 0 na pergunta 9, pare aqui.				
10. Você tem compulsões ou desejos de fazer lanches quando acorda à noite?				
(0) nunca	(1) raramente	(2) às vezes	(3) muitas vezes	(4) sempre
11. Quando você acorda à noite, você precisa comer para voltar a dormir?				
(0) nunca	(1) raramente	(2) às vezes	(3) muitas vezes	(4) sempre
12. Quando você acorda no meio da noite, quantas vezes você lancha?				
(0) nunca	(1) raramente	(2) às vezes	(3) muitas vezes	(4) sempre
Se o escore for 0 na pergunta 12, passe para a pergunta 15.				
13. Qual o seu nível de consciência quando você lancha no meio da noite?				
(0) nenhuma consciência	(1) pouca consciência	(2) média consciência	(3) muito consciente	(4) totalmente consciente
14. Qual o seu nível de controle sobre sua alimentação enquanto você está acordado à noite?				
(0) nenhum controle	(1) pouco controle	(2) algum controle	(3) muito controle	(4) controle completo
15. Há quanto tempo você vem tendo dificuldades com a alimentação noturna? ____ há meses ____ há anos				

ANEXO NUMERO 9**CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO****NOME DO ESTUDO: EXPRESSÃO GÊNICA NA SÍNDROME DO COMER NOTURNO**

Número do protocolo: _____

INSTITUIÇÕES: Hospital de Clínicas de Porto Alegre e UFRGS.

Pesquisadores responsáveis: Professora Maria Paz Loayza Hidalgo e Ana Beatriz Cauduro Harb (Telefone: 51 32 22 57 81- 51 98 06 78 30).

Comitê de Pesquisa e Ética em Saúde do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (fone:33598304).

Nome do participante: _____

1. OBJETIVOS DESTE ESTUDO

A finalidade deste estudo é avaliar características genéticas de sujeitos portadores da Síndrome de Comer Noturno (que comem a noite). Também, serão comparadas as relações entre os genes de uma amostra de pessoas que não tenham esta síndrome.

2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

O senhor(a) terá que responder a alguns questionários com perguntas relacionadas aos seus hábitos de sono e de alimentação. Para isto o senhor(a) levará em torno de 40 min. Além disto terá que responder um questionário diariamente durante 7 dias para avaliar a sua alimentação. A avaliação também inclui a coleta de uma amostra de sangue utilizando agulha e seringa esterilizadas, de modo semelhante ao que ocorre quando faz exame de sangue. Esse sangue será levado para o Hospital de Clínicas de Porto Alegre para avaliar os genes que possam estar relacionados com a Síndrome do Comer Noturno. A amostra poderá ficar congelada por até cinco anos no Laboratório de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Este material será exclusivamente utilizado para obtenção dos dados propostos neste projeto. Em caso de novos projetos que possam utilizar este material o senhor(a) será chamado para novo consentimento.

3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

O possível desconforto do presente estudo será responder as perguntas dos questionários e uma leve dor produzida pela picada da agulha usada para coletar o sangue.

4. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTE ESTUDO

Os resultados desse estudo trarão informações importantes quanto às pessoas que comem a noite e como isso pode estar relacionado com o estado de saúde e aumento de peso e bem estar.

5. DIREITO DE DESISTÊNCIA

O senhor (a) pode desistir de participar a qualquer momento. Suas decisões de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada, não afetará qualquer atendimento médico posterior na presente instituição.

6. PRIVACIDADE

Todas as informações obtidas deste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, preservando os dados de identificação.

8. CONSENTIMENTO

Declaro ter lido - ou me foi lido - as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, do presente estudo.

Assinatura do entrevistado_____
Assinatura do responsável (Menores de 18 anos)_____
Assinatura do pesquisador responsável_____
Assinatura da testemunha

Porto Alegre , de de 20.....