

# Povezanost cirkadijalnog ritma s kroničnim bolestima i djelovanjem lijekova

---

**Turudić, Jelena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:008285>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Jelena Turudić

**Povezanost cirkadijalnog ritma s kroničnim  
bolestima i djelovanjem lijekova**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakologija, Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky.

*Najprije bih se voljela zahvaliti svojoj mentorici prof. dr. sc. Lidiji Bach-Rojecky na njezinim stručnim savjetima, pomoći u prikupljanju literaturnih sadržaja, trudu i uloženom vremenu prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Također se želim zahvaliti svojoj majci Danici i ocu Slavku što su mi pružili bezuvjetnu ljubav i podršku prilikom cijelog studiranja, a posebno u procesu pisanja ovog rada. Hvala i mojim dragim prijateljima koji su mi bili veliki oslonac i uljepšali period studiranja.*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Središnji i periferni satovi.....	1
1.2. Molekularni mehanizam cirkadijalne ritmičnosti unutar stanice .....	3
1.3. Melatonin .....	5
1.4. Poremećaji cirkadijalnog ritma spavanja i budnosti.....	6
1.4.1 Poremećaj odgođenog ritma spavanja i budnosti.....	6
1.4.2 Ne-24-satni poremećaj spavanja i budnosti.....	7
1.4.3 Nepravilan poremećaj spavanja i budnosti.....	7
1.4.4 Napredni poremećaj faze spavanja i budnosti .....	8
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	9
3. MATERIJALI I METODE .....	10
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	11
4.1. Utjecaj cirkadijalnog ritma na farmakokinetiku lijekova .....	11
4.1.1 Apsorpcija.....	11
4.1.2. Distribucija.....	15
4.1.3. Metabolizam .....	16
4.1.4. Eliminacija .....	22
4.2. Veza između poremećaja cirkadijalnog ritma i nastanka bolesti .....	24
4.2.1 Cirkadijalni ritam i hipertenzija .....	24
4.2.2 Cirkadijalni ritam i astma .....	29
4.2.3. Cirkadijalni ritam i šećerna bolest.....	35
5. ZAKLJUČAK .....	41
6. LITERATURA .....	43
7. SAŽETAK / SUMMARY.....	53

## 1. UVOD

U većini živih organizama fiziološke i psihološke funkcije te ponašanje prate 24-satni ciklus i usklađene su s izmjenom dana i noći u okolišu pojedinca. One se mijenjaju ovisno o ciklusu dan/noć, a koordinirane su endogenim biološkim satom, odnosno ovisne su o cirkadijalnom ritmu (od lat. circa = oko, približno i lat. diem = dan). Te promjene uzrokovane su zemljinom rotacijom oko vlastite osi. Osim kod ljudi i životinja, cirkadijalni ritam utvrđen je kod većine živih bića, uključujući biljke i mnoge mikrobe. Dokazano je da cirkadijalni ritam ima značajan utjecaj na oporavak organizma od ozljeda, na odgovor imunskog sustava na infekcije, ali i na uspješnost farmakološke terapije. Cirkadijalni ritam odgovoran je za različit učinak ksenobiotika, ovisno o vremenu primjene. Kronofarmakologija je grana farmakologije koja istražuje učinkovitost lijekova, dok kronotoksikologija proučava sigurnost/toksičnost lijekova ovisno o biološkim ritmovima. S obzirom na nedvojbenu važnost utjecaja cirkadijalnog ritma na učinkovitost i sigurnost liječenja, već tijekom razvoja novih lijekova bilo bi korisno predvidjeti, između ostalih parametara, i optimalno vrijeme njihove primjene. (Waring i sur., 2015).

Kronofarmakološke studije na ljudima dodatno su utvrdile važnost vremena doziranja za preko 300 lijekova koji pripadaju različitim farmakološkim skupinama. Za nekoliko lijekova postoje klinička, randomizirana ispitivanja III. faze koja su potvrdila važnost optimizacije terapije koja se zasniva na cirkadijalnom ritmu pacijenta. Tako primjerice primjena vremenski-prilagođene terapije postiže pozitivne ishode prilikom liječenja pacijenata s metaboličkim poremećajima, malignim bolestima, kardiovaskularnim bolestima i bolestima dišnog sustava (Levi i Okyar, 2011).

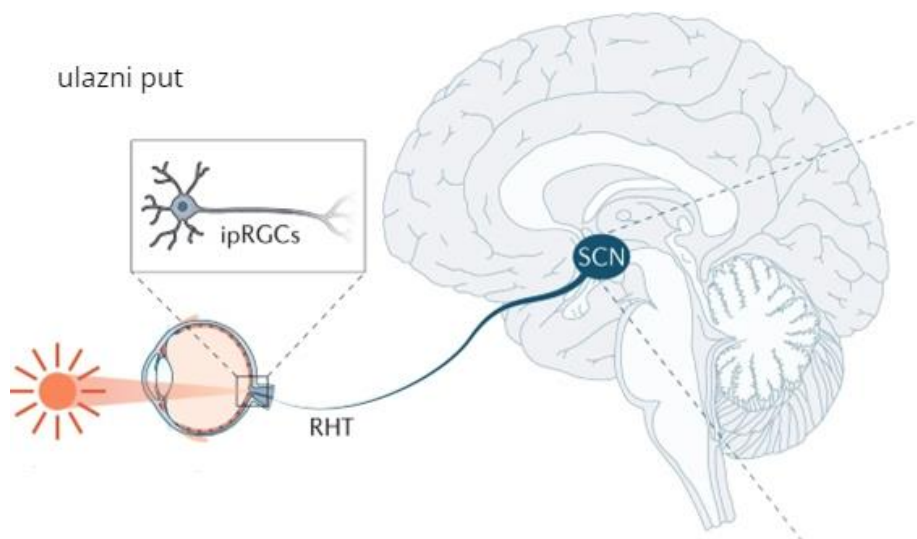
### 1.1. Središnji i periferni satovi

Cirkadijalni satovi generiraju samoodržavajuće oscilacije u vremenskom periodu od oko 24 h. Vjeruje se da su te oscilacije nastale kao odgovor na ciklus izmjene dana i noći koji je povezan s dostupnošću hrane (Albrecht, 2012).

Cirkadijalni sustav je optimiziran kako bi omogućio višestaničnom organizmu adaptaciju i preživljavanje u okolišu. Budući da pojedinačne stanice sadrže cirkadijalne satove, ovi

individualni oscilatori moraju biti sinkronizirani unutar istog tkiva. Isto tako, različita tkiva moraju biti cirkadijalno usklađena. Kako bi se izgradio koherentan cirkadijalni sustav, stanični satovi moraju biti sposobni odgovoriti na određeni stimulus (signal od drugih stanica), te integrirati te signale s vlastitim molekularnim unutarstaničnim satnim mehanizmom. Nakon toga, te se „clock“ informacije prenose drugim stanicama. Različite studije istraživale su kako su svi ti satovi u organizmu sinkronizirani i postoji li glavni sat koji nadzire rad ostalih, perifernih satova. Brojni eksperimenti dokazali su postojanje središnjeg sata („pacemakera“) u hipotalamusu. Središnji sat nalazi se u jezgri iznad optičke hijazme, pa je prema tome nazvan suprahijazmatska jezgra (engl. suprachiasmatic nucleus – SCN). SCN nalazi se na vrhu hijerarhijske strukture cirkadijalnog sustava. Središnji sat u SCN-u ima utjecaj na druge stanice pružajući im važne informacije o okolišnim čimbenicima, u prvom redu o ciklusu izmjene dana i noći (Albrecht, 2012).

Mrežnica sisavaca se sastoji od tri vrste fotoreceptorskih stanica. Riječ je o štapićima, čunjićima i intrinzičnim fotoosjetljivim retinalnim ganglijskim stanicama (engl. intrinsically photoreceptive retinal ganglion cells - ipRGCs). Potonji, za razliku od čunjića i štapića, ne doprinose izravno vidu, ali imaju važnu ulogu u održavanju cirkadijalnog ritma. Svjetlosne zrake padaju na mrežnicu, a te svjetlosne signale primaju ipRGCs koje signal šalju dalje preko retinohipotalamičnog puta do SCN-a (LeGates i sur., 2014).



*Slika 1. Zaprimanje svjetlosnog signala pomoću intrinzičnih fotoosjetljivih retinalnih ganglijskih stanica (ipRGCs) i prijenos signala preko retinohipotalamičnog puta (RHT) do suprahijazmatske jezgre (SCN) (preuzeto i prilagođeno prema Ruan i sur., 2021)*

Utvrđeno je da ritmovi postoje i u izoliranim kulturama stanica koje nisu neuralne, što ukazuje na činjenicu da različite stanice (npr. stanice srca, jetre, pluća, bubrega) imaju vlastitu endogenu cirkadijalnost neovisnu o SCN-u. Iako su periferni satovi do jedne mjere samoodržavajući, SCN igra veliku ulogu u koordinaciji cirkadijalne ritmičnosti između različitih perifernih satova (Akhtar i sur., 2002).

Na perifernu ritmičnost osim endogenih mehanizama utječu i različiti egzogeni signali. Tako, na primjer, različiti hormoni kao što su melatonin i kortizol, ritmična autonomna kontrola, temperatura tijela i uzorci hranjenja mogu utjecati na fazu i amplitudu ekspresije „clock“ komponenata perifernih satova (Ayyar i sur., 2021).

## **1.2. Molekularni mehanizam cirkadijalne ritmičnosti unutar stanice**

Mehanizmi u pozadini cirkadijalnih ritmova koje generira molekularni sat sastoje od transkripcijsko-translacijskih povratnih petlji. Ove petlje uključuju „clock“ gene koji postoje unutar pojedinačnih stanica. Brojni proteini koji su uključeni u proces održavanja 24-satne ritmičnosti djeluju kao transkripcijski faktori tako što se vezuju za DNA nizove nukleotida i kontroliraju transkripciju određenih gena. Geni središnjeg sata eksprimiraju se u SCN-u, a svjetlost je jedan od glavnih pokretača koji uzrokuje ponovno resetiranje ritma.

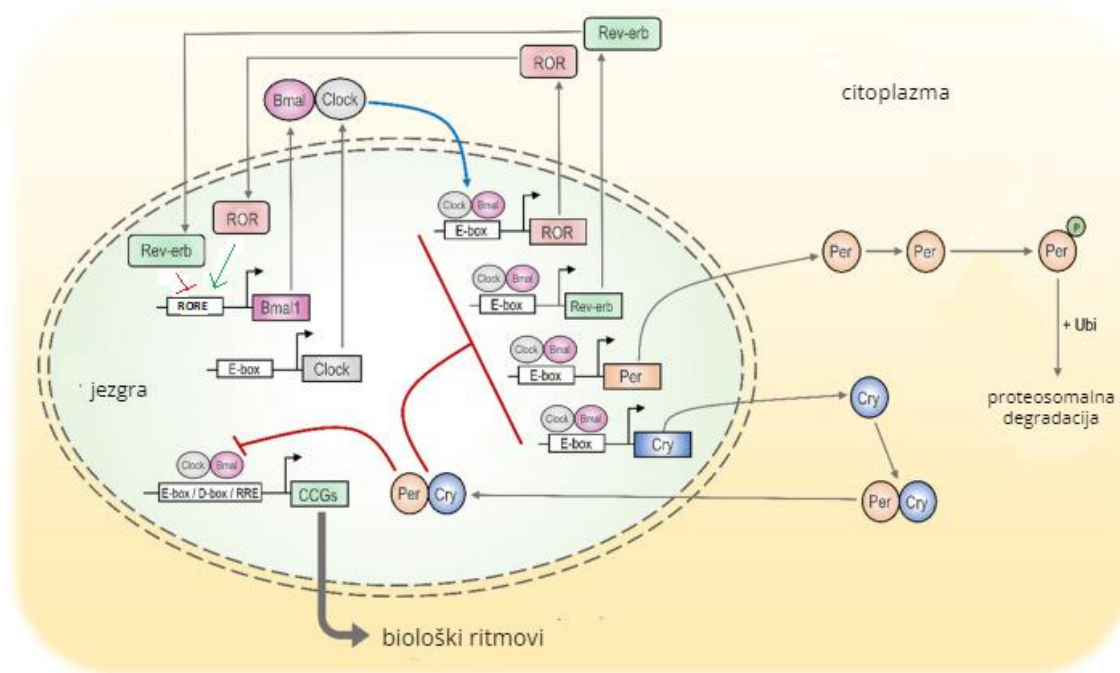
Dva proteina aktivatora transkripcije su ARNTL (engl. aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1), odnosno BMAL1 (engl. brain and muscle ARNT-like 1) i CLOCK (engl. circadian locomotor output cycles kaput). S druge strane PER (engl. period) i CRY (engl. cryptochrome) su inhibitori transkripcije. Aktivatori i inhibitori transkripcije su u međusobnoj interakciji. Naime, pozitivni elementi CLOCK i BMAL1 tvore heterodimere koji se vežu na E-box ciljnih gena i aktiviraju transkripciju negativnih elemenata (potaknuta je ekspresija PER i CRY). Kako razine PER i CRY rastu, oni ulaze u jezgru kao heterodimeri i potiskuju vlastitu transkripciju inhibicijom djelovanja kompleksa CLOCK:BMAL1 te na taj način zatvaraju povratnu petlju. Razgradnjom PER i CRY dolazi do prestanka inhibicije heterodimera CLOCK:BMAL1 pri čemu započinje novi ciklus (Reppert i Weaver, 2001).

ROR i REV-ERB glavni su regulatori cikličke ekspresije BMAL1, a čine sekundarnu povratnu spregru u cirkadijalnom ciklusu. Transkripciju REV-ERB aktivira CLOCK:BMAL1 heterodimer, a indirektno inhibira CRY/PER, što rezultira cirkadijanskim oscilacijama REV-ERB. Zauzvrat, REV-ERB potiskuje BMAL1 transkripciju. Iako se ROR i REV-ERB vežu na isti slijed DNA u promotorskoj regiji gena – RORE (engl. REV-ERB/ROR response element), oni imaju suprotne učinke. REV-ERB uzrokuje inhibiciju, a ROR uzrokuje aktivaciju ekspresije BMAL1. Može se zaključiti da oscilirajuća ekspresija ROR i REV-ERB u SCN-u dovodi do cirkadijalnog obrasca ekspresije BMAL1 (Solt i sur., 2011).

Dodatnu petlju povratne sprege uključuju PARbZip (engl. proline and acidic amino acid-rich basic leucine zipper) proteini koji djeluju kao regulatori genske ekspresije. Najvažniji PARbZip proteini su DBP (engl. D-box binding protein) i E4BP4 (engl. E4 promotor-binding protein 4). E4BP4 i DBP se vežu za isto vezno mjesto u promotorskoj regiji ciljnih gena, ali imaju suprotne učinke. E4BP4 djeluje kao inhibitor, a DBP kao aktivator transkripcije. E4BP4 potiskuje transkripciju ciljnih gena tijekom razdoblja dana kada je povećana ekspresija E4BP4, a DBP aktivira ekspresiju istih tih gena u drugo doba dana. Razine proteina E4BP4 i DBP fluktuiraju u gotovo suprotnoj fazi. Oni su u interakciji s glavnim petljama kako bi omogućili daljnju regulaciju cirkadijalne ekspresije gena (Mitsui i sur., 2001).

Molekule uključene u cirkadijalne mehanizme također reguliraju ritmičku ekspresiju CCGs (engl. clock-controlled genes). Oni su odgovorni za regulaciju različitih cirkadijalnih fizioloških funkcija kao što su metabolizam, hemostaza i imunost. Heterodimer CLOCK:BMAL1 uzrokuje aktivaciju ekspresije CCGs, a heterodimer CRY:PER blokira učinke CLOCK:BMAL1, odnosno indirektno inhibira ekspresiju CCGs (Carmona i sur., 2020).





Slika 2. Pojednostavljen prikaz najvažnijih proteina i gena uključenih u regulaciju cirkadijalne ritmičnosti unutar stanice (preuzeto i prilagođeno prema Ayyar i Sukumaran, 2021)

### 1.3. Melatonin

Melatonin je jedan od ključnih hormona uključenih u regulaciju cirkadijalnog ritma. Za sintezu i izlučivanje melatonina odgovorne su stanice epifize, a manje količine melatonina mogu se proizvesti i u stanicama koštane srži, trombocitima, limfocitima, koži i retini (Conti i sur., 2000). Melatonin djeluje središnje i periferno. Vezna mjesta pronađena su u mnogim područjima mozga, uključujući pars tuberalis i hipotalamus, ali melatoninski receptori nađeni su i na stanicama imunskog sustava, spolnih žlijezda, bubrega i kardiovaskularnog sustava (Dubocovich i sur., 2005).

Sintezu melatonina u epifizi kod sisavaca kontrolira SCN i sinkronizira s ciklusom svjetlo/tama. Kada nema svjetla (uvjeti mraka) IpRGCs otpuštaju eksitacijske neurotransmitere - glutamat i polipeptid koji aktivira adenilat ciklazu hipofize (PACAP). Oni uzrokuju depolarizaciju membrane u postsinaptičkim SCN neuronima što uzrokuje transmisiju signala preko paraventricularne jezgre (PVN) do epifize, pri čemu dolazi do lučenja melatonina. Kada je

svjetlosni signal pozitivan, dolazi do lučenja gama-amino maslačne kiseline (GABA). Zbog inhibitornog učinka GABA-e ne dolazi do transmisije signala preko PVN, odnosno signal epifizi je prekinut i melatonin se ne sintetizira (Arendt i Aulinas, 2022).

Prekid sna i nagle promjene u ciklusima spavanja uzrokuju neusklađenost lučenja melatonina s okolišnim uvjetima. Poremećaj lučenja i signalizacije melatonina povezan je s gubitkom koncentracije i kognitivnim deficitima, povećanim rizikom od kardiovaskularnih i metaboličkih bolesti te oslabljenom funkcijom imunskog sustava (Zisapel, 2018).

#### **1.4. Poremećaji cirkadijalnog ritma spavanja i budnosti**

Poremećaji cirkadijalnog ritma spavanja i budnosti (engl. circadian rhythm sleep-wake disorders; CRSWDs) posebna su skupina poremećaja spavanja koji su uzrokovani promjenama u cirkadijalnom sustavu za mjerenje vremena. Nastaju zbog poteškoća u održavanju pravilnog 24-satnog cirkadijalnog ritma i to najčešće zbog nesklada između endogenog cirkadijalnog ritma i vanjskog okruženja. CRSWDs se mogu podijeliti u dvije kategorije – intrinzični i ekstrinzični poremećaji cirkadijalnog ritma spavanja i budnosti. Intrinzični poremećaj je karakteriziran disfunkcionalnim endogenim sustavom cirkadijalnog ritma zbog kroničnih promjena u funkcioniranju i regulaciji biološkog sata. Ekstrinzični poremećaj rezultat je promjena u okolišu koje uzrokuju neusklađenost između vremena spavanja/budnosti i unutarnjih cirkadijalnih ritmova. Potonji poremećaj može biti uzrokovan promjenom u uobičajenom obrascu budnosti i spavanja uslijed smjenskog rada ili prilikom putovanja zbog promjene vremenske zone (engl. jet-lag) (Sun i Chen, 2022).

##### **1.4.1 Poremećaj odgođenog ritma spavanja i budnosti**

Poremećaj odgođenog ritma spavanja i budnosti (DSWPD engl. delayed sleep-wake phase disorder) obično se pojavljuje u adolescenciji i nastavlja se u odrasloj dobi. Ljudi s ovim poremećajem imaju odgođenu fazu odlaska na spavanje u odnosu na vanjske mračne uvjete, a s time i velike poteškoće sa započinjanjem spavanja u odgovarajuće rano vrijeme i poteškoće pri buđenju u željeno vrijeme ujutro. Struktura sna odnosno njegova duljina i kvaliteta ostaje

relativno nepromijenjena, ali ulazak u san nastupa kasnije od očekivanog. Osobe s ovim poremećajem pokazuju značajna odstupanja od normalnog načina funkcioniranja u vidu pretjerane pospanosti tijekom dana, lošeg raspoloženja i smanjene mogućnosti održavanja pažnje (Nesbitt, 2018).

Točna etiologija sindroma odgođene faze spavanja je nepoznata. Smatra se da mnogi čimbenici pridonose njegovom razvoju, uključujući genetske, okolišne i bihevioralne čimbenike. Kod oko 40 % pacijenata uočena je povijest poremećaja spavanja u obitelji. Jedna od pretpostavki je da dolazi do mutacije određenih *clock* gena, a te se mutacije genetski prenose na potomke. Okolišni čimbenici, uključujući nedostatak dnevnog svjetla ujutro i povećana izloženost svjetlu noću, doprinose razvoju sindroma. Primjeri bihevioralnih čimbenika koji pogoduju razvoju ovog poremećaja su rad u noćnim smjenama, prekomjerna konzumacija kofeina i izloženost jakom svjetlu s ekrana elektroničkih uređaja noću (Sun i Chen, 2022).

#### **1.4.2 Ne-24-satni poremećaj spavanja i budnosti**

Ne-24-satni poremećaj spavanja i budnosti (N24SWD engl. non-24-hour sleep-wake rhythm disorder) definira se kao progresivna dnevna promjena vremena početka spavanja i vremena buđenja. Uglavnom pogađa slijepe osobe, a relativno je rijedak u osoba koje nemaju sljepoću. Kod osoba s ovim poremećajem endogeni cirkadijalni „pacemaker“ ne pokazuje 24-satnu cirkadijalnost, a unutarnji se sat resetira kasnije od predviđenog vremena (nakon više od 24,5 sata). Nemogućnost pravovremenog resetiranja cirkadijalnog sata objašnjava se gubitkom svjetlosne sinkronizacije. Patofiziologija ovog poremećaja i dalje nije do kraja razjašnjena kod osoba koje nisu slijepe. Mogući razlozi nastanka poremećaja uključuju smanjenu izloženost svjetlu, smanjenu osjetljivost na svjetlost ili smanjenu socijalnu i tjelesnu aktivnost. Poznata je činjenica da češće zahvaća muškarce (oko 4:1) i da se najčešće razvija nakon ulaska u pubertet (Guichard i sur., 2021).

#### **1.4.3 Nepravilan poremećaj spavanja i budnosti**

Kod nepravilnog poremećaja spavanja i budnosti (ISWRD engl. irregular sleep-wake rhythm disorder) dolazi do gubitka cirkadijalnog ritma s izrazito poremećenim i kaotičnim ritmom spavanja i budnosti. Očituje se kao poremećeni ciklus spavanja i budnosti koji ne pokazuje

jasan obrazac. Faza spavanja i budnosti može se podijeliti u tri ili više dodatnih faza, pri čemu svaka faza traje od 1 do 4 sata. Kao rezultat poremećenog održavanja noćnog sna i povećanja dnevnog drijemanja, pacijenti se često žale na noćnu nesanicu ili pretjeranu dnevnu pospanost. Poremećaj je češći kod starijih osoba, posebice kod onih s neurološkim bolestima povezanim sa starenjem poput demencije. Starije osobe i pacijenti s demencijom manje su izloženi vanjskom svjetlu i manje sudjeluju u društvenim aktivnostima, a također pate od gubitka vida i promjena SCN-a povezanih s dobi. Može se javiti i kod mlađih osoba ako imaju neredovit raspored rada/odmora i kod osoba koje često drijemaju. ISWRD može biti posljedica traume mozga, a uočen je i kod djece s mentalnom retardacijom (Sun i Chen, 2022).

#### **1.4.4 Napredni poremećaj faze spavanja i budnosti**

Napredni poremećaj faze spavanja i budnosti (ASWPD engl. advanced sleep-wake phase disorder) je poremećaj kojeg karakterizira rani odlazak na spavanje i rano buđenje (najmanje 2 sata ranije u usporedbi s klasičnim obrascem spavanja i buđenja). Bolesnici s ovim poremećajem obično zaspu između 18 i 21 sat navečer i bude se između 2 i 5 sati ujutro. Glavne tegobe uključuju pospanost i poteškoće s ostajanjem budnim navečer, buđenje prije zore i poteškoće s uspjavanjem nakon buđenja. Ranojutarnje buđenje događa se nakon razdoblja neometanog sna, te struktura spavanja nije narušena. Kod ljudi s ASWPD pospanost ne utječe na dnevni rad ili sposobnost učenja, ali budući da oboljele osobe zaspu puno ranije nego što se smatra normalnim, aktivnosti navečer obično se skraćuju. Prevalencija ASWPD-a iznosi približno 1 %, a raste s dobi. Prevalencija ASWPD-a mnogo je niža od one kod DSWPD-a, vjerojatno zato što ASWPD ima mali utjecaj na dnevno funkcioniranje, učenje, rad i društvene aktivnosti tako da pacijenti rjeđe traže liječnički savjet. Nisu pronađene spolne razlike u razvoju poremećaja. Smatra se da nastanku poremećaja doprinose genetski i bihevioralni čimbenici. Do pomaka faze spavanja unaprijed može doći ako je osoba izložena manjom količinom svjetla poslijepodne ili navečer, ili je prerano izložena svjetlu u razdoblju u kojem se i dalje očekuje faza spavanja (Sun i Chen, 2022).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Cirkadijalni ritam pomaže u održavanju homeostaze organizma na način da vremenski usklađuje različite fiziološke procese. Zaslužan je za ritmičnu ekspresiju gena, normalno funkcioniranje imunskog sustava, ritmičnu kontrolu krvnog tlaka, održavanje razine glukoze u krvi, ali i za brojne druge funkcije. Do kroničnih poremećaja cirkadijalnog ritma može doći zbog niza intrinzičnih i ekstrinzičnih faktora, a dugotrajna disregulacija dovodi do nastanka i napredovanja različitih bolesti. Dokazane su poveznice između poremećaja ritma spavanja i budnosti te mnogih metaboličkih bolesti poput dijabetesa ili pretilosti, psihičkih bolesti poput depresije, bipolarnog poremećaja ili opsesivno-kompulzivnog poremećaja. Poremećen molekularni mehanizam cirkadijalnosti otkriven je i kod neurodegenerativnih bolesti, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti, a sve je više dokaza da se disregulacija cirkadijalnog ritma nalazi u pozadini razvoja različitih tumora.

U ovom diplomskom radu opisać će se mehanizmi utjecaja cirkadijalnog ritma na farmakokinetičke karakteristike lijekova te povezanost abnormalnosti cirkadijalnog ritma s razvojem kroničnih bolesti poput hipertenzije, astme i šećerne bolesti. To su kronične bolesti koje predstavljaju velik javnozdravstveni problem, s visokom prevalencijom, visokom stopom komorbiditeta i mortaliteta. Također će se razmatrati kronoterapijska rješenja koja bi mogla biti od velike koristi kod onih pacijenata kojima bolest nije dobro regulirana unatoč politerapiji.

### 3. MATERIJALI I METODE

Za izradu ovog diplomskog rada proučavane su stručne knjige te stručni i znanstveni članci na temu utjecaja cirkadijalnog ritma na farmakokinetiku lijekova, kao i članci koji se bave utjecajem disregulacije cirkadijalnog ritma na proces razvoja bolesti. Pretraživane su baze podataka PubMed, PubMed Central, Frontiers Media, UpToDate, Mediatly baza lijekova te različite mrežne stranice s relevantnim sadržajem, i to prema ključnim riječima: *chronopharmacology, chronotoxicology, central clock, peripheral clocks, circadian clock genes, circadian disruption, circadian rhythm sleep-wake disorders, circadian rhythm and asthma, circadain rhythm and hypertension, circadain rhythm and diabetes.*

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cirkadijalna varijabilnost u farmakokinetici i farmakodinamici uočena je za velik broj lijekova, što može dovesti do značajnih razlika u učinkovitosti i sigurnosti lijeka ovisno o vremenu doziranja. Kronofarmakologija primjenjuje saznanja o cirkadijalnim biološkim ritmovima u cilju poboljšanja farmakoterapije. U prvom dijelu diplomskog rada obradit će se utjecaj 24-satne ritmičnosti na farmakokinetiku lijekova. Funkcionalnost *clock* gena važna je za ritmičnost u procesima apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije lijekova. Ukoliko dođe do različitih abnormalnosti u proteinima koji reguliraju satni mehanizam, gubi se stanična ritmičnost i mijenjaju se farmakokinetički procesi.

### 4.1. Utjecaj cirkadijalnog ritma na farmakokinetiku lijekova

#### 4.1.1 Apsorpcija

Ukoliko se neki lijek primjenjuje ekstravaskularno, on najprije mora biti pasivno ili aktivno transportiran kako bi dospio u sistemsku cirkulaciju. U slučaju oralne primjene lijeka apsorpcija je ovisna o svojstvima same molekule lijeka (molekularna masa, ionizacija, lipofilnost), ali i o brojnim fiziološkim čimbenicima (gastrointestinalni protok krvi, pH vrijednost u želucu i crijevima, brzina gastričnog pražnjenja, ekspresija inluksnih i efluksnih transportera za lijekove u crijevima). Cirkadijalni ritam ima utjecaj na sve navedene fiziološke procese.

Intestinalna apsorpcija lipida pokazuje cirkadijalnu ritmičnost, s time da je apsorpcija najznačajnija za vrijeme aktivnog razdoblja (Sukumaran i sur., 2010). Posljedično, postoje i cirkadijalni uzorci apsorpcije različitih lipofilnih lijekova (npr. ciklosporin, takrolimus, propranolol). Na primjeru takrolimusa, uočena je odgođena apsorpcija i manji stupanj apsorpcije ukoliko se lijek primijeni u večernjim satima. Jutarnje doziranje takrolimusa praćeno je većom bioraspoloživostu lijeka, višim maksimalnim koncentracijama u plazmi i kraćim vremenom do postizanja maksimalne koncentracije lijeka u plazmi (Park i sur., 2007). Cirkadijalne razlike u apsorpciji uočene su i na primjeru nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID). Primijećene su statistički značajne razlike u najvećoj koncentraciji lijeka u plazmi nakon primjene ( $C_{max}$ )

ovisno o vremenu primjene NSAID. U jednoj studiji ketoprofen je pokazao C<sub>max</sub> čak i do 50 % veći nakon jutarnje primjene. Sličan rezultat, odnosno značajno viša vrijednost C<sub>max</sub> uočena je i kod diklofenaka (+32 %) i indometacina (+52 %) prilikom jutarnjeg doziranja (Baraldo, 2008). Za hidrofilne lijekove različito vrijeme doziranja ne uzrokuje značajniju promjenu u apsorpciji.

Stupanj apsorpcije ksenobiotika ovisi i o aktivnosti influksnih i efluksnih transportera, od kojih pojedini pokazuju cirkadijalnu ritmičnost u ekspresiji. Ekspresija efluksnih transportera na apikalnoj membrani enterocita značajno utječe na bioraspoloživot različitih ksenobiotika (Tablica 1). Naime, njihova primarna zadaća je aktivno izbacivanje ksenobiotika iz citoplazme enterocita nazad u lumen crijeva. P-glikoprotein primjer je efluksnog transportera koji se eksprimira na apikalnoj membrani enterocita. Supstrati P-glikoproteina su velik broj lijekova iz različitih farmakoloških skupina (citostatici, steroidi, antibiotici, β blokatori, blokatori kalcijevih kanala, antihistaminici i brojni drugi) (Cascorbi, 2011). Uz P-glikoprotein i drugi transporteri kao što su MCT1 (engl. monocarboxylate transporter 1), MRP2 (engl. multi-drug resistance protein 2), PepT1 (engl. human peptide transporter 1) i BCRP1 (engl. breast cancer resistance protein 1) pokazuju cirkadijalnu varijabilnost (Stearns i sur., 2008).

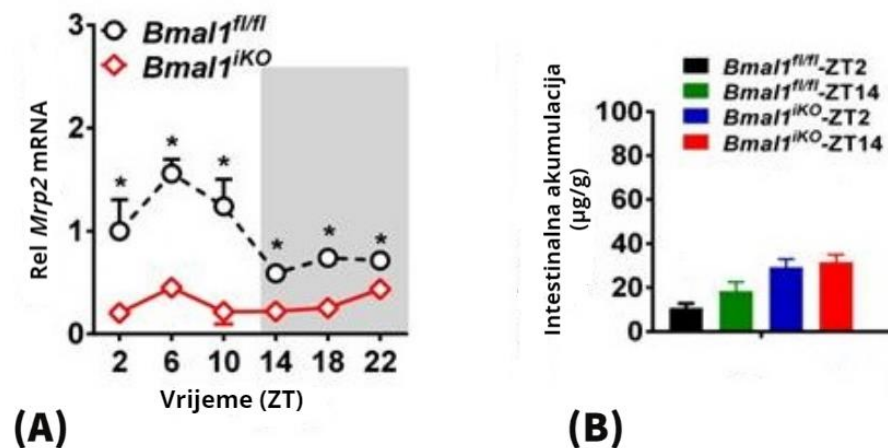
*Tablica 1. Navedeni transporteri koji pokazuju cirkadijalnu ritmičnost u ekspresiji, primjeri njihovih supstrata i vrhunac očekivane ekspresije odnosno njihova akrofaza (ZT engl. Zeitgeber time, ZT0 odgovara 7:00 h) (preuzeto i prilagođeno Stearns i sur., 2008)*

<b>Transporter</b>	<b>Primjeri supstrata</b>	<b>Vrhunac ekspresije (akrofaza)</b>
P-glikoprotein	mali hidrofobni lijekovi, digoksin	ZT7 (ekvivalent <b>14 h</b> )
MCT1	monokarboksilati, aspirin	ZT2 (ekvivalent <b>9 h</b> )
MRP2	doksorubicin, ceftriakson, metotreksat	ZT10 (ekvivalent <b>17 h</b> )
PepT1	mali peptidi, β-laktami	ZT9 (ekvivalent <b>16 h</b> )
BCRP	purinski analozi, metotreksat	ZT1 (ekvivalent <b>8 h</b> )



*Clock* geni imaju utjecaj na održavanje uredne cirkadijalne ritmičnosti ekspresije navedenih transportera. Primjer molekule koja ima utjecaj na pravilnu ritmičnost ekspresije *MRP2* je *BMAL1*. *BMAL1* koordinira ekspresiju *MRP2* gena preko aktivatora i represora ekspresija, kao što su: *DBP* (aktivator ekspresije *MRP2*), *E4BP4* (represor ekspresije *MRP2*) i preko *REVERB $\alpha$*  (represor *E4BP4*). Utišavanje (KO, genski nokaut) *BMAL1* gena u eksperimentu s miševima uzrokovao je značajan poremećaj ritmičnosti ekspresije *MRP2* što potvrđuje navedenu tvrdnju (Yu i sur., 2019).

Metotreksat je lijek koji je i dalje u širokoj upotrebi u liječenju teških oblika aktivnog reumatoidnog artritisa/kroničnog poliartritisa, teških oblika psorijaze i u liječenju tumora (maligni trofoblastni tumori, akutne limfatične leukemije), usprkos izuzetnoj toksičnosti. Transporteri koji su uključeni u izbacivanje metotreksata iz enterocita su *MRP2* i *BCRP*. Farmakokinetika i toksičnost metotreksata ovisna je o vremenu doziranja. Kod miševa koji su imali zadržanu funkcionalnost *BMAL1* AUC vrijednost (engl. area under the curve), koja prezentira sistemsku bioraspodjeljivost, bila je viša prilikom per os doziranja metotreksata u ZT14 u odnosu na ZT2. To se događa jer je u ZT14, odnosno u večernjim satima, slabija ekspresija efluksnog transportera *MRP2*, što znači da će u večernjim satima doći do značajnije apsorpcije metotreksata i veće sistemske izloženosti lijeku. Metotreksat primijenjen u večernjim satima (ZT14) uzrokovao je kod miševa veću hepatotoksičnost i nefrotoksičnost. Kod miševa s genskim nokautom *BMAL1* uočene su više vrijednosti AUC metotreksata i u ZT14 i ZT2 u odnosu na miševe s funkcionalnim *BMAL1* zbog smanjene ekspresije efluksnog transportera *MRP2* i samim time smanjenog efluksa lijeka. Istovremeno, izgubljena je i cirkadijalnost ekspresije *MRP2* (odnosno niska je ekspresija tijekom cijelog dana) (Yu i sur., 2019).



Slika 3. (A) qRT-PCR analiza *Mrp2* mRNA u enterocitima kod miševa sa zadržanom funkcijom *BMAL1* (*BMAL1<sup>fl/fl</sup>*) i kod miševa s nokautom *BMAL1* (*BMAL1<sup>iKO</sup>*) – Miševi s *BMAL1<sup>iKO</sup>* izgubili su ritmičnost sinteze *Mrp2* mRNA, odnosno snižena je ekspresija *Mrp2* gena tijekom cijelog dana (B) Prikaz intestinalne akumulacije metotreksata nakon oralne primjene (50 mg/kg) doziranja u ZT2 i ZT14 kod miševa sa zadržanom funkcijom *BMAL1* (*BMAL1<sup>fl/fl</sup>*) i kod miševa s nokautom *BMAL1* (*BMAL1<sup>iKO</sup>*) – Kod *BMAL1<sup>iKO</sup>* miševa veća je akumulacija metotreksata zbog smanjenog efluksa lijeka pomoću *MRP2*, a budući da je kod *BMAL1<sup>iKO</sup>* miševa izgubljena ritmičnost ekspresije *Mrp2*, neće biti značajne razlike u akumulaciji metotreksata u ZT2 i ZT14 (preuzeto i prilagođeno prema Yu i sur., 2019)

Ekspresija P-glikoproteina pokazuje 24-satnu ritmičnost. Transkripcija gena *ABCB1* koji kodira za P-glikoprotein pod regulacijom je cirkadijalnog sata. Riječ je o transkripcijskom faktoru HFL (engl. hepatic leukemia factor) i E4BP4. HFL aktivira transkripciju gena *ABCB1*, a E4BP4 koči njegovu transkripciju (Murakami i sur., 2008).

Porast u koncentraciji *ABCB1* mRNA uočen je u razdoblju od ZT0 sve do ZT12, s vrhuncem ekspresije P-glikoproteina u ZT 8-12. Na primjeru digoksina može se promatrati kako cirkadijalna varijabilnost u ekspresiji P-glikoproteina utječe na njegovu bioraspoloživost ovisno o vremenu primjene. Akumulacija digoksina u enterocitima miševa bila je značajno niža u ZT12 u odnosu na ZT0. To je zato što se veća ekspresija P-glikoproteina na apikalnoj membrani enterocita očekuje tijekom popodnevnih/večernjih sati u odnosu na jutarnje, a samim time je tada značajnije izbacivanje digoksina iz stanice nazad u lumen crijeva (Ando i sur., 2005), što mu smanjuje sistemsku raspoloživost.

#### 4.1.2. Distribucija

Distribucija lijeka između plazme/krvi i različitih tkiva ovisi o različitim čimbenicima kao što su lipofilnost, odnosno hidrofilnost lijeka te njegov stupanj ionizacije, volumen tkiva, protok krvi kroz tkiva i organe, prisutnost različitih transportera u tkivima/organima i vezanje lijekova na proteine plazme. Neki od navedenih čimbenika pokazuju 24-satnu ritmičnost. Dnevna varijabilnost u protoku krvi kroz organe (npr. kroz mozak, jetru, kožu, mišiće) dokazana je kod životinja i ljudi. Veći protok krvi očekuje se u aktivnom razdoblju. Kod glodavaca aktivno razdoblje dana je noć. U noćnim satima kod njih je uočena povećana aktivnost simpatičkog živčanog sustava koji uzrokuje povećanje minutnog volumena srca i povećanu perfuziju. Kod miševa, veći minutni volumen srca zabilježen je u ZT14 u odnosu na ZT2 (Lemmer, 1992).

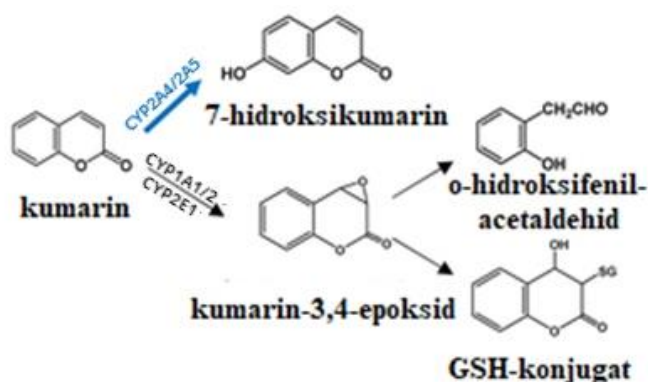
Stupanj vezanja molekule lijeka na proteine plazme također značajno određuje distribuciju lijeka. Albumin, transkortin (CBG engl. corticosteroid-binding globulin) i globulin koji veže spolne hormone (SHBG engl. sex hormone-binding globulin) pokazuju cirkadijalnu varijabilnost koncentracije u plazmi. To znači da se može očekivati i drukčiji postotak slobodne frakcije lijeka tijekom dana, ovisno o koncentraciji navedenih proteina plazme. Ova 24-satna varijabilnost je posebno značajna kod lijekova koji se u visokom postotku vežu za navedene proteine, a imaju usku terapijsku širinu (Ayyar i Sukumaran, 2021).

Transkortin veže različite steroidne hormone. Postotak vezanja kortizola za transkortin doseže čak 90 %. Osim kortizola na transkortin se vezuju i sintetski kortikosteroidi – hidrokortizon i prednizolon. Najviša koncentracija transkortina u ljudi (C<sub>max</sub>) uočena je u 18:00 h, a najniža koncentracija transkortina (C<sub>min</sub>) u 02:00 h. Transkortin pokazuje najveći kapacitet vezanja molekula oko 17:00 h (Melin i sur., 2019). Iako klinički značaj ovih podataka i dalje nije do kraja istražen, ovi podatci mogli bi se pokazati važnima pri određivanju optimalnog vremena primjene lijekova koji se u velikom postotku vežu na transkortin.

### 4.1.3. Metabolizam

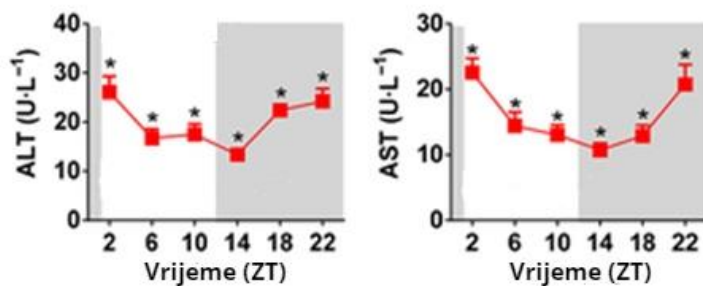
Kako bi se određeni ksenobiotik mogao izlučiti iz organizma, najprije se treba biotransformirati u hidrofilnije metabolite. U većini slučajeva biotransformacija se odvija u dvije faze. U fazi I biotransformacije događaju se različite strukturne promjene ishodišne molekule ksenobiotika. Faza I može uključivati oksidaciju, redukciju, hidrolizu, deaminaciju ili promjenu na prstenu molekule. U fazi II metabolizma nastaju krajnji metabolički produkti koji se dalje izlučuju iz organizma. Novonastali metaboliti su u pravilu biološki neaktivni, uglavnom topljivi u vodi te se najvećim dijelom izlučuju putem mokraće ili žuči. Primjeri faze II metabolizma uključuju anaboličke reakcije glukuronidacije, acetilacije, metilacije, sulfatacije te konjugacije s glicinom i glutationom. Najvažniji organ u kojem se događa metabolizam lijeka je jetra. Prema tome, protok krvi kroz jetru i enzimska aktivnost dva su odlučujuća čimbenika za metabolizam lijeka. Na animalnom modelu prikazana je 24-satna cirkadijalnost u protoku krvi kroz jetru. Naime, procijenjeni jetreni protok krvi kod glodavaca izraženiji je noću, odnosno tijekom faze aktivnosti (Sallam i sur., 2015).

Molekule sata mogu direktno i indirektno utjecati na cirkadijalnu ekspresiju enzima koji sudjeluju u metabolizmu ksenobiotika. BMAL1 i CLOCK molekule reguliraju ritmičnost ekspresije brojnih citokroma P450 u jetri. Heterodimer BMAL1 i CLOCK veže se na E-box u promotoru gena koji kodiraju za CYP2A4/2A5, UGT1A1 i SULT1A1, čime potiče njihovu ekspresiju (Lu i sur., 2020).



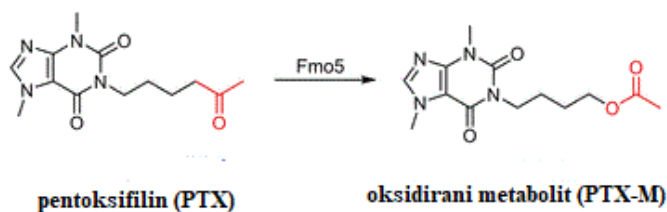
Slika 4. Metabolizam i detoksifikacija kumarina (preuzeto i prilagođeno prema Zhao i sur., 2019)

Kumarin je spoj koji pokazuje hepatotoksična i kancerogena svojstva. Kumarin se detoksificira do 7-hidroksiliranog metabolita djelovanjem CYP2A4/2A5 u stanicama jetre miševa (Slika 4). U studiji iz 2019. godine utvrđena je dnevna ritmičnost u toksičnosti kumarina. Hepatotoksičnost izražena u višim vrijednostima ALT-a (alanin-aminotransferaza) i AST-a (aspartat-aminotransferaza) bila je najizraženija u ZT 2/22. U ZT14 vrijednosti ALT i AST su bile najniže (Slika 5). Za razliku od *Clock*<sup>+/+</sup> miševa, *Clock*<sup>-/-</sup> miševi (miševi s utišanim *Clock* genom) imali su značajno više plazma koncentracije ALT i AST. Povećana hepatotoksičnost kod *Clock*<sup>-/-</sup> miševa uzrokovana je smanjenom ekspresijom CYP2A4/2A5, što kao posljedicu ima nakupljanje toksičnog kumarina. Također, kod *Clock*<sup>-/-</sup> miševa uočen je gubitak dnevne ritmičnosti u koncentraciji ALT i AST (nema značajne razlike u njihovim koncentracijama u ZT2 i ZT14) (Zhao i sur., 2019).



Slika 5. Kumarinska hepatotoksičnost pokazuje dnevnu ritmičnost. Kod *Clock*<sup>+/+</sup> miševa najviše vrijednosti ALT i AST uočene su u ZT 2/22, a najniže u ZT14 (preuzeto i prilagođeno prema Zhao i sur., 2019)

*FMO5* (engl. flavin-containing monooxygenase 5) gen je s cirkadijalnom ritmičnošću ekspresije pod kontrolom BMAL1. BMAL1 regulira ekspresiju *FMO5* direktnim vezanjem na E-box navedenog gena, a posljedično uzrokuje aktivaciju njegove ekspresije. Suprotno djelovanju BMAL1, E4BP4 veže se na D-box *FMO5* gena i uzrokuje inhibiciju njegove transkripcije (Chen i sur., 2019).

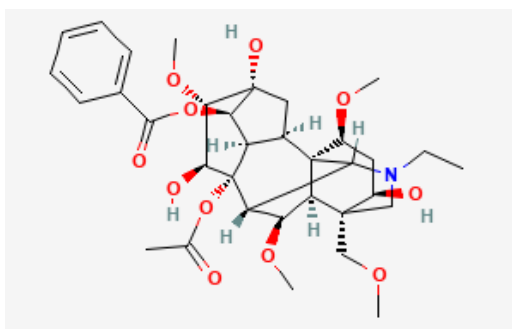


Slika 6. Metabolizam pentoksifilina posredovan enzimom flavin monooksigenazom 5 (preuzeto i prilagođeno prema Chen i sur., 2019)

Jedan od supstrata za FMO5 je pentoksifilin. Pentoksifilin je indiciran u liječenju okluzivne bolesti perifernih arterija uzrokovane aterosklerozom ili dijabetesom. Enzimatskom aktivnošću FMO5 nastaje oksidirani metabolit PTX-M (Slika 6). Studija iz 2019. godine pokazuje da *FMO5* mRNA i enzim imaju svoj dnevni ritam. Vršne vrijednosti u jetri miša utvrđene su u ZT 10/14, a najniže vrijednosti u ZT 2/22. Isto tako, farmakokinetičke studije na miševima pokazale su da se oksidacija PTX u PTX-M događa ekstenzivnije ukoliko se PTX dozira u ZT14 u odnosu na doziranje u ZT2. Ekspresija *FMO5* je smanjena kod miševa s nokautom *BMAL1*. Dodatno, kod takvih miševa je došlo do gubitka u ritmičnosti ekspresije *FMO5* (Chen i sur., 2019).

*BMAL1* je zadužen za cirkadijalno poticanje ekspresije *CYP3A11* kod miševa, odnosno *CYP3A4* kod ljudi. Kod *BMAL1*-deficijentnih miševa došlo je do smanjenog metabolizma testosterona i midazolama (dva poznata supstrata *CYP3A11*) u skladu s promjenama ekspresije *CYP3A11*. Također, utišavanje gena *BMAL1* dovelo je do smanjene ekspresije *CYP3A11/CYP3A4* u različitim staničnim linijama hepatoma i karcinoma debelog crijeva. *BMAL1* u ovom slučaju indirektno utječe na ekspresiju gena koji sudjeluju u metabolizmu ksenobiotika. *BMAL1* djeluje kao aktivator transkripcije *DBP* i *HNF4α* (*BMAL1* potiče ekspresiju *DBP* i *HNF4α*, a oni uzrokuju aktivaciju transkripcije *CYP3A11* gena). Deficijencija *BMAL1* povezana je sa smanjenom ekspresijom *CYP3A11*. Posljedica poremećaja u funkciji *BMAL1* može biti povišena toksičnost ksenobiotika koji se metaboliziraju preko navedenog enzima. To je dokazano u studiji na miševima na primjeru akonitina, hipakonitina i triptolida (Lin i sur., 2019).

Akonitin je diterpenski alkaloid kojeg proizvode svi dijelovi biljke jedić, posebice korijen (Slika 7). Ima kardiotoksične i neurotoksične učinke. CYP3A11/CYP3A4 glavni su enzimi odgovorni za metabolizam akonitina i njegovu detoksifikaciju pri čemu nastaju četiri metabolita. Toksičnost akonitina također pokazuje dnevnu ritmičnost. Naime, toksičnost kod miševa bila je izraženija za vrijeme dana (ZT 2/8) u odnosu na noćne sate (ZT 14/20). U ZT 14/20 uočena je niža koncentracija akonitina zbog povećane cirkadijalne ekspresije i mikrosomalne aktivnosti CYP3A11. Kod *BMALI*<sup>-/-</sup> miševa nije bilo značajne vremenski-ovisne razlike u toksičnosti akonitina. Kod takvih miševa došlo je do gubitka cirkadijalnog obrasca toksičnosti akonitina. Osim toga, kod njih su uočene značajno više vrijednosti kreatinkinaze (CK) koji služi kao marker kardiotoksičnosti. Veća kardiotoksičnost uzrokovana je višim koncentracijama akonitina u plazmi zbog smanjene ekspresije CYP3A11 (Lin i sur., 2019).

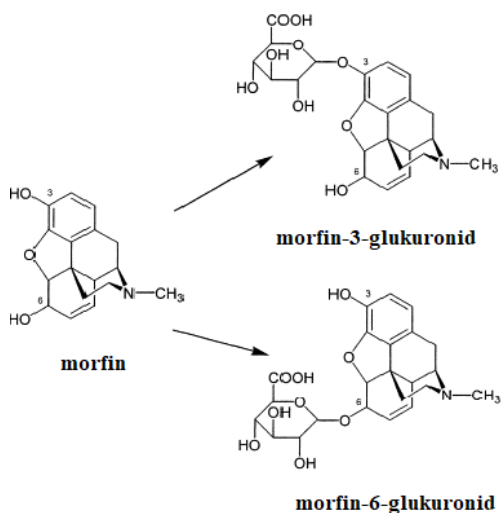


Slika 7. Prikaz kemijske strukture akonitina

(izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aconitine>)

REV-ERB ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) i ROR ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) transkripcijski su faktori koji se natječu za vezanje na specifičnu DNA sekvencu - RORE. Iako se REV-ERB i ROR vežu na istu DNA sekvencu, oni imaju suprotan učinak. REV-ERB uzrokuje inhibiciju, a ROR aktivaciju transkripcije ciljnog gena. Omjeri između količine REV-ERB i ROR ključna su determinanta cirkadijalne ekspresije gena. UGT (uridin-difosfat-glukuronoziltransferaza) enzimi sudjeluju u procesu glukuronidacije brojnih lijekova. Postoji cirkadijalna ritmičnost na razini transkripcije mRNA za šest *UGT2B* gena (*UGT2B1*, *UGT2B5*, *UGT2B35*, *UGT2B36*, *UGT2B37* i *UGT2B38*). REV-ERB je negativni, a ROR pozitivni regulator transkripcije *UGT2B* gena (Zhang i sur., 2019).

Studija iz 2019. godine ispitala je potencijalnu ulogu clock gena *REV-ERB $\alpha$*  u cirkadijalnoj regulaciji UGT2B enzima. Aktivnost enzima ispitivala se pomoću morfina koji je njegov specifični supstrat (Slika 8). Glukuronidacija morfina je proces koji pokazuje cirkadijalnu ritmičnost. Glukuronidacija je bila ekstenzivnija kada se morfin dozirao u ZT2 u odnosu na doziranje u ZT14. Naime, u ZT2 sintetizirana je veća količina UGT2B proteina. Kod miševa s nokautom *REV-ERB $\alpha$*  uočene su značajno više količine *UGT2B* mRNA i proteina. To je dokaz da je *REV-ERB $\alpha$*  jedan od negativnih regulatora ekspresije enzima. Kod takvih miševa smanjen je metabolizam i eliminacija morfina. Osim toga, *REV-ERB $\alpha$* <sup>-/-</sup> miševi pokazuju gubitak dnevne varijabilnosti u metabolizmu morfina (Zhang i sur., 2019).



Slika 8. Prikaz kemijske strukture morfina i metabolizma morfina u odgovarajuće glukuronide (preuzeto i prilagođeno prema Lötsch, 2005)

ROR $\alpha$  i ROR $\gamma$  značajno se eksprimiraju u jetri, masnom tkivu, timusu i mozgu. Postoje brojne studije koje dokazuju da ROR elementi sata reguliraju transkripciju *CYP2C8* kod ljudi. Naime, promotor *CYP2C8* gena sadrži RORE DNA-sekvencu na koju se veže ROR, a nakon njegovog vezanja dolazi do poticanja ekspresije *CYP2C8* u hepatocitima.

Utišavanje endogene ekspresije ROR $\alpha$  i - $\gamma$  u HepG2 stanicama (humanim tumorskim stanicama jetre) dovodi do približno 50 % niže ekspresije *CYP2C8* mRNA. Ovi podaci pokazuju da ROR $\alpha$  i - $\gamma$  pojačavaju transkripciju *CYP2C8* u stanicama jetre. Shodno tome, mogu biti važni modulatori metabolizma lijekova i fiziološki aktivnih endogenih spojeva koji se metaboliziraju preko navedenog enzima (Chen i sur., 2009).



ROR $\alpha$  i - $\gamma$  imaju utjecaj i na ekspresiju nekih drugih enzima koji sudjeluju u metabolizmu ksenobiotika. ROR $\alpha$  i - $\gamma$  povećavaju ekspresiju *SULT2A1* mRNA i proteina (Ou i sur., 2013).

SHP (engl. small heterodimer partner) je atipični nuklearni receptor kojem nedostaje DNA-vezujuća domena. SHP značajno se eksprimira u jetri, a regulira ekspresiju gena interakcijom s drugim molekulama i negativno modulira njihovu transkripcijsku aktivnost (Tablica 2). Ekspresija SHP je ritmična i pod kontrolom je BMAL1 i CLOCK proteina. SHP sudjeluje u cirkadijalnoj regulaciji ekspresije CYP enzima, čime utječe na metabolizam ksenobiotika i toksičnost uzrokovanu lijekovima (Zhang i sur., 2018).

Tablica 2. Prikaz ciljnih molekula na koje djeluje SHP, mehanizam djelovanja SHP i posljedični učinak na ekspresiju CYP enzima (prema Zhang i sur., 2018)

Ciljna molekula	Mehanizam djelovanja	Učinak na ekspresiju CYP enzima
<b>DEC2/HNF1<math>\alpha</math></b>	SHP koči inhibitorno djelovanje <b>DEC2</b> na <b>HNF1<math>\alpha</math></b>	Potaknuta ekspresija CYP1A2, CYP2E1 i CYP3A11
<b>E4BP4</b>	SHP koči inhibitorno djelovanje <b>E4BP4</b> na transkripciju gena	Potaknuta ekspresija CYP2A5, CYP7A1 i CYP3A4
<b>LRH-1/HNF4<math>\alpha</math></b>	SHP inhibira aktivnost <b>LRH-1/HNF4<math>\alpha</math></b> kompleksa	Smanjena ekspresija CYP2C38 i CYP2C39
<b>REV-ERB<math>\alpha</math></b>	SHP koči inhibitorno djelovanje <b>REV-ERB<math>\alpha</math></b> na transkripciju gena	Potaknuta ekspresija CYP2B10, CYP4A10 i CYP4A14

Paracetamol (acetaminofen) se primarno metabolizira i inaktivira reakcijama konjugacije (glukuronidacija i sulfatacija). Međutim, mali dio se katalitičkim djelovanjem enzima CYP2E1 pretvara u toksični metabolit N-acetil-p-benzokinonimin (NAPQI). NAPQI je nestabilan i brzo se detoksicira konjugacijom s glutationom (GSH). Hepatotoksičnost paracetamola pokazuje cirkadijalnu ritmičnost u studijama s miševima. Hepatotoksičnost je bila izraženija u ZT14 u odnosu na ZT2. Smatra se da SHP utječe na 24-satnu ritmičnost u nastanku NAPQI. Naime, kod miševa s nokautom *SHP* izgubio se ritam hepatotoksičnosti, te je uočena niža

hepatotoksičnost, neovisno o vremenu doziranja paracetamola. Naime, dolazi do smanjene ekspresije CYP2E1, te samim time smanjenog nastanka toksičnog NAPQI (Zhang i sur., 2018).

#### **4.1.4. Eliminacija**

Eliminacija označava proces uklanjanja lijeka iz organizma. Postoji velik broj studija koje ispituju cirkadijalnu ritmičnost renalne eliminacije. Moguća je i eliminacija metabolita putem žuči, ali trenutno ne postoji dovoljno studija koje ispituju 24-satnu varijabilnost hepatičke eliminacije. Glomerularna filtracija, tubularna sekrecija i tubularna reapsorpcija pokazuju cirkadijalnu ritmičnost. Većina bubrežnih funkcionalnih ritmova ima sličnu kinetiku, dostižući svoju vršnu vrijednost u sredini aktivne faze i dostižući najnižu vrijednost tijekom neaktivne faze. Ritmičnost brzine glomerularne filtracije (GFR, engl. glomerular filtration rate) neovisna je o sistemskim oscilacijama krvnog tlaka i aktivnosti simpatičkog živčanog sustava. Nadalje, na cirkadijalni ritam izlučivanja kalija urinom ne utječu položaj tijela ili uzorak hranjenja. Ove studije sugeriraju postojanje samoodrživog molekularnog mehanizma koji je uključen u cirkadijalnu kontrolu bubrežnih funkcija (Firsov i Bonny, 2018).

Cirkadijalna varijabilnost bubrežnog klirensa lijekova koji se primarno izlučuju putem bubrega, a pokazuju nizak postotak vezanja na proteine plazme povezana je s dnevnom fluktuacijom GFR. Primjer lijeka čiji klirens ovisi o 24-satnom uzorku GFR je aminoglikozidni antibiotik amikacin. Amikacin je pokazao veći klirens kada se ista doza pacijentima primijenila intravenski u jutarnjim satima (8:00) u odnosu na večernje sate (20:00) (Bleyzac i sur., 2000). Nefrotoksičnost gentamicina slabije je izražena ako se on dozira za vrijeme aktivne faze jer je tada veći očekivani klirens lijeka (Blunston i sur., 2015).

Cirkadijalna nefrotoksičnost može biti povezana s 24-satnom varijabilnosti u ekspresiji određenih tubularnih transportera koji su uključeni u proces renalne eliminacije. Primjer takvog transportera je organski kationski transporter 2 (OCT2) koji se nalazi na bazolateralnoj membrani epitelnih stanica proksimalnog tubula. On uzrokuje transport lijeka iz krvotoka i njegovo nakupljanje u stanicama bubrega. U studiji s miševima uočena je manja nefrotoksičnost cisplatine u aktivnoj fazi (ZT18). Slabija nefrotoksičnost cisplatine za vrijeme aktivne faze

objašnjena je smanjenim unosom cisplatine u stanice proksimalnog tubula zbog smanjene ekspresije OCT2 u tom razdoblju. Veća nefrotoksičnost se očekuje u fazi neaktivnosti jer je tada veća cirkadijalna ekspresija OCT2 i samim time veće nakupljanje cisplatine u stanicama bubrega (Oda i sur., 2014).

Furosemid je diuretik koji se izlučuje pomoću organskog anionskog transportera 3 (OAT3) koji se nalazi na bazolateralnoj membrani proksimalnih stanica tubula. Niži stupanj ekspresije OAT3 povezan je sa smanjenim izlučivanjem furosemida putem urina, te posljedično s njegovim smanjenim učinkom. Naime, izlučivanje furosemida u lumen tubula ključno je za njegovo djelovanje na  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$  ionski transporter u uzlaznom kraku Henleove petlje. U studiji sa miševima uočena je cirkadijalna ritmičnost u ekspresiji navedenog transportera. Ekspresija OAT3 je pod regulacijom BMAL1. Miševi s utišanim genom *BMAL1* imali su smanjenu ritmičnost u ekspresiji *OAT3* i nižu ekspresiju *OAT3* mRNA. Kod takvih miševa posljedično je uočen slabiji natriuretski učinak furosemida (Nikolaeva i sur., 2016).

Tubularna reapsorpcija također pokazuje cirkadijalnu ritmičnost. Brojni lijekovi se iz tubula bubrega reapsorbiraju aktivnim transportom ili jednostavnom pasivnom difuzijom. Do sada nema dokumentiranih dokaza o cirkadijalnim varijacijama u aktivnoj reapsorpciji. Pasivna reapsorpcija lijeka ovisi o njegovoj lipofilnosti i pKa, o pH i brzini protoka urina. Urinarni pH i urinarni protok pokazuju dnevne ritmove, pri čemu je pH urina kiseliji tijekom neaktivnog razdoblja, a urinarni protok dostiže vrhunac tijekom aktivnog razdoblja (Levi i Schibler, 2007).

## 4.2. Veza između poremećaja cirkadijalnog ritma i nastanka bolesti

### 4.2.1 Cirkadijalni ritam i hipertenzija

Kardiovaskularne bolesti glavni su uzrok smrtnosti u razvijenim zemljama svijeta, dok je u manje razvijenim dijelovima svijeta smrtnost u porastu i prestiže stope smrtnosti infektivnih bolesti (Namara i Alzubaidi, 2019). Upravo iz tog razloga razmatraju se nove terapijske opcije i promjena postojećih terapijskih pristupa kako bi se povećala uspješnost liječenja kardiovaskularnih bolesti. Od kasnih 1980-ih poznato je da se gotovo svi kardiovaskularni događaji javljaju ovisno o cirkadijalnom ritmu, s većom učestalošću ujutro nakon buđenja. Pokazalo se da je incidencija infarkta miokarda veća u razdoblju između 3 sata i 6 sati ujutro, a vrhunac incidencije se procjenjuje između 7 i 12 sati. Smatra se da postoji povećan rizik od kardiovaskularnih incidenција upravo iz razloga što je u jutarnjim satima povećan stupanj agregacije trombocita, povišena koncentracija kortizola, kateholamina i angiotenzina II. Isto tako, u jutarnjim satima je povećana potreba miokarda za kisikom (White i LaRocca, 2002). Među kardiovaskularnim bolesnicima, udio onih s loše kontroliranom hipertenzijom je vrlo visok i predstavlja veliki problem u zdravstvu. Kronoterapijski pristup, koji uzima u obzir dnevne ritmove u fiziološkim funkcijama i patološkim stanjima, može značajno promijeniti ishode liječenja hipertenzivnih pacijenata čija bolest nije dovoljno dobro regulirana klasičnom farmakoterapijom.

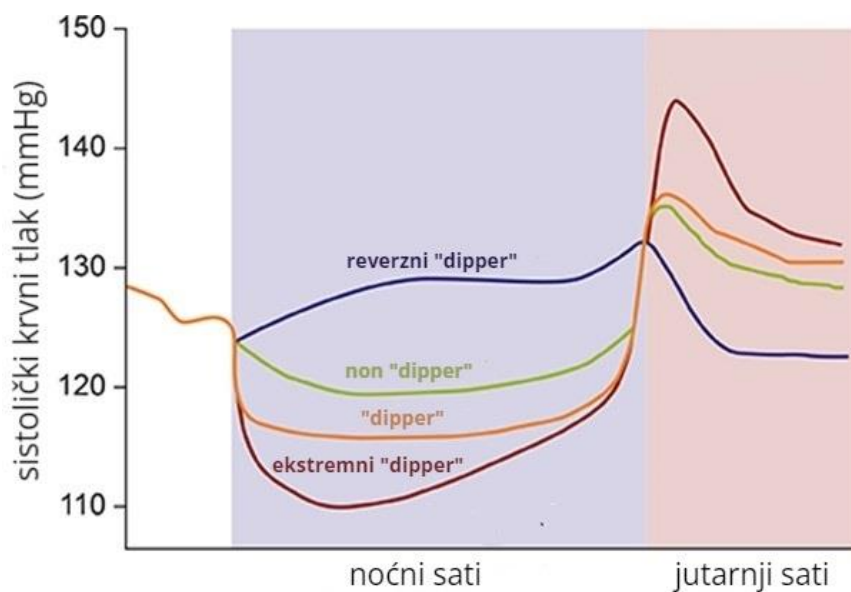
Uredna cirkadijalna ritmičnost osigurava kardioprotektivni učinak, a kod zdravih osoba uočeno je da postoji ritmičnost u vidu značajnog noćnog pada tlaka (tzv. „dipping“). Ritmičnost u vrijednostima krvnog tlaka uglavnom je posljedica dominacije simpatikusa s visokim razinama cirkulirajućih kateholamina u prvim satima nakon buđenja. Cirkadijalnost sustava renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS) također igra važnu ulogu u dnevnoj varijabilnosti krvnog tlaka. Naime, vršnu koncentraciju renin, angiotenzin-konvertirajući enzim (ACE), angiotenzin I i II i aldosteron u plazmi dosežu ujutro prije buđenja. Suprotno tome, relativno niži krvni tlak tijekom spavanja rezultat je dominacije parasimpatičkog djelovanja nad simpatičkim živčanim sustavom. Osim toga, u noćnim satima manje je aktivan RAAS, a postižu se i maksimalne

razine vazodilatatora – atrijskog natriuretskog peptida (ANP) i dušikovog oksida (Potucek i Klimas, 2019).

Kod osoba s poremećenim cirkadijalnim ritmom uočeni su brojni patomehanizmi koji uzrokuju manji noćni pad tlaka od očekivanog. Osobe kod kojih je došlo do poremećaja cirkadijalnog sata imaju promijenjenu autonomnu živčanu aktivnost. Cirkadijalna disregulacija može potaknuti jačanje simpatičnog odgovora i smanjiti kardioprotektivni parasimpatički odgovor koji je ključan u snižavanju krvnog tlaka u noćnim satima. Rezultat disregulacije cirkadijalnih mehanizama je ubrzan rad srca, pojačana kontraktilnost miokarda, vazokonstrikcija i povećan periferni vaskularni otpor. Ove patofiziološke promjene uzrokuju neadekvatan pad krvnog tlaka tijekom noći koji se inače očekuje kod zdravih pojedinaca (Huang i sur., 2011).

Ovisno o 24-satnom profilu krvnog tlaka, osobe s hipertenzijom mogu se klasificirati u 4 skupine (slika 9):

- 1) pacijenti s normalno-padajućim noćnim krvnim tlakom tzv. „**dipper**“ (*prosječne noćne vrijednosti tlaka su 10–20 % niže od prosječnih dnevnih vrijednosti*)
- 2) pacijenti s noćnim padom tlaka pada  $>20$  % tzv. „**ekstremni dipper**“ (*prosječne noćne vrijednosti tlaka su  $>20$  % niže od prosječnih dnevnih vrijednosti*)
- 3) pacijenti s porastom noćnog krvnog tlaka tzv. „**reverzni dipper**“ (*prosječne noćne vrijednosti tlaka su više u odnosu na prosječne dnevne vrijednosti*)
- 4) pacijenti s noćnim padom tlaka  $<10$  % tzv. „**non dipper**“ (*prosječne noćne vrijednosti tlaka su  $<10$  % niže od prosječnih dnevnih vrijednosti*)



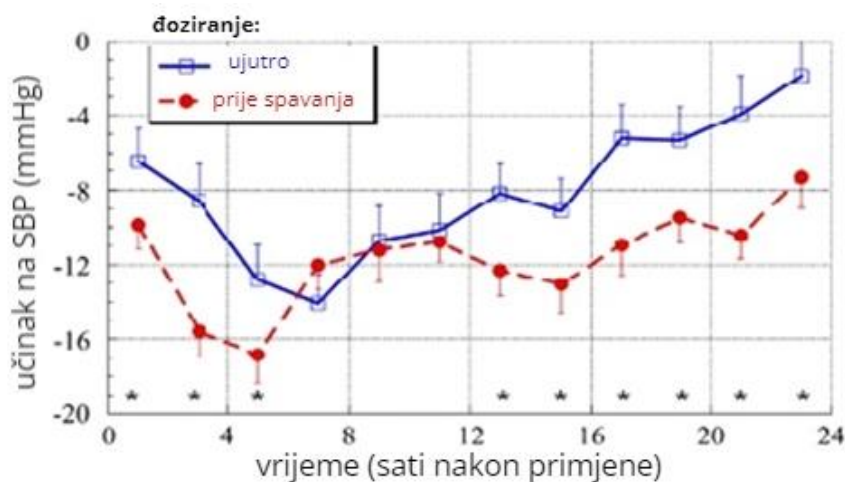
Slika 9. Prikaz četiri različita „dipping“ profila kod osoba koje boluju od hipertenzije (preuzeto i prilagođeno prema Kairo, 2018)

„Non-dipping“ status povezuje se s pretilošću, visokim unosom soli, ortostatskom hipotenzijom, disfunkcijom autonomnog živčanog sustava, kroničnom bubrežnom bolesti, dijabetičkom neuropatijom, starijom životnom dobi i poremećajima spavanja. Posljednjih nekoliko godina, prepoznato je da je vrijednost noćnog krvnog tlaka puno bolji pokazatelj rizika za različite KV ishode (npr. infarkt miokarda i smrt). Isto tako, kod loše reguliranog noćnog krvnog tlaka dolazi do značajnijeg oštećenja organa u odnosu na oštećenja organa uzrokovanih loše reguliranim dnevnim krvnim tlakom (Cappuccio, 2020).

Cilj kronoterapije je postići maksimalnu koncentraciju lijeka u skladu s intrinzičnim cirkadijalnim ritmom simptoma bolesti, čime se povećava učinkovitosti i sigurnost liječenja. Klasična antihipertenzivna terapija najčešće uključuje jutarnje doziranje lijekova kako bi se prevenirao dnevni porast tlaka. Kronoterapijski pristup uključuje promjenu režima doziranja na način da se jedan ili više antihipertenzivnih lijekova pomaknu na večernje doziranje kako bi se bolje kontrolirao noćni krvni tlak i uspostavio optimalan „dipping“ uzorak krvnog tlaka (Potucek i Klimas, 2019).

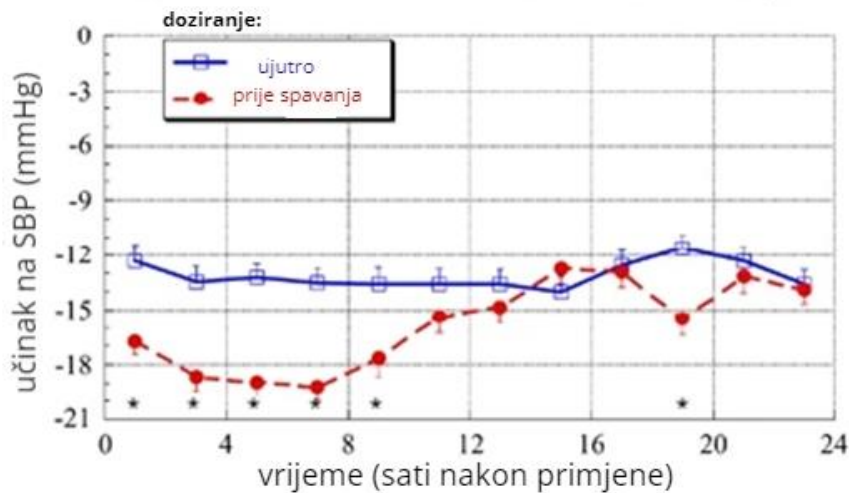
Večernje doziranje ACE-inhibitora (enalapril, ramipril, perindopril itd.) u odnosu na jutarnje doziranje pokazalo se učinkovitijim u kontroli arterijske hipertenzije. Uočeno je da večernja primjena ovih lijekova uzrokuje bolju normalizaciju 24-satnog „dipping“ statusa (Hermida i sur., 2013).

Jutarnje ili večernje vrijeme doziranja ramiprila ne pokazuje značajnu razliku u učinku na dnevne vrijednosti mjerenja krvnog tlaka (OBPM, engl. office blood pressure measurements) i na vrijednosti sistoličkog i dijastoličkog tlaka u budnom stanju. Večernje doziranje ramiprila u usporedbi s jutarnjim režimom doziranja uzrokuje značajno smanjenje srednjih vrijednosti sistoličkog/dijastoličkog tlaka u razdoblju spavanja ( $-13,5/-11,5$  u odnosu na  $-4,5/-4,1$  mmHg). Ramipril postiže brži vršni učinak kada se primijeni prije spavanja nego ujutro, što dovodi do znatno veće terapijske učinkovitosti tijekom prvih 6 sati nakon uzimanja (Slika 12). Antihipertenzivni učinak ramiprila je kraći kada se dozira nakon buđenja, a dulji ako se dozira navečer (Hermida i Ayala, 2009).



Slika 10. Prikaz učinkovitosti ramiprila u sniženju sistoličkog krvnog tlaka (SBP) unutar 24 sata od per os primjene. Plava linija prikazuje antihipertenzivni učinak ramiprila ako se primijeni ujutro, a crvena linija pokazuje antihipertenzivni učinak ramiprila ako se primijeni prije spavanja (preuzeto i prilagođeno prema Hermida i Ayala 2009)

Antagonisti angiotenzinskih II receptora pokazuju slične rezultate. Valsartan pokazuje zadovoljavajući 24-satni antihipertenzivni učinak, neovisno o tome primjenjuje li se ujutro ili navečer, ali doziranje valsartana prije spavanja rezultiralo je učinkovitijim padom noćnog tlaka (samim time boljim „dipping“ profilom) i učinkovitijim smanjenjem mikroalbuminurije u odnosu na jutarnje doziranje (Slika 11). Može se reći da večernje doziranje valsartana uzrokuje učinkovitiji noćni pad tlaka kada se očekuje značajnije oštećenje bubrega, pa je samim time izraženiji njegov nefroprotektivni učinak. Značajno sniženje sistoličkog tlaka tijekom cijelog 24-satnog intervala postiže se neovisno o vremenu primjene valsartana, no očekuje se značajnije smanjenje sistoličkog tlaka unutar prvih 10 sati ako se valsartan uzima prije spavanja (Hermida i sur., 2005).



Slika 11. Prikaz učinkovitosti valsartana u sniženju sistoličkog krvnog tlaka (SBP) unutar 24 sata od per os primjene. Plava linija prikazuje antihipertenzivni učinak valsartana ako se primijeni ujutro, a crvena linija pokazuje antihipertenzivni učinak valsartana ako se primijeni prije spavanja (preuzeto i prilagođeno prema Hermida i sur., 2016)

24-satna antihipertenzivna učinkovitost prilikom večernjeg doziranja olmesartana je usporediva s jutarnjim doziranjem, s time da večernja primjena olmesartana uzrokuje bolji „dipping“ profil noćnog krvnog tlaka. Kao i kod valsartana, olmesartan je također pokazao bolji nefroprotektivni učinak u vidu smanjenja mikroalbuminurije prilikom večernje primjene (Hermida i sur., 2009).



Pokazalo se da blokator kalcijevih kanala, amlodipin, ima kraće vrijeme za postizanje maksimalne koncentracije u plazmi (T<sub>max</sub>), veću srednju vršnu koncentraciju u plazmi (C<sub>max</sub>) i dulje vrijeme poluživota nakon večernjeg oralnog doziranja u usporedbi s jutarnjim doziranjem kod normotenzivnih i hipertenzivnih osoba. Ovaj farmakokinetički profil korelirao je sa značajnim smanjenjem sistoličkog krvnog tlaka u hipertenzivnih pacijenata nakon večernjeg doziranja (Khodadoustan i sur., 2017). Meta-analiza 19 različitih studija pokazala je da večernje doziranje amlodipina značajno smanjuje vrijednost noćnog krvnog tlaka, poboljšava „dipping“ profil i osigurava bolji antihipertenzivni učinak. Za pacijente s hipertenzijom, osobito za „non-dipper“ pacijente, primjena amlodipina navečer pokazala je veće koristi od jutarnje primjene (Luo i sur., 2019).

Ostali dihidropirimidinski blokatori kalcijevih kanala također su pokazali bolji sigurnosni profil prilikom večernje primjene u odnosu na onu jutarnju. Naime, u slučaju nifedipina primijećena je smanjena incidencija perifernih edema s 13% na 1% ukoliko se nifedipin primjenjuje prije spavanja (Hermida i sur., 2008).

Drugi antihipertenzivni lijekovi, uključujući  $\alpha$ -blokator doksazosin (Hermida i sur., 2004),  $\beta$ -blokator nebivolol (Hermida i sur., 2005) i diuretik Henleove petlje torasemid (Hermida i sur., 2008) također pokazuju značajnu razliku u učinkovitosti smanjenja tlaka ovisno o vremenu administracije. Svi ovi lijekovi pokazuju učinkovitije smanjenje noćnog tlaka i dulji antihipertenzivni učinak ukoliko se primjenjuju u večernjim satima.

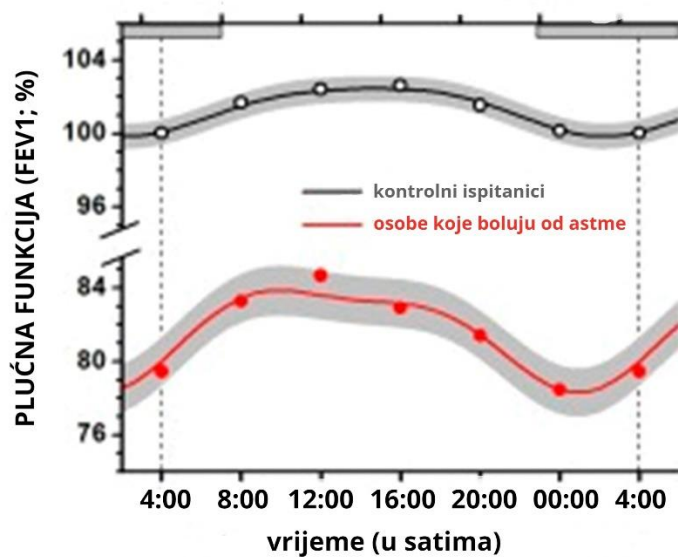
#### **4.2.2 Cirkadijalni ritam i astma**

Astma je recidivirajuća, opstruktivna, upalna bolest dišnih putova te predstavlja jednu od najčešćih kroničnih bolesti, osobito u dječjoj dobi. Karakteriziraju je kronična upala sluznice dišnih putova, hiperreaktivnost glatkih mišića bronha te pojačana sekrecija sluzi (Lommatzsch i Virchow, 2014). Iako je incidencija i prevalencija astme viša kod djece, morbiditet i mortalitet je znatno viši kod odraslih osoba koje boluju od astme (Tupper i Ulrik, 2021). Astma predstavlja veliki javnozdravstveni problem, kao uzrok onesposobljenosti, medicinskih troškova i preventabilnih smrti. Krajnji cilj u liječenju astme je osigurati optimalnu farmakoterapiju koja

će biti učinkovita i sigurna, održati normalan stupanj fizičke aktivnosti i plućne funkcije, spriječiti intenzitet i frekvenciju egzacerbacija astme, potrebu za hospitalizacijom uslijed egzacerbacije te u konačnici smanjiti stupanj mortaliteta vezan uz komplikacije astme. Uočeno je da se u ranim jutarnjim satima smanjuje plućna funkcija, a time dolazi i do pogoršanja simptoma astme. Time se naglašava važnost kronoterapije u liječenju pacijenata koji boluju od astme. Brojne studije su potvrdile korist kronoterapije u liječenju astme, posebice kod pacijenata s noćnim simptomima astme.

I kod zdravih pojedinaca plućna funkcija pokazuje cirkadijalnu ritmičnost s vrhuncem funkcionalnosti u popodnevnim satima (oko 16:00), a s minimumom funkcionalnosti u ranim jutarnjim satima (oko 4:00). Ranojutarnji pad u plućnoj funkcionalnosti podudara se s pojavnošću egzacerbacija astme (Durrington i sur., 2021).

Istraživanje koje su proveli Lewinsohn i suradnici prije više od 60 godina uspoređivalo je poboljšanje u forsiranom ekspiratornom volumenu u 1 sekundi (FEV1) kod zdravih pojedinaca i pojedinaca koji boluju od astme. Kod zdravih pojedinaca došlo je do poboljšanja vrijednosti FEV1 za 2,9 % između 06:00 i 08:00 sati, dok je kod astmatičara poboljšanje bilo znatnije i iznosilo je čak i do 60 % (Lewinsohn i sur. 1960). FEV vrijednost počinje padati u poslijepodnevnim satima (Slika 12). Otkriveno je da vrijednosti PEFR (vršni ekspiratorni protok zraka) kod zdravih pojedinaca i astmatičara pokazuju istu ritmičnost i fazu, s time da astmatičari imaju puno veće amplitude vrha i dola krivulje koja predstavlja vrijednost PEFR (Hetzl i Clark, 1980).



Slika 12. Očekivane srednje razlike u plućnoj funkciji (FEV1; %) između pacijenata koji boluju od astme i kontrolnih ispitanika. Pogoršanje plućne funkcije nastupa u poslijepodnevним satima, a najlošija respiratorna funkcija i kod kontrolnih ispitanika i astmatičara očekuje se u ranim jutarnjim satima (preuzeto i prilagođeno prema Scheer i sur. 2021)

Postoji značajan utjecaj okolišnih čimbenika na funkciju molekularnog sata u plućima. Različiti faktori stresa iz okoliša, uključujući dim cigarete (oksidativni stres), virusne i bakterijske infekcije i kronična cirkadijalna neusklađenost (kronični „jet lag“) mijenjaju funkcije molekularnog sata u plućima. Cirkadijalni poremećaj endogenog mjerenja vremena može utjecati na poremećaj ritmičke ekspresije gena sata u plućima, što može dovesti do kroničnih plućnih bolesti (Sundar i sur., 2015).

Plućni upalni odgovori snažno su regulirani cirkadijalnim ritmom, a posebnu regulacijsku ulogu ima REV-ERB $\alpha$ . Bronhijalna hiperreaktivnost (AHR, engl. airway hyper-responsiveness) određena je dobom dana, a učinak je reguliran putem REV-ERB $\alpha$ . Bronhijalna hiperreaktivnost je svojstvo dišnih putova da pojačano reagiraju na minimalne količine nespecifičnog podražaja, koji u zdravih ispitanika ne izaziva suženje dišnih putova. Izlaganje alergenu u ZT11 (neposredno prije gašenja svjetla / početak aktivne faze kod miševa; ekvivalentno ranom jutarnjem vremenu kod ljudi) uzrokuje puno veći AHR u usporedbi s izlaganjem alergenu u ZT23 (neposredno prije paljenja svjetla / početak faze odmora kod miševa; ekvivalentno

kasnom poslijepodnevu, ranoj večeri kod ljudi). Postoji značajno povećanje AHR-a nakon izlaganja alergenu kod *REV-ERB $\alpha$* <sup>-/-</sup> miševa u usporedbi s kontrolom, ali nema cirkadijalne ritmičnosti u hiperreaktivnom odgovoru ovisno o vremenu izlaganja alergenu. Drugim riječima, može se reći da gubitak REV-ERB $\alpha$  uzrokuje vremenski neovisan pretjerani AHR odgovor. REV-ERB $\alpha$  se nedavno pokazao jednim od glavnih čimbenika regulacije imunskog odgovora pluća, posredujući u cirkadijalnim promjenama plućne funkcije (Durrington i sur., 2020).

Naime, REV-ERB $\alpha$  modulira upalnu funkciju makrofaga izravnom regulacijom ekspresije Ccl2. Ccl2 je kemokin koji uzrokuje povećanu adhezivnost i migraciju upalnih stanica (monocita i bazofila). REV-ERB $\alpha$  se veže na posebno mjesto u promotorskoj regiji za Ccl2 i na taj način suprimira njegovu ekspresiju (Sato i sur., 2014).

Ekspresija muskarinskih receptora M1 i M3 također pokazuje cirkadijalnu ritmičnost. M1 receptor važan je za regulaciju plućnog mišićnog tonusa u bazalnim uvjetima. Gen koji kodira za M1 receptor je *CHRM1*, a sadrži vezna mjesta za proteine sata CLOCK:BMAL1 i ROR $\beta$  koji djeluju kao pozitivni regulatori transkripcije. U ZT11 dolazi do povećane ekspresije M1 receptora. Ekspresija *CHRM3* koji kodira za M3 receptor, oscilira u zdravim plućima miša s maksimalnom ekspresijom u 18 sati (ZT11) i najnižom ekspresijom u 6 sati ujutro (ZT23). Razlike u ekspresiji M3 receptora bile su vidljive samo nakon stimulacije alergenom i nisu uočene u bazalnim uvjetima. Još uvijek ne postoje dokazi o veznim mjestima u *CHRM3* za komponente sata, pa se pretpostavlja da bi transkripcija *CHRM3* mogla biti pod neizravnom kontrolom sata. Važno je napomenuti da je kod *REV-ERB $\alpha$* <sup>-/-</sup> miševa došlo do gubitka cirkadijalnosti odnosno vremenski ovisne ekspresije M3 receptora (Durrington i sur., 2020).

Razmatra se da postoji korelacija između ritmičnosti koncentracije kortizola u plazmi i ritmičnosti u plućnoj funkcionalnosti. Snižene noćne serumske vrijednosti kortizola smatraju se mogućim uzročnikom noćnih bronhoopstrukcija (Landstra i sur., 2002). Jedna od teorija govori kako uzrok ranojutarnjem pogoršanju plućne funkcije može biti i cirkadijalna ritmičnost ekspresije gena za upalne molekule. Ekspresija gena za kemokinski ligand Cxcl12 pokazuje cirkadijalnu ritmičnost u plućnom tkivu i također može biti jedan od uzroka učestalijih noćnih i ranojutarnjih egzacerbacija (Sukumaran i sur., 2011).

Postoje dokazi koji upućuju da kod opstruktivnih plućnih bolesti dolazi do poremećaja cirkadijalne ritmičnosti u plućnom tkivu. Iako i dalje nije do kraja otkriven stupanj značajnosti ovih otkrića, ova nova saznanja bi mogla biti vrlo korisna kako bi se odredio optimalni režim doziranja antiastmatika. Optimizacija vremena u kojem se ovi lijekovi primjenjuju moglo bi biti značajna strategija u smanjenju noćnih simptoma astme.

Simpatomimetici, kao što su salbutamol, terbutalin, salmeterol i formoterol, uzrokuju bronhodilataciju odnosno opuštanje glatkih mišića u dišnim putovima. Ovi lijekovi dostupni su na tržištu u različitim oblicima doziranja. Mogu se primjenjivati oralno, parenteralno ili inhalacijski. U redovitoj terapiji bronhijalne astme najčešće se koristi kombinacija ICS+LABA (inhalacijski kortikosteroid + dugodjelujući beta-2-agonist).

Farmakokinetika i farmakodinamika simpatomimetičkih lijekova (kratkodjelujućih beta-2-agonista / SABA ili dugodjelujućih beta-2-agonista / LABA) koji se koriste u liječenju astme mogu varirati ovisno o cirkadijalnim ritmovima, a to zahtijeva detaljna kronofarmakološka istraživanja kako bi se optimizirala njihova primjena. Noćnu astmu, stanje koje prevladava u dvije trećine astmatičara, karakterizira povećana osjetljivost dišnih putova i pogoršanje plućnih funkcija između ponoći i 8 h ujutro, s vrhuncem pogoršanja oko 4 h ujutro. Bilo bi optimalno izraditi formulacije ili načiniti režim doziranja u kojem bi vršna koncentracija  $\beta$ 2-agonista djelovala u tom vremenskom okviru, odnosno u vremenu kada se očekuje najveći rizik od egzacerbacije bolesti. Da bi lijek djelovao u točno određeno vrijeme potrebno je izraditi sustav za isporuku koji može otpuštati lijekove na pulsirajući način. Pulsirajuće otpuštanje lijeka uključuje odgođeno otpuštanje s programiranim vremenskim periodom isporuke (Paudel i sur., 2021).

Quereshi i suradnici razvili su pulsirajući sustav salbutamola koji se sastoji od lijeka koji se nalazi u jezgri, unutarnjeg sloja koji bubri i vanjskog sloja koji je vodopropusan. Ovakav sustav je dizajniran na način da zastojno vrijeme (engl. lag time) iznosi 6 sati. Ako bi se ovaj lijek uzeo prije spavanja (oko 22 h), očekivano vrijeme otpuštanja salbutamola bi bilo nakon razdoblja od 6 sati, odnosno oko 4:00 kada su simptomi astme najizraženiji (Quereshi i sur., 2008). Bambuterol je prolijek terbutalina koji ispoljava 24-satni bronhodilatatorski učinak. U kronoterapijskom ispitivanju bambuterola istraživala se učinkovitost jutarnjeg doziranja u odnosu na večernje doziranje. Večernje doziranje rezultiralo je znatno višim jutarnjim

vrijednostima FEV1 i PEFr. Većernje doziranje je bilo učinkovitije u olakšavanju noćnih simptoma astme (Durrington i sur., 2014).

Više studija proučavale su i kronoterapiju inhalacijskih kortikosteroida (ICS). U jednoj studiji, Pincus i suradnici utvrdili su da je 800 µg inhaliranog triamcinolona primijenjenog jednom dnevno u 15:00 dovelo do boljeg odgovora u usporedbi s 200 µg konvencionalne terapije primijenjene četiri puta dnevno. Nakon razdoblja liječenja od četiri tjedna, vrijednost FEV1 porasla je sa 74 % na 77 % nakon doziranja triamcinolona jednom dnevno u usporedbi s njegovim konvencionalnim oblikom, koji je primjenjivan četiri puta dnevno. Rezultati su pokazali da triamcinolon primijenjen u 15:00 sati nije uzrokovao štetne sistemske učinke, a uz očuvanu sigurnost pokazao je i iznimnu učinkovitost u otklanjanju noćnih simptoma astme (Pincus i sur., 1995). U drugoj studiji utvrđeno je da su konvencionalno doziranje četiri puta na dan i doziranje jedanput na dan u 17:30 imali podjednako povoljan utjecaj na jutarnje i večernje vrijednosti PEF-a. Za razliku od toga, doziranje triamcinolona jedanput na dan u 08:00 pokazalo je lošiju dnevnu i noćnu kontrolu PEF-a (Pincus i sur., 1997).

Primjena 200 µg inhaliranog ciklezonida jednom dnevno navečer uzrokovala je značajnije poboljšanje jutarnjeg PEF-a u odnosu na jutarnje doziranje. Jutarnja i večernja primjena pokazala se jednako učinkovitom u poboljšanju večernjeg PEF-a i općih simptoma. Nije bilo značajne razlike u broju egzacerbacija astme ovisno o vremenu primjene ciklezonida (Postma i sur., 2001).

Teofilin je lijek koji ostvaruje brojne farmakološke učinke u olakšanju simptoma astme. Djeluje spazmolitički na način da opušta glatke mišiće bronha, protuupalno (smanjuje kasne reakcije, koči proliferaciju limfocita T, smanjuje izlučivanje citokina, inhibira djelovanje eozinofila, makrofaga, mastocita), a ima i ekstrapulmonalne učinke (poticanje centra za disanje, jačanje kontraktilnosti dišnih mišića) (Weinberger, 1984). Budući da plućna funkcija opada u noćnim i ranojutarnjim satima, najbolji učinak na simptome astme imat će doziranje teofilina na način da se vršna koncentracija teofilina postigne upravo u tom vremenskom okviru. Uočene su značajne koristi u poboljšanju spirometrijskih vrijednosti kada se teofilin dozirao jedanput na dan, u večernjim satima (Welsh i sur., 1986). Provedena je studija usporedbe kronoterapijskog

doziranja teofilina jedanput na dan, u večernjim satima, s doziranjem dva puta na dan kod pacijenata s astmom koji imaju značajan noćni pad PEF-a. Većernje doziranje je bilo učinkovitije, budući da je koncentracija teofilina bila viša u razdoblju kada su noćni simptomi astme najizraženiji. Konvencionalna terapija dva puta na dan je pokazala stabilniju koncentraciju teofilina kroz 24 sata, a terapija jedanput na dan (20:00) rezultirala je višom vrijednosti PEF i FEV1 u razdoblju između 02:00 i 06:00 u odnosu na konvencionalnu terapiju (D'Alonzo i sur., 1990).

Iako postoje različite studije koje potvrđuju koristi kronoterapije u smanjenju noćnih simptoma astme, potrebna je daljnja evaluacija kliničke značajnosti kronoterapije u odnosu na konvencionalnu farmakoterapiju. Isto tako, potrebno je individualizirati kronoterapiju za svakog pacijenta ovisno o vremenu u kojem nastupa pogoršanje simptoma astme.

#### **4.2.3. Cirkadijalni ritam i šećerna bolest**

Šećerna bolest (diabetes mellitus) najčešći je metabolički poremećaj u populaciji srednje i starije životne dobi. Prema podacima CroDiab Registra osoba sa šećernom bolešću, u Hrvatskoj je u 2021. bilo 327 785 osoba s dijagnozom šećerne bolesti, a broj oboljelih povećava se iz godine u godinu (Poljičanin i Buble, 2021). Ranija istraživanja pokazuju da u Hrvatskoj tek 60 % osoba koje boluju od šećerne bolesti ima postavljenu dijagnozu. Zbog toga se procjenjuje da stvarni broj oboljelih osoba doseže čak i do 500 000. Iako šećerna bolest tip 1 (ŠBT1) i šećerna bolest tip 2 (ŠBT2) imaju drukčiju patofiziologiju, kod oba tipa dolazi do poremećaja metabolizma glukoze. Dugotrajno loše regulirana bolest praćena je razvojem brojnih komplikacija – mikrovaskularnih (progresivna dijabetička retinopatija i makularni edem koji mogu rezultirati sljepoćom, dijabetička nefropatija koja može rezultirati zatajenjem bubrega, dijabetička neuropatija u kojoj dolazi do difuznog oštećenja različitih živaca što uzrokuje brojne senzorne i motoričke simptome) i makrovaskularnih komplikacija (periferna vaskularna bolest koja može rezultirati nastankom dijabetičkog stopala, bolest koronarnih arterija i povećan rizik od infarkta miokarda, cerebrovaskularna bolest i povećan rizik od moždanog udara) (Cole i Florez, 2020).

Poremećaj cirkadijalnog ritma manje je poznat rizični čimbenik uključen u razvoj ŠBT1 i ŠBT2. Primijećeno je da je poremećaj ritma spavanja vrlo često prisutan kod osoba koje boluju od ŠB. Poremećaj cirkadijalnosti povezan je s povećanim rizikom razvoja ŠB, ali i sa suboptimalnim parametrima bolesti (smanjena kvaliteta života, više vrijednosti HbA1c). Brojna istraživanja sugeriraju na važnost regulacije te optimizacije cirkadijalnog ritma i kvalitete sna u cilju poboljšanja simptoma ŠBT1 i ŠBT2. Utjecaj kvalitete sna na daljnji razvoj dijabetesa, kao i same bolesti na kvalitetu sna je kompleksan. ŠB može uzrokovati smanjenu kvalitetu sna (npr. buđenjem zbog noćne hipoglikemije i nokturije), a smanjena kvaliteta sna različitim molekularnim mehanizmima uzrokuje daljnje pogoršanje već postojećeg stanja. Važno je istražiti značajnost poremećaja cirkadijalne ritmičnosti u progresiji bolesti kako bi zdravstveni djelatnici i oboljeli imali širi uvid u optimalnu regulaciju bolesti (Rutters i Nefs, 2022).

U posljednjem desetljeću pronađeno je mnogo dokaza koji pokazuju korelaciju između skraćenog vremena spavanja (<6 h sna) i razvoja ŠBT2. Meta-analiza velikog broja studija utvrdila je da skraćenje vremena spavanja može uzrokovati smanjenu osjetljivost na inzulin (Sondrup i sur., 2022). Poremećaji spavanja (skraćeno ili produljeno vrijeme spavanja, insomnija i opstruktivna apneja u snu) povezani su s povećanim rizikom za razvoj ŠB, s utjecajem koji je podjednak klasičnim rizičnim čimbenicima za ŠB (pretilost, fizička neaktivnost, anamneza bolesti u obitelji) (Anothaisintawee i sur., 2016). Osim duljine spavanja, učinak na razvoj bolesti ima i varijabilnost uzorka spavanja (promjena uobičajenog vremena usnivanja i uobičajenog vremena buđenja). Zuraikat i suradnici u svojoj su studiji pokazali da je veća standardna devijacija u vremenu usnivanja povezana s povećanim rizikom metaboličkog sindroma i višim vrijednostima HbA1c. S druge strane, regularniji uzorak spavanja povezan je sa smanjenim rizikom razvoja ŠBT2, metaboličkog sindroma i pretilosti (Zuraikat i sur., 2020).

Pokazalo se da mnoga djeca u dobi mlađoj od 5 godina koja boluju od ŠBT1 ne postižu preporučeno vrijeme spavanja od 10 do 13 sati dnevno. Također, studije s djecom oboljelom od ŠBT1 u dobi između 5 i 12 godina, pokazale su da je prosječno ukupno vrijeme spavanja skraćeno u odnosu na zdravu djecu. Optimizacija vremena spavanja kod pacijenata sa ŠBT1 rezultirala je poboljšanjem HbA1c vrijednosti (Perfect, 2020). Studija iz 2017. godine u kojoj je bilo uključeno 515 djece sa ŠBT1 pokazala je da čak 67% djece ima smanjenu kvalitetu sna, što potvrđuje pojavnost ŠB u osoba s poremećajem cirkadijalne ritmičnosti (Jaser i sur., 2017).



Naime, koordinirana ekspresija *clock* gena u perifernim tkivima, kao što su jetra i masno tkivo, posreduje u optimalnoj aktivnosti nuklearnih receptora, enzima, hormona i transportera koji su uključeni u metabolizam ugljikohidrata, lipida i proteina (Ramsey i sur., 2007). Studije na životinjama pokazale su da prehrana bogata mastima može doprinijeti razvoju pretilosti i inzulinske rezistencije pri čemu dolazi do izmijenjene ekspresije *clock* gena u hepatocitima i adipocitima (Pendergast i sur., 2013).

Poznato je da kronična desinkronizacija 24-satnog ritma rezultira štetnim učincima na zdravlje. Uvjetovana je gubitkom sinkronizacije između vanjskih, okolišnih uvjeta i znakova i unutarnjih fizioloških procesa. To može rezultirati potpunim gubitkom ritmičnosti, smanjenom amplitudom ritma ili faznim razlikama između SCN-a i perifernih satova. Mutacije i utišavanja *clock* gena pokazuju povezanost komponenti cirkadijalnog sata i metaboličkih poremećaja, kao što je prikazano u tablici 3.

Tablica 3. Mutacije clock gena kod miševa i genske varijante clock gena u ljudi i njihov učinak na metabolizam (preuzeto i prilagođeno prema Froy i Garaulet, 2018)

<b>Clock gen</b>	<b>Mutirani miševi</b>	<b>Metaboličke promjene kod miševa mutanata</b>	<b>Genske varijante u ljudi</b>	<b>Metaboličke promjene u ljudi</b>
<b>CLOCK</b>	<i>CLOCK</i> <sup>Δ19</sup>	Povećan apetit i pretilost, razvijaju metabolički sindrom (hiperleptinemija, hiperglikemija, hiperlipidemija, steatoza jetre)	<b>CLOCK</b> <b>rs3749474,</b> <b>rs4580704,</b> <b>rs1801260</b> <b>(3111 T &gt; C)</b>	Pretilost, metabolički sindrom, veći unos masti, veći rizik od razvoja dijabetesa i hipertenzije, promjene u autonomnom živčanom sustavu
<b>BMAL1</b>	<i>BMAL1</i> <sup>-/-</sup>	Gubitak dnevne ritmičnosti u razinama glukoze i triglicerida; zaustavljen proces glukoneogeneze	<b>BMAL2</b> <b>rs7958822</b>	Povećan rizik od razvoja ŠBT2 kod pretilih pacijenata
<b>CRY</b>	<i>CRY1/2</i> <sup>(-/-)</sup>	Povećano lučenje inzulina i skladištenje lipida u masnom tkivu, povećanje proupalnih citokina	<b>CRY1</b> <b>rs2287161</b>	Povećana inzulinska rezistencija
<b>PER2</b>	<i>PER2</i> <sup>-/-</sup>	Na prehrani s visokim udjelom masti promjena obrasca hranjenja (hrane se i tokom neaktivnog razdoblja); razvoj pretilosti	<b>PER2</b> <b>rs2304672 C &gt; G</b> <b>rs4663302 C &gt; T</b>	Abdominalna pretilost, bihevioralne promjene koje vode ka pretilosti
<b>REV-ERBα</b>	<i>REV-ERBα</i> <sup>-/-</sup>	Smanjena spontana lokomotorna aktivnost	<b>REV-ERBα</b> <b>rs2314339</b>	Pretilost koja je posljedica smanjene tjelesne aktivnosti

Poremećaj cirkadijalnog ritma utječe na izlučivanje dva važna hormona – melatonina i leptina, koji reguliraju različite fiziološke funkcije povezane s metaboličkim poremećajima. Melatonin ima pozitivan učinak na metaboličke parametre. Signalizacija melatonina preko MT1 receptora ima protektivan metabolički učinak kod osoba koje su pretile. Melatonin uzrokuje smanjenje tjelesne težine, smanjenje udjela visceralnog masnog tkiva i sniženje inzulina u krvi. Melatonin uzrokuje lipolizu u adipocitima. Osim toga, melatonin povećava termogenezu u intramuskularnim adipocitima na način da povećava biogenezu i aerobnu respiraciju u mitohondrijima (Liu i sur., 2018).

Leptin je hormon koji se izlučuje iz adipocita, putuje krvotokom do mozga, točnije do jezgri hipotalamusa gdje šalje informacije o stanju na periferiji. Veća količina adipocita znači i značajnije lučenje leptina i njegove više koncentracije u krvi. Leptin šalje signal kojim se smanjuje aktivnost putova koji potiču glad, a potiče aktivnost putova koji izazivaju sitost. Problem kod pretilih osoba je razvoj leptinske rezistencije u kojoj unatoč povišenim vrijednostima leptina ne dolazi do njegovog učinka na regulaciju apetita. Leptinska rezistencija kod pretilosti povezana je s poremećajem transporta leptina kroz krvno-moždanu barijeru u hipotalamus i s poremećajem prijenosa leptinskog signala u stanicama hipotalamusa. Leptinska rezistencija vodi do blokiranja osjećaja sitosti i povećanja apetita te samim time do daljnjeg povećanja tjelesne težine (Buonfiglio i sur., 2019)

Leptin se izlučuje iz adipocita po cirkadijalnom obrascu. Uslijed poremećaja u cirkadijalnosti zbog neurednog obrasca spavanja dolazi do poremećaja u lučenju leptina. Melatonin se izlučuje iz epifize također u cirkadijalnom ritmu, a značajno utječe i na normalnu cirkadijalnost drugih hormona. Melatonin ima ključnu ulogu u hormonskoj regulaciji, uključujući regulaciju izlučivanja leptina i njegovu odgovarajuću signalizaciju (Suriagandhi i Nachiappan, 2022).

Melatonin je snažan antioksidans. Studija na miševima ukazala je da intraperitonealna primjena melatonina uzrokuje smanjenu lipidnu peroksidaciju i povećava koncentracije glutaciona (Mehrzadi i sur., 2018). Melatonin ima pozitivan utjecaj na normalizaciju cirkadijalnog ritma, ima antioksidativni učinak, regulira lučenje i djelovanje leptina te izravno utječe na smanjenje inzulinske rezistencije i normalizira koncentraciju glukoze u krvi (Shen i sur., 2022). Zbog raznovrsnih pozitivnih izravnih i neizravnih učinaka melatonina na bolju regulaciju i sprječavanje progresije ŠB, smatra se da je njegova primjena korisna kod oboljelih od ŠB.

Unatoč predkliničkim studijama koje pokazuju da metformin stupa u interakciju s komponentama cirkadijalnog sustava i ima različite učinke na regulaciju koncentracije glukoze u krvi ovisno o vremenu primjene, još uvijek nema kliničkih studija koje bi potvrdile navedene tvrdnje i studija koje bi utvrdile optimalno vrijeme primjene metformina (Henriksson i sur., 2017).

Komponente „biološkog sata“ također mogu biti mete lijekova u cilju poboljšanja metaboličkih parametara. REV-ERB $\alpha$  agonist SR9011 i REV-ERB $\beta$  agonist SR9009 smanjili su pretilost,

hiperglikemiju i dislipidemiju u mišjim modelima metaboličkog sindroma povećanjem potrošnje energije u bijelom masnom tkivu (Solt i sur., 2012).

S obzirom na rastući negativan utjecaj metaboličkih poremećaja na morbiditet i mortalitet od kardiovaskularnih bolesti, razvoj lijekova s novim mehanizmima djelovanja je od velike važnosti. Temeljem dosadašnjih bazičnih istraživanja, čini se da su upravo lijekovi koji reguliraju cirkadijalni ritam vrijedni daljnjeg istraživanja i razvoja.

## 5. ZAKLJUČAK

Cirkadijalni ritam razvijen je u većini živih organizama kao odgovor na ponavljajuće dnevne promjene u okolišnim čimbenicima. Različiti fiziološki procesi pokazuju 24-satnu ritmičnost. Ovisno o cirkadijalnom ritmu, postoje dnevne varijacije u koncentraciji i aktivnosti različitih hormona, neurotransmitera, receptora i transportera.

„Središnji sat“ čini suprahijazmatska jezgra dok periferne satove čine stanice različitih tkiva (npr. stanice pluća, gušterače, srca, masnog tkiva). Središnji i periferni satovi međusobno komuniciraju putem živčanih i humoralnih signala.

Postoje različiti tipovi poremećaja cirkadijalnog ritma spavanja i budnosti. Kod njih dolazi do poremećaja u cirkadijalnoj ritmičnosti na razini stanice, što dovodi do različitih negativnih fizioloških i bihevioralnih posljedica. Poremećaj cirkadijalne ritmičnosti središnjeg sata i perifernih satova povezuje se s pojavnošću različitih bolesti (primjerice hipertenzije, astme, šećerne bolesti).

Usljed poremećaja cirkadijalnog ritma, može doći do promjena u farmakokinetici lijekova. Poremećaji satnih mehanizama najčešće dovode do gubitka ritmičnosti u procesima apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije.

Kronoterapija, odnosno primjena lijeka u određeno vrijeme dana u velikom se broju studija pokazala vrlo uspješnom u poboljšanju kliničkih ishoda i kvalitete života pacijenata koji boluju od bolesti čija je pojava povezana s poremećajem cirkadijalnog ritma. Kronoterapija ima izniman potencijal u poboljšanju sigurnosti i učinkovitosti liječenja, posebno kod osoba koje primjenjuju velik broj lijekova.

Kod pacijenata s hipertenzijom zbog neodgovarajućeg pada tlaka tijekom noći poremećeni su cirkadijalni obrasci noćne regulacije tlaka. Provedeno je više studija na različitim skupinama antihipertenziva kako bi se utvrdilo najoptimalnije vrijeme doziranja. Većina antihipertenziva

pokazuje bolji farmakokinetički profil i veću učinkovitost ako se primjenjuju u večernjim satima.

Kod zdravih ljudi ali i kod osoba koje boluju od astme uočena je 24-satna ritmičnost u plućnoj funkciji. Plućna funkcija počinje opadati u poslijepodnevnim satima, a tokom noći bilježe se najniže vrijednosti PEF i FEV1. Optimalna kronoterapija temeljila bi se na doziranju antiastmatika kada je plućna funkcija najlošija.

Poremećaj cirkadijalnog ritma rizični je čimbenik uključen u razvoj šećerne bolesti tipa 1 i 2. Postizanje redovitog i optimalnog obrasca budnosti i spavanja povezuje se s manjim rizikom od razvoja ŠBT1 i ŠBT2.

S obzirom na rastući negativan utjecaj metaboličkih poremećaja na morbiditet i mortalitet od kardiovaskularnih bolesti, razvoj lijekova s novim mehanizmima djelovanja od velike je važnosti. Temeljem dosadašnjih bazičnih istraživanja, čini se da su upravo lijekovi koji reguliraju cirkadijalni ritam vrijedni daljnjeg istraživanja i razvoja.

## 6. LITERATURA

Akhtar RA, Reddy AB, Maywood ES, Clayton JD, King VM, Smith AG, Gant TW, Hastings MH, Kyriacou CP Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol*, 2002, 12(7), 540–550.

Albrecht U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron*, 2012, 74(2), 246-260.

Ando H, Yanagihara H, Sugimoto K I, Hayashi Y, Tsuruoka S, Takamura T, Fujimura A Daily rhythms of P-glycoprotein expression in mice. *Chronobiol Int*, 2005, 22, 655–665.

Anothaisintawee T, Reutrakul S, Van Cauter E, Thakkinstian A. Sleep disturbances compared to traditional risk factors for diabetes development: Systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*, 2016, 30, 11-24.

Arendt J, Aulinas A. Physiology of the Pineal Gland and Melatonin. [Updated 2022 Oct 30]. U: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK550972/>, Pristupljeno 30. svibnja 2023.

Ayyar VS, Sukumaran S. Circadian rhythms: influence on physiology, pharmacology, and therapeutic interventions. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*, 2021, 48(3), 321-338.

Baraldo M. The influence of circadian rhythms on the kinetics of drugs in humans. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4(2), 175–192.

Bleyzac N, Allard-Latour B, Laffont A, Mouret J, Jelliffe R, Maire P. Diurnal changes in the pharmacokinetic behavior of amikacin. *Ther Drug Monit*, 2000, 22(3), 307-312.

Blunston MA, Yonovitz A, Woodahl EL, Smolensky MH. Gentamicin-induced ototoxicity and nephrotoxicity vary with circadian time of treatment and entail separate mechanisms. *Chronobiol Int*, 2015, 32(9), 1223-1232.

Buonfiglio D, Tchic C, Furigo I, Donato J Jr, Baba K, Cipolla-Neto J, Tosini G. Removing melatonin receptor type 1 signaling leads to selective leptin resistance in the arcuate nucleus. *J Pineal Res*, 2019, 67(2), e12580.

Cappuccio FP. The Role of Nocturnal Blood Pressure and Sleep Quality in Hypertension Management. *Eur Cardiol*, 2020, 15:e60.

Carmona P, Mendez N, Ili CG, Brebi P. The Role of Clock Genes in Fibrinolysis Regulation: Circadian Disturbance and Its Effect on Fibrinolytic Activity. *Front Physiol*, 2020, 11, 129.

Cascorbi I. P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. *Handb Exp Pharmacol*, 2011, 201, 261-283.

Chen Y, Coulter S, Jetten AM, Goldstein JA. Identification of human CYP2C8 as a retinoid-related orphan nuclear receptor target gene. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 329(1), 192-201.

Chen M, Guan B, Xu H, Yu F, Zhang T, and Wu B The molecular mechanism regulating diurnal rhythm of flavin-containing monooxygenase 5 in mouse liver. *Drug Metab Dispos*, 2019, 47, 1333–1342.

Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16(7), 377-390.

D'Alonzo GE, Smolensky MH, Feldman S, et al. Twenty-four hour lung function in adult patients with asthma. Chronooptimized theophylline therapy once-daily dosing in the evening versus conventional twice-daily dosing. *Am Rev Respir Dis*, 1990, 142, 84–90.

Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*, 2005, 27(2), 101-110.

Durrington H, Farrow S, Ray D. Recent advances in chronotherapy for the management of asthma. *ChronoPhysiology and Therapy*, 2014, 4, 125-135.

Durrington HJ, Krakowiak K, Meijer P, Begley N, Maidstone R, Goosey L, Gibbs JE, Blaikley JF, Gregory LG, Lloyd CM, Loudon ASI, Ray DW. Circadian asthma airway responses are gated by REV-ERBa. *Eur Respir J*, 2020, 56(6), e1902407.

Firsov D, Bonny O. Circadian rhythms and the kidney. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(10), 626–635.

Froy O, Garaulet M. The Circadian Clock in White and Brown Adipose Tissue: Mechanistic, Endocrine, and Clinical Aspects. *Endocr Rev*, 2018, 39(3), 261-273.



Guichard K, Micoulaud-Franchi JA, Philip P, Taillard J. Sleep deprivation therapy to reset the circadian pacemaker in a non-24-hour sleep-wake disorder: a case report. *J Clin Sleep Med*, 2021, 17(7), 1503-1506.

Henriksson E, Huber AL, Soto EK, Kriebs A, Vaughan ME, Duglan D, Chan AB, Papp SJ, Nguyen M, Afetian ME, Lamia KA. The Liver Circadian Clock Modulates Biochemical and Physiological Responses to Metformin. *J Biol Rhythms*, 2017, 32(4), 345-358.

Hermida RC, Calvo C, Ayala DE, Domínguez MJ, Covelo M, Fernández JR, Fontao MJ, López JE. Administration-time-dependent effects of doxazosin GITS on ambulatory blood pressure of hypertensive subjects. *Chronobiol Int*, 2004, 21(2), 277-296.

Hermida RC, Calvo C, Ayala DE, López JE. Decrease in urinary albumin excretion associated to the normalization of nocturnal blood pressure in hypertensive subjects. *Hypertension*, 2005, 46, 960-968.

Hermida RC, Ayala DE, Calvo C. Administration-time-dependent effects of antihypertensive treatment on the circadian pattern of blood pressure. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2005, 14(5), 453-459.

Hermida RC, Ayala DE, Calvo C, Portaluppi F, Smolensky MH. Chronotherapy of hypertension: administration-time-dependent effects of treatment on the circadian pattern of blood pressure. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(9-10), 923-939.

Hermida RC, Ayala DE, Mojón A, Fernández JR. Chronotherapy with nifedipine GITS in hypertensive patients: improved efficacy and safety with bedtime dosing. *Am J Hypertens*, 2008, 21(8), 948-954.

Hermida RC, Ayala DE, Mojón A, Chayán L, Domínguez MJ, Fontao MJ, Soler R, Alonso I, Fernandez JR. Comparison of the effects on ambulatory blood pressure of awakening versus bedtime administration of torasemide in essential hypertension. *Chronobiol Int*, 2008, 25(6), 950-970.

Hermida RC, Ayala DE. Chronotherapy with the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramipril in essential hypertension: improved blood pressure control with bedtime dosing. *Hypertension*, 2009, 54, 40-46.

Hermida RC, Ayala DE, Chayan L, Mojón A, Fernández JR. Administration-time-dependent effects of olmesartan on the ambulatory blood pressure of essential hypertension patients. *Chronobiol Int*, 2009, 26(1), 61-79.

Hermida RC, Ayala DE, Smolensky MH, Mojón A, Fernández JR, Crespo JJ. Chronotherapy improves blood pressure control and reduces vascular risk in CKD. *Nat Rev Nephrol*, 2013, 9, 358–368.

Hermida RC, Ayala DE, Smolensky MH, Fernández JR, Mojón A, Portaluppi F. Chronotherapy with conventional blood pressure medications improves management of hypertension and reduces cardiovascular and stroke risks. *Hypertens Res*, 2016, 39(5), 277-292.

Hetzel MR, Clark TJ. Comparison of normal and asthmatic circadian rhythms in peak expiratory flow rate. *Thorax*, 1980, 35(10), 732-738.

Huang Y, Mai W, Hu Y, Wu Y, Song Y, Qiu R, Dong Y, Kuang J. Poor sleep quality, stress status, and sympathetic nervous system activation in nondipping hypertension. *Blood Press Monit*, 2011, 16(3), 117-123.

Jaser SS, Foster NC, Nelson BA, Kittelsrud JM, DiMeglio LA, Quinn M, Willi SM, Simmons JH. Sleep in children with type 1 diabetes and their parents in the T1D Exchange. *Sleep Med*, 2017, 39, 108-115.

Kario K. Nocturnal Hypertension: New Technology and Evidence. *Hypertension*, 2018, 71(6), 997-1009.

Khodadoustan S, Nasri Ashrafi I, Vanaja Satheesh K, Kumar C, Hs S, S C. Evaluation of the effect of time dependent dosing on pharmacokinetic and pharmacodynamics of amlodipine in normotensive and hypertensive human subjects. *Clin Exp Hypertens*, 2017, 39(6), 520-526.

Landstra AM, Postma DS, Boezen HM, van Aalderen WM. Role of serum cortisol levels in children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(5), 708-712.

Levi F, Schibler U. Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47, 593–628.

Levi F, Okyar A. Circadian clocks and drug delivery systems: impact and opportunities in chronotherapeutics. *Exp. Opin. Drug Deliv*, 2011, 8, 1535–1541.

LeGates TA, Fernandez DC, Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nat. Rev. Neurosci*, 2014, 15, 443–454.

Lemmer B. Cardiovascular chronobiology and chronopharmacology in biologic rhythms in clinical and laboratory medicine Heidelberg, Germany. *Springer-Verlag*, 1992, 418-427.

Lewinsohn HC, Capel LH, Smart J. Changes in forced expiratory volumes throughout the day. *Br Med J*, 1960, 1(5171), 462-464.

Lu D, Zhao M, Chen M, Wu B. Circadian clock-controlled drug metabolism Implications for chronotherapeutics. *Drug Metabol Disposit*, 2020, 48(5), 395-406.

Lin Y, Wang S, Zhou Z, Guo L, Yu F, Wu B. Bmal1 regulates circadian expression of cytochrome P450 3a11 and drug metabolism in mice. *Commun Biol*, 2019, 2, 378.

Liu K, Yu W, Wei W, Zhang X, Tian Y, Sherif M, Liu X, Dong C, Wu W, Zhang L, Chen J. Melatonin reduces intramuscular fat deposition by promoting lipolysis and increasing mitochondrial function. *J Lipid Res*, 2019, 60(4), 767-782.

Lommatzsch M, Virchow JC. Severe asthma: definition, diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*, 2014, 111(50), 847-855.

Lötsch J. Opioid Metabolites. *Journal of Pain and Symptom Management* 2005, 29(5), 10-24.

Luo Y, Ren L, Jiang M, Chu Y. Anti-hypertensive efficacy of amlodipine dosing during morning versus evening: A meta-analysis. *Rev Cardiovasc Med*, 2019, 20(2), 91-98.

Mehrzadi S, Motevalian M, Rezaei Kanavi M, Fatemi I, Ghaznavi H, Shahriari M. Protective effect of melatonin in the diabetic rat retina. *Fundam Clin Pharmacol*, 2018, 32(4), 414-421.

Melin J, Hartung N, Parra-Guillen ZP, Whitaker MJ, Ross RJ, Kloft C. The circadian rhythm of corticosteroid-binding globulin has little impact on cortisol exposure after hydrocortisone dosing. *Clin Endocrinol*, 2019, 91(1), 33-40.

Mitsui S, Yamaguchi S, Matsuo T, Ishida Y, Okamura H. Antagonistic role of E4BP4 and PAR proteins in the circadian oscillatory mechanism. *Genes Dev*, 2001,15(8), 995-1006.

Murakami Y, Higashi Y, Matsunaga N, Koyanagi S, Ohdo S. Circadian clock-controlled intestinal expression of the multidrug-resistance gene *mdr1a* in mice. *Gastroenterology*, 2008, 135(5), 1636-1644.

Namara K. and Alzubaidi H. Cardiovascular disease as a leading cause of death: how are pharmacists getting involved. *Integr Pharm Res Pract*, 2019, 8, 1–11.

Nesbitt AD. Delayed sleep-wake phase disorder. *J Thorac Dis*, 2018, 10(1), 103-111.

Nikolaeva S, Ansermet C, Centeno G, Pradervand S, Bize V, Mordasini D, Henry H, Koesters R, Maillard M, Bonny O, Tokonami N, Firsov D. Nephron-specific deletion of circadian clock gene *bmal1* alters the plasma and renal metabolome and impairs drug disposition. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(10), 2997–3004.

Oda M, Koyanagi S, Tsurudome Y, Kanemitsu T, Matsunaga N, Ohdo S. Renal circadian clock regulates the dosing-time dependency of cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Mol Pharmacol*, 2014, 85(5), 715-722.

Ou Z, Shi X, Gilroy RK, Kirisci L, Romkes M, Lynch C, Wang H, Xu M, Jiang M, Ren S. Regulation of the human hydroxysteroid sulfotransferase (SULT2A1) by  $ROR\alpha$  and  $ROR\gamma$  and its potential relevance to human liver diseases. *Mol Endocrinol*, 2013, 27, 106–115.

Park SI, Felipe CR, Pinheiro-Machado PG, Garcia R, Tedesco-Silva H Jr, Medina-Pestana JO. Circadian and time-dependent variability in tacrolimus pharmacokinetics. *Fundam Clin Pharmacol*, 2007, 21(2), 191–197.

Paudel KR, Jha SK, Allam VSRR, Prasher P, Gupta PK, Bhattacharjee R, Jha NK, Vishwas S, Singh SK, Shrestha J, Imran M, Panth N, Chellappan DK, Ebrahimi Warkiani M, Hansbro PM, Dua K. Recent Advances in Chronotherapy Targeting Respiratory Diseases. *Pharmaceutics*, 2021, 13(12), 2008.

Pendergast JS, Branecky KL, Yang W, Ellacott KL, Niswender KD, Yamazaki S. High-fat diet acutely affects circadian organisation and eating behavior. *Eur J Neurosci*, 2013, 37(8), 1350-1356.

Perfect MM. Sleep-related disorders in patients with type 1 diabetes mellitus: current insights. *Nat Sci Sleep*, 2020, 12, 101–112.

Pincus DJ, Szeffler SJ, Ackerson LM, Martin RJ. Chronotherapy of asthma with inhaled steroids: The effect of dosage timing on drug efficacy. *J. Allergy Clin. Immunol*, 1995, 95, 1172–1178.

Pincus DJ, Humeston TR, Martin RJ. Further studies on the chronotherapy of asthma with inhaled steroids: the effect of dosage timing on drug efficacy. *J Allergy Clin Immunol*, 1997, 100, 771–774.

T. Poljičanin, T. Buble: Nacionalni registar osoba s šećernom bolešću CroDiab, National Diabetes Registry CroDiab Izvješće za 2021.

Postma DS, Sevette C, Martinat Y, Schlösser N, Aumann J, Kafé H. Treatment of asthma by the inhaled corticosteroid ciclesonide given either in the morning or evening. *Eur Respir J*, 2001, 17(6), 1083-1088.

Potucek P, Klimas J. Chronopharmacology of high blood pressure—a critical review of clinical evidence. *European Pharmaceutical Journal*, 2019, 66(2), 32-36.

Qureshi J, Amir M, Ahuja A, Baboota S, Ali J. Chronomodulated drug delivery system of salbutamol sulphate for the treatment of nocturnal asthma. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2008, 70, 351–356.

Ramsey KM, Marcheiva B, Kohsaka A, Bass J. The clockwork of metabolism. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27, 219-240.

Reppert SM, Weaver DR. Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu Rev Physiol*, 2001, 63, 647-676.

Ruan W, Yuan X, Eltzschig HK. Circadian rhythm as a therapeutic target. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20, 287–307.

Rutters F, Nefs G. Sleep and Circadian Rhythm Disturbances in Diabetes: A Narrative Review. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2022, 15, 3627-3637.

Sallam H, El-Serafi AT, Filipski E, Terelius Y, Lévi F, Hassan M. The effect of circadian rhythm on pharmacokinetics and metabolism of the Cdk inhibitor, roscovitine, in tumor mice model. *Chronobiol Int*, 2015, 32, 608–614.

Sato S, Sakurai T, Ogasawara J, Takahashi M, Izawa T, Imaizumi K, Taniguchi N, Ohno H, Kizaki T. A circadian clock gene, Rev-erb $\alpha$ , modulates the inflammatory function of macrophages through the negative regulation of Ccl2 expression. *J Immunol*, 2014, 192(1), 407-417.

Scheer FAJL, Hilton MF, Evoniuk HL, Shiels SA, Malhotra A, Sugarbaker R, Ayers RT, Israel E, Massaro AF, Shea SA. The endogenous circadian system worsens asthma at night independent of sleep and other daily behavioral or environmental cycles. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(37), e2018486118.

Shen S, Liao Q, Wong YK, Chen X, Yang C, Xu C, Sun J, Wang J. The role of melatonin in the treatment of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(3), 983-994.

Solt LA, Kojetin DJ, Burris TP. The REV-ERBs and RORs: molecular links between circadian rhythms and lipid homeostasis. *Future Med Chem*, 2011, 3(5), 623-638.

Solt LA, Wang Y, Banerjee S, Hughes T, Kojetin DJ, Lundasen T, Shin Y, Liu J, Cameron MD, Noel R, Yoo SH, Takahashi JS, Butler AA, Kamenecka TM, Burris TP. Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists. *Nature*, 2012, 485(7396), 62-68.

Sondrup N, Termansen AD, Eriksen JN, Hjorth MF, Færch K, Klingenberg L, Quist JS. Effects of sleep manipulation on markers of insulin sensitivity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Sleep Med Rev*, 2022, 62, 101594.

Stearns AT, Balakrishnan A, Rhoads DB, Ashley SW, Tavakkolizadeh A. Diurnal rhythmicity in the transcription of jejunal drug transporters. *J Pharmacol Sci*, 2008, 108(1), 144-148.

Sukumaran S, Almon RR, DuBois DC, Jusko WJ. Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62(9-10), 904-917.

Sukumaran S, Jusko WJ, DuBois DC. Light-dark oscillations in the lung transcriptome: implications for lung homeostasis, repair, metabolism, disease and drug action. *J Appl Physiol*, 2011, 110, 1732-1747.

Sun SY, Chen GH. Treatment of Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders. *Curr Neuropharmacol*, 2022, 20(6), 1022-1034.

Sundar IK, Yao H, Sellix MT, Rahman I. Circadian clock-coupled lung cellular and molecular functions in chronic airway diseases. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 53(3), 285-290.

Suriagandhi V, Nachiappan V. Protective Effects of Melatonin against Obesity-Induced by Leptin Resistance. *Behav Brain Res*, 2022, 417, e113598.

Total RA, Rettie AE. Cytochrome P450 2C8: substrates, inhibitors, pharmacogenetics, and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther*, 2005, 77(5), 341-352.

Tupper OD, Ulrik CS. Long-term predictors of severe exacerbations and mortality in a cohort of well-characterised adults with asthma. *Respir Res*, 2021, 22(1), 269.

Yu F, Zhang T, Zhou C, Xu H, Guo L, Chen M, Wu B. The Circadian Clock Gene Bmal1 Controls Intestinal Exporter MRP2 and Drug Disposition. *Theranostics*, 2019, 9(10), 2754-2767.

Waring MJ. An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14, 475-486.

Weinberger M. The pharmacology and therapeutic use of theophylline. *J Allergy Clin Immunol*, 1984, 73(5.1), 525-540.

Welsh PW, Reed CE, Conrad E. Timing of Once a Day Theophylline Dose to Match Peak Level With Diurnal Variation in Severity of Asthma, *Am J Med*, 1986, 80, 1098-1102.

White WB, LaRocca GM. Chronopharmacology of cardiovascular therapy. *Blood Press Monit* 2002, 7, 199- 207.

Zhang T, Yu F, Guo L, Chen M, Yuan X, Wu B. Small heterodimer partner regulates circadian cytochromes p450 and drug-induced hepatotoxicity. *Theranostics*, 2018, 8, 5246-5258.

Zhang T, Guo L, Yu F, Chen M, Wu B. The nuclear receptor Rev-erb $\alpha$  participates in circadian regulation of Ugt2b enzymes in mice. *Biochem Pharmacol*, 2019, 161, 89-97.

Zhao M, Zhao H, Deng J, Guo L, Wu B. Role of the CLOCK protein in liver detoxification. *Br J Pharmacol*, 2019, 176, 4639–4652.

Zisapel N. New Perspectives on the Role of Melatonin in Human Sleep, Circadian Rhythms and Their Regulation. *Br J Pharamcol*, 2018, 175, 3190–3199.

Zuraikat FM, Makarem N, Redline S, Aggarwal B, Jelic S, St-Onge MP. Sleep Regularity and Cardiometabolic Heath: Is Variability in Sleep Patterns a Risk Factor for Excess Adiposity and Glycemic Dysregulation? *Curr Diab Rep*, 2020, 20(8), 38.



## 7. SAŽETAK / SUMMARY

### SAŽETAK

U ovom diplomskom radu opisani su mehanizmi utjecaja cirkadijalnog ritma na farmakokinetičke karakteristike lijekova te povezanost abnormalnosti cirkadijalnog ritma s razvojem kroničnih bolesti poput hipertenzije, astme i šećerne bolesti.

Cirkadijalni ritam razvijen je evolucijski u većini živih organizama kao odgovor na ponavljajuće dnevne promjene u okolišnim čimbenicima. Središnji regulatorni „sat“ čini suprahijazmatska jezgra u hipotalamusu, dok se periferni „satovi“ nalaze u stanicama perifernih tkiva te međusobno komuniciraju putem živčanih i humoralnih signala. Cirkadijalni ritam pomaže u održavanju homeostaze organizma na način da vremenski usklađuje različite fiziološke procese. Zaslužan je za ritmičnu ekspresiju gena, normalno funkcioniranje imunskog sustava, ritmičnu kontrolu krvnog tlaka, održavanje razina glukoze u krvi, ali i za brojne druge funkcije. Utvrđeno je postojanje utjecaja cirkadijalne ritmičnosti na farmakokinetičke procese apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije određenih lijekova. Kronoterapija, odnosno primjena lijeka u optimalno vrijeme unutar 24 sata ima za cilj poboljšanje sigurnosti i učinkovitosti liječenja te postizanje boljih kliničkih ishoda liječenja.

## **SUMMARY**

In this dissertation, the influence of the circadian rhythm on the pharmacokinetic characteristics of drugs are described, as well as the connection between circadian rhythm abnormalities and the development of chronic diseases such as hypertension, asthma and diabetes.

The circadian rhythm has been developed in most living organisms in response to recurring daily changes in environmental factors. The central regulatory "clock" consists of the suprachiasmatic nucleus in the hypothalamus, while the peripheral "clocks" are located in the cells of peripheral tissues and communicate with each other via nerve and humoral signals. The circadian rhythm helps to maintain the homeostasis of the organism by synchronizing various physiological processes. It is responsible for the rhythmic expression of genes, the normal functioning of the immune system, the rhythmic control of blood pressure, the maintenance of blood glucose levels and for numerous other functions. The influence of circadian rhythmicity on the pharmacokinetic processes of absorption, distribution, metabolism and elimination of certain drugs has been established. Chronotherapy (application of the drug at the optimal time within 24 hours) aims to improve the safety and effectiveness of the treatment and achieve better clinical outcomes of the treatment.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakologiju  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### POVEZANOST CIRKADIJALNOG RITMA S KRONIČNIM BOLESTIMA I DJELOVANJEM LIJEKOVA

Jelena Turudić

#### SAŽETAK

U ovom diplomskom radu opisani su mehanizmi utjecaja cirkadijalnog ritma na farmakokinetičke karakteristike lijekova te povezanost abnormalnosti cirkadijalnog ritma s razvojem kroničnih bolesti poput hipertenzije, astme i šećerne bolesti. Cirkadijalni ritam razvijen je evolucijski u većini živih organizama kao odgovor na ponavljajuće dnevne promjene u okolišnim čimbenicima. Središnji regulatorni „sat“ čini suprahijazmatska jezgra u hipotalamusu, dok se periferni „satovi“ nalaze u stanicama perifernih tkiva te međusobno komuniciraju putem živčanih i humoralnih signala. Cirkadijalni ritam pomaže u održavanju homeostaze organizma na način da vremenski usklađuje različite fiziološke procese. Zaslužan je za ritmičnu ekspresiju gena, normalno funkcioniranje imunskog sustava, ritmičnu kontrolu krvnog tlaka, održavanje razina glukoze u krvi, ali i za brojne druge funkcije. Utvrđeno je postojanje utjecaja cirkadijalne ritmičnosti na farmakokinetičke procese apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije određenih lijekova. Kronoterapija, odnosno primjena lijeka u optimalno vrijeme unutar 24 sata ima za cilj poboljšanje sigurnosti i učinkovitosti liječenja te postizanje boljih kliničkih ishoda liječenja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 58 stranica, 12 grafičkih prikaza, 3 tablice i 101 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: cirkadijalni ritam, kronoterapija, dijabetes, astma, hipertenzija, središnji sat, periferni satovi, kronične bolesti

Mentor: **Dr. sc. Lidija Bach - Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lidija Bach - Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Jasna Jablan**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: lipanj 2023.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmacology  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### THE ASSOCIATION OF THE CIRCADIAL RHYTHM WITH CHRONIC DISEASES AND THE ACTION OF DRUGS

Jelena Turudić

#### SUMMARY

In this dissertation, the influence of the circadian rhythm on the pharmacokinetic characteristics of drugs are described, as well as the connection between circadian rhythm abnormalities and the development of chronic diseases such as hypertension, asthma and diabetes. The circadian rhythm has been developed in most living organisms in response to recurring daily changes in environmental factors. The central regulatory "clock" consists of the suprachiasmatic nucleus in the hypothalamus, while the peripheral "clocks" are located in the cells of peripheral tissues and communicate with each other via nerve and humoral signals. The circadian rhythm helps to maintain the homeostasis of the organism by synchronizing various physiological processes. It is responsible for the rhythmic expression of genes, the normal functioning of the immune system, the rhythmic control of blood pressure, the maintenance of blood glucose levels and for numerous other functions. The influence of circadian rhythmicity on the pharmacokinetic processes of absorption, distribution, metabolism and elimination of certain drugs has been established. Chronotherapy (application of the drug at the optimal time within 24 hours) aims to improve the safety and effectiveness of the treatment and achieve better clinical outcomes of the treatment.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 58 pages, 12 figures, 3 tables and 101 references. Original is in Croatian language.

Keywords: circadian rhythm, chronotherapy, diabetes, asthma, hypertension, central clock, peripheral clocks, chronic diseases

Mentor: **Lidija Bach – Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lidija Bach – Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Sandra Šupraha Goreta, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Jasna Jablan, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2023.

