

Julia Ribeiro da Silva Vallim

**ANÁLISE DO RITMO DE ATIVIDADE E REPOUSO E DO PERFIL DE
MELATONINA EM PACIENTES COM DOENÇA DE FABRY**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

São Paulo
2018

Julia Ribeiro da Silva Vallim

**ANÁLISE DO RITMO DE ATIVIDADE E REPOUSO E DO PERFIL DE
MELATONINA EM PACIENTES COM DOENÇA DE FABRY**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Vânia D’Almeida

Coorientador:

Prof^a. Dr^a. Fernanda Gaspar do Amaral

São Paulo

2018

Vallim, Julia Ribeiro da Silva.

Análise do ritmo de atividade e repouso e do perfil de melatonina em pacientes com Doença de Fabry / Julia Ribeiro da Silva Vallim – São Paulo, 2018.
xix, 110f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo.
Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia.

Título em inglês: Analysis of the rhythm of activity and rest and of the melatonin profile in patients with Fabry disease.

1. Fenômenos Cronobiológicos. 2. Distúrbios do Sono por Sonolência Excessiva. 3. Melatonina. 4. Doença de Fabry.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

Chefe do Departamento: Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz

Coordenadora do Programa de Pós-graduação: Prof^a. Dr^a. Débora Cristina Hipólide

Julia Ribeiro da Silva Vallim

**ANÁLISE DO RITMO DE ATIVIDADE E REPOUSO E DO PERFIL DE
MELATONINA EM PACIENTES COM DOENÇA DE FABRY**

Presidente da banca:

Prof^a. Dr^a. Vânia D'Almeida

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Ida Vanessa Doederlein Schwartz

Prof. Dr. José Cipolla-Neto

Prof^a. Dr^a. Débora Cristina Hipólide

Suplente:

Prof. Dr. Marcial Francis Galera

Dedicatória

*Dedico esta dissertação aos meus pais, Pedro e Maria, ao meu irmão, Heitor,
e aos meus avós, Maria, Septimo, Aurélia e Augusto.*

Agradecimentos

Aos meus pais e animais, pelos instantes de absoluto prazer, que aliviam o meu coração.

Ao meu irmão, por me lembrar o que é arte.

Ao meu namorado, por acreditar em mim, nas alegrias e tristezas e por elaborar os fluxogramas para este trabalho.

À professora doutora Vânia D'Almeida, pela orientação, confiança, muita paciência e estímulo nas minhas vivências além do mestrado.

À professora doutora Fernanda Gaspar do Amaral, pela coorientação, auxílio e motivação para seguir em frente.

Aos membros do IGEIM, especialmente à Camila Pereira da Silva e à equipe de enfermagem, que permitiram a realização deste trabalho.

Ao CUJA, pelo crescimento pessoal e experiência profissional proporcionados durante os meus dois anos de projeto.

Aos amigos, Cris, Lorena, Ju e Lucas por tornarem a minha vida em São Paulo mais descontraída e divertida.

Aos amigos do Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo pelas conversas à tarde, risadas, companhias de Congresso e de discussão que me distraíam nos momentos de estresse e me encaminhavam nos momentos de desespero.

Às meninas do laboratório da Fer que me acolheram muito bem e me ajudaram a fazer os experimentos.

Aos colegas da Psicobiologia e da faculdade pela companhia no dia-a-dia e por compartilharem comigo ideias e vivências.

Aos membros da banca por disponibilizarem seu tempo e seus ensinamentos.

À UNIFESP-EPM pela formação acadêmica, ao Departamento, ao Programa, à AFIP, à Fapesp, à Capes e ao CNPq (número do processo: 133727/2016-5) pelo apoio financeiro.

Aos meus alunos, que mostraram o que é ser especial!

“Não podemos esperar construir um mundo melhor sem melhorar os indivíduos. ”

Marie Curie

Sumário

Dedicatória	v
Agradecimentos	vi
Lista de figuras	xi
Lista de tabelas	xiii
Lista de abreviaturas	xiv
Resumo	xvi
Abstract	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Erros Inatos do Metabolismo (EIM)	2
1.1.1. Bases moleculares	2
1.1.2. Epidemiologia	3
1.1.3. Classificação	3
1.1.4. Doenças de Depósito Lisossômico (DDL)	4
1.2. Doença de Fabry (DF)	5
1.2.1. Epidemiologia	7
1.2.2. Diagnóstico	8
1.2.3. Bases moleculares	8
1.2.4. Características clínicas	9
1.2.5. Tratamento	13
1.2.6. Alterações comportamentais	14
1.3. Cronobiologia e ritmos biológicos	16
1.3.1. Melatonina	19
1.4. Ritmos biológicos e Doença de Fabry	21
2. OBJETIVO	23
2.1. Objetivos específicos	24
3. MÉTODOS	25
3.1. Casuística	26
3.1.1. Delineamento experimental	26
3.1.2. Participantes	28

3.1.2.1. Critérios de inclusão	29
3.1.2.2. Critérios de exclusão	29
3.2. Questionários	29
3.2.1. Escala de Sonolência Diurna Excessiva (<i>Epworth Sleepiness Scale</i> – ESS)	30
3.2.2. Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (<i>Morningness-eveningness questionnaire</i> - MEQ)	30
3.2.3 Índice de qualidade de sono (<i>Pittsburgh Sleep Quality Index</i> – PSQI)	30
3.3. Diário de atividade	31
3.4. Registro actigrafia: atividade e repouso e temperatura corporal periférica	31
3.4.1. Pré-análise dos dados: parâmetros rítmicos	33
3.4.2. Pré-análise dos dados: meio período de sono	35
3.5. Coleta de urina e dosagem de 6-sulfatoximelatonina	35
3.6. Coleta de saliva e dosagem de melatonina salivar	37
3.7. Análise estatística	37
4. RESULTADOS	41
4.1. Questionários	44
4.1.1. Escala de Sonolência Diurna Excessiva (<i>Epworth Sleepiness Scale</i> – ESS)	44
4.1.2. Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (<i>Morningness-eveningness questionnaire</i> - MEQ)	47
4.1.3. Índice de qualidade de sono (<i>Pittsburgh Sleep Quality Index</i> – PSQI)	49
4.2. Diário de atividade	52
4.2.1. “Como você avalia seu sono na noite passada? ”	53
4.2.2. “Com que facilidade você adormeceu na noite passada? ”	56
4.2.3. “Com que facilidade você acordou hoje? ”	57
4.2.4. “Como você se sentiu no início do seu dia? ”	60

4.2.5. “Como você se sentiu no fim do seu dia? ”	63
4.2.6. “Você se lembra de ter acordado e dormido novamente? ”	65
4.3. Avaliações rítmicas	65
4.3.1. Parâmetros rítmicos para atividade e repouso	67
4.3.2. Parâmetros rítmicos para temperatura corporal periférica	70
4.3.3. Meio período de sono	74
4.3.4. Melatonina	77
4.3.4.1. 6-sulfatoximelatonina	77
4.3.4.1.1. Análise individualizada 6-sulfatoximelatonina	82
4.3.4.2. Melatonina salivar	84
5. DISCUSSÃO	88
6. CONCLUSÃO	95
7.REFERÊNCIAS	97
Anexos	111

Lista de figuras

Figura 1. Acúmulo de glicosfingolípidos no endotélio capilar	6
Figura 2. Angioqueratoma	10
Figura 3. <i>Cornea verticillata</i>	11
Figura 4. Modelo de dois processos da regulação do sono	16
Figura 5. Efeitos da variação claro/escuro à nível central e periférico	17
Figura 6. Neurotransmissão da biossíntese da melatonina	19
Figura 7. Biossíntese da melatonina	20
Figura 8. Modelo de actígrafo	32
Figura 9. Parâmetros rítmicos – método do Cosinor	34
Figura 10. Escores globais do questionário de sonolência diurna	44
Figura 11. Medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e escores globais questionário de sonolência diurna	45
Figura 12. Medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e sonolência diurna	47
Figura 13. Escores globais do questionário de identificação de cronotipo	48
Figura 14. Escores globais do questionário de qualidade de sono	50
Figura 15. Terapia de reposição enzimática e qualidade de sono	52
Figura 16. Notas referentes à primeira questão do diário de atividade	54
Figura 17. Medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e notas referentes à primeira questão do diário de atividade	55
Figura 18. Notas referentes à segunda questão do diário de atividade	56
Figura 19. Notas referentes à terceira questão do diário de atividade	58
Figura 20. Medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e notas referentes à terceira questão do diário de atividade	59
Figura 21. Notas referentes à quarta questão do diário de atividade	61
Figura 22. Medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e notas referentes à quarta questão do diário de atividade	62
Figura 23. Notas referentes à quinta questão do diário de atividade	63
Figura 24. Medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e notas referentes à quinta questão do diário de atividade	64

Figura 25. Parâmetros rítmicos para atividade	68
Figura 26. Teste <i>Rayleigh</i> z para acrofase média de atividade (grupo)	69
Figura 27. Teste <i>Rayleigh</i> z para acrofase média de atividade (TRE)	70
Figura 28. Período médio de tempera corporal periférica	71
Figura 29. Parâmetros rítmicos para temperatura corporal periférica	72
Figura 30. Teste <i>Rayleigh</i> z para acrofase média de temperatura média (grupo)	73
Figura 31. Teste <i>Rayleigh</i> z para acrofase média de temperatura média (TRE)	74
Figura 32. Meio período de sono em dias da semana e em finais de semana e feriados	75
Figura 33. Horários de meio período de sono (grupo)	76
Figura 34. Momento do dia e porcentagem de carga excretada de 6- sulfatoximelatonina	78
Figura 35. Panorama individual de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina diurna e noturna	80
Figura 36. Porcentagem de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina (grupo)	82
Figura 37. Dosagem de melatonina salivar	85
Figura 38. Curva padrão da dosagem de melatonina salivar	86

Lista de tabelas

Tabela 1. Valores interpretação medidas de associação e tamanhos de efeito	39
Tabela 2. Classificação por faixa etária: gênero masculino	42
Tabela 3. Classificação por faixa etária: gênero feminino	43
Tabela 4. Frequências nas categorias de sonolência diurna	46
Tabela 5. Frequências nas categorias de cronotipo	49
Tabela 6. Frequências nas categorias de qualidade de sono	51
Tabela 7. Porcentagens médias da sexta questão diário de atividade	65
Tabela 8. Valores da dosagem de melatonina salivar	85
Tabela 9. Valores curva padrão da dosagem de melatonina salivar	86

Lista de abreviaturas

AANAT	Arilalkilamina N-Acetiltransferase
ARA	Antagonistas do receptor de angiotensina
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CREIM	Centro de Referência em Erros Inatos do Metabolismo
DDL	Doenças de Depósito Lisossômico
DF	Doença de Fabry
DLMO	<i>Dim-light melatonin onset</i>
DV	Desvio padrão
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EIM	Erros Inatos do Metabolismo
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>)
ESS Scale)	Escala de Sonolência Diurna Excessiva (<i>Epworth Sleepiness Scale</i>)
FB clássico	Grupo de pacientes variante clássica
FB medicação	Grupo de pacientes que fazem uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina
FB não clássico	Grupo de pacientes variante não clássica
FB não medicação	Grupo de pacientes que não fazem uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina
FB não TRE enzimática	Grupo de pacientes que não fazem terapia de reposição enzimática
FB TRE	Grupo de pacientes que fazem terapia de reposição enzimática
GABA	Ácido gama-aminobutírico
Gb3	Globotriaosilceramídeo
GLA	Gene da Alfa galactosidase
GLM	Modelo linear geral
HIOMT	Hidroxiindol-O-metiltransferase
IC95	Intervalo de confiança à 95%
ISRS	Inibidores seletivos da recaptação de serotonina

MEQ	Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (<i>Morningness-eveningness questionnaire</i>)
Mesor	<i>Midline Estimating Statistic Of Rhythm</i>
MPS	Mucopolissacaridose
MPS's	Mucopolissacaridoses
PSQI	Índice de qualidade de sono (<i>Pittsburgh Sleep Quality Index</i>)
PV	Porcentagem de variação
rpm	rotações por minuto
SCN	Núcleo supraquiasmático
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TRE	Terapia de Reposição Enzimática
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
WASO	<i>Wake time after sleep onset</i>
α -Gal A	Alfa galactosidase ácida

Resumo

Introdução: A Doença de Fabry é causada por mutação no gene *GLA*, cuja consequência é o acúmulo de glicoesfingolípidos no interior dos lisossomos. A sintomatologia clássica da doença se desenvolve nas primeiras décadas de vida e abrange manifestações dermatológicas, neurológicas, oculares, cardíacas e renais. Já a manifestação não clássica é mais tardia e se restringe ao comprometimento do coração e dos rins. Além dos sintomas, os pacientes apresentam alterações comportamentais do ciclo sono/vigília, como sonolência diurna excessiva, distúrbios respiratórios do sono e movimento periódico de membros inferiores. A propensão ao sono é regulada por um componente homeostático e um componente circadiano, que é rítmico, oscila com uma periodicidade de aproximadamente 24 horas, sincronizado por pistas ambientais, e é orquestrado pelo sistema de temporização. Esse sistema pode ser avaliado por marcadores de ritmicidade biológica, como o ritmo de atividade e repouso e variação de temperatura corporal, assim como pelo ritmo endógeno de cronobióticos, como a biossíntese de melatonina. As alterações do ciclo sono/vigília observadas nos pacientes diagnosticados com Doença de Fabry podem estar relacionadas com uma modificação da ordem temporal interna e consequente modificação no padrão diário de melatonina, e talvez, na manifestação de outros ritmos. **Objetivo:** Avaliar o efeito da disfunção lisossômica na Doença de Fabry sobre os ritmos de atividade e repouso e de melatonina. **Métodos:** Estudo do tipo caso-controle conduzido na cidade de São Paulo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo. Foram recrutados 16 pacientes com variante clássica (11 em terapia de reposição enzimática, 10 mulheres) e 7 pacientes com variante não clássica (4 em terapia de reposição enzimática, 6 mulheres) com média de idade de $36,4 \pm 3,0$ anos e de $44,0 \pm 4,6$ anos, respectivamente. O grupo controle foi pareado por gênero e idade, sendo composto por 14 indivíduos (10 mulheres), com média de idade de $42,4 \pm 3,2$ anos. Foi feita uma avaliação por meio de três questionários (escala de sonolência diurna, identificação de cronotipo de Horne e índice de qualidade de sono), atividade e temperatura corporal periférica foram determinados por no mínimo 10 dias de uso do actígrafo e dosagem de 6-sulfatoximelatonina (segunda urina da manhã até 19:00 – Dia; 19:00 até a primeira urina da manhã do dia seguinte - Noite) e melatonina (19:00 às 21:30), na urina e

saliva respectivamente. **Resultados:** O grupo controle apresentou porcentagem de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina maior durante a noite que durante o dia. O grupo Fabry com a variante não clássica apresentou um aumento de excreção deste metabólito durante o dia quando comparado com grupo controle, enquanto no grupo Fabry com a variante clássica a oscilação observada no grupo controle estava ausente. Foi encontrado um aumento de período de temperatura corporal periférica entre o grupo Fabry com a variante clássica e o grupo controle. Não foram encontradas diferenças entre os grupos para os outros parâmetros avaliados. **Conclusão:** Esses resultados mostram que há uma alteração rítmica no perfil de 6-sulfatoximelatonina na Doença de Fabry, evidenciada pelas modificações de carga excretada deste metabólito observada nos pacientes.

Abstract

Introduction: Fabry's disease is caused by a mutation in *GLA* gene, whose consequence is the accumulation of glycosphingolipids within the lysosomes. The classic symptomatology of the disease develops in the first decades of life and includes dermatological, neurological, ocular, cardiac and renal manifestations. Non-classical manifestation occurs later in life and is restricted to involvement of heart and kidneys. Besides these symptoms, the patients present behavioral changes in sleep/wake cycle such as excessive daytime sleepiness, sleep-disordered breathing and abnormal periodic leg movements. Sleep propensity is regulated by a homeostatic and a circadian component, that is rhythmic, oscillates with a periodicity of approximately, 24 hours, synchronized by environmental cues, and orchestrated by a biological clock. The clock can be assessed by markers of biological rhythmicity, as the rhythm of activity and rest and variation of body temperature, and by endogenous rhythm of chronobiotics, as melatonin biosynthesis. Behavioral manifestations of sleep/wake cycle in Fabry disease could be related to modifications in the internal temporal order, and, as a consequence, an alteration in melatonin daily profile and, maybe, in orders rhythmic manifestations. **Objective:** To assess the effect of lysosomal dysfunction in Fabry disease patients on activity, rest and melatonin rhythms. **Methods:** The investigation followed a case-control design and was approved by Institution's Ethics Committee (Universidade Federal de São Paulo). Sixteen patients with classic variant (11 on enzyme replacement therapy, 10 women) with a mean age of 36.4 ± 3.0 years and seven patients with non-classic variant (4 on enzyme replacement therapy, 6 women) with a mean age 44.0 ± 4.6 year were recruited. Control group was matched by age and gender, consisting on fourteen volunteers (10 women), with mean age of 42.4 ± 3.2 years. The volunteers answered three questionnaires (Epworth Sleepiness Scale, Morningness-eveningness questionnaire and Pittsburgh Sleep Quality Index), activity, rest and peripheral body temperature values were determined for at least ten days by actigraphy. The 6-sulfatoxymelatonin dosage in urine (second urine in the morning until 7 p.m. – Day; 7.p.m. until first urine in the next morning - Night) and melatonin on saliva (7 p.m. to 9:30 p.m.) were also performed. **Results:** Control group presented 6-sulfatoxymelatonin excretion load higher during the night than day. Fabry disease with non-classic variant group presented higher levels of 6-sulfatoxymelatonin

during the day compared with control group, while Fabry disease with classic variant had no oscillatory pattern, which was observed for control group. Also, was found an increase in peripheral body temperature period between Fabry with classic variant and control group. No differences were found between the groups for other parameters evaluated. **Conclusion:** These results show a rhythm disruption on 6-sulfatoxymelatonin profile in Fabry disease patients, emphasized by differences in excretion load of this metabolite observed in patients.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Erros Inatos do Metabolismo (EIM)

O termo Erros Inatos do Metabolismo foi utilizado pela primeira vez pelo médico inglês Archibald E. Garrod em 1902, ao estudar a alcaptonúria, também conhecida como ocronose, uma doença genética com padrão de herança autossômico recessivo que afeta o metabolismo do aminoácido tirosina. Devido a esse defeito metabólico, a urina apresenta uma coloração mais escura, também conhecida como “urina negra”. Anos mais tarde, Garrod descreveu outros quatro Erros Inatos do Metabolismo, o albinismo, a cistinúria, a porfiria e a pentosúria (Garrod, 1902; Garrod e Clarke, 1907; Martins, 1999).

Para Garrod, um organismo saudável é aquele em que há uma homeostase entre anabolismo e catabolismo, ou seja, um equilíbrio entre as reações enzimáticas e, no caso destes erros inatos, a doença era causada por um desequilíbrio entre essas reações. Dessa forma, ele descreveu a relação entre genética e bioquímica e a contribuição destes fatores na etiologia dos Erros Inatos do Metabolismo (Garrod, 1902; Piro *et al.*, 2010).

Atualmente, os Erros Inatos do Metabolismo englobam um grupo de doenças hereditárias caracterizadas por uma deficiência de uma ou mais enzimas ou de defeitos no transporte de proteínas, que tem como consequência a geração de produtos finais ou intermediários defeituosos, levando a uma desregulação metabólica, como descrito por Garrod (Waber, 1990; Martins, 1999; Lanpher *et al.*, 2006).

1.1.1 Bases moleculares

Os EIM são causados por mutações em genes que afetam enzimas, ativadores ou cofatores enzimáticos, transportadores ou marcadores de proteínas. A maioria das doenças que compõe este grupo apresenta padrão de herança autossômico recessivo, algumas são ligadas ao cromossomo X ou mitocondriais (Waber, 1990; Martins, 1999).

Alguns estudos mostram que há uma interação complexa dessas doenças com o ambiente, mais especificamente uma relação denominada gene-nutriente, que podem modificar esse padrão de herança clássico (Dipple e McCabe, 2000a; Dipple e McCabe, 2000b; Lanpher *et al.*, 2006).

1.1.2 Epidemiologia

EIM são doenças raras, com incidência que varia nos diferentes países. Na Columbia Britânica, essa incidência é de cerca de 40 casos a cada 100.000 nascidos vivos (Applegarth *et al.*, 2000).

No Brasil, a investigação bioquímica de 17.822 casos suspeitos de EIM detectou 1.460 casos, ou seja, uma prevalência igual a 8,5% (Burin *et al.*, 2001). Quando considerados pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde essa prevalência é de cerca de 3,5% (Giugliani *et al.*, 2016).

1.1.3 Classificação

Desde a descoberta inicial de Garrod, outros Erros Inatos do Metabolismo foram descritos (Ellaway *et al.*, 2002).

Segundo a última classificação realizada pela *Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism* (Zschocke, 2014) essas doenças podem ser classificadas de acordo com o tipo de metabolismo envolvido nas seguintes categorias:

- a. Distúrbios do metabolismo de aminoácidos e peptídeos.
- b. Distúrbios do metabolismo de carboidratos.
- c. Distúrbios de ácidos graxos e corpos cetônicos.
- d. Distúrbios do metabolismo energético.
- e. Distúrbios do metabolismo de purinas, pirimidinas e nucleotídeos.
- f. Distúrbios do metabolismo de esteróis.
- g. Distúrbios do metabolismo das porfirinas e do grupo heme (hemoglobina).
- h. Distúrbios do metabolismo lipídico e lipoproteico.

- i. Distúrbios congênitos da glicosilação e outros distúrbios de modificação proteica pós-traducional.
- j. Distúrbios de depósito lisossômico.
- k. Distúrbios do peroxissomo.
- l. Distúrbios do metabolismo de neurotransmissores.
- m. Distúrbios do metabolismo de oligoelementos e metais.
- n. Distúrbios e variantes no metabolismo dos xenobióticos.

1.1.4 Doenças de Depósito Lisossômico (DDL)

As Doenças de Depósito Lisossômico se encaixam na categoria descrita acima como Distúrbios de Depósito Lisossômico. Esse conceito foi descrito pela primeira vez por Hers, em 1965, e atualmente, engloba cerca de 50 doenças (Hers, 1965; Futerman e Van Meer, 2004).

As DDL são causadas por mutações em genes que codificam para síntese de proteínas essenciais para o funcionamento do lisossomo, como proteínas integrais de membrana e hidrolases (Braulke e Bonifacino, 2009). Como consequência da mutação observa-se uma deficiência enzimática e posterior acúmulo de substrato no interior dos lisossomos (Futerman e Van Meer, 2004).

As DDL podem ser classificadas de acordo com o substrato acumulado nas seguintes categorias (Vellodi, 2005):

- a. Mucopolissacaridoses (MPS's);
- b. Glicoproteinoses;
- c. Esfingolipidoses;
- d. Outras lipidoses;
- e. Glicogenoses;
- f. Deficiências enzimáticas múltiplas;
- g. Defeitos no transporte de enzimas lisossômicas;
- h. Outros distúrbios causados por defeitos em proteínas lisossômicas.

Essas doenças podem apresentar o padrão de herança autossômico (como Doença de Pompe e Gaucher) ou ligado do cromossomo X (como Doença de Fabry, MPS II e Danon).

As DDL são progressivas, ou seja, a maioria dos indivíduos nascem com condições aparentemente normais e a doença progride com o passar dos anos, com exceção das doenças de depósito cujo acúmulo ocorre em ossos ou cartilagens – por exemplo, algumas mucopolissacaridoses (Wraith, 2002, 2004).

A sintomatologia varia de acordo com o tipo de DDL, todavia, alguns órgãos são mais afetados, onde o catabolismo do substrato é mais acentuado, como sistema nervoso central, medula óssea, olhos, coração, rins, pulmões, baço, pele e fígado (Wappner, 1993; Martins, 1999; Mehta e Widmer, 2006).

A neurodegeneração também é uma manifestação clínica importante e as regiões cerebrais mais afetadas pelo acúmulo são tálamo, córtex, hipocampo e cerebelo (Jesionek-Kupnicka *et al.*, 1997; Farfel-Becker *et al.*, 2011, Pressey *et al.*; 2012).

1.2 Doença de Fabry (DF)

No início da década de 60, de Duve caracterizou o lisossomo como a organela responsável pela digestão intracelular e reciclagem de macromoléculas. Lisossomos são organelas com pH ácido e contém enzimas capazes de realizar a degradação de macromoléculas e permeases (de Duve, 1959, 1983; Metha *et al.*, 2006; Platt *et al.*, 2012).

A deficiência lisossômica tem como consequência o acúmulo de macromoléculas não degradadas ou de produtos do catabolismo celular, o que interfere no funcionamento de outras proteínas, cujo resultado é um acúmulo secundário. Ambos acúmulos disparam uma cascata de eventos que impactam o funcionamento celular do lisossomo e de outras organelas, como mitocôndrias, retículo endoplasmático e Golgi (Platt *et al.*, 2012).

Com o desenvolvimento da microscopia eletrônica, foi possível descrever e entender as bases fisiológicas das DDL. A Doença de Pompe foi a primeira a ser classificada nessa categoria, seguida de outras doenças como as MPS's e a Doença de Fabry (Hers, 1963, Baudhuin *et al.*, 1964; Hashimoto *et al.*, 1965; Metha *et al.*, 2006).

A DF é uma doença progressiva causada pela deficiência na atividade enzimática da alfa galactosidase ácida (α -Gal A) e o posterior acúmulo de glicoesfingolípidos, principalmente globotriaosilceramídeo (Gb3), no interior dos lisossomos. O acúmulo afeta diversos tecidos e órgãos como endotélio, pele, coração e rins (Desnick *et al.*, 2001), exemplificado na Figura 1.

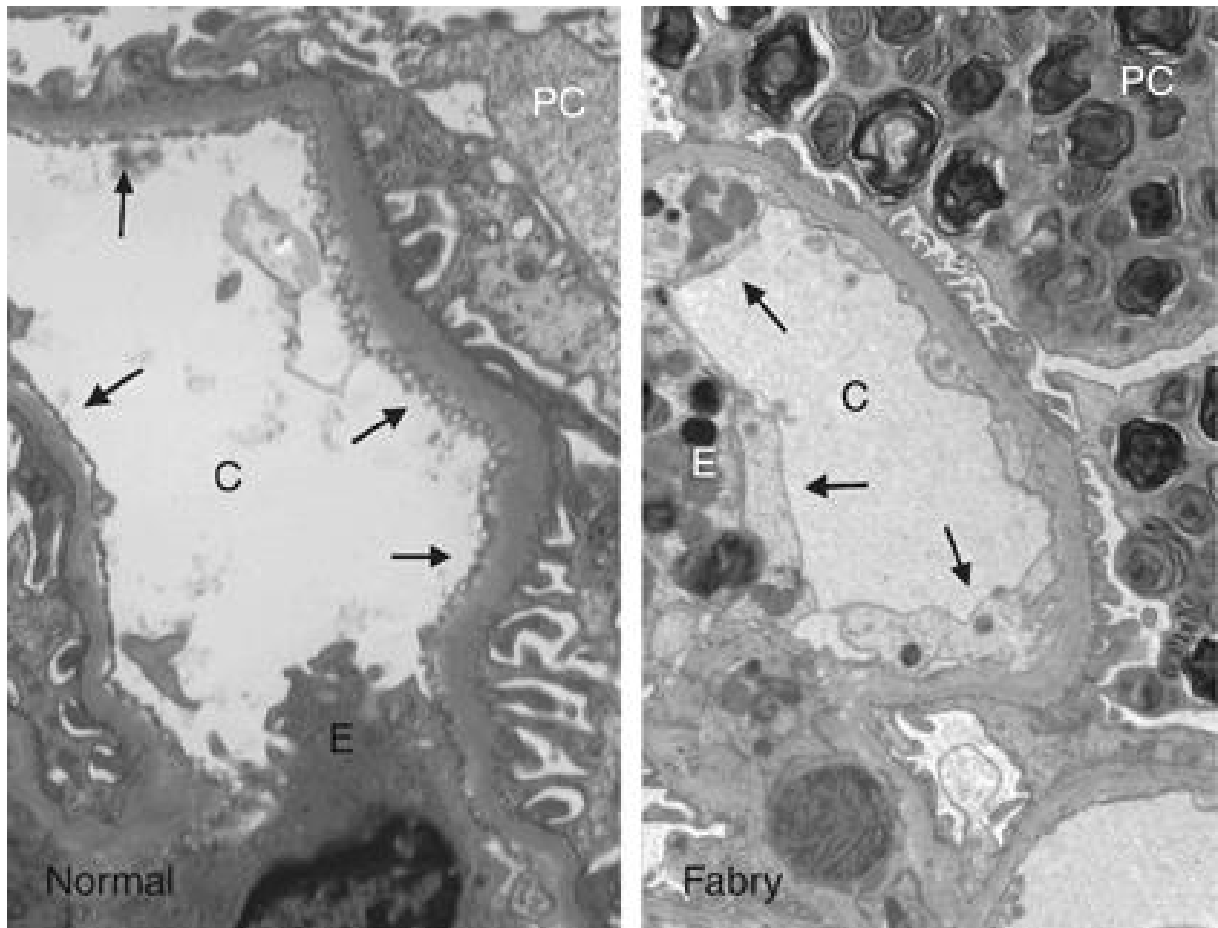


Figura 1. Endotélio de capilar (setas) de células do rim de indivíduo controle (à esquerda) e com Doença de Fabry (à direita). C = capilar; E = endotélio celular; PC = podócito. Fonte: Najafian *et al.*, 2001.

Também conhecida como Doença de Anderson-Fabry, foi descrita pela primeira vez em 1898 pelos médicos dermatologistas William Anderson e Johannes Fabry (Anderson, 1898; Fabry, 1898). Salvo a descrição da doença no mesmo ano, ambos trabalharam independentemente em dois casos diferentes de angioqueratomas *corporis diffusum*, uma das manifestações dermatológicas mais clássicas da doença (Metha *et al.*, 2006).

1.2.1 Epidemiologia

Devido à progressão da doença, a expectativa de vida dos pacientes é reduzida. Os homens apresentam uma redução na expectativa de vida de 16 anos quando comparados com população em geral - média de idade dos pacientes cerca de 58,2 anos – e as mulheres, redução de 4 anos - média de idade dos pacientes de 75,4 anos (Waldek *et al.*, 2009).

A incidência da Doença de Fabry é estimada em 1 a cada 40.000 em homens e 1 a 117.000 nascimentos no geral (Meikle, 1999; Desnick *et al.*, 2001). Porém, ela varia de acordo com a região estudada.

Até o último estudo demográfico realizado no Brasil, 126 pacientes (61 homens e 65 mulheres) estavam cadastrados no *Fabry Registry*. A idade média de início dos sintomas em homens é de 9,8 anos e nas mulheres, 11,4 anos. O diagnóstico em ambos os gêneros é realizado muito mais tarde do que o início dos sintomas, o que prejudica seu tratamento (Martins *et al.*, 2013).

Estudos recentes de triagens neonatais mostram que essa incidência pode ser maior do que o esperado. Cerca de 1 em 3.100 homens no noroeste da Itália, 1 em 7.800 homens em Washington nos Estados Unidos e 1 a cada 1.500 homens no Missouri nos Estados Unidos (Spada, *et al.*, 2006; Schiffmann *et al.*, 2017).

Para Doença de Fabry, as triagens são feitas dosando a atividade enzimática de α -Gal A em leucócitos e também em amostras eluídas de gotas de sangue secas em papel filtro (Chamoles *et al.*, 2001; Müller *et al.*, 2010).

Esse ensaio possibilita a identificação de homens hemizigotos e mulheres heterozigotas, porém, alguns indivíduos com atividade residual da enzima não são identificados e por isso sua interpretação deve ser realizada juntamente com resultados moleculares, afim de evitar falsos negativos (Sunder-Plassmann e Föding, 2006; Caudron *et al.*, 2010).

1.2.2 Diagnóstico

A primeira relação descrita entre a deficiência de α -Gal A e DF foi feita em 1967 por Brady *et al.* (1967).

Desde então, o diagnóstico bioquímico é realizado por meio da dosagem da atividade enzimática de α -Gal A no plasma sanguíneo, em leucócitos, na urina, em amostras de sangue total secas em papel de filtro e amostras de biópsias teciduais. A comprovação é feita pelo diagnóstico molecular, que consiste na busca por mutações no gene *GLA* (Desnick *et al.*, 1973; Desnick *et al.*, 1987; Winchester e Young, 2006).

Além do diagnóstico bioquímico e molecular é possível realizar a pesquisa de biomarcadores em tecidos, no plasma e na urina (Mills *et al.*, 2005; Young *et al.*, 2005; Winchester e Young, 2006).

1.2.3 Bases moleculares

A deficiência enzimática de α -Gal A característica da DF é causada por uma mutação no gene *GLA*, localizado no cromossomo X na região Xq22.1 (Desnick *et al.*, 2001).

Já foram descritas mais de 400 mutações no gene *GLA*, a maioria do tipo sentido trocado (*missense*), mas também existem mutações do tipo sem sentido (*nonsense*), deleções e inserções de um único nucleotídeo. A maioria dessas mutações foram identificadas em famílias, porém, já é descrito na literatura eventos independentes, causadas por mutações localizadas em dinucleotídeos CpG (Germain e Poenaru, 1999; Shabbeer *et al.*, 2002; Garman e Garboczi, 2004; Schaefer *et al.*, 2005; Turaça *et al.*, 2012).

O tipo de mutação no gene *GLA* irá determinar se a alteração será na quantidade de proteína disponível, na atividade enzimática ou em ambos. Em algumas mutações que resultam em RNA_m instável, por exemplo, tanto a quantidade da enzima, quanto sua atividade estão ausentes. Em contrapartida, mutações que envolvem o sítio catalítico da enzima não alteram a quantidade, somente a atividade enzimática. Por fim, mutações envolvidas no enovelamento proteico, ligação ao substrato ou com a rotatividade da proteína estão relacionadas com atividade enzimática residual (Pastores e Lien, 2002).

A correlação genótipo-fenótipo ainda é controversa na literatura devido à variação fenotípica observada nos pacientes. Cerca de 93% dos genótipos são associados com a variante clássica da doença – mutações do tipo sentido trocado (*missense*), do tipo sem sentido (*nonsense*) e com alteração do quadro de leitura (*frame-shift*) - enquanto nos indivíduos com a variante não clássica, a maioria das mutações é do tipo sentido trocado (*missense*) (Desnick *et al.*, 2001; Pastores e Lien, 2002).

Estudos também mostram uma correlação entre o tipo de mutação e a gravidade da doença: quanto mais cedo os sintomas se manifestam, mais órgãos são afetados (Schaefer *et al.*, 2005).

Como é uma doença cujo padrão de herança é ligado ao cromossomo X, mulheres heterozigotas seriam portadoras do gene, ou seja, não manifestariam o fenótipo. Porém, mutações em heterozigose em mulheres podem levar a fenótipos tão graves quanto o de homens (Whybra, 2001; Wang *et al.*, 2007).

1.2.4 Características clínicas

A Doença de Fabry, assim como os outros tipos de DDL, exhibe uma progressão, com alterações no quadro clínico a medida que a idade do paciente avança (Mehta *et al.*, 2006).

Dependendo da idade de início do aparecimento dos sintomas, os pacientes podem ser classificados em dois fenótipos distintos: uma variante clássica (ou tipo 1) e uma variante não clássica (ou *later-onset* ou tipo 2) (Mehta e Widmer, 2006).

De acordo com classificação do *Fabry Outcome Survey*, indivíduos com a variante clássica manifestam os sintomas ainda durante a infância e adolescência, devido à atividade reduzida de α -Gal A, menos que 1%. Em contrapartida, a variante não clássica da doença apresenta atividade de α -Gal A maior que 1% e, consequentemente, uma manifestação mais tardia dos sinais e sintomas, comumente durante a vida adulta (Mehta *et al.*, 2006; Eng *et al.*, 2007; Biegstraaten *et al.*, 2015).

Os sintomas clássicos iniciais, que surgem entre a primeira e segunda década de vida, compreendem o aparecimento de angioqueratomas, acroparestesias, infiltração de glândulas sudoríparas e *cornea verticillata* (Mehta *et al.*, 2006).

Angioqueratomas são lesões vasculares da pele, causadas por uma vasodilatação, que aparecem geralmente nos quadris, costas, coxas, nádegas, pênis e escroto, como é possível observar na Figura 2. Tanto os homens quanto as mulheres apresentam esse sintoma, que está presente em cerca de 80% dos pacientes. As lesões podem ser isoladas ou aparecerem agrupadas, o sangramento é raro, porém pode ocorrer, principalmente se estiverem localizadas na mucosa genital (Larralde *et al.*, 2004; Lidove *et al.*, 2006).



Figura 2. Angioqueratoma em paciente com Doença de Fabry. Fonte: Lidove *et al.*, 2006.

Acroparestesias são alterações de fibras do sistema nervoso periférico que acarretam em episódios de dor agonizante, principalmente nas extremidades do corpo cujos gatilhos são exercício físico, fadiga, estresse, mudanças de temperatura e umidade (Morgan *et al.*, 1990; Birklein, 2002; Lidove *et al.*, 2006).

As infiltrações de glândulas sudoríparas levam a quadros de modificações na sudorese, conhecidos como hipoidrose, ou até mesmo a ausência de suor, chamada de anidrose. A hiperidrose, excesso de suor, também ocorre na Doença de Fabry, porém não é tão comum quanto os dois quadros anteriores (Lidove *et al.*, 2006).

A *cornea verticillata* é uma lesão ocular característica da doença, descrita pela primeira vez em 1910. Ela é caracterizada por uma opacidade que se distribui de forma radial pela córnea, do centro à periferia (Fleischer, 1910), como é possível observar na Figura 3. Esse sintoma está presente em cerca de 70% dos pacientes, contudo, outras manifestações oculares também são observadas na DF, como tortuosidade dos vasos da retina e catarata (Sodi *et al.*, 2006, 2007).

Perda de audição e *tinnitus* (zumbido) também são sintomas já descritos em crianças com DF (Hegemann *et al.*, 2006; Keilmann *et al.*, 2009).

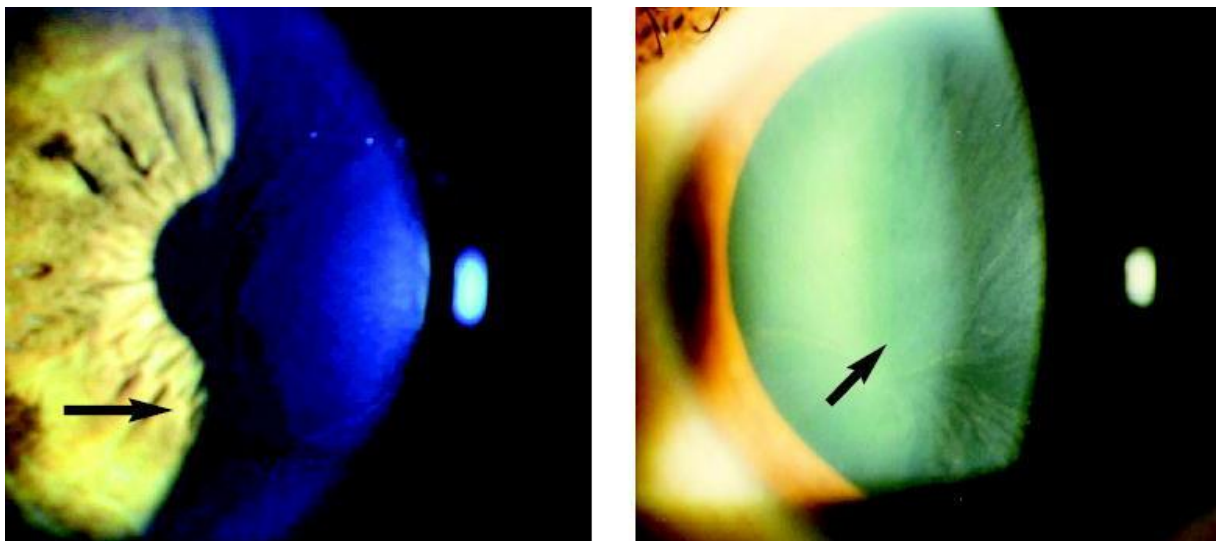


Figura 3. Cornea verticillata em paciente com Doença de Fabry. As setas indicam o padrão radial característico da doença. Fonte: Sodi *et al.*, 2006.

Da terceira à quinta década de vida surgem as complicações renais, cardíacas e neurológicas, que são as principais causas de morte prematura entre os pacientes (Mehta *et al.*, 2006).

As manifestações renais são mais comuns em homens que em mulheres, que manifestam os sintomas mais tardiamente. A nefropatia na Doença de Fabry é caracterizada pela proteinúria, microalbuminúria, e por alterações estruturais como esclerose glomerular, atrofia tubular e fibrose intersticial. Devido às alterações renais, a hipertensão é um sintoma que se desenvolve à medida que a doença progride. Dependendo da extensão das lesões renais, os pacientes se submetem à hemodiálise ou ao transplante renal (Sunder-Plassmann, 2006; Torra, 2008).

As complicações cardíacas são presentes tanto em homens quanto em mulheres, porém se manifestam mais tardiamente no sexo feminino. São caracterizadas por hipertrofia cardíaca, principalmente hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência coronária, alterações na condução atrioventricular, arritmias, dentre outros. Eventos isquêmicos e infartos do miocárdio também são observados, porém em uma incidência menor, acometendo cerca de 2% dos pacientes (Linhart, 2006).

Às vezes, associados ao envolvimento cardíaco, são observados sintomas como dispneias, obstrução das vias aéreas e tosse seca (Magage *et al.*, 2007; Svensson *et al.*, 2015).

As alterações neurológicas na DF envolvem o sistema nervoso central e o periférico, com depósito de glicoesfingolípideos em células de Schwann, em gânglios das raízes dorsais e em neurônios (Schiffman e Moore, 2006).

As modificações no sistema nervoso central se manifestam como complicações cerebrovasculares, hemiparesias, tonturas, náuseas, nistagmo, dores de cabeça, perda de memória e de consciência. Também é descrito o risco aumentado de acidentes vasculares encefálicos, predominantemente devido à arteriopatia da circulação vertebrobasilar (Mitsias e Levine, 1996; Schiffman e Moore, 2006; Moore *et al.*, 2007; Tuttolomondo, *et al.*, 2013).

Já a neuropatia periférica, se manifesta como acroparestesias, redução na sensação de calor e frio, e até mesmo alterações gastrointestinais, como diarreia, dor abdominal, náusea, constipação, dentre outros (Tuttolomondo, *et al.*, 2013; Zar-Kessler *et al.*, 2016).

Pacientes com a variante não clássica da doença permanecem assintomáticos, no geral, até a vida adulta, sendo também conhecidos como variante cardíaca e variante renal, manifestando a sintomatologia descrita anteriormente para estes sistemas (Nakao *et al.*, 1995, 2003; Mehta e Widmer, 2006).

1.2.5 Tratamento

Desde 2001, o tratamento padrão para Doença de Fabry é a terapia de reposição enzimática (TRE), que consiste na infusão intravenosa quinzenal da enzima recombinante nos pacientes. Existem duas preparações da enzima recombinante disponíveis no mercado: agalsidase alfa, administrada a uma dosagem de 0,2 mg/kg, e agalsidase beta, administrada a uma dosagem de 1 mg/kg. No Brasil, as duas preparações de enzima recombinante são autorizadas para comercialização (Schiffmann *et al.*, 2001; Alegra *et al.*, 2012).

Estudos mostram que o uso da terapia por seis meses é capaz de reduzir os níveis de Gb3 no plasma, urina e no endotélio capilar, melhorando a estrutura e função de órgãos como coração, pele e rins, reduzindo episódios de dor e melhorando a qualidade de vida do paciente no geral (Eng *et al.*, 2001; Wilcox *et al.*, 2004; Metha *et al.*, 2009a; Schiffmann *et al.*, 2000, 2017).

Entretanto, não se sabe ao certo os efeitos a longo prazo da TRE e alguns indivíduos desenvolvem respostas imunes e efeitos colaterais como febres e rigores. Como as enzimas recombinantes apresentam meia vida curta, é necessário que a infusão seja realizada periodicamente, o que torna o tratamento exaustivo para o paciente (Wilcox *et al.*, 2004, Motabar *et al.*, 2010; Alegra *et al.*, 2012).

Também não há evidências da idade ideal para início da terapia, que difere de país para país. Em geral, o desenvolvimento dos sinais e sintomas são indicativos, de forma que os benefícios devem ser contrabalanceados com a carga exaustiva do tratamento (Schiffman *et al.*, 2017).

Juntamente com a TRE, alguns pacientes realizam o tratamento das comorbidades, visando controle dos sintomas dermatológicos, cardíacos, renais e neurológicos, principalmente.

São ministrados fármacos como carbamazepina e gabapentina para o tratamento das neuropatias, visando à redução dos episódios de dor. Alguns pacientes também fazem uso de medicamentos para controle gastrointestinal e dos angioqueratomas, por meio de terapias a laser ou com nitrogênio líquido, porém a eficácia desses métodos não é muito bem descrita (Lenoir *et al.*, 1977; Argoff *et al.*, 1998; Möhrenschrager *et al.*, 2003; Eng *et al.*, 2006; Motabar *et al.*, 2010).

Todavia, o foco principal é o controle das alterações cardiovasculares e renais já que estas são as principais causas de morte prematura entre os pacientes. Inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), bloqueadores de canais de cálcio, estatinas e betabloqueadores são exemplos de fármacos utilizados para esta finalidade. Quando o paciente atinge estágios finais da falência renal, a hemodiálise e o transplante são alternativas habitualmente utilizadas, porém, estudos mostram que mesmo após o transplante bem-sucedido, os prejuízos em órgãos como coração e cérebro perduram (Kramer *et al.*, 1985; Eng *et al.*, 2006; Metha *et al.*, 2009b; Motabar *et al.*, 2010).

1.2.6 Alterações comportamentais

Como descrito anteriormente, as DDL apresentam um componente neurodegenerativo importante, que nos pacientes com DF se manifestam como as neuropatias, risco aumentado de acidentes vasculares encefálicos e lesões da substância branca do cérebro (Wraith, 2004; Fellgiebel *et al.*, 2005; Moore *et al.*, 2007; Sigmundsdottir *et al.*, 2014).

O acúmulo no Sistema Nervoso Central também exhibe componente neuropsicológico importante, que se manifesta como alterações de comportamento, prejuízos cognitivos e transtornos de humor, como ansiedade e depressão (Laney *et al.*, 2010; Bolsover *et al.*, 2014; Sigmundsdottir *et al.*, 2014).

A depressão é um sinal frequente nos pacientes, no entanto, não é diagnosticado de forma adequada. De 15% a 60% dos pacientes com DF exibem esse transtorno de humor e, ao contrário do observado na população saudável, a incidência de depressão na Doença de Fabry é maior nos homens do que nas mulheres (Grewal, 1973; Cole *et al.*, 2007).

Os prejuízos cognitivos também seguem este padrão: os homens apresentam menor velocidade no processamento da informação e desempenho reduzido em medidas de funções executivas como verbalização e raciocínio, enquanto as mulheres apresentam um desempenho semelhante ao de pessoas sem a doença (Segal *et al.*, 2010, Sigmundsdottir *et al.*, 2014).

Além dos transtornos de humor, os pacientes com DF apresentam comprometimento do ciclo sono/vigília.

Talbot *et al.* (2017) demonstraram por meio de análise polissonográfica, que cerca de 50% dos pacientes com Doença de Fabry apresentam distúrbios respiratórios do sono e mais de 90% possuem movimento periódico de membros inferiores durante o sono.

A sonolência diurna excessiva é outra alteração relatada por cerca de 68% dos pacientes, superando a incidência de outros sintomas clássicos da doença, como angioqueratomas e acroparestesias (Duning *et al.*, 2009). No cenário clínico, as causas de sonolência diurna são a apneia obstrutiva do sono e movimento periódico de membros inferiores durante o sono. Porém, existem outros fatores de risco associados a esta condição como obesidade, depressão, idade, transtornos do sono relacionados ao ritmo circadiano, uso de medicamentos como benzodiazepínicos, dentre outros (Slater e Steier, 2012).

Frazen *et al.* (2015) sugerem que a sonolência diurna excessiva na Doença de Fabry pode ser consequência de uma apneia obstrutiva do sono, devido ao depósito de esfingolipídios na musculatura lisa das vias aéreas.

Outros pressupõe o desenvolvimento de uma apneia central, causada por uma perda de substância branca no cérebro (Robbins *et al.*, 2005; Duning *et al.*, 2013). Também existe a hipótese de que a sonolência diurna excessiva tem relação maior com a depressão do que com apneia (Frazen *et al.*, 2015). Todavia, a real causa permanece desconhecida.

O ciclo sono/vigília é uma manifestação comportamental que apresenta um forte componente rítmico. A regulação do sono foi descrita por Borbély, em 1962, pelo modelo de dois processos. Segundo este modelo, a propensão ao sono depende de um componente homeostático (processo S) e de um componente circadiano (processo C), controlado pelo sistema de temporização – conhecido por “relógio biológico” (Borbély, 1982).

O processo homeostático é resultado do débito de sono, que aumenta durante a vigília e diminui durante o sono, e oscila com uma periodicidade de aproximadamente 24 horas, apresentando assim, um ritmo circadiano de propensão ao sono, como está exemplificado na Figura 4 (Borbély e Achermann, 1999).

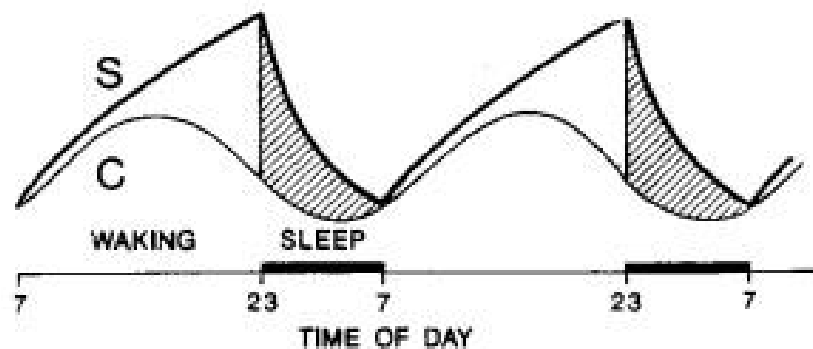


Figura 4. Esquema representativo do modelo de dois processos para propensão ao sono, processo S (processo homeostático) e processo C (processo circadiano). Fonte: Borbély e Achermann, 1999.

1.3 Cronobiologia e ritmos biológicos

Cronobiologia é a ciência que estuda fenômenos temporais na matéria-viva, na qual está incluso o estudo dos ritmos biológicos.

Ritmos biológicos são fenômenos adaptativos e antecipatórios a mudanças periódicas do meio ambiente, resultado da rotação da Terra ao redor do seu próprio eixo e do Sol.

Porém, a manifestação desses ritmos não é somente uma resposta a mudanças ambientais. Essas oscilações são autossustentadas por um sistema de temporização endógeno, de forma que os ritmos biológicos são produtos da interação entre osciladores endógenos, geneticamente determinados, e pistas ambientais, chamadas de sincronizadores ou *Zeitgebers* (Arendt *et al.*, 1989; Reinberg e Ashkenaz, 2003).

O principal *Zeitgeber* para os mamíferos é o sinal fótico, a variação entre a presença e ausência de luz, porém outros sinais não fóticos são capazes de sincronizar os osciladores endógenos como a alimentação, sons, odores e até mesmo o toque (Turek, 1983; Reinberg e Ashkenaz, 2003; Schibler *et al.*, 2003).

Há mais de 40 anos foi descrita pela primeira vez a estrutura do cérebro responsável por interpretar o sinal fótico e enviá-lo aos outros osciladores endógenos do corpo. Essa estrutura é o núcleo supraquiasmático (SCN), presente no hipotálamo e, devido ao papel que desempenha, é conhecido também como sincronizador central ou “marca-passo” (Moore e Eichler, 1972; Dijk e Archer, 2009).

O SCN recebe projeções, via trato retino-hipotalâmico, de células ganglionares presentes na retina, que tem a função de captar o sinal luminoso. Uma vez captado este sinal, as células ganglionares metabolizam um pigmento fotossensível chamado de melanopsina, que excita neurônios do trato retino-hipotalâmico, cujas eferências vertem ao sincronizador central (Berson *et al.*, 2002; Dijk e Archer, 2009).

Tecidos e órgãos periféricos são sincronizados por intermédio de sinais elétricos, neuroquímicos, endócrinos ou metabólicos enviados pelo SCN informando assim, sobre a fase do dia, clara ou escura (Dibner *et al.*, 2010).

Na Figura 5 está representado este processo de sincronização pelo sinal fótico em humanos e roedores, assim como as consequentes manifestações rítmicas derivadas deste sinal.

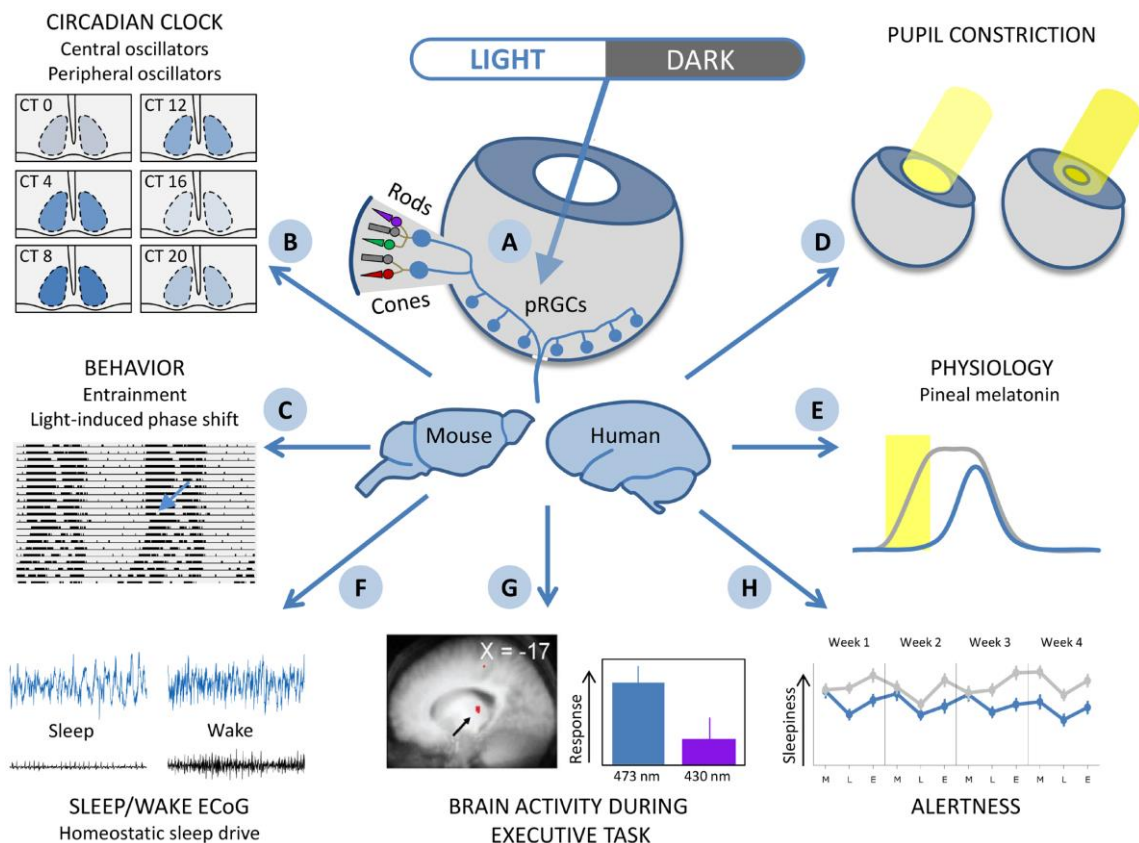


Figura 5. Esquema representativo dos efeitos da variação claro e escuro sobre a retina e posterior ação na periferia, via núcleo supraquiasmático. Fonte: Dijk e Archer, 2009.

A oscilação endógena responsável por gerar os ritmos biológicos está presente em todas as células nucleadas do organismo e é arquitetada por uma maquinaria molecular chamada de “genes-relógio”, composta por alças de *feedback* positivo e negativo, que lhe conferem a característica oscilatória (Ko e Takahashi, 2006).

Contudo, somente as células do núcleo supraquiasmático exibem uma oscilação autossustentada, que se manifesta mesmo isolada do organismo, ao contrário de células de osciladores periféricos, cujo ritmo é amortecido após alguns ciclos (Yamazaki, 2000).

Por isso, a ação do SCN é imprescindível para a manutenção da ordem temporal interna - sequência temporal entre os ritmos biológicos - que garante a coordenação dos processos através do seu papel como sincronizador central.

Os ritmos biológicos são ubíquos na natureza, sendo observados em organismos unicelulares e multicelulares e quando apresentam um período de 24 ± 4 horas são chamados ritmos circadianos.

Um exemplo de ritmo circadiano é o de atividade e repouso, do ciclo sono/vigília. Apesar do ritmo do ciclo sono/vigília ser o ritmo circadiano mais evidente outros como variação da temperatura corporal, secreção hormonal, performance cognitiva, função cardiometabólica e humor também são descritos na literatura (Pittendrigh, 1960, Arendt *et al.*, 1989).

Dependendo da forma como o organismo do indivíduo se adapta ao período de 24 ± 4 horas aliado à maquinaria molecular responsável pela geração oscilatória, são observados fenótipos circadianos distintos, chamados de cronotipos (Kerkhof, 1985; Roenneberg, 2015; Fischer *et al.*, 2017).

Os ritmos circadianos estão submetidos às preferências individuais determinadas pelos cronotipos, ou seja, os seus valores de máximo e mínimo diferem de acordo essas preferências (Kerkhof, 1985; Fischer *et al.*, 2017). Por exemplo, perfis mais tardios, conhecidos como vespertinos, vão dormir mais tarde que perfis menos tardios, conhecidos como matutinos.

Os cronotipos são determinados geneticamente por uma rede de genes, porém outros fatores como gênero e idade são capazes de influenciar na sua manifestação (Duarte *et al.*, 2014; Fischer *et al.*, 2017; Kalmbach *et al.*, 2017).

A manifestação diferenciada dos perfis circadianos é refletida no horário de dormir e também em outros ritmos como a variação da temperatura corporal e a biossíntese de melatonina, conhecidos como cronobióticos ou marcadores de ritmicidade biológica. Na espécie humana, a propensão ao sono é facilitada durante a fase de síntese de melatonina e nos valores mínimos da temperatura corporal (Borbély e Achermann, 1999; Lewy, 1999; Arendt, 2006).

1.3.1 Melatonina

A melatonina é um metoxiindol encontrado em diversos organismos na natureza como bactérias, plantas, seres unicelulares, invertebrados e vertebrados (Claustrat *et al.*, 2005; Arendt, 2006; Cipolla-Neto *et al.*, 2014).

Em mamíferos, a melatonina é sintetizada pela glândula pineal e também em órgãos extra pineais, como retina e trato gastrointestinal. Em condições fisiológicas, sua biossíntese ocorre durante a noite, na fase escura do dia, e seu ritmo endógeno de produção é orquestrado pelo núcleo supraquiasmático, sendo suprimido pela luz. Dessa maneira, sua síntese expressa um ritmo circadiano que está fortemente sincronizado com a fase noturna e a ausência de luz, desempenhando papel de *Zeitgeber* endógeno na manifestação de outros ritmos biológicos, como da temperatura corporal e do ritmo de atividade e repouso (Huether, 1993; Claustrat *et al.*, 2005; Cipolla-Neto *et al.*, 2014).

Após a captação do sinal fótico pelas células da retina, há um aumento de atividade dos neurônios do núcleo supraquiasmático, que liberam ácido gama-aminobutírico (GABA), inibindo a via de comunicação entre o sincronizador central e a glândula pineal. Com a redução do sinal luminoso, na fase escura do dia, a atividade dos neurônios do SCN também diminui, reduzindo a liberação de GABA e permitindo a comunicação do sincronizador central com a glândula. Essa comunicação é realizada pelo neurotransmissor noradrenalina, cuja ligação aos receptores α_1 e β_1 adrenérgicos estimulam a biossíntese de melatonina pela glândula pineal (Figura 6) (Reiter *et al.*, 1991; Wagner *et al.*, 1997; Moore e Silver, 1998).

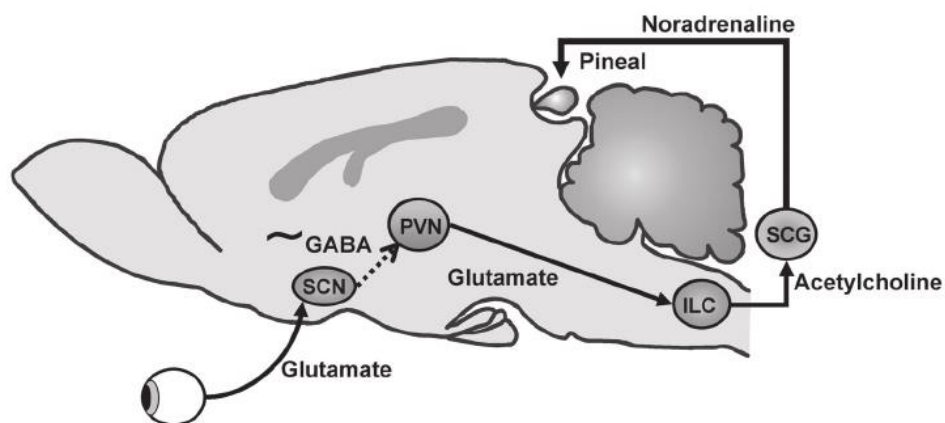


Figura 6. Neurotransmissão envolvida na biossíntese de melatonina em roedores. Fonte: Richter *et al.*, 2004.

A biossíntese de melatonina depende de seu precursor, o aminoácido triptofano, que é convertido em 5-hidroxitriptofano pela enzima triptofano hidroxilase. Em seguida há a conversão em serotonina por uma descarboxilase de aminoácidos aromáticos. A partir da serotonina, a melatonina é formada por reações catalisadas por duas enzimas: uma acetiltransferase - AANAT, enzima passo limitante - e uma metiltransferase – HIOMT (Figura 7) (Wurtman *et al.*, 1963; Reiter *et al.*, 1991). Após sua biossíntese, a melatonina atinge a circulação sanguínea e outros fluidos como a saliva; é metabolizada no fígado e excretada, principalmente, como 6-sulfatoximelatonina na urina (Reiter *et al.*, 1991; Arendt, 2006; Cipolla-Neto *et al.*, 2014).

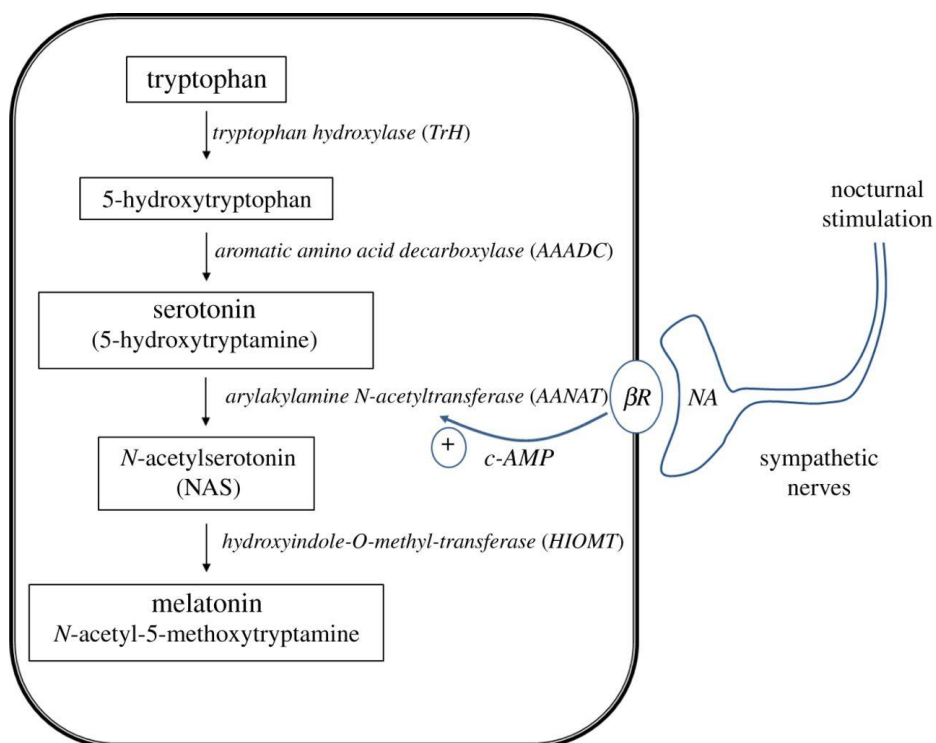


Figura 7. Esquema representativo da biossíntese de melatonina nas células da glândula pineal após estimulação adrenérgica. Fonte: Jones *et al.*, 2015.

A melatonina também desempenha papel antioxidante, sendo capaz de neutralizar espécies reativas de oxigênio, como os radicais hidroxila e o peróxido de hidrogênio, e estimular a atividade de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, glutatona peroxidase e glutatona redutase. Também pode aumentar a eficiência da fosforilação oxidativa na mitocôndria, reduzindo o escape de elétrons e ampliar a eficiência de outros agentes antioxidantes, como a das vitaminas E e C (Reiter *et al.*, 1997, 2003; Mayo *et al.*, 2002).

Além das suas ações como organizador circadiano e modulador fisiológico do organismo, a melatonina possui efeito sobre transtornos de humor e performance cognitiva.

Furio *et al.* (2007) demonstrou que administração de melatonina para pacientes com doença de Alzheimer foi capaz de promover uma melhora tanto na qualidade do sono quanto no desempenho cognitivo dos pacientes (Furio *et al.*, 2007).

Indivíduos que apresentam transtorno depressivo exibiram redução nos níveis séricos de melatonina e a administração de agonistas de melatonina aos pacientes possuiu efeito antidepressivo (Brown *et al.*, 1987; Dubovsky e Warren, 2009).

Esse resultado também é observado em modelos animais: animais *knockout* para o receptor de melatonina apresentam características de um comportamento tipo depressivo e quando administrada melatonina para esses animais, observa-se uma melhora no desempenho no teste de nado forçado, o que indica uma ação antidepressiva da melatonina (Overstreet *et al.*, 1998; Weil *et al.*, 2006).

1.4. Ritmos biológicos e Doença de Fabry

Em estudos realizados pelo nosso grupo foi observada ausência de oscilação na expressão de “genes-relógio”, componentes do sistema de temporização de fibroblastos em culturas de pacientes com DF. Não obstante, a inibição lisossômica aguda e crônica, acarretou em avanço de fase na expressão de genes-relógio em cardiomiócitos, o que sugere um papel do lisossomo na regulação da maquinaria molecular do sistema de temporização (dados não publicados).

A relação entre lisossomos e sistema de temporização pode ir além da maquinaria molecular, de forma que a alteração metabólica da Doença de Fabry, causada pela disfunção lisossômica pode influenciar o funcionamento de estruturas como o núcleo supraquiasmático, impactando, dessa forma a ritmicidade biológica dos pacientes. Estas alterações poderiam se manifestar na forma de modificações comportamentais do ritmo de atividade e repouso e nos ritmos dos cronobióticos, melatonina e temperatura corporal.

Estudos realizados com pacientes com MPS, outro tipo de DDL, sugerem uma alteração rítmica nesses indivíduos, com início de atividade mais tardio acompanhado de um aumento dos níveis de 6-sulfatoximelatonina durante o dia, o que indica uma inversão de fase nesses pacientes (Guerrero *et al.*, 2006).

Modelos animais para MPS também apresentam uma inversão de fase, com aumento de atividade durante a fase clara do dia - fase de repouso para roedores -, o que corrobora a hipótese de alteração rítmica como consequência de uma disfunção lisossômica (Canal *et al.*, 2010). Nesses modelos animais há um comprometimento na retina (Heldermon *et al.*, 2007), que pode ser uma possível explicação para a inversão de fase observada.

As alterações observadas para as MPS's podem estar relacionadas com modificação da ordem temporal interna, dos ritmos biológicos e consequente modificação no padrão de biossíntese da melatonina, e talvez, na manifestação de outros ritmos biológicos como a variação da temperatura corporal, o que pode explicar o comprometimento do ciclo sono/vigília na DF, representado pelos distúrbios respiratórios, movimentos durante a noite e sonolência diurna excessiva (Duning *et al.*, 2009; Talbot *et al.*, 2017).

A alta incidência de depressão nos pacientes também corrobora essa hipótese. Como descrito anteriormente, os níveis de séricos de melatonina estão reduzidos em sujeitos com depressão, o que sugere uma alteração rítmica consequente do distúrbio de humor (Brown *et al.*, 1987).

Além das alterações rítmicas mais evidentes, outras funções desempenhadas pela melatonina podem estar prejudicadas na DF, como sua ação antioxidante. É descrito na literatura um aumento dos níveis de glutathione plasmática e na atividade da catalase em pacientes com DF, o que pode estar relacionado com um desequilíbrio da ação antioxidante da melatonina (Müller *et al.*, 2012).

Considerando as alterações comportamentais, principalmente do ciclo sono/vigília na Doença de Fabry e as relações descritas entre ciclo sono/vigília, ritmos biológicos e melatonina, nesse trabalho, procuramos avaliar a ritmicidade biológica de pacientes com Doença de Fabry, investigando ritmo de atividade e repouso e de melatonina nestes indivíduos.

2 OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho foi investigar se a disfunção lisossômica presente na Doença de Fabry exerce algum efeito sobre o sistema de temporização e na manifestação dos ritmos biológicos nos pacientes.

2.1 Objetivos específicos

- i. Avaliar parâmetros subjetivos de qualidade de sono e de cronotipo de pacientes com Doença de Fabry e compará-los com indivíduos saudáveis, sem a doença.
- ii. Avaliar o perfil rítmico de atividade e repouso de pacientes com Doença de Fabry e compará-los com indivíduos saudáveis, sem a doença.
- iii. Avaliar o perfil diário de melatonina na Doença de Fabry.

3 MÉTODOS

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de São Paulo de acordo com a resolução CNS 466/12 conforme parecer número 0512/2016 (Anexo 2).

Todos os participantes maiores de 18 anos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 3). Os participantes menores de 18 anos assinaram o Termo de Assentimento (Anexo 4) e os seus responsáveis, o TCLE.

3.1 Casuística

Estudo analítico, do tipo caso-controle, no qual foram avaliados os ritmos de atividade e repouso, temperatura corporal periférica e os perfis diários de 6-sulfatoximelatonina e de melatonina salivar como potenciais fatores associados à possível alteração de ritmicidade biológica nos pacientes com Doença de Fabry.

Os pacientes foram recrutados no Centro de Referência em Erros Inatos do Metabolismo (CREIM), no setor de Genética e Erros Inatos do Metabolismo do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Não foi realizado cálculo de amostra devido à característica da doença – doença rara – e pela falta de literatura para ser tomada como base.

3.1.1 Delineamento experimental

Os voluntários foram convidados a participar da pesquisa pela pesquisadora responsável e após assinatura do TCLE ou do Termo de Assentimento, eram solicitados a responder três questionários, usar o actígrafo e a coletar urina e saliva. Essas etapas não eram dependentes, ou seja, o voluntário podia responder aos questionários e fazer as coletas, porém não aceitar usar o actígrafo, por exemplo.

Os indivíduos que aceitaram realizar todas as etapas do delineamento experimental seguiram a sequência representada no Fluxograma 1.



Fluxograma 1. Esquema do delineamento experimental. Os questionários foram aplicados no dia imediato do início da actigrafia e as coletas de urina e saliva foram realizadas entre o início e término do registro. No dia seguinte ao término das coletas de urina e saliva, as amostras foram trazidas ao laboratório.

No dia do recrutamento, após assinatura do TCLE, os voluntários preencheram uma ficha com dados pessoais e com algumas questões referentes ao peso, altura, uso de medicação contínua e da TRE (Anexo 5).

Então, responderam aos questionários e deram início ao uso do actígrafo, durante no mínimo 10 dias. Durante o período de registro da actigrafia, realizaram a coleta de urina e saliva e as amostras foram trazidas ao laboratório no dia seguinte ao término dessas coletas. Para auxiliar no entendimento dos procedimentos, os voluntários receberam um folheto de instruções, elaborado pela pesquisadora responsável (Anexo 6).

Todos voluntários foram submetidos ao mesmo delineamento experimental. O grupo caso não foi recrutado concomitantemente com os controles e dois pacientes se recusaram a participar do estudo. O recrutamento do grupo caso foi realizado entre setembro de 2016 e maio de 2017 e do grupo controle entre dezembro de 2016 e maio de 2017, de forma que este recrutamento ocorreu entre o início e término do horário de verão (outubro de 2016 a fevereiro de 2017).

Após período de transição entre o início e término do horário de verão as coletas foram paralisadas e retomadas três semanas pós-transição afim de evitar possíveis vieses, pois é descrito na literatura que são necessários aproximadamente 14 dias para adaptação ao novo horário (Umemura, 2015).

Cinco indivíduos do grupo caso fizeram o registro da actigrafia na transição para o início de horário de verão. Destes indivíduos, quatro realizaram as coletas de urina e saliva um dia após a transição e, por esse motivo, iniciaram a coleta de urina às 20:00 e terminaram às 20:00 do dia seguinte e realizaram a coleta de saliva às 20:00 e terminaram às 22:00.

O voluntário restante fez a coleta três semanas após a transição.

3.1.2 Participantes

O grupo caso foi formado por pacientes maiores de 16 anos, do gênero masculino ou feminino, com diagnóstico bioquímico e molecular comprovados, estando ou não submetidos a terapia de reposição enzimática.

O critério de classificação do grupo caso em variante clássica ou não clássica foi realizado baseando-se na idade de início dos sintomas, informação obtida do prontuário dos pacientes. Caso essa informação estivesse ausente, foi realizada uma pesquisa pelo genótipo no *Fabry Database* (<http://fabry-database.org/mutants>).

No Anexo 7 consta a descrição mais detalhada do grupo caso com a classificação em variante clássica ou não clássica, de acordo com os critérios descritos anteriormente.

O grupo controle foi formado por amostragem de conveniência, recrutado da própria comunidade, também formado por maiores de 16 anos. Os controles foram pareados individualmente com os casos que aceitaram realizar a actigrafia, ou seja, um controle para cada paciente que usou o actígrafo. Os critérios de pareamento foram gênero e idade, com variação máxima de três anos para mais ou para menos.

3.1.2.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram: idade maior ou igual a 16 anos, ambos os gêneros e o diagnóstico bioquímico e molecular de Doença de Fabry.

3.1.2.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão desse estudo foram o uso prévio ou atual de análogos de melatonina, de álcool ou outras drogas ilícitas, gestação, diagnóstico de doenças crônicas sistêmicas e idade menor que 16 anos. Voluntários que solicitaram a retirada do TCLE em qualquer fase ou que não conseguiram entender as instruções do delineamento experimental foram retirados. Nenhum dos voluntários realizou viagens transmeridionais ou trabalho noturno no mês que antecedeu sua entrada no estudo.

Para o grupo controle, também foram critérios de exclusão o diagnóstico prévio de transtornos de humor e uso atual de fármacos das classes dos betabloqueadores, inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), inibidores da ECA e antagonistas do receptor de angiotensina (ARA), medicamentos que interferem na biossíntese de melatonina (Minneman e Wurtman, 1976; Campos *et al.*, 2013).

3.2 Questionários

Todos os questionários foram aplicados uma única vez, pela pesquisadora principal, no dia imediato de início do uso do actígrafo.

3.2.1 Escala de Sonolência Diurna Excessiva (*Epworth Sleepiness Scale – ESS*)

Elaborada em 1991 por Johns, a escala ESS refere-se à possibilidade de cochilar em oito situações cotidianas, sendo dessa forma, utilizada para mensurar sonolência diurna (Anexo 8). Para este estudo, foi aplicado o questionário validado para a língua portuguesa (Johns, 1991; Bertolazi *et al.*, 2009).

Os escores foram calculados de acordo com padronização descrita no método original, de forma que resultados de escores globais menores ou iguais a 10 foram considerados como sonolência diurna normal e entre 11 e 24, como sonolência diurna patológica (Johns, 1991).

3.2.2 Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (*Morningness-eveningness questionnaire - MEQ*)

O questionário MEQ foi descrito por Horne e Ostberg em 1976 e refere-se à determinação de diferenças individuais em fenótipos circadianos, denominados como preferências diurnas ou cronotipos (Anexo 9). Para este estudo, foi aplicado o questionário validado para língua portuguesa (Horne e Ostberg, 1976; Silva *et al.*, 2002).

Os escores foram calculados de acordo com padronização descrita no método original, de forma que resultados de escores globais entre 16 e 30 foram considerados como vespertino extremo, entre 31 e 41 como vespertino, entre 42 e 58 como intermediário, entre 59 e 69 como matutino e entre 70 e 86 como matutino extremo (Horne e Ostberg, 1976).

3.2.3 Índice de qualidade de sono (*Pittsburgh Sleep Quality Index – PSQI*)

O índice de qualidade de sono refere-se à determinação da qualidade e de transtornos do sono. O questionário é composto por componentes de qualidade subjetiva, latência, duração, eficiência, transtornos do sono, transtornos diurnos e uso de medicação para dormir (Anexo 10). Para este estudo, foi aplicado o questionário validado para língua portuguesa (Buysse *et al.*, 1989; Bertolazi *et al.*, 2010)

Os escores foram calculados de acordo com padronização descrita no método original, de forma que resultados de escores globais menores ou iguais a 5 foram considerados como qualidade de sono boa e maiores que 5 como qualidade de sono ruim, o que indica dificuldades maiores em pelo menos dois componentes do teste ou dificuldades moderadas em mais de três componentes (Buysse *et al.*, 1989).

3.3 Diário de atividade

O diário de atividade foi preenchido pelo voluntário, uma vez ao dia durante os dias de uso do actígrafo. As instruções quanto ao preenchimento foram realizadas no dia imediato do início do uso do actígrafo e foi feito um acompanhamento via telefone para sanar eventuais dúvidas e dificuldades.

O diário de atividade era composto por duas seções, uma seção de preenchimento do horário de início e término de atividades cotidianas como trabalho e atividade física e uma segunda seção com perguntas subjetivas referentes ao sono da noite anterior e cansaço no início e no fim do dia (Anexo 11).

Para análise das questões foi feita uma média por indivíduo dos dias de semana e dos finais de semana e feriados. Para as questões 1 e 2 foram considerados como dias de semana as noites de domingo para segunda-feira até quinta-feira para sexta-feira. Os finais de semana correspondem às noites de sexta-feira para sábado e de sábado para domingo. Para os feriados, foi considerada a noite que antecedeu o dia do feriado.

Para as questões 3, 4 e 5 foram considerados como dias da semana de segunda à sexta-feira e finais de semana sábado e domingo.

3.4 Registro actigrafia: atividade e repouso e temperatura corporal periférica

Após a aplicação dos questionários, os voluntários foram convidados a realizar o registro diário de atividade e repouso e de temperatura corporal periférica utilizando o actígrafo de pulso.

Nesse estudo foi padronizado o uso dos actígrafos *ActTrust* da marca *Condor Instruments* (Figura 8) por no mínimo, 10 dias, incluindo pelo menos um final de semana. Os voluntários foram acompanhados regularmente via telefone para esclarecimento de eventuais dúvidas e relato de queixas.

As instruções quanto ao uso do aparelho foram feitas pela pesquisadora principal, no dia imediato de início da actigrafia. Os voluntários foram instruídos a utilizá-lo no pulso do braço contra dominante e exposto à luminosidade.

A retirada do aparelho para atividades corriqueiras do dia a dia não era necessária, porém os voluntários foram alertados de removê-lo para banho, apesar do dispositivo ser à prova d'água. A retirada do actígrafo deveria ser registrada pelo botão de “evento” no aparelho e no diário de atividade. Em caso de alergia, a pesquisadora principal foi notificada e o uso suspenso imediatamente.

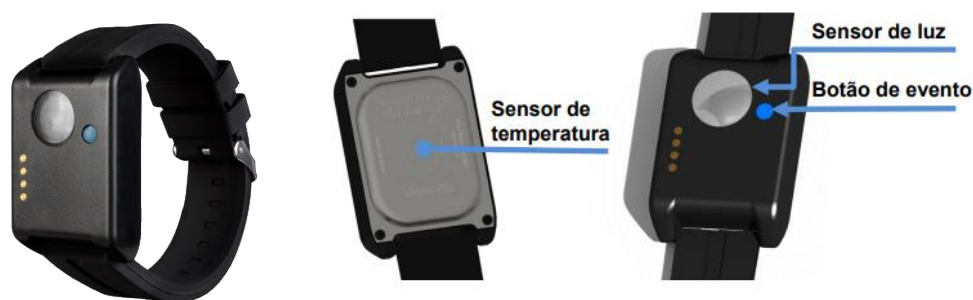


Figura 8. Modelo de actígrafo utilizado neste estudo, no qual estão representados os sensores de luz e temperatura e o botão de evento. Fonte: *Condor Instruments*.

Os actígrafos realizam o registro de atividade ou repouso por meio de um sensor chamado de acelerômetro, que é integrado a um processador de sinal. Esse processador considera o grau e a intensidade de movimento para gerar uma corrente elétrica, que o aparelho traduz como “Contagem”.

O registro de temperatura é realizado de forma semelhante por sensores presentes na superfície interna do dispositivo, como é possível observar na Figura 8.

Os dados de atividade e de temperatura obtidos a partir do registro de actigrafia foram transferidos ao programa recomendado pelo fabricante, *ActStudio* por intermédio de um adaptador USB, *ActDock*, ambos da marca *Condor Instruments*.

3.4.1 Pré-análise dos dados: parâmetros rítmicos

Como descrito anteriormente, o dispositivo registra a atividade e repouso como contagem de atividade por minuto. Esses valores foram convertidos para contagem por hora, ou seja, os valores entre às 06:01 e 07:00 foram somados e esta soma corresponde a contagem de atividade às 07:00 e assim por diante. Esse procedimento foi repetido em todos os dias para todos os indivíduos. Para essa análise, foi padronizado para todos os indivíduos o horário de início e de término de registo da actigrafia às 6:00

Para os valores de temperatura periférica, o procedimento adotado foi o mesmo, porém, foi feita a média dos registros por hora, e não a soma. Afim de evitar dados espúrios derivados da retirada do actígrafo, os valores nulos, de atividade e temperatura, foram substituídos pela média dos outros dias correspondente ao mesmo horário.

Os parâmetros rítmicos avaliados foram período, acrofase, mesor, amplitude e porcentagem de variação.

O período, calculado pelo método do Periodograma, refere-se ao tempo de duração de um determinado fenômeno rítmico. Acrofase, mesor e amplitude são parâmetros obtidos a partir de um ritmo que se ajusta a uma curva cosseno, obtidos por meio do método Cosinor. A representação gráfica desses parâmetros está exemplificada na Figura 9.

Nesse estudo foi padronizado o uso do programa *El Temps* para a análise pelo método do Periodograma e do Cosinor. Os dados foram considerados apenas quando o nível de significância era menor ou igual a 5% (Díez-Noguera, 2013).

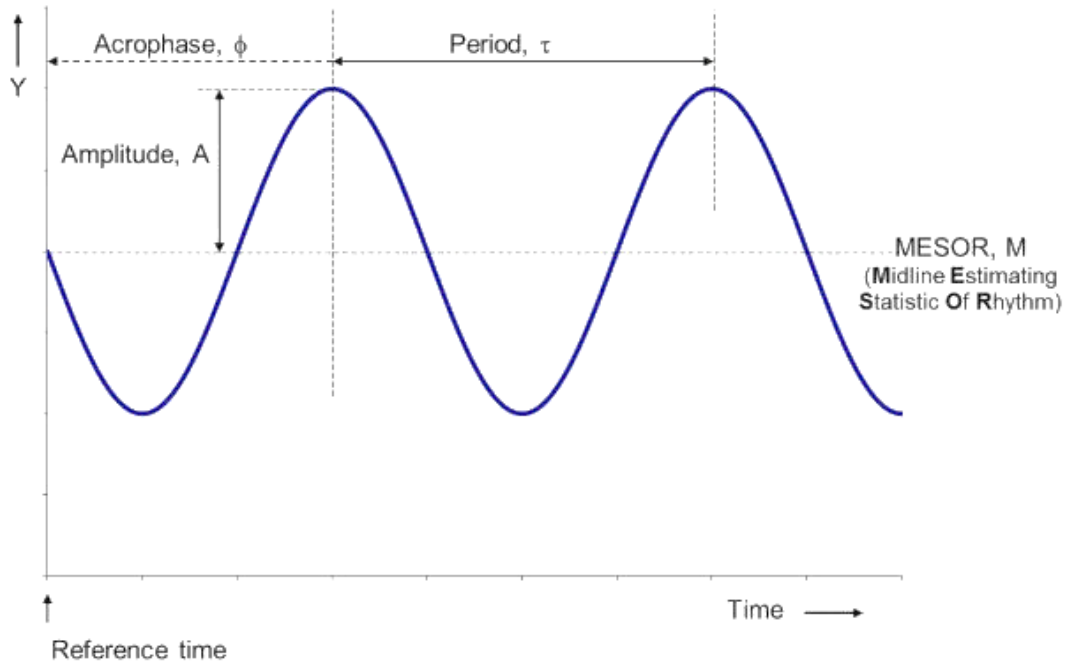


Figura 9. Representação gráfica dos parâmetros rítmicos obtidos a partir da análise pelo método do Cosinor. Fonte: Cornelissen, 2014.

Mesor (M) é acrônimo para *Midline Estimating Statistic Of Rhythm* e representa o valor médio da variável que está sendo investigada. Amplitude representa a distância entre mesor e o valor máximo ou mínimo, e, acrofase é a fase na qual determinada variável rítmica atinge o seu valor máximo em relação a uma referência temporal fixa. A porcentagem de variação (PV) é calculada também pelo método do Periodograma, e indica a estabilidade e proeminência de um determinado ritmo (Refinetti *et al.*, 2007; Díez-Noguera, 2013; Moraes *et al.*, 2013).

Também foram analisados os actogramas de atividade motora e temperatura periférica de cada voluntário. Actogramas são representações gráficas do padrão de atividade e inatividade de um indivíduo. Neste estudo, foi padronizado para representação gráfica dos actogramas o nascer do sol às 07:00 e o pôr do sol às 19:00, como é possível observar no Anexo 14. Porém, o registro médio de nascer e pôr do sol no período de coleta foi às 05:53 e 18:19, respectivamente.

Afim de analisar quão homogêneas e estáveis eram as acrofases médias de cada grupo, foi aplicado o teste de *Rayleigh z*, também do programa *El Temps*, que quantifica a uniformidade da distribuição por intermédio de um vetor (r). Quanto mais próximo de 1, maior coerência entre as acrofases dos indivíduos do grupo. Quanto menor o valor de r , menos coerentes são essas fases. Só foram considerados os valores de r cuja significância foi menor ou igual a 5% (Moraes *et al.*, 2013).

3.4.2 Pré-análise dos dados: meio período de sono

Outra forma de avaliação da fase circadiana é pelo meio período de sono, que corresponde ao horário da metade da duração do sono naquela noite (Kantermann e Burgess, 2017).

Para esse cálculo foram avaliados o horário de início, de término do sono e WASO (*wake time after sleep onset*), que corresponde ao tempo acordado após o início do sono. Essa etapa foi realizada para todos os indivíduos e em todos os dias que eles permaneceram com o actígrafo.

Os dados utilizados para essa análise foram obtidos a partir do programa *ActStudio*. Para os voluntários que fizeram o registro durante a transição do horário de verão, foi adicionada uma hora ao horário do meio período de sono após o início do novo horário.

A análise do meio período de sono foi semelhante a feita para as questões do diário de atividade. Foi calculada uma média para o meio período de sono durante os dias da semana e outra, para os finais de semana e feriados. As noites consideradas como dias de semana e como finais de semana e feriados foram as mesmas do que foi descrito anteriormente para as questões 1 e 2 do diário de atividade.

3.5 Coleta de urina e dosagem de 6-sulfatoximelatonina

Como descrito anteriormente, a melatonina é conhecida como marcador de ritmicidade biológica, já que sua biossíntese apresenta um perfil característico de pico durante a fase escura do dia e ausência de produção na fase clara do dia.

Por ser um método não invasivo e de fácil acesso, neste estudo, foi padronizada a dosagem do metabólito da melatonina na urina, 6-sulfatoximelatonina, como forma de aferir o perfil diário de biossíntese de melatonina nos voluntários (Lushington *et al.*, 1996).

No dia imediato de início da actigrafia, os voluntários foram convidados a realizar a coleta de urina para dosagem de 6-sulfatoximelatonina e receberam dois coletores de urina 24 horas. As instruções quanto às coletas foram feitas nesse mesmo dia e lembradas no dia da coleta, via telefone (Anexo 6).

A coleta foi realizada pelo voluntário, na sua própria residência, durante 24 horas contínuas em dois momentos: Dia e Noite. No coletor denominado Dia, o voluntário foi instruído a coletar toda a urina produzida da segunda urina da manhã até às 19:00. Então, deveria trocar para o coletor Noite, no qual ele faria toda a urina a partir das 19:00 até a primeira urina da manhã do dia seguinte (Fluxograma 1).

Não foi padronizado o dia de início da coleta, porém estes foram instruídos a não realizarem durante o final de semana, afim de evitar possível viés. Ficou a critério do voluntário o momento que daria início a coleta, Dia ou Noite, porém estes foram instruídos que a partir do início, esta deveria ser feita durante 24 horas contínuas sem interrupção. Após o término da coleta, os voluntários foram orientados a armazenar as amostras em geladeira comum, até o momento de a trazerem ao laboratório.

No dia seguinte ao término da coleta, os recipientes foram trazidos ao laboratório, foi aferido o volume total de urina presente em cada um, feitas alíquotas em tubos tipo *falcon* de 15 ml e armazenadas no freezer à -80°C para posterior dosagem.

A dosagem de 6-sulfatoximelatonina foi realizada por meio do ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA) pelo método colorimétrico com kit da *IBL International*. O ensaio foi feito em uniplicata e de acordo com as instruções do fabricante.

Afim de evitar possíveis vieses derivados de variações individuais na biossíntese de melatonina (Follenius *et al.*, 1995), os dados obtidos a partir da dosagem de 6-sulfatoximelatonina foram convertidos à porcentagem de carga excretada durante o dia e durante a noite.

Também é descrito na literatura que o montante de 6-sulfatoximelatonina excretada varia de acordo com idade e com o momento do dia em indivíduos saudáveis. Por isso, foi calculada uma razão de excreção de 6-sulfatoximelatonina noite/dia e, controles com valores fora do intervalo correspondente a sua idade, descrito por Mahlberg *et al.*, foram excluídos da análise de 6-sulfatoximelatonina (Mahlberg *et al.*, 2006).

3.6 Coleta de saliva e dosagem de melatonina salivar

A dosagem de melatonina salivar foi realizada com a finalidade de avaliar o ponto de inflexão na curva de secreção desta molécula - *dim-light melatonin onset* (DLMO), importante marcador de fase para o sincronizador central.

Os voluntários foram instruídos a coletar a saliva na mesma noite da coleta de urina. Noite, em intervalos regulares de 30 minutos, das 19:00 até às 21:30 em tubos plásticos com algodão específicos para coleta de saliva (Salivette®). A orientação sobre o procedimento foi realizada no dia imediato do início da actigrafia e lembrada no dia da coleta, via telefone (Anexo 6).

Os voluntários foram instruídos a colocar o algodão presente no interior do Salivette® sob a língua e aguardar por cerca de 2 minutos. Caso preferissem, também poderiam mastigar para estimular o fluxo de saliva. Por pelo menos 30 minutos antes e durante o período de coleta, foram orientados a não fumar, mascar chiclete ou tomar café. Assim como para a urina, os voluntários foram instruídos a armazenar os tubos plásticos com as amostras de saliva em geladeira comum até o dia seguinte, quando as trariam para o laboratório.

No dia seguinte da coleta, as amostras de saliva foram trazidas ao laboratório, centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos à 4°C, aliqüotadas em tubos de micro centrífuga da cor âmbar de 2 ml e armazenadas no freezer à -80°C. A dosagem de melatonina salivar foi feita em uniplicata por meio do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) pelo método colorimétrico de acordo com as instruções do fabricante, *IBL International*.

Os valores do DLMO foram calculados quando a concentração de melatonina na saliva atingiu valor de 3 pg/ml (Molina e Burgess, 2011).

3.7 Análise estatística

Neste estudo, foi padronizado o uso do programa *STATISTICA* (StatSoft, versão 10.0 para a análise estatística. Em todas as análises foram considerados como fatores preditores categóricos o gênero, grupo, terapia e uso de medicação que interfere na biossíntese de melatonina (fármacos das classes dos betabloqueadores, ISRS, inibidores da ECA e ARA).

As categorias referentes a cada fator estão expostas no Quadro 1. O único fator preditor contínuo considerado foi a idade.

Quadro 1. Fatores preditores e suas respectivas categorias utilizados para análise estatística.

Preditor categórico		Categorias	
Gênero	Masculino	Feminino	
Grupo	Controle	Fabry com variante clássica - <i>FB clássico</i>	Fabry com variante não clássica - <i>FB não clássico</i>
TRE	Controle	Fabry que não faz TRE - <i>FB não TRE</i>	Fabry que faz TRE – <i>FB TRE</i>
Medicação	Controle	Fabry que não utilizam continuamente fármacos das classes descritas anteriormente - <i>FB não medicação</i>	Fabry que utiliza continuamente fármacos das classes descritas anteriormente – <i>FB medicação</i>

O nível de significância adotado nesse estudo foi menor ou igual a 5% ($p \leq 0,05$).

Para as variáveis contínuas, foram aplicados os testes de Shapiro-Wilk, afim de testar a normalidade das variáveis, e de Levene, a fim de testar a homogeneidade das variáveis. As variáveis que apresentaram nível de significância menor ou igual a 5% para ambos testes descritos anteriormente, foram padronizadas pelo *z-score*. Para as variáveis de medidas repetidas, além destes dois testes, foi aplicado o teste de Mauchly, afim de avaliar a esfericidade das variáveis. Caso elas não fossem esféricas, foi utilizada a análise multivariada e não a de medidas repetidas.

Para avaliar o efeito dos fatores preditores sobre as variáveis dependentes, foi aplicado o modelo linear geral (GLM). Dependendo do número de variáveis dependentes foram aplicados GLM univariado, multivariado ou de medidas repetidas.

Para os escores globais dos questionários, foi aplicado o GLM univariado, tendo como variáveis dependentes os valores de escores globais obtidos em cada questionário aplicado, de sonolência diurna, de cronotipo e de qualidade de sono.

Para os parâmetros rítmicos de atividade e temperatura, foi aplicado o GLM multivariado, cujas variáveis dependentes são período, mesor, acrofase, amplitude e PV.

Para comparação entre os valores de vetor médio (r) do teste de *Rayleigh* z , foi aplicado o teste t de Student. Afim de evitar erros do tipo I (“falsos positivos”), foi feita a Correção de Bonferroni, que consiste em ajustar o nível de significância em relação ao número de grupos avaliados. Apenas para as comparações dos valores de r do teste de *Rayleigh* z , o valor de significância adotado foi de 1,7%.

O GLM de medidas repetidas foi aplicado para avaliar o meio período de sono (variáveis dependentes: meio período de sono nos dias de semana e nos finais de semana e feriados), para avaliar as questões do diário de atividade (variáveis dependentes: notas dias da semana e nos finais de semana e feriados) e para avaliar a dosagem de 6-sulfatoximelatonina (variáveis dependentes: porcentagem de carga excretada durante o dia e durante a noite). Como são análises de medidas repetidas, foi incluso também o fator tempo, que indica a diferença de variância observada entre as variáveis dependentes.

Para a análise associação dos questionários foi aplicado o teste do Qui-Quadrado e a identificação das categorias responsáveis pelo resultado significativo foi feita pela análise do resíduo ajustado (menores que -2 e maiores que 2). Quando a frequência esperada era inferior a 1 ou mais de 20% das células apresentaram frequência esperada inferior a 5, considerou-se o valor do teste exato de Fisher.

Os testes *a posteriori* de comparações múltiplas utilizados neste estudo foram o de Duncan – para testes independentes – e o de Newman-Keuls – para os testes de medidas repetidas.

Para quantificar a magnitude dos efeitos do GLM foi utilizado o teste de Cohen d (d) de Lenhard e Lenhard (Cohen, 1988; Lenhard e Lenhard, 2016), cuja interpretação dos valores está descrita na Tabela 1.

A quantificação do grau da associação, foi feita por meio das medidas de associação *V de Cramer* (V) para tabelas maiores que 2x2 ou pelo Phi (ϕ), para tabelas 2x2, cuja interpretação também está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição da interpretação das medidas de associação e dos tamanhos de efeito.

Magnitude do tamanho de efeito/associação	V de Cramer/Phi	Cohen d
Pequena	0,1	0,2
Moderada	0,3	0,5
Grande	0,5	0,8

O teste de correlação utilizado foi o linear de Pearson (r) e sua interpretação foi feita de acordo com o descrito por Mukaka. Valores de r entre 0,3 e 0,5 foram considerados como correlação baixa, entre 0,5 a 0,7 como moderadas, entre 0,7 e 0,9 altas e maiores que 0,9 como muito altas (Mukaka, 2012).

4 RESULTADOS

O grupo caso foi composto por 23 indivíduos, 16 com a variante clássica (11 em TRE, 10 mulheres) e 7 com a variante não clássica (4 em TRE, 6 mulheres).

A média de idade do grupo caso com variante clássica é de $36,4 \pm 3,0$ anos (IC95 30,2 – 42,5) e do grupo caso com variante não clássica de $44,0 \pm 4,6$ anos (IC95 34,7 – 53,7). O tempo médio de TRE foi de 2,7 anos, com mínimo de 1 ano e máximo de 9 anos.

O grupo controle foi composto por 14 indivíduos (10 mulheres), com média de idade de $42,4 \pm 3,2$ anos (IC95 35,9 – 49,0).

Descrição mais detalhada da amostra está representada nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Classificação por faixa etária dos grupos caso e controle do gênero masculino. O grupo caso está referenciado como FB clássico ou FB não clássico, de acordo com a classificação em variantes clássica ou não clássica dos pacientes. O uso de terapia de reposição enzimática será referenciado como FB TRE e sua ausência, FB não TRE.

<i>Homens</i>						
Faixa etária	Controle	FB clássico		FB não clássico		Total
		TRE	Não TRE	TRE	Não TRE	
Adolescente (10-19)	--	1	--	--	--	1
Jovem (20-24)	1	1	--	--	--	2
Adulto (25-59)	3	4	--	1	--	8
Idoso (≥ 60)	--	--	--	--	--	--
Total	4	6	--	1		11

Tabela 3. Classificação por faixa etária dos grupos caso e controle do gênero feminino. O grupo caso está referenciado como FB clássico ou FB não clássico, de acordo com a classificação em variantes clássica ou não clássica dos pacientes. O uso de terapia de reposição enzimática será referenciado como FB TRE e sua ausência, FB não TRE.

Mulheres						
Faixa etária	Controle	FB clássico		FB não clássico		Total
		<i>TRE</i>	<i>Não TRE</i>	<i>TRE</i>	<i>Não TRE</i>	
Adolescente (10-19)	--	--	--	--	--	--
Jovem (20-24)	--	--	2	--	--	2
Adulto (25-59)	10	5	3	2	3	23
Idoso (≥ 60)	--	--	--	1	--	1
Total	10	5	5	3	3	26

Todas as mulheres foram diagnosticadas com Doença de Fabry, porém nem todas apresentaram as manifestações clínicas da doença até a data de início do estudo. Das 16 mulheres descritas na Tabela 3, três eram assintomáticas e o restante, já havia manifestado os sintomas. No Anexo 7 estão descritas com mais detalhes essas informações.

No Anexo 12 estão descritas comorbidades descritas nos prontuários dos indivíduos que compõe o grupo caso. Dentre essas comorbidades, o diagnóstico de depressão foi descrito em quatro pacientes (3 com variante clássica e 1, não clássica) e ausente em oito voluntários. Nos pacientes restantes essa informação consta como desconhecida.

Também no grupo caso, oito pacientes (6 com a variante clássica e 2 com variante não clássica) relataram usar continuamente fármacos das classes descritas anteriormente como interferentes na biossíntese de melatonina. A descrição detalhada dos medicamentos de uso contínuo está reportada no Anexo 12.

4.1 Questionários

4.1.1 Escala de Sonolência Diurna Excessiva (*Epworth Sleepiness Scale – ESS*)

As médias dos escores globais de sonolência diurna em relação aos grupos deste estudo estão exibidas na Figura 10.

O modelo linear geral univariado mostrou que não houve diferenças significativas entre as médias dos escores globais de sonolência diurna para os fatores gênero, grupo, TRE, idade ou para a interação entre esses fatores, como é possível observar na Figura 10. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral univariado estão descritos no Anexo 13.

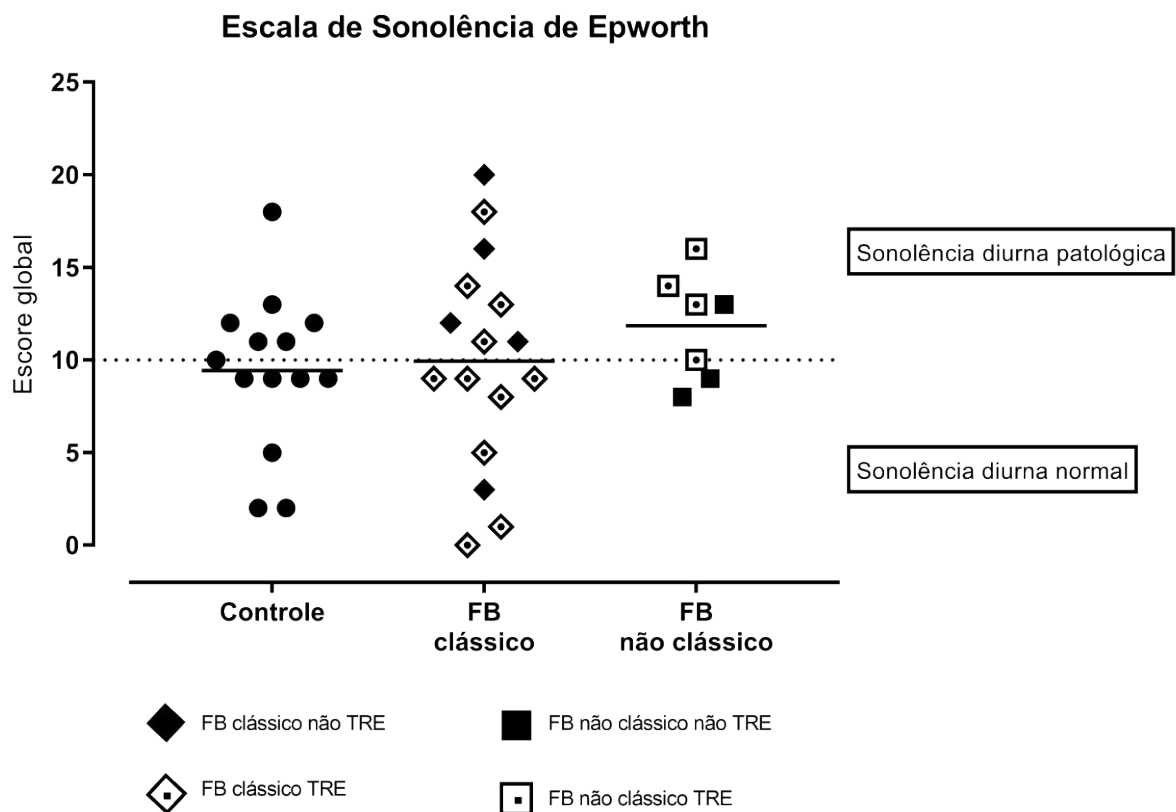


Figura 10. Escores globais para sonolência diurna obtidos a partir da aplicação do questionário ESS. Cada símbolo representa um indivíduo e as linhas contínuas representam a média de cada grupo (legenda abaixo do gráfico). A linha pontilhada representa o ponto de corte para as categorias, mostradas à direita do gráfico.

Controle (N = 14): $9,43 \pm 1,14$ (IC95 6,97 – 11,88); FB clássico (N = 16): $9,94 \pm 1,20$ (IC95 7,51 – 12,37); FB não clássico (N = 7): $11,82 \pm 1,81$ (IC95 8,18 – 15,53).

O modelo linear geral univariado mostrou efeito significativo do uso de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina sobre os escores globais de sonolência diurna, como pode ser visto na Figura 11 (*Medicação*: $F_{(1,30)} = 7,10$ $p = 0,01$ poder = 0,73).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Duncan mostrou que os pacientes que utilizam fármacos interferentes na biossíntese de melatonina apresentaram médias dos escores globais para sonolência diurna maiores do que os pacientes que não utilizam esses medicamentos ($p = 0,01$) e do que o grupo controle ($p = 0,02$).

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande do uso de medicação, em relação ao grupo de pacientes que não utilizam medicação ($d = 4,20$) e em relação ao grupo controle ($d = 3,77$).

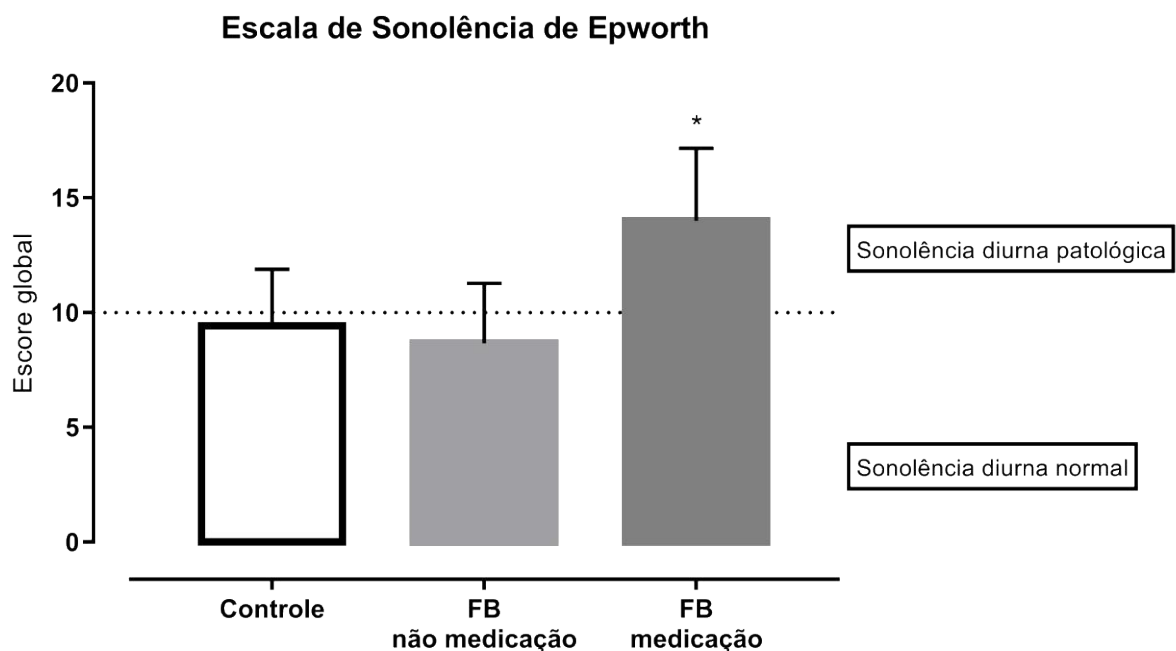


Figura 11. Efeito do uso de medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina sobre os escores globais de sonolência diurna (média + IC95). A linha pontilhada representa o ponto de corte para as categorias, mostradas à direita do gráfico.

Controle (N = 14): 9,43 ± 1,14 (IC95 6,97 – 11,88); FB não medicação (N = 15): 8,67 ± 1,23 (IC95 6,05 – 11,29); FB medicação (N = 8): 14,00 ± 1,34 (IC95 10,84 – 17,16).

* grupo FB medicação apresentou médias de escores globais para sonolência diurna maior do que os outros grupos ($p < 0,05$; Modelo linear geral univariado seguido pelo teste de Duncan)

Não há efeito da interação entre o uso de medicamentos e os outros fatores considerados no modelo. Os valores das comparações estão descritos no Anexo 13.

As frequências observadas e as respectivas porcentagens dos voluntários nas categorias sonolência diurna normal ou patológica estão retratadas na Tabela 4.

Tabela 4. Frequências dos grupos caso e controle nas categorias para sonolência diurna. Número de indivíduos presentes em cada categoria e entre parênteses a porcentagem em relação ao total de indivíduos no grupo.

	Controle	FB clássico		FB não clássico		Total
		FB TRE	FB não TRE	FB TRE	FB não TRE	
Patológica	6 (42,9%)	5 (31,2%)	3 (18,8%)	3 (42,8%)	1 (14,3%)	18
Normal	8 (57,1%)	6 (37,5%)	2 (12,5%)	1 (14,3%)	2 (28,6%)	19
Total	14 (100,0%)	11 (68,7%)	5 (31,3%)	4 (57,1%)	3 (42,9%)	37

O teste qui-quadrado mostrou que uma associação significativa entre o uso de medicação e a sonolência diurna, como é possível observar na Figura 12 (*Medicação*: $\chi^2_{(2)} = 6,43$ $p = 0,04$). O valor de *V de Cramer* indicou uma associação moderada ($V = 0,42$).

Os pacientes que não fazem uso de contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina apresentaram mais casos na categoria sonolência diurna normal e menos, na categoria sonolência diurna patológica (*resíduo ajustado* = $\pm 2,30$). Já os pacientes que fazem uso contínuo dessas medicações, apresentaram mais casos que na categoria sonolência diurna patológica e menos casos, na categoria sonolência diurna normal (*resíduo ajustado* = $\pm 3,11$).

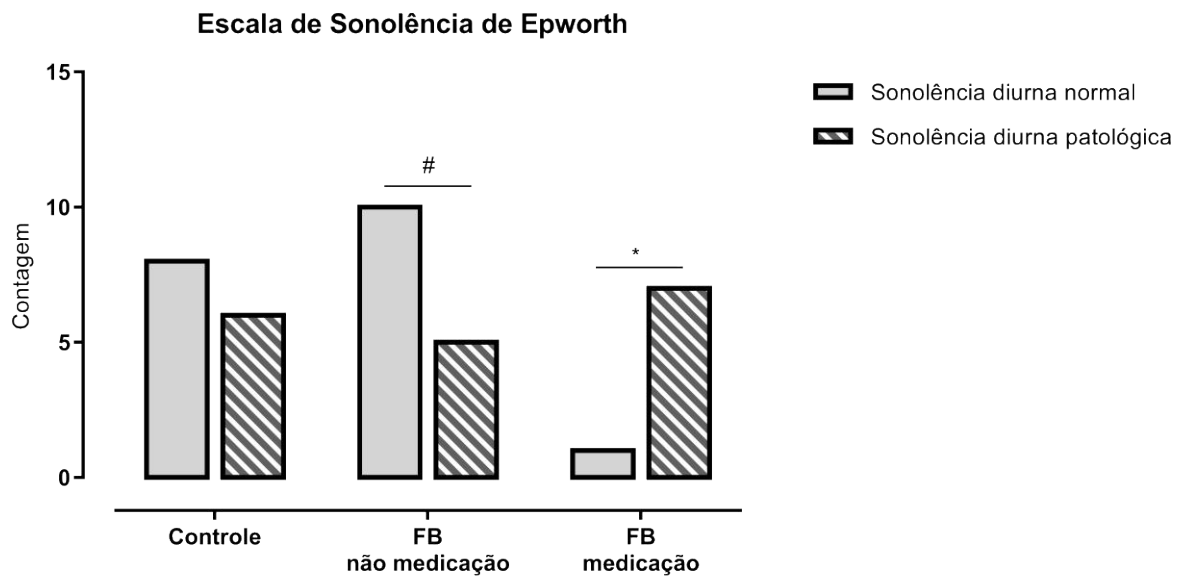


Figura 12. Associação entre uso de medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina e sonolência diurna (contagem de indivíduos).

Controle (N = 14): sonolência diurna normal = 8 (57,1%) sonolência diurna patológica = 6 (42,9%); FB não medicação (N = 15): sonolência diurna normal = 10 (66,7%) sonolência diurna patológica = 5 (33,3%); FB medicação (N = 8): sonolência diurna normal = 1 (12,5%) sonolência diurna patológica = 7 (87,5%).

[#] grupo FB não medicação apresentou mais casos que o esperado na categoria sonolência diurna normal ($p < 0,05$; Teste qui-quadrado seguido pela análise de resíduo ajustado).

^{*} grupo FB medicação apresentou mais casos que o esperado na categoria sonolência diurna patológica ($p < 0,05$; Teste qui-quadrado seguido pela análise de resíduo ajustado).

O teste qui-quadrado mostrou que não houve associação significativa entre sonolência diurna e os fatores gênero, grupo ou uso de TRE (*Gênero*: $\chi^2_{(1)} = 0,95$ $p = 0,33$; *Grupo*: $\chi^2_{(2)} = 0,40$ $p = 0,82$; *TRE*: $\chi^2_{(2)} = 0,33$ $p = 0,85$).

4.1.2 Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (*Morningness-eveningness questionnaire* - MEQ)

As médias dos escores globais para determinação de cronotipo em relação aos grupos deste estudo estão exibidas na Figura 13.

O modelo linear geral univariado mostrou que não houve diferença significativa entre as médias dos escores globais para identificação de cronotipo para os fatores gênero, grupo, TRE, medicação ou para a interação entre esses fatores, como é possível observar na Figura 13. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral univariado estão descritos no Anexo 13.

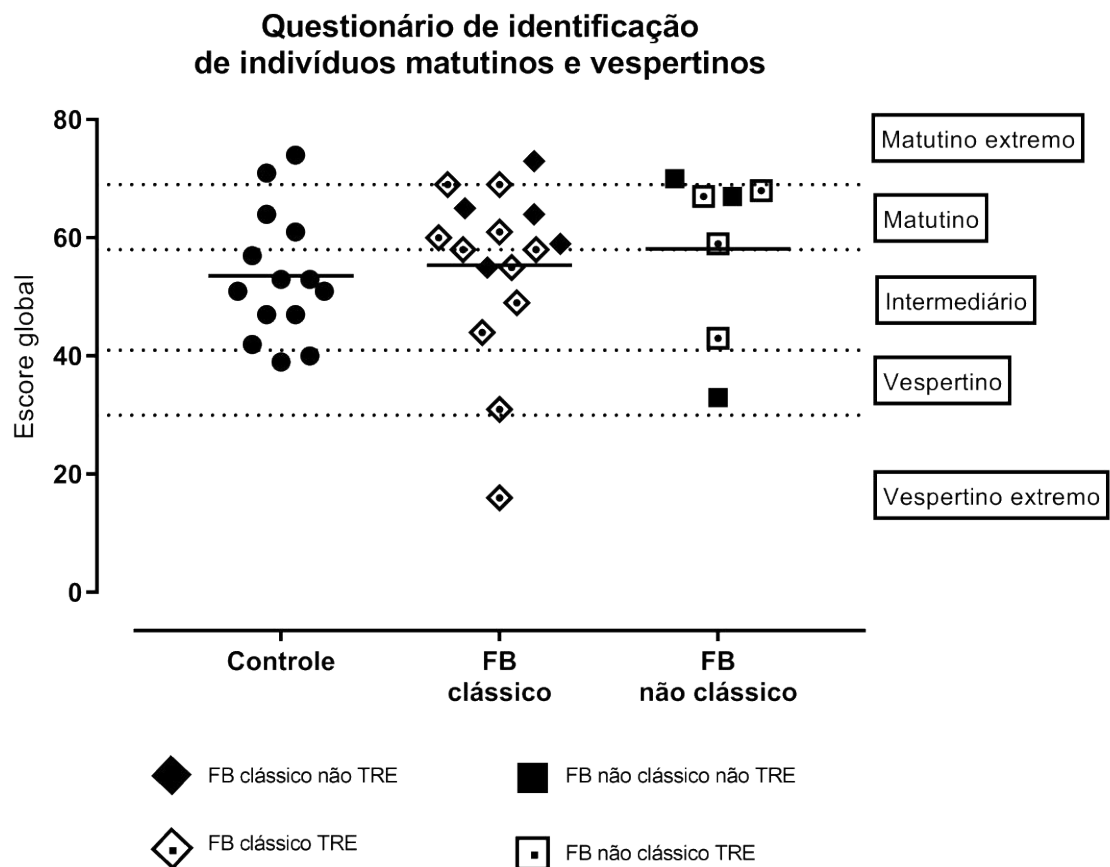


Figura 13. Escores globais para identificação de cronotipo obtidos a partir da aplicação do questionário MEQ. Cada símbolo representa um indivíduo e as linhas contínuas representam a média de cada grupo (legenda abaixo do gráfico). A linha pontilhada representa o ponto de corte para as categorias, mostradas à direita do gráfico.

Controle (N = 14): $53,57 \pm 3,56$ (IC95 46,34 – 60,80); FB clássico (N = 16): $55,38 \pm 3,33$ (IC95 48,61 – 62,14); FB não clássico (N = 7): $58,14 \pm 5,03$ (IC95 47,92 – 68,37).

O modelo linear geral univariado mostrou em efeito significativo do fator idade sobre os escores globais de identificação de cronotipo (*Idade*: $F_{(1,30)} = 4,72$ $p = 0,04$ poder = 0,56).

Foi observada uma correlação linear moderada entre os escores globais de cronotipo e idade para o grupo controle ($r = 0,60$; $p = 0,02$). Porém, esta correlação não se repete para o grupo caso, tanto os que apresentam a variante clássica ($r = 0,04$; $p = 0,88$) quanto os que apresentam a variante não clássica ($r = -0,11$; $p = 0,82$).

As frequências observadas e as respectivas porcentagens dos voluntários nas categorias matutino extremo, matutino, intermediário, vespertino e vespertino extremo estão retratadas na Tabela 5.

Tabela 5. Frequências dos grupos caso e controle nas categorias para cronotipo. Número de indivíduos presentes em cada categoria e entre parênteses a porcentagem em relação ao total de indivíduos no grupo.

	Controle	FB clássico		FB não clássico		Total
		FB TRE	FB não TRE	FB TRE	FB não TRE	
Matutino extremo	2 (14,3%)	--	1 (6,2%)	--	1 (14,3%)	4
Matutino	2 (14,3%)	5 (31,5%)	3 (18,7%)	3 (42,8%)	1 (14,3%)	14
Intermediário	7 (50,0%)	4 (25,0%)	1 (6,2%)	1 (14,3%)	--	13
Vespertino	3 (21,4%)	1 (6,2%)	--	--	1 (14,3%)	5
Vespertino extremo	--	1 (6,2%)	--	--	--	1
Total	14 (100,0%)	11 (68,9%)	5 (31,1%)	4 (57,1%)	3 (42,9%)	37

O teste qui-quadrado mostrou que não houve uma associação significativa entre o cronotipo e os fatores gênero, grupo, TRE e medicação (*Gênero*: $\chi^2_{(4)} = 8,32$ $p = 0,08$; *Grupo*: $\chi^2_{(8)} = 8,31$ $p = 0,40$; *TRE*: $\chi^2_{(8)} = 11,29$ $p = 0,19$; *Medicação*: $\chi^2_{(8)} = 10,65$ $p = 0,22$).

4.1.3 Índice de qualidade de sono (*Pittsburgh Sleep Quality Index – PSQI*)

As médias dos escores globais para qualidade de sono em relação aos grupos deste estudo estão exibidas na Figura 14.

O modelo linear geral univariado mostrou que não houve diferença significativa entre as médias dos escores globais de qualidade de sono para os fatores gênero, grupo, TRE, medicação e idade, ou para a interação entre esses fatores, como é possível observar na Figura 14. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral univariado estão descritos no Anexo 13.

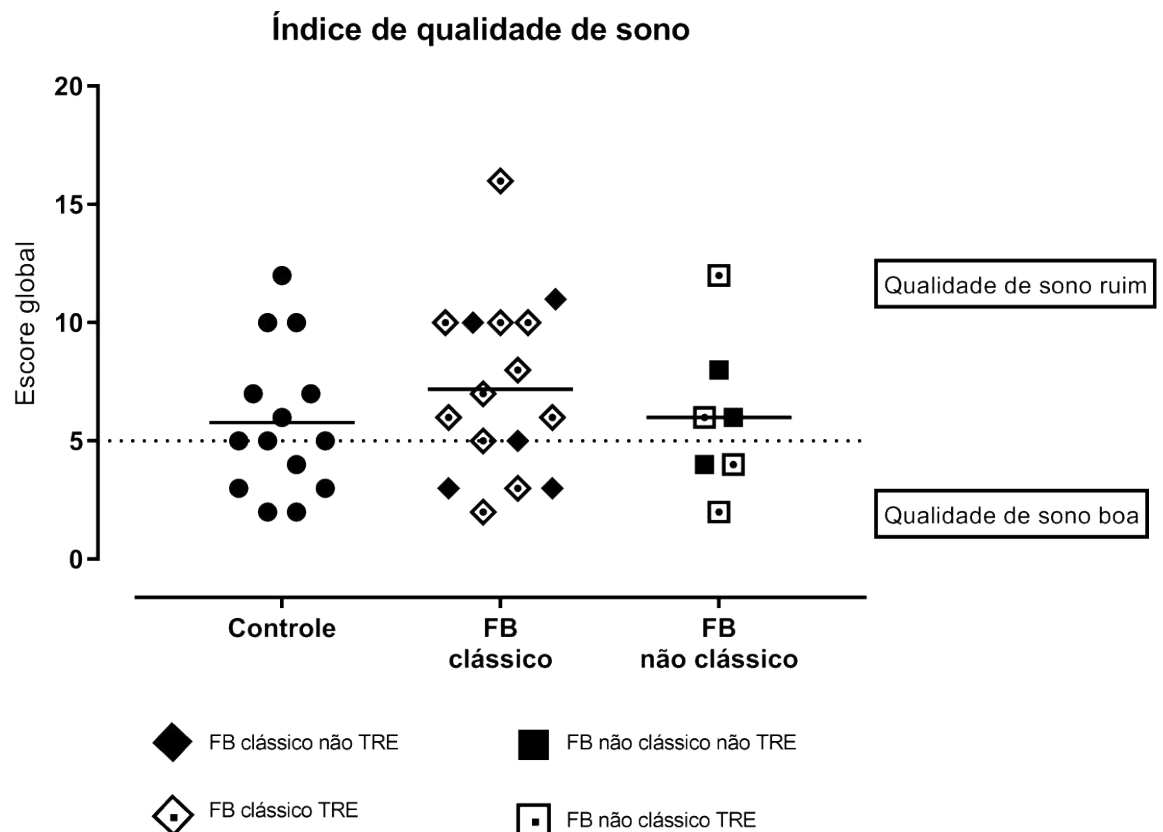


Figura 14. Escores globais para qualidade de sono obtidos a partir da aplicação do questionário PSQI. Cada símbolo representa um indivíduo e as linhas contínuas representam a média de cada grupo (legenda abaixo do gráfico). A linha pontilhada representa o ponto de corte para as categorias, mostradas à direita do gráfico.

Controle (N = 14): $5,79 \pm 0,92$ (IC95 3,91 – 7,66); FB clássico (N = 16): $7,19 \pm 0,86$ (IC95 5,43 – 8,94); FB não clássico (N = 7): $6,00 \pm 1,31$ (IC95 3,34 – 8,66).

As frequências observadas e as respectivas porcentagens dos voluntários nas categorias qualidade de sono ruim ou qualidade de sono boa estão retratadas na Tabela 6.

Tabela 6. Frequências dos grupos caso e controle nas categorias para qualidade de sono. Número de indivíduos presentes em cada categoria e entre parênteses a porcentagem em relação ao total de indivíduos no grupo

	Controle	FB clássico		FB não clássico		Total
		FB TRE	FB não TRE	FB TRE	FB não TRE	
Ruim	6 (42,9%)	9 (56,2%)*	1 (6,3%)#	3 (42,8%)*	1 (14,3%)#	20
Boa	8 (57,1%)	2 (12,5%)*	4 (25,0%)#	1 (14,3%)*	2 (28,6%)#	17
Total	14 (100,0%)	11 (68,7%)	5 (31,3%)	4 (57,1%)	3 (42,9%)	37

($p < 0,05$; Teste qui-quadrado seguido pela análise de resíduo ajustado).

* ($p < 0,05$; Teste qui-quadrado seguido pela análise de resíduo ajustado).

O teste qui-quadrado mostrou que houve uma associação significativa entre a TRE e a qualidade de sono, como é possível observar na Figura 15 e na Tabela 6 (TRE: $\chi^2_{(2)} = 7,92$ $p = 0,02$). O valor de *V de Cramer* indicou uma associação moderada ($V = 0,45$).

Os pacientes que não fazem TRE apresentaram mais casos que o esperado na categoria qualidade de sono boa (*resíduo ajustado* = $\pm 2,32$). Já os pacientes que fazem TRE, apresentaram mais casos que o esperado na categoria qualidade de sono ruim (*resíduo ajustado* = $\pm 3,89$).

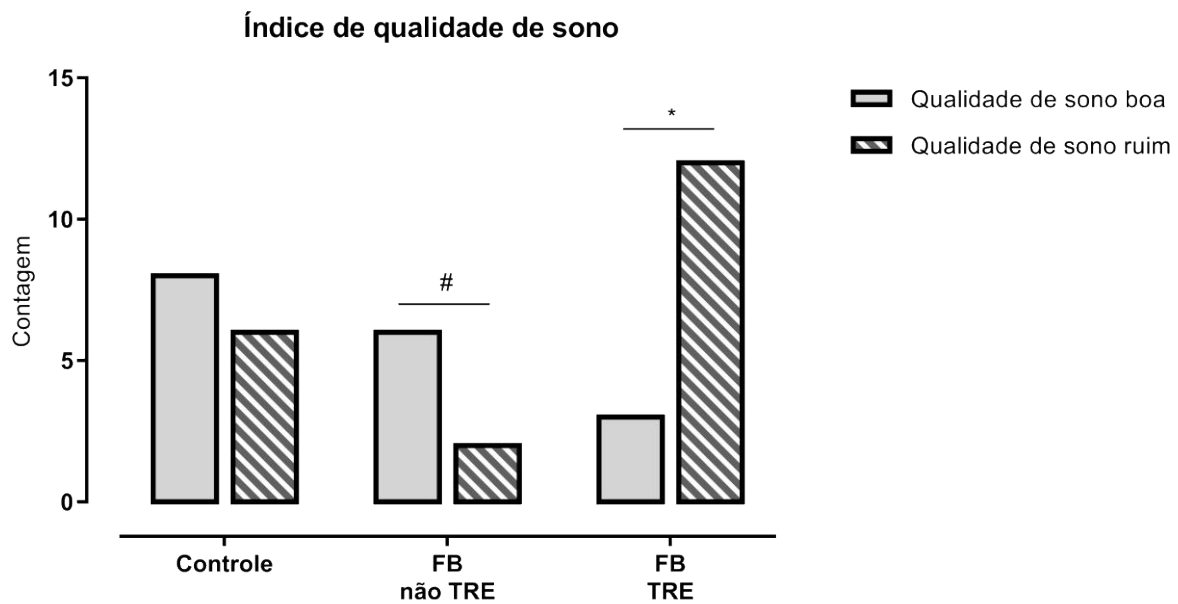


Figura 15. Associação entre TRE e qualidade de sono (contagem de indivíduos).

Controle (N = 14): qualidade de sono boa = 8 (57,1%) qualidade de sono ruim = 6 (42,9%); **FB não TRE (N = 8):** qualidade de sono boa = 6 (75,0%) qualidade de sono ruim = 2 (25,0%); **FB TRE (N = 15):** qualidade de sono boa = 3 (20,0%) qualidade de sono ruim = 12 (80,0%);

grupo FB não TRE apresentou mais casos que o esperado na categoria qualidade de sono boa ($p < 0,05$; Teste qui-quadrado seguido pela análise de resíduo ajustado).

* grupo FB TRE apresentou mais casos que o esperado na categoria qualidade de sono ruim ($p < 0,05$; Teste qui-quadrado seguido pela análise de resíduo ajustado).

O teste qui-quadrado mostrou que não houve uma associação significativa entre a qualidade do sono e os fatores gênero, grupo e medicação (*Gênero*: $\chi^2_{(1)} = 0,58$ $p = 0,45$; *Grupo*: $\chi^2_{(2)} = 1,19$ $p = 0,55$; *Medicação*: $\chi^2_{(2)} = 2,12$ $p = 0,35$).

4.2 Diário de atividade

O diário de atividade era composto por sete questões, porém somente seis questões foram avaliadas devido à falta de respostas suficientes na sétima questão.

Vinte e um voluntários preencheram pelo menos um dia do diário de atividades, 10 do grupo controle, 7 do grupo caso com variante clássica e 4 do grupo caso com variante não clássica. Um voluntário do grupo caso com variante clássica preencheu apenas um dia da semana.

4.2.1 “Como você avalia seu sono na noite passada? ”

Para a primeira questão, os voluntários atribuíram notas de 0 a 10, no qual valores menores indicavam avaliação pior (“Muito ruim”) e maiores, uma avaliação melhor (“Muito bom”), como é possível observar na Figura 16.

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou um efeito significativo do fator grupo sobre as notas do diário de atividade para a primeira questão (Grupo: $F_{(1,13)} = 5,44$ $p = 0,04$ poder = 0,58).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que o grupo de pacientes com a variante clássica atribuiu notas para avaliação de sono menores que o grupo com variante não clássica, independente do dia da semana ($p = 0,04$), o que indica uma avaliação mais negativa do grupo com a variante clássica quando comparado com a variante não clássica.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para essa diferença observada nos dias da semana ($d = 4,15$) e nos finais de semana e feriados ($d = 3,56$).

Como você avalia seu sono na noite passada?

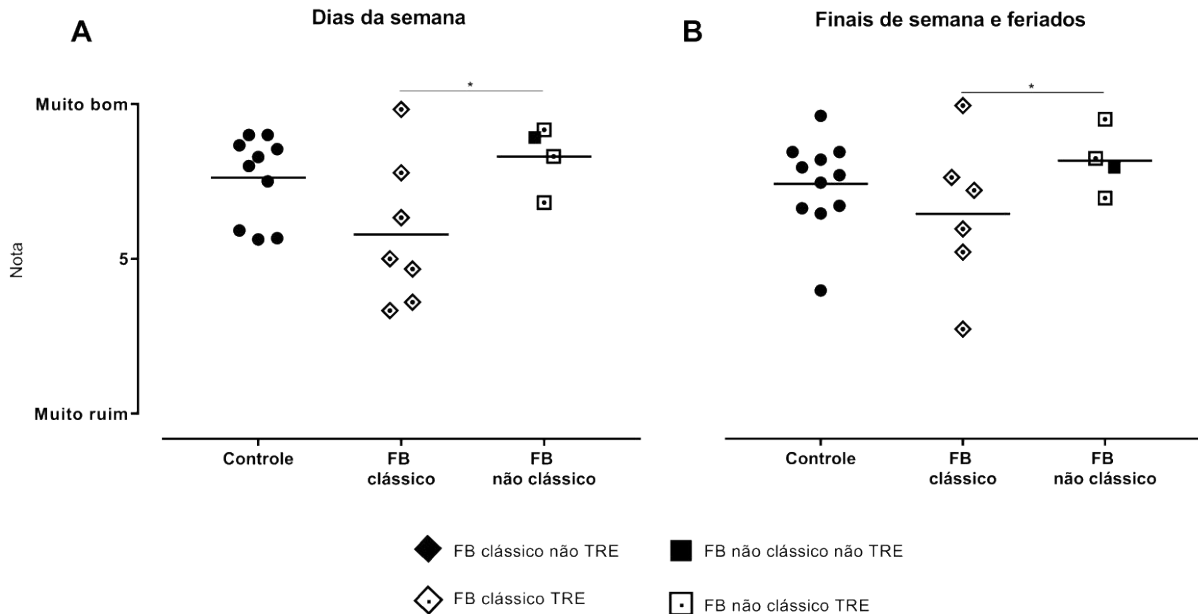


Figura 16. Notas referentes à primeira questão do diário de atividade. Cada símbolo representa a nota média de um indivíduo e a legenda das cores e símbolos está indicada abaixo da figura. Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $7,62 \pm 0,41$ (IC95 6,75 – 8,50); FB clássico (N = 7): $5,92 \pm 0,53$ (IC95 4,79 – 7,05); FB não clássico (N = 4): $8,30 \pm 0,65$ (IC95 6,92 – 9,69). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $7,80 \pm 0,38$ (IC95 7,00 – 8,61); FB clássico (N = 6): $6,49 \pm 0,48$ (IC95 5,45 – 7,52); FB não clássico (N = 4): $8,21 \pm 0,59$ (IC95 6,95 – 9,45).

* grupo FB clássico apresentou nota média para avaliação do sono menor que o grupo FB não clássico, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

Também foi observado um efeito significativo do uso de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina sobre essas notas (*Medicação*: $F_{(1,13)} = 12,89$ $p = 0,00$ poder = 0,91), como é possível observar na Figura 17 .

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que o grupo de pacientes que fazem uso contínuo de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina atribuíram notas menores para avaliação de sono que o grupo controle ($p = 0,01$) e que o grupo de pacientes que não usam este tipo de medicação ($p = 0,01$) independente do dia da semana, o que indica uma avaliação pior do sono do grupo de pacientes que utilizam esse tipo de medicamento.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande nos dias da semana em relação a ambos os grupos ($d = 4,02$; $d = 4,83$ em relação ao grupo controle e ao grupo caso que não usa medicação, respectivamente) e nos finais de semana e feriados ($d = 3,77$; $d = 4,41$; idem ao descrito anteriormente).

Como você avalia seu sono na noite passada?

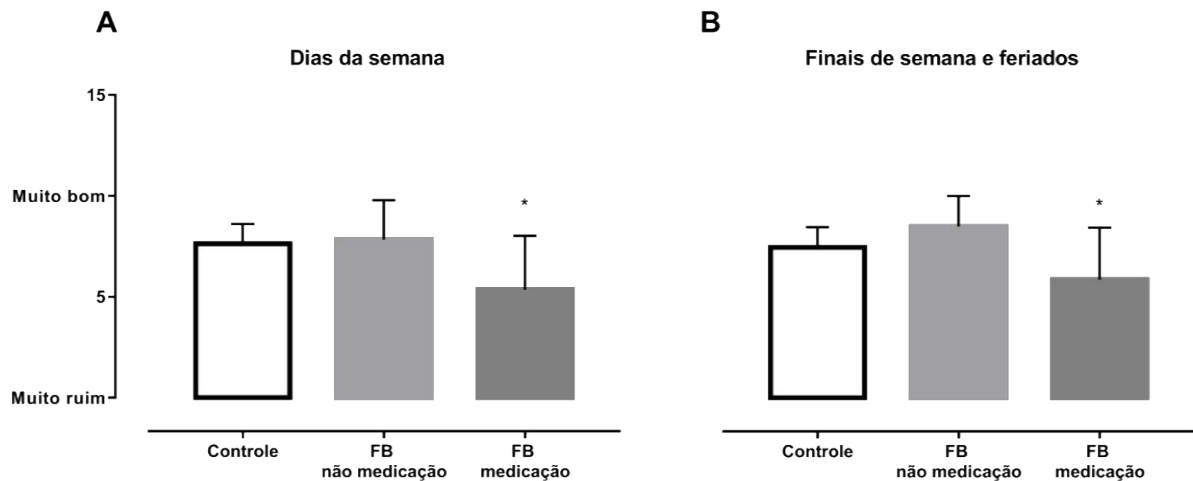


Figura 17. Efeito do uso medicação interferente na biossíntese de melatonina sobre as notas de avaliação do sono (média + IC95). Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda do gráfico.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $7,62 \pm 0,41$ (IC95 6,75 – 8,50); FB não medicação (N = 6): $8,51 \pm 0,59$ (IC95 7,25 – 9,78); FB medicação (N = 5): $5,72 \pm 0,59$ (IC95 4,45 – 6,98). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $7,80 \pm 0,38$ (IC95 7,00 – 8,61); FB não medicação (N = 5): $8,54 \pm 0,54$ (IC95 7,39 – 9,70); FB medicação (N = 5): $6,16 \pm 0,54$ (IC95 5,00 – 7,31).

* grupo FB medicação apresentou nota média para avaliação do sono menor que os outros grupos, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

Foi observada uma correlação linear moderada entre os escores globais do questionário PSQI e as notas dadas para essa questão tanto nos dias da semana ($r = -0,51$; $p = 0,02$) quanto nos finais de semana e feriados ($r = -0,57$; $p = 0,01$).

O modelo linear geral de medidas repetidas não mostrou diferença significativa para os outros fatores ou para a interação entre eles sobre as notas atribuídas para a questão. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos outros fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

4.2.2 “Com que facilidade você adormeceu na noite passada?”

Para a segunda questão, os voluntários atribuíram notas de 0 a 10, no qual as notas menores indicavam avaliação pior (“Muito difícil”) e as notas maiores, uma avaliação melhor (“Muito fácil”), como é possível observar na Figura 18.

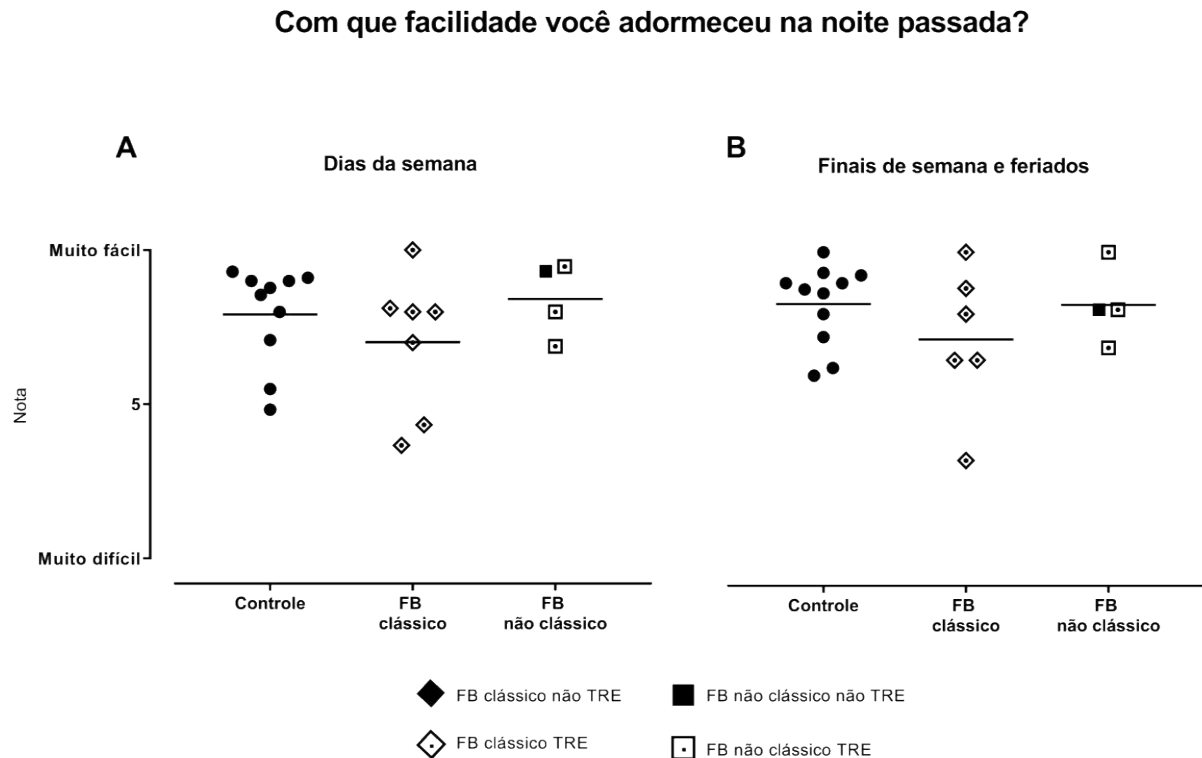


Figura 18. Notas referentes à segunda questão do diário de atividade. Cada símbolo representa a nota média de um indivíduo e a legenda das cores e símbolos está indicada abaixo da figura. Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $7,91 \pm 0,58$ (IC95 6,68 – 9,14); FB clássico (N = 7): $7,02 \pm 0,75$ (IC95 5,43 – 8,61); FB não clássico (N = 4): $8,42 \pm 0,92$ (IC95 6,48 – 10,37). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $8,16 \pm 0,52$ (IC95 7,05 – 9,26); FB clássico (N = 6): $7,18 \pm 0,67$ (IC95 5,76 – 8,60); FB não clássico (N = 4): $8,30 \pm 0,83$ (IC95 6,55 – 10,04).

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou um efeito significativo para a interação entre os fatores dia da semana, medicação e gênero (*Dia da semana*Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 5,17$ $p = 0,02$ poder = 0,72; *Medicação*: $F_{(1,13)} = 8,64$ $p = 0,01$ poder = 0,77).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que os homens que tomam medicação que interfere na biossíntese de melatonina atribuíram nota média menor nos dias da semana do que nos finais de semana e feriados ($p = 0,03$). O teste de Cohen d demonstrou um tamanho de efeito grande para esta diferença ($d = 0,82$).

Não foi observada correlação linear significativa entre a idade e as notas nos dias da semana ($r = -0,13$; $p = 0,58$) e nos finais de semana e feriados ($r = 0,07$; $p = 0,77$). Porém, o modelo linear geral de medidas repetidas mostrou um efeito significativo da interação entre os fatores dia da semana e idade (*Dia da semana*Idade*: $F_{(1,13)} = 5,20$ $p = 0,04$ poder = $0,56$), o que pode indicar que a diferença entre as notas nos dias da semana e nos finais de semana e feriados pode estar relacionada, além do uso de medicação e gênero, também com a idade de cada indivíduo.

Não foram observadas diferenças significativas entre para os outros fatores considerados no modelo e nem para a interação entre eles. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos outros fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

4.2.3 “Com que facilidade você acordou hoje? ”

Para a terceira questão, os voluntários atribuíram notas de 0 a 10, no qual as notas menores indicavam avaliação pior (“Muito difícil”) e as notas maiores, uma avaliação melhor (“Muito fácil”), como é possível observar na Figura 19.

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou um efeito significativo do fator grupo sobre as notas do diário de atividade para a essa questão, como é possível observar na Figura 19 (*Grupo*: $F_{(1,13)} = 7,73$ $p = 0,02$ poder = $0,73$).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que o grupo de pacientes com a variante clássica atribuiu nota média menor que o grupo de pacientes com a variante não clássica independente do dia da semana ($p = 0,04$), o que indica uma avaliação pior do grupo caso com variante clássica em relação ao grupo não clássico.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para essa diferença tanto nos dias da semana ($d = 4,40$) quanto nos finais de semana e feriados ($d = 2,40$).

Com que facilidade você acordou hoje?

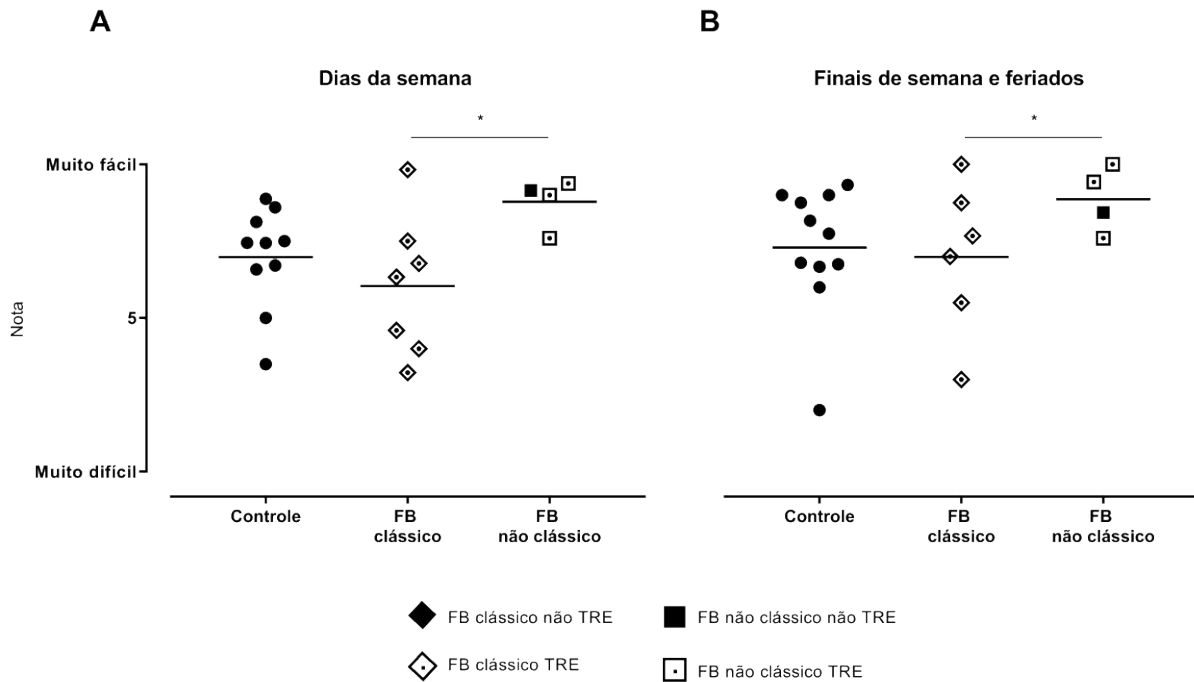


Figura 19. Notas referentes à terceira questão do diário de atividade. Cada símbolo representa a nota média de um indivíduo e a legenda das cores e símbolos está indicada abaixo da figura. Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $6,98 \pm 0,48$ (IC95 5,95 – 8,00); FB clássico (N = 7): $5,79 \pm 0,62$ (IC95 4,47 – 7,11); FB não clássico (N = 4): $8,74 \pm 0,76$ (IC95 7,12 – 10,35). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $7,82 \pm 0,50$ (IC95 6,76 – 8,89); FB clássico (N = 6): $6,99 \pm 0,64$ (IC95 5,61 – 8,36); FB não clássico (N = 4): $8,67 \pm 0,79$ (IC95 7,18 – 10,55).

* grupo FB clássico apresentou nota média menor do que o grupo FB não clássico, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou efeito significativo do uso de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina sobre as notas da terceira questão do diário de atividade, como pode ser visto na Figura 20 (*Medicação*: $F_{(1,13)} = 4,68$ $p = 0,05$ poder = 0,52).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que os pacientes que utilizam fármacos que interferem na biossíntese de melatonina atribuíram notas menores do que os pacientes que não utilizam esses medicamentos ($p = 0,05$) independente do dia da semana, o que indica uma facilidade menor para acordar do grupo de pacientes que tomam esse tipo de medicação.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande do uso de medicação nos dias da semana ($d = 3,13$) e nos finais de semana e feriados ($d = 2,19$).

Com que facilidade você acordou hoje?

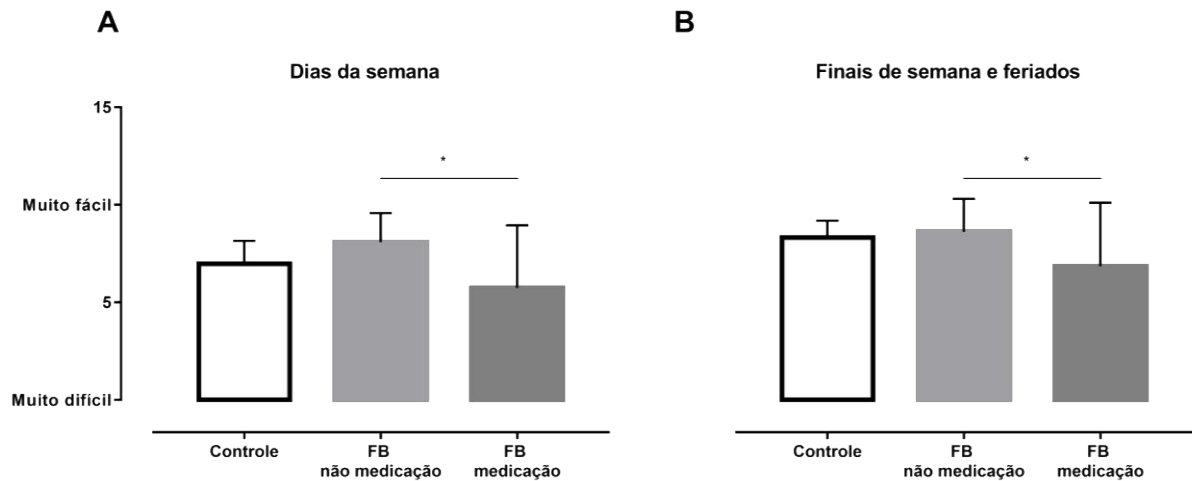


Figura 20. Efeito do uso de medicação sobre as notas da terceira questão do diário de atividade (média + IC95). Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $6,98 \pm 0,48$ (IC95 5,95 – 8,00); FB não medicação (N = 6): $8,35 \pm 0,69$ (IC95 6,87 – 9,82); FB medicação (N = 5): $6,19 \pm 0,69$ (IC95 4,71 – 7,66). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $7,82 \pm 0,50$ (IC95 6,76 – 8,89); FB não medicação (N = 5): $8,72 \pm 0,72$ (IC95 7,18 – 10,25); FB medicação (N = 5): $7,14 \pm 0,72$ (IC95 5,60 – 8,67).

* grupo FB medicação apresentou nota média menor que o grupo FB não medicação, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

O modelo linear geral de medidas repetidas também mostrou efeito significativo da interação entre o fator dia da semana e idade sobre as notas referentes à facilidade de acordar (*Dia da semana*Idade*: $F_{(1,13)} = 8,75$ $p = 0,01$ poder = 0,78).

Não houve diferença significativa para a notas média sobre facilidade em acordar e os outros fatores aplicados no modelo, ou para a interação entre esses fatores. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos outros fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

4.2.4 “Como você se sentiu no início do seu dia? ”

Para a quarta questão, os voluntários atribuíram notas de 0 a 10, no qual as notas menores indicavam avaliação pior (“Muito cansado”) e as notas maiores, uma avaliação melhor (“Nada cansado”), como é possível observar na Figura 21.

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou uma diferença significativa entre as notas médias atribuídas a esta questão para o fator grupo, como é possível observar na Figura 21 (*Grupo*: $F_{(1,13)} = 5,00$ $p = 0,05$ poder = 0,52).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que o grupo de pacientes com a variante clássica atribuiu nota média menor que o grupo de pacientes com a variante não clássica, independente do dia da semana ($p = 0,01$), o que indica uma percepção maior de cansaço no início do dia do grupo caso com variante clássica.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para essa diferença nos dias da semana ($d = 3,52$) e nos finais de semana e feriados ($d = 3,43$).

Como você se sentiu no início do seu dia?

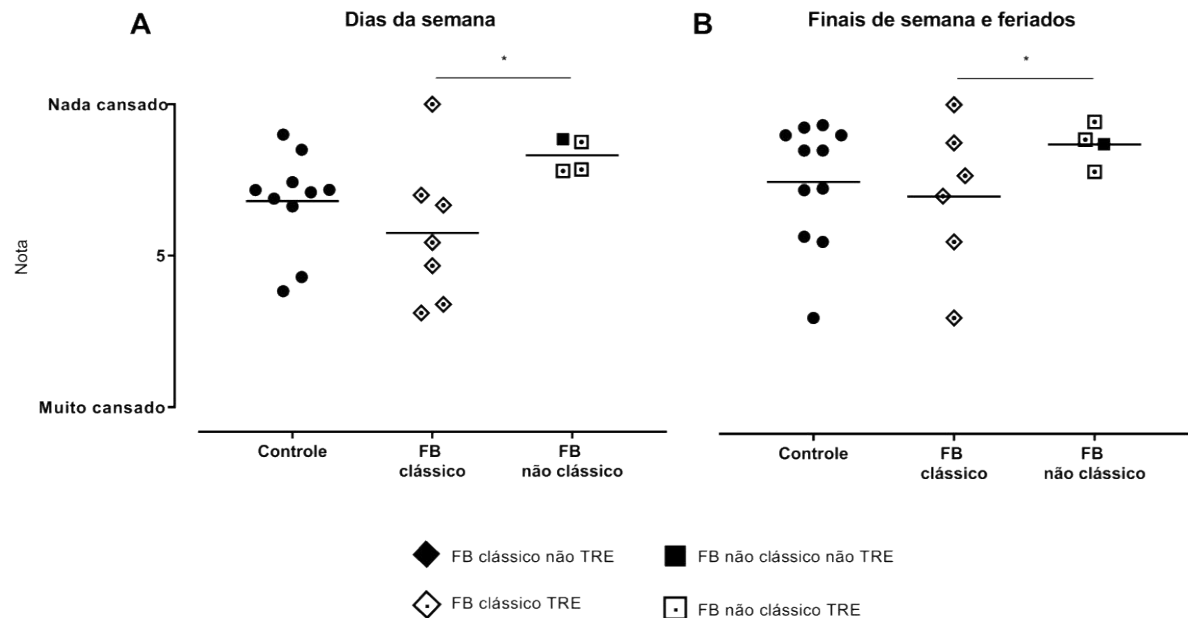


Figura 21. Notas referentes à quarta questão do diário de atividade. Cada símbolo representa a nota média de um indivíduo e a legenda das cores e símbolos está indicada abaixo da figura. Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $6,80 \pm 0,58$ (IC95 5,58 – 8,02); FB clássico (N = 7): $5,55 \pm 0,75$ (IC95 3,97 – 7,12); FB não clássico (N = 4): $8,39 \pm 0,91$ (IC95 6,46 – 10,32). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $7,92 \pm 0,65$ (IC95 6,55 – 9,29); FB clássico (N = 6): $5,56 \pm 0,84$ (IC95 3,78 – 7,33); FB não clássico (N = 4): $8,70 \pm 1,03$ (IC95 6,54 – 10,87).

* grupo FB clássico apresentou nota média menor do que o grupo FB não clássico, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou efeito significativo do uso de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina sobre as notas atribuídas à essa questão, como pode ser visto na Figura 22 (*Medicação*: $F_{(1,13)} = 9,59$ $p = 0,01$ poder = 0,82).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que os pacientes que utilizam fármacos que interferem na biossíntese de melatonina atribuíram notas menores que pacientes que não utilizam esses medicamentos ($p = 0,02$) e do que o grupo controle ($p = 0,04$) independente do dia da semana, o que indica uma percepção de cansaço no início do dia maior do grupo que usa continuamente esse tipo de medicação.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande nos dias da semana em relação a ambos os grupos ($d = 2,06$; $d = 3,00$ em relação ao grupo controle e ao grupo caso que não usa medicação, respectivamente) e nos finais de semana e feriados ($d = 3,64$; $d = 3,48$; idem ao descrito anteriormente).

Como você se sentiu no início do seu dia?

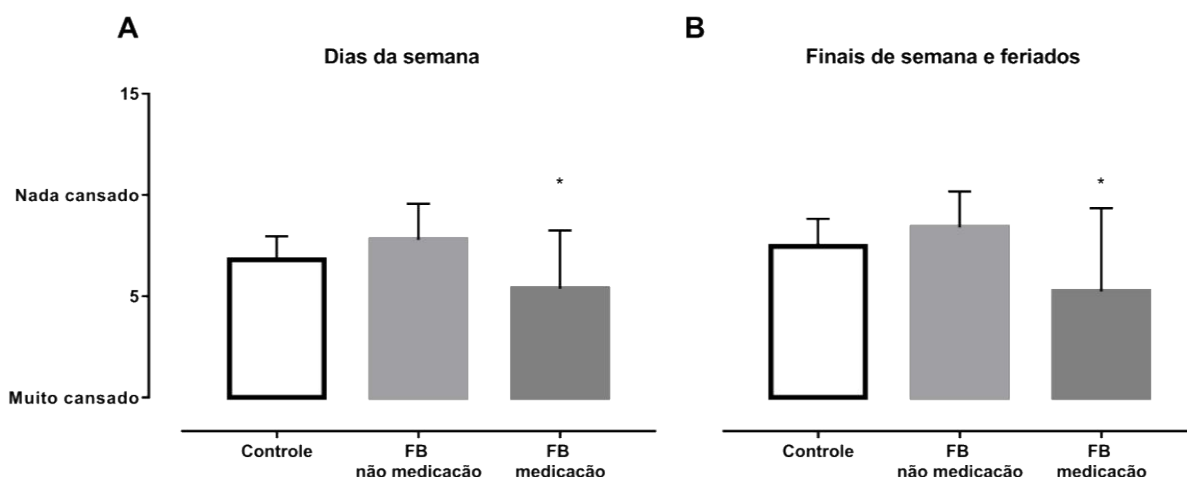


Figura 22. Efeito do uso de medicação sobre as notas da quarta questão do diário de atividade (média + IC95). Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $6,80 \pm 0,58$ (IC95 5,58 – 8,02); FB não medicação (N = 6): $7,94 \pm 0,84$ (IC95 6,17 – 9,72); FB medicação (N = 5): $5,42 \pm 0,84$ (IC95 3,65 – 7,20). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $7,92 \pm 0,65$ (IC95 6,55 – 9,29); FB não medicação (N = 5): $8,40 \pm 0,91$ (IC95 6,47 – 10,32); FB medicação (N = 5): $5,23 \pm 0,91$ (IC95 3,31 – 7,16).

* grupo FB medicação apresentou nota média menor que os outros grupos, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

Não foi encontrada diferença significativa entre as notas atribuídas para essa questão e os outros fatores aplicados no modelo, ou para a interação entre esses fatores. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos outros fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

4.2.5 “Como você se sentiu no fim do seu dia? ”

Para a quinta questão, os voluntários atribuíram notas de 0 a 10, no qual as notas menores indicavam avaliação pior (“Muito cansado”) e as notas maiores, uma avaliação melhor (“Nada cansado”), como é possível observar na Figura 23.

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou que não houve diferenças significativas entre as notas médias para os fatores gênero, grupo, TRE, idade, tempo ou para a interação entre esses fatores, como é possível observar na Figura 23. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos outros fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

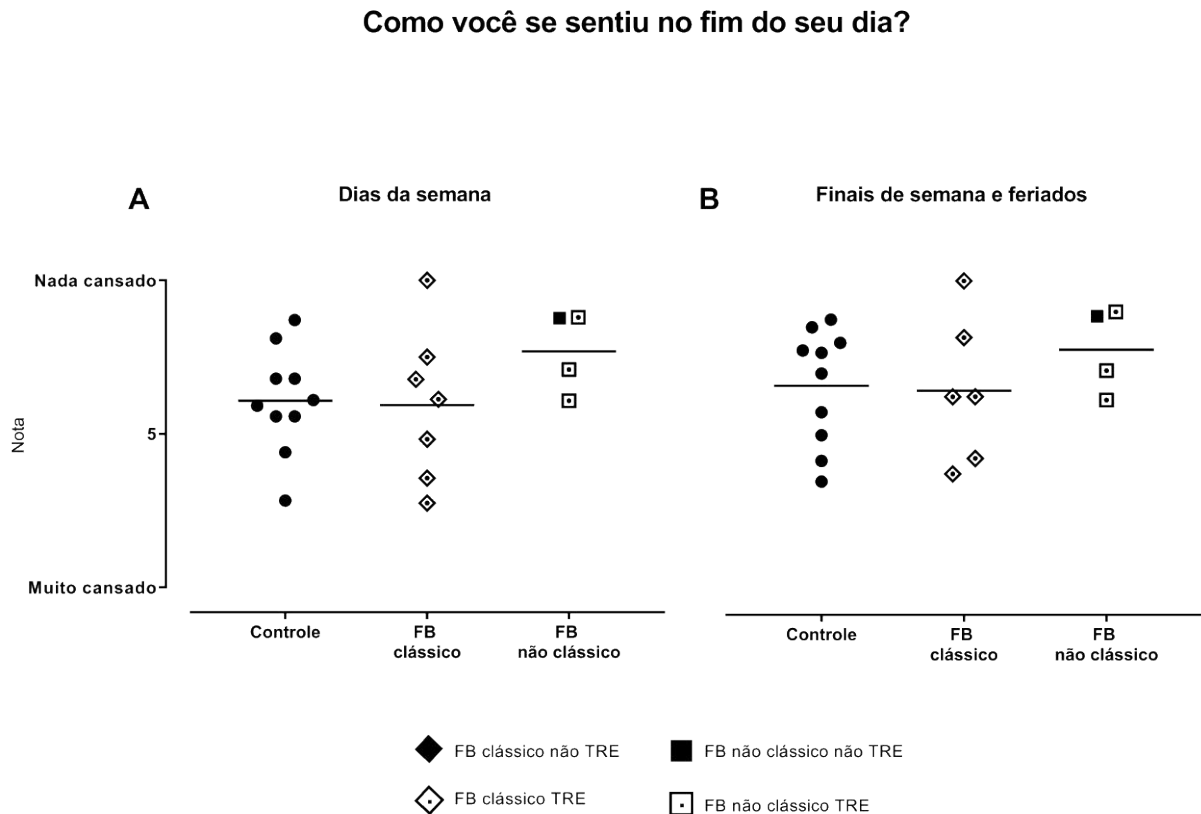


Figura 23. Notas referentes à quinta questão do diário de atividade. Cada símbolo representa a nota média de um indivíduo e a legenda das cores e símbolos está indicada abaixo da figura. Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 10): $6,08 \pm 0,62$ (IC95 4,78 – 7,39); FB clássico (N = 7): $5,67 \pm 0,80$ (IC95 3,99 – 7,36); FB não clássico (N = 4): $7,71 \pm 0,98$ (IC95 5,65 – 9,77). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): $6,61 \pm 0,62$ (IC95 5,30 – 7,92); FB clássico (N = 6): $6,45 \pm 0,80$ (IC95 4,76 – 8,13); FB não clássico (N = 4): $7,78 \pm 0,98$ (IC95 5,71 – 9,84).

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou efeito significativo do uso de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina sobre as notas dessa questão do diário de atividade, como pode ser visto na Figura 24 (*Medicação*: $F_{(1,13)} = 8,52$ $p = 0,01$ poder = 0,77).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que os pacientes que não tomam esses medicamentos atribuíram notas médias maiores do que os pacientes que utilizam esses medicamentos ($p = 0,01$) e do que o grupo controle ($p = 0,04$), independente do dia da semana, o que indica uma sensação de cansaço ao final do dia menor para o grupo que não toma medicação.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande nos dias da semana em relação a ambos os grupos ($d = 2,99$; $d = 4,22$ em relação ao grupo controle e ao grupo caso que usa medicação, respectivamente) e nos finais de semana e feriados ($d = 0,79$; $d = 3,95$; idem ao descrito anteriormente).

Como você se sentiu no fim do seu dia?

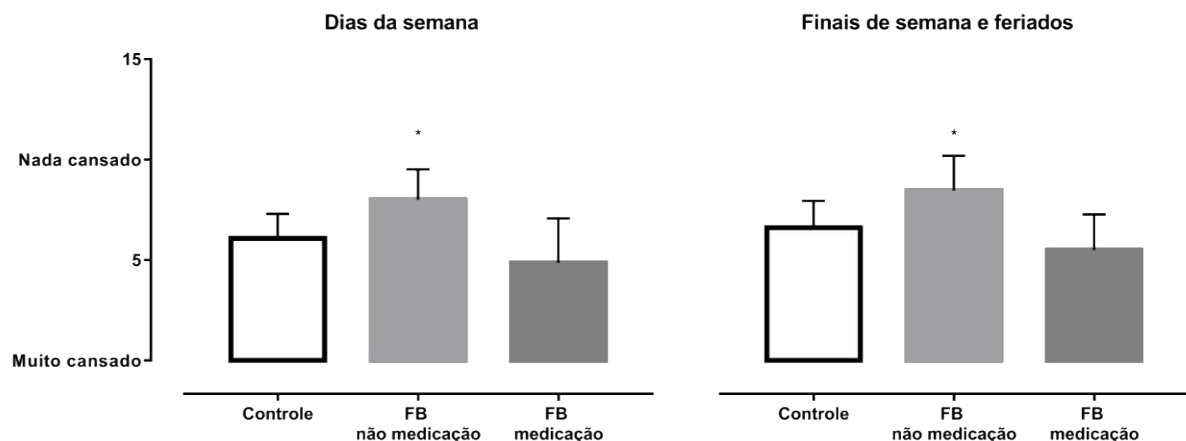


Figura 24. Efeito do uso de medicação sobre as notas da quinta questão do diário de atividade (média + IC95). Notas mais baixas indicam avaliações negativas e mais altas, avaliações positivas, representadas no eixo à esquerda.

(A) Dias da semana: Controle (N = 6,08 ± 0,62 (IC95 4,78 – 7,39); FB não medicação (N = 6): 8,09 ± 0,76 (IC95 6,48 – 9,70); FB medicação (N = 5): 4,89 ± 0,76 (IC95 3,28 – 6,50). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 10): 7,92 ± 0,65 (IC95 6,55 – 9,29); FB não medicação (N = 5): 8,46 ± 0,75 (IC95 6,88 – 10,03); FB medicação (N = 5): 5,50 ± 0,75 (IC95 3,92 – 7,08).

* grupo FB sem medicação apresentou nota média maior que os outros grupos, independente do dia da semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

4.2.6 “Você se lembra de ter acordado e dormido novamente? ”

Os dados referentes a sexta questão estão indicados na Tabela 7 em relação à porcentagem de respostas “Sim”.

Tabela 7. Porcentagens médias de respostas “Sim” na sexta questão do diário de atividades.

	% Sim			
	Média	DV	IC95	N
<i>Controle</i>	58,3	12,0	33,1 – 83,5	10
<i>FB clássico</i>	58,4	14,3	28,4 – 88,5	7
<i>FB não clássico</i>	71,5	19,0	31,7 – 111,2	4

4.3 Avaliações rítmicas

Seis voluntários do grupo caso não aceitaram participar das etapas seguintes. Um voluntário do grupo controle e um do grupo caso apresentaram intercorrências com o aparelho e perderam os dados coletados.

No Fluxograma 2 é possível acompanhar a composição da amostra no decorrer do estudo.



Fluxograma 2. Esquema representativo das intercorrências e desistências ao longo do estudo. As legendas das cores estão indicadas abaixo da figura.

Os actogramas referentes ao registro de atividade e repouso e de temperatura corporal periférica de cada voluntário, assim como as respectivas séries temporais de cada ritmo estão representados no Anexo 14.

4.3.1 Parâmetros rítmicos para atividade e repouso

O modelo linear geral multivariado mostrou que não há diferença significativa nos parâmetros rítmicos de atividade para os fatores gênero, grupo, TRE, medicação e idade, ou para a interação entre esses fatores como é possível observar na Figura 25. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral multivariado dos fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

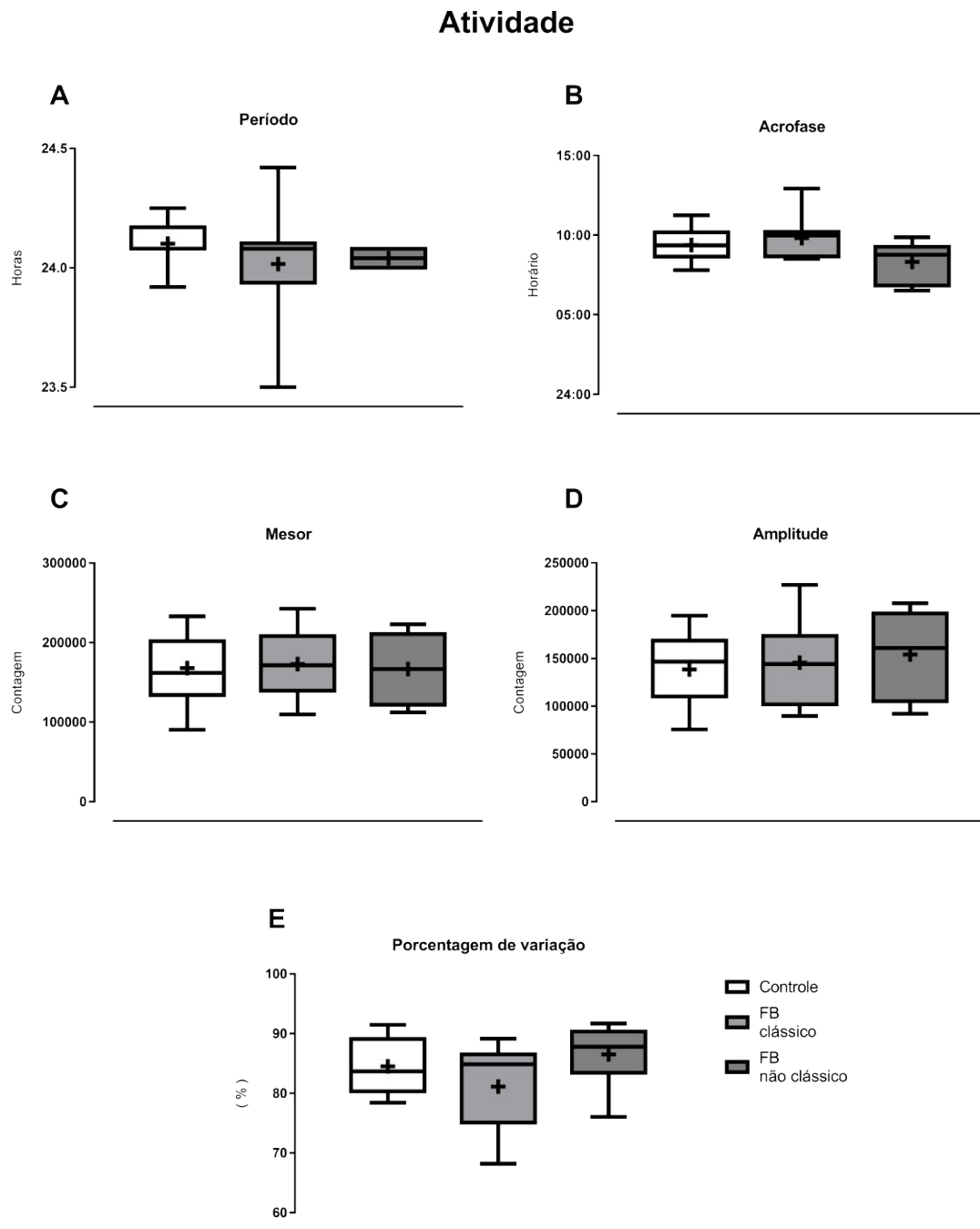


Figura 25. Parâmetros rítmicos para atividade obtidos a partir do registro pela actigrafia em relação ao grupo. Box-plot percentil 5-95. A cruz representa a média do grupo e a linha contínua, a mediana. A legenda das cores está indicada abaixo do gráfico à direita.

(A) Período: Controle (N = 13): $24,10 \pm 0,04$ (IC95 24,01 – 24,19); FB clássico (N = 10): $24,01 \pm 0,08$ (IC95 23,83 – 24,18); FB não clássico (N = 6): $24,04 \pm 0,07$ (IC95 23,91 – 24,18). (B) Acrofase: Controle (N = 13): $9,37 \pm 0,27$ (IC95 8,79 – 9,96); FB clássico (N = 10): $9,81 \pm 0,42$ (IC95 8,87 – 10,75); FB não clássico (N = 6): $8,32 \pm 0,53$ (IC95 6,95 – 9,69). (C) Mesor: Controle (N = 13): $168084,30 \pm 11550,97$ (IC95 142916,90 – 193251,70); FB clássico (N = 10): $173074,50 \pm 13134,44$ (IC95 143362,30 – 202786,70); FB não clássico (N = 6): $166797,80 \pm 18363,71$ (IC95 119592,40 – 214003,20). (D) Amplitude: Controle (N = 13): $138504,20 \pm 9909,15$ (IC95 116914,00 – 160094,40); FB clássico (N = 10): $145599,80 \pm 14383,20$ (IC95 113062,70 – 178136,80); FB não clássico (N = 6): $154092,10 \pm 199935,27$ (IC95 102846,80 – 205337,30). (E) Porcentagem de variação: Controle (N = 13): $84,52 \pm 1,22$ (IC95 81,86 – 87,19); FB clássico (N = 10): $81,12 \pm 2,25$ (IC95 76,04 – 86,21); FB não clássico (N = 6): $86,51 \pm 2,27$ (IC95 80,68 – 92,35).

O teste de *Rayleigh z* mostrou uma coerência alta para acrofase de atividade intragrupo, como é possível observar na Figura 26.

Contudo, o teste t de Student mostrou que não há diferença significativa entre os grupos para a uniformidade na distribuição da acrofase (Controle – FB clássico $p = 0,79$; Controle e FB não clássico $p = 0,84$; FB clássico e FB não clássico: $p = 0,97$).

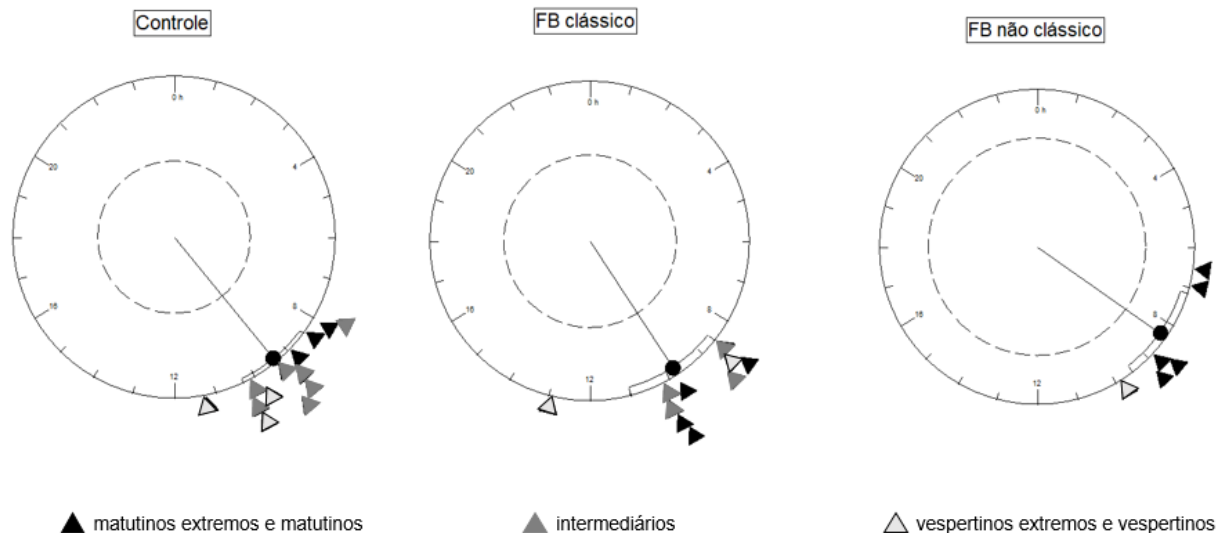


Figura 26. Teste *Rayleigh z* para acrofase média de atividade em relação aos grupos. Cada círculo representa 24 horas, cada triângulo indica a acrofase média de cada indivíduo do grupo e as cores representam os cronotipos indicados na legenda abaixo da figura. O ponto preto na ponta do vetor indica a acrofase média do grupo e também está representado o desvio padrão. O círculo interno indica um nível de significância menor ou igual a 5%. Controle (N = 13): $r = 0,97$ $p = 2,83 \cdot 10^{-8}$; FB clássico (N = 10): $r = 0,95$ $p = 6,19 \cdot 10^{-6}$; FB não clássico (N = 6): $r = 0,95$ $p = 1,11 \cdot 10^{-3}$.

O teste de *Rayleigh z* mostrou uma coerência alta para acrofase de atividade também em relação à terapia, como é possível observar na Figura 27.

Contudo, o teste t de Student mostrou que não há diferença significativa entre os grupos para a uniformidade na distribuição da acrofase (Controle – FB não TRE $p = 0,74$; Controle e FB TRE $p = 0,71$; FB não TRE e FB TRE: $p = 0,98$).

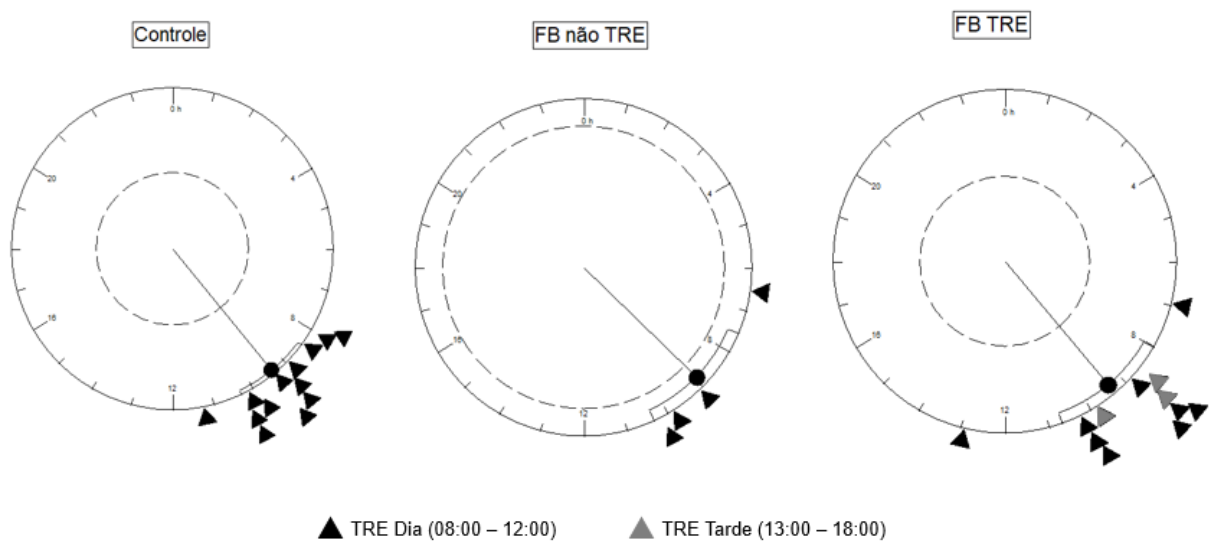


Figura 27. Teste *Rayleigh z* para atividade em relação a TRE. Cada círculo representa 24 horas, cada triângulo indica a acrofase média de cada indivíduo do grupo e as cores representam os horários da infusão de TRE, indicados na legenda abaixo da figura. O ponto preto na ponta do vetor indica a acrofase média do grupo e também está representado o desvio padrão. O círculo interno indica um nível de significância menor ou igual a 5%.

Controle (N = 13): $r = 0,97$ $p = 2,83 \cdot 10^{-8}$; FB não TRE (N = 4): $r = 0,93$ $p = 0,02$; FB TRE (N = 12): $r = 0,94$ $p = 8,15 \cdot 10^{-7}$.

4.3.2 Parâmetros rítmicos para temperatura corporal periférica

O modelo linear geral multivariado mostrou um efeito significativo do fator grupo para o período de temperatura, como é possível observar na Figura 28 (*Grupo*: $F_{(5,16)} = 3,26$ $p = 0,03$ poder = 0,76).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Duncan mostrou que o grupo Fabry com a variante clássica apresenta período médio de temperatura maior que o grupo controle ($p = 0,03$).

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para esse efeito observado ($d = 3,80$).

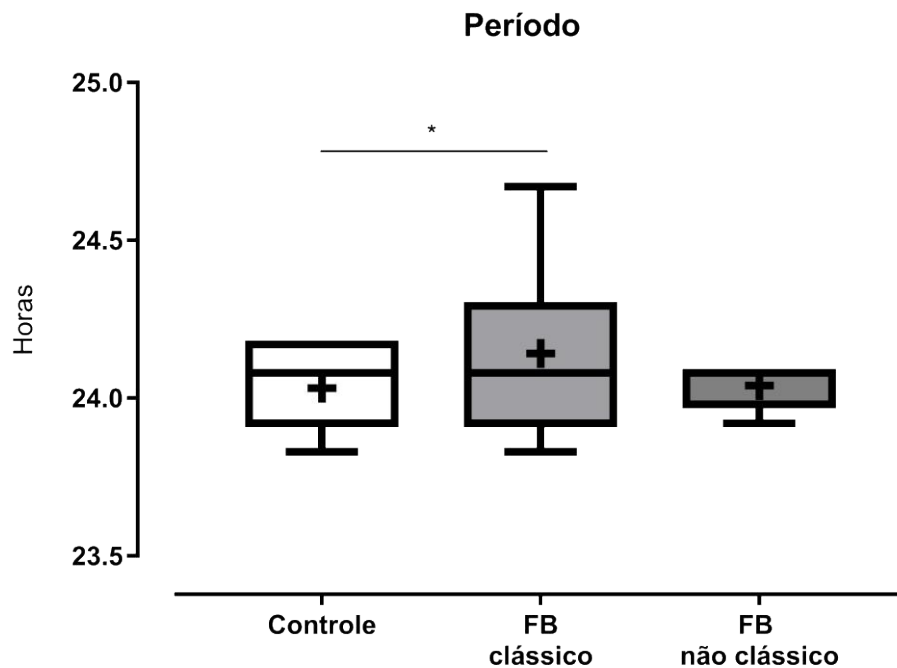


Figura 28. Efeito do fator grupo sobre o período médio de temperatura corporal periférica registrada pela actigrafia. Box-plot percentil 5-95. A cruz representa a média do grupo e a linha contínua, a mediana.

Controle (N = 12): $24,08 \pm 0,05$ (IC95 23,98 – 24,17); FB clássico (N = 9): $24,27 \pm 0,05$ (IC95 24,17 – 24,36); FB não clássico (N = 6): $24,04 \pm 0,05$ (IC95 23,93 – 24,15).

* período médio do grupo FB clássico é maior do que o do grupo controle ($p < 0,05$; Modelo linear geral multivariado seguido pelo teste de Duncan).

O modelo linear geral multivariado mostrou que não há diferença significativa nos parâmetros rítmicos de temperatura para os fatores restantes ou para a interação entre esses fatores como é possível observar na Figura 29. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral multivariado dos fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

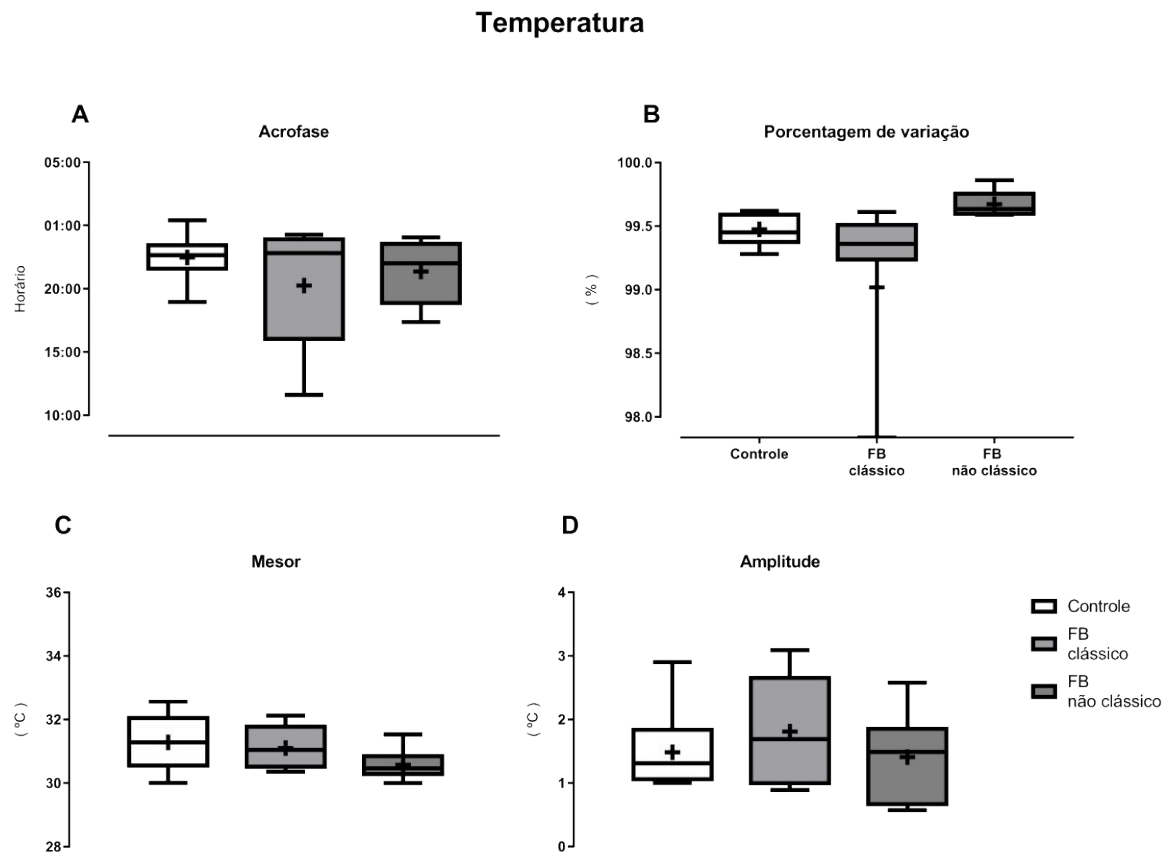


Figura 29. Parâmetros rítmicos para temperatura corporal periférica obtidos a partir do registro pela actigrafia em relação ao grupo. Box-plot percentil 5-95. A cruz representa a média do grupo e a linha representa a mediana. A legenda das cores está indicada abaixo no gráfico à direita.

(A) Acrofase: Controle (N = 12): $22,47 \pm 0,52$ (IC95 21,32 – 23,63); FB clássico (N = 9): $20,25 \pm 1,66$ (IC95 16,42 – 24,07); FB não clássico (N = 6): $21,37 \pm 1,09$ (IC95 18,58 – 24,16).

(B) Porcentagem de variação: Controle (N = 12): $99,47 \pm 0,03$ (IC95 99,39 – 99,54); FB clássico (N = 9): $98,95 \pm 0,43$ (IC95 97,96 – 99,94); FB não clássico (N = 6): $99,67 \pm 0,04$ (IC95 99,57 – 99,78).

(C) Mesor: Controle (N = 12): $31,38 \pm 0,32$ (IC95 30,72 – 32,04); FB clássico (N = 9): $31,19 \pm 0,32$ (IC95 30,53 – 31,85); FB não clássico (N = 6): $30,50 \pm 0,36$ (IC95 29,73 – 31,27).

(D) Amplitude: Controle (N = 12): $1,32 \pm 0,24$ (IC95 0,81 – 1,83); FB clássico (N = 9): $1,75 \pm 0,24$ (IC95 1,24 – 2,27); FB não clássico (N = 6): $1,19 \pm 0,28$ (IC95 0,59 – 1,78).

O teste de *Rayleigh z* mostrou uma coerência alta para acrofase de temperatura intragrupos para os controles e pacientes com variante não clássica. O grupo Fabry com a variante clássica não apresentou diferença estatisticamente significativa, como é possível observar na Figura 30.

Contudo, o teste t de Student mostrou que não há diferença significativa entre os grupos para a uniformidade na distribuição da acrofase (Controle e FB não clássico $p = 0,58$).

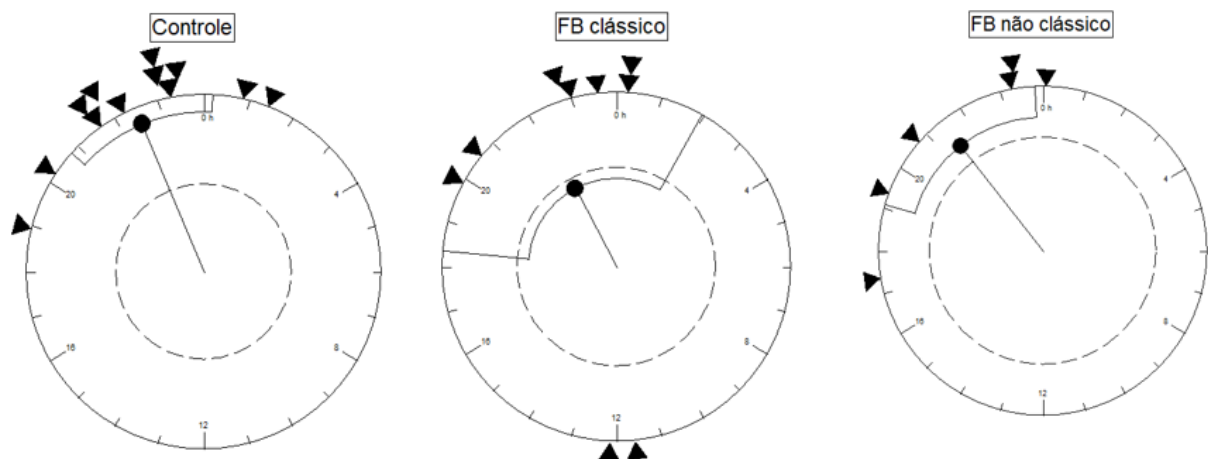


Figura 30. Teste *Rayleigh z* para temperatura em relação ao grupo. Cada círculo representa 24 horas e cada triângulo indica a acrofase média de cada indivíduo do grupo. O ponto preto na ponta do vetor indica a acrofase média do grupo e também está representado o desvio padrão. O círculo interno indica um nível de significância menor ou igual a 5%. Controle (N = 12): $r = 0,90$ $p = 8,81 \cdot 10^{-8}$; FB clássico (N = 9): $r = 0,51$ $p = 0,10$; FB não clássico (N = 6): $r = 0,81$ $p = 0,01$.

O teste de *Rayleigh z* mostrou uma coerência alta para acrofase intragrupos para os controles e pacientes que não fazem TRE. Os pacientes que fazem TRE apresentaram coerência de acrofase intragrupo moderada, como é possível observar na Figura 31.

O teste t de Student mostrou que não há diferença significativa entre os grupos para a uniformidade na distribuição da acrofase (Controle – FB não TRE $p = 0,87$; Controle e FB TRE $p = 0,06$; FB não TRE e FB TRE: $p = 0,26$).

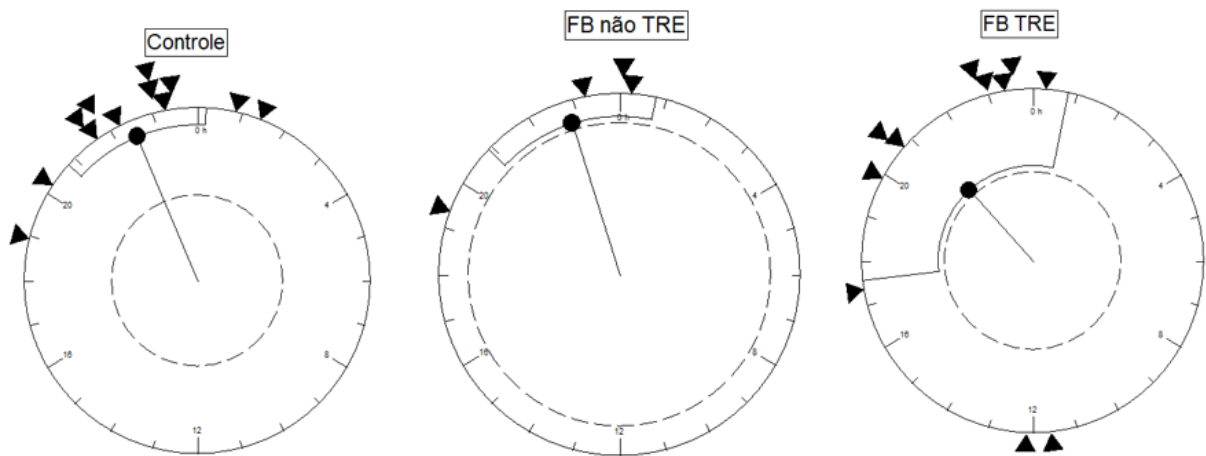


Figura 31. Teste *Rayleigh z* para temperatura em relação a TRE. Cada círculo representa 24 horas e cada triângulo indica a acrofase média de cada indivíduo do grupo. O ponto preto na ponta do vetor indica a acrofase média do grupo e também está representado o desvio padrão. O círculo interno indica um nível de significância menor ou igual a 5%. Controle (N = 12): $r = 0,90$ $p = 8,81 \cdot 10^{-8}$; FB não TRE (N = 4): $r = 0,87$ $p = 0,04$; FB TRE (N = 11): $r = 0,55$ $p = 0,03$.

Foi observada uma correlação linear moderada entre os escores globais do questionário de cronotipo e acrofase de atividade ($r = -0,59$; $p = 0,004$). Não há correlação linear entre os escores globais do questionário de cronotipo e a acrofase de temperatura ($r = -0,16$; $p = 0,40$).

4.3.3 Meio período de sono

A seguir estão apresentados os dados referentes ao cálculo do meio período de sono.

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou um efeito significativo do dia da semana (*Dia da semana*: $F_{(1,28)} = 17,12$ $p = 0,00$ poder = 0,98), como é possível observar na Figura 32.

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que o meio período de sono médio é maior nos finais de semana e feriados do que nos dias de semana ($p = 0,00$).

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para essa diferença observada ($d = 4,25$).

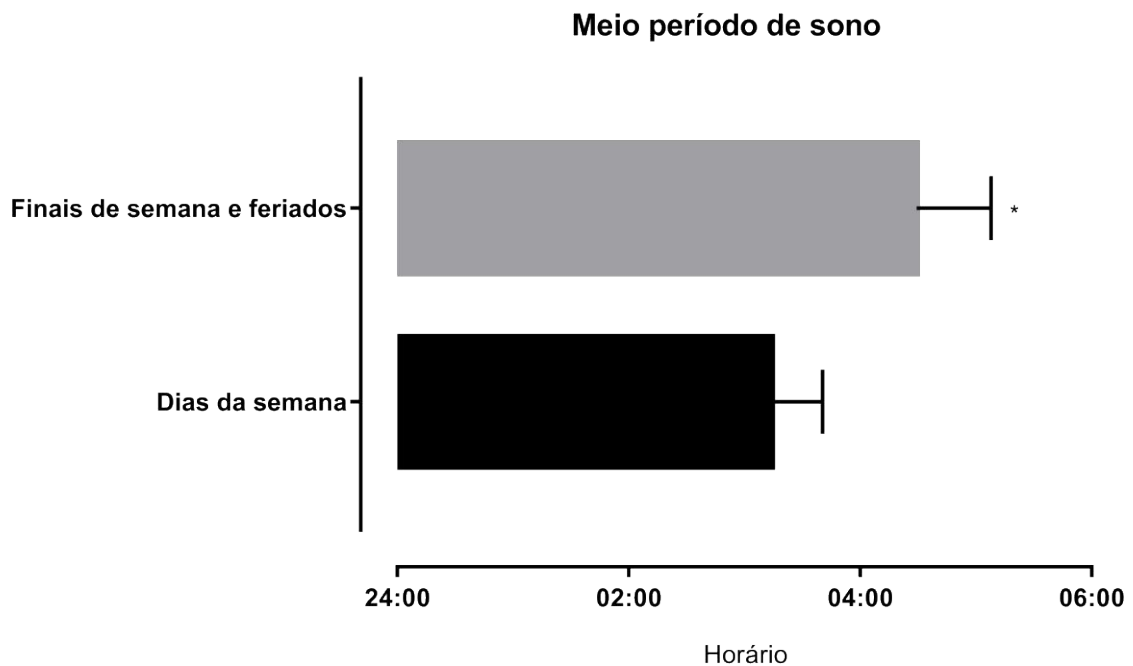


Figura 32. Efeito do dia da semana sobre o horário do meio período de sono (média + IC95). Dias da semana (N = 29) = $3,34 \pm 0,21$ (IC95 2,89 – 3,77); Finais de semana e feriados (N = 29): $4,49 \pm 0,32$ (IC95 3,84 – 5,13).

* meio período de sono médio nos finais de semana e feriados é maior que durante a semana ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou que não houve diferença significativa entre o meio período de sono médio para os fatores gênero, grupo, TRE, medicação e idade, para a interação entre esses fatores, ou para a interação entre esses fatores e o fator tempo, como é possível observar na Figura 33. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos outros fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

Meio período de sono

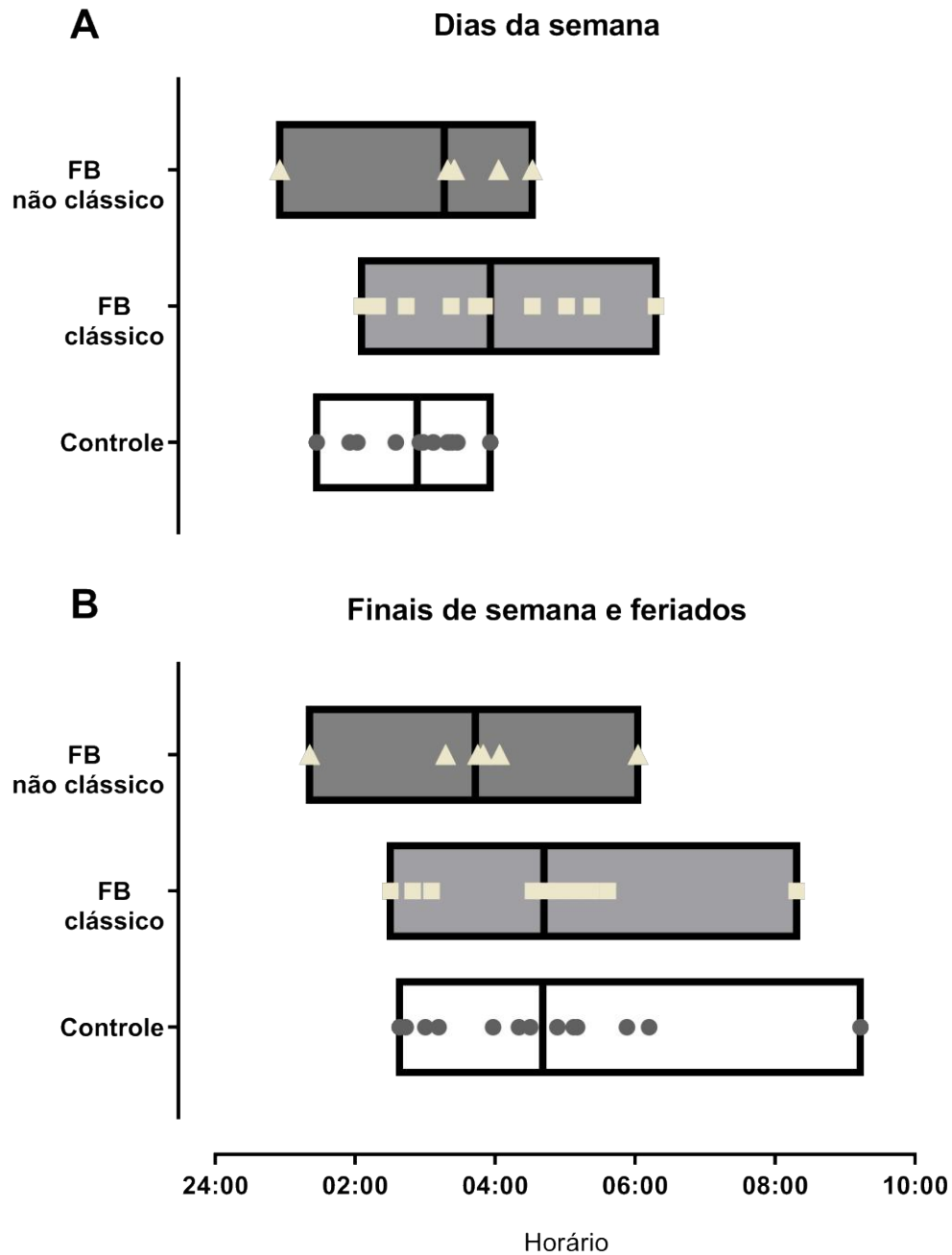


Figura 33. Horários do meio período de sono obtidos a partir do registro de atividade e repouso pela actigrafia durante os dias da semana, nos finais de semana e feriados em relação ao fator grupo. As barras representam o intervalo entre os valores de mínimo e máximo e a linha contínua no seu interior, a média de cada grupo. Os símbolos representam o valor do meio período de sono médio de cada indivíduo.

(A) Dias da semana: Controle (N = 13) = $3,00 \pm 0,36$ (IC95 2,26 – 3,74); FB clássico (N = 10) = $3,93 \pm 0,34$ (IC95 3,22 – 4,64); FB não clássico (N = 6) = $3,59 \pm 0,59$ (IC95 2,36 – 4,81). (B) Finais de semana e feriados: Controle (N = 13) = $4,70 \pm 0,59$ (IC95 3,48 – 5,92); FB clássico (N = 10) = $4,70 \pm 0,57$ (IC95 3,52 – 5,87); FB não clássico (N = 6) = $3,76 \pm 0,98$ (IC95 1,74 – 5,79).

Foi observada uma correlação linear baixa entre os escores globais do questionário de cronotipo e o meio período de sono nos dias da semana ($r = -0,43$; $p = 0,02$) e nos finais de semana e feriados ($r = -0,48$; $p = 0,01$).

4.3.4 Melatonina

Uma voluntária do grupo caso não aceitou participar das etapas seguintes (Fluxograma 2).

4.3.4.1 6-sulfatoximelatonina

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou um efeito significativo do momento do dia sobre a carga excretada de 6-sulfatoximelatonina, como é possível observar na Figura 34 (*Momento do dia*: $F_{(1,19)} = 11,51$ $p = 0,00$ poder = 0,90).

O teste *a posteriori* de comparações múltiplas de Newman-Keuls mostrou que a porcentagem média de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina é maior durante a noite ($p = 0,00$).

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para essa diferença observada ($d = 6,78$).

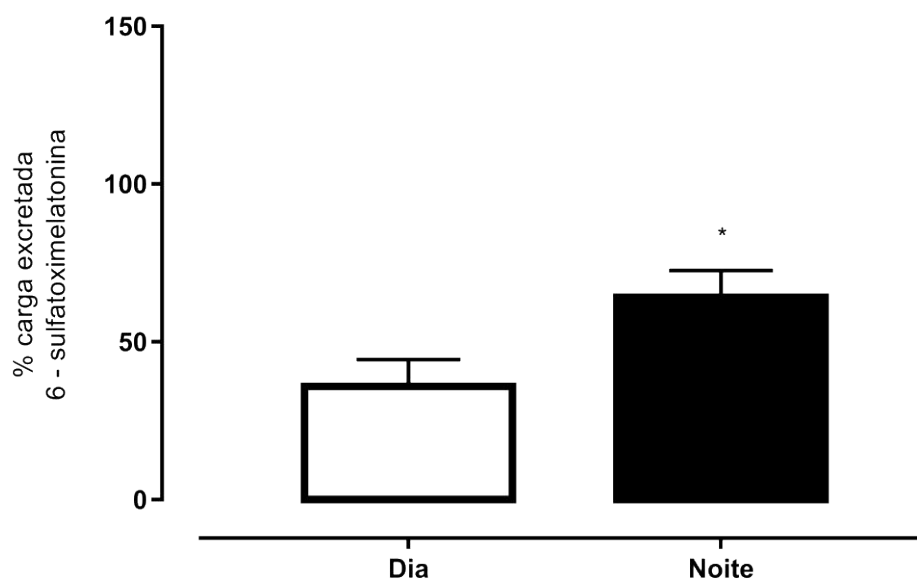


Figura 34. Efeito do momento do dia sobre a porcentagem de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina (média + IC95).

Dia (N = 26) 35,90 ± 4,16 (IC95 27,34 – 44,46); Noite (N = 26): 64,10 ± 4,16 (IC95 55,54 – 72,66).

*** porcentagem média de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina é maior durante a noite ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste de Newman-Keuls).**

O modelo linear geral de medidas repetidas também mostrou um efeito significativo da interação entre tempo e idade, que indica uma contribuição do fator idade sobre a diferença temporal observada (*Tempo*Idade*: $F_{(1,19)} = 6,59$ $p = 0,02$ poder = 0,68).

Foi observada uma correlação linear moderada entre a porcentagem de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante a noite e idade ($r = -0,55$; $p = 0,00$).

O modelo linear geral de medidas repetidas mostrou que não houve diferença significativa entre as porcentagens médias de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina para os fatores gênero, grupo, TRE, medicação e idade, para a interação entre esses fatores, ou para a interação entre esses fatores e o fator tempo. Os valores obtidos a partir das comparações do modelo linear geral de medidas repetidas dos fatores e suas interações estão descritos no Anexo 13.

Apesar do modelo linear geral de medidas repetidas não ter indicado uma diferença significativa para a interação entre os fatores grupo e momento do dia sobre a excreção de 6-sulfatoximelatonina, é nítida uma variação entre os valores individuais durante o dia e a noite para o grupo controle, que se apresenta como uma redução da carga excretada durante o dia e um aumento durante a noite, como é possível observar na Figura 35 A.

Contudo, este perfil de aumento noturno e diminuição diurna na 6-sulfatoximelatonina não acontece nos pacientes, de maneira geral, a variação dia/noite está normalmente presente (exceção de alguns), porém, apresentando-se invertida, como é possível observar nas Figuras 35 B e 35 C.

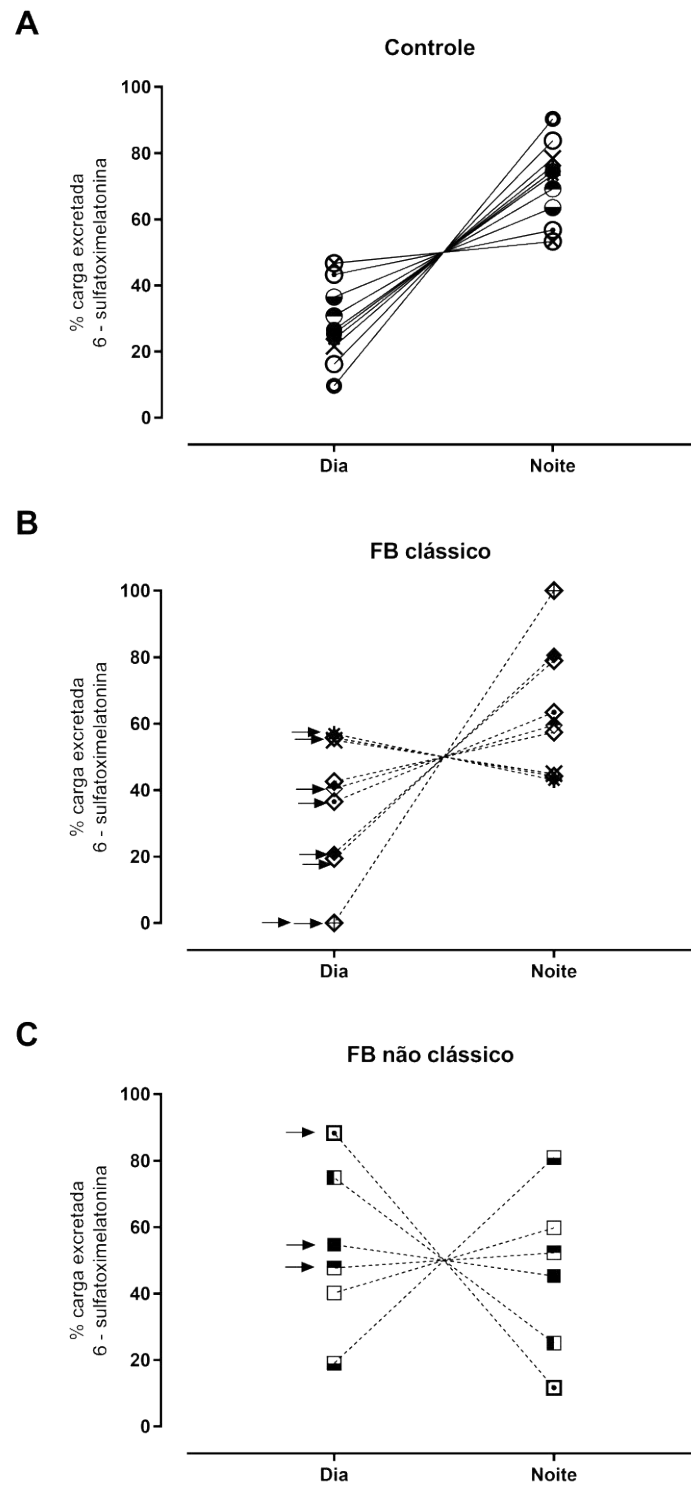


Figura 35. Panorama sobre a porcentagem de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante o dia e durante a noite, nos três grupos. Cada símbolo representa a porcentagem de carga excretada por indivíduo, símbolos iguais indicam o mesmo indivíduo e as linhas, indicam a diferença de excreção durante o dia e a noite. As setas indicam indivíduos em TRE e sua ausência, indivíduos que não estão em TRE.

(A) Controle (N = 10). (B) FB clássico TRE (N = 9), FB clássico não TRE (N = 1). (C) FB não clássico TRE (N = 3), FB não clássico não TRE (N = 3).

Por este motivo, foi aplicado um teste *a posteriori* desprotegido de comparações múltiplas de Newman-Keuls que mostrou um aumento de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante o dia para o grupo de pacientes com variante não clássica, quando comparado com controle, e uma redução de excreção durante a noite ($p = 0,04$), o que indica uma inversão de fase dos pacientes com a variante em questão, como é possível observar nas Figuras 35 C e 36.

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para essa diferença observada ($d = 3,86$).

O mesmo teste *a posteriori* revelou também que o grupo controle apresentou uma porcentagem média de excreção de 6-sulfatoximelatonina maior durante a noite que o dia ($p = 0,02$), o que indica uma oscilação do perfil diário de 6-sulfatoximelatonina, de acordo com o esperado (Figuras 35 A e 36).

O teste de Cohen d mostrou um tamanho de efeito grande para a variação entre excreção de 6-sulfatoximelatonina durante o dia e a noite, observada no grupo controle ($d = 7,22$).

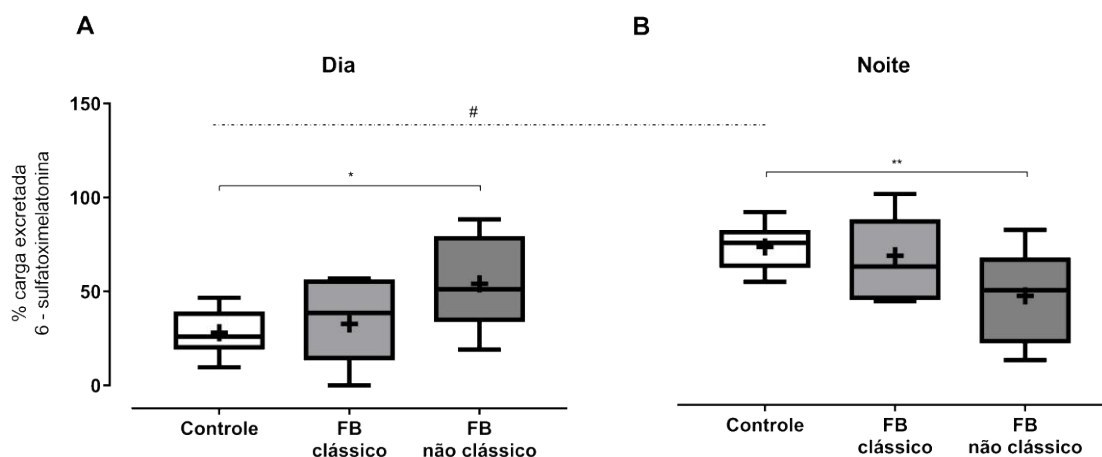


Figura 36. Porcentagem de carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante o dia (A) e durante a noite (B) em relação ao fator grupo. Box-plot percentil 5-95. A cruz representa a média do grupo e a linha contínua, a mediana.

(A) Carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante o dia: Controle (N = 10): $28,05 \pm 6,08$ (IC95 15,47 – 40,64); FB clássico (N = 10): $32,79 \pm 6,08$ (IC95 20,20 – 45,37); FB não clássico (N = 6): $54,15 \pm 7,86$ (IC95 37,90 – 70,40).

(B) Carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante a noite: Controle (N = 10): $71,94 \pm 6,08$ (IC95 59,36 – 84,53); FB clássico (N = 10): $67,21 \pm 6,08$ (IC95 54,63 – 79,80); FB não clássico (N = 6): $45,85 \pm 7,86$ (IC95 29,60 – 62,10).

grupo Controle apresentou porcentagem média de excreção de 6-sulfatoximelatonina menor durante o dia e maior durante a noite ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste desprotegido de Newman-Keuls).

* grupo FB não clássico apresentou porcentagem média de excreção de 6-sulfatoximelatonina maior durante o dia que o grupo Controle ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste desprotegido de Newman-Keuls).

** grupo FB não clássico apresentou porcentagem média de excreção de 6-sulfatoximelatonina menor durante a noite que o grupo Controle ($p < 0,05$; Modelo linear geral de medidas repetidas seguido pelo teste desprotegido de Newman-Keuls).

4.3.4.1.1 Análise individualizada 6-sulfatoximelatonina

É importante ressaltar que a média dos grupos representada na Figura 36 não reflete, necessariamente, a condição individual dos voluntários. No grupo de pacientes com a variante clássica da doença, o grupo apresentou uma ausência de oscilação no perfil de 6-sulfatoximelatonina, porém três indivíduos exibiram uma inversão de fase, como é possível observar na Figura 35B. A análise individual desses três indivíduos está descrita a seguir e nos Anexos 7 e 12 estão expostas, com detalhes, outras informações a respeito dos pacientes.

Paciente do gênero feminino (*FB_05*), 44 anos, não TRE e fazia uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina. O diagnóstico de depressão era desconhecido. Apresentou um resultado de sonolência diurna patológica, um cronotipo intermediário e uma qualidade de sono ruim, avaliados pelos questionários ESS, MEQ e PSQI, respectivamente. Sua porcentagem de excreção de 6-sulfatoximelatonina diurna foi de 55,03% e noturna, 44,97%.

Paciente do gênero masculino (*FB_07*), 54 anos, em TRE há 3 anos e não fazia uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina. O diagnóstico de depressão é desconhecido. Apresentou um resultado de sonolência diurna normal, um cronotipo matutino e uma qualidade de sono ruim, avaliados pelos questionários ESS, MEQ e PSQI, respectivamente. Sua porcentagem de excreção de 6-sulfatoximelatonina diurna foi de 56,95% e noturna, 43,05%.

Paciente do gênero feminino (*FB_16*), 34 anos, em TRE há 1 ano e não fazia uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina. Possui diagnóstico de depressão. Apresentou um resultado de sonolência diurna normal, um cronotipo intermediário e uma qualidade de sono ruim, avaliados pelos questionários ESS, MEQ e PSQI, respectivamente. Sua porcentagem de excreção de 6-sulfatoximelatonina diurna foi de 55,77% e noturna, 44,23%.

No grupo de pacientes com a variante não clássica, o grupo apresentou uma inversão de fase da excreção de 6-sulfatoximelatonina, porém três indivíduos não exibiram esse perfil. A análise individual dos indivíduos com inversão de fase deste metabólito está descrita a seguir e nos Anexos 7 e 12 estão descritas, com detalhes, outras informações a respeito dos pacientes.

Paciente do gênero feminino (*FB_06*), 27 anos, não TRE e não fazia uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina. Não possui diagnóstico de depressão. Apresentou um resultado de sonolência diurna normal, um cronotipo matutino e uma qualidade de sono boa, avaliados pelos questionários ESS, MEQ e PSQI, respectivamente. Sua porcentagem de excreção de 6-sulfatoximelatonina diurna foi de 74,91% e noturna, 25,09%.

Paciente do gênero feminino (*FB_08*), 62 anos, em TRE há 1 ano e fazia uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina. Possui diagnóstico de depressão. Apresentou um resultado de sonolência diurna patológica, um cronotipo matutino e uma qualidade de sono ruim, avaliados pelos questionários ESS, MEQ e PSQI, respectivamente. Sua porcentagem de excreção de 6-sulfatoximelatonina diurna foi de 88,34% e noturna, 11,16%.

Paciente do gênero masculino (*FB_01*), 54 anos, em TRE há 3 anos e não fazia uso contínuo de fármacos interferentes na biossíntese de melatonina. O diagnóstico de depressão é desconhecido. Apresentou um resultado de sonolência diurna patológica, um cronotipo matutino e uma qualidade de sono ruim, avaliados pelos questionários ESS, MEQ e PSQI, respectivamente. Sua porcentagem de excreção de 6-sulfatoximelatonina diurna foi de 54,68% e noturna, 45,32%.

O perfil de excreção de 6-sulfatoximelatonina de cada voluntário está apresentado no Anexo 14.

4.3.4.2 Melatonina salivar

Neste estudo, não foi possível calcular o valor do DLMO pois nenhum dos valores obtidos a partir da dosagem de melatonina salivar atingiram a quantidade necessária para realizar a operação descrita anteriormente, como é possível observar nas Tabelas 8 e 9 e na Figura 37.

Dois voluntários do grupo controle iniciaram a coleta de saliva às 20:30 e terminaram às 23:00. Um voluntário do grupo caso iniciou a coleta às 22:00 a terminou às 23:00 e outro iniciou a coleta às 19:00 e terminou às 20:30.

Tabela 8. Valores referentes a dosagem de melatonina salivar.

Horário coleta	Controle			FB clássico			FB não clássico		
	Média	DV	N	Média	DV	N	Média	DV	N
19:00	0,25	0,12	12	0,37	0,14	9	0,24	0,30	2
19:30	0,39	0,17	12	0,45	0,20	9	0,81	0,42	2
20:00	0,37	0,18	12	0,68	0,21	9	0,48	0,26	6
20:30	0,69	0,30	14	1,01	0,37	9	0,35	0,46	6
21:00	0,57	0,30	14	0,91	0,40	8	0,58	0,46	6
21:30	1,18	0,41	14	0,90	0,55	8	0,84	0,63	6
22:00	0,26	0,45	2	1,13	--	1	0,79	0,37	3
22:30	0,62	0,85	2	1,72	--	1	1,52	0,70	3
23:00	0,75	0,53	2	2,45	--	1	--	--	--

Média, DV (desvio padrão) e N (tamanho da amostra).

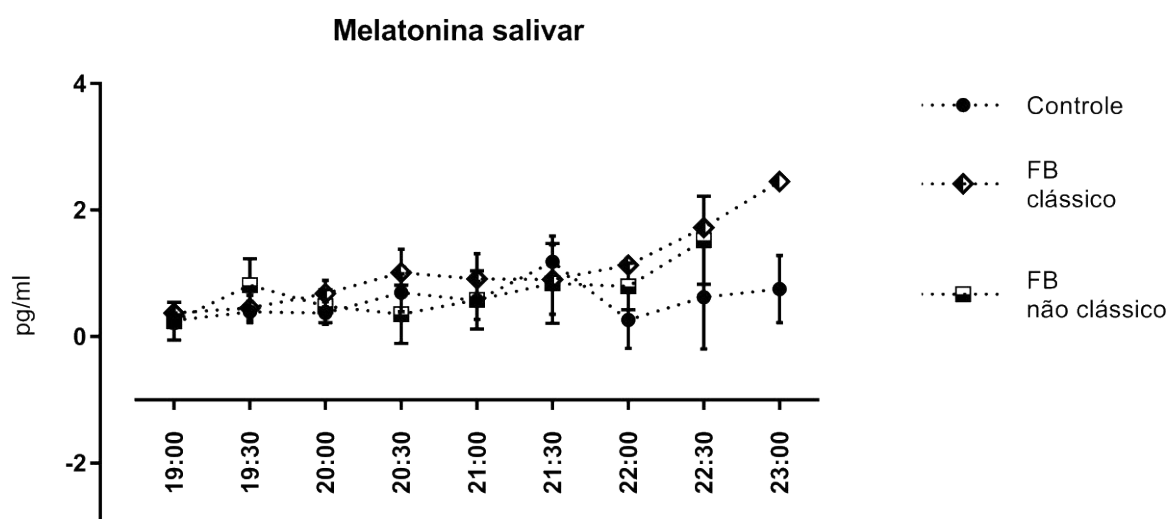


Figura 37. Valores referentes à dosagem de melatonina salivar em relação aos grupos (média $\pm$ desvio padrão).

Apesar dos valores das dosagens melatonina salivar estarem quase todos próximos de zero, os controles da reação de ELISA assim como a curva padrão estão conforme referência do protocolo, como demonstrado na Figura 38 e na Tabela 9, o que sugere uma adversidade metodológica no momento da coleta das amostras pelos voluntários.

Tabela 9. Valores referentes à curva padrão para dosagem de melatonina salivar.

Curva (pg/mL)	450 Test	
0,00	2,04	2,05
0,50	1,80	1,74
1,50	1,46	1,51
5,00	0,85	0,83
15,00	0,42	0,41
50,00	0,34	0,31

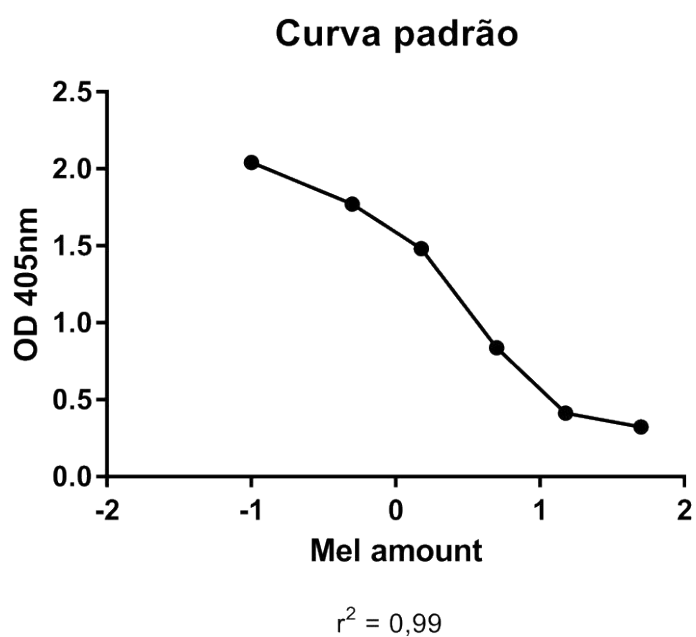


Figura 38. Curva padrão referente à dosagem de melatonina salivar.

RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS

- O grupo controle apresentou uma oscilação no perfil diário de 6-sulfatoximelatonina, com aumento da carga excretada durante a noite e redução durante o dia.
- O grupo de pacientes com a variante não clássica apresentou uma inversão de fase do perfil diário de 6-sulfatoximelatonina, com carga excretada maior durante o dia e menor durante a noite.
- O grupo de pacientes com variante clássica não apresentou oscilação no perfil diário de 6-sulfatoximelatonina.
- O grupo de pacientes com a variante clássica apresentou um período de temperatura corporal periférica maior que o grupo controle.
- Não foram encontradas diferenças significativas para os parâmetros rítmicos restantes, tanto de atividade quanto de temperatura.
- Os pacientes que utilizam fazem uso contínuo de fármacos das classes dos betabloqueadores, ISRS, inibidores da ECA e ARA apresentaram prejuízos em parâmetros subjetivos relacionados com sono, conforme as diferenças observadas nos questionários ESS e PSQI assim como nas questões dos diários de atividade.

5 DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que há uma alteração de ritmicidade biológica no perfil de 6-sulfatoximelatonina nos pacientes com Doença de Fabry.

A inversão de fase no perfil de excreção de 6-sulfatoximelatonina observada nos pacientes com a variante não clássica e a ausência de oscilação desse perfil nos pacientes com a variante clássica foram os principais achados que corroboram esta hipótese.

Apesar de serem modificações distintas, tanto o grupo com a variante clássica quanto o grupo com a variante não clássica diferiram do grupo controle. Talvez a atividade residual da enzima na variante não clássica apresente algum efeito sobre a excreção de 6-sulfatoximelatonina, porém, em ambos os grupos de pacientes a alteração está presente, seja pela falta de oscilação ou pela inversão de fase propriamente dita. Além disso, vale ressaltar que o grupo de pacientes com Doença de Fabry era majoritariamente composto por mulheres, o que sugere uma manifestação clínica mais branda nesta população. Contudo, como já descrito anteriormente, mutações em heterozigose podem ter como consequência fenótipos semelhantes aos observados na população masculina com Doença de Fabry (Whybra, 2001; Wang *et al.*, 2007).

Como era esperado, neste estudo foi observada uma correlação moderada entre a carga excretada de 6-sulfatoximelatonina durante a noite e a idade independente do grupo, de forma que, quanto maior a idade, menor o montante deste metabólito excretado, fenômeno já bem descrito na literatura. Diversos autores já comprovaram que a biossíntese de melatonina apresenta um prejuízo com o avanço da idade em indivíduos saudáveis, sem DF (Reiter, 1995; Kennaway *et al.*, 1999; Mahlberg *et al.*, 2006), o que aparenta ter se repetido para os pacientes avaliados neste estudo.

A literatura sobre DF e ritmos biológicos não é vasta, porém já são descritas alterações rítmicas em outros tipos de DDL, como as MPS's.

Guerrero *et al.* demonstrou que pacientes com MPS III, também conhecida como síndrome de Sanfilippo, apresentaram um aumento da concentração de 6-sulfatoximelatonina na urina durante o dia (Guerrero *et al.*, 2006), resultado que também foi observado para os pacientes com DF variante não clássica neste estudo.

Apesar do grupo Fabry com variante clássica não ter apresentado um perfil de inversão de fase de 6-sulfatoximelatonina, a ausência de variação entre os níveis deste metabólito durante o dia e durante a noite também são indicativos de alteração rítmica, já que o esperado é encontrar o perfil oscilatório como o observado no grupo controle (Mahlberg *et al.*, 2006).

Em modelos animais para MPS foram encontradas alterações à nível do núcleo suprasquiasmático, sugestivas de inflamação neuronal e prejuízo sináptico, o que pode indicar um dano na comunicação entre a glândula pineal e SCN (Canal *et al.*, 2010). Porém, estudos também mostram alterações morfológicas e perda de fotorreceptores em células da retina nesses modelos animais (Heldermon *et al.*, 2007), o que sugere uma modificação relacionada ao *Zeitgeber*, na captação do sinal fótico e posterior perda de sincronização com o ambiente.

De fato, pacientes com Doença de Fabry possuem um comprometimento ocular importante, caracterizado pela *cornea verticillata*. Apesar de ser descrito como um sintoma clássico da doença, ele se manifesta em quase todos os homens e em cerca de 70% das mulheres heterozigotas, ou seja, mesmo pacientes com manifestações mais tardias da doença podem apresentá-lo (Desnick e Brady, 2004; Davey, 2014). Essa manifestação ocular pode estar relacionada com as modificações do perfil diário de 6-sulfatoximelatonina encontradas nos pacientes com DF neste estudo.

Estudos mais antigos reportam que a *cornea verticillata* não interfere na acuidade visual dos pacientes (Sodi *et al.*, 2006, 2007). Porém, recentemente Davey descreveu em pacientes com DF uma sintomatologia referente “à dificuldade em enxergar em lugares escuros”. Esta condição está relacionada com uma sensibilidade reduzida ao contraste de cores, principalmente, quando a luminosidade é menor (Davey, 2014), o que pode justificar percepção diminuída da variação claro e escuro pelos pacientes com Doença de Fabry, cuja consequência, seria alteração nos marcadores de ritmicidade, como o observado para a 6-sulfatoximelatonina.

A ausência de diferenças significativas com relação ao uso de TRE observadas neste estudo pode indicar uma ação ineficiente da enzima recombinante sobre o sistema de temporização em reverter as modificações rítmicas observadas.

Por certo, não é bem definido na literatura se a TRE possui algum efeito sobre a *cornea verticillata*, então mesmo nos pacientes em TRE a percepção do sinal fótico estaria prejudicada. Caso a alteração rítmica observada não seja causada por uma falta de percepção da variação claro e escuro, mas sim a nível central, a enzima recombinante não é capaz de penetrar a barreira hematoencefálica, o que também pode justificar a ausência de resultados para TRE (Schiffmann *et al.*, 2000, Desnick e Schuchman, 2002).

Também é válido ressaltar o papel antioxidante desempenhado pela melatonina (Reiter *et al.*, 1997, 2003; Mayo *et al.*, 2002) e as alterações em enzimas de estresse oxidativo descritas na DF (Müller *et al.*, 2012). Os resultados de 6-sulfatoximelatonina alterados nos pacientes observados neste estudo podem indicar um desequilíbrio nesse papel.

Como a 6-sulfatoximelatonina é um metabólito, também não pode ser descartada a possibilidade de dificuldade de metabolização hepática dos pacientes, que também poderia levar ao resultado observado nesse estudo.

Apesar do fígado estar entre os órgãos mais afetados nas DDL, a relevância clínica do depósito neste órgão na Doença de Fabry é considerada de menor importância, já que a arquitetura e as organelas hepáticas permanecem preservadas (Meuwissen *et al.*, 1982).

A alta incidência de depressão também pode explicar os resultados obtidos neste estudo para 6-sulfatoximelatonina, já que indivíduos que apresentam este transtorno têm redução nos níveis séricos de 6-sulfatoximelatonina (Brown *et al.*, 1987). Porém, na amostra de pacientes deste estudo também estavam presentes indivíduos sem o diagnóstico de depressão, o que minimiza e afasta essa hipótese como possível justificativa para os níveis alterados de 6-sulfatoximelatonina nos pacientes.

Neste estudo não foi possível reiterar os dados da 6-sulfatoximelatonina com os dados de DLMO devido às adversidades metodológicas. Os resultados inconclusivos podem ter sido causados por uma foto iluminação dos voluntários no momento da coleta, já que estudos feitos com essa técnica indicam que ela é realizada com os voluntários submetidos à um comprimento de onda menor do que 20 lux, correspondente à luz amarela (Danilenko *et al.*, 2014; Crowley *et al.*, 2016).

O período de temperatura corporal periférica maior no grupo de pacientes com a variante clássica comparados ao grupo controle também pode corroborar a hipótese de alteração rítmica devido à disfunção lisossômica na DF, já que o ritmo de temperatura corporal é um marcador de ritmicidade biológica, assim como a melatonina.

Contudo, é importante ressaltar a dificuldade característica de termorregulação pelo suor em pacientes com DF, causada pelas modificações na sudorese (Lidove *et al.*, 2006). Uma hipótese é que essa alteração possa ter mais relação com o período alterado do que com uma alteração rítmica propriamente dita. Além disso, apesar da diferença de período ter sido significativa, para um período ser considerado circadiano, ele deve ter duração de 24 ± 4 horas e o que foi observado para o grupo de pacientes com variante clássica.

Também é válido destacar que a temperatura periférica registrada no pulso pelo actígrafo é diferente da temperatura central, principalmente no registro de fase (Gradisar e Lack, 2004; Sarabia *et al.*, 2008; Bellone *et al.*, 2016), o que pode explicar os dados excêntricos dos parâmetros rítmicos de temperatura observados neste estudo, principalmente os de acrofase, e a ausência de correlação entre a acrofase de temperatura e os escores globais do questionário MEQ.

A correlação moderada entre os escores globais do questionário MEQ e acrofase de atividade indica que essa adversidade não se repetiu para o registro de atividade e repouso do actígrafo. No entanto, o registro de atividade e repouso do actígrafo também apresenta algumas limitações como baixa especificidade, já que a actigrafia mede atividade locomotora e qualquer movimento ou ausência dele pode gerar dados espúrios (Sadeh e Acebo, 2002). Por isso é importante adotar também métodos subjetivos de análise, como o diário de atividade utilizado neste estudo.

Não foram observadas diferenças significativas para os outros marcadores de fase circadiana avaliados (parâmetros rítmicos para atividade e meio período de sono), o que pode ser justificado pelos *Zeitgebers* sociais, horários impostos pelas obrigações sociais, como trabalho por exemplo, que possuem forte influência na expressão rítmica individual (Elmore *et al.*, 1994; Korczak *et al.*, 2008). Apesar de ser uma doença grave, com uma progressão inexorável, os pacientes com DF são ativos, trabalham, estudam e desenvolvem atividades regularmente.

Provavelmente, esses *Zeitgebers* sociais também foram os responsáveis pelas diferenças de meio período de sono observadas entre os dias da semana e finais de semana e feriados, independente do indivíduo ter ou não DF, o que reforça a importâncias dessas pistas para a sincronização do organismo (Elmore *et al.*, 1994)

As diferenças de expressão rítmicas devido aos *Zeitgebers* sociais existem, porém, sempre resguardadas pelo cronotipo de cada indivíduo (Korczak *et al.*, 2008; Kantermann e Burgess, 2017), o que foi corroborado por este estudo, evidenciado pelas correlações moderadas entre os escores globais do questionário MEQ e os meios períodos de sono nos dias da semana e em finais de semana e feriados.

Nesse estudo, não houve diferença de cronotipo entre os grupos, porém é interessante ressaltar que o grupo caso apresentou o perfil matutino como o mais presente, enquanto o grupo controle, como já esperado, apresentou o perfil intermediário como o mais frequente, uma vez que este é o cronotipo observado com maior frequência na população geral (Baehr *et al.*, 2000).

Sabe-se que a idade é um fator capaz de causar essa mudança de perfil – de intermediário para matutino - em uma população considerada saudável (Fischer *et al.*, 2017). Uma hipótese é que a disfunção lisossômica leva à uma alteração metabólica capaz de acelerar essa mudança de perfil, semelhante ao efeito da idade. De fato, apenas o grupo controle apresentou correlação entre os escores globais de MEQ e a idade, o que pode confirmar esta hipótese, como comentado anteriormente.

Esse estudo também comprovou dados prévios da literatura ao mostrar que a sonolência diurna excessiva é sinal frequente na Doença de Fabry. Todavia, diferente do descrito por Duning *et al.*, é um sinal observado tanto em homens quanto em mulheres (Duning *et al.*, 2009).

Os resultados obtidos nesse estudo para sonolência diurna são ratificados pelos resultados do diário de atividades. Aparentemente, o uso contínuo de medicamentos interferentes na biossíntese de melatonina apresenta um efeito direto sobre a sensação de cansaço e de sono durante o dia, o que pode ser indício de uma noite com débito de sono (Mahowald, 2000; Chokroverty, 2017), corroborado pelas avaliações também negativas para qualidade de sono e facilidade ao acordar neste grupo de pacientes.

A influência deste tipo de medicamento, como o de betabloqueadores, não pode ser descartada, já que estes são capazes de reduzir os níveis de melatonina noturna. Porém, o uso contínuo destes fármacos não justificaria o aumento dos níveis de melatonina diurna (Stoschitzky *et al.*, 1999), o que foi observado neste estudo para os pacientes com a variante não clássica.

A alteração rítmica na DF, especialmente a do perfil de 6-sulfatoximelatonina, comprovada por esse estudo pode explicar as alterações comportamentais observadas na doença, principalmente as alterações do ciclo sono/vigília. Esses resultados mostram a importância do papel desempenhado pela melatonina na Doença de Fabry e apontam uma possível administração de melatonina, afim de melhorar a qualidade de vida geral dos pacientes, como implicação futura deste trabalho.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

A partir desse estudo foi possível concluir que há uma alteração de ritmicidade biológica no perfil de 6-sulfatoximelatonina em pacientes com Doença de Fabry, evidenciada pelas modificações no perfil diário deste metabólito. Esse resultado pode ser corroborado pelo achado de período de temperatura corporal periférica maior que 24 horas observado no grupo de pacientes com doença de Fabry com a variante clássica.

Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros subjetivos de qualidade de sono e de cronotipo na DF, porém os resultados referentes à sonolência diurna corroboram dados prévios da literatura. Não foram encontradas diferenças significativas quando avaliados os outros instrumentos utilizados neste estudo referentes à fase circadiana, exemplificados pelo meio período de sono e pela variação de temperatura corporal periférica.

O uso de fármacos que interferem na biossíntese de melatonina, como os betabloqueadores, estão relacionados a uma pior avaliação subjetiva de percepção da qualidade de sono e de sonolência diurna.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

- Alegra T, Vairo F, de Souza MV, Krug BC, Schwartz IV. Enzyme replacement therapy for Fabry disease: A systematic review and meta-analysis. *Genet Mol Biol*. 2012;35(4 (suppl)):947-54.
- Anderson, W . A case of "angiokeratoma". *Br J Dermatol*. 1898;10:113–17.
- Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics*. 2000;105(1):e10.
- Arendt J, Minors DJ, Waterhouse JM. Basic concepts and implications. In: Arendt J, Minors DJ, Waterhouse JM, eds. *Biological Rhythms in Clinical Practice*. London, UK: Wright, Butterworth & Co; 1989:3–7.
- Arendt J. Melatonin and human rhythms. *Chronobiol Int*. 2006;23(1-2):21-37.
- Argoff CE, Barton NW, Brady RO, Ziessman HA. Gastrointestinal symptoms and delayed gastric emptying in Fabry's disease: response to metoclopramide. *Nucl Med Commun*. 1998;19(9):887-91.
- Baehr EK, Revelle W, Eastman CI. Individual differences in the phase and amplitude of the human circadian temperature rhythm: with an emphasis on morningness-eveningness. *J Sleep Res*. 2000;9(2):117-27.
- Baudhuin P, Hers HG, Loeb H. An electron microscopic and biochemical study of type ii glycogenosis. *Lab Invest*. 1964;13:1139-52.
- Bellone GJ, Plano SA, Cardinali DP, Chada DP, Vigo DE, Golombek DA. Comparative analysis of actigraphy performance in healthy young subjects. *Sleep Sci*. 2016;9(4):272-9.
- Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*. 2002;295(5557):1070-3.
- Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS, Dallagasparina PV, Menna-Barreto SS, Johns MW. Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. *J. bras. pneumol*. 35(9): 877-883. 2009.
- Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS, Dartora EG, Miozzo IC, de Barba ME, Barreto. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *SS.Sleep Med*. 12(1):70-5. 2010.
- Biegstraaten M, Arngrímsson R, Barbey F, Boks L, Cecchi F, Deegan PB, *et al*. Recommendations for initiation and cessation of enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: the European Fabry Working Group consensus document. *Orphanet J Rare Dis*. 2015;10:36.
- Birklein F. Mechanisms of neuropathic pain and their importance in Fabry disease. *Acta Paediatr Suppl*. 2002;91(439):34-7.

Bolsover FE, Murphy E, Cipolotti L, Werring DJ, Lachmann RH. Cognitive dysfunction and depression in Fabry disease: a systematic review. *J Inherit Metab Dis*. 2014;37(2):177-87.

Borbély AA, Achermann P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms*. 1999;14(6):557-68.

Borbély AA. A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol*. 1982;1(3):195-204.

Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med*. 1967;276(21):1163-7.

Braulke T, Bonifacino JS. Sorting of lysosomal proteins. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793(4):605-14.

Brown RP, Kocsis JH, Caroff S, Amsterdam J, Winokur A, Stokes P, et al. Depressed mood and reality disturbance correlate with decreased nocturnal melatonin in depressed patients. *Acta Psychiatr Scand*. 1987;76(3):272-5.

Burin MG, Coelho JC, Wajner M, Vargas CR, Souza FTS, Giugliani R. Selective screening of 18,000 high-risk brazilian patients for the detection of inborn errors of metabolism. *Revista HCPA*. 2001;21(3):286-292.

Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res*. 1989;28(2):193-213.

Campos LA, Cipolla-Neto J, Amaral FG, Michelini LC, Bader M, Baltatu OC. The Angiotensin-Melatonin Axis. *International Journal of Hypertension*. vol. 2013, Article ID 521783, 7 pages, 2013.

Canal MM, Wilkinson FL, Cooper JD, Wraith JE, Wynn R, Bigger BW. Circadian rhythm and suprachiasmatic nucleus alterations in the mouse model of mucopolysaccharidosis IIIB. *Behav Brain Res*. 2010;209(2):212-20.

Caudron E, Germain DP, Prognon P. [Fabry disease: enzymatic screening using dried blood spots on filter paper]. *Rev Med Interne*. 2010;31 Suppl 2:S263-9.

Chamoles NA, Blanco M, Gaggioli D. Fabry disease: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chim Acta*. 2001;308(1-2):195-6.

Chokroverty S. Sleep Deprivation and Excessive Daytime Sleepiness. In: Chokroverty S. (eds) *Sleep Disorders Medicine*. Springer, New York, NY. 2017.

Cipolla-Neto J, Amaral FG, Afeche SC, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res*. 2014;56(4):371-81.

Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 2005;9(1):11-24.

Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2. Auflage). Hillsdale, NJ: Erlbaum. 1988.

Cole AL, Lee PJ, Hughes DA, Deegan PB, Waldek S, Lachmann RH. Depression in adults with Fabry disease: a common and under-diagnosed problem. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(6):943-51.

Crowley SJ, Suh C, Molina TA, Fogg LF, Sharkey KM, Carskadon MA. Estimating the dim light melatonin onset of adolescents within a 6-h sampling window: the impact of sampling rate and threshold method. *Sleep Med.* 2016;20:59-66.

Danilenko KV, Verevkin EG, Antyufeev VS, Wirz-Justice A, Cajochen C. The hockey-stick method to estimate evening dim light melatonin onset (DLMO) in humans. *Chronobiol Int.* 2014;31(3):349-55.

Davey PG. Fabry disease: a survey of visual and ocular symptoms. *Clin Ophthalmol.* 2014;8:1555-60.

de Duve C. Lysosomes revisited. *Eur J Biochem.* 1983;137:391–7.

de Duve C. Lysosomes, a new group of cytoplasmic particles. In: Hayashi T, editor. *Subcellular particles*. New York: Ronald Press; 1959. p. 128–59.

Desnick RJ, Allen KY, Desnick SJ, Raman MK, Bernlohr RW, Krivit W. Fabry's disease: enzymatic diagnosis of hemizygotes and heterozygotes. Alpha-galactosidase activities in plasma, serum, urine, and leukocytes. *J Lab Clin Med.* 1973;81(2):157-71.

Desnick RJ, Bernstein HS, Astrin KH, Bishop DF. Fabry disease: molecular diagnosis of hemizygotes and heterozygotes. *Enzyme.* 1987;38(1-4):54-64.

Desnick RJ, Brady RO. Fabry disease in childhood. *J Pediatr.* 2004;144(5 Suppl):S20-6.

Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. Alpha-Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver C, Beaudet A, editors. *The metabolic bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill; 2001.

Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:517-49.

Dijk DJ, Archer SN. Light, sleep, and circadian rhythms: together again. *PLoS Biol.* 2009;7(6):e1000145.

Dipple KM, McCabe ER. Modifier genes convert "simple" Mendelian disorders to complex traits. *Mol Genet Metab.* 2000a;71(1-2):43-50.

Dipple KM, McCabe ER. Phenotypes of patients with "simple" Mendelian disorders are complex traits: thresholds, modifiers, and systems dynamics. *Am J Hum Genet.* 2000b;66(6):1729-35.

Duarte LL, Menna-Barreto L, Miguel MA, Louzada F, Araújo J, Alam M, *et al.* Chronotype ontogeny related to gender. *Braz J Med Biol Res.* 2014;47(4):316-20.
Dubovsky SL, Warren C. Agomelatine, a melatonin agonist with antidepressant properties. *Expert Opin Investig Drugs.* 2009;18(10):1533-40.

Duning T, Deppe M, Brand E, Stypmann J, Becht C, Heidbreder A, *et al.* Brainstem involvement as a cause of central sleep apnea: pattern of microstructural cerebral damage in patients with cerebral microangiopathy. *PLoS One.* 2013;8(4):e60304.

Duning T, Deppe M, Keller S, Schiffbauer H, Stypmann J, Böntert M, *et al.* Excessive Daytime Sleepiness Is a Common Symptom in Fabry Disease. *Case Rep Neurol.* 2009;1(1):33-40.

Ellaway CJ, Wilcken B, Christodoulou J. Clinical approach to inborn errors of metabolism presenting in the newborn period. *J Paediatr Child Health.* 2002;38(5):511-7.

Elmore SK, Betrus PA, Burr R. Light, social zeitgebers, and the sleep-wake cycle in the entrainment of human circadian rhythms. *Res Nurs Health.* 1994;17(6):471-8.

Eng CM, Fletcher J, Wilcox WR, Waldek S, Scott CR, Sillence DO, *et al.* Fabry disease: baseline medical characteristics of a cohort of 1765 males and females in the Fabry Registry. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(2):184-92.

Eng CM, Germain DP, Banikazemi M, Warnock DG, Wanner C, Hopkin RJ, *et al.* Fabry disease: guidelines for the evaluation and management of multi-organ system involvement. *Genet Med.* 2006;8(9):539-48.

Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, Germain DP, Lee P, Waldek S, *et al.* Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med.* 2001;345(1):9-16.

Fabry, J. Ein Beitrag zur Kenntnis der Purpura haemorrhagica nodularis (Purpura papulosa haemorrhagica Hebrae) *Arch Dermatol Syph.* 1898;43:187–200.

Farfel-Becker T, Vitner EB, Pressey SN, Eilam R, Cooper JD, Futerman AH. Spatial and temporal correlation between neuron loss and neuroinflammation in a mouse model of neuronopathic Gaucher disease. *Hum Mol Genet.* 2011;20(7):1375-86.

Fellgiebel A, Müller MJ, Mazanek M, Baron K, Beck M, Stoeter P. White matter lesion severity in male and female patients with Fabry disease. *Neurology.* 2005;65(4):600-2.

Fischer D, Lombardi DA, Marucci-Wellman H, Roenneberg T. Chronotypes in the US - Influence of age and sex. *PLoS One.* 2017;12(6):e0178782.

Fleischer B. Über eine eigenartige bisher nicht bekannte Hornhauttrübung [On an unusual thus far unknown type of corneal cloudiness] Graefes Arch Ophthalmol. 1910;77:136–40.

Follenius M, Weibel L, Brandenberger G. Distinct modes of melatonin secretion in normal men. J Pineal Res. 1995;18(3):135–40.

Furio AM, Brusco LI, Cardinali DP. Possible therapeutic value of melatonin in mild cognitive impairment: a retrospective study. J Pineal Res. 2007;43(4):404–9.

Futerman AH, van Meer G. The cell biology of lysosomal storage disorders. Nat Rev Mol Cell Biol. 2004;5(7):554–65.

Garman SC, Garboczi DN. The molecular defect leading to Fabry disease: structure of human alpha-galactosidase. J Mol Biol. 2004;337(2):319–35.

Garrod AE, Clarke JW. A New Case of Alkaptonuria. Biochem J. 1907;2(5–6):217–20.

Garrod AE. The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality. 1902. Mol Med. 1996;2(3):274–82.

Germain DP, Poenaru L. Fabry disease: identification of novel alpha-galactosidase A mutations and molecular carrier detection by use of fluorescent chemical cleavage of mismatches. Biochem Biophys Res Commun. 1999;257(3):708–13.

Giugliani R, Vairo FP, Riegel M, de Souza CF, Schwartz IV, Pena SD. Rare disease landscape in Brazil: report of a successful experience in inborn errors of metabolism. Orphanet J Rare Dis. 2016;11(1):76.

Gradisar M, Lack L. Relationships between the circadian rhythms of finger temperature, core temperature, sleep latency, and subjective sleepiness. J Biol Rhythms. 2004;19(2):157–63.

Grewal RP. Psychiatric disorders in patients with Fabry's disease. Int J Psychiatry Med. 1993;23(3):307–12.

Guerrero JM, Pozo D, Diaz-Rodriguez JL, Martinez-Cruz F, Vela-Campos F. Impairment of the melatonin rhythm in children with Sanfilippo syndrome. J Pineal Res. 2006;40(2):192–3.

Hashimoto K, Gross BG, Lever WF. Angiokeratoma corporis diffusum (Fabry). Histochemical and electron microscopic studies of the skin. J Invest Dermatol. 1965;44:119–28.

Hegemann S, Hajioff D, Conti G, Beck M, Sunder-Plassmann G, Widmer U, *et al.* Hearing loss in Fabry disease: data from the Fabry Outcome Survey. Eur J Clin Invest. 2006;36(9):654–62.

Helderman CD, Hennig AK, Ohlemiller KK, Ogilvie JM, Herzog ED, Breidenbach A, *et al.* Development of sensory, motor and behavioral deficits in the murine model of Sanfilippo syndrome type B. *PLoS One*. 2007;2(8):e772.

Hers HG. alpha-Glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease). *Biochem J*. 1963;86:11-6.

Hers HG. Inborn lysosomal diseases. *Gastroenterology*. 1965;48:625-33.

Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol*. 1976;4(2):97-110.

Huether G. The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. *Experientia*. 1993;49(8):665-70.

Jesionek-Kupnicka D, Majchrowska A, Krawczyk J, Wendorff J, Barcikowska M, Lukaszek S, *et al.* Krabbe disease: an ultrastructural study of globoid cells and reactive astrocytes at the brain and optic nerves. *Folia Neuropathol*. 1997;35(3):155-62.

Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991;14(6):540-5.

Jones TM, Durrant J, Michaelides EB, Green MP. Melatonin: a possible link between the presence of artificial light at night and reductions in biological fitness. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015;370(1667).

Kalmbach DA, Schneider LD, Cheung J, Bertrand SJ, Kariharan T, Pack AI, *et al.* Genetic Basis of Chronotype in Humans: Insights From Three Landmark GWAS. *Sleep*. 2017;40(2).

Kantermann T, Burgess HJ. Average mid-sleep time as a proxy for circadian phase. *Psych J*. 2017;6(4):290-1.

Keilmann A, Hajioff D, Ramaswami U, Investigators F. Ear symptoms in children with Fabry disease: data from the Fabry Outcome Survey. *J Inher Metab Dis*. 2009;32(6):739.

Kennaway DJ, Lushington K, Dawson D, Lack L, van den Heuvel C, Rogers N. Urinary 6-sulfatoxymelatonin excretion and aging: new results and a critical review of the literature. *J Pineal Res*. 1999;27(4):210-20.

Kerkhof GA. Inter-individual differences in the human circadian system: a review. *Biol Psychol*. 1985;20(2):83-112.

Ko CH, Takahashi JS. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum Mol Genet*. 2006;15 Spec No 2:R271-7.

Korczak AL, Martynhak BJ, Pedrazzoli M, Brito AF, Louzada FM. Influence of chronotype and social zeitgebers on sleep/wake patterns. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41(10):914-9.

Laney DA, Gruskin DJ, Fernhoff PM, Cubells JF, Ousley OY, Hipp H, *et al.* Social-adaptive and psychological functioning of patients affected by Fabry disease. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33 Suppl 3:S73-81.

Lanpher B, Brunetti-Pierri N, Lee B. Inborn errors of metabolism: the flux from Mendelian to complex diseases. *Nat Rev Genet.* 2006;7(6):449-60.

Larralde M, Boggio P, Amartino H, Chamoles N. Fabry disease: a study of 6 hemizygous men and 5 heterozygous women with emphasis on dermatologic manifestations. *Arch Dermatol.* 2004;140(12):1440-6.

Lenhard W, Lenhard A. Calculation of Effect Sizes. available: https://www.psychometrica.de/effect_size.html. Dettelbach (Germany): Psychometrica. 2016.

Lenoir G, Rivron M, Gubler MC, Dufier JL, Tome FS, Guivarch M. [Fabry's disease. Carbamazepine therapy in acrodyniform syndrome]. *Arch Fr Pediatr.* 1977;34(8):704-16.

Lewy AJ. Melatonin as a marker and phase-resetter of circadian rhythms in humans. *Adv Exp Med Biol.* 1999;460:425-34.

Lidove O, Jaussaud R, Aractingi S. Dermatological and soft-tissue manifestations of Fabry disease: characteristics and response to enzyme replacement therapy. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 24.

Linhart A. The heart in Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 20.

Lushington K, Dawson D, Encel N, Lack L. Urinary 6-sulfatoxymelatonin cycle-to-cycle variability. *Chronobiol Int.* 1996;13(6):411-21.

Magage S, Lubanda JC, Susa Z, Bultas J, Karetová D, Dobrovolný R, *et al.* Natural history of the respiratory involvement in Anderson-Fabry disease. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(5):790-9.

Mahlberg R, Tilmann A, Salewski L, Kunz D. Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(5):634-41.

Mahowald MW. What is causing excessive daytime sleepiness? Evaluation to distinguish sleep deprivation from sleep disorders. *Postgrad Med.* 2000;107(3):108-10, 15-8, 23.

Martins AM, Kyosen SO, Garrote J, Marques FM, Guilhem JG, Macedo E, *et al.* Demographic characterization of Brazilian patients enrolled in the Fabry Registry. *Genet Mol Res.* 2013;12(1):136-42.

Martins AM. Inborn errors of metabolism: a clinical overview. Sao Paulo Med J. 1999;117(6):251-65.

Mayo JC, Sainz RM, Antoli I, Herrera F, Martin V, Rodriguez C. Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression. Cell Mol Life Sci. 2002;59(10):1706-13.

Mehta A, Beck M, Elliott P, Giugliani R, Linhart A, Sunder-Plassmann G, *et al.* Enzyme replacement therapy with agalsidase alfa in patients with Fabry's disease: an analysis of registry data. Lancet. 2009;374(9706):1986-96.

Mehta A, Beck M, Linhart A, *et al.* History of lysosomal storage diseases: an overview. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 1.

Mehta A, Clarke JT, Giugliani R, Elliott P, Linhart A, Beck M, *et al.* Natural course of Fabry disease: changing pattern of causes of death in FOS - Fabry Outcome Survey. J Med Genet. 2009;46(8):548-52.

Mehta A, Widmer U. Natural history of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 19.

Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. JAMA. 1999;281(3):249-54.

Mills K, Morris P, Lee P, Vellodi A, Waldek S, Young E, *et al.* Measurement of urinary CDH and CTH by tandem mass spectrometry in patients hemizygous and heterozygous for Fabry disease. J Inher Metab Dis. 2005;28(1):35-48.

Minneman KP, Wurtman RJ. The pharmacology of the pineal gland. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1976;16:33-51.

Möhrenschlager M, Braun-Falco M, Ring J, Abeck D. Fabry disease: recognition and management of cutaneous manifestations. Am J Clin Dermatol. 2003;4(3):189-96.

Molina TA, Burgess HJ. Calculating the dim light melatonin onset: the impact of threshold and sampling rate. Chronobiol Int. 2011;28(8):714-8.

Moore DF, Kaneski CR, Askari H, Schiffmann R. The cerebral vasculopathy of Fabry disease. J Neurol Sci. 2007;257(1-2):258-63.

Moore RY, Eichler VB. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. Brain Res. 1972;42(1):201-6.

Moore RY, Silver R. Suprachiasmatic nucleus organization. Chronobiol Int. 1998;15(5):475-87.

Moore RY, Speh JC, Leak RK. Suprachiasmatic nucleus organization. Cell Tissue Res. 2002;309(1):89-98.

Moraes AC, Cambras T, Diez-Noguera A, Schimitt R, Dantas G, Levandovski R, *et al.* A new chronobiological approach to discriminate between acute and chronic depression using peripheral temperature, rest-activity, and light exposure parameters. *BMC Psychiatry*. 2013;13:77.

Morgan SH, Rudge P, Smith SJ, Bronstein AM, Kendall BE, Holly E, *et al.* The neurological complications of Anderson-Fabry disease (alpha-galactosidase A deficiency)--investigation of symptomatic and presymptomatic patients. *Q J Med*. 1990;75(277):491-507.

Motabar O, Sidransky E, Goldin E, Zheng W. Fabry disease - current treatment and new drug development. *Curr Chem Genomics*. 2010;4:50-6.

Mukaka MM. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J*. 2012;24(3):69-71.

Müller KB, Galdieri LC, Pereira VG, Martins AM, D'Almeida V. Evaluation of oxidative stress markers and cardiovascular risk factors in Fabry Disease patients. *Genet Mol Biol*. 2012;35(2):418-23.

Müller KB, Rodrigues MD, Pereira VG, Martins AM, D'Almeida V. Reference values for lysosomal enzymes activities using dried blood spots samples - a Brazilian experience. *Diagn Pathol*. 2010;5:65.

Najafian B, Svarstad E, Bostad L, Gubler MC, Tøndel C, Whitley C, *et al.* Progressive podocyte injury and globotriaosylceramide (GL-3) accumulation in young patients with Fabry disease. *Kidney Int*. 2011;79(6):663-70.

Nakao S, Kodama C, Takenaka T, Tanaka A, Yasumoto Y, Yoshida A, *et al.* Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a "renal variant" phenotype. *Kidney Int*. 2003;64(3):801-7.

Nakao S, Takenaka T, Maeda M, Kodama C, Tanaka A, Tahara M, *et al.* An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med*. 1995;333(5):288-93.

Overstreet DH. *et al.* Effects of melatonin receptor ligand on swim test immobility. *Neuroreport*, v 26, n. 2, p. 249-53, Jan 1998.

Pastores GM, Lien YH. Biochemical and molecular genetic basis of Fabry disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13 Suppl 2:S130-3.

Piro A, Tagarelli G, Lagonia P, Quattrone A, Tagarelli A. Archibald Edward Garrod and alcaptonuria: "Inborn errors of metabolism" revisited. *Genet Med*. 2010;12(8):475-6.

Pittendrigh CS. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1960;25:159-84.

Platt FM, Boland B, van der Spoel AC. The cell biology of disease: lysosomal storage disorders: the cellular impact of lysosomal dysfunction. *J Cell Biol.* 2012;199(5):723-34.

Pressey SN, Smith DA, Wong AM, Platt FM, Cooper JD. Early glial activation, synaptic changes and axonal pathology in the thalamocortical system of Niemann-Pick type C1 mice. *Neurobiol Dis.* 2012;45(3):1086-100.

Reinberg A, Ashkenazi I. Concepts in human biological rhythms. *Dialogues Clin Neurosci.* 2003;5(4):327-42.

Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res.* 1997;29(8):363-72.

Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Czarnocki Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol.* 2003;50(4):1129-46.

Reiter RJ. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev.* 1991;12(2):151-80.

Reiter RJ. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp Gerontol.* 1995;30(3-4):199-212.

Richter HG, Torres-Farfán C, Rojas-García PP, Campino C, Torrealba F, Serón-Ferré M. The circadian timing system: making sense of day/night gene expression. *Biol Res.* 2004;37(1):11-28.

Robbins J, Redline S, Ervin A, Walsleben JA, Ding J, Nieto FJ. Associations of sleep-disordered breathing and cerebral changes on MRI. *J Clin Sleep Med.* 2005;1(2):159-65.

Roenneberg T. Having Trouble Typing? What on Earth Is Chronotype? *J Biol Rhythms.* 2015;30(6):487-91.

Sadeh A, Acebo C. The role of actigraphy in sleep medicine. *Sleep Med Rev.* 2002;6(2):113-24.

Sarabia JA, Rol MA, Mendiola P, Madrid JA. Circadian rhythm of wrist temperature in normal-living subjects A candidate of new index of the circadian system. *Physiol Behav.* 2008;95(4):570-80.

Schäfer E, Baron K, Widmer U, Deegan P, Neumann HP, Sunder-Plassmann G, *et al.* Thirty-four novel mutations of the GLA gene in 121 patients with Fabry disease. *Hum Mutat.* 2005;25(4):412.

Schibler U, Ripperger J, Brown SA. Peripheral circadian oscillators in mammals: time and food. *J Biol Rhythms.* 2003;18(3):250-60.

Schiffmann R, Hughes DA, Linthorst GE, Ortiz A, Svarstad E, Warnock DG, *et al.* Screening, diagnosis, and management of patients with Fabry disease: conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2017;91(2):284-93.

Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, *et al.* Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;285(21):2743-9.

Schiffmann R, Moore DF. Neurological manifestations of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS.* Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 22.

Schiffmann R, Murray GJ, Treco D, Daniel P, Sellos-Moura M, Myers M, *et al.* Infusion of alpha-galactosidase A reduces tissue globotriaosylceramide storage in patients with Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(1):365-70.

Segal P, Kohn Y, Pollak Y, Altarescu G, Galili-Weisstub E, Raas-Rothschild A. Psychiatric and cognitive profile in Anderson-Fabry patients: a preliminary study. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(4):429-36.

Shabbeer J, Yasuda M, Luca E, Desnick RJ. Fabry disease: 45 novel mutations in the alpha-galactosidase A gene causing the classical phenotype. *Mol Genet Metab.* 2002;76(1):23-30.

Sigmundsdottir L, Tchan MC, Knopman AA, Menzies GC, Batchelor J, Sillence DO. Cognitive and psychological functioning in Fabry disease. *Arch Clin Neuropsychol.* 2014;29(7):642-50.

Silva CFD, Silvério JMA, Rodrigues PJF, Pandeirada J, Fernandes SM, Macedo FBD *et al.* The Portuguese version of the Horne and Ostberg morningness-eveningness questionnaire: Its role in education and psychology. *Revista Psicologia e Educação.* 2002.

Slater G, Steier J. Excessive daytime sleepiness in sleep disorders. *Journal of Thoracic Disease.* 2012;4(6):608-616.

Sodi A, Ioannidis A, Pitz S. Ophthalmological manifestations of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS.* Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 26.

Sodi A, Ioannidis AS, Mehta A, Davey C, Beck M, Pitz S. Ocular manifestations of Fabry's disease: data from the Fabry Outcome Survey. *Br J Ophthalmol.* 2007;91(2):210-4.

Spada M, Pagliardini S, Yasuda M, Tükel T, Thiagarajan G, Sakuraba H, *et al.* High incidence of later-onset fabry disease revealed by newborn screening. *Am J Hum Genet.* 2006;79(1):31-40.

Stoschitzky K, Sakotnik A, Lercher P, Zweiker R, Maier R, Liebmann P, *et al.* Influence of beta-blockers on melatonin release. *Eur J Clin Pharmacol.* 1999;55(2):111-5.

Sunder-Plassmann G, Födinger M. Diagnosis of Fabry disease: the role of screening and case-finding studies. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 17.

Svensson CK, Feldt-Rasmussen U, Backer V. Fabry disease, respiratory symptoms, and airway limitation - a systematic review. *Eur Clin Respir J.* 2015;2.

Talbot A, Hammerschlag G, Goldin J, Nicholls K. Sleep Disturbance, Obstructive Sleep Apnoea and Abnormal Periodic Leg Movements: Very Common Problems in Fabry Disease. *JIMD Rep.* 2017;31:37-44.

Torra R. Renal manifestations in Fabry disease and therapeutic options. *Kidney Int Suppl.* 2008(111):S29-32.

Turaça LT, Pessoa JG, Motta FL, Muñoz Rojas MV, Müller KB, Lourenço CM, *et al.* New mutations in the GLA gene in Brazilian families with Fabry disease. *J Hum Genet.* 2012;57(6):347-51.

Turek F. Neurobiology of circadian rhythms in mammals. *Bioscience.* 1983;33:439–444

Tuttolomondo A, Pecoraro R, Simonetta I, Miceli S, Arnao V, Licata G, *et al.* Neurological complications of Anderson-Fabry disease. *Curr Pharm Des.* 2013;19(33):6014-30.

Umemura GS. Análise da ritmicidade circadiana nas transições do horário de verão [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Psicologia; 2015.

Vellodi A. Lysosomal storage disorders. *Br J Haematol.* 2005;128(4):413-31.

Waber L. Inborn errors of metabolism. *Pediatr Ann.* 1990;19(2):105-9, 12-3, 17-8.

Wagner S, Castel M, Gainer H, Yarom Y. GABA in the mammalian suprachiasmatic nucleus and its role in diurnal rhythmicity. *Nature.* 1997;387(6633):598-603.

Waldek S, Patel MR, Banikazemi M, Lemay R, Lee P. Life expectancy and cause of death in males and females with Fabry disease: findings from the Fabry Registry. *Genet Med.* 2009;11(11):790-6.

Wang RY, Lelis A, Mirocha J, Wilcox WR. Heterozygous Fabry women are not just carriers, but have a significant burden of disease and impaired quality of life. *Genet Med.* 2007;9(1):34-45.

Wappner RS. Biochemical diagnosis of genetic diseases. *Pediatr Ann.* 1993;22(5):282-92, 95-7.

Weil ZM, Hotchkiss AK, Gatien ML, Pieke-Dahl S, Nelson RJ. Melatonin receptor (MT1) knockout mice display depression-like behaviors and deficits in sensorimotor gating. *Brain Res Bull.* 2006;68(6):425-9.

Whybra C, Kampmann C, Willers I, Davies J, Winchester B, Kriegsmann J, *et al.* Anderson-Fabry disease: clinical manifestations of disease in female heterozygotes. *J Inherit Metab Dis.* 2001;24(7):715-24.

Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, Waldek S, Lee P, Linthorst GE, *et al.* Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet.* 2004;75(1):65-74.

Winchester B, Young E. Biochemical and genetic diagnosis of Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS.* Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 18.

Wraith JE. Lysosomal disorders. *Semin Neonatol.* 2002;7(1):75-83.

Wraith JE. The clinical presentation of lysosomal storage disorders. *Acta Neurol Taiwan.* 2004;13(3):101-6.

Wurtman RJ, Axelrod J, Phillips LS. Melatonin synthesis in the pineal gland: control by light. *Science.* 1963;142(3595):1071-3.

Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, *et al.* Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science.* 2000;288(5466):682-5.

Young E, Mills K, Morris P, Vellodi A, Lee P, Waldek S, *et al.* Is globotriaosylceramide a useful biomarker in Fabry disease? *Acta Paediatr Suppl.* 2005;94(447):51-4; discussion 37-8.

Zar-Kessler C, Karaa A, Sims KB, Clarke V, Kuo B. Understanding the gastrointestinal manifestations of Fabry disease: promoting prompt diagnosis. *Therap Adv Gastroenterol.* 2016;9(4):626-34.

Zschocke, J. SSIEM Classification of Inborn Errors of Metabolism. In: *Physician's Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-up of Inherited Metabolic Diseases.* Eds.: N. Blau, M. Duran, K. M. Gibson and C. Dionisi-Vici. Berlin-Heidelberg; 2014. Springer: 817-830.

Anexos

Anexo 1 – Currículo *lattes*



Julia Ribeiro da Silva Vallim

Bolsista de Mestrado do CNPq

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/3213422394107197>

Última atualização do currículo em 22/02/2018

Possui Graduação em Ciências Biológicas Modalidade Médica pela UNIFESP/São Paulo (2015). Atualmente é aluna de mestrado do programa de pós-graduação em Psicobiologia da Universidade Federal de São Paulo sob orientação da Prof^a. Dra.Vânia D'Almeida. Tem experiência na área de Bases Celulares e Moleculares do Comportamento com ênfase em ritmos biológicos, melatonina e Doenças de Depósito Lisossômico. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Julia Ribeiro da Silva Vallim
Nome em citações bibliográficas	VALLIM, J.R.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Psicobiologia. Rua Napoleão de Barros - de 501/502 a 949/950 Vila Clementino 04024002 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 21490155
------------------------------	---

Formação acadêmica/titulação

2016	Mestrado em andamento em Psicobiologia (Conceito CAPES 7). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil. Orientador: Vânia D'Almeida. Coorientador: Fernanda Gaspar do Amaral. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Palavras-chave: Doenças de Depósito Lisossômico; Ritmos biológicos; Melatonina. Grande área: Ciências Biológicas
2012 - 2015	Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Genética / Subárea: Genética Humana e Médica. Graduação em Ciência Biológicas - Modalidade Médica. Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil. Título: Avaliação da relação entre ritmo circadiano e ciclo celular em pacientes com Doença de Fabry.. Orientador: Vânia D'Almeida.
2008 - 2010	Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil. Ensino Médio (2º grau). Coc Universitário, COC, Brasil.

Formação Complementar

2017 - 2017	Comunicação Científica. (Carga horária: 45h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2015 - 2017	Extensão universitária em Cursinho pré vestibular Jeannine Aboulafia (CUJA). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2016 - 2016	Aprendendo Psicobiologia com Cinema. (Carga horária: 30h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2016 - 2016	Ansiedade Social e Didática. (Carga horária: 15h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2016 - 2016	Bases Genéticas e Moleculares da Variabilidade Fenotípica. (Carga horária: 75h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2016 - 2016	Estatística Aplicada à Psicobiologia - Nível I. (Carga horária: 105h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2016 - 2016	Curso Online de Pesquisa no PubMed. (Carga horária: 120h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2015 - 2015	

	Aspectos Moleculares, Celulares e Comportamentais da Ritmicidade Biológica. (Carga horária: 90h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2015 - 2015	Circadian clocks: How Rhythms Structure Life. Ludwig-Maximilians-Universität München, LMU, Alemanha.
2015 - 2015	Princípios Éticos na Pesquisa Científica. (Carga horária: 105h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
2014 - 2015	Centro Acadêmico Leal Prado (CALP). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.

Vínculo institucional

2016 - Atual

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Mestrado Acadêmico, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações

Aluna de Mestrado no Departamento de Psicobiologia, com dedicação integral ao desenvolvimento do seu projeto.

Vínculo institucional

2014 - 2015

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações

Estágio curricular em pesquisa no Departamento de Psicobiologia, com dedicação exclusiva ao desenvolvimento de seu projeto.

Vínculo institucional

2013 - 2014

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Treinamento técnico, Carga horária: 15, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações

Departamento de Morfologia e Genética, Universidade Federal de São Paulo.

Projetos de pesquisa

2016 - Atual

A disfunção lisossômica na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?

Descrição: Doenças de Depósito Lisossômico (DDL) são caracterizadas por uma deficiência enzimática cuja consequência é o acúmulo anormal de macromoléculas no interior do lisossomo, o que prejudica o funcionamento desta organela e desencadeia sintomas variados, mas progressivos e permanentes. A Doença de Fabry é uma DDL com padrão de herança ligado ao cromossomo X, causada por uma mutação do gene GLA, que tem como consequência a deficiência da enzima alfa galactosidase A e acúmulo de globotriaosilceramídeos (Gb3). O depósito anormal de Gb3 ocorre no interior dos lisossomos e manifesta-se em diversos tecidos, como pele, olhos, fígado, coração, cérebro e sistema nervoso periférico. Diversos estudos mostram correlações entre algumas DDL e prejuízos em parâmetros do sono (sonolência diurna excessiva, latência do sono, despertares durante a noite) o que sugere uma modificação dos ritmos biológicos em pacientes que apresentam essas doenças. A melatonina é uma molécula com diversas propriedades bem descritas na literatura, dentre elas, a sua capacidade de agir como um cronobiótico, mantendo as relações de fase entre osciladores centrais e periféricos. Dessa forma, o presente projeto visa a investigar qual o perfil rítmico de pacientes com Doença de Fabry, utilizando a melatonina como um marcador de ritmicidade biológica..

Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (0) / Especialização: (0) .

Integrantes: Julia Ribeiro da Silva Vallim - Coordenador / Vânia D'Almeida - Integrante / Fernanda Gaspar do Amaral - Integrante.

2015 - 2015

Avaliação da relação entre ritmo circadiano e ciclo celular em pacientes com Doença de Fabry

Descrição: Erros Inatos do Metabolismo (EIM) é um grupo de doenças hereditárias geneticamente determinadas, nas quais um defeito enzimático ou de transporte leva a um bloqueio de uma via metabólica. Inclusas nessa categoria estão as Doenças de Depósito Lisossômico (DDL), caracterizadas por uma perturbação na homeostase lisossomal, cuja deficiência proteica acarreta no acúmulo anormal de macromoléculas, com sintomas variados, mas progressivos e permanentes. As DDL são de herança monogênica autossômica recessiva, como doença de Gaucher, ou apresentam padrão de herança ligada ao X, como Doença de Fabry. A Doença de Fabry é uma DDL causada por uma mutação do gene GLA, que tem como consequência uma deficiência da enzima alfa galactosidase A e acúmulo de globotriaosilceramídeo (Gb3). O depósito anormal de Gb3 ocorre no interior dos lisossomos e manifesta-se em diversos tecidos, como pele, olhos, fígado, coração, cérebro e sistema nervoso periférico. Em experimentos realizados

previamente pelo nosso grupo, observou-se que o crescimento celular de fibroblastos de pacientes que apresentam Doença de Fabry era mais lento quando comparado com controle (dados não publicados), o que sugere que o controle do ciclo celular dessas células pode estar envolvido nas diferenças observadas. Diversos estudos mostram que mecanismos regulatórios do ciclo celular estão submetidos a oscilações regulares em um período de 24 horas. Dessa forma, o presente projeto visa investigar a correlação entre ritmos circadianos e ciclo celular em pacientes com Doença de Fabry..

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (1) / Doutorado: (1) .

2013 - 2014

Integrantes: Julia Ribeiro da Silva Vallim - Coordenador / Vânia D'Almeida - Integrante / Ana Carolina Barris de Oliveira - Integrante.

Investigação dos mecanismos envolvidos na formação e estabilização de cromossomos em anel, marcadores supranumerários e deleções terminais

Descrição: Graças ao desenvolvimento das técnicas de citogenética molecular, entre elas as de FISH e array, atualmente é possível identificar e caracterizar diferentes tipos de alterações cromossômicas com maior nível resolução. Além das metodologias de citogenética molecular, as técnicas de PCR e de sequenciamento tem permitido a análise do DNA das regiões envolvidas nos rearranjos, possibilitando um melhor conhecimento do papel da arquitetura genômica na formação desses. Dentre os rearranjos cromossômicos, os cromossomos em anel e os pequenos cromossomos marcadores supernumerários (sSMC) constituem tipos peculiares de cromossomos derivados, especialmente em termos de mecanismos de formação e estabilização. Para a estabilização dessas alterações, bem como de deleções terminais, os telômeros desempenham um papel crucial. Desta forma, o presente projeto propõe o estudo de pacientes portadores de cromossomos em anel, de sSMC e de deleções terminais 18q com o intuito de se entender melhor os mecanismos de formação das aberrações cromossômicas, com ênfase nos mecanismos de estabilização envolvendo os telômeros. Serão utilizadas técnicas de citogenética clássica, FISH, array de alta resolução, PCR e sequenciamento para determinar a extensão do desequilíbrio genômico e os pontos de quebra. Os resultados dos estudos nestes pacientes permitirão um maior conhecimento dos mecanismos de formação e estabilização dos desequilíbrios cromossômicos..

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Graduação: (2) .

Integrantes: Julia Ribeiro da Silva Vallim - Integrante / Maria Isabel de Souza Aranha Melaragno - Coordenador / Roberta dos Santos Guilherme - Integrante.

Projetos de extensão

2015 - 2017

Cursinho pré vestibular Jeannine Aboulafia (CUJA)

Descrição: O Cursinho Pré-Vestibular Jeaninne Aboulafia (CUJA) é um projeto de ação social organizado por alunos e funcionários voluntários da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Há 15 anos, nosso projeto tem como objetivo revisar o conteúdo estudado no Ensino Médio com alunos provenientes de escolas públicas e/ou de classes menos favorecidas, buscando a sua preparação para os vestibulares e sua inserção no ambiente acadêmico..

Situação: Concluído; Natureza: Extensão.

2015 - 2015

Integrantes: Julia Ribeiro da Silva Vallim - Integrante / Danilo Pereira Micali - Coordenador / Fernanda Talarico - Integrante / Vêronica Justi - Integrante / Anderson Silverio Junior - Integrante.

XIII Curso de Inverno

Descrição: O Curso de Inverno, organizado pelos alunos do último ano do curso de Biomedicina da UNIFESP, (Universidade Federal de São Paulo) é voltado principalmente para alunos de ensino médio e de cursos pré-vestibulares, tendo por objetivo aproximar o público aos diversos temas da área da saúde abordados durante a graduação em biomedicina. Ao longo de uma semana os alunos tem contato com o mundo científico através aulas teóricas e práticas, aprendendo conceitos fundamentais das ciências biológicas e da saúde..

Situação: Concluído; Natureza: Extensão.

Alunos envolvidos: Graduação: (15) .

Integrantes: Julia Ribeiro da Silva Vallim - Coordenador / Jéssica Domingues Gonçalves - Integrante / Cristiane Aparecida Favoretto - Integrante / Lucas Vinicius Henn de Souza - Integrante / Fernanda Talarico - Integrante / Gabriela Xavier - Integrante / Luana Adami - Integrante.

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Humanas / Área: Psicologia / Subárea: Psicologia Fisiológica/Especialidade: Psicobiologia.
2. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Genética / Subárea: Genética Humana e Médica.

Idiomas

Inglês	Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.
--------	--

Produções

Produção bibliográfica

Resumos publicados em anais de congressos

1. **VALLIM, J.R.;** AMARAL, F. G. ; D'ALMEIDA, V . Evaluation of the Sleep Quality and Chronotype in Fabry Disease Patients. In: 13th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, 2017, Rio de Janeiro. Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening, 2017. v. 5.

Apresentações de Trabalho

1. **VALLIM, J.R.;** AMARAL, F. G. ; D'ALMEIDA, V . Evaluation of the Sleep Quality and Chronotype in Fabry Disease Patients. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
2. **VALLIM, J.R.;** D'ALMEIDA, V . Avaliação da relação entre ritmo circadiano e ciclo celular em pacientes com Doença de Fabry. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. 13th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Evaluation of the Sleep Quality and Chronotype in Fabry Disease Patients. 2017. (Congresso).
2. I Workshop - Molecular Mechanisms Of Autophagy And Their Application To Diseases. 2017. (Seminário).
3. 1st Workshop on Melatonin and Energy Metabolism. 2016. (Seminário).
4. XIII Encontro Mineiro de Biomedicina. 2016. (Encontro).
5. I Congresso Acadêmico Unifesp. Avaliação da relação entre ritmo circadiano e ciclo celular em pacientes com Doença de Fabry.. 2015. (Congresso).
6. I Liga Acadêmica de Pesquisa Científica - LAPEC.I Liga Acadêmica de Pesquisa Científica - LAPEC. 2015. (Outra).

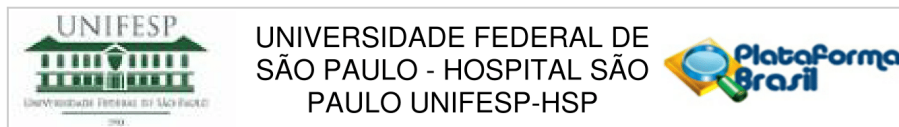
Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. **VALLIM, J.R.;** TALARICO, F. ; XAVIER, G. ; GONCALVES, J. D. ; FAVORETTO, C. A. . XIII Curso de Inverno de Biomedicina. 2015. (Outro).

Outras informações relevantes

Coordenadora Geral do Centro Acadêmico Leal Prado (Universidade Federal de São Paulo) durante a gestão 2014-2015. Diretora de Recursos e Diretora Pedagógica do Cursinho Pré-Vestibular Jeannine Aboulafia (CUJA, Universidade Federal de São Paulo) durante a gestão 2015-2017. Representante discente do Departamento de Psicobiologia (Universidade Federal de São Paulo) durante a gestão 2016-2017.

Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A disfunção lisossômica na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?

Pesquisador: Julia Ribeiro da Silva Vallim

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 55261516.6.0000.5505

Instituição Proponente: Departamento de Psicobiologia

Patrocinador Principal: Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa
FUND COORD DE APERFEICOAMENTO DE PESSOAL DE NIVEL SUP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.577.773

Apresentação do Projeto:

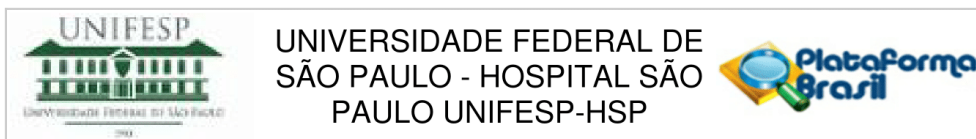
Trata-se de respostas de pendências aontadas no parecer inicial

Número do Parecer: 1.529.605

DADOS DO PARECER

Projeto CEP/UNIFESP n: 0512/2016 Doenças de Depósito Lisossômico (DDL) são caracterizadas por uma deficiência enzimática cuja consequência é o acúmulo anormal de macromoléculas no interior do lisossomo, o que prejudica o funcionamento desta organela e desencadeia sintomas variados, mas progressivos e permanentes. A Doença de Fabry é uma DDL com padrão de herança ligado ao cromossomo X, causada por uma mutação do gene GLA, que tem como consequência a deficiência da enzima alfa galactosidase A e acúmulo de lobotriaosilceramídeos (Gb3). O depósito anormal de Gb3 ocorre no interior dos lisossomos e manifesta-se em diversos tecidos, como pele, olhos, fígado, coração, cérebro e sistema nervoso periférico. Diversos estudos mostram correlações entre algumas DDL e prejuízos em parâmetros do sono (sonolência diurna excessiva, latência do sono, despertares durante a noite) o que sugere uma modificação dos ritmos biológicos em pacientes que apresentam essas doenças. A melatonina é uma molécula com diversas propriedades bem descritas na literatura,

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO **CEP:** 04.023-061
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062 **Fax:** (11)5539-7162 **E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.577.773

dentre elas, a sua capacidade de agir como um cronobiótico, mantendo as relações de fase entre osciladores centrais e periféricos. Dessa forma, o presente projeto visa a investigar qual o perfil rítmico de pacientes com Doença de Fabry, utilizando a melatonina como um marcador de ritmicidade biológica.

Objetivo da Pesquisa:

- Hipótese: A alteração do funcionamento do lisossomo, devido a mutação que causa a Doença de Fabry, afeta os ritmos biológicos. -Objetivo Primário: Avaliar o perfil rítmico de pacientes com Doença de Fabry e compará-los com indivíduos saudáveis, utilizando a melatonina como marcador de ritmicidade biológica. - Objetivo Secundário: 1. Pacientes com Doença de Fabry apresentam padrão rítmico diferente de indivíduos saudáveis? 2. Marcadores de ritmicidade biológica (como a melatonina) estão relacionados com a fisiopatologia da Doença de Fabry? 3. Existe diferença no padrão de secreção de melatonina em pacientes com Doença de Fabry, quando comparados com indivíduos controle, sem a doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

conforme descrito no parecer inicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo com o objetivo acadêmico de Mestrado, vinculado ao Departamento de Psicobiologia, Campus São Paulo, com orientação da profa. Dra. Vânia D?Almeida. Centros Coparticipantes: Instituto de Erros Inatos do Metabolismo - responsável: Dra. Ana Maria Martins TIPO DE ESTUDO: Observacional LOCAL: Centro de Referência em Erros Inatos do Metabolismo (CREIM) da UNIFESP PARTICIPANTES: Serão recrutados pacientes homens e mulheres com Doença de Fabry de qualquer faixa etária, diagnosticados por dosagem atividade enzimática e/ou molecular - mutação presente no DNA, atendidos regularmente no Centro de Referência em Erros Inatos do Metabolismo (CREIM) da UNIFESP (sob coordenação da Profa. Dra. Ana Maria Martins), estando ou não submetidos ao tratamento de reposição enzimática (TRE).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de respostas de pendências apontadas no parecer inicial.

Recomendações:

Se o recrutamento dos participantes for realizado através de cartazes ou outro meio de divulgação, o texto a ser disponibilizado deverá ser apresentado ao CEP para aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

pendências apontadas no parecer inicial:

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO **CEP:** 04.023-061
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062 **Fax:** (11)5539-7162 **E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com

1-Atenção à Legislação: adequar os campos em que é citada a Resolução Normativa 196/96, uma vez que esta resolução já foi revogada, estando em voga atualmente, a Resolução Normativa 466/12, do CNS/MS, que aprova as normas e diretrizes regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. No documento Comprometimento_Julia.pdf (Pasta: Recurso Anexado pelo Pesquisador- Submissão 1), foi citada erroneamente a resolução 196/96.

2-Em relação ao TCLE:

- a)- informar o que será feito com as amostras biológicas após a utilização na pesquisa;
- b)- é necessário informar que o termo está sendo disponibilizado em 2 vias originais (não usar a palavra ?cópia?), uma para ficar com o participante e outra para ficar com o pesquisador. ;
- c)- todas as folhas devem ser numeradas (ex: 1/4, 2/4, etc.) as quais deverão ser rubricadas pelo pesquisador e pelo participante da pesquisa no momento da aplicação do TCLE. ;
- d)-no campo de assinaturas, além da assinatura, inserir local para o nome do participante e do pesquisador.
- e)- TCLE deve contemplar também o grupo controle.

3-Toda pesquisa a ser realizada no Hospital Universitário ? Hospital São Paulo (HU/HSP), ou em qualquer um de seus ambulatórios ou Centros, deverá vir acompanhada de carta de autorização da Coordenadoria de Ensino e Pesquisa do HU/HSP (que pode ser conseguida na Diretoria Clínica do HSP, no 1º andar do Hospital São Paulo).

4-Rever a informação dada, no campo ?Riscos?, que indica que a pesquisa não pode causar riscos.

Conforme orientação da CONEP, lembramos que qualquer pesquisa com seres humanos pode causar algum risco, por mínimo que seja.

5- Serão incluídos pacientes de qualquer faixa etária. Caso sejam incluídos menores de idade, deve ser apresentado também o Termo de Assentimento elaborado em linguagem adequada para compreensão da faixa etária.

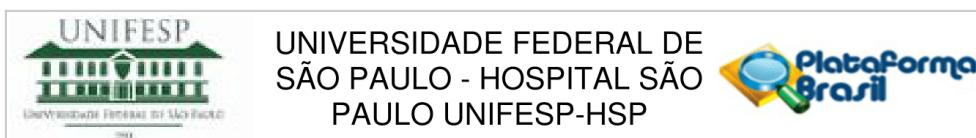
6- Como será constituído o grupo controle? Onde serão recrutados?

resposta: todas as adequações foram realizadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP informa que a partir desta data de aprovação, é necessário o envio de relatórios parciais (anualmente), e o relatório final, quando do término do estudo.

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14		
Bairro: VILA CLEMENTINO	CEP: 04.023-061	
UF: SP	Município: SAO PAULO	
Telefone: (11)5571-1062	Fax: (11)5539-7162	E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.577.773

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

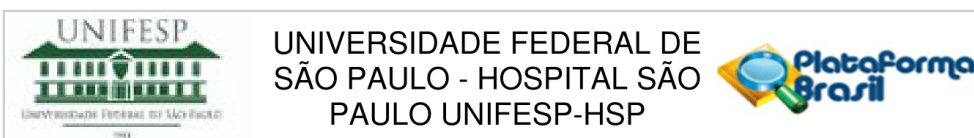
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_693159.pdf	31/05/2016 13:42:35		Aceito
Outros	Carta_HSP.pdf	31/05/2016 13:42:02	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Outros	Comprometimento.pdf	31/05/2016 13:41:38	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Outros	Termo_Assentimento.pdf	31/05/2016 13:40:23	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.pdf	31/05/2016 13:39:50	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Outros	Resposta_CEP.pdf	31/05/2016 13:39:03	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Brochura Pesquisa	Inicio_atividades.pdf	13/04/2016 18:54:21	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	13/04/2016 18:50:04	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Comprometimento_Julia.pdf	13/04/2016 18:47:39	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_pesquisadores.pdf	13/04/2016 18:47:11	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	13/04/2016 18:46:41	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Material_biologico.pdf	13/04/2016 18:46:16	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Declaração do Patrocinador	Financiamento_AFIP.pdf	13/04/2016 18:42:48	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Mestrado.pdf	13/04/2016 18:41:05	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	13/04/2016 18:39:41	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_CEP.pdf	13/04/2016 18:39:05	Julia Ribeiro da Silva Vallim	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO **CEP:** 04.023-061
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062 **Fax:** (11)5539-7162 **E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.577.773

Não

SAO PAULO, 06 de Junho de 2016

Assinado por:
Miguel Roberto Jorge
(Coordenador)

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO **CEP:** 04.023-061
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062 **Fax:** (11)5539-7162 **E-mail:** secretaria.cepunifesp@gmail.com

Anexo 3 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Página 1 de 5

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “*A disfunção lisossômica na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?*”. As informações abaixo estão sendo fornecidas para esclarecê-lo sobre sua possível participação voluntária neste estudo, que tem como objetivo avaliar o perfil rítmico de pacientes com Doença de Fabry e compará-los com indivíduos sem a doença, utilizando a melatonina como marcador de ritmicidade biológica. Este estudo será feito da seguinte maneira: serão consultados prontuário e histórico médico para a coleta de dados, e coletadas amostras de urina e saliva para dosagem de melatonina. Os voluntários também irão utilizar um actígrafo, dispositivo semelhante a um relógio de pulso, capaz de monitorar períodos de atividade/repouso, e preencher um diário de atividade. Além disso, serão aplicados três questionários referentes a parâmetros de sono no dia de início de uso do actígrafo.

A sua participação consiste em coletar a urina em dois recipientes que lhe serão fornecidos, um recipiente “manhã”, no qual será coletada a partir da primeira urina da manhã até às 19:00, e um recipiente “noite”, no qual será coletada a urina das 19:00 até a hora de dormir e a primeira urina da manhã seguinte. Na mesma noite da coleta de urina, será feita a coleta de saliva no período “noite” (19:00 até a hora de dormir) em intervalos regulares de 30 minutos. No dia da entrega da urina e da saliva, serão aplicados os questionários e entregue o actígrafo, que deve ser utilizado de forma contínua durante 23 dias. Esses procedimentos que serão realizados podem te causar o seguinte desconforto: alergia e/ou desconforto do uso do actígrafo, que caso ocorra, será interrompido imediatamente. As coletas de urina e saliva são pouco invasivas, porém, qualquer desconforto quando ao intervalo de coleta, deve ser comunicado ao pesquisador responsável.

O Sr(a). tem toda a liberdade de retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento sem penalização alguma. Neste caso o Sr(a). poderá continuar seu tratamento na Instituição sem problemas (quando for o caso).

Todas as informações obtidas a seu respeito neste estudo, serão analisadas em conjunto com as de outros voluntários, não sendo divulgado a sua identificação ou de outros pacientes em nenhum momento.

O Sr(a). tem a garantia de que todos os dados obtidos a seu respeito, assim como qualquer material coletado só serão utilizados neste estudo.

Caso seja necessário, o Sr(a). terá assistência permanente durante o estudo, ou mesmo após o término ou interrupção do estudo.

Se ocorrer qualquer problema ou dano pessoal comprovadamente decorrente dos procedimentos ou tratamentos aos quais o Sr(a). será submetido, lhe será garantido o direito a tratamento gratuito na Instituição e o Sr(a). terá direito a indenização determinada por lei.

O Sr(a). não receberá nenhuma compensação financeira relacionada à sua participação neste estudo. Da mesma forma, o Sr(a). não terá nenhuma despesa pessoal em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Durante o período de sua participação, se houver qualquer despesa adicional de sua parte em relação à condução ou alimentação, o Sr. será reembolsado.

A qualquer momento, se for de seu interesse, o Sr(a). poderá ter acesso a todas as informações obtidas a seu respeito neste estudo, ou a respeito dos resultados gerais do estudo.

Em qualquer etapa do estudo, o Sr(a). terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Julia Ribeiro da Silva Vallim, email: juliavallim@gmail.com, que pode ser encontrado no endereço Rua Napoleão de Barros, 925, 3º andar, São Paulo – SP, telefone (13) 99206-6262, e-mail:

Rua Napoleão de Barros, 925 – CEP 04024-002 - São Paulo – SP/Julia Ribeiro da Silva Vallim, e-mail: juliavallim@gmail.com , telefone: (13) 99206-6262

juliavallim@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@unifesp.br.

Quando o estudo for finalizado, o Sr(a). será informado sobre os principais resultados e conclusões obtidas no estudo.

Esse termo foi elaborado em duas vias devidamente assinadas, sendo que uma ficará com o Sr(a). e a outra conosco e todas as folhas serão rubricadas.

“Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “*A disfunção lisossômica exerce na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?* ”. Eu discuti com o pesquisador principal, Julia Ribeiro da Silva Vallim, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Data: ____/____/____

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

“Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária, o Consentimentos Livre e Esclarecido deste paciente (ou representante legal) para a participação neste estudo. Declaro ainda que me comprometo a cumprir todos os termos aqui descritos.”

Data: ____/____/____

Nome do pesquisador principal

Assinatura

Anexo 4 – Termo de Assentimento.

Página 1 de 2

Termo de Assentimento

O termo de assentimento não elimina a necessidade de fazer o termo de consentimento livre e esclarecido que deve ser assinado pelo responsável ou representante legal do menor de idade.

Título: A disfunção lisossômica na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?

Investigador principal: Julia Ribeiro da Silva Vallim

Eu _____ aceito participar da pesquisa “A disfunção lisossômica na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?”.

O(s) pesquisadore(s) _____ me explicaram como o estudo vai acontecer, assim como explicaram quais são os riscos e desconfortos que posso ter relacionados ao estudo.

Compreendi que não sou obrigado (a) a participar da pesquisa, eu decido se quero participar ou não.

Os pesquisadores me explicaram que farão perguntas sobre o meu sono para preencher alguns questionários. Também terei que utilizar um dispositivo semelhante à um relógio de pulso chamado de actígrafo, durante 23 dias e preencher um diário de atividade durante esse mesmo período.

Além disso terei que fazer coleta de urina em dois recipientes, um recipiente “manhã”, no qual será coletada a partir da primeira urina da manhã até às 19:00, e um recipiente “noite”, no qual será coletada a urina das 19:00 até a hora de dormir e a primeira urina da manhã

seguinte. Na mesma noite da coleta de urina, será feita a coleta de saliva no período “noite” (19:00 até a hora de dormir) em intervalos regulares de 30 minutos.

Caso ocorra algum desconforto e/ou alergia devido ao uso do actígrafo ou por algum procedimento, posso interromper o seu uso e/ou minha participação no estudo imediatamente.

Todas as entrevistas serão feitas pela pesquisadora principal, Julia Ribeiro da Silva Vallim. Minha mãe ou responsável poderão ficar por perto, e o teste pode ser interrompido caso eu desejar.

Me disseram também que tudo o que for dito e visto só poderá ser avaliado por eles, assim como o material coletado só será utilizado neste estudo.

Os riscos ou desconfortos da pesquisa já foram esclarecidos e meus pais concordaram com a minha participação.

Dessa forma, concordo livremente em participar dos testes com os pesquisadores, sabendo que posso desistir a qualquer momento, se assim desejar.

São Paulo , _____ de _____ de 20 ____.

Pesquisador

Participante da pesquisa

Assinatura dos pais ou responsáveis legais

Rua Napoleão de Barros, 925 – CEP 04024-002- São Paulo - SP / Julia Ribeiro da Silva Vallim, e-mail:
juliavallim@gmail.com

Anexo 5 – Ficha de dados pessoais.

Código: _____

Dados pessoais

NOME COMPLETO: _____

Idade: _____

Data de nascimento: __/__/____

Telefone: _____

Altura (m): _____

Peso (kg): _____

ENDEREÇO: _____

Bairro: _____

Cidade: _____

FAZ TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA: () SIM () NÃO

FAZ HEMODIÁLISE: () SIM () NÃO

É TRANSPLANTADO (A): () SIM () NÃO

FAZ USO DE ALGUMA MEDICAÇÃO CONTÍNUA? () SIM () NÃO

Se sim, quais? _____

OUTRAS OBSERVAÇÕES: _____

Anexo 6 – Instruções do delineamento experimental.

Pesquisadora responsável: Julia Ribeiro da Silva Vallim
Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo (LEIM) – Rua Napoleão de Barros, 925, 3º andar
Telefone: (13) 99206-6262; e-mail: juliavallim@gmail.com

O que devo fazer e em quais dias?

Olá voluntário(a)!

Gostaria de agradecer sua disponibilidade e boa vontade em participar do estudo: “A disfunção lisossômica na Doença de Fabry exerce efeito sobre a ritmicidade biológica dos pacientes?”.

Abaixo estão algumas instruções que podem auxiliar a sua participação nesse projeto.

Qualquer dúvida, preocupação e/ou desconforto, favor comunicar imediatamente a pesquisadora principal: **Julia Ribeiro da Silva Vallim, celular: (13) 99206-6262, e-mail: juliavallim@gmail.com/ Rua Napoleão de Barros, 925 – Vila Clementino, São Paulo - SP.**

DATA DE INÍCIO DO USO DO ACTÍGRAFO: ____/____/____

PREVISÃO DE RETIRADA DO ACTÍGRAFO: ____/____/____

Coleta de urina:

Você recebeu dois recipientes para coleta de urina, um com uma etiqueta DIA e outra com etiqueta NOITE. O início da coleta da urina deve ser DOIS DIAS ANTES da entrega do actígrafo.

1. Inicie a coleta no recipiente etiquetado NOITE, no qual você deve coletar toda a urina que fizer desde às 19:00 até a primeira urina da manhã do dia seguinte;
2. Continue então realizando a coleta de urina no recipiente etiquetado DIA, a partir da primeira urina da manhã até às 19:00.
3. Armazene os frascos em uma geladeira comum.
4. **NÃO É NECESSÁRIO ENCHER OS RECIPIENTES!!** Faça a sua quantidade habitual de urina.

Ex: se a data de previsão de retirada do actígrafo for em uma quarta-feira, inicie a coleta de urina no recipiente NOITE na segunda às 19:00 até a primeira urina da manhã de terça-feira. Na terça-feira, após fazer a primeira urina da manhã, passe a coletar no recipiente DIA toda a urina do dia até às 19:00.

Volume total urina NOITE: _____ ml

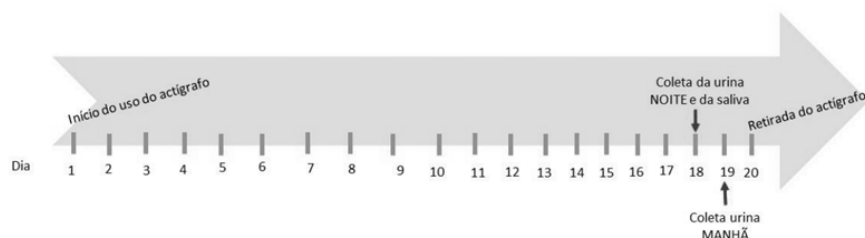
Volume total urina MANHÃ: _____ ml

Pesquisadora responsável: Julia Ribeiro da Silva Vallim
Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo (LEIM) – Rua Napoleão de Barros, 925, 3º andar
Telefone: (13) 99206-6262; e-mail: juliavallim@gmail.com

Coleta de saliva:

Você recebeu seis tubos etiquetados de 1 a 6 e com os horários de coleta anotados. A coleta de saliva deve ser feita de 30 em 30 minutos, a partir das 19:00 até às 21:30. Caso você durma antes de terminar a coleta, não tem problema, não perca seu sono por isso!

1. A coleta de saliva deve ser realizada na mesma noite da coleta da urina NOITE.
2. Dentro do tubo, há um algodão que você deve colocar debaixo da língua e esperar por 2 minutos. Se preferir, você pode mastigar levemente o algodão, mantendo o máximo possível embebido com saliva.
3. Armazenar na geladeira comum também.
4. Durante o período da coleta, favor não ingerir cafeína, se alimentar ou escovar os dentes, deixe a alimentação para 30 minutos antes ou no término da coleta!!
5. **NÃO É NECESSÁRIO ESTIMULAR A SALIVAÇÃO!!** Por isso, não masque chicletes ou coma balas durante o período de coleta.



Muito obrigada pela sua cooperação!!

Anexo 7 – Descrição detalhada do grupo caso (gênero, idade, uso de TER, idade de início dos sintomas, nível de atividade enzimática, classificação em fenótipos para Doença de Fabry e os respectivos genótipos).

Código	Gênero	Idade	TRE	Início dos sintomas	Atividade enzimática	Classificação	Mutação
FB_01	Masculino	54	Sim	Desconhecido		Não clássico	NM_000169:c.540G>
FB_02	Feminino	52	Não	39 anos		Não clássico	NM_000169:c.352C>T
FB_03	Feminino	32	Não	Assintomático	11,42 (leucócitos)	Não clássico	NM_000169:c.937G>T
FB_04	Feminino	50	Sim	Desconhecido		Não clássico	NM_000169:c.937G>T:c.337T>C
FB_05	Feminino	44	Não	Desconhecido		Clássico	NM_000169:c.101A>G
FB_06	Feminino	27	Não	Assintomático		Não clássico	NM_000169:c.337T>C
FB_07	Masculino	54	Sim	Infância	12,76 (leucócitos)	Clássico	NM_000169:c.1095T>A
FB_08	Feminino	62	Sim	40 anos	1,60 (leucócitos)	Não clássico	NM_000169:c.868A>C
FB_09	Masculino	51	Sim	Infância		Clássico	NM_000169:c.352C>T
FB_10	Masculino	23	Sim	12 anos	0,16 (leucócitos)	Clássico	NM_000169:c.1025G>A
FB_11	Masculino	17	Sim	2 anos	0,59 (leucócitos)	Clássico	NM_000169:c.73_86insCCCTCGTTTCCTGG
FB_12	Feminino	53	Sim	15 anos	11,24 (leucócitos)	Clássico	NM_000169:c.59_72dup14bases c.73_86insCCCTCGTTTCCTGG
FB_13	Feminino	41	Sim	15 anos		Clássico	NM_000169:c.1066C>T
FB_14	Feminino	28	Sim	6 anos	1,52 (leucócitos)	Clássico	NM_000169:c.658C>T
FB_15	Masculino	43	Sim	18 anos	0,00 (leucócitos)	Clássico	NM_000169:c.73ins CCCTCGTTTCCTGG
FB_16	Feminino	34	Sim	Infância		Clássico	NM_000169:c.154T>G
FB_17	Masculino	40	Sim	12 anos		Clássico	NM_000169:c.1025G>A

<i>FB_18</i>	Feminino	31	Sim	Desconhecido		Não clássico	NM_000169:c.154T>G
<i>FB_19</i>	Feminino	24	Não	15 anos		Clássico	NM_000169:c.1066C>T
<i>FB_20</i>	Feminino	27	Não	Desconhecido		Clássico	NM_000169:c.1066C>T
<i>FB_21</i>	Feminino	22	Não	18 anos		Clássico	NM_000169:c.1066C>T
<i>FB_23</i>	Feminino	33	Sim	20 anos	6,31 (papel de filtro)	Clássico	NM_000169:c.1066C>T
<i>FB_24</i>	Feminino	48	Não	10 anos		Clássico	NM_000169:c.146G>C

Anexo 8 – Questionário de Sonolência Diurna Excessiva (*Epworth Sleepiness Scale – ESS*).

Código: _____

Data: ____/____/____

1

ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPPWORTH (ESS-BR)

Qual a probabilidade de você cochilar ou dormir, e não apenas se sentir cansado nas seguintes situações? Considere o modo de vida que você tem levado recentemente. Mesmo que você não tenha feito algumas destas coisas recentemente, tente imaginar como elas o afetariam. Escolha o número mais apropriado para responder cada questão:

0= *nunca* cochilaria

1= *pequena* probabilidade de cochilar

2- probabilidade *média* de cochilar

3- *grande* probabilidade de cochilar

Situação	Probabilidade de cochilar			
Sentado e lendo	0	1	2	3
Assistindo TV	0	1	2	3
Sentado, quieto, em um lugar público (por exemplo, em um teatro, reunião ou palestra)	0	1	2	3
Andando de carro por uma hora sem parar. como passageiro	0	1	2	3
Ao deitar-se à tarde para descansar. quando possível	0	1	2	3
Sentado conversando com alguém	0	1	2	3
Sentado quieto após o almoço sem bebida de álcool	0	1	2	3
Em um carro parado no trânsito por alguns minutos	0	1	2	3

Obrigado por sua cooperação!

Anexo 9 – Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (*Morningness-eveningness questionnaire - MEQ*).

Código: _____

2

Questionário para identificação de indivíduos matutinos e vespertinos

Instruções:

1. Leia com atenção cada questão antes de responder.
2. Responda todas as questões.
3. Responda as questões em ordem numérica.
4. Cada questão deve ser respondida independentemente das outras, não volte atrás e nem corrija suas respostas anteriores.
5. Para cada questão coloque apenas uma resposta (X), algumas questões têm uma escala, nestes casos coloque o (X) no ponto apropriado da escala.
6. Responda cada questão com toda honestidade possível. Suas respostas e os resultados são confidenciais.

QUESTÕES

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

00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

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

00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

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

- () Nada dependente
() Não muito dependente
() Razoavelmente dependente
() Muito depende

4. Você acha fácil acordar de manhã?

- () Nada fácil
() Não muito fácil
() Razoavelmente fácil
() Muito fácil

Código: _____

2

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

- ☐ Nada alerta
- ☐ Não muito alerta
- ☐ Razoavelmente alerta
- ☐ Muito alerta

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

- ☐ Muito ruim
- ☐ Não muito ruim
- ☐ Razoavelmente ruim
- ☐ Muito bom

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

- ☐ Muito cansado
- ☐ Não muito cansado
- ☐ Razoavelmente cansado
- ☐ Em plena forma

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

- ☐ Nunca mais tarde
- ☐ Menos que uma hora mais tarde
- ☐ Entre uma e duas horas mais tarde
- ☐ Mais do que duas horas mais tarde

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

- ☐ Estaria em boa forma
- ☐ Estaria razoavelmente em forma
- ☐ Acharia isso difícil
- ☐ Acharia isso muito difícil

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

20	21	22	23	24	00	01	02	03

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

- ☐ Das 08h00min às 10h00min
- ☐ Das 11h00min às 13h00min
- ☐ Das 15h00min às 17h00min
- ☐ Das 19h00min às 21h00min

Código: _____

2

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

- ☐ Tipo matutino
- ☐ Mais matutino que vespertino
- ☐ Mais vespertino que matutino
- ☐ Tipo vespertino

Anexo 10 – Questionário de qualidade de sono (*Pittsburgh Sleep Quality Index – PSQI*).

Código: _____

Data: ____/____/____

3

ESCALA DE SONO DE PITTSBURGH (PSQI-BR)

INSTRUÇÕES:

As seguintes perguntas são relativas aos seus hábitos usuais de sono durante o último mês somente. Suas respostas devem indicar a lembrança mais exata da maioria dos dias e noites no último mês. Por favor, responda a todas as perguntas:

1. Durante o último mês quando você geralmente foi para a cama à noite?

Hora usual de deitar: _____

2. Durante o último mês, quanto tempo (em minutos) você geralmente levou para dormir à noite?

Tempo (em minutos): _____

3. Durante o último mês, qual horário você geralmente levantou de manhã?

Hora usual para se levantar: _____

4. Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (Esta pode ser diferente de horas que você ficou na cama).

Horas de sono por noite: _____

Para cada uma das questões restantes, marque a **melhor (uma)** resposta. Por favor responde a todas as questões.

5. Durante o último mês, com que frequência você teve dificuldade de dormir porque você...

a. Não conseguiu adormecer em até 30 minutos:

- () Nenhuma no último mês
- () Menos de 1 vez/semana
- () 1 ou 2 vezes/ semana
- () 3 ou mais vezes/semana

b. Acordou no meio da noite ou de manhã cedo:

- () Nenhuma no último mês
- () Menos de 1 vez/semana
- () 1 ou 2 vezes/ semana
- () 3 ou mais vezes/semana

c. Precisou levantar para ir ao banheiro:

- () Nenhuma no último mês
- () Menos de 1 vez/semana
- () 1 ou 2 vezes/ semana
- () 3 ou mais vezes/semana 4

Código: _____

Data: ____/____/____

3

d. Não conseguiu respirar confortavelmente:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

e. Tossiu ou roncou forte:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

f. Sentiu muito frio:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

g. Sentiu muito calor:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

h. Teve sonhos ruins:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

i. Teve dor:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

j. Outra(s) razão(ões), por favor descreva

Com que frequência durante o último mês, você teve dificuldade para dormir devido a esta razão:

- ☐ Nenhuma no último mês
- ☐ Menos de 1 vez/semana
- ☐ 1 ou 2 vezes/ semana
- ☐ 3 ou mais vezes/semana

6. Durante o último mês, com você classificaria a qualidade do seu sono de uma maneira geral?

- ☐ Muito boa
- ☐ Boa
- ☐ Ruim
- ☐ Muito ruim

Código: _____

Data: ____/____/____

3

7. Durante o último mês, com que frequência você tomou medicamento (prescrito ou “por conta própria”) para lhe ajudar a dormir?
- ☐ () Nenhuma no último mês
 - ☐ () Menos de 1 vez/semana
 - ☐ () 1 ou 2 vezes/ semana
 - ☐ () 3 ou mais vezes/ semana
8. No último mês, com que frequência você teve dificuldade ficar acordado enquanto dirigia, comia ou participava de uma atividade social (festa, reunião de amigos, trabalho, estudo)?
- ☐ () Nenhuma no último mês
 - ☐ () Menos de 1 vez/semana
 - ☐ () 1 ou 2 vezes/ semana
 - ☐ () 3 ou mais vezes/semana
9. Durante o último mês. Quão problemático foi para você manter o entusiasmo (ânimo) para fazer as coisas (suas atividades habituais)?
- ☐ () Nenhuma dificuldade
 - ☐ () Um problema muito leve
 - ☐ () Um problema razoável
 - ☐ () Um problema muito grande
10. Você tem um (a) parceiro(a)/esposo (a) ou colega de quarto?
- ☐ () Não
 - ☐ () Parceiro ou colega, mas em outro quarto
 - ☐ () Parceiro ou mesmo quarto, mas não na mesma cama
 - ☐ () Parceiro na mesma cama
- Se você tem um parceiro ou colega de quarto pergunte a ele/ela com que frequência no último mês você teve:
- a. Ronco forte?
- ☐ () Nenhuma no último mês
 - ☐ () Menos de 1 vez/semana
 - ☐ () 1 ou 2 vezes/ semana
 - ☐ () 3 ou mais vezes/semana
- b. Longas paradas na respiração enquanto dormia?
- ☐ () Nenhuma no último mês
 - ☐ () Menos de 1 vez/semana
 - ☐ () 1 ou 2 vezes/ semana
 - ☐ () 3 ou mais vezes/semana

Código: _____

Data: ____/____/____

3

c. Contrações ou puxões na perna enquanto você dormia?

- () Nenhuma no último mês
- () Menos de 1 vez/semana
- () 1 ou 2 vezes/ semana
- () 3 ou mais vezes/semana

d. Episódios de desorientação ou confusão durante o sono?

- () Nenhuma no último mês
- () Menos de 1 vez/semana
- () 1 ou 2 vezes/ semana
- () 3 ou mais vezes/semana

e. Outra(s) alteração(ões) (inquietações) enquanto você dorme: por favor, descreva:

-
- () Nenhuma no último mês
 - () Menos de 1 vez/semana
 - () 1 ou 2 vezes/ semana
 - () 3 ou mais vezes/semana

Anexo 11 – Diário de atividade.

Diário de Atividades

Nome: _____

Idade: _____ anos

INSTRUÇÕES:

Este é o seu **Diário de atividades**, onde você registrará os horários de suas atividades diárias. Hábitos de dormir, acordar e cochilar, durante aproximadamente 23 dias seguidos.

Lembre-se do que você deve fazer:

1. Na primeira página você encontrará quadros para marcação das atividades em quatro momentos de um dia de 24 horas (madrugada, manhã, tarde e noite). Cada quadradinho representa um intervalo de 15 min. Em cada linha tem uma atividade diferente e nós precisamos saber quanto tempo do seu dia você usou para cada atividade indicada. Para isso, **INDIQUE EM CADA LINHA O TEMPO DE SUAS ATIVIDADE**, traçando uma linha que comece no horário do início da atividade e término no quadro correspondente ao horário em que ela acabou.
2. **PREENCHA** o diário todos os dias, pela manhã e no final do dia.
3. No primeiro dia você vai escrever sobre o seu sono do dia anterior sobre as atividades realizadas no dia do preenchimento.
4. No verso da primeira página tem algumas perguntas. Nas perguntas de 1 a 5, você encontra uma escala numérica que vai de 0 a 10, representando, respectivamente, **Muito Ruim/Muito Bom** ou **Muito Difícil/Muito Fácil** ou **Muito Cansado/Nada Cansado**.
5. Nas perguntas de 1 a 5, marque com um X o ponto da linha que representa a sua avaliação.
6. Ao final dos dias de preenchimento, o diário deve ser entregue ao pesquisador responsável.

**SUAS INFORMAÇÕES SÃO MUITO IMPORTANTES E POR ISSO SOMOS
MUITO GRATOS PELA COLABORAÇÃO!**

Telephone: (13) 99206-6262; e-mail: juliavallim@gmail.com

Nome: _____ Data: ____/____/2017

Dia da semana: ☐ 2ª ☐ 3ª ☐ 4ª ☐ 5ª ☐ 6ª ☐ Sábado ☐ Domingo

[illegible]

1) Como você avalia seu sono da noite passada?

Muito Ruim 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Muito Bom

2) Com que facilidade você adormeceu na noite passada?

Muito Difícil 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Muito Fácil

3) Com que facilidade você acordou hoje?

Muito Difícil 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Muito Fácil

4) Como você se sentiu hoje no início do seu dia?

Muito Cansado 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Nada Cansado

5) Como você se sentiu hoje no fim do seu dia?

Muito Cansado 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Nada Cansado

6) Você se lembra de ter acordado e dormido de novo? () Sim () Não
Quantas vezes? _____

7) Você acordou sozinho ou foi acordado por alguém ou pelo despertador?

() Alguém () Despertador () Outros (especifique) _____

Anexo 12 – Descrição das comorbidades e medicamentos do grupo caso.

<i>Código</i>	<i>Idade</i>	<i>Comorbidades descritas no prontuário</i>	<i>Uso de medicação contínua relatada pelo paciente</i>
FB_01	54	Hipertensão arterial, transplante renal (5 anos)	--
FB_02	52	Osteopata e fibromialgia	Dipirona (Dorflex ®)
FB_03	32	--	--
FB_04	50	Marcapasso	Beta-bloqueador (SeloZok ®) Antagonista do receptor de angiotensina (Losartan ®) Ácido acetil salicílico Estatina (Sinvastatina ®) Diurético (Clortalidona ®) Corticoide (Prednisona ®)
FB_05	44	--	Antibiótico (Bactrim ®) Ácido acetil salicílico Inibidor da enzima conversora de angiotensina (Enalapril ®)
FB_06	27	--	--
FB_07	54	Hipotireoidismo, hipertensão arterial; asma	--
FB_08	62	Hipertensão arterial, hipotireoidismo, dislipidemia, hipertrofia ventricular esquerda, marcapasso	Beta-bloqueador (Atenolol ®) Reposição hormonal tireoide (Levotiroxina ®) Antagonista do receptor de angiotensina (Losartan ®)
FB_09	51	--	--
FB_10	23	--	Dipirona
FB_11	17	--	Anticonvulsivante (Carbamazepina ®) Inibidor seletivo da recaptação de serotonina (Paroxetina ®)
FB_12	53	Síndrome de Wolf-Parkinson White	Anticonvulsivante - estabilizador de humor (Topiramato ®) Beta-bloqueador (Propanolol ®) Inibidor seletivo da recaptação de serotonina (Fluoxetina ®)
FB_13	41	--	--
FB_14	28	Ovários policísticos	--
FB_15	43	Transplante renal – 2 anos	Imunossupressores (Myfortic ®, Taccolino ®) Corticoide (Prednisona ®) Bloqueador dos canais de cálcio (Cardizem ®) Antagonista do receptor de angiotensina (Losartan ®) Inibidor da boma de prótons (Omeprazol ®)

			Complexo vitamínico (Vitergan ®)
<i>FB_16</i>	34	--	Anticonvulsivante (Carbamazepina ®)
<i>FB_17</i>	40	--	--
<i>FB_18</i>	31	--	--
<i>FB_19</i>	24	--	--
<i>FB_20</i>	27	--	--
<i>FB_21</i>	22	--	--
<i>FB_23</i>	33	--	Antagonista do receptor de angiotensina (Losartan ®)
<i>FB_24</i>	48	Hipertensão arterial, diabetes	Antagonista do receptor de angiotensina (Losartan ®) Beta-bloqueador (Atenolol ®) Bloqueador dos canais de cálcio (Amlodipina ®) Diurético (Espironolactona ®) Diabetes (Glibenclamida ®, Glifage ®)

Anexo 13 – Valores do modelo linear geral (F) e do nível de significância da análise estatística (p).

QUESTIONÁRIOS

Escala de Sonolência Diurna Excessiva (Epworth Sleepiness Scale – ESS)

Gênero: $F_{(1,30)} = 0,10$ $p = 0,76$; *Grupo*: $F_{(1,30)} = 0,71$ $p = 0,41$; *TRE*: $F_{(1,30)} = 1,29$ $p = 0,25$; *Idade*: $F_{(1,30)} = 0,67$ $p = 0,42$; *Grupo***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,12$ $p = 0,74$; *Grupo***TRE*: $F_{(1,25)} = 0,36$ $p = 0,55$; *TRE***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,58$ $p = 0,45$; *Grupo***Gênero***TRE*: $F_{(2,30)} = 0,36$ $p = 0,73$; *Medicação***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,47$ $p = 0,50$; *Medicação***Grupo*: $F_{(1,25)} = 0,00$ $p = 0,96$; *Medicação***TRE*: $F_{(1,25)} = 0,01$ $p = 0,93$; *Grupo***Gênero***Medicação*: $F_{(2,30)} = 0,42$ $p = 0,66$; *Grupo***Gênero***TRE***Medicação*: $F_{(8,28)} = 0,66$ $p = 0,72$.

Questionário de identificação de indivíduos matutinos e vespertinos (Morningness-eveningness questionnaire - MEQ)

Gênero: $F_{(1,30)} = 0,05$ $p = 0,82$; *Grupo*: $F_{(1,30)} = 0,24$ $p = 0,63$; *TRE*: $F_{(1,30)} = 3,06$ $p = 0,09$; *Medicação*: $F_{(1,30)} = 4,03$ $p = 0,06$; *Grupo***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,81$ $p = 0,38$; *Grupo***TRE*: $F_{(1,25)} = 0,00$ $p = 0,98$; *TRE***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,18$ $p = 0,67$; *Medicação***Gênero*: $F_{(1,25)} = 2,43$ $p = 0,13$; *Medicação***Grupo*: $F_{(1,25)} = 2,62$ $p = 0,12$; *Medicação***TRE*: $F_{(1,25)} = 0,06$ $p = 0,81$; *Grupo***Gênero***TRE*: $F_{(2,30)} = 0,99$ $p = 0,38$; *Grupo***Gênero***Medicação*: $F_{(2,30)} = 0,81$ $p = 0,46$; *Grupo***Gênero***TRE***Medicação*: $F_{(8,28)} = 1,18$ $p = 0,35$.

Índice de qualidade de sono (Pittsburgh Sleep Quality Index – PSQI)

Gênero: $F_{(1,30)} = 0,56$ $p = 0,46$; *Grupo*: $F_{(1,30)} = 0,44$ $p = 0,50$; *TRE*: $F_{(1,30)} = 2,76$ $p = 0,11$; *Idade*: $F_{(1,30)} = 0,08$ $p = 0,78$; *Medicação*: $F_{(1,30)} = 0,46$ $p = 0,50$; *Grupo***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,44$ $p = 0,51$; *Grupo***TRE*: $F_{(1,25)} = 0,35$ $p = 0,56$; *TRE***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,06$ $p = 0,82$; *Medicação***Gênero*: $F_{(1,25)} = 0,40$ $p = 0,53$; *Medicação***Grupo*: $F_{(1,25)} = 0,63$ $p = 0,44$; *Medicação***TRE*: $F_{(1,25)} = 0,33$ $p = 0,57$; *Grupo***Gênero***TRE*: $F_{(2,30)} = 0,32$ $p = 0,72$; *Grupo***Gênero***Medicação*: $F_{(2,30)} = 1,02$ $p = 0,37$; *Grupo***Gênero***TRE***Medicação*: $F_{(8,28)} = 0,41$ $p = 0,90$.

DIÁRIO DE ATIVIDADE

“Como você avalia seu sono na noite passada? ”

(*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,01$ $p = 0,92$; *TRE*: $F_{(1,13)} = 1,17$ $p = 0,30$; *Idade*: $F_{(1,13)} = 0,00$ $p = 0,96$; *Dia da semana*: $F_{(1,15)} = 1,11$ $p = 0,31$; *Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,63$ $p = 0,44$; *Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 1,38$ $p = 0,29$; *Gênero*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,55$ $p = 0,47$; *Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 1,11$ $p = 0,31$; *Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 1,37$ $p = 0,29$; *Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 1,77$ $p = 0,21$; *Medicação*TRE*: $F_{(1,12)} = 0,00$ $p = 0,99$; *Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 0,93$ $p = 0,50$; *Dia da semana*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,55$ $p = 0,47$; *Dia da semana*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,21$ $p = 0,65$; *Dia da semana*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,78$ $p = 0,39$; *Dia da semana*Medicação*: $F_{(1,13)} = 0,04$ $p = 0,85$; *Dia da semana*Idade*: $F_{(1,13)} = 0,06$ $p = 0,82$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,00$ $p = 0,97$; *Dia da semana*Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 0,42$ $p = 0,74$; *Dia da semana*Gênero*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,06$ $p = 0,80$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 1,01$ $p = 0,43$; *Dia da semana*Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 1,92$ $p = 0,19$; *Dia da semana*Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 0,56$ $p = 0,59$; *Dia da semana*TRE*Medicação*: $F_{(1,12)} = 0,01$ $p = 0,91$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 0,78$ $p = 0,61$).

“Com que facilidade você adormeceu na noite passada? ”

(*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,00$ $p = 0,95$; *Grupo*: $F_{(1,13)} = 2,02$ $p = 0,18$; *TRE*: $F_{(1,13)} = 1,17$ $p = 0,30$; *Idade*: $F_{(1,13)} = 0,78$ $p = 0,39$; *Dia da semana*: $F_{(1,15)} = 2,75$ $p = 0,12$; *Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,38$ $p = 0,55$; *Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 0,62$ $p = 0,62$; *Gênero*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,76$ $p = 0,40$; *Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 1,11$ $p = 0,31$; *Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 0,16$ $p = 0,85$; *Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 0,63$ $p = 0,55$; *Medicação*TRE*: $F_{(1,12)} = 0,01$ $p = 0,91$; *Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 0,47$ $p = 0,82$; *Dia da semana*Gênero*: $F_{(1,13)} = 1,07$ $p = 0,32$; *Dia da semana*Grupo*: $F_{(1,13)} = 1,37$ $p = 0,26$; *Dia da semana*TRE*: $F_{(1,13)} = 1,12$ $p = 0,31$; *Dia da semana*Medicação*: $F_{(1,13)} = 1,13$ $p = 0,31$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 2,07$ $p = 0,17$; *Dia da semana*Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 0,35$ $p = 0,79$; *Dia da semana*Gênero*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,38$ $p = 0,55$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 1,88$ $p = 0,15$).

“Com que facilidade você acordou hoje? ”

(*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,31$ $p = 0,58$; *TRE*: $F_{(1,13)} = 1,01$ $p = 0,33$; *Idade*: $F_{(1,13)} = 0,57$ $p = 0,46$; *Dia da semana*: $F_{(1,15)} = 0,02$ $p = 0,88$; *Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,00$ $p = 0,99$; *Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 1,65$ $p = 0,23$; *TRE*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,81$ $p = 0,38$; *Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 0,26$ $p = 0,78$; *Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 1,85$ $p = 0,20$; *Medicação*TRE*: $F_{(1,12)} = 0,00$ $p = 0,98$; *Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 0,18$ $p = 0,94$; *Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 0,90$ $p = 0,53$; *Dia da semana*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,04$ $p = 0,85$; *Dia da semana*Grupo*: $F_{(1,13)} = 1,09$ $p = 0,32$; *Dia da semana*TRE*: $F_{(1,13)} = 2,29$ $p = 0,15$; *Dia da semana*Medicação*: $F_{(1,13)} = 0,49$ $p = 0,50$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,10$ $p = 0,75$; *Dia da semana*Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 0,14$ $p = 0,93$; *Dia da semana*Gênero*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,03$ $p = 0,86$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 0,51$ $p = 0,73$; *Dia da semana*Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 0,36$ $p = 0,71$; *Dia da semana*Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 0,15$ $p = 0,86$; *Dia da semana*Medicação*TRE*: $F_{(1,12)} = 0,31$ $p = 0,59$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 0,31$ $p = 0,91$).

“Como você se sentiu no início do seu dia? ”

(*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,04$ $p = 0,85$; *TRE*: $F_{(1,13)} = 0,43$ $p = 0,52$; *Idade*: $F_{(1,13)} = 0,64$ $p = 0,44$; *Dia da semana*: $F_{(1,15)} = 0,03$ $p = 0,87$; *Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,26$ $p = 0,62$; *Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 1,82$ $p = 0,19$; *TRE*Gênero*: $F_{(1,13)} = 0,11$ $p = 0,74$; *Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 1,66$ $p = 0,23$; *Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 2,44$ $p = 0,13$; *Medicação*TRE*: $F_{(1,12)} = 0,24$ $p = 0,63$; *Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 0,39$ $p = 0,81$; *Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 1,26$ $p = 0,34$; *Dia da semana*Gênero*: $F_{(1,13)} = 1,63$ $p = 0,22$; *Dia da semana*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,07$ $p = 0,78$; *Dia da semana*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,92$ $p = 0,35$; *Dia da semana*Medicação*: $F_{(1,13)} = 0,18$ $p = 0,68$; *Dia da semana*Idade*: $F_{(1,13)} = 0,81$ $p = 0,38$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,14$ $p = 0,71$; *Dia da semana*Grupo*TRE*: $F_{(3,13)} = 0,21$ $p = 0,88$; *Dia da semana*Gênero*TRE*: $F_{(1,13)} = 0,53$ $p = 0,48$; *Dia da semana*Medicação*Gênero*: $F_{(2,12)} = 0,61$ $p = 0,56$; *Dia da semana*Medicação*Grupo*: $F_{(2,12)} = 0,05$ $p = 0,95$; *Dia da semana*Medicação*TRE*: $F_{(1,12)} = 0,05$ $p = 0,83$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*: $F_{(4,15)} = 0,80$ $p = 0,54$; *Dia da semana*Gênero*Grupo*TRE*Medicação*: $F_{(6,13)} = 0,62$ $p = 0,71$).

“Como você se sentiu no fim do seu dia? ”

(*Gênero*: $F_{(1,13)} = 1,56$ $p = 0,24$; *Grupo*: $F_{(1,13)} = 1,56$ $p = 0,23$; *TRE*: $F_{(1,13)} = 0,02$ $p = 0,89$; *Idade*: $F_{(1,13)} = 0,68$ $p = 0,42$; *Dia da semana*: $F_{(1,15)} = 0,03$ $p = 0,87$; *Dia da semana***Gênero*: $F_{(1,13)} = 1,87$ $p = 0,20$; *Dia da semana***Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,31$ $p = 0,59$; *Dia da semana***TRE*: $F_{(1,13)} = 0,07$ $p = 0,80$; *Dia da semana***Idade*: $F_{(1,13)} = 4,58$ $p = 0,06$; *Gênero***Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,25$ $p = 0,62$; *Grupo***TRE*: $F_{(3,13)} = 0,68$ $p = 0,58$; *TRE***Gênero*: $F_{(1,13)} = 2,08$ $p = 0,17$; *Gênero***Grupo***TRE*: $F_{(4,15)} = 0,88$ $p = 0,50$; *Dia da semana***Gênero***Grupo*: $F_{(1,13)} = 0,75$ $p = 0,40$; *Dia da semana***Grupo***TRE*: $F_{(3,13)} = 0,35$ $p = 0,79$; *Dia da semana***Gênero***TRE*: $F_{(1,13)} = 1,19$ $p = 0,30$; *Dia da semana***Gênero***Grupo***TRE*: $F_{(4,15)} = 2,27$ $p = 0,15$).

AVALIAÇÕES RÍTMICAS

Parâmetros rítmicos para atividade e repouso

Gênero: $F_{(5,18)} = 1,05$ $p = 0,42$; *Grupo*: $F_{(5,18)} = 0,84$ $p = 0,54$; *TRE*: $F_{(5,18)} = 0,69$ $p = 0,64$; *Idade*: $F_{(5,18)} = 0,83$ $p = 0,55$; *Medicação*: $F_{(5,18)} = 0,79$ $p = 0,57$; *Grupo***Gênero*: $F_{(5,17)} = 1,03$ $p = 0,43$; *Grupo***TRE*: $F_{(20,57)} = 1,05$ $p = 0,42$; *TRE***Gênero*: $F_{(5,17)} = 0,57$ $p = 0,72$; *Medicação***Gênero*: $F_{(10,32)} = 1,01$ $p = 0,45$; *Medicação***Grupo*: $F_{(10,32)} = 2,00$ $p = 0,07$; *Medicação***TRE*: $F_{(10,32)} = 1,09$ $p = 0,40$; *Grupo***Gênero***TRE*: $F_{(10,36)} = 0,94$ $p = 0,54$; *Grupo***Gênero***Medicação*: $F_{(10,36)} = 1,07$ $p = 0,39$; *Grupo***Gênero***TRE***Medicação*: $F_{(35, 73, 95)} = 1,56$ $p = 0,06$.

Parâmetros rítmicos para temperatura corporal periférica

Gênero: $F_{(5,16)} = 0,49$ $p = 0,78$; *TRE*: $F_{(5,16)} = 2,68$ $p = 0,06$; *Idade*: $F_{(5,16)} = 1,36$ $p = 0,07$; *Medicação*: $F_{(5,16)} = 2,54$ $p = 0,07$; *Grupo***Gênero*: $F_{(5,15)} = 0,89$ $p = 0,51$; *Grupo***TRE*: $F_{(20,51.70)} = 1,62$ $p = 0,09$; *TRE***Gênero*: $F_{(5,15)} = 0,08$ $p = 0,99$; *Medicação***Gênero*: $F_{(10,28)} = 2,66$ $p = 0,06$; *Medicação***Grupo*: $F_{(10,28)} = 3,00$ $p = 0,10$; *Medicação***TRE*: $F_{(10,28)} = 3,31$ $p = 0,06$; *Grupo***Gênero***TRE*: $F_{(20,60.64)} = 0,69$ $p = 0,82$; *Grupo***Gênero***Medicação*: $F_{(20,60.65)} = 1,84$ $p = 0,06$; *Grupo***Gênero***TRE***Medicação*: $F_{(30,65.53)} = 1,48$ $p = 0,09$.

Meio período de sono

Gênero: $F_{(1,22)} = 3,16$ $p = 0,09$; *Grupo*: $F_{(1,22)} = 1,98$ $p = 0,39$; *TRE*: $F_{(1,22)} = 0,45$ $p = 0,51$; *Idade*: $F_{(1,22)} = 3,72$ $p = 0,24$; *Medicação*: $F_{(1,22)} = 1,73$ $p = 0,20$; *Grupo***Gênero*: $F_{(1,21)} = 0,22$ $p = 0,64$; *Grupo***TRE*: $F_{(4,21)} = 0,76$ $p = 0,56$; *TRE***Gênero*: $F_{(1,21)} = 0,95$ $p = 0,34$; *Medicação***Gênero*: $F_{(2,20)} = 0,10$ $p = 0,90$; *Medicação***Grupo*: $F_{(2,20)} = 1,49$ $p = 0,25$; *Medicação***TRE*: $F_{(2,20)} = 0,12$ $p = 0,88$; *Gênero***Grupo***TRE*: $F_{(2,22)} = 2,34$ $p = 0,12$; *Gênero***Grupo***Medicação*: $F_{(2,22)} = 0,53$ $p = 0,59$; *Gênero***Grupo***TRE***Medicação*: $F_{(7,21)} = 0,78$ $p = 0,61$; *Dia da semana***Gênero*: $F_{(1,22)} = 0,15$ $p = 0,70$; *Dia da semana***Grupo*: $F_{(1,22)} = 0,10$ $p = 0,75$; *Dia da semana***TRE*: $F_{(1,22)} = 0,00$ $p = 0,99$; *Dia da semana***Medicação*: $F_{(1,22)} = 0,53$ $p = 0,47$; *Dia da semana***Grupo***Gênero*: $F_{(1,21)} = 0,01$ $p = 0,94$; *Dia da semana***Grupo***TRE*: $F_{(4,21)} = 0,79$ $p = 0,58$; *Dia da semana***Gênero***TRE*: $F_{(1,21)} = 0,24$ $p = 0,63$; *Dia da semana***Medicação***Gênero*: $F_{(2,20)} = 0,04$ $p = 0,97$; *Dia da semana***Medicação***Grupo*: $F_{(2,20)} = 0,53$ $p = 0,60$; *Dia da semana***Medicação***TRE*: $F_{(2,20)} = 0,38$ $p = 0,69$; *Dia da semana***Gênero***Grupo***TRE*: $F_{(2,22)} = 0,25$ $p = 0,78$; *Dia da semana***Gênero***Grupo***Medicação*: $F_{(2,22)} = 0,36$ $p = 0,70$; *Dia da semana***Gênero***Grupo***TRE***Medicação*: $F_{(7,21)} = 0,42$ $p = 0,88$.

6-sulfatoximelatonina

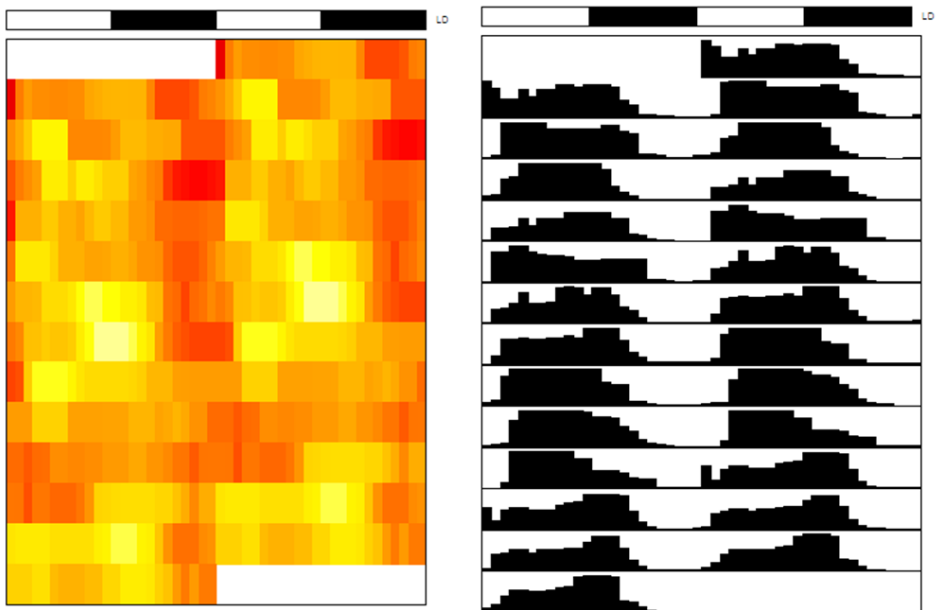
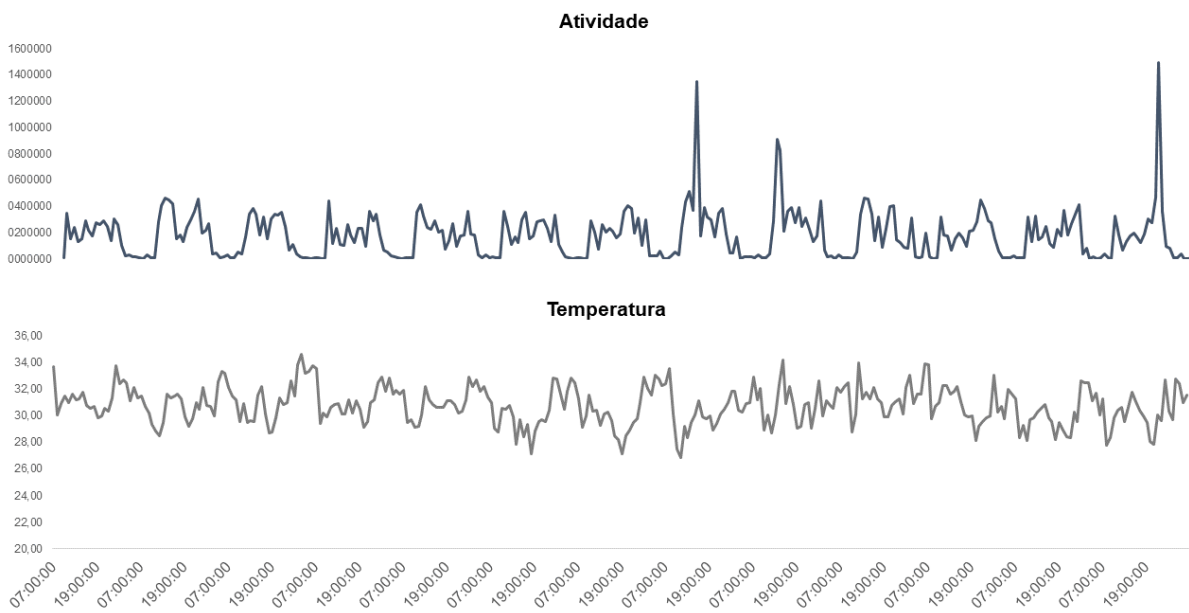
Gênero: $F_{(1,19)} = 2,56$ $p = 0,13$; *Grupo*: $F_{(1,19)} = 0,07$ $p = 0,80$; *TRE*: $F_{(1,19)} = 0,30$ $p = 0,59$; *Medicação*: $F_{(1,19)} = 0,11$ $p = 0,75$; *Idade*: $F_{(1,19)} = 0,01$ $p = 0,91$; *Grupo***Gênero*: $F_{(1,18)} = 2,02$ $p = 0,74$; *Grupo***TRE*: $F_{(4,18)} = 1,36$ $p = 0,29$; *TRE***Gênero*: $F_{(1,18)} = 1,21$ $p = 0,29$; *Medicação***Gênero*: $F_{(2,17)} = 2,31$ $p = 0,13$; *Medicação***Grupo*: $F_{(2,17)} = 0,17$ $p = 0,84$; *Medicação***TRE*: $F_{(2,17)} = 0,19$ $p = 0,83$; *Grupo***Gênero***TRE*: $F_{(2,19)} = 0,28$ $p = 0,76$; *Grupo***Gênero***Medicação*: $F_{(2,19)} = 0,16$ $p = 0,85$; *Grupo***Gênero***TRE***Medicação*: $F_{(7,18)} = 0,60$ $p = 0,75$; *Momento do dia***Gênero*: $F_{(1,19)} = 0,33$ $p = 0,57$; *Momento do dia***Grupo*: $F_{(1,19)} = 0,17$ $p = 0,29$; *Momento do dia***TRE*: $F_{(1,19)} = 0,08$ $p = 0,78$; *Momento do dia***Medicação*: $F_{(1,19)} = 0,16$ $p = 0,69$; *Momento do dia***Grupo***Gênero*: $F_{(1,18)} = 0,12$ $p = 0,78$; *Momento do dia***Grupo***TRE*: $F_{(4,18)} = 2,12$ $p = 0,12$; *Momento do dia***TRE***Gênero*: $F_{(1,18)} = 0,43$ $p = 0,52$; *Momento do dia***Medicação***Gênero*: $F_{(2,17)} = 0,30$ $p = 0,74$; *Momento do dia***Medicação***Grupo*: $F_{(2,17)} = 1,43$ $p = 0,27$; *Momento do dia***Medicação***TRE*: $F_{(2,17)} = 0,31$ $p = 0,74$;

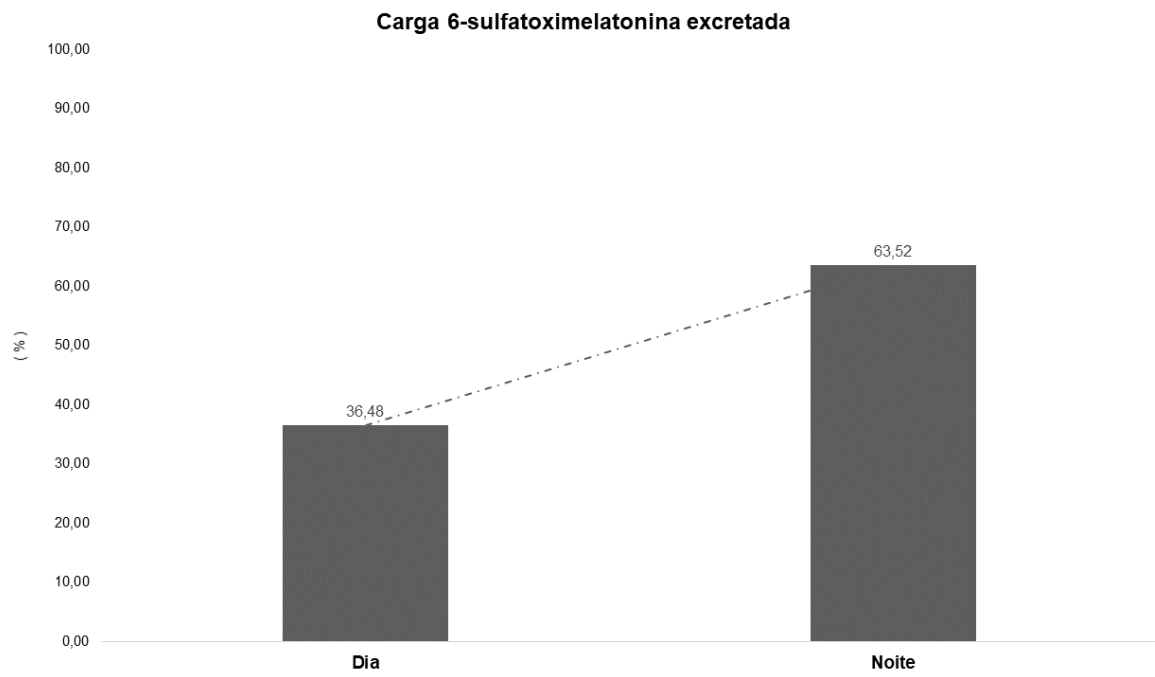
*Momento do dia*Grupo*Gênero*TRE:* $F_{(2,19)} = 0,81$ $p = 0,46$; *Momento do dia*Grupo*Gênero*Medicação:* $F_{(2,19)} = 1,74$ $p = 0,20$; *Momento do dia*Grupo*Gênero*TRE*Medicação:* $F_{(7,18)} = 1,59$ $p = 0,20$.

Anexo 14 – Actogramas, séries temporais e perfil de excreção de 6-sulfatoximelatonina individuais de atividade e repouso de temperatura corporal periférica.

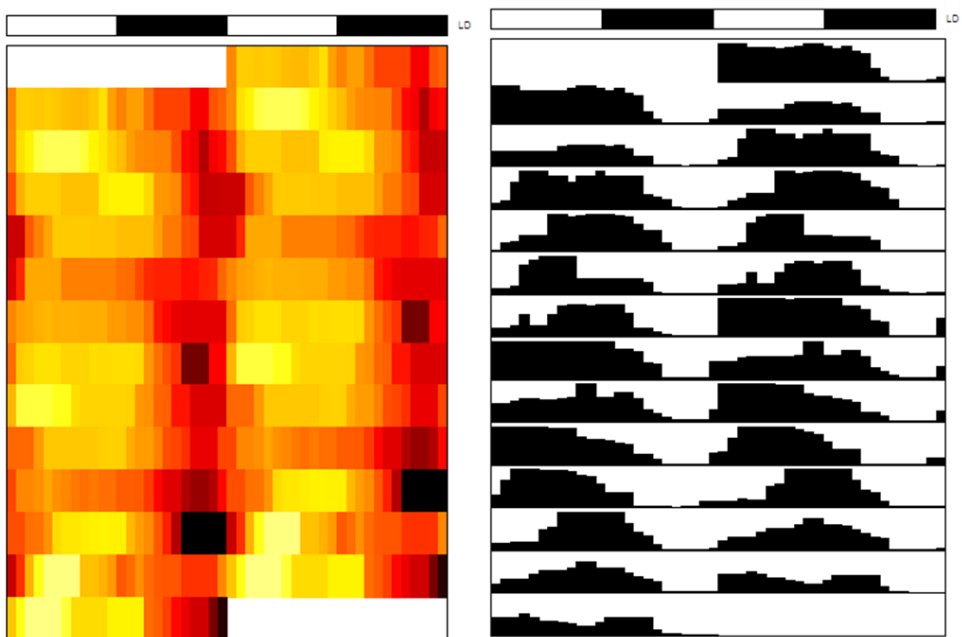
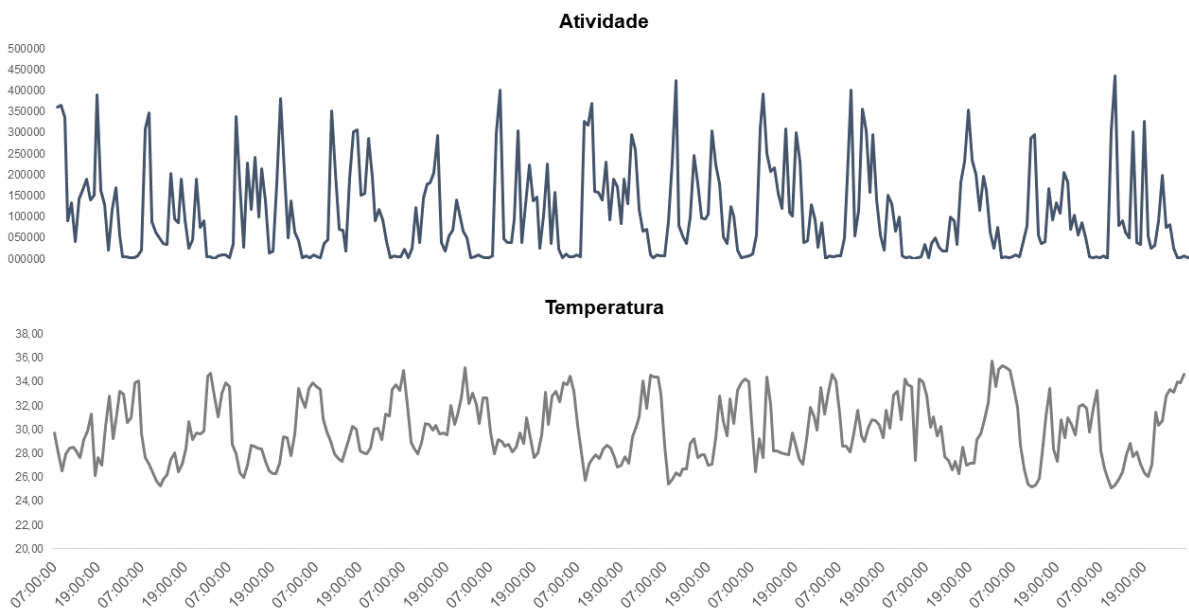
Neste estudo, foi padronizado para a representação gráfica dos actogramas o horário de nascer do sol às 07:00 e o pôr do sol às 19:00. Porém, o registro médio de nascer e pôr do sol no período de coleta foi às 05:53 e 18:19, respectivamente. Seguido da série temporal e dos actogramas está o perfil de excreção de 6-sulfatoximelatonina de cada indivíduo.

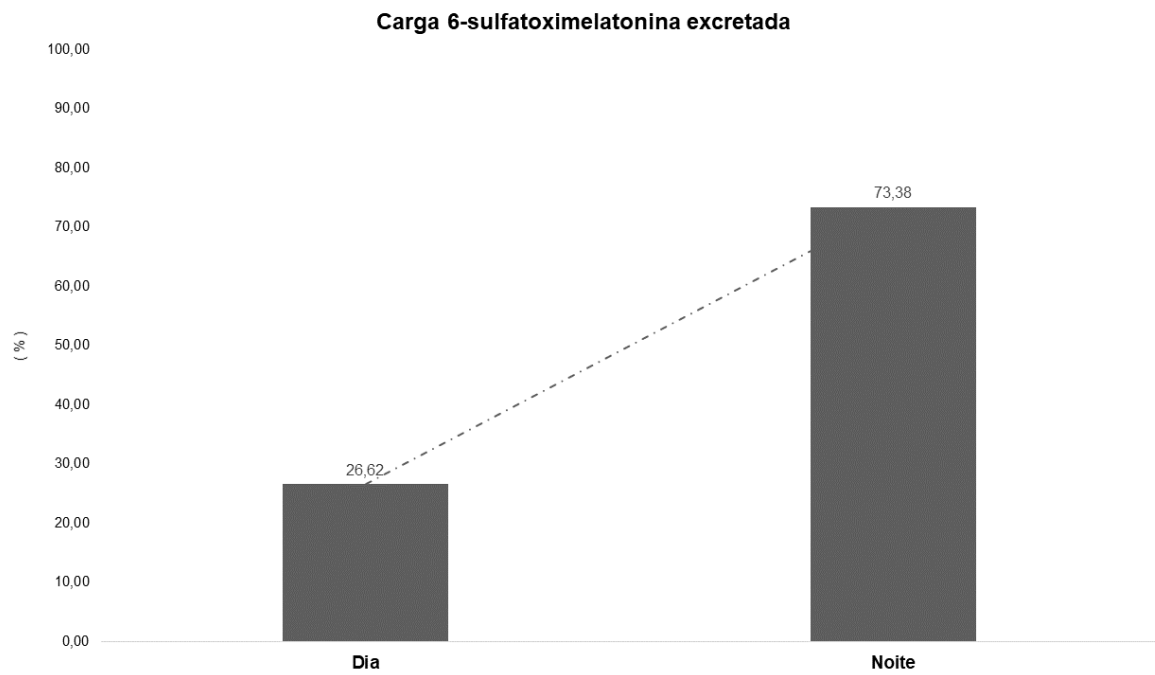
Controle – Masculino, 56 anos.



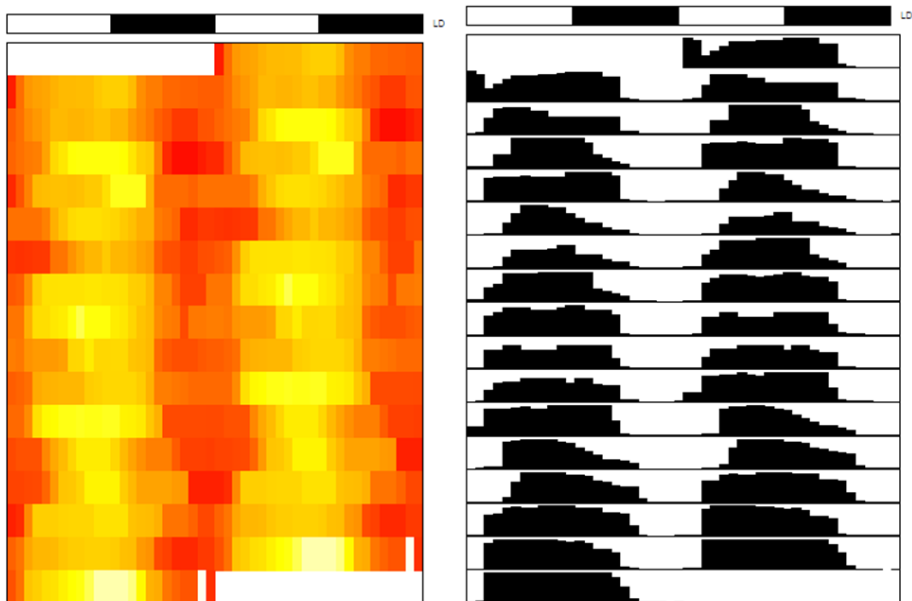
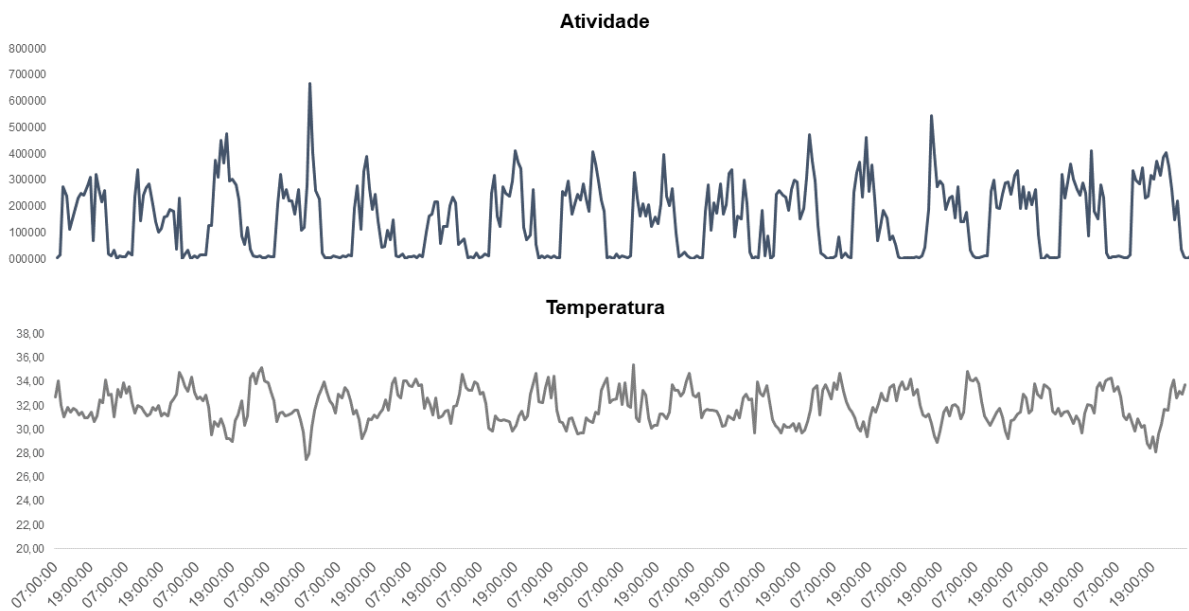


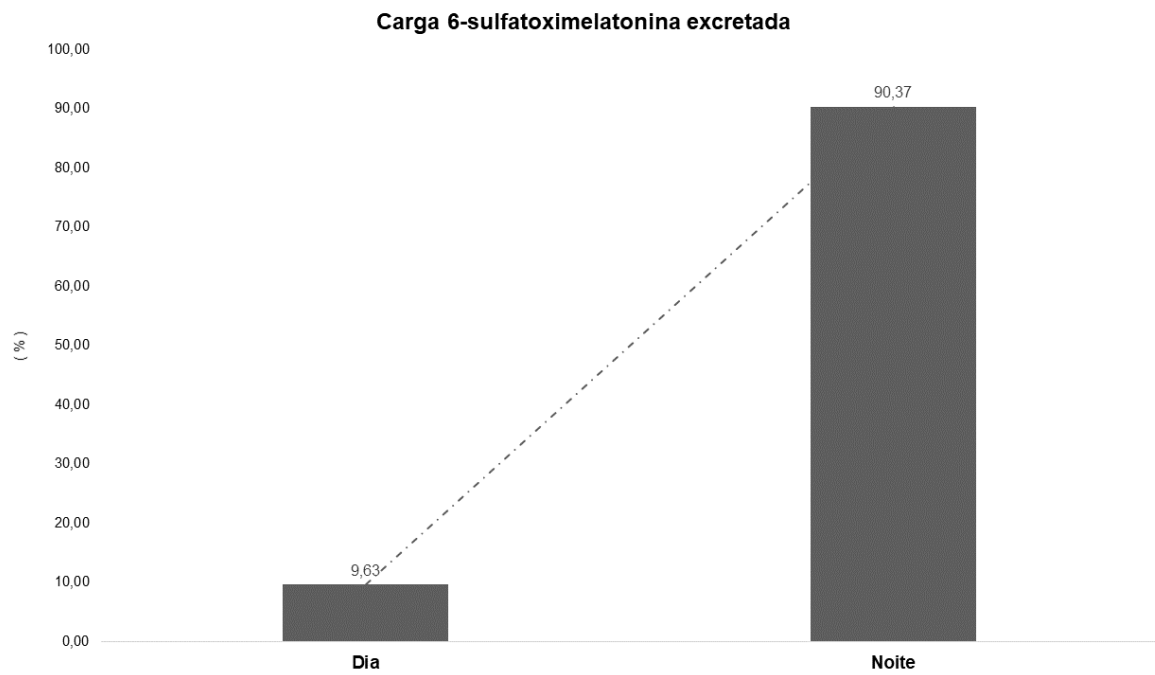
Controle – Feminino, 49 anos.



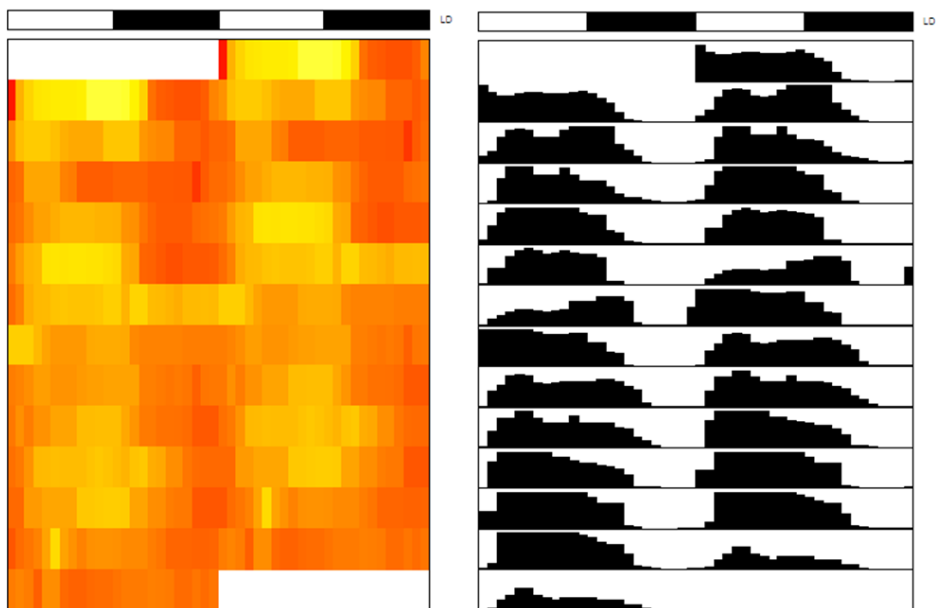
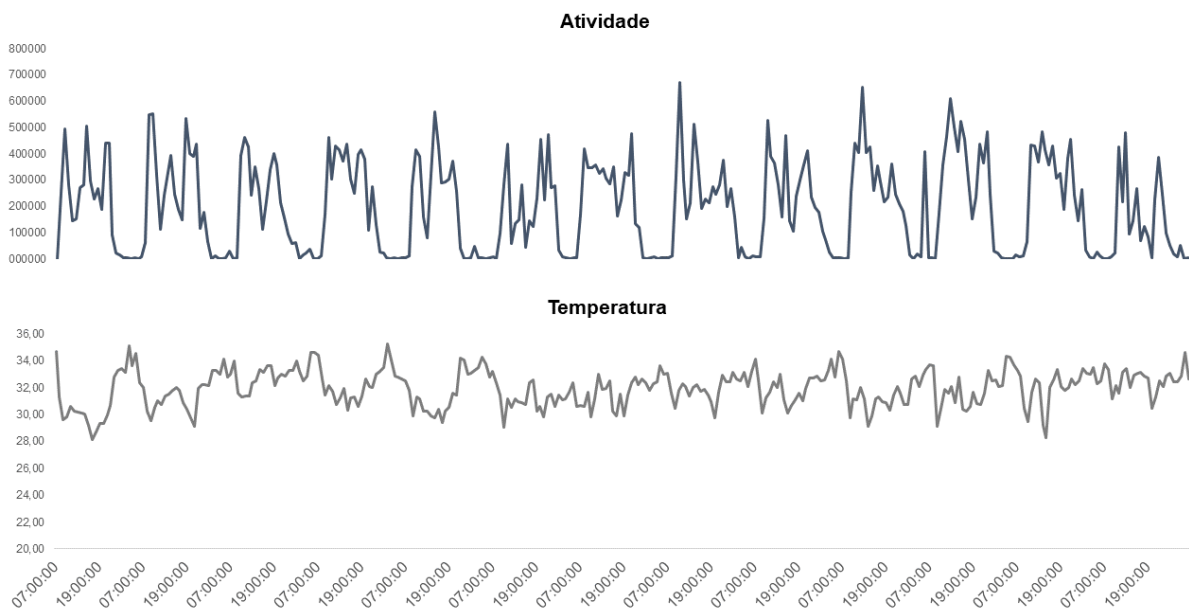


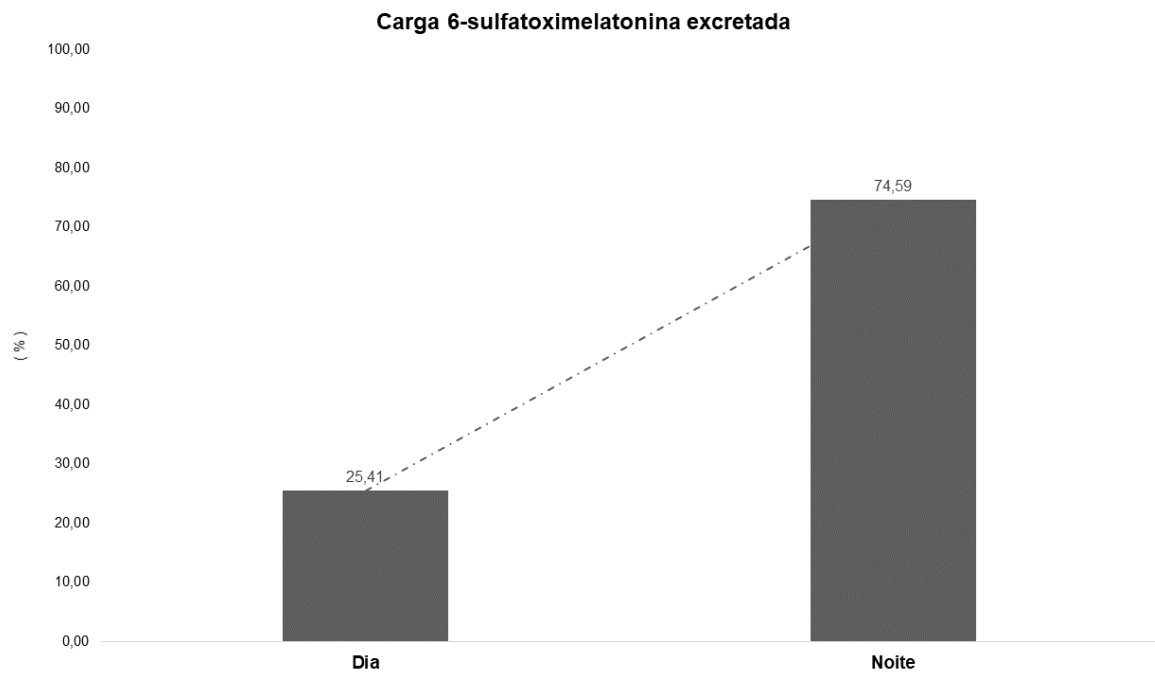
Controle – Feminino, 32 anos.



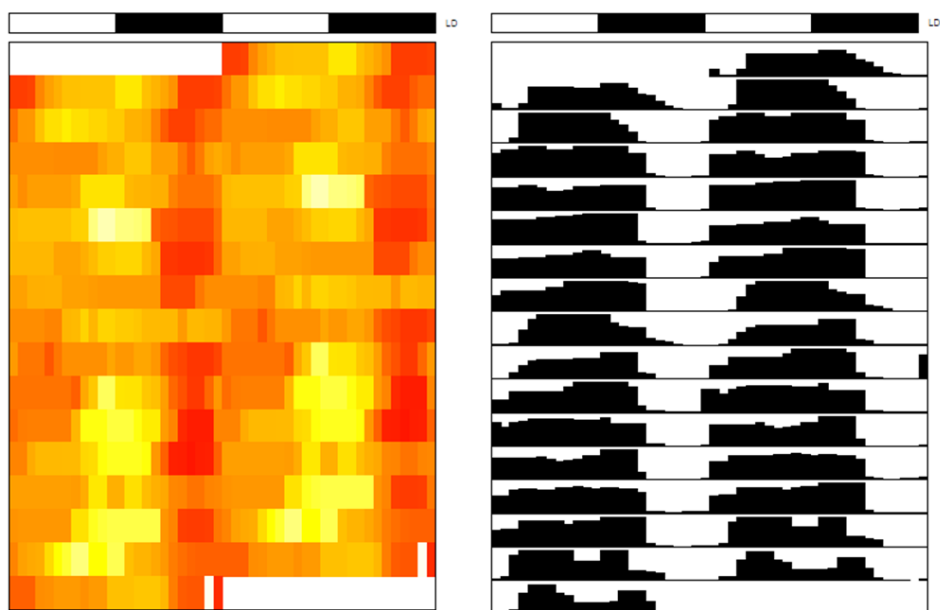
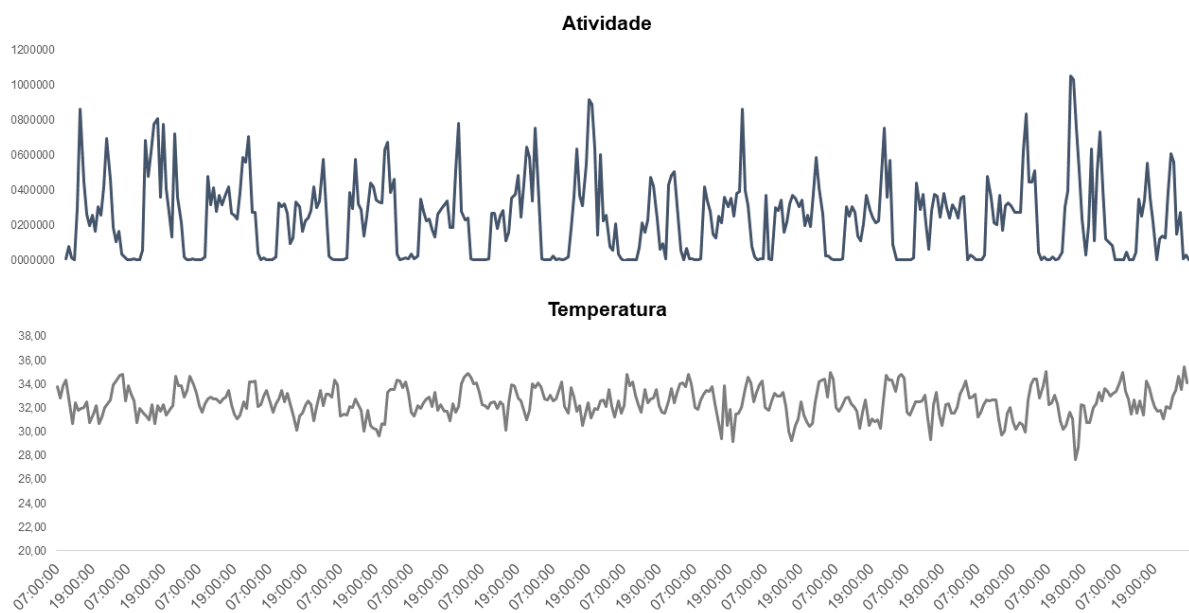


Controle – Feminino, 49 anos.

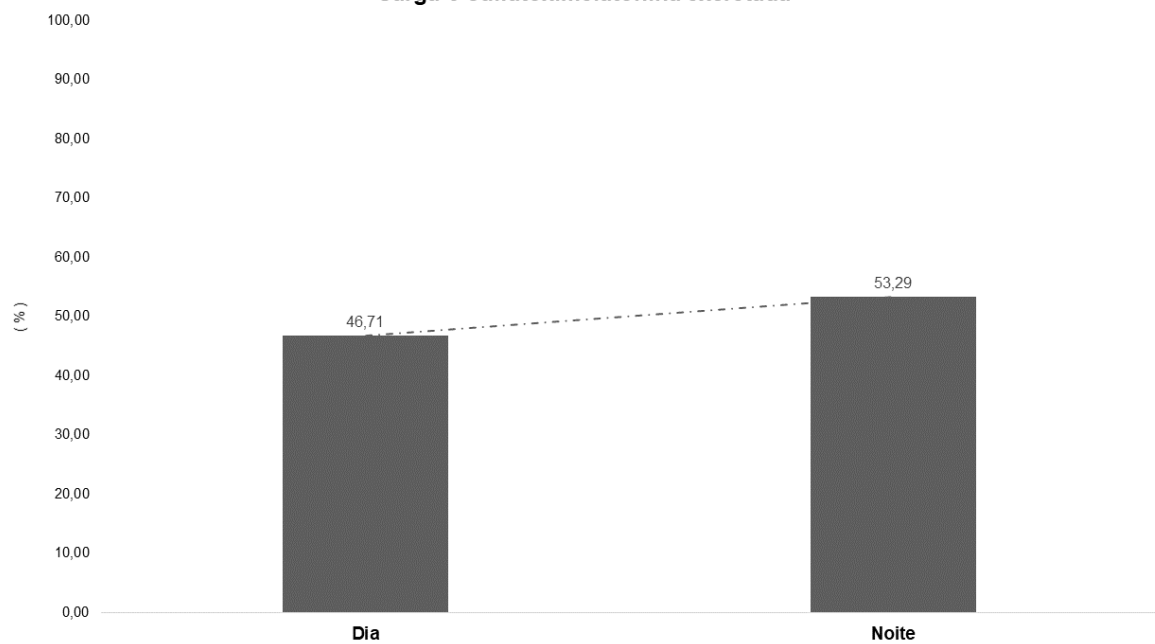




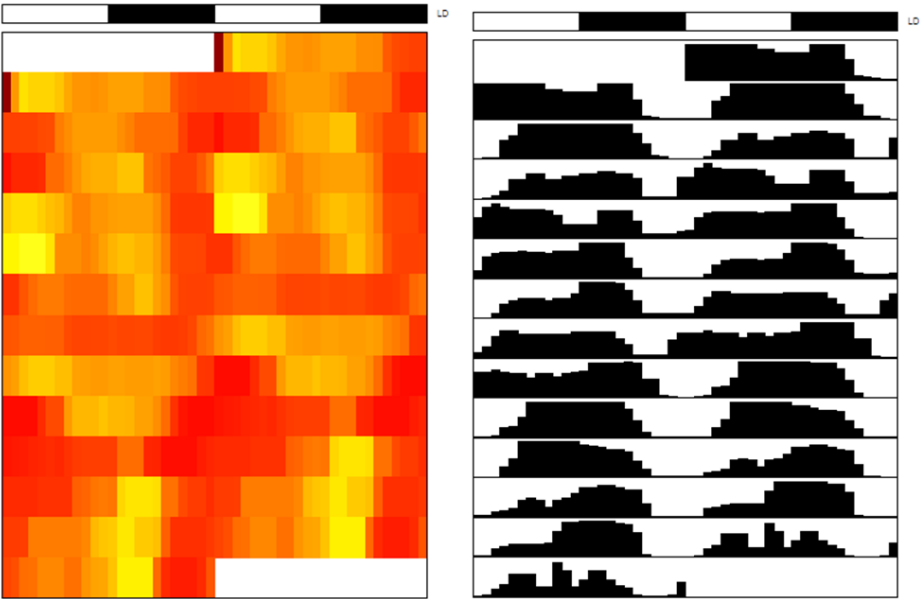
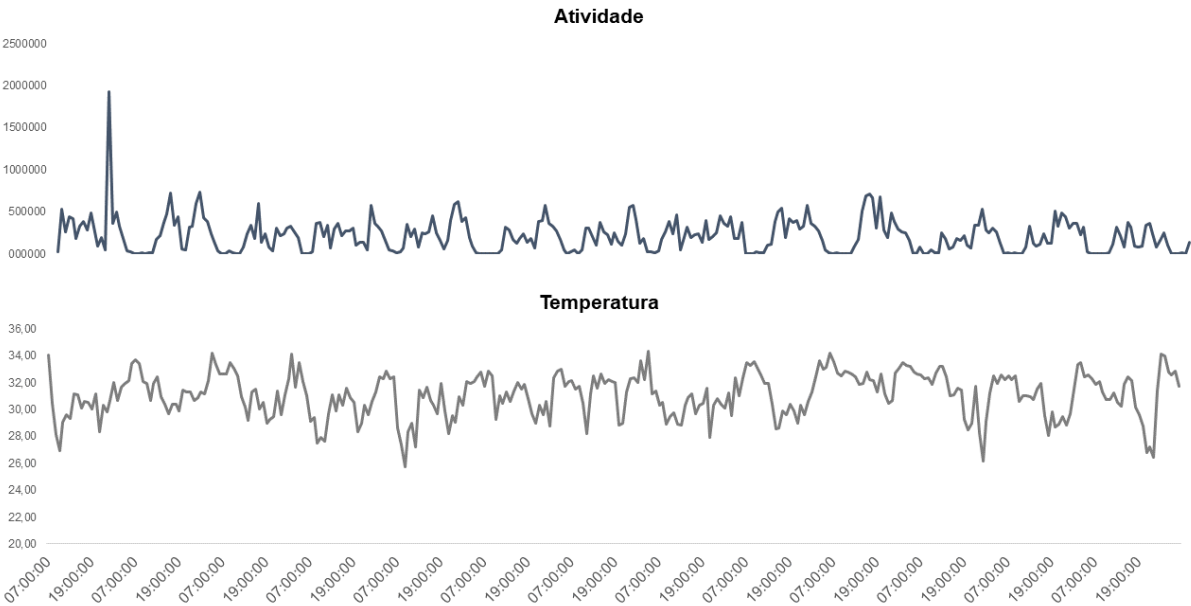
Controle – Feminino, 44 anos.

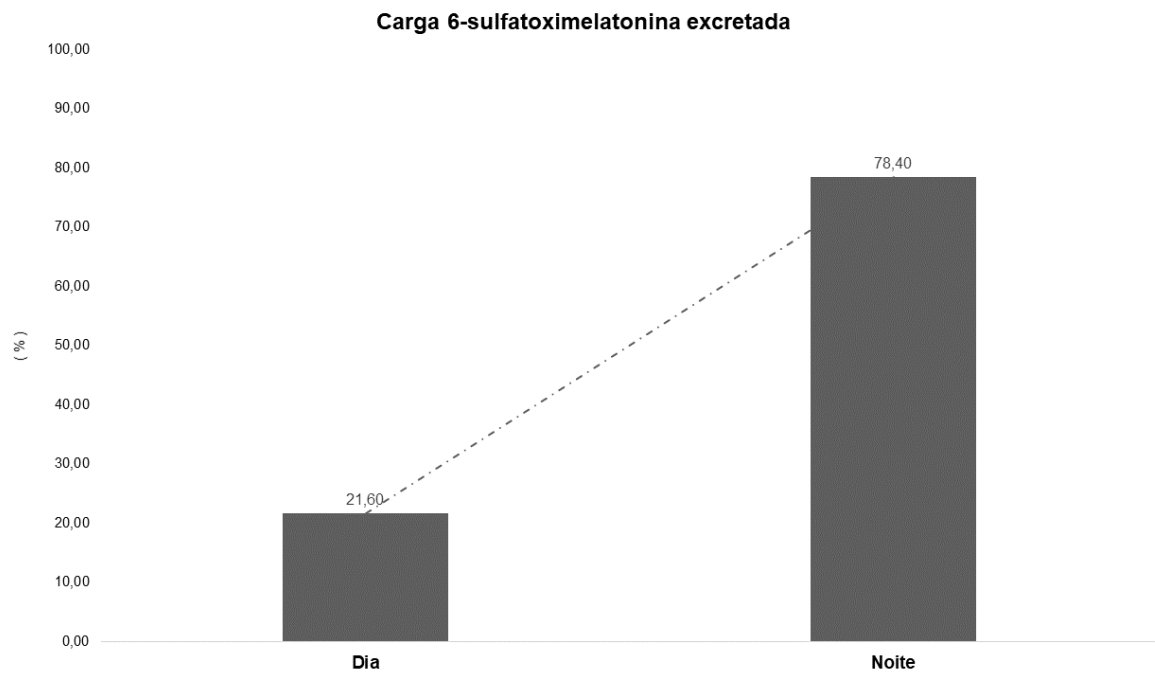


Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

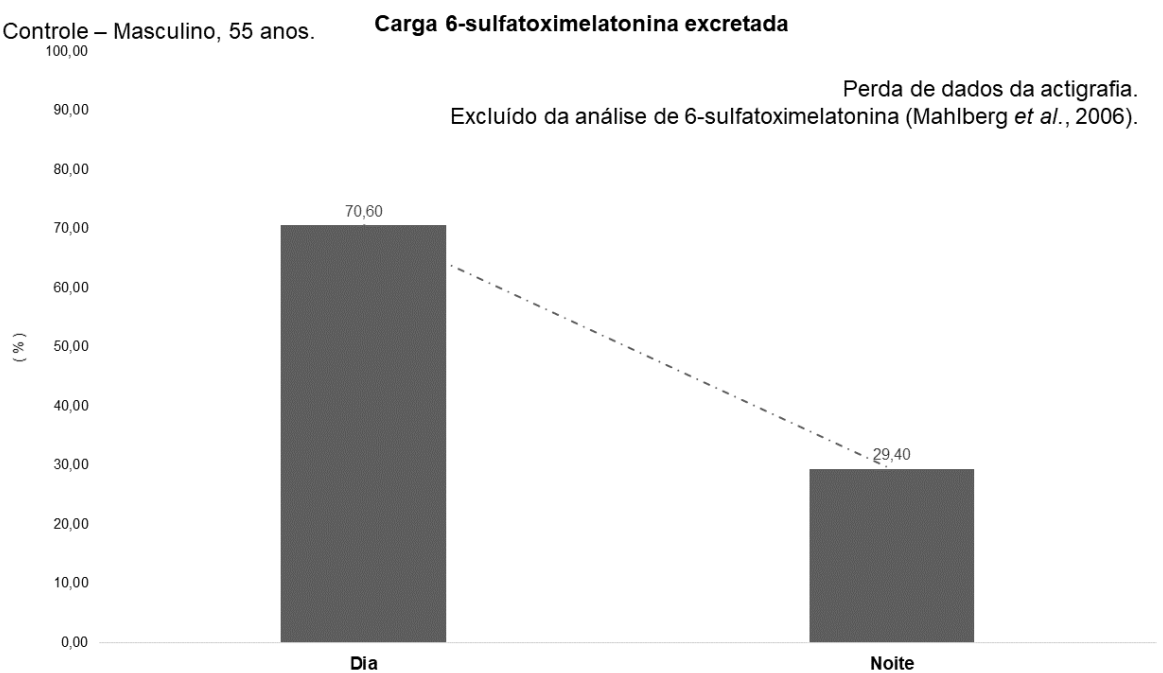


Controle – Feminino, 29 anos.

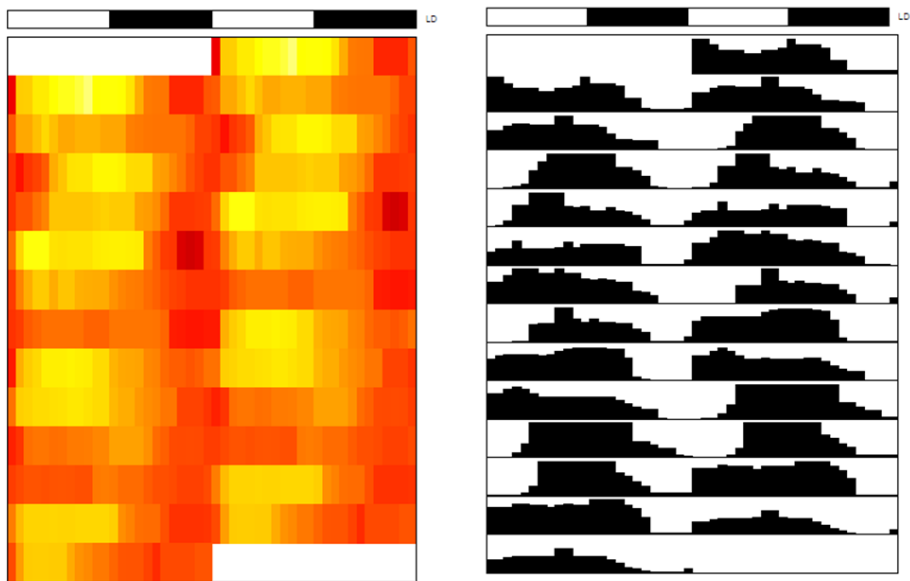
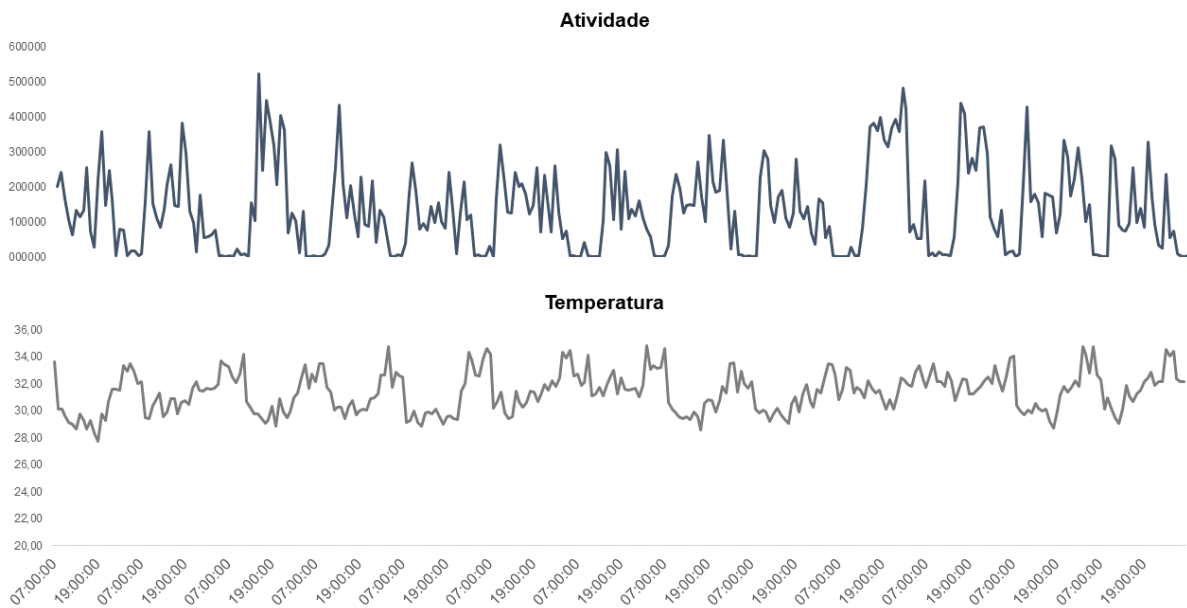




Controle – Masculino, 55 anos.

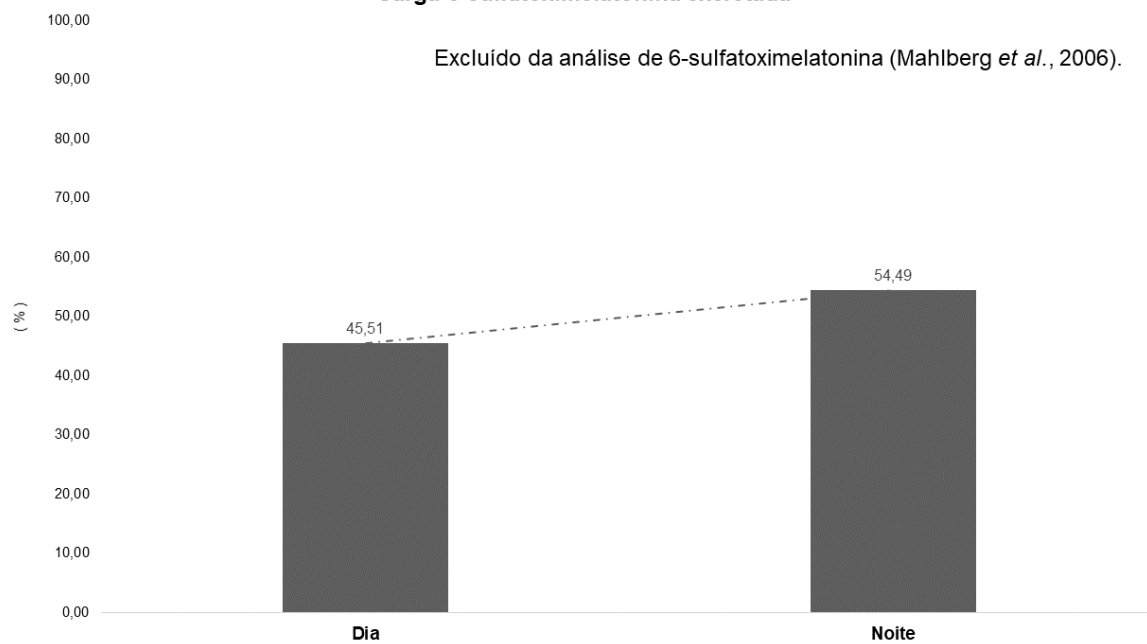


Controle – Feminino, 59 anos.

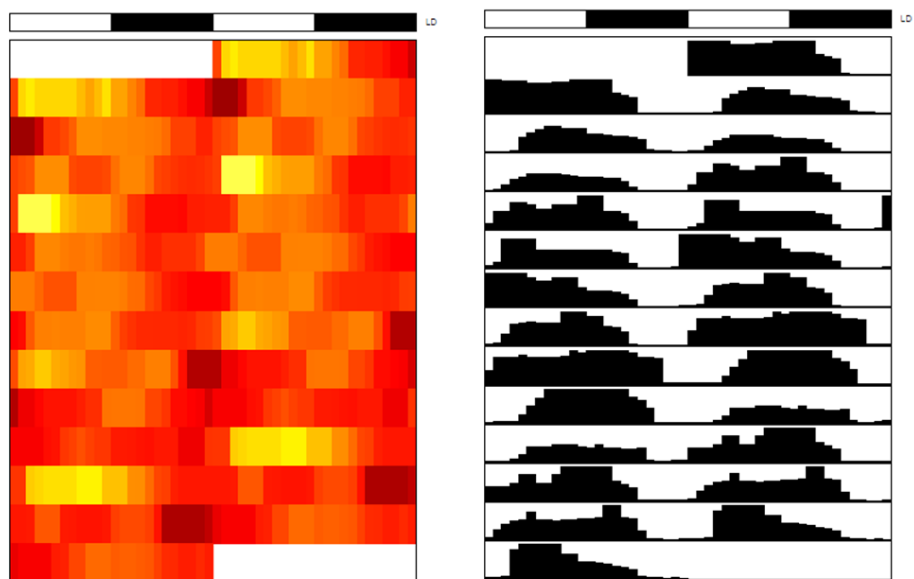
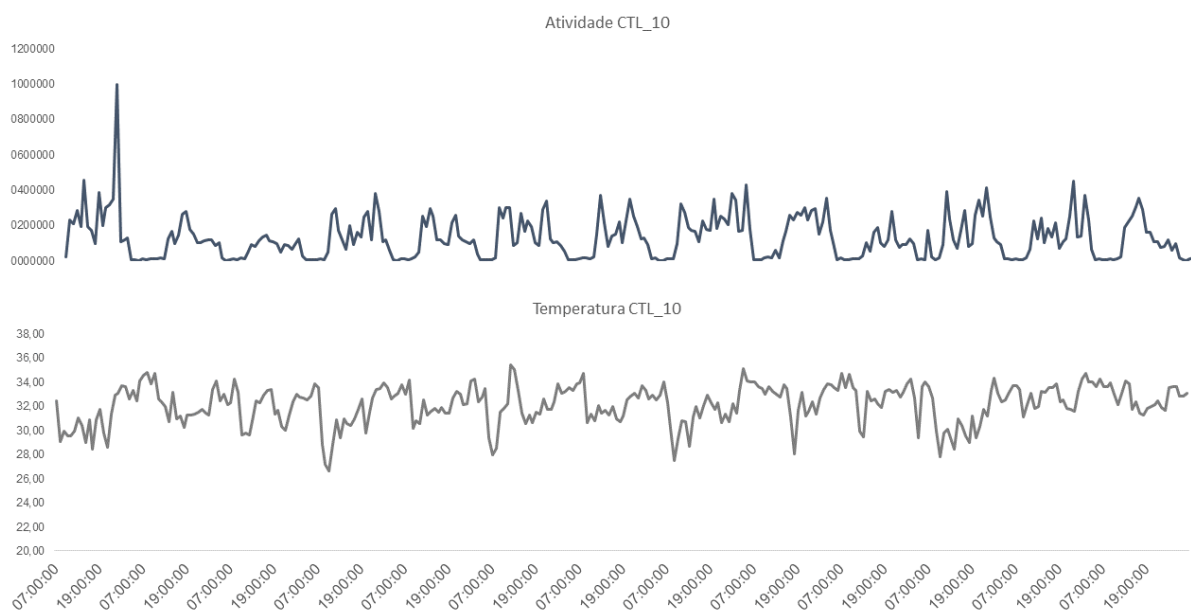


Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

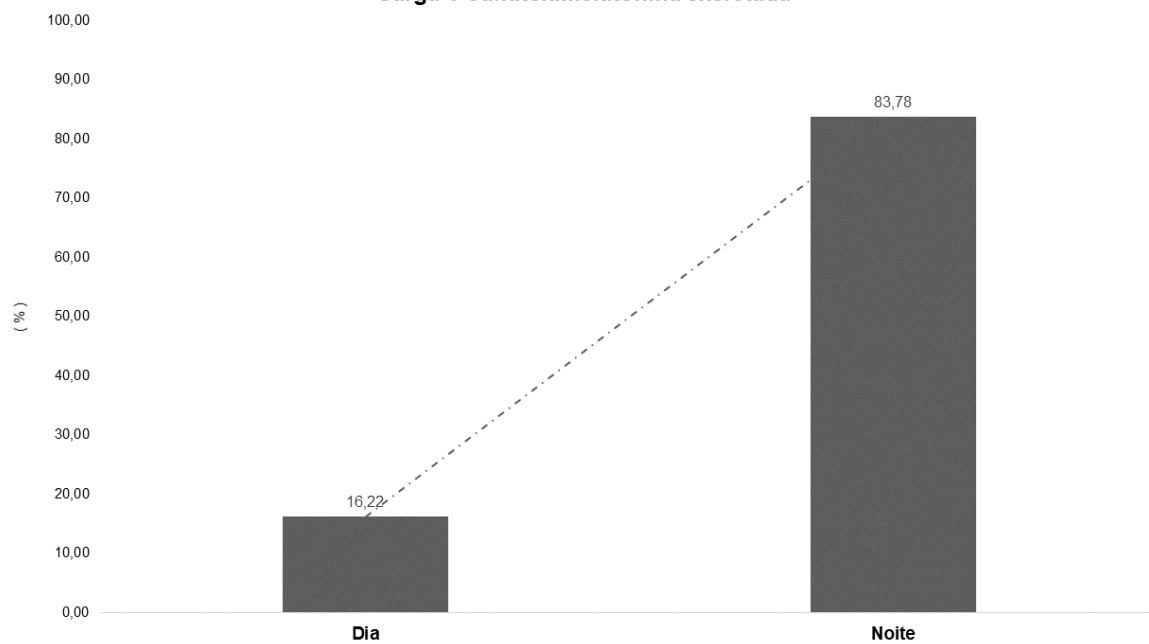
Excluído da análise de 6-sulfatoximelatonina (Mahlberg *et al.*, 2006).



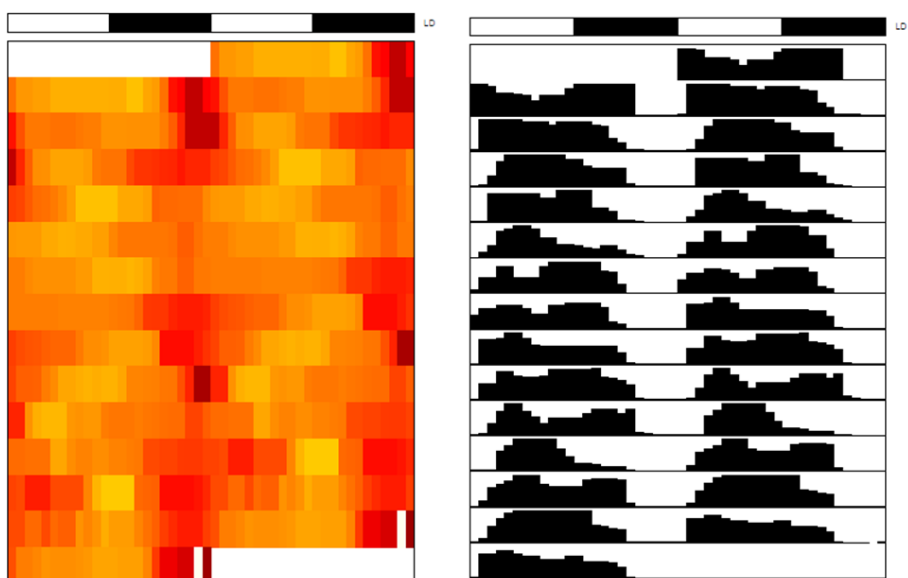
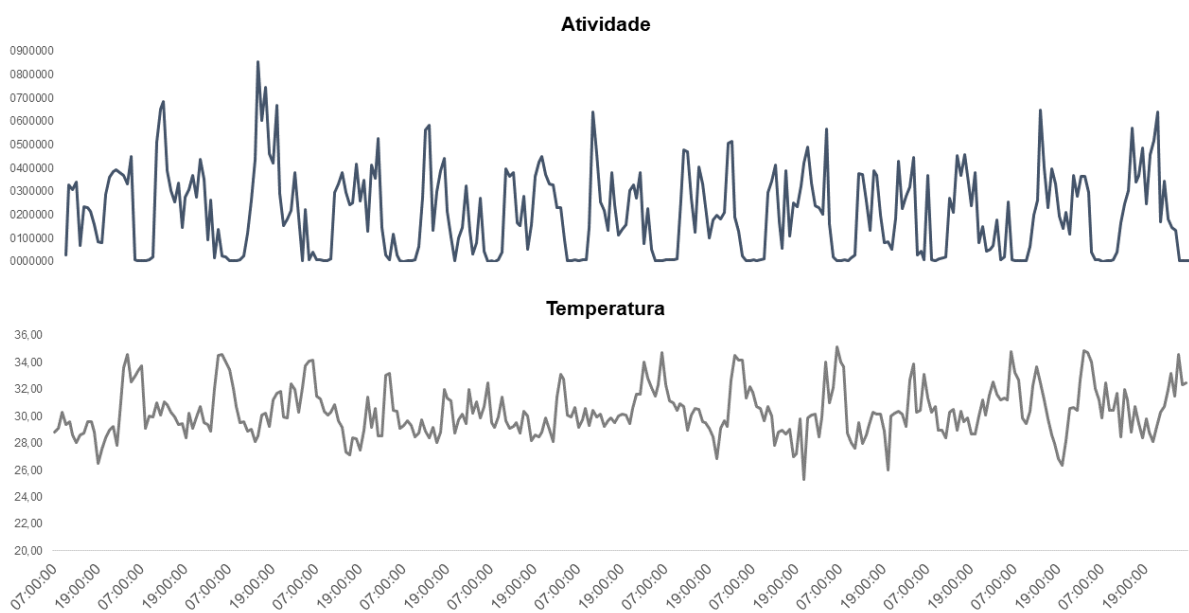
Controle – Masculino, 23 anos.



Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

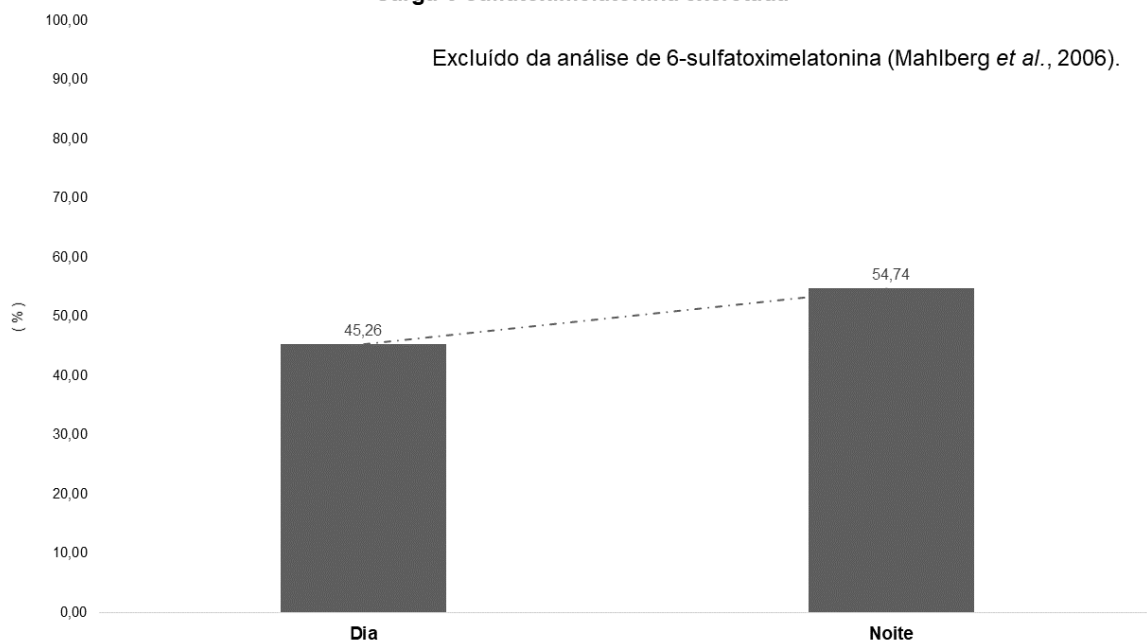


Controle – Feminino, 51 anos.

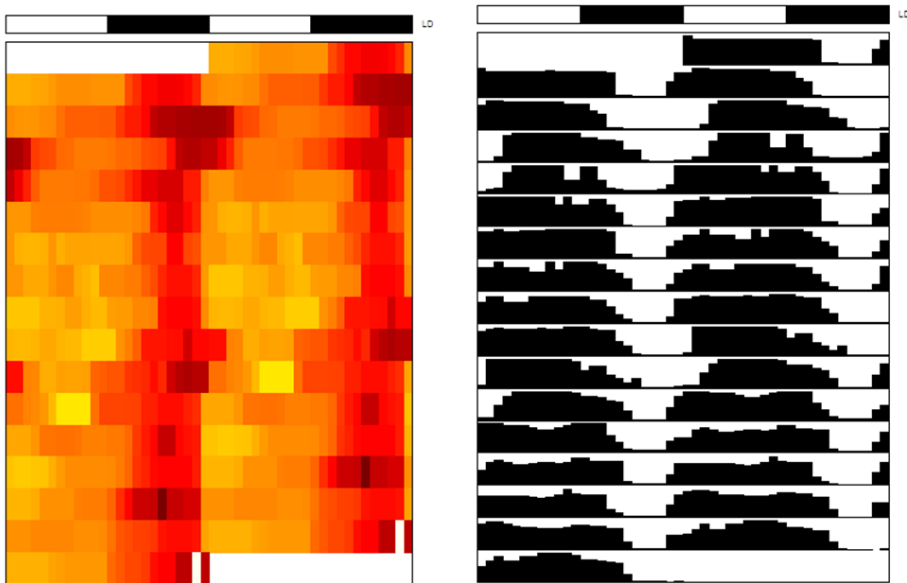
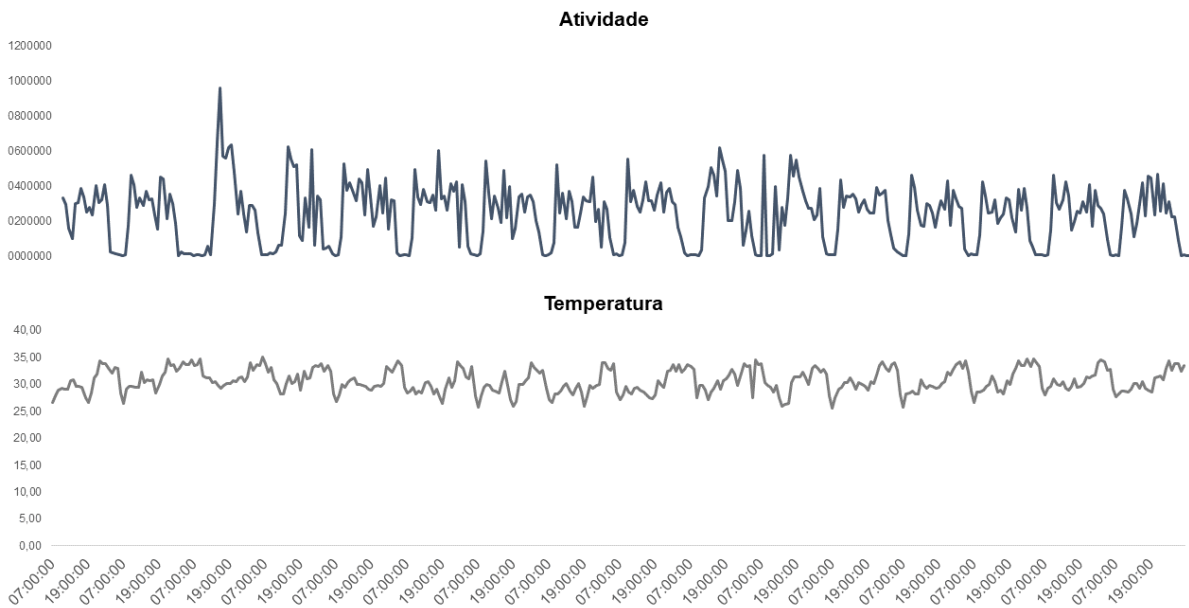


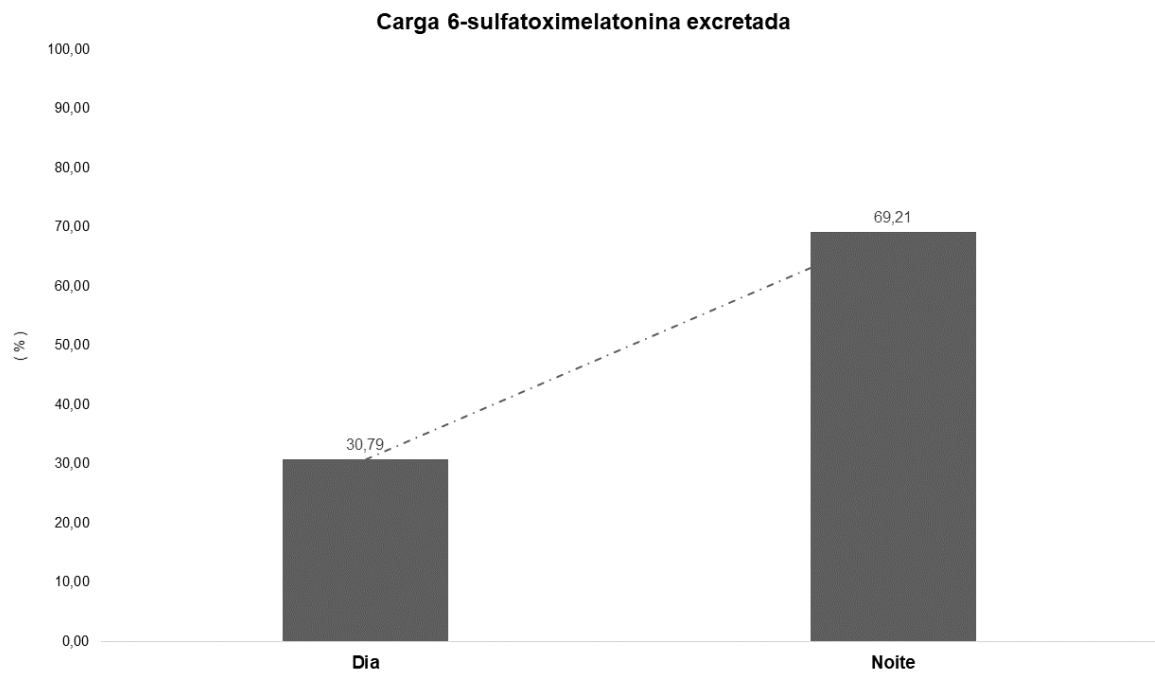
Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

Excluído da análise de 6-sulfatoximelatonina (Mahlberg *et al.*, 2006).

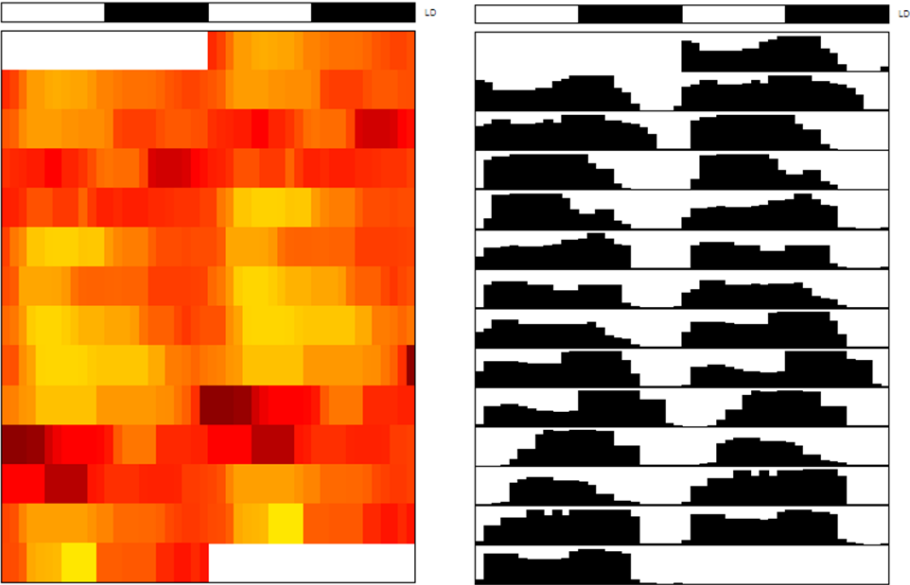
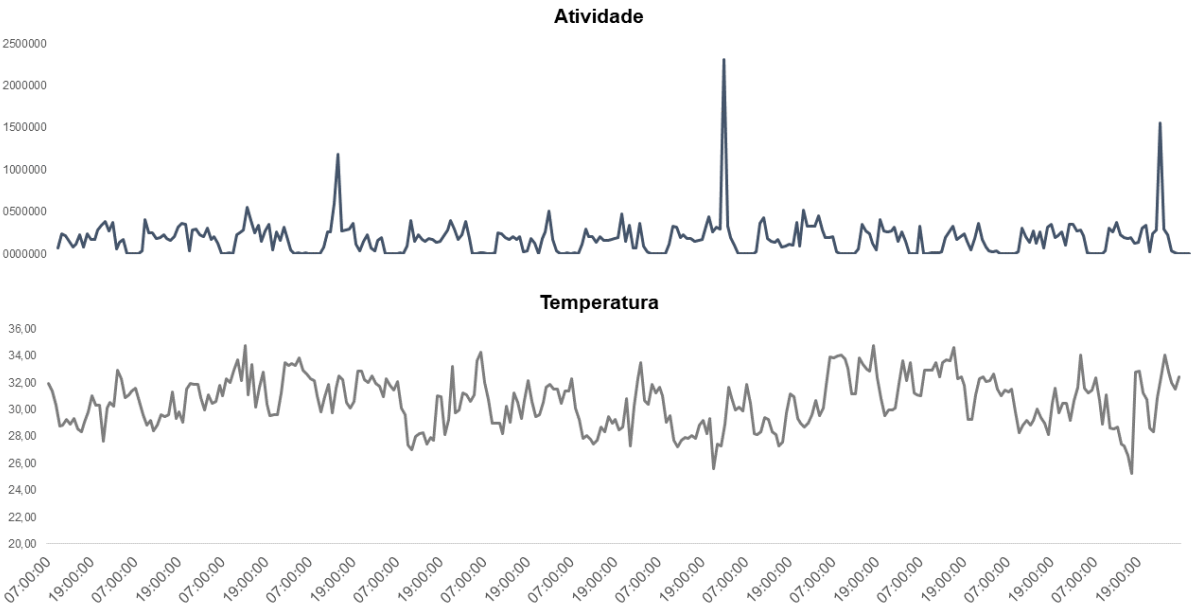


Controle – Feminino, 41 anos.



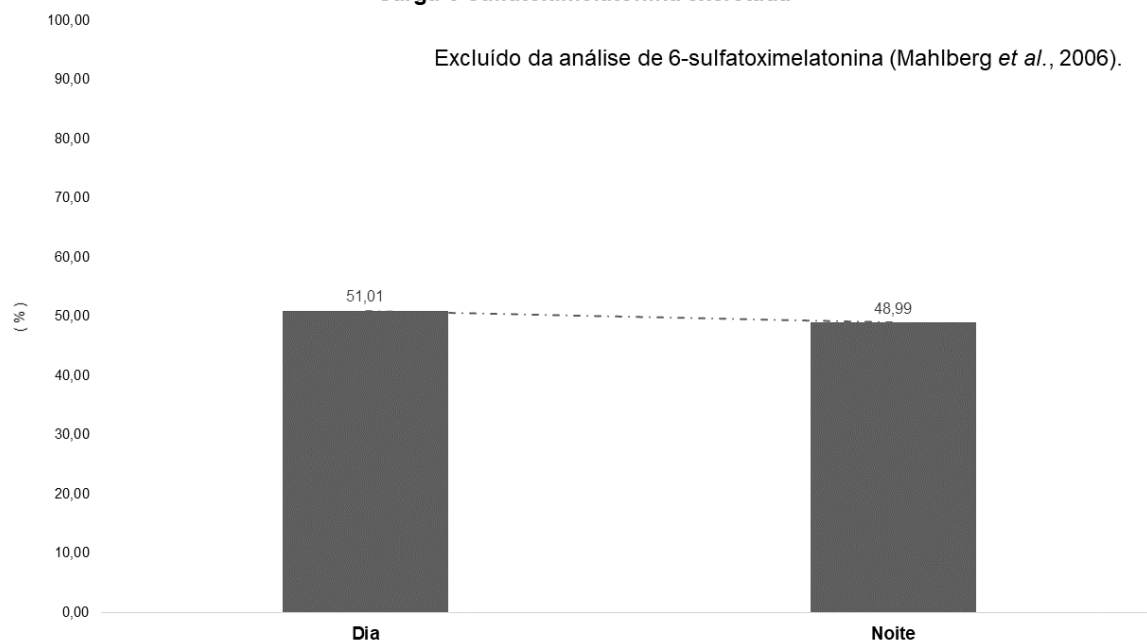


Controle – Feminino, 29 anos.

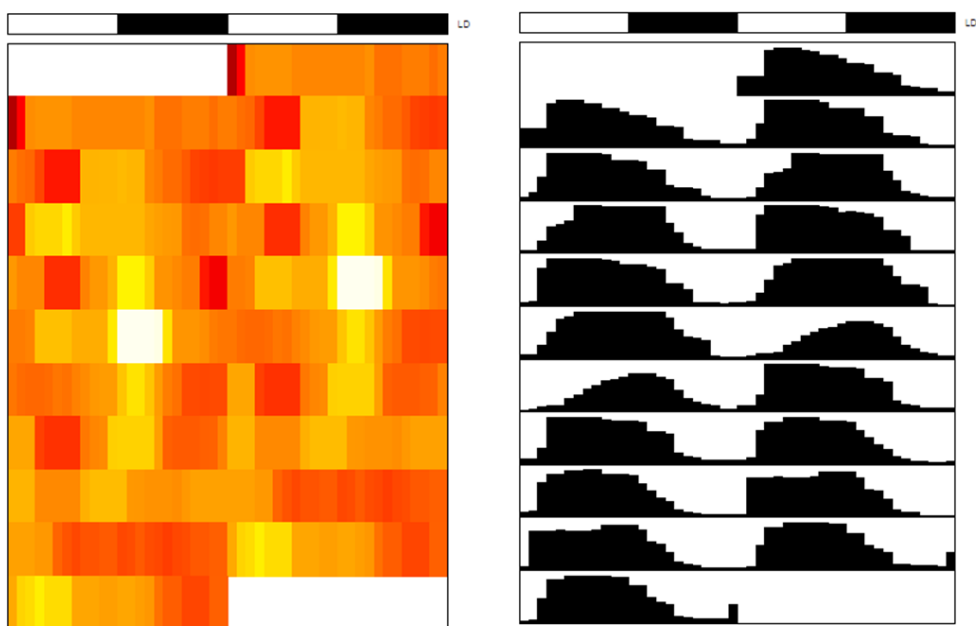
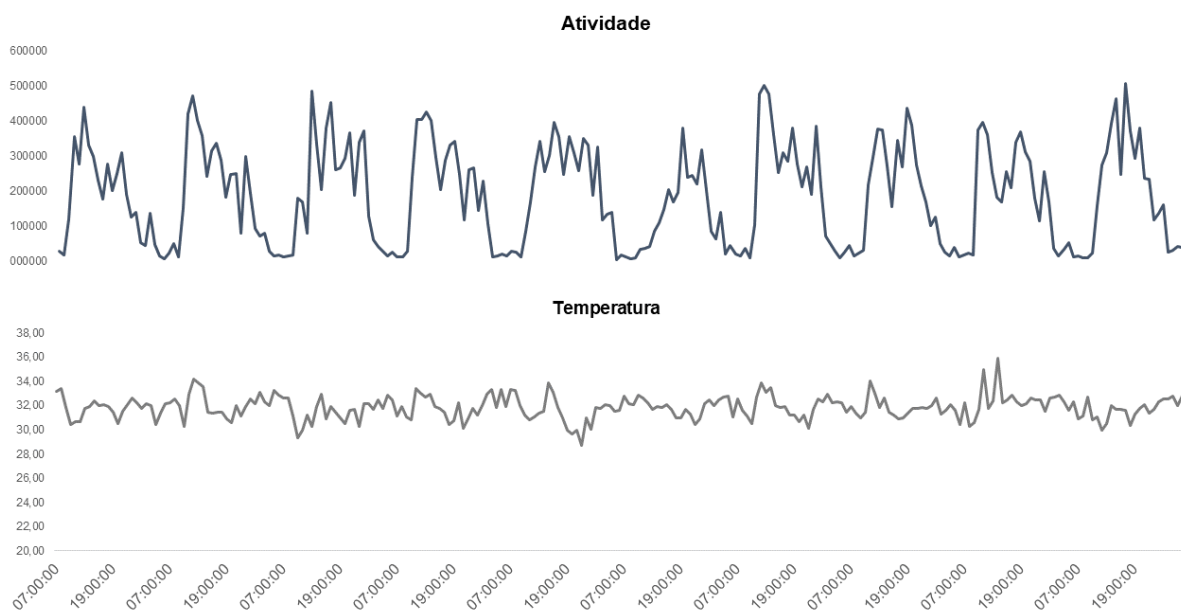


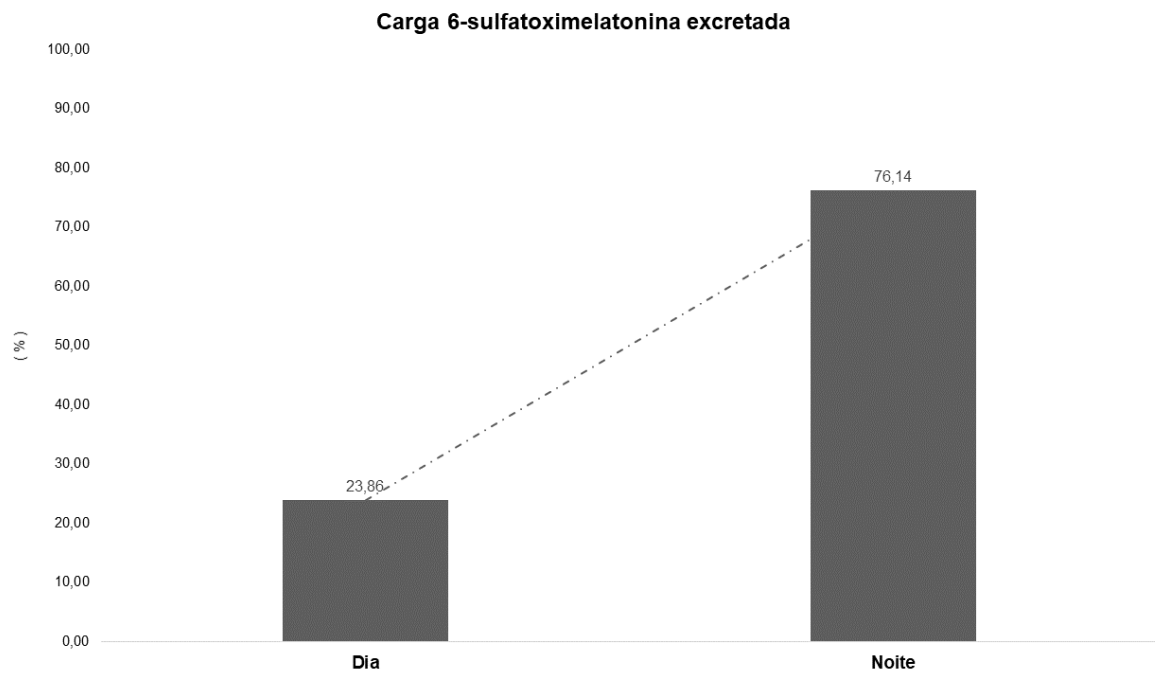
Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

Excluído da análise de 6-sulfatoximelatonina (Mahlberg *et al.*, 2006).

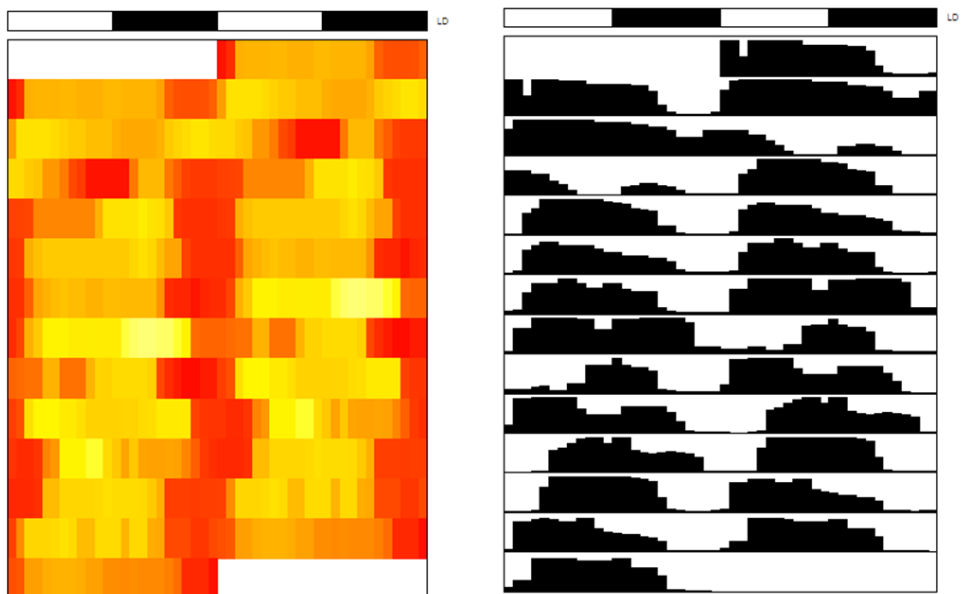
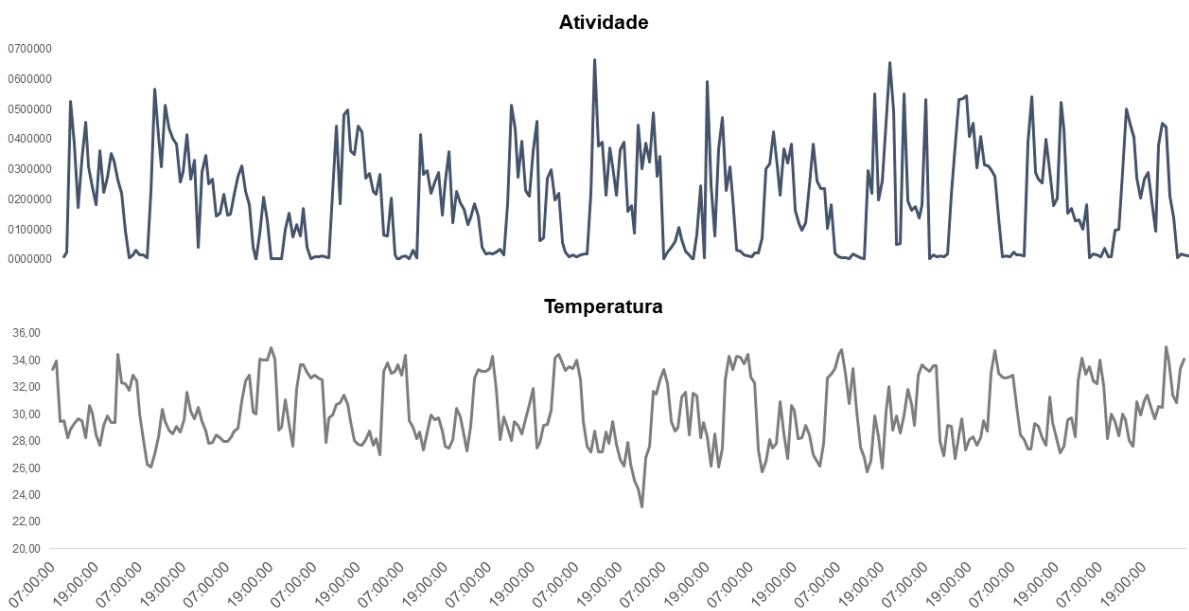


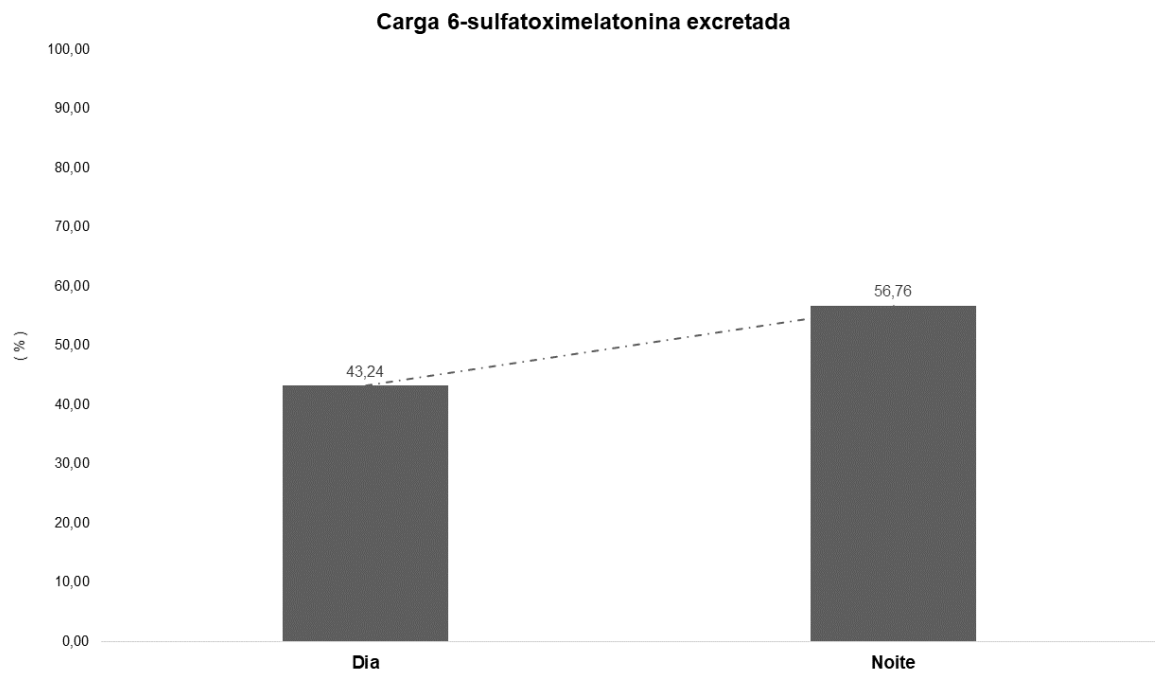
Controle – Masculino, 41 anos.



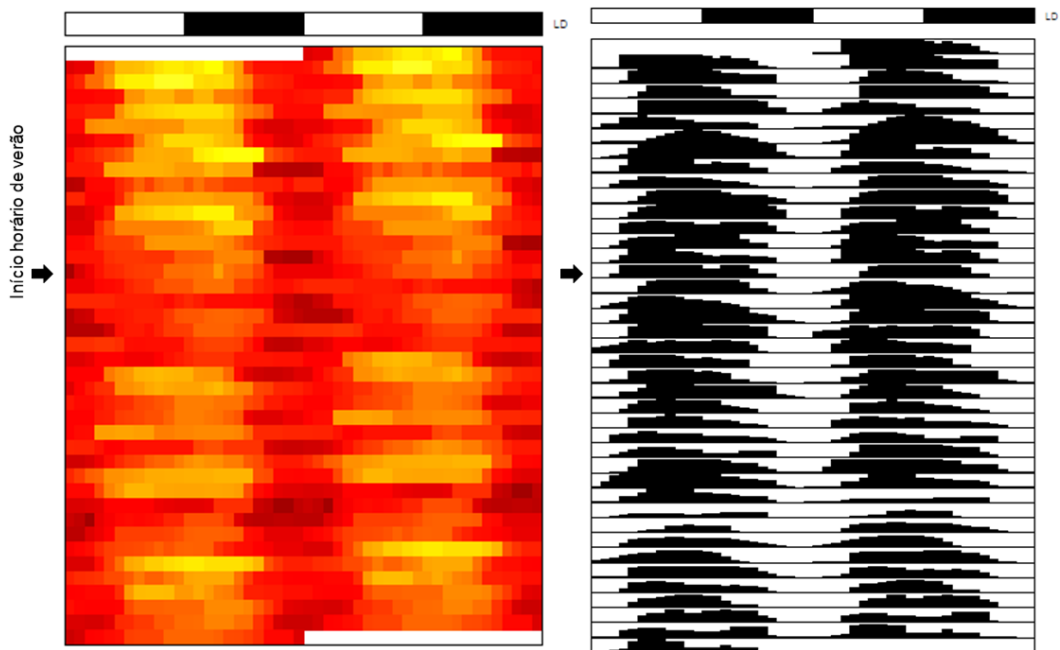
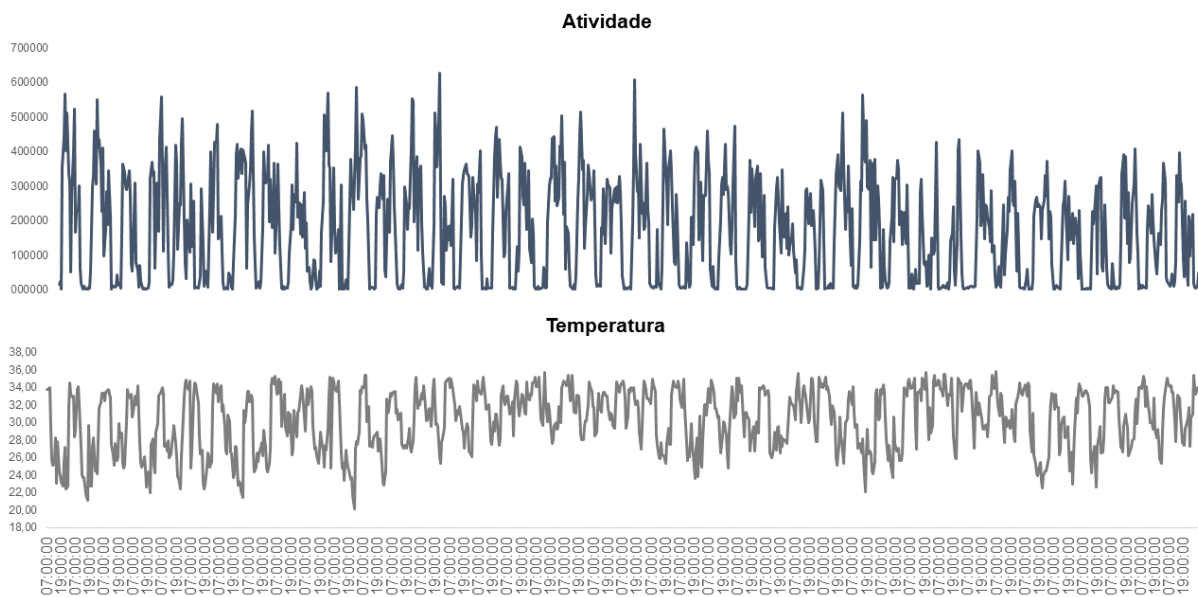


Controle – Feminino, 36 anos.

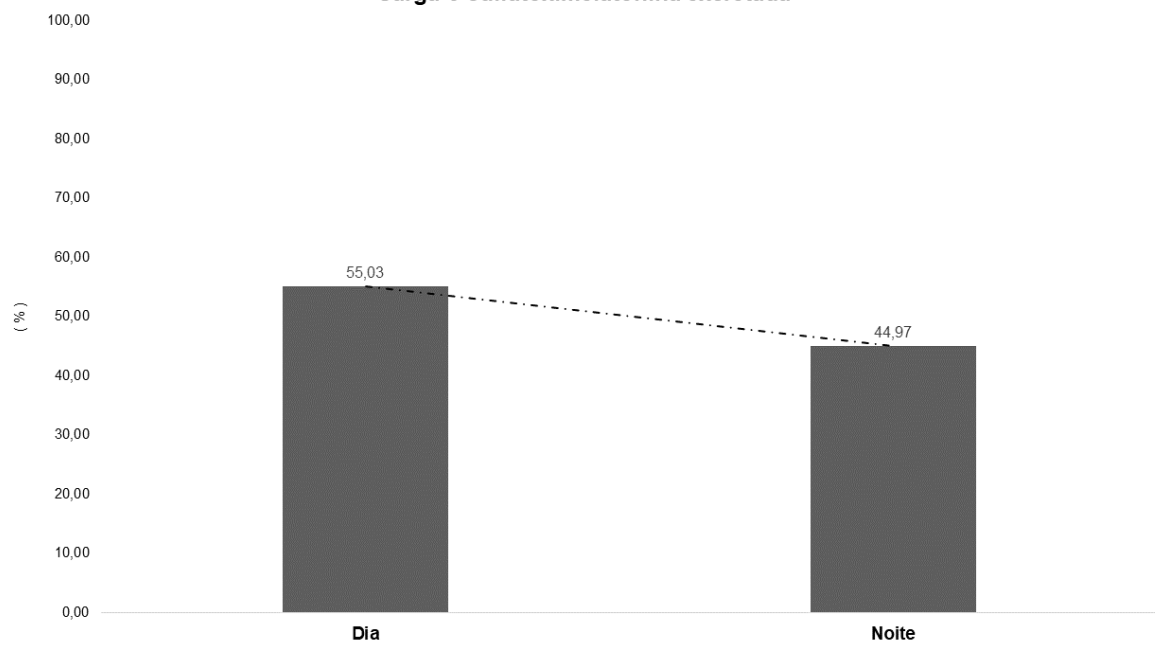




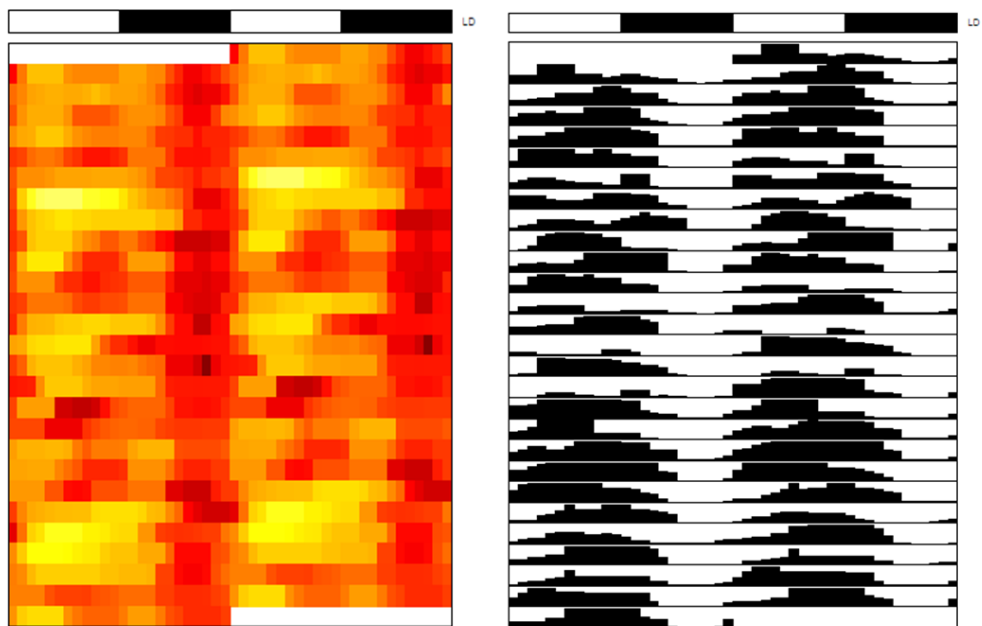
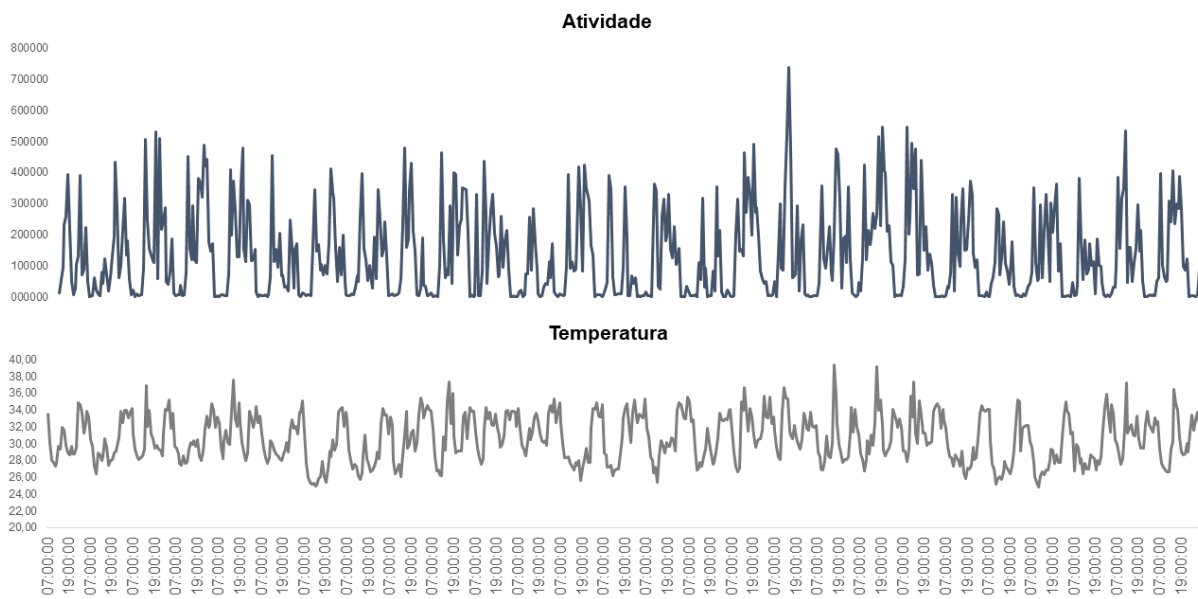
FB clássico – Feminino, 44 anos.

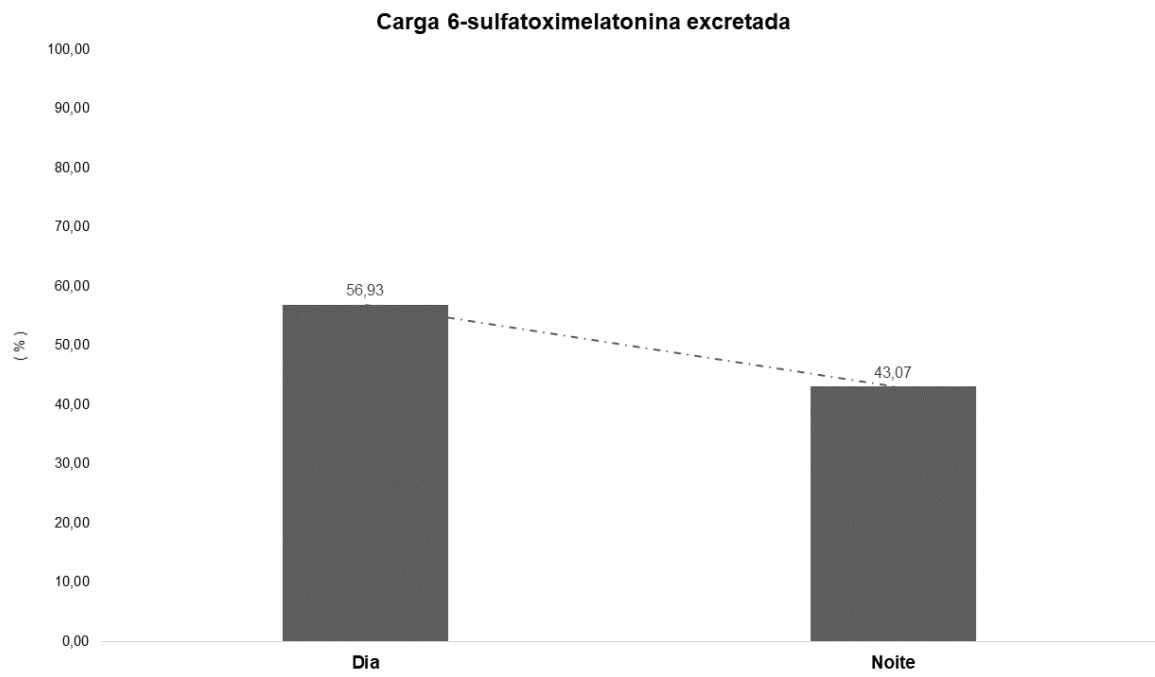


Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

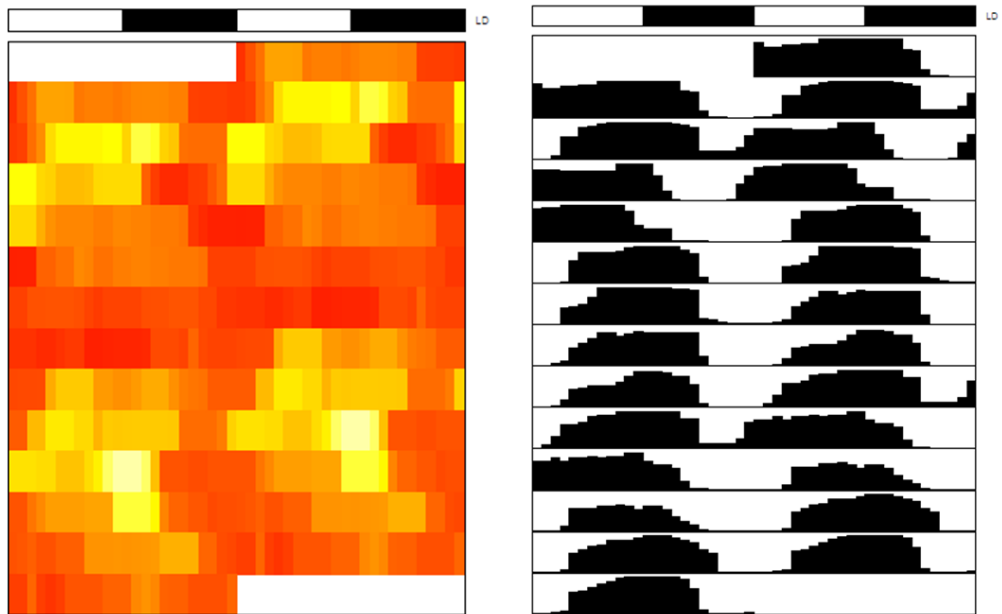
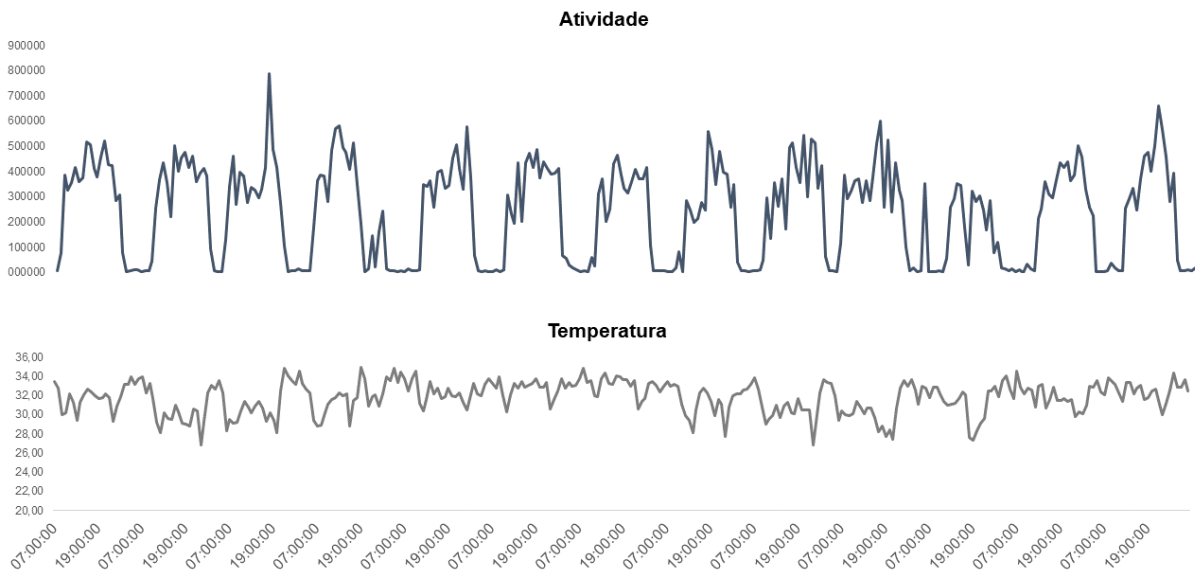


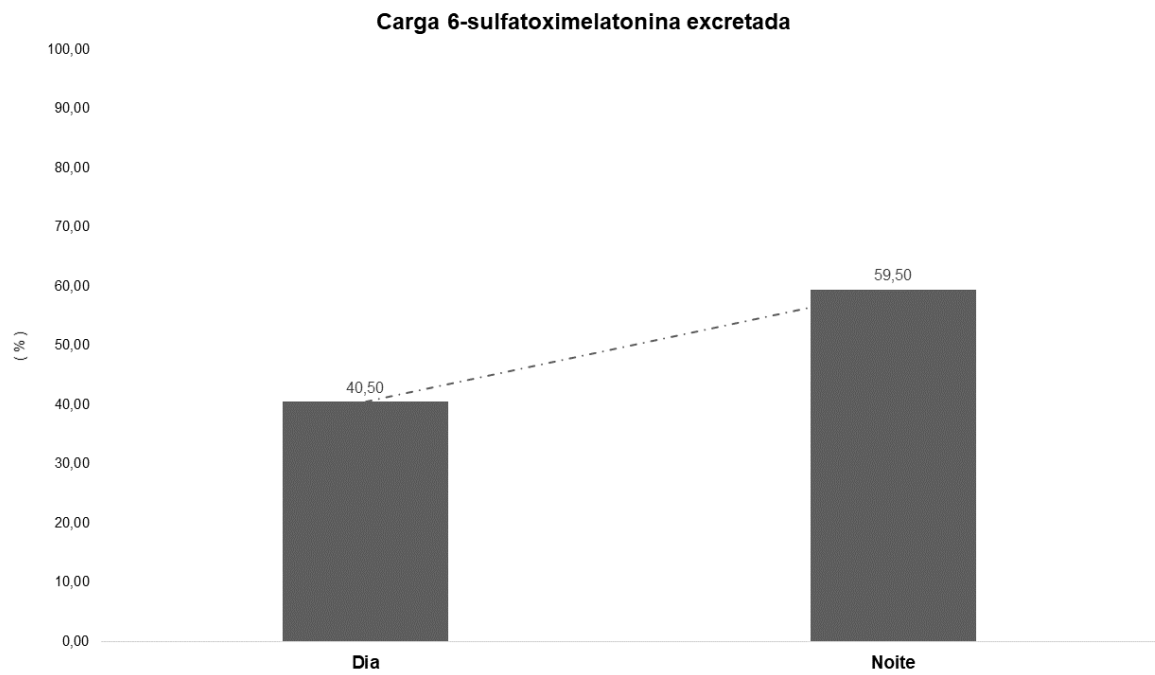
FB clássico – Masculino, 54 anos.



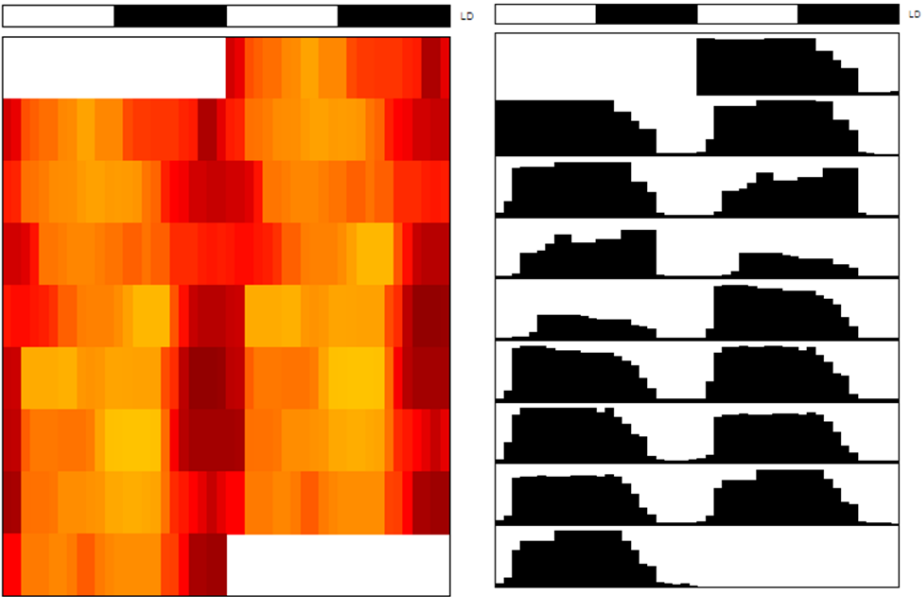
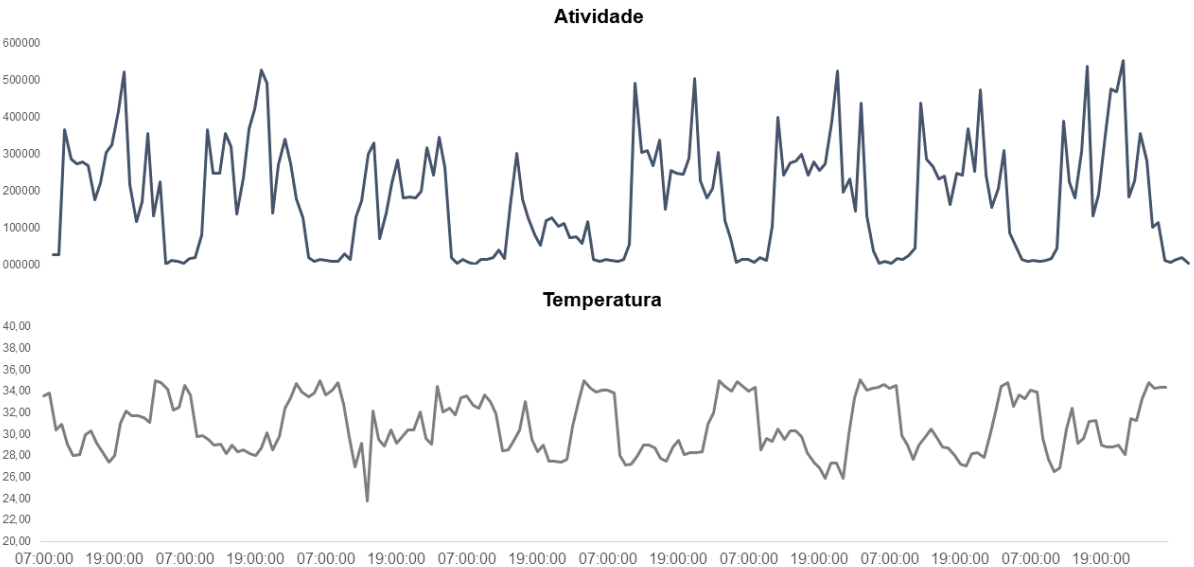


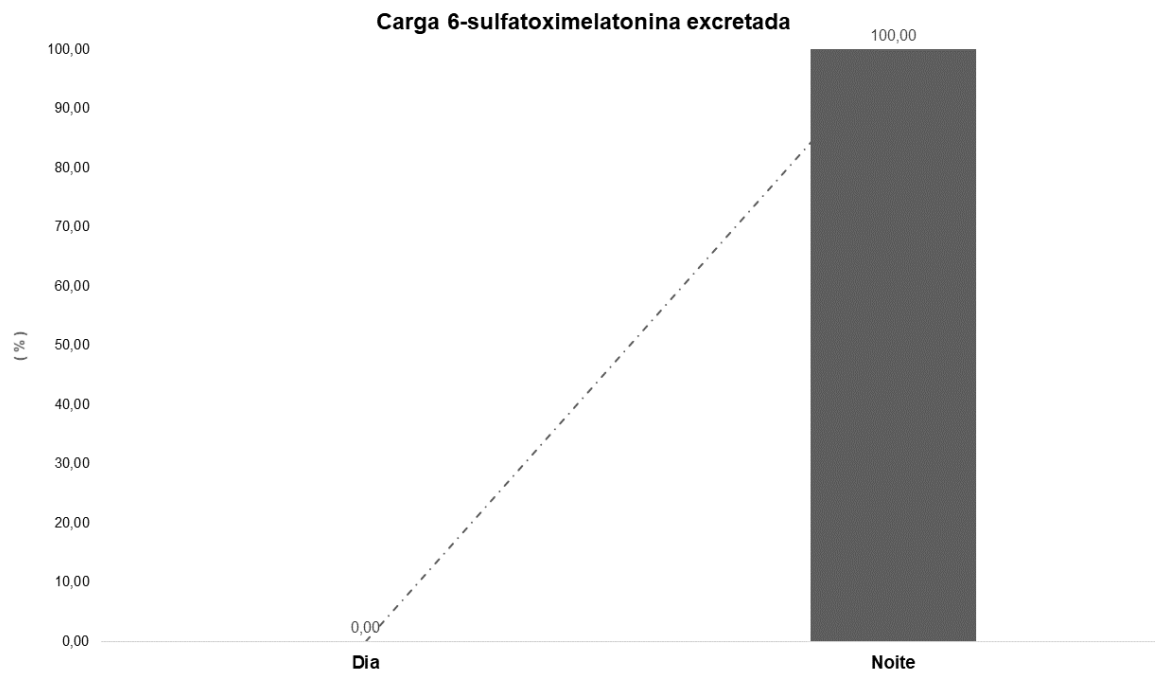
FB clássico – Masculino, 51 anos.



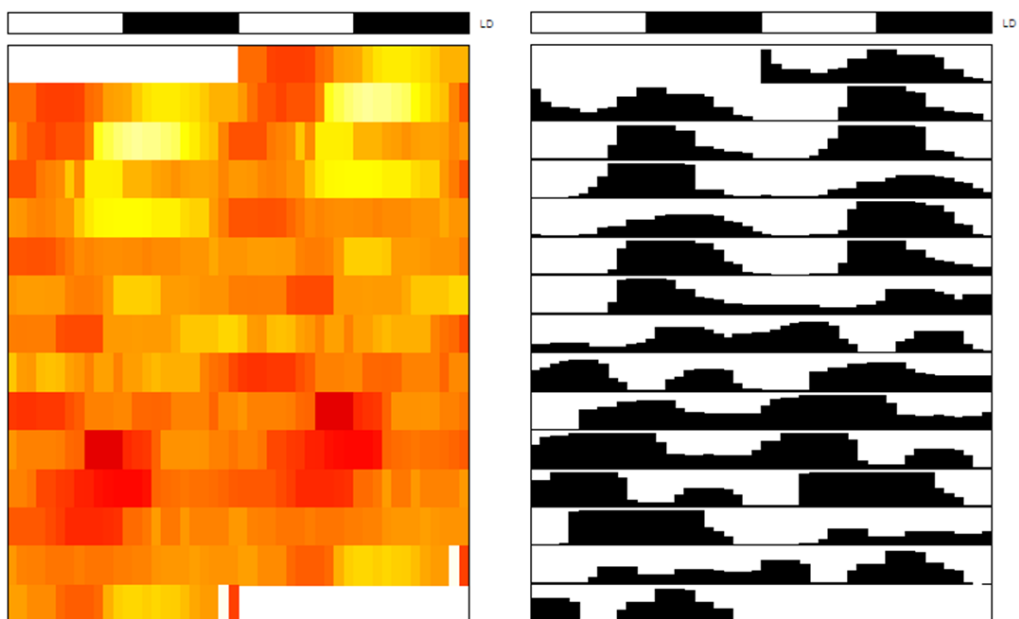
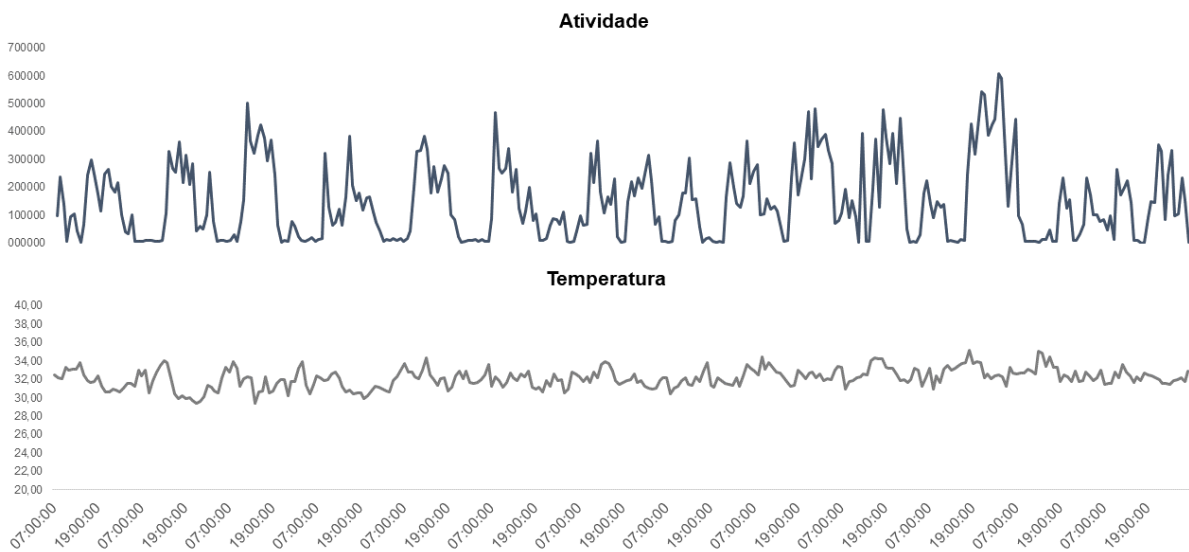


FB clássico – Masculino, 23 anos.

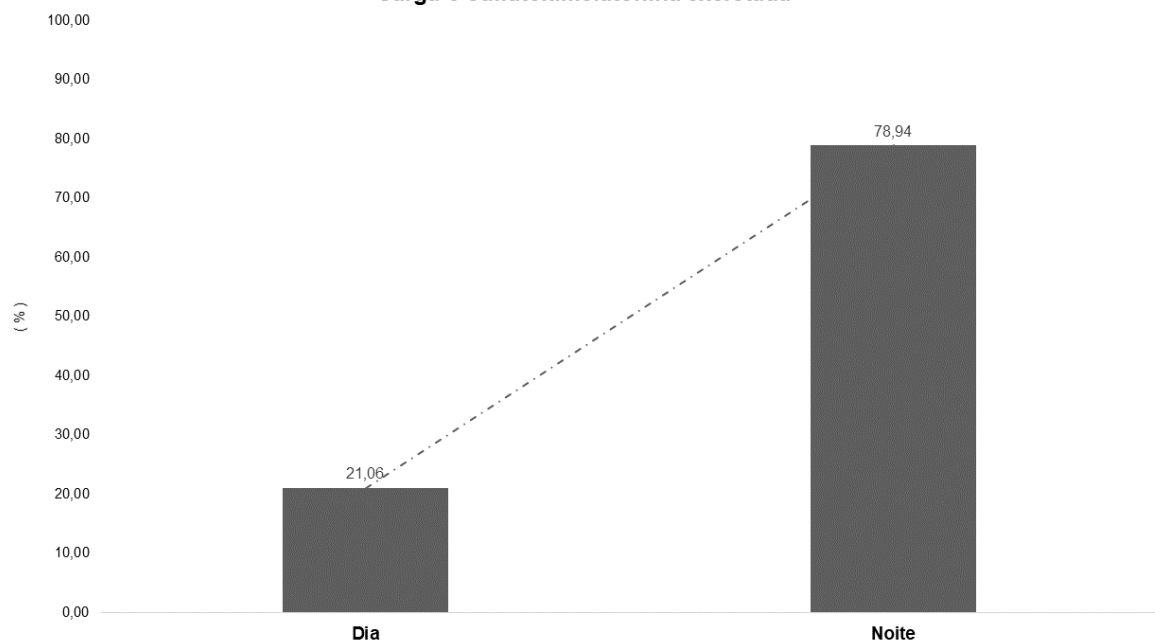




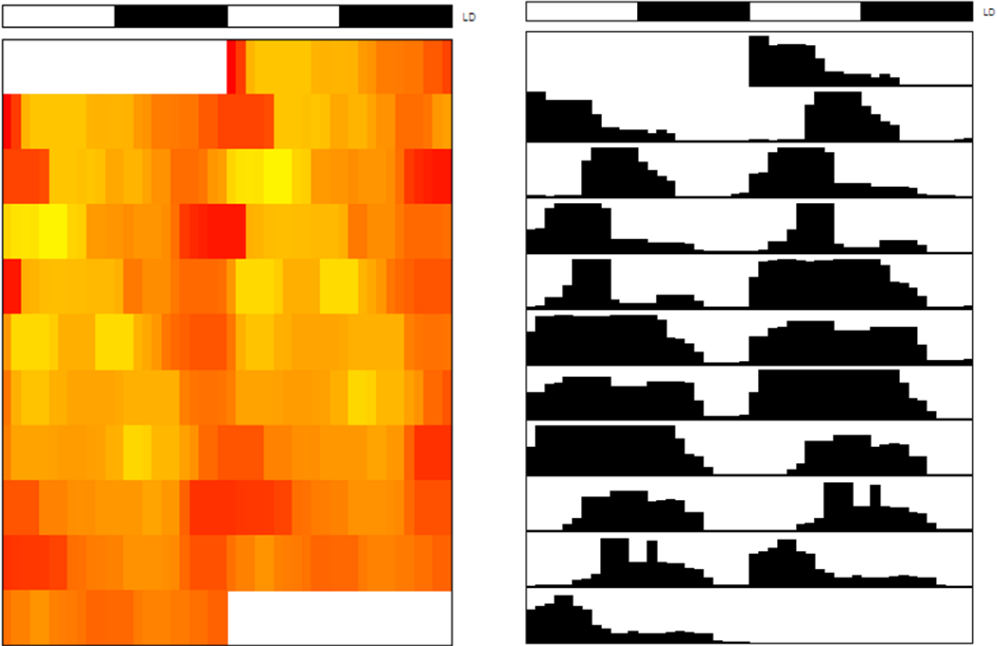
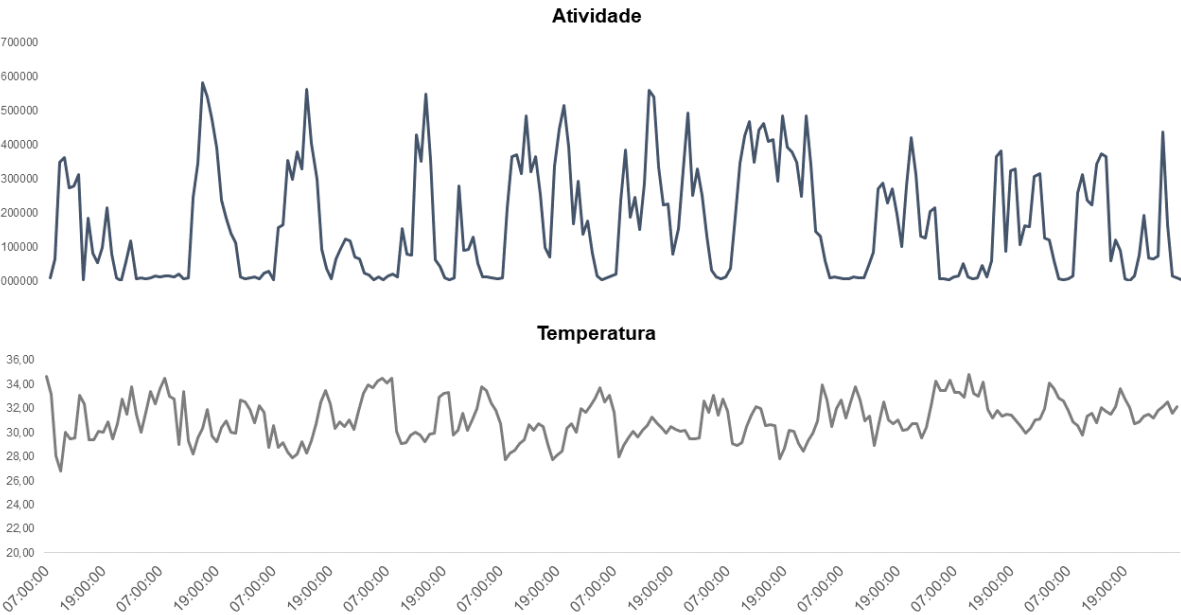
FB clássico – Masculino, 17 anos.

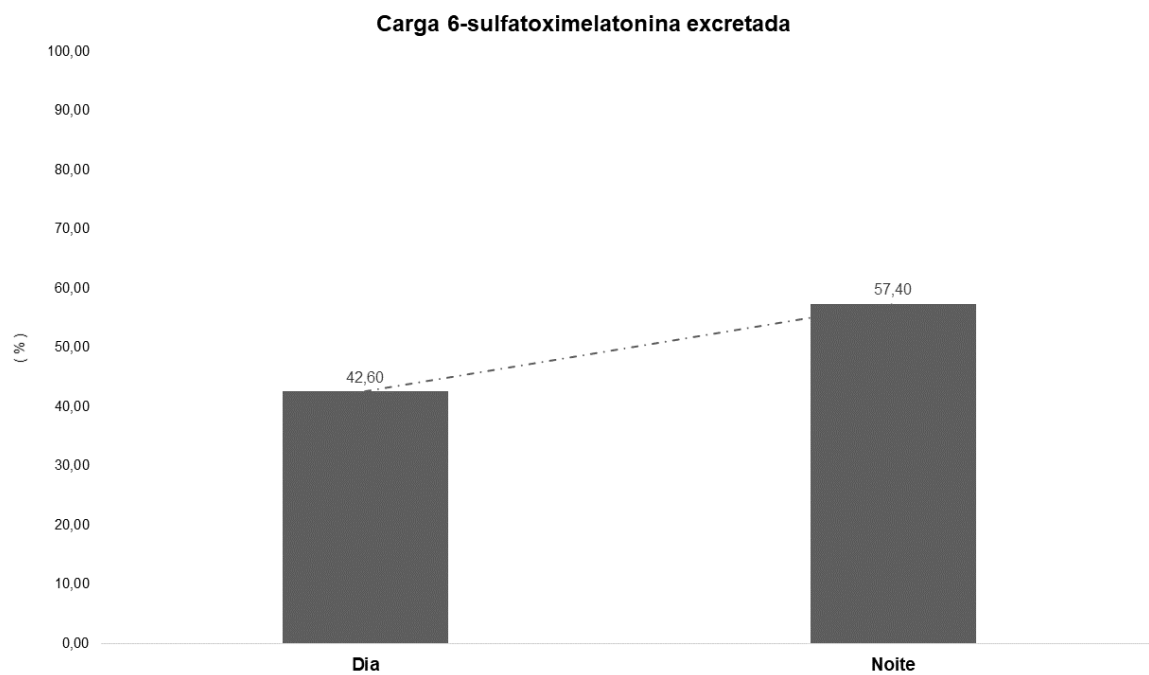


Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

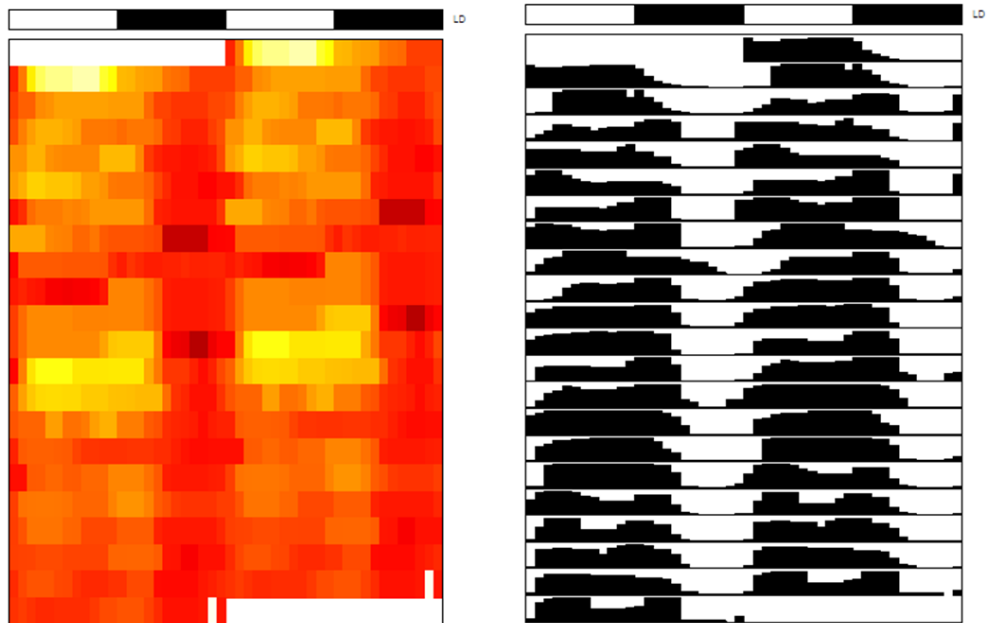
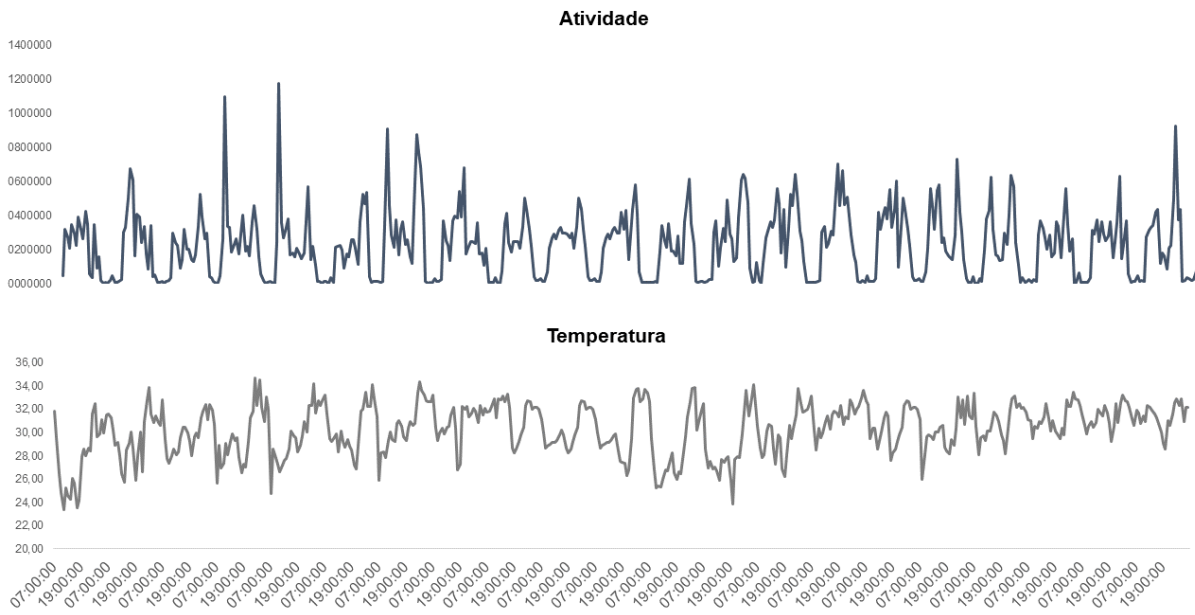


FB clássico – Feminino, 53 anos.

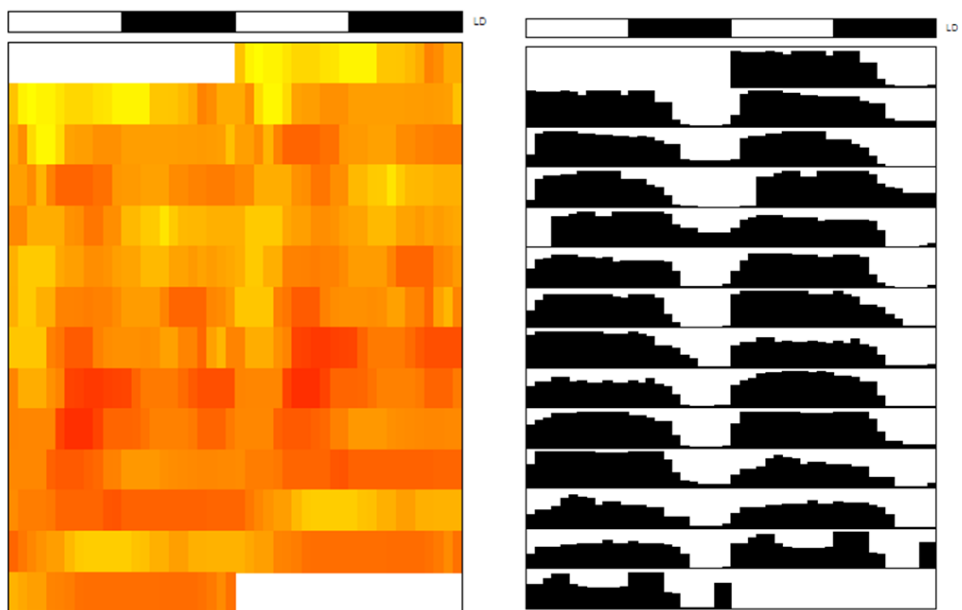
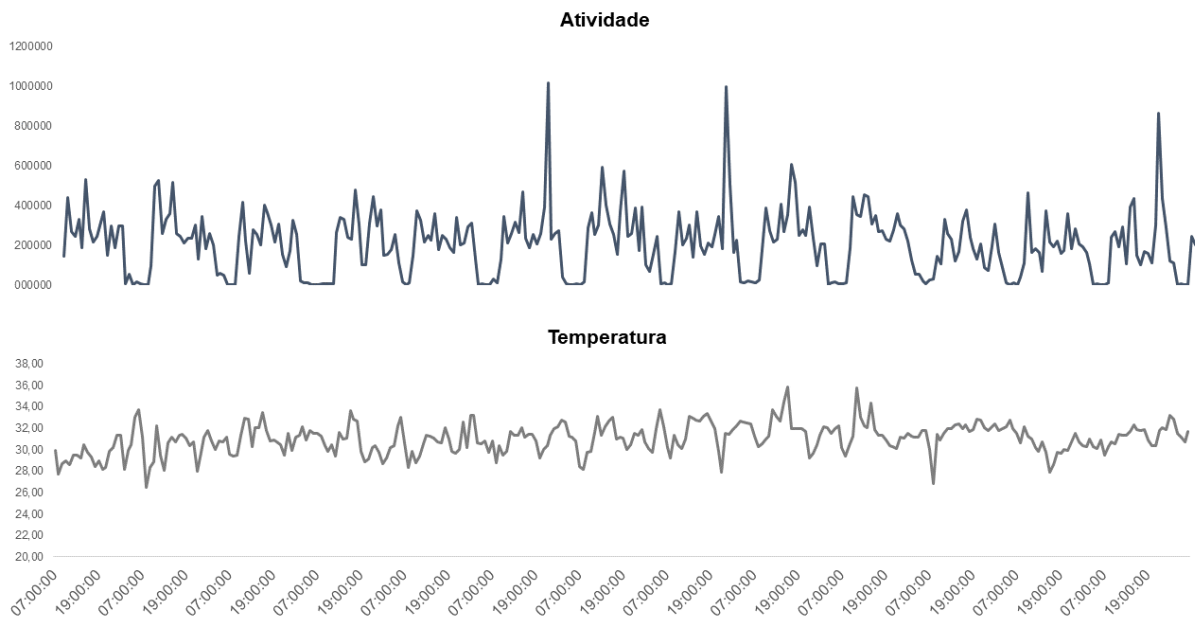


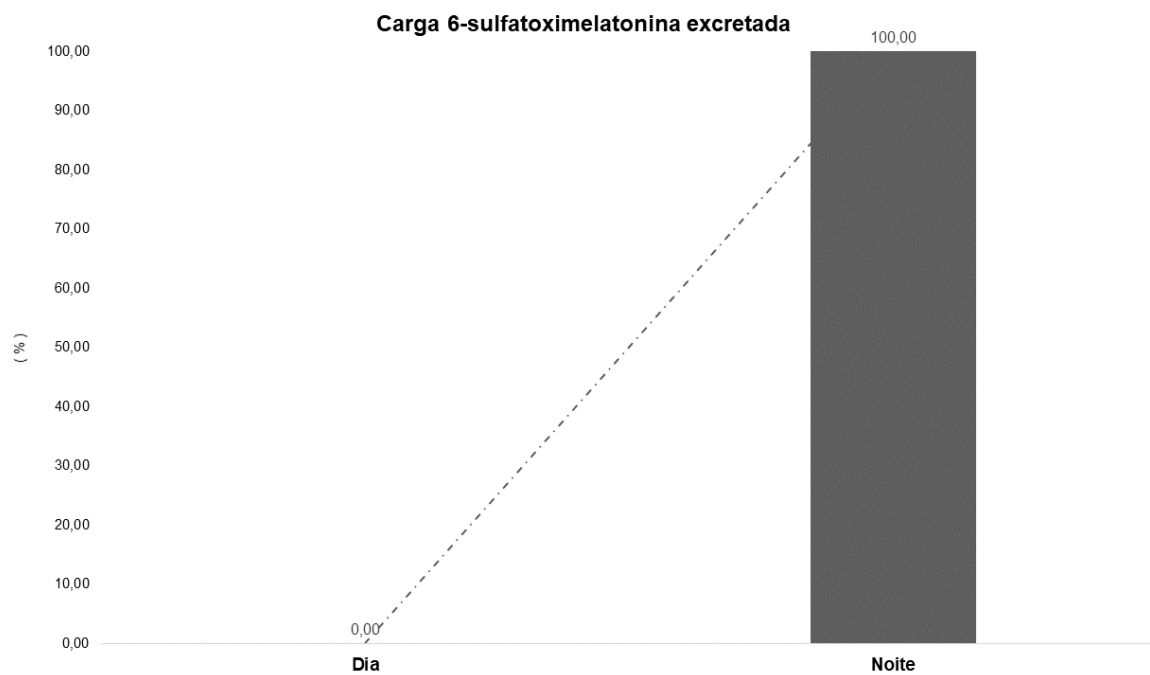


FB clássico – Feminino, 41 anos.

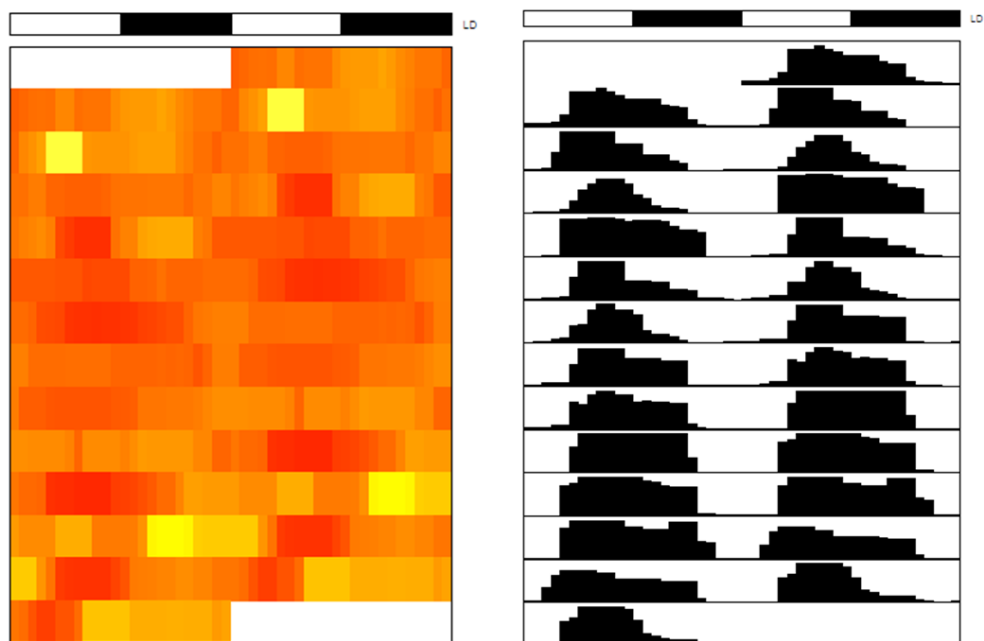
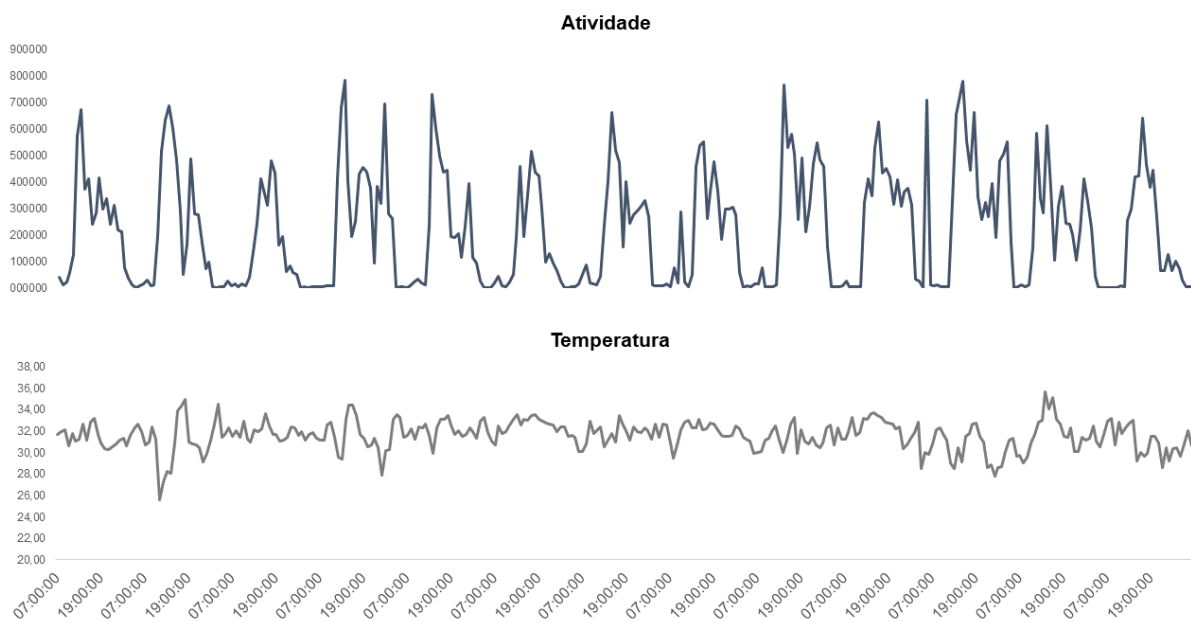


FB clássico – Feminino, 28 anos.

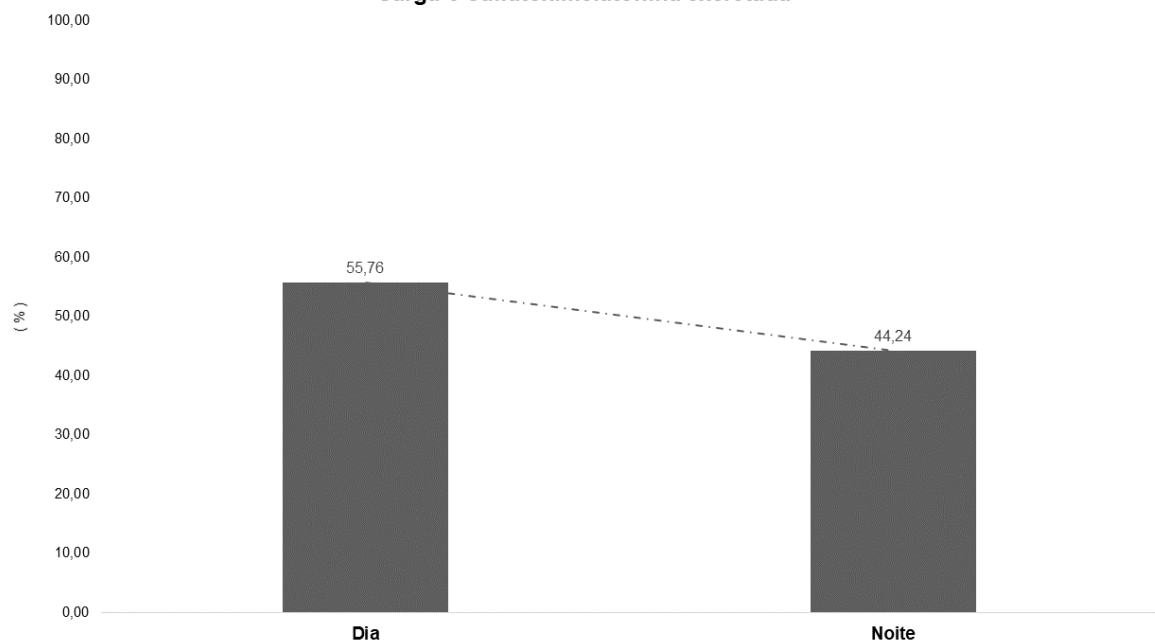




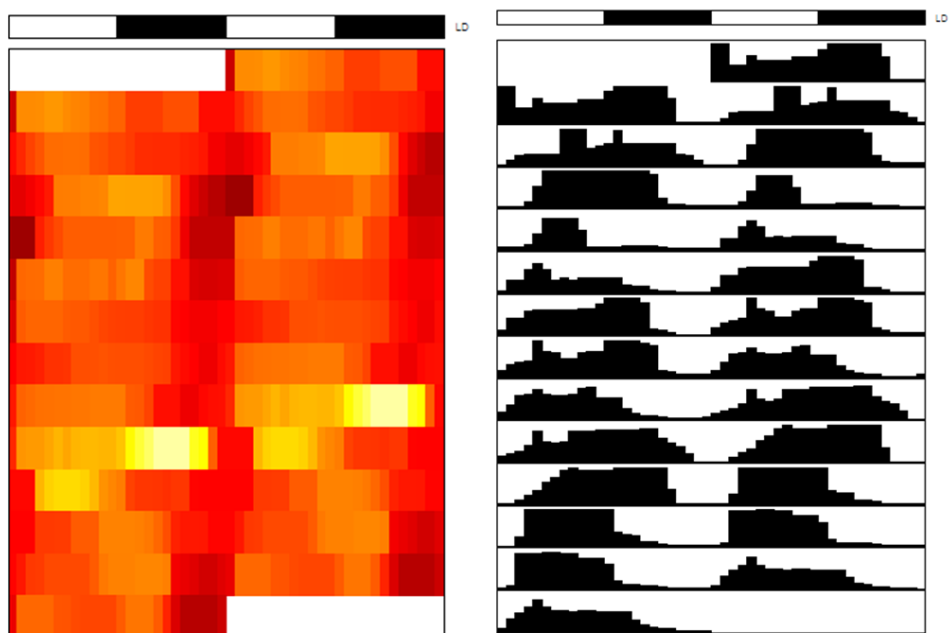
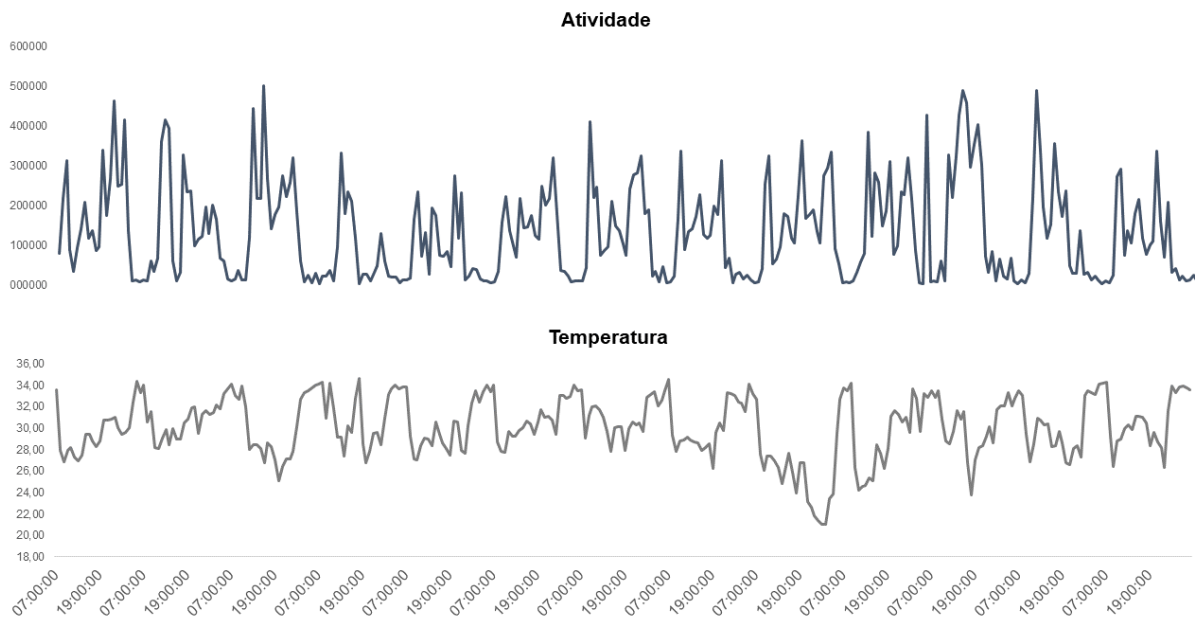
FB clássico – Feminino, 34 anos.

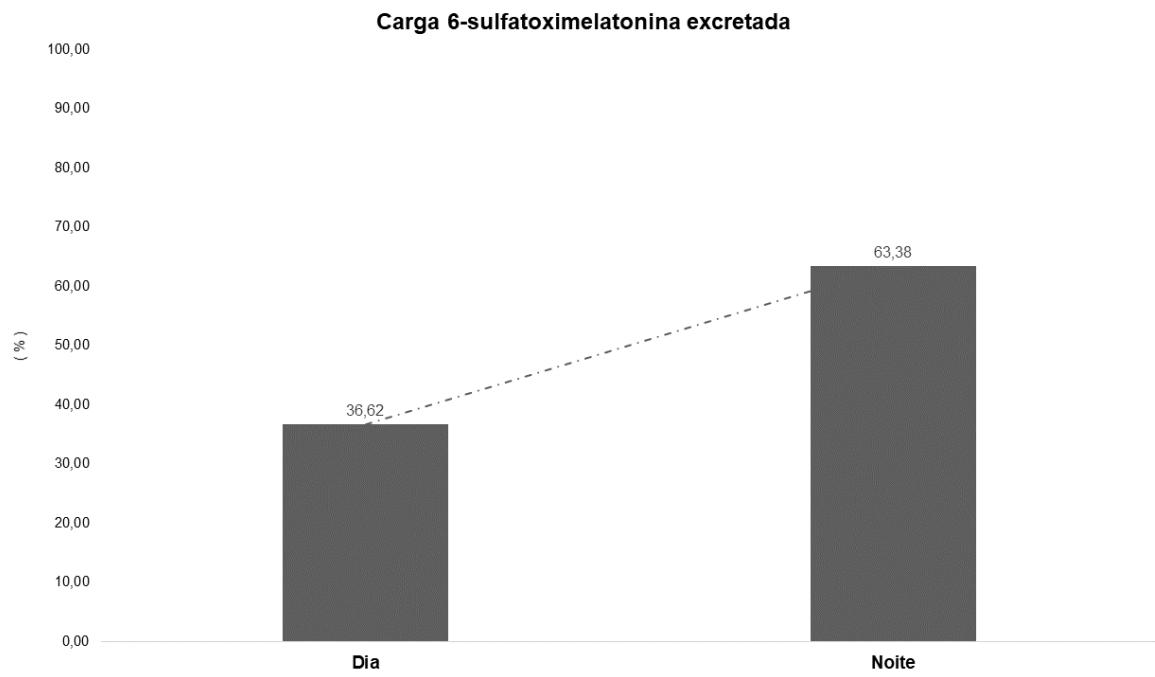


Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

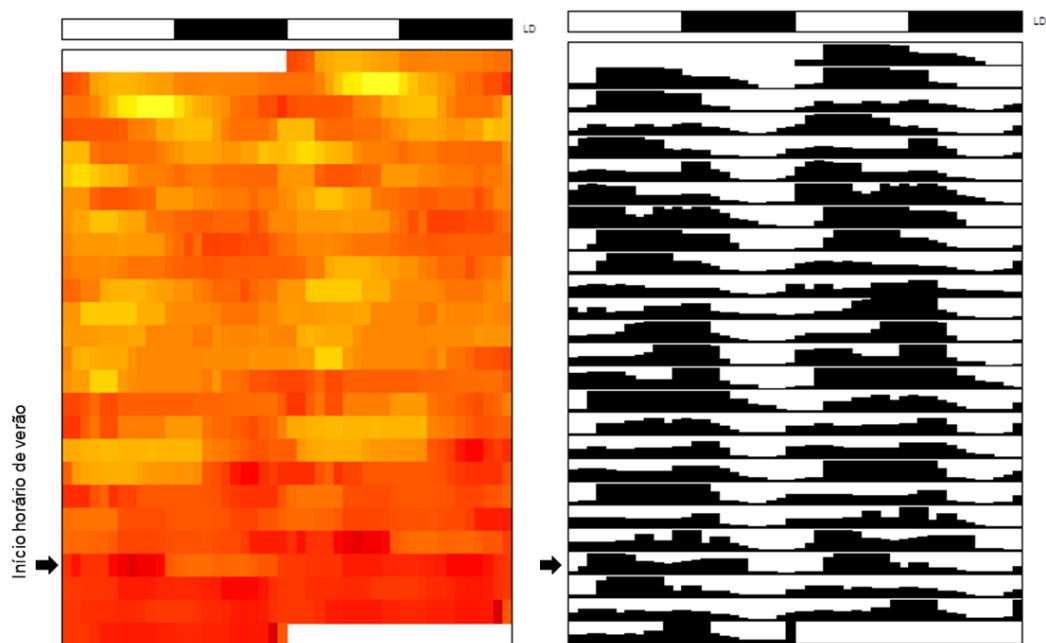
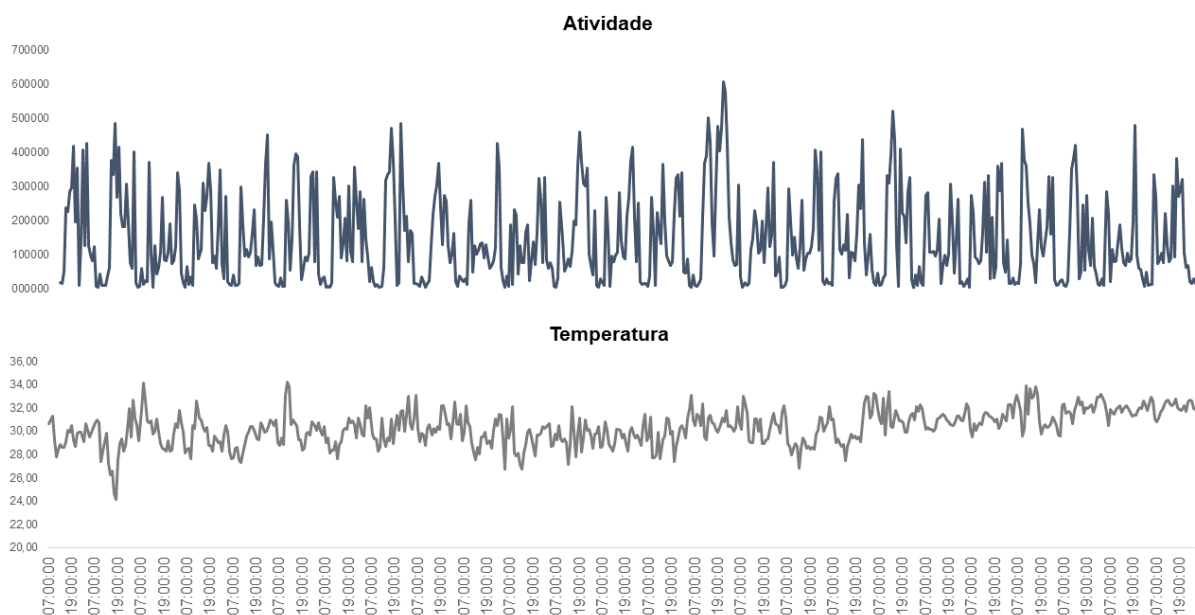


FB clássico – Masculino, 40 anos.

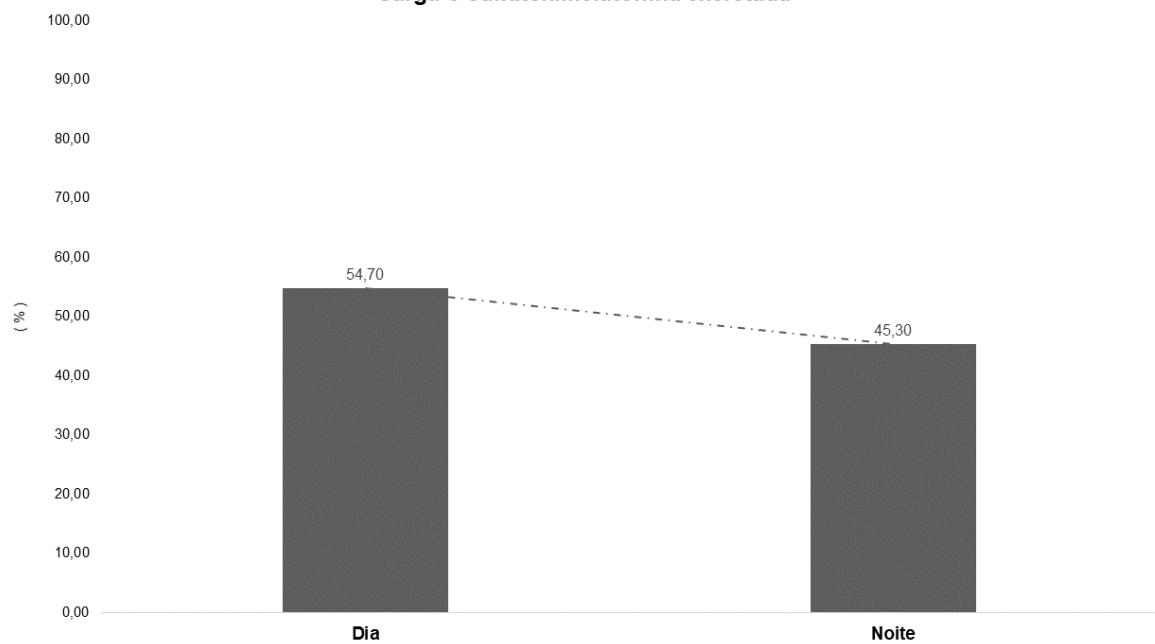




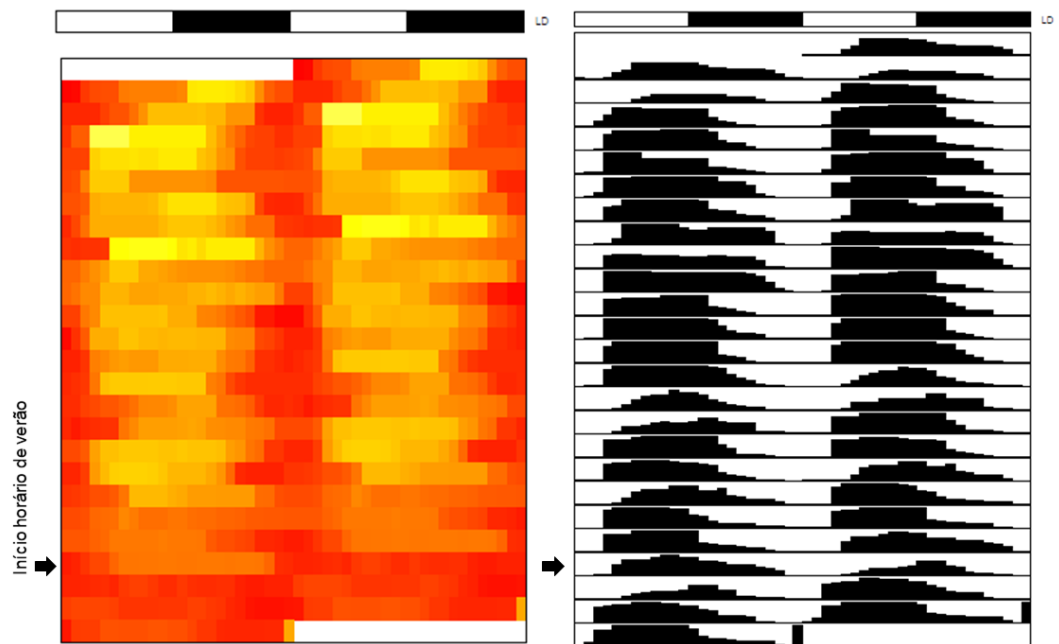
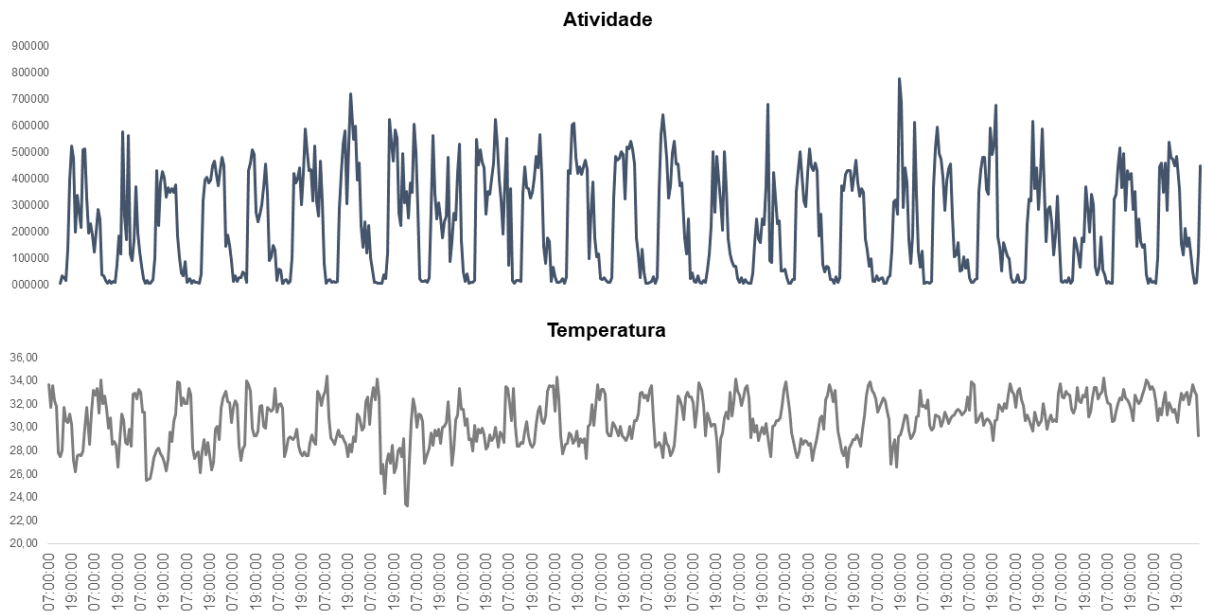
FB não clássico – Masculino, 54 anos.

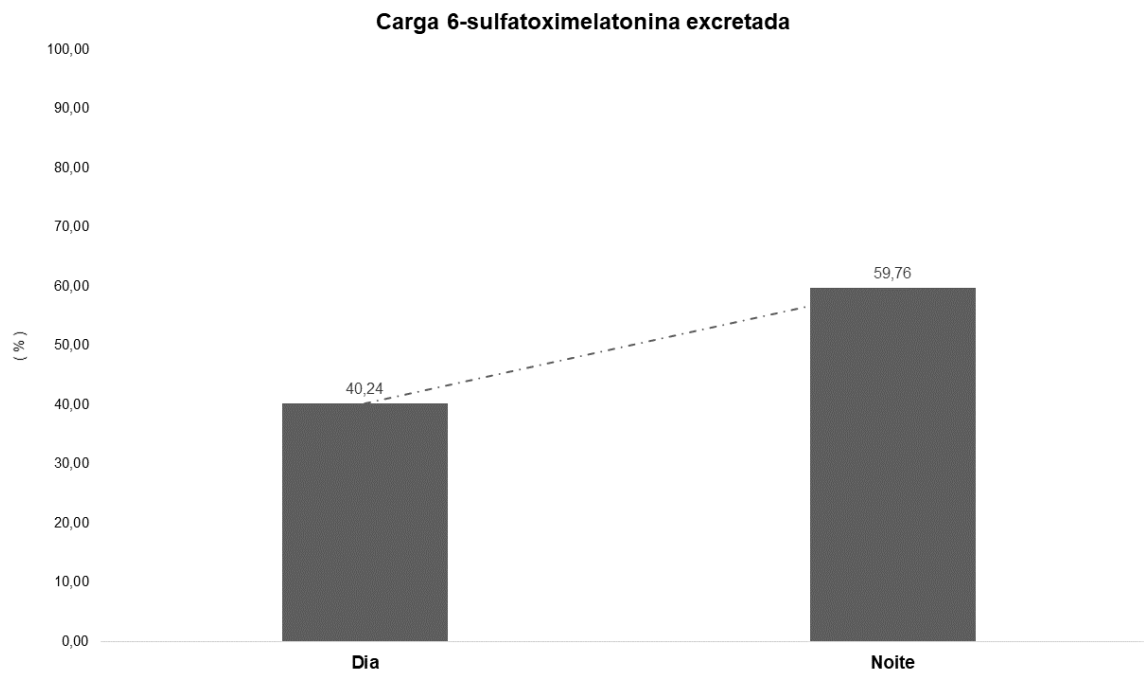


Carga 6-sulfatoximelatonina excretada

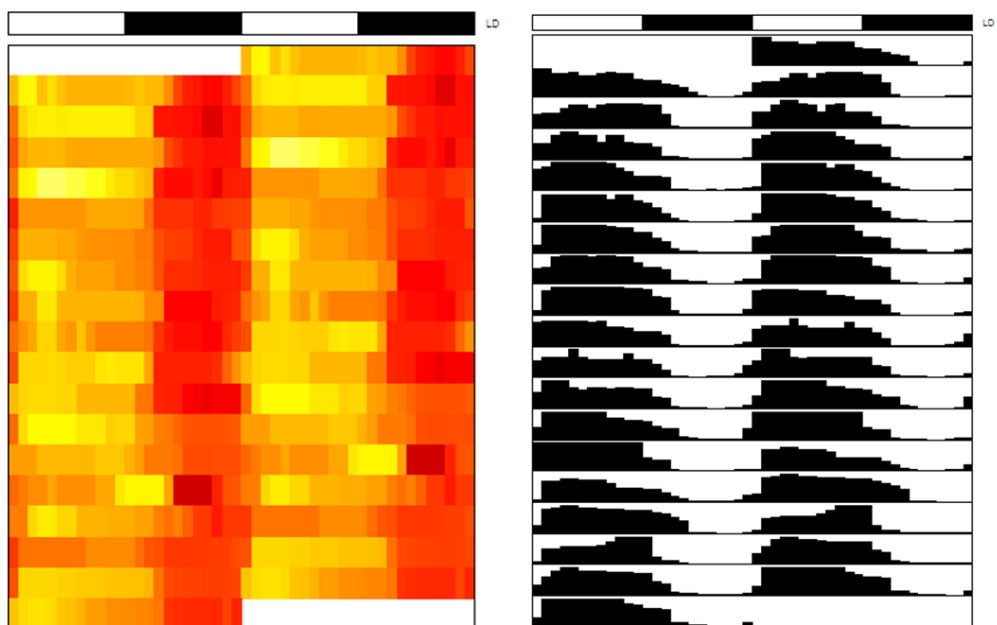
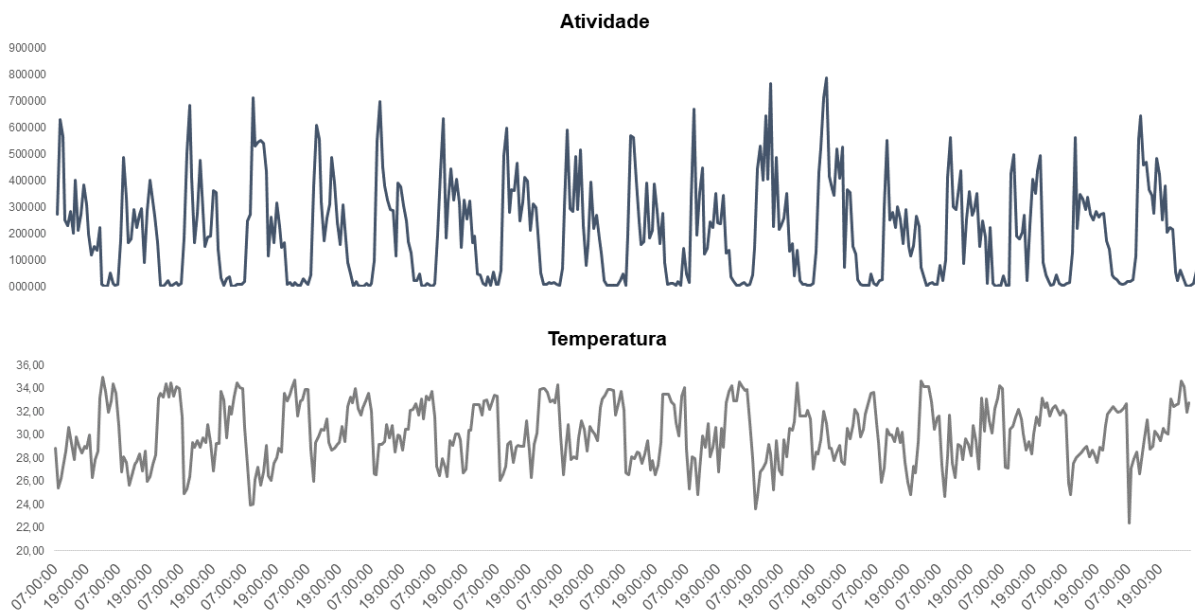


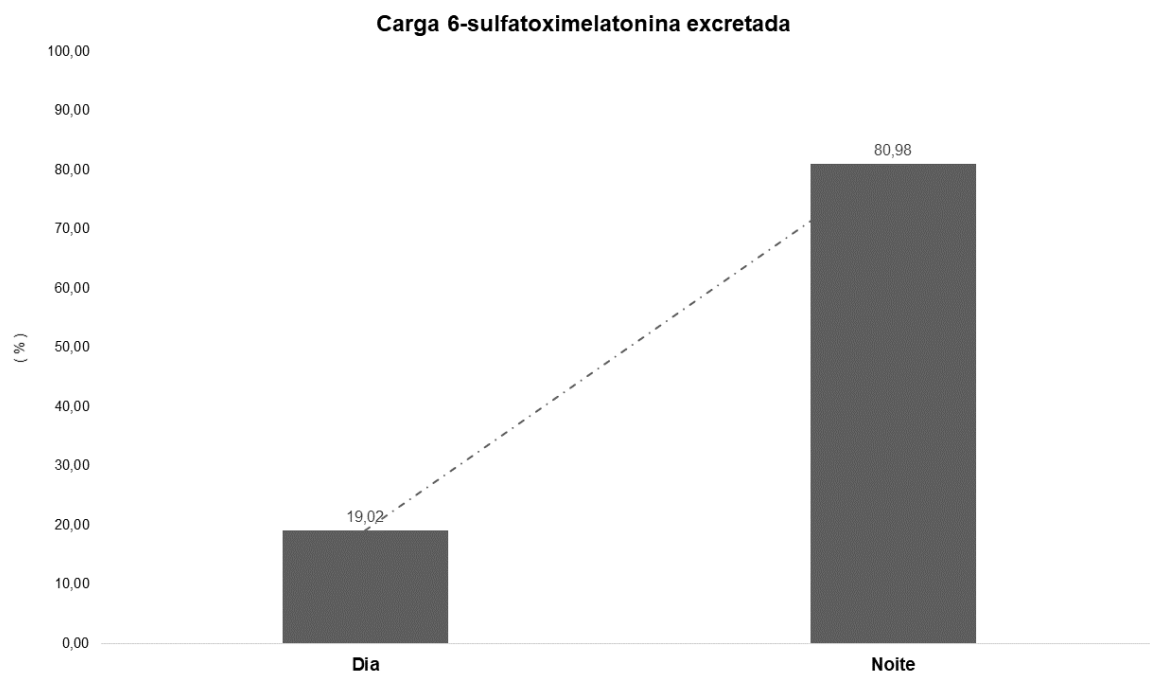
FB não clássico - Feminino, 52 anos



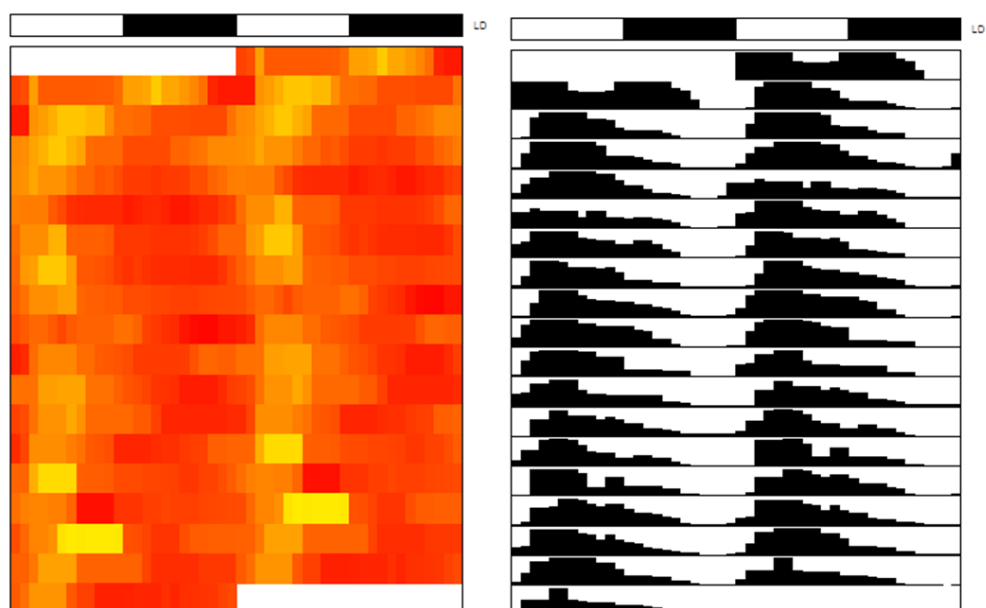
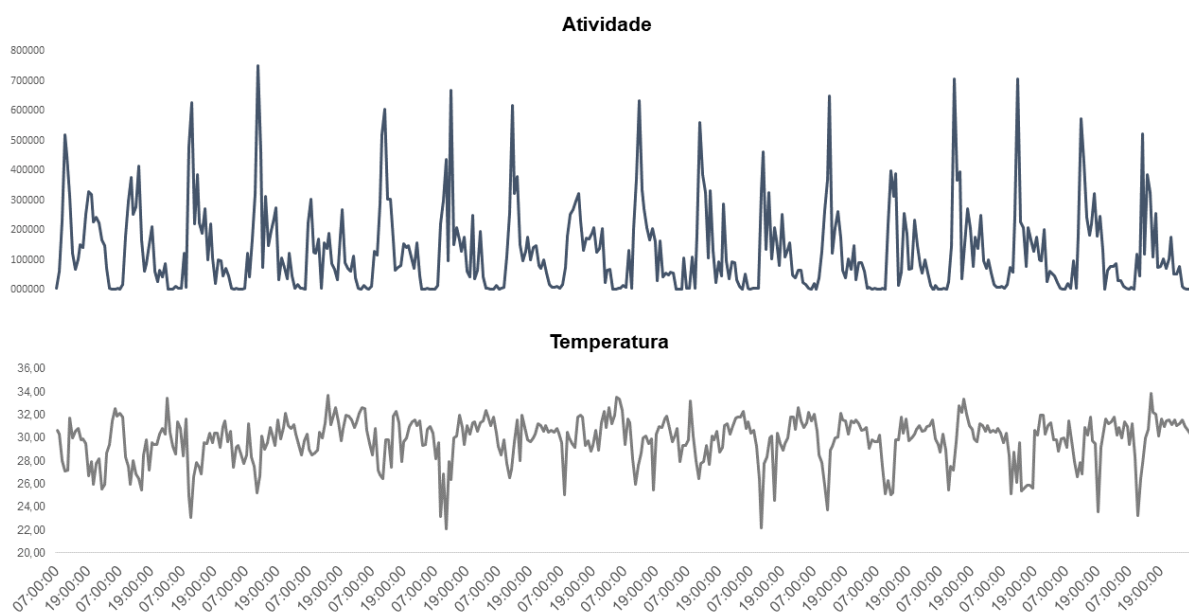


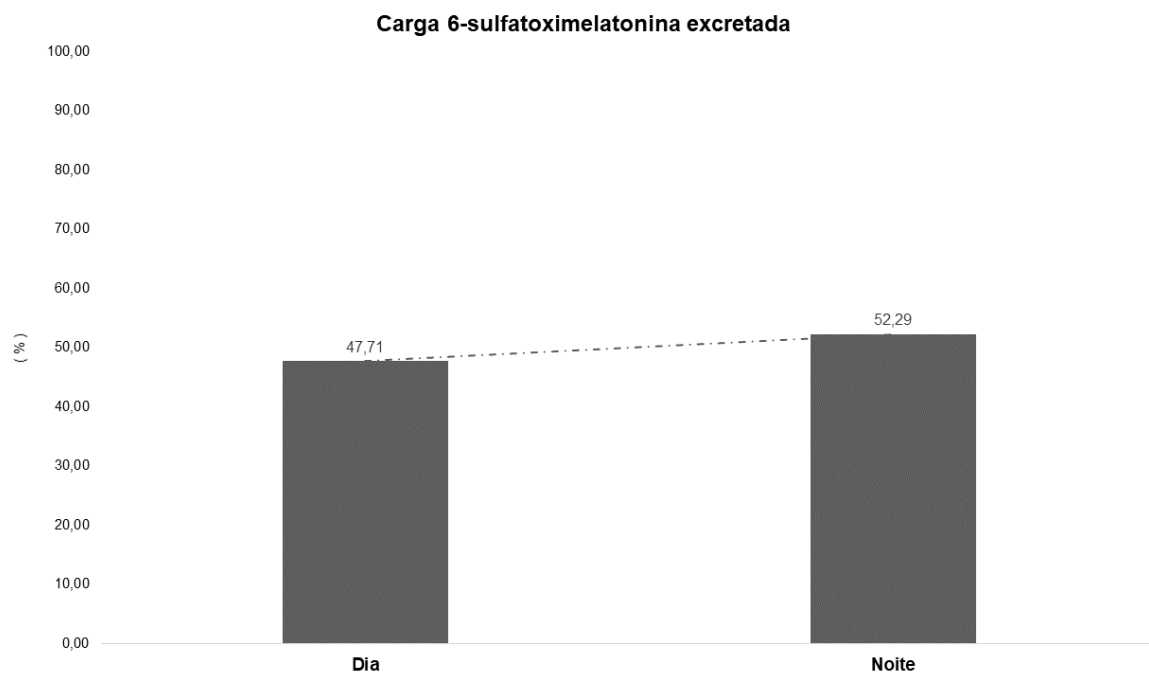
FB não clássico - Feminino, 32 anos



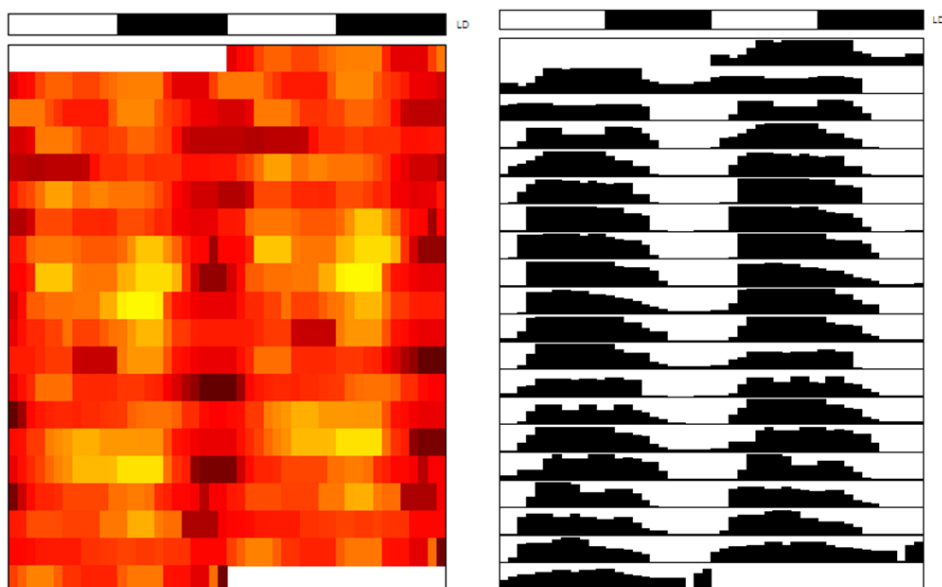
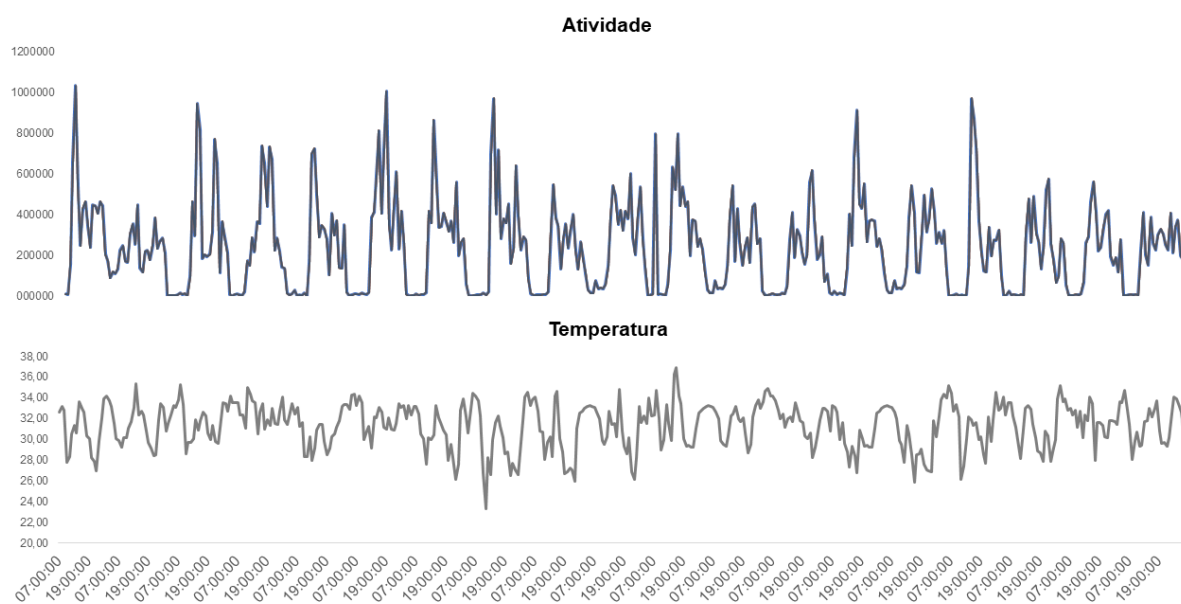


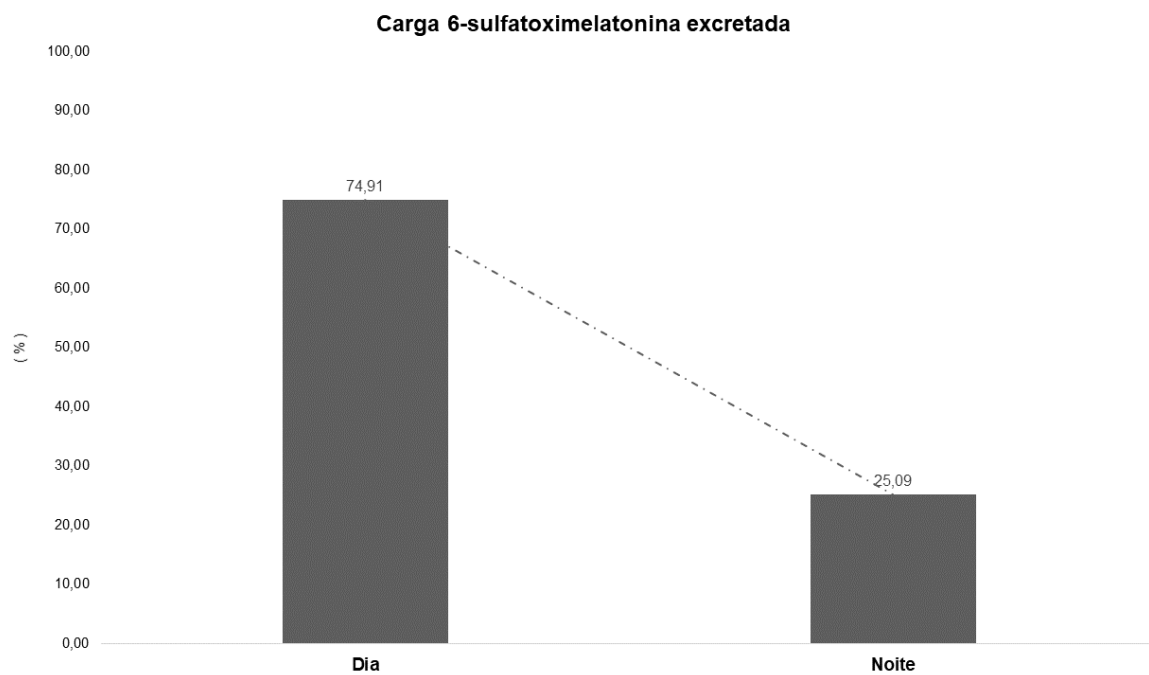
FB não clássico - Feminino, 50 anos





FB não clássico - Feminino, 27 anos





FB não clássico - Feminino, 62 anos

