

## Actualidades farmacológicas

**Cronofarmacología: variaciones temporales en la respuesta a los medicamentos**Alfonso Efraín Campos Sepúlveda,<sup>1</sup> Luis Antonio Moreno Ruiz,<sup>2</sup> Nicandro Mendoza Patiño<sup>1</sup><sup>1</sup> Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM.<sup>2</sup> Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Dentro de las características de los ritmos biológicos podemos mencionar el hecho de que son de naturaleza endógena, es decir, están troquelados en el material genético, son hereditarios y no son adquiridos por aprendizaje. Aun cuando persisten en condiciones ambientales constantes, los ritmos biológicos se pueden ir amortiguando y son susceptibles de ser modificados por diversos factores ambientales como la duración del fotoperiodo (horas luz-oscuridad), la temperatura, el magnetismo, la presión barométrica, la alimentación y, de manera muy importante, por los aspectos sociales. A esta serie de factores se les ha denominado «zeitgebers» o «sincronizadores». Es importante señalar que cada organismo, dependiendo de la especie, posee sus ritmos biológicos que difieren en su distribución, amplitud y frecuencia, los que pueden estar acoplados y jerarquizados, es decir, que un ritmo biológico comande a otro(s), de hecho pueden existir varios ritmos biológicos con frecuencia diferente para una misma variable. También es importante destacar que la integridad de la ritmicidad biológica se considera requisito de salud, por lo que la alteración espontánea de los ritmos biológicos o la resultante de diversos factores endógenos o exógenos, se considera signo de patogenicidad; de hecho, se acepta que la constancia homeostásica corporal depende, en gran medida, de la integridad de la ritmicidad biológica y de su jerarquización.

Desde hace más de medio siglo se han reportado ritmos biológicos diarios de numerosos parámetros fisiológicos como la diuresis, la temperatura, el pulso, el ciclo sueño-vigilia, los constituyentes sanguíneos y urinarios etc. A partir de estos hallazgos se concibió que el hombre, a pesar de la constancia aparente de sus estructuras y funciones, presenta en el curso de 24 horas del día importantes fluctuaciones en sus actividades y funciones, y que incluso su personalidad global está influenciada por fases alternas de sus funciones, muchas de ellas sincronizadas, siguiendo las modificaciones externas del día y la noche (ritmos circadianos) o las estaciones del año (ritmos circaestacionales).

La frecuencia promedio de las palpitations del corazón son de aproximadamente de 70-80 latidos por minuto, generadas rítmicamente por las células marcapaso del nodo

senoauricular. La frecuencia respiratoria en el humano es de aproximadamente 20 veces por minuto, comandadas por el centro respiratorio ubicado a nivel bulbar donde se genera una actividad de aproximadamente un ciclo cada 3 segundos. Durante el sueño, el humano pasa desde un sueño ligero a un estadio de sueño profundo (sueño REM, MOR o paradójico) y regresa nuevamente a sueño de ondas lentas hasta alcanzar de nuevo el sueño REM, con ciclos de aproximadamente 90 minutos (sueño REM-No REM). A este tipo de ciclos se les denomina «ultradianos» (frecuencia de 0.5 a 20 h), técnicamente definidos como aquellos que presentan una frecuencia mayor de un ciclo en 20 h. Otras variaciones ultradianas que se pueden señalar son: la capacidad de atención, la tendencia a fantasear, la actividad peristáltica gastrointestinal, el ciclo hambre-saciedad, etc.

También se han descrito otros ritmos con frecuencias bajas, incluyendo la variación en el estado de ánimo en ciertos pacientes maniaco-depresivo (cronopsiquiatría). Estos ritmos de larga duración en el humor parecen tener un periodo de aproximadamente un año (circannual); lo anterior se refleja en una mayor incidencia de suicidios de los pacientes deprimidos al final de la primavera.

**La cronofarmacología.** Con fundamento en los diferentes aspectos cronobiológicos mencionados, podemos afirmar que si las diferentes funciones bioquímicas, metabólicas, fisiológicas y conductuales están variando rítmicamente en función del tiempo, se deduce que el organismo es una entidad, desde el punto de vista cuantitativo, diferente en las distintas fases de un determinado ciclo, por lo que no debe sorprendernos que si a un individuo se le administra un fármaco o está expuesto a un tóxico en una hora determinada, la respuesta puede ser diferente de aquella que produce el mismo fármaco, al mismo nivel de dosis, administrado durante otra hora del día o época del año. En relación a las variaciones temporales de la respuesta del enfermo a un medicamento, existe suficiente evidencia que señala que la respuesta del individuo puede ser diferente en magnitud o intensidad, dependiendo de la hora del día o época del año en que se aplique un medicamento. El punto de partida de la

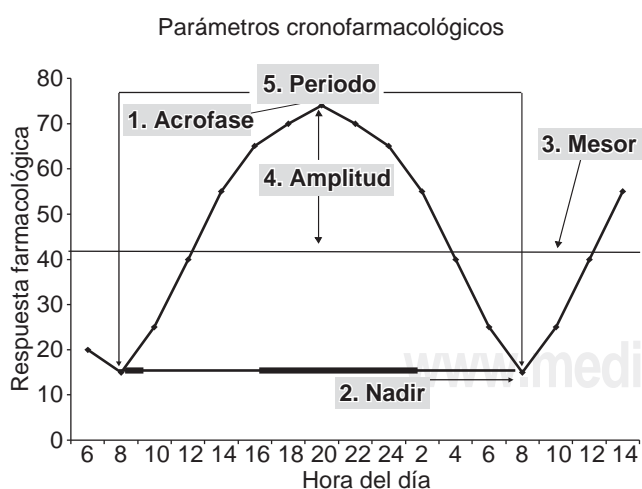
cronofarmacología lo constituyeron los trabajos realizados por Halberg, Sheving, Pauly y Mayersbach. Dichos autores demostraron que el efecto de varios medicamentos varía dependiendo de la hora en que son administrados. En esos mismos estudios también informaron que la hora del día en que se administra un fármaco, puede cambiar las características de los ritmos; los estudios de estos autores fueron confirmados plenamente por otros investigadores, lo que dio lugar al estudio formal de la cronofarmacología enriquecida por las aportaciones de numerosos autores.

### Caracterización de los parámetros de un ritmo cronofarmacológico

Para el estudio de la variación temporal rítmica de un fenómeno se requiere que el cambio cíclico que se observa sea medible, de tal manera que muestreando la variable de interés a intervalos de tiempo fijos, se obtiene una secuencia de eventos denominada serie de tiempo, la que debe de cubrir por lo menos dos ciclos.

A la serie de tiempo se le trata de ajustar a una función sinusoidal con el objeto de caracterizar el ritmo biológico y expresar en términos cuantitativos los parámetros que definen la periodicidad del fenómeno. A continuación se presentan brevemente los parámetros más comunes de un ritmo biológico, incluyendo los cronofarmacológicos.

Periodo ( $\zeta$ ): también llamado longitud del ciclo, es la duración de un ciclo completo, es decir, el intervalo de tiempo entre dos puntos de referencia idénticos. Este parámetro comúnmente se expresa en unidades de tiempo (segundos, minutos, horas, días, meses o años) (figura 1).



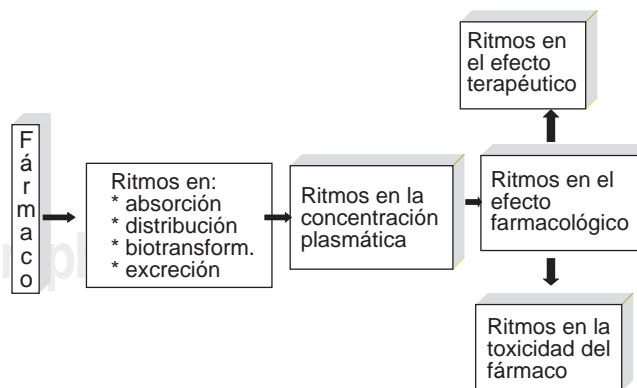
**Figura 1.** Parámetros característicos de un ritmo cronofarmacológico

Acrofase ( $\theta$ ): corresponde a la hora del día en que la variable estudiada adopta el valor más alto (figura 1).

Nadir ( $N$ ): hace referencia a la hora del día en que la variable estudiada adopta el valor más bajo (figura 1).

Amplitud ( $A$ ): representa la mitad de la diferencia entre el valor más alto y el más bajo de la variable analizada (figura 1).

Mesor ( $M$ ): se refiere a la media aritmética de todos los valores obtenidos de la variable medida durante un periodo. En la figura 1 se representan los parámetros más usuales de los ritmos cronobiológicos, incluyendo los ritmos cronofarmacológicos. El estudio sistematizado de la cronofarmacología ha permitido detectar cambios significativos en la sensibilidad de los organismos a numerosos fármacos depresores del sistema nervioso central (SNC) como los barbitúricos y ansiolíticos-sedantes-hipnóticos como las benzodiazepinas, así como de antidepresivos, de diversos medicamentos analgésicos-antipiréticos y antiinflamatorios (AINES) del tipo de la aspirina, de varios derivados del ácido fenilpropiónico como el naproxen y el ibuprofen o AINES indólicos como la indometacina y de antiinflamatorios esteroideos, así como de numerosos analgésicos del grupo de los opioides; de diversos antibióticos, numerosos antihipertensivos pertenecientes a diferentes grupos como los bloqueadores alfa y beta-adrenérgicos (prazosin y propranolol o metoprolol, respectivamente), de los inhibidores del canal de calcio como la nifedipina o de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) como el captopril y el enalapril; también existe información del perfil cronofarmacológico de los diuréticos como la furosemida o la clorotiazida; de los agonistas beta-adrenérgicos como el salbutamol y la isoprenalina de utilidad en el manejo del asma o de antihistamínicos tipo uno como la difenhidramina o la clorfeniramina.



**Figura 2.** Ritmos de los procesos de absorción, distribución, biotransformación y excreción de los fármacos (cronofarmacocinética) que producen ritmos en el efecto farmacológico terapéutico (cronoterapéutica) y el tóxico (cronotoxicología).

**Cuadro 1.** Características de los ritmos biológicos.

- Son de naturaleza endógena
- Están determinados genéticamente
- Persisten en condiciones constantes
- Pueden ser influenciados por factores ambientales
- La ritmicidad es característica de cada especie
- Cada sistema biológico posee varios osciladores
- Pueden estar acoplados y jerarquizados
- Su existencia se considera requisito de salud

mina; de anestésicos locales y generales y de antineoplásicos e inmunosupresores.

**La cronotoxicología.** Por otra parte, el enfoque toxicológico (cronotoxicología) de la cronofarmacología se dio también a partir de los trabajos realizados por Halberg y cols. Esta área se puede definir como el estudio de la influencia del tiempo sobre los efectos tóxicos provocados por los medicamentos y otros xenobióticos; se puede afirmar que en esencia el estudio de la cronotoxicología se rige por los mismos principios de cómo se aborda el estudio de la cronofarmacología. Estos autores comunicaron la existencia de variaciones temporales significativas en la sensibilidad a los efectos tóxicos de la endotoxina de *Escherichia coli* en el ratón; en este sentido se demostró que los roedores son más susceptibles en las últimas horas del periodo luminoso y muestran una menor susceptibilidad durante el periodo de oscuridad. Un fenómeno similar se encontró para la sensibilidad al efecto tóxico de la ouabaina, inotrópico positivo de utilidad en el manejo de la insuficiencia cardiaca congestiva. A partir de estas comunicaciones, la evidencia de los perfiles cronotoxicológicos se ha ampliado para numerosas sustancias como los antibióticos, los analgésicos opioides y no opioides, los depresores del SNC, diuréticos, inhibidores de la ECA, insecticidas, antineoplásicos, inmunosupresores, etc.

**La cronofarmacocinética.** Se refiere a la variación temporal de los procesos farmacocinéticos como la absorción, la distribución, el metabolismo o biotransformación y la excreción de los medicamentos (sistema ADME), fluctuación de los procesos que de manera aislada o en su conjunto, pueden determinar variaciones temporales armónicas en los parámetros farmacocinéticos, como en la concentración máxima ( $C_{max}$ ), el tiempo de concentración máxima ( $t_{max}$ ) y el área bajo la curva tiempo-concentración (ABC), por lo tanto en la biodisponibilidad (F), en el volumen de distribución (Vd), en el tiempo de vida media biológica ( $t_{1/2}$ ), en la constante de eliminación (Ke), en la depuración hepática ( $CL_H$ ), renal ( $CL_R$ ), digestiva ( $CL_D$ ) o en la depuración total ( $CL_T$ ). La cronofarmacocinética plantea que la evolución temporal de las concentraciones plasmáticas, tisulares y en excretas de un fármaco y/o sus metabolitos serán diferentes

dependiendo de la hora del día o época del año en que dicho fármaco se administra y por lo tanto la relación concentración-efecto determinará cambios en la magnitud o intensidad del efecto farmacológico y/o tóxico. De lo anterior se desprende que no es lo más apropiado dar una dosificación constante a lo largo de las 24 horas para mantener concentraciones plasmáticas constantes.

En relación al proceso cinético de absorción de medicamentos ha sido demostrada la existencia de variaciones rítmicas diarias. Por ejemplo, el tiempo medio de absorción para algunas benzodiazepinas es de dos a tres veces mayor por la tarde, comparado con la mañana, en cambio se obtiene una mejor biodisponibilidad de la indometacina cuando el medicamento se administra en la mañana en relación a la biodisponibilidad obtenida en las últimas horas del día y durante la noche. Los factores que determinan esta variación en los procesos de absorción son complejos, ya que se ha informado de la existencia de ritmos circadianos en el pH gastrointestinal, en las secreciones digestivas y en el flujo sanguíneo intestinal, que pueden, aisladamente o en conjunto, influir en los procesos de absorción de medicamentos. También se ha documentado la existencia de variaciones circadianas en la permeabilidad de las membranas celulares, como lo indican estudios *in vitro* en glóbulos rojos aislados, en capilares cerebrales o *in vivo* sobre la permeabilidad de la barrera hematoencefálica.

En otros casos el fenómeno cronofarmacocinético puede estar ligado a variaciones temporales en la distribución de los medicamentos. Se han detectado ritmos circadianos en la producción hepática de albúmina, de glucoproteínas  $\alpha$ -1 y de otras proteínas plasmáticas con capacidad de fijar diversos medicamentos, así como de otras proteínas que participan en el transporte de hormonas, como la transcortina, que transporta el cortisol. Por ejemplo, la máxima unión de lidocaína, valproato, diazepam o carbamazepina a proteínas plasmáticas se manifiesta durante la fase de actividad (la noche en la rata, por la mañana en el hombre) hecho que resulta en un cambio de entre 10 y 30% en la cantidad de fármaco libre en función de la hora del día. En la mayoría de los humanos, las concentraciones plasmáticas de proteínas alcanzan su acrofase en la mañana y su nadir durante la noche. En relación al transporte hormonal, es de interés hacer notar que en el hombre los niveles de transcortina alcanzan su mínimo diario en la madrugada, en el momento en que el cortisol alcanza su máxima secreción.

Por otro lado, la tasa metabólica del hígado que contribuye a la biotransformación de numerosos medicamentos y xenobióticos, también presentan ritmos circadianos. Éstos se han demostrado en la actividad de enzimas que participan en los procesos metabólicos de fase I y fase II del hígado; también ocurren para el flujo hepático. Este último es fundamental para algunos fármacos como es el caso del pro-

pranolol, antagonista  $\beta$ -adrenérgico cuya depuración depende en gran medida del grado de circulación hepática.

Relacionado con la actividad circadiana de la capacidad metabólica del hígado se sabe que la duración del sueño inducido por el hexobarbital, es inversamente proporcional a la biotransformación de esta sustancia a nivel hepático.

De esta manera las variaciones circadianas en la biodisponibilidad de un medicamento pueden ser la consecuencia de la(s) vía(s) metabólica(s) que pueden estar más o menos activas, dependiendo de las fluctuaciones temporales de los sistemas enzimáticos biotransformadores. También diversas funciones renales presentan ritmos circadianos, tal es el caso de la filtración glomerular, la secreción tubular, la circulación renal, el pH urinario y la reabsorción tubular proximal y distal. Así, de manera práctica, puede afirmarse que la mayoría de las sustancias que se eliminan con la orina presentan un ritmo diario de concentración urinaria. El conocimiento oportuno de los ritmos de concentración urinaria de un medicamento y/o sus metabolitos es de importancia práctica en terapéutica. Un medicamento que tuviera como efecto no deseado el daño renal debe administrarse hacia el medio día, momento en que el flujo de orina es mayor y la concentración esperada del fármaco en la orina será, por ende, menor. Así mismo, la acidez de la orina muestra una variación circádica, siendo mayor durante la noche. Diversos fármacos de utilidad en la terapéutica son de naturaleza ácida o básica, y se excretan de manera diferente dependiendo de la hora del día; los medicamentos ácidos predominantemente se excretan durante el día, y los básicos predominantemente durante la noche.

**Cronofarmacodinamia.** Por otra parte, en ocasiones, las variaciones temporales en los niveles plasmáticos o en los parámetros farmacocinéticos de una sustancia no son suficientes para explicar los cambios temporales en la respuesta del individuo, de un órgano o de un tejido a un medicamento; lo que hace necesario interpretar las variaciones temporales de la respuesta a un fármaco en términos cronofarmacodinámicos, que se refiere a las variaciones temporales en la susceptibilidad de un organismo, ligadas al número o afinidad de receptores, de canales, transportadores o enzimas (blancos farmacológicos) en la(s) estructura(s) efectora(s) o a variaciones temporales rítmicas en las concentraciones de las sustancias endógenas (ligandos endógenos) con las que un fármaco interactúa, como las hormonas, los neurotransmisores, los mediadores, los moduladores o los segundos mensajeros, etc. Estas fluctuaciones temporales armónicas en la concentración de las sustancias endógenas, pueden ser la consecuencia de variaciones temporales en el contenido de enzimas sintetizadoras del compuesto o de variaciones temporales en la liberación o inactivación metabólica de tales moléculas.

Desde el punto de vista clínico la información sobre cronofarmacodinamia en el hombre está limitada a ciertos ór-

ganos y tejidos accesibles a la aplicación local de los medicamentos. Así se ha determinado que existen ritmos circadianos en la reactividad del músculo liso bronquial en respuesta a la acetilcolina, a los agonistas beta-adrenérgicos y a otros agentes aplicados en forma de aerosol; en la reacción eritematosa de la piel a la inyección intradérmica de histamina, o en la sensibilidad a las lesiones de la mucosa gástrica inducida por la ingestión de dosis moderadas de ácido acetilsalicílico, al respecto se sabe que existe mayor vulnerabilidad a la aspirina en la mañana que cuando el medicamento se administra en la noche.

Un aspecto importante es el hecho de que los parámetros de los ritmos circadianos de algunas variables específicas de un sistema biológico pueden ser alteradas en respuesta a un fármaco en particular, a un tiempo dado, como sucede con algunas benzodiazepinas como el triazolam.

Los elementos que permiten fundamentar la existencia del fenómeno cronofarmacodinámico se derivan del conocimiento de la existencia de ritmos circadianos, infradianos y estacionales de varios receptores a diferentes neurotransmisores, en diferentes órganos y en diversas especies biológicas, incluyendo el hombre. En todos los casos se ha reportado un ritmo circadiano para el número de receptores más que para diferencias en la afinidad de los sitios de unión para los neurotransmisores. Al respecto, se conocen las variaciones temporales circadianas para los receptores colinérgicos muscarínicos, los adrenérgicos, a benzodiazepinas, a opioides. También se han descrito variaciones circaestacionales en el contenido de algunos receptores. De igual manera se ha demostrado un fenómeno circadiano y de larga duración para numerosos neurotransmisores y hormonas y para las enzimas que participan en la biosíntesis de algunos neurotransmisores.

**Aplicación práctica de la cronofarmacología.** Finalmente, conviene señalar que el estudio de la cronofarmacología, como una rama de la cronobiología, puede ser abordada con diversos enfoques prácticos desde los centros hospitalarios a los laboratorios e incluso a nivel del consultorio ya que la versatilidad de la cronofarmacología permite diseñar y emplear modelos de estudio de sensibilidad temporal a un fármaco, considerando como criterio de respuesta tantas variables como efectos pueden inducir los medicamentos y que, además, son susceptibles de cuantificarse, incluso se puede estudiar la variación temporal en la concentración de numerosas sustancias endógenas que son modificadas por los fármacos de manera diferencial dependiendo de la hora del día; no obstante es importante destacar que independientemente de la estrategia clínica que se emplee para el estudio de la cronofarmacología, se requieren, quizá, más que para otros estudios, un control más estricto de las condiciones ambientales, particularmente cuando el fenómeno que se explora es proclive a cambios sutiles de los factores

ambientales como la iluminación, la temperatura o a factores sociales. Finalmente, con fundamento en los diversos aspectos revisados en el presente trabajo, se hace necesario reflexionar sobre el enfoque de la farmacología clásica que considera constante la respuesta del organismo, independiente del tiempo. El conocimiento del fenómeno cronofarmacológico señala que los esquemas tradicionales de administración de medicamentos a dosis fijas, deben ser reconsiderados, en un futuro, para adecuarlos a los perfiles cronofarmacológicos de los medicamentos. De lo anterior se desprende que el conocimiento de los ritmos cronofarmacológicos permite precisar las condiciones óptimas en el diseño de los esquemas de dosificación y el mejor momento de administración, lo que conducirá a un incremento de la eficacia terapéutica del tratamiento farmacológico, a reducir e incluso prevenir los efectos colaterales o tóxicos de los medicamentos, así como a comprender, en algunos casos, el fracaso de la farmacoterapia.

## Referencias

1. Auvil-Novak SE. The chronobiology, chronopharmacology, and chronotherapeutics of pain. *Annu Rev Nurs Res* 1999; 17: 133-53.
2. Aronson JK. Chronopharmacology: reflections on time and a new text. *Lancet* 1990; 335: 1515-16.
3. Barreca T et al. Diurnal beta endorphin changes in human cerebrospinal fluid. *Life Sci* 1986; 38: 2263-67.
4. Bjarnason GA. Chronobiology. Implications for cancer chemotherapy. *Acta Oncol* 1995; 34: 615-24.
5. Bruguerolle B, Grignon S. Chronopharmacology. *Pathol Biol (Paris)* 1996; 44(6): 547-54.
6. Clark TJH. Diurnal rhythm of asthma. *Chest* 1987; 91:1375-415.
7. Clench J, Reinberg A, Fiewanoska Z, Ghata J, Smolonsky M. Circadian changes in the bioavailability and effects of indomethacine in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; 20:359-62.
8. Can P. Chronopharmacology and antibiotic therapy. *J Antimicrob Chemother* 1979; 5: 118-19.
9. Campos AE, Lujan, M, López E, Figueroa, HJL, Rodríguez R. Circadian variation in the lethal effect of morphine in the mouse. *Proc West Pharmacol Soc* 1983; 26: 101-03.
10. Danel T, Touitou Y. Chronobiology of alcohol: from chronokinetics to alcohol-related alterations of the circadian system. *Chronobiol Int* 2004; 21(6): 923-35.
11. Devaney M, Graham D, Greeley J. Circadian variation of the acute and delayed response to alcohol: investigation of core body temperature variations in humans. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75: 881-87.
12. Gil AD et al. Diurnal rhythm of plasma beta endorphin, cortisol and growth hormone in schizophrenics as compared to control subjects. *Psychopharmacology* 1986; 88: 496-99.
13. Focan C. Chronobiological concepts underlying the chronotherapy of human lung cancer. *Chronobiol Int* 2002; 19(1): 253-73.
14. Frederickson R et al. Hyperalgesia induced by naloxone follows diurnal rhythm in responsivity to painful stimuli. *Science* 1977; 198:756-58.
15. Gautier L, Reinberg A, Mohashi Y. Circadian rhythms effects in total pulmonary resistance of asthmatic children, of  $\beta$ -agonist agent. *Chronobiol Int* 1988; 5: 285-90.
16. Gelfand EW. Inflammatory mediators in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: S135-S138.
17. Gourlalay GK, Plummer, JL, Cherry DA. Chronopharmacokinetic variability in plasma morphine concentrations following oral doses of morphine solution. *Pain* 1995; 61(3):375-81.
18. Gilles V et al. Chronopharmacology of high-dose busulfan in children. *Cancer Res* 1993; 53:1534-37.
19. Golombek DA, Cardinali DP. Cronobiología, las drogas y los tiempos. *Psiquis* 1993; 2(2): 38-46.
20. Goonaratna C. Biological clocks, zeitgebers and chronopharmacology. *Ceylon Med J* 1999; 44(2): 53-59.
21. Halberg F, Kabat, HF and Klein P. Chronopharmacology: A therapeutic frontier. *Am J Hosp Pharm* 1980; 37: 101-06.
22. Heins A, Euerle B. Application of chronobiology to resident physician work scheduling. *Ann Emerg Med* 2002; 39: 444-47.
23. Lemmer B. Clinical chronopharmacology of the cardiovascular system: hypertension and coronary heart disease. *Clin Ter* 2006; 157(1): 41-52.
24. Lemmer B. Chronopharmacology of hypertension. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 783: 242-53.
25. Moore JG, Goo, H. Day and night aspirin induced gastric mucosal damage and protection by ranitidine in man. *Chronobiol Int* 1987; 4: 111-16.
26. Monk TH, Welsh DK. The role of chronobiology in sleep disorders medicine. *Sleep Med Rev* 2003; 7: 455-73.
27. Morgan TO, Anderson A. Different drug classes have variable effects on blood pressure depending on the time of day. *Am J Hypertens* 2003; 16: 46-50.
28. Reinberg AE. Concepts in Chronopharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32: 51-66.
29. Reinberg AE. New concepts in Chronopharmacology. *News Physiol Sci* 1988; 3: 84-88.
30. Reinberg AE, Smolensky M, Labrecque, G. New aspects in Chronopharmacology. *Annu Rev Pharmacol* 1986; 2: 3-26.
31. Scheving LE. Chronobiology: A new perspective in pharmacology and chemotherapy. *TIPS* 1980; 1: 303.
32. Smaaland R, Laerum OD, Lote K, Sletvold O, Sothorn RB, Bjerknes R. DNA synthesis in human bone marrow is circadian stage dependent. *Blood* 1991; 77(12): 2603-11.
33. Smolensky MH, Portaluppi F. Chronopharmacology and chronotherapy of cardiovascular medications: relevance to prevention and treatment of coronary heart disease. *Am Heart J* 1999; 137: S14-S24.
34. White WB, LaRocca GM. Chronopharmacology of cardiovascular therapy. *Blood Press Monit* 2002; 7(4): 199-207.
35. Wirz-Justice A. Circadian rhythms in mammalian neurotransmitter receptors. *Prog Neurobiol* 1987; 29: 219-59.