



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES POR MEIO DE ESPECTROSCOPIA ATR-
FTIR EM TRABALHADORES EM TURNO E A SUA ASSOCIAÇÃO COM O
CRONOTIPO E DURAÇÃO DO SONO**

Aluno: Talles Fillipe Barcelos Vieira

Orientadora: Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia

**UBERLÂNDIA - MG
2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES POR MEIO DE ESPECTROSCOPIA ATR-
FTIR EM TRABALHADORES EM TURNO E A SUA ASSOCIAÇÃO COM O
CRONOTIPO E DURAÇÃO DO SONO**

Aluno: Talles Fillipe Barcelos Vieira

Orientador: Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Uberlândia como parte dos
requisitos para obtenção do
Título de Mestre em Genética e
Bioquímica (Área Genética)**

**UBERLÂNDIA - MG
2022**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

V658 2022	Vieira, Talles Fillipe Barcelos, 1998- AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES POR MEIO DE ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR EM TRABALHADORES DE TURNO E A SUA ASSOCIAÇÃO COM O CRONOTIPO E DURAÇÃO DO SONO [recurso eletrônico] / Talles Fillipe Barcelos Vieira. - 2022. Orientadora: Yara Cristina de Paiva Maia. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Genética e Bioquímica. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.226 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Genética. I. Maia, Yara Cristina de Paiva, 1975-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós- graduação em Genética e Bioquímica. III. Título. CDU: 575
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica
 Av. Pará 1720, Bloco 2E, Sala 244 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: +55 (34) 3225-8438 - www.ppggb.ibtec.ufu.br - ppggb@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Genética e Bioquímica				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico/PPGGB.				
Data:	Trinta de maio de dois mil e vinte e dois.	Hora de início:	15:50h	Hora de encerramento:	16:20
Matrícula do Discente:	11922GBI013				
Nome do Discente:	Talles Fillipe Barcelos Vieira				
Título do Trabalho:	Avaliação de biomarcadores por meio de espectroscopia ATR-FTIR em trabalhadores em turno e a sua associação com o cronotipo e duração do sono.				
Área de concentração:	Genética				
Linha de pesquisa:	Biologia Molecular e Celular.				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Biomarcadores para o prognóstico e efetividade do tratamento do câncer de mama: Isolamento de células tumorais circulantes e caracterização de marcadores de transição epitélio-mesenquima (EMT).				

Aos trinta dias do mês de maio de dois mil e vinte e dois, às 15:50 horas, reuniu-se via web conferência pela plataforma *Cisco Webex*, pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica, assim composta: Professores Doutores: Yara Cristina de Paiva Maia (Orientador), Laura Cristina Tibiletti Balieiro e Tafarel Andrade de Souza. A participação dos dois últimos se deu por epístola. Iniciando os trabalhos o (a) presidente Dr (a). Yara Cristina de Paiva Maia apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença dos participantes, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir o senhor(a) presidente procedeu a leitura das epístolas enviadas pelos membros da banca. Em seguida os membros presentes, passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a leitura das epístolas e a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

(A) PROVADO.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **Yara Cristina de Paiva Maia, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/05/2022, às 16:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º,



§ 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Laura Cristina Tibiletti Balieiro, Usuário Externo**, em 30/05/2022, às 16:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Tafarel Andrade de Souza, Usuário Externo**, em 30/05/2022, às 16:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3563775** e o código CRC **9B947096**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES POR MEIO DE ESPECTROSCOPIA ATR-
FTIR EM TRABALHADORES EM TURNO E A SUA ASSOCIAÇÃO COM O
CRONOTIPO E DURAÇÃO DO SONO**

ALUNO: Talles Fillipe Barcelos Vieira

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia (Orientador)

Examinadores: Profa. Dra. Laura Cristina Tibiletti Balieiro (Membro externo)

Dr. Tafarel Andrade de Souza (Membro interno)

Dra. Cristiana Araújo Gontijo (Suplente membro externo)

Profa. Dra. Vivian Alonso Goulart (Suplente membro interno)

Data da Defesa: 30 /05 /2022

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do PGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas

Profa. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia

À minha família, que sempre me apoia e me incentiva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a professora Dra. Yara Cristina de Paiva Maia pela orientação, pelos excelentes ensinamentos, pelos conselhos, pelas ideias e por todo apoio, possibilitando o desenvolvimento desta dissertação.

Agradeço à doutoranda Izabella Cristina Costa Ferreira pelo incentivo, pela paciência e por todo conhecimento e experiências compartilhadas.

Agradeço à Dra. Alinne Tatiane Faria Silva, do laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, por todo auxílio prestado durante a realização das análises, sempre com muita paciência, conhecimento e dedicação.

Agradeço à professora Dra. Cibele Aparecida Crispim pela paciência e pelos ensinamentos indispensáveis para o desenvolvimento desta dissertação.

Agradeço a todos os professores do Instituto de Biotecnologia, por todos os conhecimentos compartilhados, que certamente contribuíram para o meu desenvolvimento acadêmico-profissional.

Agradeço à Dra. Kely Raspante Teixeira pela confiança em mim depositada.

Agradeço aos pesquisadores do Grupo de Pesquisa em Biologia Molecular e Nutrição (BioNut) e ao Grupo de Pesquisa em Crononutrição (CroNutri) pelos conhecimentos compartilhados e pelo aprendizado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica e à CAPES, pelo ensino de excelência e pela concessão da bolsa que viabilizou a realização do curso com dedicação exclusiva.

Agradeço ainda, à minha família, amigos e todos que de alguma forma estiveram comigo durante esse trajeto.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	12
CAPÍTULO I.....	13
1Trabalhos em turnos.....	14
1.1 Organização do regime de turnos.....	15
2 Cronobiologia.....	16
2.1 Ciclo circadiano.....	17
2.2 Cronotipo.....	19
2.3 Relação entre cronotipo e trabalho em turnos.....	21
3 Desregulação do ciclo circadiano.....	21
3.1 Consequências da ruptura circadiana em trabalhadores em turnos.....	23
4 Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	24
5 Objetivos.....	29
5.1 Objetivo geral.....	29
5.2 Objetivos específicos.....	29
6 Referências.....	30
7 CAPÍTULO II – ARTIGO: The ATR-FTIR infrared spectrum of shift workers and its relationship with chronotype and sleep duration.....	40
Abstract.....	41
Introduction.....	42
Methods.....	43
Results.....	46
Discussion.....	50
References.....	52
ANEXO I – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	58

APRESENTAÇÃO

Para atender as demandas da sociedade contemporânea, empregos em regime de turnos tem se tornado cada vez mais comuns, a fim de prolongar o período laboral para 24 horas ininterruptas. Essa modalidade de trabalho é baseada na sucessão de trabalhadores e pode ser organizada de diferentes maneiras, criando turnos em horários não convencionais e fora do comercial, como o turno noturno. No Brasil, atualmente cerca de 14% da força de trabalho advém de empregos em turnos irregulares, que acontecem em diversas indústrias de serviços, e, portanto, não se restringe mais aos trabalhadores da área da saúde. Essa crescente demanda por funcionários disponíveis 24 horas por dia causa alterações no ciclo social e biológico dos trabalhadores, podendo acarretar uma ruptura circadiana, e isso é refletido na qualidade de vida dos mesmos, que são associados à uma série de problemas físicos e psicológicos, como obesidade, problemas cardiovasculares, distúrbios do sono, fadiga, depressão, ansiedade, dentre vários outros. Portanto, trabalhos em turnos frequentemente dificultam a manutenção da regularidade de ciclos temporais, essenciais para o funcionamento adequado do organismo. É importante ressaltar ainda, que devido à variabilidade cronobiológica, cada indivíduo é impactado de maneira diferente, o que ressalta a necessidade de compreender os impactos trazidos pelo regime de turnos e desenvolver estratégias para monitorar a saúde dos trabalhadores submetidos a este regime. Neste cenário, a espectroscopia por transformada de Fourier (FTIR), que é uma metodologia baseada na interação entre a radiação infravermelha e um material, sólido ou líquido, sem a necessidade de reagentes químicos, e que fornece informações precisas referente a composição molecular da amostra, além de ser uma metodologia relativamente barata e rápida, destaca-se pela sua alta sensibilidade e especificidade, que permite detectar alterações à nível molecular, possibilitando muitas vezes diagnósticos precoces. Desta forma, o espectro infravermelho de trabalhadores em turnos, fornecido pelo FTIR, pode contribuir para o entendimento da influência dos turnos sob diferentes indivíduos, além de trazer indícios de futuros problemas metabólicos, colocando o FTIR como uma potencial ferramenta para acompanhamento destes trabalhadores.

Resumo

A demanda por trabalhadores disponíveis 24 horas por dia pode causar alterações no padrão de sono e dessincronia circadiana, o que tem sido relacionado ao desenvolvimento de várias doenças metabólicas. Neste cenário, a espectroscopia ATR-FTIR pode ser uma potencial ferramenta para detectar evidências iniciais, como alterações moleculares à nível espectral, de futuros desfechos metabólicos. O objetivo deste estudo foi investigar o espectro infravermelho do soro de trabalhadores em turnos, com o intuito de identificar números de onda capazes de diferenciar trabalhadores diurnos de noturnos, e verificar as associações entre estas regiões espectrais e o cronotipo e duração de sono dos trabalhadores. O presente estudo foi realizado com 38 trabalhadores do sexo masculino, dos quais 19 trabalhavam em turno diurno e 19 em turno noturno. Os números de onda 1522 cm^{-1} , 1636 cm^{-1} , relacionados a proteínas, e as bandas 2871 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2955 cm^{-1} , associadas à lipídios, diferiram significativamente trabalhadores diurnos de noturnos e apresentaram sempre mais absorbância no soro dos trabalhadores noturnos. O GLZM foi utilizado para identificar interações entre estes números de onda, cronotipo e duração do sono, e demonstrou que trabalhadores diurnos com tendência a vespertinidade foram associados à um aumento de absorbância nas regiões de lipídeos, enquanto nenhuma interação com duração do sono foi observada. Portanto, nossos resultados demonstram que o turno noturno e o cronotipo podem estar relacionados à valores de absorbância mais elevados nas regiões de lipídios e proteínas. Nós concluímos que o ATR-FTIR pode ser útil para monitorar a saúde de trabalhadores em turnos.

Palavras chave: Trabalho em turno; Cronotipo; Sono; ATR-FTIR.

Abstract

The demand for employees available 24/7 can cause circadian misalignment and sleep deprivation, which has been linked to the development of metabolic diseases. In this scenario, ATR-FTIR spectroscopy might be a potential tool for detecting initial evidence, such as molecular spectrum alterations, of future metabolic outcomes. The aim of this study was to investigate the ATR-FTIR infrared spectrum of shift workers' serum in order to identify wavenumbers capable of differentiating day and night workers, and verify the associations between these regions and workers' chronotype and sleep duration. This study was performed with 38 male workers of which 19 worked the night shift and 19 worked the day shift. The wavenumbers 1522 cm^{-1} , 1636 cm^{-1} , related to proteins, and the bands 2871 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2955 cm^{-1} , associated to lipids, significantly differed day from night workers and showed higher absorption in night workers' serum. The Generalized Linear Model (GLZM) was used to identify interactions between theses wavenumbers, chronotype and sleep duration, showing that day workers with evening tendency were associated to an increase in the bands related to lipids, while no interaction with workers's sleep duration was found. Therefore, our result demonstrates that night shift and chronotype might be related to higher absorbance in spectral regions related to lipids and proteins. We concluded that the ATR-FTIR seems to be useful monitoring shift workers' health.

Key words: Shift work; Chronotype; Sleep; ATR-FTIR.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Capítulo I

ATR: Refletância total atenuada

FIR: Infravermelho distante (em relação ao espectro visível)

FTIR: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

IV: Infravermelho

MIR: Infravermelho médio (em relação ao espectro visível)

NIR: Infravermelho próximo (em relação ao espectro visível)

NSQ: Núcleo supraquiasmático

Capítulo II

ATR: Attenuated Total Reflectance

BMI: Body Mass Index

FTIR: Fourier transform infrared

GLzM: Generalized Linear Model

IR: Infrared

MSFsc: Mid-sleep on free days, corrected for sleep debt

MSFscE: Mid-sleep on free days, following an evening shift, corrected for sleep debt

v: Stretching

as: Asymmetric

Capítulo I – Fundamentação teórica

1 Trabalhos em turnos

Trabalhos em turnos podem ser definidos como uma organização temporal do trabalho, em que diferentes indivíduos trabalham em sucessão (STEVENSON et al., 2011). Essa modalidade de trabalho existe desde os primórdios da sociedade, tendo ganhado mais força por volta da Idade Média e após a revolução industrial, e devido aos recentes avanços tecnológicos e econômicos está se tornando cada vez mais comum (SIMÕES, MARQUES, ROCHA, 2010; MORENO; FISCHER; ROTENBERG, 2003). Em linhas gerais, as categorias que desempenham as suas funções em regime de turnos há mais tempo são formadas por profissionais como médicos e enfermeiros (MENDES; MARTINO, 2012).

Empregos em turnos irregulares somam aproximadamente 20% do total de empregos ativos nos Estados Unidos e cerca de 7,8% no Brasil (STEVENSON et al., 2011; BRASIL, 2016; IARC, 2020). A tendência é que ocorra um constante aumento no número de empregos em períodos irregulares nos países industrializados, uma vez que em muitos casos, esse fato permite o prolongamento do período laboral, o que acarreta consequentemente um aumento considerável dos ganhos econômicos em diversos setores (MORENO; FISCHER; ROTENBERG, et al., 2003). Desta forma, trabalhos em turnos não estão mais restritos apenas aos serviços de saúde e atualmente estão presentes em várias indústrias de serviços (BORGES; MACEDO; MESQUITA, 2019; ATKINSON et al., 2008; MORENO; FISCHER; ROTENBERG, 2003).

Sabe-se que o fornecimento de assistência médica nos períodos noturnos, fins de semana e feriados é indispensável. Porém, devido à intensa industrialização, o mesmo se aplica para qualquer indústria de produção cujo processo produtivo deva ser ininterrupto, por motivos tecnológicos, econômicos ou de mercado. Nesse cenário, o regime de turnos pode atingir uma gama de trabalhadores diferentes, desde profissionais da saúde, operadores de máquinas, vigilantes, caminhoneiros e várias outras profissões (SANTOS; INOCENTE, 2006; RUTENFRANZ et al., 1989).

Essa demanda por funcionários disponíveis 24 horas por dia causa alterações no ciclo social e biológico dos trabalhadores e é refletido na qualidade de vida dos mesmos, uma vez que, em alguns casos, dificultam a manutenção da regularidade de ciclos temporais, essenciais para o funcionamento adequado do organismo

(VETTER et al., 2016; POTTER et al., 2016). Muitas vezes, os trabalhadores em turnos são forçados a alterar seus horários de lazer, de sono, de alimentação e vários outros, o que pode contribuir para, ou acelerar o surgimento e progressão de desordens físicas ou bioquímicas, cansaço e até mesmo envelhecimento (SIMÕES; MARQUES; ROCHA, 2003). A literatura mostra que trabalhadores submetidos à sistemas de turnos são constantemente associados à vários problemas de saúde física e psicológica, como obesidade (ATKINSON et al., 2008), problemas cardiovasculares (TORQUATI et al., 2018), distúrbios do sono, fadiga, depressão, ansiedade (ANGERER et al., 2017), dentre vários outros, ressaltando a relevância da manutenção dos ritmos temporais naturais do organismo, tanto para o bem-estar do indivíduo, como para um melhor desempenho no ambiente de trabalho (COSTA, 1996).

1.1 Organização do regime de turnos

Este regime de trabalho é, em geral, organizado em dois ou mais turnos, que diferem entre si pelos horários de início e término (SALLINEN; KECKLUND, 2010; COSTA 1997). A duração do período laboral é um parâmetro que pode influenciar diretamente a organização dos turnos de trabalho, uma vez que pode variar entre 6, 8, 9 e até mesmo 12 horas (DONALDSON et al., 2021). Neste contexto, os turnos são definidos, com mais frequência, em matutinos, vespertinos e noturnos, porém, existem variações com apenas dois e até quatro turnos em um período de 24 horas (DONALDSON et al., 2021; KNAUT, 1996).

Os turnos podem acontecer em diferentes configurações. Segundo Knaut (1996) e Scott e Ladou (1994), esse regime de trabalho pode ser classificado em fixo, quando os indivíduos trabalham sempre no mesmo horário (sempre pela manhã, por exemplo), ou rotativo, caracterizado pela alteração dos horários de trabalho, ou seja, os trabalhadores devem cumprir diferentes turnos, seguindo uma agenda predeterminada. Existem ainda algumas configurações menos frequentes, como turnos interrompidos, alternativos e substitutivos (SCOTT; LADOU, 1994).

Devido a essa irregularidade e inconstância dos horários de trabalhadores submetidos a regimes de turnos, o organismo é constantemente exposto a diferentes estímulos em momentos não convencionais. Tal situação gera um desequilíbrio biológico-temporal que obriga os organismos a constantes esforços

de adaptação, responsáveis por alterações fisiológicas e psicológicas que podem ser explicadas pela cronobiologia (McDONALD et al., 2013; SIMÕES; MARQUES, ROCHA, 2010).

2 Cronobiologia

A cronobiologia é o ramo da biologia que estuda os ritmos temporais respeitados pelos organismos vivos e a relação destes com o meio (ALMONDES, 2006; ARAUJO; MARQUES, 2002). A oscilação entre dia e noite e mudanças de estações funcionam como ciclos e impactam diretamente a vida na Terra, que tende a oscilar em função do tempo, dando origem aos ritmos biológicos, como o ciclo circadiano (RIETVELD, 1990). Durante muitos anos, essa ciência, que busca compreender as reações biológicas à diferentes estímulos e variações ambientais, esteve restrita apenas ao estudo de plantas (MARQUES; MENNA-BARRETO, 1999; RIETVELD, 1990).

A história da cronobiologia data do início do século XVIII, quando o astrônomo francês Jean-Jacques de Mairan observou que a periodicidade dos movimentos de abertura e fechamento das folhas de uma determinada espécie de planta, acontecia em sincronia com o ciclo claro-escuro, ou seja, com a sucessão entre dias e noites (JANSEN, et al., 2007; MENNA-BARRETO; MARQUES, 2002). A fim de investigar o fenômeno, Mairan colocou um exemplar da planta em um ambiente vedado contra qualquer tipo de luz, para interromper o ciclo. Como resultado, mesmo na ausência de sinais que sugerissem os momentos do dia, observou-se que a periodicidade dos movimentos era mantida (JANSEN, et al., 2007).

Após anos do experimento conduzido por Mairan, em 1832, De Candolle demonstrou que os movimentos da planta, quando isolada de estímulos ambientais, seguiam um ciclo de 22 a 23 horas, e quando exposta ao meio, eram forçados a um ciclo de 24 horas. Portanto, essa evidência mostra que existe interação entre fatores próprios do organismo, no caso a planta, e fatores ambientais (JANSEN, et al., 2007). Desta forma, os ciclos temporais são formados pela combinação das oscilações da natureza – dia, noite e estações do ano – com ciclos de caráter endógeno (ALMONDES, 2006).

Exemplos de animais que seguem ritmos temporais também foram apontados através do tempo, como os animais diurnos e noturnos, que são ativos durante o

dia e noite respectivamente, e algumas aves, que em busca de temperaturas mais favoráveis, migram seguindo as estações do ano, o que intensificou ainda mais o desenvolvimento da cronobiologia enquanto ciência (RIETVELD, 1990). Na medicina, as primeiras manifestações da cronobiologia surgiram a partir de um estudo francês que acompanhou as variações de temperatura em pessoas saudáveis e doentes em função do tempo (JANSEN, et al., 2007).

Nessa área de estudo, a organização temporal dos organismos é dividida em interna e externa (MOORE-EDE; SULZMAN; FULLER, 1982). A organização interna refere-se a ordem dos processos endógenos, como secreção hormonal, pressão arterial, frequência cardíaca, temperatura corporal, entre outros, que acontecem ao longo do dia; já a organização externa diz respeito a relação entre os processos fisiológicos de um organismo e os eventos ambientais que podem influenciá-los (MENNA-BARRETO; MARQUES, 2002).

2.1 Ciclo circadiano

As oscilações fisiológicas e comportamentais de um organismo são baseadas em processos rítmicos endógenos, que acontecem em todos os níveis organizacionais - desde uma única célula até um complexo conjunto delas - de maneira cíclica e sem influência do meio, como um relógio biológico (ASCHOFF; POHL, 1978; MARTINS; GOMES, 2010). Todavia, como os organismos não vivem isolados do meio, os ritmos em questão podem sofrer interferências externas, advindas de variações sociais, ambientais ou temporais, como o ciclo claro-escuro (ALMONDES, 2006; ARAUJO; MARQUES, 2002).

O ciclo circadiano é o ritmo biológico que recebe mais destaque na cronobiologia, uma vez que se caracteriza por eventos cíclicos que acontecem em períodos de aproximadamente 24 horas, como dormir e acordar, e, portanto, são mais perceptíveis, frequentes e definidos (MARTÍNEZ-CARPIO; VILARDELL; MIQUEL, 2004). Tais eventos podem ser bioquímicos, fisiológicos ou comportamentais e respeitam um sistema de temporização circadiano, que funciona como um preditor de alterações ambientais, que então acarretam respostas moleculares que manterão a ritmicidade circadiana (Figura 1) (ARAUJO; MARQUES, 2002).

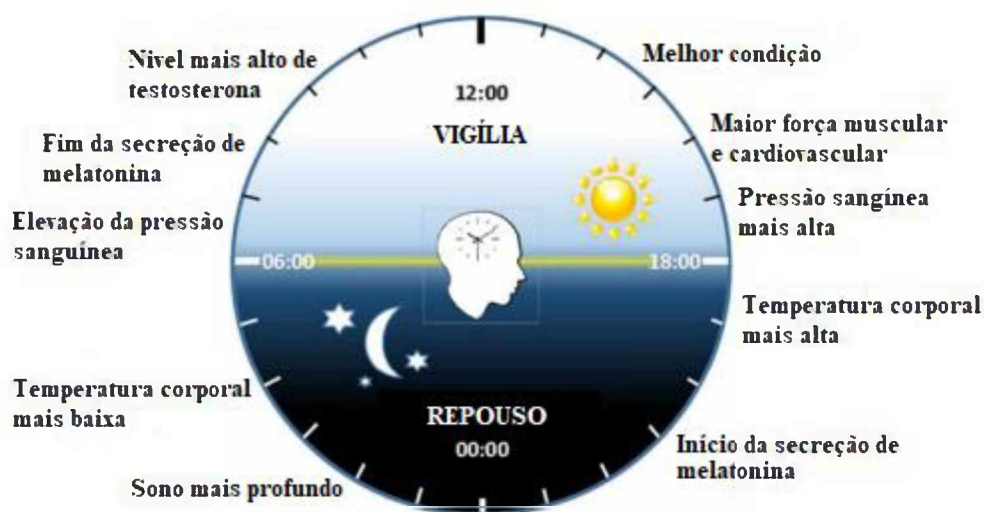


Figura 1: Ciclo circadiano humano (Traduzido e adaptado de Patterson, 2015).

O núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado no hipotálamo, é uma estrutura muito importante para a temporização circadiana, devido à sua capacidade de detecção de luz, a qual é entendida como um marcador temporal que consequentemente afeta e regula processos biológicos no organismo durante períodos de 24 horas. O NSQ é tido como o relógio biológico central, já que este pode influenciar na sincronização de relógios periféricos, presentes em diferentes órgãos, como músculo esquelético, pâncreas, fígado, intestino e tecido adiposo (POGGIOGALLE; JAMSHED; PETERSON, 2018; YAMAZAKI et al., 2000; YOO et al., 2004). Estes relógios periféricos recebem estímulos de diferentes fontes, além do NSQ, como atividade física, alimentação e temperatura corporal, demonstrando que a temporização circadiana pode ser influenciada por uma série de fatores e não apenas pelo ciclo claro-escuro (Figura 2) (GOEDE et al., 2018). Diante do exposto, é possível afirmar que o ciclo circadiano se trata de uma sincronização entre eventos endógenos e as variações ambientais, sociais e temporais no decorrer de um dia e uma noite (MARTÍNEZ-CARPIO; VILARDELL; MIQUEL, 2004).

É interessante ressaltar ainda a relação entre o ciclo circadiano e o processo evolutivo, já que a sincronização permitiu a adaptação à oscilação de luz, temperatura e segurança, de modo que os eventos biológicos tendem a acontecer nos momentos mais propícios (REMI, 2015). As variáveis ambientais, inclusive

sociais, como horários de trabalho, por exemplo, conseguem alterar o padrão circadiano, o que destaca a individualidade do ciclo (ARAUJO; MARQUES, 2002).

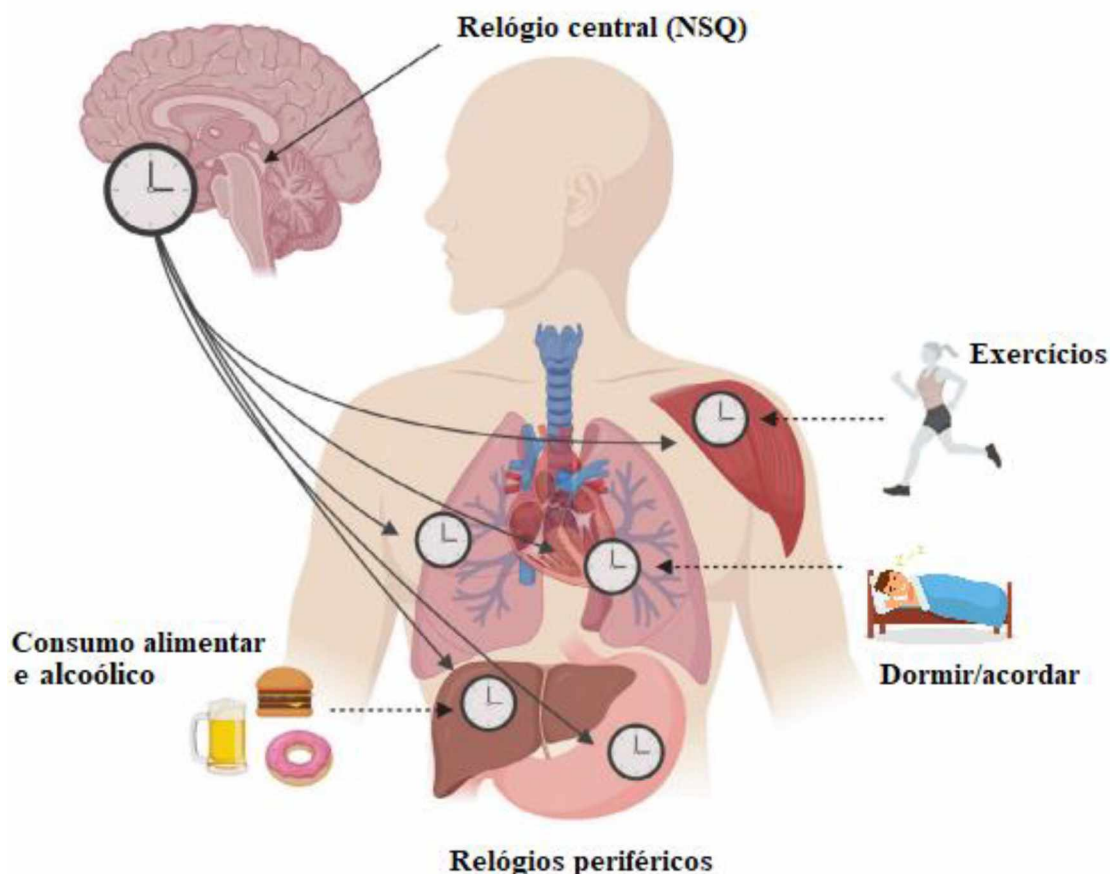


Figura 2: Sincronização circadiana envolvendo os relógios central e periféricos. NSQ: Núcleo supraquiasmático. (Traduzido e adaptado de Greco; Sassone-corsi, 2020).

2.2 Cronotipo

O cronotipo é a expressão do ciclo circadiano em um indivíduo e permite entender a organização temporal que influencia processos sociais e biológicos em cada organismo (VITALE; WEYDAHL, 2017; LEVANDOVSKI; SASSO; HIDALGO, 2013; ROENNEBERG; MERROW, 2003). Em outras palavras, é a reflexão das preferências diurnas individuais, considerando comportamentos e predileções relacionadas ao sono e a realização de atividades, como trabalho, exercícios e alimentação, por exemplo (BAUDUCCO; RICHARDSON; GRADISAR, 2019; SIMPKIN, et al., 2014).

O momento ideal para realização de atividades diurnas é o período do dia em que o indivíduo consegue melhores resultados em suas performances, e difere de

organismo para organismo, de acordo com o cronotipo, regulado pelo relógio biológico (PÉREZ, et al., 2020; WITTMANN, et al., 2006). O ciclo dormir-acordar e a qualidade de sono são fatores essenciais para determinação do cronotipo e consequentemente dos momentos ideais, uma vez que os períodos de descanso influenciam diretamente nos momentos de vigília do indivíduo (SAALWIRTH; LEIPOLD, 2021; KERVEZEE, et al., 2021; ROENNEBERG, et al., 2019; RIQUE, et al., 2014).

O cronotipo é, em geral, calculado e definido por meio de questionários, como os questionários de Horne e Ostberg, e de Munique (BAUDUCCO; RICHARDSON; GRADISAR, 2019), compostos por perguntas que buscam entender as preferências matutinas ou noturnas para realização de atividades e descanso, ou avaliar o tempo de sono em dias de trabalho e dias livres. Neste último caso, informações sobre os horários de início do sono e despertar espontâneo são importantes para a determinação do ponto médio do sono em dias livres, que está intimamente relacionado ao tipo de cronotipo e consequentemente às preferências diurnas (TEIXEIRA, et al., 2019; LEVANDOVSKI; SASSO; HIDALGO, 2013).

Na perspectiva do cronotipo, os indivíduos podem apresentar tendência à matutividade, quando preferem dormir e acordar cedo e realizar suas atividades pela manhã, ou tendência à vespertividade, quando relatam dificuldade para dormir e despertar cedo e preferem realizar suas atividades durante a tarde e início de noite (SIMOR; POLNER, 2016; MARTINO, et al., 2013). Além disso, indivíduos cujas preferências variam entre os cronotipos matutino e vespertino, são classificadas como intermediárias, e, portanto, são mais flexíveis (ROSA, et al., 2021; BARCLAY; MYACHYKOV, 2016). Destaca-se ainda que estes padrões também podem variar de acordo com fatores externos, sociais e biológicos, isto é, dormir as 23:30, por exemplo, está associada a tendência à vespertividade em adultos entre 40 e 50 anos de idade, enquanto o mesmo horário pode estar associado à matutividade em população mais jovem (LEVANDOSVSKI; SASSO; HIDALGO, 2013).

Além da evidente relação com o padrão de sono, o cronotipo influencia uma série de fatores fisiológicos de ritmicidade endógena, como temperatura, melatonina e cortisol (RANDLER; SCHAAL, 2010; BAILEY; HEITKEMPER, 2001). Desta forma, a perturbação da dinâmica de horários de dormir e acordar destaca-

se como um fator de risco para o desenvolvimento de distúrbios rítmicos e metabólicos (ROENNENBER, et al., 2015; WONG, et al., 2015).

2.3 Relação entre cronotipo e trabalho em turno

Sabendo que o cronotipo (tendência à matutuidade ou vespertuidade) de cada indivíduo é refletido em seu padrão de sono e funcionamento fisiológico, pode-se inferir que o estabelecimento de horários não convencionais pode alterar o correto funcionamento do organismo. A partir do exposto, quando um indivíduo com alta tendência à vespertuidade, que naturalmente prefere dormir e acordar tarde, é forçado a acordar cedo frequentemente, por exemplo, seu organismo vivenciará um estado de constante estresse, cansaço e perturbação do sono, impactando diretamente seu ciclo circadiano (HITTLE; GILLESPIE, 2018).

Desta forma, a exposição ao regime de turnos pode ser um fator causador desse estresse, quando o horário de trabalho não corresponde às preferências diurnas individuais de cada trabalhador. Neste cenário, trabalhadores com tendência à matutuidade desenvolvem-se melhor em turnos diurnos, e em contrapartida, apesar da inconveniência do turno noturno, trabalhadores com mais tendência à vespertuidade seriam menos impactados neste turno (KERVEZEE, et al., 2021; BOOKER, et al., 2018).

Estudos demonstram a existência de interações entre cronotipo, turnos de trabalho e duração e qualidade de sono (KERVEZEE, et al., 2021; SILVA, et al., 2017; MARTINO et al., 2013), o que evidencia a importância de considerar o cronotipo para determinar o turno ideal para cada trabalhador, visando melhores resultados, além ainda de evitar possíveis problemas de saúde relacionados à rotatividade de turnos (ROSA, et al., 2021; JUDA; VETTER; ROENNEBERG, 2013). Em relação ao cronotipo intermediário, a adaptabilidade aos turnos tende a flutuar entre os dois extremos (ROSA, et al., 2021; GAMBLE, et al., 2011).

3 Desregulação do ciclo circadiano

Todo organismo apresenta ritmos circadianos, que funcionam como relógios biológicos e influenciam ciclos fisiológicos e comportamentais em um período aproximadamente 24 horas. O cronotipo é, então, o resultado da sincronização desses ciclos, explicando as preferências diurnas individuais (VITALE; WEYDAHL,

2017; BARON; REID, 2014). Logo, organismos expostos à desregulação do ciclo circadiano podem sofrer impactos diretos na saúde física, metabólica e/ou psicológica (NGUYEN, et al., 2019; MAURY; RAMSEY; BASS, 2015).

Quando os ritmos circadianos não estão em sincronia, os ciclos ambientais, temporais, comportamentais e moleculares acontecem em desarmonia, isto é, podem estar adiantados ou atrasados, assim como é observado em trabalhadores em regime de turnos que são submetidos a períodos irregulares de sono e atividades (NGUYEN, et al., 2019). Ou seja, neste caso, o ciclo sono-vigília ocorre fora do previsto pelo NSQ. No momento em que o organismo deveria estar em repouso, ele está trabalhando (e vice-versa), o que cria um desequilíbrio comportamental que reflete em uma dessincronia entre os ritmos endógenos e exógenos (QIAN; SCHEER, 2016).

As alterações de rotina e horários podem acontecer sem causar consequências ao ciclo circadiano, desde que não requeiram adaptação completa dos ritmos biológicos, o que acarreta apenas oscilações transitórias (LIMA; VARGAS, 2014; MORENO; FISCHER; ROTENBERG, 2003). No entanto, a exposição a modificações radicais e contínuas, como longas jornadas de trabalho em turnos não convencionais, são conhecidas por ocasionarem a dessincronização do ciclo circadiano e acarretar, conseqüentemente, danos à saúde, já que o organismo é submetido a constantes períodos de estresse na tentativa de adaptar-se às alterações (COVASSIN; SINGH; SOMERS, 2016).

A dessincronização do ciclo circadiano é então um desencontro entre ciclos biológicos, comportamentais e ambientais que, usualmente, acontecem em sincronia. Inúmeros fatores podem ser responsáveis por ocasionar essa dessincronia, especialmente o aumento do período de exposição à claridade, seja natural ou artificial, que é percebida pelo NSQ, que por sua vez a interpreta de maneira errônea, o que pode causar alterações ou perturbações de vários ritmos fisiológicos e comportamentais. Além disso, fatores como trabalhos em turnos, viagens transmeridionais e perturbações do sono também podem levar a dessincronização circadiana (COVASSIN; SINGH; SOMERS, 2016; LIMA; VARGAS, 2014; WITTMANN et al., 2006).

3.1 Consequências da dessincronização circadiana em trabalhadores em turnos

Devido aos horários irregulares e não convencionais, trabalhadores submetidos à regimes de turnos frequentemente apresentam perturbações do sono e consequentemente vários deles vivem algum nível de dessincronia circadiana (SILVA, et al., 2017; VETTER et al., 2016; FERREIRA; SILVA, 2013). É importante destacar que as dessincronias não acometem todos os trabalhadores e também não acontecem com a mesma intensidade, uma vez que o cronotipo individual também deve ser considerado (ROSA, et al., 2021).

A ruptura circadiana, como já mencionado, tem sido associada a uma série de perturbações comportamentais, bioquímicas e psicológicas (FERREIRA; SILVA, 2013). Estudos demonstram ainda que, apesar de todos os turnos poderem causar dessincronias, o turno noturno, seja fixo ou não, é o horário de trabalho acompanhado por perturbações mais frequentes e intensas à saúde dos trabalhadores (BIGGI et al., 2008; DUTHEIL et al., 2020).

As alterações mais recorrentes entre trabalhadores em turnos, e que podem estar, direta ou indiretamente, relacionadas à dessincronia circadiana (BARON; REID, 2014; SCHEER et al., 2009) , são: aumento de colesterol (GHASVAND et al., 2006), ácido úrico (THEORELL, 1976), dislipidemia (DUTHEIL et al., 2020), obesidade (SUN et al., 2017), diabetes mellitus tipo II (KROENKE et al., 2006), hipertensão, doenças cardiovasculares (BIGGI et al., 2008), lapsos de atenção, queda da performance psicomotora (ROSA et al., 2021), fadiga, irritabilidade excessiva (MENDES; MARTINO, 2012), mau funcionamento do sistema digestivo (NOJKOV et al., 2010) e depressão (ANGERER et al., 2017). Além disso, trabalhadores em turnos são relacionados também à maus hábitos, como sedentarismo (LOPRINZI, 2015; MARQUEZE et al., 2013; ATKINSON; DAVENNE, 2007), má alimentação (SOUZA et al., 2019; BALEIRO et al., 2014), etilismo (RICHTER et al., 2021; WITTMANN, 2010; WITTMANN et al., 2006) e tabagismo (BARBADORO et al., 2013; BIGGI et al., 2008), que contribuem para o surgimento ou intensificação de todas as desordens já mencionadas.

4 Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia do infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) é uma metodologia baseada na interação entre a radiação infravermelha (IV) e um material, sólido ou líquido, sem a necessidade de reagentes químicos, que fornece informações precisas referente a composição molecular da amostra (KHAUSTOVA et al., 2010; BARTH, 2007). Um espectro IV é obtido através da passagem da radiação IV através de uma amostra. Durante esse trajeto, frações dessa radiação, com diferentes energias, são absorvidas por grupos funcionais específicos e os fragmentos restantes são detectados por um coletor, gerando um espectro de absorbância ao final da análise (Figura 3) (STUART, 2005).

A análise de FTIR tem aplicabilidade em diversos campos, para análise de matérias orgânicas e inorgânicas. O espectro IV permite identificar grupos funcionais e estruturas moleculares; em casos de amostras biológicas é possível caracterizar proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e carboidratos (BEEKES et al., 2007; STUART, 2005). Ácidos graxos, por exemplo, em geral aparecem no espectro entre 2800-3050 cm^{-1} , devido a vibrações químicas em CH_2 e CH_3 , enquanto proteínas e peptídeos (amida I e II) estão relacionadas à região entre 1500-1750 cm^{-1} , através da indução de vibrações em ligações químicas em $\text{C}=\text{O}$, C-H e C-N (ELLIS; GOODCARE, 2006).

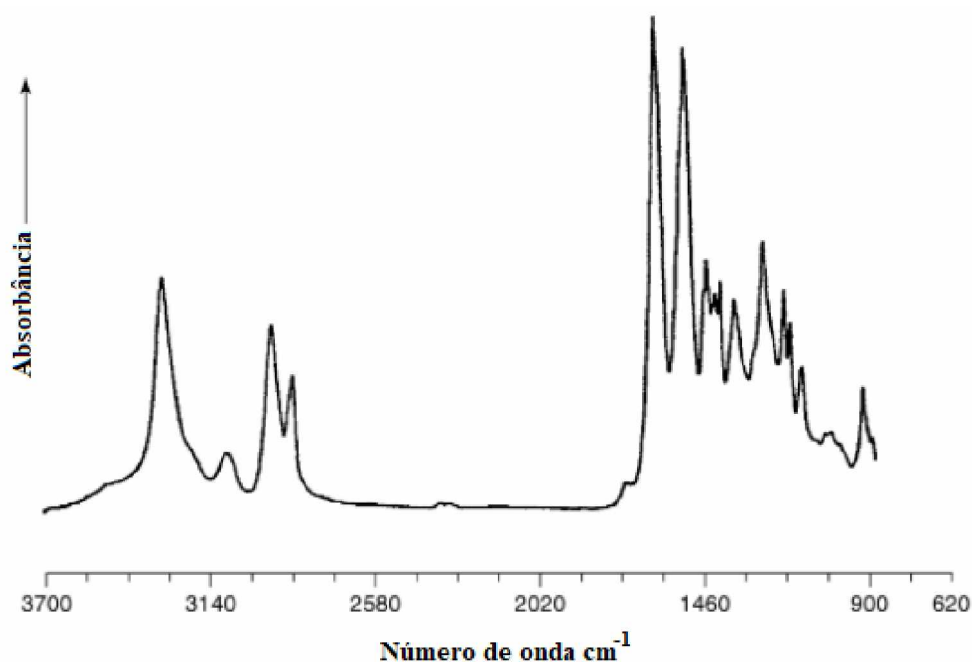


Figura 3: Espectro de absorbância (Traduzido e adaptado de Stuart, 2005).

Fragmentos da radiação IV são absorvidos (ou consumidos) quando causam vibrações em ligações químicas específicas nas moléculas e, portanto, não aparecem no espectro final. Contudo, é interessante destacar que para que uma determinada molécula absorva radiação IV e seja excitada para um estado de maior energia, é necessário que seu momento elétrico dipolo sofra alterações durante a incidência da radiação, o que acontece em moléculas ativas no IV (FORATO, et al., 2010).

Sabendo que a radiação IV é composta por ondas eletromagnéticas em diferentes frequências (ZWINKELS, 2010), é importante pontuar que cada comprimento de onda possui uma frequência diferente, sendo fatores inversamente proporcionais, isto é, quanto maior o comprimento de onda, menor a frequência ou energia que essa onda carrega. Logo, comprimentos diferentes causam vibrações em grupos funcionais diferentes, já que durante o processo de absorção, são absorvidas frequências equivalentes as frequências naturais das moléculas, e devido a singularidade da combinação atômica, duas moléculas não produzem o mesmo espectro de absorbância (THERMO SCIENTIFIC, 2013). Por conveniência e razões práticas, o eixo X do gráfico espectral de absorbância é geralmente expresso em Número de onda (cm^{-1}), que é contrário ao comprimento de onda e proporcional à frequência (BRITANNICA, 2021). O espectro IV varia de aproximadamente 13000 cm^{-1} à 10 cm^{-1} e é usualmente dividido em três regiões - próxima (NIR), intermediária (MIR) e distante (FIR) - em relação ao espectro visível (Figura 4) (NOREE et al., 2012; STUART, 2005).

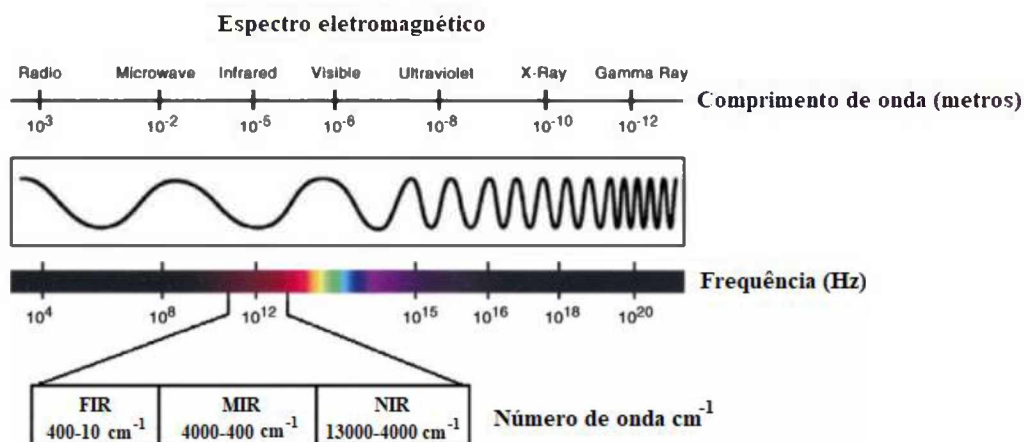


Figura 4: Espectro eletromagnético. NIR: Região próxima ao espectro visível. MIR: Região intermediária em relação ao espectro visível. FIR: Região distante ao espectro visível. (Traduzido e adaptado de Noreen et al., 2012).

Apesar de todas as regiões do espectro IV serem úteis para análise espectroscópica de alguns materiais (GONÇALVES, et al., 2002) a região intermediária se destaca pela sua aplicabilidade e acurácia para a análise de materiais biológicos. Isso acontece por que a região de 4000 à 400 cm^{-1} engloba a frequência natural de um grande número de moléculas (BUNACIU, et al., 2015; BARTH, 2007; STUART, 2005). A região MIR pode ainda ser dividida em aproximadamente quatro sub-regiões: a região de alongamento de X-H (4000-2500 cm^{-1}), que geralmente está relacionada à vibração de O-H, C-H, N-H; a região de tripla ligação (2500-2000 cm^{-1}), que é absorvida por agrupamentos como $\text{C}\equiv\text{C}$ e $\text{C}\equiv\text{N}$; a região de dupla ligação (2000-1500 cm^{-1}), associada principalmente ao alongamento de ligações químicas em $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{N}$; e a região de “impressão digital” (1500-600 cm^{-1}), relacionada à vários modos vibracionais de vários grupos funcionais diferentes (STUART, 2005).

Os grupos funcionais das moléculas ativas no IV podem vibrar de diversos modos diferentes, que podem ser caracterizados por alongamentos, dobramentos, deformações angulares ou combinações destes movimentos. As vibrações envolvem principalmente alteração no ângulo ou comprimento das ligações químicas. As deformações angulares podem ser classificadas como tesoura (*scissoring*), balanço (*rocking*), abano (*wagging*) ou torção (*twisting*), enquanto os alongamentos (*stretching*) podem ocorrer de maneira simétrica ou assimétrica (Figura 5) (ELLIS; GOODCARE, 2006; STUART, 2005).

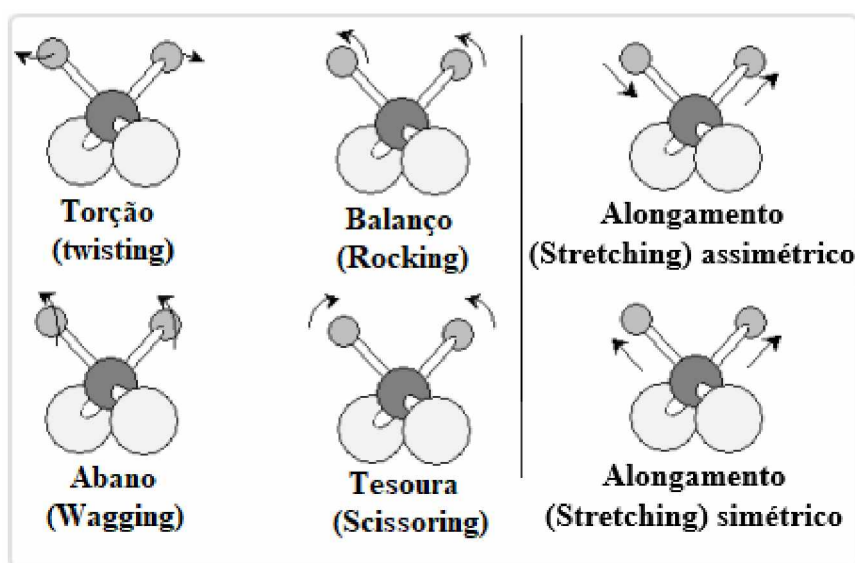


Figura 5: Modos vibracionais (Traduzido e adaptado de Oreborn, 2018).

O FTIR estuda a absorção de ondas eletromagnéticas da região MIR por moléculas presentes na amostra, gerando um espectro que permite identificá-las (CHAN; KAZARIAN, 2016). Este espectro pode ser obtido a partir de diferentes configurações experimentais, como FTIR de transmissão, que opera transmitindo a radiação IV através da amostra, antes que a radiação restante seja detectada, FTIR de transreflexão, que transmite a radiação através da amostra, porém só detecta a radiação remanescente após o IV ser refletido e passar pela amostra novamente, e por fim ATR-FTIR, que segue o princípio de reflexão total (Figura 6). Nesta última configuração, a amostra é colocada diretamente sobre um cristal cujo índice de refração é maior do que da amostra; ao incidir no cristal, em um ângulo específico, a luz viaja através dele, é refratada - devido a diferença entre os índices de refração - e penetra na amostra como ondas evanescentes, que surgem a partir dos pontos de refração; o feixe de luz é, então, posteriormente coletado pelo detector. O ATR-FTIR destaca-se por não apresentar contribuição de espectros indesejados devido a sua alta relação sinal-ruído, ao ser comparado com o FTIR de transmissão e transreflexão (BUNACIU; FELESCHIN; ABOUL-ENEIN, 2015; DORLIN; BAKER, 2014; BARTH, 2007).

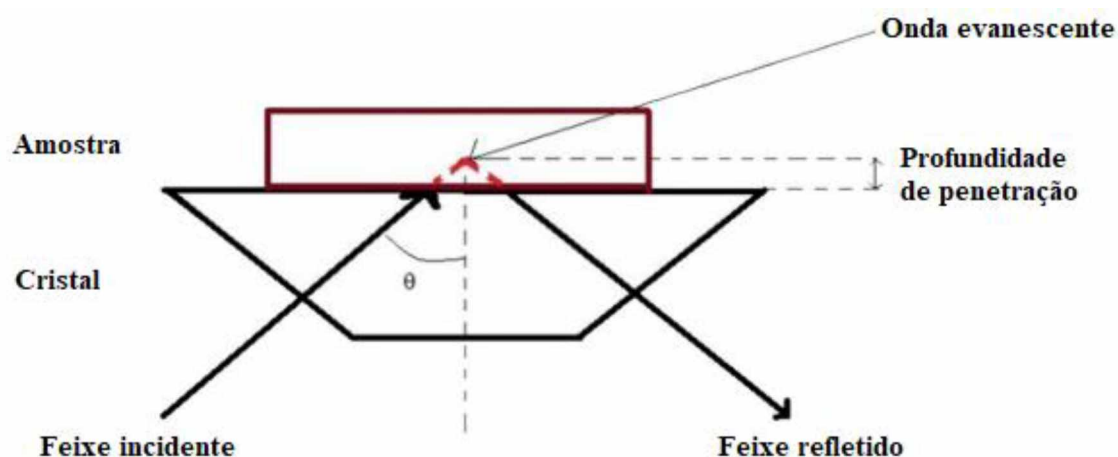


Figura 6: Diagrama esquemático ATR-FTIR (Traduzido e adaptado de Atitar et al., 2015).

Dentre as várias vantagens do uso do FTIR, destacam-se a rapidez do processo, a facilidade e aplicabilidade, a necessidade de pouca quantidade de material amostral, a dispensa de reagentes químicos e preparações complexas, o baixo custo, a detecção de alterações moleculares, a possibilidade de diagnóstico

de condições ou patologias mesmo em estágios iniciais e a precisão para diferenciar materiais biológicos (FELS; ZAMAMA; HAFIDI, 2015; SIMONOVA e KARAMANCHEVA, 2013; ZHANG et al., 2011; ELKINS, 2011).

Desta forma, diante da situação vivida pela maioria dos trabalhadores submetidos à regimes de turnos, o FTIR pode atuar como uma ferramenta para acompanhamento e predição de futuros desfechos metabólicos, já que através da detecção de alterações espectrais, pode possibilitar diagnósticos precoces. Neste contexto, o acompanhamento com o FTIR facilitaria a elucidação dos impactos relacionados à essa modalidade de trabalho.

5 Objetivos

5.1 Objetivo geral

Identificar biomarcadores por espectrometria de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) no sangue periférico de trabalhadores em turnos e associar com dados cronobiológicos.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar o cronotipo de todos os trabalhadores voluntários;
- Identificar regiões espectrais específicas (biomarcadores) capazes de diferenciar trabalhadores diurnos de noturnos no sangue periférico;
- Identificar os possíveis grupos moleculares correspondentes aos biomarcadores espectrais (picos);
- Relacionar os biomarcadores com o cronotipo, turno de trabalho (diurno e noturno) e média de sono;
- Associar os dados espectrais e cronobiológicos - e a relação entre eles - com possíveis perturbações na saúde dos trabalhadores.

6 Referências

- ABREU, N. R; BALDANZA, R. F; SERQUEIRA, I. F. G; SILVA, R. A. S. Trabalho em Turnos Noturnos: Implicações na Qualidade de Vida Profissional e Pessoal dos Trabalhadores. *Revista gestão e tecnologia*, v.12, n.3, 2012. DOI: 10.20397/2177-6652/2012.V12I3.445.
- ALMONDES, K. M. Tempo na Psicologia: Contribuição da Visão Cronobiológica à Compreensão Biopsicossocial da Saúde. *Psicologia, ciência e profissão*, v.26, n.3, 2006. DOI: 10.1590/S1414-98932006000300002.
- ANGERER, P; SCHMOOK, R; ELFANTEL, I; LI, J. Night Work and the Risk of Depression. *Deutsches Ärzteblatt International*, 114, 24, 2017. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0404.
- ARAÚJO, J. F; MARQUES, N. Cronobiologia: uma multidisciplinaridade necessária. *Margem*, n.15, 2002.
- Aschoff, J; Pohl, H. Phase Relations between a Circadian Rhythm and Its Zeitgeber within the Range of Entrainment. *Naturwissenschaften*, v.65, n.2, 1978. DOI: 10.1007/BF00440545.
- ATITAR, F. M; BELHADJ, H; DILLERT, R; BAHNEMANN, D. The Relevance of ATR-FTIR Spectroscopy in Semiconductor Photocatalysis. In: Larramendy, M. L. (Org.). *Emerging Pollutants in the Environment - Current and Further Implications*. IntechOpen, 2015. p. 203-229. DOI: 10.5772/60887.
- ATKINSON, G. et al. Exercise, energy balance and the shift worker. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, v. 38, n. 8, 2008. DOI: 10.2165/00007256-200838080-00005.
- ATKINSON, G; DAVENNE, D. Relationships between sleep, physical activity and human health. *Physiology & Behavior*, v. 90, p. 229–235, 2007. DOI:10.1016/j.physbeh.2006.09.015.
- BAILEY, S. L; HEITKEMPER, M. M. Circadian rhythmicity of cortisol and body temperature: morningness-eveningness effects. *Chronobiology international*, v. 18, n. 2, 2001. DOI: 10.1081/cbi-100103189.
- BALIEIRO, L. C. T. et al. Nutritional status and eating habits of bus drivers during the day and night. *Chronobiology internacional*, v. 30, n. 10, 2014. DOI: 10.3109/07420528.2014.957299.

BARBADORO, P. et al. Rotating shift-work as an independent risk factor for overweight Italian workers: a cross-sectional study. *Plos one*, v. 8, n. 5, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0063289.

BARCLAY, N. L; MYACHYKOV, A. Sustained wakefulness and visual attention: moderation by chronotype. *Experimental Brain Research*, v. 253, n. 1, 2016. DOI 10.1007/s00221-016-4772-8.

BARON, K. G; REID, K. J. Circadian misalignment and health. *International Review of Psychiatry*, v. 26, n. 2, 2014. DOI: 10.3109/09540261.2014.911149.

BARTH, A. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1767, n. 9, 2007. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2007.06.004.

BAUDUCCO, S; RICHARDSON, C; GRADISAR, M. Chronotype, Circadian Rhythms, and Mood. *Current Opinion in Psychology*, v. 34, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2019.09.002>.

BEEKES, M; LASCH, P; NAUMANN, D. Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research. *Veterinary Microbiology*, v. 123, n. 4, 2007. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.04.010

BIGGI, N; CONSONNI, D; GALLUZZO, V; SOGLIANI, M; COSTA, G. Metabolic syndrome in permanent night workers. *Chronobiology International*, v. 25, n. 2-3, 2008. DOI: 10.1080/07420520802114193.

BOOKER, L. A; MAGEE, M; RAJARATNAM, S. M. W; SLETTEN, T. L; HOWARD, M.E. Individual vulnerability to insomnia, excessive sleepiness and shift work disorder amongst healthcare shift workers. A systematic review. *Sleep Medicine Reviews*, v. 41, 2018. DOI: 10.1016/j.smrv.2018.03.005

BORGES, A. F. F; MACÊDO, K. B; MESQUITA, S. M. M. Impactos na saúde dos operadores em turnos de revezamento em uma empresa estatal. *Trabalho (En) Cena*, v.4, n.1, 2019. DOI: 10.20873/2526-1487V4N1P199.

BRASIL. Pesquisa nacional de saúde : 2013 : indicadores de saúde e mercado de trabalho: Brasil e grandes regiões. IBGE, I. B. D. G. E. E. Rio de Janeiro: 66 p. 2016.

BUNACIU, A. A; FLESHIN, S; ABOUL-ENEIN, H. Y. Cancer diagnosis by ft-ir spectrophotometry. *Revue Roumaine de Chimie*, v. 60, n. 5-6, 2015.

CHAN, K. L. A; KAZARIAN, S. G. Attenuated total reflection Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) imaging of tissues and live cells. *Chemical society reviews*, v. 45, n. 7, 2016. DOI: 10.1039/c5cs00515a.

COSTA, G. The impact of shift and night work on health. *Applied Ergonomics*, v.27, n.1, 1996. DOI: 10.1016/0003-6870(95)00047-X.

COSTA, G. The problem: Shiftwork. *Chronobiology International*, v.14, v.2, 1997. DOI: 10.3109/07420529709001147.

COVASSIN, N; SINGH, P; SOMERS, V. K. Keeping Up With the Clock: Circadian Disruption and Obesity Risk. *Hypertension*, v. 68, n. 5, 2016. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.06588.

DENG, N; KOHN, T. P; LIPSHULTZ, L L; PASTUSZAK, A. W. The Relationship Between Shift Work and Men's Health. *Sexual Medical Reviews*, v. 6, n. 3, 2018. DOI: 10.1016/j.sxmr.2017.11.009.

DONALDSON, L; RICCIARDI, W; SHERIDAN, S; TARTAGLIA, R. *Textbook of Patient Safety and Clinical Risk Management*. Springer. 2021. DOI: 10.1007/978-3-030-59403-9.

DORLING, K. M; BAKER, M. J. Highlighting attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy for rapid serum analysis. *Trends in Biotechnology*, v. 31, n. 6, 2013. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.03.010.

DUTHEIL, F. et al. Shift work, and particularly permanent night shifts, promote dyslipidaemia: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*, v. 313, 2020. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.08.015.

ELKINS, K. M. Rapid Presumptive "Fingerprinting" of Body Fluids and Materials by ATR FT-IR Spectroscopy. *Journal of Forensic Sciences*, v. 56, n. 6, 2011. DOI: 10.1111/j.1556-4029.2011.01870.x.

ELLIS, D. L; GOODACRE, R. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman spectroscopy. *The analyst*, v. 131, 2006. DOI: 10.1039/b602376m

Encyclopaedia Britannica. Wavenumber. Encyclopaedia Britannica, Inc. 2021. Disponível em: < <https://www.britannica.com/science/wavenumber> >.

EVORA, M. C. et al. Comparação de Técnicas FTIR de Transmissão, Reflexão e Fotoacústica na Análise de Poliamida-6, Reciclada e Irradiada. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 12, n. 1, 2002. DOI: 10.1590/S0104-14282002000100013.

FELS, L. E; ZAMAMA, M; HAFIDI, M. Advantages and Limitations of Using FTIR Spectroscopy for Assessing the Maturity of Sewage Sludge and Olive Oil Waste Co-composts. 2015. DOI: 10.5772/60943. Disponível em: <

https://www.researchgate.net/publication/287205474_Advantages_and_Limitations_of_Using_FTIR_Spectroscopy_for_Assessing_the_Maturity_of_Sewage_Sludge_and_Olive_Oil_Waste_Co-composts>.

FERREIRA, A. I; SILVA, I. S. Trabalho em turnos e dimensões sociais: Um estudo na indústria têxtil. Estudos de Psicologia, v.18, n.3, 2013. DOI: 10.1590/S1413-294X2013000300008.

FORATO, L. A. ET AL. A Espectroscopia na região do Infravermelho e algumas aplicações. Embrapa Instrumentação: São Carlos, 2010.

GAMBLE, K. L. et al. Shift Work in Nurses: Contribution of Phenotypes and Genotypes to Adaptation. Plos one, v. 6, n. 4, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0018395.

GHIASVAND, M. et al. Shift working and risk of lipid disorders: A cross-sectional study. Lipids in Health and Disease, v. 5, n. 9, 2006. DOI: 10.1186/1476-511X-5-9.

GRECO, C.M.; SASSONE-CORSI, P. Personalized medicine and circadian rhythms: Opportunities for modern society. Journal of Experimental Medicine, v.217, n.6, 2020. DOI: 10.1084/jem.20200702. PMID: 32433754.

HITTLE, B. M; GILLESPIE, G. L. Identifying shift worker chronotype: implications for health. Industrial Health, v. 46, n. 6, 2018. DOI: 10.2486/indhealth.2018-0018.

IARC. Night shift work. IARC Monogr Identif Carcinog Hazards Hum, 124, p.1–37, 2020.

JANSEN, J. M. et al. Cronobiologia e seus mecanismos. In: JANSEN, J. M. et al., orgs. Medicina da noite: da cronobiologia à prática clínica [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2007, p. 47-69

JUDA, M; VETTER, C; ROENNEBERG, T. Chronotype Modulates Sleep Duration, Sleep Quality, and Social Jet Lag in Shift-Workers. Journal of biological rhythms, v. 28, n. 2, 2013. DOI: 10.1177/0748730412475042.

KERVEZEE, L; GONZALES-ASTE, F; BOUDREAU, P; BOIVIN, D. B. The relationship between chronotype and sleep behavior during rotating shift work: a field study. Sleep, v. 44, n. 4, 2021. DOI: 10.1093/sleep/zsaa225.

KHAUSTOVA, S. et al. Noninvasive biochemical monitoring of physiological stress by Fourier transform infrared saliva spectroscopy. Analyst, v. 135, n. 12, 2010. DOI: 10.1039/c0an00529k.

KNAUTH, P. Designing better shift systems. *Applied Ergonomics*, v. 27, n. 1, 1996. DOI: 10.1016/0003-6870(95)00044-5.

KROENKE, H, G. et al. Work Characteristics and Incidence of Type 2 Diabetes in Women. *American Journal of Epidemiology*, v. 165, n. 2, 2007. DOI: 10.1093/aje/kwj355.

LEVANDOVSKI, R; SASSO, E; HIDALGO, M. P. Chronotype: a review of the advances, limits and applicability of the main instruments used in the literature to assess human phenotype. *Trends Psychiatry Psychother*, v. 35, n.1, 2013. DOI: 10.1590/S2237-60892013000100002.

LIMA, L. E. B; VARGAS, N. N. G. O Relógio Biológico e os ritmos circadianos de mamíferos: uma contextualização histórica. *Revista da Biologia*, v. 12, n. 2, 2014. DOI: 10.7594/revbio.12.02.01.

LOPRINZI, P. D. The effects of shift work on free-living physical activity and sedentary behavior. *Preventive Medicine*, v. 76, p. 43-47, 2015. DOI: 10.1016/j.ypmed.2015.03.025.

MARQUES, M. D., GOLOMBEK, D. E MORENO, C. Adaptação Temporal. In: MARQUES, N. E MENNA-BARRETO, L. (orgs.). *Cronobiologia: Princípios e Aplicações*. S. P. Fiocruz e Edusp, 1999, pp. 45-84.

MARQUEZE, E. C; ULHÔA, M. A; MORENO, C. R. C. Effects of irregular-shift work and physical activity on cardiovascular risk factors in truck drivers. *Revista Saúde Pública*, v. 47, n. 3, p. 497-505, 2013. DOI: 10.1590/S0034-8910.2013047004510.

MARTÍNEZ-CARPIO, P. A; VILARDELL, A. C; MIQUEL J. A. S. Cronobiología y medicina: de la teoría a la realidad clínica. *Revista Clínica Española*, v.204, n.3, 2004.

MARTÍNEZ-PÉREZ, V; PALMERO, L. B; CAMPOY, G; FUENTES, L. J. The role of chronotype in the interaction between the alerting and the executive control networks. *Scientific Reports*, v. 10, n. 11901, 2020. DOI:10.1038/s41598-020-68755-z.

MARTINO, M. M. F; ABREU, A. C. B; BARBOSA, M. F. S; TEIXEIRA, J. E. M. The relationship between shift work and sleep patterns in nurses. *Ciencia e saude coletiva*, v. 18, n. 3, 2013. DOI: 10.1590/S1413-81232013000300022.

MARTINS, T; GOMES, C. R. G. Cronobiologia dos indivíduos em situação de trabalho. *Revista Saúde e Pesquisa*, v.3, n.3, 2010.

MAURY, E; RAMSEY, K. M; BASS, J. Circadian Rhythms and Metabolic Syndrome: From Experimental Genetics to Human Disease. *Circulation Research*, v. 106, n. 3, 2010. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.208355.

McDONALD, G; JACKSON, D; WILKES, L; VICKERS, M. H. Personal resilience in nurses and midwives: Effects of a work -based educational intervention. *Contemporary Nurse*, v.45, n.1, 2013. DOI:10.5172/conu.2013.3545.

MENDES, S. S; MARTINO, M. M. F. Shift work: overall health state related to sleep in nursing workers. *Revista da escola de Enfermagem da USP*, v.46, n.6, 2012. DOI: 10.1590/S0080-62342012000600026.

MENNA-BARRETO, L; MARQUES, N. O tempo dentro da vida, além da vida dentro do tempo. *Cultura e ciência*, v.54, n.2, 2002.

MOORE-EDE, M. C; SULZMAN, F. M; FULLER, C. A. *The clock that time us*. Cambridge: Harvard University Press. 1982.

MORENO, C. R. C; FISCHER, F. M; ROTENBERG, L. A saúde do trabalhador na sociedade 24 horas. *São Paulo em perspectiva*, v.17, n.1, 2003. DOI: 10.1590/S0102-88392003000100005

MORENO, C. R. C; LOUZADA, F. M. What happens to the body when one works at night?. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 20, n. 6, 2004. DOI:10.1590/S0102-311X2004000600034.

NOJKOV, B. et al. The Impact of Rotating Shift Work on the Prevalence of Irritable Bowel Syndrome in Nurses. *The american Journal of Gastroenterology*, v. 105, n. 4, p. 842–847, 2010. DOI:10.1038/ajg.2010.48.

NGUYENA, C; MURRAYA, G; ANDERSONA, S; FILIPOWICZB, A; INGRAM, K. K. In vivo molecular chronotyping, circadian misalignment, and high rates of depression in young adults. *Journal of Affective Disorders*, v. 250, 2019. DOI:10.1016/j.jad.2019.03.050.

NOREEN, R; MOENNER, M; HWU, Y; PETIBOIS, C. FTIR spectro-imaging of collagens for characterization and grading of gliomas. *Biotechnology Advances*, v.30, 2012. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.03.009.

OLIVEIRA, A. F. C; NOGUEIRA, M. S. Obesidade como fator de risco para a hipertensão entre profissionais de enfermagem de uma instituição filantrópica. Revista da escola de enfermagem da USP, v. 44, n. 2, 2010. DOI: 10.1590/S0080-62342010000200021 .

OREBORN, U. L. F. IR spectroscopy for vibrational modes. Linnaeus University. 2018. Disponível em <<http://lnu.diva-portal.org/smash/get/diva2:1253068/FULLTEXT01.pdf>>.

PATTERSON, R. E. et al. Intermittent Fasting and Human Metabolic Health. Journal of the academy of nutrition and dietetics, v.115, n.8, 2015. DOI: 10.1016/j.jand.2015.02.018.

POTTER, G. D. M; SKENE, D. J; ARENDT, J; CADE, J. E; GRANT, P. J; HARDIE, L. J. Circadian Rhythm and Sleep Disruption: Causes, Metabolic Consequences, and Countermeasures. Endocrine Reviews, v.37, n.6, 2016. DOI: 10.1210/er.2016-1083.

QIAN, J; SCHEER, F. A. J. L. Circadian System and Glucose Metabolism: Implications for Physiology and Disease. Trends in Endocrinology and Metabolism, v. 27, n. 5, 2016. DOI: 10.1016/j.tem.2016.03.005.

RANDLER, C; SCHAAL, S. Morningness-eveningness, habitual sleep-wake variables and cortisol level. Biological psychology, v. 85, n. 1, 2010. DOI: 10.1016/j.biopsycho.2010.04.006

REMI, J. Humans Entrain to Sunlight - Impact of Social Jet Lag on Disease and Implications for Critical Illness. Current Pharmaceutical Design, v. 21, n. 24, 2015. DOI: 10.2174/1381612821666150706110228.

RIETVELD, W. J. Chronobiology. Hormone Research in Paediatrics, v. 33, 1990. DOI: 10.1159/issn.1663-2818.

RIQUEN, G. L. N; FERNANDES, G. M. C; FERREIRA, A. D. C; SOUSA-MUÑOZ, R. L. Relationship between chronotype and quality of sleep in medical students at the Federal University of Paraíba, Brazil. Sleep Science, v. 7, n. 2, 2014. DOI:10.1016/j.slsci.2014.09.004.

RICHTER, K et al. Shiftwork and Alcohol Consumption: A Systematic Review of the Literature. European Addiction Research, v. 27, p.9–15, 2021. DOI: 10.1159/000507573.

ROENNEBERG, T. et al. Human activity and rest in situ. *Methods in enzymology*, v. 552, 2015. DOI: 10.1016/bs.mie.2014.11.028.

ROENNEBERG, T; PILZ, L. K; ZERBINI, G; EVA C. Winnebeck. Chronotype and Social Jetlag: A (Self-) Critical Review. *Biology*, v. 8, n. 54, 2019. DOI:10.3390/biology8030054.

ROENNEBERG, T; WIRZ-JUSTICE, A; MERROW, M. Life between Clocks: Daily Temporal Patterns of Human Chronotypes. *Journal of biological rhythms*, v.18, n.1, 2003. DOI: 10.1177/0748730402239679.

ROSA, D. E. et al. Association between chronotype and psychomotor performance of rotating shift workers. *Scientific Reports*, v. 11, n.6919. DOI: 10.1038/s41598-021-86299-8.

RUTENFRANZ, J; KNAUTH, P; FISCHER, F.M. Trabalho em turnos e noturno. São Paulo: Hucitec. 1989.

SANTOS, T. C. M. M; INOCENTE, N. J. Trabalho em turnos e noturno: ciclo vigília sono e alterações na saúde do trabalhador. 2006. Disponível em:< http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2006/epg/03/EPG00000433-ok.pdf>.

SAALWIRTH, C; LEIPOLD, B. Sleep and chronotype in relation to work-related stress and negative affect: The moderating role of a flexible start of work. *Somnologie*, v. 25, n. 2, 2021. DOI: 10.1007/s11818-021-00294-9.

SALLINEN, M; KECKLUND, G. Shift work, sleep, and sleepiness - differences between shift schedules and systems. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, v.36, n.2. DOI: 10.2307/40967838.

SCOTT, J. A; LADOU, J. Health and safety in shift workers. In: ZENZ, C. *Occupational Medicine*. 3. ed. St. Louis: MOSBY. 1994. p.960-986.

SCHEER, F. A. J. L; HILTON, M. F; MANTZOROS, C. S; SHEA, S. A. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proceedings of the national academy of sciences*, v. 106, n. 11, p. 4453-4458, 2009. DOI: 10.1073/pnas.0808180106.

SILVA, R. M. et al. Chronotype and work shift in nursing workers of university hospitals. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 70, n.5, 2017. DOI: 10.1590/0034-7167-2016-0542.

SOUZA, R. V; SARMENTO, R. A; ALMEIDA, J. C; CANUTO, R. The effect of shift work on eating habits: a systematic review. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, v. 45, n. 1, 2019. DOI:10.5271/sjweh.3759

SIMÕES, M. R. L; MARQUES, F. C; ROCHA, A. M. O trabalho em turnos alternados e seus efeitos no cotidiano do trabalhador no beneficiamento de grãos. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v.18, n.6, 2010. DOI: 10.1590/S0104-11692010000600005.

SIMONOVA, D; KARAMANCHEVA, I. Application of fourier transform infrared spectroscopy for tumor diagnosis. *Biotechnology and Biotechnological equipment*, v. 27, n. 6, 2013. DOI:10.5504/BBEQ.2013.0106.

SIMOR, P; POLNER, B. Differential influence of asynchrony in early and late chronotypes on convergent thinking. *Chronobiology international*, v. 34, n. 1, 2016 DOI: 10.1080/07420528.2016.1246454

SIMPKIN, C. T. et al. Chronotype is associated with the timing of the circadian clock and sleep in toddlers. *Journal of sleep research*, v.23, n.4, 2014. DOI: 10.1111/jsr.12142.

STEVENS, R. G. et al. Considerations of circadian impact for defining 'shift work' in cancer studies: IARC Working Group Report. *Occupational and Environmental Medicine*, v.68, n.2, 2011. DOI: 10.1136/oem.2009.053512

STUART, B. H. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons. 2005. DOI:10.1002/0470011149.

SUN, M. et al. Meta-analysis on shift work and risks of specific obesity types. *Obesity reviews*, v. 19, n. 1, 2017. DOI: 10.1111/obr.12621.

TEIXEIRA, G. P. et al. The association between chronotype, food craving and weight gain in pregnant women. *Journal of human nutrition and dietetics*, 2019. DOI:10.1111/jhn.12723.

TORQUATI, L; MIELKE, G. L; BROWN, W. J; KOLBE-ALEXANDER, T. Shift work and the risk of cardiovascular disease. A systematic review and meta-analysis including dose-response relationship. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, v. 44, n. 3, p. 229-238, 2018. DOI: 10.5271/sjweh.3700.

THEORELL, T; AKERSTEDT, T. Day and Night Work: Changes in Cholesterol, Uric Acid, Glucose and Potassium in Serum and in Circadian Patterns of Urinary

Catecholamine Excretion. *Acta Medica Scandinavica*, v. 200, n. 1-2, 1976. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1976.tb08194.x.

Thermo scientific. *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. 2013.

VETTER, C. et al. Association Between Rotating Night Shift Work and Risk of Coronary Heart Disease Among Women. *JAMA*, v.315, n.16, 2016. DOI: 10.1001/jama.2016.4454.

VITALE, J. A; WEYDAHL, A. Chronotype, Physical Activity, and Sport Performance: A Systematic Review. *Sports medicine*, v. 47, n. 9, 2017. DOI 10.1007/s40279-017-0741-z.

WITTMANN, M; DINICH, J; MERROW, M; ROENNEBERG, T. Social Jetlag: Misalignment of Biological and Social Time. *Chronobiology International*, v. 23, p. 497–509, 2006. DOI: 10.1080/07420520500545979.

WITTMANN, m; PAULUS, m; ROENNEBERG, t. Decreased Psychological Well-Being in Late ‘Chronotypes’ Is Mediated by Smoking and Alcohol Consumption. *Substance Use & Misuse*, v. 45, n. 1-2, 2010. DOI: 10.3109/10826080903498952.

WONG, P. M; HASLER, B. P; KAMARCK, T. W; MULDOON, M. F; MANUCK, S. B. Social Jetlag, Chronotype, and Cardiometabolic Risk. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, v. 100, n. 12, 2015. DOI: 10.1210/jc.2015-2923.

ZHANG, X. et al. Intraoperative Detection of Thyroid Carcinoma by Fourier Transform Infrared Spectrometry. *The journal of surgical research*, v. 171, n. 2, 2011. DOI: 10.1016/j.jss.2010.05.031.

ZWINKELS, J. *Light, Electromagnetic Spectrum*. Springer. 2015. DOI 10.1007/978-3-642-27851-8_204-1.

CAPÍTULO II – ARTIGO: The ATR-FTIR infrared spectrum of shift workers and its relationship with chronotype and sleep duration

THE ATR-FTIR INFRARED SPECTRUM OF SHIFT WORKERS AND ITS RELATIONSHIP WITH CHRONOTYPE AND SLEEP DURATION

Talles Fillipe Barcelos Vieira^{1,2}, Kely Raspante Cerqueira Teixeira³, Izabella C. C. Ferreira^{1,2}, Alinne T. F. Silva^{1,2}, Thúlio Marquez Cunha^{1,4}, Luiz Ricardo Goulart Filho¹, Cibele Aparecida Crispim^{3*} and Yara Cristina de Paiva Maia^{1,2*}

¹ Laboratory of Nanobiotechnology Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, 38402-022, Brazil.

² Molecular Biology and Nutrition Research Group, School of Medicine, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, 38405-320 Minas Gerais, Brazil.

³ Chrononutrition Research Group, School of Medicine, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Brazil, 38405-302, Brazil.

⁴ School of Medicine, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, 38405-320 Minas Gerais, Brazil.

* Correspondence: yara.maia@ufu.br and cibelecrispim@gmail.com

Abstract

The demand for employees available 24/7 can cause circadian misalignment and sleep deprivation, which has been linked to the development of metabolic diseases. In this scenario, ATR-FTIR spectroscopy might be a potential tool for detecting initial evidence, such as molecular spectrum alterations, of future metabolic outcomes. The aim of this study was to investigate the ATR-FTIR infrared spectrum of shift workers' serum in order to identify wavenumbers capable of differentiating day and night workers, and verify the associations between these regions and workers' chronotype and sleep duration. This study was performed with 38 male workers of which 19 worked the night shift and 19 worked the day shift. The wavenumbers 1522 cm⁻¹, 1636 cm⁻¹, related to proteins, and the bands 2871 cm⁻¹, 2927 cm⁻¹, 2955 cm⁻¹, associated to lipids, significantly differed day from night workers and showed higher absorption in night workers' serum. The Generalized Linear Model (GLZM) was used to identify interactions between these wavenumbers, chronotype and sleep duration, showing that day workers with evening tendency were associated to an increase in the bands related to lipids, while no interaction with workers' sleep duration was found. Therefore, our result demonstrates that night shift and chronotype might be related to higher absorbance in spectral regions related to lipids and proteins. We concluded that the ATR-FTIR seems to be useful monitoring shift workers' health.

Key words: Shift work; Chronotype; Sleep; ATR-FTIR.

Introduction

Defined as a temporal organization in which people work in succession [1], shift work has existed since the beginning of society, and has become increasingly prevalent due to the recent advancements [2-4]. The work categories that have performed their functions on a shift basis more regularly are generally composed of essential professions, such as doctors and nurses [5]. However, currently it has occurred in several service industries [4, 6-9], making up about 20% of the workforce in the United States and 7.8% in Brazil [1, 10]. This demand for employees available 24/7 can cause circadian rhythm misalignment, since they're constantly exposed to unusual schedules, especially when working during the night [11]. This has consistently been linked to poor metabolic health [12]. Studies on this topic have shown that shift workers are more likely to become overweight or obese and develop diabetes [13,14] and dyslipidemia [15-17].

The chronotype is an important chronobiological concept that may influence circadian rhythm [18, 19] and consequently shift workers' metabolic health. It is the expression of individual's biological clock synchronization to the light-dark cycle, producing an internal day, that might display different durations, depending on the organism's individuality [20]. In this scenario, individuals can present a tendency to morningness or eveningness, which is reflected in their sleep and activity patterns. Higher morningness has been associated to early sleep onset, while eveningness has been associated to later sleep onset [20, 21]. Furthermore, most of the population tend to show an intermediate state, flowing between morningness and eveningness tendencies [22]. Therefore, unusual schedules might disorganize workers' circadian system and consequently modify their sleep patterns [23] and normally make them sleep less than they are used to, which can also impact their health [24]. Studies have suggested that the chronotype must be considered before determining the work schedule, in order to avoid greater consequences [25].

The ATR-FTIR spectroscopy is one of the most important and widely used analytical techniques available. It's based on the interaction between infrared light (IR) and a sample. As the IR travels through the sample, portions of the incident radiation are absorbed by specific functional groups, and the remaining fractions are detected by a collector device, generating an infrared spectrum, which provides accurate information about the sample composition, enabling the characterization of lipids, proteins, nucleic acids and carbohydrates [26]. This is an easy-performing technique that stands out for its relatively

low cost, practicality, agility and potential for detecting molecular alterations, differentiating samples and diagnosing pathologies in early stages [27-31].

Considering that the detection and assessment of molecular alterations may improve the knowledge about shift work consequences, the aim of the present study was to investigate the IR spectrum of shift workers' serum, obtained by ATR-FTIR spectroscopy, in order to identify wavenumbers capable of differentiating day and night workers, and verify the interactions between these regions and workers' chronotype and sleep duration. Our hypothesis is that night shift, chronotype and sleep duration influence workers' serum spectrum. To the best of our knowledge, this is the first study that investigates IR spectrum wavenumbers obtained by ATR-FTIR and their relationship among shift workers and their chronotype, sleep duration, and metabolic consequences.

Methods

Study design, sample size and eligibility criteria

The sample of the present study was composed by 38 male workers from a hospital in Uberlândia, MG, Brazil. They were divided into two subgroups of 19 workers according to their shifts. Workers who worked during the morning and afternoon were classified as day workers, while workers who worked at least six hours after midnight, without working during the day, were classified as night workers.

Working in the same position and shift for at least six months and the absence of diseases, except obesity; current or past active smoking and use of medications with antioxidant properties, were the inclusion criteria considered. The volunteers encompassed nurses, physiotherapists, nursing technicians, laboratory technicians and stretcher bearers, however their position wasn't taken into account during the selection, since our objective was the assessment of the shifts and their implications, regardless of the position. It's also important to point out that this study was previously approved by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Uberlândia (Protocol number 40702414.8.0000.5152).

The study development flowchart is represented by figure 1 and each step is described below.

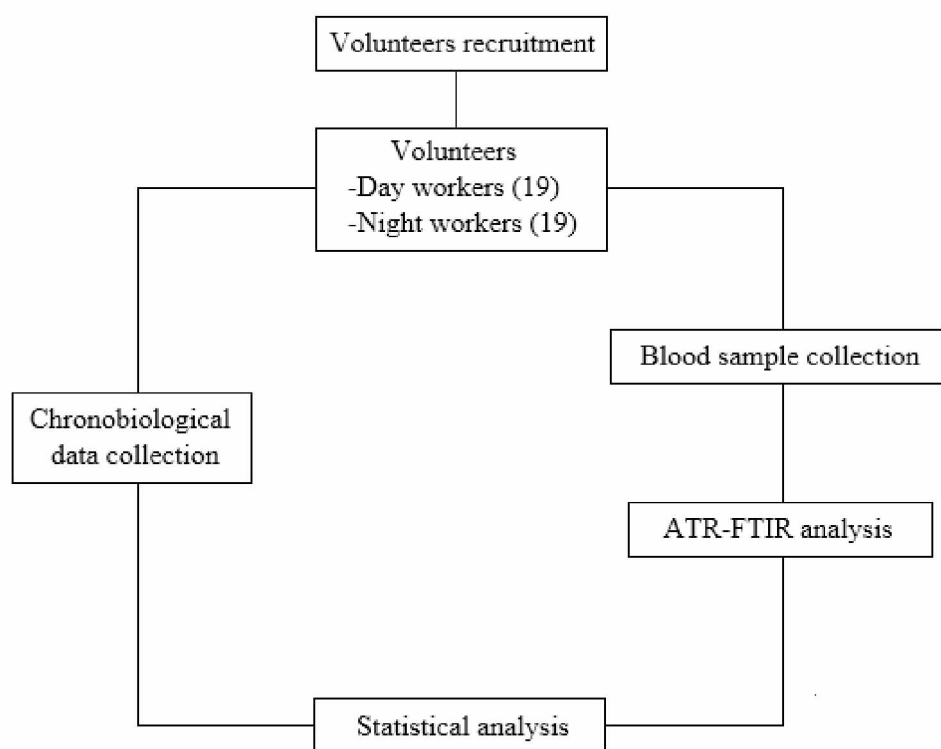


Figure 1: Study development flowchart.

Anthropometric data

The weight and height were measured, respectively, using an electronic scale (Welmy™) and a wall-mounted portable stadiometer (Welmy™). The resulting values were used to calculate the body mass index (BMI, kg/m²) of the volunteers.

Sample Collection

The blood samples were collected by venipuncture in heparinized tubes after 12 h of fasting. Right after the collection, the samples were centrifuged at 1,300 x g for 15 min in a refrigerated centrifuge at 4 °C. The samples were all collected in the morning, before the start of the day workers' shift. Then, the serum of each sample was removed and stored at 80 °C for later spectroscopic analysis.

Sleep pattern and chronotype

To determine the volunteers' sleep pattern and chronotype, it was necessary to calculate their hours of sleep on work and rest days. This information was collected and calculated by a specialized team trained in sleep studies, using a previously reported questionnaire composed of the following questions regarding the last four weeks: What time do you usually go to sleep on work days?; How long (an average in minutes) do you stay up

in bed before falling asleep (after turning off the lights) on work days?; What time do you usually wake up during work days?; On workdays, do you use an alarm clock to wake up (or ask someone to wake you up)?; What time do you usually go to sleep on rest days?; How long (an average in minutes) do you stay up in bed before falling asleep (after turning off the lights) on rest days?; What time do you usually wake up on rest days?; On rest days, do you use an alarm clock to wake up (or ask someone wake you up)? [32]. The time taken to fall asleep, also called sleep latency, was considered while calculating the hours of sleep of each worker.

The sleep duration was calculated using the equation: [(sleep duration reported for working days $\times$ number of days worked in the week) + (sleep duration reported for rest days $\times$ number of rest days in the week)] $\div$ 7 [33].

To establish the chronotype of day workers, it was used the mid-sleep point on free days, corrected for sleep debt – the difference between sleep duration on rest and workdays – (MSFsc). However, we followed a specific formula to assess chronotype in night shift workers, using the mid-sleep time on free days following evening shifts, corrected for sleep debt (MSFscE) [34].

Infrared spectrum evaluation of serum samples by ATR-FTIR

Infrared spectroscopy was used with the ATR accessory Cary 630 (Agilent) and using the MicroLab (Agilent) software, using a micro component ATR, the crystal material in the ATR unit, a platinum diamond. The blood serum samples were applied in aluminum pellets (10 μ L) and heated to 80 $^{\circ}$ C in a dry bath for 3 minutes. The spectra were analyzed in the wavenumber region from 650 cm^{-1} to 4000 cm^{-1} , with a resolution of 4 cm^{-1} .

The original FTIR spectra were normalized, and the baseline was corrected using Orange software. A smoothing pretreatment was carried out using the Savitzky–Golay method in Origin 9.1 software, the parameters such as the polynomial order and points of window were set as 2 and 20, respectively.

Statistical Analysis

Statistical analyzes were conducted using the SPSS Program version 21.0 and Prism Program version 9.0. The values of the IR spectrum were used for statistical analyses. Normality tests performed for the variables, considering Shapiro-Wilk, allowed to define whether parametric or non-parametric tests would be performed.

The spectral values of each group were compared using Welch's T test for parametric data and Mann-whitney test for non-parametric. The wavenumbers capable of significantly differentiating day from night workers were conducted for the next analysis.

The Generalized Linear Model (GLZM) was used to identify interactions between these wavenumbers, chronotype and sleep duration, adjusted for age, body mass index (BMI) and week workload. The groups were analyzed apart. Values of $p < 0,05$ were accepted as significant.

Results

Worker's characterization

The volunteers were aged between 21 and 65, and their characterization, as day and night workers, did not show significant differences between their ages ($p = 0.505$) and working time ($p = 0.317$) regarding the shifts. In addition, the two groups of workers did not differ in weight ($p = 0.390$), height ($p = 0.430$), body mass index (BMI) ($p = 0.342$) and chronotype ($p = 0.582$). However, night workers showed higher workload ($p < 0.0001$) and shorter sleep duration ($p = 0.0018$) when compared to day workers (Table 1).

Table 1: Sociodemographic characteristics, anthropometric parameters, chronotype and sleep duration of workers according to their shifts.

	Day workers (N=19)	Night workers (N=19)	P
Age	43.68 ± 13.86	41.16 ± 8.65	0.505
Working time (years)	5.00 ± 9.68	7.00 ± 6.96	0.317
Workload (h/week)	36.00 ± 4.12	60.00 ± 15.81	<0.0001
Anthropometry			
Weight (kg)	77.95 ± 12.72	80.20 ± 13.61	0.390
Height (m)	1.71 ± 0.07	1.70 ± 0.04	0.430
BMI (kg/m ²)	26.76 ± 3.89	27.24 ± 4.81	0.342
Chronotype			
(MSFsc/MSFscE) (h)	3:35 ± 1:19	3:47 ± 0:48	0.582
Sleep duration (h)	7:24 ± 1:00	5:48 ± 1:47	0.0018

For normally distributed data, values are presented as mean ± standard deviation, and median ± standard deviation for non-normally distributed data. The comparisons were carried out using Welch's T test, for normally distributed data and Mann-whitney test for non-normally distributed data. Values of $p < 0,05$ were accepted as significant.

Abbreviations: BMI: Body mass index; MSFsc: Mid-sleep point on free days, corrected for sleep debt; MSFscE: Mid-sleep time on free days following evening shifts, corrected for sleep debt.

ATR-FTIR analysis of blood serum

We show in figure 1 the infrared spectrum of the serum of day and night workers. The wavenumbers 1522 cm⁻¹, 1636 cm⁻¹, 2871 cm⁻¹, 2927 cm⁻¹, 2955 cm⁻¹ differed

significantly the workers according to their shifts ($p = 0.009$, $p = 0.009$, $p = 0.024$, $p = 0.002$, $p = 0.003$), while the other peaks didn't. The spectral regions 1636 cm^{-1} and 1522 cm^{-1} correspond to amide I and II, respectively (Figure 2 A), and were higher in night workers' serum ($p = 0.009$, $p = 0.009$). Methyl symmetric stretching and asymmetric stretching of both methylene and methyl, related to lipid molecules, are respectively indicated by the wavenumbers 2871 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} and 2955 cm^{-1} (Figure 2 B), that also showed higher absorption in night workers ($p = 0.024$, $p = 0.002$, $p = 0.003$), which means that the presence of serum proteins and lipids is consequently higher in this group, suggesting that the night shift is associated to an increase of these molecules (Table 2).

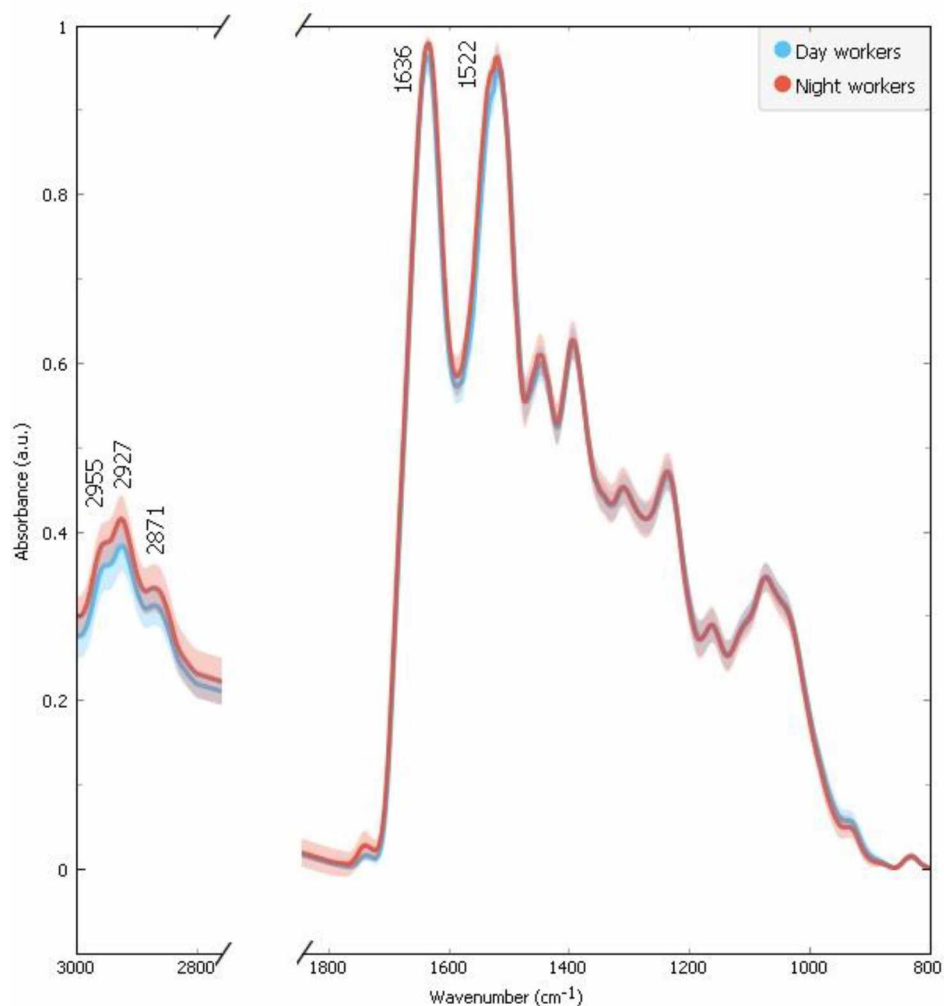


Figure 1: ATR-FTIR spectrum of day and night workers' serum. Day workers are represented by the blue line, while night workers are represented by the red line. The blue and red shadows represent the standard deviation.

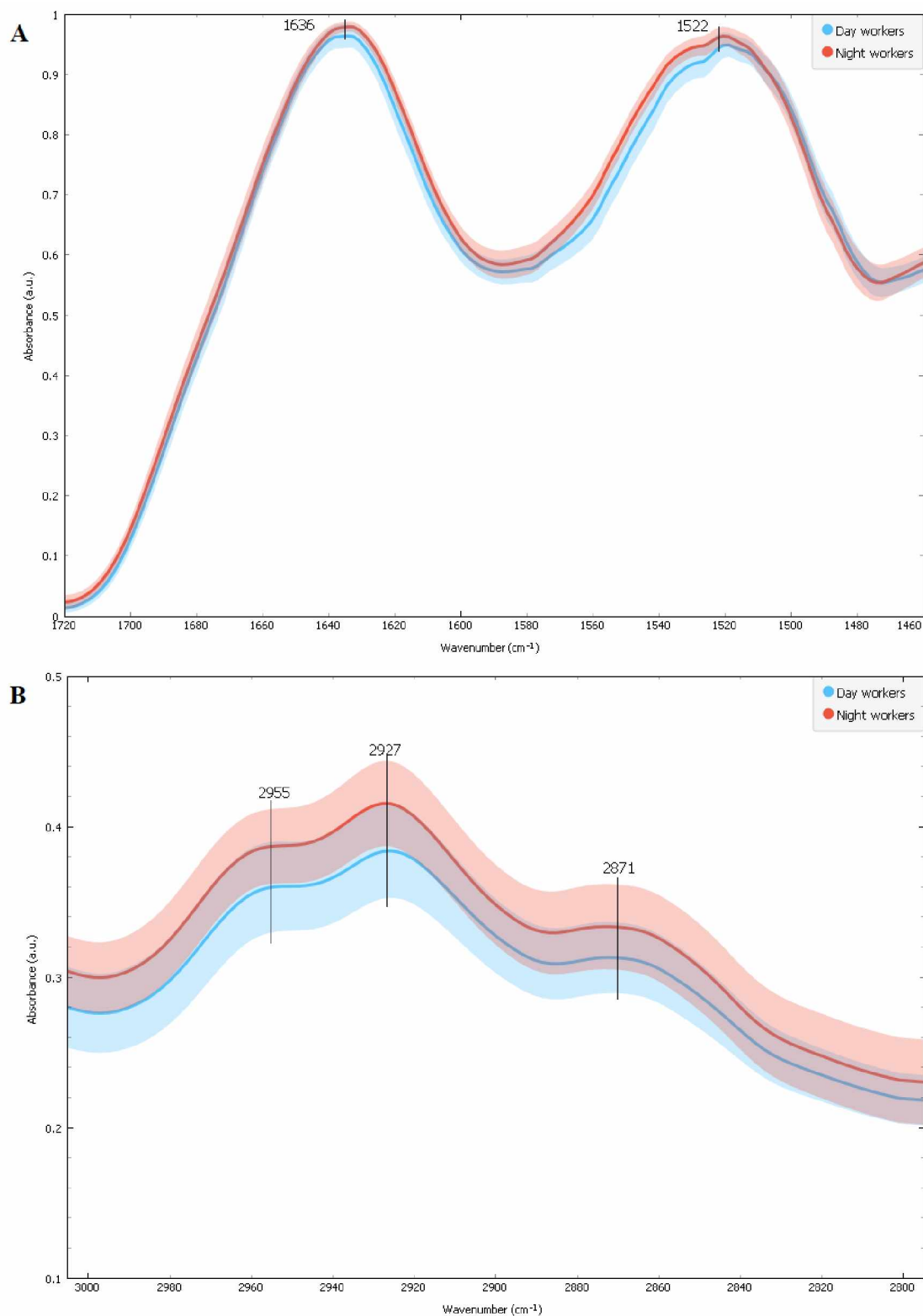


Figure 2: Closer look at the peaks 1522 and 1636 cm⁻¹ (A), and 2871, 2927 and 2955 cm⁻¹ (B). The blue line represents day workers, while the red one represents night workers. The blue and red shadows represent the standard deviation.

Table 2: Assignments of the five statistically relevant wavenumbers of figure 1 and comparison between the shifts.

Wavenumber (cm ⁻¹)	Assignment	Day workers	Night workers	P
1522	Amide II: Proteins	0.94 ± 0.02	0.96 ± 0.01	0.009
1636	Amide I: Proteins	0.96 ± 0.02	0.97 ± 0.00	0.009
2871	v sCH ₃ : Lipids	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.024
2927	v asCH ₂ : Lipids	0.38 ± 0.03	0.41 ± 0.02	0.002
2955	v asCH ₃ : Lipids	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.003

The comparisons were carried out using Welch's T test, for normally distributed data and Mann-whitney test for non-normally distributed data. Values are presented as mean ± standard deviation for normally distributed data and median ± standard deviation for non-normally distributed data. Values of p<0,05 were accepted as significant. v=stretching, s=symmetric, as=asymmetric.

Table 3 presents the comparison of the studied wavenumbers in relation to MSFsc and MSFscE values and sleep duration, adjusted for age, BMI and workload. There were significant positive interactions between the peaks 2871 cm⁻¹, 2927 cm⁻¹ and 2955 cm⁻¹ and MSFsc values of day workers (p = 0.003, p = 0.005, p = 0.009), but not of night workers (p = 0.094, p = 0.084, p = 0.092). Curiously, the MSFscE values of night workers did not show any association with these peaks. It means that higher values of MSFsc were related higher absorbance in the lipids regions in blood serum of day workers, but not of night workers. In addition, it was not found any interaction between the bands 1522 cm⁻¹ and 1636 cm⁻¹ and chronotype values, neither for day (p = 0.470, p = 0.241) or for night workers (p = 0.659, p = 0.201). Moreover, although the sleep duration was significantly shorter in night workers (p = 0.0018), there was no significant association between this variable and the five peaks analyzed in any group.

Table 3: Effects of day and night workers' chronotype (MSFsc and MSFscE) and sleep duration on the peaks, adjusted for age, workload and BMI.

	Day workers				Night workers			
	MSFsc		Sleep duration		MSFscE		Sleep duration	
	B	P	B	P	B	P	B	P
1522 cm ⁻¹	0.004	0.470	0.007	0.384	-0.002	0.659	0.001	0.443
1636 cm ⁻¹	0.005	0.241	0.003	0.698	-0.003	0.201	0.001	0.276
2871 cm ⁻¹	0.012	0.003	0.009	0.191	0.014	0.094	0.001	0.816
2927 cm ⁻¹	0.016	0.005	0.008	0.420	-0.014	0.084	0.002	0.679
2955 cm ⁻¹	0.015	0.009	0.004	0.701	-0.012	0.092	0.001	0.801

Positive and negative B values indicate, respectively, positive and negative interactions between the wavenumbers and workers' MSFsc/MSFscE and sleep duration.

p<0.05 = Statistically significant interaction (Generalized Linear Model).

Abbreviations:

MSFsc: Mid-sleep point on free days, corrected for sleep debt.

MSFscE: Mid-sleep time on free days following evening shifts, corrected for sleep debt.

Discussion

The present study evaluated whether the IR spectrum of serum is associated with work shift, chronotype and sleep duration of day and night workers. Our results showed that five regions of the spectrum are related to the work shift and three of them are also associated with the workers' chronotype, while none are related to the sleep duration. These findings partially support our initial hypothesis that work shift and chronotype are associated with spectral blood serum changes.

The spectroscopy analyses showed that the spectral regions 1522 cm^{-1} , 1636 cm^{-1} , related to proteins, and the bands 2871 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2955 cm^{-1} , associated to lipids, were increased in night workers, which is supported by other studies that have shown that disturbances in lipids and proteins metabolism are more common in night workers [23, 35-39]. The current literature has strongly associated night work to metabolic problems [17, 23, 40], such as the ones seen here, since these workers do not adapt their circadian cycle to their work schedule [41]. However, these spectral findings must be seen as initial evidence of future problems, since none of the workers had metabolic diseases, except for obesity.

The use of linear generalized models (GLZM) showed that day workers with higher MSFsc values were associated with higher absorptions in the regions 2871 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2955 cm^{-1} . It means that the higher the eveningness, the higher the peaks, demonstrating that there is an interaction between individuals' chronotype and lipids. The literature has shown that people with evening tendency are more likely to develop obesity [42-44], since they have also been associated to poor diet [45, 46], sleep deprivation [47, 48] and smoking [49]. Besides, they are demonstrably not used to waking up and performing their activities early in the morning [50, 51], which might lead them to a possible circadian rhythm misalignment, known for causing many health disorders, some of which are also related to lipids metabolism [52, 53], such as dyslipidemia [17, 36], cardiovascular disease [12, 54] and obesity [55-57].

Due to its specificity and sensibility at a molecular level, the ATR-FTIR spectroscopy plays an important role in detecting metabolic alterations in early stages, that wouldn't appear in biochemical tests, and predicting future disorders [26-31]. Therefore, this result suggests that ATR-FTIR spectroscopy of apparently healthy shift workers might indicate a tendency to develop metabolic disorders in the future, since our population was clinically homogeneous, but their spectrum showed different absorption patterns. Night workers showed higher absorption in all the five peaks (Figure 1), indicating that they're more likely

to develop metabolic disorders, and the same also happened for higher eveningness workers that worked the day shift, suggesting that the mismatch between the schedule and the chronotype might bring future metabolic consequences.

On the other hand, night workers' chronotypes were not associated with the three peaks related to lipid molecules. We believe that it was due to the population homogeneity, since most of the night workers showed morning tendency, which reduces MSFscE values variability compared to day workers. It also helps to support the fact that the five peaks analyzed are increased among the night workers, since their work schedule forces them to face a long entrainment phase – their internal day needs to be completely delayed – which might also be related to a circadian rhythm misalignment [20].

Neither day, nor night workers' chronotype were associated with the bands 1522 cm^{-1} and 1636 cm^{-1} , as in a recent study that demonstrated an interaction between several proteins related to cardiometabolic risk and evening chronotype people [58]. However, corroborating our spectral evidence, other studies have demonstrated that night shift, regardless of the chronotype, is related to increased c-reactive proteins [59-61], placing this discussion in a controversial scenario that still needs to be fully understood. In addition, although the sleep duration is significantly different between the groups, it was not related to any of the five peaks analyzed, as the chronotype was. We were expecting to find an association at least with night workers' sleep duration, since some articles have associated sleep alterations, accompanied by circadian rhythm misalignment, with disturbances in lipids [36, 62, 63] and proteins metabolism [64].

This study has limitations. The small sample size makes it necessary for further studies to be carried out with a larger group of workers, including men and women, which could bring more conclusive results, especially regarding sleep duration. However, as the first study to use ATR-FTIR to compare shift workers and their chronobiological data, our results are innovative and important for future studies in related fields.

We concluded that night shift is associated with higher absorbance at wavenumbers related to lipids and proteins, and chronotype, when delayed or advanced, might also be related to higher peaks at lipids regions, regardless of the shift. Besides being relatively cheap, practical and easy to perform, the ATR-FTIR seems to be a great technique for showing some initial evidence of future metabolic outcomes, which may be a potential tool for monitoring shift workers' health, since conventional biochemical tests don't bring these early evidence.

Acknowledgments: To the volunteers of this study. Furthermore, this work is dedicated to Luiz Ricardo Goulart Filho (in memoriam), PhD, a brilliant Brazilian scientist who have deceased due to covid-19. We are grateful that we have worked with a brilliant scientist and an incomparable person.

Competing interests: The author(s) declare no competing interests.

Additional Information: This article was funded by CNPq; FAPEMIG; National Institute of Science and Technology in Teranostics and Nanobiotechnology - INCT - Teranano; CAPES and FAU - Fundação de Apoio Universitario - Federal University of Uberlandia.

References

- 1 Stevens, R. G. *et al.* Considerations of circadian impact for defining 'shift work' in cancer studies: IARC Working Group Report. *Occupational and Environmental Medicine*. **68**, 2, 154-162 (2011).
- 2 Silva, A., Silva, A., Duarte, J. Costa, J. T. Shift-work: a review of the health consequences. *International Journal of Occupational and Environmental Safety*. **4**, 2, 48-79 (2020).
- 3 Simões, M. R. L., Marques, F. C., Rocha, A. M. O trabalho em turnos alternados e seus efeitos no cotidiano do trabalhador no beneficiamento de grãos. *Revista latino-americana de enfermagem*. **18**, 6 (2010).
- 4 Moreno, C. R. D. C.; Fischer, F. M.; Rotenberg, L. A saúde do trabalhador na sociedade 24 horas. *São Paulo em Perspectiva*. **17**, 1, 34-46 (2003).
- 5 Mendes, S. S., Martino, M. M. F., Shift work: overall health state related to sleep in nursing workers. *Revista da escola de enfermagem da USP*. **46**, 6 (2012).
- 6 Brum, M. C. B. *et al.* Night shift work, short sleep and obesity. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. **12**, 13 (2020).
- 7 Borges, A. F. F., Macêdo, K. B., Mesquita, S. M. M. Impacts on the health of operators on shift work in a state company. *Trabalho (En) cena*. **4**, 1, 199-220 (2018).
- 8 Frost, P., Kolstad, H. A., Bonde, J. P. Shift work and the risk of ischemic heart disease - a systematic review of the epidemiologic evidence. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. **35**, 3, 163-179 (2009).
- 9 Atkinson, G., Fullick, S., Mclean, C., Maclaren, D. P. M. Exercise, Energy Balance and the Shift Worker. *Sports Medicine*. **38**, 8, 671-685 (2008).
- 10 IARC. Night shift work. IARC Monogr Identif Carcinog Hazards Hum, 124:1–37 (2020).

- 11 Costa, G. Shift Work and Health: Current Problems and Preventive Actions. *Safety Health Work*. **1**, 2 (2010).
- 12 Vetter, C. *et al.* Association Between Rotating Night Shift Work and Risk of Coronary Heart Disease Among Women. *Journal of the American Medical Association*. **315**, 16 (2016).
- 13 Karlsson, B. H., Knutsson, A. K., Lindahl, B. O. Metabolic disturbances in male workers with rotating threeshift work. Results of the WOLF study. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. **76**, 424–430 (2008).
- 14 Pietroiusti, A. *et al.* Incidence of metabolic syndrome among night-shift health care workers. *Occupational and environmental medicine*. **67**, 54–57 (2010).
- 15 O'Brien, V. M. *et al.* Overweight and obesity in shift workers: associated dietary and lifestyle factors. *European Journal of public health*. **30**, 3, 532–537 (2020).
- 16 Dochi, M. *et al.* Shift work is a risk factor for increased total cholesterol level: a 14-year prospective cohort study in 6886 male workers. *Occupational and environmental medicine*. **66**, 592-597 (2009).
- 17 Gnocchi, D., Pedrelli, M., Hurt-Camejo, E. & Parini, P. Lipids around the Clock: Focus on Circadian Rhythms and Lipid Metabolism. *Biology*. **4**, 104-132 (2015).
- 18 Vitale, J. A. *et al.* Chronotype influences activity circadian rhythm and sleep: Differences in sleep quality between weekdays and weekend. *Chronobiology International*. **32**, 3, 405-415 (2014).
- 19 Takahashi, M. *et al.* Chronotype and social jetlag influence human circadian clock gene expression. *Scientific Reports*. **8**, 10152 (2018).
- 20 Roenneberg, T., Pilz, L. K., Zerbini, G., Winnebeck, E. C. Chronotype and Social Jetlag: A (Self-) Critical Review. *Biology*. **8**, 54 (2019).
- 21 Korczak, A. L., Martynhak, B. J., Pedrazzoli, M., Brito, A. F., Louzada, F. M. Influence of chronotype and social zeitgebers on sleep/wake patterns. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. **41**, 914-919 (2008).
- 22 Duarte, L. L. Cronotipos humanos. Cruz das Almas: Editora UFRB, 2018.
- 23 Potter, G. D. M. *et al.* Circadian Rhythm and Sleep Disruption: Causes, Metabolic Consequences, and Countermeasures. *Endocrine Reviews*. **37**, 6, 584 – 608 (2016).
- 24 Archer, S. A., Oster, H. How sleep and wakefulness influence circadian rhythmicity: effects of insufficient and mistimed sleep on the animal and human transcriptome. *Journal of Sleep Research*. **24**, 5, 476-493 (2015).

- 25 Rosa, D. E. *et al.* Association between chronotype and psychomotor performance of rotating shift workers. *Scientific Reports*. **11**, 6919 (2021).
- 26 Stuart, B. H. Biological Applications. In: *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*: John Wiley & Sons, Ltd, 2005. p.137-165. ISBN 9780470011140.
- 27 Fels, L. E., Zamama, M., Hafidi, M. Advantages and Limitations of Using FTIR Spectroscopy for Assessing the Maturity of Sewage Sludge and Olive Oil Waste Co-composts. In: *Biodegradation and Bioremediation of Polluted Systems - New Advances and Technologies*: Intech, 2015. p.127-144.
- 28 Simonova, D., Karamancheva, I. Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Tumor Diagnosis. *Medical biotechnology*. **27**, 64200-4207 (2013).
- 29 Zhang, X. *et al.* Intraoperative Detection of Thyroid Carcinoma by Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Journal of Surgical Research*. **171**, 650–656 (2011).
- 30 Elkins, K. M. Rapid Presumptive ‘‘Fingerprinting’’ of Body Fluids and Materials by ATR FT-IR Spectroscopy*. *Journal of Forensic Science*. **56**, 6 (2011).
- 31 Ferreira, I. C. C. *et al.* Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy Analysis of Saliva for Breast Cancer Diagnosis. *Journal of Oncology*. **4**, 1-11 (2020).
- 32 Juda, M., Vetter, C., Roenneberg, T. The Munich ChronoType Questionnaire for Shift-Workers (MCTQ Shift). *Journal of Biological Rhythms*. **28**, 2, 130–140 (2013).
- 33 Reutrakul, S. *et al.* Chronotype is independently associated with glycemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. **36**, 9 (2013).
- 34 Juda, M., Vetter, C., Roenneberg, T. Chronotype Modulates Sleep Duration, Sleep Quality, and Social Jet Lag in Shift-Workers. *Journal of Biological Rhythms*. **28**, 141 (2013).
- 35 Duthiel, F. *et al.* Shift work, and particularly permanent night shifts, promote dyslipidaemia: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. **313**, 156–169 (2020).
- 36 Joo, J. H., Lee, D. W., Choi, D. & Park, E. Association between night work and dyslipidemia in South Korean men and women: a cross-sectional study. *Lipids in Health and Disease*. **18**, 75 (2019).
- 37 Gadallah, M., Hakim, S. A., Mohsen, A. & Eldin, W. S. Association of rotating night shift with lipid profile among nurses in an Egyptian tertiary university hospital. *Eastern Mediterranean Health Journal*. **23**, 4, 295-302 (2017).

- 38 Loef, B. *et al.* The association between exposure to different aspects of shift work and metabolic risk factors in health care workers, and the role of chronotype. *Plos one*. **14**, 2 (2019).
- 39 Sookoian, S. *et al.* Effects of rotating shift work on biomarkers of metabolic syndrome and inflammation. *Journal of Internal Medicine*. **261**, 285–292 (2007).
- 40 Boivin, D. B. & Boudreau, P. Impacts of shift work on sleep and circadian rhythms. *Pathologie Biologie*. **62**, 292–301 (2014).
- 41 Arendt, J. Shift work: coping with the biological clock. *Occupational medicine*. **60**, 10–20 (2010).
- 42 Baron, K. G., Reid, K. J., Kern, A. S. Zee, P. C. Circadian misalignment and health. *Obesity*. **19**, 7, 1374 – 1381 (2011).
- 43 Lucassen, E. A. *et al.* Evening chronotype is associated with changes in eating behavior, more sleep apnea, and increased stress hormones in short sleeping obese individuals. *Plos one*. **8**, 3 (2013).
- 44 Soreca, I., Fagiolini, A., Frank, E., Goodpaster, B. H., & Kupfer, D. J. Chronotype and body composition in bipolar disorder. *Chronobiology International*. **26**, 4, 780 – 788 (2009).
- 45 Lucassen, E. A. *et al.* Evening Chronotype Is Associated with Changes in Eating Behavior, More Sleep Apnea, and Increased Stress Hormones in Short Sleeping Obese Individuals. *Plos one*. **8**, 3 (2013).
- 47 Wittmann, M., Paulus, M., Roenneberg, T. Decreased Psychological Well-Being in Late ‘Chronotypes’ Is Mediated by Smoking and Alcohol Consumption. *Substance Use & Misuse*. **45**, 15–30 (2010).
- 49 Evans, S. L., Norbury, R. Associations between diurnal preference, impulsivity and substance use in a young-adult student sample. *Chronobiology international*. **38**, 1, 79-89 (2021).
- 48 Schneider, M. L. M. *et al.* Morningness-eveningness, use of stimulants, and minor psychiatric disorders among undergraduate students. *International journal of psychology*. **46**, 1, 18-23 (2011).
- 46 Romo-Nava, F. *et al.* Evening chronotype, disordered eating behavior, and poor dietary habits in bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. **142**, 1, 58-65 (2020).
- 50 Horne, J. A. & Ostberg, O. Individual differences in human circadian rhythms. *Biological Psychology*. **5**, 3, 179-90 (1977).

- 51 Couto, S. M. & Guimarães, L. B. M. The impact of chronotype in the perception of call center's workers (2006).
- 52 Dallmann, R., Viola, A. U., Tarokh, L., Cajochen, C. & Brown S. A. The human circadian metabolome. *Proceedings of the national academy of sciences*. **109**, 2625–2629 (2012).
- 53 Schlierf, G. & Dorow, E. Diurnal patterns of triglycerides, free fatty acids, blood sugar, and insulin during carbohydrate-induction in man and their modification by nocturnal suppression of lipolysis. *Journal of Clinical Investigation*. **52**, 732–740 (1973).
- 54 Scheer, F. A. J. L., Hilton, M. F., Mantzoros, C. S. & Shea, S. A. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proceedings of the national academy of sciences*. **106**, 11, 4453–4458 (2009).
- 55 Gooley, J. J. & Chua, E. C. Diurnal Regulation of Lipid Metabolism and Applications of Circadian Lipidomics. *Journal of Genetics and Genomics*. **41**, 5, 231–250 (2014).
- 56 Di Lorenzo, L. *et al.* Effect of shift work on body mass index: results of a study performed in 319 glucose-tolerant men working in a Southern Italian industry. *International journal of obesity and related metabolic disorders*. **27**, 1353–1358 (2003).
- 57 Antunes, L. C., Levandovski, R., Dantas, G., Caumo, W. & Hidalgo, M. P. Obesity and shift work: chronobiological aspects. *Nutrition Research Reviews*. **23**, 155–168 (2010).
- 58 Baldanzi, G. *et al.* Evening chronotype is associated with elevated biomarkers of cardiometabolic risk in the EpiHealth cohort: a cross-sectional study. *Sleep*. **45**, 2 (2021).
- 59 Thomas, C. & Power, C. Shift work and risk factors for cardiovascular disease: a study at age 45 years in the 1958 British birth cohort. *European journal of epidemiology*. **25**, 5, 305–314 (2010).
- 60 Morris, C. J., Purvis, T. E., Mistretta, J., Hu, K. & Scheer, F. A. J. L. Circadian Misalignment Increases C-Reactive Protein and Blood Pressure in Chronic Shift Workers. *Journal of biological rhythms*. **32**, 2, 154–164 (2017).
- 61 Kim, S. *et al.* Night shift work and inflammatory markers in male workers aged 20–39 in a display manufacturing company. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*. **28**, 48 (2016).
- 62 Bell, L. N. *et al.* Effects of sleep restriction on the human plasma metabolome. *Physiology & Behavior*. **122**, 25–31 (2013).
- 63 Weljie, A. M. *et al.* Oxalic acid and diacylglycerol 36:3 are cross-species markers of sleep debt. *Proceedings of the national academy of sciences*. **112**, 2569–2574 (2015).

64 Bjørkum, A. A. *et al.* Human blood serum proteome changes after 6 hours of sleep deprivation at night. *Sleep Science and Practice*. 4, 14 (2021).

ANEXO I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa intitulada “**Associação entre índice inflamatório da dieta, estabilidade de membrana dos eritrócitos e marcadores do estresse oxidativo em trabalhadores em turnos**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores: Kely Raspante Teixeira, Érick Prado de Oliveira e Cibele Aparecida Crispim. Nesta pesquisa buscaremos estabelecer, principalmente, a associação dos alimentos ingeridos com os exames de sangue. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido pela pesquisadora Kely Raspante Teixeira no momento da coleta dos dados do estudo que será realizada no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Umuarama e no hospital Uberlândia Medical Center (UMC). Na participação você será questionado sobre dados socioeconômicos, de saúde e dos hábitos de vida (perguntas sobre o horário que você trabalha, dorme e acorda, a qualidade do seu sono, se você fuma, se possui algumas doenças, como diabetes, hipertensão, problemas cardíacos, pulmonares e alteração no colesterol e triglicerídeos, e quantas vezes vai ao médico por ano). Em jejum, independente do seu turno de trabalho, você vai passar por dois equipamentos que aferem o Gasto Energético de Repouso (GER) e a composição corporal. Você também será pesado e medido (altura, circunferência da cintura), sendo necessário a retirada do seu calçado e que você esteja trajando roupas leves. Se você não estiver trajando roupas leves, nós descontaremos o peso da sua roupa (nós sabemos quanto pesam diferentes vestimentas) do seu peso total obtido. Após a aplicação das questões e das medições, ocorrerá o preenchimento de questionários sobre os seus hábitos alimentares, seu nível de atividade física e sobre o seu sono-, e coleta de sangue para análise de alguns parâmetros que podem indicar alteração sanguínea no seu corpo, que pode ser devido à alguma doença, excesso de peso ou alimentação. Este procedimento pode causar uma leve dor. Você terá que dispor de aproximadamente 45 minutos para participar da pesquisa. Após as avaliações será oferecido a você um lanche. Ao analisar seus exames e estudá-lo conjuntamente aos parâmetros relacionados à sua alimentação, você em nenhum momento será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum ganho financeiro por participar na pesquisa e nem gastos, nem mesmo de transporte, pois todas as avaliações e análises serão por conta dos pesquisadores. Os riscos consistem em: constrangimento (“vergonha”) para medição de peso e circunferência da cintura, além de uma possível identificação do participante; entretanto, todos os cuidados serão tomados para se evitar qualquer ocorrência deste tipo. Em todos os questionários os participantes não serão referidos por seus nomes e sim por códigos, o que minimiza o risco de identificação. O benefício desse estudo ocorrerá por meio das informações coletadas e analisadas, pois serão gerados resultados compilados retratando a realidade da rotina desses indivíduos em relação aos seus hábitos de vida, no que tange o estado nutricional e hábitos de sono. Espera-se que estes dados possam servir de subsídios para o desenvolvimento de ações e projetos visando à prevenção de agravos e a promoção da qualidade de vida para estes indivíduos.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você. Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com:

- Kely Raspante Teixeira. Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia. Endereço: Avenida Pará, 1720- Bloco 2U, Campus Umuarama. Fone: 3218-2389
- Cibele Aparecida Crispim e Érick Prado de Oliveira. Professores Adjunto I, Curso de Nutrição, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia. Endereço: Avenida Pará, 1720- Bloco 2U, Campus Umuarama. Fone: 3218-2084.

Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres-Humanos – Universidade Federal de Uberlândia: Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco J, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG, CEP: 38408-100; fone: 34-32394131. O CEP é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, ... de de 201.....

Prof. Dr^a Cibele Aparecida Crispim Prof. Dr Érick Prado de Oliveira Kely Raspante Teixeira
Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Participante da pesquisa