



UNIVERSITÀ
DI PAVIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL
FARMACO

Direttore Chiar.ma Prof.ssa Simona Collina

LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN
FARMACIA

RUOLO DELL'OROLOGIO CIRCADIANO NELL'ARTRITE
REUMATOIDE: MECCANISMI MOLECOLARI E
PROSPETTIVE TERAPEUTICHE

Relatore: *Chiar.ma Prof.ssa Cristina Lanni*

Correlatore: *Chiar.mo Prof. Stefano Govoni*

Tesi di Laurea Magistrale a Ciclo Unico di
Filippo Renato Schiattino

Anno accademico 2025/2026

INTRODUZIONE	1
1. IL SISTEMA CIRCADIANO	3
1.1 Definizione di ritmi circadiani.....	3
1.2 Nucleo Soprachiasmatico e clock periferici	4
1.3 Architettura molecolare dell'orologio circadiano	6
2. RITMI CIRCADIANI E SISTEMA IMMUNITARIO	10
2.1 Ritmicità del sistema immunitario	10
2.2 Oscillazioni circadiane delle citochine.....	19
2.3 Controllo neuro-endocrino della risposta immunitaria	20
2.4 Disallineamento circadiano	24
3. ARTRITE REUMATOIDE	28
3.1 Definizione, epidemiologia ed eziologia	28
3.2 Immunopatogenesi dell'artrite reumatoide	29
3.3 Coinvolgimento circadiano nell'artrite reumatoide.....	34
3.4 Strategie terapeutiche nell'artrite reumatoide.....	38
3.4.1 Approccio Treat-to-Target e raccomandazioni EULAR.....	44
4. CRONOTERAPIA	47
4.1 Definizione di cronoterapia	47
4.2 Razionale biologico della cronoterapia nell'artrite reumatoide	48
4.3 Cenni storici.....	50
4.4 Studi preclinici e clinici	51
4.5 Basi cronofarmacologiche della risposta ai farmaci.....	59
4.6 Limiti e prospettive future	61
CONCLUSIONE	63
Bibliografia	65

INTRODUZIONE

L'organismo umano è caratterizzato da una complessa organizzazione temporale che consente il coordinamento di numerose funzioni fisiologiche essenziali per il mantenimento dell'omeostasi. Tra i principali sistemi di regolazione biologica, i ritmi circadiani rappresentano oscillazioni endogene della durata di circa ventiquattro ore che permettono all'organismo di adattarsi ciclicamente alle variazioni dell'ambiente esterno. Tali ritmi influenzano molteplici processi fisiologici, tra cui il metabolismo energetico, la secrezione ormonale, il ciclo sonno-veglia e la risposta immunitaria (Fagiani et al., 2022).

Negli ultimi decenni, l'interesse scientifico nei confronti dei ritmi circadiani è progressivamente aumentato grazie alla crescente comprensione del loro ruolo nella regolazione di numerose funzioni biologiche. Alterazioni nella regolazione circadiana sono state associate a diverse condizioni patologiche, tra cui malattie metaboliche, cardiovascolari, neurologiche, neurodegenerative e infiammatorie croniche, evidenziando l'importanza di una corretta sincronizzazione temporale per il mantenimento dello stato di salute (Jacob et al., 2020). Particolare attenzione è stata rivolta alle interazioni tra sistema circadiano e sistema immunitario. Numerose evidenze hanno infatti dimostrato che la risposta immunitaria non è costante nel corso della giornata, ma presenta variazioni temporali che influenzano l'attività delle cellule immunitarie e l'andamento dei processi infiammatori (Zeng et al., 2024).

La perdita della corretta sincronizzazione circadiana può alterare tali meccanismi e contribuire alla comparsa o al mantenimento di condizioni infiammatorie croniche. Tra le patologie autoimmuni associate a processi infiammatori cronici, l'artrite reumatoide riveste particolare interesse per il suo impatto clinico e per la complessità dei meccanismi immunopatogenici coinvolti. È caratterizzata da un'infiammazione persistente delle articolazioni che può determinare danno strutturale progressivo, compromissione funzionale e riduzione della qualità di vita dei pazienti. Diverse osservazioni cliniche hanno inoltre evidenziato come alcuni sintomi della malattia presentino una distribuzione temporale caratteristica nell'arco delle ventiquattro ore, suggerendo un possibile

coinvolgimento dei meccanismi circadiani nella regolazione dell'attività infiammatoria (Straub & Cutolo, 2007).

La crescente comprensione delle relazioni tra ritmi biologici e processi patologici ha favorito il miglioramento di approcci terapeutici che tengono conto della dimensione temporale delle malattie. In questo contesto si colloca la cronoterapia, un approccio basato sulla modulazione dell'orario di somministrazione dei trattamenti farmacologici in relazione ai ritmi biologici dell'organismo (Ruben et al., 2019). L'obiettivo è quello di valutare se la sincronizzazione della terapia con tali ritmi possa contribuire a ottimizzare la risposta terapeutica e la tollerabilità dei trattamenti.

Alla luce di queste considerazioni, il presente elaborato si propone di analizzare il ruolo del sistema circadiano nella regolazione della risposta immunitaria e il suo possibile coinvolgimento nella fisiopatologia dell'artrite reumatoide. Verranno esaminati i principali meccanismi che collegano ritmi biologici e infiammazione, nonché le evidenze sperimentali e cliniche attualmente disponibili riguardanti l'impiego della cronoterapia nell'artrite reumatoide e le sue potenziali implicazioni cliniche derivanti dall'integrazione dei principi della cronobiologia nella gestione della malattia.

1. IL SISTEMA CIRCADIANO

1.1 Definizione di ritmi circadiani

I ritmi circadiani rappresentano oscillazioni biologiche endogene caratterizzate da una periodicità di circa ventiquattro ore e sono fondamentali per il mantenimento dell'omeostasi fisiologica (Fagiani et al., 2022).

I ritmi circadiani regolano numerose funzioni fisiologiche, tra cui il ciclo sonno-veglia, la secrezione ormonale, la temperatura corporea, il metabolismo energetico, la pressione arteriosa e la funzione immunitaria. Tali oscillazioni persistono anche in assenza di stimoli ambientali esterni, dimostrando l'esistenza di un sistema temporale endogeno geneticamente determinato. Tuttavia, affinché i ritmi biologici rimangano sincronizzati con l'ambiente esterno, essi necessitano di segnali sincronizzatori definiti *zeitgeber* ("che danno il tempo"), tra i quali il più importante è rappresentato dall'alternanza luce-buio (Figura 1).

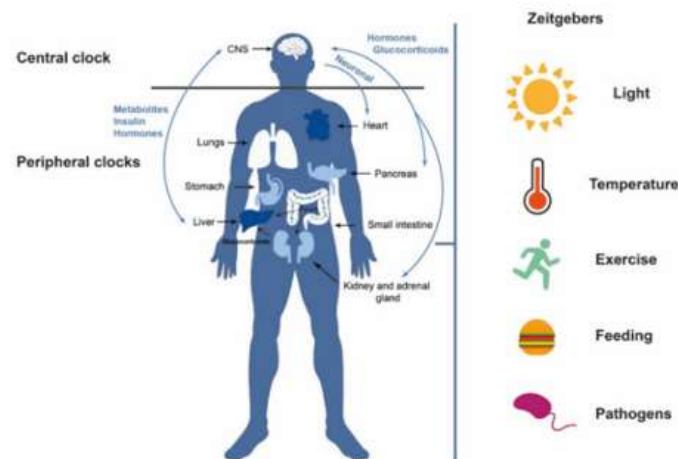


Figura 1/ Schema dell'organizzazione del sistema circadiano umano. L'orologio biologico centrale coordina gli orologi periferici presenti nei diversi organi e tessuti attraverso segnali neurali, ormonali e metabolici. La sincronizzazione dei ritmi circadiani con l'ambiente esterno è regolata da specifici "zeitgeber", tra cui luce, temperatura, attività fisica, alimentazione e agenti patogeni. Adattata da Amiama-Roig et al. (2022).

Negli ultimi anni è emerso come i ritmi circadiani influenzino in maniera significativa non soltanto i processi fisiologici, ma anche condizioni patologiche croniche e

infiammatorie come obesità, diabete, patologie cardiovascolari, tumori e malattie autoimmuni, suggerendo un ruolo centrale dell'organizzazione temporale nella salute umana e nella risposta ai trattamenti farmacologici (Jacob et al., 2020).

1.2 Nucleo Soprachiasmatico e clock periferici

L'organizzazione del sistema circadiano nei mammiferi presenta una struttura gerarchica costituita da un pacemaker centrale e da una rete di oscillatori periferici distribuiti nei diversi tessuti dell'organismo. Il principale centro di coordinamento è rappresentato dal nucleo soprachiasmatico (SCN), localizzato nell'ipotalamo anteriore, al di sopra del chiasma ottico (Dibner et al., 2010).

Il SCN riceve input fotonici diretti dalla retina da un tipo di cellule fotorecettrici note come cellule gangliari retiniche intrinsecamente fotorecettive (ipRGC). Queste ipRGC esprimono il fotopigmento melanopsina, che le rende fotosensibili alle radiazioni a lunghezza d'onda corta e a una soglia di sensibilità alla luce relativamente elevata, caratteristiche che le rendono idealmente adatte a funzionare come fotorecettori circadiani, i quali devono integrare le informazioni luminose per periodi di tempo relativamente lunghi ed essere insensibili a segnali luminosi transitori non associati al ciclo solare. Insieme ai fotorecettori retinici a bastoncello e a cono, trasmettono quindi tali informazioni fottiche al SCN per sincronizzare gli orologi a livello centrale (Fagiani et al., 2022).

In particolare, il SCN è composto da nuclei bilaterali contenenti ciascuno circa 10.000 neuroni, ognuno dei quali presenta un oscillatore circadiano cellulare autonomo. Inoltre, dal momento che opera come orologio autosufficiente, può coordinarsi con gli altri orologi non-SCN del nucleo ipotalamico dorsomediale (DMH), dell'ipotalamo ventromediale (VMH), del nucleo paraventricolare (PVN) e del nucleo arcuato (ARC) (Figura 2) (Starnes & Jones, 2023).

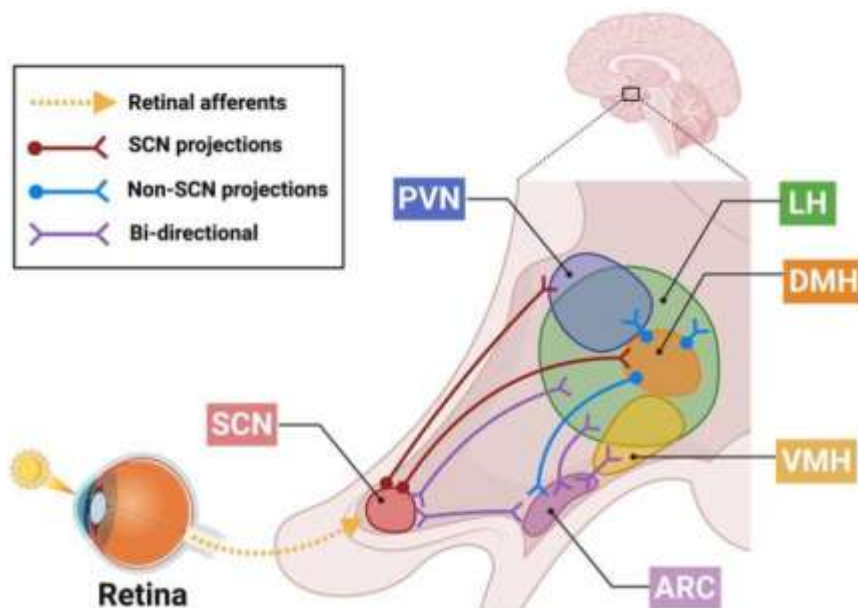


Figura 2/ Schema dell'interazione tra gli orologi centrali dell'ipotalamo dopo che il nucleo soprachiasmatico (SCN) riceve input luminosi dai gangli della retina. L'SCN proietta direttamente al nucleo paraventricolare (PVN) e al nucleo dorsomediale dell'ipotalamo (DMH) e comunica bidirezionalmente con l'ipotalamo laterale (LH) e il nucleo arcuato (ARC). Il DMH funge da nucleo intermedio per la segnalazione sincronizzata con la luce proveniente dall'SCN, trasmettendo informazioni al PVN, all'LH e all'ARC. Oltre alle sue connessioni reciproche con l'SCN, l'ARC comunica bidirezionalmente informazioni controllate dall'orologio biologico con l'LH e l'ipotalamo ventromediale (VMH). Adattata da Doherty & Woodie (2026).

La sincronizzazione degli orologi periferici non è controllata solo gerarchicamente e verticalmente dall'orologio principale ipotalamico attraverso il sistema nervoso periferico, ma è realizzata anche orizzontalmente attraverso vie sia umorali che non umorali (Fagiani et al., 2022).

Il corpo umano contiene orologi circadiani autonomi in quasi tutti gli organi principali, ciascuno governato da circuiti di feedback trascrizionali-traduzionali che coinvolgono i geni dell'orologio centrale. Questi orologi periferici coordinano processi tessuto-specifici tra cui metabolismo, secrezione ormonale, difesa immunitaria e riparazione cellulare. Sebbene sincronizzati dal pacemaker centrale nel nucleo soprachiasmatico tramite segnali neurali e ormonali, gli oscillatori periferici possono anche essere sincronizzati da *zeitgeber* specifici come alimentazione, temperatura, attività fisica e glucocorticoidi (Bautista et al., 2025).

Il cuore, ad esempio, possiede un orologio circadiano intrinseco che regola le oscillazioni giornaliere del metabolismo cardiaco, della contrattilità, dell'elettrofisiologia e della

suscettibilità alle malattie. Pur essendo influenzato centralmente dal pacemaker SCN, l'orologio cardiaco opera autonomamente attraverso circuiti di transcription–translation feedback loops (TTFL) coinvolgendo geni quali *Clock*, *Bmal1*, *Per*, *Cry* e proteine recettoriali nucleari come REV-ERB e ROR (Young, 2006).

Queste evidenze sono state riscontrate anche per tessuti quali fegato (Reinke & Asher, 2016), tratto gastrointestinale (Zhao et al., 2022), tessuto adiposo (Froy & Garaulet, 2018), tessuto polmonare (Sundar et al., 2015), pancreas (Seshadri & Doucette, 2021) e muscolo scheletrico (Kiperman & Ma, 2024).

1.3 Architettura molecolare dell'orologio circadiano

La ritmicità circadiana nei mammiferi, a livello molecolare, è generata da una complessa rete di circuiti autoregolatori costituiti da transcription–translation feedback loops (TTFLs) (Takahashi, 2017). Tali oscillatori molecolari sono costituiti da fattori trascrizionali attivatori e repressori che regolano ciclicamente l'espressione reciproca dei clock genes attraverso una successione coordinata di eventi trascrizionali, traduzionali, post-traduzionali ed epigenetici. Il modello TTFL rappresenta il paradigma centrale della cronobiologia molecolare ed è responsabile della generazione di oscillazioni endogene con periodicità prossima alle ventiquattro ore, anche in assenza di stimoli ambientali esterni (Partch et al., 2014).

Il nucleo centrale dell'orologio circadiano è costituito dall'eterodimero CLOCK:BMAL1, formato dalle proteine CLOCK (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput) e BMAL1 (Brain and Muscle ARNT-Like 1). Entrambe le proteine possiedono un dominio basic helix-loop-helix N-terminale responsabile del legame al DNA e della dimerizzazione, associato a domini PAS (Per-Arnt-Sim) coinvolti nella stabilizzazione conformazionale del complesso trascrizionale (Figura 3) (Takahashi, 2017).

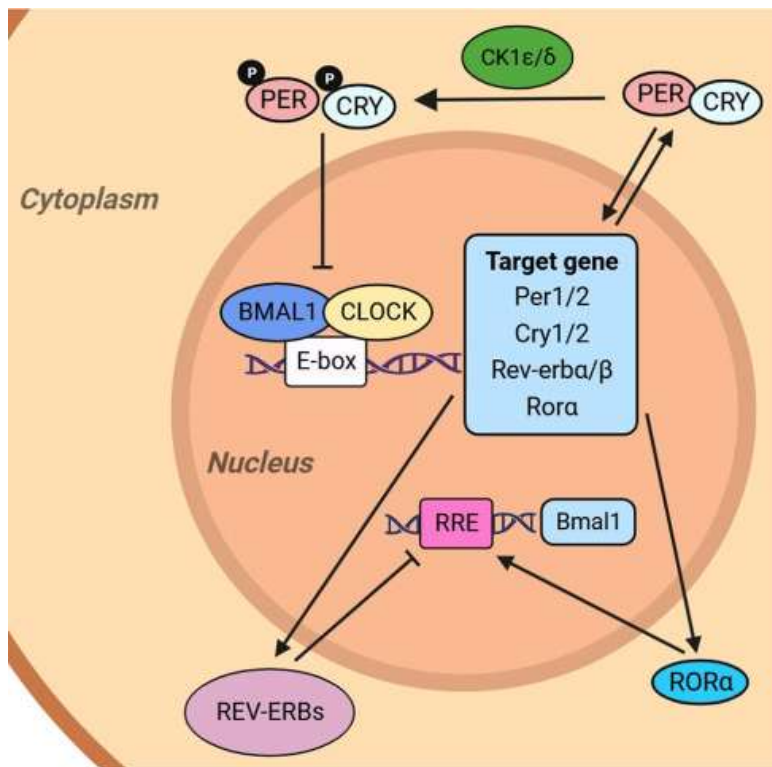


Figura 3/ Architettura molecolare dell'orologio circadiano nei mammiferi. Il complesso CLOCK:BMAL1 attiva la trascrizione dei geni *Per*, *Cry*, *Rev-erb* e *Ror* mediante il legame alle sequenze E-box. Le proteine PER e CRY formano un complesso repressore che inibisce l'attività trascrizionale di CLOCK:BMAL1, costituendo il principale circuito di feedback negativo. Il loop accessorio REV-ERB/ROR contribuisce alla regolazione ritmica dell'espressione di *Bmal1* e alla stabilità dell'oscillatore circadiano. Adattata da Watanabe et al. (2000)

Dopo l'eterodimerizzazione, il complesso CLOCK:BMAL1 si lega a specifiche sequenze regolatorie denominate E-box (5'-CACGTG-3'), localizzate nei promotori di numerosi geni circadiani. Tale interazione determina il reclutamento della macchina trascrizionale e l'attivazione dell'espressione dei geni Period (*Per1*, *Per2*, *Per3*) e Cryptochrome (*Cry1*, *Cry2*), oltre che di numerosi clock-controlled genes (CCGs) coinvolti nella regolazione ritmica di metabolismo energetico, omeostasi redox, secrezione endocrina, funzione immunitaria e proliferazione cellulare (Partch et al., 2014). Inoltre, CLOCK possiede attività istone-acetiltransferasica (HAT), contribuendo direttamente al rimodellamento ritmico della cromatina e alla modulazione dell'accessibilità trascrizionale (Menet et al.,

2014). Attraverso tali meccanismi epigenetici, il complesso CLOCK:BMAL1 coordina l'espressione temporale di circa il 15% del trascrittoma cellulare (Trott & Menet, 2018).

Dopo la trascrizione, gli mRNA dei geni *Per* e *Cry* vengono esportati nel citoplasma e tradotti nelle corrispondenti proteine PER e CRY. In una fase iniziale, tali proteine si accumulano progressivamente nel citoplasma formando complessi multiproteici associati a differenti regolatori post-traduzionali. La regolazione post-traduzionale costituisce uno degli elementi fondamentali del sistema circadiano, poiché introduce il ritardo temporale necessario alla generazione dell'oscillazione circadiana. In particolare, le proteine PER vengono fosforilate principalmente dalle chinasi casein kinase 1 δ e casein kinase 1 ϵ (CK1 δ/ϵ), che ne regolano stabilità conformazionale, localizzazione intracellulare, trasporto nucleare e suscettibilità alla degradazione proteasomiale. Analogamente, le proteine CRY sono sottoposte a complessi processi di fosforilazione e ubiquitinazione mediati da specifiche E3 ubiquitin ligasi, tra cui FBXL3 e FBXL21, che ne modulano l'emivita intracellulare e la stabilità funzionale. Alterazioni di tali meccanismi possono determinare modificazioni della lunghezza del periodo circadiano e fenomeni di desincronizzazione biologica.

Con l'aumentare della concentrazione intracellulare, le proteine PER e CRY formano complessi repressori che traslocano progressivamente nel nucleo cellulare. A livello nucleare, il complesso PER:CRY interagisce direttamente con CLOCK:BMAL1 reprimendone l'attività trascrizionale attraverso meccanismi multipli comprendenti inattivazione conformazionale del complesso trascrizionale, reclutamento di co-repressori e modulazione dello stato epigenetico della cromatina. L'inibizione dell'attività di CLOCK:BMAL1 determina la repressione della trascrizione dei geni *Per* e *Cry* stessi, configurando così il principale circuito autoregolatorio di feedback negativo del sistema circadiano.

Successivamente, le proteine PER e CRY vengono ubiquitinate e degradate dal sistema ubiquitina-proteasoma. La progressiva riduzione dei livelli intracellulari dei repressori determina la perdita dell'inibizione su CLOCK:BMAL1, consentendo la riattivazione del ciclo trascrizionale e l'inizio di una nuova oscillazione circadiana. La durata complessiva di tale ciclo dipende principalmente dalla cinetica dei processi di fosforilazione, trasporto

nucleare e degradazione proteica, che conferiscono al sistema proprietà di stabilità e autoregolazione (Liu & Sancar, 2026) (Otoabe & Yoshitane, 2026).

Accanto al circuito principale CLOCK:BMAL1/PER:CRY, il sistema circadiano comprende ulteriori loop regolatori accessori che contribuiscono alla robustezza e alla precisione dell'oscillatore molecolare. Tra questi, particolare rilevanza assume il circuito costituito dai recettori nucleari REV-ERB α e ROR α , coinvolti nella regolazione ritmica dell'espressione di Bmal1. In particolare, REV-ERB α reprime la trascrizione di Bmal1, mentre ROR α ne promuove l'attivazione, contribuendo alla modulazione fine dell'ampiezza delle oscillazioni circadiane (Solt et al., 2011).

REV-ERB è un membro cruciale della superfamiglia dei recettori nucleari, con due sottotipi principali identificati: REV-ERB α e REV-ERB β . In quanto importanti regolatori trascrizionali, i REV-ERB sono ampiamente espressi in varie cellule immunitarie, tra cui DC, macrofagi e cellule T (Ding et al., 2024).

2. RITMI CIRCADIANI E SISTEMA IMMUNITARIO

2.1 Ritmicità del sistema immunitario

È noto fin dai lavori pionieristici degli anni '60 e '70 che la risposta dei topi a vari agenti patogeni e ai loro prodotti biologicamente attivi, come endotossine ed esotossine batteriche e citochine pro-infiammatorie, è sotto controllo circadiano (Halberg et al., 1960) (Feigin et al., 1969) (Feigin et al., 1972).

Il sistema immunitario comprende una componente innata e una componente adattativa. L'immunità innata è la risposta di prima linea di difesa contro i segnali di pericolo esogeni ed endogeni e agisce attraverso meccanismi di riconoscimento non specifici. In questo processo, le cellule immunitarie innate, come i neutrofili, i macrofagi, le cellule dendritiche e le cellule linfoidi innate, vengono attivate e rilasciano alcuni fattori pro-infiammatori. Successivamente, si assiste all'infiltrazione di cellule immunitarie adattative (cellule T e cellule B) nei tessuti, le quali rappresentano una risposta più tardiva e specifica all'infiammazione. In seguito a stimolazione da parte di antigeni, le cellule T si differenziano in cellule T effettrici, che producono citochine pro-infiammatorie o antinfiammatorie, mentre le cellule B si differenziano in plasmacellule e producono anticorpi specifici (Sun et al., 2020).

Il sistema immunitario è ampiamente controllato dai ritmi circadiani, come dimostrano le variazioni circadiane dell'attività delle cellule immunitarie, dell'espressione genica e della produzione di citochine. Tra le principali evidenze vi è il ruolo del fattore nucleare regolato dall'interleuchina-3 (NFIL3), necessario per lo sviluppo delle cellule linfoidi innate (ILC), comprese le cellule *natural killer* (NK), mentre BMAL1 contribuisce alla regolazione dello sviluppo delle cellule B (Waggoner, 2020).

Uno studio condotto da He et al. (2018) ha dimostrato come le cellule immunitarie non migrano casualmente nei tessuti, ma seguono oscillazioni temporali determinate dall'orologio biologico, attraverso variazioni nell'espressione di chemochine, recettori chemiochinici, selectine e integrine. Nel complesso, numerose evidenze sperimentali

dimostrano come i ritmi circadiani influenzino profondamente lo sviluppo, la migrazione e la funzione delle cellule immunitarie innate e adattative. La Figura 4 riassume le principali popolazioni cellulari del sistema immunitario la cui funzione è influenzata dai ritmi circadiani (Zeng et al., 2024).

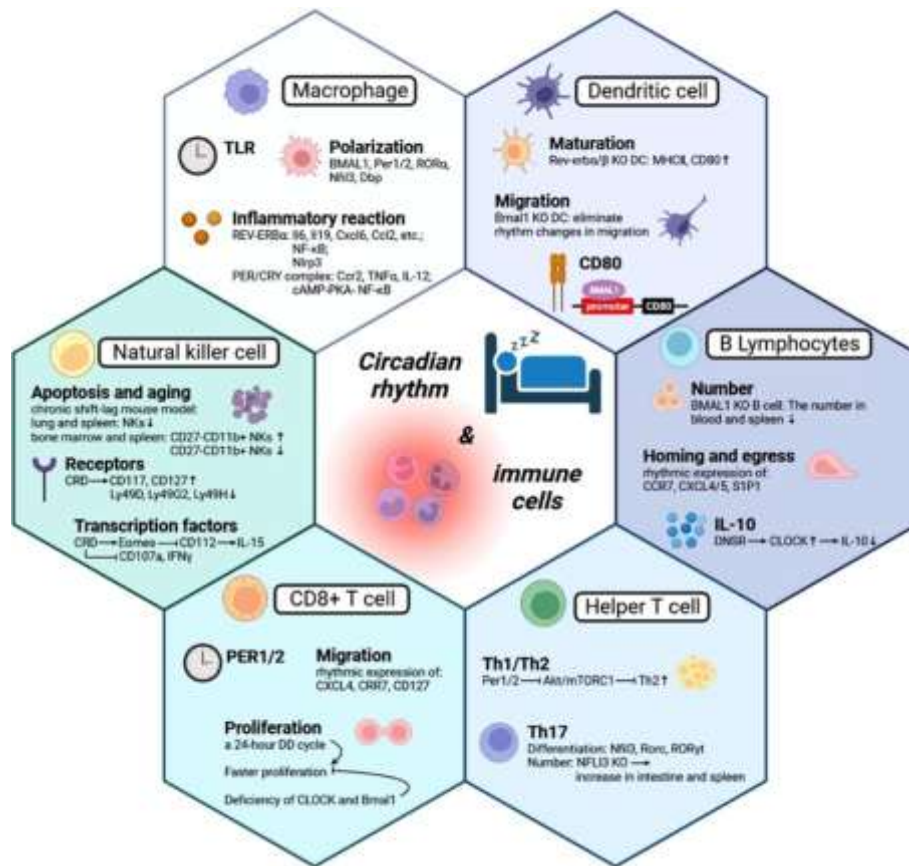


Figura 4/ Regolazione circadiana delle cellule del sistema immunitario. L'orologio biologico modula in modo ritmico le funzioni delle cellule immunitarie innate e adattative, influenzandone migrazione, differenziazione, proliferazione e attività effettrice. Adattata da Zeng et al. (2024).

Macrofagi

I macrofagi esprimono recettori Toll-like (TLR) che, riconoscendo specifici pattern molecolari associati ai patogeni (PAMP), attivano cascate di segnalazione intracellulari e inducono uno stato immunologicamente attivo, con produzione di citochine e chemochine

pro-infiammatorie (Zeng et al., 2024). In risposta ai segnali presenti nel microambiente, i macrofagi possono polarizzarsi in un fenotipo M1 pro-infiammatorio e M2 antinfiammatorio. La polarizzazione M1, tipicamente indotta da lipopolisaccaride (LPS) e IFN- γ , è caratterizzata da un'aumentata produzione di citochine come IL-1 β , IL-6 e TNF- α e da un marcato shift verso un metabolismo prevalentemente glicolitico; al contrario, la polarizzazione M2, promossa da stimoli come IL-4 e IL-13, è associata a un profilo antinfiammatorio, a un'elevata capacità fagocitica e a un maggiore utilizzo della fosforilazione ossidativa mitocondriale e della β -ossidazione degli acidi grassi (Kelly & O'Neill, 2015).

La funzione dei macrofagi è finemente regolata dall'orologio circadiano. È stato dimostrato che i macrofagi privi dei geni dell'orologio *Per1* e *Per2* mostrano un fenotipo costitutivamente pro-infiammatorio simile a M1, con un'aumentata espressione di geni citochinici e una ridotta capacità di modulare nel tempo la risposta allo stimolo, suggerendo che l'integrità del clock molecolare sia essenziale per prevenire un'attivazione cronica e non controllata di queste cellule (Xu et al., 2014). Anche i segnali endocrini circadiani contribuiscono a modulare la polarizzazione macrofagica: l'ormone melatonina, prodotto principalmente durante la notte dalla ghiandola pineale, è stata associata alla promozione del fenotipo M2 attraverso il coinvolgimento del recettore nucleare ROR α e di specifici segnali metabolici, favorendo l'espressione di geni associati alla risoluzione dell'infiammazione e alla riparazione tissutale (Ding et al., 2019).

I macrofagi secernono un ampio spettro di citochine e chemochine, tra cui IL-1 β , IL-6, TNF- α , CCL2 e CXCL10, che orchestrano il reclutamento e l'attivazione di altre cellule immunitarie e determinano l'andamento della risposta infiammatoria (Zeng et al., 2024). In questo contesto, il recettore nucleare REV-ERB α rappresenta un importante regolatore circadiano dell'attività macrofagica. Studi sperimentali hanno dimostrato che REV-ERB α agisce come repressore trascrizionale di numerosi geni pro-infiammatori, anche attraverso l'interferenza con il fattore di trascrizione NF- κ B e il reclutamento di complessi co-repressori contenenti deacetilasi istoniche (HDAC3), limitando così l'espressione di IL-6, IL-1 β , TNF- α e di diverse chemochine (Gibbs et al., 2012). Nei modelli murini, la mancanza di REV-ERB α nei macrofagi, in particolare in quelli alveolari, è associata a un marcato incremento della produzione di citochine infiammatorie, a una maggiore

suscettibilità alla sepsi indotta dal lipopolisaccaride (LPS) e a un'esacerbazione dell'infiammazione tissutale, evidenziando il ruolo di questo recettore come un importante regolatore negativo della risposta innata (Gibbs et al., 2012). Al contrario, l'attivazione farmacologica di REV-ERB α mediante agonisti sintetici è in grado di sopprimere la polarizzazione M1 indotta da LPS, ridurre la produzione di IL-6, TNF- α e altre citochine pro-infiammatorie e mostrare effetti protettivi in modelli di infiammazione sistemica e di complicanze immunomediate in gravidanza (Cui et al., 2021).

Neutrofili

I neutrofili costituiscono una componente fondamentale della risposta immunitaria innata. Dopo essere stati rilasciati dal midollo osseo nel flusso sanguigno, possono infiltrarsi nei tessuti infetti o infiammati per partecipare alle risposte immunitarie. In particolare, CXCR2 (Recettore 2 per le chemochine della famiglia CXC) svolge un ruolo fondamentale nel reclutamento dei neutrofili, mediando i segnali chemiochinici che promuovono l'attivazione delle integrine, l'adesione stabile all'endotelio e la successiva migrazione transendoteliale verso i siti di infezione o infiammazione. Studi condotti su modelli murini hanno mostrato un incremento del reclutamento di neutrofili nei tessuti periferici durante la fase attiva, soprattutto nel polmone e nel fegato, con una maggiore capacità di risposta contro agenti patogeni e danni tissutali. Durante la fase di riposo, invece, i neutrofili "aged", cioè invecchiati, riducono l'espressione di CXCR2 e aumentano quella di CXCR4 (Recettore 4 per le chemochine della famiglia CXC), migrando verso il midollo osseo dove vengono eliminati dai macrofagi residenti. Questo processo contribuisce al mantenimento dell'omeostasi immunitaria e alla risoluzione dell'infiammazione (He et al., 2018) (Maestroni, 2020).

Cellule natural killer (NK)

Le cellule *natural killer* (NK) sono linfociti dell'immunità innata in grado di riconoscere ed eliminare rapidamente cellule infette da virus e cellule tumorali, senza necessità di una preventiva sensibilizzazione antigenica specifica. La loro attività citotossica si basa principalmente sul rilascio di perforina e granzimi (in particolare granzima B) e sulla produzione di citochine pro-infiammatorie, tra cui TNF- α e IFN- γ , che contribuiscono all'attivazione di altre cellule immunitarie.

Numerose evidenze indicano che anche le cellule NK sono soggette a regolazione circadiana (Gatti et al., 1987) (Arjona & Sarkar, 2005). Esperimenti condotti su ratti dimostrato che queste cellule possiedono un proprio orologio molecolare funzionale. In particolare, Per1 e Per2 mostrano un picco di espressione in prossimità della transizione luce-buio (Oishi et al., 2002), mentre Bmal1 oscilla in antifase rispetto ai geni Per (Oishi et al., 1998) e Clock ha dimostrato di oscillare in fase con Bmal1 nel cuore (Young et al., 2001) e nel fegato (Preitner et al., 2002). In assenza di Per1, si verificano alterazioni nel ritmo dell'espressione di IFN γ , così come nell'espressione dei fattori citotossici perforina e granzima B, che successivamente influenzano l'uccisione mediata dalle cellule NK e le funzioni di regolazione immunitaria (Logan et al., 2013). Infine, Dbp, un fattore di trascrizione controllato dall'orologio circadiano, ha mostrato anche una forte oscillazione circadiana. Si ritiene che Dbp (D-box Binding Protein, fattore di trascrizione circadiano appartenente alla famiglia delle proteine PAR bZIP), generi segnali a monte per i processi fisiologici sotto regolazione circadiana, come è stato dimostrato per l'attività locomotoria e l'espressione di alcuni enzimi epatici. Inoltre, il ritmo circadiano dei livelli di trascrizione di Dbp è in fase con quello di Per1, come osservato in altri tessuti. Le oscillazioni circadiane di Dbp indicano in definitiva che l'orologio delle cellule NK è in grado di generare output funzionali (Arjona & Sarkar, 2008). Studi in volontari sani hanno mostrato che, in seguito all'aumento fisiologico dell'adrenalina nelle prime ore del mattino, si verifica un rapido incremento della loro proporzione nel sangue periferico, dovuto al rilascio dalle riserve vascolari e dagli organi linfoidi. Negli individui maschi sani, questo picco di mobilitazione delle cellule NK si manifesta tipicamente intorno alle 08:30, ed è accompagnato da un aumento transitorio dell'attività citotossica delle cellule NK (Lange et al., 2022).

Cellule dendritiche

Le cellule dendritiche (DC) sono le principali cellule presentanti l'antigene e rappresentano un nodo di raccordo tra immunità innata e adattativa. Nei modelli murini è stato osservato che la loro migrazione dai tessuti periferici verso i vasi linfatici e i linfonodi mostra una chiara ritmicità circadiana, con un aumento dell'ingresso nei vasi linfatici durante il giorno rispetto alla notte. La delezione del gene dell'orologio Bmal1 nelle DC abolisce questo andamento ritmico, indicando che un clock circadiano intrinseco

è necessario per il controllo temporale del traffico delle DC verso i linfonodi (Holtkamp et al., 2021). Oltre alla migrazione, il sistema circadiano modula il ruolo delle DC nell'immunità adattativa e antitumorale. Le DC esprimono in modo ritmico diversi geni dell'orologio e molecole co-stimolatorie, e questo si riflette sulla loro capacità di attivare i linfociti T. In modelli murini tumorali è stato dimostrato che le DC sono responsabili di risposte antitumorali che variano nelle 24 ore e che la perdita di *Bmal1* nelle DC attenua l'attivazione delle cellule T CD8⁺ e favorisce la crescita tumorale. A livello molecolare, nel promotore di *Cd80* (che codifica per la molecola CD80) sono stati identificati siti di legame per BMAL1, suggerendo una regolazione diretta di CD80 da parte del clock circadiano. Di conseguenza, l'espressione di CD80 sulle DC e il segnale co-stimolatore fornito alle cellule T CD8⁺ presentano un andamento ritmico, contribuendo alla variabilità circadiana dell'attivazione T citotossica (Zeng et al., 2024).

Linfociti T

I linfociti T mostrano un'espressione ritmica di recettori per le chemochine e di diverse molecole di superficie, e questo si traduce in modelli migratori e oscillazioni giornaliere nella loro distribuzione tra sangue, organi linfoidi secondari e tessuti periferici. In particolare, il cortisolo modula in modo circadiano l'espressione del recettore chemiotattico CXCR4 sulle cellule T, influenzandone la migrazione verso i siti che esprimono il suo ligando CXCL12 e regolando così i livelli di linfociti T naïve nel sangue umano. Negli individui sani, le cellule T naïve circolanti raggiungono il picco durante la notte e risultano ridotte durante il giorno, mentre le cellule T CD8⁺ effettrici mostrano l'andamento opposto, con un picco diurno sotto il controllo delle catecolamine e dell'attivazione adrenergica (Dimitrov et al., 2009). Questo suggerisce che i ritmi circadiani neuro-endocrini contribuiscano a “ridistribuire” in modo dinamico le diverse sottopopolazioni T nelle 24 ore, con possibili implicazioni per la sorveglianza immunitaria e la risposta a stimoli infiammatori acuti.

Nelle cellule T CD4⁺, i geni dell'orologio circadiano contribuiscono a modulare anche la polarizzazione funzionale. Il gene *Per1*, in particolare, è stato identificato come regolatore negativo della via di segnalazione Akt/mTORC1: la sua attivazione determina un freno su questa via, riducendo la produzione delle citochine caratteristiche dei linfociti T helper di tipo 1 (Th1, come IFN- γ) e favorendo invece la differenziazione delle cellule T CD4⁺

verso un profilo Th2, caratterizzato dall'espressione di IL-4 e IL-13 (Yang et al., 2020). Questo determina una regolazione circadiana della polarizzazione Th1/Th2, per cui in determinati momenti della giornata il compartimento T CD4⁺ è più orientato verso risposte cellulo-mediate (Th1), mentre in altri prevalgono le risposte umorali (Th2), con potenziali conseguenze sulla modulazione di processi infiammatori cronici e sulle malattie allergiche.

Il ritmo circadiano svolge un ruolo di primo piano anche nella regolazione delle cellule Th17, una sottopopolazione di linfociti T CD4⁺ effettori implicata nella difesa contro patogeni extracellulari ma anche nella patogenesi di numerose patologie infiammatorie croniche e autoimmuni, come artrite reumatoide, sclerosi multipla e malattie infiammatorie croniche intestinali (Korn et al., 2009). Studi sperimentali hanno dimostrato che il fattore di trascrizione NFIL3 (E4BP4), componente della rete circadiana, sopprime lo sviluppo delle cellule Th17 legandosi direttamente al promotore di Rorc (che codifica per ROR γ t) e reprimendone l'espressione (Yu et al., 2013). Poiché ROR γ t è il fattore trascrizionale chiave per la differenziazione Th17 e per la produzione di citochine come IL-17A e IL-17F, le oscillazioni circadiane di NFIL3 e Rorc si traducono in variazioni giornaliere nel numero e nella funzione delle cellule Th17. In modelli murini, la perturbazione di questi meccanismi circadiani è stata associata a una maggiore suscettibilità a quadri autoimmuni, come l'encefalomielite autoimmune sperimentale, suggerendo che un disallineamento del clock nei linfociti T possa contribuire alla cronicizzazione di stati infiammatori (Yu et al., 2013) (Korn et al., 2009).

Un ulteriore livello di controllo circadiano riguarda le cellule T regolatorie (Treg), fondamentali per il mantenimento della tolleranza immunitaria e per la prevenzione di risposte autoimmuni eccessive. È stato riportato che le Treg presentano variazioni circadiane nella loro frequenza e funzione soppressiva e che l'alterazione dei geni clock, come Bmal1, può modificare la capacità delle Treg di controllare l'infiammazione articolare in modelli di artrite sperimentale. In particolare, nelle artriti infiammatorie croniche, una disfunzione congiunta del clock sistemico e del clock delle cellule immunitarie (incluse T effettorie e Treg) contribuisce alla tipica ritmicità dei sintomi (peggioramento mattutino del dolore e della rigidità) e alla produzione notturna di citochine pro-infiammatorie, come IL-6 e TNF- α (Gibbs & Ray, 2013).

Linfociti B

Il ruolo dei ritmi circadiani nello sviluppo e nella funzione dei linfociti B è sempre più riconosciuto, con geni dell'orologio biologico come *Bmal1* che svolgono un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi immunitaria. È stato dimostrato che la carenza di *Bmal1* altera lo sviluppo e l'omeostasi delle cellule B, portando a una riduzione del numero di cellule B nel sangue e nella milza (Hergenhan et al., 2020). Tuttavia, è stato osservato che questo effetto non è mediato dal meccanismo circadiano intrinseco delle cellule B, ma piuttosto da componenti del microambiente del midollo osseo, dove *Bmal1* regola la differenziazione delle cellule B (Sun et al., 2006).

Le cellule stromali del midollo osseo (BMSC) creano una nicchia ematopoietica che supporta la sopravvivenza e la differenziazione dei progenitori delle cellule B. In queste cellule, *Bmal1* regola l'espressione di fattori di crescita essenziali, come IL-7, fondamentale per la sopravvivenza e la maturazione precoce delle cellule B. Gli osteoblasti, oltre al loro ruolo nella formazione ossea, contribuiscono allo sviluppo delle cellule staminali ematopoietiche (HSC) e dei lignaggi a valle, comprese le cellule B. L'attività di *Bmal1* negli osteoblasti modula la produzione di chemochine come CXCL12, che dirigono la migrazione e il posizionamento dei precursori delle cellule B all'interno del midollo. La carenza di *Bmal1* può compromettere questa funzione, portando alla disorganizzazione della nicchia e alla riduzione delle interazioni tra le cellule B e i fattori di supporto.

Le alterazioni del ritmo circadiano, come quelle osservate nei lavoratori turnisti, possono influenzare anche la funzione immunoregolatoria delle cellule B10. Questa sottopopolazione di linfociti B esercita un'importante azione antinfiammatoria attraverso la produzione di IL-10, una citochina che inibisce la proliferazione delle cellule T CD4⁺ e favorisce la differenziazione delle cellule T regolatorie di tipo 1 (Treg1). Studi condotti in lavoratori turnisti hanno evidenziato una significativa riduzione della produzione di IL-10, nonostante il numero di cellule B10 rimanesse sostanzialmente invariato. Questo fenomeno è stato associato a un'aumentata espressione del gene circadiano *Clock*, la cui attività mostra una correlazione inversa con i livelli di IL-10. Di conseguenza, la capacità delle cellule B10 di modulare la risposta immunitaria risulta compromessa, suggerendo

che la distruzione della ritmica circadiana possa contribuire allo sviluppo di alterazioni immunologiche (Q. Wang et al., 2022).

Nel complesso, le diverse popolazioni cellulari del sistema immunitario presentano marcate oscillazioni circadiane che ne influenzano distribuzione, migrazione e funzione (Ding et al., 2024). La Figura 5, adattata da Lange et al. (2022), illustra l’andamento circadiano delle principali popolazioni leucocitarie e di alcuni fattori plasmatici nell’arco delle 24 ore, evidenziando l’influenza del sonno sulla loro distribuzione ematica.

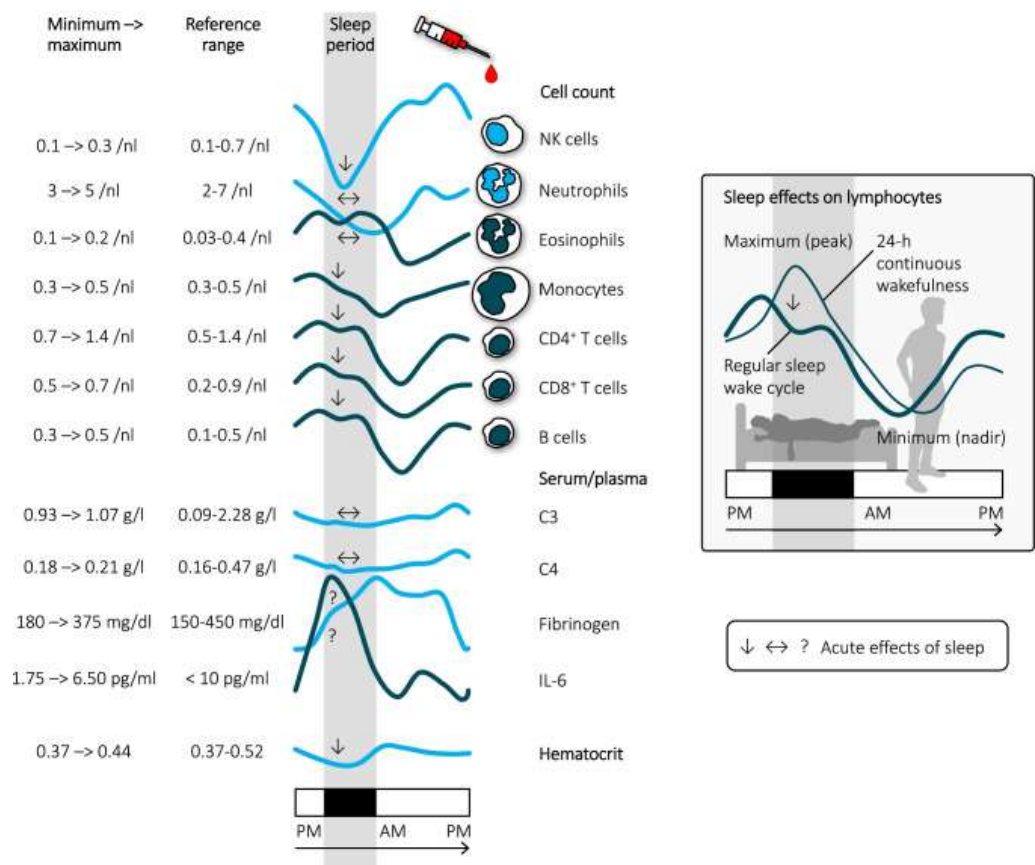


Figura 5/ Ritmicità circadiana del traffico leucocitario nell’uomo. Le principali popolazioni cellulari del sistema immunitario mostrano oscillazioni giornaliere nella loro concentrazione ematica, influenzate dall’orologio circadiano e dal ciclo sonno-veglia. Le aree ombreggiate indicano il periodo di sonno, durante il quale si verificano modificazioni nella distribuzione dei leucociti tra sangue e tessuti. Adattata da Lange et al. (2022).

2.2 Oscillazioni circadiane delle citochine

Le citochine comprendono un gruppo eterogeneo di molecole di segnalazione, tra cui IL, fattori stimolanti le colonie (CSF), interferoni (IFN) e TNF. Sono sintetizzate e rilasciate da un ampio spettro di cellule immunitarie e non immunitarie come leucociti, cellule endoteliali, adipociti e cellule gliali. Le citochine sono essenziali per modulare le risposte immunitarie e sono indispensabili per l'autodifesa contro le infezioni. D'altra parte, quando le citochine vengono prodotte in quantità eccessive, si può instaurare una risposta infiammatoria sistemica eccessiva, che può contribuire a gravi manifestazioni patologiche osservate nella sepsi e in alcune malattie autoimmuni e allergiche (Nakao, 2014).

Le citochine pro-infiammatorie, tra cui IL-1 β , TNF- α e IL-6, sono componenti essenziali della difesa dell'ospite, in quanto facilitano il reclutamento dei leucociti, innescano risposte febbrili e attivano meccanismi effettori immunitari durante infezioni e diversi danni tissutali.

In particolare, negli esseri umani sani con ritmo circadiano, IL-1 β e TNF- α presentano ritmi diurni con picchi notturni che si verificano prevalentemente durante la parte iniziale della notte dominata dal sonno a onde lente (SWS) e sono strettamente collegati al sonno non REM. Grazie alle loro proprietà sonnifere, queste citochine promuovono la profondità del sonno e l'attività a onde lente (Cammisa et al., 2026). Le citochine associate all'attività dei linfociti T, IFN- γ e IL-10, mostrano un picco intorno alle 03:00 (Zeng et al., 2024).

IL-6, invece, presenta un profilo bifasico in cui si registra un primo picco nelle ore serali e un secondo picco nelle prime ore del mattino. La sua secrezione notturna risulta fortemente influenzata dalla presenza e dalla continuità del sonno, tanto che la privazione di sonno può ridurne l'entità o ritardarne la comparsa, determinando una maggiore attività infiammatoria nelle ore diurne (Cammisa et al., 2026). Tutto ciò, evidenzia il ruolo centrale dell'interazione tra sonno, ritmicità circadiana e regolazione dei processi infiammatori (Cammisa et al., 2026).

Gli effetti delle citochine sul sonno sono ulteriormente mediati dalle vie neuroendocrine, in particolare dall'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) e dalla

segnalazione dell'ormone di rilascio della corticotropina (CRH) (Kapsimalis et al., 2005). Diversi studi hanno dimostrato che la somministrazione di IL-6 è in grado di attivare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), determinando un aumento della secrezione dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH) e cortisolo. Questo suggerisce che IL-6 possa influenzare direttamente l'attività dell'asse HPA, almeno in parte indipendentemente dai tradizionali meccanismi di regolazione mediati dall'ormone di rilascio della corticotropina (CRH). Parallelamente, i glucocorticoidi esercitano un effetto di feedback negativo sulla produzione di IL-6, contribuendo al controllo della risposta infiammatoria in condizioni fisiologiche.

Elevate concentrazioni di IL-6 nelle ore serali e nella prima parte della notte sono associate a una maggiore attivazione dell'asse HPA e ad un incremento della secrezione di cortisolo, condizioni che favoriscono lo stato di vigilanza e possono ostacolare sia l'addormentamento che il mantenimento del sonno. Al contrario, durante il sonno a onde lente (SWS) si osserva una riduzione dell'attività dell'asse HPA e dei livelli di cortisolo, creando un contesto favorevole al controllo della produzione di IL-6 e al mantenimento dell'equilibrio immuno-neuroendocrino. La deprivazione o la frammentazione del sonno alterano questo equilibrio, determinando un aumento persistente dei livelli di IL-6 e una prolungata attivazione dell'asse HPA. Tale condizione può instaurare un circolo vizioso in cui infiammazione, risposta allo stress e disturbi del sonno si alimentano reciprocamente, contribuendo al mantenimento della disfunzione fisiologica (Redwine et al., 2000).

La regolazione circadiana delle citochine rappresenta solo uno degli aspetti attraverso cui l'orologio biologico modula la risposta immunitaria. Tali effetti sono infatti mediati anche da importanti vie neuro-endocrine che collegano il sistema nervoso centrale agli organi immunitari periferici.

2.3 Controllo neuro-endocrino della risposta immunitaria

Il sistema circadiano esercita una profonda influenza sulla funzione immunitaria attraverso complessi meccanismi neuro-endocrini. Il nucleo soprachiasmatico (SCN),

principale pacemaker circadiano dell'organismo, coordina numerosi processi fisiologici mediante il controllo di ormoni e neurotrasmettitori coinvolti nella risposta immunitaria. Uno dei principali meccanismi attraverso cui il SCN sincronizza i tessuti periferici è rappresentato dalla regolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), che controlla il rilascio di glucocorticoidi da parte della corteccia surrenalica. Parallelamente, il SCN modula anche l'attività del sistema nervoso simpatico, influenzando il rilascio di catecolamine da parte della midollare del surrene (Cutolo et al., 2011). Il SCN proietta al nucleo paraventricolare dell'ipotalamo, modulando il rilascio dell'ormone di rilascio della corticotropina (CRH), che a sua volta stimola la secrezione di ACTH da parte dell'ipofisi regolando di conseguenza l'attività surrenalica (Dibner et al., 2010). I glucocorticoidi, in particolare il cortisolo, le catecolamine e la melatonina, modulano numerose funzioni immunitarie.

Glucocorticoidi

I glucocorticoidi esercitano le loro funzioni legandosi al recettore intracellulare dei glucocorticoidi (GR). Il legame GC-GR induce il GR a dimerizzare, traslocare nel nucleo e legarsi a specifiche sequenze di DNA, note come elementi di risposta ai glucocorticoidi (GRE), per attivare o reprimere la trascrizione dei geni bersaglio (Figura 6).

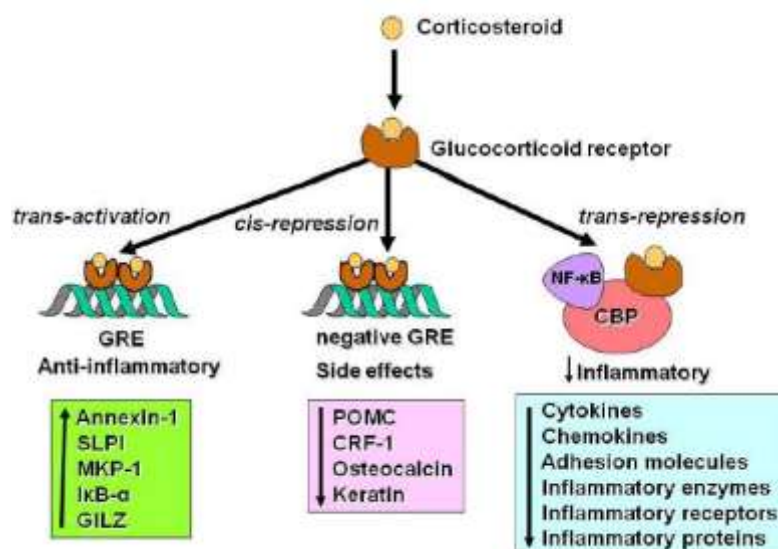


Figura 6/ Regolazione della trascrizione genica mediata dal recettore dei glucocorticoidi (GR). Il legame dei glucocorticoidi al GR induce la modulazione dell'espressione genica mediante interazione con elementi di risposta ai glucocorticoidi (GRE e nGRE) e attraverso la transrepressione di fattori trascrizionali pro-infiammatori, quali NF-κB, contribuendo al controllo della risposta immunitaria e dell'infiammazione. Adattata da Barnes (2011).

Ad esempio, il GR transattiva i fattori antinfiammatori GILZ e I κ B α , mentre sopprime l'espressione di citochine e mediatori dell'infiammazione, come IL-6 e la componente 3 del sistema del complemento attraverso il nGRE (elemento di risposta negativo ai glucocorticoidi) (Surjit et al., 2011). Inoltre, il GR può sopprimere l'espressione dei fattori infiammatori interagendo direttamente con altri fattori trascrizionali come NF- κ B e AP-1 attraverso la transrepressione. Recenti evidenze hanno inoltre dimostrato che i glucocorticoidi regolano l'espressione di diversi geni clock, tra cui Per1 e Per2, recettori nucleari (REV-ERB α) e fattori di trascrizione (NFIL3), contribuendo al mantenimento delle oscillazioni circadiane nei tessuti immunitari.

Studi sperimentali hanno dimostrato che le oscillazioni circadiane dei glucocorticoidi influenzano anche la distribuzione delle cellule immunitarie durante le ventiquattro ore. In particolare, l'espressione del recettore per l'interleuchina-7 (IL-7R α) e del recettore chemiotattico CXCR4 nei linfociti T segue un andamento circadiano dipendente dal segnale glucocorticoide, favorendo la migrazione delle cellule T verso gli organi linfoidi secondari e contribuendo alla ritmicità delle risposte immunitarie adattative (Shimba & Ikuta, 2020).

Catecolamine

Le catecolamine (principalmente noradrenalina e adrenalina) costituiscono il braccio efferente rapido del controllo circadiano autonomico, mostrando una marcata oscillazione nelle ventiquattro ore guidata dall'output simpatico-eccitatorio del SCN. Gli organi linfoidi (midollo osseo, milza e linfonodi), presentano una fitta innervazione da parte delle fibre nervose simpatiche che rilasciano noradrenalina direttamente nel microambiente immunitario in modo ritmico. Le cellule dell'immunità innata e adattativa rispondono a questo segnale temporale grazie all'elevata espressione di recettori β 2-adrenergici sulla loro superficie (Nakai et al., 2014).

È stato dimostrato che il rilascio circadiano di noradrenalina da parte del sistema simpatico modula l'espressione ritmica delle molecole di adesione endoteliale (come ICAM-1 e VCAM-1) e di chemochine chiave a livello vascolare, orchestrando il

reclutamento periodico dei leucociti dal sangue ai tessuti. Inoltre, a livello dei linfonodi, il tono adrenergico funge elemento chiave per il ricircolo linfocitario (Scheiermann et al., 2012). L'attivazione dei recettori β 2-adrenergici induce infatti un segnale intracellulare che inibisce dinamicamente la risposta dei linfociti al gradiente di sfingosina-1-fosfato, il principale mediatore biochimico responsabile della loro fuoriuscita verso la circolazione linfatica. Questo blocco recettoriale temporaneo determina una ritenzione circadiana dei linfociti T e B all'interno degli organi linfoidei secondari durante le ore di massima attività biologica, ottimizzando le probabilità di incontro con potenziali antigeni e sincronizzando la sorveglianza immunitaria globale con i ritmi comportamentali dell'organismo (Nakai et al., 2014).

Melatonina

La melatonina, ormone prodotto dalla ghiandola pineale prevalentemente durante le ore notturne, rappresenta uno dei principali mediatori endocrini del sistema circadiano con effetti immunomodulatori. La melatonina esercita i propri effetti biologici attraverso il legame con specifici recettori di membrana e nucleari.

I principali recettori di membrana, MT1 e MT2, appartengono alla famiglia dei recettori accoppiati a proteine G e sono responsabili della maggior parte delle vie di segnalazione intracellulari mediate dalla melatonina. L'attivazione di tali recettori influenza la fosforilazione di diverse chinasi e l'attività di proteine coinvolte nella regolazione del ciclo cellulare, della risposta allo stress e dell'infiammazione, tra cui p21, p38 e p53. Tra i meccanismi maggiormente studiati vi è l'inibizione dell'attività del fattore nucleare κ B (NF- κ B), uno dei principali regolatori della trascrizione di citochine pro-infiammatorie, chemochine e altri mediatori dell'infiammazione. Inoltre, la melatonina è stata associata a una riduzione dell'attivazione dell'inflammasoma NLRP3, complesso multiproteico coinvolto nella maturazione di citochine come IL-1 β e IL-18. Attraverso questi meccanismi, la melatonina contribuisce a limitare l'eccessiva attivazione della risposta infiammatoria e a coordinare temporalmente l'attività immunitaria in relazione ai ritmi circadiani dell'organismo, come illustrato nella Figura 7 (Tarocco et al., 2019).

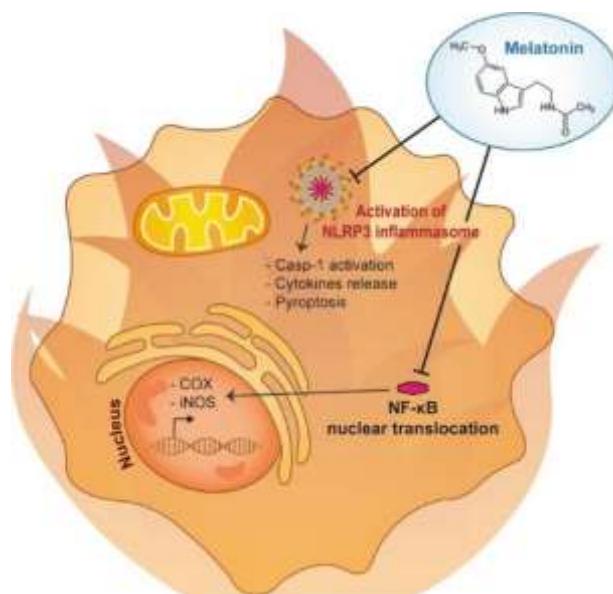


Figura 7/ Meccanismi antinfiammatori della melatonina. La melatonina modula la risposta immunitaria inibendo la traslocazione nucleare del fattore di trascrizione NF-κB e l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3, riducendo la produzione di mediatori pro-infiammatori, il rilascio di citochine e i processi di piroptosi. Adattata da Tarocco et al. (2019).

Oltre ai recettori di membrana, è stato ipotizzato che la melatonina possa modulare i recettori nucleari appartenenti alla famiglia ROR/RZR, tra cui RORα1, RORα2 e RZRα. Attraverso questi recettori, è in grado di regolare direttamente l'espressione genica e di influenzare il rilascio di citochine da parte delle cellule immunitarie, contribuendo alla modulazione della risposta immunitaria e dei processi infiammatori (Moslehi et al., 2022).

2.4 Disallineamento circadiano

Al sorgere del sole, gli stimoli luminosi vengono captati dalle cellule gangliari retiniche intrinsecamente fotosensibili (ipRGC) e trasmessi al SCN. Attraverso una rete di connessioni neurali che coinvolgono il ganglio cervicale superiore e la ghiandola pineale, la luce favorisce la soppressione della secrezione di melatonina, contribuisce al fisiologico incremento mattutino dei livelli di cortisolo e modula l'attività dei sistemi

serotoninergici e dopaminergici. Questa alternanza ritmica contribuisce a sincronizzare le funzioni immunitarie con il ciclo luce-buio.

La perdita di sincronizzazione tra i ritmi circadiani e i processi immunitari può determinare importanti conseguenze patologiche. Tale disallineamento può essere determinato da molteplici fattori, tra cui condizioni ambientali, comportamenti sociali e stili di vita, come l'esposizione prolungata alla luce artificiale, il lavoro a turni, i viaggi transmeridiani e l'irregolarità degli orari di sonno e alimentazione. Numerose evidenze scientifiche hanno associato il disallineamento circadiano all'insorgenza e alla progressione di diverse patologie, tra cui disturbi del ritmo sonno-veglia, come insonnia e jet-lag, malattie oncologiche, obesità, artrite, aterosclerosi e disturbi dell'umore (Fishbein et al., 2021) (Chaput et al., 2023) (Steffens et al., 2017). Inoltre, sono state osservate ripercussioni sulla regolazione ritmica della risposta immunitaria, con aumento della suscettibilità alle infezioni e riduzione dell'efficacia delle vaccinazioni (Faraut et al., 2022). Un altro studio ha riportato come la disregolazione circadiana potrebbe contribuire ad esacerbare le reazioni allergiche nella mucosa nasale e nei tessuti polmonari aumentando la risposta immunitaria di tipo Th2 (Cheng et al., 2022). Hedström et al. (2017) hanno evidenziato un'associazione tra lavoro notturno e rischio di artrite reumatoide probabilmente in relazione al disallineamento dei ritmi circadiani classici in una popolazione di oltre 4000 soggetti tra controlli e turnisti. Anche alcune condizioni patologiche preesistenti possono contribuire alla compromissione dell'organizzazione circadiana.

Il sonno esercita un ruolo cruciale nella regolazione del sistema immunitario e nel mantenimento dell'equilibrio infiammatorio dell'organismo. La sua privazione o insufficienza è associata a un incremento della risposta infiammatoria sistemica, con conseguente aumento del rischio di sviluppare patologie croniche (Garbarino et al., 2021). La deprivazione del sonno può favorire lo sviluppo di processi patologici attraverso l'aumento della produzione di diverse citochine pro-infiammatorie e l'alterazione di importanti meccanismi immunoregolatori (Figura 8).

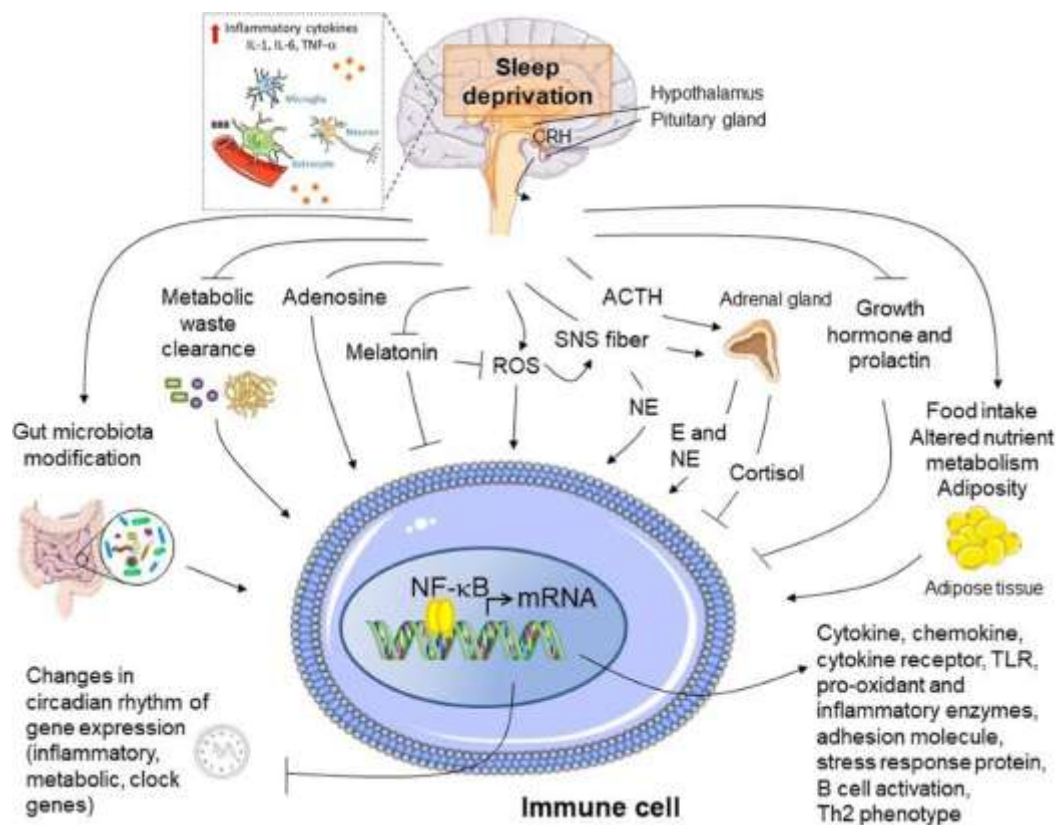


Figura 8/ Effetti della privazione del sonno sulla risposta immunitaria. La perdita di sonno altera numerosi sistemi neuro-endocrini e metabolici, tra cui l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, il sistema nervoso simpatico, la secrezione di melatonina e il metabolismo energetico. Queste alterazioni promuovono l'attivazione di NF-κB nelle cellule immunitarie, aumentando la produzione di citochine pro-infiammatorie e contribuendo allo sviluppo di uno stato infiammatorio cronico. Adattata da Garbarino et al. (2021).

In particolare, una ridotta qualità del sonno è stata associata a un incremento dei livelli di TNF-α e IL-6, mediatori chiave della risposta infiammatoria (Prather et al., 2009). IL-6, oltre a promuovere l'infiammazione, contribuisce alla differenziazione delle cellule T helper 17 (Th17), favorisce processi immunologici associati alla produzione di autoanticorpi e alla formazione di immunocomplessi, i quali potrebbero intensificare l'infiammazione cronica promuovendo l'angiogenesi e il reclutamento di cellule infiammatorie nei siti di infiammazione, nonché l'erosione della cartilagine e dell'osso (Volin & Shahrara, 2011).

È stata riscontrata anche una riduzione della funzione soppressiva delle cellule T regolatorie (Treg), una popolazione cellulare fondamentale per il mantenimento

dell'omeostasi immunitaria e per il controllo delle risposte immunitarie eccessive. L'alterazione dell'attività delle Treg può compromettere i meccanismi di tolleranza verso gli antigeni self, favorendo lo sviluppo di condizioni autoimmuni (Carbone et al., 2014).

Inoltre, la deprivazione del sonno determina l'attivazione della via di segnalazione NF- κ B, relazione dimostrata per la prima volta alla fine degli anni '90 nei topi. I potenziali segnali di attivazione di NF- κ B in condizioni di privazione del sonno includono livelli aumentati di adenosina, stress ossidativo, metabolismo alterato (obesità e ridotta sensibilità all'insulina), proteine/metaboliti cerebrali (ad es. A β), soppressione della melatonina e picco di catecolamine dovuto ad un'aumentata attività simpatica (Garbarino et al., 2021).

Recenti evidenze suggeriscono inoltre che il rapporto tra sistema circadiano e immunità sia bidirezionale. Come già anticipato nei paragrafi 2.1 e 2.2, sebbene il clock biologico regoli la funzione immunitaria, i segnali infiammatori possono a loro volta influenzare l'espressione dei geni circadiani. Ad esempio, la carenza del gene *Bmal1* determina una riduzione dell'attività del fattore di trascrizione NRF2 (Fattore nucleare eritroide 2 correlato al fattore 2), coinvolto nei meccanismi di difesa dallo stress ossidativo, favorendo la produzione di citochine pro-infiammatorie (Early et al., 2018). Allo stesso modo, la produzione di citochine come TNF- α e IFN- γ è stata associata ad alterazioni dell'espressione di *Bmal1* e REV-ERB α , suggerendo l'esistenza di circuiti di feedback in grado di perpetuare stati infiammatori cronici (Dar et al., 2025) (Teppan et al., 2024).

3. ARTRITE REUMATOIDE

3.1 Definizione, epidemiologia ed eziologia

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia autoimmune infiammatoria cronica che colpisce circa lo 0,5-1% della popolazione adulta e si presenta con una frequenza da due a tre volte maggiore nelle donne rispetto agli uomini (Venetsanopoulou et al., 2023).

La malattia è caratterizzata da un'inflammatione cronica della membrana sinoviale delle articolazioni ed è caratterizzata da sintomi quali dolore articolare, gonfiore, rigidità e ridotta mobilità. Il coinvolgimento di tendini e borse sierose è frequente e spesso clinicamente dominante nelle fasi iniziali della malattia. L'AR può colpire qualsiasi articolazione, ma si riscontra solitamente nelle articolazioni metacarpo-falangee, interfalangee prossimali e metatarso-falangee, nonché nei polsi e nelle ginocchia. Le manifestazioni articolari e periarticolari includono gonfiore e dolorabilità alla palpazione, con rigidità mattutina e grave limitazione del movimento nelle articolazioni interessate. La malattia presenta un decorso clinico eterogeneo e spesso fluttuante, con una prognosi variabile tra i pazienti. L'artrite reumatoide è una causa di disabilità epidemiologicamente rilevante (Sharma et al., 2025).

Lo sviluppo dell'artrite reumatoide è il risultato di una complessa interazione tra fattori genetici, ambientali e individuali. Sebbene l'eziologia della malattia non sia ancora completamente chiarita, numerose evidenze scientifiche hanno identificato diversi fattori di rischio in grado di favorire la perdita della tolleranza immunologica e l'attivazione dei processi autoimmuni che caratterizzano la patologia. Tra questi, particolare importanza rivestono il fumo di sigaretta, le infezioni, le alterazioni del microbiota, alcuni fattori dietetici e la predisposizione genetica, come illustrato nella Figura 9 (Venetsanopoulou et al., 2023).

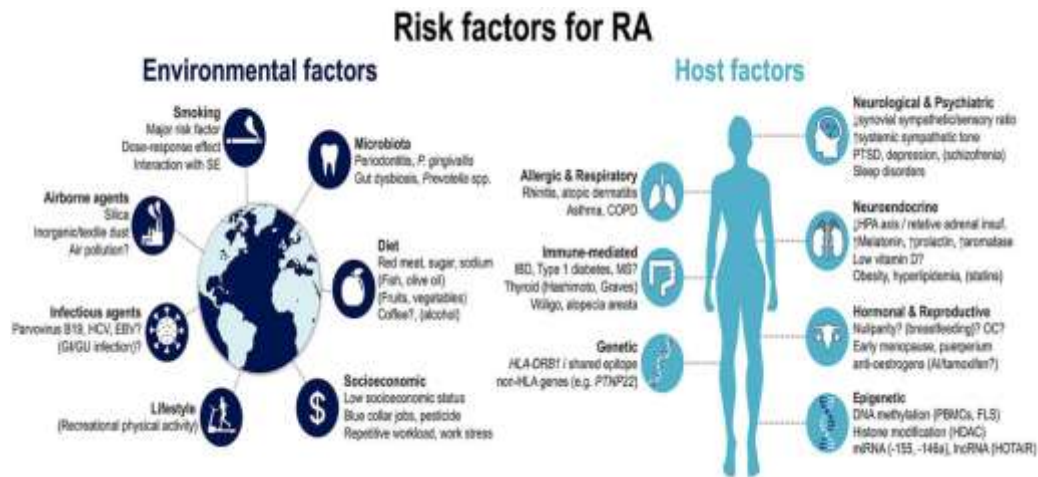


Figura 9/ Principali fattori di rischio associati all'artrite reumatoide. La figura illustra l'interazione tra fattori ambientali (fumo di sigaretta, infezioni, alterazioni del microbiota, dieta, esposizioni professionali e condizioni socioeconomiche) e fattori dell'ospite, tra cui predisposizione genetica, alterazioni immunitarie, fattori ormonali, neuroendocrini ed epigenetici, che contribuiscono allo sviluppo e alla progressione della malattia. Adattata da Romão & Fonseca (2021).

In particolare, sono stati descritti polimorfismi nei geni che codificano le molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe II, soprattutto HLA-DRB1 (*Human Leukocyte Antigen-DR beta 1*), coinvolto nella presentazione di peptidi autoantigenici ai linfociti T. Alterazioni genetiche sono state inoltre osservate in geni coinvolti nella regolazione della risposta immunitaria e delle vie di segnalazione infiammatorie, tra cui il recettore dell'interleuchina-6 (IL-6R), PTPN22, STAT3 e TNFAIP3. La perdita della tolleranza immunologica e l'attivazione delle cellule immunitarie determinano la produzione di numerose citochine pro-infiammatorie che contribuiscono alla fisiopatologia dell'AR, tra cui TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, IL-32, IL-33 e il fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi (GM-CSF) (Drosos & Voulgari, 2026).

3.2 Immunopatogenesi dell'artrite reumatoide

L'immunopatogenesi dell'artrite reumatoide è il risultato di una complessa interazione tra predisposizione genetica, fattori ambientali e meccanismi immunitari che conducono alla perdita della tolleranza verso antigeni self e allo sviluppo di un'inflammatione

sinoviale cronica. Per comprendere la patogenesi immunitaria dell'artrite reumatoide, è necessario avere una chiara visione dell'articolazione sinoviale, il cui coinvolgimento rappresenta il segno distintivo della malattia. L'articolazione sinoviale è costituita da due superfici ossee rivestite da cartilagine articolare e racchiuse all'interno di una capsula articolare. Lo strato interno della capsula articolare, chiamato sinovia o membrana sinoviale, è riccamente vascolarizzato e innervato. Le principali cellule residenti della membrana sinoviale sono i sinoviociti macrofago-simili (tipo A o *Macrophage-like synoviocytes*) e i sinoviociti fibroblasto-simili (tipo B o *fibroblast-like synoviocytes*, FLS). Nella sinovia sono inoltre presenti cellule dendritiche, mastociti e altre cellule immunitarie residenti (F. Zhang et al., 2019). La struttura generale dell'articolazione sinoviale è schematizzata nella Figura 10.

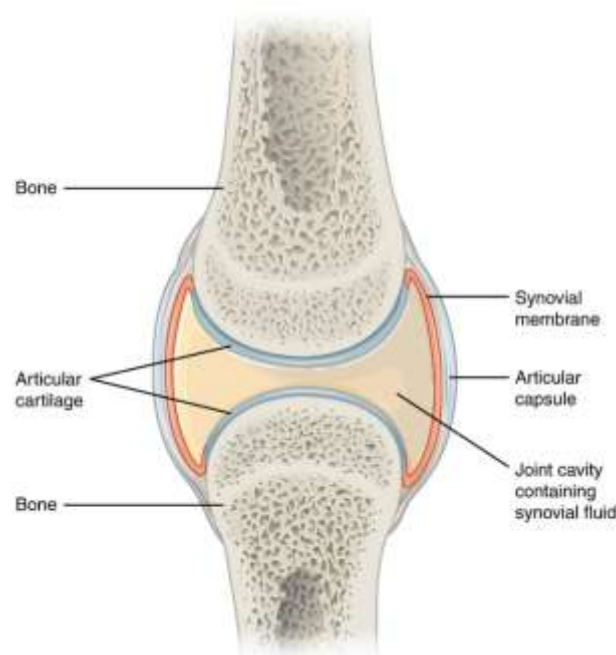
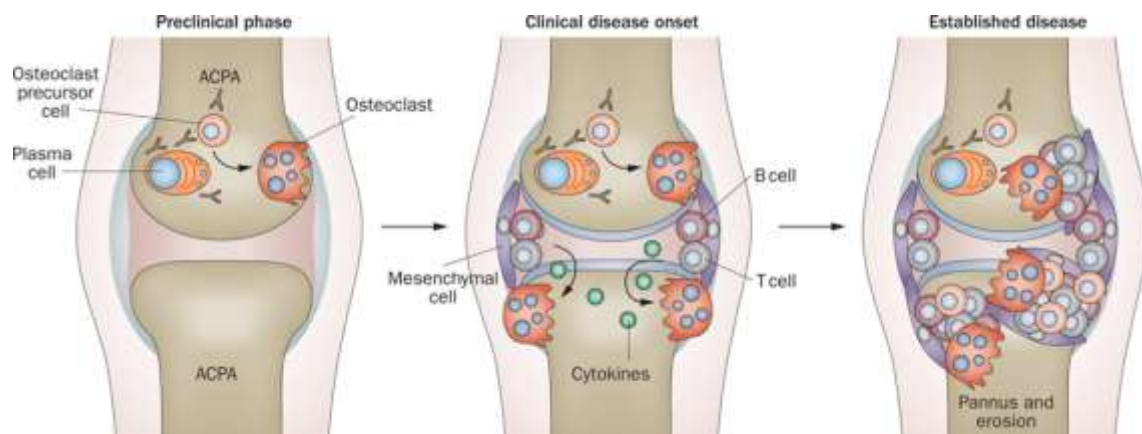


Figura 10/ Struttura di un'articolazione sinoviale normale. Sono evidenziati l'osso subcondrale, la cartilagine articolare, la capsula articolare, la membrana sinoviale e la cavità articolare contenente il liquido sinoviale. La membrana sinoviale riveste internamente la capsula articolare ed è responsabile della produzione del liquido sinoviale, fondamentale per la lubrificazione e il nutrimento della cartilagine articolare. Adattata da Open Resources for Nursing (2023).

In presenza di condizioni infiammatorie, tra cui l'AR, le cellule infiammatorie infiltrano la sinovia e secernono mediatori infiammatori che non solo causano iperplasia e angiogenesi della membrana sinoviale, ma favoriscono anche la formazione del *pannus* reumatoide, un tessuto sinoviale patologico iperplastico, altamente vascolarizzato e ricco di cellule infiammatorie. Il *pannus* invade progressivamente la cartilagine articolare e l'osso subcondrale, contribuendo al danno strutturale attraverso il rilascio di citochine pro-infiammatorie, metalloproteinasi della matrice (MMP) e altri mediatori del danno tissutale (Figura 11). Di conseguenza, l'infiammazione porta alla distruzione della cartilagine e all'erosione dell'osso subcondrale attraverso processi che coinvolgono anche i condrociti e gli osteoclasti (Karmakar et al., 2010).



Abbreviazioni: ACPA=anti-citrullinated protein autoantibodies

Figura 11/ Schema delle principali alterazioni patologiche della membrana sinoviale nell'artrite reumatoide. L'infiltrazione di cellule immunitarie e l'attivazione dei fibroblasti sinoviali determinano la produzione di citochine pro-infiammatorie, la formazione del pannus e l'attivazione degli osteoclasti, promuovendo la progressiva degradazione della cartilagine articolare e l'erosione dell'osso subcondrale. Adattata da Schett & Gravallese (2012).

La perdita della tolleranza immunologica rappresenta uno degli eventi iniziali più importanti nella patogenesi dell'artrite reumatoide. In individui geneticamente predisposti, fattori ambientali quali il fumo di sigaretta, alcune infezioni e le alterazioni del microbiota possono favorire modificazioni post-traduzionali delle proteine self, tra cui la citrullinazione (Venetsanopoulou et al., 2023). Questo processo consiste nella conversione enzimatica dei residui di arginina in citrullina ad opera delle peptidil-arginina

deiminasi (PAD), determinando la formazione di neoantigeni potenzialmente riconosciuti come estranei dal sistema immunitario (Darrah & Andrade, 2018).

La suscettibilità genetica associata a particolari alleli del gene HLA-DRB1 facilita la presentazione di tali antigeni citrullinati ai linfociti T CD4⁺ da parte delle cellule dendritiche. Queste ultime svolgono infatti un ruolo fondamentale nell'avvio della risposta autoimmune, catturando le proteine modificate, processandole e presentandole attraverso le molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe II. L'attivazione dei linfociti T autoreattivi promuove successivamente la produzione di citochine pro-infiammatorie e la stimolazione dei linfociti B (Weyand & Goronzy, 2021).

I linfociti B attivati vanno incontro a differenziamento in plasmacellule e producono autoanticorpi caratteristici della malattia, tra cui il fattore reumatoide (RF) e gli anticorpi anti-proteine citrullinate (ACPA). Gli ACPA possono essere rilevati nel siero anche diversi anni prima della comparsa delle manifestazioni cliniche dell'artrite reumatoide e rappresentano uno dei marcatori più specifici della malattia. La formazione di immunocomplessi contenenti RF e ACPA contribuisce all'attivazione del complemento e all'amplificazione della risposta infiammatoria, favorendo il reclutamento di ulteriori cellule immunitarie nella membrana sinoviale e la progressione del danno articolare (Weyand & Goronzy, 2021).

Durante l'infiammazione articolare, diverse cellule infiammatorie vengono reclutate nella sinovia, tra cui cellule T, cellule B, monociti, cellule dendritiche, mastociti, neutrofili e cellule NK. Sia le cellule T CD4⁺ (incluse Th1, Th17 e Th22) che le cellule T CD8⁺ sono presenti nella sinovite e contribuiscono alla patogenesi della malattia secernendo vari mediatori pro-infiammatori (Mellado et al., 2015). Un ulteriore meccanismo coinvolto nella progressione della risposta autoimmune nell'artrite reumatoide riguarda l'alterazione delle cellule T follicolari helper (Tfh), una sottopopolazione di linfociti T CD4⁺ fondamentale nella regolazione della risposta anticorpale. Le Tfh, attraverso l'espressione di molecole co-stimolatorie come ICOS e CD40L e la produzione della citochina IL-21, promuovono la maturazione e differenziazione dei linfociti B nei centri germinativi. Nei pazienti con AR è stato osservato un incremento quantitativo e funzionale delle cellule Tfh, associato a una maggiore attivazione delle cellule B autoreattive (Li et al., 2023). Pertanto, la disregolazione dell'asse Tfh-linfocita B

rappresenta un importante meccanismo attraverso cui la perdita della tolleranza immunitaria contribuisce al mantenimento dell'infiammazione cronica articolare (Mohammad Piri et al., 2024).

Già durante la fase preclinica dell'artrite reumatoide, prima della comparsa delle manifestazioni articolari clinicamente evidenti, gli ACPA possono contribuire all'avvio del danno osseo attraverso l'attivazione degli osteoclasti. Questi autoanticorpi riconoscono e si legano a proteine modificate, in particolare alla vimentina citrullinata presente sulla superficie dei precursori degli osteoclasti. Il legame degli ACPA con la vimentina citrullinata favorisce la differenziazione e l'attivazione degli osteoclasti, principalmente attraverso un aumento della produzione autocrina di TNF- α , una citochina pro-infiammatoria che amplifica il processo infiammatorio e il riassorbimento osseo (Harre et al., 2012). Durante la maturazione degli osteoclasti viene inoltre prodotto l'enzima peptidil-arginina deiminasi (PAD), responsabile del processo di citrullinazione delle proteine. L'attività di PAD aumenta la disponibilità di vimentina citrullinata, facilitando ulteriormente il riconoscimento da parte degli ACPA e creando così un circolo di amplificazione dell'osteoclastogenesi (Krishnamurthy et al., 2016).

Con la comparsa della sinovite e della fase clinica della malattia, le cellule infiammatorie presenti nella membrana sinoviale rilasciano numerose citochine pro-infiammatorie, che stimolano l'espressione del RANKL (ligando del recettore attivatore del fattore nucleare κ B). Il RANKL si lega al suo recettore RANK, espresso sulla superficie dei precursori degli osteoclasti, inducendone la maturazione e l'attivazione. Gli osteoclasti attivati aumentano quindi il riassorbimento della matrice ossea, causando progressivamente erosione e perdita di tessuto osseo. Inoltre, le citochine infiammatorie, come TNF e altre molecole coinvolte nell'infiammazione, agiscono in sinergia con il sistema RANK/RANKL, potenziando ulteriormente l'attività osteoclastica e contribuendo alla distruzione articolare tipica dell'artrite reumatoide (Schett & Gravallesse, 2012) (Pettit et al., 2006).

Come precedentemente descritto, i sinoviociti possono essere distinti in sinoviociti simil-macrofagici e sinoviociti simil-fibroblasti a causa della loro capacità di svolgere funzioni simili a quelle dei macrofagi e dei fibroblasti (Bartok & Firestein, 2010) (Falconer et al., 2018). I sinoviociti simil-fibroblastici sono cellule con caratteristiche simili ai fibroblasti,

ma con proprietà particolari: producono molecole come caderina-11, VCAM-1, collagene di tipo IV e V e vimentina. Nell'AR assumono un comportamento aggressivo, simile a quello delle cellule tumorali, proliferando e contribuendo al danno articolare. Contemporaneamente, i sinoviociti simil-macrofagici mostrano un fenotipo altamente attivato nell'ambiente sinoviale anomalo e producono un gran numero di fattori infiammatori, chemochine e fattori di crescita (Tu et al., 2018). Questi prodotti stimolano ulteriormente i fibroblasti e le cellule immunitarie a secernere IL-6, TNF- α e altri fattori, amplificando ulteriormente l'attivazione delle cellule immunitarie. La stimolazione del TNF- α aumenta l'espressione di Bmal1 attraverso la segnalazione del calcio, ma non altera la sua oscillazione ritmica nelle cellule sinoviali dei pazienti con AR (Yoshida et al., 2018).

I fibroblasti sinoviali rappresentano un elemento centrale nel mantenimento dell'infiammazione cronica e nella progressione del danno articolare nell'artrite reumatoide. In condizioni patologiche queste cellule acquisiscono un fenotipo attivato, caratterizzato da maggiore sopravvivenza, produzione di mediatori infiammatori e capacità invasiva nei confronti della cartilagine e dell'osso. Wiles et al. (2023) hanno identificato una sottopopolazione di fibroblasti sinoviali esprimenti CD90/Thy-1 associata a forme altamente infiammatorie di AR. Queste cellule mostrano una co-espressione dell'isoforma $\Delta 133p53\beta$, una variante della proteina p53 implicata nella regolazione della sopravvivenza cellulare e nel mantenimento dello stato attivato dei fibroblasti. La presenza di fibroblasti CD90+ $\Delta 133p53\beta$ + potrebbe quindi contribuire alla persistenza della sinovite e rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico per limitare la progressione del danno articolare (Wiles et al., 2023).

3.3 Coinvolgimento circadiano nell'artrite reumatoide

L'alterazione dell'espressione o della funzione di Bmal1 nei fibroblasti sinoviali è stata associata alla formazione di un ambiente sinoviale più aggressivo e pro-infiammatorio (Hand et al., 2019). Anche il gene Per2 nei pazienti con AR perde la sua normale oscillazione ritmica compromettendo la capacità delle cellule sinoviali di regolare correttamente la proliferazione cellulare (Yoshida et al., 2013). Un ruolo protettivo nella

regolazione dell'infiammazione nell'artrite reumatoide sembra essere esercitato dal sistema Cry, che è stato associato a una riduzione dei livelli di TNF- α (Yoshida et al., 2018) e potrebbe, inoltre, limitare la proliferazione e l'invasività dei fibroblasti sinoviali attraverso la regolazione negativa del pathway BMAL1/CLOCK–Wee-1, un regolatore cruciale del ciclo cellulare (Hashiramoto et al., 2010).

L'alterata espressione di REV-ERB α sembra riflettere una disregolazione dei meccanismi circadiani coinvolti nel controllo della risposta infiammatoria. A sostegno di questa ipotesi, l'attivazione farmacologica di REV-ERB α mediante l'agonista SR9009 ha determinato una riduzione dell'espressione di citochine pro-infiammatorie e metalloproteinasi della matrice, una diminuzione della produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e l'inibizione delle vie di segnalazione MAPK e NF- κ B. Inoltre, il trattamento ha ridotto la polarizzazione dei macrofagi verso il fenotipo pro-infiammatorio M1, l'osteoclastogenesi e l'espressione di geni coinvolti nel riassorbimento osseo (Liu et al., 2020). *In vivo*, la somministrazione di SR9009 in un modello murino di artrite indotta da collagene (CIA) ha determinato una significativa riduzione dell'iperplasia della membrana sinoviale, dell'infiltrazione di cellule infiammatorie e del danno a carico della cartilagine e dell'osso (Liu et al., 2020). Questi risultati suggeriscono che le alterazioni dell'orologio circadiano cellulare associate all'artrite reumatoide possano contribuire al mantenimento e alla progressione dell'infiammazione articolare.

La marcata ritmicità della sintomatologia clinica osservata nell'AR, caratterizzata da acuzie algiche, tumefazione e rigidità articolare severa al risveglio, non costituisce un mero dato descrittivo, ma rappresenta la manifestazione macroscopica di una profonda alterazione sincronica dei sistemi omeostatici endogeni. Come ampiamente documentato da (Straub & Cutolo, 2007), questo fenomeno è l'espressione di un'intensa interazione circadiana tra i mediatori della flogosi, il sistema neuroendocrino e gli assi metabolici che governano il dispendio energetico dell'organismo.

Durante le ore notturne, in concomitanza con la fase di riposo, il sistema immunitario dei pazienti affetti da AR va incontro a una massiccia attivazione spontanea. Le citochine pro-infiammatorie cardine, in particolare interleuchina-6 (IL-6) e il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- α), presentano un incremento progressivo delle loro concentrazioni sierose e sinoviali durante la notte, raggiungendo il picco nelle prime ore del

mattino (indicativamente tra le 2:00 e le 4:00) (Straub & Cutolo, 2007) (Perry et al., 2009).

Tra i fattori che contribuiscono a questa esacerbazione notturna dell'attività infiammatoria vi è la secrezione sincronizzata di melatonina da parte della ghiandola pineale. Questo ormone, oltre a regolare il ciclo sonno-veglia, esercita nell'AR un'attività immunomodulatoria che può favorire la risposta infiammatoria, stimolando attivamente i recettori espressi sui macrofagi sinoviali e inducendo un incremento della sintesi di mediatori dell'infiammazione (Cutolo et al., 2005). Infatti, è stato riportato che la melatonina aumenta la produzione di alcune citochine, tra cui IL-2, IL-6 e IFN- γ (Garcia-Mauriño et al., 1997).

In condizioni fisiologiche, l'ondata infiammatoria notturna dovrebbe essere arginata dal cortisolo, il più potente glucocorticoide endogeno ad attività antinfiammatoria, il cui ritmo circadiano mostra un andamento speculare rispetto alla melatonina. Guidato dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), il cortisolo raggiunge i suoi livelli minimi intorno alla mezzanotte per poi mostrare una rampa di crescita nelle ore che precedono il risveglio (Wilantri et al., 2023).

Tuttavia, nei soggetti affetti da AR si verifica un fenomeno patologico cardine definito come deficit glucocorticoideo relativo. Sebbene l'asse HPA risponda secernendo cortisolo, la quantità prodotta è biologicamente inadeguata rispetto all'enorme volume di citochine pro-infiammatorie in circolo (Cutolo et al., 2024). Si genera così uno sfasamento temporale: l'impennata di IL-6 precede cronologicamente la piena attivazione del cortisolo endogeno. Questa finestra temporale notturna, caratterizzata da un'insufficiente contro-regolazione glucocorticoidea, permette ai segnali flogistici e alle molecole algogene di agire indisturbati, culminando nell'acme dei sintomi articolari tra le 5:00 e le 6:00 del mattino (Figura 12). Nel corso della giornata, il successivo raggiungimento del picco di cortisolo e il contestuale decremento delle citochine circolanti favoriscono una graduale e parziale remissione della sintomatologia diurna (Wilantri et al., 2023).

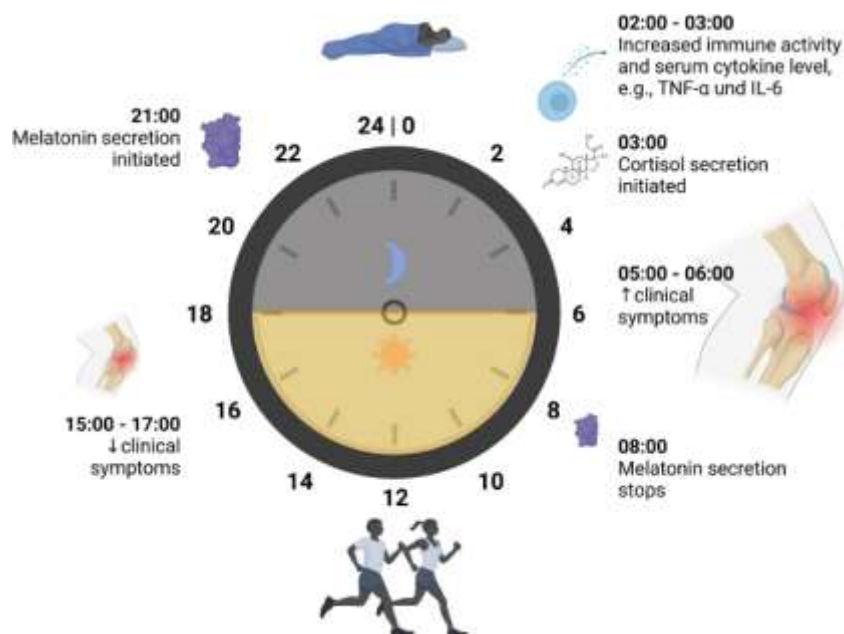


Figura 12/ Schema delle variazioni circadiane dei principali mediatori neuroendocrini e dell'attività infiammatoria nell'artrite reumatoide. Durante le ore notturne si osserva un aumento delle concentrazioni di citochine pro-infiammatorie, in particolare IL-6 e TNF- α , associato all'inizio della secrezione di melatonina. Nelle prime ore del mattino viene avviata la secrezione di cortisolo, mentre i sintomi articolari raggiungono la massima intensità tra le 5:00 e le 6:00. Nel corso della giornata si verifica una progressiva riduzione della sintomatologia clinica e dell'attività infiammatoria. Adattata da Wilantri et al. (2023).

In condizioni di salute, l'orologio centrale del nucleo soprachiasmatico (SCN) mantiene sincronizzati gli orologi molecolari periferici espressi dai tessuti articolari (Takahashi, 2017). Nell'AR, l'esposizione cronica e massiva a TNF- α e IL-6 agisce come un perturbatore biochimico capace di disaccoppiare gli oscillatori periferici da quello ipotalamico. Il risultato è la perdita della ritmicità biologica intra-articolare, che impedisce la fisiologica risoluzione notturna dell'infiammazione, cronicizzando il danno tessutale, frammentando l'architettura del sonno e riducendone la qualità, anche a causa del dolore persistente associato alla malattia, con una conseguente diminuzione delle fasi di sonno NREM (Ditmer et al., 2021) e alterando ulteriormente l'asse HPA (Cutolo et al., 2011).

3.4 Strategie terapeutiche nell'artrite reumatoide

L'obiettivo del trattamento dell'AR è il controllo dell'infiammazione cronica, la prevenzione del danno articolare irreversibile e il mantenimento della funzionalità articolare e della qualità di vita del paziente. Negli ultimi decenni, una migliore comprensione dei meccanismi immunopatogenetici alla base della malattia ha favorito lo sviluppo di strategie terapeutiche sempre più efficaci e mirate. Attualmente, il trattamento dell'AR si basa sull'impiego di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), glucocorticoidi (GC), farmaci antireumatici modificanti la malattia convenzionali sintetici (csDMARDs), farmaci biologici (bDMARDs) e farmaci sintetici mirati (tsDMARDs). L'efficacia di tali trattamenti deriva dalla capacità di interferire con specifici meccanismi cellulari e molecolari coinvolti nella patogenesi dell'AR, al fine di controllarne l'attività, limitare il danno articolare progressivo e migliorare gli esiti clinici a lungo termine (Drosos & Voulgari, 2026).

Farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS)

I FANS rappresentano una delle principali opzioni terapeutiche per il controllo sintomatico dell'artrite reumatoide. Essi agiscono attraverso l'inibizione degli enzimi ciclossigenasi (COX-1 e COX-2), determinando una riduzione della sintesi delle prostaglandine coinvolte nei processi infiammatori e nella trasmissione del dolore (Ghlichloo & Gerriets, 2026). Nei pazienti affetti da AR, i FANS contribuiscono ad alleviare dolore, tumefazione articolare e rigidità, migliorando temporaneamente la funzionalità articolare. Tuttavia, pur risultando efficaci nel controllo della sintomatologia, non sono in grado di modificare il decorso della malattia né di prevenire la progressione del danno articolare. Per questo motivo, vengono generalmente impiegati come terapia sintomatica in associazione ai farmaci antireumatici modificanti la malattia (DMARDs), che rappresentano il cardine del trattamento dell'AR (Smolen et al., 2026).

Glucocorticoidi

I GC rappresentano una componente importante del trattamento dell'artrite reumatoide grazie alle loro potenti proprietà antinfiammatorie e immunosoppressive. Questi farmaci agiscono attraverso il legame con il recettore dei glucocorticoidi (GR), modulando l'espressione di numerosi geni coinvolti nella risposta infiammatoria (Timmermans et al., 2019). Lo stimolo infiammatorio cronico esercitato dall'AR induce un'attivazione persistente dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), con una produzione progressivamente insufficiente di ormone di rilascio della corticotropina (CRH), ormone adrenocorticotropo (ACTH) e infine cortisolo endogeni. In questo modo, l'integrazione esogena di GC dovrebbe agire come una "terapia di sostegno" per ripristinare livelli sierici sufficienti di cortisolo (Cutolo et al., 2024).

Nella pratica clinica, i glucocorticoidi vengono frequentemente utilizzati come terapia ponte, soprattutto nelle fasi iniziali della malattia o durante le riacutizzazioni, per ottenere un rapido controllo dell'infiammazione in attesa che i farmaci antireumatici modificanti la malattia, in particolare il metotrexato, raggiungano la piena efficacia terapeutica. L'impiego di basse dosi di glucocorticoidi può contribuire a ridurre dolore, tumefazione articolare e rigidità mattutina, migliorando rapidamente la sintomatologia del paziente.

Tuttavia, l'utilizzo prolungato dei glucocorticoidi è associato a numerosi effetti avversi, tra cui osteoporosi, aumento del rischio cardiovascolare, diabete mellito, ipertensione arteriosa, cataratta e maggiore suscettibilità alle infezioni. Per questo motivo, le attuali linee guida raccomandano di impiegare la dose efficace più bassa possibile e di ridurre progressivamente l'utilizzo una volta ottenuto il controllo della malattia (Cutolo et al., 2024) (Smolen et al., 2026).

Farmaci antireumatici modificanti la malattia convenzionali sintetici (csDMARDs)

I farmaci antireumatici modificanti la malattia convenzionali sintetici (*conventional synthetic Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs*, csDMARDs) rappresentano il cardine del trattamento dell'artrite reumatoide e sono in genere utilizzati come terapia di prima linea per i pazienti con AR di nuova diagnosi (Smolen et al., 2026).

Metotrexato

Il metotrexato (MTX) rappresenta il farmaco antireumatico modificante la malattia convenzionale sintetica (csDMARD) di prima linea e costituisce tuttora il gold standard terapeutico nel trattamento dell'artrite reumatoide. Il suo utilizzo per il trattamento dell'AR è stato intrapreso negli anni '80 (Croia et al., 2019).

Il MTX esercita la propria attività attraverso l'inibizione di enzimi coinvolti nella sintesi de novo di purine e pirimidine, tra cui la diidrofolato reduttasi (DHFR) e la timidilato sintasi (TYMS). Tale meccanismo determina una riduzione della sintesi di DNA, RNA e proteine, limitando la proliferazione delle cellule immunitarie coinvolte nel processo infiammatorio (Cronstein & Aune, 2020).

Oltre agli effetti antiproliferativi, il MTX possiede importanti proprietà antinfiammatorie mediate dall'aumento dei livelli extracellulari di adenosina, una molecola in grado di modulare la funzione di neutrofili, monociti e altre cellule immunitarie. Attraverso questi meccanismi, il farmaco contribuisce a ridurre la risposta infiammatoria e a limitare il danno articolare (Cronstein, 1997). Inoltre, è stato osservato che il MTX può esercitare effetti protettivi su osso e cartilagine mediante la modulazione della via di segnalazione RANKL/RANK/OPG, coinvolta nel rimodellamento osseo (Zhao et al., 2022).

Altri csDMARDs

Tra gli altri csDMARDs impiegati nel trattamento dell'AR vi sono la leflunomide, la sulfasalazina e l'idrossiclorochina.

La leflunomide esercita la propria azione attraverso l'inibizione della sintesi de novo delle pirimidine mediante il blocco dell'enzima diidroorotato deidrogenasi (DHODH). Tale meccanismo determina una riduzione della proliferazione dei linfociti T e B attivati, particolarmente dipendenti dalla sintesi di nuove pirimidine per sostenere la risposta immunitaria (Plewa et al., 2026).

La sulfasalazina possiede proprietà antinfiammatorie e immunomodulanti, sebbene il suo preciso meccanismo d'azione nell'AR non sia ancora completamente chiarito. Si ritiene

che alcuni suoi metaboliti attivi possano modulare la produzione di citochine e chemochine pro-infiammatorie, contribuendo alla riduzione dell'attività di malattia.

L'idrossiclorochina, originariamente sviluppata come farmaco antimalarico, esercita effetti immunomodulatori interferendo con la presentazione dell'antigene e con l'attivazione di diverse vie dell'immunità innata. Grazie al suo favorevole profilo di tollerabilità, viene impiegata soprattutto nelle forme meno aggressive di malattia e nelle terapie di combinazione (Bullock et al., 2018).

La scelta del trattamento viene personalizzata in base alle caratteristiche cliniche del paziente, all'attività di malattia, alla presenza di comorbidità e alla risposta alle terapie precedenti (Smolen et al., 2026).

Farmaci antireumatici biologici modificanti la malattia (bDMARDs)

L'introduzione dei farmaci antireumatici biologici modificanti la malattia (*biological Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs*, bDMARDs) ha rappresentato una svolta significativa nel trattamento dell'artrite reumatoide. Questi farmaci sono costituiti da anticorpi monoclonali o proteine di fusione progettati per colpire selettivamente specifici mediatori dell'infiammazione e della risposta autoimmune coinvolti nella patogenesi della malattia. Grazie alla loro capacità di interferire con meccanismi immunologici chiave, i bDMARDs hanno migliorato significativamente il controllo dell'attività di malattia, rallentando la progressione del danno articolare e aumentando le probabilità di raggiungere la remissione clinica (Drosos & Voulgari, 2026).

Inibitori di TNF- α

Il TNF- α è una delle principali citochine pro-infiammatorie coinvolte nella patogenesi dell'artrite reumatoide. Questa citochina promuove il reclutamento delle cellule infiammatorie, stimola la produzione di ulteriori mediatori pro-infiammatori, tra cui IL-1 β e IL-6, favorisce l'attivazione degli osteoclasti e contribuisce alla progressiva distruzione della cartilagine e dell'osso (Frasca et al., 2014).

Tra gli inibitori del TNF- α maggiormente utilizzati nella pratica clinica figurano etanercept, infliximab e adalimumab. Questi farmaci neutralizzano il TNF- α

impedendone l'interazione con i rispettivi recettori cellulari e interrompendo la cascata infiammatoria responsabile del danno articolare. Il loro impiego ha determinato un significativo miglioramento degli esiti clinici e radiografici nei pazienti affetti da artrite reumatoide, contribuendo a ridurre l'attività di malattia e a rallentare la progressione del danno strutturale (Zhao et al., 2018) (Guo et al., 2018).

Inibitori di IL-6

IL-6 svolge un ruolo centrale nella patogenesi dell'artrite reumatoide, contribuendo alla differenziazione delle cellule T helper 17 (Th17), all'attivazione dei linfociti B, alla sintesi delle proteine della fase acuta e alla comparsa di numerose manifestazioni sistemiche della malattia (Marston et al., 2010). Inoltre, IL-6 presenta una caratteristica oscillazione circadiana, con livelli che tendono ad aumentare durante le ore notturne e a raggiungere il picco nelle prime ore del mattino, contribuendo alla comparsa della rigidità mattutina e all'accentuazione della sintomatologia articolare (Straub & Cutolo, 2007).

Tocilizumab è un anticorpo monoclonale diretto contro il recettore di IL-6 (IL-6R). Attraverso il blocco della trasduzione del segnale mediata da questa citochina, il farmaco riduce l'infiammazione articolare, migliora i sintomi clinici e limita la progressione del danno strutturale (Jones et al., 2017).

Deplezione delle cellule B

Le cellule B partecipano attivamente alla patogenesi dell'artrite reumatoide attraverso la produzione di autoanticorpi, tra cui il fattore reumatoide (RF) e gli anticorpi anti-proteine citrullinate (ACPA), oltre che mediante la presentazione dell'antigene ai linfociti T e la produzione di citochine pro-infiammatorie (Pala et al., 2018).

Rituximab è un anticorpo monoclonale diretto contro l'antigene CD20 espresso sulla superficie dei linfociti B maturi. Il legame con questo bersaglio determina una marcata deplezione delle cellule B periferiche, riducendo la produzione di autoanticorpi e contribuendo al controllo della risposta autoimmune e dell'infiammazione cronica (Wendler et al., 2014).

Modulazione della co-stimolazione dei linfociti T

L'attivazione completa dei linfociti T richiede, oltre al riconoscimento dell'antigene da parte del recettore T (TCR), un secondo segnale co-stimolatorio mediato dall'interazione tra le molecole CD80/CD86 espresse dalle cellule presentanti l'antigene e il recettore CD28 presente sui linfociti T (Esensten et al., 2016).

Abatacept è una proteina di fusione costituita dal dominio extracellulare *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4* (CTLA-4) associato alla porzione Fc di un'immunoglobulina umana. Legandosi a CD80 e CD86, abatacept impedisce l'interazione con CD28 e blocca l'attivazione completa dei linfociti T. Ciò determina una riduzione della risposta immunitaria patologica e della produzione di mediatori pro-infiammatori coinvolti nella patogenesi dell'artrite reumatoide (Bonelli & Scheinecker, 2018).

Farmaci antireumatici sintetici mirati modificanti la malattia (tsDMARDs)

I farmaci antireumatici sintetici mirati modificanti la malattia (*targeted synthetic Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs*, tsDMARDs) rappresentano una classe relativamente recente di farmaci utilizzati nel trattamento dell'artrite reumatoide. A differenza dei farmaci biologici, che agiscono a livello extracellulare neutralizzando specifiche citochine o recettori, i tsDMARDs interferiscono con i meccanismi intracellulari di trasduzione del segnale coinvolti nella risposta infiammatoria (Drosos & Voulgari, 2026).

Tra i principali tsDMARDs impiegati nell'AR figurano tofacitinib, baricitinib e upadacitinib, appartenenti alla categoria degli inibitori delle Janus chinasi (JAK) (Smolen et al., 2026).

La via di segnalazione JAK/STAT svolge un ruolo centrale nella trasmissione dei segnali di numerose citochine coinvolte nella patogenesi dell'artrite reumatoide, tra cui IL-6, IFN- γ , IL-2, IL-7, IL-15 e IL-21. In condizioni fisiologiche, il legame di una citochina al proprio recettore determina l'attivazione delle proteine JAK associate alla porzione intracellulare del recettore. Le JAK attivate fosforilano successivamente le proteine STAT (*Signal Transducer and Activator of Transcription*), che traslocano nel nucleo e regolano l'espressione di geni coinvolti nell'infiammazione, nella proliferazione cellulare e nella risposta immunitaria (Schwartz et al., 2017).

Gli inibitori delle JAK bloccano questo processo, riducendo simultaneamente l'attività di molteplici citochine pro-infiammatorie. Tofacitinib agisce prevalentemente su JAK1 e JAK3 (Dhillon, 2017), baricitinib inibisce principalmente JAK1 e JAK2, mentre upadacitinib presenta una maggiore selettività nei confronti di JAK1. Grazie alla loro capacità di modulare diverse vie infiammatorie contemporaneamente, questi farmaci hanno dimostrato un'elevata efficacia nel controllo dell'attività di malattia e nel rallentamento della progressione del danno articolare, soprattutto nei pazienti con risposta inadeguata ai DMARDs convenzionali o ai farmaci biologici (Jamilloux et al., 2019).

3.4.1 Approccio Treat-to-Target e raccomandazioni EULAR

Le attuali raccomandazioni della European Alliance of Associations for Rheumatology (EULAR) sottolineano l'importanza di iniziare precocemente la terapia con farmaci antireumatici modificanti la malattia (DMARDs) non appena viene posta la diagnosi di artrite reumatoide. L'intervento terapeutico nelle fasi iniziali della malattia è infatti associato a una maggiore probabilità di controllare l'infiammazione, prevenire il danno articolare irreversibile e migliorare gli esiti clinici a lungo termine (Smolen et al., 2026).

Negli ultimi anni, diversi studi hanno valutato la possibilità di intervenire terapeuticamente anche in soggetti considerati a rischio di sviluppare artrite reumatoide, caratterizzati dall'assenza di una sinovite clinicamente manifesta ma dalla presenza di fattori suggestivi di malattia imminente, quali alterazioni infiammatorie rilevabili mediante ecografia o risonanza magnetica. Tuttavia, la maggior parte delle evidenze disponibili non ha dimostrato una reale capacità di prevenire l'insorgenza dell'AR. Nella maggior parte dei casi, infatti, la sospensione del trattamento era seguita dalla ricomparsa dei sintomi e dei segni di artrite, suggerendo che la terapia fosse in grado di ritardare, piuttosto che impedire, lo sviluppo della malattia (van Aken et al., 2014) (Gerlag et al., 2019) (Smolen et al., 2026).

Le raccomandazioni EULAR si basano sul principio *Treat-to-Target* (T2T), secondo cui la terapia deve essere continuamente adattata con l'obiettivo di raggiungere la remissione clinica o, qualora ciò non sia possibile, una condizione di bassa attività di malattia. Tale approccio richiede un monitoraggio regolare dell'attività clinica mediante indici validati

e una rivalutazione periodica della risposta terapeutica, al fine di ottimizzare precocemente il trattamento.

In assenza di controindicazioni, il metotrexato è il farmaco di prima scelta. Nei pazienti con controindicazione al MTX o con intolleranza precoce, possono essere considerate valide alternative la leflunomide o la sulfasalazina. Nelle fasi iniziali del trattamento è inoltre raccomandato l'impiego di glucocorticoidi a breve termine come terapia ponte, con l'obiettivo di controllare rapidamente l'infiammazione e la sintomatologia in attesa della piena efficacia dei farmaci antireumatici modificanti la malattia convenzionali sintetici (csDMARDs). Tuttavia, a causa dei possibili effetti avversi associati all'utilizzo prolungato, i glucocorticoidi devono essere progressivamente ridotti fino alla sospensione (Smolen et al., 2026).

La risposta terapeutica dovrebbe essere rivalutata entro tre mesi dall'inizio della terapia, mentre il raggiungimento del target terapeutico dovrebbe avvenire entro sei mesi. Nei pazienti che non raggiungono gli obiettivi prefissati, la strategia terapeutica deve essere modificata sulla base delle caratteristiche cliniche individuali e della presenza di fattori prognostici sfavorevoli, quali elevata attività di malattia, positività per autoanticorpi (fattore reumatoide e ACPA), presenza precoce di erosioni articolari o fallimento di precedenti trattamenti.

Nei pazienti con risposta insufficiente ai csDMARDs e con fattori prognostici sfavorevoli, le linee guida raccomandano l'introduzione di un farmaco biologico modificante la malattia (bDMARD) o di un farmaco sintetico mirato modificante la malattia (tsDMARD), generalmente in associazione al metotrexato. In caso di fallimento terapeutico, è indicato il passaggio a un farmaco caratterizzato da un diverso meccanismo d'azione oppure a un'altra molecola appartenente alla stessa classe terapeutica. Questo approccio sequenziale e personalizzato consente di adattare il trattamento alle caratteristiche del singolo paziente, massimizzando il controllo dell'infiammazione e riducendo il rischio di progressione del danno articolare (Smolen et al., 2026).

In Figura 13 sono riportate schematicamente le linee guida EULAR 2025 per il trattamento dell'Artrite Reumatoide.

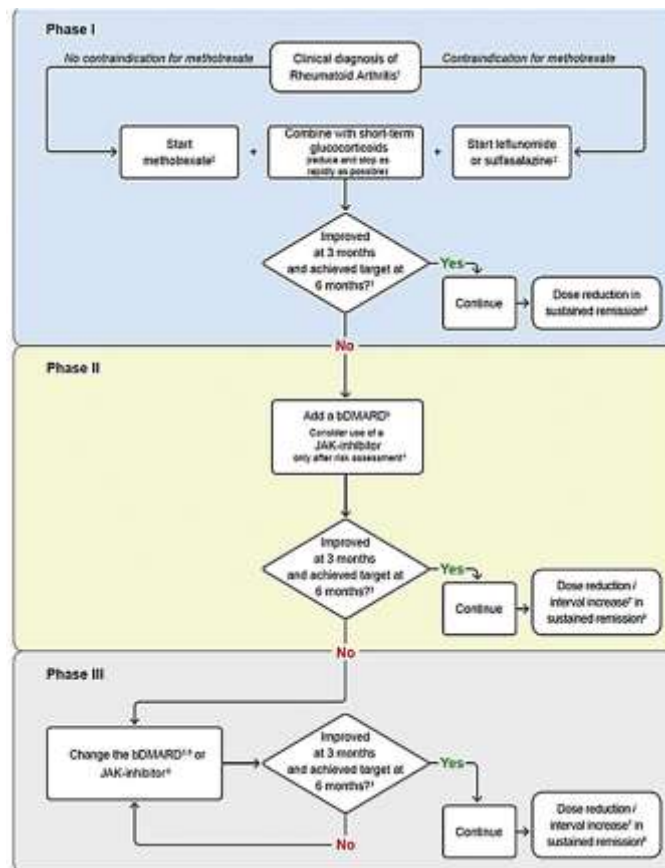


Figura 13/ Algoritmo terapeutico raccomandato da EULAR per la gestione dell'artrite reumatoide. Lo schema illustra l'approccio progressivo basato sul principio treat-to-target, con utilizzo iniziale di metotrexato associato a glucocorticoidi a breve termine, seguito dall'introduzione di farmaci biologici o inibitori delle Janus chinasi nei pazienti che non raggiungono gli obiettivi terapeutici stabiliti. Adattata da Smolen et al. (2026).

4. CRONOTERAPIA

4.1 Definizione di cronoterapia

La cronoterapia consiste nella somministrazione di trattamenti farmacologici in specifici momenti della giornata, con l'obiettivo di massimizzarne l'efficacia terapeutica e ridurre gli effetti indesiderati, in relazione ai ritmi biologici dell'organismo (Damato & Herzog, 2022).

Negli ultimi anni, è stato evidenziato come gli orologi molecolari circadiani regolino cicli biologici di circa 24 ore coinvolti in molteplici funzioni fisiologiche, incluse quelle cardiovascolari, metaboliche, endocrine, immunitarie e comportamentali. È stato inoltre dimostrato che numerose patologie presentano una distribuzione temporale non casuale delle manifestazioni cliniche. L'insorgenza di eventi cardiovascolari acuti, come l'infarto miocardico, e la severità dei sintomi associati a patologie quali asma, rinite allergica, neoplasie, artrite, depressione, ulcera peptica e dolore seguono infatti specifiche oscillazioni circadiane (Muller et al., 1985) (Scheer et al., 2021) (Paganelli et al., 2018) (Dollish et al., 2024) (Sulli et al., 2019).

Nonostante le crescenti evidenze sull'importanza dei ritmi circadiani nella fisiologia e nella patologia umana, nella pratica clinica la maggior parte dei trattamenti farmacologici viene ancora prescritta senza considerare in modo sistematico il momento della somministrazione. Tuttavia, il tempo biologico rappresenta una variabile potenzialmente rilevante, in grado di influenzare significativamente la risposta terapeutica. L'applicazione della cronoterapia può basarsi sia sulla modulazione diretta dell'orologio circadiano sia sullo sfruttamento delle oscillazioni circadiane dei processi fisiologici che influenzano la risposta ai farmaci. Nel primo caso, l'intervento terapeutico è rivolto ai meccanismi che regolano il sistema circadiano mediante fattori quali l'esposizione alla luce, l'alimentazione, l'attività fisica o specifici trattamenti farmacologici. Nel secondo caso, si sfruttano le variazioni temporali dei processi biologici che influenzano la farmacocinetica e la farmacodinamica dei medicinali.

Poiché numerosi geni coinvolti nei processi di assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione dei farmaci sono soggetti a regolazione circadiana, il momento della somministrazione può influenzare significativamente sia l'efficacia terapeutica sia il profilo di sicurezza dei medicinali (Ruben et al., 2019).

4.2 Razionale biologico della cronoterapia nell'artrite reumatoide

L'applicazione della cronoterapia nell'artrite reumatoide trova il proprio fondamento nella stretta interazione esistente tra sistema circadiano e risposta immunitaria. Come discusso nel Capitolo 3.3, l'infiammazione reumatoide non rappresenta un fenomeno statico, ma è caratterizzata da una marcata organizzazione temporale che coinvolge mediatori immunitari, ormoni e geni dell'orologio circadiano (Straub & Cutolo, 2007).

Una delle manifestazioni più evidenti di tale organizzazione circadiana è rappresentata dalla tipica esacerbazione mattutina della sintomatologia clinica. Dolore, rigidità articolare e tumefazione tendono infatti a raggiungere la massima intensità nelle prime ore del mattino, in parallelo con l'incremento notturno delle principali citochine pro-infiammatorie coinvolte nella patogenesi della malattia, in particolare IL-6 e TNF- α (Perry et al., 2009). L'aumento della produzione di questi mediatori precede la comparsa dei sintomi clinici e riflette una fase di intensa attivazione immunitaria che si sviluppa durante il periodo di riposo.

Parallelamente, nei pazienti affetti da AR è stata descritta una condizione definita deficit glucocorticoideo relativo, caratterizzata da una risposta dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene quantitativamente insufficiente rispetto all'entità dello stimolo infiammatorio. Sebbene la secrezione di cortisolo mantenga il proprio ritmo circadiano, la concentrazione dell'ormone risulta inadeguata a controbilanciare l'elevata produzione notturna di citochine pro-infiammatorie, determinando una finestra temporale favorevole al mantenimento dell'attività infiammatoria (Cutolo et al., 2011). Questo disallineamento tra meccanismi pro- e antinfiammatori rappresenta uno dei principali presupposti biologici alla base delle strategie cronoterapiche sviluppate nell'artrite reumatoide.

Oltre alle alterazioni neuroendocrine e immunologiche, numerose evidenze indicano che la malattia è associata a una disregolazione dei meccanismi molecolari che governano la ritmicità circadiana cellulare. Alterazioni dell'espressione di clock genes quali *Bmal1*, *Per2*, *Cry* e *REV-ERBa* sono state descritte nelle cellule immunitarie implicate nella patogenesi di pazienti affetti da AR, suggerendo un coinvolgimento diretto dell'orologio molecolare nella regolazione dei processi infiammatori e nel mantenimento della sinovite cronica (Hand et al., 2019) (Yoshida et al., 2013) (H. Liu et al., 2020). Tali osservazioni supportano l'ipotesi secondo cui la perdita della corretta sincronizzazione tra oscillatori centrali e periferici possa contribuire alla persistenza dell'infiammazione e alla progressione del danno articolare.

L'interesse per la cronoterapia deriva inoltre dal crescente riconoscimento del ruolo della cronofarmacologia nella modulazione della risposta ai farmaci. Numerosi processi fisiologici che influenzano l'assorbimento, la distribuzione, il metabolismo e l'eliminazione dei medicinali mostrano infatti una regolazione circadiana. Analogamente, anche l'espressione di numerosi bersagli farmacologici e di molecole coinvolte nelle vie di segnalazione infiammatoria presenta variazioni temporali nel corso delle ventiquattro ore (Cimino et al., 2025). Di conseguenza, l'efficacia di un trattamento farmacologico può dipendere non soltanto dalle proprietà intrinseche del farmaco e dalla dose somministrata, ma anche dal momento in cui esso viene somministrato rispetto alla fase circadiana dei processi biologici coinvolti.

Nel loro insieme, queste evidenze indicano che il tempo biologico rappresenta una variabile fisiopatologica rilevante nell'artrite reumatoide. La possibilità di sincronizzare l'esposizione farmacologica con le oscillazioni circadiane dell'infiammazione costituisce pertanto il principale razionale biologico della cronoterapia e suggerisce che l'ottimizzazione del timing terapeutico possa rappresentare un approccio complementare alle strategie farmacologiche convenzionali per il controllo dell'attività di malattia.

4.3 Cenni storici

Il concetto di cronoterapia nell'artrite reumatoide trova le sue prime evidenze da uno studio di Deandrade et al. (1964). Gli autori osservarono che la somministrazione serale di basse dosi di prednisolone era associata a un migliore controllo della sintomatologia, in particolare della rigidità mattutina, rispetto alla somministrazione esclusivamente mattutina, anticipando il successivo sviluppo dell'approccio cronoterapico.

Negli anni Ottanta, Kowanko et al. (1981) osservarono che i segni e i sintomi dell'artrite reumatoide, in particolare la rigidità articolare, la riduzione della forza di presa e la tumefazione articolare, seguono un andamento circadiano caratterizzato da una maggiore intensità nelle prime ore del mattino. Nello stesso studio, gli autori dimostrarono che l'efficacia del flurbiprofene, un farmaco antinfiammatorio non steroideo (FANS), variava in funzione dell'orario di somministrazione, osservando un miglior controllo della sintomatologia mattutina negli schemi terapeutici che prevedevano una dose serale del farmaco.

Un ulteriore passo avanti nella comprensione del ruolo dei ritmi circadiani nell'artrite reumatoide fu compiuto da Arvidson et al. (1997), che confrontarono la somministrazione di glucocorticoidi alle ore 2:00 di notte con quella alle 7:30 del mattino. Gli autori dimostrarono che la somministrazione notturna determinava una riduzione significativamente maggiore della rigidità mattutina e dell'attività di malattia, confermando l'importanza di sincronizzare la terapia con i ritmi circadiani dell'infiammazione. Tali risultati fornirono il razionale per lo sviluppo delle successive formulazioni di prednisone a rilascio modificato.

4.4 Studi preclinici e clinici

Glucocorticoidi a rilascio modificato

Per quanto riguarda la somministrazione dei glucocorticoidi, un importante avanzamento nell'ambito della cronoterapia dell'artrite reumatoide è stato rappresentato dallo studio CAPRA-1 (Circadian Administration of Prednisone in Rheumatoid Arthritis), pubblicato da Buttgereit et al. (2008). In questo studio multicentrico, randomizzato e in doppio cieco, i pazienti sono stati trattati per 12 settimane con una formulazione di prednisone a rilascio modificato (modified-release, MR) oppure con la formulazione convenzionale a rilascio immediato (immediate-release, IR). Il farmaco veniva somministrato mediante una tecnica a doppio placebo due volte al giorno: una dose al mattino (tra le 06:00 e le 08:00) e una prima di coricarsi (alle ore 22:00). Durante lo studio, i trattamenti concomitanti con DMARDs convenzionali e FANS dovevano essere mantenuti costanti, mentre non erano consentiti farmaci biologici né infiltrazioni intra-articolari.

I risultati dimostrarono che il prednisone a rilascio modificato era clinicamente e statisticamente superiore alla formulazione convenzionale nella riduzione della durata della rigidità articolare mattutina. Tale beneficio è attribuibile alla capacità della formulazione MR di rilasciare il principio attivo durante la notte, anticipando l'incremento delle citochine pro-infiammatorie e sincronizzando l'azione farmacologica con il ritmo circadiano dell'infiammazione. Questo approccio consente di ottenere concentrazioni plasmatiche di glucocorticoidi più vicine al fisiologico picco mattutino del cortisolo endogeno, migliorando il controllo della sintomatologia (Buttgereit et al., 2008).

I risultati dello studio CAPRA-1 sono stati successivamente confermati da uno studio di estensione a lungo termine, nel quale la riduzione della rigidità mattutina è stata mantenuta fino a 12 mesi di trattamento con prednisone a rilascio modificato, con un profilo di tollerabilità favorevole e senza evidenza di nuovi problemi di sicurezza (Buttgereit et al., 2010).

Ulteriori evidenze sono state fornite dallo studio CAPRA-2, un trial randomizzato controllato con placebo condotto in pazienti con artrite reumatoide attiva non

adeguatamente controllata dalla terapia con csDMARDs. In questo studio, il prednisone a rilascio modificato è stato aggiunto alla terapia di base con l'obiettivo di valutarne l'impatto sull'attività globale della malattia. I risultati hanno evidenziato un miglioramento significativamente maggiore della risposta clinica rispetto al placebo. In particolare, una percentuale più elevata di pazienti ha raggiunto i criteri di risposta ACR20, ACR50 e ACR70, indicatori di un miglioramento rispettivamente del 20%, 50% e 70% dell'attività di malattia secondo i criteri dell'American College of Rheumatology (ACR), associati a una riduzione della sintomatologia articolare e dei parametri infiammatori, senza un incremento significativo degli eventi avversi (Buttgereit et al., 2013). Mentre il CAPRA-1 era principalmente focalizzato sulla rigidità mattutina, il CAPRA-2 ha dimostrato che la sincronizzazione della somministrazione dei glucocorticoidi con i ritmi circadiani dell'infiammazione è in grado di migliorare anche il controllo complessivo dell'attività di malattia. Nel loro insieme, questi studi rappresentano una delle più solide evidenze cliniche a supporto dell'applicazione della cronoterapia nel trattamento dell'artrite reumatoide (Buttgereit et al., 2013).

Cronoterapia del metotrexato

Oltre ai glucocorticoidi, la cronoterapia ha mostrato risultati promettenti anche per i farmaci antireumatici modificanti la malattia convenzionali sintetici (csDMARDs), in particolare per il metotrexato (MTX). Come riportato nel Capitolo 3.4, il MTX rappresenta il farmaco di prima linea e il gold standard terapeutico per il trattamento dell'artrite reumatoide (Croia et al., 2019); tuttavia, non tutti i pazienti ottengono un beneficio clinico completo a causa di una risposta insufficiente o della comparsa di effetti avversi.

In un primo studio condotto su modelli animali di artrite indotta da collagene, To et al. (2009) dimostrarono che l'efficacia terapeutica del metotrexato dipendeva dall'orario di somministrazione. In particolare, la somministrazione del farmaco sincronizzata con la fase di maggiore espressione circadiana del TNF- α determinava una riduzione più marcata dell'infiammazione articolare e un miglior indice terapeutico rispetto alla somministrazione effettuata in altri momenti del ciclo circadiano (To et al., 2009).

Sulla base di queste osservazioni sperimentali, To et al. hanno successivamente valutato l'applicazione della cronoterapia con metotrexato nella pratica clinica (To et al., 2011). In questo studio, pazienti affetti da artrite reumatoide già in trattamento con MTX sono stati trasferiti da uno schema convenzionale di somministrazione a uno schema cronoterapico, mantenendo invariata la dose totale settimanale. Il farmaco veniva assunto in un'unica somministrazione serale, prima di coricarsi, con l'obiettivo di far coincidere la sua attività farmacologica con il successivo incremento notturno di TNF- α e IL-6, che precede la comparsa della rigidità mattutina.

Dopo tre mesi di trattamento, i pazienti hanno mostrato un miglioramento significativo dell'attività di malattia valutata mediante il Disease Activity Score 28 (DAS28) e quasi un quarto dei soggetti ha raggiunto la remissione clinica. Parallelamente, è stato osservato un miglioramento della capacità funzionale valutata tramite Health Assessment Questionnaire (HAQ), senza un aumento degli eventi avversi rispetto allo schema convenzionale (To et al., 2011). Inoltre, diversi pazienti hanno riferito una migliore tollerabilità gastrointestinale, verosimilmente correlata al fatto che il picco plasmatico del farmaco si realizzava durante le ore di sonno. Tra i possibili motivi c'è il fatto che durante il sonno, l'attività dei centri nervosi come la *chemoreceptor trigger zone* e la sensibilità ai riflessi emetici sono significativamente ridotte, limitando l'insorgenza della nausea sistemica.

Un successivo studio ha contribuito a chiarire i meccanismi biologici alla base della cronoterapia con metotrexato. In un modello di artrite indotta da collagene nel ratto, Wang et al. (2018) hanno dimostrato che l'efficacia terapeutica del farmaco aumentava quando la somministrazione veniva sincronizzata con le oscillazioni circadiane di IL-6.

Inoltre, ulteriori evidenze suggeriscono che il metotrexato possa interagire direttamente con i meccanismi molecolari dell'orologio biologico. È stato infatti dimostrato che il farmaco modula l'espressione di fattori di trascrizione circadiani appartenenti alla famiglia PAR bZIP e del gene *Per2* nei fibroblasti sinoviali, favorendo processi di apoptosi e contribuendo al controllo dell'iperplasia sinoviale caratteristica della malattia (Suzuki et al., 2018).

Nel complesso, questi risultati suggeriscono che la sincronizzazione della somministrazione del metotrexato con i ritmi circadiani dell'infiammazione possa rappresentare una strategia promettente per ottimizzare l'efficacia terapeutica del farmaco. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi clinici controllati per confermare tali evidenze e definire il *timing* ottimale di somministrazione nella pratica clinica.

Cronoterapia del baricitinib

Nel contesto dei farmaci antireumatici sintetici mirati (*targeted synthetic Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs*, tsDMARDs), il baricitinib è un inibitore selettivo di JAK1 e JAK2. A differenza dei farmaci biologici (bDMARDs), caratterizzati da un'emivita prolungata e da intervalli di somministrazione più ampi, i JAK-inibitori presentano un'emivita relativamente breve, caratteristica che li rende particolarmente interessanti per una possibile strategia di somministrazione che tenga conto dell'orario di somministrazione.

Uno studio multicentrico controllato, non randomizzato, condotto da Hashimoto et al. (2025) e della durata di 52 settimane, ha valutato l'efficacia della somministrazione di baricitinib in relazione ai ritmi circadiani della produzione di citochine. Sono stati inclusi 122 pazienti con artrite reumatoide, assegnati a quattro gruppi: baricitinib 2 mg al mattino (BAR2MORN), 2 mg alla sera (BAR2EVE), 4 mg al mattino (BAR4MORN) e 4 mg alla sera (BAR4EVE). L'endpoint primario era rappresentato dalla risposta ACR20 alla settimana 12, mentre gli endpoint secondari comprendevano le risposte ACR50 e ACR70 e le variazioni dell'indice di attività clinica della malattia (CDAI) nel corso delle 52 settimane di follow-up. Le dosi mattutine venivano assunte tra le 07:00 e le 10:00, mentre quelle serali tra le 19:00 e le 22:00 (Hashimoto et al., 2025).

Dei 122 pazienti arruolati, 114 soddisfacevano i criteri di inclusione e hanno ricevuto almeno una dose del farmaco in studio. Di questi il 93,0%, il 78,9% e il 65,8% sono rimasti nello studio rispettivamente fino alla settimana 12, 24 e 52. I risultati hanno evidenziato che il gruppo BAR4EVE ha ottenuto un migliore raggiungimento dell'endpoint primario in termini di risposta ACR20 alla settimana 12 rispetto alla

somministrazione mattutina. Inoltre, la risposta ACR20 risultava superiore anche alle settimane 4, 24 e 52, mentre nel gruppo trattato con 2 mg in somministrazione serale è stata osservata una significativa riduzione del numero di articolazioni gonfie alla settimana 52. Nel gruppo BAR4EVE sono state inoltre documentate differenze statisticamente significative negli indici ACR50, ACR70 e nella remissione CDAI fino alla settimana 12, associate a un miglioramento del dolore riferito dal paziente e dei punteggi HAQ-DI. Un aspetto particolarmente rilevante è stato la maggiore rapidità della risposta clinica osservata nei pazienti trattati nelle ore serali.

Gli autori hanno attribuito tali risultati, almeno in parte, alle caratteristiche farmacocinetiche del farmaco. L'emivita del baricitinib allo steady-state è infatti pari a circa 12,5 ore, rendendo particolarmente favorevole la somministrazione serale (19:00–22:00), che consente di mantenere concentrazioni plasmatiche efficaci durante la notte e nelle prime ore del mattino. Questo intervallo coincide con il periodo di maggiore produzione di numerose citochine JAK-dipendenti, tra cui IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-12 e TNF- α , coinvolte nella patogenesi dell'artrite reumatoide (Jamilloux et al., 2019) (Hashimoto et al., 2025).

Sebbene siano necessari studi randomizzati controllati di più ampia scala per confermare questi risultati, le evidenze attualmente disponibili suggeriscono che la sincronizzazione della somministrazione del baricitinib con i ritmi circadiani dell'infiammazione possa rappresentare una strategia promettente per migliorare il controllo della malattia senza modificare il dosaggio del farmaco. Inoltre, il miglioramento dell'efficacia terapeutica ottenuto attraverso il solo adattamento dell'orario di somministrazione potrebbe avere importanti implicazioni nella pratica clinica medica.

Altri agenti immunomodulatori: evidenze precliniche

Ulteriori studi effettuati per valutare i risultati di una somministrazione tempo-dipendente nelle malattie infiammatorie croniche derivano da studi preclinici con due farmaci immunosoppressori.

In un modello di artrite indotta da collagene (CIA) nel ratto, Kanasaki et al. (2012) hanno valutato l'influenza dell'orario di somministrazione della mizoribina, un

immunosoppressore in grado di inibire la sintesi delle purine e la proliferazione dei linfociti T e B. Gli autori hanno preliminarmente dimostrato che marcatori infiammatori quali il TNF- α e la proteina C-reattiva (PCR) presentano una chiara oscillazione circadiana nell'arco delle 24 ore. Sulla base di queste osservazioni, la mizoribina è stata somministrata in differenti momenti del ciclo luce-buio al fine di valutare l'impatto del timing terapeutico sulla progressione della malattia. I risultati hanno evidenziato che la somministrazione del farmaco durante la fase di buio, in prossimità dell'aumento dell'attività infiammatoria, determinava una maggiore efficacia terapeutica rispetto alla somministrazione effettuata nella fase di luce. In particolare, gli animali trattati secondo questo schema mostravano una riduzione più marcata della progressione dell'artrite, una minore leucocitosi e un migliore controllo dei parametri infiammatori (Kanasaki et al., 2012).

Evidenze analoghe derivano dagli studi condotti con il tacrolimus, un immunosoppressore che agisce mediante l'inibizione della calcineurina e la conseguente riduzione dell'attivazione dei linfociti T e della produzione di citochine pro-infiammatorie. In un modello murino di artrite indotta da collagene, Obayashi et al. (2011) hanno anche loro osservato che il TNF- α e il fattore reumatoide presentavano oscillazioni significative nel corso delle 24 ore. Il tacrolimus è stato quindi somministrato in differenti momenti del ciclo circadiano, con l'obiettivo di sincronizzare l'azione farmacologica con la fase di maggiore attivazione della risposta infiammatoria. I risultati hanno mostrato una chiara dipendenza dall'orario di somministrazione: gli animali trattati nel periodo corrispondente all'inizio dell'incremento dei mediatori pro-infiammatori presentavano una riduzione significativamente maggiore della gravità dell'artrite e dei livelli sierici di TNF- α e fattore reumatoide rispetto agli animali trattati in altri momenti della giornata (Obayashi et al., 2011).

Nel corso degli ultimi decenni, numerosi studi preclinici e clinici hanno evidenziato come la sincronizzazione della somministrazione farmacologica con i ritmi circadiani dell'infiammazione possa influenzare significativamente la risposta terapeutica nell'artrite reumatoide. La Tabella 1 riassume le principali evidenze disponibili, includendo sia gli studi sperimentali che quelli condotti in ambito clinico.

Studio	Farmaco/strategia	Modello o popolazione	Schema cronoterapico	Principali risultati
Deandrade et al. (1964)	Prednisolone	56 pazienti con AR	Somministrazione serale di basse dosi	Miglior controllo della rigidità mattutina rispetto alla somministrazione esclusivamente mattutina.
Kowanko et al. (1981)	Flurbiprofene	17 pazienti con AR	Dose serale di FANS	Miglior controllo dei sintomi mattutini, inclusi rigidità, forza di presa e tumefazione articolare.
Arvidson et al. (1997)	Glucocorticoidi	38 pazienti con AR	Somministrazione alle 2:00 vs 7:30	Maggiore riduzione della rigidità mattutina e dell'attività di malattia con somministrazione notturna.
Buttgereit et al. (2008), CAPRA-1	Prednisone a rilascio modificato	288 pazienti con AR	Assunzione serale alle 22:00 con rilascio notturno	Riduzione significativa della durata della rigidità mattutina rispetto al prednisone convenzionale.
Buttgereit et al. (2010)	Prednisone a rilascio modificato	Estensione CAPRA-1	Trattamento fino a 12 mesi	Mantenimento della riduzione della rigidità mattutina, buon profilo di tollerabilità e assenza di nuovi segnali di sicurezza.
Buttgereit et al. (2013), CAPRA-2	Prednisone a rilascio modificato	350 pazienti con AR attiva in terapia con csDMARDs	Aggiunta serale di prednisone MR	Miglioramento della risposta ACR20, ACR50 e ACR70 e migliore controllo globale dell'attività di malattia rispetto al placebo.
To et al. (2009)	Metotrexato	Modello murino di CIA	Somministrazione sincronizzata con il picco circadiano di TNF- α	Miglior indice terapeutico rispetto ad altri orari e riduzione dell'infiammazione.

Studio	Farmaco/strategia	Modello o popolazione	Schema cronoterapico	Principali risultati
To et al. (2011)	Metotrexato	30 pazienti con AR già in terapia con MTX	Somministrazione serale prima di coricarsi	Riduzione significativa del DAS28, miglioramento HAQ e remissione clinica in circa un quarto dei pazienti.
Wang et al. (2018)	Metotrexato	Modello murino di CIA	Somministrazione sincronizzata con le oscillazioni di IL-6	Aumento dell'efficacia terapeutica del MTX quando somministrato in relazione al ritmo circadiano di IL-6.
Suzuki et al. (2018)	Metotrexato	Campioni di tessuto sinoviale ottenuto da pazienti affetti da AR	Studio sui meccanismi molecolari circadiani	Modulazione di fattori PAR bZIP e del gene PER2, con effetti su apoptosi e iperplasia sinoviale
Hashimoto et al. (2025)	Baricitinib	122 pazienti con AR	2 o 4 mg mattina vs sera	Migliore risposta ACR20 con 4 mg serali, miglioramenti anche in ACR50, ACR70, CDAI, dolore e HAQ-DI.
Kanasaki et al. (2012)	Mizoribina	Modello murino di CIA	Somministrazione durante la fase di buio	Maggiore riduzione della progressione dell'artrite, della leucocitosi e dei parametri infiammatori.
Obayashi et al. (2011)	Tacrolimus	Modello murino di CIA	Somministrazione sincronizzata con l'aumento dei mediatori pro-infiammatori	Riduzione più marcata della gravità dell'artrite e dei livelli sierici di TNF- α e fattore reumatoide.

Tabella 1/ Principali evidenze sperimentali e cliniche relative all'applicazione della cronoterapia nell'artrite reumatoide. La tabella riassume gli studi condotti con glucocorticoidi, metotrexato, JAK-inibitori e altri agenti immunomodulatori, evidenziando il ruolo del timing di somministrazione nel modulare l'efficacia terapeutica.

Nel loro insieme, gli studi fino ad ora descritti evidenziano come l'efficacia di numerose strategie terapeutiche possa essere potenzialmente influenzata dall'orario di somministrazione. Sebbene le evidenze più solide derivino attualmente dall'impiego dei glucocorticoidi a rilascio modificato, i dati preclinici e clinici disponibili suggeriscono che il principio cronoterapico potrebbe essere applicabile a diverse classi di farmaci impiegati nel trattamento dell'artrite reumatoide.

4.5 Basi cronofarmacologiche della risposta ai farmaci

Le evidenze cliniche e precliniche discusse nei paragrafi precedenti suggeriscono che il timing di somministrazione possa influenzare significativamente la risposta terapeutica. La somministrazione di un farmaco in concomitanza con il picco di espressione del proprio bersaglio biologico può ottimizzare l'interazione farmacologica e migliorare l'efficacia terapeutica. Un altro approccio potrebbe consistere nell'armonizzare la somministrazione di un farmaco con i ritmi circadiani dei meccanismi implicati nell'assorbimento, distribuzione, metabolismo o escrezione (Zhang et al., 2018).

I ritmi circadiani influenzano numerosi aspetti della risposta ai farmaci, inclusi farmacocinetica, farmacodinamica, tollerabilità e tossicità. La farmacocinetica descrive i processi di assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione (ADME) dei farmaci. È stato dimostrato che i processi ADME sono soggetti a regolazione circadiana. Tali processi sono modulati da numerose funzioni fisiologiche soggette a regolazione circadiana, tra cui il metabolismo epatico, la secrezione di acido gastrico, il pH, la motilità gastrointestinale, la permeabilità della membrana, il flusso sanguigno, le proteine plasmatiche, il volume della bile, l'escrezione di sali, la velocità di filtrazione glomerulare renale, la velocità di riassorbimento tubulare e numerosi altri processi fisiologici soggetti a regolazione circadiana (Erkekoglu & Baydar, 2012).

L'assorbimento del farmaco è una fase critica della farmacocinetica, che comporta il passaggio del farmaco dal sito di somministrazione alla circolazione sistemica. L'entità e la velocità di assorbimento sono cruciali per determinare la biodisponibilità del farmaco, ovvero la porzione di farmaco che raggiunge il flusso sanguigno in forma attiva.

L'espressione di diversi trasportatori di assorbimento (ad esempio, Slc15a1/PepT1 e Slc22a4/Octn1) nell'intestino tenue presenta oscillazioni circadiane (Stearns et al., 2008) (Dong et al., 2020).

I ritmi circadiani influenzano anche l'espressione dei trasportatori di membrana e degli enzimi metabolici nell'intestino (Bicker et al., 2020). Studi condotti in modelli murini hanno identificato numerosi geni coinvolti nel metabolismo dei farmaci soggetti a regolazione circadiana, tra cui diversi membri della famiglia dei citocromi P450 (Zhang et al., 2009). In particolare, alcuni enzimi CYP, come il CYP3A4, presentano variazioni circadiane dell'attività metabolica (Dong et al., 2020).

L'influenza dei ritmi circadiani sulla farmacocinetica è stata osservata anche per farmaci impiegati nel trattamento dell'artrite reumatoide. Furtado et al. (2022) hanno dimostrato in modelli sperimentali che l'espressione del trasportatore Abcc4 presenta variazioni giornaliere e che tali oscillazioni possono modificare la distribuzione del metotrexato attraverso la barriera sangue-liquor, evidenziando il potenziale impatto dell'orario di somministrazione sull'efficacia terapeutica. Inoltre, è stata descritta una correlazione temporale tra la tossicità intestinale indotta dal metotrexato e l'espressione del trasportatore Abcc2 (Yu et al., 2013).

Un ulteriore aspetto di interesse riguarda la durata d'azione dei farmaci. Sebbene tradizionalmente si ritenga che la dipendenza dall'orario di somministrazione sia maggiormente rilevante per i farmaci a breve emivita, una revisione sistematica condotta da Ruben et al. (2019) ha evidenziato effetti cronoterapici anche per farmaci caratterizzati da emivite intermedie. Tali osservazioni suggeriscono che il tempo biologico possa rappresentare una variabile clinicamente rilevante indipendentemente dalle sole caratteristiche farmacocinetiche del farmaco.

Nel complesso, queste evidenze indicano che i meccanismi circadiani possono influenzare sia la farmacocinetica sia la farmacodinamica dei farmaci. La regolazione temporale dei processi di assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione, insieme alle oscillazioni circadiane dei bersagli farmacologici, costituisce una plausibile spiegazione biologica delle differenze di efficacia osservate in funzione dell'orario di

somministrazione e fornisce una solida base biologica per l'applicazione della cronoterapia nella pratica clinica.

4.6 Limiti e prospettive future

Nonostante il crescente interesse nei confronti della cronoterapia e le numerose evidenze sperimentali che ne supportano il razionale biologico, anche in altre patologie, la sua applicazione clinica rimane ancora eterogenea tra le diverse classi farmacologiche. Nell'artrite reumatoide, l'utilizzo del prednisone a rilascio modificato rappresenta uno degli esempi più consolidati di applicazione dei principi cronoterapici nella pratica clinica. Tuttavia, per molte altre strategie terapeutiche, le evidenze disponibili risultano ancora limitate e non consentono di definire raccomandazioni universalmente condivise basate sull'orario di somministrazione dei farmaci.

Una delle principali criticità riguarda l'eterogeneità metodologica degli studi clinici condotti finora. Molti trial hanno confrontato esclusivamente la somministrazione mattutina e serale dei trattamenti, senza considerare l'intera complessità dell'organizzazione temporale dei processi biologici. Inoltre, la limitata numerosità campionaria, la breve durata del follow-up e la variabilità degli endpoint clinici adottati rendono talvolta difficile confrontare i risultati ottenuti e trarre conclusioni definitive sull'effettiva superiorità di specifici schemi cronoterapici.

Un ulteriore elemento di complessità è rappresentato dalla marcata variabilità interindividuale dei ritmi circadiani. Sebbene l'organizzazione generale del sistema circadiano sia conservata tra gli individui, la fase biologica interna può differire significativamente in funzione di fattori genetici, età, sesso, cronotipo, abitudini comportamentali, esposizione alla luce e condizioni lavorative (Ruben et al., 2019). Di conseguenza, un medesimo orario di somministrazione potrebbe non corrispondere alla stessa fase circadiana in tutti i pazienti. Questo aspetto suggerisce che l'approccio cronoterapico del futuro debba progressivamente evolvere da una semplice modulazione dell'orario di assunzione verso strategie realmente personalizzate e basate sul tempo biologico individuale.

In tale contesto, lo sviluppo di biomarcatori circadiani affidabili rappresenta una delle principali sfide della ricerca contemporanea. Recenti progressi nell'ambito della trascrittomica, della metabolomica e della biologia computazionale hanno consentito l'identificazione di firme molecolari potenzialmente utili per stimare la fase circadiana individuale mediante semplici campioni biologici. Tali strumenti potrebbero in futuro permettere di adattare il timing terapeutico alle caratteristiche biologiche del singolo paziente, favorendo l'integrazione tra cronoterapia e medicina di precisione (Pferdehirt et al., 2025) (Cimino et al., 2025).

Parallelamente, il crescente avanzamento delle conoscenze relative ai meccanismi molecolari dell'orologio circadiano sta aprendo nuove prospettive farmacologiche. Oltre all'ottimizzazione temporale dei farmaci già disponibili, l'identificazione di bersagli terapeutici appartenenti al sistema circadiano, quali REV-ERB, ROR, CLOCK e BMAL1, potrebbe consentire lo sviluppo di strategie innovative in grado di modulare direttamente i processi immunitari e infiammatori. Sebbene tali approcci siano attualmente confinati prevalentemente all'ambito preclinico, essi rappresentano un settore di ricerca particolarmente promettente per il trattamento delle malattie infiammatorie croniche (Baniya et al., 2026).

Nel complesso, le evidenze attualmente disponibili indicano che il tempo biologico costituisce una variabile fisiologica rilevante nella risposta ai trattamenti farmacologici. La progressiva integrazione delle conoscenze cronobiologiche con gli approcci della medicina personalizzata potrebbe contribuire, nei prossimi anni, allo sviluppo di strategie terapeutiche più efficaci, sicure e adattate alle caratteristiche biologiche del singolo individuo, aprendo nuove prospettive per una gestione sempre più personalizzata delle malattie infiammatorie croniche come l'artrite reumatoide.

CONCLUSIONE

L'artrite reumatoide è una malattia autoimmune complessa nella cui patogenesi convergono predisposizione genetica, fattori ambientali e alterazioni dei meccanismi immunitari. Negli ultimi anni è emerso come il sistema circadiano possa influenzare sia l'attività infiammatoria sia la manifestazione clinica della malattia. Le oscillazioni temporali di citochine pro-infiammatorie, ormoni e l'espressione dei principali geni dell'orologio circadiano contribuiscono infatti alla caratteristica ritmicità dei sintomi, con un peggioramento dell'attività di malattia nelle prime ore del mattino.

Le evidenze sperimentali e cliniche analizzate in questo elaborato suggeriscono che l'orologio circadiano non costituisca un semplice modulatore della sintomatologia, ma partecipi attivamente ai processi immunologici e infiammatori coinvolti nella patogenesi dell'artrite reumatoide. In particolare, le alterazioni dell'espressione di geni dell'orologio biologico, quali *Bmal1*, *Per2*, *Cry* e *REV-ERBa*, sembrano contribuire al mantenimento dell'infiammazione cronica e alla progressione del danno articolare, rafforzando il legame tra cronobiologia e malattia.

In questo contesto, la cronoterapia rappresenta un approccio terapeutico razionale basato sulla sincronizzazione della somministrazione dei farmaci con i ritmi biologici dell'organismo. I risultati ottenuti con i glucocorticoidi a rilascio modificato hanno fornito una delle dimostrazioni più solide dell'utilità clinica di tale strategia, mostrando come l'ottimizzazione del timing terapeutico possa migliorare il controllo dei sintomi senza necessariamente aumentare il dosaggio dei farmaci. Parallelamente, le evidenze emergenti relative ad altre classi terapeutiche suggeriscono che i principi della cronoterapia potrebbero avere applicazioni più ampie di quanto attualmente riconosciuto.

La crescente comprensione delle basi molecolari della cronobiologia e della cronofarmacologia sta inoltre evidenziando come il tempo biologico rappresenti una variabile rilevante nella risposta ai trattamenti farmacologici. Le oscillazioni circadiane dei processi coinvolti nell'assorbimento, nella distribuzione, nel metabolismo e nell'eliminazione dei farmaci, così come quelle dei loro bersagli molecolari, offrono

infatti una plausibile spiegazione biologica delle differenze di efficacia osservate in funzione dell'orario di somministrazione.

Sebbene siano ancora necessari ulteriori studi per definire il ruolo della cronoterapia nella pratica clinica e per comprendere meglio l'impatto della variabilità circadiana individuale, le conoscenze attualmente disponibili indicano che l'integrazione dei principi della cronobiologia nella gestione dell'artrite reumatoide rappresenta una prospettiva promettente. In futuro, l'identificazione di biomarcatori circadiani e lo sviluppo di strategie terapeutiche personalizzate potrebbero consentire di adattare i trattamenti non soltanto alle caratteristiche cliniche del paziente, ma anche al suo tempo biologico, contribuendo a una medicina sempre più precisa ed efficace.

BIBLIOGRAFIA

- Arjona, A., & Sarkar, D. K. (2005). Circadian oscillations of clock genes, cytolytic factors, and cytokines in rat NK cells. *Journal of Immunology*, 174(12), 7618–7624. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.12.7618>
- Arjona, A., & Sarkar, D. K. (2008). Are circadian rhythms the code of hypothalamic-immune communication? Insights from natural killer cells. *Neurochemical Research*, 33(4), 708–718. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9501-z>
- Arvidson, N. G., Gudbjörnsson, B., Larsson, A., & Hällgren, R. (1997). The timing of glucocorticoid administration in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 56(1), 27–31. <https://doi.org/10.1136/ard.56.1.27>
- Baniya, P., Puri, S., Panth, N., Thapa, R., Gupta, M., Singh, S. K., Bhatia, R., Gupta, G., Dua, K., & Paudel, K. R. (2026). Circadian clock regulation in lung health and disease: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *EXCLI Journal*, 25, 427–457. <https://doi.org/10.17179/excli2026-9372>
- Bartok, B., & Firestein, G. S. (2010). Fibroblast-like synoviocytes: Key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunological Reviews*, 233(1), 233–255. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2009.00859.x>
- Bautista, J., Ojeda-Mosquera, S., Ordóñez-Lozada, D., & López-Cortés, A. (2025). Peripheral clocks and systemic zeitgeber interactions: From molecular mechanisms to circadian precision medicine. *Frontiers in Endocrinology*, 16, 1606242. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1606242>
- Bicker, J., Alves, G., Falcão, A., & Fortuna, A. (2020). Timing in drug absorption and disposition: The past, present, and future of chronopharmacokinetics. *British Journal of Pharmacology*, 177(10), 2215–2239. <https://doi.org/10.1111/bph.15017>

- Bonelli, M., & Scheinecker, C. (2018). How does abatacept really work in rheumatoid arthritis? *Current Opinion in Rheumatology*, 30(3), 295–300. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000491>
- Bullock, J., Rizvi, S. A. A., Saleh, A. M., Ahmed, S. S., Do, D. P., Ansari, R. A., & Ahmed, J. (2018). Rheumatoid Arthritis: A Brief Overview of the Treatment. *Medical Principles and Practice: International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 27(6), 501–507. <https://doi.org/10.1159/000493390>
- Buttgereit, F., Doering, G., Schaeffler, A., Witte, S., Sierakowski, S., Gromnica-Ihle, E., Jeka, S., Krueger, K., Szechinski, J., & Alten, R. (2008). Efficacy of modified-release versus standard prednisone to reduce duration of morning stiffness of the joints in rheumatoid arthritis (CAPRA-1): A double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 371(9608), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60132-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60132-4)
- Buttgereit, F., Doering, G., Schaeffler, A., Witte, S., Sierakowski, S., Gromnica-Ihle, E., Jeka, S., Krueger, K., Szechinski, J., & Alten, R. (2010). Targeting pathophysiological rhythms: Prednisone chronotherapy shows sustained efficacy in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(7), 1275–1280. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.126888>
- Buttgereit, F., Mehta, D., Kirwan, J., Szechinski, J., Boers, M., Alten, R. E., Supronik, J., Szombati, I., Romer, U., Witte, S., & Saag, K. G. (2013). Low-dose prednisone chronotherapy for rheumatoid arthritis: A randomised clinical trial (CAPRA-2). *Annals of the Rheumatic Diseases*, 72(2), 204–210. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-201067>
- Cammisa, I., Zona, M., Petracca, G., Rulli, E., Veredice, C., Cipolla, C., & Rigante, D. (2026). Sleep and Cytokines: A Bidirectional Dialogue Involving Rest and Immunity. *Children*, 13(4), 535. <https://doi.org/10.3390/children13040535>
- Carbone, F., De Rosa, V., Carrieri, P. B., Montella, S., Bruzzese, D., Porcellini, A., Procaccini, C., La Cava, A., & Matarese, G. (2014). Regulatory T cell proliferative potential is

- impaired in human autoimmune disease. *Nature Medicine*, 20(1), 69–74.
<https://doi.org/10.1038/nm.3411>
- Chaput, J.-P., McHill, A. W., Cox, R. C., Broussard, J. L., Dutil, C., da Costa, B. G. G., Sampasa-Kanyinga, H., & Wright, K. P. (2023). The role of insufficient sleep and circadian misalignment in obesity. *Nature Reviews. Endocrinology*, 19(2), 82–97.
<https://doi.org/10.1038/s41574-022-00747-7>
- Cheng, F.-L., An, Y.-F., Xue, J.-M., Wang, Y.-J., Ding, X.-W., Zhang, Y.-T., & Zhao, C.-Q. (2022). Circadian rhythm disruption exacerbates Th2-like immune response in murine allergic airway inflammation. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 12(5), 757–770. <https://doi.org/10.1002/alr.22914>
- Cimino, A., Pat, F., Oyebamiji, O., Pferdehirt, L., Pham, C. T. N., Herzog, E. D., & Guilak, F. (2025a). Programmable chronogenetic gene circuits for self-regulated circadian delivery of biologic drugs. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 385, 113959. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2025.113959>
- Cimino, A., Pat, F., Oyebamiji, O., Pferdehirt, L., Pham, C. T. N., Herzog, E. D., & Guilak, F. (2025b). Programmable chronogenetic gene circuits for self-regulated circadian delivery of biologic drugs. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 385, 113959. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2025.113959>
- Croia, C., Bursi, R., Suter, D., Petrelli, F., Alunno, A., & Puxeddu, I. (2019). One year in review 2019: Pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 37(3), 347–357.
- Cronstein, B. N. (1997). The mechanism of action of methotrexate. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 23(4), 739–755. [https://doi.org/10.1016/s0889-857x\(05\)70358-6](https://doi.org/10.1016/s0889-857x(05)70358-6)
- Cronstein, B. N., & Aune, T. M. (2020). Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nature Reviews. Rheumatology*, 16(3), 145–154.
<https://doi.org/10.1038/s41584-020-0373-9>

- Cui, L., Xu, F., Wang, S., Li, X., Lin, H., Ding, Y., & Du, M. (2021). Pharmacological activation of rev-erba suppresses LPS-induced macrophage M1 polarization and prevents pregnancy loss. *BMC Immunology*, 22(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s12865-021-00438-4>
- Cutolo, M., Buttgereit, F., & Straub, R. H. (2011). Regulation of glucocorticoids by the central nervous system. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 29(5 Suppl 68), S-19-22.
- Cutolo, M., Shoenfeld, Y., Bogdanos, D. P., Gotelli, E., Salvato, M., Gunkl-Tóth, L., & Nagy, G. (2024). To treat or not to treat rheumatoid arthritis with glucocorticoids? A reheated debate. *Autoimmunity Reviews*, 23(1), 103437. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2023.103437>
- Damato, A. R., & Herzog, E. D. (2022). Circadian clock synchrony and chronotherapy opportunities in cancer treatment. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 126, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.07.017>
- Dar, M. I., Hussain, Y., & Pan, X. (2025). Roles of circadian clocks in macrophage metabolism: Implications in inflammation and metabolism of lipids, glucose, and amino acids. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 328(5), E723–E741. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00009.2025>
- Darrah, E., & Andrade, F. (2018). Rheumatoid arthritis and citrullination. *Current Opinion in Rheumatology*, 30(1), 72–78. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000452>
- Deandrade, J. R., McCormick, J. N., & Hill, A. G. (1964). SMALL DOSES OF PREDNISOLONE IN THE MANAGEMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 23(2), 158–162. <https://doi.org/10.1136/ard.23.2.158>
- Dhillon, S. (2017). Tofacitinib: A Review in Rheumatoid Arthritis. *Drugs*, 77(18), 1987–2001. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0835-9>
- Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: Organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual Review of Physiology*, 72, 517–549. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135821>

- Dimitrov, S., Benedict, C., Heutling, D., Westermann, J., Born, J., & Lange, T. (2009). Cortisol and epinephrine control opposing circadian rhythms in T cell subsets. *Blood*, *113*(21), 5134–5143. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-11-190769>
- Ding, J., Chen, P., & Qi, C. (2024). Circadian rhythm regulation in the immune system. *Immunology*, *171*(4), 525–533. <https://doi.org/10.1111/imm.13747>
- Ding, S., Lin, N., Sheng, X., Zhao, Y., Su, Y., Xu, L., Tong, R., Yan, Y., Fu, Y., He, J., Gao, Y., Yuan, A., Ye, L., Reiter, R. J., & Pu, J. (2019). Melatonin stabilizes rupture-prone vulnerable plaques via regulating macrophage polarization in a nuclear circadian receptor ROR α -dependent manner. *Journal of Pineal Research*, *67*(2), e12581. <https://doi.org/10.1111/jpi.12581>
- Ditmer, M., Gabryelska, A., Turkiewicz, S., Białasiewicz, P., Małecka-Wojcieszko, E., & Sochal, M. (2021). Sleep Problems in Chronic Inflammatory Diseases: Prevalence, Treatment, and New Perspectives: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, *11*(1), 67. <https://doi.org/10.3390/jcm11010067>
- Doherty, E. N., & Woodie, L. N. (2026). Circadian Timekeeping Through Nutritional and Metabolic Sensory Networks. *Nutrients*, *18*(7), 1133. <https://doi.org/10.3390/nu18071133>
- Dollish, H. K., Tsyglakova, M., & McClung, C. A. (2024). Circadian rhythms and mood disorders: Time to see the light. *Neuron*, *112*(1), 25–40. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2023.09.023>
- Dong, D., Yang, D., Lin, L., Wang, S., & Wu, B. (2020). Circadian rhythm in pharmacokinetics and its relevance to chronotherapy. *Biochemical Pharmacology*, *178*, 114045. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114045>
- Drosos, A. A., & Voulgari, P. V. (2026). Optimising Conventional Therapy in Rheumatoid Arthritis. *Mediterranean Journal of Rheumatology*, *37*(1), 117–125. <https://doi.org/10.31138/mjr.311025.eti>

- Early, J. O., Menon, D., Wyse, C. A., Cervantes-Silva, M. P., Zaslona, Z., Carroll, R. G., Palsson-McDermott, E. M., Angiari, S., Ryan, D. G., Corcoran, S. E., Timmons, G., Geiger, S. S., Fitzpatrick, D. J., O'Connell, D., Xavier, R. J., Hokamp, K., O'Neill, L. A. J., & Curtis, A. M. (2018). Circadian clock protein BMAL1 regulates IL-1 β in macrophages via NRF2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(36), E8460–E8468. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800431115>
- Erkekoglu, P., & Baydar, T. (2012). Chronopharmacokinetics of drugs in toxicological aspects: A short review for pharmacy practitioners. *Journal of Research in Pharmacy Practice*, 1(1), 3–9. <https://doi.org/10.4103/2279-042X.99670>
- Esensten, J. H., Helou, Y. A., Chopra, G., Weiss, A., & Bluestone, J. A. (2016). CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy. *Immunity*, 44(5), 973–988. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.04.020>
- Fagiani, F., Di Marino, D., Romagnoli, A., Travelli, C., Voltan, D., Di Cesare Mannelli, L., Racchi, M., Govoni, S., & Lanni, C. (2022). Molecular regulations of circadian rhythm and implications for physiology and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 41. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00899-y>
- Falconer, J., Murphy, A. N., Young, S. P., Clark, A. R., Tiziani, S., Guma, M., & Buckley, C. D. (2018). Review: Synovial Cell Metabolism and Chronic Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatology*, 70(7), 984–999. <https://doi.org/10.1002/art.40504>
- Faraut, B., Cordina-Duverger, E., Aristizabal, G., Drogou, C., Gauriau, C., Sauvet, F., Lévi, F., Léger, D., & Guénel, P. (2022). Immune disruptions and night shift work in hospital healthcare professionals: The intricate effects of social jet-lag and sleep debt. *Frontiers in Immunology*, 13, 939829. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.939829>
- Feigin, R. D., Joaquin, V. H. S., Haymond, M. W., & Wyatt, R. G. (1969). Daily Periodicity of Susceptibility of Mice to Pneumococcal Infection. *Nature*, 224(5217), 379–380. <https://doi.org/10.1038/224379a0>

- Feigin, R. D., Middelkamp, J. N., & Reed, C. (1972). Circadian Rhythmicity in Susceptibility of Mice to Sublethal Coxsackie B3 Infection. *Nature New Biology*, 240(97), 57–58. <https://doi.org/10.1038/newbio240057a0>
- Fishbein, A. B., Knutson, K. L., & Zee, P. C. (2021). Circadian disruption and human health. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(19), e148286. <https://doi.org/10.1172/JCI148286>
- Frasca, D., Diaz, A., Romero, M., Landin, A. M., & Blomberg, B. B. (2014). High TNF- α levels in resting B cells negatively correlate with their response. *Experimental Gerontology*, 54, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.01.004>
- Froy, O., & Garaulet, M. (2018). The Circadian Clock in White and Brown Adipose Tissue: Mechanistic, Endocrine, and Clinical Aspects. *Endocrine Reviews*, 39(3), 261–273. <https://doi.org/10.1210/er.2017-00193>
- Garbarino, S., Lanteri, P., Bragazzi, N. L., Magnavita, N., & Scoditti, E. (2021). Role of sleep deprivation in immune-related disease risk and outcomes. *Communications Biology*, 4(1), 1304. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02825-4>
- Garcia-Mauriño, S., Gonzalez-Haba, M. G., Calvo, J. R., Rafii-El-Idrissi, M., Sanchez-Margalet, V., Goberna, R., & Guerrero, J. M. (1997). Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN- γ production by human circulating CD4⁺ cells: A possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. *Journal of Immunology*, 159(2), 574–581.
- Gatti, G., Del Ponte, D., Cavallo, R., Sartori, M. L., Salvadori, A., Carignola, R., Carandente, F., & Angeli, A. (1987). Circadian changes in human natural killer-cell activity. *Progress in Clinical and Biological Research*, 227A, 399–409.
- Gerlag, D. M., Safy, M., Maijer, K. I., Tang, M. W., Tas, S. W., Starmans-Kool, M. J. F., van Tubergen, A., Janssen, M., de Hair, M., Hansson, M., de Vries, N., Zwinderman, A. H., & Tak, P. P. (2019). Effects of B-cell directed therapy on the preclinical stage of rheumatoid arthritis: The PRAIRI study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 78(2), 179–185. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-212763>

- Ghlichloo, I., & Gerriets, V. (2026). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/>
- Gibbs, J. E., Blaikley, J., Beesley, S., Matthews, L., Simpson, K. D., Boyce, S. H., Farrow, S. N., Else, K. J., Singh, D., Ray, D. W., & Loudon, A. S. I. (2012). The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(2), 582–587. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106750109>
- Gibbs, J. E., & Ray, D. W. (2013). The role of the circadian clock in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *15*(1), 205. <https://doi.org/10.1186/ar4146>
- Guo, Q., Wang, Y., Xu, D., Nossent, J., Pavlos, N. J., & Xu, J. (2018). Rheumatoid arthritis: Pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Research*, *6*, 15. <https://doi.org/10.1038/s41413-018-0016-9>
- Halberg, F., Johnson, E. A., Brown, B. W., & Bittner, J. J. (1960). Susceptibility Rhythm to E. coli Endotoxin and Bioassay. *Experimental Biology and Medicine*, *103*(1), 142–144. <https://doi.org/10.3181/00379727-103-25439>
- Hand, L. E., Dickson, S. H., Freemont, A. J., Ray, D. W., & Gibbs, J. E. (2019). The circadian regulator Bmal1 in joint mesenchymal cells regulates both joint development and inflammatory arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *21*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1770-1>
- Harre, U., Georgess, D., Bang, H., Bozec, A., Axmann, R., Ossipova, E., Jakobsson, P.-J., Baum, W., Nimmerjahn, F., Szarka, E., Sarmay, G., Krumbholz, G., Neumann, E., Toes, R., Scherer, H.-U., Catrina, A. I., Klareskog, L., Jurdic, P., & Schett, G. (2012). Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *The Journal of Clinical Investigation*, *122*(5), 1791–1802. <https://doi.org/10.1172/JCI60975>
- Hashimoto, T., Tsuboi, K., Abe, T., Yoshikawa, T., Noguchi, K., Furukawa, T., Tateishi, K., Terashima, Y., Sibanuma, N., Azuma, N., Yamane, T., Matsui, K., & Hashiramoto, A.

- (2025). Nocturnal baricitinib administration leads to rapid drug responses in rheumatoid arthritis: A multicenter non-randomized controlled study. *Arthritis Research & Therapy*, 27(1), 91. <https://doi.org/10.1186/s13075-025-03555-2>
- Hashiramoto, A., Yamane, T., Tsumiyama, K., Yoshida, K., Komai, K., Yamada, H., Yamazaki, F., Doi, M., Okamura, H., & Shiozawa, S. (2010). Mammalian clock gene Cryptochrome regulates arthritis via proinflammatory cytokine TNF-alpha. *Journal of Immunology*, 184(3), 1560–1565. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903284>
- He, W., Holtkamp, S., Hergenhan, S. M., Kraus, K., de Juan, A., Weber, J., Bradfield, P., Grenier, J. M. P., Pelletier, J., Druzd, D., Chen, C.-S., Ince, L. M., Bierschenk, S., Pick, R., Sperandio, M., Aurrand-Lions, M., & Scheiermann, C. (2018). Circadian Expression of Migratory Factors Establishes Lineage-Specific Signatures that Guide the Homing of Leukocyte Subsets to Tissues. *Immunity*, 49(6), 1175-1190.e7. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.10.007>
- Hedström, A. K., Åkerstedt, T., Klareskog, L., & Alfredsson, L. (2017). Relationship between shift work and the onset of rheumatoid arthritis. *RMD Open*, 3(2), e000475. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2017-000475>
- Hergenhan, S., Holtkamp, S., & Scheiermann, C. (2020). Molecular Interactions Between Components of the Circadian Clock and the Immune System. *Journal of Molecular Biology*, 432(12), 3700–3713. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.12.044>
- Holtkamp, S. J., Ince, L. M., Barnoud, C., Schmitt, M. T., Sinturel, F., Pilorz, V., Pick, R., Jemelin, S., Mühlstädt, M., Boehncke, W.-H., Weber, J., Laubender, D., Philippou-Massier, J., Chen, C.-S., Holtermann, L., Vestweber, D., Sperandio, M., Schraml, B. U., Halin, C., ... Scheiermann, C. (2021). Circadian clocks guide dendritic cells into skin lymphatics. *Nature Immunology*, 22(11), 1375–1381. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01040-x>

- Jacob, H., Curtis, A. M., & Kearney, C. J. (2020). Therapeutics on the clock: Circadian medicine in the treatment of chronic inflammatory diseases. *Biochemical Pharmacology*, 182, 114254. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114254>
- Jamilloux, Y., El Jammal, T., Vuitton, L., Gerfaud-Valentin, M., Kerever, S., & Sève, P. (2019). JAK inhibitors for the treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmunity Reviews*, 18(11), 102390. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.102390>
- Jones, G., Wallace, T., McIntosh, M. J., Brockwell, L., Gómez-Reino, J. J., & Sebba, A. (2017). Five-year Efficacy and Safety of Tocilizumab Monotherapy in Patients with Rheumatoid Arthritis Who Were Methotrexate- and Biologic-naïve or Free of Methotrexate for 6 Months: The AMBITION Study. *The Journal of Rheumatology*, 44(2), 142–146. <https://doi.org/10.3899/jrheum.160287>
- Kanasaki, Y., Tomonari, M., Sasaki, H., & To, H. (2012). Chronopharmacology of mizoribine in collagen-induced arthritis rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 120(2), 112–120. <https://doi.org/10.1254/jphs.12059fp>
- Kapsimalis, F., Richardson, G., Opp, M. R., & Kryger, M. (2005). Cytokines and normal sleep. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 11(6), 481–484. <https://doi.org/10.1097/01.mcp.0000183062.98665.6b>
- Karmakar, S., Kay, J., & Gravalles, E. M. (2010). Bone damage in rheumatoid arthritis: Mechanistic insights and approaches to prevention. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 36(2), 385–404. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2010.03.003>
- Kelly, B., & O'Neill, L. A. J. (2015). Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity. *Cell Research*, 25(7), 771–784. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.68>
- Kiperman, T., & Ma, K. (2024). Circadian Clock in Muscle Disease Etiology and Therapeutic Potential for Duchenne Muscular Dystrophy. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(9), 4767. <https://doi.org/10.3390/ijms25094767>

- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., & Kuchroo, V. K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. *Annual Review of Immunology*, 27, 485–517. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132710>
- Kowanko, I. C., Pownall, R., Knapp, M. S., Swannell, A. J., & Mahoney, P. G. (1981). Circadian variations in the signs and symptoms of rheumatoid arthritis and in the therapeutic effectiveness of flurbiprofen at different times of day. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 11(5), 477–484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1981.tb01153.x>
- Krishnamurthy, A., Joshua, V., Haj Hensvold, A., Jin, T., Sun, M., Vivar, N., Ytterberg, A. J., Engström, M., Fernandes-Cerqueira, C., Amara, K., Magnusson, M., Wigerblad, G., Kato, J., Jiménez-Andrade, J. M., Tyson, K., Rapecki, S., Lundberg, K., Catrina, S.-B., Jakobsson, P.-J., ... Catrina, A. I. (2016). Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 75(4), 721–729. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-208093>
- Lange, T., Luebber, F., Grasshoff, H., & Besedovsky, L. (2022). The contribution of sleep to the neuroendocrine regulation of rhythms in human leukocyte traffic. *Seminars in Immunopathology*, 44(2), 239–254. <https://doi.org/10.1007/s00281-021-00904-6>
- Li, Z.-Y., Cai, M.-L., Qin, Y., & Chen, Z. (2023). Age/autoimmunity-associated B cells in inflammatory arthritis: An emerging therapeutic target. *Frontiers in Immunology*, 14, 1103307. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1103307>
- Liu, H., Zhu, Y., Gao, Y., Qi, D., Zhao, L., Zhao, L., Liu, C., Tao, T., Zhou, C., Sun, X., Guo, F., & Xiao, J. (2020). NR1D1 modulates synovial inflammation and bone destruction in rheumatoid arthritis. *Cell Death & Disease*, 11(2), 129. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2314-6>
- Liu, Y., & Sancar, A. (2026). Biochemical mechanism of the mammalian circadian clock. *FEBS Letters*, 600(6), 716–731. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.70150>
- Logan, R. W., Wynne, O., Levitt, D., Price, D., & Sarkar, D. K. (2013). Altered circadian expression of cytokines and cytolytic factors in splenic natural killer cells of Per1(-/-)

- mutant mice. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 33(3), 108–114. <https://doi.org/10.1089/jir.2012.0092>
- Maestroni, G. J. M. (2020). Adrenergic Modulation of Hematopoiesis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 15(1), 82–92. <https://doi.org/10.1007/s11481-019-09840-7>
- Marston, B., Palanichamy, A., & Anolik, J. H. (2010). B cells in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, 22(3), 307–315. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e3283369cb8>
- Mellado, M., Martínez-Muñoz, L., Cascio, G., Lucas, P., Pablos, J. L., & Rodríguez-Frade, J. M. (2015). T Cell Migration in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in Immunology*, 6, 384. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00384>
- Menet, J. S., Pescatore, S., & Rosbash, M. (2014). CLOCK:BMAL1 is a pioneer-like transcription factor. *Genes & Development*, 28(1), 8–13. <https://doi.org/10.1101/gad.228536.113>
- Mohammad Piri, S., Amin Habibi, M., Shool, S., Khazaeli Najafabadi, M., Ahmadpour, S., Alemi, F., Aria Nejadghaderi, S., Shokri, P., Abdi, M., Asghari, N., Amir Asef-Agah, S., & Tavakolpour, S. (2024). Role of T follicular helper cells in autoimmune rheumatic Diseases: A systematic review on immunopathogenesis and response to treatment. *Human Immunology*, 85(5), 110838. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2024.110838>
- Moslehi, M., Moazamiyanfar, R., Dakkali, M. S., Rezaei, S., Rastegar-Pouyani, N., Jafarzadeh, E., Mouludi, K., Khodamoradi, E., Taeb, S., & Najafi, M. (2022). Modulation of the immune system by melatonin; implications for cancer therapy. *International Immunopharmacology*, 108, 108890. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108890>
- Muller, J. E., Stone, P. H., Turi, Z. G., Rutherford, J. D., Czeisler, C. A., Parker, C., Poole, W. K., Passamani, E., Roberts, R., & Robertson, T. (1985). Circadian variation in the frequency of onset of acute myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, 313(21), 1315–1322. <https://doi.org/10.1056/NEJM198511213132103>

- Nakai, A., Hayano, Y., Furuta, F., Noda, M., & Suzuki, K. (2014). Control of lymphocyte egress from lymph nodes through β 2-adrenergic receptors. *The Journal of Experimental Medicine*, 211(13), 2583–2598. <https://doi.org/10.1084/jem.20141132>
- Nakao, A. (2014). Temporal regulation of cytokines by the circadian clock. *Journal of Immunology Research*, 2014, 614529. <https://doi.org/10.1155/2014/614529>
- Obayashi, K., Tomonari, M., Yoshimatsu, H., Fukuyama, R., Ieiri, I., Higuchi, S., & To, H. (2011). Dosing time-dependency of the arthritis-inhibiting effect of tacrolimus in mice. *Journal of Pharmacological Sciences*, 116(3), 264–273. <https://doi.org/10.1254/jphs.11029fp>
- Oishi, K., Fukui, H., Sakamoto, K., Miyazaki, K., Kobayashi, H., & Ishida, N. (2002). Differential expressions of mPer1 and mPer2 mRNAs under a skeleton photoperiod and a complete light-dark cycle. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 109(1–2), 11–17. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(02\)00457-6](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(02)00457-6)
- Oishi, K., Sakamoto, K., Okada, T., Nagase, T., & Ishida, N. (1998). Antiphase circadian expression between BMAL1 and period homologue mRNA in the suprachiasmatic nucleus and peripheral tissues of rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 253(2), 199–203. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9779>
- Otobe, Y., & Yoshitane, H. (2026). Phosphorylation of CLOCK and BMAL1-a key regulatory mechanism in the mammalian circadian clockwork. *FEBS Letters*, 600(6), 732–737. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.70194>
- Paganelli, R., Petrarca, C., & Di Gioacchino, M. (2018). Biological clocks: Their relevance to immune-allergic diseases. *Clinical and Molecular Allergy: CMA*, 16, 1. <https://doi.org/10.1186/s12948-018-0080-0>
- Pala, O., Diaz, A., Blomberg, B. B., & Frasca, D. (2018). B Lymphocytes in Rheumatoid Arthritis and the Effects of Anti-TNF- α Agents on B Lymphocytes: A Review of the Literature. *Clinical Therapeutics*, 40(6), 1034–1045. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2018.04.016>

- Partch, C. L., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2014). Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends in Cell Biology*, 24(2), 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.07.002>
- Perry, M. G., Kirwan, J. R., Jessop, D. S., & Hunt, L. P. (2009). Overnight variations in cortisol, interleukin 6, tumour necrosis factor alpha and other cytokines in people with rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 68(1), 63–68. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.086561>
- Pettit, A. R., Walsh, N. C., Manning, C., Goldring, S. R., & Gravallesse, E. M. (2006). RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 45(9), 1068–1076. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kel045>
- Pferdehirt, L., Damato, A. R., Lenz, K. L., Gonzalez-Aponte, M. F., Palmer, D., Meng, Q.-J., Herzog, E. D., & Guilak, F. (2025). A synthetic chronogenetic gene circuit for programmed circadian drug delivery. *Nature Communications*, 16(1), 1457. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56584-5>
- Plewa, P., Jędrasiak, A., Jerzyńska, O., Dach, A., Domańska, M., & Pawlik, A. (2026). The Role of Pharmacogenetics in the Effectiveness of Rheumatoid Arthritis Treatment with Leflunomide. *Genes*, 17(5), 573. <https://doi.org/10.3390/genes17050573>
- Prather, A. A., Marsland, A. L., Hall, M., Neumann, S. A., Muldoon, M. F., & Manuck, S. B. (2009). Normative variation in self-reported sleep quality and sleep debt is associated with stimulated pro-inflammatory cytokine production. *Biological Psychology*, 82(1), 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.04.008>
- Preitner, N., Damiola, F., Lopez-Molina, L., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110(2), 251–260. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00825-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00825-5)

- Redwine, L., Hauger, R. L., Gillin, J. C., & Irwin, M. (2000). Effects of sleep and sleep deprivation on interleukin-6, growth hormone, cortisol, and melatonin levels in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(10), 3597–3603. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.10.6871>
- Reinke, H., & Asher, G. (2016). Circadian Clock Control of Liver Metabolic Functions. *Gastroenterology*, 150(3), 574–580. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.11.043>
- Ruben, M. D., Smith, D. F., FitzGerald, G. A., & Hogenesch, J. B. (2019). Dosing time matters. *Science*, 365(6453), 547–549. <https://doi.org/10.1126/science.aax7621>
- Scheer, F. A. J. L., Hilton, M. F., Evoniuk, H. L., Shiels, S. A., Malhotra, A., Sugarbaker, R., Ayers, R. T., Israel, E., Massaro, A. F., & Shea, S. A. (2021). The endogenous circadian system worsens asthma at night independent of sleep and other daily behavioral or environmental cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(37), e2018486118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2018486118>
- Scheiermann, C., Kunisaki, Y., Lucas, D., Chow, A., Jang, J.-E., Zhang, D., Hashimoto, D., Merad, M., & Frenette, P. S. (2012). Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. *Immunity*, 37(2), 290–301. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.05.021>
- Schett, G., & Gravallesse, E. (2012). Bone erosion in rheumatoid arthritis: Mechanisms, diagnosis and treatment. *Nature Reviews. Rheumatology*, 8(11), 656–664. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.153>
- Schwartz, D. M., Kanno, Y., Villarino, A., Ward, M., Gadina, M., & O'Shea, J. J. (2017). JAK inhibition as a therapeutic strategy for immune and inflammatory diseases. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 16(12), 843–862. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.201>
- Seshadri, N., & Doucette, C. A. (2021). Circadian Regulation of the Pancreatic Beta Cell. *Endocrinology*, 162(9), bqab089. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqab089>
- Sharma, P., Danieleto, M., Whang, J. K., Landell, K., Helmus, D., Sands, B. E., Suarez-Farinas, M., Gulko, P. S., & Hirten, R. P. (2025). Wearable devices detect physiological changes

- that precede and are associated with symptomatic and inflammatory rheumatoid arthritis flares. *Scientific Reports*, 16(1), 318. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-29748-y>
- Shimba, A., & Ikuta, K. (2020). Glucocorticoids Regulate Circadian Rhythm of Innate and Adaptive Immunity. *Frontiers in Immunology*, 11, 2143. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02143>
- Smolen, J. S., Edwards, C. J., Konzett, V., Laskou, F., Aletaha, D., Caporali, R., Dörner, T., Hyrich, K. L., Mateus, E., Pope, J. E., Primdahl, J., de Souza, S., Stamm, T., Takeuchi, T., van der Heijde, D., Verschueren, P., Winthrop, K. L., Alvaro-Gracia, J. M., Askling, J., ... Landewé, R. B. M. (2026). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs: 2025 update. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 85(6), 991–1009. <https://doi.org/10.1016/j.ard.2026.01.023>
- Solt, L. A., Kojetin, D. J., & Burris, T. P. (2011). The REV-ERBs and RORs: Molecular links between circadian rhythms and lipid homeostasis. *Future Medicinal Chemistry*, 3(5), 623–638. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.9>
- Starnes, A. N., & Jones, J. R. (2023). Inputs and Outputs of the Mammalian Circadian Clock. *Biology*, 12(4), 508. <https://doi.org/10.3390/biology12040508>
- Stearns, A. T., Balakrishnan, A., Rhoads, D. B., Ashley, S. W., & Tavakkolizadeh, A. (2008). Diurnal Rhythmicity in the Transcription of Jejunal Drug Transporters. *Journal of Pharmacological Sciences*, 108(1), 144–148. <https://doi.org/10.1254/jphs.08100SC>
- Steffens, S., Winter, C., Schloss, M. J., Hidalgo, A., Weber, C., & Soehnlein, O. (2017). Circadian Control of Inflammatory Processes in Atherosclerosis and Its Complications. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 37(6), 1022–1028. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309374>
- Straub, R. H., & Cutolo, M. (2007). Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: Implications for pathophysiology and therapeutic management. *Arthritis and Rheumatism*, 56(2), 399–408. <https://doi.org/10.1002/art.22368>

- Sulli, G., Lam, M. T. Y., & Panda, S. (2019). Interplay between Circadian Clock and Cancer: New Frontiers for Cancer Treatment. *Trends in Cancer*, 5(8), 475–494. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.07.002>
- Sun, L., Wang, X., Saredy, J., Yuan, Z., Yang, X., & Wang, H. (2020). Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. *Redox Biology*, 37, 101759. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101759>
- Sun, Y., Yang, Z., Niu, Z., Peng, J., Li, Q., Xiong, W., Langnas, A. N., Ma, M. Y., & Zhao, Y. (2006). MOP3, a component of the molecular clock, regulates the development of B cells. *Immunology*, 119(4), 451–460. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02456.x>
- Sundar, I. K., Yao, H., Sellix, M. T., & Rahman, I. (2015). Circadian molecular clock in lung pathophysiology. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 309(10), L1056–1075. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00152.2015>
- Surjit, M., Ganti, K. P., Mukherji, A., Ye, T., Hua, G., Metzger, D., Li, M., & Chambon, P. (2011). Widespread negative response elements mediate direct repression by agonist-liganded glucocorticoid receptor. *Cell*, 145(2), 224–241. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.03.027>
- Suzuki, K., Yoshida, K., Ueha, T., Kaneshiro, K., Nakai, A., Hashimoto, N., Uchida, K., Hashimoto, T., Kawasaki, Y., Shibamura, N., Nakagawa, N., Sakai, Y., & Hashiramoto, A. (2018). Methotrexate upregulates circadian transcriptional factors PAR bZIP to induce apoptosis on rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Research & Therapy*, 20(1), 55. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1552-9>
- Takahashi, J. S. (2017). Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nature Reviews. Genetics*, 18(3), 164–179. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.150>
- Tarocco, A., Caroccia, N., Morciano, G., Wieckowski, M. R., Ancora, G., Garani, G., & Pinton, P. (2019). Melatonin as a master regulator of cell death and inflammation: Molecular mechanisms and clinical implications for newborn care. *Cell Death & Disease*, 10(4), 317. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1556-7>

- Teppan, J., Schwanzer, J., Rittchen, S., Bärnthaler, T., Lindemann, J., Nayak, B., Reiter, B., Luschnig, P., Farzi, A., Heinemann, A., & Sturm, E. (2024). The disrupted molecular circadian clock of monocytes and macrophages in allergic inflammation. *Frontiers in Immunology*, *15*, 1408772. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1408772>
- Timmermans, S., Souffriau, J., & Libert, C. (2019). A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Frontiers in Immunology*, *10*, 1545. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01545>
- To, H., Irie, S., Tomonari, M., Watanabe, Y., Kitahara, T., & Sasaki, H. (2009). Therapeutic index of methotrexate depends on circadian cycling of tumour necrosis factor- α in collagen-induced arthritic rats and mice. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *61*(10), 1333–1338. <https://doi.org/10.1211/jpp/61.10.0009>
- To, H., Yoshimatsu, H., Tomonari, M., Ida, H., Tsurumoto, T., Tsuji, Y., Sonemoto, E., Shimasaki, N., Koyanagi, S., Sasaki, H., Ieiri, I., Higuchi, S., Kawakami, A., Ueki, Y., & Eguchi, K. (2011). Methotrexate chronotherapy is effective against rheumatoid arthritis. *Chronobiology International*, *28*(3), 267–274. <https://doi.org/10.3109/07420528.2011.553017>
- Trott, A. J., & Menet, J. S. (2018). Regulation of circadian clock transcriptional output by CLOCK:BMAL1. *PLoS Genetics*, *14*(1), e1007156. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007156>
- Tu, J., Hong, W., Zhang, P., Wang, X., Körner, H., & Wei, W. (2018). Ontology and Function of Fibroblast-Like and Macrophage-Like Synoviocytes: How Do They Talk to Each Other and Can They Be Targeted for Rheumatoid Arthritis Therapy? *Frontiers in Immunology*, *9*, 1467. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01467>
- van Aken, J., Heimans, L., Gillet-van Dongen, H., Visser, K., Ronday, H. K., Speyer, I., Peeters, A. J., Huizinga, T. W. J., & Allaart, C. F. (2014). Five-year outcomes of probable rheumatoid arthritis treated with methotrexate or placebo during the first year (the PROMPT study). *Annals of the Rheumatic Diseases*, *73*(2), 396–400. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-202967>

- Venetsanopoulou, A. I., Alamanos, Y., Voulgari, P. V., & Drosos, A. A. (2023). Epidemiology and Risk Factors for Rheumatoid Arthritis Development. *Mediterranean Journal of Rheumatology*, 34(4), 404–413. <https://doi.org/10.31138/mjr.301223.eaf>
- Volin, M. V., & Shahrara, S. (2011). Role of TH-17 cells in rheumatic and other autoimmune diseases. *Rheumatology*, 1(104), 2169. <https://doi.org/10.4172/2161-1149.1000104>
- Waggoner, S. N. (2020). Circadian Rhythms in Immunity. *Current Allergy and Asthma Reports*, 20(1), 2. <https://doi.org/10.1007/s11882-020-0896-9>
- Wang, Q., Li, L., Li, C., Cao, H., Chen, Y., Zhou, W., Yang, G., & Yang, H. (2022). Circadian protein CLOCK modulates regulatory B cell functions of nurses engaging day-night shift rotation. *Cellular Signalling*, 96, 110362. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2022.110362>
- Wang, X., Yan, X., Wang, F., Ge, F., & Li, Z. (2018). Role of methotrexate chronotherapy in collagen-induced rheumatoid arthritis in rats. *Zeitschrift Fur Rheumatologie*, 77(3), 249–255. <https://doi.org/10.1007/s00393-016-0236-6>
- Wendler, J., Burmester, G. R., Sörensen, H., Krause, A., Richter, C., Tony, H.-P., Rubbert-Roth, A., Bartz-Bazzanella, P., Wassenberg, S., Haug-Rost, I., & Dörner, T. (2014). Rituximab in patients with rheumatoid arthritis in routine practice (GERINIS): Six-year results from a prospective, multicentre, non-interventional study in 2,484 patients. *Arthritis Research & Therapy*, 16(2), R80. <https://doi.org/10.1186/ar4521>
- Weyand, C. M., & Goronzy, J. J. (2021). The immunology of rheumatoid arthritis. *Nature Immunology*, 22(1), 10–18. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00816-x>
- Wilantri, S., Grasshoff, H., Lange, T., Gaber, T., Besedovsky, L., & Buttgereit, F. (2023). Detecting and exploiting the circadian clock in rheumatoid arthritis. *Acta Physiologica*, 239(2), e14028. <https://doi.org/10.1111/apha.14028>
- Wiles, A. K., Mehta, S., Millier, M., Woolley, A. G., Li, K., Parker, K., Kazantseva, M., Wilson, M., Young, K., Bowie, S., Ray, S., Slatter, T. L., Stamp, L. K., Hessian, P. A., & Braithwaite, A. W. (2023). Activated CD90/Thy-1 fibroblasts co-express the $\Delta 133p53\beta$

- isoform and are associated with highly inflamed rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 25(1), 62. <https://doi.org/10.1186/s13075-023-03040-8>
- Xu, H., Li, H., Woo, S.-L., Kim, S.-M., Shende, V. R., Neuendorff, N., Guo, X., Guo, T., Qi, T., Pei, Y., Zhao, Y., Hu, X., Zhao, J., Chen, L., Chen, L., Ji, J.-Y., Alaniz, R. C., Earnest, D. J., & Wu, C. (2014). Myeloid cell-specific disruption of Period1 and Period2 exacerbates diet-induced inflammation and insulin resistance. *The Journal of Biological Chemistry*, 289(23), 16374–16388. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.539601>
- Yang, G., Yang, Y., Tang, H., & Yang, K. (2020). Loss of the clock gene Per1 promotes oral squamous cell carcinoma progression via the AKT/mTOR pathway. *Cancer Science*, 111(5), 1542–1554. <https://doi.org/10.1111/cas.14362>
- Yoshida, K., Hashiramoto, A., Okano, T., Yamane, T., Shibamura, N., & Shiozawa, S. (2013). TNF- α modulates expression of the circadian clock gene Per2 in rheumatoid synovial cells. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 42(4), 276–280. <https://doi.org/10.3109/03009742.2013.765031>
- Yoshida, K., Nakai, A., Kaneshiro, K., Hashimoto, N., Suzuki, K., Uchida, K., Hashimoto, T., Kawasaki, Y., Tateishi, K., Nakagawa, N., Shibamura, N., Sakai, Y., & Hashiramoto, A. (2018). TNF- α induces expression of the circadian clock gene Bmal1 via dual calcium-dependent pathways in rheumatoid synovial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(2), 1675–1680. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.12.015>
- Young, M. E. (2006). The circadian clock within the heart: Potential influence on myocardial gene expression, metabolism, and function. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 290(1), H1-16. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00582.2005>
- Young, M. E., Razeghi, P., & Taegtmeyer, H. (2001). Clock genes in the heart: Characterization and attenuation with hypertrophy. *Circulation Research*, 88(11), 1142–1150. <https://doi.org/10.1161/hh1101.091190>

- Yu, X., Rollins, D., Ruhn, K. A., Stubblefield, J. J., Green, C. B., Kashiwada, M., Rothman, P. B., Takahashi, J. S., & Hooper, L. V. (2013). TH17 cell differentiation is regulated by the circadian clock. *Science*, 342(6159), 727–730. <https://doi.org/10.1126/science.1243884>
- Zeng, Y., Guo, Z., Wu, M., Chen, F., & Chen, L. (2024). Circadian rhythm regulates the function of immune cells and participates in the development of tumors. *Cell Death Discovery*, 10(1), 199. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-01960-1>
- Zhang, F., Wei, K., Slowikowski, K., Fonseka, C. Y., Rao, D. A., Kelly, S., Goodman, S. M., Tabechian, D., Hughes, L. B., Salomon-Escoto, K., Watts, G. F. M., Jonsson, A. H., Rangel-Moreno, J., Meednu, N., Roza, C., Apruzzese, W., Eisenhaure, T. M., Lieb, D. J., Boyle, D. L., ... Raychaudhuri, S. (2019). Defining inflammatory cell states in rheumatoid arthritis joint synovial tissues by integrating single-cell transcriptomics and mass cytometry. *Nature Immunology*, 20(7), 928–942. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0378-1>
- Zhang, S. L., Yue, Z., Arnold, D. M., Artiushin, G., & Sehgal, A. (2018). A Circadian Clock in the Blood-Brain Barrier Regulates Xenobiotic Efflux. *Cell*, 173(1), 130-139.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.017>
- Zhang, Y.-K. J., Yeager, R. L., & Klaassen, C. D. (2009). Circadian expression profiles of drug-processing genes and transcription factors in mouse liver. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 37(1), 106–115. <https://doi.org/10.1124/dmd.108.024174>
- Zhao, E., Tait, C., Minacapelli, C. D., Catalano, C., & Rustgi, V. K. (2022). Circadian Rhythms, the Gut Microbiome, and Metabolic Disorders. *Gastro Hep Advances*, 1(1), 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.gastha.2021.10.008>
- Zhao, S., Mysler, E., & Moots, R. J. (2018). Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis. *Immunotherapy*, 10(6), 433–445. <https://doi.org/10.2217/imt-2017-0155>
- Zhao, Z., Hua, Z., Luo, X., Li, Y., Yu, L., Li, M., Lu, C., Zhao, T., & Liu, Y. (2022). Application and pharmacological mechanism of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Biomedicine &*

Pharmacotherapy = *Biomedecine & Pharmacotherapie*, 150, 113074.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113074>