

Cibele Monteiro¹
<https://orcid.org/0000-0002-3492-7811>

Emanuella Tavares¹
<https://orcid.org/0000-0003-4823-0211>

Alice Câmara¹
<https://orcid.org/0000-0002-1974-4363>

Jonas Nobre¹
<https://orcid.org/0000-0003-1646-921X>

Regulação molecular do ritmo circadiano e transtornos psiquiátricos: uma revisão sistemática

Molecular regulation of circadian rhythm and psychiatric disorders: a systematic review

DOI: 10.1590/0047-2085000000258

RESUMO

Objetivo: O artigo possui como objetivo investigar os genes relógio que estão mais associados com os transtornos psiquiátricos, as funções e localizações desses genes, assim como investigar o principal transtorno, método e modelo considerados nas análises. O trabalho busca resumir os achados e discutir o impacto dessas pesquisas no conhecimento científico. **Métodos:** Esta revisão utilizou-se de uma metodologia sistemática (Prospero; ID 152031) e seguiu as diretrizes PRISMA. A busca dos estudos foi realizada nas bases de dados PubMed/MEDLINE e *Scientific Eletronic Library Online* e foram utilizados os termos do *Medical Subject Headings Terms*. Foram selecionados estudos quantitativos com resultados conclusivos referentes à associação de transtornos psiquiátricos com a regulação molecular do ritmo circadiano. As informações úteis foram extraídas e utilizadas para a elaboração de gráficos e tabelas. **Resultados:** Foram incluídos 24 artigos em nosso estudo. Observou-se que o transtorno bipolar consistiu no transtorno psiquiátrico mais abordado (40% dos estudos); a nacionalidade polonesa dos participantes também se destacou em 39% dos trabalhos. Adicionalmente, o gene *PER* foi o mais estudado (25%) e o córtex cerebral foi a principal região em que os genes relógio avaliados se expressam (34%). A PCR comum mostrou ser o método mais utilizado (38%) e o metabolismo da serotonina mostrou ser a principal função desempenhada pelos produtos gênicos (16%). **Conclusões:** Em conjunto, os resultados sugerem que o transtorno bipolar consiste no distúrbio psiquiátrico mais prevalente entre as pesquisas relacionadas aos genes circadianos, expressos principalmente no córtex cerebral de humanos, em especial o gene *PER*.

PALAVRAS-CHAVE

Transtorno psiquiátrico, ritmo circadiano, genes relógio.

ABSTRACT

Objective: The article aims to investigate the clock genes that are most associated with psychiatric disorders, the functions, and locations of these genes, as well as to investigate the main disorder, method and model in the analyzes. The paper seeks to summarize the findings and discuss the impact of this research on scientific knowledge. **Methods:** This review used a systematic methodology (Prospero; ID 152031) and followed the PRISMA guidelines. The studies were searched in the PubMed/MEDLINE and Scientific Electronic Library Online databases and the terms of the Medical Subject Headings Terms were used. Quantitative studies with conclusive results regarding the association of psychiatric disorders with the molecular regulation of circadian rhythm were selected. The useful information was extracted and used for the elaboration of graphs and tables. **Results:** We included 24 articles in our study. Bipolar disorder was the most commonly addressed psychiatric disorder (40% of studies); The participants' Polish nationality also stood out in 39% of the works. Additionally, the PER gene was the most studied (25%) and the cerebral cortex was the main region in which the evaluated clock genes express themselves (34%). Finally, common PCR was the most used method (38%) and serotonin metabolism was the main function performed by gene products (16%). **Conclusions:** Taken together, the results suggest that bipolar disorder is the most prevalent psychiatric disorder among research related to circadian genes, expressed mainly in the cerebral cortex of humans, especially the PER gene.

KEYWORDS

Psychiatric disorder, circadian rhythm, clock genes.

Received in: Jan/30/2020. Approved in: Feb/11/2020

¹ Departamento de Biofísica e Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil.

Address for correspondence: Alice Câmara. Av. Senador Salgado Filho, 3.000, Lagoa Nova – 59064-741 – Natal, RN, Brasil. E-mail: alicecamara@hotmail.com



INTRODUÇÃO

Os organismos vivos herdam os genes relógio, que podem se alterar de acordo com os ciclos ambientais. Esses genes interagem com diversos fatores ambientais e regulam o comportamento e a fisiologia dos organismos vivos¹. De acordo com o período do dia, o mecanismo dos genes envolvidos na regulação do ciclo circadiano (genes relógio) gera um ritmo sazonal, ajustando-se às mudanças no fotoperíodo². Diante disso, esses genes relógio exercem uma influência direta no “relógio biológico”. O termo “relógio biológico” pode ser definido como o conjunto de mecanismos intrínsecos ao organismo que conferem ritmicidade aos processos fisiológicos. Os ritmos biológicos são chamados de ritmos circadianos e podem ser eventos importantes para a sobrevivência³. A geração desses ritmos no organismo é conferida pela expressão de proteínas advindas de genes relógio, sendo aquelas codificadas em intervalos bem definidos ao longo de 24 horas. Ainda que haja um caráter endógeno nos ritmos do organismo, incide também sobre eles a influência de marcadores externos/ambientais, que atuam na sincronização desses ritmos. Esses marcadores podem ser de várias naturezas, mas os que mais predominam são o ciclo claro/escuro e a disponibilidade de alimentos³.

Uma região diretamente envolvida com os ritmos biológicos é o núcleo supraquiasmático (NSQ). Desde 1960, o NSQ tem sido apontado como forte candidato a marca-passo central do sistema de temporização em mamíferos⁴. Esse achado foi confirmado em 1980, quando foi demonstrado que transplantes do NSQ fetal permitem recuperar a ritmicidade circadiana de animais tornados arrítmicos em consequência da lesão bilateral do NSQ. Localizado bilateralmente ao hipotálamo, esse núcleo recebe informação luminosa através do feixe retino-hipotalâmico e, a partir daí, passa a coordenar a expressão dos genes relógio, bem como a sincronização temporal interna do corpo. Uma harmonização bem estabelecida entre os ciclos ambientais e o sistema de temporização endógeno é de caráter fundamental para a sobrevivência do organismo, pois confere a ele a capacidade de prever e antecipar eventos como o sono e a fome⁴.

A harmonia entre a manutenção do ritmo endógeno e a sincronização por fatores como o ciclo claro/escuro começou a ser estudada por Jean Jaques de Mairan em 1729, que observou o fenômeno periódico das folhas de *Mimosa pudica*⁵. Percebeu-se que o ritmo biológico persiste mesmo na ausência de sinais externos. Mairan condicionou a planta a um estado de iluminação constante e viu que os movimentos de suas folhas continuavam alternando ciclicamente durante o dia. Por sua vez, De Candolle conseguiu retratar, em 1835, a harmonia entre a manutenção do ritmo endógeno e a sincronização por fatores como o ciclo claro/escuro, observando que a *Mimosa* diminuía seu ritmo foliar às 22 horas em ausência de luz e o ajustava às 24 horas com

o estímulo luminoso⁵. Desde o século XIX, os estudos sobre ritmos biológicos e sua manutenção molecular têm avançado, mas foi especialmente nas últimas quatro décadas que eles conquistaram notório reconhecimento e espaço na pesquisa científica¹⁻⁷.

Nesse contexto, é fundamental avaliar as relações existentes entre a regulação dos ritmos biológicos e os diversos transtornos psiquiátricos. As doenças psiquiátricas são complexas e podem depender de diversos genes e de suas interações potenciais, a exemplo dos genes envolvidos no ritmo circadiano⁷. Nesse contexto, distúrbios na sincronização dos ritmos biológicos podem levar a problemas de ordem fisiológica e comportamental, tais como doenças psiquiátricas⁸. Problemas de caráter social estão fortemente associados à causa da maioria dos transtornos psiquiátricos, incluindo depressão, transtorno bipolar (TB), esquizofrenia e autismo⁹. Alguns aspectos da vida moderna, como o trabalho em turnos rotativos, impõem estresse aos indivíduos ao interromper seus ritmos circadianos. O distúrbio do ritmo circadiano tem sido implicado em uma variedade de transtornos psiquiátricos, incluindo depressão e ansiedade. Acredita-se que esse distúrbio esteja subjacente aos principais sintomas do transtorno depressivo maior (TDM), a saber, alterações de humor e anedonia⁸. Um estudo associou o trabalho por turnos a desfechos adversos de saúde mental em enfermeiras, um grupo demográfico chave que realiza trabalhos por turnos. Atualmente, por não se ter esclarecido o caráter hereditário de tais alterações, não se sabe claramente se filhos de mulheres que realizam trabalhos por turnos durante a gravidez são mais suscetíveis a desenvolver transtornos mentais mais tarde na vida⁸.

Adicionalmente, os distúrbios do sono são comuns em pacientes diagnosticados com transtornos psiquiátricos⁷. A prevalência de insônia ou sonolência excessiva durante o curso do transtorno sugeriu um papel fundamental do sistema circadiano no desenvolvimento dessas desordens⁷. Portanto, o tratamento de distúrbios do sono deve ser paralelo à terapia dos transtornos psiquiátricos, tais como a depressão e a ansiedade. Essa abordagem terapêutica pode resultar em uma remissão mais rápida, com redução do risco de tentativas de suicídio⁷. Em 2013, foi publicado o papel de fatores não genéticos agindo de forma direta e indiretamente no comportamento suicida^{10,11}. Por outro lado, Pawlak *et al.* relatam a relação dos polimorfismos dos genes *TPH1*, *TPH2*, *5HT2A*, *CRHR1* e *ACP1* com esse comportamento¹². Adicionalmente, estudos têm relatado que fatores ambientais atrelados a contextos hereditários estão interligados à predisposição ao suicídio, sendo o diagnóstico do comportamento suicida um fator bastante complexo¹³. Dessa forma, análises utilizando fenótipos intermediários hereditários são estratégias promissoras para identificar associações genéticas reais¹⁴. Pesquisas mostram que o comportamento suicida e o TB podem estar interligados por uma perturbação circadiana e ritmos sazonais^{15,16}. Além disso, foi confirmada a associação

entre as variantes dos genes relógio *CLOCK* e *TIMELESS* e o número de tentativas de suicídio¹⁰.

Estudos genômicos sugerem que as variações nos genes relógio estão fortemente associadas com neuropsiquiatria humana¹⁷. O gene *PER3* faz parte da família dos genes relógio de humanos, os quais são responsáveis por codificar componentes dos ritmos circadianos, de atividade locomotora, metabolismo e comportamento. Nos últimos anos, vêm sendo realizados estudos que avaliam a associação de diferentes polimorfismos do gene *PER3* com transtornos do sono e com transtornos de humor¹⁸. Recentemente, o gene *SIRT1* foi descrito como uma molécula importante nos mecanismos dos ritmos circadianos. Esse gene relógio forma um complexo com *BMAL1* e desempenha um papel fundamental no mecanismo de *feedback* para a manutenção do ciclo circadiano¹⁹⁻²³. Adicionalmente, alguns estudos envolvendo os genes *PROKR2* e *CLOCK* indicam uma relação deles com os transtornos psiquiátricos¹⁹⁻²³. Um trabalho recente relatou que a região *SIRT1* desempenha um papel importante no ciclo circadiano, possuindo ainda uma relação com o metabolismo dopaminérgico²⁴. Por fim, o transtorno afetivo sazonal (TAS) consiste em uma condição de mudanças sazonais de humor caracterizadas por depressão recorrente no outono ou inverno que remitem espontaneamente na primavera ou no verão. A interação dos genes *CLOCK* e *ARNTL* contribui para a suscetibilidade ao TAS e foi inferido que esses genes podem influenciar as variações sazonais associadas com fatores metabólicos, como peso corporal e apetite²⁵.

Nessa perspectiva, este artigo tem por finalidade revisar as pesquisas relacionadas com a regulação molecular do ritmo circadiano e com os transtornos psiquiátricos, a fim de determinar os genes relógio que estão mais associados com esses transtornos, as funções e localizações desses genes, o principal método e modelo utilizados nas pesquisas sobre o tema proposto, o transtorno mais retratado nas análises e as principais limitações e achados dos estudos. É importante destacar que revisões sistemáticas relacionadas a esse tema ainda não estão disponíveis nas bibliotecas PROSPERO e Cochrane.

MÉTODOS

Por tratar-se de uma revisão sistemática de literatura de natureza descritiva, verificou-se a existência prévia de revisões sistemáticas sobre o tema proposto na Biblioteca Cochrane (*The Cochrane Database of Systematic Reviews*) (<https://www.cochranelibrary.com/>) e PROSPERO (*International Prospective Register of Systematic Reviews*) (www.crd.york.ac.uk/prospero), mas não foram encontradas revisões relacionadas à regulação molecular do ritmo circadiano e sua associação com os transtornos psiquiátricos. Dessa forma, a pesquisa foi cadastrada na PROSPERO (ID 152031).

As diretrizes PRISMA foram seguidas e a busca dos estudos primários foi realizada nas bases de dados PubMed/MEDLINE (*Public MEDLINE*) e *Scientific Eletronic Library Online* (SciELO), por meio de uma estratégia de busca baseada no objeto de estudo. Para a composição da estratégia de busca, utilizaram-se os termos do MeSH – *Medical Subject Headings Terms* (Tabela 1). Utilizaram-se operadores lógicos de busca (parênteses, truçagem e aspas), além de delimitadores booleanos (*AND*, *OR* e *NOT*). A sintaxe do PubMed serviu de base para a estratégia de pesquisa. A sintaxe consistia em dois temas de pesquisa cruzadas pelo termo booleano “*AND*”. Os termos MESH incluíam termos relacionados a transtornos psiquiátricos (“transtorno bipolar”, “transtorno depressivo maior”, “transtorno afetivo sazonal”, “distúrbios do sono”, “comportamento suicida”, “ansiedade”, “esquizofrenia” e “mudanças sazonais de humor”) e termos relacionados aos genes relógio (“ritmo circadiano”, “genes circadianos”, “genes relógio”). Utilizamos estudos randomizados controlados e excluímos outros tipos de *design* usando a estratégia de pesquisa altamente sensível (Cochrane e PROSPERO) para identificar ensaios randomizados em MEDLINE, versão maximizadora da sensibilidade. A estratégia não removeu artigos que tratam apenas de animais não humanos. Os termos foram pesquisados em inglês e português e o período da busca foi de janeiro de 2002 a outubro de 2018.

Os critérios de inclusão foram estudos: a) quantitativos ou qualiquantitativos que apresentassem resultados referentes à associação dos transtornos psiquiátricos com a regulação molecular do ritmo circadiano; b) contendo as informações de interesse utilizadas para a elaboração de gráficos e tabelas; c) utilizando modelos humanos e/ou animais; d) disponíveis na língua inglesa ou portuguesa. Foram critérios de exclusão: normas técnicas, manuais, leis, resoluções, editoriais, cartas, comentários, livros, resumo de anais e publicações duplicadas. Em relação a estratégia PICOS, a amostra incluída na presente pesquisa consistiu de indivíduos com transtornos psiquiátricos variados, e a intervenção de interesse foi diagnóstica e por meio de análises genéticas no sangue e tecido. Os indivíduos diagnosticados com transtornos psiquiátricos (grupo experimental) foram comparados

Tabela 1. Estratégias de busca por bases de dados

Bases de Dados	Estratégia de Busca
PubMed	("psychiatric disorders" [MeSH Terms] OR "depression" [MeSH Terms] OR "seasonal affective disorder" [MeSH Terms] OR "sleep disorders" [MeSH Terms]) OR "suicidal behavior" [MeSH Terms] "anxiety" [MeSH Terms] OR "schizophrenia" [MeSH Terms] OR "seasonal mood changes" AND ("circadian rhythm" [MeSH Terms] OR "circadian genes" [MeSH Terms] OR "clock genes" [MeSH Terms])
SciELO	("transtorno bipolar" OR "transtorno depressivo maior" OR "transtorno afetivo sazonal" OR "distúrbio do sono" OR "comportamento suicida" OR "ansiedade" OR "esquizofrenia" OR "mudanças sazonais de humor") AND ("ritmo circadiano" OR "genes circadianos" OR "genes relógio")

com indivíduos sem esses transtornos (grupo controle) e o resultado esperado consistia na detecção de variações genéticas no grupo experimental. Portanto, neste trabalho incluímos estudos experimentais.

A seleção dos estudos e a extração dos dados foi realizada por três autores de forma independente e iniciou-se por meio da análise dos títulos dos artigos identificados a partir da estratégia de busca. Em seguida, foram realizadas a análise dos resumos e, por fim, a análise do texto na íntegra dos artigos selecionados nas etapas anteriores. As discordâncias entre os autores foram resolvidas por consenso. Diante dessa sistemática, os dados extraídos foram: a) identificação da publicação e base de dados consultada; b) método utilizado na pesquisa; c) transtorno psiquiátrico avaliado; d) gene(s) relacionado(s) ao transtorno e família à qual pertence; e) principal local de expressão do gene no sistema nervoso de humanos; f) funções do gene; g) modelos avaliados na pesquisa; h) nacionalidade; i) número amostral incluído; j) idade dos indivíduos; k) principais achados do artigo. O local de expressão dos genes analisados e suas funções foram confirmados mediante consulta em banco de dados *on-line* (<https://www.proteinatlas.org/>). Para analisar matematicamente as informações acima citadas, em nível de proporção/porcentagem, selecionamos apenas aqueles trabalhos que continham todas essas informações necessárias para as análises.

A ferramenta ROBIS (*Risk of Bias in Systematic Reviews*) foi utilizada para avaliar risco de viés de revisões sistemáticas. Quase todas as questões foram respondidas como “Sim” ou “Provavelmente Sim”, então não foi identificado potencial risco de viés sobre a especificação dos critérios de elegibilidade. A categoria “Sem Informação” foi utilizada apenas quando se dizia a respeito da idade e tamanho amostral da pesquisa. Entretanto, as informações relacionadas com a idade e tamanho amostral dos indivíduos não foram utilizadas para a elaboração dos gráficos. Os estudos “sem informações” associadas a questões utilizadas para a elaboração dos

gráficos foram eliminados deste trabalho. Além disso, esforços foram realizados para deixar a pergunta e os objetivos da revisão bem definidos e para justificar que critérios de elegibilidade adequados foram preconizados na revisão. Foi utilizada uma estratégia de busca sensível e apropriada, além de serem tomadas medidas para minimizar o viés e erros na seleção dos estudos, e as características do estudo foram suficientes para que os autores fossem capazes de interpretar os resultados. Por fim, tanto o processo de seleção por títulos e resumos quanto a avaliação dos estudos na íntegra foram selecionados de forma independente por três autores, reduzindo o risco de viés do trabalho.

Os dados extraídos foram confirmados durante uma segunda análise e, após a organização desses dados, as informações relevantes foram apresentadas de forma descritiva por meio de tabelas e, subsequentemente, discutidas no corpo da revisão. As informações de interesse foram compiladas no Excel, o qual forneceu os gráficos e as proporções referentes às variáveis analisadas. Por fim, em relação ao número amostral e à idade dos indivíduos, foi calculada a média dos valores.

RESULTADOS

O método de busca empregado apontou 5.287 artigos, 2.454 resultaram da pesquisa no banco de dados SciELO e 2.833 foram provenientes do PubMed/MEDLINE. Após a primeira avaliação, 3.279 estudos foram excluídos pela análise dos títulos e resumos, em ambos os casos por não estarem condizentes com a temática e os objetivos desta revisão. Após a leitura na íntegra dos artigos selecionados, 1.923 artigos foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão ou ainda por atenderem aos critérios de exclusão, mas 61 artigos foram excluídos por estarem duplicados. Ao final, 24 artigos foram incluídos na revisão (Tabelas 2 e 3).

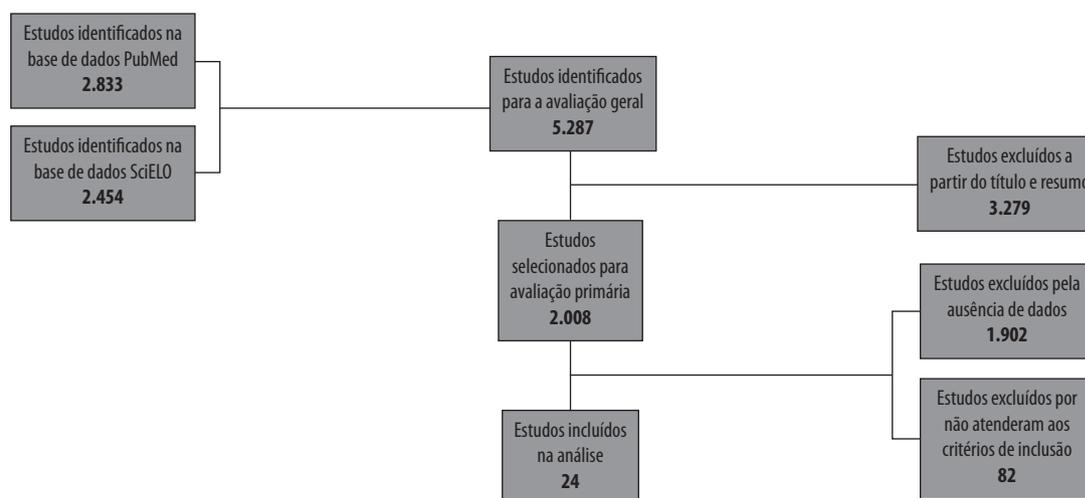


Figura 1. Fluxograma da busca pelos artigos.

Tabela 2. Pesquisas referentes à influência do ritmo circadiano nos transtornos psiquiátricos

Referência	Transtorno psiquiátrico e método(s) utilizado(s)	Gene relógio/família	Principal local de expressão do gene no sistema nervoso em humanos	Funções do gene
Shiino, 2003 ²⁶	TB (PCR)	PER2 Proteína intracelular	Núcleo supraquiasmático	Codifica componentes envolvidos nos ritmos circadianos, na atividade locomotora, no metabolismo e comportamento. Polimorfismos nesse gene pode aumentar o risco de contrair certos tipos de câncer e estão associados a distúrbios do sono.
Bailer, 2005 ²⁷	TB e TDM unipolar (PCR)	CLOCK Enzima	Cerebelo	Codifica proteína com papel central na regulação dos ritmos circadianos. A proteína contém atividade de acetiltransferase histona ligante ao DNA. Polimorfismos nesse gene podem estar associados a mudanças comportamentais em certas populações, obesidade e síndrome metabólica.
Artioli, 2007 ¹⁸	TDM e TB (PCR)	PER3 Proteína intracelular	Núcleo supraquiasmático	Codifica componentes envolvidos nos ritmos circadianos, na atividade locomotora, no metabolismo e comportamento. Polimorfismos nesse gene estão associados a síndrome metabólica, obesidade e alterações comportamentais em certas populações.
Kato, 2008 ²⁸	TB em pacientes com doença de Wolfram (<i>Western blot, Microarray e RT-PCR</i>)	WFS1 Glicoproteína transmembrana	Gânglios da base	Codifica uma proteína transportadora de membrana. Mutações nesse gene estão associadas a síndrome de Wolfram e surdez.
Kishi, 2008 ²⁹	TB e TDM (TaqMan SNP)	NR1D1 Proteína intracelular	Córtex cerebral	Codifica uma proteína que regula negativamente a expressão dos genes relógio e que pode estar envolvida em processos metabólicos, inflamatórios e cardiovasculares.
Kishi, 2010 ²⁴	TDM (PCR)	SIRT1 Proteína intracelular	Cerebelo	As funções da proteína codificada pelo gene ainda são desconhecidas. Acredita-se que a proteína funcione como reguladora intracelular em humanos, com uma atividade de mono-ADP-ribosiltransferase.
Dallaspezia, 2011 ³⁰	TDM pós-parto em portadores de TB (PCR)	PER3*	*	*
Wilkosc, 2013 ³¹	TDM (qPCR)	ARNTL Proteína intracelular TIMELESS Proteína intracelular, PER3 e CLOCK*	ARNTL – Córtex cerebral TIMELESS – Gânglios da base CLOCK e PER3*	TIMELESS – A proteína codificada por esse gene está envolvida na sobrevivência celular após dano ou estresse, aumento na atividade da DNA polimerase, manutenção do comprimento dos telômeros e morfogênese das células epiteliais. Alterações no gene estão envolvidas com alguns tipos de câncer. ARNTL – A proteína codificada por esse gene forma um heterodímero com o CLOCK, o qual se liga aos genes PER e CRY, ativando suas transcrições. Defeitos nesse gene têm sido associados a infertilidade, problemas na gliconeogênese, lipogênese e padrões alterados do sono. CLOCK e PER3*
Szczepankiewicz, 2013 ³²	TB e TDM (TaqMan SNP)	CRHR1 e AVPR1b Receptores acoplados à proteína G	CRHR1 – Cerebelo AVPR1b – Glândula pituitária	CRHR1 – O receptor codificado por esse gene liga os neuropeptídeos da família de hormônios liberadores de corticotropina, que são os principais reguladores da via hipotálamo-hipófise-adrenal. O receptor é essencial para a ativação de vias de transdução de sinal que regulam diversos processos fisiológicos, incluindo estresse, reprodução, resposta imune e obesidade. AVPR1b – A proteína codificada por esse gene atua como receptor da arginina vasopressina. Estimula o sistema mensageiro do fosfatidil-inositol-cálcio. O receptor também estimula a liberação de ACTH e é expresso em altos níveis nos adenomas hipofisários secretores de ACTH.
Hua, 2014 ³³	TDM (PCR)	CRY1, CRY2, TEF Proteína intracelular	CRY1 – Cerebelo CRY2 – Córtex cerebral TEF – Cerebelo	CRY1/CRY2 – Esse gene codifica uma proteína de ligação ao dinucleotídeo flavina adenina, que regula o ritmo circadiano. Polimorfismos nesse gene têm sido associados a padrões alterados no sono. TEF – O gene codifica um membro da subfamília PAR (rico em prolina e aminoácidos). A expressão do TEF coincide com o aparecimento do hormônio estimulador da tireoide beta (TSHB). De fato, o TEF pode se ligar e ativar o promotor de TSHB.

Referência	Transtorno psiquiátrico e método(s) utilizado(s)	Gene relógio/família	Principal local de expressão do gene no sistema nervoso em humanos	Funções do gene
Nováková, 2015 ³⁴	TB associado a episódios de mania ou depressão (RT-qPCR)	PER1 Proteína intracelular NR1D1*	PER1 – Córtex cerebral NR1D1*	PER1 – Codifica componentes envolvidos nos ritmos circadianos, na atividade locomotora, no metabolismo e comportamento. Polimorfismos nesse gene podem aumentar o risco de contrair certos tipos de câncer. NR1D1*
Rybakowski, 2014 ³⁵	TB (PCR)	CLOCK, ARNTL, TIMELESS, PER3*	*	*
Maglione, 2015 ³⁶	TDM (<i>Golden Gate assay</i>)	RORA Proteína intracelular, PER3*	RORA – Cerebelo PER3*	RORA – A proteína codificada por esse gene pode se ligar aos elementos de resposta hormonal para melhorar a expressão desses genes. Foi demonstrado que a proteína interage com NM23-2, um nucleosídeo difosfato cinase, envolvido na organogênese e diferenciação, bem como com NM23-1, o produto de um gene candidato a supressor de metástases tumorais. Além disso, foi demonstrado que a proteína auxilia na regulação transcricional de alguns genes envolvidos no ritmo circadiano. PER3*
Parekh, 2018 ¹⁷	TB (<i>Western blot</i> e RT-PCR)	GLUA1 Proteína de membrana	Hipocampo	Codifica o principal neurotransmissor excitatório do cérebro, o glutamato. O glutamato está envolvido no desenvolvimento neural, na plasticidade sináptica, no aprendizado, na memória, na epilepsia, na isquemia neural, na tolerância e na dependência a drogas, na dor neuropática, na ansiedade e na depressão.
Suzuki, 2017 ³⁷	TB (PCR)	CLOCK*	*	*
Banach, 2018 ³⁸	TB associado a abuso/ dependência de álcool (TaqMan SNP)	CLOCK ARNTL TIMELESS e PER3*	*	*
Matsunaga, 2012 ³⁹	TDM TB, Esquizofrenia (PCR)	CSNK1D e CSNK1E Enzimas	CSNK1D – Córtex cerebral CSNK1E – Cerebelo	CSNK1D – A proteína codificada por esse gene está implicada no controle de processos citoplasmáticos e nucleares, incluindo replicação e reparo do DNA. A proteína também pode estar envolvida na regulação da apoptose, ritmo circadiano, dinâmica dos microtúbulos, segregação cromossômica e efeitos mediados por p53 no crescimento. CSNK1E – A proteína codificada por esse gene está implicada no controle de processos citoplasmáticos e nucleares, incluindo replicação e reparo do DNA. A proteína é capaz de fosforilar uma variedade de proteínas, incluindo ela mesma e uma proteína do ritmo circadiano (PER).
Kim, 2015 ²⁵	Transtorno afetivo sazonal (PCR)	NPAS2 Proteína intracelular, CLOCK e ARNTL*	NPAS2 – Gânglios da base CLOCK e ARNTL*	NPAS2 – A proteína codificada por esse gene pode desempenhar um papel regulador na aquisição de tipos de memória específicos, funcionando também como parte do relógio molecular.
Węglarz, 2016 ⁷	Distúrbios do sono (TaqMan SNP)	CLOCK, ARNTL, TIMELESS e PER3*	*	*
Pawlak, 2016 ¹²	Comportamento suicida (RT-PCR)	SLC6A4 Proteína de membrana HTR2A, HTR2C e ADRA2A Receptores acoplados à proteína G CRHR1*	SLC6A4, HTR2A, ADRA2A – Córtex cerebral HTR2C – Gânglios da base CRHR1*	SLC6A4 – O gene codifica uma proteína que transporta a serotonina das fendas sinápticas para os neurônios pré-sinápticos. A proteína finaliza a ação da serotonina e a recicla. A proteína é um alvo dos estimulantes psicomotores. Um polimorfismo de repetição nesse gene afeta a taxa de captação de serotonina, podendo desempenhar um papel no comportamento agressivo, doença de Alzheimer, suscetibilidade à depressão e síndrome da morte súbita do bebê. HTR2A – O gene codifica um dos receptores da serotonina. Mutação no HTR2A está associada à suscetibilidade a esquizofrenia, TOC e resposta ao tratamento antidepressivo. ADRA2A – O gene codifica um receptor que possui papel crítico na regulação da liberação de neurotransmissores. HTR2C – O gene codifica um dos receptores da serotonina. Anormalidades na edição do RNA desse gene foram associadas à depressão e ao suicídio. Polimorfismos no promotor desse gene estão associados com distúrbios comportamentais. CRHR1*

Referência	Transtorno psiquiátrico e método(s) utilizado(s)	Gene relógio/família	Principal local de expressão do gene no sistema nervoso em humanos	Funções do gene
Pawlak, 2016 ¹²	Comportamento suicida (RT-PCR)	TPH1, TPH2, NTRK2 e ACP1 Enzimas BDNF Proteína intracelular	TPH2, BDNF – Ponte e medula TPH1 e ACP1 – Córtex cerebral NTRK2 –Amígdala	TPH2 – Esse gene codifica uma proteína que catalisa o primeiro passo na biossíntese da serotonina. Mutações nesse gene estão associadas ao TB e TDM. BDNF – Esse gene codifica uma proteína envolvida no crescimento e sobrevivência neuronal. A expressão desse gene é reduzida nas doenças de Alzheimer, Parkinson e Huntington. Esse gene pode desempenhar um papel nos transtornos de humor e resposta ao estresse. TPH1 – Esse gene codifica uma proteína que catalisa o primeiro passo na biossíntese da serotonina. Mutações nesse gene estão associadas a esquizofrenia, ansiedade, TB, comportamento suicida, vícios e outros. ACP1 – O produto desse gene funciona como uma fosfatase ácida e uma tirosina fosfatase. Esta enzima também hidrolisa monoésteres ortofosfóricos. NTRK2 – Esse gene codifica um receptor que, após a ligação à neurotrofina, fosforila a si próprio e aos membros da família MAPK. A sinalização por meio dessa cinase leva à diferenciação celular e mutações nesse gene têm sido associadas a obesidade e transtornos de humor.
Pawlak, 2017 ⁴⁰	TB e comportamento suicida (RT-PCR)	CLOCK, ARNTL, TIMELESS e PER3*	*	*
Yang, 2018 ⁴¹	Mudanças sazonais de humor (RT-PCR)	ST8SIA2 e NCAM1 Proteína intracelular	ST8SIA2 – Ponte e medula NCAM1 – Mesencéfalo	ST8SIA2 – A proteína codificada por esse gene pode estar envolvida com a catálise da transferência de ácido siálico aos oligossacarídeos e glicoproteínas. A proteína pode estar envolvida com a produção de ácido polissialílico, um modulador das propriedades adesivas da molécula de adesão a células neuronais (NCAM1). NCAM1 – Esse gene codifica uma proteína de adesão celular, que está envolvida nas interações célula-célula e nas interações célula-matriz durante o desenvolvimento e diferenciação. A proteína está envolvida no desenvolvimento do sistema nervoso e das células envolvidas com a expansão das células T, desempenhando um papel importante no sistema imune.
Zhang, 2017 ⁸	Comportamento depressivo (RT-qPCR)	ARNTL, CLOCK, PER1 e PER2*	*	*
Zhao, 2018 ⁹	Ansiedade (qPCR)	GFP – Enzima NR1D1*	GFP – Córtex cerebral NR1D1*	GFP – Codifica a enzima que limita a taxa da via da hexosamina e controla o fluxo de glicose nessa via. O produto desse gene também catalisa a formação de glucosamina-6-fosfato. NR1D1*
Liberman, 2018 ⁴²	Depressão e ansiedade (RT-qPCR)	REV Proteína intracelular PER1/2/3, CRY1/2, ARNTL, CLOCK, NPAS2*	REV – Cerebelo PER1, PER2, PER3, CRY1/2, ARNTL, CLOCK, NPAS2*	REV – As proteínas REV contêm um domínio importante nas interações proteína-proteína. Um papel sugerido da proteína é recrutar polimerases de DNA envolvidas na síntese do DNA danificado. PER1, PER2, PER3, CRY1/2, ARNTL, CLOCK, NPAS2*

Legenda: Os asteriscos representam informações já citadas anteriormente na tabela. PCR: reação de cadeia da polimerase; q-PCR: reação de cadeia da polimerase quantitativa; RT-PCR: reação de cadeia da polimerase em tempo real; TB: transtorno bipolar; TDM: transtorno depressivo maior; BDI-HDRS: Inventário de Depressão de Beck, avaliado pela Escala de Depressão de Hamilton.

Tabela 3. Pesquisas referentes à influência do ritmo circadiano nos transtornos psiquiátricos

Referência	Modelo	n	Idade	Principais achados	Limitações dos estudos
Shiino, 2003 ²⁶	Humanos (Japão)	215	43,3+/-14,1	Não houve diferença significativa entre os pacientes com TB e controles em relação à frequência do polimorfismo S662G.	No presente estudo foi analisada apenas uma parte do gene <i>PER2</i> . Outros polimorfismos restantes na região de ligação CKle não foram investigados.
Bailer, 2005 ²⁷	Humanos (Áustria)	205	44,06+/-14,28	Não foi encontrada associação entre o SNP T3111C do gene <i>CLOCK</i> e o transtorno afetivo. Testes adicionais referentes ao SNP T3111C e idade de início, número de episódios afetivos e subtipo melancólico também não mostraram associações significativas.	Pequeno tamanho amostral.

Referência	Modelo	n	Idade	Principais achados	Limitações dos estudos
Artoli, 2007 ¹⁸	Humanos (Itália)	1.031	49,91+/-13,42	Os genótipos <i>PER3</i> podem influenciar características específicas em indivíduos com transtorno de humor.	Fraqueza das associações observadas e frequentes achados falso-positivos.
Kato, 2008 ²⁸	Camundongos C57BL/6J (B6) knockout para <i>Wfs1</i>	20	34 semanas	Camundongos <i>knockout WFS1</i> apresentaram retardo no comportamento e diminuição da interação social. A imunorreatividade do tipo <i>WFS1</i> no cérebro de camundongos mostrou um padrão de distribuição com vários núcleos potencialmente relevantes para os sintomas dos transtornos do humor.	Função do <i>WFS1</i> ainda não bem estabelecida na literatura.
Kishi, 2008 ²⁹	Humanos (Japão)	829	44,8+/-15	Nenhuma associação significativa foi encontrada com TDM. Os achados sugerem que a <i>NR1D1</i> não desempenha um papel importante na fisiopatologia dos transtornos de humor na população japonesa.	A falta de associação pode ser devida a amostras enviesadas, como amostras envelhecidas sem correspondência, ou pequeno tamanho amostral.
Kishi, 2010 ²⁴	Humanos (Japão)	1.216	43,2+/-17,3	Associação significativa entre o haplótipo rs10997875 do gene <i>SIRT1</i> e pacientes japoneses com TDM. Não houve relação significativa entre o gene <i>SIRT1</i> e a responsividade ao tratamento com o inibidor seletivo da recaptção da serotonina (SSRI).	Ausência de triagem de mutações, pequeno tamanho amostral, diferença de idade significativa entre os grupos.
Dallaspezia, 2011 ³⁰	Humanos (Itália)	67	27,11+/-6,44	Homozigotos <i>PER3</i> portadores de TB possuem risco aumentado de depressão no pós-parto. O alelo <i>PER3</i> 5 protege contra o início de depressão pós-parto em portadores de TB, mas aumenta o risco de câncer de mama na pré-menopausa.	Pequeno tamanho amostral, ausência de uma melhor descrição dos critérios de escolha, falta de utilização de testes comportamentais e análise de outros polimorfismos.
Wilkosc, 2013 ³¹	Humanos (Polônia)	1.475	-	Foi sugerido um papel putativo dos polimorfismos <i>CLOCK</i> , <i>ARNTL</i> e <i>TIMELESS</i> na suscetibilidade a transtornos do humor.	Amostragem pouco caracterizada, pequeno tamanho amostral, Metodologia e resultados pouco descritos e discutidos, respectivamente.
Szczepankiewicz, 2013 ³²	Humanos (Polônia)	1.413	43,3+/-13,3	A análise da interação gene-gene revelou uma interação epistática significativa entre os genes <i>AVPR1b</i> e <i>CRHR1</i> na suscetibilidade ao TDM. Polimorfismos de <i>CRHR1</i> e <i>AVPR1b</i> podem modificar a suscetibilidade a transtornos de humor.	Ausência de triagem psiquiátrica cautelosa no grupo controle, resultando em falso-negativos ou falso-positivos. Pequeno tamanho amostral.
Hua, 2014 ³³	Humanos (China)	590	65,2+/-6,55	Relação significativa dos SNP rs2287161 de <i>CRY1</i> e rs738499 de <i>TEF</i> com TDM. Não houve relação significativa entre o SNP de <i>CRY2</i> e TDM.	Pequeno tamanho amostral do grupo com TDM.
Nováková, 2015 ³⁴	Humanos (República Tcheca)	57	41,8+/-3,13	Os dados revelaram diferenças no estado funcional do ciclo circadiano em pacientes com TB, dependendo se eles estavam experimentando um episódio maníaco ou depressivo.	Pacientes com TB eram medicados durante todo o estudo. O papel do lítio no TB precisa ser considerado, porque o lítio afeta o mecanismo do gene relógio por meio de múltiplas vias.
Rybakowski, 2014 ³⁵	Humanos (Polônia)	70	59+/-12	Foram encontradas associações entre temperamentos hipertímico e ansioso com SNPs do gene <i>ARNTL</i> . Foram encontradas associações entre temperamentos ciclotímico e depressivo com SNPs dos genes <i>TIM</i> e <i>PER3</i> . Nenhuma associação foi observada com SNPs do gene <i>CLOCK</i> .	Pequeno tamanho amostral e correção insuficiente para múltiplos testes.
Maglione, 2015 ³⁶	Humanos (Estados Unidos)	2.010	80,3+/-4,57	Significativa relação entre <i>PER3</i> e alguns sintomas do TDM e significativa relação entre <i>RORA</i> e muitos sintomas do TDM.	Pequeno tamanho amostral e uso de um questionário em vez de uma entrevista diagnóstica para avaliar sintomas depressivos.
Parekh, 2018 ¹⁷	Camundongos BALB/cJ mutantes para <i>ClockΔ19</i>	-	6-12 semanas	A sinalização excitatória do <i>nucleus accumbens</i> via expressão de <i>Gria1</i> é essencial para os efeitos do gene <i>CLOCK</i> em comportamentos tipo maníacos.	Incapacidade de determinar a identidade celular de neurônios em mutantes do gene <i>CLOCK</i> .
Suzuki, 2017 ³⁷	Humanos (Itália)	132	47,75+/-11,5	Os portadores do polimorfismo rs1801260 do gene <i>CLOCK</i> apresentaram maiores escores de discrepância no BDI-HDRS do que os homozigotos. A análise de mediação revelou que a dimensão da cognição depressiva medeia completamente a associação entre o polimorfismo do <i>CLOCK</i> e a discrepância entre BDI-HDRS.	Muitos polimorfismos genéticos diferentes do gene <i>CLOCK</i> também podem influenciar a discrepância do BDI-HDRS e as distorções cognitivas depressivas.

Referência	Modelo	n	Idade	Principais achados	Limitações dos estudos
Banach, 2018 ³⁸	Humanos (Polônia)	853	45,5+/-10,75	Confirmação da existência de ligações diretas entre os genes relógio, doenças comórbidas e predisposição genética para abuso/dependência de álcool. Os homens apresentam mais frequentemente um cronotipo noturno e isso predispõe aos vícios.	Pequeno tamanho amostral, falta de dados de verificação e de entrevista com o paciente. Além da desproporção de gênero.
Matsunaga, 2012 ³⁹	Humanos (Japão)	8.115	47,5+/-15	A correlação entre SNPs dos genes estudados com TB, depressão e esquizofrenia não foi significativa.	Não foram avaliadas interações gene-gene. Amostras coletadas em diversas regiões do Japão, podendo resultar em heterogeneidade genética.
Kim, 2015 ²⁵	Humanos (Coreia do Sul)	507	-	Primeiro estudo a revelar associações entre o gene <i>CLOCK</i> , variações sazonais de humor e comportamentos em uma população coreana.	Não foram apontadas limitações do estudo.
Węglarz, 2016 ⁷	Humanos (Polônia)	237	40,5+/-9,5	Os resultados obtidos confirmam o papel do SNP rs11600996 do gene relógio <i>ARNTL</i> em distúrbios da qualidade do sono. O estudo também mostra interações epistáticas significativas entre o polimorfismo do gene <i>PER3</i> (rs2640909) e do gene <i>CLOCK</i> (rs11932595) e a duração do sono, eficiência habitual do sono e qualidade subjetiva do sono.	Pequeno tamanho da amostra, baixo número de polimorfismos selecionados, estudos de associação não foram possíveis e a ausência do uso de métodos objetivos para avaliar a qualidade do sono.
Pawlak, 2016 ¹²	Humanos (Polônia)	1.672	37,3+/-12,5	Confirmou o papel dos polimorfismos de <i>TPH1</i> , <i>TPH2</i> , <i>5HT2A</i> , <i>CRHR1</i> e <i>ACP1</i> no risco de comportamento suicida.	Número limitado de genes candidatos. Ausência de dados sobre o tratamento farmacológico dos pacientes investigados.
Pawlak, 2017 ⁴⁰	Humanos (Polônia)	577	-	Significativa relação entre variantes genéticas selecionadas entre <i>CLOCK</i> , <i>ARNTL</i> , <i>TIMELESS</i> e <i>PER3</i> e variáveis que descrevem o curso da doença; falta de correlação epistática significativa entre variantes genéticas circadianas e número de tentativas de suicídio.	Lista de fatores de risco suicida não é específico para TB. Fatores de risco de abordagem psicológica, número de participantes, dados clínicos e genéticos limitados.
Yang, 2018 ⁴¹	Humanos (Coreia do Sul)	261	-	Demonstrou associações entre variantes de <i>ST8SIA2</i> e <i>NCAM1</i> com sazonalidade em indivíduos saudáveis da população geral coreana. Sugere que esses dois genes podem ter um papel importante na preferência da regulação do ciclo circadiano.	Análise incompleta da região genômica do <i>NCAM1</i> . Apenas indivíduos saudáveis foram analisados neste estudo.
Zhang, 2017 ⁸	Camundongos C57BL/6J	309	6-8 semanas	A exposição materna a distúrbios circadianos crônicos durante a gravidez pode levar a transtornos de humor que persistem por pelo menos duas gerações filiais. Os mecanismos subjacentes podem depender de alterações nos níveis plasmáticos de corticosterona, marca-passo circadiano e expressão da proteína hipotalâmica.	Resta determinar se os machos que sofreram mecanismos estressores no útero têm descendentes com suscetibilidade ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos.
Zhao, 2018 ⁹	Camundongos C57BL/6J	54	10-12 semanas	<i>NR1D1</i> modula o comportamento relacionado com a sociabilidade e ansiedade de uma maneira específica. O ritmo circadiano pode estar envolvido na expressão desses fenótipos comportamentais.	Não foram apontadas limitações do estudo.
Liberman, 2018 ⁴²	Humanos (Estados Unidos)	528	19+/-1	O polimorfismo rs57875989 do gene <i>PER3</i> foi significativamente associado à depressão, e indivíduos homocigotos para SNP rs228697 do gene <i>PER3</i> , relataram maior ansiedade.	Não foi avaliado o papel do sono no estudo. Uso de questionários para medir a depressão e ansiedade, ao invés de uma entrevista diagnóstica. Abordagem de genes candidatos altamente seletiva.

O gene *PER*, o transtorno bipolar e o transtorno depressivo maior

Pesquisas relacionadas à participação do ritmo circadiano em transtornos psiquiátricos são recentes, assim, é válido considerar a importância dos resultados encontrados nesses estudos envolvendo tanto humanos quanto animais. O primeiro estudo examinou a frequência do polimorfismo *S662G* do gene *PER2* em pacientes com TB e controles normais.

Embora os resultados mostrem que o polimorfismo do gene *PER2* não está associado à etiologia do TB, o polimorfismo pode estar associado a outros distúrbios relacionados ao ritmo circadiano, tal como a insônia²⁶. Outro estudo, por sua vez, mostrou uma associação entre o TDM e um haplótipo específico composto pelos éxons 15 e 18 do gene *PER3*. Além disso, variantes genéticas raras de *PER3* estão significativamente associadas a uma série de características dos

transtornos psiquiátricos, tais como idade de início, resposta ao tratamento, oscilações do humor circadiano e características de temperamento¹⁸.

Dallaspezia *et al.*, por sua vez, investigaram os efeitos das variantes de *PER3* no desenvolvimento do TDM em portadores de TB no pós-parto³⁰. Foi realizada uma PCR com *primers* específicos para o polimorfismo de repetição em *tandem* de número variável (VNTR) do gene *PER3*. Esse VNTR demonstrou influenciar o padrão de secreção de citocinas, gerando um desequilíbrio nas citocinas anti-inflamatórias, que tem sido associado a um aumento no risco de depressão pós-parto. Adicionalmente, homozigotos *PER3* 4/4 possuíam risco aumentado de depressão no pós-parto, e o alelo *PER3* 5 protegeu contra o início dessa condição em portadores de TB, mas aumentou o risco de câncer de mama na pré-menopausa³⁰. Além de Dallaspezia *et al.* e outros autores, Wilkosc *et al.* também avaliaram associações do gene *PER3* com os transtornos de humor, em especial o TDM³¹. Neste trabalho foi realizada uma reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR) com *primers* para nove polimorfismos do *PER3*, embora não tenham sido descritos quais polimorfismos foram analisados. Entretanto, não foi encontrada nenhuma relação entre os polimorfismos do *PER3* e algum transtorno psiquiátrico nessa população³¹.

Em um outro estudo, foi verificado que as alterações estudadas do gene *PER3* são, na realidade, mutações de ganho de função, ocasionando um aumento na taxa de transcrição (previsões que devem ser verificadas experimentalmente em estudos futuros). Foi elaborado um simples modelo matemático capaz de simular essas mutações e seus efeitos no desalinhamento circadiano⁴². Maglione *et al.* também analisaram o gene *PER3* e, em resumo, sugerem que os genes *PER3* e *RORA* podem desempenhar papéis importantes na fisiopatologia da depressão em idosos³⁶. Entretanto, alguns estudos, como os realizados por Shiino, Kishi, Matsunaga e Hua, não encontraram associações significativas dos genes *PER2*, *SIRT1*, *CSNK1D*, *CSNK1E* e *CRY2* com os marcadores de transtornos psiquiátricos, permitindo uma discussão mais abrangente a respeito de outros polimorfismos e genes relógio^{24,26,33,39}.

O gene *TIMELESS* e o transtorno bipolar

Em 2017, Pawlak *et al.* realizaram uma análise da relação entre os genes relógio e o desenvolvimento do TB. Nesse estudo, foram encontradas associações entre os polimorfismos dos genes *TIMELESS* e *PER3* e o número de episódios depressivos. O número médio de episódios depressivos por ano de doença, por sua vez, esteve relacionado com polimorfismos dos genes *TIMELESS* e *ARNTL*. Já a proporção de episódios depressivos e a história familiar de tentativa(s) suicida(s) também estiveram relacionadas com o gene *TIMELESS*⁴⁰. Em outro trabalho, procedeu-se a uma análise investigativa compreendendo a associação entre múltiplos polimorfismos de

nucleotídeo único (SNPs) dos genes relógio *TIMELESS*, *CLOCK*, *ARNTL*, *PER3* e dimensões temperamentais do *TEMPS-A*, em pacientes diagnosticados com TB. O estudo indicou que os genes *ARNTL*, *TIMELESS* e *PER3* podem estar associados a comportamentos mediados pelo *TEMPS-A*, enfatizando que os SNPs desses genes podem ainda estar relacionados com a predisposição ao TB³⁵.

O gene *WFS1* e o transtorno bipolar

Foi observada uma relação entre a doença de Wolfram e o TB³⁴. Em 2008, Kato *et al.* realizaram um estudo com animais *knockout* para o gene *WFS1* e observaram que esses animais não apresentaram problemas de saúde que são observados em pacientes com a doença de Wolfram. Os resultados mostraram que os camundongos *WFS1 knockout* possuíam alterações em suas características comportamentais, como diminuição da interação social, o que é relevante para os fenótipos neuropsiquiátricos relatados em pacientes com doença de Wolfram. Adicionalmente, pacientes com TB apresentaram diferenças nos sistemas circadianos, dependendo se o indivíduo estava vivenciando um episódio de mania ou depressão. Os resultados inferiram que o gene relógio *WFS1* pode estar envolvido em tais transtornos³⁴.

O gene *NR1D1*, ansiedade e depressão

Posteriormente, Zhao e Gammie mostraram que a inibição do gene circadiano *NR1D1* pode melhorar a sociabilidade e reduzir a ansiedade⁹. As descobertas são consistentes com trabalhos anteriores, que identificaram diminuições naturais na expressão de *NR1D1*, o que esteve associado ao surgimento de comportamentos pró-sociais. O papel regulador do fator de transcrição *NR1D1* é provavelmente alcançado ao desencadear ações no sistema circadiano. Futuros estudos podem avaliar as maneiras complexas pelas quais o *NR1D1* contribuiu para mudanças no comportamento social⁹. O estudo de Kishi mostrou a associação entre um SNP do gene *NR1D1* e o TB em mulheres. No entanto, se não houve uma associação após o teste estatístico de Bonferroni, não podemos considerar que houve inicialmente uma associação. Além disso, nenhuma associação significativa foi encontrada para o TDM, sugerindo que o gene *NR1D1* provavelmente não desempenha um papel importante nos transtornos psiquiátricos na população japonesa²⁹.

O gene *CLOCK* e o transtorno afetivo sazonal

Parekh *et al.* utilizaram a eletrofisiologia em células *ex vivo* de camundongos mutantes para o gene *CLOCKA19* e camundongos selvagens. Nesse sentido, as alterações na transmissão sináptica excitatória e a força e excitabilidade intrínseca dos neurônios do *nucleus accumbens* (NAc) foram caracterizadas. Os autores procederam com a análise *Western blot* para examinar os níveis superficiais e intracelulares de proteínas, entre as quais estavam o receptor de glutamato, *GLUA1*,

no NAc. A superexpressão de *GRIA1* também foi estudada, mostrando-se essencial para os efeitos do gene *CLOCK* em comportamentos tipo maníacos¹⁷. Kim *et al.* avaliaram a relação dos genes *CLOCK*, *ARNTL* e *NPAS2* em adultos saudáveis com as variações de sazonalidade (SAD) e mostraram que a prevalência de SAD foi de 12,0% (no inverno 9,3%, e no verão 2,8%). Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos na distribuição genotípica do *ARNTL* rs2278749 e do *NPAS2* rs2305160. Entretanto, foram observadas diferenças estatísticas nas subescalas peso corporal e apetite entre os genótipos do *ARNTL* rs2278749 e na subescala peso corporal entre os genótipos do *NPAS2* rs2305160. Além disso, houve interação sinérgica entre *CLOCK* rs1801260 e *ARNTL* rs2278749 na sazonalidade²⁵. Por fim, Bailer *et al.* investigaram se, em pacientes com depressão unipolar e TB, o SNP T3111C do gene *CLOCK* está associado com transtornos afetivos em comparação com os controles saudáveis. Nesse sentido, não foram encontradas diferenças nas distribuições de frequências do genótipo ou alelo do polimorfismo T3111C entre os pacientes. Assim sendo, os resultados sugerem que não há associação entre o SNP T3111C do gene *CLOCK* e os transtornos afetivos em geral²⁷.

Outros genes relacionados ao transtorno depressivo maior e ao comportamento suicida

Kishi *et al.*, em 2010, indicaram uma associação entre o polimorfismo rs10997875 do gene *SIRT1* e o TDM, porém não foram registradas associações entre o gene analisado e a resposta terapêutica ao inibidor seletivo da recaptção da serotonina na fisiopatologia do TDM²⁴. Adicionalmente, Matsunaga *et al.* realizaram uma metanálise para relacionar quatro SNPs do gene *CSNK1D* e sete SNPs do gene *CSNK1E* com o TDM, TB e esquizofrenia. Nesse contexto, foi utilizado um banco de dados de polimorfismos da população japonesa, no entanto não foram encontradas relações significativas entre os polimorfismos dos genes *CSNK1D* e *CSNK1E* com o TDM, TB e esquizofrenia³⁹. Szczepankiewicz *et al.*, por sua vez, tinham o objetivo de detectar uma possível associação das variantes dos genes *CRHR1* e *AVPR1b* com o TB e TDM. A análise da interação gene-gene conseguiu revelar uma interação epistática significativa entre os genes e a suscetibilidade ao TDM³². Os genes *CRY1* e *TEF* também foram investigados quanto às suas relações com a depressão. Hua *et al.* visaram replicar e analisar a associação entre variantes de genes relógio e o TDM, relatando que as variantes rs2287161 de *CRY1* e rs738499 de *TEF* estão associadas à suscetibilidade ao TDM³³.

Pawlak *et al.* conduziram a análise de polimorfismos de genes que possuíam uma relação já estabelecida com a vulnerabilidade ao suicídio. Nesse sentido, foram selecionados 10 genes e 35 SNPs e foi utilizado o sangue de pacientes com transtornos de comportamento. A amplificação dos genes foi feita por meio de PCR em tempo real e o teste de genotipagem de polimorfismos nucleotídicos (TaqMan

SNP) também foi realizado em 10% das amostras escolhidas aleatoriamente de ambos os grupos para verificar a precisão da genotipagem. Uma ampla análise de 34 SNPs da região *ST8SIA2* e 15 SNPs de *NCAM1* foi desenvolvida. Os resultados demonstraram uma evidência significativa e/ou sugestiva da associação entre fenótipos comportamentais que refletem o ritmo biológico humano e genes envolvidos na plasticidade da rede neuronal do sistema nervoso central. A fisiopatologia do TB ou depressivo possui características cronobiológicas importantes, de forma que a sazonalidade e a preferência circadiana são fenótipos que estão inter-relacionados⁴¹.

Por fim, Zhang *et al.* revelaram que o estresse pré-natal pode levar a comportamentos semelhantes a depressão nas gerações F1 e F2. Esses comportamentos em camundongos F1 estão associados a perturbações na expressão de genes relógio no sistema nervoso central e à alteração da expressão de proteínas hipotalâmicas e de vias de sinalização relacionadas com o humor. Alterações nos níveis plasmáticos de corticosterona também podem contribuir para a patogênese dos transtornos psiquiátricos na prole F1. As perturbações comportamentais associadas ao humor induzidas por estresse pré-natal persistem na segunda geração de filhotes, mostrando os efeitos prejudiciais do estresse enfrentado por mulheres grávidas em seus filhos e netos⁸. Um trabalho constatou um aumento na predisposição genética ao abuso de álcool em pacientes com histórico familiar de transtornos afetivos³⁸. Consequentemente, foi encontrada uma associação entre genes circadianos e o risco de abuso de álcool em pacientes do sexo masculino. Os resultados obtidos podem ser úteis para determinar o grupo de pacientes com alto risco alcoólatra, com a finalidade da preparação de um programa de prevenção adequado³⁸.

DISCUSSÃO

Diante dos estudos avaliados, vale destacar os métodos e modelos utilizados, os transtornos psiquiátricos e os genes avaliados (família, funções e local de expressão desses genes), além das limitações e principais achados encontrados nos estudos. Na figura 2 abaixo, pode-se observar que o transtorno bipolar e o TDM consistiram nos distúrbios mais abordados entre as pesquisas consideradas no artigo. Esses transtornos estão relacionados e são condições neuropsiquiátricas complexas e debilitantes⁴³. Ainda assim, os tratamentos recentes não são completamente efetivos e, apesar do notável progresso na compreensão da biologia neural, a etiopatologia dessas condições ainda não foi totalmente esclarecida⁴³. Até agora, a maioria dos estudos clínicos mostrou que pacientes com depressão e transtorno bipolar não possuem um resultado terapêutico satisfatório⁴³. É importante ressaltar que a maioria dos artigos avaliou apenas um transtorno psiquiátrico, enquanto outros ampliaram as análises para dois ou três transtornos.

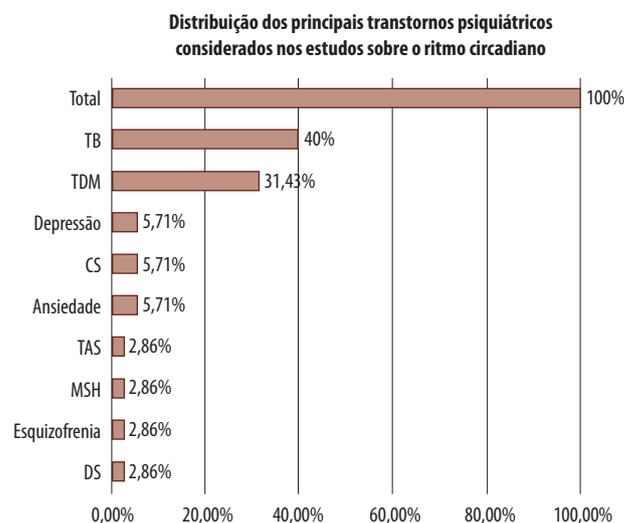


Figura 2. Distribuição dos principais transtornos psiquiátricos considerados nos estudos sobre ritmo circadiano. TB: transtorno bipolar; TDM: transtorno depressivo maior; TAS: transtorno afetivo sazonal; DS: distúrbios do sono; CS: comportamento suicida; MSH: mudanças sazonais de humor.

Adicionalmente, pode-se constatar que o gene *PER* foi o mais estudado entre os artigos analisados, provavelmente devido a sua significativa influência no transtorno bipolar e no transtorno depressivo maior, doenças que estão diretamente associadas ao comportamento suicida. O gene *CLOCK* foi o segundo mais avaliado nas pesquisas consideradas no artigo. Esses receptores possuem uma grande associação com o estado comportamental do indivíduo e com diversas condições tais como câncer, síndrome metabólica, obesidade e distúrbios do sono (Figura 3A). A maior parte dos artigos (62,5%) avaliou dois ou mais genes, e apenas nove artigos (37,5%) se restringiram a um gene.

Avaliou-se também os locais de expressão dos genes estudados (Figura 3B). Optamos por avaliar a localização apenas em humanos e no sistema nervoso; verificamos que o córtex cerebral foi região que mais se destacou, seguida do cerebelo. A área física compreendida pelo córtex cerebral, a sua complexidade e o seu envolvimento com diversas funções relevantes nos diversos transtornos psiquiátricos provavelmente justificam esse resultado. O córtex cerebral está principalmente envolvido com a tomada de decisões, pensamento subjetivo, avaliação das consequências de ação, percepção e atenção. Assim como o cérebro, o cerebelo também pode estar envolvido com o comportamento, cognição, humor e emoções^{44,45}. Adicionalmente, assim como o córtex cerebral e o núcleo supraquiasmático, o cerebelo também está envolvido com o ritmo circadiano⁴⁶. De fato, resultados preliminares sugerem o envolvimento dos genes circadianos em vários aspectos dos mecanismos fisiológicos e psicopatológicos do cérebro¹⁸.

A maioria dos genes avaliados é expressa como proteínas intracelulares, mas uma grande parte também é expressa

como enzimas (Figura 3C), desempenhando funções cruciais na célula. A principal função observada foi a participação de alguns produtos gênicos no metabolismo da serotonina, incluindo o transporte, síntese e captação desse neurotransmissor essencial no sistema nervoso (Figura 3D). Os genes relógio *SLC6A4*, *HTR2*, *ADRA2A* e *TPH*, por exemplo, se destacaram nessas funções relacionadas com a serotonina e, portanto, podem estar envolvidos com diversos transtornos, tais como esquizofrenia, depressão, doença de Alzheimer e comportamento agressivo.

Os métodos, especialmente os ensaios de genotipagem, também foram avaliados (Figura 4A). Alguns artigos fizeram o uso de mais de dois métodos, por exemplo, *Microarray*, *Western blot* e *RT-PCR*²⁸. Pode-se perceber que a PCR consistiu no método mais utilizado entre os artigos avaliados, em seguida esteve a PCR em tempo real (PCRq). As pesquisas que utilizaram PCR comum corresponderam a mais que o dobro das pesquisas que utilizaram a PCR em tempo real, provavelmente devido ao elevado custo da PCRq. Ambas as técnicas amplificam *in vitro* uma determinada região do DNA para análises específicas de um ou mais genes presentes nessa região, e na PCRq o resultado é visualizado em tempo real durante a amplificação da sequência de interesse. A PCR em tempo real possui a capacidade de gerar resultados quantitativos de maneira mais rápida, com maior precisão, sensibilidade e especificidade⁴⁷. O teste de genotipagem de polimorfismos nucleotídicos TaqMan SNP também consistiu em um método de escolha entre as pesquisas analisadas. O ensaio TaqMan SNP destaca-se, uma vez que as taxas de erro de genotipagem para todos os polimorfismos podem ser menores do que 1%¹⁰⁻¹².

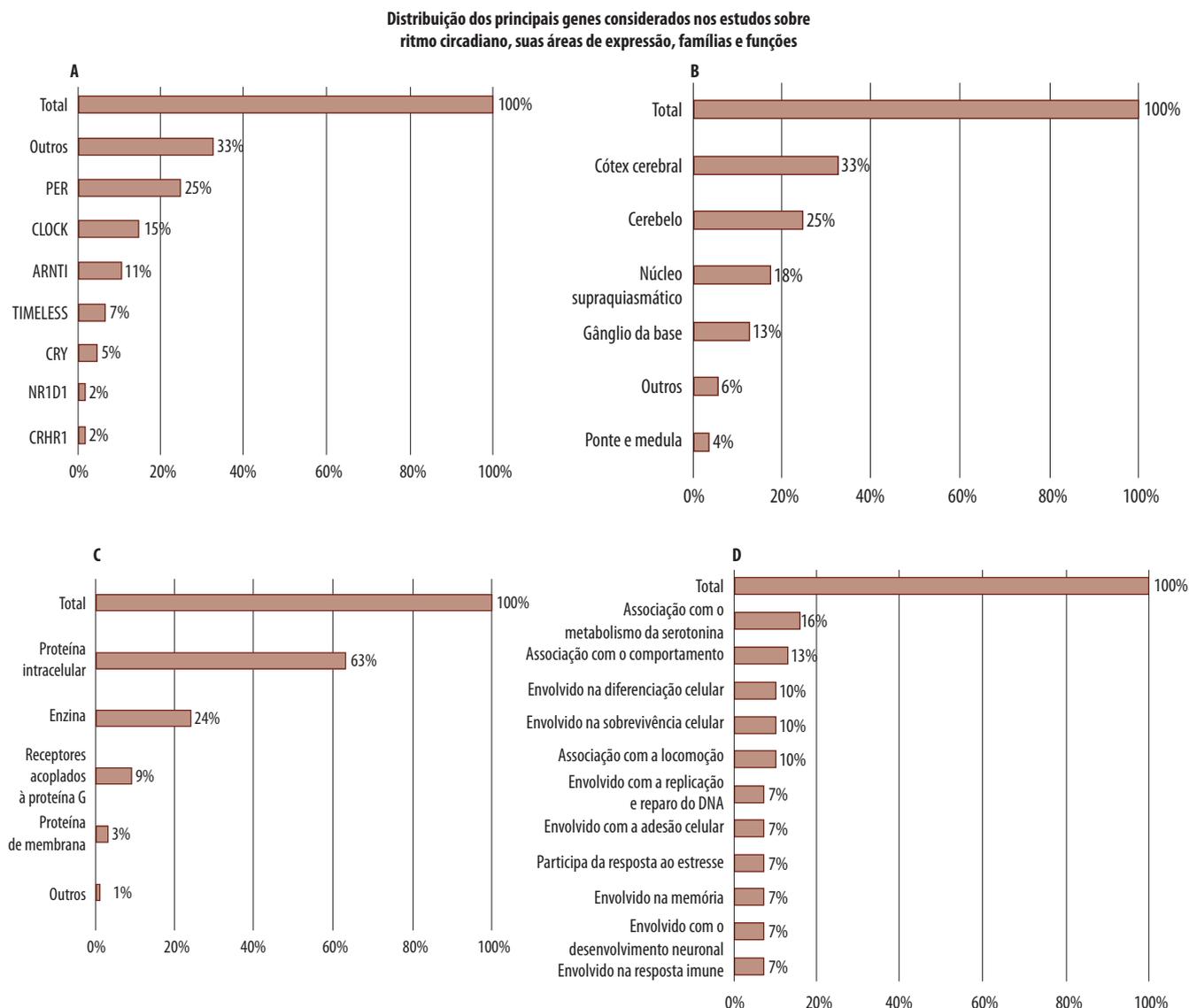


Figura 3. A) Distribuição dos principais genes considerados nos estudos sobre ritmo circadiano. B) Distribuição dos principais locais de expressão dos genes avaliados no sistema nervoso de humanos. C) Distribuição das principais famílias dos genes avaliados nos estudos sobre ritmo circadiano. D) Distribuição das principais funções dos genes avaliados nos estudos sobre ritmo circadiano.

A maioria dos estudos relacionados com a influência dos genes relógio nos transtornos psiquiátricos incluiu humanos (Figura 4B). Apenas três deles incluíram camundongos, todos da linhagem C57BL/6J, os quais são ideais para a realização dos testes comportamentais e análises genéticas. Já em relação aos participantes humanos envolvidos nas pesquisas, vale destacar que as nacionalidades polonesa e japonesa se destacaram nesses estudos envolvendo transtornos psiquiátricos (Figura 4C). De fato, de acordo com o repositório *World Life Expectancy*, a Polônia, o Japão e a Coreia do Sul apresentam elevadas taxas de transtornos mentais, em especial altos índices de suicídio⁴⁸. Vale destacar também que a média de idade dos pacientes incluídos nas pesquisas foi de 45 anos. Já a média do número amostral foi de 1.050 participantes humanos e 127 animais.

Por fim, as principais limitações dos estudos também foram avaliadas com o objetivo de detectar os principais empecilhos encontrados pelos pesquisadores do ritmo circadiano (Material Suplementar). Considera-se que o pequeno número amostral correspondeu à principal limitação dos estudos (46%), em seguida estavam as análises limitadas de genes ou dos polimorfismos estudados, provavelmente devido ao alto custo dos métodos de genotipagem. A ausência de entrevistas também consistiu em uma limitação encontrada por alguns autores; a entrevista por si poderia fornecer algumas informações relevantes que deixaram de ser consideradas em alguns artigos. Vale ressaltar que um questionário não substitui uma entrevista diagnóstica para avaliar sintomas depressivos, por exemplo.

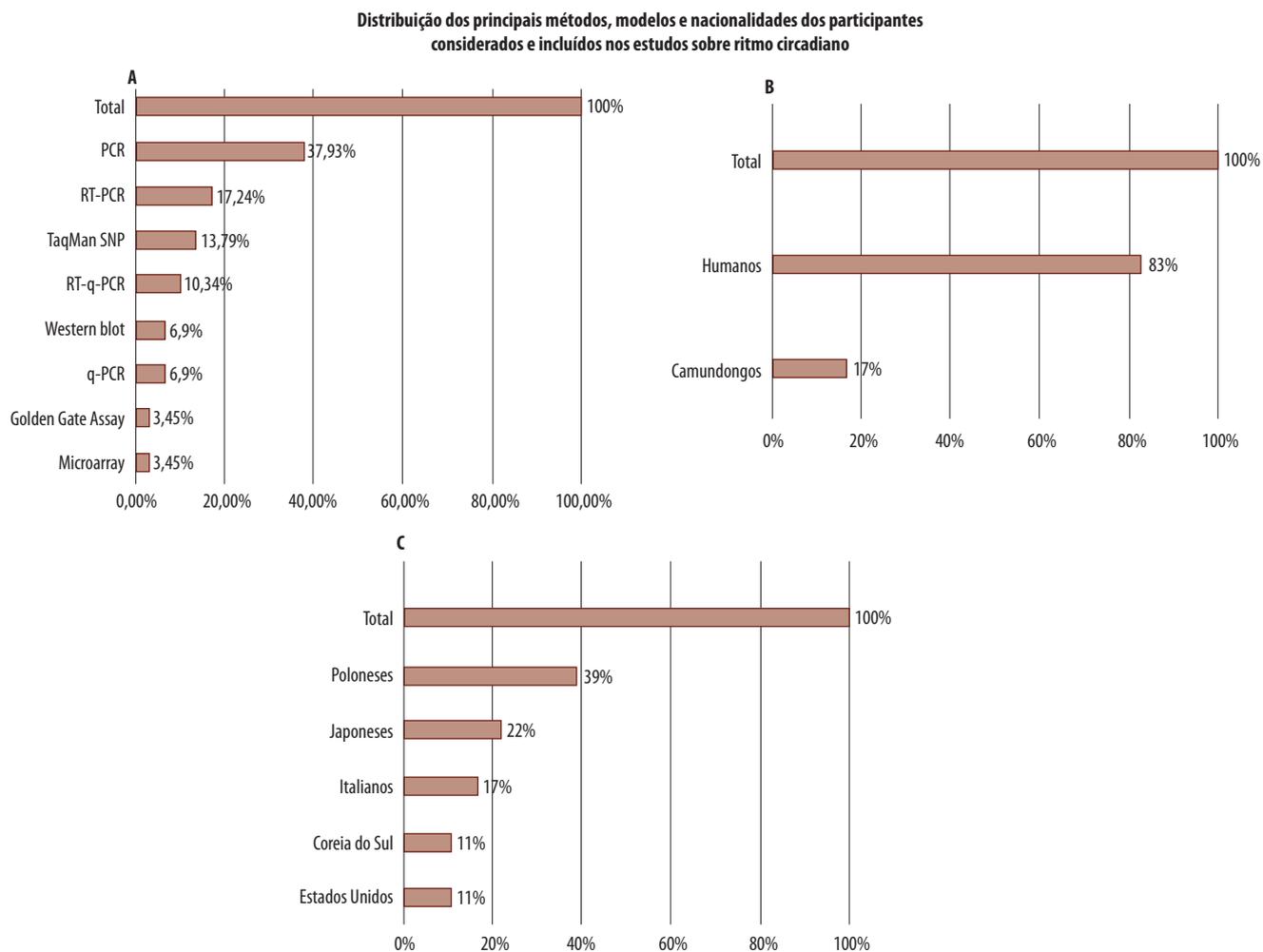


Figura 4. A) Distribuição dos principais métodos utilizados nos estudos sobre ritmo circadiano. B) Distribuição dos principais modelos utilizados nos estudos sobre ritmo circadiano. C) Distribuição das nacionalidades dos participantes incluídos nos estudos sobre ritmo circadiano.

Em relação às limitações da nossa revisão, em especial, devemos destacar a pequena quantidade de artigos contendo todas as informações de interesse. Nesse sentido, foi necessário incluir neste trabalho apenas os 24 estudos que possuíam todos os dados utilizados para a elaboração dos gráficos e tabelas. Adicionalmente, uma análise aprofundada dos genes circadianos envolvidos com os transtornos psiquiátricos em bancos de dados específicos, tais como *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)* e *String Data Base*, poderia ser relevante nesse contexto. Dessa forma, acreditamos que seria importante a inclusão de tais ferramentas em futuras revisões sistemáticas sobre o tema. Em resumo, esta revisão permitiu uma percepção global sobre os genes relógio envolvidos em transtornos psiquiátricos (Figura 5), por meio da utilização de uma metodologia sistemática. A maioria dos estudos analisados mostrou alguma perspectiva de aplicação clínica. Os artigos apresentam diferentes métodos de genotipagem, com o objetivo comum de detectar a influência de genes e polimorfismos específicos em transtornos psiquiátricos.

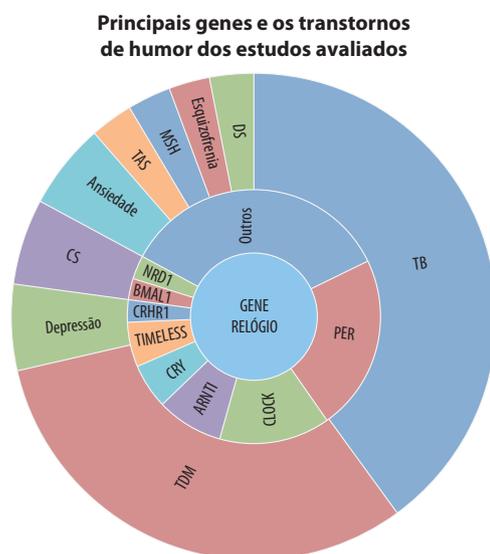


Figura 5. A figura resume os genes e os transtornos de humor dos estudos avaliados. Os genes e os transtornos de humor não se correlacionam na imagem. TB: transtorno bipolar; TDM: transtorno depressivo maior; TAS: transtorno afetivo sazonal; DS: distúrbios do sono; CS: comportamento suicida; MSH: mudança sazonal de humor.

CONCLUSÃO

O presente estudo compilou pesquisas científicas relacionadas à regulação molecular dos ritmos circadianos e as suas possíveis influências em transtornos psiquiátricos. Por meio da análise dos artigos, foi possível observar que, apesar de recente, a produção científica sobre o tema tem ganhado maiores proporções, criando, assim, um campo de estudo cada vez mais consolidado, com informações relevantes para o tratamento, diagnóstico e prevenção de transtornos psiquiátricos, especialmente o transtorno depressivo e o transtorno bipolar. Este trabalho constatou que o transtorno bipolar consistiu no transtorno psiquiátrico mais abordado entre as pesquisas avaliadas. Adicionalmente, o gene *PER* foi o mais estudado, a PCR comum mostrou-se ser o método mais utilizado e o número amostral, a principal limitação dos estudos. Estudos experimentais e revisões relacionados ao ritmo circadiano devem ser realizados periodicamente, uma vez que o avanço nas pesquisas em cronobiologia molecular tem alto teor de aplicabilidade na medicina preventiva.

CONTRIBUIÇÕES INDIVIDUAIS

Cibele Monteiro – Contribuiu substancialmente para a concepção e *design*; contribuiu substancialmente para análise e interpretação dos dados; contribuiu substancialmente para redigir o artigo.

Emanuela Tavares – Contribuiu substancialmente para a concepção e *design*; contribuiu substancialmente para análise e interpretação dos dados; contribuiu substancialmente para redigir o artigo.

Alice Câmara – Contribuiu substancialmente para análise e interpretação dos dados; contribuiu substancialmente para redigir o artigo ou revisá-lo criticamente para conteúdo intelectual importante.

Jonas Nobre – Contribuiu substancialmente para revisar criticamente o artigo para conteúdo intelectual importante e deu a aprovação final da versão a ser publicada.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram que não existe conflito de interesses em relação à publicação deste documento.

REFERÊNCIAS

- DeCoursey PJ, Krulas JR. Behavior of SCN-lesioned chipmunks in natural habitat: a pilot study. *J Biol Rhythms*. 1998;13(3):229-44.
- Coomans CP, Ramkisoensing A, Meijer JH. The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. *Front Neuroendocrinol*. 2015;37:29-42.
- Pedrazzoli M. Moléculas que marcam o tempo: implicações para os fenótipos circadianos e transtornos do humor. *Rev Bras Psiquiatr*. 2009;31(1).
- Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science*. 1990;247(4945):975-8.
- Krieger DT. The Clocks that Time Us: (Physiology of the Circadian Timing System). *Psychosom Med*. 1982;44(6):559-60.
- DeCoursey PJ. Overview of biological timing from unicells to humans. In: Dunlap JC, Loros JJ, DeCoursey PJ, eds. *Chronobiology: biological timekeeping*. Massachusetts: Sinauer Associates Inc.; 2004. p. 3-24.
- Dmitrzak-Węglarz M, Pawlak J, Wiłkość M, Miechowicz I, Maciukiewicz M, Ciarkowska W, et al. Chronotype and sleep quality as a subphenotype in association studies of clock genes in mood disorders. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2016;76:32-42.
- Zhang P, Li G, Li H, Tan X, Cheng HY. Environmental perturbation of the circadian clock during pregnancy leads to transgenerational mood disorder-like behaviors in mice. *Sci Rep*. 2017;7(1):12641.
- Zhao C, Gammie SC. The circadian gene *Nr1d1* in the mouse nucleus accumbens modulates sociability and anxiety-related behaviour. *Eur J Neurosci*. 2018;48(3):1924-43.
- Pawlak J, Dmitrzak-Węglarz M, Skibińska M, Szczepankiewicz A, Leszczyńska-Rodziewicz A, Rajewska-Rager A, et al. Suicide attempts and clinical risk factors in patients with bipolar and unipolar affective disorders. *Gen Hosp Psychiatry*. 2013;35(4):427-32.
- Pawlak J, Dmitrzak-Węglarz M, Skibińska M, Szczepankiewicz A, Leszczyńska-Rodziewicz A, Rajewska-Rager A, et al. Suicide attempts and clinical risk factors in patients with bipolar and unipolar affective disorders. *Gen Hosp Psychiatry*. 2013;35(4):309-13.
- Pawlak J, Dmitrzak-Węglarz M, Wilkosc M, Szczepankiewicz A, Leszczyńska-Rodziewicz A, Zaremba D, et al. Suicide behavior as a quantitative trait and its genetic background. *J Affect Disord*. 2016;206:241-50.
- Baldessarini RJ, Hennen J. Genetics of suicide: an overview. *Harv Rev Psychiatry*. 2004;12(1):1-13.
- van Heeringen K. Stress-diathesis model of suicidal behavior. In: Dwivedi Y, ed. *The neurobiological basis of suicide*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2012.
- Lester D. Morningness – eveningness, current depression, and past suicidality. *Psychol Rep*. 2015;116(2):331-6.
- Mondin TC, de Azevedo Cardoso T, de Mattos Souza LD, Jansen K, da Silva Magalhães PV, Kapczinski F, et al. Mood disorders and biological rhythms in young adults: a large population-based study. *J Psychiatr Res*. 2017;84:98-104.
- Parekh PK, Becker-Krail D, Sundaravelu P, Ishigaki S, Okado H, Sobue G, et al. Altered *GluA1* (*Gria1*) function and accumbal synaptic plasticity in the *Clock* Δ 19 model of bipolar mania. *Biol Psychiatr*. 2018;84(11):817-26.
- Artioli P, Lorenzi C, Pirovano A, Serretti A, Benedetti F, Catalano M, et al. How do genes exert their role? Period 3 gene variants and possible influences on mood disorder phenotypes. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2007;17(9):587-94.
- Asher G, Gatfield D, Stratmann M, Reinke H, Dibner C, Kreppel F, et al. *SIRT1* regulates circadian clock gene expression through *PER2* deacetylation. *Cell*. 2008;134(2):317-28.
- Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, Sahar S, Hirayama J, Chen D, et al. The *NAD*⁺-dependent deacetylase *SIRT1* modulates *CLOCK*-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*. 2008;134(2):329-40.
- Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, Kaluzova M, Sassone-Corsi P. Circadian control of the *NAD*⁺ salvage pathway by *CLOCK-SIRT1*. *Science*. 2009;324(5927):654-7.
- Ramsey KM, Yoshino J, Brace CS, Abrassart D, Kobayashi Y, Marcheva B, et al. Circadian clock feedback cycle through *NAMPT*-mediated *NAD*⁺ biosynthesis. *Science*. 2009;324(5927):651-4.
- Wijnen H. A circadian loop as *SIRT1*'s itself. *Science*. 2009;324(5927):598-9.
- Kishi T, Yoshimura R, Kitajima T, Okochi T, Okumura T, Tsunoka T, et al. *SIRT1* gene is associated with major depressive disorder in the Japanese population. *J Affect Disord*. 2010;126(1-2):167-73.
- Kim HI, Lee HJ, Cho CH, Kang SG, Yoon HK, Park YM, et al. Association of *CLOCK*, *ARNTL*, and *NPAS2* gene polymorphisms and seasonal variations in mood and behavior. *Chronobiol Int*. 2015;32(6):785-91.
- Shiino Y, Nakajima S, Ozeki Y, Isono T, Yamada N. Mutation screening of the human period 2 gene in bipolar disorder. *Neurosci Lett*. 2003;338(1):82-4.

27. Bailer U, Wiesegger G, Leisch F, Fuchs K, Leitner I, Letmaier M, et al. No association of clock gene T3111C polymorphism and affective disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2005;15(1):51-5.
28. Kato T, Ishiwata M, Yamada K, Kasahara T, Kakiuchi C, Iwamoto K, et al. Behavioral and gene expression analyses of Wfs1 knockout mice as a possible animal model of mood disorder. *Neurosci Res*. 2008;61(2):143-58.
29. Kishi T, Kitajima T, Ikeda M, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, et al. Association analysis of nuclear receptor Rev-erb alpha gene (NR1D1) with mood disorders in the Japanese population. *Neurosci Res*. 2008;62(4):211-5.
30. Dallaspezia S, Lorenzi C, Pirovano A, Colombo C, Smeraldi E, Benedetti F. Circadian clock gene Per3 variants influence the postpartum onset of bipolar disorder. *Eur Psychiatry*. 2011;26(3):138-40.
31. Wilkosc M, Wegalrz M, Maciukiewicz M, Pawlak J, Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser J. P. 2. b. 019 Clock gene polymorphisms and haplotypes in mood disorder in a Polish cohort. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013;23:5329-30.
32. Szczepankiewicz A, Leszczynska-Rodziewicz A, Pawlak J, Rajewska-Rager A, Wilkosc M, Zaremba D. Epistatic interaction between CRHR1 and AVPR1b variants as a predictor of major depressive disorder. *Psychiatr Genet*. 2013;23(6):239-46.
33. Hua P, Liu W, Chen D, Zhao Y, Chen L, Zhang N, et al. Cry1 and Tef gene polymorphisms are associated with major depressive disorder in the Chinese population. *J Affect Disord*. 2014;157:100-3.
34. Nováková M, Praško J, Látalová K, Sládek M, Sumová A. The circadian system of patients with bipolar disorder differs in episodes of mania and depression. *Bipolar Disord*. 2015;17(3):303-14.
35. Rybakowski JK, Dmitrzak-Weglarz M, Dembinska-Krajewska D, Hauser J, Akiskal KK, Akiskal HH. Polymorphism of circadian clock genes and temperamental dimensions of the TEMPS-A in bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2014;159:80-4.
36. Maglione JE, Nievergelt CM, Parimi N, Evans DS, Ancoli-Israel S, Stone KL, et al. Associations of PER3 and RORA circadian gene polymorphisms and depressive symptoms in older adults. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2015;23(10):1075-87.
37. Suzuki M, Dallaspezia S, Locatelli C, Lorenzi C, Uchiyama M, Colombo C, et al. CLOCK gene variants associated with the discrepancy between subjective and objective severity in bipolar depression. *J Affect Disord*. 2017;210:14-8.
38. Banach E, Pawlak J, Kapelski P, Szczepankiewicz A, Rajewska-Rager A, Skibinska M, et al. Clock genes polymorphisms in male bipolar patients with comorbid alcohol abuse. *J Affect Disord*. 2018;241:142-6.
39. Matsunaga S, Ikeda M, Kishi T, Fukuo Y, Aleksic B, Yoshimura R, et al. An evaluation of polymorphisms in casein kinase 1 delta and epsilon genes in major psychiatric disorders. *Neurosci Lett*. 2012;529(1):66-9.
40. Pawlak J, Szczepankiewicz A, Kapelski P, Rajewska-Rager A, Slopien A, Skibinska M, et al. Suicidal behavior in the context of disrupted rhythmicity in bipolar disorder – Complementary research of clock genes with suicide risks factors and course of disease. *Psychiatry Res*. 2017;257:446-9.
41. Yang SY, Baek JH, Cho Y, Cho EY, Choi Y, Kim Y, et al. Effects of genetic variants of ST8SIA2 and NCAM1 genes on seasonal mood changes and circadian preference in the general population. *Chronobiol Int*. 2018;35(3):405-15.
42. Liberman AR, Halitjaha L, Ay A, Ingram KK. Modeling Strengthens Molecular Link between Circadian Polymorphisms and Major Mood Disorders. *J Biol Rhythms*. 2018;33(3):318-36.
43. Cui R. A systematic review of depression. *Curr Neuropharmacol*. 2015;13(4):480.
44. Minichino A, Bersani FS, Trabucchi G, Albano G, Primavera M, Delle Chiaie R, et al. The role of cerebellum in unipolar and bipolar depression: a review of the main neurobiological findings. *Riv Psichiatr*. 2014;49(3):124-31.
45. Camara AB. Receptores neurais e a doença de Alzheimer: uma revisão sistemática da literatura sobre as famílias de receptores mais associadas a doença, suas funções e áreas de expressão. *J Bras Psiquiatr*. 2019;68(3):159-74.
46. Bering T, Hertz H, Rath M. Rhythmic release of corticosterone induces circadian clock gene expression in the cerebellum. *Neuroendocrinology*. 2019.
47. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(9):e45.
48. World Health Organization. World Health Rankings: Suicide. Disponível em: <https://www.worldlifeexpectancy.com/cause-of-death/suicide/by-country/>. Acesso em: 28 set. 2019.

MATERIAL SUPLEMENTAR

