

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PAULO MARCOS BRASIL ROCHA

**ESTUDO DO SONO E DE ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS  
DO GENE PER3 EM UMA POPULAÇÃO DE PACIENTES  
PORTADORES DE TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR**

Belo Horizonte  
2014

PAULO MARCOS BRASIL ROCHA

**ESTUDO DO SONO E DE ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS  
DO GENE PER3 EM UMA POPULAÇÃO DE PACIENTES  
PORTADORES DE TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR**

Trabalho de Tese apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Neurociências

Orientador: Prof. Humberto Corrêa  
Co-Orientador: Prof. Fernando Silva Neves

Belo Horizonte  
2014

## FOLHA DE APROVAÇÃO

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Humberto Corrêa da Silva Filho, pela orientação durante este percurso, pela disponibilidade e pela oportunidade de compartilhar de sua experiência na pesquisa científica;

Ao Professor Fernando Silva Neves, pela coorientação e pelas enormes contribuições realizadas em todos os momentos deste trabalho;

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFMG, em especial à Professora Ângela Maria Ribeiro;

Aos Professores da Faculdade de Medicina da UFMG Leandro Malloy-Diniz Fernandes, Rodrigo Nicolato, Maila de Castro e Luciana Costa Diniz, pelas diversas contribuições;

A toda equipe do Laboratório de Neurociências e Medicina Molecular da UFMG, especialmente à Simone Becho pela ajuda e contribuição decisiva para a realização deste estudo;

A todos os colegas da Pós-graduação, em especial à Isabela Lima;

Aos colegas de trabalho;

Aos amigos;

Aos meus pais, minha irmã Juliana e Raquel, pelo carinho e paciência;

Aos pacientes e suas famílias,

A todos que ajudaram na concretização deste estudo.

## RESUMO

O Transtorno Afetivo Bipolar (TAB) é uma condição psiquiátrica crônica, de natureza recorrente que pode levar a piora do funcionamento social e qualidade de vida. Uma série de evidências de várias linhas de pesquisa genética confirma que o TAB apresenta elevada determinação por fatores hereditários. Estes fatores genéticos, em interação constante com múltiplos fatores ambientais, constituíram a base da vulnerabilidade ao TAB. As alterações do sono e dos ritmos circadianos são manifestações clínicas comuns no TAB e podem ocorrer tanto nos episódios maníacos quanto nos depressivos. No presente trabalho realizou-se um estudo do sono e de associação genética do tipo caso-controle para avaliar o papel do gene circadiano *Per3* na vulnerabilidade ao TAB. O objetivo foi comparar a qualidade do sono entre um grupo de pacientes com TAB e um grupo controle e comparar a distribuição dos polimorfismos do gene *Per3* entre os dois grupos. Avaliaram-se 209 pacientes com TAB preenchendo critérios para eutímia e 213 indivíduos controle. A qualidade do sono foi avaliada através da aplicação do Inventário de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI), que diferencia os indivíduos com boa daqueles com baixa qualidade do sono através do valor de seu escore global. A genotipagem foi realizada através da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real. A análise estatística foi realizada considerando-se um nível de significância de 5%. Os dois grupos apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação à qualidade do sono avaliada pela PSQI. Uma grande parcela dos pacientes com TAB apresentou uma baixa qualidade de sono, mesmo preenchendo critérios para eutímia. Após ajuste por modelo multivariado que controlou por variáveis clínicas e demográficas entre os dois grupos, uma baixa qualidade do sono acessada pela PSQI associou-se de maneira estatisticamente significativa com o TAB. A análise da distribuição alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* entre os dois grupos revelou associação do polimorfismo rs707467 com o TAB, mas após correção por múltiplos testes esse resultado não manteve a significância estatística. Confirmou-se a hipótese de uma elevada prevalência de baixa qualidade do sono em pacientes com TAB se comparado ao grupo controle. Essa associação permaneceu significativa mesmo após ajuste para variáveis clínicas e demográficas. A ausência de associação encontrada entre os polimorfismos do gene *Per3* e o TAB na população deste estudo suscitam questionamentos acerca do possível envolvimento do gene *Per3* na neurobiologia do transtorno, uma vez que estudos pregressos demonstram resultados conflitantes. São necessários mais estudos envolvendo um número maior de pacientes para um melhor esclarecimento sobre o tema.

**Palavras chave:** Transtorno bipolar; Polimorfismo; Distúrbios do sono; Eutímia; Gene PER3; Neurociências

## ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) is a chronic and recurrent psychiatric condition which can lead to poorer social functioning and quality of life. A great amount of evidences from several lines of genetic research have confirmed that BD is highly heritable. Thus, vulnerability to BD would be linked to the permanent interaction between genetic and environmental factors. The role of sleep and circadian disturbances in BD has been recognized as an essential aspect of the illness, as they may occur both in mania and depression. In the present manuscript sleep evaluation as well as a case-control genetic association study was carried out to test the relationship between the *Per3* gene and BD. We specifically compared sleep quality and the *Per3* gene polymorphisms between euthymic bipolar disorder patients and controls. A total of 209 BD patients fulfilling criteria for euthymia and 213 controls joined the study. Sleep quality was accessed by the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) which distinguishes good and poor sleepers by means of the PSQI global score. Genotyping was performed with the Real-Time Polymerase Chain Reaction technique. Statistical analysis was performed with a significance level of 5%. The two groups were significantly different in relation to sleep quality assessed by the PSQI, as a large amount of BD patients reported poor sleep quality despite the fact that they were euthymic. After multivariate analyses controlling for clinical and demographic variables between cases and controls, association remained significant between BD and poor sleep quality assessed by the PSQI. Allelic and genotypic distribution analyses of the *Per3* polymorphisms between the two groups revealed a significant association between the rs707467 polymorphism and BD, although the association did not reach statistical significance after correction for multiple tests. The high prevalence of poor sleep quality in BD hypothesis was confirmed. The association between poor sleep quality and BD remained significant after multivariate analysis. The lack of association found between the *Per3* polymorphisms and BD in this study raise questions about the possible role for the *Per3* gene in the neurobiology of BD, since previous studies have shown mixed results. More studies with larger samples are needed to better understand whether the *Per3* gene would represent a vulnerability trait for BD.

**Key-words:** Bipolar disorder; Polymorphism; Sleep disorders; Euthymia; PER3 gene; Neuroscience

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Representação esquemática do modelo de regulação do sono pelos processos circadiano e homeostático ..... 18
- Figura 2- Principal sincronizador externo do NSQ ao período circadiano .... 21
- Figura 3- As oscilações rítmicas de expressão gênica dos genes circadianos ..... 23
- Figura 4- A alça de retroalimentação dos genes circadianos do núcleo central regulador. A figura demonstra a alça principal, a fosforilação das proteínas PER e CRY por quinases e seu retorno posterior ao núcleo celular. Os principais sincronizadores externos dos ritmos circadianos estão representados à esquerda ..... 24
- Figura 5- Representação esquemática da organização do sistema circadiano estendido, composto pelos genes circadianos do núcleo central “core clock”, por genes que modulam a atividade do núcleo central e genes que são influenciados pela atividade do núcleo central ..... 25
- Figura 6- Ilustração esquemática das interações entre o sistema circadiano e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal..... 26
- Figura 7- A figura ilustra as conexões neuroanatômicas entre os sistemas serotoninérgico e circadiano através das projeções neuronais entre os núcleos serotoninérgicos da rafe e o núcleo supraquiasmático ..... 27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Estudos de associação de todo o genoma (GWAS) realizados em amostras de pacientes com TAB.....	47
Tabela 2-	Estudos de associação genética com resultados positivos para genes circadianos do núcleo regulador central no TAB .....	53
Tabela 3-	Marcadores genéticos e polimorfismos avaliados do gene <i>Per3</i> ..	65
Tabela 4-	Dados demográficos dos grupos caso e controle.....	68
Tabela 5-	Variáveis clínicas coletadas nos grupos caso e controle .....	69
Tabela 6-	Variáveis clínicas coletadas no grupo caso.....	70
Tabela 7-	Comorbidades psiquiátricas de eixo I segundo o DSM-IV-TR .....	71
Tabela 8-	Comorbidades e medicações clínicas mais utilizadas pelo grupo caso.....	72
Tabela 9-	Psicofármacos utilizados pelos pacientes no momento da avaliação .....	72
Tabela 10-	Avaliação da qualidade do sono nos grupos caso e controle acessada pela PSQI.....	73
Tabela 11-	Modelo inicial de regressão logística das variáveis comuns aos grupos caso e controle para a qualidade do sono.....	74
Tabela 12-	Modelo final de regressão logística das variáveis comuns aos grupos caso e controle para a qualidade do sono.....	74
Tabela 13-	Modelo inicial de regressão logística das variáveis clínicas relacionadas ao TAB para a qualidade do sono.....	75
Tabela 14-	Modelo final de regressão logística das variáveis clínicas relacionadas ao TAB para a qualidade do sono.....	75
Tabela 15-	Equilíbrio de Hardy-Weinberg dos SNP's do gene <i>Per3</i> .....	76
Tabela 16-	Frequência de alelos e genótipos do gene <i>Per3</i> (TAB/controle) ...	77
Tabela 17-	Frequência alélica e genotípica do gene <i>Per3</i> no grupo de pacientes com TAB subdivididos pelo escore global da PSQI .....	78



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1	O Transtorno Afetivo Bipolar.....	13
2.2	O Sono.....	15
2.2.1	<u>Regulação do Sono</u> .....	16
2.3	Os Ritmos Biológicos.....	18
2.3.1	<u>O Núcleo Supraquiasmático</u> .....	20
2.3.2	<u>As bases genéticas e moleculares dos ritmos biológicos</u> .....	21
2.3.3	<u>Integração entre o NSQ e o organismo</u> .....	25
2.3.4	<u>Integração entre os sistemas circadiano e das monoaminas</u> .....	27
2.4	As alterações do sono e dos ritmos biológicos no TAB.....	29
2.4.1	<u>As alterações do sono na fase de eutímia</u> .....	29
2.4.2	<u>As alterações do sono nas fases de depressão e mania</u> .....	31
2.4.3	<u>As alterações dos ritmos biológicos no TAB</u> .....	33
2.4.4	<u>Relações entre alterações do sono e dos ritmos biológicos com a funcionalidade, cognição e comorbidades clínicas no TAB</u> .....	38
2.5	Genética do Transtorno Afetivo Bipolar.....	39
2.5.1	<u>Estudos de genética epidemiológica</u> .....	39
2.5.2	<u>Estudos de genética molecular</u> .....	41
2.5.2.1	<u>A utilização dos endofenótipos na pesquisa genética do TAB</u> .....	43
2.5.2.2	<u>Estudos de genética molecular do tipo associação de todo o genoma</u> .....	45
2.5.2.3	<u>Estudos de genética molecular envolvendo variações no número de cópias de segmentos de DNA</u> .....	48
2.5.2.4	<u>Estudos de genômica funcional convergente</u> .....	49
2.5.3	<u>Os genes relógio ou circadianos</u> .....	52
2.5.4	<u>O gene candidato</u> .....	55
2.5.4.1	<u>O gene <i>Per3</i></u> .....	55
3	JUSTIFICATIVA.....	58
4	OBJETIVOS.....	59
4.1	Objetivo geral.....	59
4.2	Objetivos específicos.....	59

<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>60</b>
5.1	Delineamento, procedimentos do estudo e sujeito da pesquisa.....	60
5.2	Procedimentos .....	61
5.3	Avaliação do sono e o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh ...	62
5.4	Extração do DNA.....	64
5.5	Genotipagem.....	65
5.6	Análise Estatística .....	66
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>68</b>
6.1	Análise das características clínicas e sociodemográficas dos grupos caso e controle .....	68
6.2	Análise multivariada utilizando-se a qualidade do sono como variável resposta .....	73
6.3	Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene <i>Per3</i> entre os grupos caso e controle .....	75
6.4	Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene <i>Per3</i> em pacientes com TAB subdivididos entre aqueles com uma baixa qualidade do sono e aqueles com uma boa qualidade do sono.....	76
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>80</b>
7.1	Análise das características clínicas e sociodemográficas dos grupos caso e controle .....	80
7.2	Análise multivariada utilizando-se a qualidade do sono como variável resposta .....	86
7.3	Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene <i>Per3</i> entre os grupos caso e controle .....	87
7.4	Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene <i>Per3</i> em pacientes com TAB subdivididos entre aqueles com uma baixa qualidade do sono e aqueles com uma boa qualidade do sono.....	88
7.5	Considerações Finais.....	89
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>94</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>95</b>
	<b>ANEXO A– Parecer CEP-UFGM</b> .....	<b>130</b>
	<b>ANEXO B– Parecer CEP-Prefeitura Belo Horizonte</b> .....	<b>131</b>
	<b>ANEXO C– Parecer CEP-FHEMIG</b> .....	<b>132</b>
	<b>ANEXO D– Termo de Consentimento UFGM</b> .....	<b>133</b>

<b>ANEXO E– Termo de Consentimento Prefeitura Belo Horizonte .....</b>	<b>135</b>
<b>ANEXO F– Termo de Consentimento FHEMIG .....</b>	<b>136</b>
<b>ANEXO G– Inventário de Qualidade do Sono de Pittsburgh .....</b>	<b>139</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Transtorno Afetivo Bipolar (TAB) é um grave transtorno psiquiátrico que acomete 1 a 3 % da população geral, categorizado como transtorno do humor nas classificações diagnósticas psiquiátricas atuais (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA, 2000; KESSLER et al., 2005). É uma doença que leva frequentemente à incapacidade profissional (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2001). Dados da Organização Mundial de Saúde demonstram que o TAB figura entre as principais causas de invalidez dentre os agravos à saúde. O TAB caracteriza-se pela recorrência de episódios de mania ou hipomania e depressão, sobrepostos a períodos de remissão dos sintomas, denominados de eutimia (GOODWIN; JAMISON, 1990; SADOCK; SADOCK, 2007).

O sono pode ser definido como um estado comportamental complexo, constituído por fases que se sucedem e são fisiologicamente distintas, cuja regulação é determinada por diversos fatores genéticos e ambientais (PORKKA-HEISKANEN; ZITTING; WRIGEN, 2013; TAFTI, 2009). Caracteriza-se pela suspensão parcial e temporária das atividades senso-perceptivas e motora voluntária, em oposição à vigília, que na espécie humana pode ser aferida objetivamente através do traçado do eletroencefalograma (PORKKA-HEISKANEN; ZITTING; WRIGEN, 2013). O ciclo sono-vigília é um parâmetro relacionado aos ritmos circadianos e biológicos, que podem ser conceituados como um conjunto de alterações comportamentais, fisiológicas e bioquímicas que se repetem ciclicamente, em ordem e intervalo regulares (ATKINSON; REILLY, 1996).

Estudos de genética epidemiológica apontam que a herdabilidade do TAB é de até 79-93%, sugerindo a importância de fatores genéticos na vulnerabilidade ao TAB (CRADDOCK; SKLAR, 2009). Mas apesar de um esforço considerável, os fatores genéticos específicos que predispõem ao TAB ainda permanecem desconhecidos. Com base em observações clínicas de que pacientes com TAB apresentam frequentemente irregularidades na periodicidade de atividades diárias, uma enorme frequência de alterações do sono em todas as fases do transtorno, e que episódios maiores de humor podem seguir padrões sazonais, foi postulada a hipótese de que os ritmos

circadianos teriam papel relevante na vulnerabilidade ao TAB (PLANTE; WINKELMAN, 2008). Esta hipótese foi ainda sustentada pelo desenvolvimento de um modelo animal de mania em que uma mutação no gene CLOCK, um componente essencial do relógio circadiano molecular, desencadeia anormalidades comportamentais maniformes parcialmente reversíveis após a administração de lítio (MUKHERJEE et al., 2010; ROYBAL et al., 2007), medicação estabilizadora do humor frequentemente utilizada para o tratamento do TAB, que também altera a expressão de alguns genes circadianos em modelos animais (MCQUILLIN; RIZIG; GURLING, 2007). Outros estudos demonstraram ainda que a administração do lítio resulta em modificações nos ritmos circadianos de roedores, primatas e seres humanos (KRIPKE et al., 1978, KRIPKE et al., 1979, KRIPKE et al., 1980; WELSH; MOORE-EDE, 1990). Além disso, vários estudos demonstraram que a glicogênio sintase quinase 3-B (GSK3B), molécula envolvida na fosforilação de vários genes circadianos (PRICKAERTS et al., 2006), é inibida pelo lítio (KLEIN; MELTON, 1996) e tem sido implicada nos efeitos do lítio tanto nos ritmos circadianos (HIROTA et al., 2008; IITAKA et al., 2005) quanto na sua ação terapêutica no TAB (GOULD, 2004; KLEMFUSS; KRIPKE, 1995; MCCARTHY; LECKBAND; KELSOE, 2010).

Assim, uma vez que dados de genética epidemiológica demonstram a importância de fatores genéticos na gênese do TAB, foi proposto que as alterações do sono e dos ritmos circadianos poderiam ser causadas por variações genéticas nos genes envolvidos no controle circadiano tendo, esta hipótese, atraído considerável atenção do meio científico. Dessa forma, o objetivo deste estudo é investigar a qualidade do sono em uma amostra de pacientes portadores de TAB e comparar a frequência de polimorfismos dos genes circadianos *Per3* entre um grupo formado por pacientes com TAB e um grupo controle.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 O Transtorno Afetivo Bipolar**

O Transtorno Afetivo Bipolar, classificado como transtorno do humor pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais na sua quarta edição (DSM-IV-TR), é um transtorno psiquiátrico comum, crônico e recorrente (APA, 2000; GOODWIN; JAMISON, 1990). Embora os episódios de depressão e de mania sejam intercalados por períodos de humor supostamente normais, o TAB representa um grande sofrimento, tanto para pacientes quanto para familiares. O prognóstico para os pacientes com TAB é pobre, com altas taxas de recaída, de sintomas residuais, de disfunções cognitivas e de diminuição da qualidade de vida (BELMAKER, 2004; KUPFER, 2005).

No DSM-IV-TR os Transtornos Bipolar e Depressivo Maior são categoricamente definidos como Transtornos do Humor (BENAZZI, 2007). A característica básica que distingue esses dois grupos é a presença de pelo menos 1 episódio maníaco (TAB tipo I) ou 1 episódio hipomaníaco (TAB tipo II), que estão ausentes nos transtornos depressivos unipolares (APA, 2000). Ainda segundo o DSM-IV-TR, a diferenciação entre um episódio maníaco e hipomaníaco reside na duração dos sintomas, na intensidade dos sintomas, na necessidade de internação hospitalar e na repercussão para o funcionamento social e ocupacional do paciente (APA, 2000).

Mais recentemente a quinta edição do DSM trouxe algumas modificações em questões específicas relacionadas ao TAB (ANGST, 2013; SEVERUS; BAUER, 2013). Com o objetivo de aumentar a acurácia diagnóstica, incluiu-se no critério A do diagnóstico para caracterização de episódio maníaco ou hipomaníaco, a obrigatoriedade da presença de mudanças de atividade motora e energia, além das alterações de humor exaltado, expansivo ou irritável que já estavam presentes no texto do DSM-IV (ANGST, 2013). A mudança mais significativa parece ser a extinção do denominado episódio misto, que agora passa a ser um especificador descrito como “com características mistas” para episódios hipo/maníacos e depressivos no contexto do TAB e também abrangendo o Transtorno Depressivo Maior (ANGST, 2013). Outro aspecto relevante refere-se à extinção da categoria

Transtornos do Humor, que englobava o TAB e o Transtorno Depressivo Maior, entre outros. Estes passam a figurar, na quinta edição do DSM, separadamente como Transtornos Depressivos e Transtorno Bipolar e Associados (ANGST, 2013).

Apesar dos avanços atingidos até o momento com relação à classificação diagnóstica, o substrato neurobiológico do TAB permanece ainda sem completa compreensão (SCHLOESSER et al., 2008). Historicamente, os sistemas neuronais mais investigados em estudos sobre a neurobiologia do TAB foram os dos neurotransmissores monoaminérgicos serotonina, noradrenalina e dopamina (MARTINOWICH; SCHLOESSER; MANJI, 2009). Um grande número de evidências demonstra que os sistemas neuronais monoaminérgicos apresentam diversas e extensas conexões com estruturas do sistema límbico, do córtex pré-frontal e com circuitos estriatais que, presume-se serem responsáveis pelas manifestações comportamentais do TAB (MARTINOWICH; SCHLOESSER; MANJI, 2009).

Entretanto, diversas evidências sugerem que aspectos relacionados à modulação sináptica e à plasticidade neuronal desempenham papel importante em diversos circuitos envolvidos na regulação do humor e da cognição (MARTINOWICH; SCHLOESSER; MANJI, 2009; SCHLOESSER et al., 2008). Esses achados levantam a possibilidade de que a neurobiologia do TAB relacione-se mais com alterações sinápticas e de neurocircuitos do que com um desequilíbrio de neurotransmissores (MARTINOWICH; SCHLOESSER; MANJI, 2009). Nesse sentido, ao longo dos últimos anos, inúmeros estudos que buscavam a melhor compreensão sobre a etiologia e fisiopatologia do TAB apontaram e testaram algumas hipóteses. Dentre elas destacam-se as alterações da sinalização intracelular de cálcio, do sistema de resposta imune-inflamatória, da densidade de células da glia e neurônios e de fatores genéticos (ANDREAZZA; YOUNG, 2013). Mais recentemente observou-se um interesse crescente no envolvimento de disfunções mitocondriais e do estresse oxidativo no TAB (CLAY; SILLIVAN; KONRADI, 2011; KAPCZINSKI et al., 2008; KONRADI; SILLIVAN; CLAY, 2012). A elucidação desses novos aspectos possivelmente relacionados à fisiopatologia do TAB resultou na proposta de utilização do conceito de carga alostática para sua compreensão (KAPCZINSKI et al., 2008). Assim, a convergência desses fatores resultaria em um acúmulo

de carga alostática que poderia ser o substrato fisiopatológico relacionado a alguns aspectos prognósticos e da evolução longitudinal do TAB como a vulnerabilidade ao estresse, as disfunções cognitivas crônicas, as elevadas taxas de comorbidades clínicas e mortalidade (KAPCZINSKI et al., 2008). Esses novos conhecimentos suscitaram a busca por biomarcadores assim como modelos de estadiamento do transtorno, que estão em desenvolvimento (GAMA et al., 2013).

## **2.2 O Sono**

O sono é um estado regular, recorrente, reversível com facilidade, que se caracteriza por quietude e aumento do limiar de resposta a estímulos externos, se comparado ao estado de vigília (MARKOV; GOLDMAN, 2006; SADOCK; SADOCK, 2007). É considerado um estado neurocomportamental, mantido através da interação de um sistema altamente organizado de circuitos neuronais no sistema nervoso central (MARKOV; GOLDMAN, 2006). O sono pode ser definido como um comportamento complexo, cuja regulação é determinada por diversos fatores genéticos e ambientais (TAFTI, 2009). Embora ocorram outras definições na literatura sobre o tema, essa é a mais utilizada por ser baseada em pesquisas biológicas (SIEGEL, 2008). A repetição cíclica dos estados de sono e vigília é essencial para o funcionamento fisiológico da maioria dos animais vertebrados, incluindo os seres humanos (MARKOV; GOLDMAN, 2006).

Os estudos eletrofisiológicos separam o sono em dois estágios distintos: o sono REM (Rapid Eye Movement), que é caracterizado principalmente pela movimentação ocular rápida, e o sono NREM (Non Rapid Eye Movement), que é caracterizado pela ausência de movimentos oculares rápidos (ASERINSKY; KLEITMAN, 2003). À medida que a compreensão sobre os processos neurobiológicos e sobre as funções do sono progride, o entendimento de que o sono seria apenas um fenômeno passivo, caracterizado pela ausência do estado de alerta, perde fundamentação científica (MARKOV; GOLDMAN, 2006). As funções do sono já foram estudadas por vários métodos, ficando evidenciado que o sono desenvolve as funções restauradora, homeostática e termorreguladora (ROTH; ROEHRS, 2000; SADOCK; SADOCK, 2007).



As alterações do sono são relativamente comuns na população geral. Dados de uma amostra populacional norte-americana mostraram que até 25% da população adulta relatou queixas relacionadas ao sono, com duração superior a duas semanas no último ano (ROTH et al., 2006). Estudos observacionais e epidemiológicos indicam que uma duração ótima do sono de cerca de 7-8 horas associa-se com bons índices de saúde. Alterações na duração do sono, tanto para mais quanto para menos, associam-se com aumento das taxas de morbidade e mortalidade (GANGWISCH et al., 2006; GANGWISCH et al., 2007; HUBLIN et al., 2007; PATEL et al., 2006).

### **2.2.1 Regulação do sono**

O sono é regulado primariamente por dois processos (ALOÉ; AZEVEDO; RASAN, 2005). O primeiro processo, denominado circadiano, envolve o funcionamento de um relógio biológico central, o núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado no hipotálamo, que cicla em aproximadamente 24 horas e tem, entre outras funções, a consolidação do ciclo sono-vigília (REPPERT; WEAVER, 2002). A luz, a atividade física e a melatonina secretada pela glândula pineal são alguns dos principais agentes sincronizadores deste marcapasso circadiano (MIGNOT; TAHERI; NISHINO, 2002). O acúmulo de evidências científicas ao longo da última década reposicionou o hipotálamo como estrutura fundamental no controle dos estados de sono e de vigília, previamente atribuído apenas a núcleos monoaminérgicos ativadores e colinérgicos inibidores, localizadas no tronco encefálico (MIGNOT; TAHERI; NISHINO, 2002).

Atualmente entende-se que estruturas hipotalâmicas responsáveis pelo controle circadiano interagem com outros núcleos neuronais monoaminérgicos, gabaérgicos e glutamatérgicos, promovendo o controle central do ciclo sono-vigília (MIGNOT; TAHERI; NISHINO, 2002; PACE-SCHOTT; HOBSON, 2002). Tal sistema de regulação do ciclo sono-vigília é denominado de modelo de interação recíproca, em alusão à constante interação de grupos neuronais distintos, que promovem a oscilação entre os estados de vigília e de sono, bem como a alternância entre as fases REM e NREM do sono (ALOÉ; AZEVEDO; RASAN, 2005).

As principais eferências anatômicas do NSQ relevantes no ciclo sono-vigília são para o núcleo pré-óptico ventro-lateral (VLPO), para o hipotálamo lateral e para o locus ceruleus (LC) (ALOÉ; AZEVEDO; RASAN, 2005). O papel funcional da eferência para o VLPO (gabaérgica) é desinibi-lo ao final da vigília, quando o sinal do NSQ diminui, permitindo, assim, o início do sono NREM (PACE-SCHOTT; HOBSON, 2002). A relação funcional do NSQ com o hipotálamo lateral (hipocretinas) é excitatória (SAKURAI et al., 1998). O NSQ não possui eferências diretas para o sistema excitatório aminérgico, exceto para o LC (DEURVEILHER; SEMBA, 2005). Entretanto, apresenta conexões indiretas com a área tegmentar ventral (VTA) e o núcleo dorsal da rafe (DRN), através do núcleo hipotalâmico dorso-medial (DMH) (DEURVEILHER; SEMBA, 2005). O NSQ recebe aferências dos núcleos colinérgicos do prosencéfalo basal, serotoninérgicas do núcleo dorsal da rafe e do complexo amigdaliano do sistema límbico (KROUT et al., 2002). Assim, percebe-se que o NSQ, ao exercer o controle central dos ritmos circadianos, interage com estruturas como os núcleos aminérgicos (LC, VTA e DRN) e sistemas neuronais como o límbico, que estão envolvidas nos mecanismos do ciclo sono-vigília e também diretamente relacionadas à regulação do humor e diversos aspectos do comportamento humano (MCCLUNG, 2007).

O segundo processo regulador do sono é denominado de processo homeostático (ALOÉ; AZEVEDO; RASAN, 2005). O processo homeostático depende da duração da vigília prévia e da qualidade e duração dos episódios de sono (LU; ZEE, 2006). Este mecanismo controla o acúmulo de sono e a sua recuperação, ou seja, aumenta a propensão ao sono quando este está reduzido ou ausente e diminui a propensão em resposta ao excesso de sono (EASTON et al., 2004). Alguns estudos apontam o prosencéfalo basal (PB) como estrutura importante na regulação homeostática (PORKKA-HEISKANEN et al., 2002). O acúmulo da adenosina, que é um produto do metabolismo neuronal, na fenda sináptica dos neurônios do PB durante o estado de vigília promove um estímulo inibitório em auto-receptores colinérgicos locais. A redução da atividade colinérgica do PB desinibe regiões promotoras do sono como a VLPO e, em conjunto com o estímulo circadiano do NSQ, promove o início do sono NREM e encerra o estado de vigília (PORKKA-HEISKANEN et al., 2002). Assim, a regulação do ciclo sono-vigília ocorre através da integração

destes dois sistemas. O sistema circadiano é governado pelo NSQ através do processamento do estímulo luminoso, adequando o ciclo sono-vigília e o organismo ao período luminoso do ciclo claro-escuro, enquanto a regulação homeostática é exercida pelo prosencéfalo basal, regulando a necessidade e o débito de sono (DIJK; LOCKLEY, 2002). A figura 1 representa a atuação integrada dos dois processos regulatórios do ciclo sono-vigília.

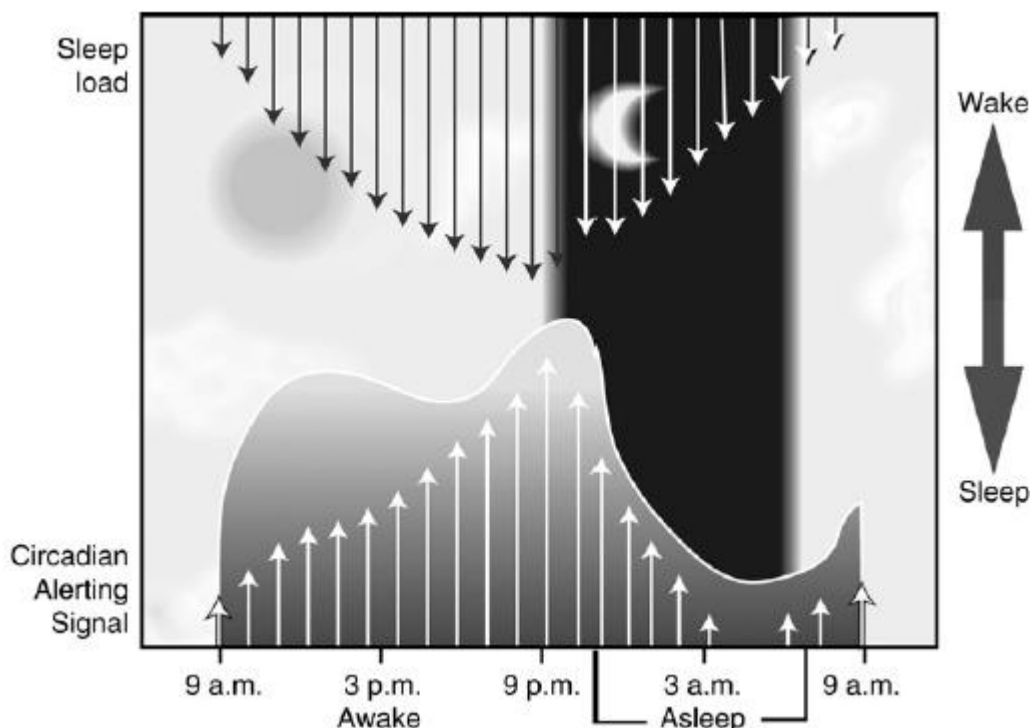


Figura 1- Representação esquemática do modelo de regulação do sono pelos processos circadiano e homeostático. Fonte: Markov, 2006.

### 2.3 Os Ritmos Biológicos

A cronobiologia é a ciência que investiga as características temporais dos organismos vivos relativas à alternância dos dias e das noites, estações do ano, bem como outros ciclos ambientais (HALBERG, 1969). Ela inclui o estudo dos ritmos biológicos, que se caracterizam pela recorrência, a intervalos regulares, de eventos bioquímicos, fisiológicos e comportamentais (ASCHOFF, 1981). O organismo oscila entre estados catabólico e anabólico à medida que, respectivamente, adapta-se ao mundo externo durante o período de vigília diurna e, posteriormente, recolhe-se ao repouso noturno (HASTINGS; REDDY; MANWOOD, 2003). Essas mudanças globais são mediadas através da

atividade sincronizada do sistema nervoso autônomo e de ciclos de atividade hormonal caracterizados por ativação e desativação de diferentes eixos endócrinos, que oscilam em um período de 24 horas em consonância com o ciclo solar (HASTINGS; REDDY; MANWOOD, 2003). As variações regulares de estados nos organismos vivos correspondem a respostas adaptativas à alternância dos dias e das noites, ou melhor, ao estímulo fótico solar (ANOKHIN, 1974). Sua incorporação proporciona aos organismos a possibilidade de antecipar mudanças ambientais.

Estudos envolvendo animais e seres humanos demonstram que, mesmo submetidos a isolamento temporal e privados do contato com a luz solar e o meio externo, observa-se manutenção da ritmicidade circadiana e que esse ritmo persiste de maneira extraordinariamente precisa durante meses ou anos (ASCHOFF, 1984; CZEISLER; KLERMAN, 1999). Essa evidência de uma meticulosa manutenção da ritmicidade biológica em ambientes naturais ou artificiais é uma das demonstrações do caráter endógeno dos ritmos biológicos, isto é, de uma possível determinação por fatores genéticos. O ciclo sono-vigília é um dos objetos de estudo da cronobiologia, e é considerado como uma adaptação do organismo ao ciclo claro-escuro, persistindo mesmo na ausência de pistas temporais (HALBERG, 1969). O termo circadiano foi introduzido para caracterizar ritmos com períodos endógenos em torno das 24 horas, ou seja, entre 20 e 28 horas, e que sejam alinhados a ciclos ambientais de 24 horas pelo estímulo solar (HALBERG, 1969).

Diversas evidências apontam os núcleos supraquiasmáticos como geradores da oscilação que atua como marcapasso circadiano na espécie humana, bem como em outros mamíferos (RIVKEES; REPERT, 1992). Em condições normais, este marcapasso circadiano é sincronizado às oscilações rítmicas do mundo externo principalmente através do estímulo fótico solar (ASCHOFF, 1984). Apesar de o estímulo solar ser considerado o sincronizador mais importante, ele não é o único. Vários outros sincronizadores já foram demonstrados. Os denominados ritmos sociais, que são constituídos pelos hábitos individuais determinados pelos horários rotineiros de despertar, de refeições, de atividade física, de dormir, também são sincronizadores externos (BACK et al., 2007; MROSOVSKY et al., 1989; PITTENDRIGH, 1993). O sistema circadiano também apresenta sincronização interna, sendo sensível,

por exemplo, às oscilações da temperatura corporal e das concentrações de melatonina e cortisol (ALBRECHT, 2002; VAN GELDER, 2004).

### **2.3.1 O Núcleo Supraquiasmático**

Os seres humanos, bem como a maioria dos organismos, apresentam um ritmo circadiano de aproximadamente 24 horas, sincronizado principalmente pelo estímulo ambiental da luz solar, que influencia diversos processos biológicos (sono, níveis plasmáticos de hormônios, temperatura corporal, frequência cardíaca) (REPPERT; WEAVER, 2002).

O centro regulador dos ritmos circadianos controla todos esses processos biológicos através de sua atividade neuronal, além de exercer função reguladora dos ritmos sazonais. O principal centro regulador em mamíferos localiza-se no núcleo supraquiasmático (NSQ), um par de grupos celulares distintos, que se localiza no hipotálamo anterior, acima do quiasma óptico (REPPERT; WEAVER, 2002). Estudos envolvendo animais demonstraram que lesões do NSQ resultam na completa ausência de regulação do ciclo sono-vigília (WEAVER, 1998).

A etapa inicial da foto-sincronização ocorre através das células ganglionares retinianas. O NSQ recebe informações sobre a presença e quantidade de luz a partir de aferências da retina ocular (WEAVER, 1998). Através de fotorreceptores específicos que contêm o pigmento melanopsina, essa informação é transmitida diretamente ao NSQ pelo trato retinohipotalâmico, via constituída por neurônios glutamatérgicos (WEAVER, 1998). Após processar as informações sobre quantidade de luz e duração do dia, o NSQ envia eferências à glândula pineal que, em resposta, será responsável pela secreção do hormônio melatonina, um dos principais parâmetros do ciclo sono-vigília. O pico sérico de melatonina ocorre durante a noite com queda dos níveis durante o dia (WEAVER, 1998). Além da glândula pineal, as células do NSQ também transmitem a informação rítmica, foto-sincronizada, para outros núcleos hipotalâmicos responsáveis pela periodicidade observada na secreção de diversos hormônios, na temperatura corporal, bem como outros parâmetros biológicos (PACE-SCHOTT; HOBSON, 2002) Conforme citado anteriormente, o NSQ também recebe sincronizações

não-fólicas, oriundas de outras estruturas cerebrais como o sistema límbico, bem como de outros estímulos ambientais como os ritmos sociais (MILLER et al., 1996; MROSOVSK, 2003). A Figura 2 demonstra o principal sincronizador externo do NSQ.

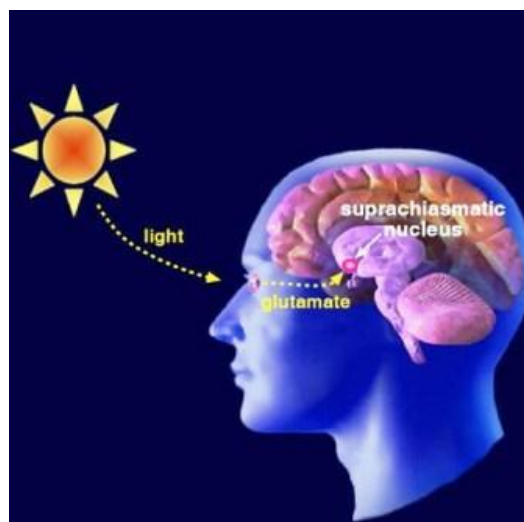


Figura 2– Principal sincronizador externo do NSQ ao período circadiano. Fonte: [www.whifiles.org](http://www.whifiles.org)

### **2.3.2 As bases genéticas e moleculares dos ritmos biológicos**

O controle do ritmo circadiano é um processo complexo que envolve a interação de fatores ambientais e genéticos (WEHR, 1996). O ciclo claro-escuro de 24 horas é apontado como um dos maiores exemplos da influência epigenética no processo evolutivo, desde os organismos unicelulares até os seres humanos (BUNNEY; BUNNEY, 2000). Um dos maiores progressos no entendimento do funcionamento do NSQ e dos ritmos biológicos ocorreu com a elucidação dos mecanismos genéticos da geração de ritmos circadianos e com a identificação das bases moleculares dos componentes do centro regulador dos ritmos circadianos em humanos (MILLER et al., 1996). Esse mecanismo baseia-se no funcionamento integrado de um conjunto de genes que são altamente expressos no NSQ, denominados genes circadianos (KO; TAKAHASHI, 2006).

Análises genéticas em mamíferos demonstraram que os ritmos circadianos são controlados por um sistema interconectado consistindo de uma

alça de retroalimentação negativa, que cicla em um período de aproximadamente 24 horas, na qual os produtos protéicos de alguns genes acabam por inibir sua própria transcrição (KO; TAKAHASHI, 2006). O principal complexo ativador desse sistema de retroalimentação consiste em um heterodímero formado pelas proteínas CLOCK (*circadian locomotor output cycles kaput protein*) e ARTNL1 (*brain and muscle ARTN-like protein 1*) destes respectivos genes. Esse complexo ativador regula a expressão de vários outros genes ao combinar com sua região promotora conhecida como E-box. Esses genes ativados pelo complexo heterodímero CLOCK:ARTNL1, dentre os quais podemos citar os genes da família *Period* (*Per1*, *Per2*, *Per3*) e os genes *Cryptochrome* (*Cry1*, *Cry2*), sintetizam produtos protéicos que retornam ao núcleo celular após a fosforilação por quinases como a CK1 e a GSK-3 $\beta$ , e inibem a atividade do complexo CLOCK:ARTNL1, fechando assim a alça de retroalimentação e inibindo sua própria expressão (KING; TAKAHASHI, 2000; KO; TAKAHASHI, 2006). A glicogênio sintase quinase 3 $\beta$  é apontada como molécula mediadora da ação do lítio, medicamento utilizado para o tratamento do TAB (O'BRIEN; KLEIN, 2009)

Os fatores centrais desse modelo autoregulatório de retroalimentação negativa são as famílias de genes: *Period* e *Cryptochrome* (REPPERT; WEAVER, 2002; REPPERT; WEAVER, 2001). A transcrição desses genes é ativada no início do dia circadiano pelo complexo heterodímero formado pelas proteínas sintetizadas pelos genes *Clock* e *Artn1*. Ao serem ativados observa-se um acúmulo de mRNA dos genes *Per* e *Cry* no NSQ ao longo do período circadiano (REPPERT; WEAVER, 2002; REPPERT; WEAVER, 2001). Posteriormente os níveis dos produtos protéicos desses genes também se acumulam no NSQ, mas com um atraso de algumas horas, sendo que o pico de concentração dos produtos protéicos ocorre no fim do dia circadiano (HASTINGS; O'NEIL; MANWOOD, 2007). Concomitante ao pico de concentração das proteínas dos genes *Per* e *Cry*, inicia-se uma queda nos níveis de mRNA dos mesmos genes devido ao processo de retroalimentação negativa exercida pelos produtos protéicos dos genes *Per* e *Cry* nos genes *Clock* e *Artn1*. A presença da alça de retroalimentação negativa é elemento essencial para a ritmicidade observada. De fato, mutações dos genes *Clock* e *Artn1* que os tornem insensíveis à inibição exercida pelas proteínas PER e

CRY não são capazes de sustentar os ciclos circadianos de expressão gênica em fibroblastos (SATO et al., 2006). A Figura 3 demonstra a ritmicidade na expressão gênica dos genes circadianos.

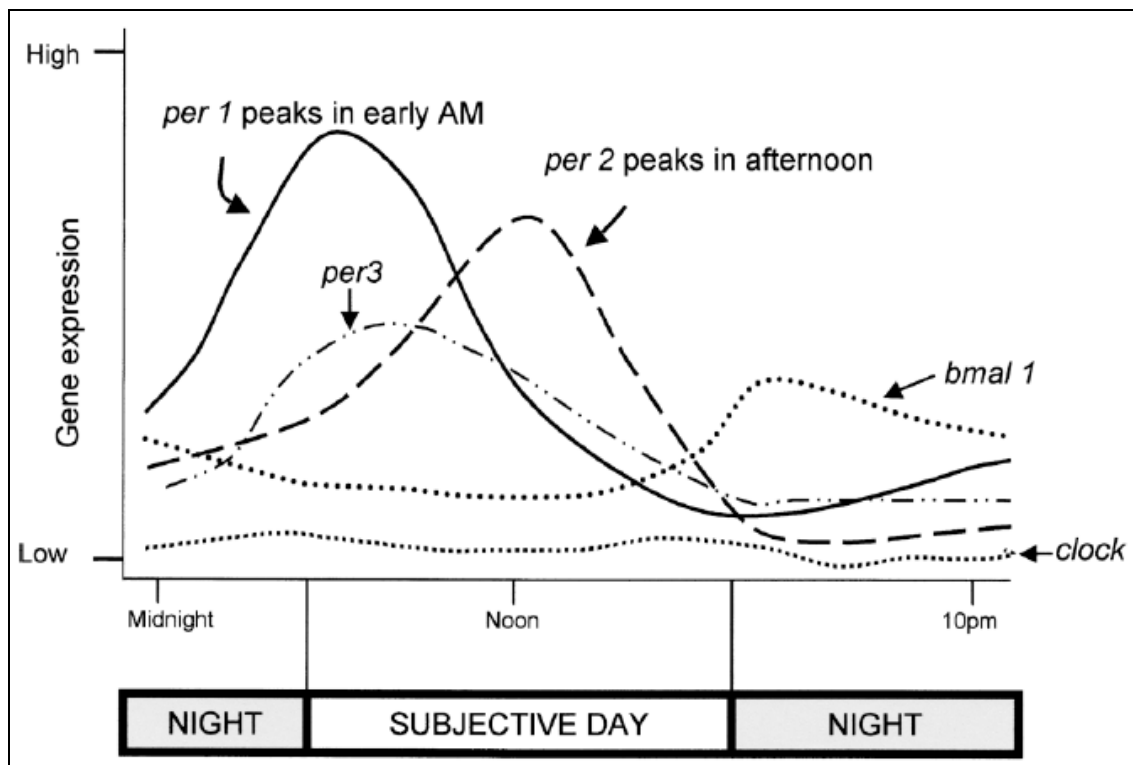
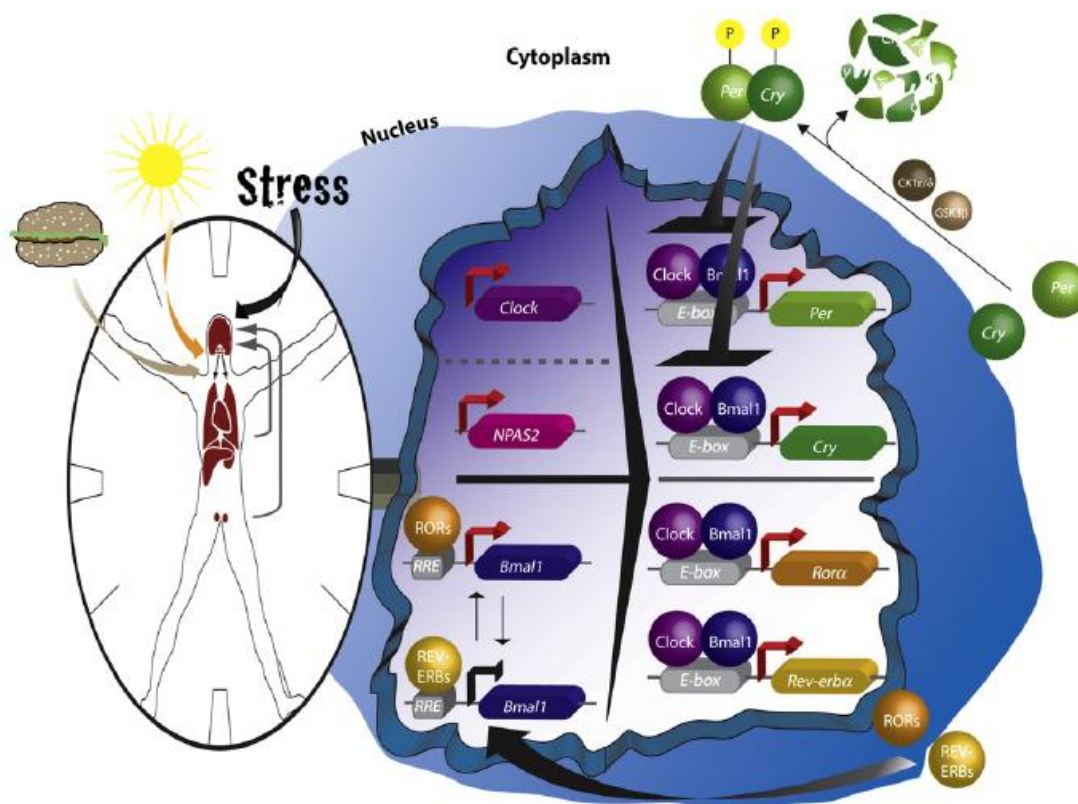


Figura 3- As oscilações rítmicas de expressão gênica dos genes circadianos. Fonte: Bunney, 2000.

Existe um eixo de retroalimentação paralelo a esse no qual o complexo CLOCK:ARTNL1 ativa a transcrição dos genes *Rev-Erba* e *Rora* cujos produtos protéicos combinam-se à região promotora do gene *Bmal1* e afetam sua transcrição de forma negativa e positiva, respectivamente (REICK et al., 2001; DEBRUYNE et al., 2006). Esses genes também são estimulados pelo complexo CLOCK:ARTNL1 em fase com os genes *Per* e *Cry*. Sua ação coordenada acaba por suprimir o gene *Arntl1*, resultando em redução dos níveis de mRNA do gene *Arntl1* no fim do dia e início da noite. Como a atividade inibidora do gene *Rev-Erba* também declina, inicia-se novo ciclo de atividade do gene *Arntl1*. O resultado da ação integrada desses genes é que os níveis de mRNA de *Arntl1* e *Per3* oscilam em antifase, sendo que uma onda de expressão dos genes *Arntl1* e *Clock* no início do período circadiano funciona como gatilho para o início de um novo ciclo de ativação e retroalimentação



negativa (HATINGS; O'NEIL; MANWOOD, 2007). A Figura 4 ilustra o funcionamento do sistema de retroalimentação negativa.

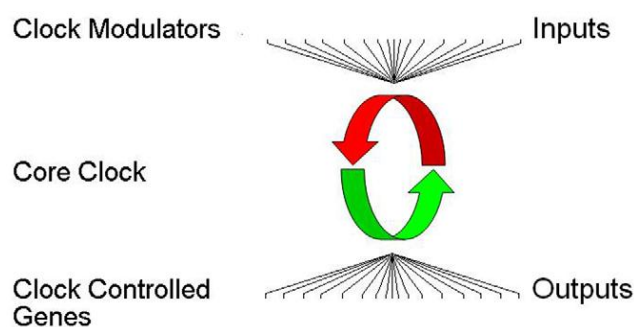


**Figura 4-** A alça de retroalimentação dos genes circadianos do núcleo central regulador. A figura demonstra a alça principal, a fosforilação das proteínas PER e CRY por quinases e seu retorno posterior ao núcleo celular. Os principais sincronizadores externos dos ritmos circadianos estão representados à esquerda. Fonte: Mc Clung, 2011.

A proteína NPAS2 (*neuronal PAS domain protein 2*), que é estruturalmente similar à proteína CLOCK, pode exercer sua função no NSQ se o gene *Clock* encontra-se modificado (REICK et al., 2001). Naturalmente, todos esses genes citados são altamente expressos no núcleo supraquiasmático (DUNLAP, 1999; LOWREY; TAKAHASHI, 2000). Embora o marcapasso central esteja localizado no NSQ, esses genes são expressos em outras regiões cerebrais e em outros órgãos periféricos, onde funcionam como centros reguladores dos ritmos circadianos periféricos sensíveis a estímulos não fóticos (ABE et al., 2001; DEARMON et al., 2006).

Estudos posteriores relacionados à genética dos ritmos biológicos demonstraram que o controle genético desses processos é mais complexo do que foi previamente estabelecido pela literatura. Assim, enquanto os genes circadianos considerados nucleares consistem de 18 genes bem descritos

(UEDA et al., 2005), pesquisa recente identificou 343 genes que modulam os ritmos circadianos (ZHANG et al., 2009), sugerindo que a regulação dos ritmos circadianos é influenciada por um conjunto mais amplo de genes do que anteriormente aferido. Demonstrou-se que esses genes podem modular o período e amplitude dos ritmos gerados através de alterações na estabilidade e por fosforilação dos produtos protéicos dos genes circadianos (ZHANG et al., 2009). Além disso, abaixo do núcleo central de genes circadianos, milhares de genes oscilam ritmicamente em diversos grupos celulares do organismo (YAN et al., 2008). Assim, em determinados comportamentos e processos fisiológicos, os ritmos circadianos são regulados não só diretamente pelo genes circadianos nucleares, mas também indiretamente por centenas de genes adicionais que modulam a função dos genes do núcleo central localizado no núcleo supraquiasmático, e genes que tem sua função e expressão influenciada pela atividade dos genes do núcleo central. A figura 5 ilustra essa dimensão ampliada do controle genético dos ritmos biológicos.



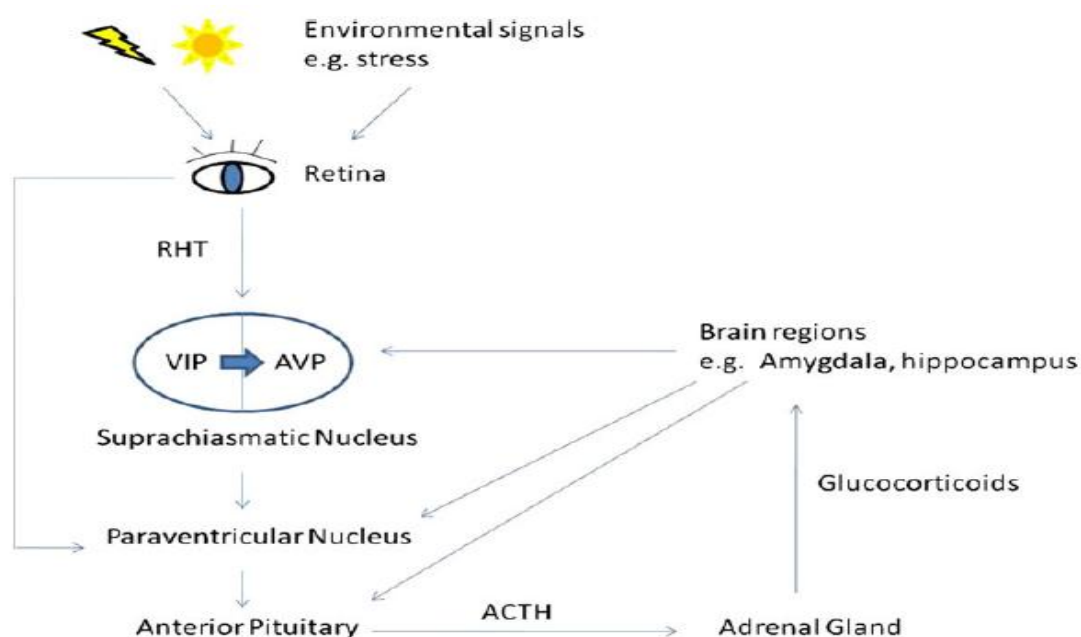
**Figura 5– Representação esquemática da organização do sistema circadiano estendido, composto pelos genes circadianos do núcleo central “core clock”, por genes que modulam a atividade do núcleo central e genes que são influenciados pela atividade do núcleo central. Fonte: Mc Carthy, 2012.**

### **2.3.3 Integração entre o NSQ e o organismo**

Além dos descritos mecanismos de regulação do ciclo sono-vigília, o NSQ exerce ainda controle sobre os sistemas endócrinos e metabólicos através de suas conexões anatômicas com eixos endócrinos como o hipotálamo-hipófise-adrenal e com o sistema nervoso autônomo (CZEISLER; KLERMAN, 1999). Os genes circadianos também são expressos em órgãos periféricos (YAMAZAKI et al., 2000). A demonstração de que fibroblastos

continuam apresentando um padrão circadiano de expressão dos genes circadianos, quando isolados em cultura, demonstra o funcionamento parcialmente autônomo desses relógios periféricos (NAGOSHI et al., 2004).

Diversas projeções do NSQ estão posicionadas estrategicamente para regular os ritmos biológicos. O nível sérico da melatonina é determinado por eferências do NSQ à glândula pineal. O pico sérico da melatonina ocorre à noite devido à ação inibitória do NSQ que se reduz com o término do estímulo fótico solar (WYATT et al., 2006). Uma das principais eferências do NSQ é para a porção dorsomedial do hipotálamo; novas projeções saem dessa estrutura para inervar diversos centros autonômicos (SAPER; SCAMMELL; LU, 2005). O NSQ também envia projeções para o núcleo paraventricular, que, por sua vez, conecta o estímulo cíclico a diversos eixos endócrinos, regulando, por exemplo, a síntese do ACTH (Hormônio adrenocorticotrófico) (KALSBEEK et al., 2006), como demonstra a figura abaixo (Figura 6). Assim, a maioria dos órgãos recebe informações sobre o ritmo circadiano através de inervação simpática e parassimpática (KALSBEEK et al., 2006). O fato de o NSQ projetar-se via sistemas efetores para vários órgãos do organismo pode explicar o fenômeno de que vários parâmetros biológicos apresentam padrão de comportamento rítmico e foto-sincronizado.



**Figura 6-** Ilustração esquemática das interações entre o sistema circadiano e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Fonte: Wong, 2012.



A serotonina atua tanto nas fibras pré-sinápticas aferentes da retina como em neurónios pós-sinápticos do NSQ inibindo estímulos aferentes da retina para o NSQ (PICKARD et al., 1999; QUINTERO; MCMAHON, 1999; SMITH et al., 2001). Com relação aos aspectos genéticos, as principais moléculas de sinalização dos neurocircuitos serotoninérgicos, tais como os receptores serotoninérgicos 5-HT1B, 5-HT7 e 5-HT2C são expressos nos neurónios do NSQ (AMIR et al., 1998; BOSLER, 1989; BOSLER; BEAUDET, 1985; KISS; LERANTH; HALASZ, 1984; LOVENBERG et al., 1993; MANRIQUE et al., 1993; MANRIQUE et al., 1994; PROSSER et al., 1993). Por sua vez, vários genes circadianos são expressos nos neurónios serotoninérgicos da rafe (ABE et al., 2002; MALEK et al., 2007). Outros estudos demonstraram ainda que alguns dos principais genes do sistema serotoninérgico, como a enzima triptofano hidroxilase, apresentam expressão gênica cíclica e regulada de forma circadiana. Mais ainda, a secreção de serotonina exhibe padrão de oscilação circadiana (CAGAMPANG, 1993; MALEK et al., 2005, MALEK et al., 2007), assim como a atividade das projeções serotoninérgicas ao núcleo supraquiasmático (CAGAMPANG; INOUE, 1994).

Os efeitos da luz na regulação afetiva são possivelmente mediados através do NSQ, embora esta não seja a única estrutura do sistema nervoso central sensível aos estímulos luminosos captados pela retina (MCCARTHY, 2012a). Algumas evidências sugerem que, além do NSQ, existem projeções das células ganglionares retinianas fotossensíveis para outras estruturas cerebrais com envolvimento na regulação afetiva como a habênula e a amígdala (ECKER et al., 2010; HATTAR et al., 2006). Além das interconexões do NSQ com o sistema serotoninérgico, novos estudos demonstram também o envolvimento de estruturas dopaminérgicas, como o núcleo tegmentar ventral. Este núcleo dopaminérgico interagiria, de forma indireta com o NSQ, através de projeções advindas da habênula lateral, estrutura que também possui neurónios fotossensíveis (TAVAKOLI-NEZHAD; SCHWARTZ, 2006; ZHAO; RUZAK, 2005).

O hipocampo, outra estrutura cerebral envolvida no comportamento humano e na cognição, por sua vez, também apresenta células fotossensíveis que reproduzem padrões circadianos (WANG et al., 2009), sendo sua função

alterada pela administração de lítio ou antidepressivos (HALLANAH et al., 2011; MACQUEEN; FRODL, 2011).

## **2.4 As alterações do sono e dos ritmos biológicos no TAB**

### **2.4.1 As alterações do sono na fase de eutimia**

Embora as classificações diagnósticas atuais não contemplem as alterações apresentadas pelos pacientes em eutimia, vários estudos demonstram que esses pacientes mantêm sintomas subsindrômicos entre os episódios maiores de humor (SACHS, 2003). Um estudo prospectivo utilizando a actigrafia (método de avaliação do ciclo sono-vigília que permite o registro da atividade motora através dos movimentos dos membros durante 24 horas) envolvendo pacientes em eutimia e, que utilizou um grupo controle formado por pacientes com boa qualidade do sono e outro formado por pacientes com insônia, demonstrou que o perfil de sono dos pacientes com TAB em eutimia aproximou-se do perfil apresentado pelo grupo de pacientes com insônia (HARVEY et al., 2005). Além disso, o mesmo estudo demonstrou que até 70% dos pacientes com TAB em eutimia apresentavam alterações clinicamente significativas do sono (HARVEY et al., 2005). Esse mesmo grupo de pesquisadores realizou alguns anos mais tarde um estudo com delineamento próximo ao anterior. Três grupos (TAB n=49), (insônia n=34), (controles n=52) completaram 7 dias consecutivos de diário do sono e escalas de avaliação do humor. Os grupos TAB e insônia divergiram significativamente do grupo controle ao apresentarem tanto maior frequência de alteração do sono como maior pontuação nas escalas de avaliação do humor (TALBOT et al., 2012). Outro estudo recente que realizou delineamento semelhante encontrou resultados piores para o grupo com insônia do que o grupo com TAB em remissão se comparado ao grupo controle (ST-AMAND et al., 2013).

Em um estudo envolvendo um grupo formado por pacientes com TAB tipo I e tipo II preenchendo critérios para eutimia, verificou-se que a presença de alterações do sono foi significativamente associada com um maior risco de recorrência de episódios maiores de humor durante o seguimento (SYLVIA et al., 2012). Outro estudo composto por 116 pacientes com TAB tipo I, tipo II e TAB não especificado em eutimia encontrou uma prevalência de alterações do

sono de 25% da amostra no momento da avaliação transversal (BRILL et al., 2011). Um grupo de pesquisadores examinou as potenciais associações entre o tempo total de sono e a irregularidade do sono com a gravidade dos sintomas de humor em um grupo de 196 pacientes com TAB. Uma duração menor do sono associou-se com a gravidade de sintomas maníacos, e uma maior irregularidade do sono foi associada com maior gravidade de sintomas maníacos e depressivos ao longo de 12 meses de seguimento (GRUBER et al., 2011).

Um recente estudo investigou o sono através de parâmetros actimétricos e subjetivos de um grupo de pacientes com TAB em remissão, outro formado por indivíduos com maior risco de desenvolver TAB e um terceiro grupo de controles (RITTER et al., 2012). Os resultados actimétricos apontaram que os pacientes com TAB divergiram significativamente do grupo controle por apresentarem maior latência do sono e maior tempo deitados no leito. A comparação dos parâmetros subjetivos do sono demonstrou diferenças significativas entre o grupo TAB e o grupo controle, ao passo que o grupo de indivíduos com alto risco para o desenvolvimento do TAB foi amplamente análogo ao perfil demonstrado pelo grupo de pacientes com TAB (RITTER et al., 2012). Na mesma linha, um estudo também recente, envolvendo um grupo pequeno de 21 pacientes com TAB em remissão, encontrou associação significativa entre um número maior de episódios depressivos progressivos e uma maior variabilidade e pior eficiência do sono, avaliada por diário do sono por uma semana após a entrevista inicial (EIDELMAN et al., 2010b). Os autores também encontraram associação significativa entre uma maior variabilidade no horário de dormir e sintomas depressivos residuais, sugerindo que parâmetros do sono poderiam estar relacionados com o curso do transtorno.

Estudos envolvendo polissonografia demonstraram aumento da densidade e porcentagem de sono REM (*Rapid Eye Movement*) bem como uma maior proporção de vigília ao longo do sono em pacientes com TAB eutímicos comparados a controles (KNOWLES et al., 1986; SITARAM et al., 1982). Um estudo mais recente buscou avaliar a possível relação entre parâmetros da arquitetura do sono, avaliados pela polissonografia, e aspectos clínicos do TAB (EIDELMAN et al., 2010a). Os autores compararam um grupo

de pacientes com TAB em eutimia com um grupo controle e encontraram uma maior densidade de sono REM no grupo caso. Após três meses de seguimento, a duração do primeiro episódio de sono REM e a densidade de sono REM correlacionaram positivamente com pior funcionamento global dos pacientes com TAB. Outro estudo recentemente publicado corrobora todos esses achados descritos de alterações do sono acessados por escalas e questionários em pacientes com TAB ao demonstrar uma forte correlação entre parâmetros objetivos (polissonografia) e subjetivos (escalas e questionários) do sono em uma amostra de 39 pacientes com TAB tipo 1 (GONZALES et al., 2013). Mais ainda, outro estudo também recente demonstrou que a correlação detectada entre parâmetros polissonográficos, actigráficos e de um diário do sono aplicado em um grupo de 27 pacientes com TAB ocorreu de maneira independente da presença ou não de insônia ou do uso de medicamentos indutores do sono por parte dos pacientes (KAPLAN et al., 2012).

Um dado ainda interessante é que quando se comparam amostras de pacientes com TAB em remissão e grupos controle compostos ambos por adolescentes, os resultados de maior frequência de alterações do sono observados em pacientes adultos com TAB são replicados (MULLIN; HARVEY, HINSHAW, 2011). Assim, embora o número de estudos ainda seja pequeno, os resultados parecem demonstrar que alterações do sono são comuns em pacientes com TAB, mesmo quando avaliados durante os períodos interepisódicos do transtorno.

#### **2.4.2 As alterações do sono nas fases de depressão e mania**

Como mencionado anteriormente, as alterações do sono já são descritas nas fases maníaca e depressiva do TAB, desde suas clássicas descrições. Alguns estudos utilizando avaliação subjetiva demonstraram frequência variável de alterações do sono em pacientes com TAB na fase depressiva. Em todos os estudos a frequência de insônia foi alta, sendo que em um deles 100% dos pacientes reportaram insônia (WINOKUR; CLAYTON; REICH, 1969a). As frequências relatadas de hipersonia e de despertar precoce variaram de 23-78% e de 27-77% entre os estudos, respectivamente (CASPER et al., 1985; DETRE et al., 1972). Embora houvesse, no passado, uma crença



de que parâmetros polissonográficos da arquitetura do sono pudessem ser um marcador da depressão bipolar, os estudos realizados até o momento revelaram resultados conflitantes (HARVEY, 2008).

Com relação às alterações do sono na fase de mania, estudos demonstraram que a maioria dos pacientes apresentou necessidade diminuída de sono, com taxas entre 69-99% (CASSIDY et al., 1998; CARLSON; STROBER, 1979; CLAYTON; PITTIS, 1965; LOUDON; BLACKBURN; ASHWOTRH, 1977; WINOKUR; TANNA, 1969B). Apesar das dificuldades impostas pelo quadro comportamental de um paciente em mania, alguns estudos polissonográficos demonstraram associação com alguns parâmetros do sono REM (HARVEY, 2008). Vários estímulos ambientais como o abuso de drogas, o uso de certas medicações, viagens transmeridionais, trabalhos noturnos e outros são relatados na literatura como possíveis fatores desencadeadores de novos episódios de mania, embora não fosse possível estabelecer uma inferência causal (PLANTE; WINKELMAN, 2008). Alguns autores postulam que todos esses fatores (biológicos, psicológicos) desencadeariam novos episódios de mania por alterarem, em última análise, o padrão de sono (WEHR; SACK; ROSENTHAL, 1987). Assim, a privação do sono seria tanto uma causa como uma consequência na mania e contribuiria para sua manutenção (WEHR; SACK; ROSENTHAL, 1987). Estudos pregressos demonstraram que a privação do sono é capaz de provocar viragem maníaca em pacientes que se encontravam em depressão em taxas de aproximadamente 10% (COLOMBO et al., 1999; KASPER; WEHR, 1992). Uma revisão mais recente sobre a neurobiologia do processo de viragem de humor no TAB não trouxe novos dados sobre a taxa de viragem após privação do sono (SALVADORE et al., 2010). Outro estudo de revisão recente sobre a natureza e características da viragem maníaca associada ao uso de antidepressivos em pacientes com Transtorno Depressivo Unipolar demonstrou taxa geral de viragem de 8,18%. Essa taxa é comparável às taxas de viragem maníaca encontradas em pacientes com TAB em depressão após estímulo de privação do sono (BALDESSARINI et al., 2013). Com relação à taxa de viragem maníaca associada ao uso de antidepressivos em pacientes com TAB, a literatura aponta taxas geralmente superiores às observadas no Transtorno

Depressivo Unipolar que variam de acordo com o antidepressivo utilizado (BOND et al., 2008; LEVERICH et al., 2006; VALENTÍ et al., 2012).

Outros estudos parecem também sugerir que a diminuição de sono seja um preditor de novos episódios maníacos. Alguns estudos prospectivos observaram essa associação mediante parâmetros subjetivos (BAUER et al., 2006; LEIBENLUFT et al., 1996; WEHR et al., 1982) e estudos retrospectivos evidenciaram que as alterações do sono foram os sintomas prodrômicos mais comuns antecedendo um novo episódio maníaco (JACKSON; CAVANAGH; SCOTT, 2003). Finalmente, um estudo demonstrou que uma maior duração de sono nas primeiras noites de hospitalização associou-se com uma remissão mais rápida do episódio de mania (NOWLIN-FINCH et al., 1994).

### **2.4.3 As alterações dos ritmos biológicos no TAB**

Existem algumas medidas dos ritmos circadianos, consistindo principalmente dos questionários e diários de sono e dos ritmos biológicos, cronotipos, parâmetros actigráficos e perfis de secreção de melatonina e outros hormônios. A maioria das variáveis circadianas são herdáveis, como por exemplo os padrões de preferência diurna ou cronotipos (matutino/vespertino) (BARCLAY et al., 2010; KLEI et al., 2005; KOSKENVUO et al., 2007; VINK et al., 2001), certas características do sono (DAUVILLIERS, 2005) e parâmetros relacionados com a melatonina (HALLAM et al., 2006). Esta herdabilidade sugere que estes marcadores de desregulação circadiana são, pelo menos em parte, determinados por fatores genéticos. Várias linhas de evidência demonstram que, além do ciclo sono-vigília, outras variáveis relacionadas aos ritmos biológicos parecem estar alteradas no TAB. Anormalidades dos ritmos circadianos em uma variedade de funções corporais como temperatura corporal, níveis séricos de cortisol, norepinefrina, TSH, pressão arterial, frequência cardíaca e melatonina foram identificadas em pacientes com TAB ou depressão (ATKINSON; KRPIKE; WOLF, 1975; KRIPKE et al., 1978).

Alguns estudos demonstram que há uma tendência de sincronização de alguns parâmetros circadianos como a temperatura corporal, a frequência cardíaca e alguns hormônios, quando os pacientes são tratados com estabilizadores do humor ou antidepressivos (ATKINSON; KRIPKE; WOLF,

1975; KRIPKE et al., 1978; SPROUSE; BRASELTON; REYNOLDS, 2006). Uma das ações mais bem estabelecidas do lítio é a inibição da GSK3- $\beta$  (glicogênio sintase quinase 3 $\beta$ ), uma enzima que exerce um papel importante na regulação da função de vários genes que controlam os ritmos circadianos (IITAKA et al., 2005; KLEMFUSS, 1992). O ritmo circadiano da maioria dos pacientes com TAB encontra-se anormalmente acelerado, enquanto um número menor de pacientes apresenta um ritmo anormalmente atrasado (ATKINSON; KRIPKE; WOLF, 1975; KRIPKE et al., 1978). O lítio poderia estabilizar o humor através de sua comprovada indução da desaceleração dos ritmos circadianos (KRIPKE et al., 1980; KLEMFUSS, 1992). Quando pacientes com ritmos circadianos anormalmente acelerados são tratados com lítio esses ritmos desaceleram-se para padrões normais (ATKINSON; KRIPKE; WOLF, 1975; CAMPBELL et al., 1989; JOHNSON et al., 1983; KRIPKE et al., 1978).

A melatonina e o cortisol são variáveis biológicas relacionadas aos ritmos circadianos que podem influenciar o ciclo sono-vigília. Estudos progressos demonstraram que pacientes com TAB secretam níveis anormais de melatonina e apresentam hipersensibilidade à luz. Em estudos comparando pacientes com TAB a um grupo controle, os níveis encontrados de melatonina em resposta à luz foram duas vezes menor no grupo de pacientes com TAB do que em controles (LEWY et al., 1985; NATHAN; BURROWS; NORMAN, 1999). Entretanto, esta associação não foi replicada em outros estudos (LAM et al., 1990; WHALLEY et al., 1991). Alguns autores propuseram que níveis anormais de melatonina durante a noite podem ser um biomarcador promissor para o TAB, pois esta alteração estaria presente independentemente da fase do transtorno (KENNEDY et al., 1996). Um grupo de pacientes com TAB mostrou níveis significativamente mais baixos de melatonina em linha de base e após a exposição à luz, bem como um pico atrasado da concentração de melatonina em comparação a um grupo controle (NURNBERGER et al., 2000). Ao todo, as anormalidades nos padrões de secreção de melatonina podem representar no futuro biomarcadores do TAB de maneira independente da fase do transtorno (PACCHIEROTTI et al., 2001). Assim como para a melatonina, alterações de outros hormônios já foram descritas no TAB. Pacientes em fase de mania apresentaram níveis de cortisol mais elevados à noite e um pico precoce de

concentração sérica se comparados a controles saudáveis (LINKOWSKI et al., 1994).

Alguns dos neurotransmissores mais amplamente implicados na regulação do humor, como a serotonina, dopamina e a norepinefrina, possuem variações circadianas em suas concentrações, produção, bem como a expressão de seus receptores (ASTON-JONES et al., 2001; SHIEH; CHU; PAN, 1997; WEBER et al., 2004; WEINNER et al., 1992). Vários autores apontam os circuitos neuronais das monoaminas como a ponte de interseção entre os ritmos circadianos, o ciclo sono-vigília e a regulação do humor. Essas interações podem ocorrer através das conexões diretas e indiretas entre o NSQ e outras regiões cerebrais tais como os núcleos da rafe, o locus ceruleus e a área tegmentar ventral (ATV). Além disso, o NSQ apresenta conexões neuronais com estruturas do sistema límbico envolvidas na regulação da cognição e do afeto, como citado anteriormente (LONGORDO; KOPP; LUTHI, 2009; MCCLUNG, 2007; MORIN et al., 1994).

Cronotipos são muito úteis porque correlacionam-se fortemente com vários marcadores endógenos de fase dos ritmos circadianos, tais como a temperatura corporal, a secreção de melatonina salivar e a secreção de cortisol ao despertar. No TAB, três estudos recentes relataram que os pacientes eram mais propensos do que os indivíduos controle a apresentarem cronotipo vespertino (AHN et al., 2008; GIGLIO et al., 2010a; MANSOUR et al., 2005; WOOD et al., 2009). Outros estudos demonstraram que o cronotipo vespertino associou-se ao surgimento de episódios depressivos (HASLER et al., 2010; HIDALGO et al., 2009; KIM et al., 2010; KITAMURA et al., 2010).

Outro aspecto classicamente descrito no TAB é a sazonalidade, que foi recentemente revisitada em alguns estudos que demonstraram um padrão sazonal de mudanças de humor, de peso e de padrões do sono (SHAND et al., 2011; SIMONSEN et al., 2011). Dois estudos prospectivos replicaram os achados de sazonalidade no TAB ao encontrar resultados de picos de ocorrência de sintomas humor de polaridade distinta em estações diferentes do ano (AKHTER et al., 2013; YANG et al., 2013).

Algumas evidências sugerem que o controle de estímulos ambientais bem como algumas intervenções cronobiológicas podem contribuir para o tratamento do TAB (MCCLUNG, 2007; TERMAN; TERMAN, 2005). Um estudo

recente demonstrou que o regime de escuridão forçado de 14 horas por 3 dias consecutivos resultou em uma diminuição significativamente mais rápida da pontuação da escala de Young (YMRS) (YOUNG, et al., 1978) em pacientes hospitalizados durante episódio de mania (BARBINI et al., 2005). Evidências progressivas sugerem que alterações nos ritmos sociais como horários de alimentação, de dormir, realização de exercícios físicos podem desestabilizar a periodicidade dos ritmos circadianos. A Terapia dos Ritmos Sociais (TRS), que consiste na regularização dos ritmos sociais, mostrou ser efetiva no controle e prevenção de recorrência de novos episódios de humor (FRANK et al., 2005). A regularidade dos ritmos sociais apresenta-se alterada em pacientes com TAB, o que tem motivado programas de tratamento pautados na terapia dos ritmos sociais, que visa regularizar os hábitos dos indivíduos e principalmente, o período de sono.

A eficácia da TRS no tratamento de manutenção do TAB como adjuvante aos medicamentos já foi demonstrada por vários ensaios clínicos (FRANK et al., 2005; FRANK et al., 2008; MALKOFF-SCHWARTZ et al., 1998; MIKLOWITZ et al., 2007). Estudos posteriores replicaram achados de que a instabilidade dos ritmos sociais associa-se tanto ao surgimento do TAB quanto a uma maior recorrência naqueles que já desenvolveram o transtorno (BULLOCK; JUDD; MURRAY, 2011; SHEN et al., 2008). Mais recentemente os resultados de dois estudos que utilizaram a TRS em grupo como adjuvante ao tratamento convencional do TAB foram de melhora significativa do funcionamento social, ocupacional e de sintomatologia depressiva, assim como uma redução da taxa de hospitalização (BOUWKAMP et al., 2013; HOBERG et al., 2013).

Estudos de actigrafia em pacientes eutímicos com TAB demonstram que, em comparação com indivíduos controle, estes pacientes têm maior variabilidade em seus padrões de ciclo sono-vigília (JONES; HARE; EVERSHED, 2005), maior duração do sono e menor atividade diária (HARVEY, 2005 et al.; HARVEY, 2008; MILLAR; ESPIE; SCOTT, 2004; SALVATORE et al., 2008). Indivíduos de alto risco para o TAB apresentaram maior variabilidade nas características (duração, fragmentação e eficiência), menor duração do sono, maior variabilidade do horário de dormir, e alterações da amplitude relativa de padrões de atividade diária em comparação com um grupo controle

(ANKERS; JONES, 2009). Um estudo relatou que os pacientes com TAB exibiam estilos de vida menos regulares do que os controles saudáveis (SYLVIA et al., 2009). A regularidade das atividades diárias mostrou ser menor em pessoas em risco para transtornos bipolar do que em controles normais, e sua duração do sono foi mais variável (MEYER; MAIER, 2006).

Um estudo transversal comparou a ocorrência de distúrbios dos ritmos biológicos entre 107 pacientes com TAB em remissão e 100 controles através do uso do instrumento *Biological Rhythms Interview of Assessment in Neuropsychiatry* (BRIAN), um questionário que acessa alterações dos ritmos biológicos (ROSA et al., 2013). Os resultados demonstraram que o grupo de pacientes com TAB apresentou escore global do questionário significativamente maior que controles ( $p=0,002$ ). Além disso, foi encontrada correlação significativa entre sintomas depressivos residuais ( $p=0,001$ ), pior funcionamento global ( $p<0,001$ ) e maior escore global do questionário BRIAN. Outro estudo que comparou um grupo de 14 pacientes com TAB com um grupo de 18 pacientes com Transtorno depressivo maior demonstrou que os pacientes com TAB apresentaram um início e pico tardios de melatonina ( $p=0,039$ ) (ROBILLARD et al., 2013b). Alterações do ciclo sono-vigília como atraso de fase do sono também são descritas como mais frequentes em pacientes com TAB se comparadas a indivíduos controle, como demonstrou um recente estudo no qual até 62% dos pacientes com TAB apresentavam atraso de fase do sono durante um episódio depressivo (ROBILLARD et al., 2013a). Esses achados tornam-se mais relevantes devido às evidências pregressas de que a presença de atraso de fase do sono em jovens pacientes com TAB associa-se com uma pior evolução longitudinal (STATON et al., 2008). O Transtorno Bipolar e o Transtorno Depressivo Recorrente parecem compartilhar essa falta de sincronização externa, que se manifesta por perturbações dos ritmos sociais levando ao surgimento de episódios maiores de humor (MALKOFF-SCHWARTZ et al., 1998; MALKOFF-SCHWARTZ et al., 2000).

#### **2.4.4 Relações entre alterações do sono e dos ritmos biológicos com a funcionalidade, cognição e comorbidades clínicas no TAB**

Além do impacto causado pelas manifestações afetivas do transtorno, as altas taxas de comorbidades clínicas e disfunções cognitivas parecem contribuir para os prejuízos no funcionamento global e na qualidade de vida dos pacientes com TAB. Entretanto, algumas evidências sugerem que estes prejuízos de funcionalidade podem também ser mediados por disfunções do sono e dos ritmos circadianos e que existe correlação positiva entre qualidade do sono e qualidade de vida em amostras de pacientes com TAB durante o período interepisódico (ANGELIS et al., 2010; GIGLIO et al., 2010b; WALSH et al., 2013). Outro aspecto interessante com relação às alterações do sono e dos ritmos circadianos no TAB é que alguns estudos sugerem que a característica e a natureza destas alterações parecem mudar ao longo da evolução longitudinal do transtorno (NAISMITH et al., 2012).

Pacientes com TAB apresentam alterações em certas funções cognitivas como atenção, memória verbal e funções executivas mesmo durante o período interepisódico do transtorno (BOLAND; ALLOY, 2013; ROBINSON et al., 2006). O comprometimento dessas funções cognitivas pode acarretar pior funcionamento social e ocupacional (BOLAND; ALLOY, 2013). Apesar da presença de disfunções cognitivas, do sono e dos ritmos circadianos serem detectadas tanto durante os episódios maiores de humor quanto durante a fase de remissão, poucos estudos buscaram até o momento investigar as possíveis interações entre cognição e sono no TAB (RAJAJARVI et al., 2010). Assim, uma revisão recente propõe os possíveis mecanismos através dos quais as alterações do sono e dos ritmos circadianos podem mediar as disfunções cognitivas observadas nestes pacientes e, por consequência, acarretar comprometimento funcional (BOLAND; ALLOY, 2013).

Hipertensão Arterial e Diabetes constituem normalmente as comorbidades clínicas mais comuns em pacientes com TAB (KILBOURNE et al., 2004). Diversos fatores são apontados para explicar essa alta prevalência, desde hábitos de vida pouco saudáveis até o uso prolongado de medicações psicotrópicas associadas a ganho de peso. Contudo, face ao acúmulo de evidências recentes demonstrando associação entre distúrbios do sono e dos

ritmos circadianos e alterações cardiovasculares e metabólicas, alguns pesquisadores passaram a sugerir que as disfunções do sono e dos ritmos circadianos possam contribuir, em parte, para a perpetuação das alterações cardiometabólicas observadas em pacientes com TAB (CALKIN et al., 2013). Outros estudos envolvendo grupos de pacientes eutímicos encontraram associação entre menor duração do sono com menores níveis de colesterol HDL e que privação do sono induz alterações de TSH, cortisol e dehidroepiandrosterona (AYDIN et al., 2013; SORECA et al., 2012b).

A síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono (SAOS) foi recentemente acessada em uma população de pacientes com TAB, encontrando-se uma prevalência pontual de 21% (KELLY et al., 2013). Assim como o TAB, a SAOS é uma condição clínica comumente associada à alta morbidade e mortalidade cardiovascular e pior qualidade de vida (ANGST et al., 2002; CHUNG, 2011; MARSHALL et al., 2008). Além disso, a SAOS cursa com uma enorme frequência de alterações do sono como insônia e sonolência diurna (KELLY et al., 2013). Assim, alguns autores sugerem que a SAOS pode estar associada a uma pior evolução longitudinal no TAB e que, portanto, seu diagnóstico deve ser pesquisado e o tratamento instituído nestes pacientes (SORECA, 2012a).

## **2.5 Genética do Transtorno Afetivo Bipolar**

### **2.5.1 Estudos de Genética Epidemiológica**

Vários estudos genético-familiares documentaram de maneira consistente que o TAB apresenta padrão de agregação em famílias. Esses estudos evidenciaram que o risco de parentes de primeiro grau de indivíduos acometidos por TAB desenvolver o transtorno é de cerca de 9% (SMOLLER; FINN, 2003), taxa aproximadamente 10 vezes maior do que a apresentada pela população geral (KESSLER et al., 1997; TSUANG; FARAONE, 1990). Parentes de indivíduos acometidos por TAB também possuem maior risco de apresentar transtorno depressivo unipolar se comparados à população geral (SMOLLER; FINN, 2003)

Alguns subtipos fenotípicos parecem influenciar no risco para o TAB. Um início precoce do transtorno, por exemplo, associa-se com aumento do risco para transtornos de humor em parentes de primeiro grau (GRIGORIOU-



SERBANESCU et al., 2001; JAMES, 1977; PAULS; MORTON; EGELAND, 1992; SOMANATH; JAIN; REDDY, 2002; TAYLOR; ABRAMS, 1981). Assim como o início precoce, outros subtipos fenotípicos também agregam em famílias com indivíduos acometidos por TAB, incluindo-se a polaridade do primeiro episódio de humor, a frequência de episódios de alteração do humor, a presença de sintomas psicóticos, o comportamento suicida e a responsividade ao lítio (FISFALEN et al., 2005; GROF et al., 2002; KASSEM et al., 2006; POTASH et al., 2003; SAUNDERS et al., 2008).

O fato de o TAB apresentar agregação em famílias não é suficiente, de maneira isolada, para demonstrar uma etiologia geneticamente determinada, uma vez que fatores genéticos, mas também fatores ambientais podem ter agregação familiar. Entretanto, estudos envolvendo gêmeos que permitem distinguir melhor os fatores genéticos dos ambientais, demonstraram que a agregação familiar observada no TAB deve-se predominantemente a fatores genéticos. Nesses estudos, a taxa de concordância observada para o TAB é significativamente maior entre gêmeos monozigóticos do que entre gêmeos dizigóticos (KENDLER et al., 1995; KIESEPPA et al., 2004; MCGUFFIN et al., 2003). A taxa de concordância para o TAB em gêmeos monozigóticos foi significativamente maior do que em gêmeos dizigóticos, uma forte evidência da vulnerabilidade genética do TAB (KENDLER et al., 1995; KIESEPPA et al., 2004; MCGUFFIN et al., 2003).

Com relação aos estudos de adoção, um estudo que avaliou 29 indivíduos adotados e portadores de TAB observou uma prevalência de transtornos afetivos em 18% dos pais biológicos desses indivíduos, comparada a uma prevalência de 7% nos pais adotivos (MENDLEWICS; RAINER, 1977). Um estudo posterior avaliando pacientes com TAB também demonstrou uma prevalência maior de transtornos do humor em pais biológicos, se comparado aos pais adotivos (WENDER et al., 1986).

Estima-se que a herdabilidade (proporção atribuível a fatores genéticos de desenvolver uma doença) do TAB seja de aproximadamente 79-93%, taxa substancialmente maior do que a observada em diversos transtornos psiquiátricos como o Transtorno depressivo unipolar, o Transtorno do pânico e o Transtorno obsessivo compulsivo (HILL; SAHHAR, 2006). Entretanto, a concordância entre gêmeos monozigóticos não é de 100%. Assim, os fatores

genéticos são condição necessária, mas não causam isoladamente o TAB. Postula-se que a etiologia do TAB é, portanto, de natureza poligênica complexa, envolvendo múltiplos fatores genéticos e ambientais, que podem variar profundamente entre os indivíduos acometidos (BARNETT; SMOLLER, 2009). Nesse modelo, o impacto de cada gene na determinação do fenótipo completo seria de efeito reduzido, tornando pouco provável a descoberta de um gene com grande efeito na determinação do fenótipo completo, algo observado em condições como a fibrose cística, que possui padrão de herança mendeliana. Até o momento, não foi encontrada nenhuma variação gênica que possa determinar isoladamente a síndrome reconhecida como TAB demonstrando que nenhum gene pode determinar o TAB de maneira isolada (BARNETT; SMOLLER, 2009). Entretanto, fatores genéticos podem conferir susceptibilidade ao TAB. Uma vez identificada a influência de fatores genéticos na vulnerabilidade ao TAB, a pesquisa voltou-se para a investigação de possíveis genes envolvidos na patogênese do transtorno, através dos estudos genéticos moleculares.

### **2.5.2 Estudos de Genética Molecular**

Os estudos de genética molecular podem ser subdivididos entre estudos de ligação e estudos de associação. Os estudos de ligação utilizam membros familiares acometidos e não acometidos pelo transtorno. O método geralmente acessa inúmeros marcadores pelo genoma para determinar, através da análise de marcadores co-herdados com a doença nas famílias, regiões cromossômicas onde possíveis genes que confirmam vulnerabilidade estariam localizados. Dezenas de estudos de ligação, incluindo três metanálises sobre o tema, foram realizadas para o TAB, implicando diversas regiões do genoma humano (BARNETT; SMOLLER, 2009). Nesses estudos foi encontrada associação do TAB a inúmeras regiões localizadas em todos os cromossomos humanos, mas os resultados apresentaram pouca consistência entre os diversos estudos (BADNER; GERSHON, 2002; BARNETT; SMOLLER, 2009; MCQUEEN et al., 2005; SEGURADO et al., 2003). Em uma das metanálises mais abrangentes sobre o tema, encontrou-se evidência de ligação no cromossomo 6q para o TAB tipo I e no cromossomo 8q para o TAB tipo I + TAB

tipo II (21) (PACE-SCHOTT; HOBSON, 2002). Até o momento, ainda não foram elucidados os genes responsáveis por esses achados (BARNETT; SMOLLER, 2009). Entretanto, o mais recente e amplo estudo de ligação realizado na pesquisa genética do TAB, não demonstrou resultados significativos (BADNER et al., 2012).

O sucesso dos estudos de ligação na pesquisa genética dos transtornos psiquiátricos, incluindo o TAB, tem sido limitado, pois esses estudos são mais efetivos em detectar o risco genético de condições determinadas por um pequeno número de genes com um efeito relativo grande na predisposição à doença (CRADDOCK; SKLAR, 2013). Assim, o foco da pesquisa genética em psiquiatria foi em direção aos estudos de associação, que são mais sensíveis para detectar vulnerabilidades genéticas relativamente comuns na população e que confirmam um aumento modesto no risco para a doença (RISCH; MERIKANGAS, 1996).

Na última década os esforços da pesquisa genética no TAB concentraram-se nos estudos de associação, que examinam basicamente se alelos específicos são mais comuns em indivíduos acometidos do que em controles ou se são transmitidos com uma maior frequência em famílias de indivíduos acometidos. Os genes candidatos são escolhidos tendo como base evidências de regiões cromossômicas ligadas à patologia estudada, advindas dos estudos genéticos de ligação, ou através de hipóteses centradas na neurobiologia subjacente à patologia estudada. Podem ser investigadas diversas variantes gênicas, incluindo polimorfismos de uma única base (SNP) e de repetição de variações em *tandem* (VNTR).

Centenas de estudos de associação envolvendo genes candidatos para o TAB já foram realizados. Dentre os inúmeros genes estudados, vários foram selecionados por seu envolvimento no funcionamento dos neurocircuitos da serotonina, da dopamina e do glutamato, devido ao envolvimento dos mesmos na neurobiologia do TAB (BARNETT; SMOLLER, 2009). Vários genes específicos associaram-se com o TAB em amostras independentes e metanálises, embora apenas alguns poucos genes tenham apresentado uma associação coerente e persistente com o TAB (BARNETT; SMOLLER, 2009; SERRETTI; MANDELLI, 2008). Em uma recente metanálise sobre o tema

envolvendo 487 estudos, quatro genes mantiveram significância após correção estatística (BNDF, DRD4, DAOA e TPH1) (SEIFUDDIN et al., 2012).

### **2.5.2.1 A utilização dos endofenótipos na pesquisa genética do TAB**

Uma estratégia que vem sendo utilizada para superar as dificuldades em estabelecer associações genéticas com os transtornos psiquiátricos é a pesquisa genética baseada nos chamados endofenótipos (GOTTESMAN; GOULD, 2003). Um endofenótipo pode ser definido como um processo biológico interno, passível de ser mensurado objetivamente. Adicionalmente, ele deve ser geneticamente transmitido de forma co-segregada ao transtorno psiquiátrico, deve estar presente mesmo na ausência da doença e, finalmente, ser mais prevalente em parentes não afetados quando comparados à população geral (HASLER et al., 2006; GOTTESMAN; GOULD, 2003). Dentre os vários endofenótipos já descritos, aqueles relativos às alterações no ritmo circadiano parecem ser fortes candidatos à patogênese do TAB, cuja manifestação seria uma incapacidade de regular os ritmos circadianos, ajustando-os de acordo com as modificações ambientais (HASLER et al., 2006).

A capacidade de detecção diagnóstica já nos estágios iniciais do TAB seria de suma importância, uma vez que, alguns dados sugerem que intervenções precoces poderiam resultar em um melhor prognóstico longitudinal (SCOTT et al., 2013). Deste modo, alguns pesquisadores começaram a investigar a presença de alterações do sono e dos ritmos circadianos em indivíduos com alto risco para o desenvolvimento do transtorno para determinar o possível papel destas alterações como fator de risco ou endofenótipo para o TAB.

Um estudo prospectivo que comparou uma população jovem de parentes de pacientes com TAB com um grupo controle detectou uma maior prevalência de Transtornos do Sono segundo os critérios do DSM-IV no grupo caso (DUFFY et al., 2010). Um estudo mais recente demonstrou ainda que indivíduos com alto risco de desenvolvimento para o TAB apresentaram, de maneira semelhante àqueles com TAB, maior latência do sono, maior variabilidade de atividade noturna, sono não restaurador bem como outros

distúrbios do sono (RITTER et al., 2012). Esse estudo ainda demonstrou que estes dois grupos apresentaram maior interdependência entre variações de humor e sono comparados a um grupo controle, o que levou os autores a sugerir que as alterações do sono poderiam configurar um traço de vulnerabilidade ao TAB por influenciar os mecanismos de regulação do humor nestes indivíduos.

Uma revisão sistemática sobre sinais e sintomas durante a fase prodromica do TAB, envolvendo 8 estudos e um total de mais de 1300 indivíduos, evidenciou que diversas alterações do sono são comuns nesta fase, sendo a insônia, a hipersonia e o sono irregular as alterações mais comuns, embora apresentem baixa especificidade (SKJELSTAD; MALT; HOLTE, 2010). Alguns estudos mostram ainda que essas alterações do sono, assim como outros pródromos, incluindo algumas alterações cognitivas podem estar presentes em alguns pacientes por muitos anos antes da primeira manifestação do TAB (BRIETZKE et al., 2012; RITTER et al., 2011).

Um estudo recente identificou que, após um protocolo de privação do sono, o padrão de respostas afetivas e endócrinas divergia de forma significativa entre um grupo de parentes de primeiro grau de pacientes com TAB em comparação a um grupo controle (AYDIN et al., 2013). Tais achados levaram os autores do estudo a sugerir que o padrão de respostas afetivas e de certas funções endócrinas à privação do sono possa constituir um potencial endofenótipo do TAB.

As alterações dos ritmos circadianos parecem, de fato, preencher muitos dos critérios de um endofenótipo para o TAB. Primeiro, há evidência de hereditariedade. Segundo, manifesta-se de maneira estado independente e associa-se com os transtornos afetivos na comparação com a população geral. Terceiro, algumas evidências sugerem que essas alterações estão presentes em familiares não acometidos. Além disso, evidências sugerem que as alterações dos ritmos circadianos e os transtornos afetivos transmitem-se de forma co-segregada (LEBOYER; KUPFER, 2010).

### **2.5.2.2 Estudos de genética molecular do tipo associação de todo o genoma**

Nos últimos anos, avanços relativos a novas técnicas de genotipagem permitiram a realização de estudos do tipo *Genome Wide Scan Studies* (GWAS), que possibilitam a avaliação de milhares de polimorfismos dispersos por todo o genoma de maneira mais rápida. Um estudo genômico de associação ampla (GWAS) pode ser comparado a um rastreamento de todo o genoma humano buscando regiões que são potencialmente correlacionadas com a fisiopatologia de determinada condição clínica (HIRSCHHORN; DALY, 2005; WANG et al., 2005). Essa forma de pesquisa genética adota uma abordagem inespecífica e assume, a priori, que qualquer região em todo o genoma pode ser um potencial alvo a influenciar na variação fenotípica. Assim, esse delineamento de estudo difere marcadamente dos tradicionais estudos de genes candidatos, que envolvem o exame de regiões específicas do genoma, acessadas de forma detalhada com base em um entendimento prévio de possíveis mecanismos clínicos, moleculares e farmacológicos relacionados à doença. Para minimizar as chances de encontrar associações espúrias, o limiar estabelecido para determinação da significância estatística nos GWAS é extremamente rigoroso (DUDBRIDGE, 2008b). Dessa maneira, os GWAS permitem que múltiplos genes suscetíveis possam ser detectados simultaneamente quando são testados um número suficientemente grande de casos e controles (ANSORGE, 2009).

Os estudos GWAS têm sido recentemente aplicados na investigação da susceptibilidade genética aos transtornos psiquiátricos, incluindo o TAB (CRADDOCK; SKLAR, 2009). A realização bem sucedida dos GWAS depende crucialmente do fenômeno de ligação em desequilíbrio, isto é, que os alelos de marcadores genéticos vizinhos ao gene investigado tendem a ser co-herdados. Assim, polimorfismos de um único par de base (SNP's) utilizados nos GWAS são frequentemente escolhidos pela sua capacidade de representar a informação de fragmentos de DNA representativos do genoma vizinho. Isto significa que os marcadores SNP's comercializados não são em essência as variantes biológicas funcionais potencialmente determinantes do fenótipo pesquisado, mas substitutos fenotipicamente irrelevantes que estão em

desequilíbrio de ligação, ou "*tagged*", com as variantes genéticas funcionais. A compreensão desse fenômeno é extremamente importante ao interpretar a relevância dos resultados que surgiram a partir dos recentes estudos GWAS no TAB.

Os estudos GWAS para o TAB têm sido realizados com amostras de pacientes parcialmente sobrepostas (BAUM et al., 2008; DJUROVIC et al., 2010; FERREIRA et al., 2008; SCOTT et al., 2009; SKLAR et al., 2008; SMITH et al., 2009; WTCCC, 2007). Em um dos primeiros estudos GWAS realizados em pacientes com TAB, os pesquisadores relataram uma associação significativa para o gene *Dgk* (diacilglicerol cinase H) (BAUM et al., 2008a). Posteriormente, pesquisadores identificaram em outro estudo associações significativas com os genes *Ank3* (anquirina 3) e *Cacna1c* (FERREIRA et al., 2008). Ambos os genes *Cacna1c* e *Ank3* estão envolvidos em processos excitatórios neuronais relacionados com canais iônicos (GARGUS, 2006; POLIAK; PELES, 2003), sugerindo que a fisiopatologia do TAB possa estar relacionada a perturbações em vias de canais iônicos. Outro estudo realizado em uma amostra de 1461 pacientes com TAB encontrou evidência de associação significativa para o gene *Myo5b*, que codifica para a proteína miosina 5b (SKLAR et al., 2008). Esse gene é expresso em diversas populações neuronais e está envolvido com a sinalização glutamatérgica (LISE et al., 2006). Evidências recentes de um estudo europeu apontam para o gene *Ncan* como outro gene de susceptibilidade para o TAB. Esse gene codifica a proteína NEUROCAN, uma glicoproteína de matriz extracelular, relacionada à adesão e migração celular (CICHON et al., 2011). Os achados descritos acima são considerados os mais relevantes porque em todos estes a associação permaneceu positiva no nível de significância estatística estipulado para os estudos GWAS. O escopo maior de associações genéticas encontradas, em sua maioria fracas, envolvendo todos os estudos realizados até o momento, é apresentado na tabela 01.

De maneira similar ao que foi observado em investigações utilizando o GWAS em doenças clínicas, observa-se pequeno grau de concordância entre as regiões do DNA que mostraram maior grau de associação com o TAB nos estudos realizados, muito embora alguns novos genes como o *Cacna1c*, *Ank3* e *neurocan* venham recebendo certo destaque (NURNBERGER, 2012). Nos

estudos GWAS realizados em pacientes com TAB, não foram encontradas fortes evidências de associação para nenhum daqueles genes pesquisados anteriormente pelos tradicionais estudos de associação baseados em hipóteses biológicas ou dos estudos de ligação (BARNETT; SMOLLER, 2009).

**Tabela 01– Estudos de associação de todo o genoma (GWAS) realizados em amostras de pacientes com TAB.**

Autor e ano	Casos (n)	Tipo de Estudo	População	Genes/polimorfismos
WTCCC, 2007	1868	Caso-controle	Caucasiano	PALB2/NDUFAB1/DCTN5
Sklar, 2008	1461	Caso-controle	Caucasiano	MYO5B
Ferreira, 2008	4387	Meta-análise	Caucasiano	ANK3/CACNA1C
Baum, 2008a	1233	Caso-controle	Caucasiano	DGKH
Baum, 2008b	3101	Meta-análise	Caucasiano	SLC39A3/JAM3
Hattori, 2009	107	Caso-controle	Asiático	Nenhum
Scott, 2009	2076	Meta-análise	Caucasiano	ITIH1
Smith, 2009	1001	Caso-controle	Europeu e afroamericanos	Intergenic/NAP5 (E)/DPY19L3/NTRK2 (A)
McMahon, 2010	6683	Meta-análise	Caucasiano	Polybromo-1 (PBRM1)
Djurovic, 2010	194	Caso-controle	Caucasiano	DLEU2/GUCY1B2
Lee, 2011	1000	Caso-controle	Asiático	SP8/ST8SIA2/KCTD12/CACNB2
Belmonte Mahon, 2011	2836	Meta-análise	Caucasiano, europeu e afroamericanos	MBOAT1/FAT1/MAD1L1/SYNE1/ECHDC1
Cichon, 2011	8441	Caso-controle	Caucasiano	NCAN
Yosifova, 2011	310	Caso-controle	Caucasiano	Nenhum
Sklar, 2011	11974	Caso-controle	Caucasiano	CACNA1C/ODZ4
Chen, 2011	14000	Meta-análise	Europeu americanos e asiáticos	TRANK1/LMAN2L/PTGFR
Smith, 2011	1190	Caso-controle	Europeu e afro-americanos	Nenhum
Kerner, 2011	1000	Caso-caso	Caucasiano	MARK1/PDE10A
Vassos, 2011	2562	Caso-controle	Caucasiano	PBRM1
Bergen, 2012	836	Caso-controle	Caucasiano	Nenhum
Greenwood, 2012	1263	Caso-controle/ Caso-caso	Europeu americanos	MDM1/FBLN1/INTS7/DTL
Goes, 2012	2196	Caso-controle/ caso-caso	Caucasiano, europeu e afro-americanos	PRSS35/SNAP91/TRANK1/rs2333194
Meier, 2012	927	Caso-controle/ Caso-caso	Caucasiano	rs9875793
Lee, 2013	1001	Caso-controle/ Caso-caso	Caucasiano, europeu e afro-americanos	NF1A
Chen, 2013	14000	Meta-análise	Caucasiano e asiático	TRANK1/LMAN2L/PTGFR/ANK3
Greenwood, 2013	1001	Caso-caso	Caucasiano	SLITRK6
Green, 2013	1218	Caso-controle	Caucasiano	CACNA1C/ODZ4/ TRPC4AP
Winham, 2013	388	Caso-controle/ Caso-caso	Europeu americanos	TCF7L2
Xu, 2014	950	Caso-controle	Caucasiano	Nenhum



Alguns pesquisadores apontam que uma das principais limitações da pesquisa atual acerca dos determinantes genéticos do TAB reside no fato dos fenótipos clínicos ainda estarem profundamente pautados em conceitos diagnósticos do século XIX (CRADDOCK; OWEN, 2005). Por essa razão, alguns dos estudos GWAS mais recentes buscaram investigar a associação entre dimensões clínicas ou subfenótipos específicos do TAB com as variantes gênicas. Alguns exemplos de subfenótipos do TAB avaliados pelos estudos GWAS são o comportamento suicida, sintomas psicóticos incongruentes, humor irritável, entre outros (GOES et al., 2012; GREWOOD et al., 2012; MEIER et al., 2012).

### **2.5.2.3 Estudos de genética molecular envolvendo variações no número de cópias de segmentos de DNA**

Diferenças na sequência do DNA do genoma humano podem contribuir para a singularidade e influenciar a maioria das características fenotípicas, incluindo a susceptibilidade à doenças. Descobertas científicas recentes revelaram que segmentos distintos do DNA, que oscilam em tamanho de milhares a milhões de bases, podem variar em número de cópias no genoma humano (IAFRATE et al., 2004). Variações no número de cópias de segmentos de DNA (CNV's) referem-se a variações estruturais do DNA que incluem inserções, deleções e duplicações do material genético, com evidências de que podem envolver até aproximadamente 12% do genoma humano e resultar em relevante fonte de variabilidade fenotípica e susceptibilidade a doenças (REDON et al., 2006; SEBAT et al., 2004). Desde então, alguns estudos começaram a demonstrar a possível influência das CNV's na susceptibilidade ao TAB (COOK; SCHERER, 2008; FREEMAN et al., 2006; PRIEBE et al., 2012). De maneira interessante, um estudo demonstrou que CNV's em duplicação foram consistentemente encontradas para o gene que codifica a proteína glicogênio synthase kinase (GSK3B), molécula potencialmente envolvida na fisiopatologia do TAB e no mecanismo de ação do lítio, medicação estabilizadora do humor (LACHMAN et al., 2007).

Estudos mais recentes sugerem que as CNV's podem estar relacionadas com um início mais precoce do TAB e com pior prognóstico (MALHOTRA et al.,

2011). Todavia, outros estudos não replicaram os mesmos achados, sugerindo que as CNV's possam apresentar um papel reduzido no TAB se comparado à esquizofrenia (GROSEVA et al., 2013). Assim, alguns pesquisadores postulam que os resultados dos estudos de associação genômica ampla e CNV's sugerem que uma combinação de alelos comuns de pequeno efeito, alelos raros de efeito variável, CNVs com interações epistáticas e mecanismos epigenéticos possam contribuir para susceptibilidade genética ao TAB (CROW, 2007; CROW, 2008; MCCLELLAN; SUSSER; KING, 2007).

#### **2.5.2.4 Estudos de genômica funcional convergente**

Existe, atualmente, uma avaliação compartilhada por pesquisadores de que os estudos de associação genômica ampla (GWAS) não conseguiram corresponder às expectativas iniciais e fornecer avanços importantes para a compreensão da neurobiologia do TAB, assim como de outros transtornos psiquiátricos (GERSHON; ALLIEY-RODRIGUES; LIU, 2011; NICULESCU; LE-NICULESCU, 2010B). Alguns pesquisadores elencam as principais razões para os GWAS, como um conjunto, não terem replicado resultados pregressos da literatura envolvendo os estudos de genética molecular do TAB, dentre elas a complexidade, a heterogeneidade e a reprodutibilidade dos resultados entre os diferentes estudos (NICULESCU; LE-NICULESCU, 2010B).

A complexidade genética da maioria das condições médicas e psiquiátricas é tal que provavelmente um grande repertório de genes deverá estar envolvido, a maioria dos quais pode falhar para atingir os rigorosos limiares para significância estatística exigidos nos estudos GWAS (KURIAN et al., 2011; MANOLIO et al., 2008; MANOLIO et al., 2009). Em geral, um pequeno número de genes têm sido identificados até agora pelos GWAS, em oposição à um maior número de genes, biologicamente relevantes, implicados por outras abordagens anteriores. É possível que os GWAS possam apenas detectar genes em que ocorra um alto grau de conservação (baixo grau de heterogeneidade) na população (SHE et al., 2009). Genes que estão envolvidos em funções mais distintas geralmente apresentam um maior grau de heterogeneidade devido às pressões evolutivas de adaptação ao ambiente (MCCARTHY et al., 2012b). Dessa maneira, uma mutação em um gene

altamente heterogêneo não se destacaria frente a todo o repertório diversificado de variantes comuns e será de mais difícil de detecção nos GWAS. Além dos fatores acima expostos, alguns autores sugerem que os valores p utilizados para o teste de hipóteses permitem apenas uma precisa classificação dos resultados de associação genética dentro do estudo em questão individualmente. Essa seria uma possível explicação para a frequente frustração em termos de reprodutibilidade dos resultados entre os diferentes estudos. Seria, portanto, muito provável que achados positivos de associação genética de um determinado estudo não sejam replicados em estudo realizado em uma amostra diferente, uma vez que a complexidade e a heterogeneidade genética irão garantir que não há dois grupos iguais (MCCARTHY et al., 2012b).

Com relação aos genes circadianos, uma explicação possível para o fracasso na detecção de associações com o TAB nos GWAS pode resultar da constatação de que a organização molecular dos genes circadianos é mais complexa do que anteriormente concebida (UEDA et al., 2005; YAN et al., 2008; ZHANG et al., 2009). É possível, portanto, que genes circadianos e importantes mecanismos efetores modulados pelo sistema circadiano sejam relevantes para o TAB mas simplesmente não foram identificados pelos GWAS devido a sua complexidade (MCCARTHY et al., 2012).

Diante dessas dificuldades relativas aos GWAS, alguns pesquisadores argumentam que abordagens que convirjam diversas linhas de evidência seriam necessárias para investigar os substratos genéticos dos transtornos psiquiátricos. Assim, um grupo de pesquisadores desenvolveu uma abordagem para identificação e priorização de genes candidatos (LE-NICULESCU et al., 2007; LE-NICULESCU et al., 2009b; OGDEN et al., 2004; PATEL et al., 2010; RODD et al., 2007) e biomarcadores (KURIAN, 2011; LE-NICULESCU et al., 2009a) para transtornos médicos e psiquiátricos com padrão de herança genética complexa através da integração de múltiplas linhas de evidência - expressão gênica, dados genéticos de associação e ligação - a partir de estudos em seres humanos e modelo animal (BERTSH et al., 2005; NICULESCU; LE NICULESCU, 2010a). Desenvolvido através de um modelo matemático bayesiano de escala logarítmica, o método ficou conhecido como Genômica Funcional Convergente (NICULESCU, 2000). Quanto mais linhas de

evidência para um gene, maior pontuação atinge aquele gene na lista de tabulação (NICULESCU, 2000).

Com relação aos estudos de genômica funcional convergente no TAB, pesquisadores encontraram resultados sugerindo que vários genes envolvidos na regulação dos ritmos circadianos (tais como *Artn1*, *RorB* ou *Gsk3b*) são candidatos primários para genes vinculados ao TAB (LE-NICULESCU et al., 2009b; PATEL et al., 2010). De fato, esse grupo de pesquisadores, através desta nova abordagem de pesquisa genética, tem obtido repetidos resultados de evidências envolvendo determinados genes circadianos. Mais ainda, os resultados tem sido replicados à medida que novos GWAS são incorporados para a análise dos dados. É interessante observar que, individualmente, nenhum dos GWAS incorporados na análise genômica convergente encontrou associação dos genes circadianos com o TAB de forma isolada.

Ainda tentando transpor e implementar os resultados dos estudos GWAS, a abordagem de análise de vias de sinalização em conjunto (*Pathway Analysis*) também tem sido utilizada na pesquisa genética dos transtornos psiquiátricos (LUO et al., 2010; WANG; LI; BUCAN, 2007). Inspirados em técnicas de análise de expressão gênica de microarranjo agregados aos dados genéticos dos GWAS, esses estudos utilizam técnicas estatísticas que consideram conjuntamente múltiplas variantes em genes relacionados ou que interagem em vias fisiológicas comuns para determinar genes ou conjuntos de genes potencialmente relacionados à etiologia de uma determinada doença. Assim, ao utilizar essa técnica, alguns pesquisadores sugerem que quando analisados no contexto de redes genéticas e vias moleculares fundamentais, os dados dos estudos GWAS possam expor aspectos da base poligenética de vulnerabilidade às doenças de herança genética complexa (MCCARTHY et al., 2008).

Alguns estudos utilizaram essa técnica para investigação de fatores de da vulnerabilidade genética ao TAB (TORKAMANI; TOPOL; SCHORK, 2008). Usando dados de dois estudos GWAS progressos, a análise de “*pathway*” complementar utilizando dados de metilação gênica encontrou evidência do envolvimento de vias relacionadas a canais iônicos (CHUANG et al., 2013). Resultados positivos para vias de genes relacionados a canais iônicos também foram encontrados em um recente estudo GWAS cuja amostra era composta

de mais de 30000 pacientes com diagnóstico psiquiátrico (CDGPGC, 2013). Outro pesquisador achou evidências, utilizando dados de três estudos GWAS e de expressão gênica de tecido cerebral humano, de associação do TAB com um grupo de genes da via de sinalização Wnt, que desempenha um papel central na sinalização intracelular cerebral (PEDROSO et al., 2012). Um estudo que realizou exploração genética do sistema biológico da via melatoninérgica revelou mutações correlacionadas com uma atividade diminuída da proteína codificada pelo gene acetilserotonina O-metiltransferase (ASMT), que é a última enzima via de síntese da melatonina (ETAIN et al., 2012).

### **2.5.3 Os genes relógio ou circadianos**

A procura por fatores genéticos relacionados aos Transtornos do humor voltou-se, nos últimos anos, para a pesquisa dos ritmos biológicos ou circadianos, motivada pelas inúmeras evidências de um possível papel dos ritmos biológicos na neurobiologia dos Transtornos do humor (ETAIN et al., 2011; MILHIET et al., 2014; SERRETTI; MANDELLI, 2008). O complexo mecanismo genético-molecular responsável pelo comportamento rítmico observado nos neurônios do NSQ já foi previamente descrito no escopo deste estudo. A Figura 4 demonstra o funcionamento integrado dos denominados “genes *Clock*”, melhor traduzido para o português como genes circadianos ou genes relógio. Diversos resultados de estudos genéticos de associação têm implicado genes circadianos na susceptibilidade genética para o TAB. A Tabela 02 mostra que estudos independentes têm demonstrado associações entre o TAB e vários genes circadianos, tais como o gene *Clock*, *Npas2*, *Arntl1*, *Per3* e *Nr1d1*.

Estudos de interações multi-locus entre os genes *Bhlhb2*, *Csnk1ε* e *Clock* (SHI et al., 2008) e as variações no número de cópias de segmentos de DNA do gene *Gsk-3B* (LACHMAN et al., 2007) também foram relatados. Os achados de inúmeras associações entre diversos genes circadianos e o TAB somam-se àqueles relacionados a genes das vias serotoninérgicas, dopaminérgicas, glutamatérgicas e de genes relacionados à sinalização e crescimento celular. Todos os achados de associações retratam um efeito relativo pequeno na determinação do fenótipo completo. Entretanto, a

constatação de inúmeras associações entre os genes circadianos e o TAB corrobora evidências pregressas que sugerem um papel significativo dos ritmos biológicos na neurobiologia do TAB.

Duas vias fisiológicas ainda merecem nota devido à sua relação com os genes circadianos e possivelmente com o TAB. A via de sinalização Wnt é composta por uma série de produtos protéicos que participam de processos essenciais no cérebro, como crescimento, migração e diferenciação celular, além de formação e remodelamento sináptico (BUDNIK; SALINAS, 2011). Algumas das funções exercidas pelas proteínas WNT estão fortemente relacionadas com a atividade da GSK-3B.

**Tabela 02- Estudos de associação genética com resultados positivos para genes circadianos do núcleo regulador central no TAB.**

GENE	NOMENCLATURA	ESTUDOS GENÉTICOS DE ASSOCIAÇÃO
<b>CLOCK</b>	CIRCADIAN LOCOMOTOR OUTPUT CYCLES KAPUT	(Benedetti, 2008, 2007, 2003; Kripke, 2009; Lee, 2010; Shi, 2008; Soria, 2010)
<b>NPAS2</b>	NEURONAL PAS DOMAIN PROTEIN 2	(Kripke, 2009; Mansour, 2009; Soria, 2010)
<b>ARNTL1</b>	ARYL HYDROCARBON RECEPTOR NUCLEAR TRANSLOCATOR-LIKE 1 (BMAL1)	(Mansour, 2006, 2009; Nievergelt, 2006; Soria, 2010)
<b>ARNTL2</b>	ARYL HYDROCARBON RECEPTOR NUCLEAR TRANSLOCATOR-LIKE 2 (BMAL2)	(Soria, 2010)
<b>PER1</b>	PERIOD HOMOLOG 1 (DROSOPHILA)	(Kripke, 2009)
<b>PER2</b>	PERIOD HOMOLOG 2 (DROSOPHILA)	(Kripke, 2009)
<b>PER3</b>	PERIOD HOMOLOG 3 (DROSOPHILA)	(Mansour, 2006; Nievergelt, 2006; Kripke, 2009; Rocha, 2010; Dallaspezia, 2011)
<b>CRY1</b>	CRYPTOCHROME 1	(Soria, 2010)
<b>CRY2</b>	CRYPTOCHROME 2	(Mansour, 2009; Sjöholm, 2010)
<b>TIMELESS</b>	TIMELESS HOMOLOG (DROSOPHILA)	(Mansour, 2006)
<b>NR1D1</b>	NUCLEAR RECEPTOR SUBFAMILY 1, GROUP D, MEMBER 1	(Kishi, 2008; Kripke, 2009; Severino, 2009)
<b>NR1D2</b>	NUCLEAR RECEPTOR SUBFAMILY 1, GROUP D, MEMBER 2	- - -
<b>RORA</b>	RAR-RELATED ORPHAN RECEPTOR A	(Soria, 2010b)
<b>RORB</b>	RAR-RELATED ORPHAN RECEPTOR B	(Mansour, 2009; McGrath, 2009)
<b>RORC</b>	RAR-RELATED ORPHAN RECEPTOR C	
<b>CSNK1δ</b>	CASEINE KINASE I DELTA	(Kripke, 2009)
<b>CSNK1ε</b>	CASEINE KINASE I EPSILON	(Mansour, 2009; Shi, 2008; Soria, 2010)
<b>BHLHB2</b>	BASIC HELIX-LOOP-HELIX DOMAIN CONTAINING, CLASS B, 2	(Shi, 2008)
<b>BHLHB3</b>	BASIC HELIX-LOOP-HELIX DOMAIN CONTAINING, CLASS B, 3	(Soria, 2010)
<b>GSK3β</b>	GLYCOGEN SYNTHASE KINASE 3-BETA	(Benedetti, 2004a, 2004b, 2005; Szczepankiewicz, 2006; Adli, 2007)

Nos últimos anos alguns pesquisadores passaram a sugerir que a via de sinalização Wnt poderia estar relacionada à fisiopatologia do TAB, entre outras evidências, pela sua íntima relação com a GSK-3B, quinase apontada por diversos estudos como envolvida no mecanismo pelo qual o lítio, medicação estabilizadora do humor, exerce seus efeitos terapêuticos (GOULD; MANJI, 2002; VALVEZAN; KLEIN, 2012). Assim, alguns poucos estudos buscaram investigar um possível papel genético das proteínas desta via na vulnerabilidade ao TAB. Um estudo de gêmeos monozigóticos discordantes para o TAB evidenciou que alguns genes da via de sinalização Wnt apresentaram padrão distinto de expressão gênica (MATIGIAN et al., 2007). Posteriormente um grupo de pesquisadores encontrou evidência de associação entre o TAB e polimorfismos dos genes WNT2B e WNT7A da via de sinalização Wnt (ZANDI et al., 2008).

Outros genes de possível interesse são aqueles envolvidos na via melatoninérgica, dadas as inúmeras evidências de alterações da função melatoninérgica nos transtornos do humor. Um ensaio clínico comparou recentemente a eficácia da agomelatina, antidepressivo agonista do receptor melatoninérgico MT2, em um grupo de pacientes com depressão unipolar e outro com depressão bipolar e não encontrou diferença significativa nas taxas de resposta e remissão entre os dois grupos (TIUVINA; SMIRNOVA, 2012). Já foram publicados alguns estudos genéticos demonstrando associação entre Transtorno Depressivo e o gene do receptor MT2 (GALECKA et al., 2010; GALECKI et al., 2011). Outro estudo encontrou resultado de associação significativa entre um polimorfismo de receptores melatoninérgicos e o diabetes tipo 2, sugerindo uma possível ligação entre a regulação do ritmo circadiano e a homeostase glicêmica através da via de sinalização de melatonina (KARAMITRI et al., 2013; WANG et al., 2013). Embora até o momento não existam estudos que tenham investigado os genes de receptores da melatonina no TAB, dois estudos já reportaram associação entre polimorfismos do gene da acetilserotonina O-metiltransferase (ASMT), enzima envolvida na etapa final de síntese da melatonina, e alterações do sono e dos ritmos circadianos no TAB em remissão (COMAI; GOBBI, 2014; GEOFFROY et al., 2013).

## **2.5.4 O gene candidato**

### **2.5.4.1 O gene *Per3***

Assim como o gene *Clock*, o gene humano *Per3* é um membro relevante da família dos genes circadianos *Period* que foi primeiramente isolado em mamíferos em 1998 (ZYLKA et al., 1998). Ele está localizado no cromossomo humano 1 (1p36.23) (ZYLKA et al., 1998) e é altamente expresso no núcleo supraquiasmático, bem como no hipocampo, córtex piriforme e cerebelo (DUNLAP, 1999; LOWREY; TAKAHASHI, 2000). Os níveis de mPer3 RNA exibem uma robusta variação circadiana em sua concentração no núcleo supraquiasmático, similar à observada com os níveis de mPer1 RNA e mPer2 RNA (SHEARMAN et al., 2000). Entretanto, ao contrário do que ocorre com os genes *Per1* e *Per2*, o gene *Per3* possui um padrão de expressão gênica independente do estímulo luminoso (ZYLKA et al., 1998) Alguns anos após seu isolamento em mamíferos, pesquisas laboratoriais demonstraram que animais “*knock-out*” para o gene *Per3* apresentam encurtamento do período circadiano endógeno (SHEARMAN et al., 2000). Recentemente, assim como para outros genes circadianos, um estudo demonstrou que o lítio altera a expressão do gene *Per3* em culturas laboratoriais de fibroblastos (OSLAND et al., 2011).

Já foram identificadas 6 variações funcionais e 4 haplótipos do gene *Per3* (EBISAWA et al., 2001). Identificou-se também que um desses polimorfismos é capaz de alterar a fosforilação e degradação da proteína PER3 e, portanto, sua atividade e retorno ao núcleo celular (EBISAWA et al., 2001). Esse polimorfismo consiste na substituição de uma timina por guanina na posição 1940 do exon 15, que resulta na substituição de um aminoácido na proteína final (EBISAWA et al., 2001). Posteriormente, foram localizados 2 outros polimorfismos do gene *Per3*, ambos localizados no exon 18 (EBISAWA et al., 2001). O primeiro polimorfismo é resultante da troca de uma única base (SNP T3110C) e resulta na substituição de aminoácido na proteína final (EBISAWA et al., 2001). O segundo polimorfismo localizado no exon 18 é um domínio composto de 4 ou 5 repetições em tandem de 54 pares de bases (EBISAWA et al., 2001). O alelo constituído de 4 repetições deriva-se da perda da terceira repetição, região que contém sítios de fosforilação para a quinase CSK1- $\epsilon$ . Assim, a presença desse polimorfismo também pode ocasionar uma



alteração da fosforilação da proteína PER3 e comprometer sua função de inibição dos genes *Arntl1* e *Clock* (EBISAWA et al., 2001).

Um estudo demonstrou associação entre o polimorfismo composto de apenas 5 repetições em tandem do gene *Per3* com uma preferência diurna, um fenótipo normal do ciclo sono-vigília na espécie humana (ARCHER et al., 2003). Esse estudo ainda demonstrou associação do mesmo polimorfismo com o Transtorno de atraso de fase do sono, resultado replicado posteriormente em outro estudo (ARCHER et al., 2003; PEREIRA et al., 2005). Já o achado de associação entre preferência diurna e o referido polimorfismo do gene *Per3* foi replicado em outras populações (KUNOROZVA et al., 2012; LAZAR et al., 2012). O cronotipo preferência diurna também se associou com outros polimorfismos do gene *Per3* (OJEDA et al., 2013). Outros resultados positivos também foram encontrados para a variante alélica composta de 5 repetições em tandem, que se associou com alterações na regulação do sono, parâmetros eletroencefalográficos e um pico noturno precoce de melatonina (VIOLA et al., 2007; VIOLA et al., 2012). Em populações clínicas, o gene *Per3* associou-se com a severidade da insônia em um grupo de pacientes com dependência de álcool (BROWER et al., 2012). Ainda digno de nota, alguns estudos começam a sugerir o envolvimento dos genes circadianos com o diabetes tipo 2 e a obesidade (PAPPA et al., 2013; SHIMBA et al., 2013).

Estudos genético-moleculares de ligação para o TAB demonstraram resultados positivos para a região do cromossomo 1 onde se localiza o gene *Per3* (CICHON et al., 2001; CURTIS et al., 2003). Diversos estudos de associação já demonstraram resultados positivos para os genes circadianos na susceptibilidade ao TAB bem como para outros Transtornos do humor, como revisado anteriormente. Com relação ao gene *Per3*, alguns estudos de associação demonstraram resultados positivos com o TAB e determinados subfenótipos clínicos. Nievergelt et al. (2006) demonstraram resultados positivos entre haplótipos do gene *Per3* e o TAB em um estudo de associação baseado em famílias composto por 159 famílias e 564 indivíduos, sendo que em cada família havia no máximo 2 indivíduos acometidos por TAB. Foram genotipados 6 marcadores do tipo SNP com a evidência de associação estatisticamente significativa para um polimorfismo do gene *Per3*.

Em outro estudo, Mansour et al. (2006) não encontraram evidência de ligação para a região cromossômica onde o gene *Per3* se localiza. Entretanto, na análise conduzida por um desenho de associação do tipo caso-controle envolvendo duas amostras independentes de pacientes com TAB, os mesmos autores encontraram associação entre um polimorfismo SNP do gene *Per3* e o TAB somente em uma das amostras (MANSOUR et al., 2006). Artioli et al. (2007), em uma amostra mista composta de 512 pacientes com TAB e 519 pacientes com depressão unipolar, analisaram a associação de diversos parâmetros clínicos com variações gênicas descritas previamente nos exons 15 e 18 do gene *Per3*. Nesse estudo foi encontrada associação entre as variantes gênicas estudadas e a idade de início do transtorno, a resposta ao tratamento antidepressivo, a variação diurna do humor e algumas características de temperamento. Ao estudar uma amostra de 90 pacientes com TAB, Benedetti et al. (2008) encontraram associação entre a homozigose para a variante alélica de 4 repetições do exon 18 do gene *Per3* e uma idade precoce de início para o transtorno.

Um estudo que acessou a relação de polimorfismos de diversos genes circadianos com o TAB e com o cronotipo vespertino encontrou resultado de associação entre o polimorfismo rs228697 do gene *Per3* e o cronotipo vespertino no TAB (KRIPKE et al., 2009). Um grupo de pesquisadores realizou um estudo de associação envolvendo 209 polimorfismos do tipo SNP, que acessou 19 genes circadianos em uma amostra de 199 pacientes com TAB e 440 indivíduos controles, demonstrou associação significativa entre o gene *Per3* e o TAB (SORIA et al., 2010), que não manteve a significância após correção por múltiplos testes. Ao estudar o polimorfismo VNTR do exon 18 do gene *Per3* em uma amostra de 67 pacientes, outros pesquisadores encontraram associação entre a homozigose para a variante alélica de 4 repetições e o início do TAB no período pós-parto (DALLAPEZIA et al., 2011). Todas as associações encontradas nos estudos citados foram modestas e algumas não permaneceram significativas após correção para múltiplos testes (Nievergelt et al., 2006; SORIA et al., 2010). Em outros estudos não foi encontrada evidência de associação entre o gene *Per3* e o TAB (MANSOUR et al., 2006; MANSOUR et al., 2009).

### 3 JUSTIFICATIVA

Uma série de evidências sugere que o TAB apresenta determinação genética. Ao mesmo tempo, diversos estudos progressos demonstram uma alta prevalência e as consequências das alterações do sono e dos ritmos circadianos em pacientes com o TAB. Essas manifestações são observadas durante episódios de mania e de depressão, bem como durante os períodos interepisódicos ou de remissão dos sintomas no TAB. Ao longo, principalmente das últimas décadas, identificou-se a presença de um centro regulador dos ritmos biológicos na espécie humana, representado pela atividade de um conjunto de genes no núcleo supraquiasmático, que funcionam de maneira integrada em alças de retroalimentação negativa. A existência desse complexo sistema regulador dos ritmos biológicos passou a suscitar investigações acerca do seu possível papel na fisiopatologia do TAB, bem como de outros transtornos do humor. Deste modo, alguns pesquisadores começaram a investigar a presença de alterações do sono e dos ritmos circadianos em indivíduos com alto risco para o desenvolvimento do transtorno para determinar o possível papel destas alterações como fator de risco ou endofenótipo para o TAB. Assim, estudos que busquem investigar a possível relação entre aspectos clínicos relacionados ao sono, ritmos circadianos e aspectos de genética molecular podem contribuir para uma melhor compreensão sobre a neurobiologia do TAB.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

- Investigar a qualidade do sono em pacientes com TAB e em um grupo controle e a possível associação entre polimorfismos do gene *Per3* e o TAB.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Comparar os dois grupos com relação à qualidade do sono avaliada pela PSQI.
- Investigar a relação entre qualidade do sono e variáveis clínicas, sociodemográficas em pacientes com TAB.
- Comparar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *Per3* entre os grupos caso e controle.
- Comparar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *Per3* entre os pacientes com TAB subdivididos de acordo com a qualidade do sono.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Delineamento, procedimentos do estudo e sujeito da pesquisa

O presente estudo apresentou delineamento transversal, sendo as medições para cada indivíduo dos grupos caso e controle realizadas em um único momento. Após receber o devido esclarecimento sobre o projeto de pesquisa, todos os indivíduos assinaram termo de livre consentimento para participar do estudo. O estudo envolveu indivíduos de ambos os sexos, todos maiores de 18 anos. O grupo caso foi composto por uma amostra de conveniência formada de pacientes em tratamento regular em serviço ambulatorial de psiquiatria. O grupo controle foi composto por amostra da população geral de conveniência recrutada por convite direto. Na entrevista realizada, após assinatura do termo de livre consentimento, foram coletados dados relativos às características sociais, demográficas e sobre o histórico clínico dos participantes. Posteriormente, foram aplicados os instrumentos descritos a seguir: a entrevista diagnóstica *Mini International Neuropsychiatric Interview* (MINI-PLUS) (AMORIM, 2000), as escalas de avaliação do humor *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) (HAMILTON, 1960) e *Young Mania Rating Scale* (YMRS) (YOUNG et al., 1978) e o Inventário de Qualidade de Sono de Pittsburgh (PSQI) (BUYSSE et al., 1989). Por fim realizou-se a coleta de sangue periférico para as análises envolvendo biologia molecular.

Para o grupo caso considerou-se os seguintes critérios de exclusão:

- Idade inferior a 18 anos;
- Doença clínica em fase aguda ou ativa;
- Doença neurológica degenerativa.

Para o grupo controle os critérios de exclusão utilizados foram:

- Idade inferior a 18 anos;
- Doença clínica em fase aguda ou ativa;
- Doença neurológica degenerativa;
- Histórico pessoal de transtornos psiquiátricos avaliado pelo MINI-PLUS, de acordo com os critérios do DSM;
- Histórico de transtornos psiquiátricos em parentes de primeiro grau;
- Uso de psicofármacos.

## 5.2 Procedimentos e descrição dos instrumentos clínicos utilizados

O projeto foi previamente aprovado em comitê de ética (ANEXOS A, B, C). Após assinatura do termo de livre consentimento (ANEXOS D, E, F), foi realizada avaliação individual de todos os participantes (grupos caso e controle) durante o período de janeiro/2011 a março/2013. No grupo caso, aplicou-se a entrevista diagnóstica *Mini International Neuropsychiatric Interview* (MINI-PLUS) (AMORIN, 2000), para confirmação do diagnóstico de TAB e caracterização das comorbidades psiquiátricas. Embora a ocorrência de comorbidades psiquiátricas no TAB seja comum (KESSLER et al., 1994; KESSLER et al., 2005), certificou-se que o TAB era o diagnóstico primário. Para o grupo controle, a aplicação do MINI-PLUS teve como objetivo excluir do estudo aqueles indivíduos com diagnóstico psiquiátrico de eixo I. Este instrumento é amplamente utilizado no cenário da pesquisa clínica, para confirmação de diagnósticos psiquiátricos de eixo I da classificação diagnóstica psiquiátrica do DSM-IV-TR. A quinta edição do DSM foi lançada somente após o término da coleta de dados.

Para compor o grupo caso o diagnóstico dos pacientes com TAB foi estabelecido utilizando-se os critérios do DSM-IV-TR. Todavia, os dados clínicos da história progressa do paciente, relevantes para a caracterização longitudinal do diagnóstico também foram considerados. No grupo de pacientes com diagnóstico de TAB, foram aplicadas as escalas de *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) (HAMILTON, 1960) e *Young Mania Rating Scale* (YMRS) (YOUNG et al., 1978), para a avaliação do humor. Como critério de inclusão e para excluir a influência direta de sintomas depressivos e maníacos clinicamente significativos na qualidade do sono, optou-se por incluir somente pacientes que preenchessem critérios para eutímia. Apesar de não haver consenso sobre o tema, alguns autores consideram como eutímicos aqueles pacientes estabilizados há pelo menos 1 mês, que não preencheram os critérios para episódio maníaco ou depressivo no mês precedente à entrevista clínica, de acordo com o DSM-IV, e que obtiveram escore inferior a 7 pontos, tanto na YMRS, quanto na HDRS (AMARAL et al., 2006; EIDELMAN et al., 2010b; THOMPSON et al., 2005). Este foi o critério utilizado neste estudo para caracterizar a eutímia. Entre os autores citados acima se observa variância no

ponto de corte das escalas de avaliação do humor adotado para caracterização da eutimia.

Durante o período das avaliações, todos os pacientes com TAB encontravam-se em continuidade de seus esquemas terapêuticos medicamentosos. A avaliação das comorbidades clínicas, reconhecido fator de risco para alterações do sono, foi realizada utilizando-se método descrito em outro estudo que avaliou o sono (WOJNAR et al., 2009). O processo consiste em gerar um escore baseado no número de doenças clínicas apresentadas em cada indivíduo e é utilizado para facilitar a comparação entre grupos e evitar perda de dados por número pequeno de observações (TAYLOR et al., 2007). Para avaliação do uso de álcool considerou-se os critérios para dependência e uso abusivo do DSM-IV-TR. O uso social foi considerado como o uso de bebida alcoólica sem configurar abuso/dependência segundo os critérios do DSM-IV-TR. Por fim, aplicou-se nos dois grupos um instrumento de avaliação do sono para investigar a qualidade do sono e permitir a comparação destes dados entre os grupos.

### **5.3 Avaliação do sono e o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI)**

A qualidade do sono é um importante constructo clínico uma vez que queixas relacionadas ao sono são frequentes na população geral e ocorrem de maneira comórbida com diversas condições médicas crônicas bem como com os transtornos psiquiátricos (BUYSSE et al., 1989). Muito embora a qualidade do sono seja um constructo clínico amplamente aceito e difundido, trata-se de um fenômeno complexo, multifatorial e de difícil mensuração (BUYSSE et al., 1989). Os achados objetivos do laboratório do sono fornecidos pela polissonografia e a actigrafia podem correlacionar-se com a percepção subjetiva da qualidade de sono, mas não conseguem captar a dimensão pessoal da maior ou menor satisfação relacionada ao sono (BUYSSE et al., 1989). Consideram-se os questionários de avaliação do sono como uma medida subjetiva do sono, sendo que a polissonografia é considerada o padrão ouro (TOGEIRO; SMITH, 2005; MONK et al., 1994).

O questionário selecionado para avaliação do sono, neste estudo, foi o Inventário de Qualidade de Sono de Pittsburgh, validado para a língua portuguesa (PSQI-BR – ANEXO G) (BERTOLAZI et al., 2011). A PSQI foi elaborada em 1989 com o objetivo de fornecer uma medida de qualidade de sono padronizada, fácil de ser respondida e interpretada e que discriminasse indivíduos com uma boa qualidade de sono, daqueles com uma baixa qualidade de sono (BUYSSE et al., 1989).

A PSQI acessa a qualidade e alterações do sono em um período de 30 dias. O questionário consiste de 19 questões agrupadas em sete subcomponentes, que produzem um escore em uma escala de 0-3 para cada subcomponente, gerando um escore final de 0-21 pontos (BUYSSE et al., 1989). Os sete subcomponentes correspondem a dimensões específicas relacionadas à qualidade do sono rotineiramente avaliadas em entrevistas clínicas de pacientes com queixas em relação ao sono (BUYSSE et al., 1989). São eles:

1. Qualidade subjetiva do sono (0-1 normal; 2-3 alterada);
2. Latência do sono (0- normal; 1-3 alterada);
3. Duração do sono (0- normal; 1-3 alterada);
4. Eficiência habitual do sono (0- normal; 1-3 alterada);
5. Distúrbios do sono (0- normal; 1-3 alterada);
6. Uso de medicação para o sono (0- normal; 1-3 alterada);
7. Disfunção diurna (0- normal; 1-3 alterada).

As pontuações obtidas nos sete subcomponentes são somadas e geram um escore global. Valores maiores que 5 no escore global indicam uma baixa qualidade do sono. Quanto maior a pontuação no escore global, pior a qualidade do sono. A validade da PSQI foi avaliada pelo poder do instrumento em discriminar indivíduos controle de grupos com acometimento da qualidade do sono. O grupo controle diferiu dos outros grupos tanto no escore global como no escore dos sete subcomponentes (BUYSSE et al., 1989).

Desde sua elaboração, a PSQI tem sido amplamente utilizada para medir a qualidade do sono em diferentes grupos de pacientes, desde aqueles com transtornos psiquiátricos e do sono, até aqueles pacientes acometidos por diversos problemas clínicos como diabetes, doença renal crônica, asma, doença de Parkinson e câncer. Sua versão original foi validada para o uso em



várias línguas como o espanhol, alemão, francês, holandês e, recentemente, para o português (BERTOLAZI et al., 2011).

Neste estudo, utilizou-se o escore global da PSQI como variável contínua e categórica para comparação entre os grupos. Posteriormente, com o objetivo de prosseguir com a comparação das variáveis relacionadas ao sono entre os grupos, transformou-se cada um dos sete componentes da PSQI em variáveis categóricas, com seus cortes descritos na página anterior.

#### **5.4 Extração do DNA**

A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Genética Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG a partir das amostras de sangue coletadas em tubos contendo EDTA. Para tal, utilizou-se o método de extração salina, conforme o protocolo a seguir:

- 1- Colocar o sangue em tubo falcon de 50 ml.
- 2- Adicionar 1 volume de solução tampão TMK1 para lavagem do sangue.
- 3- Adicionar 500 µL de Triton-100 para lise celular e agitar bem.
- 4- Centrifugar a 2600 RPM por 15 minutos a 4 °C.
- 5- Desprezar lentamente o sobrenadante e salvar o pellet (sedimento contendo DNA).
- 6- Lavar o pellet adicionando o mesmo volume de solução tampão TMK1 do passo 2 e agitar bem.
- 7- Centrifugar a 1600 RPM por 10 minutos a 4 °C.
- 8- Desprezar o sobrenadante.
- 9- Ressuspender o pellet em 1,600 µL de solução tampão TMK2.
- 10- Adicionar 100 µL de solução SDS 10%.
- 11- Incubar a 55° C no banho-maria por 10-20 minutos.
- 12- Adicionar 900 µL de NaCl saturado.
- 13- Centrifugar a 15500 RPM, por 15 minutos a 4 °C.
- 14- Despejar o sobrenadante em um tubo falcon de 50 ml com 5 ml de etanol 100%.
- 15- Rodar a pipeta de vidro até começar a formar um grumo na pipeta.

- 16-Retirar a pipeta com o DNA e mergulhar em um tubo Falcon de 15 ml com etanol 70% por cerca de 10 minutos.
- 17-Remover a pipeta com o DNA e deixar secar por 10 minutos.
- 18-Ressuspender o DNA em 500  $\mu$ L de TE por 3 minutos.
- 19-Incubar por 2 dias a 55<sup>o</sup> C e armazenar a 4<sup>o</sup> C.

## 5.5 Genotipagem

Alguns polimorfismos foram selecionados para obter uma boa representação do gene candidato. Utilizamos, para tal, polimorfismos de um único par de base que se encontram em alto grau de desequilíbrio de ligação com os polimorfismos que representam. Esses polimorfismos são denominados “tagSNPs”. Os polimorfismos marcadores foram selecionados através do Projeto Internacional Hapmap, respeitando-se algumas variáveis que determinam a representatividade dos mesmos. Os marcadores tagSNPs utilizados e as seqüências alvo dos polimorfismos selecionados estão representados na Tabela 03.

A genotipagem foi realizada através da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real (RT-PCR), utilizando-se a tecnologia *TaqMan*<sup>®</sup> da *AppliedBiosystems*. A RT-PCR realiza a quantificação do DNA ou RNA de maneira mais precisa e com maior reprodutibilidade, porque determina valores na fase exponencial da reação. O sistema *TaqMan*<sup>®</sup> utiliza uma sonda fluorescente para possibilitar a detecção de um produto específico da PCR conforme esse se acumula durante os ciclos da reação.

**Tabela 03- Marcadores genéticos e polimorfismos avaliados do gene *Per3*.**

TagSNP	Seqüência	Função	Posição
rs228697	TATGACCGTTTTCTGCCTGACCCC[G/G]CTGTCTGTCTCTGTTGTCGCCATC	missense	7887579
rs228727	TATGGCACAGTTTGCAGAGAAGTTA[C/T]GTGCCATACGTATTTTAGTCTGCAT	intrônico	7847836
rs228729	CATCCTACGAATGCACCAGGACTCA[C/T]ACAAGCAGCCAGAGGAGTGGTCAGT	intrônico	7845695
rs707467	TTTCAGTTAGTCTGAAGTGGGGCG[A/C]AGGTGGGGAGAACAGATTATTTTTT	intrônico	7861684
rs10462020	GGTTACAGCAGCACCATTGTCCATG[G/T]CCCACCCACAGAGACAGGTACCAC	missense	7880683

A RT-PCR foi realizada no aparelho *Stratagene*® Mx3500, do Laboratório de Genética Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG. A discriminação alélica foi realizada pelo *software* MxPro® do aparelho *Stratagene*® Mx3500. A equipe que realizou a genotipagem não teve informações clínicas sobre os pacientes.

## 5.6 Análise Estatística

A análise estatística referente aos dados clínicos foi realizada pelo programa STATA (versão 12.0) da *Statacorp*. Inicialmente, verificou-se a distribuição das variáveis contínuas através do teste de Shapiro-Wilk. Para a comparação das variáveis clínicas e sócio-demográficas entre os grupos caso e controle, foram utilizados os testes qui-quadrado de Pearson para as variáveis categóricas e os testes t de Student ou Mann Whitney para as variáveis contínuas, de acordo com sua distribuição. Considerou-se o nível de significância de 5% para todas as variáveis.

Posteriormente, empregando-se como variável resposta a qualidade do sono medida pela PSQI, foi realizada análise multivariada (regressão logística) que uniu os pacientes dos dois grupos ajustando para as variáveis clínicas e demográficas comuns que foram coletadas tanto no grupo caso quanto no grupo controle. Prosseguindo a investigação da possível influência das variáveis coletadas na qualidade do sono (variável resposta), foi realizado um novo modelo de análise multivariada por regressão logística englobando somente os pacientes com TAB. Para esta análise utilizou-se novamente a qualidade do sono aferida pela PSQI como variável resposta.

Assim, com o objetivo de analisar as possíveis associações das variáveis clínicas relacionadas ao TAB com a variável resposta, os pacientes com TAB foram subdivididos entre aqueles com uma boa qualidade do sono ( $PSQI \leq 5$ ) e aqueles com uma baixa qualidade do sono ( $PSQI > 5$ ). Em ambos os modelos multivariados de regressão logística, aquelas variáveis que assumiram valores de p menores ou iguais a 0,25 na análise univariada foram selecionadas como candidatas para fazerem parte do modelo multivariado. Algumas variáveis que assumiram valores de p maiores que 0,25 foram incluídas no modelo multivariado pela relevância clínica. Em ambos os modelos

considerou-se um nível de significância de 5% para selecionar as variáveis mais significativas até o modelo final. A qualidade do ajuste dos modelos de regressão logística foi avaliada pelo teste qui-quadrado ajustado.

As análises de associação de alelos, genótipos, estimativa de risco determinada pela presença dos polimorfismos (*odds ratio*, OR) e 1000 permutações (teste de correção de falsos positivos – erro tipo I) foram feitas no programa UNPHASED (DUDBRIDGE, 2008a). O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi calculado utilizando o programa HAPLOVIEW 4.1 (BARRETT et al., 2005). O nível de significância considerado foi novamente de 5%.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Análise das características clínicas e sociodemográficas dos grupos caso e controle

Na Tabela 4 estão descritas as variáveis sociodemográficas dos grupos caso e controle. A maior proporção de gênero foi de mulheres em ambos os grupos. Não foram observadas diferenças significativas para a idade e para o gênero.

**Tabela 4- Dados demográficos dos grupos caso e controle.**

Variáveis demográficas	CASO (209)	CONTROLE (213)	P
	Média±dp/% (n)	Média±dp/% (n)	
Idade (anos)	43,4±14,1	45,1±18,3	0,29
≤ 25 anos	12 (25)	15,5 (33)	0,32
> 25 anos	88 (184)	84,5 (180)	
Sexo			
Masculino	31,6 (66)	37,6 (80)	0,19
Feminino	68,4 (143)	62,4 (133)	
Escolaridade (anos)	11,1±3,35	10,8±3,28	<0,01
Estado civil			
Solteiro	45 (94)	28,6 (61)	<0,01
Casado	35,9 (75)	55,4 (118)	
Viúvo	5,7 (12)	7 (15)	
Divorciado	12,4 (26)	5,6 (12)	
Amasiado	1 (2)	3,3 (7)	
Situação empregatícia			
Empregado	19,6 (41)	69,5 (148)	<0,01
Afastado	13,9 (29)	0,9 (2)	
Aposentado	30,1 (63)	11,7 (25)	
Desempregado	33,1 (69)	7,5 (16)	
Outros	3,3 (7)	10,3 (22)	

Ao analisar a variável estado civil observa-se uma diferença significativa entre os grupos. A maior proporção observada foi de solteiros (45%) no grupo caso e casados (55,4%) no grupo controle. A variável situação empregatícia também apresentou diferença significativa entre os grupos. No tocante às variáveis clínicas acessadas nos grupos caso e controle, observa-se que os grupos são comparáveis com relação às variáveis número de doenças clínicas e uso de medicação clínica. No que se refere ao consumo de álcool os grupos divergiram na variável uso atual, sendo este mais frequente no grupo controle. O padrão de uso também divergiu significativamente entre os grupos (Tabela 5).

**Tabela 5- Variáveis clínicas coletadas nos grupos caso e controle.**

Variáveis clínicas	CASO (209)	CONTROLE (213)	P
	% (n)	% (n)	
<b>Nº Doenças clínicas</b>			
Nenhuma	63,6(133)	67,1(143)	0,65
1	20,1(42)	18,8(40)	
2	10,5(22)	9,9(21)	
3	4,8(10)	4,2(9)	
4 ou mais	1,0(2)	0,0(0)	
Medicação Clínica	35,4 (74)	31,1 (66)	0,35
Álcool-atual	33,5 (70)	50,2 (107)	<0,01
<b>Padrão-Consumo</b>			
Uso social	67,1 (47)	100 (107)	<0,01
Uso abusivo	32,9 (23)	0 (0)	
Tabaco	43,1 (90)	12,2 (26)	<0,01
Café	82,8 (173)	75,6 (161)	0,07
<b>Padrão-Consumo</b>			
Só de manhã	36,4 (63)	45,9 (74)	0,07
Várias vezes ao dia	63,6 (110)	54,1 (87)	

Algumas variáveis clínicas relativas somente ao grupo caso foram avaliadas com o objetivo de caracterizar mais detalhadamente a amostra de pacientes com TAB do presente estudo (Tabela 6).

**Tabela 6- Variáveis clínicas coletadas no grupo caso.**

Variáveis clínicas relacionadas ao TAB	CASO (209) média±dp/% (n)
Tipo de diagnóstico psiquiátrico	
TAB Tipo I	79,4 (166)
TAB Tipo II	20,6 (43)
YMRS (escore global)	2,1±1,9
HMRS (escore global)	3,1±1,8
Histórico familiar TAB (Sim)	40,9 (85)
Tempo de doença (anos)	17,9±12,4
Idade do início da doença (anos)	25,4±9,8
Nº de episódios	14,8±11,8
Idade do primeiro episódio maníaco	27,4±10,1
Idade do primeiro episódio depressivo	24,5±11,8
Número de episódios maníacos	7,3±7,9
Número de episódios depressivos	7,3±6,1
Número de internações	6,8±7,5
Sintomas Psicóticos	53,11 (111)
Ciclagem Rápida	18,7 (39)
Tentativas de auto-extermínio	46,4 (97)
Número de tentativas de auto-extermínio	2,4±2,0 (97)
Idade da primeira tentativa de auto-extermínio	28,4 ±10,4 (97)
Tentativa por método violento	34 (33)

A amostra é composta em sua maioria por pacientes que preenchem os critérios do DSM para TAB tipo I (79,4%). Os escores globais médios para as escalas de humor YMRS e HDRS foram de 2,1 e 3,1, respectivamente. O tempo médio de doença e a idade média de início foram respectivamente de 17,9 e 25,4 anos. Aproximadamente metade dos pacientes apresentava pelo uma tentativa de autoextermínio pregressa. Destes, 34% o fizeram utilizando métodos considerados violentos. Ainda com relação às variáveis coletadas somente no grupo caso, as Tabelas 7, 8 e 9 mostram, respectivamente, as comorbidades psiquiátricas de eixo I do DSM-VI-TR, as principais comorbidades e medicações clínicas e os psicofármacos utilizados pelos pacientes com TAB da amostra em estudo. As comorbidades mais prevalentes foram os Transtornos de Ansiedade (Tabela 7).

**Tabela 7- Comorbidades psiquiátricas de eixo I segundo o DSM-IV-TR.**

Comorbidades psiquiátricas	CASO (209)
	% (n)
TAG	23,9 (50)
Pânico	14,4 (30)
Fobias	11,1 (24)
TEPT	4,3 (9)
TOC	2,4 (5)
Transtorno alimentar	2,4 (5)

As prevalências de Hipertensão Arterial, Diabetes e Hipotireoidismo na amostra deste estudo foram, respectivamente, de 23,9%, 9,6% e 13,9% (Tabela 8). Com relação aos psicofármacos utilizados pelos pacientes no momento da avaliação, mais de 50% da amostra tinha prescrição de Carbonato de Lítio (Tabela 9). Mais de 60% dos pacientes apresentava prescrição de benzodiazepínicos. Mais de 20% da amostra utilizava, no momento da avaliação, pelo menos duas medicações para ajudar a dormir.



**Tabela 8- Comorbidades e medicações clínicas mais utilizadas pelo grupo caso.**

Principais comorbidades e medicações clínicas	CASO (209)
	% (n)
HAS	23,9 (50)
DM	9,6 (20)
Hipotireoidismo	13,9 (29)
Anti-hipertensivos	23,9 (50)
Hipoglicemiantes	9,6 (20)
Hormônio tireoidiano	13,4 (28)

**Tabela 9- Psicofármacos utilizados pelos pacientes no momento da avaliação.**

Psicofármacos prescritos	CASO (209)
	% (n)
Lítio	52,2 (109)
Anticonvulsivantes	66,0 (138)
Antipsicóticos atípicos	33,9 (71)
Antipsicóticos típicos	46,4 (97)
Benzodiazepínicos	63,1 (132)
Antidepressivos	23,4 (49)
Medicação específica para sono	
Somente Benzodiazepínicos	41,6 (87)
Benzodiazepínicos + Fenotiazinas	20,5 (43)
Benzodiazepínicos + Imidazopiridina	1,0 (2)
Somente Fenotiazinas	11,5 (24)

A análise das variáveis clínicas e sociodemográficas entre os grupos foi finalizada comparando-se os dados obtidos pela aplicação do questionário de avaliação do sono PSQI. A Tabela 10 apresenta os dados da qualidade do sono obtidos pela aplicação da PSQI nos grupos caso e controle. A análise da Tabela mostra que entre os grupos ocorreram diferenças estatisticamente

significativas em todos os subitens da PSQI assim como em relação ao escore global fornecido pelo questionário.

**Tabela 10- Avaliação da qualidade do sono nos grupos caso e controle acessada pela PSQI.**

Variáveis	CASO (209)	CONTROLE (213)	P
	Média±dp/% (n)	Média±dp/% (n)	
PSQI-Total	10,4±4,4	4,3±2,8	<0,01
≤ 5 (boa)	18,7 (39)	79,3 (169)	<0,01
> 5 (baixa)	81,3 (170)	20,7 (44)	
Qualidade subjetiva do sono			
0-1 (Boa)	17,2 (36)	33,8 (72)	<0,01
2-3 (Má)	82,8 (173)	66,2 (141)	
Latência do sono			
Normal	12 (25)	50,2 (107)	<0,01
Alterada	88 (184)	49,8 (106)	
Duração do sono			
Normal	56,5 (118)	52,6 (112)	<0,01
Alterada	43,5 (91)	47,4 (101)	
Eficiência habitual do sono			
Normal	42,1 (88)	79,3 (169)	<0,01
Alterada	57,9 (115)	20,7 (44)	
Distúrbios do sono			
Ausente	12 (25)	17,4 (37)	<0,01
Presente	88 (184)	82,6 (176)	
Uso de medicação do sono			
Ausente	17,7 (37)	100 (213)	<0,01
Presente	82,3 (172)	0,0 (0)	
Disfunção diurna			
Ausente	16,7 (35)	45,5 (97)	<0,01
Presente	83,3 (174)	54,5 (116)	

## 6.2 Análise multivariada utilizando-se a qualidade do sono como variável resposta

Com o objetivo de melhor entender a influência das variáveis clínicas e sociodemográficas comuns aos grupos caso e controle em relação à qualidade do sono, criou-se um modelo multivariado utilizando-se a mesma como variável resposta. As Tabelas 11 e 12 mostram os modelos inicial e final do modelo de regressão logística realizado. O modelo final permaneceu apenas com a variável TAB, sendo constatada uma *odds ratio* de 16,4 para o grupo caso. Assim, na população deste estudo a condição de portador de TAB aumenta o

risco de apresentar uma baixa qualidade do sono em aproximadamente 16 vezes quando comparado ao grupo controle de maneira independente e significativa.

**Tabela 11- Modelo inicial de regressão logística das variáveis comuns aos grupos caso e controle para a qualidade do sono.**

Variáveis explicativas	Odds Ratio	P	95% (Intervalo de Confiança)	
TAB	16,67	0,00	9,46	29,40
Idade	1,01	0,22	0,99	1,02
Sexo	1,19	0,53	0,68	2,08
Escolaridade	1,05	0,17	0,97	1,14
Estado Civil	0,86	0,28	0,66	1,12
Situação empregatícia	1,15	0,15	0,94	1,40
Álcool atual	0,97	0,95	0,48	1,97
Uso de tabaco	1,26	0,44	0,69	2,31
Uso de café	0,90	0,74	0,48	1,68
Constante	0,05	0,00	0,00	0,39

**Tabela 12- Modelo final de regressão logística das variáveis comuns aos grupos caso e controle para a qualidade do sono.**

Variáveis explicativas	Odds Ratio	P	95% (Intervalo de Confiança)	
TAB	16,4	0,00	9,4	28,6
Constante	0,04	0,00	0,01	0,28

Após a realização do modelo multivariado de regressão logística abrangendo a população caso e controle e a qualidade do sono como variável resposta, aprofundou-se a investigação da possível influência das variáveis clínicas relacionadas ao TAB na qualidade do sono. Para tal, um novo modelo multivariado de regressão logística foi realizado somente no grupo TAB, que foi subdividido de acordo com a qualidade do sono avaliada pela PSQI. Os modelos inicial e final de regressão logística para o grupo de pacientes com TAB estão demonstrados nas Tabelas 13 e 14. Nenhuma variável incluída no modelo inicial permaneceu com significância estatística no modelo final.

**Tabela 13- Modelo inicial de regressão logística das variáveis clínicas relacionadas ao TAB para a qualidade do sono.**

Variáveis explicativas	Odds Ratio	P	95% (Intervalo de Confiança)	
TAB tipo II	1,52	0,35	0,62	3,70
Histórico Familiar	1,18	0,66	0,54	2,54
Tentativas de suicídio	1,44	0,33	0,68	3,02
Doenças clínicas	1,72	0,19	0,76	3,89
TAG	2,31	0,11	0,82	6,48
Pânico	0,91	0,19	0,64	8,33
Lítio	1,52	0,79	0,43	1,87
Medicação para o sono	1,26	0,27	0,71	2,33
Const	1,26	0,66	0,44	3,60

**Tabela 14- Modelo final de regressão logística das variáveis clínicas relacionadas ao TAB para a qualidade do sono.**

Variáveis explicativas	Odds Ratio	P	95% (Intervalo de Confiança)	
TAG	2,46	0,07	0,91	6,70
Const	3,64	0,00	2,49	5,32

### 6.3 Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* entre os grupos caso e controle

Após a realização da comparação entre as variáveis sociodemográficas e clínicas entre os dois grupos, passou-se à avaliação do padrão de distribuição alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* entre os grupos TAB e controle com o objetivo de investigar uma possível associação entre o TAB e gene *Per3*. Abaixo, na Tabela 15, estão detalhados os resultados com relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para os polimorfismos avaliados. A frequência alélica dos polimorfismos rs228727, rs228729 e rs707467 encontra-se dentro do esperado, ao passo que os polimorfismos com valor de  $p \leq 0,05$  (rs228697 e rs10462020) estão fora de equilíbrio. Os valores da menor frequência alélica dos polimorfismos avaliados na população deste estudo e na população caucasiana também estão discriminados na Tabela 15.

**Tabela 15- Equilíbrio de Hardy-Weinberg dos SNP's do gene *Per3*.**

SNP's	P	MAF (%)	MAF CEU (%)
rs228697	0,008	0,07	0,06
rs228727	0,935	0,42	0,45
rs228729	0,702	0,33	0,28
rs707467	0,713	0,24	0,29
rs10462020	0,009	0,29	0,11

A Tabela 16 apresenta os dados da distribuição alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* entre os grupos caso e controle. Não foi encontrada diferença significativa na frequência alélica entre os grupos para os polimorfismos do gene *Per3*. Com relação à distribuição genotípica, o valor p para o polimorfismo rs707467 foi igual a 0,02, assumindo significância estatística. Todavia, após correção pelo teste das 1000 permutações para excluir a possibilidade de um resultado falso positivo, a significância estatística não se manteve para uma associação entre os genótipos do rs707467 e o TAB (valor  $p=0,24$ ). O resultado do teste das 1000 permutações está descrito em **negrito** na Tabela 16 dentro do parêntese ao lado do valor p para o rs707467.

#### **6.4 Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* em pacientes com TAB subdivididos entre aqueles com uma baixa qualidade do sono e aqueles com uma boa qualidade do sono**

Posteriormente à análise de associação genética caso-controle, deu-se seguimento à investigação de uma possível relação entre o gene *Per3* e o TAB através de uma avaliação caso-caso subdividindo-se novamente a população de pacientes com TAB pelo resultado do escore global da PSQI, que discrimina entre boa e baixa qualidade do sono ( $PSQI \leq 5$ ;  $PSQI > 5$ ) (Tabela 17).

**Tabela 16- Frequência de alelos e genótipos do gene *Per3* (TAB/controle).**

SNP	Alelos	TAB	Controle	X <sup>2</sup>	P	OR(95%IC)
rs228697	G*	36(9,14)	25(6,04)	2,78	0,09	1.00 (ref)
	C	358(90,86)	389(93,96)			1,08(0,63-2,77)
	GG	4(2,03)	3(1,45)	2,77	0,25	1.00 (ref)
	GC	28(14,21)	19(9,18)			1,10(0,22-5,50)
CC	165(83,76)	185(89,37)	0,66(0,14-3,03)			
rs228727	A	157(41,98)	179(42,02)	0,00	0,99	1.00 (ref)
	G*	217(58,02)	247(57,98)			1,00(0,75-1,32)
	AA	35(18,72)	37(17,37)	0,31	0,85	1.00 (ref)
	GA	87(46,52)	105(49,30)			0,87(0,50-1,50)
GG	65(34,76)	71(33,33)	0,96(0,54-1,71)			
rs228729	A	140(35,35)	138(32,09)	0,98	0,32	1.00(ref)
	G*	256(64,65)	292(67,91)			0,86(0,64-1,15)
	AA	28(14,14)	21(9,76)	1,88	0,38	1.00(ref)
	GA	84(42,42)	96(44,65)			0,65(0,34-1,24)
GG	86(43,43)	98(45,58)	0,66(0,35-1,24)			
rs707467	T	99(24,75)	100(23,92)	0,07	0,78	1.00(ref)
	G*	301(75,25)	318(76,08)			0,95(0,69-1,31)
	GG	8(4,00)	18(8,61)	7,58	0,02( <b>0,24</b> )**	1.00(ref)
	GT	83(41,50)	64(30,62)			2,91(1,19-7,13)
TT	109(54,50)	127(60,77)	1,93(0,80-4,61)			
rs10462020	T	287(73,21)	286(67,14)	3,6	0,057	1.00(ref)
	G*	105(26,79)	140(32,86)			0,74(0,55-1,01)
	TT	111(56,63)	101(47,42)	3,53	0,17	1.00(ref)
	GT	65(33,16)	84(39,44)			0,70(0,46-1,07)
GG	20(10,20)	28(13,15)	0,64(0,34-1,22)			

\*alelo polimórfico; \*\*Teste das 1000 permutações

**Tabela 17- Frequência alélica e genotípica do gene *Per3* no grupo de pacientes com TAB subdivididos pelo escore global da PSQI.**

SNP	Alelos	Má (>5)	Boa (≤5)	X <sup>2</sup>	P	OR(95%IC)
rs228697	C	301(90,66)	53(91,38)	0,03	0,86	1.00 (ref)
	G*	31(9,33)	5(8,62)			1,09(0,40-2,93)
	CC	139(83,73)	24(82,76)	1,47	0,47	1.00 (ref)
	CG	23(13,86)	5(17,24)			0,79(0,27-2,29)
GG	4(2,41)	0(0)	1,09E+11			
rs228727	A	133(42,63)	23(39,66)	0,17	0,67	1.00 (ref)
	G*	179(57,37)	35(60,34)			0,88(0,49-1,56)
	AA	27(17,95)	7(24,14)	3,39	0,18	1.00 (ref)
	GA	77(46,36)	9(31,03)			21,3(0,72-6,28)
	GG	51(32,69)	13(44,83)			0,98(0,35-2,74)
						(6,62E+10-1,79E+11)**
rs228729	A	119(35,35)	18(32,09)	0,46	0,49	1.00(ref)
	G*	215(64,65)	40(67,91)			0,81(0,44-1,48)
	AA	24(14,37)	3(10,34)	0,46	0,79	1.00(ref)
	GA	71(42,51)	12(41,38)			0,73(0,19-2,84)
GG	72(43,11)	14(48,28)	0,64(0,17-2,43)			
rs707467	T	247(73,51)	50(83,33)	2,81	0,09	1.00(ref)
	G*	89(26,49)	10(16,67)			0,55(0,26-1,14)
	TT	87(51,79)	20(66,67)	4,27	0,11	1.00(ref)
	GT	73(43,45)	10(33,33)			1,67(0,73-3,81)
GG	8(4,76)	0(0)	4,46E+10			
rs10462020	T	241(73,48)	42(70,00)	0,3	0,58	1.00(ref)
	G*	87(26,52)	18(30,00)			0,84(0,46-1,54)
	TT	93(56,71)	16(53,33)	0,34	0,84	1.00(ref)
	GT	55(33,54)	10(33,33)			1,67(0,73-3,81)
	GG	16(9,75)	4(13,33)			
						(3,11E+10-6,41E+10)**

\*alelo polimórfico; \*\* Intervalo de confiança

A Tabela 17 apresenta a frequência de alelos e genótipos dos polimorfismos do gene *Per3* nos dois grupos de pacientes com TAB. Os resultados revelam que não houve diferença significativa entre os dois grupos para nenhum dos polimorfismos avaliados no que se refere tanto à distribuição

alélica quanto à distribuição genotípica quando subdividiu-se o grupo de pacientes com TAB entre aqueles com boa e aqueles com baixa qualidade do sono.



## 7 DISCUSSÃO

A finalidade do presente estudo foi comparar aspectos do sono de pacientes portadores de TAB com um grupo controle e investigar possíveis associações entre polimorfismos de gene *Per3* e o TAB. Este estudo envolveu 422 indivíduos, incluindo 209 pacientes com TAB e 213 indivíduos controle. Do grupo caso, 79,4% da amostra foi composta por pacientes que preenchiam critérios para TAB tipo I, de acordo com os critérios do DSM-IV-TR.

### 7.1 Análise das características clínicas e sociodemográficas dos grupos caso e controle

No que se referem às variáveis sociodemográficas, avaliadas nos grupos caso e controle, os grupos não variaram com relação à idade, seja esta tratada de forma categórica ( $p=0,29$ ) ou contínua ( $p=0,32$ ), e ao gênero, sendo o sexo feminino o gênero mais prevalente nos dois grupos. Essa semelhança entre os grupos é relevante uma vez que existem certas evidências que sugerem que idade e gênero podem influenciar alguns aspectos relacionados ao sono (KANEDA; FURUTA, 2009; ZHANG; WING, 2006). A escolaridade aferida em número de anos estudados apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p<0,01$ ), embora a diferença absoluta observada entre as médias dos dois grupos seja pequena. Assim, observa-se que ambos os grupos obtiveram valores médios superiores a 10 anos de escolaridade, o que pode sugerir que a diferença observada entre os grupos tenha tido pouca influência nos valores da variável resposta, bem como pouca interferência na realização da entrevista e aplicação dos instrumentos desta pesquisa.

Ainda com relação às variáveis sociodemográficas, os grupos também apresentaram diferença significativa para as variáveis estado civil ( $p<0,01$ ) e situação empregatícia ( $p<0,01$ ). Observa-se maior número de solteiros (45%) e desempregados (33%) no grupo de pacientes com TAB, corroborando dados da literatura que demonstram taxas elevadas de desemprego e absenteísmo no TAB, bem como maior proporção de divorciados e solteiros se comparado à população geral (BOWDEN, 2005; DEAN et al., 2004; GOLDBERG; HARROW; GROSSMAN, 1995; HIRSCHFELD et al., 2003; SADOCK; SADOCK, 2007;

SCHOEYEN et al., 2011). Uma recente revisão apontou uma menor escolaridade como preditor de pior desempenho laboral no TAB. (GILBERT; MARWAHA, 2013).

Algumas variáveis clínicas foram coletadas nos dois grupos com a finalidade de melhor caracterizá-los. Os grupos não divergiram com relação ao número de doenças clínicas ( $p=0,65$ ) e ao uso de medicações clínicas ( $p=0,35$ ). A comparabilidade dos grupos para essas variáveis é relevante uma vez que a literatura demonstra que a presença de doenças clínicas crônicas se associa com maiores taxas de alterações e pior qualidade do sono (OHAYON, 2005; TAYLOR et al., 2007). Assim, procurou-se buscar certa semelhança entre os grupos para a variável número de doenças clínicas, já que uma maior taxa de comorbidades clínicas no grupo TAB poderia representar um fator de confusão para a comparação dos dados relativos à qualidade do sono entre os dois grupos. Uma análise futura possível, para compreender melhor a influência das comorbidades clínicas na qualidade do sono em pacientes com TAB, seria formar um grupo de pacientes com TAB sem comorbidades clínicas, para verificar se tal modificação resultaria em algum impacto na comparação da qualidade do sono com o grupo controle ou mesmo com um grupo de pacientes com TAB com comorbidades clínicas. Ainda com relação às comorbidades clínicas, a Tabela 8 descreve aquelas que foram mais prevalentes na amostra de pacientes com TAB deste estudo. Os resultados encontrados estão em acordo com a literatura médica que identifica a Hipertensão Arterial, o Diabetes e o Hipotireoidismo entre as comorbidades clínicas mais comuns em pacientes com TAB (KRISHNAN, 2005; NEWCOMER, 2006).

Os grupos divergiram de forma significativa com relação às variáveis uso de álcool atual ( $p<0,01$ ) e padrão de uso do álcool ( $p<0,01$ ). No grupo controle cerca de 50% dos indivíduos faziam uso de álcool (padrão de uso social), sem, todavia, preencher os critérios do DSM-IV para Transtornos mentais e comportamentais relacionados ao uso de álcool (dependência química/uso abusivo). Por sua vez, no grupo TAB, entre aqueles que faziam consumo de álcool, 32,6% o faziam de forma abusiva, segundo os critérios do DSM-IV. O resultado de maior prevalência de uso abusivo de álcool encontrado na amostra de pacientes com TAB ratifica dados pregressos que evidenciam taxas

elevadas de uso abusivo de álcool em pacientes com TAB (APA, 2000; FARREN; MURPHY; MCELROY, 2014; KRISHNAN, 2005; SIMON et al., 2004).

No grupo de pacientes com TAB a frequência do uso de tabaco foi de 43%, divergindo de forma significativa do grupo controle ( $p < 0,01$ ), taxa comparável à frequência encontrada em outros estudos envolvendo uma amostra de pacientes com TAB (DIAZ et al., 2009; DICKERSON et al., 2013). Assim como o uso de álcool, o uso de tabaco e café pode interferir negativamente em parâmetros relacionados ao sono (BIXLER, 2009; SABANAYAGAM; SHANKAR, 2011; SIN; HO; CHUNG, 2009). Ainda que certamente as variáveis relacionadas ao consumo de álcool ou tabaco possam configurar fatores de confusão para a comparação da qualidade do sono entre os grupos, uma amostra de pacientes com TAB selecionada sem comorbidade com Transtornos relacionados ao uso de álcool ou tabaco seria pouco representativa e tornaria mais difícil a extensão das conclusões deste estudo para as amostras clínicas habituais de pacientes com TAB.

Algumas variáveis clínicas relacionadas à caracterização e evolução longitudinal do TAB foram coletadas no grupo caso, para melhor delinear a amostra em estudo e propiciar investigações de sua possível influência na qualidade do sono (Tabela 6). Ainda que a heterogeneidade seja uma característica fenotípica comum no TAB, para este estudo, buscou-se formar uma amostra composta predominantemente por pacientes com TAB tipo I (79,4%), priorizando neste aspecto a homogeneidade da amostra, uma vez que a seleção dos indivíduos é considerada um dos aspectos mais importantes para a realização de estudos de associação de genética molecular (CRADDOCK; SKLAR, 2013; HATTERSLEY; MCCART, 2005).

Cerca de 50% da amostra apresentou histórico familiar positivo, acima das taxas descritas por alguns estudos pregressos (APA, 2000; MANTERE et al., 2004; ROSA et al., 2008). Nesse item a influência de um possível viés de memória pode ter contribuído para a diferença encontrada. Esse elevado índice de histórico familiar positivo para o TAB é ainda relevante porque um recente estudo encontrou associação entre histórico familiar para transtornos do humor e pior evolução longitudinal no TAB (ANTYPA; SERRETTI, 2013). A variável número de episódios maiores de humor oferece uma estimativa de evolução

longitudinal do transtorno ( $14,8 \pm 11,8$ ), revelando a recorrência das crises apresentadas por estes pacientes. A presença de sintomas psicóticos ao longo da vida foi comparável aos dados existentes na literatura (SUOMINEN et al., 2007). Quase 20% dos pacientes apresentaram a manifestação de ciclagem rápida, valor semelhante às taxas descritas pela literatura (APA, 2000; COYRELL; KELLER, 1992).

Cerca de 46% dos pacientes com TAB da amostra em estudo apresentaram passado de pelo menos uma tentativa de auto-extermínio, valor comparável às taxas descritas na literatura (APA, 2000; DE ABREU et al., 2009; VALTONEN et al., 2005). Destes, 34% o fizeram por métodos considerados violentos ao menos em uma vez. Com referência às comorbidades psiquiátricas acessadas pelo MINI-PLUS, observa-se que os Transtornos de Ansiedade foram os mais prevalentes. As frequências de comorbidades psiquiátricas relatadas na amostra deste estudo são comparáveis às descritas em estudos progressos sobre o tema (KRISHNAN, 2005; MANTERE et al., 2006). A caracterização do comportamento suicida e das taxas de comorbidades psiquiátricas é relevante porque tais parâmetros clínicos se associam com pior funcionamento global e evolução longitudinal no TAB (AZORIN et al., 2009; HAJEK et al., 2005; MCINTYRE et al., 2012).

As informações relativas aos psicofármacos utilizados evidenciaram dados significativos (Tabela 9). Assim, na amostra de pacientes com TAB avaliada, uma quantidade significativa fazia uso de medicações para dormir, sendo que uma considerável parcela destes pacientes fazia uso de mais de um psicofármaco para insônia. Esse dado, isoladamente, poderia ser considerado uma estimativa indireta da alta frequência de alterações do sono vivenciadas por estes pacientes, como será descrito posteriormente. Ao avaliar a relevância destes dados, é preciso ainda considerar que os pacientes estavam em uso corrente das medicações estabilizadoras do humor, que frequentemente são utilizadas à noite e apresentam propriedades sedativas como efeito adverso. No momento da avaliação, por exemplo, 66% dos pacientes tinham prescrição de um anticonvulsivante e 33,9% de um antipsicótico atípico como estabilizador do humor.

Apesar de muitos psiquiatras utilizarem medicações indutoras do sono durante o tratamento de pacientes com TAB, poucos estudos avaliaram o uso e

a segurança destes medicamentos nesta população (PLANTE; WINKELMAN, 2008). Como medida de comparação, um estudo que avaliou a segurança e o uso de hipnóticos não benzodiazepínicos no TAB encontrou prevalência de uso destes medicamentos em 24% dos pacientes da amostra (SCHAFFER et al., 2011). Os dados referentes à frequência de uso de outras medicações indutoras do sono não foram descritas nesse estudo (SCHAFFER et al., 2011). Ainda como comparação, outros estudos que avaliaram o sono de pacientes com TAB em remissão reportaram taxas de 40-77% de prescrição de medicações para indução do sono nas amostras de pacientes avaliadas (BAUER et al., 2009; SALVATORE et al., 2008).

Um dos resultados mais proeminentes deste estudo derivou da comparação dos dados da qualidade do sono aferida pela PSQI entre os grupos caso e controle. Os grupos divergiram de maneira estatisticamente significativa para a qualidade do sono acessada pelo escore global da PSQI, utilizado tanto como variável categórica quanto como variável contínua. Ainda assim, os grupos também foram diferentes para todos os sete subcomponentes do questionário que representam dimensões relevantes da qualidade do sono (BUYSSE et al., 1989). Esses dados são ainda mais expressivos ao se considerar que os pacientes com TAB preencheram os critérios de eutimia ou remissão, estipulados para inclusão no grupo caso.

Dessa maneira, a parcela de 81,3% dos pacientes com TAB que apresentava baixa qualidade do sono (PSQI >5) contrasta com os 20,44% encontrados na população controle. Dados ainda representativos da enorme presença destes distúrbios são as elevadas taxas de alterações da latência do sono (88,0%) e disfunção diurna (83,3%), apresentadas pelos pacientes com TAB. Essas alterações já haviam sido descritas em estudos pregressos que avaliaram pacientes com TAB em remissão (GIGLIO, 2010b; HARVEY et al., 2005; MILLAR; ESPIE; SCOTT, 2004; RITTER et al., 2012).

Ainda com relação aos dados da PSQI, os pacientes com TAB apresentaram maior duração do sono, se comparados ao grupo controle, embora a frequência de alterações da eficiência do sono tenha sido bastante superior no grupo TAB (57,90%). Uma menor eficiência do sono já foi descrita em pacientes com TAB (HARVEY et al., 2005). O resultado de maior duração do sono também já foi encontrado em diversos estudos pregressos de

amostras de pacientes com TAB em remissão, associado ou não com o achado de pior eficiência do sono (BAUER et al., 2009; GRUBER et al., 2009; HARVEY et al., 2005; MILLAR; ESPIE; SCOTT, 2004; RITTER et al., 2012; SALVATORE et al., 2008). A relevância desse achado é que alterações da duração do sono em pacientes com TAB associam-se a maior taxa de recaída, pior qualidade de vida e pior funcionamento global (GRUBER et al., 2009; GRUBER et al., 2011). Uma interpretação aventada para o achado de maior duração do sono, associado ao de baixa eficiência do sono é que os pacientes com TAB permaneceriam mais tempo no leito, desde o momento que deitam para dormir até o momento que finalmente levantam para iniciar as atividades diárias. Este fenômeno poderia ainda ser influenciado pelo fato de pacientes com TAB, por apresentarem maiores taxas de afastamento e desemprego, não precisarem cumprir esquemas rígidos de horários de despertar para o cumprimento das atividades profissionais. Essa hipótese poderia ser testada criando-se um grupo de pacientes com TAB composto somente com indivíduos que estão trabalhando regularmente. Entretanto, a criação de um grupo de pacientes escolhido dessa maneira, poderia gerar um viés de seleção ao indiretamente triar casos mais leves.

Um último dado interessante é observar que o número de pacientes que registrou fazer uso de medicação para dormir no questionário PSQI, que é de autopreenchimento, foi diferente e superior aos dados que foram extraídos sobre uso de psicofármacos na entrevista clínica. Essa diferença pode ser atribuída a fatores como o uso de medicações para insônia não prescritas pelo médico assistente, o uso eventual não diário e a atribuição, por parte dos pacientes, de efeitos sedativos às medicações que faziam parte do esquema terapêutico, mas não haviam sido prescritas primordialmente com a função de indução do sono. Por fim, diversos estudos já descreveram alta prevalência de baixa qualidade do sono em pacientes com TAB em remissão, com taxas que oscilam de 25-83% (BRILL, 2011 et al.; HARVEY et al., 2005; MAYTAL et al., 2007; ROCHA; NEVES; CORREA, 2013). Assim, tomados em conjunto, os resultados advindos da aplicação da PSQI demonstram a intensidade e magnitude de alterações relacionadas ao sono, vivenciadas pelos pacientes com TAB, mesmo durante o período de remissão dos sintomas maiores de humor.

## **7.2 Análise univariada e multivariada dos pacientes com TAB utilizando-se a qualidade do sono como variável resposta**

A complementação da análise inicial com a posterior realização de análise multivariada, na qual a qualidade do sono foi selecionada como variável resposta foi importante porque permitiu reunir evidências para sugerir a provável pouca influência de diversas variáveis independentes que podem interferir em parâmetros relacionados ao sono. Assim, no primeiro modelo realizado, que incluiu toda a população do estudo (grupos caso e controle), inúmeras variáveis que poderiam configurar um fator de confusão para a análise da relação entre o TAB e a qualidade do sono foram, passo a passo, sendo excluídas do modelo de regressão logística por não terem atingido o valor de significância estatística (Tabelas 11 e 12). Essa etapa foi, portanto, importante porque possibilitou verificar que variáveis como idade, gênero, uso de álcool, uso de tabaco, dentre outras, não atingiram o limiar da significância estatística tendo o sono como variável resposta. A variável escolaridade, que divergiu de forma significativa na comparação entre os grupos, também não permaneceu significativa no modelo de regressão logística.

O modelo final relativo aos grupos caso e controle demonstrou ainda que a condição de doença, ou seja, ser portador do Transtorno Bipolar aumentou em aproximadamente 16 vezes a chance de apresentar uma baixa qualidade do sono, aferida pelo questionário PSQI ( $p < 0,01$ ; *Odds Ratio* 16,4). Esse dado confirma os achados que demonstram as vastas alterações nas diversas dimensões da qualidade do sono, evidenciadas pelo presente estudo e por evidências pregressas. Não obstante, sugere ainda que, para a população deste estudo, a qualidade do sono de pacientes com TAB foi pior que a observada no grupo controle de maneira independente dos diversos fatores clínicos e sociodemográficos que poderiam interferir na qualidade do sono. Assim, esse resultado pode sugerir a possibilidade de fatores fisiopatológicos inerentes ao TAB desempenharem um papel de relevância na determinação de aspectos relacionados ao sono destes pacientes.

Um segundo modelo de regressão logística, tendo a qualidade do sono como variável resposta, foi realizado somente no grupo de pacientes com TAB que foi dividido em dois grupos, empregando-se o resultado do escore global

do questionário PSQI (Tabelas 13 e 14). No modelo final restou a variável Transtorno de Ansiedade Generalizada, que não atingiu o valor da significância estatística ( $p=0,07$ ). Assim também ocorreu para todas as outras variáveis clínicas coletadas no grupo caso e incluídas no modelo. Em conjunto com os resultados do primeiro modelo de regressão logística, realizado para toda a população do estudo (caso/controle), esses resultados podem reforçar a hipótese de que fatores fisiopatológicos subjacentes ao TAB possuam papel relevante na determinação final de algumas características do sono destes pacientes.

### **7.3 Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* entre os grupos caso e controle**

Após a investigação das relações entre as diversas variáveis clínicas e sociodemográficas e a qualidade do sono, passou-se para a avaliação de possíveis associações entre polimorfismos de gene *Per3* e o TAB. Dos cinco polimorfismos avaliados neste estudo, os SNP's rs228697 ( $p=0,008$ ) e rs10462020 ( $p=0,009$ ) apresentaram desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg ao nível de significância de 5% (Tabela 15). Diversas hipóteses podem ser lançadas para tentar compreender os desvios do EHW encontrados em estudos de associação genética. Uma das possibilidades mais prováveis refere-se a características relacionadas à estratificação e seleção das amostras (ZINTZARAS, 2010). A estratificação populacional decorre de diferenças entre grupos de distintas origens étnicas (WITTKÉ-THOMPSON; PLUZHNIKOV; COX, 2005). Pelo menos para o rs10462020, a diferença observada entre a menor frequência alélica (MAF) da amostra deste estudo e a MAF observada na população caucasiana (Tabela 15), segundo dados do projeto *Hapmap*, poderia reforçar a hipótese de estratificação da amostra. Além disso, a população brasileira apresenta considerável grau de miscigenação (FAUSTO, 1999), o que poderia contribuir decisivamente para os desvios de EHW encontrados. Nesse sentido, seria interessante comparar, por exemplo, as MAF dos polimorfismos do gene *Per3* de populações de pacientes com TAB de diversas regiões do país para investigar se ocorreriam diferenças significativas nas MAF's em distintas populações de casos.



Outras hipóteses também foram lançadas para tentar explicar os EHW eventualmente encontrados nos estudos genéticos. Alguns autores sugerem que o desvio do EHW possa ser exatamente a evidência de uma associação genética, ou seja, o desvio poderia representar exatamente um possível papel dos genes na predisposição à doença (BALDING, 2006; HOLLENBACH et al., 2009; NIELSEN; EHM; WEIR, 1998; WITTKKE-THOMPSON; PLUZHNIKOV; COX, 2005). Outra proposta sugerida por um estudo progresso seria utilizar valores menos rígidos para descartar desvios somente ao nível de significância de 0,001 ou 0,0001 (Balding, 2006). Um estudo recente demonstrou a existência de regiões do genoma humano que apresentam desvios do EHW, o que poderia também ser uma razão para os desvios encontrados na amostra do estudo (VINE; CURTIS, 2009).

A análise da distribuição alélica e genotípica dos cinco polimorfismos do gene *Per3* avaliados neste estudo não demonstrou evidência de associação genética com o TAB (Tabela 16). Os grupos caso e controle não divergiram na frequência alélica para nenhum dos SNP's do gene *Per3*. Na análise da distribuição genotípica o rs707467 apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,02$ ). Entretanto, após correção por múltiplos testes para exclusão de um resultado falso-positivo a associação perdeu significância estatística ( $p=0,24$ ).

#### **7.4 Análise da distribuição genotípica dos polimorfismos do gene *Per3* em pacientes com TAB subdivididos entre aqueles com uma baixa qualidade do sono e aqueles com uma boa qualidade do sono**

Após a realização do estudo caso-controle de associação genética, partiu-se para a avaliação de uma possível associação entre os polimorfismos do gene *Per3* e uma baixa qualidade do sono em pacientes com TAB. Nesta análise o grupo caso foi novamente dividido entre aqueles com boa e baixa qualidade de sono a partir do escore global do questionário PSQI (Tabela 17). O objetivo era ampliar a análise genética caso-caso utilizando subfenótipos em alternativa ao tradicional delineamento caso-controle para melhorar o poder de força estatística, como sugerem alguns autores (MCCARTHY et al., 2012b; NURNBERGER, 2012). Novamente não houve diferença estatisticamente

significativa, tanto para as frequências alélicas quanto para as frequências genotípicas entre os grupos de boa e baixa qualidade do sono.

## 7.5 Considerações finais

Algumas apreciações finais ainda são necessárias acerca do presente estudo. Os resultados de alta prevalência de baixa qualidade do sono em pacientes com TAB encontrados neste estudo, associados às evidências pregressas que vêm se acumulando nesse mesmo sentido, bem como às evidências de diversas outras alterações e sintomas residuais durante a fase de remissão do TAB, parecem ir estabelecendo um consenso acerca da necessidade de monitorar e investigar essas alterações durante o seguimento clínico dos pacientes no período interepisódico. Mais ainda, as evidências de que os diversos sintomas residuais ou subsindrômicos associam-se com pior funcionamento global e aumento de recaídas reforçam essa necessidade. Todavia, as principais classificações diagnósticas psiquiátricas não contemplam em seu texto, com a devida complexidade, as características clínicas do referido período de eutimia, remissão de sintomas ou interepisódico do TAB (APA, 2000). Dessa forma, a mais recente revisão do DSM, na sua quinta edição, não trouxe avanços nesse aspecto, pois assim como o DSM-IV-TR, faz apenas breve menção ao período de eutimia (ANGST, 2013). Assim, uma vez que ao longo da última década os achados da enorme frequência de diversos sintomas residuais durante a fase de eutimia e das importantes consequências prognósticas dos mesmos acumularam-se, (OLLEY et al., 2005; SACHS, 2003), a última revisão do DSM poderia ter sido uma boa oportunidade para incorporar esses conhecimentos já consolidados ao texto referente ao TAB de maneira mais abrangente, como alguns protocolos clínicos já o fazem (MCINTYRE et al., 2012).

Com relação às questões terapêuticas, embora este estudo e as evidências pregressas demonstrem que uma parcela significativa de pacientes com TAB em remissão faça uso contínuo de medicações para indução do sono, de forma associada aos medicamentos estabilizadores do humor, existe uma grande escassez de estudos que guiem a conduta dos psiquiatras com

relação à forma e efetividade do uso desses medicamentos (PLANTE; WINKELMAN, 2008).

Diversos pesquisadores postulam que a vulnerabilidade ao TAB seria de natureza poligênica complexa e que os múltiplos alelos de susceptibilidade apresentariam efeitos relativos pequenos (CRADDOCK; SKLAR, 2013). Entretanto, além das variações individuais de sequência de bases de nucleotídeos de DNA, vários outros aspectos podem conferir aumento do risco para o TAB, incluindo variações genômicas estruturais (CNV's), variações de DNA mitocondrial e interações gênicas e epigenéticas (CRADDOCK; SKLAR, 2013). Assim, a falha em replicar resultados positivos de pesquisas anteriores em relação ao gene *Per3* pode estar relacionada com a composição da população de cada estudo e coincide com as evidências progressas que sugerem que o efeito individual de cada gene na determinação da vulnerabilidade ao TAB seja pequeno e acabe, portanto, não atingindo o nível de significância estatística (CRADDOCK; SKLAR, 2013).

Outro aspecto relevante refere-se às recentes evidências de que a regulação do sistema circadiano seria bem mais complexa do que inicialmente aventada (UEDA et al., 2005; ZHANG et al., 2009). Além dos genes envolvidos diretamente na regulação central do sistema circadiano (*Clock*, *Arntl1*, *Cry1*, *Cry2*, *Per1*, *Per2*, *Per3*), descrita anteriormente, novas evidências sugerem que centenas de genes desempenham funções relevantes para o funcionamento intrincado do sistema de regulação circadiano (MCCARTHY et al., 2012b). Deste modo, é possível que alterações acumuladas em um conjunto numericamente maior de genes denominados circadianos e que funcionam de maneira integrada configurem um fator de vulnerabilidade ao TAB (KRIPKE et al., 2009; SORIA et al., 2010).

A utilização de técnicas capazes de incorporar em uma mesma análise alguns dos fatores genéticos relacionados à vulnerabilidade ao TAB citados anteriormente poderá trazer avanços na compreensão do risco de desenvolver o transtorno (NURNBERGER, 2012). Estudos de genômica funcional convergente e análise de *pathway* tentam transpor essa dificuldade ao integrar achados biológicos de diversas fontes aos resultados genéticos advindos dos estudos GWAS (MCCARTHY et al., 2012; PATEL et al., 2010). Assim, ao invés de analisar a associação de um gene individualmente, que poderia não atingir o

limiar de significância, estes estudos avaliam conjuntos de genes implicados em uma mesma via fisiológica funcionalmente relacionada à doença estudada. Recentemente alguns estudos deste tipo que avaliaram em conjunto vários genes envolvidos na regulação do sistema circadiano encontraram resultados positivos de associação com o TAB (LE-NICULESCU et al., 2009b; MCCARTHY et al., 2012b; PATEL et al., 2010). Dessa maneira, é possível que essas novas metodologias consigam melhor traduzir a natureza poligênica de vulnerabilidade ao TAB.

Além das limitações relacionadas à capacidade dos estudos de associação caso-controle envolvendo um único gene candidato para a investigação da vulnerabilidade às doenças de herança genética complexa, comentadas no último parágrafo, diversas outras limitações devem ser consideradas ao avaliar os resultados deste estudo. A PSQI avalia a qualidade do sono e sua utilização é ampla tanto no contexto clínico quanto na pesquisa científica (Bertolazi et al., 2011). Entretanto, uma das principais limitações deste estudo envolve a baixa capacidade da PSQI em captar, na sua complexidade, os diversos aspectos relacionados ao fenômeno denominado de sono ou ciclo sono-vigília. Isso decorre, entre outras razões, do fato da PSQI ser considerada um parâmetro subjetivo de avaliação do sono. Além disso, por avaliar o sono no período referente aos últimos 30 dias, não é possível excluir a interferência de um viés de memória. Adicionalmente, ao captar um comportamento médio, o instrumento não reúne informações sobre a variabilidade das características do sono dia após dia, que poderia ser melhor captado por um diário do sono. Entretanto, apesar dos questionários serem considerados parâmetros subjetivos do sono, algumas evidências demonstraram relativa correlação destes com parâmetros objetivos aferidos pela actigrafia e polissonografia em amostras de pacientes com TAB (KAPLAN et al., 2012).

Ainda quanto ao estudo das características do sono, neste trabalho buscou-se controlar por variáveis que poderiam configurar possíveis fatores de confusão para a avaliação do sono. O sono é considerado uma variável complexa e multifatorial de difícil mensuração uma vez que diversos fatores de risco para alterações do sono podem influenciar sua análise (BUYSSE et al., 1989). Os resultados advindos do modelo de regressão logística demonstraram

que, para a população deste estudo, diversos possíveis fatores de confusão para a avaliação do sono foram excluídos do modelo por não terem atingido o limiar de significância.

Outro aspecto relevante no controle dos possíveis fatores de confusão foi a investigação do número de doenças clínicas. A metodologia utilizada neste estudo mostrou-se adequada uma vez que os grupos não divergiram com relação a essa variável. Todavia, algumas condições clínicas que afetam negativamente o sono não foram acessadas neste estudo. Uma delas foi a Síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS), pois seria necessária a realização de avaliação polissonográfica em todos os participantes do estudo, para confirmação do diagnóstico. Uma possibilidade futura para tentar reduzir o impacto dessa limitação seria utilizar um questionário de triagem para a SAOS como medida indireta do risco para a mesma.

Não é possível excluir, dos resultados da qualidade do sono encontrados no grupo caso, os efeitos dos diversos psicofármacos utilizados pelos pacientes no momento da avaliação. Entretanto, construir um grupo de pacientes com TAB livre de medicação seria antiético e tornaria difícil a extensão dos resultados encontrados neste grupo artificial para as populações clínicas de pacientes com TAB, que se encontram em tratamento medicamentoso convencional. Por fim, não é possível excluir totalmente a influência de possíveis desestabilizações do humor subsindrômicas ou iniciais na qualidade do sono dos pacientes com TAB, ainda que se tenha buscado uma caracterização da eutímia ou remissão de sintomas, por meio de critérios descritos em outros estudos (EIDELMAN, 2010b). Uma revisão recente menciona a ausência de consenso entre os pesquisadores com relação aos critérios para caracterização da eutímia, que podem variar substancialmente de um estudo para outro (ROBILLARD, NAISMITH, HICKIE, 2013).

Possíveis contribuições futuras para o seguimento desta pesquisa incluem o contínuo aumento da amostra de casos e análise de mais genes relacionados à regulação da via fisiológica do sistema circadiano, assim como a interação gênica entre eles. Além disso, é possível ainda aprofundar a análise genética caso-caso através da investigação da possível associação de polimorfismos do gene *Per3* com subdimensões da qualidade do sono e também com variáveis clínicas relacionadas ao TAB.

Avaliações clínicas interessantes também podem ser realizadas, como a comparação do sono entre pacientes com TAB tipo I e tipo II, para verificar se esses grupos possuem características diferentes com relação à qualidade do sono. Os resultados advindos dessa comparação seriam particularmente interessantes uma vez que a maior parte dos estudos atuais sobre aspectos do sono no TAB tem amostras compostas simultaneamente por pacientes dos dois subtipos. Outra possibilidade seria realizar estudos com um menor número de indivíduos sendo possível, assim, melhorar o pareamento para diversos fatores de confusão e investigar mais profundamente as variáveis relacionadas ao sono através da actigrafia, da pesquisa de cronotipos, dos ritmos sociais e dos ritmos circadianos. O seguimento destes pacientes com avaliações seriadas possibilitaria ainda inferências temporais, uma vez que forneceria dados prospectivos que não estão disponíveis em estudos transversais como este.

Alternativamente, os dados relativos à qualidade do sono poderiam também ser correlacionados com dados relativos a aspectos neuropsicológicos que foram coletados em uma parcela da amostra, uma vez que estudos recentes passaram a sugerir que as alterações do sono possam contribuir, em parte, para as disfunções cognitivas apresentadas pelos pacientes com TAB, mesmo no período interepisódico do transtorno (BOLAND; ALLOY, 2013).

## 8 CONCLUSÃO

Este trabalho tratou da caracterização da qualidade do sono de uma amostra de pacientes com TAB e de estudo genético de associação do tipo caso-controle envolvendo o gene *Per3*. Este estudo confirmou parcialmente a proposta delineada no objetivo principal ao ficar demonstrada uma alta prevalência de baixa qualidade do sono em pacientes com TAB em eutímia, se comparados ao grupo controle. Entretanto, não foram encontradas evidências de associação genética entre os polimorfismos do gene *Per3* e o TAB, como também entre os polimorfismos do referido gene e uma baixa qualidade do sono. Na comparação dos grupos caso e controle com relação à qualidade de sono demonstrou-se que os pacientes com TAB apresentam alterações em diversas dimensões da qualidade do sono e que a condição de portador do transtorno aumenta em até 16 vezes a chance de apresentar uma baixa qualidade do sono, se comparado ao grupo controle. Esses dados confirmam resultados pregressos que demonstram que diversas alterações do sono estão presentes mesmo durante o período interepisódico do TAB.

Apesar das diversas limitações do estudo, os resultados parecem demonstrar a enorme frequência de alterações do sono no TAB e revelam a importância de monitorar e abordar esses sintomas no seguimento clínico desses pacientes mesmo durante o período interepisódico. A ausência de associação entre os polimorfismos do gene *Per3* e o TAB na população deste estudo, ao lado dos dados pregressos que reportam resultados positivos e negativos para essa associação, pode suscitar questionamentos acerca do possível envolvimento do gene *Per3* na neurobiologia do transtorno. São necessários mais estudos envolvendo um número amplo de pacientes que avaliem, de forma integrada, dados de expressão gênica, de interações gene-gene e epigenéticas, para acessar o possível envolvimento da via fisiológica do sistema circadiano na vulnerabilidade ao TAB. Assim, a continuidade da pesquisa, agregando dados clínicos e genéticos, pode contribuir para a elucidação de mecanismos fisiopatológicos subjacentes que possibilitem avanços para uma melhor compreensão do TAB, na busca de soluções que amenizem as limitações, o sofrimento e o custo social impostos pelo transtorno psiquiátrico em questão.

## REFERÊNCIAS

ABE, H. et al. Clock gene expressions in the suprachiasmatic nucleus and other areas of the brain during rhythm splitting in mice. **Molecular Brain Research**. v. 87, p. 92-99, 2001.

ADLI, M. et al. Response to Lithium Augmentation in Depression is Associated with the Glycogen Synthase Kinase 3-Beta \_50T/C Single Nucleotide Polymorphism. **Biological Psychiatry**. v. 62, n. 11, p. 1295-1302, 2007.

AHN, Y.M. et al. Chronotype distribution in bipolar I disorder and schizophrenia in a Korean sample. **Bipolar Disorders**. v. 10, p. 271–275, 2008.

AKHTER, A. et al. Seasonal variation of manic and depressive symptoms in bipolar disorder. **Bipolar Disorders**. v. 15, n. 4, p. 377-384, 2013.

ALBRECHT, U. Regulation of mammalian circadian clock genes. **Journal of Applied Physiology**. v. 3, p. 1348-1355, 2002.

ALOÉ, F.; AZEVEDO, A.P.; RASAN, R. Mecanismos do ciclo sono-vigília. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 27, Supl. I, p. 33-39, 2005.

AMARAL, J. A. DE M. S. et al. A HMRS study of the anterior cingulate gyrus in euthymic bipolar patients. **Human Psychopharmacology Clinical and Experimental**. v. 21, p. 215-220, 2006.

AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION, APA. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 4. ed. (DSM-IV-TR) Washington DC, 2000.

AMIR, S. et al. A role for serotonin in the circadian system revealed by the distribution of serotonin transporter and light-induced Fos immunoreactivity leaflet. **Neuroscience**. v. 84, p. 1059–1073, 1998.

AMORIM, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 22, n. 3, p. 106-115, 2000.

ANDREAZZA, A, C.; YOUNG, L. T. The neurobiology of bipolar disorder: identifying targets for specific agents and synergies for combination treatment. **International Journal of Neuropsychopharmacology**. 2013. [artigo aceito para impressão]

ANGELIS, G. et al. Comparative study between the perception of quality of sleep and quality of life, depressive and anxiety symptoms in euthymic bipolar disorder. **Neurobiologia**. V. 73, n. 3, p. 31-44, 2010.

ANGST, F. et al. Mortality of patients with mood disorders: follow-up over 34–38 years. **Journal of Affective Disorders**. v. 68, p. 167–181, 2002.



ANGST, J. Bipolar disorders in DSM-5: strengths, problems and perspectives. **International Journal of Bipolar Disorders**. v. 1, n. 12, p. 1-3, 2013.

ANKERS, D.; JONES, S.H. Objective assessment of circadian activity and sleep patterns in individuals at behavioural risk of hypomania. **Journal of Clinical Psychology**. v. 65, p. 1071–1086, 2009.

ANOKHIN, P. K. **Biology and neurophysiology of the conditioned reflex and its role in adaptive behavior**. Oxford, Pergamon Press, 1974.

ANSORGE, W.J. Next-generation DNA sequencing techniques. **New Biotechnology**. v. 25, p. 195–203, 2009.

ANTYPA, N.; SERRETTI, A. Family history of a mood disorder indicates a more severe bipolar disorder. **Journal of Affective disorders**. 2013. [artigo aceito para impressão]

ARCHER, S. N. et al. A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference. **Sleep**. v. 26, p. 413-415, 2003.

ARTIOLI, P. et al. How do genes exert their role? Period3 gene variants and possible influences on mood disorder phenotypes. **European Neuropsychopharmacology**. v. 17, p. 587-594, 2007.

ASCHOFF, J. Circadian timing. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 423, p. 442-468, 1984.

ASCHOFF, J. **Handbook of Behavioral Neurobiology-Biological Rhythms**. New York, Plenum Press, 1981.

ASERINSKY, E.; KLEITMAN, N. Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. **The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences**. v. 15, p. 454-455, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10520**: Informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ASTON-JONES, G. et al. A neural circuit for circadian regulation of arousal. **Nature Neuroscience**. v. 4, p. 732-738, 2001.

- ATKINSON, G.; REILLY, T. Circadian variation in sports performance. **Sports Medicine**. v. 21, n. 4, p. 292-312, 1996.
- ATKINSON, M.; KRIPKE, D.F.; WOLF, S.R. Autorhythmometry in manic-depressives. **Chronobiologia**. v. 2, p. 325-335, 1975.
- AYDIN, A. et al. Mood and metabolic consequences of sleep deprivation as a potential endophenotype in bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 150, 284-294, 2013.
- AZORIN, J. M. et al. Risk factors associated with lifetime suicide attempts in bipolar I patients: findings from a French National Cohort. **Comprehensive Psychiatry**. v. 50, n. 2, p. 115-120, 2009.
- BACK, F. A. et al. Sincronização não-fótica: o efeito do exercício físico aeróbio. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 13, p. 138-142, 2007.
- BADNER, J. A. et al. Genome-wide linkage analysis of 972 bipolar pedigrees using single-nucleotide polymorphisms. **Molecular Psychiatry**. v. 17, p. 818–826, 2012.
- BADNER, J. A.; GERSHON, E. S. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. **Molecular Psychiatry**. v. 7, p. 405-411, 2002.
- BAILEY, J. A.; EICHLER, E.E. Primate segmental duplications: crucibles of evolution, diversity and disease. **Nature Reviews Genetics**. v. 7, p. 552-564, 2006.
- BALDESSARINI, R. J. et al. Antidepressant-associated mood switching and transition from unipolar major depression to bipolar disorder: A review. **Journal of Affective Disorders**. v. 148, p. 129-135, 2013.
- BALDING, D. J. A tutorial on statistical methods for population association studies. **Nature Reviews. Genetics**. v. 7, p. 781-793, 2006.
- BARBINI, B. et al. Dark therapy for mania: a pilot study. **Bipolar Disorders**. v. 7, n. 1, p. 98-101, 2005.
- BARCLAY, N. L. et al. Diurnal preference and sleep quality: same genes? A study of young adult twins. **Chronobiology International**. v. 27, p. 278–296, 2010.
- BARNETT, J.H.; SMOLLER, J.W. The genetics of bipolar disorder. **Neuroscience**. v. 164, p. 331-343, 2009.
- BARRETT, J. C. et al. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics (Oxford, England)**. v. 21, n. 2, p. 263–265, 2005.

BAUER, M. et al. Comparison of sleep/wake parameters for self-monitoring bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 116, n. 3, p. 170-175, 2009.

BAUER, M. et al. Temporal relation between sleep and mood in patients with bipolar disorder. **Bipolar Disorders**. v. 8, p. 160-167, 2006.

BAUM, A. E. et al. A genome-wide association study implicates diacylglycerol kinase eta (DGKH) and several other genes in the etiology of bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**. v. 13, p. 197-207, 2008a.

BAUM, A. E.; et al. Meta-analysis of two genome-wide association studies of bipolar disorder reveals important points of agreement. **Molecular Psychiatry**. v. 13, p. 466-467, 2008b.

BELMAKER, R. H. Bipolar disorder. **New England Journal of Medicine**. v. 351, p. 476-486, 2004.

BELMONTEMAHON, P. et al. Genome-wide association analysis of age at onset and psychotic symptoms in bipolar disorder. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 156B, n. 3, p. 370-378, 2011.

BENAZZI, F. Bipolar disorder – focus on bipolar II disorder and mixed depression. **Lancet**. v. 369, n. 9565, p. 935-945, 2007.

BENEDETTI, F. et al. A glycogen synthase kinase 3-beta promoter gene single nucleotide polymorphism is associated with age at onset and response to total sleep deprivation in bipolar depression. **Neuroscience Letters**. v. 368, n. 2, p. 123-126, 2004a.

BENEDETTI, F. et al. A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 influences age at onset of bipolar disorder. **Neuroscience Letters**. v. 445, p. 84-187, 2008.

BENEDETTI, F. et al. A single nucleotide polymorphism in glycogen synthase kinase 3-beta promoter gene influences onset of illness in patients affected by bipolar disorder. **Neuroscience Letters**. v. 355, n. 1-2, p. 37-40, 2004b.

BENEDETTI, F. et al. Actimetric evidence that CLOCK 3111 T/C SNP influences sleep and activity patterns in patients affected by bipolar depression. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 144, n. 5, p. 631-635, 2007.

BENEDETTI, F. et al. Influence of CLOCK Gene Polymorphism on Circadian Mood Fluctuation and Illness Recurrence in Bipolar Depression. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**. v. 123B, p. 23-26, 2003.

BENEDETTI, F. et al. Long-term response to lithium salts in bipolar illness is influenced by the glycogen synthase kinase 3-beta -50 T/C SNP.

**Neuroscience Letters**. v. 376, n. 1, p. 51-55, 2005.

BERGEN, S. E. et al. Genome-wide association study in a Swedish population yields support for greater CNV and MHC involvement in schizophrenia compared with bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**. v. 17, n. 9, p. 880-886, 2012.

BERTOLAZI, A.N. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. **Sleep Medicine**. v. 12, n. 1, p. 70-75, 2011.

BERTSCH, B. et al. Convergent functional genomics: a Bayesian candidate gene identification approach for complex disorders. **Methods**. v. 37, p. 274-249, 2005.

BIXLER E. Sleep and society: an epidemiological perspective. **Sleep Medicine**. v. 10, Supl. 1, p. S3-6, 2009.

BIXLER, E. O. et al. Insomnia in central Pennsylvania. **Journal of Psychosomatic Research**. v. 53, p. 589-592, 2002.

BOLAND, E. M.; ALLOY, L. B. Sleep disturbance and cognitive deficits in bipolar disorder: Toward an integrated examination of disorder maintenance and functional impairment. **Clinical Psychology Review**. v. 33, p. 33-44, 2013.

BOND, D. J. et al. Antidepressant-associated mood elevations in bipolar II disorder compared with bipolar I disorder and major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 69, n. 10, p. 1589-1601, 2008.

BOSLER, O. Ultrastructural relationships of serotonin and GABA terminals in the rat suprachiasmatic nucleus. Evidence for a close interconnection between the two afferent systems. **Journal of Neurocytology**. v.18, p. 105–113, 1989.

BOSLER, O.; BEAUDET, A. VIP neurons as prime synaptic targets for serotonin afferents in rat suprachiasmatic nucleus: a combined radioautographic and immunocytochemical study. **Journal of Neurocytology**. v. 14, p. 749–763, 1985.

BOUWKAMP, C. G. et al. Interpersonal and social rhythm group therapy for patients with bipolar disorder. **International Journal of Group Psychotherapy**. v. 63, n.1, p. 97-115, 2013. C

BOWDEN, C. L. Bipolar disorder and work loss. **American Journal of Managed Care**. v. 11, n. (3 Suppl), p. S91–S94, 2005.

BRIETZKE, E. et al. Towards a multifactorial approach for prediction of bipolar disorder in at risk populations. **Journal of Affective Disorders**. v. 140, p. 82-91, 2012.

BRILL, S. et al. Sleep disturbances in euthymic bipolar patients. **Annals of Clinical Psychiatry**. v. 23, n. 2, p. 113-116, 2011.

BROWER, K. J. et al. PER3 gene polymorphism and insomnia severity in alcohol dependence. **Sleep**. v. 35, n. 4, p. 571-577, 2012.

BUDNIK, V.; SALINAS, P. C. Wnt signaling during synaptic development and plasticity. **Current opinion in neurobiology**, v. 21, n. 1, p. 151–9, 2011.

BULLOCK, B.; JUDD, F.; MURRAY, G. Social rhythms and vulnerability to bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 135, n. 1–3, p. 384-348, 2011.

BUNNEY, W. E.; BUNNEY, B. G. Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression. **Neuropsychopharmacology**. v. 22, n. 4, p. 335-345, 2000.

BUYSSE, D.J. et al. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. **Psychiatry Research**. v. 28, n. 2, p. 193-213, 1989.

CAGAMPANG, F. R. et al. Serotonin in the raphe nuclei: regulation by light and an endogenous pacemaker. **Neuroreport**. v. 5, p. 49–52, 1993.

CAGAMPANG, F. R.; INOUE, S, T. Diurnal and circadian changes of serotonin in the suprachiasmatic nuclei: regulation by light and an endogenous pacemaker. **Brain Research**. v. 639, p. 175–179, 1994.

CALKIN, C. V. et al. The relationship between bipolar and type 2 diabetes: more than just co-morbid disorders. **Annals of Medicine**. v. 45, n. 2, p. 171-181, 2013.

CAMPBELL, S. S. et al. Lithium delays circadian phase of temperature and REM sleep in a bipolar depressive: a case report. **Psychiatry Research**. v. 27, n. 1, p. 23-29, 1989.

CARLSON, G.; STROBER, M. Affective disorders in adolescence. **Psychiatric Clinics of North America**. v. 2, p. 511-526, 1979.

CASPER, R.C. et al. Somatic symptoms in primary affective disorder: presence and relationship to the classification of depression. **Archives of General Psychiatry**. v. 42, p. 1098-1104, 1985.

CASSIDY, F. et al. Signs and symptoms of mania in pure and mixed episodes. **Journal of Affective Disorders**. v. 50, p. 187-201, 1998.

CHEN, D. T. et al. Genome-wide association study meta analysis of European and Asian-ancestry samples identifies three novel loci associated with bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**. v. 18, n. 2, p. 185-195, 2013.

CHUANG, L. C. et al. Pathway analysis using information from allele-specific gene methylation in genome-wide association studies for bipolar disorder. **PLoS One**. v. 8, n. 1, p. e53092, 2013.

CHUNG, F. Screening for obstructive sleep apnea syndrome in the preoperative patients. **The Open Anesthesiology Journal**. v. 5, n. 1-M2, p. 7-11, 2011.

CICHON, S. et al. A genome screen for genes predisposing to bipolar affective disorder detects a new susceptibility locus on 8q. **Human Molecular Genetics**. v. 10, p. 2933-2944, 2011.

CICHON, S. et al. Genome-wide association study identifies genetic variation in neurocan as a susceptibility factor for bipolar disorder. **American Journal of Human Genetics**. v. 88, p. 372–381, 2011.

CLAY, H. B.; SILLIVAN, S.; KONRADI, C. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. **International Journal of Developmental Neuroscience**. v. 29, p. 311-324, 2011.

CLAYTON, P.J; PITTIS, F.N.Jr. Affect disorder, IV: Mania. **Comprehensive Psychiatry**. v. 6, p. 313-322, 1965.

COLOMBO, C. et al. Rate of switch from depression into mania after therapeutic sleep deprivation in bipolar depression. **Psychiatry Research**. v. 86, p. 267-270, 1999.

COMAI, S.; GOBBI, G. CCNP Award Paper: Unveiling the role of melatonin MT<sub>2</sub> receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: a novel target in psychopharmacology. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**. v. 39, n. 1, p. 6-21, 2014.

CONRAD, D. F. et al. A high-resolution survey of deletion polymorphism in the human genome. **Nature Genetics**. v. 38, p. 75-81, 2006.

COOK, E. H. J.; SCHERER, S. W. Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions. **Nature**. v. 455, p. 919–923, 2008.

CORYELL, W. E.; KELLER, M. - Rapid cycling affective disorder. Demographics, diagnosis, family history, and course. **Archives of General Psychiatry**. v. 49, p. 126-131, 1992.

CRADDOCK, N.; OWEN, M. J. The beginning of the end for the Kraepelinian dichotomy. **British Journal of Psychiatry**. v. 186, p. 364–66, 2005.

CRADDOCK, N.; SKLAR, P. Genetics of bipolar disorder. **Lancet**. v. 381, n. 9878, p. 1654-1662, 2013.

CRADDOCK, N.; SKLAR, P. Genetics of bipolar disorder: successful start to a long journey. **Trends in Genetics**. v. 25, n. 2, p. 99-105, 2009.

Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium - CDGPGC. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. **Lancet**. v. 381, n. 9875, p. 1371-1379, 2013.

CROW, T. J. How and why genetic linkage has not solved the problem of psychosis: review and hypothesis. **American Journal of Psychiatry**. v. 164, p. 13–21, 2007.

CROW, T. J. The 'big bang' theory of the origin of psychosis and the faculty of language. **Schizophrenia Research**. v. 102, p. 31–52, 2008.

CURTIS, D. et al. Genome scan of pedigrees multiply affected with bipolar disorder provides further support for the presence of a susceptibility locus on chromosome 12q23–q24, and suggests the presence of additional loci on 1p and 1q. **Psychiatric Genetics**. v. 13, p. 77-84, 2003.

CZEISLER, C. A.; KLERMAN, E. B. Circadian and sleep-dependent regulation of hormone release in humans. **Recent Progress in Hormone Research**. v. 54, p. 97-130, 1999.

DALLAPEZIA, S. et al, F. Circadian clock gene Per3 variants influence the postpartum onset of bipolar disorder. **European Psychiatry**. v. 26, n. 3, p. 138-40, 2011.

DAUVILLIERS, Y.; MARET, S.; TAFTI, M. Genetics of normal and pathological sleep in humans. **Sleep Medical Reviews**. v. 9, p. 91–100, 2005.

DE ABREU, L. N. et al. Suicidal ideation and suicide attempts in bipolar disorder type I: an update for the clinician. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 31, n. 3, p. 271-280, 2009.

DEAN, B. et al. A systematic review evaluating health-related quality of life, work impairment, and healthcare costs and utilization in bipolar disorder. **Current Medical Research and Opinion**. v. 20, p. 139-154, 2004.

DEARMON, E. L. et al. Dissecting the function of the mammalian clock protein BMAL1 by tissue specific rescue in mice. **Science**. v. 314, p. 1304-1308, 2006.

DEBRUYNE J. P. et al. A clock shock: mouse clock is not required for circadian oscillator function. **Neuron**. v. 50, p. 506-509, 2006.

DETRE, T. et al. Hypersomnia and manic-depressive disease. **American Journal of Psychiatry**. v. 128, p. 1303-1305, 1972.

DEURVEILHER, S.; SEMBA, K. Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to major arousal-promoting cell groups in rat: implications for the circadian control of behavioural state. **Neuroscience**. v. 130, p. 165-183, 2005.

- DIAZ, F. J. et al. Tobacco smoking behaviors in bipolar disorder: a comparison of the general population, schizophrenia, and major depression. **Bipolar Disorders**. v. 11, n. 2, p. 154-165, 2009.
- DICKERSON, F. et al. Cigarette smoking among persons with schizophrenia or bipolar disorder in routine clinical settings, 1999-2011. **Psychiatric Services**. v. 64, n. 1, p. 44-50, 2013.
- DIJK, D. J.; LOCKLEY, S. W. Integration of human sleep-wake regulation and circadian rhythmicity. **Journal of Applied Physiology**. v. 92, p. 852-862, 2002.
- DJUROVIC, S et al. A genome-wide association study of bipolar disorder in Norwegian individuals, followed by replication in Icelandic sample. **Journal of Affective Disorders**. v. 126, p. 312–316, 2010.
- DOI, Y. Epidemiologic research on insomnia in the general Japanese populations. **Nippon Rinsho**. v. 67, n. 8, p. 1463-1467, 2009.
- DUDBRIDGE, F. Likelihood-based association analysis for nuclear families and unrelated subjects with missing genotype data. **Human Heredity**. v. 66, n. 2, p. 87–98, 2008a.
- DUDBRIDGE, F.; GUSNANTO, A. Estimation of significance thresholds for genome wide association scans. **Genetic Epidemiology**. v. 32, p. 227–234, 2008b.
- DUFFY, A. et al. Early stages in the development of bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 121, p. 127-135, 2010.
- DUNLAP, J. C. Molecular bases for circadian clocks. **Cell**. v. 96, p. 271-290, 1999.
- EASTON, A. et al. The supraquiasmatic nucleus regulates sleep timing and amount in mice. **Sleep**. v. 27, n. 7, p. 1307-1318, 2004.
- EBISAWA, T. et al. Association of structural polymorphisms in the human period 3 gene with delayed sleep phase syndrome. **EMBO Reports**. v. 2, p. 342-346, 2001.
- ECKER, J. L. et al. Melanopsin-expressing retinal ganglioncell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. **Neuron**. v. 67, p. 49-60, 2010.
- EDGAR, D. M.; MARTIN, C. E.; DEMENT, W. C. Activity feedback to the mammalian circadian pacemaker: influence on observed measures of rhythm period length. **Journal of Biological Rhythms**. v. 6, p. 185-199, 1991.
- EDGAR, D. M. et al. Serotonin and the mammalian circadian system: II. Phase-shifting rat behavioral rhythms with serotonergic agonists. **Journal of Biological Rhythms**. v. 8, p. 17–31, 1993.



EIDELMAN, P. et al. Sleep architecture as correlate and predictor of symptoms and impairment in inter-episode bipolar disorder: taking on the challenge of medication effects. **Journal of Sleep Research**. v. 19, n. 4, p. 516-524, 2010a.

EIDELMAN, P. et al. Sleep, illness course, and concurrent symptoms in inter-episode bipolar disorder. **Journal of Behavior Therapy and experimental Psychiatry**. v. 41, n. 2, p. 145-149, 2010b.

ETAIN B. et al. Genetics of circadian rhythms and mood spectrum disorders. **European Neuropsychopharmacology**. v. 21, n. 4, p. S676-S682, 2011.

ETAIN, B. et al. Genetic and functional abnormalities of the melatonin biosynthesis pathway in patients with bipolar disorder. **Human Molecular Genetics**. v. 21, p. 4030–4037, 2012.

FARREN, C. K.; MURPHY, P.; MC ELROY, S. A 5-Year Follow-Up of Depressed and Bipolar Patients with Alcohol Use Disorder in an Irish Population. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**. 2014. [artigo aceito para publicação]

FAUSTO, B. **História do Brasil**. São Paulo: editora EDUSP, 1998.

FERREIRA, M. A. et al. Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. **Nature Genetics**. v. 40, p. 1056-1058, 2008.

FISFALEN, M. E. et al. Familial variation in episode frequency in bipolar affective disorder. **American Journal of Psychiatry**. v. 162, p. 1266-1272, 2005.

FRANK, E. et al. Two-year outcomes for interpersonal and social rhythm therapy in individuals with Bipolar I disorder. **Archives of General Psychiatry**. v. 62, p. 996-1004, 2005.

FRANK, E. et al. The role of interpersonal and social rhythm therapy in improving occupational functioning in patients with bipolar I disorder. **American Journal of Psychiatry**. v. 165, n. 12, p. 1559-1565, 2008.

FREEMAN, J. I. et al. Copy number variation: new insights in genome diversity. **Genome Research**. v. 16, p. 949–961, 2006.

GALECKA, E. et al. Single nucleotide polymorphisms and mRNA expression for melatonin MT(2) receptor in depression. **Psychiatry Research**. v. 189, n. 33, p. 472-474, 2011.

GALECKI, P. et al. Single-nucleotide polymorphisms and mRNA expression for melatonin synthesis rate-limiting enzyme in recurrent depressive disorder. **Journal of Pineal Research**. v. 48, n. 4, p. 311-317, 2010.

GAMA, C. S. et al. Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 36, n. 1, p. 70-74, 2013.

GANGWISCH J. E. et al. Short sleep duration as a risk factor for hypertension: analyses of the first National Health and Nutrition Examination Survey. **Hypertension**. v. 47, n. 5, p. 833-839, 2006.

GANGWISCH, J. E. et al. Sleep duration as a risk factor for diabetes incidence in a large US sample. **Sleep**. v. 30, n. 12, p. 1667-1673, 2007.

GARGUS, J. J. Ion channel functional candidate genes in multigenic neuropsychiatric disease. **Biological Psychiatry**. v. 60, p. 177–185, 2006.

GEOFFROY, P. A. et al. An ASMT variant associated with bipolar disorder influences sleep and circadian rhythms: a pilot study. **Genes, Brain and Behavior**. 2013. [artigo aceito para impressão]

GERSHON, E. S ALLIEY-RODRIGUES, N.; LIU, C. After GWAS: searching for genetic risk for schizophrenia and bipolar disorder. **American Journal of Psychiatry**. v. 168, n. 3, p. 253-256, 2011.

GIGLIO, L. et al. Circadian preference in bipolar disorder. **Sleep Breath**. v. 14, n. 2, p. 153-155, 2010a.

GIGLIO, L. M. et al. Functional impact of biological rhythm disturbance in bipolar disorder. *Journal of Psychiatric Research*. v. 44, n. 4, p. 220-223, 2010b.

GILBERT, E.; MARWAHA, S. Predictors of employment in bipolar disorder: a systematic review. **Journal of Affective Disorders**. v. 145, n. 2, p. 156-164, 2013.

GLASS, J. D. et al. Midbrain raphe modulation of nonphotic circadian clock resetting and 5-HT release in the mammalian suprachiasmatic nucleus. **Journal of Neuroscience**. v. 23, p. 7451–7460, 2003.

GOES, F. S. et al. Genome-wide association of mood-incongruent psychotic bipolar disorder. **Translational Psychiatry**. v. 2, p. e180, 2012.

GOLDBERG, J. F.; HARROW, M.; GROSSMAN, L.S. Course and outcome in bipolar affective disorder: a longitudinal follow-up study. **American Journal of Psychiatry**. v. 152, n. 3, p. 379-384, 1995.

GOODWIN, F. K.; JAMISON, K. R. **Manic-Depressive Illness**. New York: Oxford University Press, 1990.

GONZALES, R. et al. Comparison of objective and subjective assessments of sleep time in subjects with bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 149, n. 1-3, p. 363-366, 2013.

GOTTESMAN, I.I., GOULD, T.D. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. **American Journal of Psychiatry**. v. 160, p. 636-645, 2003.

GOULD, T. D. et al. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced swim test. **International Journal of Neuropsychopharmacology**. v. 7, p. 387-390, 2004.

GOULD, T. D.; MANJI, H. K. The Wnt Signaling Pathway in Bipolar Disorder. **The Neuroscientist**, v. 8, n. 5, p. 497-511, 2002.

GREEN, E. K. et al. Replication of bipolar disorder susceptibility alleles and identification of two novel genome-wide significant associations in a new bipolar disorder case-control sample. **Molecular Psychiatry**. v. 18, n. 12, p. 130-1307, 2013.

GREENWOOD T. A. et al. Genome-wide association study of temperament in bipolar disorder reveals significant associations with three novel Loci. **Biological Psychiatry**. v. 72, n. 4, p. 303-310, 2012.

GREENWOOD, T. A.; Bipolar Genome Study (BiGS) Consortium, KELSOE, J.R. Genome-wide association study of irritable vs. elated mania suggests genetic differences between clinical subtypes of bipolar disorder. **PLoS One**. v. 8, n. 1, p. e53804, 2013.

GRIGORIOU-SERBANESCU, M. et al. Different familial transmission patterns in bipolar I disorder with onset before and after age 25. **American Journal of Medical Genetics**. v. 105, p. 765-773, 2001.

GROF, P. et al. Is response to prophylactic lithium a familial trait? **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 63, p. 942-947, 2002.

GROSEVA, D. et al. Reduced burden of very large and rare CNVs in bipolar affective disorder. **Bipolar Disorders**. v. 15, n. 8, p. 893-898, 2013.

GRUBER, J. et al. Sleep functioning in relation to mood, function, and quality of life at entry to the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (STEP-BD). **Journal of Affective Disorders**. v. 114, n. 1-3, p. 41-49, 2009.

GRUBER, J. et al. Sleep matters: sleep functioning and course of illness in bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 134, n. 1-3, p. 416-420, 2011.

HALBERG, F. Chronobiology. **Annual Review of Physiology**. v. 31, p. 675-725, 1969.

HAJEK, T. et al. Clinical correlates of current level of functioning in primary care-treated bipolar patients. **Bipolar Disorders**. v. 7, n. 3, p. 286-291, 2005.

- HALLAM, K. T. et al. The heritability of melatonin secretion and sensitivity to bright nocturnal light in twins. **Psychoneuroendocrinology**. v. 31, p. 867–875, 2006.
- HALLANAH, B. et al. Structural magnetic resonance imaging in bipolar disorder: an international collaborative mega-analysis of individual adult patient data. **Biological Psychiatry**. v. 69, p. 326-335, 2011.
- HAMILTON, M. A rating scale for depression. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**. v. 23, p. 56-62, 1960.
- HARVEY, A. G. et al. Sleep-related functioning in euthymic patients with bipolar disorder, patients with insomnia, and subjects without sleep problems. **American Journal of Psychiatry**. v. 162, p. 50-57, 2005.
- HARVEY, A. G. Insomnia: symptom or diagnosis? **Clinical Psychology Review**. v. 21, p. 1037-1059, 2001.
- HARVEY, A. G. Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation. **American Journal of Psychiatry**. v. 165, p. 820-829, 2008.
- HASLER, B. P. et al. Morningness–eveningness and depression: preliminary evidence for the role of the behavioral activation system and positive affect. **Psychiatry Research**. V. 176, p. 166–173, 2010.
- HASLER, G. et al. Towards constructing an endophenotype strategy for bipolar disorders. **Biological Psychiatry**. v. 60, n. 2, p. 93-105, 2006.
- HASTINGS, M. H.; REDDY, A. B.; MAYWOOD, E. S. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 4, p. 649-661, 2003.
- HASTINGS, M.; O`NEIL, J.; MAYWOOD, E.S. Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms. **Journal of Endocrinology**. v. 195, p. 187-198, 2007.
- HATTAR, S. et al. Central projections of melanopsin expressing retinal ganglion cells in the mouse. **Journal of Comparative Neurology**. v. 497, p. 326-349, 2006.
- HATTERSLEY, A. T.; MCCART, M. I. What makes a good genetic association study? **Lancet**. v. 366, p. 1315-1312, 2005.
- HATTORI, E.; et al. Preliminary genome-wide association study of bipolar disorder in the Japanese population. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 150B, n. 8, p.1110-1117, 2009.

HIDALGO, M. P. et al. Relationship between depressive mood and chronotype in healthy subjects. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**. v. 63, p. 283–290, 2009.

HILL, M. K.; SAHHAR, M. Genetic counseling for psychiatric disorders. **Medical Journal of Australia**. v. 185, p. 507-510, 2006.

HIROTA, T. et al. A chemical biology approach reveals period shortening of the mammalian circadian clock by specific inhibition of GSK-3 $\beta$ . **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**. v. 105, p. 20746–20751, 2008.

HIRSCHHORN, J. N.; DALY, M. J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. **Nature Reviews. Genetics**. v. 6, p. 95–108, 2005.

HIRSCHFELD, R. M. et al. Perceptions and impact of bipolar disorder: How far have we really come? Results of the national depressive and manic-depressive association 2000 survey of individuals with bipolar disorder. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 64, n. 2, p. 425-432, 2003.

HOBERG, A. A. et al. Group interpersonal and social rhythm therapy for bipolar depression. **Perspectives in Psychiatric Care**. v. 49, n. 4, p.226-234, 2013.

HOLLENBACH, J. A. et al. Susceptibility to Crohn's disease is mediated by KIR2DL2/KIR2DL3 heterozygosity and the HLA-C ligand. **Immunogenetics**, v. 61, n. 10, p. 663–671, 2009.

HUBLIN, C. et al. Sleep and mortality: a population-based 22-year follow-up study. **Sleep**. v. 30, n. 10, p. 1245-1253, 2007.

IAFRATE, A. J. et al. Detection of large-scale variation in the human genome. **Nature Genetics**. v. 36, p. 949–951, 2004.

IITAKA, C. et al. A role for glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in the mammalian circadian clock. **Journal of Biological Chemistry**. v. 280, p. 29397-29402, 2005.

INTERNATIONAL SCHIZOPHRENIA CONSORTIUM. et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. **Nature**. v. 460, n. 7256, p. 748-752, 2009.

JACKSON, A.; CAVANAGH, J.; SCOTT, J. A systematic review of manic and depressive prodromes. **Journal of Affective Disorders**. v. 74, p. 209-217, 2003.

JAMES, N. M. Early- and late-onset bipolar affective disorder. A genetic study. **Archives of General Psychiatry**. v. 34, p. 715-717, 1977.

JOHNSSON, A. et al. Period lengthening of human circadian rhythms by lithium carbonate, a prophylactic for depressive disorders. **International Journal of Chronobiology**. v. 8, n. 3, p. 129-147, 1983.

JONES, S. H.; HARE, D. J.; EVERSLED, K. Actigraphic assessment of circadian activity and sleep patterns in bipolar disorder. **Bipolar Disorders**. v. 7, p. 176-186, 2005.

KALSBECK, A. et al. SCN outputs and the hypothalamic balance of life. **Journal of Biological Rhythms**. v. 21, p. 458-469, 2006.

KANEDA, R.; FURUTA, H. Insomnia in old age. **Nippon Rinsho**. v. 67, n. 8, p. 1548-52, 2009.

KAPCZINSKI, F. et al. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v. 32, n. 4, p. 675-692, 2008.

KAPLAN, K. A. et al. Evaluating sleep in bipolar disorder: comparison between actigraphy, polysomnography, and sleep diary. **Bipolar Disorders**. v. 14, n. 8, p. 870-879, 2012.

KARAMITRI, A. et al. Minireview: Toward the establishment of a link between melatonin and glucose homeostasis: association of melatonin MT2 receptor variants with type 2 diabetes. **Molecular Endocrinology**. v. 27, n. 8, p. 1217-1233, 2013.

KASPER, S.; WEHR, T.A. The role of sleep and wakefulness in the genesis of depression and mania. **Encephale**. v. 18, p. 45-50, 1992.

KASSEM, L. et al. Familiarity of polarity at illness onset in bipolar affective disorder. **American Journal of Psychiatry**. v. 163, p. 1754-1759, 2006.

KELLY, T. et al. The high prevalence of obstructive sleep apnea among patients with bipolar disorders. **Journal of Affective Disorders**. v. 151, p. 54-58, 2013.

KENDLER, K. S. et al. A pilot Swedish twin study of affective illness including hospital- and population ascertained subsamples: results of model fitting. **Behavior Genetics**. v. 25, p. 217-232, 1995.

KENNEDY, S. H. et al. Nocturnal melatonin and 24-hour 6-sulphatoxymelatonin levels in various phases of bipolar affective disorder. **Psychiatry Research**. v. 63, p. 219-222, 1996.

KERNER, B.; LAMBERT, C.G.; MUTHEN, B.O. Genome-wide association study in bipolar patients stratified by co-morbidity. **PLoS One**. v. 6, n. 12, p. e28477, 2011.

KESSLER, R. et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of General Psychiatry**. v. 65, p. 593-602, 2005.

KESSLER, R. C. et al. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States: results from the National Comorbidity Survey. **Archives of General Psychiatry**. v. 51, p. 8-19, 1994.

KESSLER, R. C. et al. The epidemiology of DSM-III-R bipolar I disorder in a general population survey. **Psychological Medicine**. v. 27, p. 1079-1089, 1997.

KIESEPPA, T. et al. High concordance of bipolar I disorder in a nationwide sample of twins. **American Journal of Psychiatry**. v. 161, p. 1814-1821, 2004.

KILBOURNE, A. M. et al. Burden of general medical conditions among individuals with bipolar disorder. **Bipolar Disorders**. v. 6, n. 5, p. 368-373, 2004.

KIM, S. J. et al. Age as a moderator of the association between depressive symptoms and morningness–eveningness. **Journal of Psychosomatic Research**. v. 68, p. 159–164, 2010.

KING, D. P.; TAKAHASHI, J. S. Molecular Genetics of Circadian rhythms in mammals. **Annual Review Neuroscience**. v. 23, p. 712-742, 2000.

KISHI, T. et al. Association analysis of nuclear receptor Rev-erb alpha gene (NR1D1) with mood disorders in the Japanese population. **Neuroscience Research**. v. 62, n. 4, p. 211-215, 2008.

KISS, J.; LERANTH, C.; HALASZ, B. Serotonergic endings on VIP neurons in the suprachiasmatic nucleus and on ACTH-neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. A combination of high resolution autoradiography and electron microscopic immunocytochemistry. **Neuroscience Letters**. v. 44, p. 119–124, 1984.

KITAMURA, S. et al. Evening preference is related to the incidence of depressive states independent of sleep–wake conditions. **Chronobiology International**. v. 27, p. 1797–1812, 2010.

KLEI, L. et al. Heritability of morningness–eveningness and self-report sleep measures in a family-based sample of 521 hutterites. **Chronobiology International**. v. 22, p. 1041–1054, 2005.

KLEIN, P. S.; MELTON, D.A. molecular mechanism for the effect of lithium on development. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**. v. 93, p. 8455–8459, 1996.

KLEMFUSS, H. Rhythms and the pharmacology of lithium. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 56, p. 53-78, 1992.

KLEMFUSS, H.; KRIPKE, D.F. Antimanic drugs stabilize hamster circadian rhythms. **Psychiatry Research**. v. 57, p. 215-222, 1995.

KNOWLES, J. B. et al. The sleep of remitted bipolar depressives: comparison with sex and age-matched controls. **Canadian Journal of Psychiatry**. v. 31, p. 295-298, 1986.

KO, C. H.; TAKAHASHI, J. S. Molecular components of the mammalian circadian clock. **Human Molecular Genetics**. v. 15, n. 2, p. 271-277, 2006.

KONRADI, C.; SILLIVAN, S. E.; CLAY, H. B. Mitochondria, oligodendrocytes and inflammation in bipolar disorder: evidence from transcriptome studies points to intriguing parallels with multiple sclerosis. **Neurobiology of Disease**. v. 45, p. 37-47, 2012.

KOSKENVUO, M. et al. Heritability of diurnal type: a nationwide study of 8753 adult twin pairs. **Journal of Sleep Research**. v. 16, p. 156–162, 2007.

KRIPKE, D. F. et al. Circadian polymorphisms associated with affective disorders. **Journal of Circadian Rhythms**. v. 7, p. 2, 2009.

KRIPKE, D. F. et al. Circadian rhythm disorders in manic-depressives. **Biological Psychiatry**. v.13, p. 335-351, 1978.

KRIPKE, D. F. et al. The effect of lithium carbonate on the circadian rhythm of sleep in normal human subjects. **Biological Psychiatry**. v. 14, p. 545–548, 1979.

KRIPKE, D. F.; WYBORNEY V. G. Lithium slows rat circadian activity rhythms. **Life Science**. v. 26, p. 1319–1321, 1980.

KRISHNAN, K. R. R. Psychiatric and Medical Comorbidities of Bipolar Disorder. **Psychosomatic Medicine**. v. 67, p. 1-8, 2005.

KROUT, K. E. et al. CNS inputs to the suprachiasmatic nucleus of the rat. **Neuroscience**. v. 110, n. 1, p. 73-92, 2002.

KUNOROZVA, L. et al. Chronotype and PERIOD3 variable number tandem repeat polymorphism in individual sports athletes. **Chronobiology international**. v. 29, n. 8, p. 1004-1000, 2012.

KUPFER, D. J. The increasing medical burden in bipolar disorder. **Journal of the American Medical Association - JAMA**. v. 293, p. 2528-2530, 2005.

KURIAN, S. M. et al. Identification of blood biomarkers for psychosis using convergent functional genomics. **Molecular Psychiatry**. v. 16, n. 1, p. 37-58, 2011.



LACHMAN, H. M. et al. Increase in GSK3beta gene copy number variation in bipolar disorder. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 144B, p. 259–265, 2007.

LAM, R. W. et al. Melatonin suppression in bipolar and unipolar mood disorders. **Psychiatry Research**. v. 33, n. 2, p. 129-134, 1990.

LAZAR, A. S. et al. Sleep, diurnal preference, health, and psychological well-being: a prospective single-allelic-variation study. **Chronobiology international**. v. 29, n. 2, p. 131-146, 2012.

LEBOYER, M.; KUPFER, D.J. Bipolar disorder: new perspectives in health care and prevention. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 71, n. 12, p.1689-1695, 2010.

LEE, H. J. et al. A genome-wide association study of seasonal pattern mania identifies NF1A as a possible susceptibility gene for bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 145, n. 2, p. 200-207, 2013.

LEE, K. Y. et al. Association between CLOCK 3111T/C and preferred circadian phase in Korean patients with bipolar disorder. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 34, n. 7, p.1196-2010, 2010.

LEE, M. T. et al. Genome-wide association study of bipolar I disorder in the Han Chinese population. **Molecular Psychiatry**. v. 16, n. 5, p. 548-556, 2011.

LEIBENLUFT, E. et al. Relationship between sleep and mood in patients with rapid-cycling bipolar disorder. **Psychiatry Research**. v. 63, p. 161-168, 1996.

LE-NICULESCU, H. et al. Convergent functional genomics of genome-wide association data for bipolar disorder: comprehensive identification of candidate genes, pathways and mechanisms. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 150B, p. 155-181, 2009b.

LE-NICULESCU, H. et al. Identifying blood biomarkers for mood disorders using convergent functional genomics. **Molecular Psychiatry**. v. 14, p. 156-174, 2009a.

LE-NICULESCU, H. et al. Towards understanding the schizophrenia code: An expanded convergent functional genomics approach. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 144, p. 129-158, 2007.

LEVERICH, G. S. et al. Risk of switch in mood polarity to hypomania or mania in patients with bipolar depression during acute and continuation trials of venlafaxine, sertraline, and bupropion as adjuncts to mood stabilizers. **American Journal of Psychiatry**. v. 163, n. 2, p. 232-239, 2006.

LEWY, A. J. et al. Supersensitivity to light: possible trait marker for manic-depressive illness. **American Journal of Psychiatry**. v. 142, p. 725–727, 1985.

- LINKOWSKI, P. et al. The 24-hour profiles of cortisol, prolactin, and growth hormone secretion in mania. **Archives of General Psychiatry**. v. 51, p. 616-624, 1994.
- LISE, M. F. et al. Involvement of myosin Vb in glutamate receptor trafficking. **Journal of Biological Chemistry**. V. 281, p. 3669–3678, 2006.
- LONGORDO, F.; KOPP, C.; LÜTHI, A. Consequences of sleep deprivation on neurotransmitter receptor expression and function. **European Journal of Neuroscience**. v. 29, n. 9, p. 1810-1819, 2009.
- LOUDON, J. B.; BLACKBURN, I. M.; ASHWORTH, C. M. A study of the symptomatology and course of manic illness using a new scale. **Psychological Medicine**. v. 7, p. 723-729, 1977.
- LOVENBERG, T. W. et al. A novel adenylyl cyclase-activating serotonin receptor (5-HT7) implicated in the regulation of mammalian circadian rhythms. **Neuron**. v. 11, p. 449–458, 1993.
- LOWREY, P. L.; TAKAHASHI, J. S. Genetics of the mammalian circadian system: photic entrainment, circadian pacemaker mechanisms, and posttranslational regulation. **Annual Review of Genetics**. v. 34, p. 533-562, 2000.
- LU, B. S.; ZEE, P. C. Circadian rhythm sleep disorders. **Chest**. v. 130, p. 1915-1923, 2006.
- LUO, L. et al. Genome-wide gene and pathway analysis. **European Journal of Human Genetics**. v. 18, p. 1045-1053, 2010.
- MACQUEEN, G.; FRODL, T. The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research? **Molecular Psychiatry**. v. 16, p. 252-264, 2011.
- MALEK, Z. S. et al. Tissue-specific expression of tryptophan hydroxylase mRNAs in the rat midbrain: anatomical evidence and daily profiles. **European Journal of Neuroscience**. v. 22, p.895–901, 2005.
- MALEK, Z. S. et al. Daily rhythm of tryptophan hydroxylase-2 messenger ribonucleic acid within raphe neurons is induced by corticoid daily surge and modulated by enhanced locomotor activity. **Endocrinology**. v. 148, p. 5165–5172, 2007.
- MALHOTRA, D. et al. High frequencies of de novo CNVs in bipolar disorder and schizophrenia. **Neuron**. v. 72, n. 6, p. 951-963, 2011.
- MALKOFF-SCHWARTZ, S. et al. Social rhythm disruption and stressful life events in the onset of bipolar and unipolar episodes. **Psychological Medicine**. v. 30, p. 1005–1016, 2000.

MALKOFF-SCHWARTZ, S. et al. Stressful life events and social rhythm disruption in the onset of manic and depressive bipolar episodes: a preliminary investigation. **Archives of General Psychiatry**. v. 55, p. 702-707, 1998.

MANOLIO, T. A. et al. Finding the missing heritability of complex diseases. **Nature**. v. 461, p. 747–753, 2009.

MANOLIO, T. A. et al. HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. **Journal of Clinical Investigation**. v. 118, p. 1590-1605, 2008.

MANRIQUE, C. et al. Impairment of serotonergic transmission is followed by adaptive changes in 5HT1B binding sites in the rat suprachiasmatic nucleus. **Brain Research**. v. 663, p. 93–100, 1994.

MANRIQUE, C. et al. Increase of central 5-HT1B binding sites following 5,7-dihydroxytryptamine axotomy in the adult rat. **Brain Research**. v. 623, p. 345–348, 1993.

MANSOUR, H. A. et al. Association study of eight circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder and schizophrenia. **Genes, Brain and Behavior**. v. 5, n. 2, p. 150-157, 2006.

MANSOUR, H. A. et al. Circadian phase variation in bipolar I disorder. **Chronobiology International**. v. 22, p. 571–584, 2005.

MANSOUR, H. A.; et al. Association study of 21 circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia. **Bipolar Disorders**. v. 11, n. 7, p. 701-710, 2009.

MANTERE, O. et al. Differences in Axis I and II comorbidity between bipolar I and II disorders and major depressive disorder. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 67, n. 4, p. 584-593, 2006.

MANTERE, O. et al. The clinical characteristics of DSM-IV bipolar I and II disorders: baseline findings from the Jorvi Bipolar Study (JoBS). **Bipolar Disorders**. v. 6, n. 5, p. 395-405, 2004.

MARKOV, D.; GOLDMAN, M. Normal sleep and circadian rhythms: neurobiologic mechanisms underlying sleep and wakefulness. **Psychiatric Clinics of North America**. v. 29, n. 4, p. 841-53, 2006.

MARSHALL, N.S. et al. Sleep apnea as an independent risk factor for all-cause mortality: the Busselton HealthStudy. **Sleep**. v. 31, p. 1079–1085, 2008.

MARTINOWICH, K.; SCHLOESSER, R.J.; MANJI, H.K. Bipolar disorder: from genes to behavior pathways. **Journal of Clinical Investigation**. v. 119, n. 4, p. 726-736, 2009.

MATIGIAN, N. et al. Expression profiling in monozygotic twins discordant for bipolar disorder reveals dysregulation of the WNT signalling pathway.

**Molecular Psychiatry**. v. 12, n. 9, p. 815–25, 2007.

MAYTAL, G. et al. Complicated grief and impaired sleep in patients with bipolar disorder. **Bipolar Disorders**. v. 9, n. 8, p. 913-917, 2007.

MCCARHTY, M. J.; WELSH, D. K. Cellular circadian clocks in mood disorders.

**Journal of Biological Rhythms**. v. 27, n. 5, p. 339-352, 2012a.

MCCARTHY, M. I. et al. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. **Nature Reviews Genetics**. v. 9, n. 5, p. 356-359, 2008.

MCCARTHY, M. J. et al. A survey of genomic studies supports association of circadian clock genes with bipolar disorder spectrum illnesses and lithium response. **PLoS One**. v. 7, n. 2, p. e32091, 2012b.

MCCARTHY, M. J.; LECKBAND, S. G.; KELSOE, J. R. Pharmacogenetics of lithium response in bipolar disorder. **Pharmacogenomics**. v. 11, p. 1439–1465, 2010.

MCCLELLAN, J. M.; SUSSER, E.; KING, M. C. Schizophrenia: A common disease caused by multiple rare alleles. **British Journal of Psychiatry**. v. 190, p. 194–199, 2007.

MCCLUNG, C. A. Circadian genes, rhythms and the biology of mood disorders. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 114, n. 2, p. 222-232, 2007.

MCGRATH, C. L. et al. Evidence for genetic association of RORB with bipolar disorder. **BMC Psychiatry**. v. 9, p. 70, 2009.

MCGUFFIN, P. et al. The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression. **Archives of General Psychiatry**. v. 60, p. 497-502, 2003.

MCINTYRE, R. S. et al. Managing medical and psychiatric comorbidity in individuals with major depressive disorder and bipolar disorder. **Annals of Clinical Psychiatry**. v. 24, n. 2, p. 163-169, 2012.

MCMAHON, F. J. et al. Meta-analysis of genome-wide association data identifies a risk locus for major mood disorders on 3p21.1. **Nature Genetics**. v. 42, n. 2, p. 128-131, 2010.

MCQUEEN, M. B. et al. Combined analysis from eleven linkage studies of bipolar disorder provides strong evidence of susceptibility loci on chromosomes 6q and 8q. **American Journal of Human Genetics**. v. 77, p. 582-595, 2005.

MCQUILLIN, A.; RIZIG, M.; GURLING, H. M. A microarray gene expression study of the molecular pharmacology of lithium carbonate on mouse brain

- mRNA to understand the neurobiology of mood stabilization and treatment of bipolar affective disorder. **Pharmacogenetics and Genomics**. v. 17, p. 605-617, 2007.
- MEIER, S. et al. Genome-wide significant association between a 'negative mood delusions' dimension in bipolar disorder and genetic variation on chromosome 3q26.1. **Translational Psychiatry**. v. 25, n. 2, p. e165, 2012.
- MENDLEWICZ, J.; RAINER, J. D. Adoption study supporting genetic transmission in manic-depressive illness. **Nature**. v. 268, p. 327-329, 1977.
- MEYER, T. D.; MAIER, S. Is there evidence for social rhythm instability in people at risk for affective disorders? **Psychiatry Research**. v. 141, p. 103–114, 2006.
- MIGNOT, E.; TAHERI, S.; NISHINO, S. Sleeping with the hypothalamus: emerging therapeutic targets for sleep disorders. **Nature Neuroscience**. v. 5, p. 1071-1075, 2002.
- MIKLOWITZ, D. J. et al. Intensive psychosocial intervention enhances functioning in patients with bipolar depression: results from a 9-month randomized controlled trial. **American Journal of Psychiatry**. v. 164, n. 9, p. 1340-1347, 2007.
- MILHIET, V. et al. Circadian abnormalities as markers of susceptibility in bipolar disorder. **Frontiers in Bioscience**. v. 6, p. 120-137, 2014.
- MILLAR, A.; ESPIE, C.A. SCOTT, J. The sleep of remitted bipolar outpatients: a controlled naturalistic study using actigraphy. **Journal of Affective Disorders**. v. 80, p. 145-153, 2004.
- MILLER, J. D. et al. New insights into the mammalian circadian clock. **Sleep**. v. 19, n. 8, p. 641-667, 1996.
- MISTLBERGER, R. E. et al. Serotonin and feedback effects of behavioral activity on circadian rhythms in mice. **Behavioural Brain Research**. v. 96, p.93–99, 1998.
- MONK, T. H. et al. The Pittsburgh Sleep Diary. **Journal of Sleep Research**. v. 3, p. 111-120, 1994.
- MORIN, L. P. et al. Projections of the suprachiasmatic nuclei, subparaventricular zone and retrochiasmatic area in the golden hamster. **Neuroscience**. v. 61, n. 2, p. 391-410, 1994.
- MORIN, L. P.; ALLEN, C. N. The circadian visual system. **Brain Research Reviews**. v. 51, p. 1–60, 2006.
- MROSOVSKY, N. Beyond the suprachiasmatic nucleus. **Chronobiology International**. v. 20, n. 1, p. 201-208, 2003.

MROSOVSKY, N. et al. Behavioural entrainment of circadian rhythms. **Experientia**. v. 45, p. 696-702, 1989.

MUKHERJEE, S. et al. Knockdown of Clock in the ventral tegmental area through RNA interference results in a mixed state of mania and depression-like behavior. **Biological Psychiatry**. v. 68, p. 503–511, 2010.

MULLIN, B. C.; HARVEY, A. G.; HINSHAW, S. P. A preliminary study of sleep in adolescents with bipolar disorder, ADHD, and non-patient controls. **Bipolar Disorders**. v. 13, n. 4, p. 423-432, 2011.

NAGOSHI, E.; et al. Circadian gene expression in individual fibroblasts: cell-autonomous and self-sustained oscillators pass time to daughter cells. **Cell**. v. 119, p. 693-705, 2004.

NAISMITH, S. L. et al. Circadian profiles in young people during the early stages of affective disorder. **Translational Psychiatry**. v. 2, p. e123, 2012.

NATHAN, P.J.; BURROWS, G.D.; NORMAN, T.R. Melatonin sensitivity to dim white light in affective disorders. **Neuropsychopharmacology**. v. 21, p. 408–413, 1999.

NEWCOMER, J.W. Medical risk in patients with bipolar disorder and schizophrenia. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 67, Supl. 9, p. 25-30, 2006.

NICULESCU, A. B. et al. Identifying a series of candidate genes for mania and psychosis: a convergent functional genomics approach. **Physiological Genomics**. v. 4, p. 83-91, 2000.

NICULESCU, A. B.; LE-NICULESCU, H. Convergent Functional Genomics: what we have learned and can learn about genes, pathways, and mechanisms. **Neuropsychopharmacology**. v. 35, p. 355-356, 2010a.

NICULESCU, A. B.; LE-NICULESCU, H. The P-value illusion: how to improve (psychiatric) genetic studies. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 153B, p. 847-849, 2010b.

NIELSEN, D. M.; EHM, M. G.; WEIR, B. S. Detecting marker–disease association by testing for Hardy–Weinberg disequilibrium at a marker locus. **American Journal of Human Genetics**. v. 63, p. 1531-1540, 1998.

NIEVERGELT, C. M. et al. Suggestive evidence for association of the circadian genes *PerioD3* and *ArNTL* with bipolar disorder. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 141, n. 3, p. 234-241, 2006.

NOWLIN-FINCH, N. L. et al. Rapid resolution of first episodes of mania: sleep related? **Journal of Clinic Psychiatry**. v. 55, p. 26-29, 1994.

NURNBERGER, J. I. JR et al. Melatonin suppression by light in euthymic bipolar and unipolar patients. **Archives of General Psychiatry**. v. 57, p. 572-579, 2000.

NURNBERGER, J. I. JR. Genetics of bipolar disorder: where we are and where we are going. **Depression & Anxiety**. V. 29, n. 12, p. 991-993, 2012.

O'BRIEN, W. T.; KLEIN, P. S. Validating GSK3 as an in vivo target of lithium action. **Biochemical Society Transactions**. v. 37, n. 5, p. 1133-1138, 2009.

OGDEN, C. A. et al. Candidate genes, pathways and mechanisms for bipolar (manic-depressive) and related disorders: an expanded convergent functional genomics approach. **Molecular Psychiatry**. v. 9, n. 11, p. 1007-1029, 2004.

OHAYON, M. M. Relationship between chronic painful physical condition and insomnia. **Journal of Psychiatric Research**. v. 39, p. 151-9, 2005.

OJEDA, D. A. et al. A novel association of two non-synonymous polymorphisms in PER2 and PER3 genes with specific diurnal preference subscales. **Neuroscience Letters**. v. 553, p. 52-56, 2013.

OLLEY, A. M et al. When Euthymia Is Just Not Good Enough: The Neuropsychology of Bipolar Disorder. **The Journal of Nervous and Mental Disease**. v. 193, n. 5, p. 323-330, 2005.

OSLAND, T. M. et al. Lithium differentially affects clock gene expression in serum-shocked NIH-3T3 cells. **Journal of Psychopharmacology**. v. 25, n. 7, p. 924-933, 2011.

PACCHIEROTTI, C. et al. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. **Frontiers in Neuroendocrinology**. v. 22, n. 1, p. 18-32, 2001.

PACE-SCHOTT, E. F.; HOBSON, J. A. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 3, n. 9, p. 591-605, 2002.

PAPPA, K. I. et al. Circadian clock gene expression is impaired in gestational diabetes. **Gynecological Endocrinology**. v. 29, n. 4, p. 331-335, 2013.

PATEL, S. D. et al. Coming to grips with complex disorders: genetic risk prediction in bipolar disorder using panels of genes identified through convergent functional genomics. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 153B, p. 850-877, 2010.

PATEL, S. R. et al. Correlates of long sleep duration. **Sleep**. v. 29, n. 7, p. 881-889, 2006.

PAULS, D. L.; MORTON, L. A.; EGELAND, J. A. Risks of affective illness among first-degree relatives of bipolar I old-order Amish probands. **Archives of General Psychiatry**. v. 49, p. 703-708, 1992.

PEDROSO, I. et al. Common genetic variants and gene-expression changes associated with bipolar disorder are over-represented in brain signaling pathway genes. **Biological Psychiatry**. v. 72, n. 4, p. 311-317, 2012.

PEREIRA, D. S. et al. Association of the length polymorphism in the human Per3 gene with the delayed sleep-phase syndrome: does latitude have an influence upon it? **Sleep**. v. 28, n. 1, p. 29-32, 2005.

PICKARD, G. E. et al. 5-HT<sub>1B</sub> receptor-mediated presynaptic inhibition of retinal input to the suprachiasmatic nucleus. **Journal of Neuroscience**. v. 19, p. 4034–4045, 1999.

PITTENDRIGH, C. S. Temporal organization: reflections of a Darwinian clockwatcher. **Annual Review of Physiology**. v. 55, p. 16-54, 1993.

PLANTE, D. T.; WINKELMAN, J. W. Sleep disturbance in bipolar disorder: Therapeutic Implications. **American Journal of Psychiatry**. v. 165, p. 830-843, 2008.

POLIAK, S.; PELES, E. The local differentiation of myelinated axons at nodes of ranvier. **Nature Reviews. Neuroscience**. v. 4, p. 968–980, 2003.

PORKKA-HEISKANEN, T. et al. Adenosine and sleep. **Sleep Medicine Reviews**. v. 6, n. 4, p. 321-332, 2002.

PORKKA-HEISKANEN, T.; ZITTING, K. M.; WRIGEN, H. K. Sleep, its regulation and possible mechanisms of disturbances. **Acta physiologica**. v. 208, 311-328, 2013.

POTASH, J. B. et al. Familial aggregation of psychotic symptoms in a replication set of 69 bipolar disorder pedigrees. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 116B, p. 90-97, 2003.

PRICKAERTS, P. et al. Transgenic Mice Overexpressing Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$ : A Putative Model of Hyperactivity and Mania. **The Journal of Neuroscience**. v. 26, n. 35, p. 9022-9029, 2006.

PRIEBE, L. et al. Genome-wide survey implicates the influence of copy number variants (CNVs) in the development of early-onset bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**. v. 17, n. 4, p. 421-432, 2012.

PROSSER, R. A. et al. Serotonin and the mammalian circadian system: I. *In vitro* phase shifts by serotonergic agonists and antagonists. **Journal of Biological Rhythms**. v. 8, p. 1-16, 1993.



- QUINTERO, J. E.; MCMAHON, D. G. Serotonin modulates glutamate responses in isolated suprachiasmatic nucleus neurons. **Journal of Neurophysiology**. v. 82, p. 533–539, 1999.
- RAJAJARVI, E. et al. The effect of seasons and seasonal variation on neuropsychological test performance in patients with bipolar I disorder and their first-degree relatives. **Journal of Affective Disorders**. v. 127, n. 1-3, p. 58-65, 2010.
- REDON, R. et al. Global variation in copy number in the human genome. **Nature**. v. 444, p. 444–454, 2006.
- REICK, M. et al. NPAS-2: an analog of clock operative in the mammalian forebrain. **Science**. v. 293, p. 506-509, 2001.
- REPERT, S. M.; WEAVER, D. R. Coordination of circadian timing in mammals. **Nature**. v. 418, p. 935-941, 2002.
- REPERT, S. M.; WEAVER, D. R. Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. **Annual Review of Physiology**. v. 63, p. 647–676, 2001.
- RISCH, N.; MERIKANGAS, K. The future of genetic studies of complex human diseases. **Science**. v. 273, 1516-1517, 1996.
- RITTER P. S. et al. The role of disturbed sleep in the early recognition of bipolar disorder: a systematic review. **Bipolar Disorders**. v. 13, n. 3, p. 227-237, 2011.
- RITTER, P. S. et al. The characteristics of sleep in patients with manifest bipolar disorder, subjects at high risk of developing the disease and healthy controls. **Journal of Neural Transmission**. v. 119, p. 1173-1184, 2012.
- RIVKEES, S. A.; REPERT, S. M. Perinatal development of day-light rhythms in humans. **Hormone Research**. v. 37, p. 99-104, 1992.
- ROBILLARD, R. et al. Delayed sleep phase in young people with unipolar or bipolar affective disorders. **Journal of Affective Disorders**. v. 145, n. 2, p. 260-263, 2013a.
- ROBILLARD, R. et al. Sleep-wake cycle and melatonin rhythms in adolescents and young adults with mood disorders: comparison of unipolar and bipolar phenotypes. **European Psychiatry**. v. 28, 412-416, 2013b.
- ROBILLARD, R.; NAISMITH, S. L.; HICKIE, I. B. Recent Advances in Sleep-Wake Cycle and Biological Rhythms in Bipolar Disorder. **Current Psychiatry Reports**. v. 15, n. 402, p. 1-10, 2013.
- ROBINSON, L. J. et al. A meta-analysis of cognitive deficits in euthymic patients with bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 93, p. 105-115, 2006.

- ROCHA, P. M.; NEVES, F. S.; CORREA, H. Significant sleep disturbances in euthymic bipolar patients. **Comprehensive Psychiatry**. v. 54, n. 7, p. 1003-1008, 2013.
- ROCHA, P. M. et al. Association of Per3 gene with bipolar disorder: comment on "Association study of 21 circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia". **Bipolar Disorders**. v. 12, n. 8, p. 875-876, 2010.
- RODD, Z. A. et al. Candidate genes, pathways and mechanisms for alcoholism: an expanded convergent functional genomics approach. **Pharmacogenomics**. v. J 7, p. 222-256, 2007.
- ROSA, A. R. et al. Biological rhythm disturbance in remitted bipolar patients. **International Journal of Bipolar Disorders**. v. 1, n. 6, p. 1-6, 2013.
- ROSA, A. R. et al. Predominant polarity in bipolar disorder: diagnostic implications. **Journal of Affective Disorders**. v. 107, n. 1-3, p. 45-51, 2008.
- ROTH, T. et al. Sleep problems, comorbid mental disorders, and role functioning in the national comorbidity survey replication. **Biological Psychiatry**. v. 60, p. 1364-1371, 2006.
- ROTH, T.; ROEHRS, T. Sleep organization and regulation. **Neurology**. v. 54, Supl. 1, p. S2-7, 2000.
- ROYBAL, K. et al. Mania-like behavior induced by disruption of CLOCK. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 104, n. 15, p. 6406-6411, 2007.
- SABANAYAGAM, C.; SHANKAR, A. The association between active smoking, smokeless tobacco, second-hand smoke exposure and insufficient sleep. **Sleep Medicine**. V. 12, n. 1, p. 7-11, 2011.
- SACHS, G. S. Unmet clinical needs in bipolar disorder. **Journal of Clinical Psychopharmacology**. v. 23, p. S2-S8, 2003.
- SADOCK, B. J.; SADOCK, V. A. **Compêndio de Psiquiatria - Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica**. 9. ed. Porto Alegre, Artmed, 2007.
- SAKURAI, T. et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein- coupled receptors that regulate feeding behavior. **Cell**. v. 92, n. 5, p. 573-585, 1998.
- SALVADORE, G. et al. The Neurobiology of the Switch Process in Bipolar Disorder: a Review. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 71, n. 11, p. 1488-1501, 2010.

SALVATORE, P. et al. Circadian activity rhythm abnormalities in ill and recovered bipolar I disorder patients. **Bipolar Disorders**. v. 10, n. 2, p. 256-265, 2008.

SAPER, C. B.; SCAMMELL, T. E.; LU, J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. **Nature**. v. 437, p. 1257-1263, 2005.

SATO, T. K. et al. Feedback repression is required for mammalian circadian clock function. **Nature Genetics**. v. 38, p. 312-319, 2006.

SAUNDERS E. H. et al. Familiarity and diagnostic patterns of subphenotypes in the National Institutes of Mental Health bipolar sample. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 147B, n. 1, p. 18-26, 2008.

SCHAFFER, C. B. et al. Efficacy and safety of nonbenzodiazepine hypnotics for chronic insomnia in patients with bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 128, p. 305–308, 2011.

SCHLOESSER, R. J. et al. Cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. **Neuropsychopharmacology**. v. 33, n. 1, p. 110-133, 2008.

SCHOEYEN, H. K. et al. Bipolar disorder patients have similar levels of education but lower socio-economic status than the general population. **Journal of Affective Disorders**. v. 129, n. 1-3:68-74, 2011.

SCOTT, J. et al. Clinical staging in psychiatry: a cross-cutting model of diagnosis with heuristic and practical value. **British Journal of Psychiatry**. v. 202, n. 4, p. 243-245, 2013.

SCOTT, L. J. et al. Genome-wide association and meta-analysis of bipolar disorder in individuals of European ancestry. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**. v. 106, p. 7501–7506, 2009.

SEBAT, J. et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. **Science**. v. 305, p. 525–528, 2004.

SEGURADO, R. et al. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder. Part III: bipolar disorder. **American Journal of Human Genetics**. v. 73, p. 49-62, 2003.

SEIFUDDIN, F. et al. Meta-analysis of genetic association studies on bipolar disorder. **American Journal of Medical Genetics B**. v. 159B, p. 508-518, 2012.

SERRETTI, A.; MANDELLI, L. The genetics of bipolar disorder: “genome hot regions”, genes, new potential candidates and future directions. **Molecular Psychiatry**. v. 13, p. 742-771, 2008.

SEVERINO, G. et al. Association study in a Sardinian sample between bipolar disorder and the nuclear receptor REV-ERB alpha gene, a critical component of the circadian clock system. **Bipolar Disorders**. v. 11, n. 2, p. 215-220, 2009.

SEVERUS, E.; BAUER, M. Diagnosing bipolar disorders in DSM-5. **International Journal of Bipolar Disorders**. v. 1, n. 14, p. 1-3, 2013.

SHAND, A. J. et al. The seasonality of bipolar affective disorder: comparison with a primary care sample using the Seasonal Pattern Assessment Questionnaire. **Journal of Affective Disorders**. v. 132, n. 1-2, 289-292, 2011.

SHE, X. et al. Definition, conservation and epigenetics of housekeeping and tissue enriched genes. **BMC Genomics**. v. 10, p. 269, 2009.

SHEARMAN, L. P. et al. Targeted disruption of the mPer3 gene: subtle effects on circadian clock function. **Molecular and Cellular Biology**. v. 20, n. 17, p. 6269-6275, 2000.

SHEN, G. H. et al. Social rhythm regularity and the onset of affective episodes in bipolar spectrum individuals. **Bipolar Disorders**. v. 10, n. 4, p. 520-529, 2008.

SHI, J. et al. Clock genes may influence bipolar disorder susceptibility and dysfunctional circadian rhythm. **American Journal of Medical Genetics B, Neuropsychiatric Genetics**. v. 147B, n. 7, p. 1047-1055, 2008.

SHIEH, K.R.; CHU, Y.S.; PAN, J.T. Circadian change of dopaminergic neuron activity: effects of constant light and melatonin. **NeuroReport**. v. 8, p. 2283-2287, 1997.

SHIMBA, S. The role of the clock genes in obesity. **Nihon Rinsho**. v. 71, n. 2, p. 244-248, 2013.

SIEGEL, J. M. Do all animals sleep? **Trends in Neuroscience**. v. 31, n. 4, p. 208-13, 2008 Abr.

SIMON, N. M. et al. Anxiety disorder comorbidity in bipolar disorder patients: data from the first 500 participants in the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (STEP-BD). **American Journal of Psychiatry**. v. 161, n. 12, p. 2222-2229, 2004.

SIMONSEN, H. et al. Seasonal symptoms in bipolar and primary care patients. **Journal of Affective Disorders**. v. 132, n. 1-2, p. 200-208, 2011.

SIN, C. W.; HO, J. S.; CHUNG, J. W. Systematic review on the effectiveness of caffeine abstinence on the quality of sleep. **Journal of Clinical Nursing**. v. 18, n. 1, p. 13-21, 2009.

- SITARAM, N. et al. Cholinergic regulation of mood and REM sleep: potential model and marker of vulnerability to affective disorder. **American Journal of Psychiatry**. v. 139, p. 571-576, 1982.
- SJOHOLM, L. K. et al. CRY2 is associated with rapid cycling in bipolar disorder patients. **PLoS One**. V. 5, n. 9, p. e12632, 2010.
- SKJELSTAD, D. V.; MALT, U. F.; HOLTE, A. Symptoms and signs of the initial prodrome of bipolar disorder: a systematic review. **Journal of Affective Disorders**. v. 126, p. 1-13, 2010.
- SKLAR, P. et al. Whole-genome association study of bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**. v. 13, n. 6, p. 558-569, 2008.
- SKLAR, P.; et al. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. **Nature Genetics**. v. 43, n. 10, p. 977-983, 2011.
- SMITH, B. N. et al. Serotonergic modulation of retinal input to the mouse suprachiasmatic nucleus mediated by 5-HT1B and 5-HT7 receptors. **Journal of Biological Rhythms**. v. 16, p. 25–38, 2001.
- SMITH, E. N. et al. Genome-wide association of bipolar disorder suggests an enrichment of replicable associations in regions near genes. **PLoS Genetics**. v. 7, n. 6, p. e1002134, 2011.
- SMITH, E. N. et al. Genome-wide association study of bipolar disorder in european american and african american individuals. **Molecular Psychiatry**. v. 14, n. 8, 755-763, 2009.
- SMOLLER, J. W.; FINN, C. T. Family, twin, and adoption studies of bipolar disorder. **American Journals of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics**. v. 123C, p. 48-58, 2003.
- SOMANATH, C. P.; JAIN, S.; REDDY, Y. C. A family study of early-onset bipolar I disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 70, p. 91-94, 2002.
- SORECA, I. et al. Sleep apnea risk and clinical correlates in patients with bipolar disorder. **Bipolar Disorders**. v. 14, n. 6, p. 672-676, 2012a.
- SORECA, I. et al. Sleep duration is associated with dyslipidemia in patients with bipolar disorder in clinical remission. **Journal of Affective Disorders**. v. 141, n. 2-3, p. 484-487, 2012b.
- SORIA, V. et al. Differential association of circadian genes with mood disorders: CRY1 and NPAS2 are associated with unipolar major depression and CLOCK and VIP with bipolar disorder. **Neuropsychopharmacology**. v. 35, p. 1279–1289, 2010.

- SPROUSE, J.; BRASELTON, J.; REYNOLDS, L. Fluoxetine modulates the circadian biological clock via phase advances of suprachiasmatic nucleus neuronal firing. **Biological Psychiatry**. v. 60, p. 896-899, 2006.
- ST-AMAND, J. et al. Sleep disturbances in bipolar disorder during remission. **Journal of Affective Disorders**. V. 146, n. 1, p. 112-119, 2013.
- STATON, D. The impairment of pediatric bipolar sleep: hypotheses regarding a core defect and phenotype-specific sleep disturbances. **Journal of Affective Disorders**. v. 108, n. 3, p. 199-206, 2008.
- STIMMEL, G. L. The economic burden of Bipolar Disorder. **Psychiatric Services**. v. 55, n. 2, p. 117-118, 2004.
- SUOMINEN, K. et al. Early age at onset of bipolar disorder is associated with more severe clinical features but delayed treatment seeking. **Bipolar Disorders**. v. 9, n. 7, p. 698-705, 2007.
- SYLVIA, L. G. et al. Life events and social rhythms in bipolar spectrum disorders: a prospective study. **Behavior Therapy**. v. 40, p. 131–141, 2009.
- SYLVIA, L. G. et al. Sleep disturbance in euthymic bipolar patients. **Journal of Psychopharmacology**. v. 26, n. 8, p. 1108-1112, 2012.
- SZCZEPANKIEWICZ, A. et al. Association analysis of the GSK-3beta T-50C gene polymorphism with schizophrenia and bipolar disorder. **Neuropsychobiology**. v. 53, p. 51-56, 2006.
- TAFTI, M. Genetic aspects of normal and disturbed sleep. **Sleep Medicine**. v. 10, p.17-21, 2009.
- TALBOT, L. S. et al. A test of the bidirectional association between sleep and mood in bipolar disorder and insomnia. **Journal of Abnormal Psychology**. v. 121, n. 1, p. 39-50, 2012.
- TAVAKOLI-NEZHAD, M.; SCHWARTZ, W. J. Hamsters running on time: is the lateral habenula a part of the clock? **Chronobiology International**. v. 23, p. 217-224, 2006.
- TAYLOR, D. J. et al. Comorbidity of chronic insomnia with medical problems. **Sleep**. v. 30, p. 213-218, 2007.
- TAYLOR, M.; ABRAMS, R. Early- and late-onset bipolar illness. **Archives in General Psychiatry**. v. 38, p. 58-61, 1981.
- TERMAN, M.; TERMAN, J. S. Light therapy for seasonal and nonseasonal depression: efficacy, protocol, safety, and side effects. **CNS Spectrums**. v. 10, p. 647-663, 2005.

THOMPSON, J. M. et al. Neurocognitive impairment in euthymic patients with bipolar affective disorder. **British Journal of Psychiatry**. v. 186, p.32-40, 2005.

TIUVINA, N. A.; SMIRNOVA, V. N. A comparative evaluation of the efficacy of valdoxan (agomelatine) in recurrent depression and bipolar affective disorder. **Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova**. v. 112, n. 11, p. 53-60, 2012.

TOGEIRO, S. M. G. P.; SMITH, A. K. Diagnostics methods for sleep disorders **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 27, Supl. I, p. 8-15, 2005.

TORKAMANI, A.; TOPOL, E. J.; SCHORK, N. J. Pathway analysis of seven common diseases assessed by genome-wide association. **Genomics**. v. 92, p. 265-272, 2008.

TSUANG, M. T.; FARAONE, S. V. **The genetics of mood disorders**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1990.

UEDA, H. R. et al. System-level identification of transcriptional circuits underlying mammalian circadian clocks. **Nature Genetics**. v. 37, n.2, p. 187–192, 2005.

VALENTÍ, M. et al. Risk factors for antidepressant-related switch to mania. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 73, n. 2, p. 271-276, 2012.

VALTONEN, H. et al. Suicidal ideation and attempts in bipolar I and II disorders. **Journal of Clinical Psychiatry**. v. 66, n. 11, p. 1456-1452, 2005.

VALTONEN, H.M. et al. Suicidal behaviour during different phases of bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**. v. 97, n. 1-3, p. 101-7, 2007.

VALVEZAN, A. J.; KLEIN, P. S. GSK-3 and Signaling in Neurogenesis and Bipolar Disorder. **Frontiers in Molecular Neuroscience**. v. 5n. 1, p. 1-13, 2012.

VAN GELDER, R. N. Recent insights into mammalian circadian rhythms. **Sleep**. v. 27, p. 166-171, 2004.

VASSOS, E. et al. Replication Study and Meta-Analysis in European Samples Supports Association of the 3p21.1 Locus with Bipolar Disorder. **Biological Psychiatry**. v. 72, n. 8, p. 645-650, 2012.

VINK, J. M. et al. Genetic analysis of morningness and eveningness. **Chronobiology International**. v. 18, p. 809–822, 2001.

VIOLA, A. U. et al. Interindividual differences in circadian rhythmicity and sleep homeostasis in older people: effect of a PER3 polymorphism. **Neurobiology of Aging**. v. 33, n. 5, p. 1010.e17-27, 2012.

- VIOLA, A. U. et al. Per3 polymorphism predicts sleep structure and waking performance. **Current Biology**. v. 17, n. 7, p. 613-618, 2007.
- VINE, A. E.; CURTIS, D. Markers typed in genome-wide analysis identify regions showing deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. **BMC Research Notes**. v. 2, n. 29, p. 1-11, 2009
- WALZ, J. C. et al. Daytime sleepiness, sleep disturbance and functioning impairment in bipolar disorder. **Acta Neuropsychiatrica**. v. 25, n. 2, p. 101-104, 2013.
- WANG, H. et al. Large scale meta-analyses of fasting plasma glucose raising variants in GCK, GCKR, MTNR1B and G6PC2 and their impacts on type 2 diabetes mellitus risk. **PLoS One**. v. 8, n. 6, p. e67665, 2013.
- WANG, K, LI, M., BUCAN, M. Pathway-based approaches for analysis of genome-wide association studies. **American Journal of Medical Genetics**. v. 81, n. 6, p. 1278-1283, 2007.
- WANG, L. M. et al. Expression of the circadian clock gene Period2 in the hippocampus: possible implications for synaptic plasticity and learned behaviour. **ASN Neuro**. v. 1, n. 3, p. e00012, 2009.
- WANG, W. Y. et al. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. **Nature Reviews. Genetics**. v. 6, p. 109–118, 2005.
- WEAVER, D. R. The supraquiasmatic nucleus: a 25-year retrospective: **Journal of Biological Rhythms**. v. 13, p. 100-112, 1998
- WEBER, M. et al. Circadian patterns of neurotransmitter related gene expression in motor regions of the rat brain. **Neuroscience Letters**. v. 358, p. 17-20, 2004.
- WEHR, T. A. A 'clock for all seasons' in the human brain. **Progress in Brain Research**. v. 111, p. 321-342, 1996.
- WEHR, T. A. et al. 48-hour sleep-wake cycles in manic-depressive illness: naturalistic observations and sleep deprivation experiments. **Archives of General Psychiatry**. v. 39, p. 559-565, 1982.
- WEHR, T. A.; SACK, D. A.; ROSENTHAL, N. E. Sleep reduction as a final common pathway in the genesis of mania. **American Journal of Psychiatry**. v. 144, p. 201-204, 1987.
- WEINNER, N. et al. Circadian and seasonal rhythms of 5-HT receptor subtypes, membrane anisotropy and 5-HT release in hippocampus and cortex of the rat. **Neurochemistry International**. v. 21, p. 7-14, 1992.



- WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. **Nature**. v. 447, p. 661-678, 2007.
- WELSH, D. K.; MOORE-EDE, M. C. Lithium lengthens circadian period in a diurnal primate, *Saimiri sciureus*. **Biological Psychiatry**. v. 28, p. 117–126, 1990.
- WENDER, P. H. et al. Psychiatric disorders in the biological and adoptive families of adopted individuals with affective disorders. **Archives of General Psychiatry**. v. 43, p. 923-929, 1986.
- WHALLEY, L. J. et al. Melatonin response to bright light in recovered, drug-free, bipolar patients. **Psychiatry Research**. v. 38, p. 13–19, 1991.
- WINHAM, S. J. et al. Genome-wide association study of bipolar disorder accounting for effect of body mass index identifies a new risk allele in TCF7L2. **Molecular Psychiatry**. 2013. [artigo aceito para impressão]
- WINOKUR, G.; CLAYTON, P. J.; REICH, T. **Manic Depressive Illness**. St Louis, CV Mosby, 1969a.
- WINOKUR, G.; TANNA, V.L. Possible role of X-linked dominant factor in manic depressive disease. **Diseases of the Nervous System**. v. 30, p. 89-94, 1969b.
- WIRZ-JUSTICE, A. Chronobiology and mood disorders. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 5, p. 315-325, 2003.
- WITTKÉ-THOMPSON, J. K.; PLUZHNIKOV, A.; COX, N. J. Rational inferences about departures from Hardy-Weinberg equilibrium. **American journal of human genetics**. v. 76, n. 6, p. 967–986, 2005.
- WOJNAR, M. et al. Sleep problems and suicidality in the National Comorbidity Survey Replication. **Journal of Psychiatric Research**. v. 43, p. 526-531, 2009.
- WOOD, J. et al. Replicable differences in preferred circadian phase between bipolar disorder patients and control individuals. **Psychiatry Research**. v. 166, p. 201–209, 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The World Health Report 2001 – Mental Health: New understanding, new hope**. Geneva, World Health Organization, 2001.
- WYATT, J. K. et al. Sleep facilitating effect of exogenous melatonin in healthy young men and women is circadian-phase dependent. **Sleep**. v. 29, p. 609-618, 2006.
- XU, W. et al. Genome-wide association study of bipolar disorder in Canadian and UK populations corroborates disease loci including SYNE1 and CSMD1. **BMC Medical Genetics**. v. 15, n. 1, p. 2e, 2014.

- YAMAZAKI, S. et al. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. **Science**. v. 288, p. 682–685, 2000.
- YAN, J. et al. Analysis of gene regulatory networks in the mammalian circadian rhythm. **PLoS Computational Biology**. v. 4, p. e1000193, 2008.
- YOSIFOVA, A. et al. Genome-wide association study on bipolar disorder in the Bulgarian population. **Genes, Brain and Behavior**. v. 10, n. 7, p.789-797, 2011.
- YANG, A. C. et al. Effects of age, sex, index admission, and predominant polarity on the seasonality of acute admissions for bipolar disorder: a population-based study. **Chronobiology International**. v. 30, n. 4, 478-485, 2013.
- YOUNG, R.C. et al. A rating scale for mania: reliability, validity, and sensitivity. **British Journal of Psychiatry**. v. 133, p. 429-433, 1978.
- ZANDI, P. P. et al. Association study of Wnt signaling pathway genes in bipolar disorder. **Archives of General Psychiatry**. v. 65, n. 7, p. 785-793, 2008.
- ZARATE, C.A. Jr. et al. Functional impairment and cognition in bipolar disorder. **Psychiatric Quarterly**. v. 71, p. 309-329, 2000.
- ZHANG, B.; WING, Y. K. Sex differences in insomnia: a meta-analysis. **Sleep**. v. 29, p. 85-93, 2006.
- ZHANG, E. E. et al. A genomewide mRNA screen for modifiers of the circadian clock in human cells. **Cell**. v. 139, p. 199-210, 2009.
- ZHAO, H.; RUSAK, B. Circadian firing-rate rhythms and light responses of rat habenular nucleus neurons in vivo and in vitro. **Neuroscience**. v. 132, p. 519-528, 2005.
- ZINTZARAS, E. Impact of Hardy-Weinberg equilibrium deviation on allele-based risk effect of genetic association studies and meta-analysis. **European journal of epidemiology**. v. 25, n. 8, p. 553–560, 2010.
- ZYLKA, M. J. et al. Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. **Neuron**. v. 2, p. 1103-1110, 1998.

**ANEXO A – Parecer CEP-UFMG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

**Projeto: CAAE - 0064.0.203.000-09**

**Interessado(a): Prof. Fernando Silva Neves  
Departamento de Saúde Mental  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

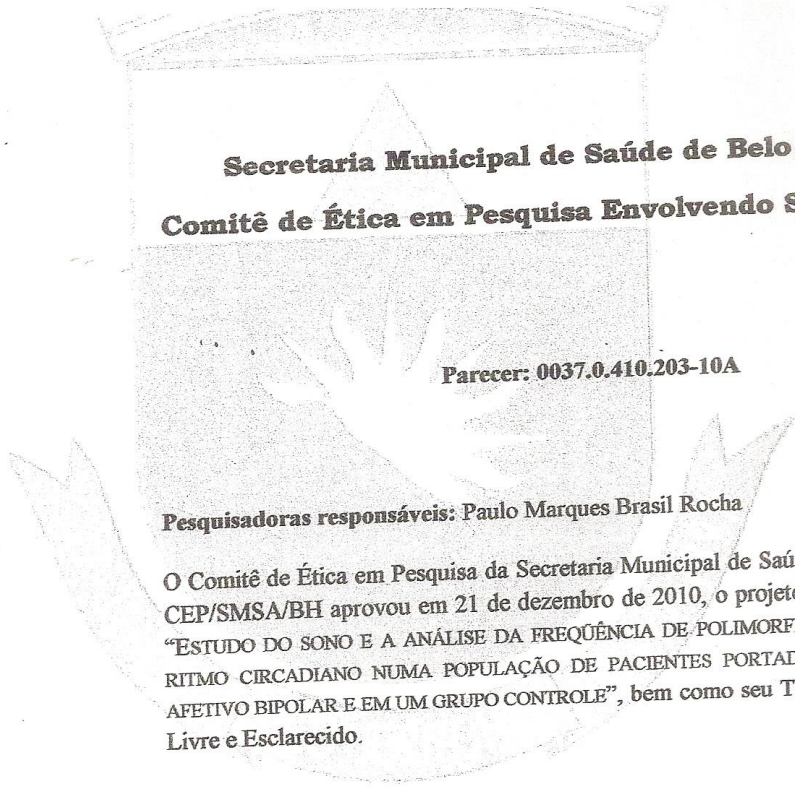
O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 10 de janeiro de 2012, a solicitação de extensão do projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação dos polimorfismo do VAT2, BMAL-1, Per3 CRHR1, SLC6A4, TPH2, DRD4, SLC6A3, DAOA, DTNBP1, NRG1, DISC1, CLOCK e BDNF em pacientes com diagnóstico de transtorno bipolar e familiares de primeiro grau**".

A aprovação é válida por um ano (de 29 de março de 2012 a 30 de março de 2013).

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. T. Marques Amaral', is written over a horizontal line.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG**

**ANEXO B – Parecer CEP- Prefeitura Belo Horizonte**

**Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte**  
**Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos**

**Parecer: 0037.0.410.203-10A**

**Pesquisadoras responsáveis: Paulo Marques Brasil Rocha**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte – CEP/SMSA/BH aprovou em 21 de dezembro de 2010, o projeto de pesquisa intitulado “ESTUDO DO SONO E A ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DE POLIMORFISMOS QUE REGULAM O RITMO CIRCADIANO NUMA POPULAÇÃO DE PACIENTES PORTADORES DE TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR E EM UM GRUPO CONTROLE”, bem como seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP um ano após início do projeto ou ao final deste, se em prazo inferior a um ano.



**Rosiene Maria de Freitas**

**Coordenadora do CEP/SMSA/BH**

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos  
Secretaria Municipal de Saúde de BH  
CEP-SMSA/BH

Avenida Afonso Pena, 2336, 9º andar. Funcionários - Belo Horizonte. 30.130-007 -  
MG.

TEL.: (31) 3277-5309 FAX: (31) 3277-7768



**ANEXO C – Parecer CEP-FHEMIG**

EPR

**FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**  
**Solicitação de Extensão**

O CEP-FHEMIG recebeu, em 25 de Junho de 2010, solicitação de EXTENSÃO ao Projeto: “Estudo do sono em pacientes portadores de transtorno afetivo bipolar e em um grupo controle e análise da frequência de polimorfismos que regulam o ritmo circadiano”, enviados pelo Pesquisador Paulo Marcos Brasil Rocha.

**EXTENSÃO SOLICITADA:**

- Prorrogação do prazo de coleta de dados, para a conclusão do número necessário de pacientes da amostra.

**CONSIDERAÇÕES:**

- O projeto já foi apresentado e aprovado neste CEP em 15 de dezembro 2008.  
 - Os pesquisadores garantem que não haverá alteração no protocolo de pesquisa apreciado.

**PARECER:**

**- A FAVOR DA EXTENSÃO SOLICITADA.**

- Os pesquisadores deverão citar quando solicitados o parecer de aprovação do CEP-FHEMIG 154/2008.

Belo Horizonte, 28 de Junho de 2010.

*Vanderson Assis Romualdo*  
 Vanderson Assis Romualdo  
 Coordenador  
 Comitê de Ética em Pesquisa / FHEMIG

**Vanderson Assis Romualdo**  
**COORDENADOR DO CEP-FHEMIG**

## ANEXO D – Termo de Consentimento UFMG

### TERMO DE CONSENTIMENTO: PACIENTES E FAMILIARES

**PROJETO: AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO VAT2, BMAL 1 ,Per3 CRHR1,CRHR2 SLC6A4, TPH2, DRD4, SLC6A3, DA0A, DTNBPI, NRG1, DISCI, CLOCK e BDNFEM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE TRANSTORNO BIPOLARE FAMILIARES DE PRIMEIRO GRAU**

**OBJETIVO DAS INFORMAÇÕES:** Estas informações estão sendo fornecidas para esclarecer quaisquer dúvidas sobre o estudo e obter o seu consentimento. Este projeto está sendo proposto porque várias evidências científicas mostram que pode haver determinantes moleculares que ajudariam a explicar as diferenças em termos de prevalência de transtorno bipolar na mesma família e na população geral. Existem muitas evidências sugerindo que tais diferenças poderiam provocar modificações nos neurotransmissores (substância que permite a comunicação entre os neurônios) que estariam associadas ao transtorno bipolar. Nesse estudo pretendemos avaliar em um grupo de pessoas portadoras do transtorno bipolar e em seus familiares de primeiro grau em tratamento no serviço psiquiátrico do HC-UFMG se elementos ligados à neuro-transmissão poderiam estar associados ao desenvolvimento do transtorno bipolar.

**PROCEDIMENTOS:** Esse estudo irá consistir inicialmente de uma entrevista para coletarmos algumas informações sobre o seu histórico médico, que terá a garantia de sigilo restrito ao responsável pelo projeto (Dr. Fernando). Alguns pacientes e seus familiares serão selecionados, a participar da segunda fase desse estudo que consiste em realizar uma série de entrevistas que visam nos dar maior clareza sobre o seu diagnóstico e sobre algumas características de sua personalidade. A seguir faremos a coleta de 5 ml de seu sangue que será identificada por código de conhecimento exclusivo dos pesquisadores responsáveis para que seja realizado o estudo. A amostra de seu sangue será desprezada após realizarmos os procedimentos não sendo aproveitada por nosso grupo ou qualquer um outro, em estudos futuros ou de qualquer outra natureza.

**BENEFÍCIOS e FINANCIAMENTO:** Esse estudo é primariamente dirigido para que possa haver melhor compreensão de parâmetros clínicos e biológicos que possam estar associados ao transtorno bipolar. Não há para o senhor(a) nenhum benefício direto na participação desse estudo, e não é prevista qualquer compensação financeira, porém esses dados podem nos auxiliar a, no futuro, termos métodos mais eficientes no diagnóstico e tratamento de pessoas com transtorno bipolar. O senhor (a) não está abrindo mão de seus direitos legais ao assinar esse termo. A recusa em participar desse estudo não implicará em prejuízo de relacionamento profissional ou pessoal. O presente projeto é financiado exclusivamente por agências de fomento públicas, não existe nenhum gasto financeiro por parte dos executores.

**GARANTIA DE ACESSO:** Em qualquer etapa do tratamento você terá acesso aos profissionais responsáveis pelo mesmo para esclarecimento de eventuais dúvidas. O profissional responsável é o Dr. Fernando Silva Neves (3134099785). A comissão de ética em pesquisa da

UFMG poderá ser contatada através do endereço AV.Pres. Antônio Carlos, 6627- Unidade administrativa li \_2º andar - sala 2005. CEP: 31270 .. 901 - BH-MG telefax (031) 3409-4592- email: coep@prpq.ufmg.br

**CONFIDENCIALIDADE:** As informações obtidas serão analisadas pela equipe em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito à privacidade e os profissionais irão tomar as devidas precauções para proteger a confidencialidade de seus registros. Seu nome e quaisquer outras informações que possam lhe identificar não aparecerão em nenhuma apresentação ou publicação resultantes desse estudo. Cabe ao participante decidir sobre a opção de participar ou não deste estudo. O participante deve ter ciência que a qualquer momento ele pode retirar o seu consentimento de participação, sem que isso implique em perda de direitos pré-existentes ou prejuízo no relacionamento profissional, pessoal e no tratamento de sua patologia.

Confirmo que fui devidamente esclarecido sobre os propósitos e os procedimentos desse estudo e livremente aceito participar do estudo.

Nome por extenso:

Assinatura:

Local e data:

Declaro que pessoalmente expliquei ao participante os propósitos e procedimentos do estudo

Nome por extenso:

Assinatura:

Local e data:



## ANEXO E – Termo de Consentimento da Prefeitura de Belo Horizonte

### TERMO DE CONSENTIMENTO

**PROJETO:** Estudo do sono e análise da frequência de polimorfismos que regulam o ritmo circadiano numa população de pacientes portadores de Transtorno Afetivo Bipolar e em um grupo controle

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** Estas informações estão sendo fornecidas para esclarecer quaisquer dúvidas sobre o estudo e obter o seu consentimento. Este projeto está sendo proposto porque várias evidências científicas vêm mostrando aspectos relacionados ao controle do sono ajudariam a explicar e melhor entender as alterações do sono tão comumente observadas em pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar. Esse estudo tem como objetivo avaliar em um grupo de pessoas em tratamento no CERSAM-LESTE se uma baixa qualidade do sono pode ser mais freqüente em pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar se comparados a indivíduos controles.

**PROCEDIMENTOS:** Esse estudo irá consistir inicialmente de uma entrevista para coletarmos algumas informações sobre o seu histórico médico, que terão garantia de sigilo restrita aos responsáveis pelo projeto. A seguir faremos a coleta de 5 ml de seu sangue (por auxiliar de enfermagem idônea e experiente) que será identificada por código de conhecimento exclusivo dos pesquisadores responsáveis para que seja realizada a análise laboratorial.

**BENEFÍCIOS E RISCOS:** Esse estudo é primariamente dirigido para que possa haver melhor compreensão sobre as alterações do sono apresentadas por pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar. Não há para o senhor (a) nenhum benefício direto na participação desse estudo, e não é prevista qualquer compensação financeira. O senhor (a) não está abrindo mão de seus direitos legais ao assinar esse termo. A recusa em participar desse estudo não implicará em prejuízo de relacionamento profissional ou pessoal e não trará qualquer conseqüência para a continuidade de seu tratamento. O único procedimento invasivo será uma coleta de sangue periférico em tubos estéreis à vácuo, com seringa e agulha descartáveis. Este procedimento será executado com a máxima segurança possível e por pessoal experiente. Os riscos para o paciente são os habituais de coleta de sangue.

**GARANTIA DE ACESSO:** Em qualquer etapa do tratamento você terá acesso aos profissionais responsáveis pelo mesmo para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os profissionais responsáveis são: Dr Paulo M. B. Rocha no telefone 99942393; Comitê de Ética e Pesquisa da SMSA – PBH; Avenida Afonso Pena, 2336 - 9º andar Bairro Funcionários - Belo Horizonte – MG, Cep 30130-007 Tel: (31) 3277-5309 e-mail: [coep@pbh.gov.br](mailto:coep@pbh.gov.br); Comitê de Ética e Pesquisa UFMG; Av Antônio Carlos, Unidade Administrativa II – 2º andar – sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte – MG, tel (031-34094592), email: [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br)

**CONFIDENCIALIDADE:** As informações obtidas serão analisadas pela equipe em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito à privacidade e os profissionais irão tomar as devidas precauções para proteger a confidencialidade de seus registros. Seu nome e quaisquer outras informações que possam lhe identificar não aparecerão em nenhuma apresentação ou publicação resultantes desse estudo. Cabe ao participante decidir sobre a opção de participar ou não deste estudo. O participante deve ter ciência que a qualquer momento ele pode retirar o seu consentimento de participação, sem que isso implique em perda de direitos pré-existentes ou prejuízo no relacionamento profissional, pessoal e no tratamento de sua patologia.

Confirmo que fui devidamente esclarecido sobre os propósitos e os procedimentos desse estudo e livremente aceito participar do estudo.

Nome por extenso:

Assinatura:

Local e data:

Declaro que pessoalmente expliquei ao participante os propósitos e procedimentos do estudo.

Nome por extenso:

Assinatura:

Local e data:



## **ANEXO F – Termo de Consentimento FHEMIG**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO**

PROJETO: Estudo do sono em pacientes portadores de transtorno afetivo bipolar e em um grupo controle e análise da frequência de polimorfismos que regulam o ritmo circadiano

#### **1 OBJETIVO DAS INFORMAÇÕES:**

Estas informações estão sendo fornecidas para esclarecer quaisquer dúvidas sobre o estudo e obter o seu consentimento. Este projeto está sendo proposto porque várias evidências científicas mostrando que pode haver determinantes genéticos que ajudariam a explicar as alterações do ciclo sono-vigília tão comumente observadas em pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar.

Esse estudo tem como objetivo avaliar em um grupo de pessoas em tratamento no serviço psiquiátrico do IRS-FHEMIG se alguns genes ligados à regulação dos ritmos circadianos podem ser mais frequentes em pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar.

#### **2 PROCEDIMENTOS:**

Esse estudo irá consistir inicialmente de uma entrevista para coletarmos algumas informações sobre o seu histórico médico, que terão garantia de sigilo restrita aos responsáveis pelo projeto. A seguir faremos a coleta de 5 ml de seu sangue (por auxiliar de enfermagem idônea e experiente) que será identificada por código de conhecimento exclusivo dos pesquisadores responsáveis para que seja realizado o estudo genético.

#### **3 BENEFÍCIOS:**

Esse estudo é primariamente dirigido para que possa haver melhor compreensão de parâmetros clínicos e biológicos das alterações dos ritmos circadianos apresentadas por pacientes com Transtorno Afetivo Bipolar. Não há para o senhor(a) nenhum benefício direto na participação desse estudo, e não é prevista qualquer compensação financeira. O senhor (a) não está abrindo mão de seus direitos legais ao assinar esse termo. A recusa em participar desse estudo não implicará em prejuízo de relacionamento profissional ou pessoal.

#### **4 GARANTIA DE ACESSO:**

Em qualquer etapa do tratamento você terá acesso aos profissionais responsáveis pelo mesmo para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os profissionais responsáveis são: Dr. Humberto Correa, que pode ser encontrado no telefone 91039600, Dr. Fernando Silva Neves no telefone 99925006 e Dr. Paulo Marcos Brasil Rocha no telefone 99942393.

#### **5 CONFIDENCIALIDADE:**

As informações obtidas serão analisadas pela equipe em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito à privacidade e os profissionais irão tomar as devidas precauções para proteger a confidencialidade de seus registros. Seu nome e quaisquer outras informações que possam lhe identificar não aparecerão em nenhuma apresentação ou publicação resultantes desse estudo. Cabe ao participante decidir sobre a opção de participar ou não deste estudo. O participante deve ter ciência que a

qualquer momento ele pode retirar o seu consentimento de participação, sem que isso implique em perda de direitos pré-existentes ou prejuízo no relacionamento profissional, pessoal e no tratamento de sua patologia .

Confirmo que fui devidamente esclarecido sobre os propósitos e os procedimentos desse estudo e livremente aceito participar do estudo.

Nome por extenso:

Assinatura:

Local e data:

Declaro que pessoalmente expliquei ao participante os propósitos e procedimentos do estudo.

Nome por extenso:

Assinatura:

Local e data:

## ANEXO G – Inventário de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI-BR)

### ÍNDICE DE QUALIDADE DE SONO DE PITTSBURGH (PSQI-BR)

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_\_\_

#### Instruções:

As seguintes perguntas são relativas aos seus hábitos de sono durante o **último mês somente**. Suas respostas devem indicar a lembrança mais exata da **maioria** dos dias e noites do último mês. Por favor, responda a todas as perguntas.

1. Durante o último mês, quando você geralmente foi para a cama à noite?  
 Hora usual de deitar \_\_\_\_\_
2. Durante o último mês, quanto tempo (em minutos) você geralmente levou para dormir à noite?  
 Número de minutos \_\_\_\_\_
3. Durante o último mês, quando você geralmente levantou de manhã?  
 Hora usual de levantar \_\_\_\_\_
4. Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (Este pode ser diferente do número de horas que você ficou na cama).  
 Horas de sono por noite \_\_\_\_\_

Para cada uma das questões restantes, marque a **melhor (uma)** resposta. Por favor, responda a todas as questões.

5. Durante o último mês, com que frequência você **teve dificuldade de dormir** porque você...
  - (a) Não conseguiu adormecer em até 30 minutos  
 Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
 1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_
  - (b) Acordou no meio da noite ou de manhã cedo  
 Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
 1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_
  - (c) Precisou levantar para ir ao banheiro  
 Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
 1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_
  - (d) Não conseguiu respirar confortavelmente  
 Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
 1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_
  - (e) Tossiu ou roncou forte  
 Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
 1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_
  - (e) Sentiu muito frio  
 Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
 1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

(f) Sentiu muito calor

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

(g) Teve sonhos ruins

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

(h) Teve dor

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

(i) Outra(s) razão(ões), por favor descreva \_\_\_\_\_

Com que frequência, durante o último mês, você teve dificuldade para dormir devido a essa razão?

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

6. Durante o último mês, como você classificaria a qualidade do seu sono de uma maneira geral?

Muito boa \_\_\_\_\_  
Boa \_\_\_\_\_  
Ruim \_\_\_\_\_  
Muito ruim \_\_\_\_\_

7. Durante o último mês, com que frequência você tomou medicamento (prescrito ou “por conta própria”) para lhe ajudar a dormir?

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

8. No último mês, com que frequência você teve dificuldade de ficar acordado enquanto dirigia, comia ou participava de uma atividade social (festa, reunião de amigos, trabalho, estudo)?

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

9. Durante o último mês, quão problemático foi para você manter o entusiasmo (ânimo) para fazer as coisas (suas atividades habituais)?

Nenhuma dificuldade \_\_\_\_\_  
Um problema leve \_\_\_\_\_  
Um problema razoável \_\_\_\_\_  
Um grande problema \_\_\_\_\_

10. Você tem um(a) parceiro [espos(a)] ou colega de quarto?

Não \_\_\_\_\_  
Parceiro ou colega, mas em outro quarto \_\_\_\_\_  
Parceiro no mesmo quarto, mas não na mesma cama \_\_\_\_\_  
Parceiro na mesma cama \_\_\_\_\_

Se você tem um parceiro ou colega de quarto, pergunte a ele/ela com que frequência, no último mês, você teve:

## (a) Ronco forte

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

## (b) Longas paradas na respiração enquanto dormia

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

## (c) Contrações ou puxões nas pernas enquanto você dormia

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

## (d) Episódios de desorientação ou confusão durante o sono

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_

## (e) Outras alterações (inquietações) enquanto você dorme; por favor, descreva

---

Nenhuma no último mês \_\_\_\_\_ Menos de 1 vez/ semana \_\_\_\_\_  
1 ou 2 vezes/ semana \_\_\_\_\_ 3 ou mais vezes/ semana \_\_\_\_\_