

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THALES EDUARDO DA SILVA SANTOS

RITMICIDADE CIRCADIANA E GENES CORRELACIONADOS A GENES
RELÓGIO (CCorGS) IDENTIFICADOS EM REDES DE CO-EXPRESSÃO NO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS E HUMANOS.

Maceió
2025

THALES EDUARDO DA SILVA SANTOS

RITMICIDADE CIRCADIANA E GENES CORRELACIONADOS A GENES
RELÓGIO (CCorGS) IDENTIFICADOS EM REDES DE CO-EXPRESSÃO NO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS E HUMANOS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Alagoas, como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharelado em
Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Gomes de Andrade

Maceió
2025

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237r Santos, Thales Eduardo da Silva.

Ritmicidade circadiana e genes correlacionados a genes relógio (CCorGS) identificados em redes de co-expressão no sistema nervoso central de camundongos e humanos / Thales Eduardo da Silva Santos. – Maceió, 2025. 62 f. : il.

Orientador: Tiago Gomes de Andrade.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas: bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2025.

Bibliografia: f. 38-41.

1. Ritmo circadiano. 2. Redes de co-expressão gênica. 3. Genes correlacionados ao relógio. 4. Sistema nervoso central. 6. Biologia computacional. I. Título.

CDU: 599.323:616.12-008.3

Folha de Aprovação

THALES EDUARDO DA SILVA SANTOS

RITMICIDADE CIRCADIANA E GENES CORRELACIONADOS A GENES RELÓGIO (CCorGS) IDENTIFICADOS EM REDES DE CO-EXPRESSÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS E HUMANOS.

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à banca examinadora do curso de Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 6 de Fevereiro de 2025.

Documento assinado digitalmente
 TIAGO GOMES DE ANDRADE
Data: 10/02/2025 14:22:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Tiago Gomes de Andrade, Faculdade de Medicina - UFAL

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 DANIEL GOMES COIMBRA
Data: 10/02/2025 08:48:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Daniel Gomes Coimbra, Faculdade de Medicina - UFAL

Documento assinado digitalmente
 DALMO ALMEIDA DE AZEVEDO
Data: 10/02/2025 12:45:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Dalmo Almeida de Azevedo, Instituto de Ciências Biológicas - UFAL

Dedico à minha família por serem meus maiores
incentivadores e fonte de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família pelo apoio que sempre me foi dado. Em especial agradeço minha mãe, Valderéz Galdino; pai, Admilson Macário; irmãos, Michelle e André, e sobrinha Isabella Sofia.

Agradeço também meu orientador Prof. Tiago Gomes de Andrade por toda orientação e ensinamento durante a graduação e PIBIC no campo de cronobiologia, bioinformática e, futuramente, evolução.

Agradeço também meus amigos de graduação pelo companheirismo e risadas, certamente seguirão um caminho brilhante pela frente: Alex, Auana, Erick, Gabriela, Geanderson, Isabelle, Jimena, Karen, Letícia, Max e Mayza.

Agradeço também meus amigos e colegas de laboratório por toda ajuda com as diversas técnicas e análises que realizamos no CMC : Ellyda, Daniel, Arthur, Vinícius e Clara.

Agradeço também aos meus amigos do IFAL que seguem comigo há quase uma década: Rebeca, Jonatan, Bianca e Estefany.

Agradeço também ao desenvolvedor do CCorGsDB, Luiz Araújo, que me auxiliou durante a execução da pesquisa.

Agradeço aos professores da graduação por todo conhecimento transmitido a mim durante o curso, sempre se adaptando da melhor maneira às adversidades que surgiram durante o caminho.

Agradeço também os professores Reginaldo Petrolí e Dalmo Azevedo por aceitarem compor a banca examinadora.

Por fim, deixo meus agradecimentos à agência de fomento CNPq por todo o período de pesquisa que realizei com bolsa e pelos materiais de trabalhos financiados por editais em incentivo à produção científica.

*“Não é na ciência que está a felicidade,
mas na aquisição da ciência.”
(Edgar Allan Poe)*

RESUMO

Genes controlados pelo relógio (CCG) são componentes cruciais da rede molecular que sustenta o ritmo circadiano. Com transcrição controlada por genes relógio e alta especificidade tecidual, desempenham participação fundamental na regulação circadiana de uma vasta gama de processos fisiológicos, comportamentais e imunológicos. O banco de dados *CCorGsDB* detectou genes correlacionados ao genes relógio (*CCorGs*), potenciais CCG, a partir de redes de co-expressão gênica em regiões do encéfalo de camundongos e de humanos. Como muitos *CCorGs* e CCG são alvos de fármacos, compreender sua expressão circadiana pode trazer vantagens terapêuticas. A aplicação de transcriptomas temporais em conjunto com o *CCorGsDB* pode ajudar a esclarecer a influência que os genes relógio exercem sobre a expressão gênica de *CCorGs* em diferentes tecidos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a associação entre o grau de correlação e ritmicidade circadiana de *CCorGs* detectados em redes de co-expressão gênica nos encéfalos murino e humano a partir do banco de dados *CCorGsDB*. Para isso, dados temporais de datasets públicos foram submetidos à análise de ritmicidade para obtenção de amplitude relativa (rAMP). Diferenças de correlação na distribuição de rAMPs foram avaliadas com o teste de Mann-Whitney. O teste de Fisher foi aplicado para avaliar o enriquecimento de genes relógio nos *CCorGs* de todas regiões murinas e humanas do *CCorGsDB*. O percentil 95 de rAMP demonstrou valores de correlação maiores que o percentil 5 em todos os tecidos analisados, com exceção do hipotálamo lateral rostral. 6 regiões de camundongo e 7 regiões de humano apresentaram significância estatística (Fisher $p < 0.05$). Os resultados sugerem que as regiões significantes para Fisher possuem enriquecimento para genes relógio e indicam maior robustez na expressão de genes com maiores valores de correlação nas áreas analisadas.

Palavras-chave: Ritmos circadianos; Redes de co-expressão gênica; Genes correlacionados ao relógio; Sistema nervoso central; Bioinformática

ABSTRACT

Clock-controlled genes (CCG) are crucial components of the molecular network sustaining the circadian rhythm. With transcription regulated by clock genes and high tissue specificity, they play a fundamental role in the circadian regulation of a wide range of physiological, behavioral, and immunological processes. The CCorGsDB database identified genes correlated with clock genes (CCorGs), potential CCG, through gene co-expression networks in mouse and human brain regions. Since many CCorGs and CCG are drug targets, understanding their circadian expression may offer therapeutic advantages. The application of temporal transcriptomes in conjunction with CCorGsDB can help elucidate the influence of clock genes on the gene expression of CCorGs in different tissues. Thus, the objective of this study was to evaluate the association between the degree of correlation and circadian rhythmicity of CCorGs identified in gene co-expression networks in mouse and human brains from the CCorGsDB database. To achieve this, temporal data from public datasets were subjected to rhythmicity analysis to obtain relative amplitude (rAMP). Differences in correlation within the distribution of rAMPs were assessed using the Mann-Whitney test. Fisher's test was applied to evaluate the enrichment of clock genes among CCorGs in all murine and human regions included in the CCorGsDB. The 95th percentile of rAMP showed higher correlation values compared to the 5th percentile across all analyzed tissues, except for the rostral lateral hypothalamus. Six mouse regions and seven human regions exhibited statistical significance (Fisher $p < 0.05$). These results suggest that regions significant in Fisher's exact test are enriched for clock genes and indicate greater robustness in the expression of genes with higher correlation values in the analyzed areas.

Palavras-chave: Circadian rhythms; Gene co-expression networks; Clock-correlated genes; Central nervous system; Bioinformatics.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Lista de quadros

Quadro 1 -	Regiões equivalentes presentes nos estudos e no CCorGsDB.....	26
------------	---	----

Lista de tabelas

Tabela 1 -	Resultados dos testes de Mann-Whitney e tamanho de efeito.....	29
Tabela 2 -	Número amostral (#) e valores para as medianas de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 e 95 da distribuição de rAMP.....	31
Tabela 3 -	Dados de transcriptomas murino e humano recuperados no CCorGSDB.....	33
Tabela 4 -	Resultado do teste exato de Fisher para avaliar o enriquecimento circadiano das regiões do CCorGsDB.....	34

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E FIGURAS

Figura 1 -	Alças de retroalimentação transcricionais-traducionais.....	20
Figura 2 -	Mecanismos moleculares envolvidos nas alças de retroalimentação que compõem o relógio celular.....	21
Figura 3 -	Esquema da sincronização circadiana fótica.....	22
Figura 4 -	Fluxograma da metodologia aplicada ao trabalho.....	25
Figura 5 -	Cortes dos Percentis 95 e 5 da distribuição de amplitude relativa(rAMP) no transcriptoma de tronco encefálico de camundongo.....	27
Figura 6 -	Diagrama em caixa com a distribuição dos valores de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 (Baixa rAMP) e 95 (Alta rAMP) da distribuição da amplitude relativa (rAMP) dos dados de Zhang et al., 2014.....	29
Figura 7 -	Diagrama em caixa com a distribuição dos valores de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 (Baixa rAMP) e 95 (Alta rAMP) da distribuição da amplitude relativa (rAMP) dos dados de Van Rosmalen et al., 2024.....	29
Figura 8 -	Diagrama de dispersão com a distribuição das regiões encefálicas analisadas posicionadas de acordo com $-\log_{10}(\text{p-value})$ do teste Exato de Fisher).....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Allen Brain Atlas
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
APO	Áreas pré-ópticas
ARNTL	<i>Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1</i>
ARNTL2	<i>Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 2</i>
ARQ	Núcleo arqueado
Bmal1	<i>Basic helix-loop-helix ARNT like 1</i>
CCA	Córtex congelado anterior
CCG	<i>Clock-Controlled gene</i>
CCorGs	<i>Clock-correlated genes</i>
CCorGsDB	<i>Clock-correlated genes database</i>
CER	Cerebelo
CK1δ	<i>Casein kinase 1δ</i>
CK1ε	<i>Casein kinase 1ε</i>
COR	Córtex
CPF	Córtex pré-frontal
CRH	Hormônio corticotropina
Cry1	<i>Cryptochrome 1</i>
Cry2	<i>Cryptochrome 2</i>
Csnk1a1	<i>Casein kinase 1 alpha 1</i>
Csnk1d	<i>Casein kinase 1 delta</i>
Csnk1e	<i>Casein kinase 1 epsilon</i>
D-BOX	<i>Destruction Box</i>
Dbp	<i>D-site binding protein</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico

E-BOX	<i>Enhancer box</i>
FAMED	Faculdade de medicina
Fbxl21	<i>F-box and leucine-rich repeat protein 21</i>
Fbxl3	<i>F-box and leucine rich repeat protein 3</i>
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GEO	Gene Expression Omnibus
GTE _x	Genotype-Tissue Expression Portal
HCE	Hemisfério cerebelar
HDM	Hipotálamo dorsomedial
HIP	Hipocampo
HIT	Hipotálamo
HLR	Hipotálamo lateral rostral
HVM	Hipotálamo ventromedial
LHC	Hipotálamo lateral caudal
NCBI	National Center of Biotechnology Information
Nfil3	<i>Nuclear factor interleukin 3 regulated</i>
NPAS2	<i>Neuronal PAS domain protein 2</i>
NPV	Núcleo paraventricular
Nr1d1	<i>Nuclear receptor subfamily 1 group D member 1</i>
Nr1d2	<i>Nuclear receptor subfamily 1 group D member 2</i>
NSQ	Núcleo supraquiasmático
OLB	Bulbo olfatório
Per1	<i>Period 1</i>
Per2	<i>Period 2</i>
Per3	<i>Period 3</i>
rAMP	Amplitude relativa
RORA	<i>Related Orphan Nuclear Receptor Alpha</i>
RORB	<i>Related Orphan Nuclear Receptor Beta</i>

RORE	<i>ROR-response elements</i>
SC	Corda espinhal
SNC	Sistema nervoso central
SNE	Substância Negra
TEF	<i>Thyrotroph Embryonic Factor</i>
TRE	Tronco Encefálico
TTFL	<i>Transcriptional-translation feedback loops</i>
WGCNA	<i>Weighted correlation network analysis</i>
ZPV	Zona periventricular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral:.....	18
2.2 Objetivos específicos:.....	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1 Ritmos biológicos.....	19
3.2 Sincronização e relógios periféricos.....	21
3.3 Genes controlados pelo relógio (CCG).....	23
3.4 CCorGSDB e genes correlacionados.....	24
4 METODOLOGIA.....	25
4.1 Obtenção e normalização de dados:.....	25
4.2 Análise de ritmicidade:.....	26
4.3 Detecção de CCorGs e avaliação de valores de correlação na distribuição de rAMP:.....	27
4.5 Avaliação do enriquecimento de CCorGs para genes relógio:.....	28
5 RESULTADOS.....	28
6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	37
8 REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

Os ritmos biológicos são fenômenos moleculares, fisiológicos e comportamentais que ocorrem com a mesma periodicidade. A propriedade oscilatória dos ritmos biológicos permite a classificação de acordo com sua periodicidade: ritmos infradianos, que possuem período maior que 28 horas; ritmos ultradianos, cujo período é menor que 20 horas; e por fim, os ritmos circadianos, no qual o período tem aproximadamente 24 horas de duração.

Vários processos biológicos possuem ritmicidade circadiana. Os relógios circadianos, por exemplo, são oscilações autossustentáveis que ocorrem nas células com um período próximo de 24 horas e que podem ser encontrados em organismos procariontes e eucariontes, em diferentes níveis de complexidade (PITSAWONG *et al.*, 2023). Em mamíferos, há alças de retroalimentação formadas por reguladores positivos e negativos. Os reguladores positivos consistem nos genes *Clock* e *Bmal1*, que ativam a transcrição dos genes *Per* e dos genes *Cry*, que formarão o heterodímero PER/CRY atuando como reguladores negativos ao formarem um heterodímero e inibirem a transcrição CLOCK/BMAL1. Outros genes, como *Npas2*, *Nr1d1*, *Nr1d2*, *Dbp* e *Tef* participam de alças secundárias de retroalimentação e contribuirão na regulação da maquinaria celular circadiana.

Além de ativarem a alça repressora, o dímero formado por CLOCK e BMAL1 pode atuar em sequências E-BOX presentes na região promotora de transcrição de diversos genes (LAOTHAMATAS *et al.*, 2023). Esses genes não estão necessariamente envolvidos no relógio molecular, mas acabam apresentando expressão com perfil rítmico como a dos genes relógio, sendo então denominados genes controlados pelo relógio ou *Clock-Controlled Genes* (CCG). Diferente dos *clock genes*, os CCG apresentam especificidade tecidual, ou seja, não são expressos com o mesmo padrão em todos os tecidos (TAKAHASHI, 2017), sendo fundamentais para a manutenção da fisiologia dos organismos multicelulares.

Diversos CCG conhecidos são alvos de psicofármacos ou fármacos em geral. Considerando que estimativas apontam que 50% do genoma humano apresenta padrão rítmico (ZHANG et al., 2014), inúmeros outros genes podem estar sob controle do relógio biológico e serem alvos de medicamentos. Logo, a identificação de novos CCG pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias cronoterapêuticas que levam em consideração propriedades da expressão circadiana como amplitude, fase e período, levando à potencialização do tratamento com fármacos. No entanto, essa tarefa pode ser difícil, já que há especificidade tecidual dos CCG e demanda numerosas coletas seriadas realizadas em longos períodos de tempo.

Diante disso, a bioinformática demonstra ser grande aliada em estudos que buscam destrinchar a ritmicidade circadiana biológica. Várias ferramentas já foram desenvolvidas para facilitar a investigação a partir de transcritos, e variam de ferramentas de aprendizado de máquina capazes de prever ritmos a partir de poucos pontos de coleta (WU et al., 2020) a bancos de dados públicos com mapas de expressão gênica em numerosos tecidos e diferentes organismos. Nesse contexto, o *CCorGsDB* é um banco de dados que disponibiliza dados sobre genes com correlação com genes relógio ou *Clock-correlated genes* (*CCorGs*), possíveis CCG, identificados em regiões do encéfalo de camundongos e de humanos a partir de redes de co-expressão gênica.

Ademais, a utilização de transcriptomas temporais é amplamente empregada em investigações sobre mecanismos e dinâmicas moleculares dos ritmos circadianos por possibilitarem a compreensão dos transcritos em um contexto temporal (WANG et al., 2022). Além disso, muitos transcriptomas são depositados em bancos de dados públicos como o NCBI, permitindo seu uso em diversos estudos e sendo uma alternativa às custosas coletas seriadas. Dessarte, a aplicação do *CCorGsDB* em conjunto com transcriptomas temporais de regiões cerebrais pode ajudar esclarecer a influência que os genes relógio exercem sobre a expressão gênica dos *CCorGs*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Avaliar a associação entre o grau de correlação e ritmicidade circadiana em *CCorGs* detectados em redes de co-expressão gênica nos encéfalos murino e humano a partir do banco de dados *CCorGSDB*.

2.2 Objetivos específicos:

- Analisar e identificar a expressão circadiana de genes com grau de correlação com genes relógio em séries temporais de transcriptomas de regiões do cérebro de camundongo;
- Avaliar a diferença dos valores de correlação de Pearson na distribuição de amplitude relativa (rAMP) de *CCorGs* nas regiões do cérebro murino;
- Avaliar o possível enriquecimento dos *CCorGs* para genes relógio nas regiões do cérebro humano e murino.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ritmos biológicos

Os ritmos biológicos são variações biológicas que se repetem com a mesma periodicidade, podendo ser bioquímicas, fisiológicas e comportamentais. Os ritmos biológicos podem ser infradianos, se apresentarem um período maior que 28 horas, ultradianos, se o período for menor que 20 horas, e circadianos, com oscilações de aproximadamente 24 horas. Os ritmos teriam surgido e evoluído em resposta a fenômenos cíclicos observados na natureza, como o ciclo diário claro/escuro decorrente do movimento de rotação que a Terra faz em volta do seu próprio eixo, concedendo previsibilidade a esses eventos (GOLOMBEK; BUSSI; AGOSTINO, 2014).

Os ritmos circadianos são oscilações autônomas com período de aproximadamente 24 horas de duração que acontecem a nível celular e que podem ser encontradas em organismos procariontes e eucariontes. A maquinaria molecular dessas oscilações envolve alças de retroalimentação transcricional-traducional ou *Transcriptional-translation feedback loops* (TTFL) e processamentos pós-transcricionais e traducionais (PITSAWONG *et al.*, 2023).

Em eucariontes, as alças de retroalimentação são formadas por reguladores positivos e negativos (Figura 1). Em mamíferos, os genes *Clock*, *Basic helix-loop-helix ARNT like 1 (Bmal1)*, *Period (Per)* e *Cryptochrome (Cry)* são os componentes centrais do relógio molecular. As proteínas homônimas CLOCK e BMAL1 formam o heterodímero CLOCK/BMAL1 que ativar a transcrição dos genes PER1, PER2, PER3 e dos genes CRY1 e CRY2, constituindo, desse modo, os reguladores positivos. As proteínas de *Per* e *Cry*, por sua vez, atuam como reguladores negativos ao inibirem a atividade e transcrição dos genes *Clock* e *Bmal1*, inibindo, ao mesmo tempo, sua própria transcrição (TAKAHASHI, 2017).

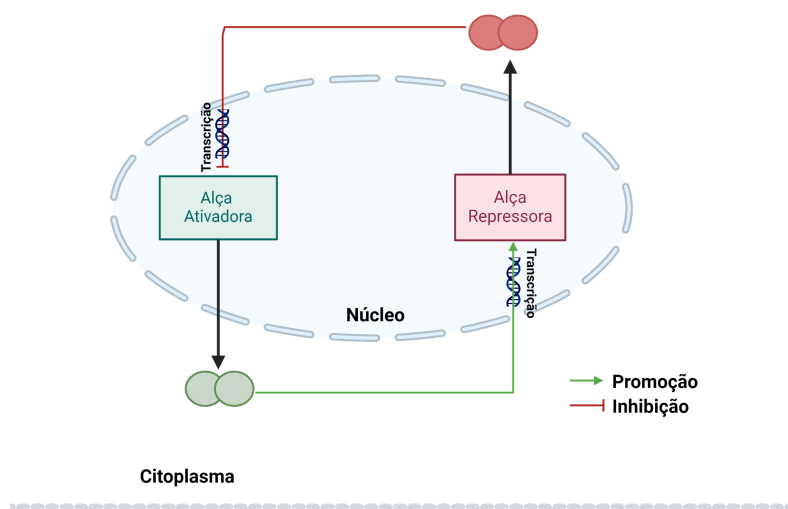


Figura 1 - Alças de retroalimentação transcricionais-traducionais. A alça ativadora comporta os reguladores positivos e a alça repressora, os reguladores negativos. Fonte: Elaborado pelo Autor (2024).

CLOCK/BMAL1 é capaz de fazer ligação com sequências E-BOX da região promotora de outros genes além de *Per* e *Cry* e, dessa maneira, induzir transcrição rítmica de outros genes relógio e dos chamados genes controlados pelo relógio (MARRI et al., 2023). Entre as alças secundárias de retroalimentação estão as dos genes relógio *Nuclear receptor subfamily 1 group D member 1* e 2 (*Nr1d1*, *Nr1d2*), *Related Orphan Nuclear Receptor Alpha/Beta* (*RorA* e *RorB*), *D-site binding protein* (*Dbp*) e *Nuclear factor interleukin 3 regulated* (*Nfil3*), que participam da regulação dos componentes centrais (TAKAHASHI, 2017). Rev-erba e Rev-erbβ, proteínas codificadas por *Nr1d1* e *Nr1d2*, e RORα e RORβ participam do controle transcricional de Bmal1 (PATKE; YOUNG; AXELROD, 2020). As RORs promovem a transcrição de Bmal1, enquanto as Rev-erbs, em contrapartida, inibem a transcrição de Bmal1 competindo com as RORs pelo mesmo sítio promotor RORE (ZHANG et al., 2015). Já a proteína DBP promove a ativação de sequências D-BOX, sítio pelo qual compete com NFIL3 para inibição da transcrição de outros genes relógio e CCG (LAOTHAMATAS et al., 2023), (Figura 2).

Diversas proteínas participam dos mecanismos relacionados a processamentos pós-transcricionais e traducionais. As enzimas CK1δ (casein kinase 1δ) and CK1ε (casein kinase 1ε), por exemplo, realizam fosforilação de PER e CRY, regulando a estabilidade do heterodímero e facilitando a entrada e atividade no

núcleo (ARYAL et al., 2017). Outros processos pós-transcrição e pós-tradução de componentes do relógio central envolvem uma complexa rede composta por quinases, ubiquitinas e enzimas (PARTCH, 2020).

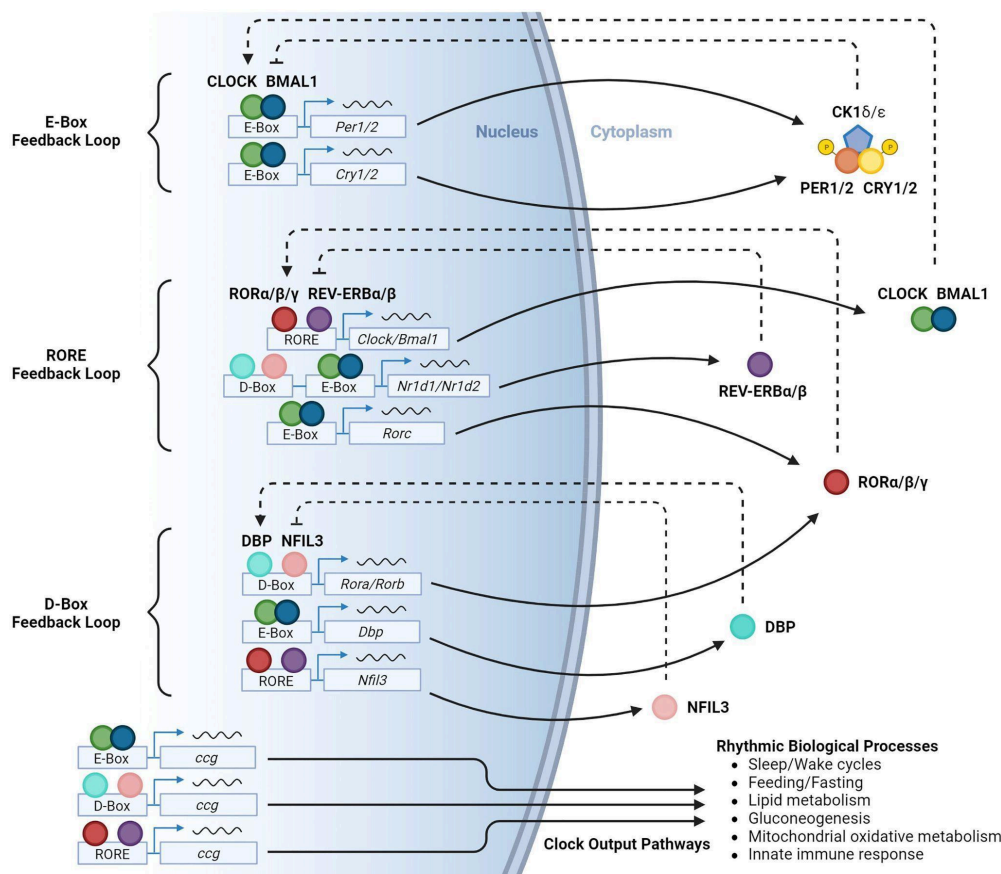


Figura 2 - Mecanismos moleculares envolvidos nas alças de retroalimentação que compõem o relógio celular. Observa-se a alça principal na divisão via no E-Box e as alças secundárias via RORE e D-Box, além de estar ilustrada as interações entre as alças. Fonte: LAOTHAMATAS et al., 2023.

3.2 Sincronização e relógios periféricos

Organismos multicelulares possuem osciladores circadianos autônomos espalhados por diferentes tecidos do corpo, comumente chamados de relógios periféricos. A coordenação desses ritmos circadianos nos diversos tecidos é realizada sistematicamente, em mamíferos, por meio dos núcleos supraquiasmáticos (NSQ). Os NSQ processam as informações luminosas internalizadas por fotorreceptores localizados na retina e ajustam principalmente a fase do ritmo em função do ciclo claro/escuro externo, que é a principal pista ambiental (ALBRECHT, 2012). Os NSQ ficam localizados no cérebro na porção anterior ao hipotálamo e são chamados de relógio ou marcapasso central e a sincronização do NSQ com relógios

periféricos acontece por vias neuronais e humorais (COX; TAKAHASHI, 2019).

O sinal gerado pelos núcleos supraquiasmáticos são primariamente transmitidos por vias eferentes projetadas a diferentes regiões do tálamo e regiões do hipotálamo, como núcleo arqueado, área pré-óptica, zona periventricular e núcleo paraventricular do hipotálamo (DIBNER; SCHIBLER; ALBRECHT, 2010). Do núcleo paraventricular, conexões com outras regiões e com a hipófise permitirão que vários eixos hormonais sejam modulados para sinalização e resposta ao sinal sincronizador (BEGEMANN; NEUMANN; OSTER, 2020). A propagação dos sinais para glândulas, como adrenal, e órgãos, como o fígado, proporciona a sincronização de relógios periféricos presentes em outros tecidos e temporização de diversos processos autonômicos (MOHAWK; GREEN; TAKAHASHI, 2012), (Figura 3).

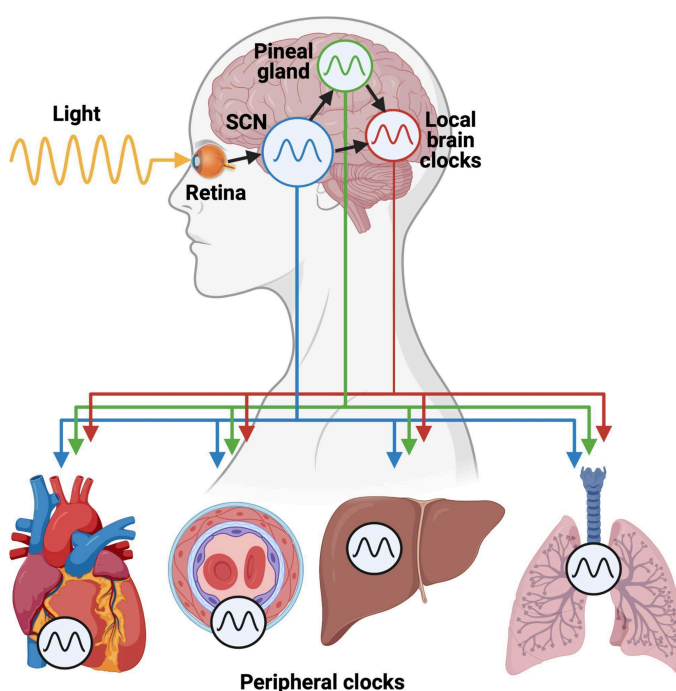


Figura 3 - Esquema da sincronização circadiana fóptica. Fonte: DELISLE et al., 2021.

As vias neuronais de transmissão contam com a atuação de diversos neurotransmissores, indo desde o NSQ até os relógios periféricos. GABA, glutamato e serotonina são exemplos de neurotransmissores que participam da sinalização circadiana (BUSSI et al, 2023; CHI-CASTAÑEDA; ORTEGA, 2018; DAUT; FONKEN,

2019). Já as vias humorais contam com hormônios como o hormônio liberador de corticotropina (CRH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), melatonina, cortisol, arginina vasopressina, glicocorticóides, entre muitos outros (DIBNER; SCHIBLER; ALBRECHT, 2010).

De maneira geral, os relógios periféricos possuem o mecanismo similar ao central (BROWN; AZZI, 2013; COOMANS; RAMKISOENSING; MEIJENS, 2015) e desempenham papel fundamental para o funcionamento correto dos tecidos que integram. No cérebro, além das estruturas já citadas possuem oscilação circadiana, outras estruturas, como o bulbo olfatório, hipocampo e cerebelo, já demonstraram robusta expressão circadiana (DIBNER; SCHIBLER; ALBRECHT, 2010). No coração, os relógios periféricos circadianos participam da manutenção da homeostase do órgão, enquanto na pele regulam o controle do crescimento de folículos pilosos e da síntese de melanina (TAKEDA; MAEMURA, 2015; AL-NUAMI *et al.*, 2014; HARDMAN *et al.*, 2015).

3.3 Genes controlados pelo relógio (CCG)

Genes controlados pelo relógio ou *clock-controlled genes* (CCG) são genes que possuem sua transcrição regulada por componentes do relógio celular. A regulação desses genes pode acontecer principalmente a partir das sequências E-box, RORE ou D-box (KORENČIČ *et al.*, 2014). Diferente dos genes relógio, os CCG não necessariamente compõem ou regulam elementos do relógio. Na realidade, muitos cumprem funções de sinalização e influenciam diretamente a regulação de numerosos processos metabólicos nos tecidos (HAUPT *et al.*, 2021).

De contraponto aos genes relógio, que são expressos de forma ubíqua em todo o organismo, os CCG possuem especificidade tecidual, ou seja, expressão diferencial em distintos tipos celulares e órgãos. Evidências apontam que essa diferença de expressão acontece de acordo com a disponibilidade do DNA na cromatina para a ligação de CLOCK/BMAL1 e à presença de fatores de transcrição tecido-específico (BEYTEBIERE *et al.*, 2019). Em adição a essa característica, a especificidade temporal dos CCG auxilia na regulação da atividade dos relógios periféricos em todo o organismo, uma vez que muitos atuam como fatores de

transcrição promovendo oscilações secundárias de transcrição nas células (SAMOILOVA et al., 2021).

Em mamíferos, análises genômicas mostram que a quantidade de genes que apresentam expressão circadiana no organismos varia de acordo com a espécie. Em babuínos, evidências indicam que mais de 80% do genoma apresenta ritmicidade circadiana (MURE et al., 2018). Em humanos, a estimativa aponta que cerca de 50% do genoma seja rítmico (Zhang et al., 2014). A nível tecidual, a percentagem de genes controlados pelo relógio tende a refletir a especificidade tecidual variando de acordo com o tecido. Análises com tecidos de ratos mostraram que, em alguns tecidos, menos de 10% dos transcritos são rítmicos (MAVROUDIS et al., 2018).

3.4 CCorGSDB e genes correlacionados

A compreensão do ciclo circadiano se faz de suma importância para a compreensão de problemas de saúde e o desenvolvimento de estratégias cronoterapêuticas (DIJK; DUFFY, 2020; LEE; FIELD; SEHGAL, 2021). A utilização de ferramentas da bioinformática para a análise de dados “ômicos” circadianos facilita e acelera pesquisas cronobiológicas (LOPES et al., 2013). Diversas ferramentas já foram desenvolvidas para facilitar a interpretação dos dados, como modelagens matemáticas, métodos de aprendizado para identificação de padrões com poucas amostras (HESSE et al., 2020; TALAMANCA; NAEF 2020; WITTENBRINK et al., 2018) e banco de dados.

Nesse cenário, o *CCorGsDB* (<https://famed.ufal.br/ccorgs>) é um banco de dados desenvolvido pelo Centro de Medicina Circadiana da FAMED, que disponibiliza listas de potenciais CCG em regiões do sistema nervoso central de camundongos e de humanos (SANTOS, 2022). A identificação dos genes foi feita a partir de redes de co-expressão gênica analisadas pelo método de WGCNA, que seleciona os conjuntos de genes a partir de valores de correlação mais altos (LANGFELDER; HORVATH, 2008). Dessa forma, o *CCorGsDB* dispõe dados sobre genes com correlação com 10 genes relógio: *Arntl*, *Cry1*, *Dbp*, *Npas2*, *Nr1d1*, *Nr1d2*, *Per1*, *Per2*, *Per3* and *Tef* em 13 regiões do encéfalo de camundongos e 13

de humanos, assim como informações de doenças a que estão relacionados.

4 METODOLOGIA

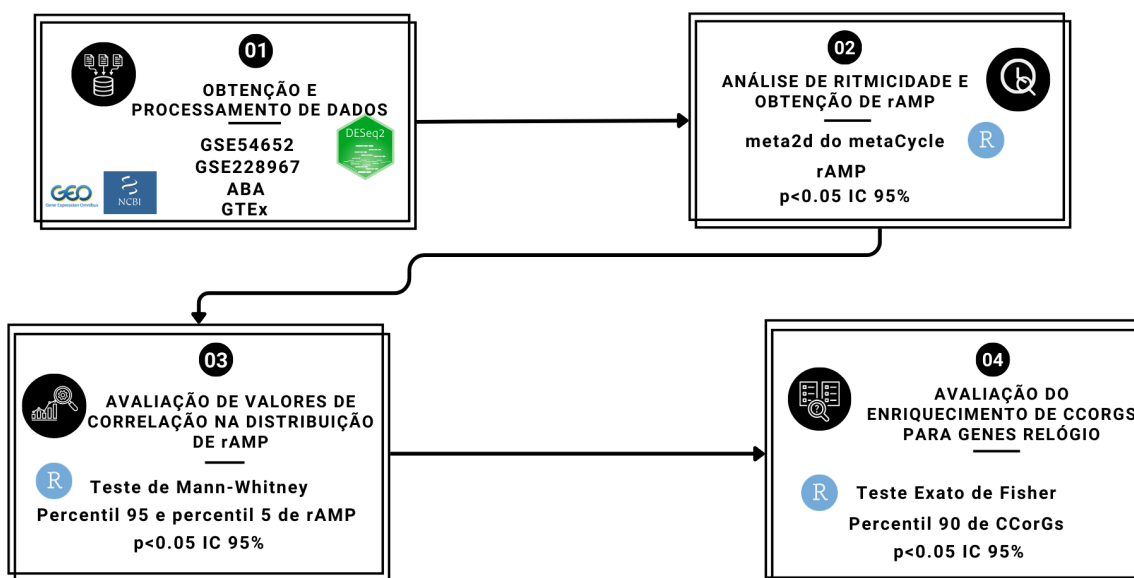


Figura 4 - Fluxograma da metodologia aplicada ao trabalho. O fluxograma conta com as etapas realizadas para a realização do trabalho, destacando as ferramentas, testes estatísticos e conjunto de dados empregados em cada etapa. Allen Brain Atlas (ABA), Genotype-Tissue Expression portal (GTEx) Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.1 Obtenção e normalização de dados:

Os dados de séries temporais para regiões do sistema nervoso central de camundongo foram obtidos a partir de datasets depositados no GEO NCBI dos estudos de Zhang et al., 2014 e Van Rosmalen et al., 2024, com os códigos de acesso de GSE54652 e GSE228967, respectivamente. Os A normalização dos dados foi realizada com o pacote *DESeq2* (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014) do *Rstudio*.

Apenas os dados correspondentes às regiões disponíveis no *CCorGSDB* foram considerados (Quadro 1). Assim, foram utilizados dados de tronco encefálico, cerebelo e hipotálamo de Zhang et al., 2014; e os dados de tronco encefálico, cerebelo, hipocampo, córtex, córtex pré-frontal, bulbo olfatório, área pré-óptica, núcleos supraquiasmáticos, núcleo arqueado, núcleo paraventricular do hipotálamo,

região caudal do hipotálamo lateral, região rostral do hipotálamo lateral, hipotálamo dorsomedial, hipotálamo ventromedial e zona periventricular do hipotálamo, conforme descritos por Van Rosmalen et al., 2024. Neste último caso, somente os dados do grupo controle, isto é, camundongos noturnos, foram utilizados.

A lista de *CCorGs* por região e valores de correlação desses genes foi obtida com base no banco de dados *CCorGsDB*. Para o teste de Fisher, os dados originais aplicados para a construção das redes de correlação do *CCorGsDB* foram utilizados, oriundos dos bancos de dados Allen Mouse Brain Atlas (ABA, <https://atlas.brain-map.org/>), para camundongos, e Genotype-Tissue Expression, para humanos (GTEx, <https://gtexportal.org/home/>).

Quadro 1 - Regiões equivalentes presentes nos estudos e no *CCorGsDB*.

Região	Região correspondente no <i>CCorGsDB</i>
Van Rosmalen et al., 2024	
Núcleo arqueado	Hipotálamo
Tronco encefálico	Tronco encefálico
Cerebelo	Cerebelo
Córtex	Isocortex
Córtex pré-frontal	Isocortex
Bulbo olfatório	Áreas olfatórias
Hipocampo	Hipocampo
Hipotálamo dorsomedial	Hipotálamo
Área pré-óptica	Hipotálamo
Núcleo supraquiasmático	Hipotálamo
Núcleo paraventricular	Hipotálamo
Hipotálamo lateral - região caudal	Hipotálamo
Hipotálamo lateral - porção rostral	Hipotálamo
Hipotálamo ventromedial	Hipotálamo
Zona periventricular	Hipotálamo
Zhang et al., 2014	
Tronco encefálico	Tronco encefálico
Cerebelo	Cerebelo
Hipotálamo	Hipotálamo

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.2 Análise de ritmicidade:

Para a análise de ritmicidade e obtenção de amplitude relativa (rAMP) dos genes de cada região, utilizou-se a função *meta2d* do pacote *metaCycle* (WU et al.,

2016) do R studio, que integra os algoritmos de análise circadiana ARSER, JTK_CYCLE e Lomb-Scargle para detecção de periodicidade em dados de séries temporais. Além disso, o *metaCycle* permite o acesso a propriedades da expressão do gene analisado, como fase, período e amplitude relativa. Considerou-se significância estatística $p < 0.05$ e Intervalo de confiança (IC) 95%.

4.3 Detecção de CCorGs e avaliação de valores de correlação na distribuição de rAMP:

Os CCorGs presentes nas séries temporais foram identificados a partir de interseções entre as listas do *CCorGsDB* e dos dados de cada região .

A amplitude relativa geralmente é amplamente empregada como indicativo da robustez da expressão gênica. Por esse motivo, o teste de *Mann-Whitney* foi aplicado para avaliar a diferença entre os valores de correlação de *Pearson* entre os extremos da distribuição de rAMP, sendo os percentis 5 (menor rAMP) e 95 (maior rAMP) utilizados para essa finalidade (Figura 5). O cálculo do tamanho do efeito (d de Cohen) foi realizado em seguida.

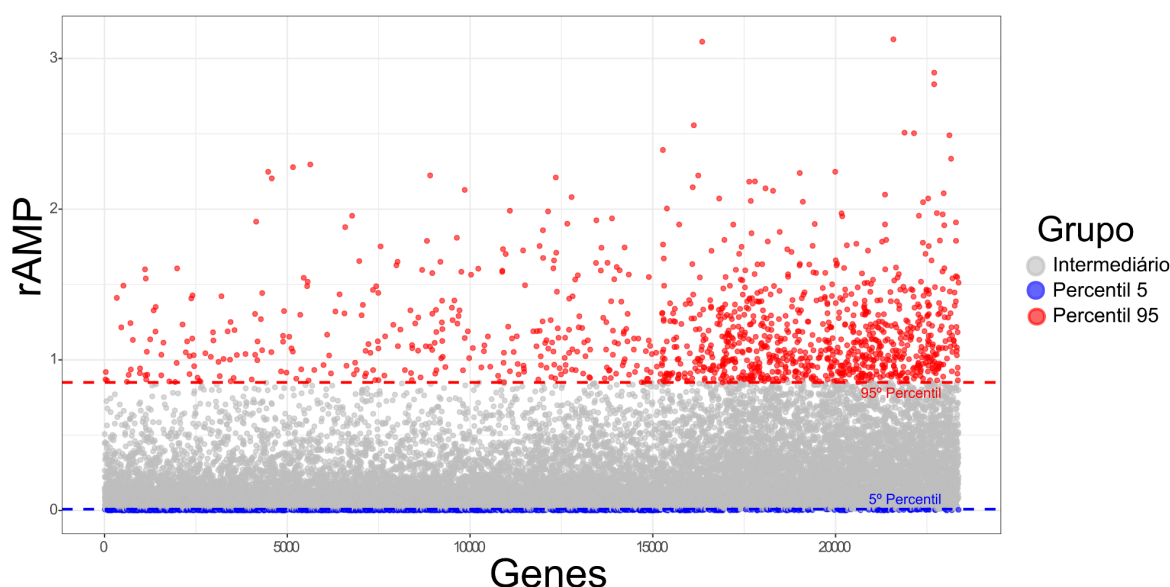


Figura 5 - Cortes dos Percentis 95 e 5 da distribuição de amplitude relativa(rAMP) no transcriptoma de tronco encefálico de camundongo. Gráfico de dispersão que mostra a distribuição dos genes presentes no transcriptoma de tronco encefálico murino oriundo do conjunto de dados de Van Rosmalen et al., 2024. Cada ponto representa um transcrito, preservando a ordem original do transcriptoma. O percentil 5 da distribuição de amplitude relativa é destacado em

azul, enquanto o percentil 95 é destacado em vermelho. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.5 Avaliação do enriquecimento de CCorGs para genes relógio:

Para avaliar o possível enriquecimento de genes correlacionados para genes relógio, aplicou-se o teste exato de Fisher para comparar a proporção de genes relógio recuperados no percentil 90 dos valores de correlação de CCorGs com a taxa de genes relógio presentes nos transcriptomas dos tecidos encefálicos utilizados para a construção do CCorGSDB. As taxas foram calculadas considerando 22 genes relógio bem descritos na literatura: *Arntl*, *Arntl2*, *Clock*, *Cry1*, *Cry2*, *Csnk1a1*, *Csnk1d*, *Csnk1e*, *Dbp*, *Fbxl3*, *Fbxl21*, *Hlf*, *Npas2*, *Nr1d1*, *Nr1d2*, *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Rora*, *Rorb*, *Rorc* e *Tef*.

Treze tecidos humanos (Córtex cingulado anterior, amígdala, hipocampo, córtex frontal, núcleo accumbens, núcleo caudado, cerebelo, hemisfério cerebelar, hipotálamo, putâmen, medula espinhal e substância negra e sistema nervoso central) e treze tecidos murinos (Tronco encefálico, cerebelo, hipocampo, hipotálamo, isocórtex, mesencéfalo, medula espinhal, sistema nervoso central, tálamo, pálido, ponte, estriado e áreas olfatórias) foram avaliados. É válido ressaltar que, nos transcriptomas humanos, o número de genes dos transcriptomas apresenta genes codificantes e não-codificantes.

5 RESULTADOS

Todos os tecidos analisados demonstraram valores de correlação estatisticamente maiores (Mann-Whitney $p < 0.05$) no percentil 95 em comparação com o percentil 5 da distribuição de rAMP, tanto com os dados de Zhang et al., 2014 (Figura 6), quanto com os dados de Van Rosmalen et al., 2024, com exceção da região rostral do hipotálamo lateral, onde $p = 0.05259$ (Figura 7 e Tabela 1). Ainda assim, foi possível observar que o valor da média de correlação de Pearson foi ligeiramente maior no percentil 95 (Tabela 1), o que demonstra que, mesmo sem significância estatística detectada, a região manteve a tendência dos dados observada nas demais.

Em relação ao tamanho de efeito, onde todas as regiões apresentaram tamanhos médios a grandes ($d > 0.5$), exceto a porção rostral do hipotálamo lateral,

que apresentou $d = 0.4334169$, indicando tamanho de efeito baixo (Tabela 1).

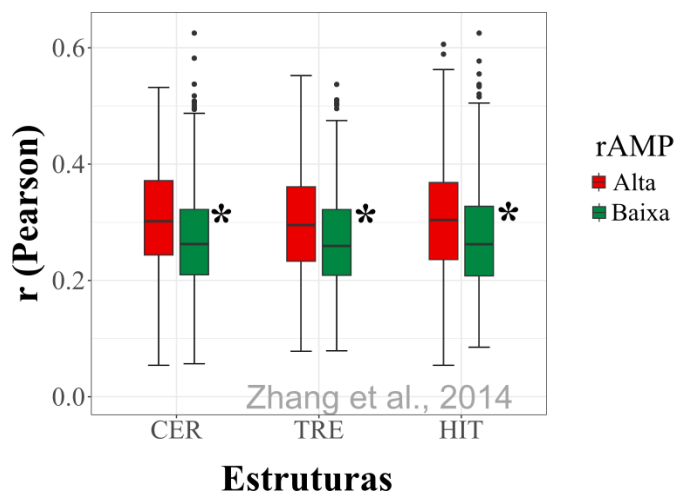


Figura 6 - Diagrama em caixa com a distribuição dos valores de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 (Baixa rAMP) e 95 (Alta rAMP) da distribuição da amplitude relativa (rAMP) dos dados de Zhang et al., 2014. * representa $p < 0.05$. É possível observar que em todas as estruturas cerebrais há a tendência do conjunto de genes com valores de amplitude mais altos (Percentil 95) de possuírem valores de correlação mais alta. Todas as regiões apresentaram diferença estatística significativa no teste de Mann-Whitney. As barras de erro indicam os valores máximo e mínimo da distribuição. Os valores de mediana e número amostral de cada percentil estão presentes na Tabela 2. Cerebelo (CER); Tronco encefálico (TRE); Hipotálamo (HIT). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

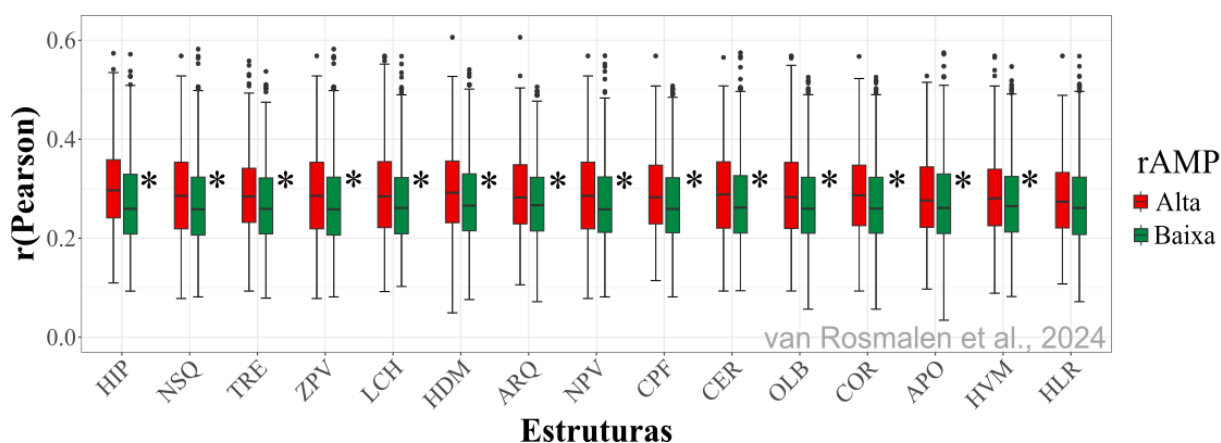


Figura 7 - Diagrama em caixa com a distribuição dos valores de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 (Baixa rAMP) e 95 (Alta rAMP) da distribuição da amplitude relativa (rAMP) dos dados de Van Rosmalen et al., 2024. * representa $p < 0.05$. É possível observar que em todas as estruturas cerebrais há a tendência do conjunto de genes com valores de amplitude mais altos (Percentil 95) de possuírem valores de correlação mais alta. Com exceção da região rostral do hipotálamo lateral, todas as outras regiões apresentaram diferença estatística significativa no

teste de Mann-Whitney. As barras de erro indicam os valores máximo e mínimo da distribuição. Os valores de mediana e número amostral de cada percentil estão presentes na Tabela 2. Hipotálamo (HIP); Núcleos supraquiasmático (NSQ); Tronco encefálico (TRE); Zona periventricular (ZPV); Hipotálamo lateral caudal (LCH); Hipotálamo dorsomedial (HDM); Núcleo arqueado (ARQ); Núcleo paraventricular (NPV); Córtex pré-frontal (CPF); Cerebelo (CER); Bulbo olfatório (OLB); Córtex (COR); Áreas pré-ópticas (APO); Hipotálamo ventromedial (HVM); Hipotálamo lateral Rostral (HLR). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 1 - Resultados dos testes de Mann-Whitney e tamanho de efeito. Valores para as médias de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 e 95 da distribuição de rAMP, valor de p do teste de Mann-Whitney e tamanho de efeito (d de Cohen).

Região	Média de r no percentil 5 de rAMP	Média de r no percentil 95 de rAMP	Mann-Whitney pvalue	d de Cohen
Van Rosmalen et al., 2024				
Núcleo arqueado	0.272	0.292	p = 0.0002941	0.81
Tronco encefálico	0.267	0.293	p = 3.487e ⁻⁰⁶	1.03
Cerebelo	0.275	0.289	p = 0.005329	0.62
Córtex	0.269	0.290	p = 0.00608	0.76
Córtex pré-frontal	0.269	0.289	p = 0.0004363	0.59
Bulbo olfatório	0.269	0.289	p = 0.005562	0.77
Hipocampo	0.273	0.303	p = 2.856e ⁻⁰⁹	1.32
Hipotálamo dorsomedial	0.275	0.296	p = 0.0001992	0.83
Área pré-óptica	0.272	0.287	p = 0.007576	0.59
Núcleos supraquiasmáticos	0.270	0.296	p = 3.329e ⁻⁰⁷	1.14
Núcleos paraventricular	0.271	0.291	p = 0.0004358	0.78
Hipotálamo lateral - Caudal	0.271	0.292	p = 0.0001388	0.85
Hipotálamo lateral - Rostral	0.272	0.279	p = 0.05259	0.43
Hipotálamo ventromedial	0.273	0.286	p = 0.01177	0.56
Zona Periventricular	0.269	0.290	p = 9.915e-05	0.87
Zhang et al., 2014				
Tronco encefálico	0.267	0.300	p = 4.58e ⁻¹²	1.60
Cerebelo	0.270	0.307	p < 2.2e ⁻¹⁶	1.87
Hipotálamo	0.274	0.304	p = 3.239e ⁻¹¹	1.48

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 2 - Número amostral (#) e valores para as medianas de correlação de Pearson (r) nos percentis 5 e 95 da distribuição de rAMP.

Região	Mediana de r no percentil 5 de rAMP	# Genes no percentil 5 de rAMP	Mediana de r no percentil 95 de rAMP	# Genes no percentil 95 de rAMP
Van Rosmalen et al., 2024				
Núcleo arqueado	0.266	998	0.282	361
Tronco encefálico	0.259	998	0.284	326
Cerebelo	0.262	979	0.284	280
Córtex	0.259	990	0.287	250
Córtex pré-frontal	0.259	1087	0.283	338
Bulbo olfatório	0.259	990	0.283	345
Hipocampo	0.259	1015	0.297	413
Hipotálamo dorsomedial	0.265	1000	0.292	327
Área pré-óptica	0.261	1006	0.276	338
Núcleos supraquiasmáticos	0.260	962	0.295	384
Núcleos paraventricular	0.258	966	0.285	381
Hipotálamo lateral - Caudal	0.261	973	0.285	374
Hipotálamo lateral - Rostral	0.273	996	0.261	323
Hipotálamo ventromedial	0.264	980	0.280	324
Zona Periventricular	0.258	981	0.289	381
Zhang et al., 2014				
Tronco encefálico	0.259	998	0.295	648
Cerebelo	0.262	912	0.301	730
Hipotálamo	0.262	887	0.304	649

Todos os tecidos dos humanos apresentaram taxa de genes relógio recuperados maiores que a taxa de genes relógio do transcriptoma humano (Figura 8, tabela 3). Nas regiões de camundongos, apenas 2 regiões encefálicas (medula e ponte) apresentaram taxa de genes relógio recuperados menor que a do transcriptoma murino e 1 região (cerebelo) ficou na média (tabela 3).

Na totalidade, 6 áreas de camundongos (Isocórtex, áreas olfatórias, sistema nervoso central, tronco encefálico, corpo estriado e tálamo) e 7 áreas de humanos (Sistema nervoso central, hemisfério cerebelar, núcleo accumbens, córtex frontal,

núcleo caudado, corda espinhal e substância Negra) apresentaram significância estatística ($p < 0.05$) na comparação com o transcriptoma de cada espécie (Figura 8, tabela 3 e tabela 4).

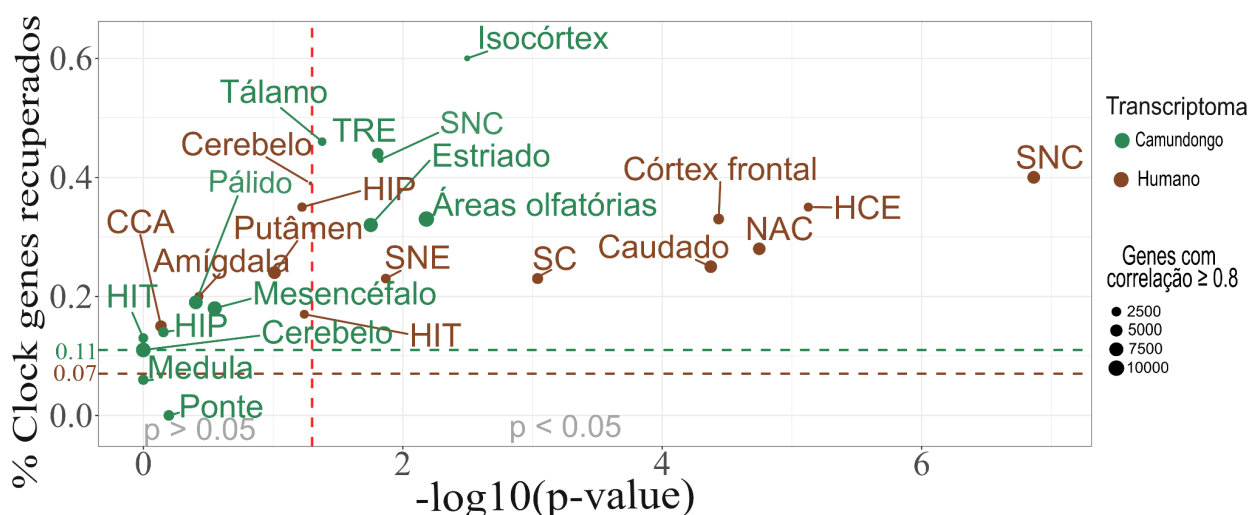


Figura 8 - Diagrama de dispersão com a distribuição das regiões encefálicas analisadas posicionadas de acordo com $-\log_{10}(p\text{-value})$ do teste Exato de Fisher). A linha tracejada vertical vermelha delimita o ponto em que o valor de $p = 0.05$, logo, à esquerda dessa linha, observa-se as regiões que obtiveram valor de $p > 0.05$, enquanto à direita, regiões com significância estatística detectada ($p < 0.05$). As linhas tracejadas horizontais marcam os pontos das taxas médias de genes relógio para os transcriptomas de camundongo (verde) e humanos (marrom), regiões abaixo dessas linhas obtiveram taxas de genes relógio recuperados abaixo da taxa média do transcriptomas. Observa-se que, para humano, todas as regiões tiveram taxa acima da média do transcriptoma humano (0.07), enquanto que, para apenas duas regiões obtiveram valor abaixo da média da taxa do transcriptoma murino (0.11). O tamanho dos pontos varia de acordo com a quantidade de genes com correlação de Pearson maior que 0.8, que é considerada uma correlação alta. Hemisfério cerebelar Hipotálamo (HIP); Tronco encefálico (TRE); Hipotálamo (HIT); Sistema nervoso central (SNC); Corda espinhal (SC); Córtex cingulado anterior (CCA); Substância negra (SNE). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 3 - Dados de transcriptomas de camundongo, humano e recuperados no CCorGsDB. Quantidade numérica (#) de genes, genes relógio e taxa de genes relógio presentes nos transcriptomas de camundongo e humanos utilizados para a construção do CCorGsDB. Número de CCorGs presentes, genes relógio recuperados e taxa de genes relógio recuperados.

Transcriptoma	#Genes	# Genes relógio	% Genes relógio	#CCorGs (percentil 90)	# Genes relógio recuperados	% Genes relógio recuperados
Camundongo (ABA)						
Isocórtex	19933	22	0.11	1124	6	0.53
Áreas olfatórias	19933	22	0.11	5162	15	0.29
Sistema Nervoso Central	19933	22	0.11	1588	6	0.37
Tronco Encefálico	19933	22	0.11	2058	7	0.34
Corpo Estriado	19933	22	0.11	4006	11	0.27
Tálamo	19924	22	0.11	2054	8	0.38
Mesencéfalo	19933	22	0.11	5452	9	0.16
Corpo Pálido	19923	22	0.11	3047	5	0.16
Ponte	19932	22	0.11	1219	0	0
Hipocampo	19932	22	0.11	1609	2	0.12
Hipotálamo	19885	22	0.11	980	1	0.10
Cerebelo	19924	22	0.11	4217	4	0.11
Medula	19932	22	0.11	1662	1	0.06
Humano (GTEx)						
Sistema Nervoso Central	53921	22	0.04	5015	15	0.29
Hemisfério cerebral	50943	22	0.04	3084	10	0.32
Núcleo Accumbens	51506	22	0.04	4944	12	0.24
Córtex frontal	51004	22	0.04	3038	9	0.29
Núcleo caudado	51311	22	0.04	5415	12	0.22
Corde espinhal	50064	22	0.04	3822	8	0.20
Substância Negra	49596	22	0.04	1858	4	0.21
Cerebelo	17526	22	0.12	1015	4	0.39
Hipotálamo	51222	22	0.04	1882	3	0.16
Hipocampo	17549	22	0.12	1993	6	0.30
Putâmen	17521	22	0.12	3702	9	0.24
Amídala	17528	22	0.12	2478	5	0.20
Córtex Cingulado Anterior	17958	22	0.12	1933	3	0.15

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 4 - Resultado do teste exato de Fisher para avaliar o enriquecimento circadiano das regiões do CCorGsDB. Valores de p para o teste exato de Fisher em cada tecido encefálico presente no CCorGsDB. Os transcriptomas das regiões de camundongo foram provenientes do Allen Brain Atlas (ABA), enquanto das regiões de humano foram oriundas do Genotype-Tissue Expression (GTEx) Portal.

Transcriptoma	#Genes	% Genes relógio	#CCorGs (percentil 90)	% Genes relógio recuperados	Teste de Fisher
Camundongo (ABA)					
Isocórtex	19933	0.11	1124	0.53	p = 0.0031*
Áreas olfatórias	19933	0.11	5162	0.29	p = 0.0065*
Sistema Nervoso Central	19933	0.11	1588	0.37	p = 0.0149*
Tronco Encefálico	19933	0.11	2058	0.34	p = 0.0155*
Corpo Estriado	19933	0.11	4006	0.27	p = 0.0176*
Tálamo	19924	0.11	2054	0.38	p = 0.0418*
Mesencéfalo	19933	0.11	5452	0.16	p = 0.2816
Corpo Pálido	19923	0.11	3047	0.16	p = 0.3937
Ponte	19932	0.11	1219	0	p = 0.6352
Hipocampo	19932	0.11	1609	0.12	p = 0.6994
Hipotálamo	19885	0.11	980	0.10	p = 1
Cerebelo	19924	0.11	4217	0.11	p = 1
Medula	19932	0.11	1662	0.06	p = 1
Humano (GTEx)					
Sistema Nervoso Central	53921	0.04	5015	0.29	p = 1.367e ⁻⁰⁷ *
Hemisfério cerebral	50943	0.04	3084	0.32	p = 7.479e ⁻⁰⁶ *
Núcleo Accumbens	51506	0.04	4944	0.24	p = 1.786e ⁻⁰⁵ *
Córtex frontal	51004	0.04	3038	0.29	p = 3.671e ⁻⁰⁵ *
Núcleo caudado	51311	0.04	5415	0.22	p = 4.221e ⁻⁰⁵ *
Corde espinhal	50064	0.04	3822	0.20	p = 0.0009*
Substância Negra	49596	0.04	1858	0.21	p = 0.0135*
Cerebelo	17526	0.12	1015	0.39	p = 0.0515
Hipotálamo	51222	0.04	1882	0.16	p = 0.0574
Hipocampo	17549	0.12	1993	0.30	p = 0.0598
Putâmen	17521	0.12	3702	0.24	p = 0.0975
Amígdala	17528	0.12	2478	0.20	p = 0.3725
Córtex Cingulado Anterior	17958	0.12	1933	0.15	p = 0.7301

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

6 DISCUSSÃO

A identificação de genes circadianos em tecidos distintos é crucial para a compreensão total de processos metabólicos, comportamentais e imunológicos. Nessa pesquisa, avaliamos os valores de correlação ao longo da distribuição de amplitude relativa (rAMP) de *CCorGs* detectados em séries temporais de cérebros murinos (ZHANG et al., 2014 e VAN ROSMALEN et al., 2024). Os resultados demonstraram que genes com maiores amplitudes relativas de expressão tendem a exibir valores correlações mais altas com genes relógio em comparação com *CCorGS* de menor rAMP, o que sugere que genes com valores de correlação maiores possuem expressão circadiana mais robusta. Tal fenômeno pode acontecer devido à modulação dos genes relógio. Evidências demonstraram que CLOCK/BMAL1 podem atuar como fatores de transcrição de CCG, facilitando o acesso a outros fatores de transcrição (MENET; PESCATORE; ROSBASH, 2014). Em conjunto com outros fatores de transcrição, CLOCK/BMAL1 podem aumentar ou diminuir a amplitude de genes controlados (TROTT; MENET, 2018).

Analizamos também a proporção de genes relógio entre os *CCorGS* em comparação com a proporção de genes relógio em todos os transcritos dos tecidos presentes no *CCorGsDB*. A proporção de *clock genes* mostrou-se superior no percentil 90 da correlação de Pearson dos *CCorGs* em comparação a proporção de genes relógio no transcriptoma, o que sugere enriquecimento dos *CCorGs* para os genes relógio nas regiões significantes. Regiões cerebrais como tálamo, áreas olfatórias e córtex, que apresentaram significância estatística em camundongos, são conhecidas pelo papel crítico no controle de processos comportamentais, fisiológicos e cognitivos rítmicos (GENT; BASSETTI; ADAMANTIDIS, 2018; GRANADOS-FUENTES; TSENG; HERZOG, 2006; ROBERTS; KARATSOREOS, 2023). Interações entre o tálamo e o córtex, inclusive, são associadas à regulação do sono (FILCHENKO; BASSETTI; HERRERA, 2023), componente central do ciclo circadiano vigília/sono, reforçando ainda mais a relação das regiões com os relógios circadianos.

Do ponto de vista funcional, o enriquecimento observado pode ter implicações relevantes para a caracterização dos mecanismos moleculares subjacentes aos ritmos circadianos. Várias condições patológicas que acometem o sistema nervoso central, como transtornos psiquiátricos e doenças neurodegenerativas, como Mal de Parkinson e Alzheimer, possuem associação com o ritmo circadiano (ASSIS; KRAMER, 2024; CHEN et al, 2022). No entanto, as bases circadianas moleculares dos ritmos envolvidos nessas doenças não estão totalmente desvendadas (CANEVER et al., 2024). Dessa forma, entender o contexto molecular em que os genes correlacionados estão inseridos e compreender como os padrões de expressão estão coordenados pelos genes componentes do relógio central pode ser de grande utilidade no esclarecimento dessas patologias.

Para além disso, diversos genes relógio e CCG são alvos de fármacos por seu papel regulação circadiana do organismo, participando de processos metabólicos, fisiológicos e imunológicos (OHDO, 2021). O estudo desses genes abriu caminho para o desenvolvimento de tratamentos que levam em consideração as características do ritmo circadiano. Nesse sentido, a cronofarmacologia é um campo emergente da cronobiologia que investiga como a eficácia e os efeitos colaterais dos medicamentos podem variar ao longo do dia sob influência, buscando potencializar a resposta terapêutica e minimizando reações adversas (LIU et al., 2018). Como muitos CCorGs também já foram identificados como alvos de diferentes fármacos (SANTOS, 2022), explorar e compreender suas características circadianas de expressão proporciona um grande potencial para o auxílio de desenvolvimento de terapias pautadas nessas informações.

7 CONCLUSÃO

As análises com séries temporais de diferentes estudos e 17 regiões distintas do encéfalo de camundongo indicaram que genes com amplitudes relativas maiores possuem valores de correlação maiores. Além disso, foi possível observar que a proporção de genes no percentil 90 dos *CCorGs* é superior à observada nos transcriptomas de 6 regiões em camundongos e 7 regiões em humanos. Esses resultados podem indicar que há enriquecimento na expressão de genes rítmicos ou associados à ritmicidade circadiana nas diversas áreas específicas avaliadas. Assim, o banco de dados *CCorGsDB* se mostrou uma ferramenta valiosa para a identificação de possíveis CCG em séries temporais e para a análise de genes correlacionados aos ritmos circadianos presentes no cérebro humano e murino.

8 REFERÊNCIAS

- AL-NUAIMI, Y. et al. A meeting of two chronobiological systems: circadian proteins Period1 and BMAL1 modulate the human hair cycle clock. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 134, n. 3, p. 610-619, 2014. ISSN: 1523-1747.
- ALBRECHT, Urs. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. **Neuron**, v. 74, n. 2, p. 246-260, 2012. ISSN: 0896-6273.
- ARYAL, Rajindra P. et al. Macromolecular assemblies of the mammalian circadian clock. **Molecular cell**, v. 67, n. 5, p. 770-782. e6, 2017.
- ASSIS, Leonardo Vinicius Monteiro de; KRAMER, Achim. Circadian de (regulation) in physiology: implications for disease and treatment. **Genes & Development**, v. 38, n. 21-24, p. 933-951, 2024.
- BEGEMANN, Kimberly; NEUMANN, Anne-Marie; OSTER, Henrik. Regulation and function of extra-SCN circadian oscillators in the brain. **Acta physiologica**, v. 229, n. 1, p. e13446, 2020.
- BEYTEBIERE, Joshua R. et al. Clock-controlled rhythmic transcription: is the clock enough and how does it work?. **Transcription**, v. 10, n. 4-5, p. 212-221, 2019.
- BUSSI, Ivana L. et al. Expression of the vesicular GABA transporter within neuromedin S+ neurons sustains behavioral circadian rhythms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 49, p. e2314857120, 2023.
- BROWN, Steven A.; AZZI, Abdelhalim. Peripheral circadian oscillators in mammals. **Circadian clocks**, p. 45-66, 2013. ISSN: 1865-0325.
- CANEVER, Jaqueline Betta et al. Circadian rhythm alterations affecting the pathology of neurodegenerative diseases. **Journal of Neurochemistry**, v. 168, n. 8, p. 1475-1489, 2024.
- CHEN, Si-Jia et al. Association of circadian rhythms with brain disorder incidents: a prospective cohort study of 72242 participants. **Translational Psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 514, 2022.
- CHI-CASTAÑEDA, Donají; ORTEGA, Arturo. Circadian regulation of glutamate transporters. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 340, 2018.
- COOMANS, Claudia P.; RAMKISOENSING, Ashna; MEIJER, Johanna H. The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 37, p. 29-42, 2015. ISSN: 1095-6808.
- DAUT, Rachel A.; FONKEN, Laura K. Circadian regulation of depression: A role for serotonin. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 54, p. 100746, 2019.
- DELISLE, Brian P. et al. Understanding circadian mechanisms of sudden cardiac death: A report from the national heart, lung, and blood institute workshop, Part 2:

Population and clinical considerations. **Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 14, n. 11, p. e010190, 2021.

DIBNER, Charna; SCHIBLER, Ueli; ALBRECHT, Urs. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. **Annual review of physiology**, v. 72, n. 1, p. 517-549, 2010.

DIJK, Derk-Jan; DUFFY, Jeanne F. Novel approaches for assessing circadian rhythmicity in humans: a review. **Journal of biological rhythms**, v. 35, n. 5, p. 421-438, 2020. ISSN: 1552-4531.

FILCHENKO, Irina; BASSETTI, Claudio LA; HERRERA, Carolina G. Thalamic Stroke: An Opportunity to Study the Brain Mechanisms of Sleep–Wake and Cognition. *Clinical and Translational Neuroscience*, v. 7, n. 4, p. 36, 2023.

GENT, Thomas C.; BASSETTI, Claudio LA; ADAMANTIDIS, Antoine R. Sleep-wake control and the thalamus. **Current opinion in neurobiology**, v. 52, p. 188-197, 2018.

GOLOMBEK, Diego A.; BUSSI, Ivana L.; AGOSTINO, Patricia V. Minutes, days and years: molecular interactions among different scales of biological timing. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1637, p. 20120465, 2014. ISSN: 1471-2970.

GRANADOS-FUENTES, Daniel; TSENG, Alan; HERZOG, Erik D. A circadian clock in the olfactory bulb controls olfactory responsivity. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 47, p. 12219-12225, 2006.

HAUPT, Sandra et al. Eat, train, sleep—retreat? Hormonal interactions of intermittent fasting, exercise and circadian rhythm. **Biomolecules**, v. 11, n. 4, p. 516, 2021.

HARDMAN, Jonathan A. et al. The peripheral clock regulates human pigmentation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 135, n. 4, p. 1053-1064, 2015. ISSN: 1523-1747.

HESSE, Janina et al. An optimal time for treatment—predicting circadian time by machine learning and mathematical modelling. **Cancers**, v. 12, n. 11, p. 3103, 2020.

KORENČIČ, Anja et al. Timing of circadian genes in mammalian tissues. **Scientific reports**, v. 4, n. 1, p. 5782, 2014.

LANGFELDER, Peter; HORVATH, Steve. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. **BMC bioinformatics**, v. 9, p. 1-13, 2008.

LAOTHAMATAS, Isara et al. Metabolic and chemical architecture of the mammalian circadian clock. **Cell Chemical Biology**, v. 30, n. 9, p. 1033-1052, 2023.

LEE, Yool; FIELD, Jeffrey M.; SEHGAL, Amita. Circadian rhythms, disease and chronotherapy. **Journal of biological rhythms**, v. 36, n. 6, p. 503-531, 2021. ISSN: 1552-4531.

LIU, Jie et al. Circadian Clock Gene Expression and Drug/Toxicant Interactions as Novel Targets of Chronopharmacology and Chronotoxicology. In: Circadian Rhythm-Cellular and Molecular Mechanisms. **IntechOpen**, 2018. p. 15-32.

LOPES, Robson da Silva et al. Application of bioinformatics in chronobiology research. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n. 1, p. 153839, 2013.

LOVE, Michael I.; HUBER, Wolfgang; ANDERS, Simon. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome biology**, v. 15, p. 1-21, 2014.

MAVROUDIS, Panteleimon D. et al. Modeling circadian variability of core-clock and clock-controlled genes in four tissues of the rat. **PLoS One**, v. 13, n. 6, p. e0197534, 2018.

MARRI, Daniel et al. Prediction of mammalian tissue-specific CLOCK–BMAL1 binding to E-box DNA motifs. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 7742, 2023.
MOHAWK, Jennifer A.; GREEN, Carla B.; TAKAHASHI, Joseph S. Central and peripheral circadian clocks in mammals. **Annual review of neuroscience**, v. 35, n. 1, p. 445-462, 2012.

MENET, Jerome S.; PESCATORE, Stefan; ROSBASH, Michael. CLOCK: BMAL1 is a pioneer-like transcription factor. **Genes & development**, v. 28, n. 1, p. 8-13, 2014.

MURE, Ludovic S. et al. Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues. **Science**, v. 359, n. 6381, p. eaao0318, 2018.

OHDO, Shigehiro. Chrono-drug discovery and development based on circadian rhythm of molecular, cellular and organ level. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 44, n. 6, p. 747-761, 2021.

PARTCH, Carrie L. Orchestration of circadian timing by macromolecular protein assemblies. **Journal of molecular biology**, v. 432, n. 12, p. 3426-3448, 2020.

PATKE, Alina; YOUNG, Michael W.; AXELROD, Sofia. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 21, n. 2, p. 67-84, 2020. ISSN: 1471-0080.

PITSAWONG, W. et al. From primordial clocks to circadian oscillators. **Nature**, p. 1-7, 2023. ISSN: 1476-4687.

ROBERTS, Brandon L.; KARATSOREOS, Ilia N. Circadian desynchronization disrupts physiological rhythms of prefrontal cortex pyramidal neurons in mice. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 9181, 2023.

SANTOS, José Luiz Araújo. CcorGsDb: um banco de dados de genes correlacionados com o ritmo circadiano no sistema nervoso central de camundongos. 2023. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde), **Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas**, Maceió,

2022.

SAMOILOVA, Ekaterina M. et al. Epigenetic clock and circadian rhythms in stem cell aging and rejuvenation. **Journal of personalized medicine**, v. 11, n. 11, p. 1050, 2021.

TALAMANCA, Lorenzo; NAEF, Felix. How to tell time: Advances in decoding circadian phase from omics snapshots. **F1000Research**, v. 9, 2020. ISSN:1759-796X.

TAKEDA, Norihiko; MAEMURA, Koji. The role of clock genes and circadian rhythm in the development of cardiovascular diseases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, p. 3225-3234, 2015. ISSN: 1420-9071.

TAKAHASHI, Joseph S. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. **Nature Reviews Genetics**, v. 18, n. 3, p. 164-179, 2017.

TROTT, Alexandra J.; MENET, Jerome S. Regulation of circadian clock transcriptional output by CLOCK: BMAL1. **PLoS genetics**, v. 14, n. 1, p. e1007156, 2018.

VAN ROSMALEN, Laura et al. Energy balance drives diurnal and nocturnal brain transcriptome rhythms. **Cell reports**, v. 43, n. 3, 2024.

WITTENBRINK, N. et al. High-accuracy determination of internal circadian time from a single blood sample. **The Journal of clinical investigation**, v. 128, n. 9, p. 3826-3839, 2018. ISSN: 1558-8238.

WU, Gang et al. A population-based gene expression signature of molecular clock phase from a single epidermal sample. **Genome medicine**, v. 12, p. 1-12, 2020. ISSN: 1756-994X.

WU, Gang et al. MetaCycle: an integrated R package to evaluate periodicity in large scale data. **Bioinformatics**, v. 32, n. 21, p. 3351-3353, 2016.

ZHANG, Yuxiang et al. Discrete functions of nuclear receptor Rev-erba couple metabolism to the clock. **Science**, v. 348, n. 6242, p. 1488-1492, 2015.

ZHANG, Ray et al. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 45, p. 16219-16224, 2014.

Allen Reference Atlas – Mouse Brain [brain atlas]. Disponível em atlas.brain-map.org.