

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - ICBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS

MAYARA RODRIGUES BARBOSA

**EFEITO DE VARIAÇÃO GRADUAL DE FOTOPERÍODO NA MODULAÇÃO DE
COMPORTAMENTOS ASSOCIADOS À MANIA EM CAMUNDONGOS C57BL/6**

MACEIÓ – ALAGOAS
NOVEMBRO DE 2021

MAYARA RODRIGUES BARBOSA

**EFEITO DE VARIAÇÃO GRADUAL DE FOTOPERÍODO NA MODULAÇÃO DE
COMPORTAMENTOS ASSOCIADOS À MANIA E SUICÍDIO EM
CAMUNDONGOS C57BL/6**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para avaliação e obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde, na Universidade Federal de Alagoas.

Orientador: Profº Dr. Tiago Gomes de Andrade.
Coorientador: Profº Dr. Olagide Wagner de Castro

**MACEIÓ – ALAGOAS
NOVEMBRO DE 2021**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecário: Cláudio César Temóteo Galvino – CRB4/1459

B238e Barbosa, Mayara Rodrigues.

Efeito de variação gradual de fotoperíodo na modulação do comportamento associado à mania em camundongos C57bl/6 / Mayara Rodrigues Barbosa. – 2021. 71 f.: il.

Orientador: Tiago Gomes de Andrade.

Co-orientador: Olagide Wagner de Castro.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 62-71.

1. Ritmo biológico. 2. Fotoperíodo. 3. Transtorno bipolar. 4. Suicídio. I. Título.

CDU: 616.89-008.44



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

ICBS - UFAL – Campus A. C. Simões
Av. Lourival Melo Mota, S/N
Cidade Universitária – Maceió-AL
CEP: 57072-900
E-mail: ppgcs9@gmail.com
Fone: 82 3214 1850

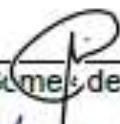
Folha de Aprovação

Mayara Rodrigues Barbosa

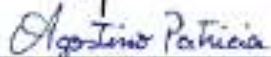
Efeito de Variação Gradual de Fotoperíodo na Modulação do Comportamento
Associado à Mania em Camundongos C57bl/6

Tese submetida ao corpo docente
do Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Alagoas e
aprovada em 30 de novembro de
2021.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Tiago Gomes de Andrade (ORIENTADOR)



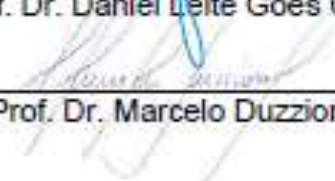
Prof.ª Dr.ª Patricia Agostino



Prof. Dr. Bruno Jacson Martynhak



Prof. Dr. Daniel Leite Goes Gitai



Prof. Dr. Marcelo Duzzioni

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alagoas, em especial ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – ICBS, através do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, que me proporcionou a formação acadêmica e me permitiu alcançar muitos objetivos.

Agradeço a todos os professores, coordenadores, desde o jardim de infância, por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais terão meus eternos agradecimentos. Um agradecimento especial ao professor Dr^o Tiago Gomes de Andrade, que me permitiu conhecer o mundo da pesquisa e da ciência, onde me encontrei. Ainda ao professor Tiago, agradeço o tempo em mim investido para orientação, desde quando me recebeu em seu laboratório, em janeiro de 2011, no primeiro semestre da graduação e com sua competência e amor pela ciência, com sua maiêutica própria despertou em mim a curiosidade, o interesse e o amor pela ciência, enquanto orientador ajudou-me a construir a base e alicerce desta eterna construção que é o conhecimento científico, meu eterno agradecimento e admiração, por ser professor, pesquisador, humano e pai científico.

Ao grupo de pesquisa do Centro de Medicina Circadiana (CMC), por todas as noites em claro no laboratório, por todos os momentos de pesquisa, discussões cronocientíficas, de diversão, de estresse, conselhos, encrencas e reconciliações, ah, foram tantas. Agradecimentos especiais a Daniel Coimbra, Ellyda Fernanda, José Luiz Araújo e Vinícios Tenório.

Ao Laboratório de Neurofisiologia e Farmacologia Integrativa (LNFI), por toda colaboração e parceria, estando sempre de portas abertas para nos receber, nos permitindo a realização de ensaios cruciais para o desenvolvimento deste projeto. Agradeço especialmente aos professores coordenadores Dr. Marcelo Duzzione e Dr. Olagine Castro, bem como a toda equipe e amigos que compõe esta grande família LNFI, especialmente a Juci, Nanda, Amanda por tanta partilha. Ainda ao professor Olagide agradeço pela confiança e oportunidade ao me enviar à Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto para um estágio prático no laboratório do professor Hélio Zangrossi e, na volta, a confiança de aplicar os aprendizados em experimentos de seu grupo, imensa gratidão por isto.

Ao Laboratório de Farmacologia e Imunidade (LAFI), especialmente a professora Magna Suzana por nos receber e transformar seu laboratório em um ambiente receptivo, nos permitindo construir um espaço e um braço do CMC em seu lab. Professora Magna sempre nos ensina e demonstra com suas atitudes a importância e prazer em colaborar e partilhar.

Ao Laboratório de Biologia Celular e Molecular (LBCM), por toda colaboração e parceria, especialmente ao professor Dr. Daniel Gitaí e sua equipe parceira.

Ao Biotério Central, especialmente a Elisângela, Elvan, Vitor e Marvin, por serem sempre solícitos e parceiros.

Agradeço a todos os colegas, amigos e parceiros discentes do nosso PPGCS pelas parcerias, partilhas e aprendizados coletivos, na organização de algumas edições dos Cursos de Verão e Workshop.

À todos os funcionários assistentes de serviços gerais, administrativos, técnicos e gestores.

Agradeço novamente ao professor Tiago pelo incentivo de sempre e por direcionar o trilhar para a realização de um estágio prático no Laboratório de Cronobiologia, coordenado pelo professor Diego Golombek da Universidade de Quilmes na Argentina.

Ao professor Diego por receber-me de portas abertas, bem como a Juan Chiesa e Patricia Agostino, e todos os pós-graduandos, especialmente a Julieta, Laura e Ignacio (Nacho) que tanto me ensinaram durante a estada.

À minha banca de qualificação e de defesa, por todas as valorosas sugestões e enriquecimento do trabalho.

Agradeço a CAPES, CNPq e a FAPEAL por proporcionar-me financiamento enquanto bolsista ao longo do doutorado e financiamento de pesquisa. Sem isto, este sonho não seria possível.

Ao meu pai João Arnaldo Barbosa (*in memoriam*) e minha avó Benedita (*in memoriam*), que infelizmente não puderam acompanhar esta trajetória, mas sempre vejo seus reflexos em minhas atitudes e ao me enxergar no espelho. Também a minha avó Lourdes (*in memoriam*), partiu recente e para mim representa o que há de mais lindo na ancestralidade.

Obrigada por terem me ensinado o que é respeito e amor ao próximo, e por tanto me incentivarem a trilhar o caminho dos estudos, da formação, com honra, moral e dignidade; a minha mãe Marinalva Rodrigues dos Reis por tanto ter se dedicado à realização dos nossos sonhos, muitas vezes deixando de viver os próprios e aos meus irmãos Natanael Barbosa da Silva Neto por ser meu melhor amigo e incentivador. Meu pequeno grande homem, que me inspira com sua inteligência e sagacidade, que sempre me escuta e aconselha, e Eraldo Junior pelo amor, carinho e compreensão com a distância. Aquele que é mais que meu esposo, meu par e parceiro, Rodrigo Pedrosa de Freitas, obrigada por me incentivar, entender, apoiar, ser ombro e carinho, por preocupar-se, encorajar-me, participar dos experimentos nas madrugadas, final de semana e feriados, e aconselhar sabiamente com um cuidado próprio de quem ama. Por ficar ao meu lado durante os inúmeros momentos de estudo, sempre me fortalecendo. Nossa caminhada agora é uma só e tenho a certeza que juntos viveremos muitos momentos de felicidade como já vivemos.

Agradeço também a minha Escola da Cultura do Movimento: Sementes Brasil Capoeira, em especial ao meu contramestre Arapuá. O “Sementes”, representado pelo meu contramestre e pelos meus amigos e parceiros de treino me permitem o fortalecimento da minha identidade cultural, o exercício e fortalecimento do meu corpo, mente e ancestralidade.

De forma geral aos familiares mais próximos que acompanham minha caminhada;

Por fim a Deus, por ter me concedido vida, saúde e sapiência, proporcionando-me alcançar tantas conquistas e superar obstáculos.

Epígrafe

“O cérebro é mais amplo que o céu e mais
fundo que o mar”

Emily Dickinson

“Não somos os donos da natureza, somos
partes integrantes e dependentes de seu
equilíbrio”

Autor Desconhecido

APRESENTAÇÃO DA TESE

A tese está estruturada em formato de artigos científicos, contemplando o seguinte manuscrito:

ARTIGO

Título: *In vivo modeling of seasonal variation in suicidal behavior and mania symptoms*

RESUMO

Os ritmos biológicos são caracterizados por variações cíclicas na fisiologia e no comportamento. O sistema que gera e mantém ritmos que oscilam em torno de 24 horas é denominado sistema de temporização circadiano. Este sistema é modulado por mudanças sazonais na duração do dia (fotoperíodo), que fornecem aos organismos uma pista ambiental confiável para determinar a época do ano, particularmente em animais com resposta fotoperiódica. Diversas variáveis biológicas apresentam perfis cíclicos circadianos que são afetados por ciclos sazonais, por exemplo os ciclos vigília e sono, o perfil alimentar, a temperatura corporal, a pressão arterial, os perfis reprodutivos, as oscilações anuais nos níveis de triglicérides, alterações no humor, na atenção e no desempenho cognitivo. Além disto, diversas doenças tem sido diretamente associadas à sazonalidade, dentre elas os transtornos psiquiátricos, como a depressão, o transtorno depressivo sazonal e o transtorno bipolar. A incidência de suicídio é maior nos meses da primavera e verão e ocorre um maior número de internações por mania nos meses com maior duração da luz ambiental (durante os meses da primavera), em diferentes latitudes. Além disso, a taxa de suicídio é maior em latitudes mais elevadas. Assim como várias doenças têm sido associadas a perturbações e desalinhamentos no ritmo circadiano, por desajustes entre o ciclo ambiental, o sistema de temporização central e os ritmos periféricos nos organismos, esta modulação sazonal do ritmo circadiano pode ter papel relevante no desencadeamento de transtornos psiquiátricos em indivíduos em estado de vulnerabilidade, como é o caso de pacientes diagnosticados com transtornos de humor. Mais especificamente, um aumento rápido do fotoperíodo, como ocorre em regiões de maior sazonalidade, pode promover uma perturbação da ordem temporal interna e desencadear sintomas psiquiátricos. Entretanto, são escassos os estudos que investiguem esse efeito do incremento do fotoperíodo em pacientes ou em modelos animais. Desta forma, objetivamos investigar como o aumento gradual do fotoperíodo poderia afetar o ritmo circadiano e o comportamento associado à transtornos do humor em modelo murino. Para isto, desenvolvemos um protocolo de variação do fotoperíodo (TP – *Transitional Photoperiod*) em modelo animal, utilizando camundongos da linhagem C57BL/6. O TP consiste em uma variação rápida, mas gradual do fotoperíodo, de um regime de 08:16h (horas em Claro:Escuro), para um regime de 16:08h ao longo de 7 dias, com acréscimo de 30 min por dia no início e no fim da fase de claro. Para controle, utilizamos animais submetidos a um regime de 12:12h e um outro grupo submetido a um regime de fotoperíodo longo de 16:08h, sem transição de fotoperíodo e após estabilização por 7 dias nesse regime. Avaliamos o ritmo de atividade e repouso (N=08), bem como comportamentos associados à depressão, ansiedade, exposição ao risco e mania em testes comportamentais consolidados (N=30 - 10 animais por grupo). Além disso, avaliamos se TP modula a expressão de um gene um gene relógio (Per2) no córtex medial pré-frontal, estrutura diretamente envolvida com funções executivas, avaliação do comportamento de risco e tomada de decisão. Os resultados indicam que os animais são sincronizados aos diferentes dias do TP e quando submetidos a escuro constante estes animais entram em livre curso a partir do último dia do protocolo, o que sugere sincronização e não apenas mascaramento do ritmo. Os animais em TP também apresentam uma maior exposição ao risco no teste de labirinto em cruz elevado e no campo aberto, bem como um efeito considerado tipo antidepressivo no teste do nado forçado e estado similar a mania, avaliado pelo teste da placa com furos. Per2 apresentam variação rítmica no TP, mas com atraso de 1,8h em relação ao 1212. Os resultados obtidos sugerem um desalinhamento temporal bem como reforçam a participação da variação de fotoperíodo como um agente modulador do comportamento que está associado a mania. Até onde sabemos, este é o primeiro modelo para endofenótipos suicidas e comportamento tipo mania induzidos por mudanças fotoperiódicas.

ABSTRACT

Biological rhythms are characterized by cyclical variations in physiology and behavior. The system that generates and maintains rhythms that fluctuate around 24 hours is called the circadian timing system. This system is modulated by seasonal changes in the length of the day (photoperiod), which provide organisms with a reliable environmental clue to determine the time of year, particularly in animals with photoperiodic response. Several biological variables have circadian cyclic profiles that are affected by seasonal cycles, for example the wake and sleep cycles, the food profile, body temperature, blood pressure, reproductive profiles, annual fluctuations in triglyceride levels, changes in mood, in attention and cognitive performance. In addition, several diseases have been directly associated with seasonality, including psychiatric disorders, such as depression, seasonal depressive disorder and bipolar disorder. The incidence of suicide is higher in the spring and summer months and there is a greater number of hospitalizations for mania in the months with longer duration of ambient light (during the spring months), in different latitudes. In addition, the suicide rate is higher at higher latitudes. Just as several diseases have been associated with disturbances and misalignments in the circadian rhythm, due to mismatches between the environmental cycle, the central timing system and the peripheral rhythms in the organisms, this seasonal modulation of the circadian rhythm may play an important role in triggering psychiatric disorders in vulnerable individuals, such as patients diagnosed with mood disorders. More specifically, a rapid increase in the photoperiod, as occurs in regions of greater seasonality, can promote a disturbance of the internal temporal order and trigger psychiatric symptoms. However, studies investigating this effect of increasing the photoperiod in patients or in animal models are scarce. Thus, we aim to investigate how the gradual increase in the photoperiod could affect circadian rhythm and the behavior associated with mood disorders in a murine model. For this, we developed a photoperiod variation protocol (TP – Transitional Photoperiod) in an animal model, using C57BL / 6 mice. The TP consists of a rapid but gradual variation of the photoperiod, from an 08: 16h regime (hours in light:dark), to a 16: 08h regime over 7 days, with an increase of 30 min per day at the beginning and at the end of the clear stage. For control, we used animals submitted to a 12: 12h regime and another group submitted to a 16: 08h long photoperiod regime, without photoperiod transition and after stabilization for 7 days in that regime. We evaluated the rhythm of activity and rest (N = 08), as well as behaviors associated with depression, anxiety, risk exposure and mania in consolidated behavioral tests (N = 30 - 10 animals per group). In addition, we evaluated whether TP modulates the expression of a clock gene (Per2) in the prefrontal medial cortex (n=48 per group – 1212 and TP), structure directly involved with executive functions and decision making. The results indicate that the animals are synchronized on the different days of the TP and when subjected to constant darkness these animals enter into free course from the last day of the protocol, which suggests synchronization and not just masking the rhythm. Animals in TP also have a higher risk exposure in the elevated plus maze test in the open field, as well as an effect considered to be an antidepressant type in the forced swim test and state similar to mania assessed by the plate test with holes. Per2 present a robust expression after TP with a phase delay of 1.8h in the acrophase compared to the EP group. Suggesting a circadian misalignment promoted by the photoperiodic variations. To the best of our knowledge, this is the first model for suicidal endophenotypes and mania-like behavior induced by photoperiodic changes.

Lista de Figuras

Figura 1 --- Transitional photoperiod induces an increased exploratory activity, risk-behaviors and poor self-care.

Figura 2 --- Circadian rhythm misalignment in transitional photoperiod.

Figura 1S --- Elevated Pluz Maze Behaviors

Figura 2S --- Open Field Test Behaviors

Figura 3S --- Hole Board Test Behaviors

Figura 4S --- Forced Swimming Test Behaviors

Figura 5S --- DeepLabCut analyse

Figura 6S --- SLA parameters

Lista de Símbolos e Siglas

- Alpha** Activity duration
- BD** Bipolar Disorder
- BD** Transtorno Bipolar
- BDNF** brain derived neurotrophic fator
- BMAL1** gene brain muscle aryl nuclear translocase like-1
- CCGs** Clock Controlled Genes
- cDNA** complementary deoxyribonucleic acid
- CLOCK** circadian locomoter output cycles protein kaput
- CRY** gene da família Criptocrome
- CT** Cycle Threshold
- DLC** DeepLabCut
- dIPFC** dorsolateral prefrontal córtex
- EPM** Elevated plus maze
- FST** Forced swimming test
- GSK3 β** glycogen synthase kinase 3 beta
- HB** Hole Board Test
- HD** Head Dipping
- L5** 5h of lower activity
- LD** Light-Dark cycle
- M10** The 10 most active hours
- NPAS2** Neuronal PAS domain protein 2
- NR1D1** nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1
- NR1D2** nuclear receptor subfamily 1 group D member 2
- NSQ** Núcleo Supraquiasmático
- OFT** Open field test
- OMS ou WHO** Organização Mundial de Saúde
- Opn4** opsin 4 (melanopsin)
- Per** gene da família Period
- PFC** prefrontal córtex
- PLR** pupillary light reflex / resposta pupilar a luz
- Ppib** peptidylprolyl isomerase B
- qPCR** quantitative Polymerase Chain Reaction

rAMP relative amplitude value pelo Metacycle

RevErb nuclear receptor

RGCs retinal ganglion cells

RNA ribonucleic acid

SAD Transtorno Afetivo Sazonal

SCN Suprachiasmatic Nucleus

SLA Spontaneous locomotor activity

TB Transtorno bipolar

TP Transition Photoperiod

TRH Trato retino hipotalâmico

TrKb neurotrophic receptor tyrosine kinase

vmPFC ventromedial prefrontal cortex

ZT Zeitgeber Time

SUMÁRIO

1. Introdução	16
2. Referencial Teórico	18
2.1 Ritmos Biológicos.....	18
2.2 Sincronização fótica.....	22
2.3 Fotoperíodo e Sazonalidade.....	26
2.4 Ritmos Biológicos, Transtorno Bipolar e Modelos animais de Mania.....	29
3. Objetivos	31
3.1 Objetivos Gerais.....	31
3.2 Objetivos Específicos.....	31
4. Capítulo 1 - <i>In vivo modeling of seasonal variations in suicidal behavior and mania symptoms</i>	32
Abstract	33
1. Introduction.....	34
2. Methods.....	36
2.1. Photoperiodic protocols and Behavioral tests.....	36
2.2. Spontaneous Locomotor Activity (SLA) recording.....	38
2.3. Tissue preparation and qPCR.....	38
2.4. Data analysis	39
3. Results and Discussion	40
3.1. The transitional increase in photoperiod induces a mania-like behavior and other behaviors associated with suicide	40
3.2. Animals exposed to a transient increase in photoperiod present circadian misalignments.	43
Aknowledgments	49
References.....	49
Referências da Introdução e do Referencial Teórico	63

1. Introdução

Os ritmos biológicos podem ser definidos como fenômenos cíclicos que se repetem com a mesma periodicidade, são gerados endogenamente e capazes de serem sincronizados às oscilações ambientais de periodicidade semelhante. Surgem como resposta a uma pressão seletiva exercida pelos ciclos geofísicos, exemplificados pelos movimentos de rotação e translação, que resultam nos ciclos dia e noite e ciclos anuais, separados pelas estações do ano. Os primeiros relatos científicos sobre os ritmos biológicos são observados desde a antiguidade, mas os princípios básicos responsáveis por sua geração começaram a ser desvendados somente no século passado, e continuam até os dias atuais.

Na natureza é comum observarmos fenômenos oscilatórios que consideramos respostas ao ambiente, como por exemplo, o ciclo biológico de determinada espécie em resposta a presença de alimento ou predador, expressão de características fisiológicas em resposta a variações de temperatura e luminosidade, melhores épocas para cada espécie realizar sua programação reprodutiva. Diante disto, é imprescindível considerar a importância da variável tempo, pois os fenômenos cíclicos observáveis não são uma mera reação ao ambiente cíclico, mas sim a expressão de um processo endógeno, gerado por osciladores internos, que se expressam mesmo em condições constantes de laboratório. O que evidencia a importância evolutiva destes mecanismos.

Os mecanismos moleculares, fisiológicos e por fim comportamentais, que regulam os ritmos biológicos são altamente conservados evolutivamente, demonstrando assim sua importância para a capacidade adaptativa para sobrevivência das espécies. Estes mecanismos conferem maior adaptabilidade, pois constituem um sistema complexo de antecipação aos eventos cíclicos, com periodicidade correlata com os ciclos geofísicos e ambientais.

Os ritmos biológicos são classificados de acordo com seu período de oscilação, são eles: os ultradianos, com períodos menores de 20h, os infradianos, com oscilação maior que 28h e os circadianos, que oscilam em torno de 24h. Os ritmos circadianos são mais estudados e se tornaram mais amplamente conhecidos a partir de 2017, com a divulgação dos pesquisadores laureados com o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia, que reconheceu os cientistas norte-americanos Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash e Michael W. Young pelos estudos que contribuíram com a elucidação do funcionamento do relógio biológico interno e os mecanismos moleculares que o gera e controla.

Inúmeros processos biológicos são regulados circadianamente. Estes processos estão envolvidos na regulação de funções moleculares, celulares, endócrinas, imunológicas, metabólicas, cognitivas, e comportamentais.

Nos mamíferos, quase todas as células e tecidos funcionam como osciladores. O oscilador central é denominado de núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado no hipotálamo, que regula e sincroniza os ‘relógios’ periféricos. A luz é o principal agente responsável por sincronizar todo o organismo, ao ativar fotorreceptores localizados na retina, que estão conectados ao oscilador central (NSQ), sincronizando os relógios circadianos periféricos no cérebro e em outros órgãos, por vias neurais e imuno-endócrinas.

A dessincronização entre ritmos circadianos endógenos e ambientais tem sido associada à muitas doenças, incluindo distúrbios metabólicos, imuno-endócrinos, psiquiátricos, neurobiológicos e câncer. Este desajuste gera um desequilíbrio na organização temporal interna. A elucidação destes mecanismos tem sido relevante para a compreensão das bases biológicas que os geram, e também para o entendimento destes processos patológicos. É comum observarmos que alterações no sistema de temporização circadiano estão associadas a uma gama de doenças, bem como os processos de adoecimento estão associados à disrupções dos relógios biológicos. Aqui buscamos conferir atenção especial aos transtornos psiquiátricos, em especial aos transtornos do humor.

A busca pela compreensão dos processos e mecanismos envolvidos nos transtornos psiquiátricos são objetos de pesquisa desde a antiguidade, buscando entender suas etiologias. Atualmente os transtornos do humor fazem parte de uma classe de transtornos psiquiátricos com elevado número de casos em todo o mundo. As origens destes transtornos ainda não foram completamente elucidadas. Dados epidemiológicos indicam que as internações de indivíduos em fase de mania (Transtorno bipolar) são maiores durante a primavera e verão, bem como o maior número de casos de tentativa de suicídio. As principais hipóteses que buscam explicar esta oscilação cíclica destes problemas estão na variação fotoperiódica. Hipotetiza-se que variações de fotoperíodo que acontecem na primavera podem gerar um desacoplamento entre o relógio biológico central e os relógios periféricos, através da modulação de vias moleculares, metabólicas, fisiológicas e comportamentais. Vários mecanismos têm sido explorados utilizando modelos animais de fotoperíodo, entretanto não há modelos que mimetizem variações graduais e rápidas de incremento de fotoperíodo, para

que possamos elucidar o papel destas varrições na modulação de comportamentos associados a estes transtornos, em especial o transtorno bipolar.

2. Referencial Teórico

2.1 Ritmos Biológicos

As interações da Terra com o Sol e com a Lua, associadas à inclinação do eixo terrestre, resultam nos ciclos de dia e noite, nas estações do ano, nas fases da lua, nas oscilações das marés. Estes ciclos geofísicos constituíram uma forte pressão seletiva na adaptação evolutiva das espécies e por isto são responsáveis pela organização temporal da matéria viva como a conhecemos, desde o movimento periódico diário das folhas de tamarindo observado por Andróstenes de Thasos em 325 a. C., até ritmos biológicos na atividade de abelhas, crustáceos, roedores e primatas (Aschoff, 1981).

Ritmo biológico pode ser definido como um processo que varia periodicamente no tempo, ou seja, é a manifestação de um fenômeno que se repete com o mesmo período, possuindo algumas propriedades: período definido como o intervalo de tempo em que um ciclo se completa; fase refere-se a um momento determinado de um ciclo, que pode ser uma metade do ciclo, por exemplo, a fotofase (fase de claro), ou a escotofase (fase de escuro) do ciclo claro/escuro; a amplitude de um ritmo é a diferença entre o valor máximo ou mínimo e médio (mesor) do ritmo (Marques; Menna-Barreto, 2003).

Ritmos biológicos estão presentes em diversos tipos celulares e diferentes organismos. Dependendo do período de oscilação, podem ser classificados em ultradianos, quando são menores que 20 horas; infradianos, que são maiores que 28 horas; e em ritmos circadianos, que possuem períodos de aproximadamente 24 horas.

São exemplos de ritmos ultradianos o fluxo iônico em membranas e o ritmo dos batimentos cardíacos (60 - 100 batimentos por minuto). Os ciclos infradianos podem ser exemplificados através do ciclo menstrual, normalmente com duração de 28 dias e ciclos circanuais, com período de ocorrência em torno de 365,24 dias. Os ritmos circanuais, são classificados como sazonais quando referem-se às estações do ano (Brennan et al., 1982). Portanto, as adaptações dos organismos a variações diárias de temperatura, fase de luz, disponibilidade de alimento ao longo de estações são expressas nos ciclos sazonais. De fato, a vida da maioria das plantas e animais é organizada com base em um calendário sazonal.

Variações neste âmbito são identificadas em diversos aspectos, entre eles padrão reprodutivo, níveis de pressão arterial, perfil de ingestão alimentar, níveis de colesterol e perfil cognitivo (Brennan et al., 1982; Foster; Gordon et al., 1987; Meyer et al., 2016).

Os ritmos circadianos são os mais estudados e estão presentes em diversas características, fisiológicas ou comportamentais, representadas por modificações da expressão gênica, variação nos níveis hormonais como melatonina e cortisol, comportamento reprodutivo, ciclo celular, pressão sanguínea, performance cognitiva, temperatura corporal, comportamento alimentar, ciclo vigília e sono em humanos, atividade e repouso em roedores, entre diversos outros (Hastings; Reddy; Maywood, 2003; Albrecht, 2012; Dibner; Schibler; Albrecht, 2010; Marques; Menna-Barreto, 2003).

Os ritmos circadianos/diários são observáveis em diversas classes de organismos desde unicelulares, como as cianobactérias, fungos, como o *Neurospora crassa*, invertebrados, como *Drosophila melanogaster*, e em mamíferos, perpassando diversas ordens e classes, como roedores (*Rattus Novergicus*, *Mus musculus*, *Octon degus*) e primatas (*Callithrix jacchus*, *Homo sapiens*) (Silva; Albuquerque; Araujo, 2005). Cada classe de organismo possui diferentes mecanismos de coordenação e adaptação temporal destes ritmos, que mantêm similaridades evolutivas conservadas (Arellanes-Licea et al, 2014; Panda, Hogenesch, Kay, 2002; Zylka et al., 1998).

Os ritmos biológicos não são apenas expressões fenotípicas à ambientes cíclicos, mas sim a expressão de um processo endógeno. Na cronobiologia definimos uma característica importante dos ritmos biológicos a endogenicidade, ou seja, a persistência de um ritmo mesmo na ausência de pistas ambientais (livre curso). Quando um organismo está em livre curso, seu período torna-se ligeiramente diferente daquele exibido em condições naturais no ambiente. Este período é representado pela letra grega T (Tau), e é característico de cada espécie (Albrecht et al, 2012).

Uma outra característica importante é a sincronização dos ritmos endógenos às oscilações ambientais de período semelhante. Estes fatores cíclicos que promovem a sincronização dos ritmos biológicos são denominados de *Zeitgebers*, termo alemão que significa ‘doador de tempo’, ou seja, agente sincronizador. São exemplos de *Zeitgebers* os ciclos ambientais de claro/escuro, ciclos de disponibilidade de alimentos, relação ambiental entre presa e predador, ciclos de atividade social, dentre outros (Aschoff, J. 1960). Cada um

destes fatores possui forte papel enquanto agentes sincronizadores. Por outro lado, existe também a sincronização por mascaramento (Aschoff, J, 1988). Nesse caso, vários estímulos, cíclicos ou não, podem modificar a expressão final do ritmo de atividade do organismo, sendo o controle exercido por vias que não incluem o oscilador circadiano.

Desta forma, diz-se que um ritmo é verdadeiramente circadiano quando ele persiste em condições constantes e, quando estão sincronizados a fatores externos ambientais, são então considerados ritmos diários. Embora endógenos, os ritmos biológicos mantêm estreita relação com os ritmos ambientais, em resposta aos eventos cíclicos presentes no meio, como variações diárias de fotoperíodo (Aschoff, 1965; Pittendrigh, C. S, 1960). A persistência da ritmicidade circadiana em ambientes mantidos constantes, bem como a adaptação dos ritmos a fatores externos ambientais evidenciam a existência de um sistema temporizador que mantém os diferentes ritmos biológicos (Moore, R.Y, 1997).

Para compreender a manutenção dos ritmos biológicos em mamíferos é imprescindível conhecer o sistema temporizador que gera e mantém esta ritmicidade. É conhecido e amplamente aceito que, em mamíferos, os Núcleos Supraquiasmáticos (NSQs) constituem o marca-passo central da ritmicidade circadiana, e regula todo o sistema temporizador. São compostos por um par de conglomerados de cerca de 20.000 neurônios, sendo cada um dos núcleos com 10.000 células neurais e uma grande quantidade de células gliais, localizados no hipotálamo ventral anterior, dorsal ao terço caudal do quiasma óptico, rostral às comissuras supra-ópticas e ventrolateral ao III ventrículo. Podem ser divididos, anatomicamente e funcionalmente, em duas subdivisões distintas: A subdivisão ventrolateral também denominada de *Core* e a região dorsomedial, também denominada de *Shell* (Marques; Menna-Barreto, 2003; Colwell, 2011).

Estes núcleos regem a ritmicidade circadiana em mamíferos, sincronizando todo o restante de um organismo às condições ambientais em diferentes níveis, desde o fisiológico ao comportamental. Os NSQs integram a informação de maneira sistêmica e esta atividade é fundamental para sobrevivência dos indivíduos, no que se refere à adaptação do organismo ao ambiente e a sua sobrevivência enquanto espécie no que tange ao aspecto reprodutivo (Buijs et al., 2006).

No nível molecular, os ritmos biológicos são mantidos por uma maquinaria composta, fundamentalmente, por alças de retroalimentação transcricionais-traducionais (Reppert;

Weaver, 2002). O cerne deste processo consiste em genes centrais da regulação do sistema temporizador circadiano e pode ser representado por uma via cíclica, onde as proteínas CLOCK/ou NPAS2 e BMAL1 atuam como reguladores positivos, ativando a transcrição dos genes *Per* (1, 2 e 3) e *Cry* (1 e 2). As proteínas PER e CRY são fosforiladas, formam heterodímeros e atuam inibindo CLOCK/NPAS2-BMAL1 no núcleo celular, ou seja, reprimindo a sua própria transcrição (Guilding; Piggins, 2007).

Uma alça secundária consiste em receptores nucleares (REV-ERBs alfa e beta) e os receptores nucleares órfãos, relacionados ao receptor de ácido retinóico (RORs alfa e gama). Esta alça secundária consiste em conjuntos de receptores nucleares circadianos, em particular REV-ERBs (REV-ERB α e β , codificados por NR1D1 e NR1D2, respectivamente) e receptores nucleares órfãos relacionados ao receptor de ácido retinóico (RORs: ROR α - γ), que também estão sob o controle transcricional dos heterodímeros CLOCK / BMAL1. REV-ERBs e RORs competem para ocupar os elementos responsivos a RORs / REV-ERBs (RREs) localizados nas regiões promotoras / potenciadoras de seus genes alvo. RORs geralmente ativam a transcrição mediada por RRE, enquanto REV-ERBs a suprimem fortemente (Patke. Alina, Michael W. Young, and Sofia Axelrod, 2020).

Os genes que compõem a maquinaria molecular não são expressos apenas nos NSQs, mas também apresentam expressão rítmica em diversos tecidos e órgãos como fígado, rins, sangue periférico, e em diferentes áreas do encéfalo como neocórtex, córtex cerebelar, bulbo olfatório, amígdala, habênula, hipocampo e uma variedade de núcleos do hipotálamo (Guilding; Piggins, 2007; Korenčič, Anja, et al. 2014; Rijo-Ferreira, Filipa, and Joseph S. Takahashi. 2019; Buhr, Ethan D., and Joseph S. Takahashi. 2013). Entretanto, as fases de expressão destes genes variam entre os órgãos em relação ao NSQ (Yamazaki, 2000; Chung, Sooyoung, et al. 2017; Zhang, Shan, et al. 2020). Vale ressaltar que os NSQs coordenam as fases de diferentes processos, como eventos moleculares nos osciladores periféricos (Mure, Ludovic S., et al. 2018). Assim, os NSQs tem sua atividade ajustada aos Zeitgebers, gerando uma ordem temporal interna pela sincronização dos demais osciladores.

Estudos genômicos sugerem que as variações nos genes relógio estão fortemente associadas aos transtornos psiquiátricos (Parekh, Puja K., et al. 2018). Variantes genéticas raras de PER3 estão significativamente associadas a uma série de características dos transtornos psiquiátricos, tais como idade de início, resposta ao tratamento, oscilações do humor circadiano e características de temperamento. Polimorfismos neste mesmo gene

também foram associados a Transtorno Depressivo Maior (Artioli, Paola, et al. 2007; Dallaspezia, S., et al. 2011). Polimorfismos nos genes *Per3*, *Timeless* e *ARNTL* (*Bmal*) foram associados a predisposição ao desenvolvimento de transtorno bipolar (Rybakowski, Janusz K., et al. 2014).

Além dos genes circadianos, uma gama de outros genes são controlados pela maquinaria molecular circadiana central, estes são chamados de genes controlados pelo relógio (*Clock Controlled Genes – CCGs*) (Mavroudis, Panteleimon D., et al. 2018). Genes envolvidos na neuroplasticidade, como BDNF (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro ou *Brain-Derived Neurotrophic Factor*), uma proteína, que como outros fatores de crescimento do sistema nervoso, está intrinsecamente envolvido com crescimento, diferenciação e sobrevivência de neurônios, podendo participar da resposta fotoperiódica, mas ainda não bem elucidada. *Bdnf* está envolvido em potenciação de longa duração e depressão de longa duração. Em NSQ, este gene apresenta variação circadiana nos níveis de transcrito e proteína (Liang; Allen; Earnest, 2000; Earnest, David J., et al. 1999; Mou, Xiang, Cynthia B. Peterson, and Rebecca A. Prosser, 2009). Esta variação também tem sido demonstrada em outras regiões do sistema nervoso central, como hipocampo e córtex frontal (Coria-Lucero, Cinthia D., et al. 2016; Seney, Marianne L., et al. 2019). A expressão de *Bdnf* e seu receptor *Trkb* (*Tropomyosin receptor kinase B*) é mais elevada no início da fase de claro do que no início da fase de escuro em hipocampo de hamsters submetidos a fotoperíodo longo (Ikeno, T., Zachary M. Weil, and Randy J. Nelson. 2014).

Cada ambiente possui uma gama de ciclos ambientais que se organizam em um calendário diário e sazonal, constituindo ordem temporal. De acordo com o estado de cada uma das variáveis ambientais diárias, formam-se diferentes contextos ou nichos temporais ao longo do dia e das estações.

2.2 Sincronização fótica

Colin Pittendrigh e Jurgen Aschoff foram pioneiros na pesquisa de como processos biológicos promovem ou auxiliam na adequação do sistema de temporização circadiano ao ambiente. Estes autores definiram os conceitos fundamentais das relações temporais entre os organismos e seu ambiente. Os experimentos realizados por Pittendrigh determinaram as bases do que atualmente é conhecido como sincronização, envolvendo os aspectos circadianos e sazonais (Marques; Menna-Barreto, 2003, Pg. 62; Pittendrigh, 1993).

Sincronização pode ser definida como a relação de fase estável entre dois ritmos: o ambiental e endógeno, de períodos semelhantes.

Em mamíferos, o processo de adaptação temporal, mediado pelo sistema temporizador, também denominado de relógio biológico, é determinado por mecanismos de sincronização, que permitem aos organismos a capacidade de antecipação aos eventos ambientais. A capacidade antecipatória garante que os organismos se preparem organizando recursos e atividades antes que sejam necessários (Pittendrigh, 1960). São exemplos práticos de antecipação a preparação para a disponibilidade de alimento, o perfil de atividade e repouso em resposta à presença do predador no ambiente, preparação para reprodução, hibernação, entre outros aspectos (Buijs et al., 2016). Além da antecipação, a adaptação temporal consiste na harmonização das fases dos ritmos com os ciclos ambientais (Marques; Menna-Barreto, 2003, pg. 60).

Para que o sistema temporizador atue de maneira eficiente na sincronização do organismo ao ambiente, é importante que ele esteja hierarquicamente organizado para que possa ser sincronizado por diferentes Zeitgebers. Diferentes variáveis ambientais não fóticas podem atuar como agentes sincronizadores, como os ciclos sociais, que parecem depender de diferentes regiões do cérebro de roedores como, por exemplo, folheto intergeniculado do tálamo e dos bulbos olfatórios (Goel; Lee; Pieper, 1998; Lewandowski; Usarek, 2002). A oferta alimentar cíclica também desempenha um papel temporizador, gerando uma espécie de “memória temporal”, de forma que em roedores noturnos, há uma antecipação ao momento da oferta alimentar cíclica, com aumento da atividade locomotora e elevação de temperatura corpórea (Boulos; Terman, 1980).

Por mais de quatro bilhões de anos, as mudanças no tempo e quantidade de luz ao longo dos dias têm sido o principal gerador de tempo ou “zeitgeber” que informa a duração do dia aos relógios biológicos endógenos das mais variadas formas de vida na Terra. A luz pode agir diretamente para modificar o comportamento. Em roedores noturnos, como os camundongos, a luz estimula esses animais a buscar abrigo, reduzir a atividade e até mesmo o sono, enquanto nas espécies diurnas a luz promove estado de alerta e vigilância (Chellappa et al. 2011).

Em todo o reino animal, e especialmente nos vertebrados não mamíferos, existe uma diversidade notável no mecanismo de detecção de luz, através dos fotorreceptores (Davies et

al. 2012; Halford et al. 2009; Shand and Foster, 1999). Há relativamente pouco tempo, os olhos dos vertebrados haviam sido considerados minuciosamente investigados e visto como talvez a parte mais bem compreendida do sistema nervoso central. Anos de pesquisa meticulosa descreveram como a luz é detectada pelos fotorreceptores visuais (bastonetes e cones) que, quando estimulados, produzem potenciais elétricos graduados. A retina interna então monta essas respostas em uma imagem crua. As células ganglionares da retina (RGCs) integram essas informações e, por meio de seus axônios que formam o nervo óptico, se comunicam com o cérebro, que então realiza um processamento visual altamente sofisticado em estruturas corticais e subcorticais onde há a interpretação das imagens.

Recentemente estudos realizados inicialmente em peixes e depois em roedores demonstraram que os cones e bastonetes não são os únicos neurônios sensores de luz do olho dos vertebrados, elucidando a existência de uma classe totalmente distinta de fotorreceptores oculares. A descoberta de um sistema fotorreceptor adicional na retina de mamíferos permitiu compreender como acontece a sincronização fótica desta classe de organismos. O fotoarrastamento em mamíferos é exclusivamente dependente destes fotorreceptores oculares, diferente do resto dos vertebrados, que utilizam múltiplos fotorreceptores distribuídos em diferentes regiões cefálicas. A principal hipótese evolutiva para que os mamíferos concentrem o sistema de fotorrecepção na retina deriva da ideia de que os mamíferos ancestrais tenham sido exclusivamente noturnos. Desta forma ao saírem das tocas durante o anoitecer um sistema mais acurado de detecção de intensidade e duração de luz interno, exclusivamente retiniano foi selecionado a favor para uma detecção confiável do amanhecer (Kronfeld-Schor, Noga, and Tamar Dayan, 2008; Helm, Barbara, et al; 2017).

Considerando que a sincronização fótica é a principal via correlata com os ciclos geofísicos de claro/ escuro, o conhecimento das vias responsáveis por este processo perpassa o entendimento dos fotorreceptores, demonstrando que a luz é capaz de sincronizar o organismo. Através de uma arquitetura hierárquica e especializada do relógio biológico central, a informação luminosa é detectada primariamente pelas células ganglionares presentes na retina e então transmitida através dos axônios do trato retino-hipotalâmico aos NSQs. Esta informação elétrica é convertida em sinal químico que irá alterar o padrão de manifestação de diversos fenótipos, de forma que a observação do ajuste de fase é perceptível no comportamento de atividade e repouso, em níveis hormonais e na expressão gênica, por exemplo (Golombek, Diego A., and Ruth E. Rosenstein. 2010).

Para compreender o funcionamento dos NSQs como estrutura central do sistema temporizador circadiano, é importante considerar que cada neurônio que o compõe atua como um oscilador independente, que gera variação circadiana em sua atividade elétrica. O acoplamento destas células resulta na organização temporal de todo o organismo, que sincroniza os relógios periféricos presentes em diversas células, tecidos e órgãos, como fígado, glândula adrenal, pâncreas, adipócitos, entre outros, a fim de que os tecidos estejam numa relação de fases estável (Dibner; Schibler; Albrecht, 2010). Apesar de já bem descritas a estrutura dos NSQs, e como o sinal é recebido a partir do Trato Retino-Hipotalâmico (TRH), apenas nas últimas décadas foram descobertas as células ganglionares da retina intrinsecamente fotossensíveis (iPRGCs, RGCs, pRGCs, mRGCs ou ipRGCs). Duas abordagens diferentes conseguiram identificar que um subconjunto de células ganglionares retiniais (RGCs) são endogenamente fotossensíveis e foram chamadas de células ganglionares retiniais fotossensíveis (pRGCs). Essas células também são conhecidas como células ganglionares retiniais de melanopsina (mRGCs) ou como células ganglionares retiniais intrinsecamente fotossensíveis (ipRGCs). Estas células expressam melanopsina (Opn4), que é a molécula diretamente responsável pela transdução de sinal fótico para sincronização dos núcleos supraquiasmáticos, bem como para uma ampla gama de respostas à luz não relacionadas à formação de imagem, como: resposta pupilar à luz (PLR); a supressão aguda da atividade locomotora (mascaramento negativo); indução do sono; níveis de alerta; aversão à luz; e influenciando comportamentos relacionados ao humor, como níveis de ansiedade e função cognitiva. Além disso, os subtipos de pRGCs parecem se projetar para diferentes regiões do cérebro e, como resultado, podem mediar diferentes respostas fisiológicas à luz (R, J Lucas, 2001; Mrosovsky, N, 1999; Hubbard, J, 2013; Milosavljevic, N, 2016; Fernandez, D. C, 2018; Gias, C, 2010; LeGates, T. A, 2012; Milosavljevic, N, 2016; Fernandez, D. C, 2018; Hattar, Samer. 2006; Baver, S.B et al. 2008; Hand, R., & Polleux, F. 2011; Chen, SK, Badea, TC e Hattar, S. 2011; Schmidt, T. M., & Kofuji, P. 2009; Schmidt, T. M., Chen, S. K., & Hattar, S. 2011).

Para estudar o perfil de atividade e repouso, que é considerada uma importante variável para avaliar a sincronização, bem como o ritmo em livre curso, a principal ferramenta cronobiológica adotada é a actimetria. É um método não-invasivo para monitorar ciclos de atividade/repouso, inicialmente idealizado para humanos e adaptado para animais. Em humanos consiste em uma espécie de relógio de pulso, dotado de um acelerômetro capaz de detectar a movimentação realizada pelo indivíduo e gera um conjunto de dados capazes de

inferir o perfil cíclico de vigília e sono, sendo aplicado na clínica da medicina do sono. Em modelo animal a actimetria pode ser realizada basicamente por duas técnicas: por roda de atividade ou atividade locomotora total na caixa de manutenção. Ambas as técnicas são baseadas no uso de um sensor de presença acoplado a uma placa (ex. arduíno) e um software que capte o movimento realizado e contabiliza a duração da atividade em intervalos de 5 minutos, ao longo de 24 horas, repetidamente ao longo de x dias. Para estudarmos a sincronização aos fatores oscilatórios ambientais, bem como avaliarmos a endogenicidade do ritmo, e possíveis efeitos mascaradores, o uso da actimetria é fundamental.

2.3 Fotoperíodo e Sazonalidade

Sazonalidade é um termo que diz respeito a tempo, sendo um fenômeno sazonal aquele que apresenta variação de ocorrência conforme a época do ano e que está relacionado com diferenças na disponibilidade de luz ao longo do mesmo. Fotoperíodo pode ser definido como o número de horas da fotofase (fase de claro) em um ciclo claro/escuro (Numata, Hideharu, and Barbara Helm, 2014). O fotoperíodo é a principal via ambiental utilizada pelos organismos para determinar o comprimento do dia ao longo do ano e coordenar adaptações do calendário sazonal (Pyter; Reader; Nelson, 2005). O verão, por exemplo, é uma estação característica pela presença de dias longos e noites curtas (fotoperíodo longo), diferente do inverno, onde há dias curtos e noites longas (fotoperíodos curtos).

É importante estabelecer a distinção entre respostas fotoperiódicas e respostas circadianas. Apesar de estes dois fenômenos normalmente utilizarem os mesmos mecanismos para estabelecer e informar ao restante do organismo sobre o comprimento do dia, estes distinguem-se da seguinte forma: os ritmos circadianos, como já caracterizados, possuem período de oscilação em torno de 24 horas, já o fotoperiodismo está intrinsecamente relacionado a períodos anuais ou sazonais. O fotoperiodismo utiliza o ciclo anual do comprimento dos dias, com diferentes fotoperíodos, para ajustes fisiológicos e comportamentais às variações sazonais (Goldman, 2001). Assim, não é correto rotular um organismo como fotoperiódico apenas por que ele se arrasta às condições luminosas às quais for submetido, ou seja, sincronizado. O sistema de temporização circadiano central, representado pelos NSQs, são modulados pelos diferentes fotoperíodos, gerando sinais do comprimento do dia em resposta a estimulação gerada via trato retino hipotalâmico (Patton, Andrew P., and Michael H. Hastings, 2018; Hastings, Michael H., Elizabeth S. Maywood, and Marco Brancaccio, 2019). Os NSQs apresentam perfil rítmico sazonal nos níveis de

neurotransmissores e na morfologia, de forma que as células que compõem os NSQs percebem o comprimento do dia e guiam as mudanças sazonais ajustando outras vias e outras estruturas para adaptação às mudanças sazonais (Merrow, Martha, and Mary Harrington, 2020).

Ainda não há um consenso sobre qual estrutura é sede do relógio biológico sazonal. A maioria das evidências apontam para a melatonina como um importante mediador de regulação deste calendário sazonal, através da regulação fótica da glândula pineal pelos NSQs (Gorman, Michael R, 2020), que atua comunicando a informação fotoperiódica a vários órgãos em todo o corpo (Refinetti, 2006). Diferentes estruturas do cérebro recebem projeções diretas do trato retino-hipotalâmico, como por exemplo a área pré-óptica medial, os núcleos paraventricular, periventricular e dorsomedial, além da área hipotalâmica anterior (Reuss, Stefan, and Eberhard Fuchs, 2000; Lazzarini Ospri, Lorenzo, Glen Prusky, and Samer Hattar. 2017;), sugerindo que estas estruturas poderiam ser moduladas diretamente pelo fotoperíodo.

Existem variações fisiológicas e comportamentais vinculadas à sazonalidade, como fenômenos de hibernação e migração, sendo a luz (fotoperíodo) a principal sincronizadora das funções sazonais em latitudes de climas temperados. Alterações sazonais possuem importante impacto na população humana e foram identificadas em diferentes níveis. Dosagens de colesterol na população norte americana (EUA), mostram níveis mais altos durante a metade do verão e mais baixos durante a primavera (Ockene, Ira S., et al. 2004). A pressão arterial é mais alta durante o inverno do que no verão (Stergiou, George S., et al. 2020).

Como manifestação patológica do comportamento humano relacionado à sazonalidade, diversas doenças têm apresentado perfil sazonal como doenças cardiovasculares (Stewart, Simon, et al. 2017), autoimunes (Watad, Abdulla, et al. 2019) e infecciosas (Martinez, Micaela Elvira, 2018). Alguns distúrbios psiquiátricos também apresentam perfil sazonal, como o Transtorno Afetivo Sazonal (Seasonal Affective Disorder – SAD), que se caracteriza por episódios de depressão que se desenvolvem tipicamente no inverno, período este com dias muito curtos e noites muito longa. Um estudo realizado no Canadá, entre 1996 e 2013, identificaram que 70% dos casos de depressão manifestaram-se no inverno (Patten et al., 2016). Além disto, 70% de uma amostra da população finlandesa apresenta variação sazonal no tempo de duração de sono, atividade social, humor e 40% apresenta variação sazonal no peso corporal e apetite (Basnet et al., 2016; Wirz-Justice, Anna, 2019).

Incidência dos casos de mania, associados ao transtorno bipolar, avaliados por admissão hospitalar, apresenta maior pico durante a primavera e menor durante o verão

(Bullock, Ben, Greg Murray, and Denny Meyer, 2017; Fellingner, Matthäus, et al. 2019; Fico, Giovanna, et al. 2020). Em uma amostra da população brasileira, em Belo Horizonte, foi observado que a maioria dos casos de internação por mania ocorre durante o final do inverno e início da primavera, demonstrando assim a sazonalidade deste transtorno em uma região tropical (Volpe et al., 2010). Além disso, existem várias evidências epidemiológicas indicando maiores taxas de tentativa de suicídio e suicídio completo durante a primavera, embora outras estações tenham sido também associadas (Chaudhari, Nishith K., et al. 2018). Recentemente, em uma revisão sistemática e metanálise, demonstramos que, em diferentes populações, as tentativas de suicídio são mais elevadas durante a primavera, independente de sexo e método utilizado, sugerindo um forte componente ambiental modulador do comportamento suicida (Coimbra et al., 2016). Um estudo na Finlândia demonstrou uma relação entre a sazonalidade do suicídio e o comprimento dos dias ao longo das estações, de forma que o pico da mortalidade por suicídio foi detectado entre os dias 15 de maio e 25 de julho, período em torno do solstício de verão (Hiltunen et al., 2011).

As variações no tempo de exposição à luz solar em latitudes crescentes tem sugerido uma explicação para a sazonalidade na mortalidade por suicídio. Em um estudo realizado no Chile em quatro latitudes, foi identificada elevação significativa da mortalidade por suicídio durante a primavera, entretanto quando as regiões foram analisadas separadamente, observou-se que na zona de baixa latitude não houve diferença significativa nos dados de suicídio, endossando a hipótese do impacto que o fotoperíodo possui para estes casos (Heerlein; Valeria; Medina, 2006). No Brasil, o perfil epidemiológico de comportamento suicida também tem sido relatado com pico durante a primavera, em diferentes latitudes (Benedito-Silva; Pires; Calil, 2007).

A estação de nascimento também foi descrita como um fator de risco para sazonalidade do suicídio e outros transtornos psiquiátricos, como esquizofrenia, transtorno bipolar e desordem depressiva recorrente (Disanto et al., 2012; Rock; Greenberg; Hallmayer, 2006), o que sugere um efeito de variações sazonais ambientais presentes durante o desenvolvimento inicial humano. De fato, identificamos recentemente que a temperatura ambiental como mediadora na associação entre fotoperíodo ao nascer e cronotipo (Santos, R. C. 2020).

Estes exemplos enfatizam a importância dos estudos acerca do efeito do fotoperíodo na adaptação sazonal do organismo, que, em alguns casos, manifesta-se em diversas patologias.

Em muitas espécies, as mudanças sazonais no balanço metabólico demonstraram ser dependentes do fotoperíodo que atua como uma pista antecipatória importante.

2.4 Ritmos Biológicos, Transtorno Bipolar e Modelos animais de Mania

O transtorno bipolar (TB) é um transtorno mental crônico e recorrente. Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que o TB atinge aproximadamente 1 a 3% da população mundial, estando entre as maiores causas de incapacidade (Keck et al., 2001; Press, W. H. O. 2008). O TB é caracterizado por alteração do humor, alternando entre estado de mania e episódios depressivos (American Psychiatric Association, 2014; Murray et al., 2011).

Adultos jovens são mais suscetíveis a desenvolver o TB, sendo observado que pelo menos metade dos casos iniciam antes dos 25 anos de idade (Kessler, 2005). Quanto às comorbidades associadas ao TB, dados globais mostraram que 76,5% dos pacientes também apresentaram outros transtornos ao longo da vida. As comorbidades mais frequentes são: os transtornos de ansiedade (62,9%), os transtornos comportamentais (44,8%) e os transtornos relacionados ao abuso de substâncias (36,6%) (Merikangas, 2011).

De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais em sua 5ª edição (DSM V) (DSM-V, 2013), o estado de mania é caracterizado por estado de humor eufórico e/ou irritável associado a diminuição da necessidade de sono, aumento da loquacidade, sentimento de grandiosidade, baixa concentração e atenção, aumento notável de comportamentos de exposição ao risco (promiscuidade, impulsividade), aumento da atividade locomotora.

A mania é o mais característico dos episódios e, apesar de frequente e incapacitante (é o que mais resulta em internações agudas em virtude das graves mudanças de comportamento e conduta que provoca), é pouco estudada e diagnosticada.

O uso de animais na ciência datam de 300 a.C por cientistas gregos como Aristóteles e Erasístrato, seguidos por Galeno (100 d.C). No Brasil, modelos animais têm sido usados desde 1900, com a criação do Instituto Oswaldo Cruz, sendo regulamentado em 2008 através da lei Arouca (11.7924/2008) (Benchimol, Jaime L. 2020).

O estudo do comportamento e da neurobiologia tem suas raízes na teoria da evolução de Charles Darwin, mas o interesse do homem pelo comportamento animal data de quando nossa espécie ainda vivia em cavernas. A curiosidade sobre os hábitos de predadores e presas e a maneira de lidar com espécies que pudessem ser úteis eram extremamente importantes e estavam ligadas à própria sobrevivência dos indivíduos. A diversidade de comportamento de espécies e populações animais tem servido de base para o estudo e a compreensão do comportamento humano. Estudos da década de 1970, com macacos e ratos envolvendo estresse e privação social, modelo do desamparo aprendido entre tantos outros são exemplos clássicos de modelos animais experimentais com aplicações em humanos que têm elucidado informações importantes sobre aspectos cognitivos, neurobiológicos e psiquiátricos.

O uso de modelos animais é uma ferramenta vital no estudo da neurobiologia dos transtornos psiquiátricos. Os principais desafios se baseiam na transposição dos parâmetros comportamentais que mimetizam os aspectos clínicos que caracterizam a psicopatologia humana, bem como a enorme variedade de subtipos diagnosticados. Apesar disto, alguns modelos animais para transtorno bipolar têm sido desenvolvidos, especialmente em três abordagens: farmacológica, comportamental e genética. Os modelos farmacológicos baseiam-se em psicoestimulantes que elevam os níveis de concentração sináptica dopaminérgica ou pela disfunção da enzima Na^+/K^+ -ATPase. Estas vias geram hiperatividade, que é reduzida pelo uso de estabilizadores de humor. Os modelos comportamentais são baseados especialmente em privação de sono, e o principal modelo genético é baseado em camundongos que não expressam o gene *clock*. Todos os modelos baseiam-se na elucidação dos aspectos maníacos do transtorno, que configura-se como fase de elevação da exposição ao risco, hiperatividade e maior morbidade.

Dentre os modelos já existentes não há nenhum modelo que considere a luz como um potencial modulador deste comportamento. Entretanto, como já evidenciamos, a dessincronização do sistema de temporização circadiana tem sido amplamente associada a diversos transtornos, especialmente os psiquiátricos do humor. Buscando elucidar como variações graduais de fotoperíodo análogas as condições ambientais são capazes de modular a neurobiologia de comportamentos associados aos transtornos de humor estamos desenvolvendo este trabalho.

3. Objetivos

3.1 Objetivos Gerais

Avaliar o efeito do incremento gradual de fotoperíodo na modulação do comportamento associado a mania em modelo animal.

3.2 Objetivos Específicos

Estabelecer um protocolo de variação gradual do fotoperíodo, denominado de TP (*Transitional photoperiod*);

Avaliar o efeito da variação gradual de fotoperíodo no ritmo de atividade locomotora de camundongos C57BL/6;

Avaliar o efeito da variação gradual de fotoperíodo na modulação do comportamento associado a mania;

Avaliar o padrão de expressão circadiana de Per2 no CPF (córtex pré-frontal) de animais submetidos a transição gradual de fotoperíodo;

Artigo 1

4. Capítulo 1 - *In vivo modeling of seasonal variations in suicidal behavior and mania symptoms*

Abstract

Suicidal behavior is a major public health issue, representing one in every hundred deaths globally. It also contributes to a higher morbidity and mortality of bipolar disorder, particularly during mania. Intriguingly, both suicidal behavior and hospitalizations due to mania state have an increased rate at late spring and early summer. Moreover, the suicide rate is higher at latitudes with a more pronounced seasonality. Different seasonal environmental factors have been associated with this epidemiological profile, such as a faster increase in daylength. However, the biological mechanism behind this association has barely been investigated due in part to the lack of animal models for mania and suicide endophenotypes that contemplate photoperiodic changes. In this work, we investigated the behavioral response of C57BL/6 mice exposed to a rapid and gradual increase in photoperiod, from short (8:16LD) to long (16:8LD), lasting for eight days. We also studied the spontaneous locomotor activity (SLA) rhythm and the expression of the clock gene *Per2* in the prefrontal cortex of the animals as possible markers for physiological alterations. Consistent with a potential triggering effect of an expanding photoperiod on suicidal behavior and mania, the animals presented an increased exploratory and risk behaviors, and a reduced self-care, compared to the groups exposed to equatorial (12:12LD) and fixed long (16:8LD) photoperiods. Despite an effective synchronization of SLA onset, the phase angles between onset, SLA acrophase and *Per2* expression are altered, suggesting a circadian misalignment promoted by the photoperiodic variations. To the best of our knowledge, this is the first model for suicidal endophenotypes and mania-like behavior induced by photoperiodic changes.

1. Introduction

Suicide is one of the leading causes of deaths worldwide, overcoming Breast Cancer, Malaria, HIV/AIDS, war and homicides, and the number of suicide attempts can be twenty times higher (O'Rourke, Maria C., Radia T. Jamil, and Waquar Siddiqui. 2018; World Health Organization 2019; Arensman, Ella, et al. 2020). Intriguingly, suicidal behavior presents a consistent seasonal pattern in different populations, in both hemispheres, with an increasing rate at late spring and early summer (Coimbra, D. G. 2016; Plemmons, Gregory, et al. 2018; Su, M. K., Chan, P. Y., & Hoffman, R. S. 2020). Suicide rates also increase towards latitudes of strong seasonality (Hernández, O. H., Hernández-Sánchez, J. A., & Flores-Gutiérrez, J. D. 2018). Moreover, there is a significant association between hours of sunshine and completed suicide carried out through violent methods, indicating a higher lethality of suicidal behaviors during spring/summer (Aguglia, Andrea, et al. 2019). Consistently, hospitalizations due to Bipolar Disorder (BD) mania state, which is characterized by risk-preference, reward hypersensitivity and increased mortality by suicide (van Enkhuizen, Jordy, et al. 2015), are also higher during spring and summer (Parker, G. B., Hadzi-Pavlovic, D., & Graham, R. K. 2017; Llanes-Álvarez, Carlos, et al. 2021).

Despite reiterated evidences for seasonality in suicide and BD, the biological mechanism behind this association was not properly addressed yet. Suicidal behavior is a complex transdiagnostic psychiatric condition with a heterogeneous etiological basis (Perrotta, G. 2020; Edwards, Alexis C., et al. 2021; Neupane, Sudan Prasad. 2021). The contemporary model to explain suicide involves a predisposing biological background responding to stressful environmental triggering factors (Turecki, Gustavo. 2020). Some of these triggers can occur seasonally and could evoke suicide crisis in susceptible individuals (Kayipmaz, Selvi, et al. 2020, Woo, Jong-Min. 2012).

The preeminent environmental factor associated with seasons is photoperiod (Aguglia, A., Borsotti, A., & Maina, G. 2017; Aguglia, Andrea, et al. 2019). In fact, evidences from different studies indicate that sunlight variations are associated with suicide and BD. We demonstrated that photoperiodic variation was the strongest predictor of suicide rate in Brazil and correlates with the temporal profile of completed suicides at the southern part of the country (Coimbra et al, 2021). Large changes in solar insolation between winter and summer were associated with increased suicide attempts in patients with BD (Bauer, Michael, et al. 2019). Moreover, an earlier BD onset was associated with the months with

higher increase in photoperiod (Aguglia, A., Borsotti, A., & Maina, G. 2017; Rosenthal, Sandra J., et al. 2020).

Photoperiodic changes modulate circadian rhythms in several organisms including humans (Porcu, Alessandra, et al. 2018; Sumova, Alena, and Helena Illnerova. 2020, Zerbini, Giulia, Eva C. 2021). Correspondingly, several diseases have been related to disruptions of the circadian system, including BD (Bedrosian and Nelson 2017; Wirz-Justice 2018; Oliveira et al., 2018). Suicide may also be elicited by circadian disfunctions due to sleep deprivation (Porrás-Segovia, Alejandro, et al. 2019) or alterations in physiological pathways modulated by the circadian clock, such as the HPA axis (Braquehais, María Dolores, et al. 2012; Melhem, Nadine M., et al. 2016), neuroinflammation (Courtet, Philippe, et al. 2016; Ducasse, D., Girod, C., & Courtet, P. 2016), neuroplasticity (Suzuki, Hisaomi, et al. 2019) and neurotransmitters release (Lu, Da-Yong, et al. 2021; Sudol, Katherin, and J. John Mann. 2017). Moreover, suicide was associated with eveningness (Lester, David. 2015), polymorphisms in clock genes (Jankowski, K. S., & Dmitrzak-Weglarz, M. 2017; Rumble, Meredith E., et al. 2018) and differential expression of clock and clock controlled genes in suicidal patients (Pawlak, Joanna, et al. 2015). Therefore, circadian rhythm disturbances triggered by environmental light variations in vulnerable individuals could explain the seasonal pattern in suicide and mania symptoms. In fact, light has been used in phototherapy and dark-therapy for the treatment of certain diseases with seasonal patterns, such as Seasonal Affective Disorder (SAD) (Pjrek, Edda, et al. 2020), Major Depression (Tao, Long, et al. 2020) and BD (Takeshima, Masahiro, et al. 2020).

The lack of animal models involving seasonal aspects in suicidal behavior and BD is an impediment to progress in understanding its underlying cause (McCarty, Richard, et al. 2021). In vivo models for suicide endophenotypes have been proposed but did not include circadian disruptions nor photoperiod variations (Young, Jared W., et al. 2018; Rosenthal, Sandra J., and Richard McCarty. 2019). Additionally, generating animal models for BD has proven difficult (Blumberg, Hilary P. 2012). Hence, animal models for suicidal behavior endophenotypes and mania-like behavior induced by photoperiodic changes would aggregate in our repertoire of tools for exploring the mechanistic basis triggering these conditions.

Short and long photoperiods have been shown to modulate physiology and behavior in common laboratory rodents (Kawai, Hiroshi, et al. 2018; Siemann, Justin K., et al. 2019). However, few investigators have attempted to mimic gradual photoperiod variations (Quiles,

Caroline Luísa, et al. 2016; Metzger, Joshua, et al. 2020). In this work, C57BL/6J mice were exposed to a rapid and gradual increase in photoperiod, resembling a spring environment, analogous to those reported on the aforementioned epidemiological studies. Using this experimental paradigm, we investigated anxiety-like, depression-like and risk behaviors. We also evaluated possible alterations in circadian rhythms through Spontaneous Locomotor Activity (SLA) and the temporal expression of *Per2* in the prefrontal cortex (PFC), a brain region involved in the control of key behaviors that are essential to normal social processing in rodents and humans, including social motivation, social recognition, dominance hierarchy, and executive function (Bicks, Lucy K., et al. 2015; Nejati, V., Salehinejad, M. A., & Nitsche, M. A. 2018; Shepard, Ryan, Emily Beckett, and Laurence Coutellier. 2017). Morphological and functional alterations in the PFC were also associated with suicidal behavior (Wang, Lifei, et al. 2020).

2. Methods

Male C57BL/6 mice, aged between 08 and 16 weeks, were obtained from the Central Animal Facility of the Federal University of Alagoas (BIOCEN-UFAL). All experiments were carried out following international standard requirements and after approval by the Local Animal Ethics Committee (permit number 69 /2016).

2.1. Photoperiodic protocols and Behavioral tests

All animals were acclimatized in the laboratory with a photoperiod regime of 12:12LD (hours in light and dark, respectively) for 1 week before the experiments. Light intensity (100 lx) and temperature (22°C) were controlled throughout the experiment. After acclimatization, the animals were divided into three groups (Figure 1A): 1. Equatorial photoperiod (EP), consisting of a light regime of 12:12LD for 24 days after acclimatization; 2. Long photoperiod (LP), in which the animals were maintained in 12:12LD for 8 days and then transferred to a 16:08 LD for 16 days; 3. Transitional Photoperiod (TP) protocol, in which the animals were initially submitted to 12:12LD for 8 days, followed by 8 days in 8:16LD. After this period, the photoperiod was gradually increased by one hour per day (30 min at the beginning and 30 min at the end of the light phase), until it reached 16:8LD after 8 days. All behavioral tests were performed between ZT06 and ZT08 (n = 10 per group), beginning at ZT06 with EPM, followed by OFT, HB and FST, in this order. For TP, the Elevated Plus Maze (EPM), the Open Field Test (OFT), the Hole Board (HB) and the pre-

exposure to Forced Swim Tests (FST) were performed on the seventh day of the transition phase. The FST was carried out on the last day.

Each animal was placed on the central platform of the EPM (Insight Equipamentos Ltda, Brazil) with the head facing one of the closed arms and allowed to explore the apparatus for an interval of 5 minutes. The behaviors were evaluated by analyzing the sessions recorded using a digital camcorder (Intelbras, Brasil). The analyses were carried out blindly by two evaluators (M.R.B and E.F.L.C). The quantification of spatial, temporal and ethological variables was performed based on the exploration of each animal considering: frequency of entries into the open and closed arms (defined by crossing all four paws into the arm) and time spent in these compartments. These parameters are used to calculate the percentage of entries and the duration in open arms (Entries: $(\text{open}/\text{total}) \times 100$; Time: $(\text{time in compartment}/300) \times 100$). In addition, risk assessment was obtained by recording the frequencies of: Head Dipping (HD), the exploratory movement of the head beyond the floor of the EPM open arm; Stretched Attend Posture (SAP), the exploratory behavior in which the animal extends the front part of the body to probe the open arm, with the body protected in the closed arm, then retracts it to return to the original position; and Rearing, the elevation of the body leaning on the hind legs. We also performed the deep learning analysis proposed by Sturman et al. (2020) with the use of the video tracker DeepLabCut (Mathis et al. 2018) to measure the raw distance, raw speed, speed moving, time moving, time stationary and distance moving of the animals in EPM.

The OFT was carried out in a 5mm acrylic box, 30cm in diameter and 50 cm high, with the ground divided by black lines into sixteen equal squares (Insight, Brazil). The animals were placed gently in the center of the box, so that they could freely explore the arena for 5 minutes. Video records were analysed for time spent in the center of the apparatus and in the periphery, number of crossings in the center, number of crossings in the periphery, total number of crossings, self-cleaning (grooming), rearing and defecations. The animal's locomotor activity in the center of the open field was used as a measure of anxiety and the number of crossings as a measure to anxiety and exploratory behavior (Azizi, 2018).

For the FST, the animals were individually placed in a glass cylinder (Laborglas, Brazil), filled with tap water at 25°C with depth adjusted according to the size of the animal. These animals were observed in sessions of 7 minutes duration (Muller, Jeff M., et al. 2011; Chen, Ruizhuo, et al. 2021). The animals were exposed to a pretest and after 24 hs the

procedure was repeated. Immobility time was analyzed during the first 2 minutes and the last 5 minutes (Bushnell & Stupp, 2009). Latency, duration and frequency of behavioral categories classified as immobility, climbing, swimming and diving were also recorded.

The HB was used to assess exploratory behavior through the interaction of animals with holes (File, S.E & Wardill, A.G. , 1975). The test consists of a plate with holes coupled to the OFT. The plate contains 16 equidistant holes, 4 in the center and 12 in the periphery, 3cm in diameter, disposed in a circular glass plate 30cm in diameter, raised 5cm from the OFT ground. The animals were gently placed in the center of the apparatus and filmed for 10 minutes. The parameters analyzed were time spent in the center and time spent in the periphery, number of interactions with holes in the center and in the periphery.

2.2. Spontaneous Locomotor Activity (SLA) recording

For rest/activity rhythm monitoring, the animals (n=8) were individually allocated on the in-home developed locomotor activity recording apparatus, with free access to water and food (Presence, Brazil). Each cabinet houses one single cage and contains an infrared motion sensor for the detection of total locomotor activity. All cages were housed in a soundproof environment, protected from external light, with temperature control (22°C), equipped with an exhaust system and photoperiod and light intensity (100 lx) control. Activity data were collected every 5 minutes through an automated system developed by the Laboratory of Neurobiology and Biological Rhythmicity (LNRB, UFRN, Brazil).

2.3. Tissue preparation and qPCR

A different batch of animals submitted to the same photoperiodic protocols was used for molecular assays. PFC was isolated according to Sabine Spijker (2011) (SPIJKER, 2011). Tissue sampling was carried out at ZTs 00, 03, 06, 09, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42 (n=48 per group, 3 per time point). For the TP group, sampling was performed at the last day of the transition phase (16:8LD) and 7 additional time points in 16:8LD. The tissue was stored in RNAlater Solutions (Thermo Fisher Scientific, USA) for RNA stabilization and storage, then frozen in -80°C until extraction. RNA extraction was performed with the SV Total RNA Isolation System (Promega/USA) following the manufacturer's guidelines. cDNA synthesis was performed with High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific, USA), according to manufacturer's protocol using the same RNA

concentration (20ng/μl) for each sample. All cDNA samples were diluted (1:5) in RNase free water for qPCR.

qPCR reactions were performed in duplicates using StepOne Plus (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with 0.25μL of each primer (3.5 μM), 5 μL of *SYBR® Select Master Mix* (Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA, USA), 2.25 μL of nuclease-free water (Amresco, USA) and 2.5 μL of cDNA, according to *StepOnePlus™ Fast Mode*. For primers' efficiency tests, the pooled cDNA was diluted 5x (1:2; 1:4; 1:8; 1:16 and 1:32). The efficiency value was determined by the StepOne Software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Only primers with PCR efficiency between 90-110% and with a single melting curve were considered for experiments. The primers were designed in Oligo Explorer (<http://www.genelink.com/tools/gl-oe.asp>) (Per2-Fw – 5' CATATCTTCTACCGTCTCTAGCTCG 3'; Per2-Rv – 5' GCTACAGCAGCACCATCGTG 3'; Ppib-Fw – 5' GGAGATGGCACAGGAGGAAA 3'; Ppib-Rv – 5' CCGTAGTGCTTCAGTTTGAAGTTCT 3'). Sequence alignments were performed with blastn using mice RefSeq_RNA as reference background (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) to verify primer specificity.

2.4. Data analysis

The SLA was analyzed using actograms generated in El Temps software (Antoni Díez-Noguera, 1999). From the actograms, the following variables were determined: onset, offset and alpha (beginning, end and duration of the activity in minutes, respectively). In addition, intradaily variability (IV), interdaily stability (IS), L5 and M10 parameters were obtained using nparACT package (Wickham H. 2016). Relative amplitude (rAMP) and acrophase were calculated by meta2d function in metacycle package (Wu, Gang, et al. 2014) from the last day of each regimen (EP and TP) grouped in one hour bins.

Anova with repeated measures, followed by Tukey post-hoc test, was used to compare behavioral parameters, onset, alpha and phase angle between groups. Student's t test was used to compare EP and TP groups. Statistics were performed using Prism software (version 8.0) and graphics were designed by ggplot2, circlize and ggpubr R packages (Wickham H. 2016; Gu Z, Gu L, Eils R, Schlesner M, Brors B. 2014). All analyses considered 95% of confidence intervals and a significance level of $p < 0.05$

Gene expression analysis was performed using the Cycle Threshold (CT) mean of experimental duplicates, considering a replicate deviation of less than 0.5 (Nordgård, Oddmund, et al. 2006). The CT mean data was then converted to 2^{-CT} for calculations. Data normalization was performed using the 2^{-ddCT} method, with Ppib as a reference gene, as previously reported (Figueiredo, D. S et al, 2017). To investigate oscillatory patterns in gene expression and to calculate rhythmic parameters (acrophase and rAMP), we used the 2^{-ddCT} median value from biological replicates in each ZT as input to meta2d. .

3. Results and Discussion

3.1. The transitional increase in photoperiod induces a mania-like behavior and other behaviors associated with suicide

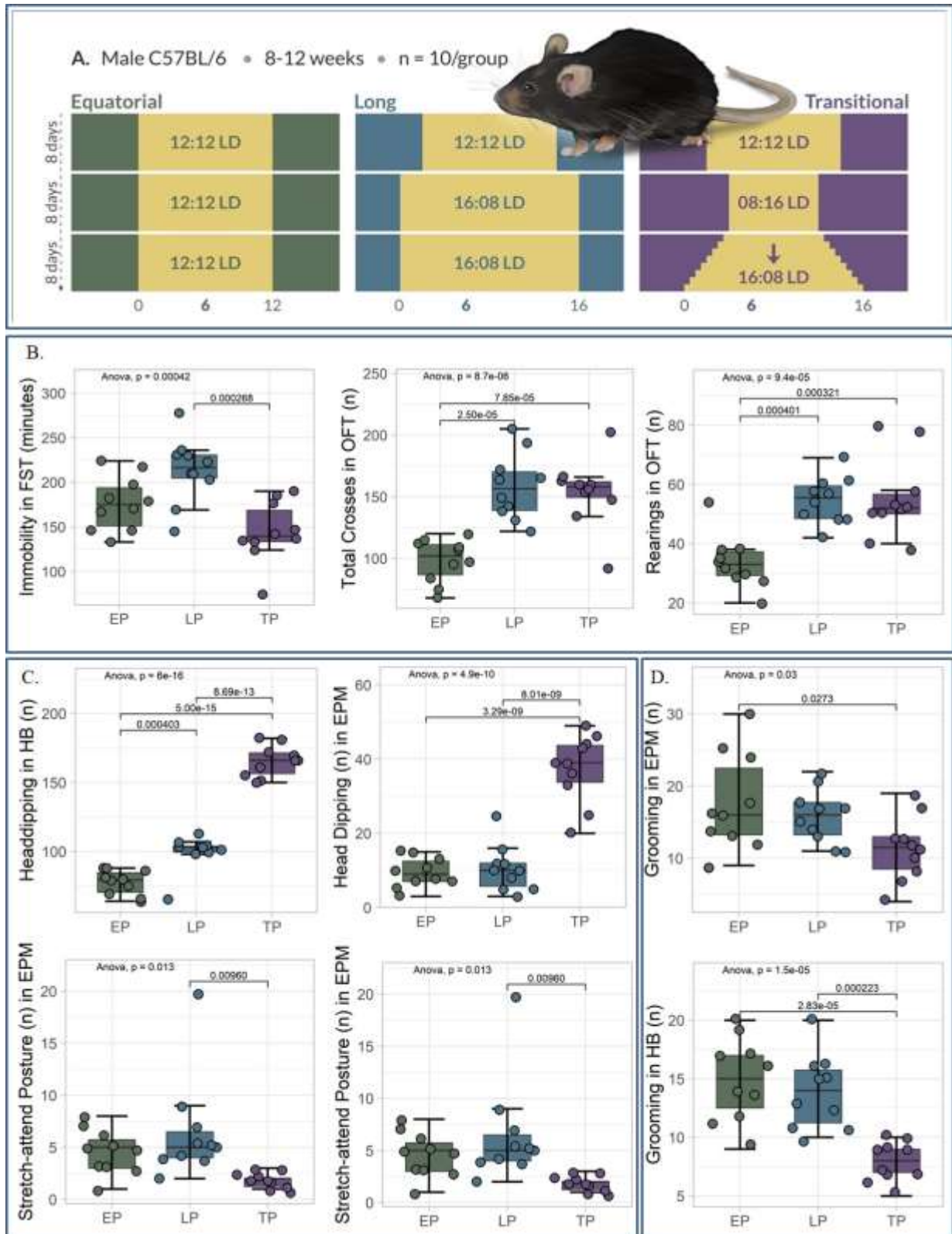
Animals submitted to the TP protocol increased the exploratory activity, inferred by the decreased immobility time in FST and more rearings and total crosses in OFT (Fig 1B and Supplementary Figure 1B and 1D). Moreover, there was an increased risk behavior, evaluated by the elevated number of head dippings in EPM and HB, more entries in the open arms, increased time spent in the center of OFT and HB with reduced time in the periphery, reduced time in closed arms, and a decreased number of SAP behavior (Fig 1C and Supplementary Figures 1, 3 and 2).

Increased exploratory activity and risk behavior are major features of mania in BD, in humans and mice models (Perry, William, et al. 2009). The involvement in high-risk activities, associated with the underestimation of the possible negative consequences, the tendency to make unnecessary or excessive expenses, the abuse of sedatives and psychostimulants, and verbal and/or physical aggressiveness are amongst the behavioral manifestations observed in the clinics (Perrotta, G. 2019). As a consequence, BD patients are also at a greater risk of suicide, with an approximately 20–30-fold increase compared to the general population (Miller, Jacob N., and Donald W. Black. 2020). Similarly, other animal models for mania induced by methylphenidate and ouabain (Souza, LS, et al. 2016; Varela, Roger B., et al. 2020), as well as a Shank2 gene deletion model (Pappas, Andrea L., et al. 2017) and the *Clock* Δ 19 mutation, presented elevated exploratory and risk behaviors (Logan, Ryan Wellington, and Colleen A. McClung. 2016; Kristensen, Mette, Andrew A. Nierenberg, and S. D. Østergaard. 2018)

Animals exposed to increasing photoperiod also presented a decreased self-grooming (Fig.2D), which can be related to poor self-care. In fact, more severe mania symptoms in BD are associated with poor personal hygiene (IsHak, Waguih William, et al. 2012). This result is similar to those found in animal models for autism (oo, Juyoun, et al. 2014). We did find differences in the other behavioral parameters. (Supplementary Figures 2.)

In most of the parameters, animals evaluated at a stable long photoperiod (LP) did not present an altered behavior compared to EP, such as Head Dipping in EPM and HB, and entries in open arms in EPM (Figure 1B). In Head Dipping in HB, the LP group presented an attenuated behavior compared to the transitional model (TP), even though the photoperiod was enlarged in both groups. In a natural seasonal environment, photoperiod changes continuously. Thus, usual models that use a fixed over successive cycles short or long photoperiodic condition prior to experimentation may not capture the potential effect of the dynamical changes in the light:dark cycle. These artificial stable conditions in the photophase probably allow the biological clock to be properly entrained in the majority of the cases. When the organism is in an environment of continuous photoperiod transitions, during spring for example, it responds continuously in an attempt to be temporally adapted (Hut, Roelof A., and Domien GM Beersma. 2011). In regions with a more pronounced seasonality, this entrainment may become difficult in some susceptible individuals which could evoke inappropriate physiological and behavioral responses (Zaki, Nevin FW, et al. 2018). This hypothesis is supported by epidemiological observations showing that a faster increase in photoperiod in spring is associated with an increased risk of suicide in patients with BD (Bauer, Michael, et al. 2021). We also previously reported a positive correlation between rAMP of suicide and latitude, and that the variation in photoperiod was the strongest predictor of suicide in a large dataset in Brazil (Coimbra, et al. 2021).

Figure 1 - Transitional photoperiod induces an increased exploratory activity, risk-behaviors and poor self-care. A- Schematic representation of the photoperiodic regimens for each group. All behavioral experiments began at ZT06 and extended to ZT08 at most. B- An increased exploratory activity can be inferred by a reduced immobility in the FST and increased number of crosses and rearings in the OFT. C- Increased risk exposure indicated by the high number of head dippings in EPM and HB. D- TP animals make less self grooming than animals exposed to EP and LP. Boxplots express mean and 95% confidence intervals. D-The dots indicate the individual values for each animal. Statistical p values for Anova and Tukey post-hoc are shown. Brackets indicate significance for the Tukey test.



3.2. Animals exposed to a transient increase in photoperiod present circadian misalignments.

In order to investigate a possible misalignment and eventually other alterations in circadian rhythms after the TP protocol, we initially evaluated the SLA profile. The time of total activity (alpha) is compressed to the progressively shorter dark phase (Fig2 A and C) but we did not find significant changes in rAMP, IV, L5 and M10 (Supplementary Fig6). An unaltered M10 (Supplementary Fig6) suggests that the animals did not present a hyperlocomotion in the behavior tests, but an increased exploratory behavior instead, as aforementioned (Fig 1B). As expected, there was a phase shift in the activity onset accompanying the photoperiod (Fig 2 A and B, D and G).

Despite the fast increment of one hour per day, the SLA onset is synchronized to lights off on every day of the transitional phase (Fig2 A and B). This could be confirmed after releasing the animals in constant darkness (Fig 2 A and B). At the beginning of the free running condition, the phase of activity onset coincides with the phase at the last day in transition and differs from the short photoperiod that preceded the transition protocol (Fig 2B). This result indicates that the phase shift observed in the SLA is not due to a masking effect (Aschoff, Jürgen, S. Daan, and K-I. Honma. 1982). On the other hand, the phase angle between activity onset and the acrophase of activity is shortened by 1.4h on the last day (Fig 2 D). Then, the phase shift in the acrophase did not occur in the same proportion as activity onset.

We also evaluated the temporal expression of Per2 in the PFC of mice exposed to TP. Per2 expression has been used as a circadian molecular marker in different studies (Kim, Mikyung, et al. 2018; Jiang, Huihui, et al. 2021), and structural and functional alterations in the PFC were observed in BD and suicidal patients. Neuroimaging studies have shown that abnormalities of PFC may be closely related to the pathological mechanism of BD patients with suicide attempts (Benedetti, Francesco, et al. 2011; Ding, Y., et al. 2015). Adult patients with BD and a history of suicide attempts had reduced gray matter volumes in the dorsolateral PFC (DLPFC), ventrolateral PFC (VLPFC), orbitofrontal cortex, and anterior cingulate (Zhao, Yimeng, et al. 2021). A reduction in gray matter volumes in the PFC was found more often in adult women with BD and a history of suicide attempts (Lijffijt, M., et al. 2014; Ding, Y., et al. 2015; Zhao, Yimeng, et al. 2021). Finally, there are structural and functional homologies between human and rodent PFC in behavioral control that can be

explored in animal models for pathological conditions (Chini, Mattia, and Ileana L. Hanganu-Opatz. 2020).

We found a robust Per2 expression after TP with a phase delay of 1.8h in the acrophase compared to the EP group (Fig2 E and F). However, similar to SLA acrophase, there was a 3.3h shortening in the phase relationship between activity onset and Per2 acrophase (Fig 2D and F). On the contrary, the phase angle between Per2 acrophase in PFC and SLA acrophase was lengthened by 1.4 h (Fig 2D and F).

Differences in the phase angles between coupled oscillators have been proposed as markers for circadian misalignment and potential sources for diseases (Inokawa, Hitoshi, et al. 2020). These misalignments can happen between an internal clock and a cycling environment or between two internal biological clocks (Honma, Sato. 2018, Baron, Kelly Glazer, and Kathryn J. Reid. 2014).

Light is the primary signal for the central clock in the suprachiasmatic nuclei (SCN) of the hypothalamus and suppresses melatonin synthesis by the pineal gland. The SCN influences the circadian rhythm as a key synchronizer of clocks in peripheral tissues, and responds seasonally (Coomans, C. P., Ramkisoensing, A., & Meijer, J. H. 2015). Light exposure modulates circadian rhythms differently depending on the phase and light changes in duration or intensity can disrupt and/or misalign the circadian clock (Fisk, Angus S., et al. 2018)

Recently, several studies have reported that the occurrence of mood disorders is related to shifts and misalignments in the circadian rhythm. Suicide crisis were related to sleep deprivation (Porrás-Segovia, Alejandro, et al. 2019). Patients with mood disorders are especially vulnerable to circadian dysregulation and sleep disruption, with an increased risk to the onset of mixed states and consequently to present mania symptoms and suicidal behaviors (Takaesu, Yoshikazu. 2018; Palagini, Laura, et al. 2019).

During spring, the circadian rhythm of a healthy person advances in line with the earlier time of sunrise (Cho, Chul-Hyun, and Heon-Jeong Lee. 2018). However, people with mood disorders may present differences in the circadian clock and/or synchronization mechanisms leading to an inappropriate entrainment. It has been suggested that in BD patients, the circadian phase can be easily shifted by the disturbance of sleep-wake cycles and by zeitgebers, e.g, artificial light acting at inappropriate times or seasonal changes in

photoperiod (Moon, Joung-Ho, et al. 2016; Cho, Chul-Hyun, et al. 2016). Importantly, these phase shifts were related to psychiatric symptoms. Acute manic episodes were associated with an advance in the endogenous circadian rhythm (Lee, Heon-Jeong. 2019), whereas individuals with mixed manias and those with bipolar depression showed a delay in their circadian cycle (Cho, Chul-Hyun, and Heon-Jeong Lee. 2018; Lee, Heon-Jeong. 2019)

In animal models, the disruption of core clock components alters the circadian rhythm and consistently elicits aberrant behaviors resembling those of human affective disorders (Landgraf et al., 2017). The *Clock* Δ 19 mutant mice present a behavioral phenotype characterized by hyperactivity, decreased anxiety and depression-like behavior, and increased preference for rewarding stimuli, which is highly consistent with mania in humans (Kristensen, Nierenberg, and Østergaard 2018). In addition, the Myshkin mania mouse model, with a heterozygous inactivating mutation in the neuron-specific Na⁺/K⁺-ATPase (NKA) α 3 subunit, demonstrates profound circadian and light-responsive behavioral alterations independent of molecular clock disruption, highlighting the importance of synchronization pathways for mood and behavior (Timothy et al., 2017).

Nonetheless, behavioural alterations related to clock dysfunctions may not necessarily impair circadian rhythmicity in SLA or in tissues. Deletion of *Per2* only in glial cells, for example, resulted in a more active swimming in the FST (Hampp, Gabriele, et al. 2008; Martini, Tomaz, et al. 2021) and other mania-like behaviors, without affecting circadian activity parameters (Martini, Tomaz, et al. 2021). Therefore, it is possible that the light regime that we used in our model could have affected the behavior through a transient internal circadian misalignment without disrupting circadian gene expression and the rhythm of SLA.

The mouse lineage we used in this study has very low detectable levels of melatonin (Kennaway, David J. 2019). Melatonin is a chronobiotic molecule produced during the dark phase and inhibited by light, important for internal synchronization to light:dark cycles and seasons (Goldman, Bruce D., and Randy J. Nelson. 2020). The lack of melatonin could have impacted the speed in which the peripheral clocks synchronize to the expanded photoperiod. However, studies using Swiss Webster mice (which have no detectable pineal melatonin) vs. Siberian hamsters (which have a robust pineal melatonin rhythm) have reported similar effects of light at night on affective responses (Gómez-Corvera, Araceli, et al. 2009. Bedrosian, Tracy A., and Randall J. Nelson. 2013; Walker, William H., et al. 2020).

Alternatively, the extended light in our model may be acting through a direct regulation of the regions involved with mood and executive function, including limbic (amygdala and hippocampus) and higher cortical regions (dorsolateral prefrontal cortex [dlPFC], cingulate cortex, ventromedial prefrontal cortex [vmPFC], parietal cortex, and precuneus), without the involvement of the SCN (Altimus, Cara M., Tara A. LeGates, and Samer Hattar. 2009; Lazzerini Ospri, Lorenzo, Glen Prusky, and Samer Hattar. 2017). (Vandewalle, Gilles, et al. 2010; Chellappa, Sarah Laxhmi, et al. 2014). While these areas are not primarily involved in visual perception through classical photoreceptors or in circadian entrainment via the SCN, it remains plausible that photoperiod activates these photoreactive brain areas in a way that facilitates affective or cognitive brain functions (Vandewalle, Gilles, et al. 2010).

This work has several limitations. Modelling BD and suicidal endophenotypes in mice is not trivial. While bipolar disorder's cyclicity is difficult to represent in animals, models for mania have only begun to decode its fundamental underlying neurobiology. The main challenge in developing BD animal models for reproducing the spontaneous switch process similar to individuals with BD progressing from one mood state to another of opposite polarity. We did not investigate cyclicity in mood states but an acute induction of mania-like behavior instead.

Our model is a nocturnal animal, however studies of light at night exposure in diurnal rodent species generally yield similar affective responses to nocturnal rodents (Fonken, Laura K., et al. 2012; Bonmati-Carrion, Maria Angeles, et al. 2017). In fact, information sent via the RHT reaches the SCN or other brain regions independently and this process is similar in both nocturnal and diurnal species (Jha, Pawan Kumar, et al. 2021). Other brain regions not explored in our study could also be involved with disease-associated dysconnectivity in individuals with BD, such as subareas of the PFC, striatum and hippocampus. Several regions of the cortex have been implicated in the pathophysiology of BD due to both structural and functional imaging evidence and behavioral and cognitive deficits that are associated with the illness (Schneider, Marguerite Reid, et al. 2012; Doucet, Gaelle E., et al. 2017). Moreover, tissue dissection did not discriminate between different cell types or brain subareas.

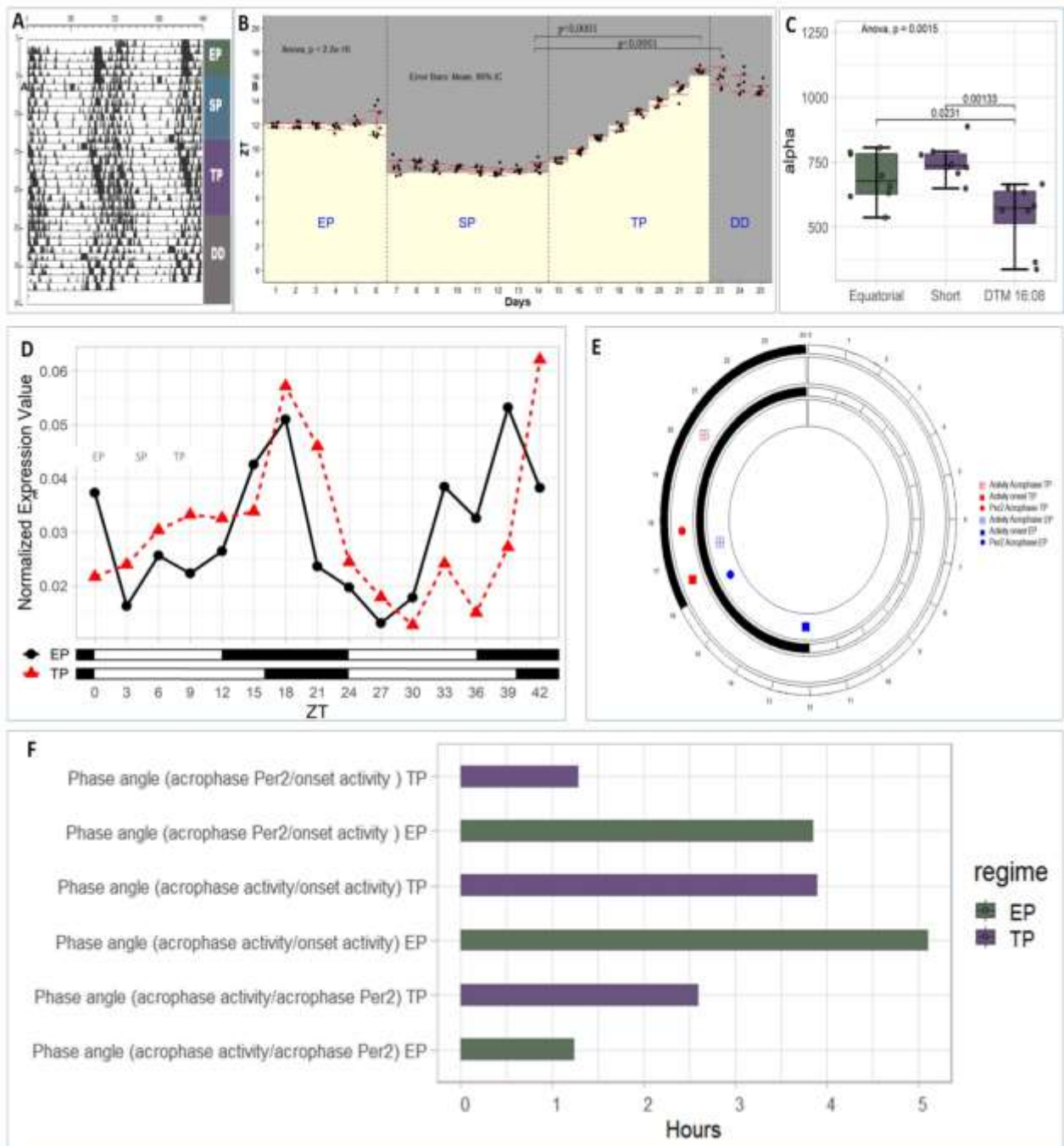
We assessed the expression of a unique clock gene. Although *Per2* has a biological importance for timekeeping and other behaviors (Martini, Tomaz, et al. 2021), other clock genes and clock controlled genes (CCGs) may have specific functions related to mania-like

behavior. For example RevErba knockout mice display a hyperdopaminergic state that is accompanied by manic-like behavior (Chung, Sooyoung, et al. 2014). Similar effects were induced through pharmacological inhibition of REV-ERB α in the ventral midbrain (Chung, Sooyoung, et al. 2014). In neuronal cell culture, ketamine, which has been investigated in the treatment of BD and major depression, can inhibit CLOCK:BMAL1-mediated transcriptional activation and this is attenuated by treatment with a GSK3 β antagonist (Bellet, Marina M., et al. 2011; Wilkowska, Alina, Łukasz Szałach, and Wiesław J. Cubała. 2020). Cry, RevErba, Per1, Per2 and Chrono interact with glucocorticoids to regulate its transcription activity in response to photoperiodic regulation (Anafi, Ron C., et al. 2014; Goriki, Akihiro, et al. 2014. Koch, C. E., et al. 2017; Spencer, Robert L., et al. 2018).

The regime used herein does not mimic the exact duration of the daily transitions in photoperiod observed in nature throughout seasons. Additionally, light intensity and spectrum, not addressed in this study, also affect circadian rhythms and could contribute to the seasonality in suicide and mania (Cho, Chul-Hyun, and Heon-Jeong Lee. 2018).

Despite these limitations, the behavioral and molecular alterations observed in animals exposed to the transient photoperiodic protocol can be reliable approaches for the seasonally induced mania symptoms and suicidal behaviors identified in different populations. In fact, to the best of our knowledge, it represents the first model for mania and suicidal endophenotypes induced by photoperiod. Further investigations on the underlying physiological pathways are therefore encouraging.

Figure 2: Circadian rhythm misalignment in transitional photoperiod. A- Locomotor activity profile of 32 days from mice during equatorial (EP), short (SP) and transitional (TP) photoperiods, followed by constant darkness (DD). Representative actogram showing the different stages of the protocol (activity is represented as black bars). B - Positive flanks, representing the SLA onset, evaluated across 33 days. Mean with 95% of confidence interval. Anova results from the last days in SP and TP and the first day in DD. Brackets indicate statistical differences (Tukey test) between the first day in DD and the last day in short 8:16LD, but not between DD and the last day in TP. C - Alpha, representing the duration of activity during the dark phase, is reduced in TP. D - Temporal expression profile of Per2 in the PFC in both EP (black line) and TP (red line) groups. E - Polar plot representing the phase of activity onset, SLA and Per2 expression in the PFC. F- Phase angles, representing the differences between activity onset and the acrophases of the SLA and Per2 expression in the PFC.



Acknowledgments

The authors thank Dr. John Araújo and Marconi Rodrigues for the kind donation of the automated system for activity recording and Luiz Araújo for technical assistance. We also thank Ellyda Fernanda Lopes Costa, Daniel Gomes Coimbra, Vinícius Cavalcante and Diego Siqueira for thoughtful discussions.

References

- AGUGLIA, Andrea et al. The role of seasonality and photoperiod on the lethality of suicide attempts: a case-control study. **Journal of affective disorders**, v. 246, p. 895-901, 2019.
- AGUGLIA, Andrea; BORSOTTI, Antonio; MAINA, Giuseppe. Bipolar disorders: is there an influence of seasonality or photoperiod?. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 40, p. 6-11, 2017.
- ANAFI, Ron C. et al. Machine learning helps identify CHRONO as a circadian clock component. *PLoS biology*, v. 12, n. 4, p. e1001840, 2014.
- ARENSMAN, Ella et al. Suicide and suicide prevention from a global perspective. **Crisis**, 2020.
- ASCHOFF, Jürgen; DAAN, S.; HONMA, K.-I. Zeitgebers, entrainment, and masking: some unsettled questions. In: **Vertebrate circadian systems**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1982. p. 13-24.
- BARON, Kelly Glazer; REID, Kathryn J. Circadian misalignment and health. *International review of psychiatry*, v. 26, n. 2, p. 139-154, 2014.
- BAUER, Michael et al. Association between solar insolation and a history of suicide attempts in bipolar I disorder. **Journal of psychiatric research**, v. 113, p. 1-9, 2019.
- BAUER, Michael et al. Variations in seasonal solar insolation are associated with a history of suicide attempts in bipolar I disorder. **International journal of bipolar disorders**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2021.
- BEDROSIAN, Tracy A.; NELSON, Randall J. Influence of the modern light environment on mood. *Molecular psychiatry*, v. 18, n. 7, p. 751-757, 2013.
- BENEDETTI, Francesco et al. Opposite effects of suicidality and lithium on gray matter volumes in bipolar depression. **Journal of affective disorders**, v. 135, n. 1-3, p. 139-147, 2011.
- BENJAMIN, Daniel J. et al. Redefine statistical significance. **Nature human behaviour**, v. 2, n. 1, p. 6-10, 2018.

- BICKS, Lucy K. et al. Prefrontal cortex and social cognition in mouse and man. **Frontiers in psychology**, v. 6, p. 1805, 2015.
- BLUMBERG, Hilary P. Euthymia, depression, and mania: what do we know about the switch?. **Biological psychiatry**, v. 71, n. 7, 2012.
- BONMATI-CARRION, Maria Angeles et al. Light color importance for circadian entrainment in a diurnal (*Octodon degus*) and a nocturnal (*Rattus norvegicus*) rodent. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2017.
- BRAQUEHAIS, María Dolores et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction as a neurobiological correlate of emotion dysregulation in adolescent suicide. **World Journal of Pediatrics**, v. 8, n. 3, p. 197-206, 2012.
- CARVALHO, Andre F.; FIRTH, Joseph; VIETA, Eduard. Bipolar disorder. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 1, p. 58-66, 2020.
- CHELLAPPA, Sarah Laxhmi et al. Photic memory for executive brain responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 16, p. 6087-6091, 2014.
- CHEN, Ruizhuo et al. Light at night during development in mice has modest effects on adulthood behavior and neuroimmune activation. **Behavioural Brain Research**, v. 405, p. 113171, 2021.
- CHINI, Mattia; HANGANU-OPATZ, Ileana L. Prefrontal cortex development in health and disease: lessons from rodents and humans. **Trends in Neurosciences**, 2020.
- CHO, Chul-Hyun et al. Molecular circadian rhythm shift due to bright light exposure before bedtime is related to subthreshold bipolarity. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.
- CHO, Chul-Hyun; LEE, Heon-Jeong. Why do mania and suicide occur most often in the spring?. **Psychiatry investigation**, v. 15, n. 3, p. 232, 2018.
- CHUNG, Sooyoung et al. Impact of circadian nuclear receptor REV-ERB α on midbrain dopamine production and mood regulation. **Cell**, v. 157, n. 4, p. 858-868, 2014.
- COIMBRA, Daniel Gomes et al. Do suicide attempts occur more frequently in the spring too? A systematic review and rhythmic analysis. **Journal of affective disorders**, v. 196, p. 125-137, 2016.
- COOMANS, Claudia P.; RAMKISOENSING, Ashna; MEIJER, Johanna H. The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 37, p. 29-42, 2015.
- COURTET, Philippe et al. Neuroinflammation in suicide: Toward a comprehensive model. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 17, n. 8, p. 564-586, 2016.

CRYAN, John F.; VALENTINO, Rita J.; LUCKI, Irwin. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test.

Neuroscience & Biobehavioral Reviews, v. 29, n. 4-5, p. 547-569, 2005.

DI NICOLA, Marco et al. Sensitivity to climate and weather changes in euthymic bipolar subjects: Association with suicide attempts. **Frontiers in psychiatry**, v. 11, p. 95, 2020.

DING, Y. et al. Prefrontal cortex markers of suicidal vulnerability in mood disorders: a model-based structural neuroimaging study with a translational perspective. **Translational psychiatry**, v. 5, n. 2, p. e516-e516, 2015.

DUCASSE, Déborah; GIROD, Chloé; COURTET, Philippe. Neuroinflammation in suicide. In: **Understanding Suicide**. Springer, Cham, 2016. p. 111-133.

ECKER, Jennifer L. et al. Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. **Neuron**, v. 67, n. 1, p. 49-60, 2010.

EDWARDS, Alexis C. et al. On the genetic and environmental relationship between suicide attempt and death by suicide. **American journal of psychiatry**, p. appi. ajp. 2020.20121705, 2021.

EINAT, Haim. New ways of modeling bipolar disorder. **Harvard review of psychiatry**, v. 22, n. 6, p. 348-352, 2014.

FICO, Giovanna et al. Clinical correlates of seasonality in bipolar disorder: A specifier that needs specification?. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 143, n. 2, p. 162-171, 2021.

FISK, Angus S. et al. Light and cognition: roles for circadian rhythms, sleep, and arousal. **Frontiers in neurology**, v. 9, p. 56, 2018.

FONKEN, Laura K. et al. Dim nighttime light impairs cognition and provokes depressive-like responses in a diurnal rodent. **Journal of biological rhythms**, v. 27, n. 4, p. 319-327, 2012.

GOLDMAN, Bruce D.; NELSON, Randy J. Melatonin and seasonality in mammals. In: **Melatonin**. CRC Press, 2020. p. 225-252.

GÓMEZ-CORVERA, Araceli et al. Evidence of immune system melatonin production by two pineal melatonin deficient mice, C57BL/6 and Swiss strains. **Journal of pineal research**, v. 47, n. 1, p. 15-22, 2009.

GORIKI, Akihiro et al. A novel protein, CHRONO, functions as a core component of the mammalian circadian clock. **PLoS biology**, v. 12, n. 4, p. e1001839, 2014.

GU, Zuguang et al. circlize implements and enhances circular visualization in R. **Bioinformatics**, v. 30, n. 19, p. 2811-2812, 2014.

HAMPP, Gabriele et al. Regulation of monoamine oxidase A by circadian-clock components implies clock influence on mood. **Current Biology**, v. 18, n. 9, p. 678-683, 2008.

HATTAR, Samer et al. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, v. 497, n. 3, p. 326-349, 2006.

HAZRA, Avijit. Using the confidence interval confidently. **Journal of thoracic disease**, v. 9, n. 10, p. 4125, 2017.

HERNÁNDEZ, Oscar Hernando; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, Jéssica Adriana; FLORES-GUTIÉRREZ, José Daniel. Annual fluctuations of sunlight and suicides in a region South of the Tropic of Cancer. **Biological rhythm research**, v. 49, n. 3, p. 405-411, 2018.

HONMA, Sato. The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 68, n. 3, p. 207-219, 2018.

HUT, Roelof A.; BEERSMA, Domien GM. Evolution of time-keeping mechanisms: early emergence and adaptation to photoperiod. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 366, n. 1574, p. 2141-2154, 2011.

INOKAWA, Hitoshi et al. Chronic circadian misalignment accelerates immune senescence and abbreviates lifespan in mice. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

JANKOWSKI, Konrad S.; DMITRZAK-WEGLARZ, Monika. ARNTL, CLOCK and PER3 polymorphisms—links with chronotype and affective dimensions. **Chronobiology international**, v. 34, n. 8, p. 1105-1113, 2017.

JHA, Pawan Kumar et al. Distinct feedback actions of behavioural arousal to the master circadian clock in nocturnal and diurnal mammals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2021.

JIANG, Huihui et al. PER2: a potential molecular marker for hematological malignancies. **Molecular Biology Reports**, p. 1-9, 2021.

KAWAI, Hiroshi et al. Short and long photoperiods differentially exacerbate corticosterone-induced physical and psychological symptoms in mice. **Biomedical Research**, v. 39, n. 1, p. 47-55, 2018.

KAYIPMAZ, Selvi et al. The effect of meteorological variables on suicide. **International journal of biometeorology**, v. 64, p. 1593-1598, 2020.

KENNAWAY, David J. Melatonin research in mice: a review. **Chronobiology international**, v. 36, n. 9, p. 1167-1183, 2019.

KIM, Mikyung et al. Neurobiological functions of the period circadian clock 2 gene, Per2. **Biomolecules & therapeutics**, v. 26, n. 4, p. 358, 2018.

KOCH, C. E. et al. Interaction between circadian rhythms and stress. **Neurobiology of stress**, v. 6, p. 57-67, 2017.

KRISTENSEN, Mette; NIERENBERG, Andrew A.; ØSTERGAARD, S. D. Face and predictive validity of the Clock Δ 19 mouse as an animal model for bipolar disorder: a systematic review. *Molecular psychiatry*, v. 23, n. 1, p. 70-80, 2018.

LAZZERINI OSPRI, Lorenzo; PRUSKY, Glen; HATTAR, Samer. Mood, the circadian system, and melanopsin retinal ganglion cells. *Annual review of neuroscience*, v. 40, p. 539-556, 2017.

LEE, Heon-Jeong. Circadian misalignment and bipolar disorder. **Chronobiology in Medicine**, v. 1, n. 4, p. 132-136, 2019.

LEE, Hsin-Chien; TSAI, Shang-Ying; LIN, Heng-Ching. Seasonal variations in bipolar disorder admissions and the association with climate: a population-based study. **Journal of affective disorders**, v. 97, n. 1-3, p. 61-69, 2007.

LJFFIJT, M. et al. Illness-course modulates suicidality-related prefrontal gray matter reduction in women with bipolar disorder. **Acta psychiatrica scandinavica**, v. 130, n. 5, p. 374-387, 2014.

LLANES-ÁLVAREZ, Carlos et al. Hospitalization trends and chronobiology for mental disorders in Spain from 2005 to 2015. **Chronobiology International**, v. 38, n. 2, p. 286-295, 2021.

LOGAN, Ryan Wellington; MCCLUNG, Colleen A. Animal models of bipolar mania: the past, present and future. *Neuroscience*, v. 321, p. 163-188, 2016.

LU, Da-Yong et al. *Neurobiology for human suicide*. 2021.

MARTINI, Tomaz et al. Deletion of the clock gene *Period2* (*Per2*) in glial cells alters mood-related behavior in mice. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2021.

MCCARTY, Richard et al. Enlightened: addressing circadian and seasonal changes in photoperiod in animal models of bipolar disorder. **Translational psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2021.

MCCARTY, Richard. **Stress and mental disorders: Insights from animal models**. Oxford University Press, 2020.

MELHEM, Nadine M. et al. Blunted HPA axis activity in suicide attempters compared to those at high risk for suicidal behavior. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 6, p. 1447-1456, 2016.

METZGER, Joshua et al. Seasonal Variations of Locomotor Activity Rhythms in Melatonin-Proficient and-Deficient Mice under Seminatural Outdoor Conditions. **Journal of biological rhythms**, v. 35, n. 1, p. 58-71, 2020.

MILLER, Jacob N.; BLACK, Donald W. Bipolar disorder and suicide: a review. *Current psychiatry reports*, v. 22, n. 2, p. 1-10, 2020.

MOON, Joung-Ho et al. Advanced circadian phase in mania and delayed circadian phase in mixed mania and depression returned to normal after treatment of bipolar disorder. **EBioMedicine**, v. 11, p. 285-295, 2016.

MULDER, R. T. et al. Seasonality of mania in New Zealand. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 24, n. 2, p. 187-190, 1990.

MULLER, Jeff M. et al. Serotonin transporter deficient mice are vulnerable to escape deficits following inescapable shocks. **Genes, Brain and Behavior**, v. 10, n. 2, p. 166-175, 2011.

NEJATI, Vahid; SALEHINEJAD, Mohammad Ali; NITSCHKE, Michael A. Interaction of the left dorsolateral prefrontal cortex (l-DLPFC) and right orbitofrontal cortex (OFC) in hot and cold executive functions: Evidence from transcranial direct current stimulation (tDCS).

NEUPANE, Sudan Prasad. Psychoneuroimmunology: The new frontier in suicide research. **Brain, Behavior, & Immunity-Health**, p. 100344, 2021.
Neuroscience, v. 369, p. 109-123, 2018.

NORDGÅRD, Oddmund et al. Error propagation in relative real-time reverse transcription polymerase chain reaction quantification models: the balance between accuracy and precision. **Analytical biochemistry**, v. 356, n. 2, p. 182-193, 2006.

O'ROURKE, Maria C.; JAMIL, Radia T.; SIDDIQUI, Waquar. Suicide screening and prevention. 2018.

PALAGINI, Laura et al. The key role of insomnia and sleep loss in the dysregulation of multiple systems involved in mood disorders: A proposed model. *Journal of sleep research*, v. 28, n. 6, p. e12841, 2019.

PAREKH, Puja K.; MCCLUNG, Colleen A. Circadian mechanisms underlying reward-related neurophysiology and synaptic plasticity. *Frontiers in psychiatry*, v. 6, p. 187, 2016.

PAWLAK, Joanna et al. Suicidal behavior in the context of disrupted rhythmicity in bipolar disorder—Data from an association study of suicide attempts with clock genes. **Psychiatry research**, v. 226, n. 2-3, p. 517-520, 2015.

PERROTTA, G. Suicidal risk: definition, contexts, differential diagnosis, neural correlates and clinical strategies. **J Neuroscience Neurological Surgery**, v. 6, n. 4, 2020.

- PERRY, William et al. A reverse-translational study of dysfunctional exploration in psychiatric disorders: from mice to men. *Archives of general psychiatry*, v. 66, n. 10, p. 1072-1080, 2009.
- PJREK, Edda et al. The efficacy of light therapy in the treatment of seasonal affective disorder: a meta-analysis of randomized controlled trials. ***Psychotherapy and psychosomatics***, v. 89, n. 1, p. 17-24, 2020.
- PLEMMONS, Gregory et al. Hospitalization for suicide ideation or attempt: 2008–2015. ***Pediatrics***, v. 141, n. 6, 2018.
- QUILES, Caroline Luísa et al. Biological adaptability under seasonal variation of light/dark cycles. ***Chronobiology international***, v. 33, n. 8, p. 964-971, 2016.
- ROSENTHAL, Sandra J. et al. Seasonal effects on bipolar disorder: A closer look. ***Neuroscience & Biobehavioral Reviews***, v. 115, p. 199-219, 2020.
- ROSENTHAL, Sandra J.; MCCARTY, Richard. Switching winter and summer photoperiods in an animal model of bipolar disorder. ***Neuropsychopharmacology***, v. 44, n. 10, p. 1677-1678, 2019.
- RUMBLE, Meredith E. et al. The relationship of person-specific eveningness chronotype, greater seasonality, and less rhythmicity to suicidal behavior: a literature review. ***Journal of affective disorders***, v. 227, p. 721-730, 2018.
- RUMBLE, Meredith E. et al. The relationship of person-specific eveningness chronotype, greater seasonality, and less rhythmicity to suicidal behavior: a literature review. ***Journal of affective disorders***, v. 227, p. 721-730, 2018.
- SIEMANN, Justin K. et al. Sequential photoperiodic programming of serotonin neurons, signaling and behaviors during prenatal and postnatal development. ***Frontiers in neuroscience***, v. 13, p. 459, 2019.
- SPENCER, Robert L. et al. Glucocorticoid hormones are both a major circadian signal and major stress signal: How this shared signal contributes to a dynamic relationship between the circadian and stress systems. ***Frontiers in neuroendocrinology***, v. 49, p. 52-71, 2018.
- SU, Mark K.; CHAN, Pui Ying; HOFFMAN, Robert S. The seasonality of suicide attempts: a single poison control center perspective. ***Clinical toxicology***, v. 58, n. 11, p. 1034-1041, 2020.
- SUDOL, Katherin; MANN, J. John. Biomarkers of suicide attempt behavior: towards a biological model of risk. ***Current psychiatry reports***, v. 19, n. 6, p. 31, 2017.
- SUMOVA, Alena; ILLNEROVA, Helena. Photoperiodic Modulation of Clock Gene Expression in the SCN. In: ***Neuroendocrine Clocks and Calendars***. Springer, Cham, 2020. p. 189-202.

- SUZUKI, Hisaomi et al. Suicide and microglia: Recent findings and future perspectives based on human studies. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 13, p. 31, 2019.
- TAKAESU, Yoshikazu. Circadian rhythm in bipolar disorder: a review of the literature. *Psychiatry and clinical neurosciences*, v. 72, n. 9, p. 673-682, 2018.
- TAKESHIMA, Masahiro et al. Efficacy and safety of bright light therapy for manic and depressive symptoms in patients with bipolar disorder: A systematic review and meta-analysis. **Psychiatry and clinical neurosciences**, v. 74, n. 4, p. 247-256, 2020.
- TAO, Long et al. Light therapy in non-seasonal depression: An update meta-analysis. **Psychiatry Research**, v. 291, p. 113247, 2020.
- TURECKI, Gustavo. Biological theories of suicidal behaviour. **Oxford Textbook of Suicidology and Suicide Prevention**, p. 167, 2020.
- VAN ENKHUIZEN, Jordy et al. Investigating the underlying mechanisms of aberrant behaviors in bipolar disorder from patients to models: Rodent and human studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 58, p. 4-18, 2015.
- VANDEWALLE, Gilles et al. Spectral quality of light modulates emotional brain responses in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 45, p. 19549-19554, 2010.
- VOLPE, Fernando Madalena; DEL PORTO, José Alberto. Seasonality of admissions for mania in a psychiatric hospital of Belo Horizonte, Brazil. **Journal of affective disorders**, v. 94, n. 1-3, p. 243-248, 2006.
- WALKER, William H. et al. Acute exposure to low-level light at night is sufficient to induce neurological changes and depressive-like behavior. **Molecular psychiatry**, v. 25, n. 5, p. 1080-1093, 2020.
- WANG, Baowu; CHEN, Daniel. Evidence for seasonal mania: a review. **Journal of Psychiatric Practice**®, v. 19, n. 4, p. 301-308, 2013.
- WANG, Lifei et al. Structural and functional abnormalities of amygdala and prefrontal cortex in major depressive disorder with suicide attempts. **Frontiers in psychiatry**, v. 10, p. 923, 2020.
- WICKHAM, Hadley et al. Elegant graphics for data analysis. **Media**, v. 35, n. 211, p. 10.1007, 2009.
- WILKOWSKA, Alina; SZALAŁACH, Łukasz; CUBAŁA, Wiesław J. Ketamine in Bipolar Disorder: A Review. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 16, p. 2707, 2020.
- WIRZ-JUSTICE, Anna. Seasonality in affective disorders. **General and comparative endocrinology**, v. 258, p. 244-249, 2018.

WOO, Jong-Min; OKUSAGA, Olaoluwa; POSTOLACHE, Teodor T. Seasonality of suicidal behavior. **International journal of environmental research and public health**, v. 9, n. 2, p. 531-547, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Suicide in the world: global health estimates. **World Health Organization**, 2019.

YOO, Juyoun et al. Shank mutant mice as an animal model of autism. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 369, n. 1633, p. 20130143, 2014.

YOUNG, Jared W. et al. Increased risk-taking behavior in dopamine transporter knockdown mice: further support for a mouse model of mania. **Journal of psychopharmacology**, v. 25, n. 7, p. 934-943, 2011.

YOUNG, Jared W. et al. Mice with reduced DAT levels recreate seasonal-induced switching between states in bipolar disorder. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 8, p. 1721-1731, 2018.

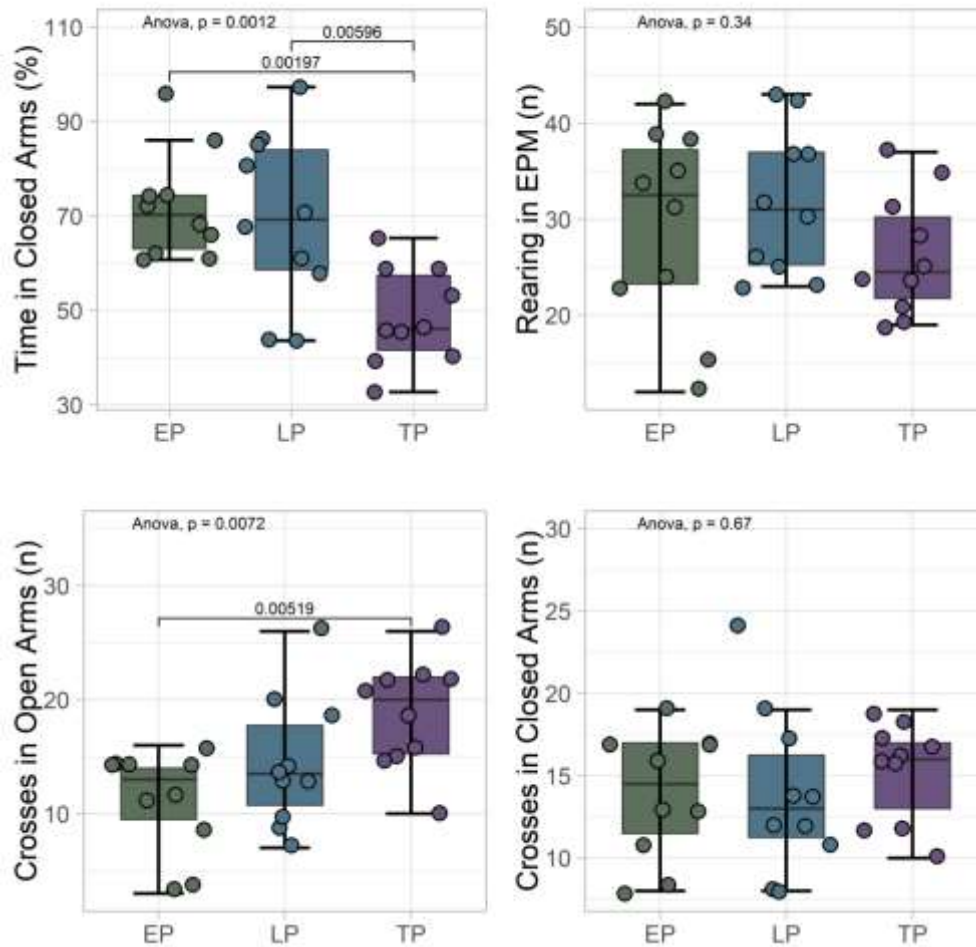
YOUNG, Jared W.; DULCIS, Davide. Investigating the mechanism (s) underlying switching between states in bipolar disorder. **European journal of pharmacology**, v. 759, p. 151-162, 2015.

ZAKI, Nevin FW et al. Chronobiological theories of mood disorder. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, v. 268, n. 2, p. 107-118, 2018.

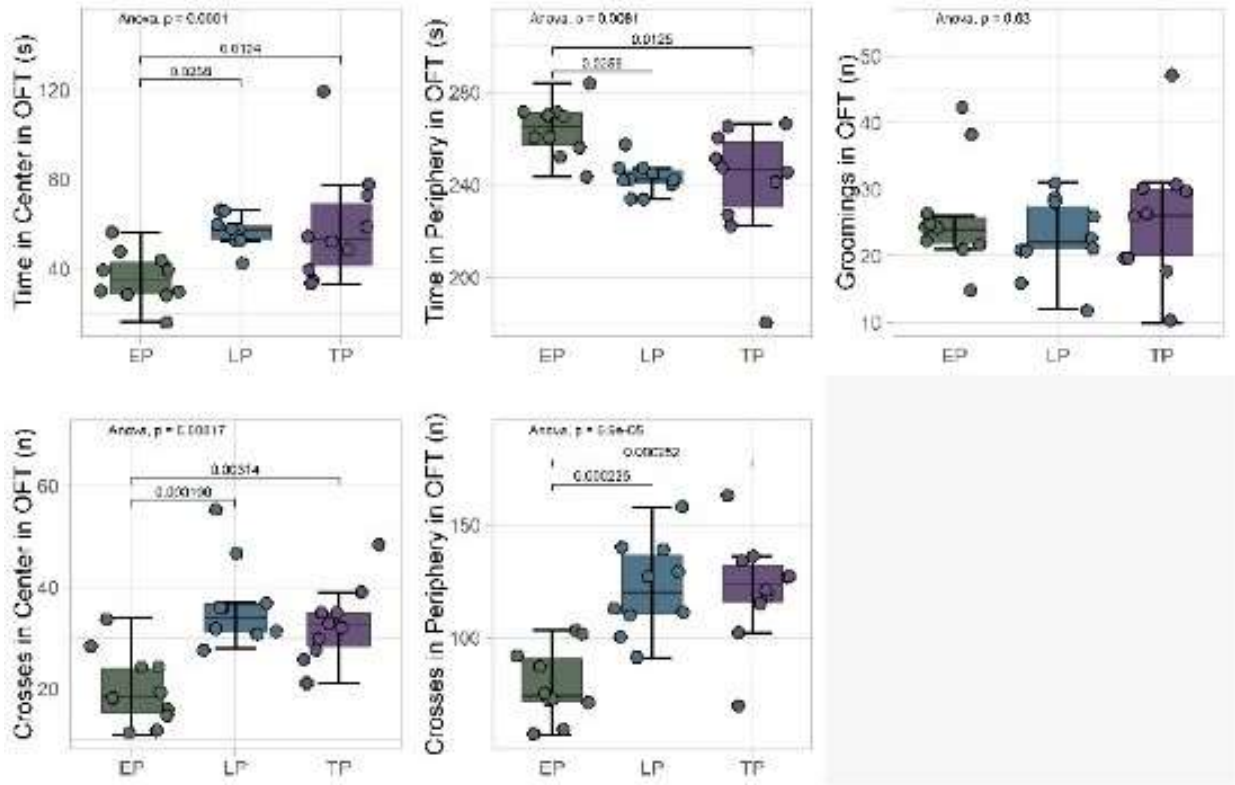
ZERBINI, Giulia; WINNEBECK, Eva C.; MERROW, Martha. Weekly, seasonal, and chronotype-dependent variation of dim-light melatonin onset. **Journal of Pineal Research**, v. 70, n. 3, p. e12723, 2021.

ZHAO, Yimeng et al. Alterations in gray matter volumes and intrinsic activity in the prefrontal cortex are associated with suicide attempts in patients with bipolar disorder. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 307, p. 111229, 2021.

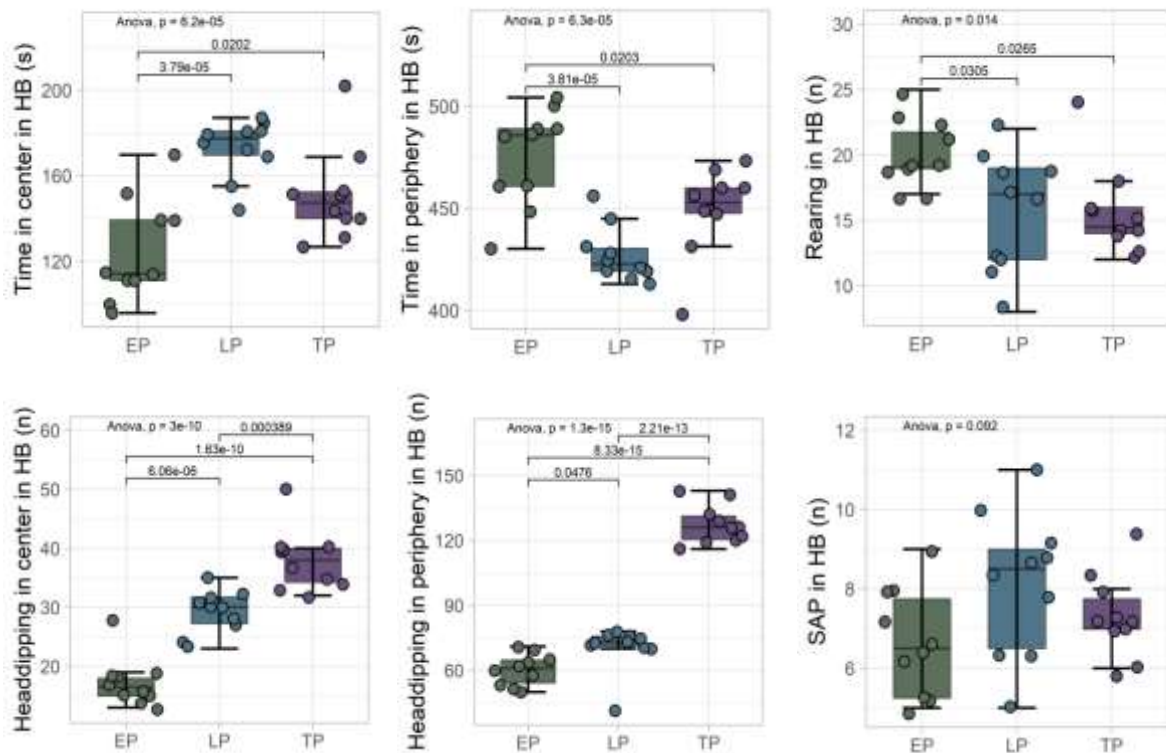
Supplementary Figure 1 - Transitional photoperiod induces more crosses in open arms and decreases the time in closed arms in the EPM. Boxplots express mean and 95% confidence intervals. The dots indicate the individual values for each animal. Statistical p values for Anova and Tukey post-hoc are shown. Brackets indicate significance for the Tukey test.



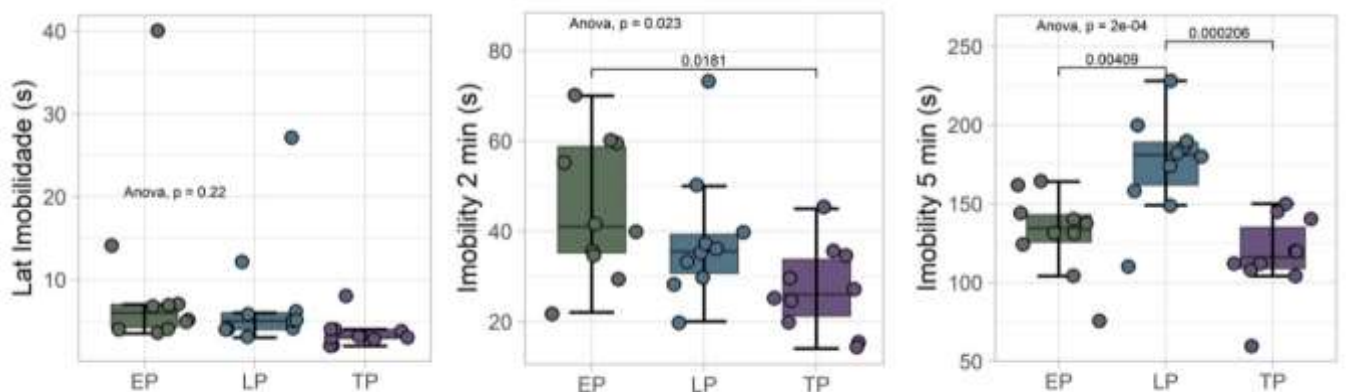
Supplementary Figure 2 - The animals submitted to Transitional photoperiod stay longer, spend more time in center, and do more crosses in center and in periphery of OFT. Boxplots express mean and 95% confidence intervals. The dots indicate the individual values for each animal. Statistical p values for Anova and Tukey post-hoc are shown. Brackets indicate significance for the Tukey test.



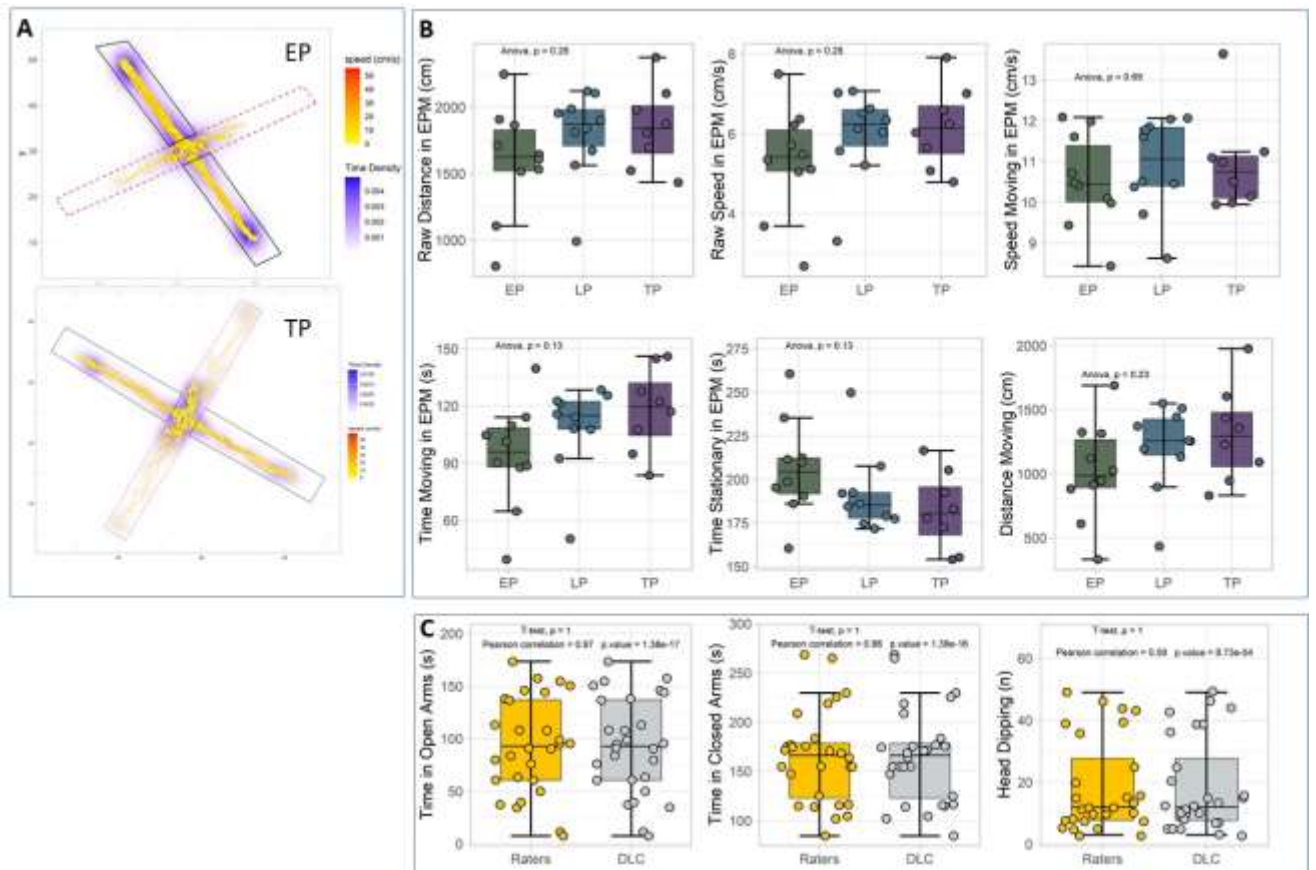
Supplementary Figure 3 - The animals submitted to Transitional photoperiod spend more time in center, and less time in the periphery in HB. They also present more head dippings in center and in periphery, independently of time in periphery, and have less rearings in HB. Boxplots express mean and 95% confidence intervals. The dots indicate the individual values for each animal. Statistical p values for Anova and Tukey post-hoc are shown. Brackets indicate significance for the Tukey test.



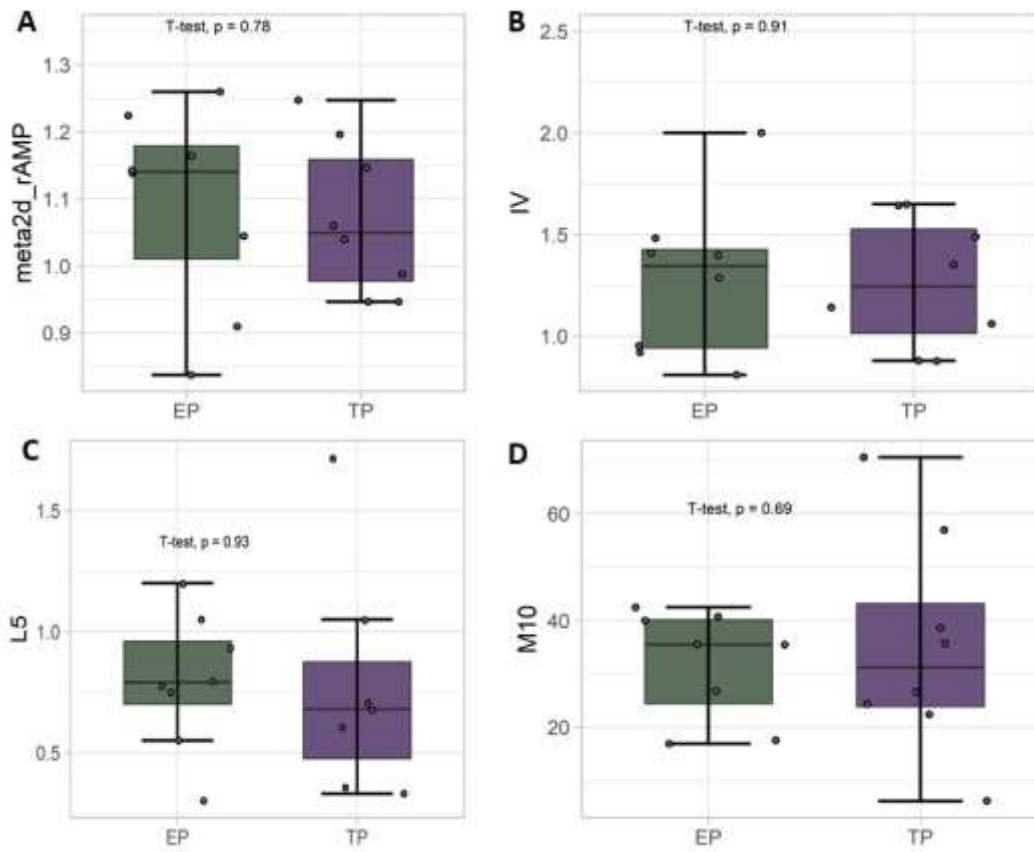
Supplementary Figure 4 - The animals submitted to Transitional photoperiod spend less time in immobility in the initial 2 minutes, and less time in the last 5 minutes. Boxplots express mean and 95% confidence intervals. The dots indicate the individual values for each animal. Statistical p values for Anova and Tukey post-hoc are shown. Brackets indicate significance for the Tukey test.



Supplementary Figure 5 - Deep learning analysis of animal behavior. A. Heatmap in EPM showing the density of time spent and locomotion speed. B - Raw distance, Raw speed, Speed moving, Time moving, Time stationary and Distance moving of the animals in EPM. C - Comparison between the readings performed by two evaluators (blindly) and the readings performed by the video tracker DeepLabCut (DLC). There is no statistical difference between the readings (Paired T-test, 95% CI).



Supplementary Figure 6 - Circadian parameters of SLA in transitional photoperiod compared to equatorial photoperiod. A- rAMP (relative Amplitude). B- Intradaily variability. C- L5 (Five hours of less activity.) D - M10 (Ten hours of more activity).



Referências da Introdução e do Referencial Teórico

- AGUGLIA, Andrea et al. The role of seasonality and photoperiod on the lethality of suicide attempts: A case-control study. **Journal of affective disorders**, v. 246, p. 895-901, 2019.
- ALBRECHT, U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. **Neuron**, v. 74, n. 2, p. 246–60, 26 abr. 2012.
- ALBRECHT, U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. **Neuron**, v. 74, n. 2, p. 246–60, 26 abr. 2012.
- ARELLANES-LICEA et al. The circadian timing system: a recent addition in the physiological mechanisms underlying pathological and aging processes. **Aging and disease**, 5(6), 406, 2014.
- ARTIOLI, Paola et al. How do genes exert their role? Period 3 gene variants and possible influences on mood disorder phenotypes. **European Neuropsychopharmacology**, v. 17, n. 9, p. 587-594, 2007.
- ASCHOFF J. Masking of circadian rhythms by Zeitgebers as opposed to entrainment. **Advanced Biosciences** 73: 149-161. 1988.
- ASCHOFF J. Response curves in circadian periodicity. In: Aschoff J, editor. **Circadian clocks**. Amsterdam: North-Holland publishing p95-111, 1965.
- ASCHOFF, J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. **Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.**, 25:11-28, 1960.
- BARBOSA, Mayara Rodrigues et al. Efeito de variações de fotoperíodo na expressão de Per2 e Bdnf no cérebro de camundongos da linhagem C57BL/6. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)** – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas . Maceió – Alagoas. 2017.
- BASNET, Syaron et al. Seasonal variations in mood and behavior associate with common chronic diseases and symptoms in a population-based study. **Psychiatry research**, v. 238, p. 181-188, 2016.
- BASSANI, Taysa B. et al. Neuroprotective and antidepressant-like effects of melatonin in a rotenone-induced Parkinson’s disease model in rats. **Brain research**, v. 1593, p. 95-105, 2014.
- BAUER, Michael et al. Association between solar insolation and a history of suicide attempts in bipolar I disorder. **Journal of psychiatric research**, v. 113, p. 1-9, 2019.
- BAVER, S. B., PICKARD, G. E., SOLLARS, P. J., & PICKARD, G. E. Two types of melanopsin retinal ganglion cell differentially innervate the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and the olivary pretectal nucleus. **European Journal of Neuroscience**, 27(7), 1763-1770. 2008.
- BAZHENOVA, Ekaterina Y. et al. Effect of photoperiodic alterations on depression-like behavior and the brain serotonin system in mice genetically different in tryptophan hydroxylase 2 activity. **Neuroscience letters**, v. 699, p. 91-96, 2019.

- BENCHIMOL, Jaime L. (Ed.). Manguinhos do sonho à vida: a ciência na Belle Époque. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2020.
- BENEDITO-SILVA, A. A.; PIRES, M. L.; CALIL, H. M. Seasonal variation of suicide in Brazil. **Chronobiol Int**, v. 24, n. 4, p. 727–737, 2007.
- BOHLEN, Tabata Mariz et al. A short-day photoperiod delays the timing of puberty in female mice via changes in the kisspeptin system. **Frontiers in endocrinology**, v. 9, p. 44, 2018.
- BORSINI, Franco; PODHORNA, Jana; MARAZZITI, Donatella. Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants?. **Psychopharmacology**, v. 163, n. 2, p. 121-141, 2002.
- BOULOS, Z.; TERMAN, M. Food availability and daily biological rhythms. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 4, n. 2, p. 119–131, 1980.
- BOWERS, Robert R. et al. Short photoperiod exposure increases adipocyte sensitivity to noradrenergic stimulation in Siberian hamsters. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 5, p. R1354-R1360, 2005.
- BRENNAN, P. J. et al. Seasonal variation in arterial blood pressure. **British medical journal (Clinical research ed.)**, v. 285, n. 6346, p. 919–923, 1982.
- BUHR, Ethan D.; TAKAHASHI, Joseph S. Molecular components of the Mammalian circadian clock. In: **Circadian clocks**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013. p. 3-27. 2013.
- BUIJS, F. N et al. The circadian system: a regulatory feedback network of periphery and brain. **Physiology**, 31(3), 170-181, 2016.
- BUIJS, R. M. et al. Chapter 20: Organization of circadian functions: interaction with the body. **Progress in Brain Research**, v. 153, n. 6, p. 341–360, 2006.
- BULLOCK, Ben; MURRAY, Greg; MEYER, Denny. Highs and lows, ups and downs: Meteorology and mood in bipolar disorder. **PLoS One**, v. 12, n. 3, p. e0173431, 2017.
- CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193-1205, 2005.
- CHAUDHARI, Nishith K. et al. Seasonal variation of suicide: A brief review. **International Journal of Medical Toxicology & Legal Medicine**, v. 21, n. 1and2, p. 20-27, 2018.
- CHELLAPPA, S. L. et al. Non-visual effects of light on melatonin, alertness and cognitive performance: can blue-enriched light keep us alert? **PloS one**, v. 6, n. 1, p. e16429, 2011.
- CHEN, S. K., BADEA, T. C., & HATTAR, S. Photoentrainment and pupillary light reflex are mediated by distinct populations of ipRGCs. **Nature**, 476(7358), 92-95. 2011.
- CHORILLI, Marlus; MICHELIN, Daniel C.; SALGADO, Hérica Regina Nunes. Animais de laboratório: o camundongo. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 1, 2007.

- CHUNG, Sooyoung et al. Cooperative roles of the suprachiasmatic nucleus central clock and the adrenal clock in controlling circadian glucocorticoid rhythm. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017.
- COIMBRA, Daniel Gomes et al. Do suicide attempts occur more frequently in the spring too? A systematic review and rhythmic analysis. **Journal of affective disorders**, v. 196, p. 125-137, 2016.
- COLWELL, CS. Vinculando a atividade neural e as oscilações moleculares no SCN. **Nature Reviews Neuroscience**, 12 (10), 553-569, 2011.
- CORIA-LUCERO, Cinthia D. et al. Rhythmic Bdnf and TrkB expression patterns in the prefrontal cortex are lost in aged rats. **Brain Research**, v. 1653, p. 51-58, 2016.
- DAAN, Serge; PITTENDRIGH, Colin S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. **Journal of comparative physiology**, v. 106, n. 3, p. 267-290, 1976.
- DALLASPEZIA, S. et al. Circadian clock gene Per3 variants influence the postpartum onset of bipolar disorder. **European psychiatry**, v. 26, n. 3, p. 138-140, 2011.
- DARK, J.; ZUCKER, I. Gonadal and photoperiodic control of seasonal body weight changes in male voles. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 247, n. 1, p. R84-R88, 1984.
- DAVIES, W. I. L.; TURTON, M.; PEIRSON, S. N.; et al. Vertebrate ancient opsin photopigment spectra and the avian photoperiodic response. **Biology letters**, v. 8, n. 2, p. 291-294, 2012.
- DEMAS, Gregory E.; BARTNESS, Timothy J. Direct innervation of white fat and adrenal medullary catecholamines mediate photoperiodic changes in body fat. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 281, n. 5, p. R1499-R1505, 2001.
- DIBNER, C., SCHIBLER, U., & ALBRECHT, U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. **Annual review of physiology**, 72, 517-549, 2010.
- DISANTO, G. et al. Seasonal distribution of psychiatric births in england. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. 7-10, 2012.
- EARNEST, David J. et al. Immortal time: circadian clock properties of rat suprachiasmatic cell lines. **Science**, v. 283, n. 5402, p. 693-695, 1999.
- ECKEL-MAHAN, Kristin; SASSONE-CORSI, Paolo. Phenotyping circadian rhythms in mice. **Current protocols in mouse biology**, v. 5, n. 3, p. 271-281, 2015.
- FELLINGER, Matthäus et al. Seasonality in bipolar disorder: Effect of sex and age. **Journal of affective disorders**, v. 243, p. 322-326, 2019.
- FERNANDEZ, D. C et al. Light affects mood and learning through distinct retina-brain pathways. **Cell**, 175(1), 71-84. 2018.

- FICO, Giovanna et al. Clinical correlates of seasonality in bipolar disorder: A specifier that needs specification?. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, 2020.
- FILE, SE, & WARDILL, AG. Validade do mergulho de cabeça como medida de exploração em um hole-board modificado. **Psychopharmacologia**, 44 (1), 53-59. 1975.
- FOSTER, R. G.; ROENNEBERG, T. Human Responses to the Geophysical Daily, Annual and Lunar Cycles. **Current Biology**, v. 18, n. 17, p. 784–794, 2008.
- FOSTER, Russell G.; HUGHES, Steven; PEIRSON, Stuart N. Circadian Photoentrainment in Mice and Humans. **Biology**, v. 9, n. 7, p. 180, 2020.
- GIAS, C. et al. Dissecting a role for melanopsin in behavioural light aversion reveals a response independent of conventional photoreception. **PloS one**, 5(11), e15009. 2010.
- GOEL, N.; LEE, T. M.; PIEPER, D. R. Removal of the olfactory bulbs delays photic reentrainment of circadian activity rhythms and modifies the reproductive axis in male *Octodon degus*. **Brain Research**, v. 792, n. 2, p. 229–236, 1998.
- GOLDMAN, Bruce D. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. **Journal of biological rhythms**, v. 16, n. 4, p. 283-301, 2001.
- GOLOMBEK, Diego A.; ROSENSTEIN, Ruth E. Physiology of circadian entrainment. **Physiological reviews**, v. 90, n. 3, p. 1063-1102, 2010.
- GORDON, D. J. et al. Seasonal cholesterol cycles: the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial placebo group. **Circulation**, v. 76, n. 6, p. 1224–1231, 1987.
- GORMAN, Michael R. Temporal organization of pineal melatonin signaling in mammals. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 503, p. 110687, 2020.
- GREEN, Noah H. et al. Photoperiod programs dorsal raphe serotonergic neurons and affective behaviors. **Current Biology**, v. 25, n. 10, p. 1389-1394, 2015.
- GUILDING, C.; PIGGINS, H. D. Challenging the omnipotence of the suprachiasmatic timekeeper: Are circadian oscillators present throughout the mammalian brain? **European Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 11, p. 3195–3216, 2007.
- GUILDING, Clare; PIGGINS, Hugh D. Challenging the omnipotence of the suprachiasmatic timekeeper: are circadian oscillators present throughout the mammalian brain?. **European Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 11, p. 3195-3216, 2007.
- GUO, H., BREWER, J. M., LEHMAN, M. N., & BITTMAN, E. L. Suprachiasmatic regulation of circadian rhythms of gene expression in hamster peripheral organs: effects of transplanting the pacemaker. **Journal of Neuroscience**, 26(24), 6406-6412, 2016.
- HALFORD, S.; PIRES, S. S.; TURTON, M.; et al. VA opsin-based photoreceptors in the hypothalamus of birds. **Current biology: CB**, v. 19, n. 16, p. 1396–1402, 2009.

HAND, R., & POLLEUX, F. Neurogenin2 regulates the initial axon guidance of cortical pyramidal neurons projecting medially to the corpus callosum. **Neural development**, 6(1), 1-16. 2011.

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**, 4(8), 649-661, 2003.

HASTINGS, Michael H.; MAYWOOD, Elizabeth S.; BRANCACCIO, Marco. The mammalian circadian timing system and the suprachiasmatic nucleus as its pacemaker. **Biology**, v. 8, n. 1, p. 13, 2019.

HATTAR, S. et al. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. **Journal of Comparative Neurology**, 497(3), 326-349. 2006.

HEERLEIN, A.; VALERIA, C.; MEDINA, B. Seasonal variation in suicidal deaths in Chile: Its relationship to latitude. **Psychopathology**, v. 39, n. 2, p. 75-79, 2006.

HELDMAIER, Gerhard et al. Photoperiodic control and effects of melatonin on nonshivering thermogenesis and brown adipose tissue. **Science**, v. 212, n. 4497, p. 917-919, 1981.

HELM, Barbara et al. Two sides of a coin: ecological and chronobiological perspectives of timing in the wild. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 372, n. 1734, p. 20160246, 2017.

HILTUNEN, Laura et al. Relationship between daylength and suicide in Finland. **Journal of circadian rhythms**, v. 9, n. 1, p. 10, 2011.

HUBBARD, J., RUPPERT, E., GROPP, C. M., & BOURGIN, P. Non-circadian direct effects of light on sleep and alertness: lessons from transgenic mouse models. **Sleep medicine reviews**, 17(6), 445-452. 2013.

IKENO, T.; WEIL, Zachary M.; NELSON, Randy J. Timing of light pulses and photoperiod on the diurnal rhythm of hippocampal neuronal morphology of Siberian hamsters. **Neuroscience**, v. 270, p. 69-75, 2014.

JETHWA, Preeti H. et al. The role of histamine 3 receptors in the control of food intake in a seasonal model of obesity: the Siberian hamster. **Behavioural pharmacology**, v. 20, n. 2, p. 155-165, 2009.

KESSLER, Ronald C. et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of general psychiatry**, v. 62, n. 6, p. 593-602, 2005.

KOMADA, Munekazu; TAKAO, Keizo; MIYAKAWA, Tsuyoshi. Elevated plus maze for mice. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 22, p. e1088, 2008.

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

- KRONFELD-SCHOR, Noga; DAYAN, Tamar. Activity patterns of rodents: the physiological ecology of biological rhythms. **Biological Rhythm Research**, v. 39, n. 3, p. 193-211, 2008.
- LAM, Raymond W.; LEVITAN, Robert D. Pathophysiology of seasonal affective disorder: a review. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 25, n. 5, p. 469, 2000.
- LAZZERINI OSPRI, Lorenzo; PRUSKY, Glen; HATTAR, Samer. Mood, the circadian system, and melanopsin retinal ganglion cells. **Annual review of neuroscience**, v. 40, p. 539-556, 2017.
- LEGATES, T. A et al. Aberrant light directly impairs mood and learning through melanopsin-expressing neurons. **Nature**, 491(7425), 594-598. 2012.
- LEWANDOWSKI, M. H.; USAREK, A. Effects of intergeniculate leaflet lesions on circadian rhythms in the mouse. **Behavioural Brain Research**, v. 128, n. 1, p. 13–17, 2002.
- LIANG, Fong-Qi; ALLEN, Gregg; EARNEST, David. Role of brain-derived neurotrophic factor in the circadian regulation of the suprachiasmatic pacemaker by light. **Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 8, p. 2978-2987, 2000.
- LISTER, Richard G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.
- LUCAS, R. J., DOUGLAS, R. H., & FOSTER, R. G. Characterization of an ocular photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. **Nature neuroscience**, 4(6), 621-626. 2001.
- MAGNUSSON, Andres. An overview of epidemiological studies on seasonal affective disorder. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 101, n. 3, p. 176-184, 2000.
- MARQUES N, MENNA-BARRETO LC. princípios e aplicações. São Paulo: **Edusp**. 2003.
- MARTINEZ, Micaela Elvira. The calendar of epidemics: Seasonal cycles of infectious diseases. **PLoS pathogens**, v. 14, n. 11, p. e1007327, 2018.
- 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.
- MERCER, Julian G. et al. Photoperiod regulates arcuate nucleus POMC, AGRP, and leptin receptor mRNA in Siberian hamster hypothalamus. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, n. 1, p. R271-R281, 2000.
- MERIKANGAS, Kathleen R. et al. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. **Archives of general psychiatry**, v. 68, n. 3, p. 241-251, 2011.
- MERROW, Martha; HARRINGTON, Mary. A functional context for heterogeneity of the circadian clock in cells. **PLoS biology**, v. 18, n. 10, p. e3000927, 2020.
- MEYER, C et al. Seasonality in human cognitive brain responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 113(11), 3066-3071, 2016.

- MILOSAVLJEVIC, N., CEHAJIC-KAPETANOVIC, J., PROCYK, C. A., & LUCAS, R. J. Chemogenetic activation of melanopsin retinal ganglion cells induces signatures of arousal and/or anxiety in mice. **Current Biology**, 26(17), 2358-2363. 2016.
- MOORE MD, R. Y. Circadian rhythms: basic neurobiology and clinical applications. **Annual review of medicine**, 48(1), 253-266, 1997.
- MOU, Xiang; PETERSON, Cynthia B.; PROSSER, Rebecca A. Tissue-type plasminogen activator-plasmin-BDNF modulate glutamate-induced phase-shifts of the mouse suprachiasmatic circadian clock in vitro. **European Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 8, p. 1451-1460, 2009.
- MROSOVSKY, N. Masking: history, definitions, and measurement. **Chronobiology international**, v. 16, n. 4, p. 415-429, 1999.
- MURE, Ludovic S. et al. Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues. **Science**, v. 359, n. 6381, 2018.
- NISHIKAWA, Satomi et al. Involvement of sex, strain and age factors in high fat diet-induced obesity in C57BL/6J and BALB/cA mice. **Experimental animals**, v. 56, n. 4, p. 263-272, 2007.
- NUMATA, Hideharu; HELM, Barbara. Annual, lunar, and tidal clocks. **Springer**, ISBN 978-4-431-55261-1 (e-book), 2014.
- OCKENE, Ira S. et al. Seasonal variation in serum cholesterol levels: treatment implications and possible mechanisms. **Archives of internal medicine**, v. 164, n. 8, p. 863-870, 2004.
- OTSUKA, Tsuyoshi et al. Photoperiodic responses of depression-like behavior, the brain serotonergic system, and peripheral metabolism in laboratory mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 40, p. 37-47, 2014.
- PANDA, S., HOGENESCH, J. B., & KAY, S. A. Circadian rhythms from flies to human. **Nature**, 417(6886), 329-335, 2002.
- PAPPAS, Andrea L. et al. Deficiency of Shank2 causes mania-like behavior that responds to mood stabilizers. **JCI insight**, v. 2, n. 20, 2017.
- PAREKH, Puja K. et al. Altered GluA1 (Gria1) function and accumbal synaptic plasticity in the Clock Δ 19 model of bipolar mania. **Biological psychiatry**, v. 84, n. 11, p. 817-826, 2018.
- 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.
- PATTON, Andrew P.; HASTINGS, Michael H. The suprachiasmatic nucleus. **Current Biology**, v. 28, n. 15, p. R816-R822, 2018.
- PELLOW, Sharon et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

- PELLOW, Sharon; FILE, Sandra E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology biochemistry and behavior**, v. 24, n. 3, p. 525-529, 1986.
- PITTENDRIGH CS, MINIS DH. The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. **The American Naturalist**. 98: 261-294, 1964.
- PITTENDRIGH, C. S. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. **Annual review of physiology**, v. 55, p. 16–54, 1993.
- PRENDERGAST, Brian J.; NELSON, Randy J. Affective responses to changes in day length in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 5, p. 438-452, 2005.
- PRESS, W. H. O.; GENEVA, Switzerland. The global burden of disease: 2004 update. **World Health Organization**, 2008.
- PYTER, Leah M.; READER, Brenda F.; NELSON, Randy J. Short photoperiods impair spatial learning and alter hippocampal dendritic morphology in adult male white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 18, p. 4521-4526, 2005.
- REFINETTI, Roberto. Compression and expansion of circadian rhythm in mice under long and short photoperiods. **Integrative Physiological & Behavioral Science**, v. 37, n. 2, p. 114-127, 2002.
- REPPERT, S. M.; WEAVER, D. R. Coordination of circadian timing in mammals. **Nature**, v. 418, n. 6901, p. 935–41, 2002.
- REUSS, Stefan; FUCHS, Eberhard. Anterograde tracing of retinal afferents to the tree shrew hypothalamus and raphe. **Brain research**, v. 874, n. 1, p. 66-74, 2000.
- RIJO-FERREIRA, Filipa; TAKAHASHI, Joseph S. Genomics of circadian rhythms in health and disease. **Genome medicine**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2019.
- ROCK, D.; GREENBERG, D.; HALLMAYER, J. Season-of-birth as a risk factor for the seasonality of suicidal behaviour. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 256, n. 2, p. 98–105, 2006.
- RODGERS, R. J. et al. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 30, p. 289-304, 1997.
- RODGERS, R. John et al. Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the rat elevated plus-maze test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 57, n. 4, p. 817-827, 1997.
- RYBAKOWSKI, Janusz K. et al. Polymorphism of circadian clock genes and temperamental dimensions of the TEMPS-A in bipolar disorder. **Journal of affective disorders**, v. 159, p. 80-84, 2014.
- SANTOS, Renata Costa, et al. "Environmental temperature as a mediator on the association between photoperiod at birth and chronotype." **Chronobiology international**, 2020.

SCHMIDT, T. M., & KOFUJI, P. Functional and morphological differences among intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. **Journal of Neuroscience**, 29(2), 476-482. 2009.

SCHMIDT, T. M., CHEN, S. K., & HATTAR, S. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. **Trends in neurosciences**, 34(11), 572-580. 2011.

SENEY, Marianne L. et al. Diurnal rhythms in gene expression in the prefrontal cortex in schizophrenia. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2019.

SHAND, J.; FOSTER, R. G. The extraretinal photoreceptors of non-mammalian vertebrates. **Adaptive Mechanisms in the Ecology of Vision**, 1999.

SILVA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, A. M.; ARAUJO, J. F. Light-dark cycle synchronization of circadian rhythm in blind primates. **Journal of circadian rhythms**, v. 3, p. 10, 2005.

SORREGOTTI, Tatiani et al. Ethopharmacological analysis of the open elevated plus-maze in mice. **Behavioural brain research**, v. 246, p. 76-85, 2013.

SOUZA, L. S. et al. Lithium and valproate prevent methylphenidate-induced mania-like behaviors in the hole board test. **Neuroscience letters**, v. 629, p. 143-148, 2016.

STERGIOU, George S. et al. Seasonal variation in blood pressure: Evidence, consensus and recommendations for clinical practice. Consensus statement by the European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring and Cardiovascular Variability. **Journal of Hypertension**, v. 38, n. 7, p. 1235-1243, 2020.

STEWART, Simon et al. Seasonal variations in cardiovascular disease. **Nature Reviews Cardiology**, v. 14, n. 11, p. 654, 2017.

VARELA, Roger B. et al. HDAC inhibitors reverse mania-like behavior and modulates epigenetic regulatory enzymes in an animal model of mania induced by Ouabain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, p. 172917, 2020.

VOLPE, Fernando Madalena et al. Further evidence of seasonality of mania in the tropics. **Journal of Affective Disorders**, v. 124, n. 1-2, p. 178-182, 2010.

WADE, GEORGE N.; BARTNESS, TIMOTHY J. Effects of photoperiod and gonadectomy on food intake, body weight, and body composition in Siberian hamsters. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 246, n. 1, p. R26-R30, 1984.

WATAD, Abdulla et al. Seasonality and Autoimmune Diseases. In: **Mosaic of Autoimmunity**. Academic Press, 2019. p. 229-234.

WEIL, Zachary M. et al. Photoperiod alters autonomic regulation of the heart. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 11, p. 4525-4530, 2009.

WIRZ-JUSTICE, Anna. Seasonality in affective disorders. **General and Comparative Endocrinology**, v. 258, p. 244-249, 2018.

YAMAZAKI, S. Resetting Central and Peripheral Circadian Oscillators in Transgenic Rats. **Science**, v. 288, n. 5466, p. 682–685, 2000.

ZHANG, Shan et al. Signalling entrains the peripheral circadian clock. **Cellular Signalling**, v. 69, p. 109433, 2020.

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. 20, n. 6, p. 1103–1110, 1998.