

# Period3: um gene relacionado com a sincronização de ritmos circadianos pela luz

*Period3: a gene related with synchronization of circadian rhythms to light*

Danyella Silva Pereira<sup>1,\*</sup>, Flavia Cal Sabino<sup>1</sup>, Guilherme Silva Umemura<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Psicobiologia, Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP

<sup>2</sup>Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, USP

Contato do autor: danyellap@gmail.com

**Resumo.** O gene Period 3 (Per3) faz parte do mecanismo de temporização dos mamíferos. Os trabalhos publicados na literatura até hoje mostram alguns resultados conflitantes em relação à função deste gene, que ainda não está totalmente esclarecida. Em humanos, o gene Per3 possui um polimorfismo de repetição provavelmente associado com mecanismos homeostáticos e circadianos do sono. Alguns estudos especulam sobre o papel deste gene e de seu polimorfismo em relação a sensibilidade à luz e já foram publicados resultados bem interessantes. Estes estudos podem trazer grandes impactos terapêuticos, ajudando no tratamento de distúrbios dos ritmos biológicos, na redução de sintomas relacionados a jet lag e a trabalhos em turno.

**Palavras-chave.** Genes do relógio; Gene Period3 (Per3); Sincronização à luz.

**Abstract.** Period3 (Per3) is a clock gene that participates in the temporal mechanism in mammals. Papers have been published showing some conflicting results related with the function of this gene, which has not been completely established. In humans, Per3 gene contains a length polymorphism which is associated with homeostatic and circadian parameters of sleep. Some studies speculate on the function of this gene and its polymorphism in the sensitivity of light and recently, rather interesting data have been presented in the literature. These studies can help to improve the treatment of rhythms disorders and help to attenuate symptoms related with jet lag and shift work.

**Keywords.** Clock genes; Period3 (Per3); Light synchronization.

Recebido 15out10

Aceito 26jul12

Publicado 27dez12

## Introdução

O sistema circadiano tem um papel na escolha do horário do sono e da vigília. Alguns ritmos são considerados marcadores circadianos, como, por exemplo, o ritmo da melatonina (também chamada “hormônio do escuro”, pois tem como função sinalizar para o organismo a presença dessa fase) e o ritmo da temperatura central (que varia diariamente, atingindo valores mínimos entre a metade e o final da noite) (Derk-Jan e Simon, 2010).

Uma série de pesquisas realizadas em animais e humanos tem demonstrado que polimorfismos nos genes relógio podem estar envolvidos com a suscetibilidade a distúrbios de ritmo e, em humanos, podem regular fenótipos circadianos, como a matutuidade e a vespertinidade (Archer et al, 2003; Carpen et al, 2006; Ebisawa et al, 2001; Katzenberg et al, 1998; Pedrazzoli et al, 2007; Pereira et al, 2005; Robilliard et al, 2002).

Dentre os inúmeros genes reguladores do relógio biológico, o gene *PER3* possui um polimorfismo de repetição específico de primatas que constitui um VNTR (número variável de repetições em sequência, em tradu-

ção livre). O número de repetições dos 54 pares de bases nitrogenadas constituintes deste polimorfismo é específico para cada espécie de primatas. Em humanos, esta repetição pode variar entre quatro e cinco vezes, levando aos pesquisadores a buscarem respostas sobre como as variáveis deste polimorfismo podem estar associadas com a ritmicidade circadiana.

Estudos publicados na literatura especializada mostram associações deste VNTR do gene *Per3* com os chamados “cronotipos” (Archer et al, 2003, Pereira e col, 2005), que são fenótipos de ritmos circadianos caracterizados pela preferência em exercer atividades em horas específicas do dia. Além da associação com os cronotipos, o VNTR do gene *PER3* parece estar associado com a Síndrome de Fase Atrasada do Sono (Archer et al, 2003, Pereira et al, 2005), que é um distúrbio no qual o episódio de sono é atrasado, levando a horários de despertar e de dormir muito mais tardios que o normal, o que pode causar no paciente um prejuízo no desempenho escolar e no trabalho.

Dentro deste contexto, esta revisão tem como foco principal o papel do gene *PER3* no relógio biológico, abor-

dando a relação do VNTR existente neste gene com os fenótipos circadianos e processos homeostáticos do sono.

### O gene *PER3* e sua participação no relógio biológico

Os genes relógio são bem conservados nas diferentes espécies. Para explicar o papel de cada um destes genes no controle do ritmo biológico em mamíferos, o seguinte mecanismo foi proposto: os genes *Clock* e *Bmal1*, são componentes positivos de uma alça de retroalimentação e codificam proteínas que, quando sintetizadas, se unem formando o heterodímero CLOCK-BMAL1. Este heterodímero regula a expressão dos componentes negativos da alça de retroalimentação, que são os genes *PER1*, *PER2*, *PER3*, *CRY1* e *CRY2*. Estes genes codificam proteínas que se multimerizam no citoplasma e são fosforiladas pelas enzimas CKIε e CKIδ. Regulados pela fosforilação, estes dímeros e heterodímeros interagem com o complexo CLOCK-BMAL1, inibindo a transcrição de seus próprios genes. Esta cascata de reações gera uma alça de retroalimentação de transcrição e tradução que dura aproximadamente 24 horas (Akiyama et al, 1999; Darlington et al, 1998; Gallego e Virshup, 2007; Gekakis et al, 1998; Lowrey et al, 2000; Sangoram et al, 1998; Shearman et al, 2000a; Yagita et al, 2000; Zylka et al, 1998) (Figura 1).

Os genes *PER1* e *PER2* expressam-se nos núcleos supraquiasmáticos (NSQs), no hipotálamo, e seus RNAs exibem ritmicidade circadiana. A expressão de ambos os genes aumenta quando os NSQs recebem um pulso de luz durante a noite subjetiva, mas não durante o dia subjetivo (Zylka et al, 1998). No entanto, segundo trabalhos publica-

dos por dois grupos independentes em um curto intervalo de tempo (Zylka et al, 1998; Takumi et al, 1998), o gene *PER3*, isolado em camundongos, não responde a pulsos de luz em nenhum horário circadiano. Os autores concluem que o gene *PER3* foi o único gene do relógio biológico testado até aquele momento que não é sensível a luz. Como nos dois trabalhos foram empregadas linhagens diferentes de camundongos (Zylka et al, 1998: C57BL/6; Takumi et al, 1998: Balb-c), pode-se supor que, a resposta do gene *PER3* a pulsos de luz independe da linhagem.

Em 2000, foi gerado o primeiro animal knockout *PER3* (KO *Per3*) (Shearman et al, 2000b) que, portanto, não expressa a proteína PER3. Foi observado um encurtamento de 30 minutos do período do ritmo endógeno ( $\tau$ ) de atividade/repouso de animais KO *Per3* da linhagem sv129, em escuro constante. Os animais KO *Per3* de outras linhagens não mostraram nenhuma diferença no tamanho de  $\tau$  quando analisados em escuro constante. Animais duplo KO (*Per1-Per3* e *Per2-Per3*) também foram desenvolvidos (Bae et al, 2001) e os animais KO *Per1-Per3* têm ritmo semelhante ao dos KO *Per1*, assim como os animais KO *Per2-Per3* têm ritmo semelhante aos KO *Per2*. Desta maneira, ambos os estudos sugeriram que o gene *Per3* não tem um papel importante nos mecanismos dos relógios biológicos que regulam a atividade locomotora. Até este momento, nenhuma evidência sobre a importância ou sobre a função do gene *PER3* no sistema de temporização circadiana tinha sido publicado.

Mais recentemente, Van der Veen e Archer (2010) analisaram animais KO *Per3* da linhagem C57Bl6 e, assim como Shearman et al (2000b), não encontraram nenhuma diferença entre o  $\tau$  do ritmo de atividade de animais sel-

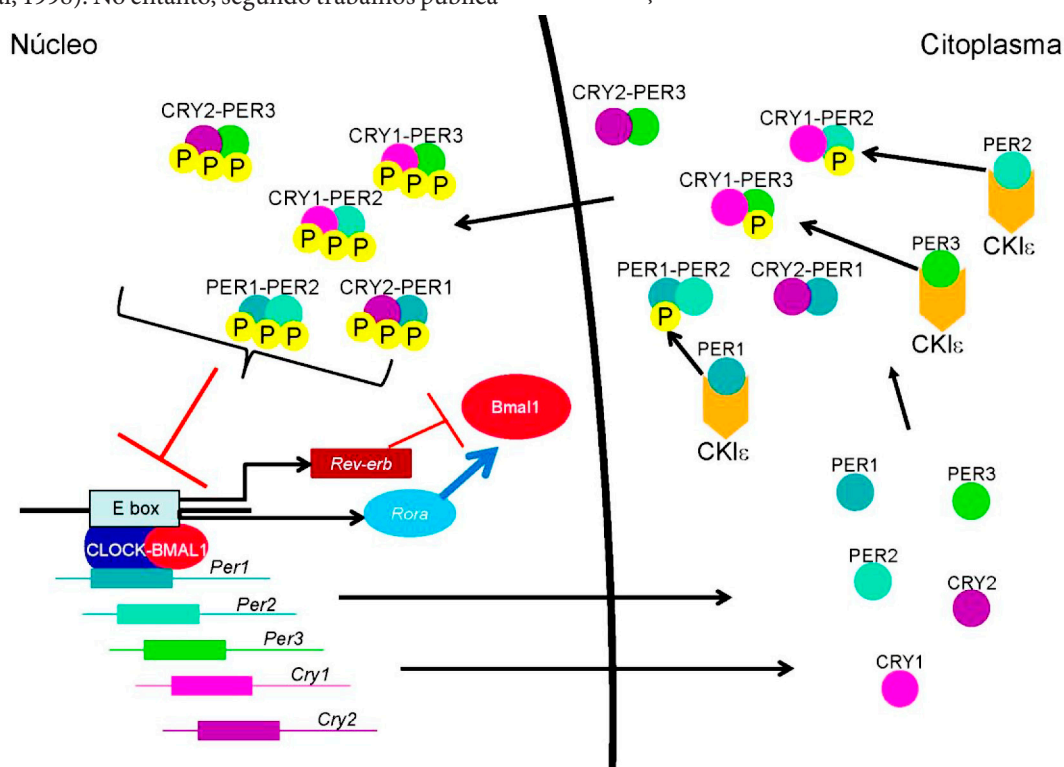


Figura 1. Representação esquemática do mecanismo molecular de temporização em uma célula hipotética. Os círculos com um P no interior são moléculas de fosfato adicionadas durante a fosforilação pela CKIε. Os símbolos ⊥ representam a inibição do heterodímero CLOCK-BMAL1 pelos dímeros formados pelas proteínas CRYs e PERs e a inibição do gene *Bmal1* pelo gene *Rev-Erb* (figura retirada de Pereira et al, 2009).

vagens e de KO *Per3* em escuro constante. Por outro lado, quando eles analisaram os animais em claro constante, o  $\tau$  do ritmo de atividade dos animais KO *Per3* foi significativamente menor que o dos animais selvagens e esta diferença está diretamente relacionada com o aumento da intensidade de luz, ficando evidente que os animais KO *Per3* são menos sensíveis à luz. Os autores sugerem que o gene *Per3* seja predominantemente dependente da luz.

Em resumo, os primeiros trabalhos publicados (Zylka et al, 1998; Takumi et al, 1998) não mostraram nenhuma diferença na fase de expressão do gene *PER3* às respostas agudas a pulsos de luz. Porém, com o passar dos anos, novas hipóteses foram sugeridas para o papel do gene *PER3* (Pereira et al, 2005; Viola et al, 2007), especificamente com seu envolvimento na resposta à luz. No entanto, os resultados publicados na literatura permanecem conflitantes.

### **Polimorfismo de repetição do gene *PER3* em humanos**

Sequências repetitivas de nucleotídeos são frequentes no genoma de eucariotos. Embora estas repetições ocorram usualmente em regiões não codificadoras de proteínas, são encontradas, mais raramente, dentro de éxons (regiões codificantes). Nas proteínas, variam desde repetições de um único aminoácido até a repetição de 100 ou mais aminoácidos (Marcotte et al, 1998). Estudos sugerem que estas variações no tamanho das repetições podem ajustar a expressão de características quantitativas nos organismos (King et al, 1997).

Em humanos, o gene *PER3* localiza-se no braço curto do cromossomo 1, e o VNTR, encontrado dentro do éxon 18 do gene, codifica 18 aminoácidos que se repetem quatro ou cinco vezes (Ebisawa et al, 2001). Na população, ocorrem três genótipos diferentes: indivíduos homocigotos para quatro repetições (*PER3*<sup>4/4</sup>: indivíduos que herdaram o alelo com a sequência repetida quatro vezes tanto do pai quanto da mãe), indivíduos homocigotos para cinco repetições (*PER3*<sup>5/5</sup>: indivíduos que herdaram ambos os alelos com a sequência repetida cinco vezes) e indivíduos heterocigotos 4/5 (*PER3*<sup>4/5</sup>: aqueles que herdaram um alelo com quatro e outro com cinco repetições).

A frequência deste polimorfismo é razoavelmente estável, sendo que aproximadamente 65% da população tem o alelo de quatro repetições e cerca de 35% da população tem o alelo de cinco repetições (Archer et al, 2003; Pereira et al, 2005). No entanto, em alguns casos específicos foi demonstrada uma variação da frequência deste polimorfismo, dependendo da etnia estudada. Na Papua Nova Guiné, cerca de 19% da população apresenta o alelo de quatro repetições, enquanto que, na Mongólia, o mesmo alelo está presente em 89% da população (Nadkarni et al, 2005). Em 2008, Ciarleglio e colaboradores analisaram a frequência do polimorfismo de repetição do gene *PER3* em diversas populações (americanos, europeus, africanos, chineses e papuásios). Nos chineses, por exemplo, a frequência do alelo de quatro repetições é muito maior do que nas outras populações estudadas. A população da Papua

Nova Guiné foi subdividida em subpopulações e em uma delas, os Gimi, o alelo de quatro repetições está presente em somente 25% dos indivíduos. Em outro estudo, foi analisada a frequência deste polimorfismo em indivíduos caucasianos e asiáticos que vivem no Brasil (os indivíduos foram classificados quanto à etnia por meio de questionário) e a frequência genotípica dos indivíduos homocigotos para o alelo de quatro repetições é muito maior nos asiáticos (74% dos indivíduos) do que nos caucasianos (47% dos indivíduos) (Barbosa et al, 2010). Estes estudos mostram a importância de se caracterizar etnicamente uma população antes de estudá-la.

Outros estudos mostraram a associação dos polimorfismos com fenótipos circadianos e homeostáticos do sono. Em 2003, Archer e colaboradores analisaram o polimorfismo de repetição do gene *PER3* em grupos de indivíduos matutinos, vespertinos e em pacientes com Síndrome de Fase Atrasada do Sono (SFAS). A SFAS é um distúrbio no qual o principal episódio de sono é atrasado, resultando em sintoma semelhante à insônia e dificuldade de levantar no horário desejado pela manhã. O estudo mostra associação do alelo de quatro repetições com a vespertinidade e do alelo de cinco repetições com a matutividade. Este estudo também mostra uma associação do alelo de quatro repetições com a SFAS.

Em 2005, Pereira e colaboradores obtiveram resultados semelhantes aos do grupo inglês (Archer et al, 2003). Foram encontradas as mesmas associações com matutividade-vespertinidade, mas quando foram analisados os pacientes com SFAS, um resultado contraditório foi encontrado: a associação do alelo oposto (cinco repetições) com a SFAS. Uma possível explicação para a diferença de resultados é a latitude onde foram realizados os estudos, pois em ambos a maioria da população analisada foi caucasiana: São Paulo, local onde foi desenvolvido o estudo no Brasil, está situado na latitude 23°32'S, enquanto que Londres está em 51°30'N. Latitudes diferentes implicam composições fotoperiódicas diferentes ao longo do ano, além de diferenças na intensidade de luz. No verão, em São Paulo, o dia mais longo dura cerca de 13,5 horas e, no inverno, a duração da fase de claro é cerca de três horas menor (10,5h). Em Londres, esta diferença é muito maior: no verão, a fase de claro é em média 16 horas e, no inverno, cerca de 8 horas. Estes resultados sugerem que provavelmente o gene *PER3* e o polimorfismo de repetição nos humanos tenham um papel importante no mecanismo de arrastamento pelo ciclo claro/escuro.

Os estudos de Archer e colaboradores (2003) e Pereira e colaboradores (2005) foram realizados em populações jovens. Em 2007, Jones e colaboradores buscaram associações do mesmo polimorfismo com a matutividade-vespertinidade em populações subdivididas pela faixa etária (18-29, 30-39, 40-49 e acima de 50 anos). Os resultados mostram que a força da associação diminui conforme a idade aumenta: em jovens, a associação do polimorfismo com a matutividade-vespertinidade é muito mais forte do que nos idosos. Levando em conta a hipótese de que o polimorfismo de repetição do gene *PER3* está relacionado com o mecanismo de sincronização à luz, a diminuição da

força de associação do polimorfismo com o aumento da idade faz sentido, uma vez que há uma atenuação da resposta ao ciclo claro/escuro com o envelhecimento e talvez o polimorfismo de repetição possa ter algum papel importante neste mecanismo (Klerman et al, 2001).

Além das associações com os fenótipos circadianos e com os distúrbios do ritmo de sono e vigília, existem também correlações do polimorfismo de repetição com algumas questões do questionário de matutinitade-vespertinidade de Horne e Ostberg (1976). Uma questão sobre a necessidade de o indivíduo usar o despertador pela manhã mostrou uma clara distinção entre os três genótipos – indivíduos *PER3<sup>4/4</sup>* têm maior necessidade de usar o despertador do que indivíduos *PER3<sup>4/5</sup>*, e indivíduos *PER3<sup>5/5</sup>* são os mais independentes do despertador para acordar pela manhã. Em relação ao horário em que os indivíduos preferem dormir, os indivíduos *PeER3<sup>4/5</sup>* preferem dormir mais tarde do que os *PER3<sup>5/5</sup>*. Os indivíduos com o genótipo *PER3<sup>5/5</sup>* também preferem fazer exercícios mais cedo e realizar tarefas mentalmente exaustivas mais cedo do que os *PER3<sup>4/4</sup>*. E por fim, na última questão do questionário, questão na qual os indivíduos têm a liberdade de se autot classificar em matutinos ou vespertinos, novamente os indivíduos do genótipo *PER3<sup>5/5</sup>* mostram uma forte preferência pela matutinitade (Ellis et al, 2009). Os resultados fortalecem estudos publicados anteriormente (Archer et al, 2003; Pereira et al, 2005), sugerindo uma associação do alelo de cinco repetições com a matutinitade e do alelo de quatro repetições com a vespertinidade.

Além destas associações, foi demonstrado em 2008 por Archer e colaboradores que a acrofase (momento em que ocorre o pico da oscilação) de expressão do gene *PER3* acontece durante o sono do indivíduo. Esta associação foi mais forte em indivíduos *PER3<sup>5/5</sup>* do que em indivíduos *PER3<sup>4/4</sup>*. Os autores sugerem que os indivíduos *PER3<sup>5/5</sup>* sejam mais estáveis e rígidos em relação aos horários de dormir e acordar.

O polimorfismo de repetição também já foi associado com mecanismos homeostáticos do sono. Em 2007, Viola e colaboradores analisaram 24 sujeitos saudáveis selecionados pelo genótipo do gene *PER3* (*PER3<sup>4/4</sup>* e *PER3<sup>5/5</sup>*). Os indivíduos foram mantidos em condições constantes de laboratório, sob iluminação atenuada (intensidade < 5 lux), mantidos em cama, numa posição semi-inclinada e monitorados durante 40 horas de privação de sono. Nenhuma diferença foi encontrada em relação aos padrões de expressão do gene *PER3*, de secreção de melatonina e de cortisol entre os indivíduos homocigotos *PER3<sup>4/4</sup>* e *PER3<sup>5/5</sup>*. Em relação à estrutura do sono e aos marcadores homeostáticos do sono, algumas diferenças foram encontradas: indivíduos *PER3<sup>5/5</sup>* caem no sono mais rápido (têm uma menor latência do sono) e permanecem mais tempo em sono de ondas lentas (um marcador homeostático bem conhecido) do que os indivíduos *PER3<sup>4/4</sup>*. Foram encontradas também algumas diferenças no padrão de ondas do eletroencefalograma durante o sono paradoxal (sono REM) e a vigília, mostrando que o polimorfismo do gene *PER3* afeta a homeostase do sono nos três estados: vigília, sono de ondas lentas e sono REM. De maneira geral, os re-

sultados sugerem que os indivíduos *Per3<sup>5/5</sup>* vivem sob alta pressão de sono. Após a privação de sono, foi observado também um pior desempenho cognitivo dos indivíduos *PER3<sup>5/5</sup>* do que dos indivíduos *PER3<sup>4/4</sup>*. De maneira geral, os resultados deste trabalho sugerem que o polimorfismo de repetição do gene *PER3* afeta o padrão homeostático na regulação do sono.

Em 2009, Goel e colaboradores selecionaram indivíduos pelos genótipos do gene *PeER3* e analisaram o padrão de sono e as respostas neurocomportamentais. Os indivíduos foram submetidos à privação parcial e crônica de sono (os indivíduos podiam dormir quatro horas por dia durante cinco dias). Ao contrário do trabalho de Viola e colaboradores (2007), nenhuma diferença foi encontrada no desempenho cognitivo dos sujeitos após privação de sono. Somente o sono de ondas lentas, mostrou diferenças significativas entre os genótipos. Os pesquisadores sugerem que provavelmente outros genes, e não o *PER3*, devem estar envolvidos com as respostas neurocomportamentais na privação parcial e crônica de sono.

Pesquisas realizadas com seres humanos sugerem que o polimorfismo de repetição do gene *PER3* está relacionado com mecanismos homeostáticos de sono e também com a resposta à luz ambiental. Ainda não foi possível desvendar o papel exato do polimorfismo de repetição do gene *PER3* em relação ao arrastamento pelo ciclo claro/escuro, mas, aos poucos, os estudos estão mostrando fortes evidências que, de alguma maneira, o gene *PER3* está relacionado à sensibilidade à luz.

## O gene *Per3* em primatas não humanos

Visto que, em humanos, o gene *PER3* possui repetições numa região exônica associada aos fenótipos circadianos e homeostáticos do sono, seria interessante obter um modelo animal para testar as hipóteses sugeridas e desvendar o papel do gene *PER3* na resposta à luz. Interessantemente, a análise de bancos de dados do genoma de camundongos e ratos mostra que a região repetitiva não existe no gene *PER3* destes animais.

No entanto, Jenkins et al (2005) analisaram o polimorfismo de repetição do gene *PER3* em diferentes espécies de primatas (somente em um animal de cada espécie) e encontraram quatro repetições no gibão e no chimpanzé, três repetições no langur, sete repetições no sagui e três ou quatro repetições no gorila (Tabela 1). Em 2009 (dados não publicados pelo nosso grupo, DS Pereira, e M Pedrazzoli, em colaboração com M Von Schantz e SN Archer, Inglaterra), foram analisados 42 chimpanzés na tentativa de detectar um polimorfismo na região repetitiva, no entanto, todos os animais estudados eram homocigotos para o alelo de quatro repetições (Tabela 1).

Sabino (2010) analisou a repetição do gene *PER3* em diversas espécies de primatas. Uma espécie chamada popularmente de “sagui de cara suja” apresenta um polimorfismo nesta região (10 ou 11 repetições de 54 pb). De maneira geral, os macacos do novo mundo (Platirrinos) mostram uma diversidade bastante grande no tamanho das repetições: existem animais com somente duas e ou-



tros com 11 repetições. Nos macacos do velho mundo e grandes macacos (Catarrinos), a variação da repetição é bem menor: entre três e cinco repetições nesta região do gene *PER3* (Tabela 1).

Primates noturnos, de maneira geral, não possuem a repetição no gene *PER3*, exceto o macaco-da-noite analisado por Sabino (2010), que apresenta o menor número de repetições encontradas (somente duas). Este fato mais uma vez sugere o envolvimento do gene *PER3* com a sen-

Tabela 1. VNTR do gene *PER3* em diferentes espécies de primatas. Dados obtidos por Jenkis e colaboradores (2005) e Sabino (2010).

Espécies	Nº de repetições
<i>A. infulatus</i> (macaco-da-noite)	2
<i>S. fuscicollis</i> (sagui-de-cara-suja)	10 ou 11
<i>C. aethiops</i> (macaco verde africano)	3
<i>M. mulatta</i> (rhesus)	3
<i>S. entellus</i> (langur)	3
<i>L. lagothericha</i> (macaco-barrigudo)	3
<i>S. midas</i> (sagui-uma)	3
<i>G. gorilla</i> (gorila)	3 ou 4
<i>H. lar</i> (gibão)	4
<i>P. troglodites</i> (chimpanzé)	4
<i>Alouatta sp.</i> (bugio)	4
<i>A. paniscus</i> (macaco-aranha)	4
<i>S. sciurus</i> (macaco-de-cheiro)	4
<i>S. imperator</i> (sagui-imperador)	5
<i>C. Goeldi</i> (sagui-de-Goeldi)	6
<i>C. geoffroy</i> (sagui-de-cara-branca)	7
<i>C. jacchus</i> (sagui comum)	7

sibilidade à luz.

## Considerações finais e conclusão

Diante dos fatos expostos, pode-se afirmar que o gene *PER3* possui um importante papel no estabelecimento de fenótipos circadianos e nos distúrbios de ritmo, além de estar relacionado com a regulação homeostática do sono, mas o mecanismo pelo qual sua função estabelece estes fenótipos e processos ainda não está bem esclarecido. Também não se sabe o mecanismo pelo qual o papel do polimorfismo de quatro ou cinco repetições no gene *PER3* humano se estabelece e como se dá, exatamente, a participação deste gene na SFAS.

Os resultados publicados por Pereira e colaboradores (2005) e Van Der Veen & Archer (2010) levam à suposição que, de alguma maneira, o gene *PER3* tem um papel na sincronização pelo ciclo claro/escuro ambiental. Esclarecimentos do papel deste gene e de seus poliformismos poderão ter grandes impactos terapêuticos, ajudando no tratamento de distúrbios temporais provocados pelo *jet lag* ou pelo trabalho em turnos.

## Agradecimentos

Agradecemos a FAPESP (Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo), a AFIP (Associação Fundo de Incentivo a Psicofarmacologia) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro nos estudos desenvolvido por nós, que foram citados no texto. Agradecemos também ao Parque Zoológico de São Paulo, SP, e ao CENP (Centro Nacional de Primatas) pelo apoio no desenvolvimento do trabalho dos primatas (FCS, 2010).

## Contribuição dos autores

Redação do artigo: Danyella Silva Pereira, Flavia Cal Sabino e Guilherme Silva Umemura. Figura: Danyella Silva Pereira. Tabela: Flavia Cal Sabino.

## Referências

- Akiyama M, Kouzu Y, Takahashi S, Wakamatsu H, Moriya T, Maetani M, Watanabe S, Tei H, Sakaki Y, Shibata S (1999). Inhibition of light- or glutamate-induced *mPer1* expression represses the phase shifts into the mouse circadian locomotor and suprachiasmatic firing rhythms. *J Neurosci*, 19(3): 1115-1121.
- Archer SN, Robilliard DL, Skene DJ, Smits M, Williams A, Arendt J, von Schantz M (2003). A length polymorphism in the circadian clock gene *Per3* is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference. *Sleep*, 26(4): 413-415.
- Archer SN, Viola AU, Kyriakopoulou V, von Schantz M, Dijk DJ (2008). Inter-individual differences in habitual sleep timing and entrained phase of endogenous circadian rhythms of *BMAL1*, *PER2* and *PER3* mRNA in human leukocytes. *Sleep*, 31(5): 608-617.
- Bae K, Jin X, Maywood ES, Hastings MH, Reppert SM, Weaver DR (2001). Differential functions of *mPer1*, *mPer2*, and *mPer3* in the SCN circadian clock. *Neuron*, 30(2): 525-536.
- Barbosa AA, Pedrazzoli M, Koike BD, Tufik S (2010). Do Caucasian and Asian clocks tick differently? *Braz J Med Biol Res*, 43(1):96-9.
- Carpen JD, von Schantz M, Smits M, Skene DJ, Archer SN (2006). A silent polymorphism in the *Per1* gene associates with extreme diurnal preference in humans. *J Hum Genet*, 51(12): 1122-1125.
- Ciarleglio CM, Ryckman KK, Servick SV, Hida A, Robbins S, Wells N, Hicks J, Larson SA, Wiedermann JP, Carver K, Hamilton N, Kidd KK, Kidd JR, Smith JR, Friedlaender J, McMahon DG, Williams SM, Summar ML, Johnson CH (2008). Genetic differences in human circadian clock genes among worldwide populations. *J Biol Rhythms*, 23(4): 330-340.
- Darlington TK, Wager-Smith K, Ceriani MF, Staknis D, Gekakis N, Steeves TD, Weitz CJ, Takahashi JS, Kay SA (1998). Closing the circadian loop: *CLOCK*-induced transcription of its own inhibitors *per* and *tim*. *Science*, 280(5369): 1599-1603.
- Derk-Jan D, Simon NA (2010). *PERIOD3*, circadian phenotypes, and sleep homeostasis. *Sleep Medicine Reviews*, 14(1): 151-160.
- Ebisawa T, Uchiyama M, Kajimura N, Mishima K, Kamei Y,

- Kato M, Watanabe T, Sekimoto M, Shibui K, Kim K, Kudo Y, Ozeki Y, Sugishita M, Toyoshima R, Inoue Y, Yamada N, Nagase T, Ozaki N, Ohara O, Ishida N, Okawa M, Takahashi K, Yamauchi T (2001). Association of structural polymorphisms in the human *period3* gene with delayed sleep phase syndrome. *EMBO Rep*, 2(4): 342-346.
- Ellis J, von Schantz M, Jones KH, Archer SN (2009). Association between specific diurnal preference questionnaire items and PER3 VNTR genotype. *Chronobiol Int*, 26(3): 464-473.
- Gallego M, Virshup DM (2007). Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8(2): 139-148.
- Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, Takahashi JS, Weitz CJ (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science*, 280(5369): 1564-1569.
- Goel N, Banks S, Mignot E, Dinges DF (2009). PER3 polymorphism predicts cumulative sleep homeostatic but not neurobehavioral changes to chronic partial sleep deprivation. *PLoS One*, 4(6):e5874.
- Horne JA, Ostberg O (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol*, 4 (2): 97-110.
- Jenkins A, Archer SN, von Schantz M (2005). Expansion during primate radiation of a variable number tandem repeat in the coding region of the circadian clock gene *period3*. *J Biol Rhythms*, 20(5): 470-472.
- Jones HH, Ellis J, Von Schantz M, Skene DJ, Dijk DJ, Archer SN. (2007) Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities. *J Sleep Res*, 16 (1): 12-16.
- Katzenberg D, Young T, Finn L, Lin L, King DP, Takahashi JS, Mignot E (1998). A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep*, 21(6): 569-576.
- King, DG, Soller M, Kashi Y (1997). Evolutionary tuning knobs. *Endeavour*, 21(1): 36-40.
- Klerman EB, Duffy JF, Dijk DJ, Czeisler CA (2001). Circadian phase resetting in older people by ocular bright light exposure. *J Investig Med*, 49:30-40.
- Marcotte ER, Chugh A, Mishra RK, Johnson RL (1998). Protection against MPTP treatment by an analog of Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> (PLG, MIF-1). *Peptides*, 19(2): 403-406.
- Nadkarni NA, Weale ME, von Schantz M, Thomas MG (2005). Evolution of a length polymorphism in the human *Per3* gene, a component of the circadian system. *J Biol Rhythms*, 20(6): 490-499.
- Pedrazzoli M, Louzada FM, Pereira DS, Benedito-Silva AA, Lopez AR, Martynhak BJ, Korczak AL, Koike Bdel V, Barbosa AA, D'Almeida V, Tufik S (2007). Clock polymorphisms and circadian rhythms phenotypes in a sample of the Brazilian population. *Chronobiol Int*, 24(1):1-8.
- Pereira DS, Tufik S, Louzada FM, Benedito-Silva AA, Lopez AR, Lemos NA, Korczak AL, D'Almeida V, Pedrazzoli M (2005). Association of the length polymorphism in the human *Per3* gene with the delayed sleep-phase syndrome: does latitude have an influence upon it? *Sleep*, 28(1):29-32.
- Pereira DS, Tufik S, Pedrazzoli M (2009). Timekeeping molecules: implications for circadian phenotypes. *Rev Bras Psiquiatr*, 31(1):63-71. Review. Portuguese.
- Robilliard DL, Archer SN, Arendt J, Lockley SW, Hack LM, English J, Leger D, Smits MG, Williams A, Skene DJ, Von Schantz M (2002). The 3111 Clock gene polymorphism is not associated with sleep and circadian rhythmicity in phenotypically characterized human subjects. *J Sleep Res*, 11(4): 305-312.
- Sabino FC. (2010). Caracterização molecular do gene *Per3* em primatas: foco no sagüi (*Callithrix jacchus*). São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina.
- Shearman LP, Sriram S, Weaver DR, Maywood ES, Chaves I, Zheng B, Kume K, Lee CC, van der Horst GT, Hastings MH, Reppert SM (2000a). Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science*, 288(5468): 1013-1019.
- Shearman LP, Jin X, Lee C, Reppert SM, Weaver DR (2000b). Targeted disruption of the *mPer3* gene: subtle effects on circadian clock function. *Mol Cell Biol*, 20(17): 6269-6275.
- Stratmann M, Schibler U (2006). Properties, entrainment, and physiological functions of mammalian peripheral oscillators. *J Biol Rhythms*, 21(6): 494-506. Review.
- Takumi T, Taguchi K, Miyake S, Sakakida Y, Takashima N, Matsubara C, Maebayashi Y, Okumura K, Takekida S, Yamamoto S, Yagita K, Yan L, Young MW, Okamura H (1998). A light-independent oscillatory gene *mPer3* in mouse SCN and OVL. *EMBO J*, 17(16): 4753-4759.
- Van Der Veen DR, Archer SN (2010). Light-dependent behavioral phenotypes in PER3-deficient mice. *J Biol Rhythms*, 25(1): 3-8. Erratum in: *J Biol Rhythms*, 25(2): 150, 2010.
- Viola AU, Archer SN, James LM, Groeger JA, Lo JC, Skene DJ, von Schantz M, Dijk DJ (2007). *Per3* polymorphism predicts sleep structure and waking performance. *Curr Biol*, 17(7): 613-618.
- Yagita K, Yamaguchi S, Tamanini F, van Der Horst GT, Hoeijmakers JH, Yasui A, Loros JJ, Dunlap JC, Okamura H (2000). Dimerization and nuclear entry of mPER proteins in mammalian cells. *Genes Dev*, 14(11): 1353-1363.
- Zylka MJ, Shearman LP, Weaver DR, Reppert SM (1998). Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron*, 20(6): 1103-1110.