



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ- REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**FRANCISCO VICTOR COSTA MARINHO**

**OS POLIMORFISMOS *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) E *SLC6A3* INTRON 8  
VNTR (rs3836790) ESTÃO ASSOCIADOS COM A PREDOMINÂNCIA DO CÓRTEX  
FRONTAL ESQUERDO E DESEMPENHO NA TAREFA DE ESTIMATIVA DO  
INTERVALO DE TEMPO: UM ESTUDO EM HOMENS DO NORDESTE  
BRASILEIRO.**

PARNAÍBA-PI

2017

**FRANCISCO VICTOR COSTA MARINHO**

OS POLIMORFISMOS *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) E *SLC6A3* INTRON 8 VNTR (rs3836790) ESTÃO ASSOCIADOS COM A PREDOMINÂNCIA DO CÓRTEX FRONTAL ESQUERDO E DESEMPENHO NA TAREFA DE ESTIMATIVA DO INTERVALO DE TEMPO: UM ESTUDO EM HOMENS DO NORDESTE BRASILEIRO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Linha de Pesquisa: Farmacologia molecular aplicada à Biotecnologia.

**Orientador:** Silmar Silva Teixeira

**Coorientador:** Giovanny Rebouças Pinto

PARNAÍBA-PI

2017

FRANCISCO VICTOR COSTA MARINHO

OS POLIMORFISMOS *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) E *SLC6A3* INTRON 8 VNTR (rs3836790) ESTÃO ASSOCIADOS COM A PREDOMINÂNCIA DO CÓRTEX FRONTAL ESQUERDO E DESEMPENHO NA TAREFA DE ESTIMATIVA DO INTERVALO DE TEMPO: UM ESTUDO EM HOMENS DO NORDESTE BRASILEIRO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em: 09/03/2017

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Silmar Silva Teixeira

Universidade Federal do Piauí (Orientador)



Prof. Dr. Giovanni Rebouças Pinto

Universidade Federal do Piauí (Coorientador)



Prof. Dr. Victor Hugo do Vale Bastos

Universidade Federal do Piauí



Prof. Dra. Juliana Bittencourt Marques

Universidade Federal do Rio de Janeiro

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba  
Serviço de Processamento Técnico

M338p Marinho, Francisco Victor Costa.

Os polimorfismos SLC6A3 3'-UTR VNTR (rs28363170) e SLC6A3 INTRON 8 VNTR (rs3836790) estão associados com a predominância do córtex frontal esquerdo e desempenho na tarefa de estimativa do intervalo de tempo: um estudo em homens do nordeste brasileiro [manuscrito] / Francisco Victor Costa Marinho. – 2017.  
72 f.: il. color.

Impresso por computador (printout).  
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Silmar Silva Teixeira.  
Coorientador: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto.  
Linha de Pesquisa: Farmacologia molecular aplicada à Biotecnologia.

1. Biotecnologia. 2. Tempo. 3. SLC6A3. 4. Dopamina. 5. Assimetria. 6. Banda Alfa. 7. Córtex Pré-Frontal. I. Título.

CDD: 660.6

## RESUMO

**Objetivo:** Investigações eletrofisiológicas em relação à função cerebral são fortemente influenciadas pela arquitetura genética. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar como os polimorfismos funcionais *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) influenciam a assimetria no córtex frontal durante uma tarefa de estimativa do tempo. **Material e métodos:** Cento e sete homens destros (18-32 anos), discentes da Universidade Federal do Piauí participaram do experimento. Os polimorfismos relacionados a atividade do transportador de dopamina, tais como *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) foram associados ao desempenho em tarefa de estimativa do tempo na faixa de supra segundos (intervalos de tempo com duração de 1s, 4s, 7s e 9s). Concomitantemente, a análise da percepção do tempo foi verificada o padrão assimétrico cortical em função da capacidade perceptiva dos participantes, por meio da assimetria das oscilações da banda alfa no córtex frontal. ANOVAs de um fator foram realizadas para verificar as diferenças entre os genótipos dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) em dados de assimetria (Fp1-Fp2, F3-F4 e F7-F8). Para a análise do EA e do ER foi realizado uma ANOVA de dois fatores com o fator grupo (*SLC6A3* 3'-UTR VNTR e *SLC6A3* Intron 8 VNTR) e o fator tempo (1, 4, 7, 9 segundos). Para testar uma predição significativa entre os genótipo dos polimorfismos de *SLC6A3* na variável comportamental de estimativa do tempo, modelos de regressão foram analisados. **Resultados:** Foi encontrado efeito de subestimação e superestimação entre o polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) e os intervalos de tempo de 1 e 9 segundos ( $p < 0,001$ ), além de associação dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) com a assimetria a esquerda do córtex frontal. **Conclusão:** Os achados do presente estudo indicam que os polimorfismos do transportador de dopamina podem modular a interpretação dos intervalos de tempo em nível de supra segundos. Desse modo, o presente estudo sustenta que há influência genética na capacidade de interpretação de intervalos de tempo.

**Palavras-chave:** Estimativa do tempo, *SLC6A3*, dopamina, assimetria, banda alfa, córtex pré-frontal.

## Abstract

**Objective:** Electrophysiological investigations regarding brain function are strongly influenced by the genetic architecture. Thus, the objective of this study was to investigate how the functional polymorphisms *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) and *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) influence asymmetry in the frontal cortex during a time estimation task. **Material and methods:** One hundred and seven right-handed men (18-32 years old), students from the Federal University of Piauí participated in the experiment. Polymorphisms related to dopamine transporter activity, such as *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) and *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) were associated with performance in a task of time estimation in the range of seconds (time intervals with duration Of 1s, 4s, 7s and 9s). Concomitantly, the analysis of the time perception was verified the asymmetric cortical pattern as a function of the participants' perceptive ability, through the asymmetry of the oscillations of the alpha band in the frontal cortex. One-way ANOVAs were performed to verify the differences between genotypes of *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) and *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) polymorphisms in asymmetry data (Fp1-Fp2, F3-F4 and F7-F8). A two-factor ANOVA with the group factor (*SLC6A3* 3'-UTR VNTR and *SLC6A3* Intron 8 VNTR) and time factor (1, 4, 7, 9 seconds) were performed for EA and ER analysis. To test a significant prediction among the genotypes of the *SLC6A3* polymorphisms in the behavioral variable of time estimation, regression models were analyzed. **Results:** Underestimation and overestimation were found between the *SLC6A3* Intron 8 VNTR polymorphism (rs3836790) and the time intervals of 1 and 9 seconds ( $p < 0.001$ ), in addition to the association of *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) and *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) polymorphisms with the left asymmetry of the frontal cortex. **Conclusion:** The findings of the present study indicate that dopamine transporter polymorphisms can modulate the interpretation of time intervals at supra second level. Thus, the present study maintains that there is genetic influence on the ability to interpret time intervals.

**Keywords:** Time estimation, *SLC6A3*, Dopamine, Asymmetry, Alpha band, Prefrontal cortex.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Atuação da dopamina nos domínios de tempo de milissegundos a horas.....	21
<b>Figura 2</b> – A expressão genética do sistema dopaminérgico em mecanismos perceptivos.....	28
<b>Figura 3</b> – Tarefa de estimativa do tempo.....	32
<b>Figura 4</b> – Padrão de bandas esperados para o polimorfismo <i>SLC6A3</i> 3'-UTR VNTR (rs28363170).....	36
<b>Figura 5</b> – Padrão de bandas esperados para o polimorfismo <i>SLC6A3</i> Intron 8 VNTR (rs3836790).....	38
<b>Figura 6</b> – Erro absoluto dos participantes durante a tarefa de estimativa do tempo, representados pela média e desvio padrão.....	41
<b>Figura 7</b> – Erro relativo dos participantes durante a tarefa de estimativa do tempo, representados pela média e desvio padrão.....	42
<b>Figura 8</b> – Assimetria da banda alfa no córtex pré-frontal anterior, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex pré-frontal ventrolateral. Representação com a média $\pm$ erro padrão para os genótipos do polimorfismo <i>SLC6A3</i> 3'-UTR VNTR (rs28363170).....	44
<b>Figura 9</b> – Assimetria da banda alfa no córtex pré-frontal anterior, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex pré-frontal ventrolateral. Representação com a média $\pm$ erro padrão para os genótipos do polimorfismo <i>SLC6A3</i> Intron 8 VNTR (rs3836790).....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01:</b> Programa para amplificação do polimorfismo <i>SLC6A3</i> 3'-UTR VNTR (rs28363170).....	36
<b>Tabela 02:</b> Programa para amplificação do polimorfismo <i>SLC6A3</i> Intron 8 VNTR (rs3836790).....	37
<b>Tabela 03:</b> Distribuição das frequências genóticas e alélicas dos polimorfismos do gene <i>SLC6A3</i> .....	40
<b>Tabela 04:</b> Modelo de regressão para o erro absoluto (EA) e erro relativo (ER) em função dos genótipos do polimorfismo <i>SLC6A3</i> 3'-UTR VNTR (rs28363170).....	43
<b>Tabela 05:</b> Modelo de regressão para o erro absoluto (EA) e erro relativo (ER) em função dos genótipos do polimorfismo <i>SLC6A3</i> Intron 8 VNTR (rs3836790).....	43



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACI	Análise de componentes independentes
ANBIO	Associação Nacional de Biossegurança
CFM	Córtex frontal medial
CPF	Córtex pré-frontal
CPP	Córtex parietal posterior
DAT	Transportador de dopamina
DPE	Densidade de potência espectral
EA	Erro absoluto
EEG	Eletroencefalografia
EEGq	Eletroencefalografia quantitativa
MAF	Frequência do alelo menor
PI	Pico de intervalo
<i>SLC6A3</i>	<i>Solute carrier family 6 member 3</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
TF	Transformada de Fourier
VMAT-2	Transportador de monoamina vesicular
VNTR	Variações de repetições em tandem

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
1.1. Justificativa.....	12
1.2. Objetivos.....	13
1.2.1. Objetivo geral.....	13
1.2.1. Objetivos específicos.....	13
1.3. Hipótese.....	13
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>15</b>
2.1. Teorias e modelos de percepção do tempo.....	15
2.2. Eletroencefalografia em estudos com percepção do tempo.....	18
2.3. Neurofisiologia da dopamina na percepção do tempo.....	20
2.4. Gene <i>SLC6A3</i> e sua influência no sistema dopaminérgico durante a percepção do tempo.....	25
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>30</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
3.1. Gravação de EEGq.....	30
3.2. Tarefa de estimativa do tempo.....	31
3.3. Análise dos dados.....	32
3.4. Processamento dos dados.....	34

3.5. Coleta sanguínea, extração, quantificação e armazenamento do material genético (DNA).....	34
3.6. Amplificação e análise do polimorfismo <i>SLC6A3</i> 3'-UTR VNTR (rs28363170)..	35
3.7. Amplificação e análise do polimorfismo <i>SLC6A3</i> Intron 8 VNTR (rs3836790)..	37
3.8. Análise estatística.....	38
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>40</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
4.1. Variáveis genéticas.....	40
4.2. Variáveis comportamentais.....	41
4.3. Variáveis eletrofisiológicas.....	43
<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>46</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
5.1. Variáveis comportamentais.....	46
5.2. Variáveis eletrofisiológicas.....	51
<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>55</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>68</b>
Termo de consentimento livre e esclarecido.....	69
Inventário de Edinburg.....	71

# CAPÍTULO I

---

## 1. INTRODUÇÃO

A percepção do tempo está relacionada à neuroquímica do Sistema Nervoso Central (SNC) (PLEIL et al., 2011) e capacita à codificação de diferentes estímulos, sejam eles fisiológicos ou ambientais (MAKSIMOV et al., 2015). Desse modo, o SNC por intermédio de toda a rede neural identifica, processa e interpreta os eventos em um sistema dinâmico, atrelado às interações e renovações propiciadas por experiências e condições fornecidas pelo ambiente (EAGLEMAN et al., 2002; HAGGARD et al., 2002). Logo, a capacidade perceptiva do tempo necessita de um complexo mecanismo neural que pode ser alterado pelo estado emocional, nível de atenção, memória, doenças neurológicas e neuroquímica cerebral (NENADIC et al., 2003). Em especial, o SNC continuamente mantém o controle na capacidade do ser humano em julgar os intervalos de tempo sejam eles, com origem de estímulos internos ou externos. Neste caso, tem sido observado em diversos estudos que a ação dopaminérgica tem grande participação na modulação neurofuncional (GREEN et al., 2008; HARRINGTON et al., 2010; MERCHANT et al., 2013; ADDYMAN et al., 2014; PIGNATELLI; BONCI, 2015; BARTHOLOMEW et al., 2015).

Algumas substâncias modificam a concentração de dopamina (por exemplo, a cocaína, metafetamina e haloperidol) e com isso, interferem no julgamento do intervalo de tempo. Isso foi observado em estudo cujo pesquisadores injetaram no núcleo estriado de ratos drogas agonistas e antagonistas dopaminérgicas e observaram um considerável deslocamento do julgamento do intervalo de tempo (LAKE; MECK, 2013). Especificamente, ao provocar um distúrbio no transportador de dopamina (DAT) e de monoamina vesicular (VMAT)-2 ocorre

uma diminuição no sincronismo neural para a codificação dos intervalos de tempo, devido a fosforilação, as interações proteína-proteína e as alterações na localização intracelular de dopamina (GERMAN et al., 2015).

Em relação à influência genética na neurotransmissão dopaminérgica, o estudo de Meck et al. (2012) demonstraram, por intermédio de ressonância magnética em ratos nocauteados para o gene *SLC6A3* e *COMT*, que os circuitos neurais no córtex pré-frontal (CPF) e regiões subcorticais possuem menor ativação na codificação de estímulos. Logo, as mudanças na expressão de genes que regulam níveis do neurotransmissor no corpo estriado permite a modulação da velocidade do “relógio interno”, predominantemente por mecanismos mediados por enzimas degradativas e DAT (DREW et al., 2003).

Dessa forma, os polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) alteram a velocidade do relógio interno, as quais podem originar diferentes efeitos na função e expressão de proteínas que auxiliem na neurotransmissão dopaminérgica. Polimorfismos em regiões reguladoras, por exemplo 3'-UTR e regiões de íntrons, alteram a sequência de aminoácidos na proteína que codifica o transportador dopaminérgico, mas não afetam a região promotora do gene, e por conseguinte, não modulam os níveis de expressão genética, porém regula a codificação protéica do DAT.

Em testes com roedores nocauteados para o gene *SLC6A3*, foi visto que a ausência de expressão desses genes, diminui a precisão do julgamento temporal, devido a deleção, impedir a expressão de DAT e desse modo, aumentar os níveis de dopamina extracelular, desregulando a atividade neural no SNC (HARRINGTON et al., 2010; COULL et al., 2012; WIENER et al., 2014). Diante do exposto, as bases neurobiológicas que permitem entender o julgamento do intervalo de tempo ainda apresentam muitas lacunas. Desse modo, ao investigar se ocorre contribuição do genótipo relacionado às expressões do transportador de dopamina na atividade

cortical por intermédio de tarefas de estimativa do tempo; pode-se compreender parte do paradigma funcional da atividade cortical no julgamento do intervalo de tempo.

A literatura busca traçar um perfil genético de associação com funções eletrofisiológicas e desempenhos comportamentais, por exemplo, tarefas de temporização por intermédio de estímulos visuais, táteis ou auditivos em seres humanos e outras espécies (FALLGATTER et al., 2004; GREEN et al., 2008; CIRULLI et al., 2010). Dessa maneira, a sensibilidade diferencial aos estímulos tem sido associada com padrões de ativação assimétrica no córtex pré-frontal, por meio de medidas da energia dentro da gama de frequência alfa (DAVIDSON, 2004; TOMER et al., 2008). Suporte para este modelo é derivado principalmente de estudos de assimetria da eletroencefalografia (EEG) em associação a polimorfismos de *SLC6A3*, visto que, se a dopamina desempenha um papel importante na modulação de algumas das diferenças individuais na sensibilidade para ações executivas, cognição e capacidade perceptiva, pode refletir diferenças na assimetria frontal em virtude das vias dopaminérgicas de associação com os núcleos da base (TOMER et al., 2008; CHRISTOU et al., 2015). Diante do exposto, poucos estudos examinaram a relação entre o processo de temporização, a assimetria pré-frontal e sua associação com os genótipos das variações *SLC6A3* 3'-UTR VNTR e *SLC6A3* Intron 8 VNTR. O presente estudo amplia o entendimento dos aspectos neurobiológicos na capacidade perceptiva em função do padrão de assimetria e variações genéticas de *SLC6A3*.

### 1.1 Justificativa

A análise dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790), os quais são associados ao sistema dopaminérgico, promovem o entendimento da dinâmica molecular envolvida no julgamento do intervalo de tempo e neste caso, favorece o melhor entendimento da relação da atividade cortical com o sistema dopaminérgico. Desse modo, o estudo contribui para compreensão das bases neurofisiológicas

e moleculares da percepção do tempo, além de desenvolvimento de padrões de rastreamento molecular e comportamental relacionados a capacidade perceptiva do tempo, a qual será um grande passo para o aprimoramento de técnicas moleculares de diagnóstico em doenças neurológicas.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo Geral

Analisar a associação dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) com as modificações corticais em indivíduos saudáveis durante a realização de tarefa de percepção do tempo.

### 1.2.2 Objetivo Específico

- Analisar as genotipagens relacionadas aos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790).

- Verificar o comportamento cortical por intermédio da assimetria das oscilações da banda alfa em tarefas de estimativa do tempo.

- Predizer a associação da influência dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) no desempenho da tarefa de estimativa do tempo e comportamento cortical por intermédio da assimetria da banda alfa.

## 1.3 Hipótese

H0 – Os polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) não modificam o desempenho em tarefas de estimativa do tempo e não tem uma predominância no córtex frontal.

H1 – Os polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) modificam o desempenho em tarefas de estimativa do tempo e tem uma predominância no córtex frontal.

H2 – Os polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) não modificam o desempenho em tarefas de estimativa do tempo e tem uma predominância no córtex frontal.



## CAPÍTULO II

---

### 2. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 2.1. Teorias e modelos de percepção do tempo

Pesquisar a percepção do tempo envolve analisar como a população discrimina, estima e reproduz um intervalo de tempo (PLOMIN et al., 2013; HERAI; MOGI, 2014). A pesquisa sobre o tempo subjetivo data de 1868, quando Vierordt determinou que os intervalos de tempo relativamente curtos são alongados e os juízos de intervalos de tempo longos são encurtados (FERNANDES; GARCIA-MARQUES, 2012). Isto ajudou o entendimento que ao primeiro contato com algo fora do cotidiano, o SNC estabelece uma temporização deturpada dos estímulos (BLOCK; GRONDIN, 2014). Por exemplo, pessoas que tiveram um acidente com probabilidade de óbito, o julgamento de experiências autobiográficas ou apreciar artes visuais podem gerar diferentes experiências de percepção do intervalo de tempo (NATHER; BUENO, 2006). Desse modo, estudar os distúrbios do julgamento do tempo, pode direcionar para identificação e entendimento de fatores que afetam a percepção temporal.

O intervalo pelo qual o tempo subjetivo cresce em função do tempo físico decorrido (tempo objetivo) é determinado pela atividade do relógio interno que está relacionado ao processamento da informação temporal em três estágios: estágio de relógio, estágio de memória e estágio de decisão ou comparação. Isto é refletido pelo número de oscilações captadas pelo relógio interno por unidade de tempo, e dessa forma, foi classificado na qualidade de Teoria da expectativa escalar, baseia-se na velocidade do relógio interno e a experiência subjetiva do tempo (TEIXEIRA et al., 2013; ALLMAN et al., 2014). Isto é evidenciado quando uma série de pulsos é produzida por um marcapasso interno na presença de um evento. Estes pulsos são

recolhidos, contados e em seguida comparados com as representações armazenadas, a fim de permitir o julgamento do intervalo de tempo (Fontes et al., 2016). Os aspectos funcionais da Teoria da expectativa escalar podem ser modificados pela atenção, que ocasiona mudanças no fenótipo relacionado com a percepção do tempo. Neste caso, tem sido observado que o nível de atenção modula o interruptor e permite ou impede a acumulação dos pulsos, as reações a estímulos e desempenho em atividades motoras que são dependentes do nível de excitação neural, estado emocional e variações do ciclo circadiano (DROIT-VOLET, 2013; PLOMIN et al., 2013; DROIT-VOLET, 2015). Além disso, várias condições farmacológicas e psiquiátricas parecem modificar a velocidade do relógio interno e enternecem aspectos fisiológicos e psicológicos na temporização dos estímulos (ALLMAN; MECK, 2012). Contudo, as alterações na velocidade do relógio interno são medidas por uma linha de base com referência no acúmulo de pulsos (SCHWARTZE et al., 2012).

Dentro do grande número de possibilidades de correlações entre diferentes áreas cerebrais, a análise da percepção do tempo e a capacidade de sincronização na cronometragem do tempo podem ser estabelecidas pela interdependência e integração de áreas corticais e subcorticais (AGHDAEE et al., 2014) devido desencadarem uma representação métrica do intervalo de tempo e dessa forma, a ocorrência de acontecimentos consecutivos mensurados em milissegundos a horas (MERCHANT et al., 2013). Embora haja consenso da não existência de uma via específica na sincronização da informação temporal do ambiente para o cérebro, as oscilações do ambiente externo promovem mudanças nas conexões dos neurônios e direcionam para um mecanismo de integração da interpretação do intervalo de tempo (COULL et al., 2011).

Devido à integralidade das estruturas do SNC e receptores dos estímulos do ambiente na temporização dos eventos diários, modelos atuais de percepção do tempo foram propostos, entre os quais, o modelo de Estado neural, visa indicar mecanismos de uma resultante dinâmica oscilatória e de características próprias dos neurônios envolvidos em cada circuito de *inputs*

neurais (BUHUSI; OPRISAN, 2013). Neste modelo, os neurônios corticais oscilam temporalmente de forma estável, porém em frequências diferentes produzindo padrões de atividade distintos ao longo do tempo. Somam-se a isto, o modelo de batimento de frequência dos chamados neurônios espinhosos que estão localizados no neocórtex (KONONOWICZ, 2015). Os neurônios espinhosos detectam um padrão de oscilação específica correspondente a um evento temporal, associado ao córtex, cuja atuação repercute em unidade de saída única no mesmo período de tempo, dessa maneira, os potenciais são acumulados e saem agrupados pelo córtex (VAN RIJN; GU; MECK, 2014). Então, na relação córtex-córtex, os neurônios espinhosos constatarem determinado padrão entre osciladores ativos advindo da neurotransmissão dopaminérgica, cuja diferentes frequências coincidem com pontos específicos do tempo (GOEL; BUONOMANO, 2014). Por conseguinte, os padrões de intervalo de tempo aprendidos são fortalecidos por intermédio da liberação dopaminérgica, com base na memória de experiências anteriores com determinado evento temporal (VAN RIJN; GU; MECK, 2014).

A percepção do tempo de acordo com os “modelos intrínsecos” torna-se um mecanismo de adaptação vinculada às experiências pessoais e condições provenientes do ambiente (FINNERTY et al., 2015). Nesse contexto, as estruturas do SNC processam o estímulo sensorial em diferentes domínios de tempo (BUONOMANO; MAASS, 2009; GOLAN; ZAKAY, 2015), bem como capacita à codificação de diferentes estímulos ambientais. Gupta (2014) propôs que a dimensão do tempo é representada por diferentes osciladores neurais para que haja uma resposta regular do intervalo de tempo. Os receptores que promovem a interação com o meio externo também têm uma representação fundamental para a interpretação do tempo e para as respostas motoras. Tal modelo foi construído para o processamento de intervalos curtos e intervalos longos, que são de grande importância em funções executivas e cognição (BUHUSI; MECK, 2005). Além disso, diferentes tipos de osciladores neurais compostos principalmente

por neurônios sensoriais e os de sincronização excitação/inibição interligam o processamento temporal por osciladores embutidos em diferentes redes neurais, moduladas por propriedades de conexões e natureza de entrada de impulsos (tamanho axonal, natureza das sinapses), bem como a plasticidade sináptica de curta duração. Assim, o processo de *feedback* sensorial e motor altera a taxa de mudanças na frequência de codificação do tempo, determinando a codificação da passagem temporal (GUPTA, 2014).

## 2.2. Eletroencefalografia em estudos com percepção do tempo

Oscilações neurais analisadas pelo eletroencefalógrafo refletem a mudança rítmica da excitabilidade neuronal em uma ampla gama de escalas espaciais e temporais (LUSTIG; MECK, 2011), que vão de baixas frequências (delta, teta e alfa) a altas frequências de sincronização (beta e gama) e são mecanismos fundamentais para a análise do funcionamento das atividades corticais por intermédio do processamento de estímulos e interações entre áreas corticais relacionadas com a cognição e codificação do intervalo de tempo (BERLIN; ROLLS; KISCHKA, 2004; UHLHAAS et al., 2009; YU; BUSHOVA; SVETLIK, 2015). Neste contexto, o eletroencefalógrafo tem sido amplamente utilizado no mapeamento cortical com relevante capacidade de observar eventos neurofisiológicos captados por eletrodos posicionados no escalpo (LIZIO et al., 2011). A atividade neurofisiológica das regiões corticais abrange as bandas de frequência: delta (0,5-3,5Hz), teta (4-7 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (13-30 Hz) e gama (acima de 30 Hz) (MINKWITZ et al., 2012). As frequências representam padrões de atividade cortical em atividades sensório-motoras, cognitivas ou perceptivas e permitem inferir estados de atividade cortical (ENGEL; FRIES, 2010). Além disso, o eletroencefalógrafo é uma ferramenta relevante para observar a capacidade perceptiva do tempo por meio da leitura e interpretação de estados do nível de atenção, excitabilidade e vigiância por diversos padrões

de análise (potência absoluta, potência relativa, coerência e assimetria) (SANEI; CHAMBER, 2007).

A investigação de modificações na percepção do tempo e os mecanismos ao processamento de estímulos, demonstrados por Horr, Wimber e Di Luca (2016), evidenciou o arrastamento da atenção seletiva por parte dos participantes e houve maior recrutamento neural no córtex parietal posterior (CPP) em relação à capacidade de resposta para os intervalos longos, reforçando a relação entre a magnitude da resposta neural e a sincronização da estimativa temporal no CPP. Então, o aumento na capacidade de resposta em função da tarefa levou ao aumento mais pronunciado da estimativa dos estímulos individuais. Estas análises são comumente estabelecidas por intermédio da potência absoluta da banda alfa por permitir relacionar se o aumento ou diminuição da potência absoluta foi devido a mudanças da atenção direcionada para a tarefa (NENERT et al., 2012; VADEN et al., 2012). Snyder e Foxe (2010) constataram que a potência absoluta da alfa é modulada de acordo com a demanda cognitiva para sincronia de percepção dos estímulos (visual ou auditivo) e resultam em evidências para sua supressão no aumento da atividade cortical relacionada à execução da tarefa. Então, quando o indivíduo direciona menor atenção em tarefas automáticas, ocorre o aumento da potência absoluta na banda alfa (JENSEN; MAZAHERI, 2010; BONNEFOND; JENSEN, 2012).

O processamento e antecipação de eventos sensoriais futuros é um mecanismo de adaptação das mais diversas espécies no ambiente (WITTMANN et al., 2011). Nesse sentido, a percepção e controle de atos executivos, com foco no controle motor e o ritmo dos estímulos auditivos, dependem de um modelo interno previamente estabelecido em função de estímulos sensoriais que são captados por osciladores externos (GONTIER et al., 2013). A partir do exposto, Fujioka et al. (2012), utilizando a magnetoencefalografia, evidenciaram que oscilações da banda beta correspondente ao ritmo de estímulos auditivos, tem relação direta entre a atenção e a percepção dos sinais auditivos, que requer uma ação preditiva com base na representação

neurobiológica da informação temporal. O estudo determina que a oscilação da banda beta no estado de ativação sensório-motora associada ao ritmo auditivo, tem um curso temporal para manter a temporização preditiva na coordenação funcional de coerência entre o sistema auditivo e motor.

A sinalização dopaminérgica em associação com circuitos neurais que integram o córtex frontal medial (CFM) relaciona-se com a cognição e memória operacional (NARAYANAN et al., 2013). Parker, Ruggiero e Narayanan (2015), estudaram a influência de agonistas dopaminérgicos do receptor D1 de dopamina e sua influência na atividade neural do CFM em ratos durante tarefas de cronometragem do tempo em sistemas de alavancas. Eles observaram que a temporização é adequada para estudar a cognição, pois envolve mecanismos corticais frontais dependentes de dopamina (MERCHANT; DE LAFUENTE, 2013). Além disso, os resultados do estudo evidenciam que o bloqueio de receptores D1 por agonistas dopaminérgicos promove falhas em conexões neurais com o CFM, prejudicando o desempenho em tarefas que demandam sincronismo do intervalo de tempo, e desse modo, repercutem em mudanças dos padrões eletrofisiológicos pertinentes as oscilações das bandas teta e delta (NARAYANAN et al., 2013). Por outro lado, a atividade de oscilações da banda teta relaciona-se com a memória operacional e analisa o desencadeamento do sincronismo da resposta motora e do tempo de reação. Isto demonstra que as atividades em teta em áreas fronto-estriatais são moduladas durante o intervalo de tempo, juntamente com o controle temporal da ação motora.

### 2.3. Neurofisiologia da dopamina na percepção do tempo

A compreensão do tempo é orquestrada pela sincronização da maquinaria cerebral em processar as informações temporais, por meio da atuação neurotransmissora da dopamina, a qual é um recurso precursor da temporização de intervalos de tempo nos domínios de milissegundos-a-horas e dia (Figura 1) (ZHANG; PTÁCEK; FU, 2013; WITTMANN, 2013).

Notavelmente, os processos de codificação do tempo mediado por níveis dopaminérgicos são fenômenos comuns em muitas espécies, comportamentos neurobiológicos (memória, atenção, tomada de decisão e sistema de recompensa) e fisiológicos (variações hormonais e ciclos de sono-vigília) (JONES; JAHANSHAH, 2011; BISSONETTE; ROESCH, 2015).

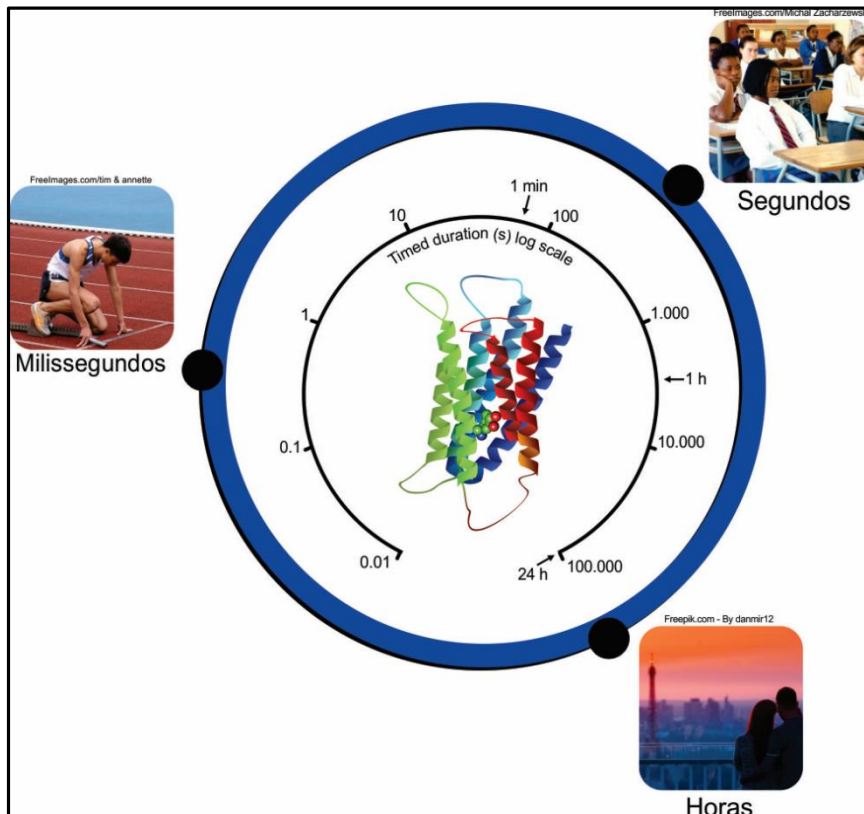


Figura 1: Atuação da dopamina nos domínios de tempo de milissegundos a horas. Fonte: Própria.

A percepção do tempo, por ser uma habilidade inata, pode ser modificada por nuances em concentrações de dopamina devido ao recrutamento inadequado, lesões em áreas cerebrais e expressão genética diferenciada (COULL et al., 2011; BARZMAN; GEISE; LIN, 2015). Dessa forma, os indivíduos variam consideravelmente na sua capacidade de discriminar e estimar intervalos de tempo, de tal forma, as bases neurobiológicas que permitem a capacidade de temporização têm sido estudadas com base em teorias da percepção do tempo (FONTES et al., 2016), experiências condicionadas com animais (BALCI et al., 2010), modelos

farmacológicos (LAKE; MECK, 2013) e técnicas de mapeamento cerebral (WIENER et al., 2014), sugerindo uma participação crucial da dopamina no funcionamento do relógio interno (TEKI; GRIFFITHS, 2014; ZHOU et al., 2014).

O modelo de processamento de informações do intervalo de tempo por intermédio do marcapasso-acumulador é modulado por variações neuroquímicas, que intervêm na resposta e controle dos indivíduos em função do tempo corrente (armazenado no acumulador) e o intervalo de critério (armazenado na memória de referência) (JOZEFOWIEZ et al., 2015). Estes fatos são condizentes com a Teoria de Expectativa Escalar, pois ocorre o aumento da velocidade do relógio interno com aplicação de agonistas dopaminérgicos, e isso, leva à subestimação do tempo (THÖNES; OBERFELD, 2015). Tomadas em conjunto, as evidências de estudos farmacológicos mostram que a velocidade do relógio parece estar mais relacionada ao funcionamento da via dopaminérgica nigrostriatal. Este aspecto difere da manipulação de outras vias, entre elas, os circuitos colinérgicos fronto-hipocampais que se mostram associados à capacidade de evocar e reter a memória temporal e não com a velocidade do relógio. Neste caso, não promovem mudanças imediatas, mas sim graduais na velocidade do relógio interno, devido à perda da referência de tempo memorizada (COULL; CHENG; MECK, 2011).

O ajuste relacionado à velocidade do relógio interno repercute em aspectos neurobiológicos, como sistema de recompensa. Nesse sentido, Fiorillo, Newsome e Schultz (2008) demonstraram que o comportamento mais vantajoso em relação ao ambiente depende da maquinaria química, no intuito de que o SNC reconheça e explore os padrões espaciais e temporais por intermédio de seus osciladores externos (receptores sensoriais). Possivelmente, dependem da neurotransmissão dopaminérgica ao reforçar a interação entre os núcleos da base e as áreas corticais no processo de recompensa. Os resultados propõem um papel central para neurônios dopaminérgicos da substância negra do mesencéfalo na dependência do sinal de



recompensa. Eles sincronizam os circuitos neurais a prever quando um evento de recompensa ocorrerá.

Di Giovanni et al. (2010) observaram interações entre dopamina e serotonina no cérebro por meio de dados eletrofisiológicos *in vivo* e *in vitro*. Os dados indicam que neurônios dopaminérgicos recebem proeminências serotoninérgicas, originárias dos núcleos da rafe do tronco cerebral. Diante disso, é de considerável interesse científico conhecer como a modulação química cerebral, por intermédio das relações dopaminérgicas, exerce impacto na percepção do tempo. Em especial, por que modelos farmacológicos com agonistas e antagonistas de dopamina modulam a velocidade do relógio interno na capacidade perceptiva e julgamento temporal de estímulos? (WITTMANN, 2007).

Os seres humanos e animais processam a informação temporal como se estivessem usando um cronômetro interno que pode ser interrompido, redefinido ou ter sua velocidade ajustada (BUHUSI; MECK, 2002). Além disso, modelos farmacológicos com animais redefinem a velocidade do relógio interno, visto que drogas (metanfetamina e cocaína), aumentam a concentração dopaminérgica em neurônios pré-sinápticos e levam a um deslocamento horizontal a esquerda na curva de resposta a estímulos de recompensa, sugerindo uma subestimação do intervalo de tempo (CEVIK, 2003; CHENG; MACDONALD; MECK, 2006). Em contraste, a administração de antagonistas de receptores dopaminérgicos, tais como haloperidol, conduz a superestimação de intervalos de tempo, com mudanças horizontais à direita nas funções de temporização (DREW et al., 2003).

A influência dos níveis dopaminérgicos em funções neurais específicas são pontos de partida para elucidar os mecanismos neurofisiológicos, como por exemplo, as vias dopaminérgicas e neuroanatomia relacionada (KANDEL; SCHWARTZ; JESSELL, 2013). Uma vez que a associação das vias dopaminérgicas em estruturas neuroanatômicas e processos de temporização de eventos vêm sendo descrita por meio de experimentos com animais. Mita

et al. (2009) evidenciaram, por meio da medição de disparos de sincronização em neurônios de ratos e macacos, que o tempo é codificado por conexões corticais e subcorticais. Em geral, os métodos de estudos baseiam-se na neuroimagem, onde a ressonância magnética funcional tem sido empregada a fim de determinar as áreas envolvidas na sincronização e codificação do tempo (CPF, área motora suplementar, núcleos da base, dentre outras) (WIENER; TURKELTAUB; COSLETT, 2010). Considera-se que estas regiões são ricas em células dopaminérgicas e promovem a atividade moduladora em uma ou todas as regiões do cérebro (JAHANSHAHI et al., 2010; HARRINGTON et al., 2010).

Estudos demonstram que neurônios dopaminérgicos atuam em três vias neuronais: a via nigroestriatal, a via mesolímbica e a via mesocortical. Estas vias abrangem diferentes funções executivas e estão associadas à cognição (PHILLIPS, VACCA; AHN, 2009; JONES; JAHANSHAHI, 2011). A via mesolímbica relaciona-se com o sistema de recompensa (WILLIAMS; UNDIH, 2016), estados emocionais e é ativada conjuntamente com os neurônios da via mesocortical (PIERCE; KUMARESAN, 2009). Somam-se a isto, as regiões envolvidas na via mesolímbica (o núcleo accumbens, a área tegmental ventral, o hipocampo, a amígdala e córtex cingulado anterior) (ARIAS-CARRIÓN; STAMELOU; MURILLO-RODRÍGUEZ, 2010). Já a via mesocortical inclui a área tegmental ventral e suas ramificações para o CPF e córtex cingulado anterior (WISE, 2004). Logo, essas regiões atuam no desempenho de funções relacionadas à memória e atenção, controle motor, dor e emoção (PAUS, 2001). Outra via neural que possui relação com a dopamina é a via nigroestriatal, localizada na substância negra do mesencéfalo e nos núcleos caudado e putâmen, associa-se com o controle e execução motora (SMITH; VILLALBA, 2008). Diante disto, o sistema nigroestriatal necessita da neurotransmissão dopaminérgica para codificação de intervalos temporais relacionados à atividade de preparação e planejamento motor (MATELL; MECK, 2004). De fato, devido sua relação com execução motora, esta via influencia no domínio

temporal de milissegundos (RACAGNI et al., 2004). Por conseguinte, a liberação de dopamina nesta via controla o início e o término de intervalos temporais, atuando como moduladora temporal (ALLMAN; MECK, 2012).

#### 2.4. Gene *SLC6A3* e sua influência no sistema dopaminérgico durante a percepção do tempo.

Dentre os genes que influenciam a neurotransmissão dopaminérgica, o gene *SLC6A3* localizado em 5p15.3, codifica o DAT, o qual modula a concentração sináptica do neurotransmissor nos terminais pré-sinápticos dos neurônios dopaminérgicos íon-dependentes (SHIH et al., 2006). Polimorfismo do tipo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) localiza-se no éxon 15 da região 3' não traduzida, contém repetições em série de 40 pb que vai de 3 repetições (3R) a 13 repetições (13R), sendo, as séries de 9-repetições (9R) e 10-repetições (10R) os alelos mais comuns na população em geral (ŠERÝ et al., 2015). Com base na funcionalidade, os portadores de um alelo 9R exibem menor codificação proteica de DAT, quando comparados com seus homólogos homozigotos 10R, no córtex pré-frontal, córtex pré-motor e núcleo caudado, por afetar a regulação proteica em nível de poliadenilação (FARAONE et al., 2014). Assim, remodelam os processos de planejamento e execução de tarefas de memória de trabalho, atenção e ocasionam risco de desordens neurológicas, entre as quais estão embutidas na distorção da capacidade perceptiva do tempo (GREENWOOD et al., 2013; DE AZEREDO et al., 2014; FEHÉR et al., 2014; HABAK et al., 2014; MAITRA et al., 2014).

Outro polimorfismo muito estudada no gene *SLC6A3* encontra-se no intron 8 (rs3836790), uma variação do tipo VNTR com 5 ou 6 repetições de 10pb (5R e 6R, respectivamente), cuja repetição 6R está associada na deficiência de regulação na estabilidade do RNAm, transporte e síntese protéica na recaptção dopaminérgica em relação 5R nas fendas sinápticas (FRANKE et al., 2008). Franke et al. (2008), indicam em seus resultados que o alelo 10R do polimorfismo 3'-UTR (rs28363170) em associação haplotípica com 6R do Intron 8

(rs3836790) aumenta o risco de transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, bem como potencial modulador da percepção do tempo.

A representação do tempo é indispensável para a orientação e ação intencional em um ambiente físico e social (MATTHEWS; MECK, 2014). A capacidade de julgar o tempo associa-se a fatores genéticos que podem alterar a reação aos estímulos ambientais (SYSOEVAL; TONEVITSKY; WACKERMANN, 2010; BARTHOLOMEW et al., 2015). Diante do exposto, o mecanismo perceptivo relaciona-se em parte com a influência genética do sistema dopaminérgico. Porém, há pouco desenvolvimento de estudos que associam pesquisas genéticas e desempenho em atividades cronometradas, em especial, o estudo de Jones e Jahashahi (2011) dispôs como alvo central o nocaute do gene *SLC6A3* em camundongos a fim de estabelecer a associação da não expressão dos produtos gênicos relacionados à neurotransmissão de dopamina com atividades deficientes de cronometragem do tempo em tarefas de recompensa.

Os resultados sobre a constituição, expressão genética e síntese proteica dos neurotransmissores, têm como objetivo esclarecer os mecanismos que fundamentam as mudanças na codificação de diferentes produtos gênicos, exemplificando a síntese proteica que auxilia na neurocognição e o comportamento humano em função da percepção do tempo. Diante disso, diferenças moleculares promovem mudanças em atividades neurais durante uma tarefa cognitiva ou no processo de estimação do tempo. Portanto, a neurogenética procura identificar pontos de variação no genoma que podem ser ligados às funções cognitivas e perceptivas, por intermédio de ação conjunta de ferramentas de biologia molecular, mapeamento eletrofisiológico e neuroimagem (GREEN et al., 2008).

Bartholomew et al. (2015), no intuito de identificar genes envolvidos na expressão de fenótipos humanos complexos, dentre eles a cognição e percepção do tempo, demonstraram fatores genéticos e neurobiológicos que contribuem para a variabilidade individual na

velocidade do relógio interno. Foram analisados 647 indivíduos saudáveis em tarefas de produção e discriminação de intervalos de tempo, porém, somente 148 indivíduos foram sequenciados geneticamente, em foco, o gene *SLC6A3* relacionado a neurotransmissão dopaminérgica. A metodologia de pesquisa do genoma é direcionada os polimorfismos cujos genótipos são correlacionados com uma característica de interesse; em exemplificação, a capacidade de julgar de maneira precisa o tempo. Em resumo, são escolhidas com base na frequência do alelo menor (MAF) maior que 5%, e assim, os dados relacionados ao MAF identificam variações comuns que podem contribuir para o entendimento sobre o fenótipo comportamental de um ser humano na codificação do tempo.

Dessa forma, a capacidade de um indivíduo estimar o tempo pode ser influenciada por fatores da neuroquímica cerebral, em especial a mediação dopaminérgica na sincronização dos intervalos de tempo (BERRY et al., 2014; MAKSIMOV et al., 2015). Isto pode estar associado ao recrutamento inadequado, diminuição ou aumento dos níveis dopaminérgicos decorrentes de mudanças na expressão genética, que induz as pessoas a subestimar ou superestimar o tempo (RAMMSAYER, 1997; MATTHEWS; MECK, 2014). Além disso, as mudanças de expressão genética geradas por polimorfismos e modificações na regulação da síntese proteica influenciam a capacidade de envolvimento e concentração dopaminérgica nos mecanismos perceptivos, modifica as oscilações neurais a fim de concentrar maior ou menor atividade em áreas cerebrais específicas, por exemplo, o córtex frontal e parietal, que se relacionam com funções executivas, cognição e percepção (Figura 2) (BENDER et al., 2012; MAKSIMOV et al., 2015).

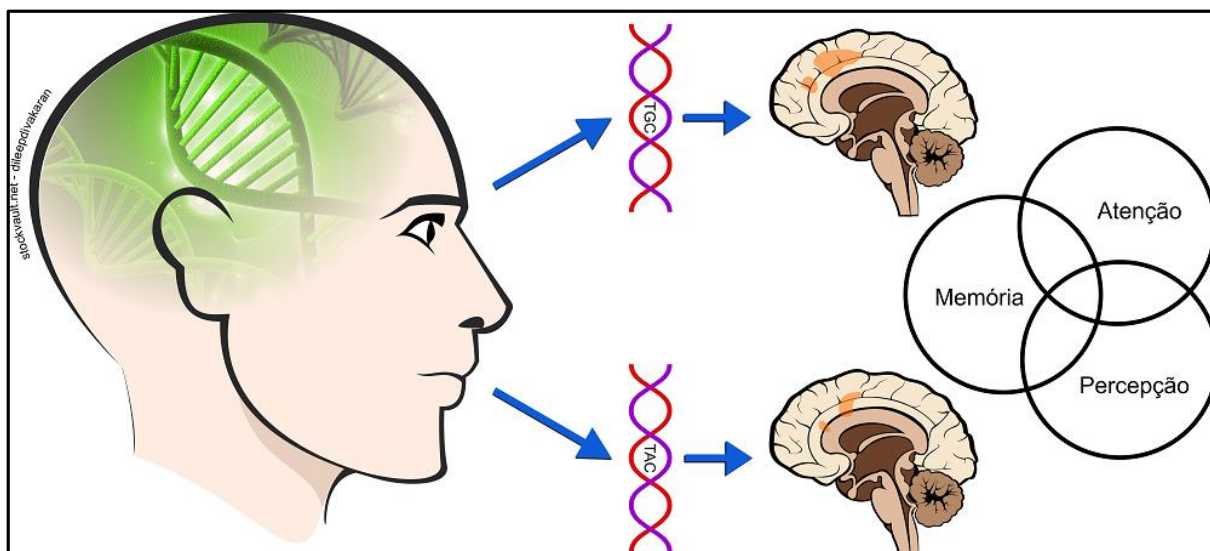


Figura 2: A expressão genética do sistema dopaminérgico em mecanismos perceptivos. Fonte: Própria.

Níveis dopaminérgicos são regulados por proteínas transportadoras, em foco o DAT, expresso pelo *SLC6A3* que modula a química das bases neurais (COLZATO et al., 2010; KONDO et al., 2012). Desse modo, o desempenho em tarefas de discriminação e estimativa do tempo difere entre os indivíduos, isto devido à expressão genética diferenciada por intermédio de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) e/ou VNTRs de genes que são responsáveis pela regulação dopaminérgica (WIENER et al., 2011; BALCI et al., 2013; WIENER, 2014). Essas diferenças genéticas também foram encontradas em diversos estudos neurobiológicos da cognição, a saber: a memória de trabalho (BERRYHILL; JONES, 2012), aprendizagem e tarefas de repetição motora em relação a um estímulo visual (STELZEL et al., 2010).

Sysoeval, Tonevitsky e Wackermann (2010), investigaram as diferenças da base neurobiológica em indivíduos russos e destros, por meio de análise do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) concomitante a tarefas de discriminação do tempo com estímulos auditivos. Os resultados demonstram que a modulação química no SNC em atividades perceptivas está relacionada com a concentração de dopamina na temporização de durações no domínio de tempo associado aos intervalos de segundos a minutos. Nesse sentido, as informações genéticas e cognitivas compõem meios que direcionam o esclarecimento dos

mecanismos que fundamentam o comportamento perceptivo do tempo em humanos. Logo, demonstra que a expressão genética diferenciada pode determinar as mudanças na codificação dos intervalos de tempo, e assim abrirá novas perspectivas de aplicações diagnósticas e padrões de rastreio molecular a fim de elucidar fenótipos comportamentais associados a neurocognição e capacidade perceptiva em indivíduos saudáveis e portadores de doenças neurológicas.

## CAPÍTULO III

---

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Com base no estudo que utilizou a análise genética associada à eletroencefalografia quantitativa (EEGq) para investigar a influência molecular na percepção do tempo, esse estudo foi composto com uma amostra de 107 indivíduos saudáveis, discentes da Universidade Federal do Piauí – UFPI (somente sexo masculino, com idade média  $\pm$  desvio-padrão [DP] =  $22 \pm 1,5$  anos, faixa etária = 18-32 anos) (SYSOEVAL; TONEVITSKY; WACKERMANN, 2010). Foram selecionados indivíduos destros e que não utilizassem qualquer substância psicoativa ou psicotrópica durante o período do estudo 12 horas antes do experimento. O Inventário de Edimburgo (OLDFIELD, 1971) foi aplicado a fim de identificar a predominância da mão dominante dos participantes. Conseqüentemente, os indivíduos sinistros foram excluídos do experimento. Em seguida, os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Piauí-UFPI com o número 1.087.450, de acordo com os padrões éticos inerentes à pesquisa envolvendo humanos, para tal foi considerado a Resolução nº 466 de 12 de Dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde.

#### 3.1 Gravação de EEGq

Todos os participantes foram acomodados em uma sala com isolamento acústico, aterramento elétrico e baixa luminosidade. Os participantes sentaram em uma cadeira com apoio de braço, a fim de minimizar artefato muscular durante a aquisição do sinal da EEGq. O



procedimento consistiu em duas gravações de EEGq de quinze minutos durante a tarefa (ambas com os olhos abertos).

O EEGq contínuo de 20 canais foi gravado por amplificadores Braintech 3000 (EMSA - Instrumentos Médicos, Brasil). Os eletrodos de prata/cloreto de prata foram posicionados por uma tampa de eletrodo equidistante por meio de uma touca de nylon com prefixação do sistema internacional 10-20, incluindo os eletrodos de referência biauricular (SPES Medica Brasil). A impedância dos eletrodos do EEGq foram mantidas abaixo de 5 K $\Omega$ . Os dados adquiridos tinham amplitude total de menos do que 100 $\mu$ V. O sinal do EEGq foi amplificado com um ganho de 22.000 Hz, analogicamente filtrados entre 0,01 Hz (passa-alta) e 60 Hz (passa-baixa), com 240 Hz por meio do software Data Acquisition (Delphi 5.0), desenvolvido no Laboratório de Mapeamento e Plasticidade Cerebral.

### 3.2 Tarefa de estimativa do tempo

Um monitor de 42' polegadas foi colocado sobre uma mesa em frente aos participantes a uma distância de 80 centímetros e foi ligado somente na execução da tarefa de estimativa do tempo. A estimativa do tempo foi analisada por meio de um programa que registra em formato .txt o intervalo de tempo alvo apresentado (i.e., 1,4,7 ou 9 segundos) (HANCOCK; RAUSCH, 2010; WITTMANN et al, 2011; JOZEFOWIEZ et al., 2014). A tarefa foi realizada em a duas fases. Na primeira fase: aparece no monitor a indicação do comando "enter" para iniciar, em seguida, o programa produz um círculo amarelo no centro do monitor que permanece aleatoriamente em 1, 4, 7 ou 9 segundos; na segunda fase: após a apresentação do intervalo de tempo alvo, o software apresenta no monitor a orientação para que o participante digitasse a duração do intervalo de tempo e posteriormente apertasse a tecla "enter" para finalizar a tarefa (Figura 3). Cada participante realizou 2 blocos da tarefa com 40 repetições por bloco.



Figura 3: Tarefa de estimativa do tempo. Fonte: Lamplace.

### 3.3 Análise dos dados

Analizamos a assimetria do EEGq para as oscilações da banda alfa (8~12Hz). A variável assimetria foi definida como:  $PE - PD / PE + PD = P_{\mu}$ , cujo  $P_{\mu}$  é uma medida adimensional que representa a razão relativa da assimetria. P = Potência absoluta, E e D= hemisfério esquerdo e direito, respectivamente. A assimetria negativa revela que o hemisfério direito é predominante e é diretamente proporcional para  $P_{\mu}$ . Dessa forma, foi feita a análise da assimetria do córtex frontal (Fp1-Fp2, F3-F4 e F7-F8) durante a execução da tarefa de estimativa do tempo, devido ao envolvimento com funções cognitivas como atenção, memória, planejamento e capacidade perceptiva de estímulos, ambas embutidas na percepção do tempo (BISMARCK et al., 2010; MATHEWS; MECK, 2014; DASILVA et al., 2015; FONTES et al., 2016).

A variável comportamental que relaciona os dados com o início do estímulo visual até o término da estimativa do tempo foi transformada em medidas que representam o valor do erro absoluto (EA) e a proporção estimada para duração-alvo. O valor do EA é definido como a diferença entre a estimativa subjetiva do tempo e a duração alvo (BROWN, 1985). Desse modo,

o EA é uma medida da diferença entre o ritmo do relógio objetivo e o julgado, tornando-se útil para avaliação do nível global de precisão de decisões de temporização (BROWN, 1985; MIONI et al., 2014). Em complemento, a razão da estimativa da duração do alvo foi realizada dividindo o tempo de desempenho de cada participante pela duração do intervalo de tempo alvo apresentado para cada trilha. Esta análise corresponde ao erro relativo (EA) e promove o entendimento que um coeficiente abaixo de 1,0 indica um julgamento da estimativa do tempo menor do que o tempo real, enquanto que o coeficiente acima de 1,0 representa o julgamento do tempo maior do que a duração real, ou seja, um subestimação ou superestimação do tempo, respectivamente (BROWN, 1985).

Em adição, associamos as medidas eletrofisiológicas de assimetria e desempenho comportamental da tarefa aos genótipos dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790). Em detalhe, os seguintes grupos de genótipos foram formados para a análise no estudo com base em sua funcionalidade para a tarefa de estimativa do tempo: (1) *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) (n=73): 10R/10R (alta síntese proteica do transportador de dopamina) vs 10R/9R e 9R/9R (baixa síntese proteica do transportador de dopamina) (FOSSELLA et al., 2002; ROMMELSE et al., 2008); (2) *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) (n=103): 6R/6R (auxilia na alta síntese proteica de recaptção de dopamina na fenda sináptica) vs 6R/5R e 5R/5R (auxilia na baixa síntese proteica de recaptção de dopamina na fenda sináptica) (TONG et al., 2015). Ambos os polimorfismos de *SLC6A3* foram analisados de acordo com a literatura anterior (FRANKE et al., 2010; TONG et al., 2015), que tenham sido previamente demonstrado aumentar o risco de transtornos psiquiátricos, modular decisões executivas e aspectos cognitivos. Os demais genótipos dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) considerados e raros na população foram excluídos para a associação com as variáveis eletrofisiológicas e variável comportamental (MECK et al., 2012; VASCONCELOS et al., 2015).

### 3.4 Processamento dos dados

Uma inspeção visual e análise de componentes independentes (ACI) foram aplicadas para identificar e remover todos os artefatos remanescentes produzidos pela tarefa (JUNG et al., 2000). Os dados de eletrodos individuais que exibiram perda de contato com o escalpo ou alta impedância ( $>5K\Omega$ ) não foram considerados. Um estimador clássico foi aplicado para a densidade de potência espectral (DPE), estimada a partir da Transformada de Fourier (TF), que foi realizada pelo MATLAB (Matwords, Inc.). Parâmetros do EEGq foram reduzidos a diferentes períodos, de acordo com o intervalo de tempo. As análises das modificações corticais foram realizadas para os tempos de 1, 4, 7 e 9 segundos. Para cada tempo foi extraída a época do EEGq relacionada com 2 segundos antes do início do estímulo visual (preparação para a tarefa) e até o momento 0 que corresponde a execução da tarefa de estimativa do tempo. Estes procedimentos foram realizados para assimetria (FP1-FP2, F3-F4 e F7-F8), devido à relação com o córtex pré-frontal anterior, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex ventrolateral (SIEBNER et al., 2001; NEUPER; PFURTSCHELLER, 2001; HAMIDI et al. 2008).

### 3.5 Coleta sanguínea, extração, quantificação e armazenamento do material genético (DNA)

Todos os procedimentos operacionais padrão (POPs) para coleta de sangue periférico foram obedecidos com base nas normas da Associação Nacional de Biossegurança (ANBIO). Posteriormente, as amostras foram submetidas à extração do DNA de leucócitos com o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega Inc., USA), conforme as especificações do fabricante. Resumidamente: 300  $\mu$ L de sangue total foram adicionados a 900  $\mu$ L de solução de lise celular e a mistura incubada por 10 minutos com movimentos de inversão constantes; em seguida, o sobrenadante foi descartado, e as amostras foram levadas ao vórtex evitando a formação de grumos nas etapas subsequentes. Adicionou-se, então, mistura contendo 300  $\mu$ L de solução de lise nuclear e 100  $\mu$ L de solução de precipitação de proteínas; o material foi

novamente centrifugado, transferindo-se o sobrenadante para outro tubo contendo 300 µL de isopropanol, que passou por nova centrifugação, seguida pelo descarte do sobrenadante e pela adição de etanol 70%; procedeu-se mais uma centrifugação, descartando-se o sobrenadante. Obteve-se, então, amostra de DNA, observada na forma de uma massa branca (pellet) no fundo do tubo. Esta foi incubada com 100 µL de uma solução de reidratação em banho-maria por 1 hora a 65°C com o objetivo de que o DNA fosse eluído.

A pureza e concentração do DNA foram determinadas por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, corado com GelRed™ (Biotium, Hayward, CA, USA), e em espectrofotômetro (Biospec-nano, Shimadzu, Japan), por meio do comprimento de onda de 260 e 280 nm. Uma vez determinada a qualidade das amostras, as mesmas são armazenadas em freezer (-20°C) no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Piauí – Campus Ministro Reis Veloso.

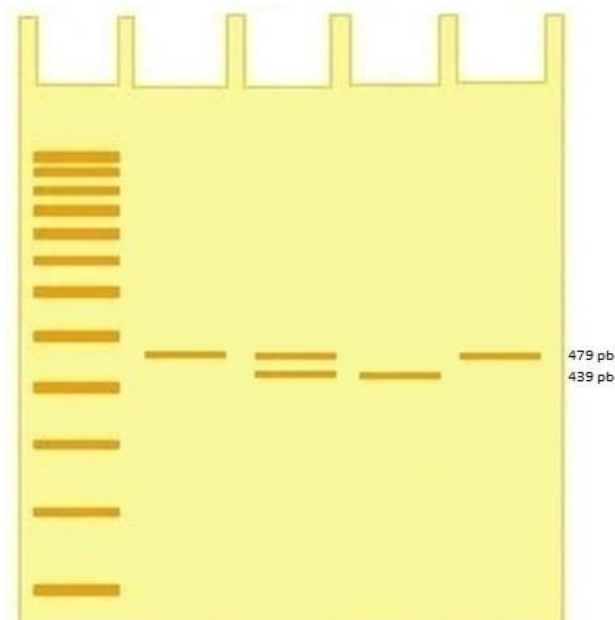
### 3.6 Amplificação e análise do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR (rs28363170)

A análise do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) de 40bp foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os *primers forward* '5-TGT GGT GTA GGG AAC GGC GTG AG-3' e *reverse* '5-CCT CCT GGA GGT CAC GCG TCA AGG-3' (Thermo Fisher Scientific). Para um volume total de reação de 25µL, foram utilizadas as seguintes condições: 1,0 µL de DNA, 2,5 µL de tampão 10x (50 mM de KCl, 20 mM Tris-HCl/pH 8,4), 0,75 µL de MgCl<sub>2</sub>, 1,0 µL de cada primer, 5,0 µL de DNTPs, 0,3 µL de Taq DNA polimerase e 13,45 µL de H<sub>2</sub>O destilada completando o volume total de reação. Todos os reagentes utilizados foram da empresa Ludwig Biotechnology Ltd. (Porto Alegre, RS, Brasil). A PCR foi realizada em termociclador de acordo com os passos listados na Tabela 1.

Tabela 1. Programa para amplificação do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170)

Passos	Temperatura	Tempo	Ciclos
Desnaturação inicial	96°C	5 min.	1 x
Desnaturação	94°C	2 min.	
Anelamento	64°C	30 seg.	35 x
Extensão	72°C	1 min.	
Extensão final	72°C	7 min.	1 x

Para distinção dos genótipos, os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (GE Healthcare) na concentração de 2%, utilizando-se GelRed como corante fluorescente. A eletroforese foi realizada em cuba horizontal com corrente de 110V e os fragmentos amplificados foram visualizados em transiluminador (Loccus Biotecnologia) com fonte de luz ultravioleta. Um marcador de peso molecular de 100 pb foi utilizado para estimar os tamanhos dos fragmentos. Os genótipos visualizados neste estudo foram os alelos 10R e 9R. Os tamanhos dos fragmentos do alelo 10R e 9R são 479 pb e 439 pb (Figura 4).

Figura 4: Padrão de bandas esperadas para o polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170)

Fonte: Própria.

### 3.7 Amplificação e análise do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790)

A análise do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) de 30bp, foi realizado por meio da PCR para determinar as repetições 5R e 6R, diante disso, foi utilizado os *primers forward* 5'-CCC AGG GAC ATC TGC TAA TG -3' e *reverse* 5'-CAC AAA TGA GTG TTC GTG CAT G-3' (Thermo Fisher Scientific). Para um volume total de reação de 25µL, foram utilizadas as seguintes condições: 1,0 µL de DNA, 2,5 µL de tampão 10x (50 mM de KCl, 20 mM Tris-HCl/pH 8,4), 0,9 µL de MgCl<sub>2</sub>, 0,4 µL de cada primer, 4,0 µL de DNTPs, 0,2 µL de Taq DNA polimerase e 15,6 µL de H<sub>2</sub>O destilada completando o volume total de reação. Todos os reagentes utilizados foram da empresa Ludwig Biotechnology Ltd. (Porto Alegre, RS, Brasil). A PCR foi realizada em termociclador de acordo com os passos listados na Tabela 2.

Tabela 2. Programa para amplificação do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790).

<b>Passos</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>	<b>Ciclos</b>
Desnaturação inicial	93°C	5 min.	1 x
Desnaturação	93°C	30 seg.	
Anelamento	63°C	1 min.	35 x
Extensão	72°C	1 min.	
Extensão final	72°C	4 min.	1 x

Para distinção dos genótipos, foi realizado com base no polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170). Os genótipos visualizados foram os alelos 5R e 6R. Os tamanhos dos fragmentos do alelo 5R e 6R são respectivamente, 254 pb e 284 pb (Figura 5).

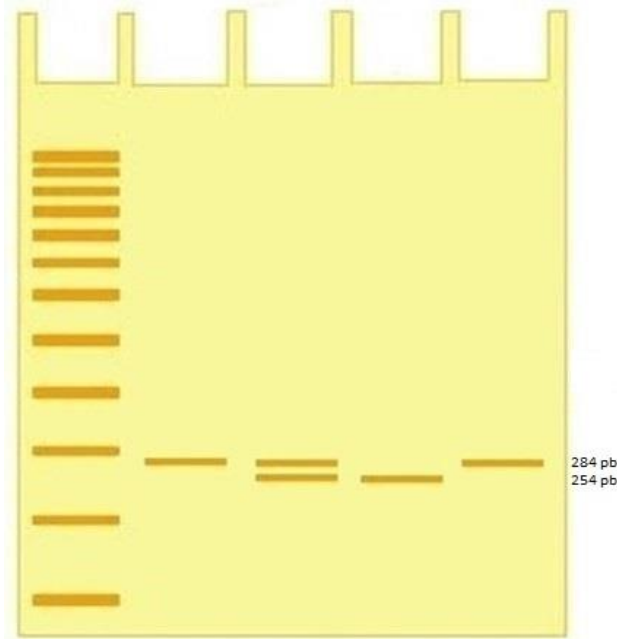


Figura 5: Padrão de bandas esperadas para o polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790).  
Fonte: Própria.

### 3.8 Análise estatística

As frequências genótípicas foram testadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg usando  $\chi^2$ -teste. Posteriormente, realizamos as análises de variância (ANOVAs) de um fator a fim de avaliar a diferença dos genótipos dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) em dados de assimetria (Fp1-Fp2, F3-F4 e F7-F8) nas oscilações da banda alfa do EEGq.

Para a análise do EA e do ER realizamos uma ANOVA de dois fatores com o fator grupo (*SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) e o fator tempo (1, 4, 7, 9 segundos). Em adição, a fim de testar uma predição significativa entre os genótipos dos polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) na variável comportamental de estimativa do tempo, modelos de regressão foram analisados. O tamanho do efeito foi estimado como Eta parcial ao quadrado ( $\eta^2p$ ). A potência estatística e o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foram calculados para as variáveis dependentes. A magnitude do efeito foi interpretada utilizando as recomendações sugeridas por Hopkins et al. (2009): 0,0 = trivial; 0,2= pequeno; 0,6= moderado; 1,2= grande; 2,0= muito



grande; 4,0= quase perfeita. A probabilidade de 5% para o erro tipo I foi adotada em todas as análises ( $p \leq 0,05$ ). Desse modo, para detectar se houve uma diferença real na população, o poder estatístico foi interpretado com 0,8 a 0,9= potência alta (Fayers e Machin, 1995). Todas as análises foram conduzidas utilizando o SPSS para Windows versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS

#### 4.1 Variáveis genéticas

Para o *SLC6A3* 3'-UTR VNTR, as frequências alélicas de 10R e 9R foram de 0,75 e 0,25, respectivamente. Em adição, para o *SLC6A3* Intron 8 VNTR, as frequências alélicas de 6R e de 5R foram de 0,72 e 0,28, respectivamente. Todos os genótipos observados para os polimorfismos do estudo estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3). As frequências alélicas foram realizadas por simples contagem e baseadas na funcionalidade dos polimorfismos, dessa forma, os resultados são comparáveis aos relatos anteriores em amostras de indivíduos adultos (FRANKE et al., 2008, 2010; TONG et al., 2015).

Tabela 3. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos do gene *SLC6A3*.

Variantes genéticas	Frequência	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
<b><i>SLC6A3</i> 3'-UTR VNTR</b> (n=73)		
10R/10R	41 (56,2%)	(p=0,85)
10R/9R	27 (36,9%)	
9R/9R	5 (6,8%)	
<b>Alelos</b>		
10R	109 (75%)	
9R	37 (25%)	
<b><i>SLC6A3</i> Intron 8 VNTR</b> (n=103)		
6R/6R	57 (55,34%)	(p=0,061)
6R/5R	34 (33,01%)	
5R/5R	12 (11,65%)	
<b>Alelos</b>		
6R	148 (72%)	
5R	58 (28%)	

## 4.2 Variáveis comportamentais

A ANOVA de dois fatores para o EA e ER não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os polimorfismos estudados ( $p > 0,05$ ), porém os erros de execução da tarefa aumentam a medida que aumenta os intervalos de tempo (Figura 6 e 7). As análises de regressão indicaram que os genótipos do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) (10R/10R, 10R/9R e 9R/9R), os quais influenciam a regulação na síntese proteica do transportador de dopamina, não exerceram um efeito significativo no EA e ER para todos os intervalos alvo na tarefa de estimativa do tempo (Tabela 4). Para verificar se a variável comportamental estava gerando influência nos dados genotípicos, realizamos análises separadas, e nenhuma foi significativa, ( $p > 0,05$ ).

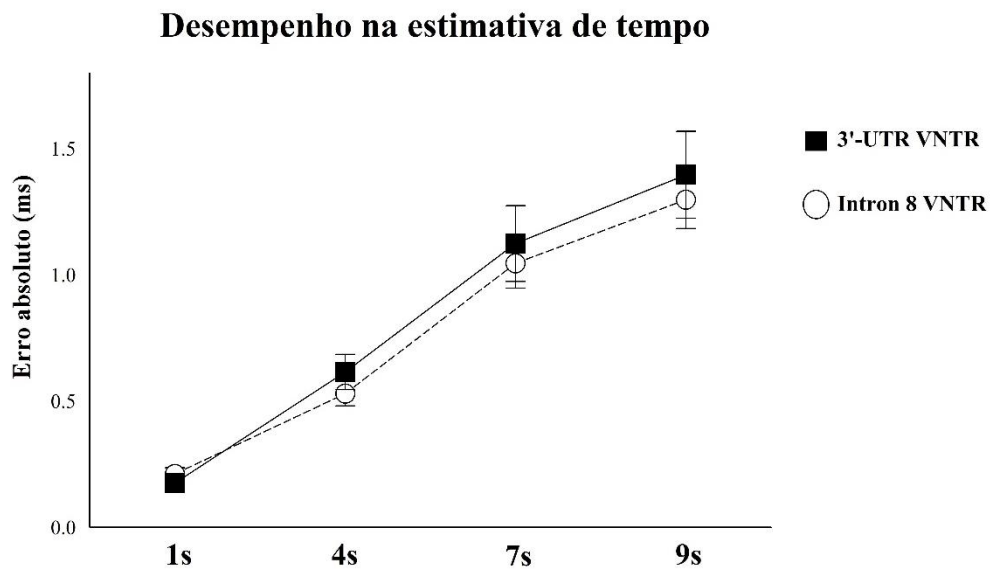


Figura 6. Erro absoluto dos participantes durante a tarefa de estimativa do tempo, representados pela média e desvio padrão.

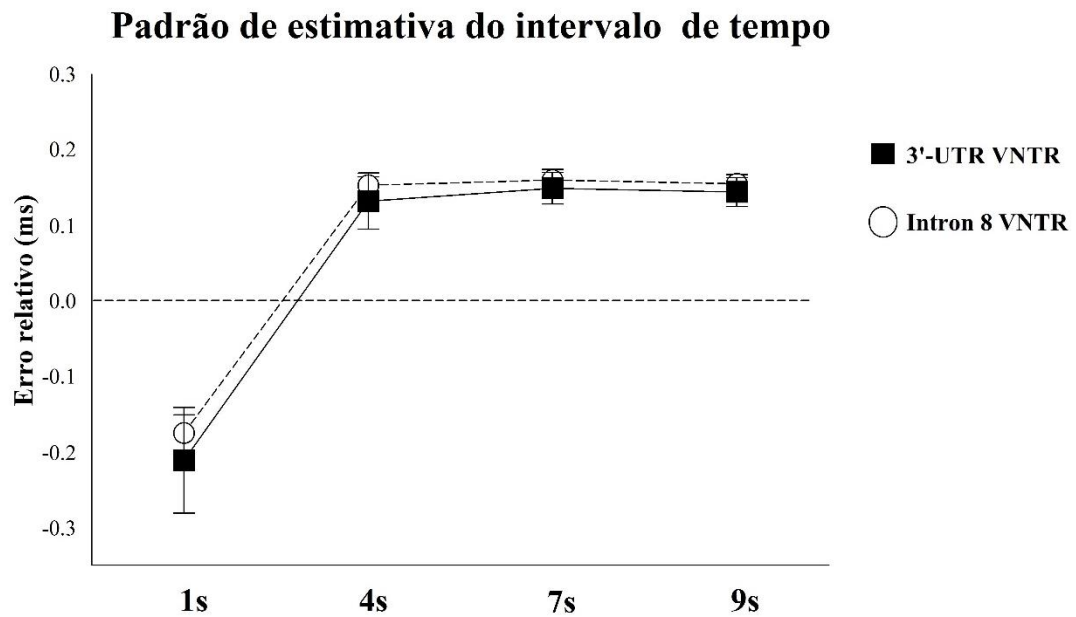


Figura 7. Erro relativo dos participantes durante a tarefa de estimativa do tempo, representados pela média e desvio padrão.

Os resultados das análises de regressão para o polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) indicaram efeitos significativos somente para os intervalos de tempo de 1s ( $R^2=0,76$ ,  $B=0,87$ ,  $p=0,001$ ) e para 9s ( $R^2=0,81$ ,  $B=0,21$ ,  $p=0,002$ ) (Tabela 5). Em consideração ao ER revelar a magnitude de subestimação e superestimação no desempenho da tarefa, a análise da regressão demonstrou efeito para os intervalos de 1s ( $R^2=0,88$ ,  $B=0,871$ ,  $p=0,001$ ) e 9s ( $R^2=0,86$ ,  $B=0,410$ ,  $p=0,002$ ), respectivamente (Tabela 5). Logo, o perfil de codificação proteica dos genótipos 6R/6R, 5R/6R e 5R/5R promovem mudanças no padrão de exatidão e precisão para com os valores do EA e ER, pois atuam na modulação dopaminérgica envolvida na velocidade do relógio interno, o qual atua em intervalos de tempo que demandam atividades automáticas, demandas executivas e cognição.

Tabela 4. Modelo de regressão para o erro absoluto (EA) e erro relativo (ER) em função dos genótipos do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170).

Variável	<i>B</i>	Erro padrão	Beta	Wald	<i>p</i>	Odds Ratio	IC95% para Odds Ratio	
							Mínimo	Máximo
<b>EA1S</b>	0,108	0,037	0,068	0,291	0,772	1,025	-0,063	0,085
<b>EA4S</b>	0,032	0,071	-0,011	-0,451	0,652	0,972	-0,169	0,106
<b>EA7S</b>	0,064	0,150	0,019	0,432	0,670	1,012	-0,231	0,359
<b>EA9S</b>	0,017	0,172	0,023	0,098	0,291	0,999	-0,320	0,353
<b>ER1S</b>	-0,180	0,038	0,075	1,129	0,072	1,025	-0,063	0,085
<b>ER4S</b>	-0,085	0,017	-0,110	1,451	0,065	0,891	-0,042	0,026
<b>ER7S</b>	0,911	0,021	0,121	0,428	0,067	1,085	-0,033	0,051
<b>ER9S</b>	0,222	0,019	0,08	1,099	0,092	0,992	-0,036	0,039

Tabela 5. Modelo de regressão para o erro absoluto (EA) e erro relativo (ER) em função dos genótipos do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790).

Variável	<i>B</i>	Erro padrão	Beta	Wald	<i>p</i>	Odds Ratio	IC 95% para Odds Ratio	
							Mínimo	Máximo
<b>EA1S</b>	0,780	0,025	0,410	3,551	0,001*	1,274	0,039	0,136
<b>EA4S</b>	0,031	0,049	0,014	0,625	0,532	0,950	-0,062	0,126
<b>EA7S</b>	0,078	0,099	0,017	0,795	0,427	1,004	-0,115	0,273
<b>EA9S</b>	0,221	0,115	0,392	12,006	0,002*	1,001	-0,104	0,348
<b>ER1S</b>	0,870	0,025	0,781	6,551	0,001*	1,274	0,039	0,136
<b>ER4S</b>	0,080	0,012	0,140	1,625	0,532	0,851	-0,016	0,032
<b>ER7S</b>	0,110	0,014	0,170	0,795	0,079	0,768	-0,017	0,039
<b>ER9S</b>	0,410	0,013	0,231	5,058	0,002*	0,718	-0,012	0,039

#### 4.3 Variáveis eletrofisiológicas

As análises revelaram que a assimetria cerebral teve predominância cortical à esquerda.

A one-way ANOVA não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os genótipos 10R/10R, 10R/9R e 9R/9R do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e a

atividade eletrofisiológica na área frontal, visto que não diferiram para o padrão de assimetria em Fp1-Fp2: [ $F(1,72)=2,182$ ;  $p=0,37$ ,  $\eta^2p=0,21$ , poder=42%]; assimetria de F3-F4: [ $F(1,72)=1,969$ ,  $p=0,33$ ,  $\eta^2p=0,31$ , poder=62%] e assimetria de F7-F8: [ $F(1,72)=2,826$ ,  $p=0,09$ ,  $\eta^2p=0,45$ , poder=78%] (Figura 8). Da mesma forma, entre os genótipos 6R/6R, 6R/5R e 5R/5R do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) e a atividade eletrofisiológica na área frontal, não diferiram para o padrão de assimetria em Fp1-Fp2: [ $F(2,102)=1,261$ ,  $p=0,288$ ,  $\eta^2p=0,45$ , poder=27%], F3-F4: [ $F(2,102)=10,767$ ,  $p=0,46$ ,  $\eta^2p=0,45$ , poder=87%] e assimetria de F7-F8: [ $F(2,102)=3,32$ ,  $p=0,727$ ,  $\eta^2p=0,6$ , poder=90%] (Figura 9).

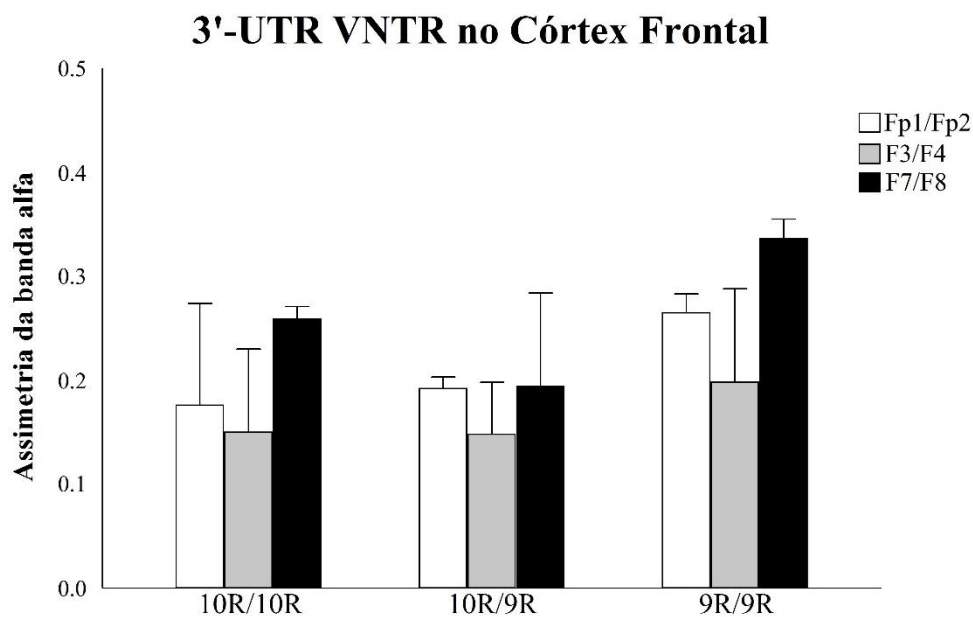


Figura 8. Assimetria da banda alfa no córtex pré-frontal anterior, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex pré-frontal ventrolateral. Representação com a média  $\pm$  erro padrão para os genótipos do polimorfismo *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170).

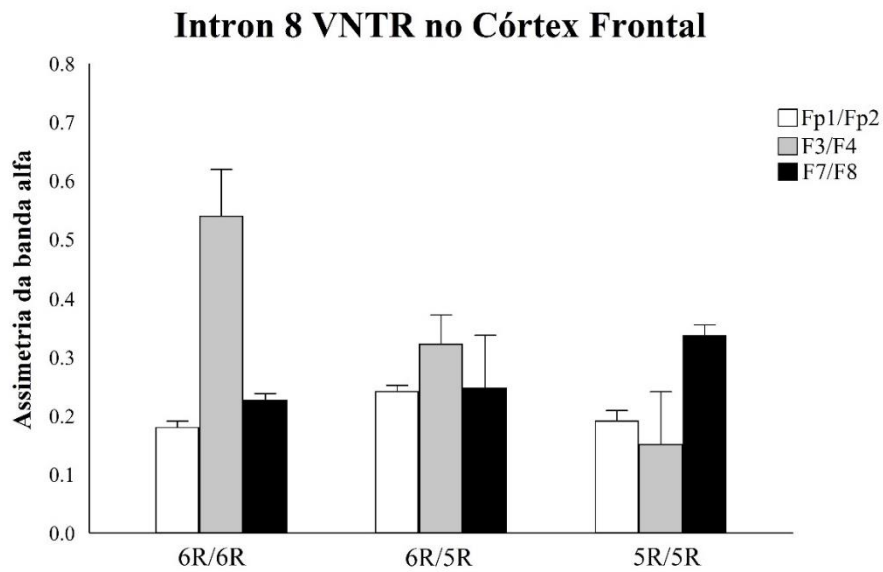


Figura 9. Assimetria da banda alfa no córtex pré-frontal anterior, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex pré-frontal ventrolateral. Representação com a média  $\pm$  erro padrão para os genótipos do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790).

## CAPÍTULO V

---

### 5. DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro a incluir uma amostra de adultos saudáveis para examinar a relação da assimetria frontal com os polimorfismos do gene *SLC6A3*, com a hipótese de que o status do genótipo estaria associado com mudanças na predominância de atividade frontal e desempenho em tarefa de estimativa do tempo. Os resultados serão discutidos em dois momentos. No primeiro, a variável comportamental referente ao erro absoluto, ao erro relativo e os polimorfismos estudados. No segundo, a variável eletrofisiológica.

#### 5.1 Variáveis comportamentais

Os resultados apresentados no estudo para o EA e ER indicam que a temporização observada está direcionada para o modelo de "relógio interno", o qual é um sistema centralizado de tempo entre os estímulos e a tarefa de medição (TEIXEIRA et al., 2013, FONTES et al., 2016). A representação do tempo por este relógio pode envolver a acumulação de impulsos emitidos por um marcapasso, ou a detecção de atividade coincidente entre um conjunto de osciladores em diferentes períodos de tempo, engajada principalmente por meio de proeminências dopaminérgicas existentes no córtex pré-frontal (ADDYMAN; ROCHA; MARESCHAL, 2014; COULL et al., 2012). Estudos de Coull, Cheng e Meck, (2011) e Barzman, Geise e Lin, (2015) demonstraram a associação do córtex pré-frontal e área motora suplementar, em temporizar tarefas de estimativa do tempo com durações explícitas de estímulos visuais. No entanto, cada região pode ter um papel funcional distinto e diferencialmente implicada dependendo do contexto tarefa. Entre estes, os achados indicam que



o percurso dopaminérgico nigrostriatal ascendente parece ser a mais importante destas regiões, isto devido a maior associação com o córtex pré-frontal, além de atuação no aumento ou diminuição da codificação proteica na atividade recicladora de dopamina nesta área por meio do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790). (MACAR; VIDAL, 2009; COULL; CHENG; MECK, 2011; BARZMAN; GEISE; LIN, 2015; WIENER et al., 2014). Logo, a base de cronometragem dos intervalos de tempo de acordo com a propriedade escalar demonstra que a invariância de escalas de temporização atribuídas à taxa de pulso do marcapasso e a transferência de representações temporais na memória, são propriedades emergentes de interações relacionadas as mudanças em níveis de expressão e codificação proteica do transportador de dopamina na área do córtex pré-frontal (WIENER; LOHOFF; COSLETT, 2011; MECK et al., 2012; BALCI et al., 2013).

Os resultados indicam que o polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) atua na codificação dos intervalos de tempo principalmente em períodos de segundos, devido esta gama de intervalos serem vantajosas no envolvimento de processos cognitivos como memória, atenção e tomada de decisão (WIENER et al., 2014, BARTHOLOMEW et al. 2015). Desse modo, os genótipos 6R/6R em relação aos genótipos 6R/5R e 5R/5R promovem uma subestimação para os intervalos de 1s e superestimação do tempo para os intervalos de 9s. Isto é refletido pelas interferências no número de oscilações captadas por unidade de tempo a partir do relógio interno (ALLMAN et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2013) e levou a mudanças no fluxo de pulsos produzidos pelo marcapasso interno na presença da tarefa. Estes pulsos foram recolhidos, contados e em seguida comparados com as representações armazenadas a fim de permitir o julgamento do intervalo de tempo (FONTES et al., 2016). Consequentemente, os resultados indicam que os polimorfismos genéticos determinam o sincronismo na temporização dos intervalos de 1s e 9s (GREEN et al., 2008; SYSOEVA; TONEVITSKY; WACKERMANN, 2010). Isso demonstra que *SLC6A3* Intron 8 VNTR modula a cronometragem subjetiva do

tempo, alterando a velocidade do relógio interno e diminuindo a precisão em julgar intervalos de tempo. Logo, os substratos neurais subjacentes aos três estágios de relógio (fase de relógio, fase de memória e decisão) podem ser modulados em função da regulação proteica na codificação da proteína pelos polimorfismos de *SLC6A3*, que de acordo com este modelo, participa principalmente na fase de relógio. Um aumento da sinalização dopaminérgica acelera a acumulação de impulsos em períodos de tempo e modifica o processo de codificação das informações acumuladas (MATTHEWS; MECK, 2014; DROID-VIOLET, 2013), além de influenciar a atenção sustentada ao estímulo visual. Neste caso, a atenção na tarefa no intervalo de 1s apresentou menor acúmulo de pulsos da informação temporal em comparação ao intervalo de 9s, isso devido à desaceleração do relógio interno, que garante uma conclusão básica de que fatores não-temporais influenciam a percepção de um determinado intervalo de tempo (DREW et al., 2003; MATTHEWS; MECK, 2014; GOLOMBEK; BUSSI; AGOSTINO, 2014).

Tem sido observado que o nível de atenção modula a atividade de áreas corticais responsáveis por permitir a acumulação de informações, reações a estímulos e desempenho em atividades motoras e cognitivas, as quais são dependentes do nível de excitação neural, estado emocional e variações do ciclo circadiano (DROIT-VOLET, 2013; PLOMIN et al., 2013). Em complemento, indivíduos possuem a capacidade de sincronizar intervalos de tempo próximos a 1s de maneira automática por intermédio da atuação de integração neural com estruturas subcorticais (e.g., núcleos da base, cerebelo), assim a interpretação subjetiva do tempo em relação ao intervalo de 1s torna-se próxima a duração real da tarefa (COULL; CHANG; MECK, 2011; ALLMAN et al, 2014). A possível explicação para o achado de efeito no intervalo de 1s, é que o limite de temporização entre o sincronismo automático e cognitivo pode ser mais curto em relação ao tempo alvo (COULL et al., 2004). Sob esta perspectiva, a codificação do intervalo de 1s pode ser considerada automática e, portanto, justificar as diferenças entre os

participantes na execução da tarefa de estimativa do tempo (IVRY; SPENCER, 2004; JONES et al., 2004; FINNETY et al., 2015).

No intervalo de 9s a variação *SLC6A3* Intron VNTR modificou o desempenho na execução da tarefa, e assim, evidenciamos uma superestimação do intervalo de tempo ( $p < 0,05$ ). Os dados relacionados destacam que o córtex pré-frontal e suas proeminências dopaminérgicas desempenham um comportamento compensatório na sincronização de atividade neural em níveis atencionais à medida que aumenta o período de temporização na tarefa (DROIT-VOLET; MECK, 2007; COULL; CHANG; MECK, 2011; FINNETY et al., 2015). O ajuste relacionado ao processo de temporização do intervalo de 9s repercute em aspectos neurobiológicos dependentes da consciência e ações executivas. Nesse sentido, os resultados sugerem que as mudanças na capacidade de captação de dopamina na fenda sináptica do córtex pré-frontal exercidos pelas variantes genótípicas 6R/6R, 6R/5R e 5R/5R, influenciam o reconhecimento de padrões espaciais e temporais por intermédio de seus osciladores externos (receptores sensoriais), e dessa maneira auxilia na percepção mais alongada do tempo (GUPTA, 2014). Possivelmente, o desempenho nas tarefas cognitivas e de cronometragem de intervalos de tempo dependem da neurotransmissão dopaminérgica ao reforçar a interação entre os núcleos da base e as áreas corticais no processo de sincronismo dos *inputs* neurais na capacidade perceptiva.

Em complemento, a fim de contribuir na resposta a esse questionamento, o baixo nível de vigilância durante ao aumento do intervalo de tempo a ser codificado implica em redução da velocidade do relógio interno. Por exemplo, Minkwitz et al. (2012), por meio da eletroencefalografia, verificaram uma diminuição da atividade cortical em estado de vigilância durante a decisão e percepção de longos intervalos de respostas motoras e estímulos auditivos. Os resultados analisados demonstram que a precisão na capacidade perceptiva e reprodução motora prediz o estado de vigília do indivíduo. A disfunção ocorre por meio de deficiências na

comunicação de circuitos neurais entre o córtex pré-frontal e cerebelo em processar informações necessárias no desempenho motor e percepção dos intervalos de tempo. Isso demonstra um aumento dos recursos cognitivos para a demanda da tarefa à medida que aumenta o intervalo a ser temporizado.

Dada a importância do transporte e a recaptção dopaminérgica na codificação dos intervalos de tempo, os experimentos em diversos estudos têm sido demonstrados críticos para o julgamento temporal em seres humanos e demais espécies (RAMMSAYER, 1993). Estudos com modelagem experimental baseada em ratos nocauteados geneticamente para *SLC6A3*, corroboram na evidência de aumentos na concentração de dopamina no córtex pré-frontal e *inputs* neurais deficientes na neurotransmissão da via nigroestriatal. Níveis elevados do neurotransmissor implica em comprometimento tanto no intervalo de tempo como na motivação para trabalhar por recompensas alimentares (DREW et al., 2007). Em associação com essas características, mostrou-se que os déficits na precisão de tempo parecem ser mediados por deficiências no sistema de motivação, memória de trabalho ou atenção sustentada. Em geral, a alteração global da regulação proteica de DAT por intermédio do *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) resultam em comportamentos de subestimação e superestimação em função da cronometragem do tempo. No entanto, infere-se que o efeito resultante não se assemelha ao efeito de velocidade do relógio induzido pelas injeções de droga agonistas dopaminérgicas quando os ratos são treinados por pico de intervalo (PI) (AGOSTINO; CHENG, 2016).

Neste princípio, o estudo direciona para a interpretação de que a base molecular em função da cronometragem do tempo promove desvios na sensibilidade perceptiva dos estímulos e pode ajudar a esclarecer as formas pelas quais a informação temporal é representada. Por um outro ponto de vista, seguindo os preceitos do modelo de referência interna (MRI) (MATTHEWS; MECK, 2014), os polimorfismos genéticos modificam o padrão de oscilações

do sincronismo neural na precisão de discriminação dos estímulos e no padrão de comparação com base na memória. Sob esta questão, os participantes possuem um maior *delay* no processo cognitivo de comparar o estímulo com uma referência interna, que compreende uma combinação linear ponderada do primeiro estímulo e o nível de referência interna do ensaio anterior.

## 5.2 Variáveis eletrofisiológicas

Nos resultados não foram observado diferença estatisticamente significativa entre os genótipos dos polimorfismos estudados e a variável eletrofisiológica, no entanto, foi evidenciado predominância de ativação do córtex frontal esquerdo (Figura 8 e 9). Estes resultados direcionam para o entendimento de que os polimorfismos estudados podem estar associadas com as funções do córtex frontal esquerdo na interpretação da estimativa do tempo (DREW et al., 2003; MATTHEWS; MECK, 2014; WIENER et al., 2014).

Em geral, registros eletrofisiológicos indicam que as oscilações de assimetria da banda alfa na área frontal estão associadas com uma variedade de funções cognitivas fundamentais para o desempenho de tarefas. Isso ocorre devido a diversos fatores, dentre eles, os *loops* das conexões estriato-tálamo-corticais no sincronismo de informações relevantes para a capacidade perceptiva em todos os domínios de tempo (COULL et a., 2004; MECK, 2009). As alterações transitórias da assimetria em alfa no córtex frontal são consideradas como um correlato objetivo do nível atencional (HARMON-JONES; GABLE; PETERSON, 2010). Conceitualmente a este modelo de ativação, sugere-se que a dicotomia de sistemas de auto regulação em aspectos cognitivos e na capacidade de responder a estímulos prévios do ambiente (PAPOUSEK et al., 2013), ocorre por meio de um deslocamento de atividade relativamente maior no córtex frontal esquerdo (evidenciado pela atividade da banda alfa aumentada) (HARMON-JONES; GABLE; PETERSON, 2010). Nesse sentido, o aumento da assimetria a esquerda no córtex frontal,

destaca o papel no armazenamento da informação temporal em nível de supra segundos, por estar especialmente associado a processos cognitivos relacionados com a atenção para estímulos visuais (LEWIS; MIALL, 2006; ALLMAN; MECK, 2012; JENSEN; MAZAHERI, 2010), atuando no domínio neurobiológico fundamental na oscilação do relógio interno durante o desempenho da tarefa de estimativa do tempo (LEWIS; MIALL, 2006; MATTHEWS; MECK, 2014).

Ao considerar que o córtex frontal esquerdo está intimamente relacionado com processos de atenção voluntária (KLIMESCH, 2012), observa-se que a banda alfa é modulada de acordo com a demanda cognitiva e sincronia da percepção dos estímulos (sejam visuais ou auditivos) e resultam em evidências para sua supressão da atividade cortical relacionada à execução da tarefa. Então, quando o indivíduo direciona menor atenção em tarefas automáticas, ocorre o aumento da assimetria na banda alfa (JENSEN; MAZAHERI, 2010; SNYDER; FOXE, 2010; BONNEFOND; JENSEN, 2012). Os achados no presente estudo demonstram que os circuitos que regulam recursos cognitivos para a captação e o armazenamento de memória dos intervalos de tempo são mensurados com base no padrão de atividade assimétrica do EEGq (BUHUSI; MECK, 2005; FUKUDA; MANCE; VOGEL, 2015; SAMAHA; POSTLE, 2015; PALVA; PALVA, 2011; KOCH et al., 2009; CECERE et al., 2015). Este achado difere de alguns estudos que estabelecem um domínio hemisférico à direita para os recursos de processamento temporal (JONES et al., 2008; DROIT-VOLET, 2013; PLOMIN et al., 2013). Entretanto, os achados podem ser explicados pelo fato de que a região frontal esquerda é mais apta a codificação de informações que serão acumuladas nas diversas áreas temporizadoras para o planejamento e integração sensorial de estímulos ambientais (LEWIS; MIALL, 2006; DROID-VOLET et al., 2013).

Uma das possíveis explicações para a assimetria frontal à esquerda, refere-se a maior recaptação de dopamina na fenda sináptica do córtex frontal por meio dos genótipos de *SLC6A3*

3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790). Assim, influenciam conexões dopaminérgica com outras áreas (i.e., amígdala, núcleos da base), o córtex frontal modula o processamento das informações relevantes para a temporização e tomada de decisão (PAPOUSEK et al., 2013). Logo, as associações entre os polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790) e a assimetria da banda alfa no córtex frontal podem tornar-se notórias no contexto de determinar fenótipos relevantes para a percepção e desempenho em tarefas de estimativa do tempo (MATTHEWS; MECK, 2014). À primeira vista, parece ser plausível que os genes relacionados com a modulação dos níveis de dopamina, afetam o processamento de temporização dos estímulos, e assim, refletem na menor amplitude de informações que são transmitidas por meio de conexões da via nigroestriatal no circuito estriato-tálamo-cortical.

Além disso, a dopamina modifica a sincronização de informações obtidas a partir de receptores sensoriais, os quais são responsáveis em captar e redirecionar as informações para serem interpretadas em ações executivas propostas no modelo clássico de 'marcapasso-acumulador' (MERCHANT; HARRINGTON; MECK, 2013; ZHANG; PTÁČEK; FU, 2013). Considerando a importância da neurotransmissão dopaminérgica para o processamento temporal, Gupta (2014) propõe a relação eletrofisiológica de oscilações neurais mensuradas por meio da frequência em alfa do EEGq em vários relógios modulares localizados em áreas de conexões com circuito frontoparietal e vias dopaminérgicas. Com base nas afirmações relacionadas as condições eletrofisiológicas e níveis de dopamina na codificação preditiva dos intervalos de tempo, um estudo de discriminação temporal de Kononowicz e Van Rijn (2014) analisou potenciais evocados seguindo o desvio absoluto entre a duração padrão e o período de comparação. Os autores verificaram aumento da atividade da banda alfa na percepção de durações mais próximas das durações padrão independentemente da duração apresentada. Isso indica uma contínua retroalimentação no marcapasso do *striatum* de modo a auxiliar a

modulação dos osciladores na codificação do julgamento temporal (COULL et al., 2004; GUPTA, 2014).

Finalmente, os dados individuais apresentaram valores assimétricos maiores no córtex frontal esquerdo, pode estar associado com a riqueza do córtex do frontal com receptores D1-D5, além de alta atividade recicladora de dopamina. Então, os dados sugerem que a direção e o grau de assimetria em áreas que atuam marcadores dopaminérgicos podem demonstrar um traço comportamental na discriminação dos intervalos de tempo.



## CAPÍTULO VI

---

### 6. CONCLUSÃO

O estudo polimorfismos genéticos associados a medidas eletrofisiológicas não é apenas relevante para a saúde como biomarcador diagnóstico de doenças neurológicas, tem o potencial de informar a respeito dos diversos fenótipos comportamentais que alteram o julgamento temporal. A respeito, o presente estudo é o primeiro a incluir o papel das bases moleculares relacionadas ao transportador de dopamina no padrão assimétrico do córtex frontal esquerdo, relacionando-os a percepção e cronometragem dos intervalos de supra segundos em tarefas de estimativa do tempo. Os níveis do neurotransmissor dopamina, em resumo, são regulados por importantes polimorfismos *SLC6A3* 3'-UTR VNTR (rs28363170) e *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790), que modulam a química das bases neurais, principalmente nos circuitos que envolvem a atuação do córtex frontal, por meio de suas proeminências dopaminérgicas córtico-estriatais. Isso parece estar associado com a determinação de aspectos neurobiológicos pertinentes a cognição. A hipótese de atuação no julgamento de intervalos de tempo é suportada por mudanças no sincronismo de informações do processo perceptivo no córtex frontal em função do nível atencional, ocasionando maiores oscilações da assimetria da banda alfa na região esquerda.

Este estudo indica que as oscilações da assimetria da banda alfa no córtex frontal podem modular a interpretação dos intervalos de tempo em nível de supra segundos, com influência genética no EA e ER para os intervalos de tempo de 1s e 9s, devido a flutuação dopaminérgica em função dos genótipos do polimorfismo *SLC6A3* Intron 8 VNTR (rs3836790). As conclusões de influência genética na assimetria frontal em função da capacidade perceptiva ainda requerem

mais investigações, principalmente, com maior tamanho da amostra, mais polimorfismos que atuem em fenótipos comportamentais, utilização de outros modelos de análise da percepção do tempo em diferentes intervalos de tempo. Embora seja o primeiro trabalho a evidenciar padrão a esquerda em estimativa do tempo, o estudo direciona para o avanço no entendimento de que a influência genética modula a neuroquímica e pode influenciar o comportamento individual na percepção e codificação dos intervalos de tempo. Dessa maneira, o estudo traz implicações importantes não só para o mapeamento das bases neurobiológicas da percepção do tempo em indivíduos saudáveis, direciona para o entendimento futuro das possíveis relações para o comportamento da percepção do intervalo de tempo em doenças neurológicas. Além disso, estudo futuros poderão esclarecer o papel da desregulação assimétrica da neurotransmissão dopaminérgica na mediação de fenótipos comportamentais e patológicos, visto que as informações genéticas e cognitivas compõem meios que direcionam o esclarecimento dos mecanismos que fundamentam a percepção do intervalo de tempo em humanos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDYMAN, C.; ROCHA, S.; MARESCHAL, D. Mapping the Origins of Time: Scalar Errors in Infant Time Estimation. **Developmental Psychology**. Advance online publication. 30: a0037108, 2014.
- AGHDAEE, S.M.; BATTELLI, L.; ASSAD, J.A. Relative timing: from behaviour to neurons. **Phil. Trans. R. Soc. B**. 369: 20120472, 2014.
- AGOSTINO, P.V.; CHENG, R.K. Contributions of dopaminergic signaling to timing accuracy and precision. **Current Opinion in Behavioral Sciences**. 8:153–160, 2016.
- ALLMAN, M.J.; MECK, W.H. Pathophysiological distortions in time perception and timed performance. Pathophysiological distortions in time perception. **Brain**. 135:656–677, 2012.
- ALLMAN, M.J.; TEKI, S.; GRIFFITHS, T.D.; MECK, W.H. Properties of the internal clock: first-and second-order principles of subjective time. **Annual review of psychology**. 65:743-771, 2014.
- ARIAS-CARRIÓN, O. et al. Dopaminergic reward system: a short integrative review. **Int Arch Med**. 3(6):24, 2010.
- BALCI, F.; WIENER, M.; CAVDAROĞLU, B.; BRANCH, C.H. Epistasis effects of dopamine genes on interval timing and reward magnitude in humans. **Neuropsychologia**. 51(2):293-308, 2013.
- BALCI, F. et al. Acquisition of peak responding: what is learned?. **Behav Processes**. 80(1):67-75, 2009.
- BALCI, F.; LUDVIG, E.A.; ABNER, R.; ZHUANG, X.; POON, P.; BRUNNER, D. Motivational effects on interval timing in dopamine transporter (DAT) knockdown mice. **Brain Res**. 1325(14):89-99, 2010.
- BANNON, M.J. et al. The human dopamine transporter gene: gene organization, transcriptional regulation, and potential involvement in neuropsychiatric disorders. **Eur Neuropsychopharmacol**. 11:449–455, 2001.
- BARTHOLOMEW, A.J.; MECK, W.H.; CIRULLI, E.T. Analysis of Genetic and Non-Genetic Factors Influencing Timing and Time Perception. **PLoS One**. 10(12):e0143873, 2015.
- BARZMAN, D.; GEISE, C.; LIN, P. Review of the genetic basis of emotion dysregulation in children and adolescents. **World J Psychiatry**. 5(1): 112-117, 2015.
- BENDER, S. et al. Time-Resolved Influences of Functional DAT1 and COMT Variants on Visual Perception and Post-Processing. **PLoS ONE**. 7(7): e41552, 2012.
- BERLIN, H.A.; ROLLS, E.T.; KISCHKA, U. Impulsivity, time perception, emotion and reinforcement sensitivity in patients with orbitofrontal cortex lesions. **Brain**. May;127(Pt 5):1108-26, 2004.

BERRY, A.S.; LI, X.; LIN, Z.; LUSTIG, C. Shared and distinct factors driving attention and temporal processing across modalities. **Acta Psychol (Amst)**. 147:42-50, 2014.

BERRYHILL, M.E.; JONES, K.T. tDCS selectively improves working memory in older adults with more education. **Neurosci. Lett**. 521:148–151, 2012.

BISMARCK, A.W. et al. Polymorphisms of the HTR1a allele are linked to frontal brain electrical asymmetry. **Biological Psychology**. 83:153–158, 2010.

BISSONETTE, G.B.; ROESCH, M.R. Development and function of the midbrain dopamine system: what we know and what we need to. **Genes Brain Behav**. 13, 2015.

BLOCK, R.A.; GRONDIN, S. Timing and time perception: A selective review and commentary on recent reviews. **Front Psychol**. 5: 648, 2014.

BONNEFOND, M.; JENSEN, O. Alpha oscillations serve to protect working memory maintenance against anticipated distracters. **Curr Biol**. 22(20):1969-74, 2012.

BROWN, S.W. Time perception and attention: The effects of prospective versus retrospective paradigms and task demands on perceived duration. **Journal Attention, Perception, & Psychophysics**. v.38, n.2, pag.115-124, 1985.

BUETI, D.; LASAPONARA, S.; CERCIGNANI, M.; MACALUSO, E. Learning about time: plastic changes and interindividual brain differences. **Neuron**. 75(4):725-37, 2012.

BUHUSI, C.V.; MECK, W.H. Differential effects of methamphetamine and haloperidol on the control of an internal clock. **Behav Neurosci**. 116(2):291-7, 2002.

BUHUSI, C.V.; MECK, W.H. What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. **Nat Rev Neurosci**. 6(10):755-65, 2005.

BUONOMANO, D.V.; MAASS, W. State-dependent computations: spatiotemporal processing in cortical networks. **Nat Rev Neurosci**. Feb;10(2):113-25, 2009.

CECERE, R.; REES, G.; ROMEL, V. Individual differences in alpha frequency drive crossmodal illusory perception. **Curr Biol**. 25(2):231-5, 2015.

CEVIK, M.O. Effects of methamphetamine on duration discrimination. **Behav Neurosci**. 117(4):774-84, 2003.

CHENG, R.K.; MACDONALD, C.J.; MECK, W.H. Differential effects of cocaine and ketamine on time estimation: implications for neurobiological models of interval timing. **Pharmacol Biochem Behav**. 85(1):114-22, 2006.

COLZATO, L.S.; VAN DEN WILDENBERG, W.P.; HOMMEL, B. Cognitive control and the COMT Val158Met polymorphism: genetic modulation of videogame training and transfer to task-switching efficiency. **Psychol Res**. 78(5):670-8, 2014.

COLZATO, L.S.; VAN DEN WILDENBERG, W.P.; VAN DER DOES, A.J.; HOMMEL, B. Genetic markers of striatal dopamine predict individual differences in dysfunctional, but not functional impulsivity, **Neuroscience**. 170:782–788, 2010.

COULL, J.T.; CHENG, R.K.; MECK, W.H. Neuroanatomical and Neurochemical Substrates of Timing. **Neuropsychopharmacology**. 36(1): 3–25, 2011.

COULL, J.T.; HWANG, H.J.; LEYTON, M.; DAGHER, A. Dopamine precursor depletion impairs timing in healthy volunteers by attenuating activity in putamen and supplementary motor area. **J Neurosci**. 32(47):16704-15, 2012.

COULL, J.T. et al. Functional anatomy of the attentional modulation of time estimation. **Science**. 5:1506-8, 2004.

DASILVA, A.F. et al. State-of-art neuroanatomical target analysis of high-definition and conventional tDCS montages used for migraine and pain control. **Front. Neuroanat**. 9:89, 2015.

DE AZEREDO, L.A. et al. Further evidence for the association between a polymorphism in the promoter region of SLC6A3/DAT1 and ADHD: findings from a sample of adults. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**. 264(5):401-8, 2014.

DI GIOVANNI, G.; ESPOSITO, E.; DI MATTEO, V. Role of Serotonin in Central Dopamine Dysfunction. **CNS Neuroscience & Therapeutics**. 16:179–194, 2010.

DREW, M.R. et al. Effects of dopamine antagonists on the timing of two intervals. **Pharmacol Biochem Behav**. 75(1):9-15, 2003.

DREW, M.R. et al. Transient overexpression of striatal D2 receptors impairs operant motivation and interval timing. **J Neurosci**. 27:7731-7739, 2007.

DROIT-VOLET, S.; MECK, W.H. How emotions colour our perception of time. **TRENDS in Cognitive Sciences**. 11:504–513, 2007.

DROIT-VOLET, S. Time perception, emotions and mood disorders. **Journal of Physiology - Paris**. v.107. pag. 255–264, 2013.

DROIT-VOLET, S.; FANGET, M.; DAMBRUN, M. Mindfulness meditation and relaxation training increases time sensitivity. **Conscious Cogn**. 31:86-97, 2015.

DU, Y. et al. The association between the SLC6A3 VNTR 9-repeat allele and alcoholism — a meta-analysis. **Alcohol Clin Exp Res**. 35:1625–1634, 2011.

EAGLEMAN, D.M.; HOLCOMBE, A.O. Causality and the perception of time. **Trends Cogn Sci**. 6:323-325, 2002.

ENGEL, A.K.; FRIES, P. Beta-band oscillations--signalling the status quo? **Curr Opin Neurobiol**. Apr;20(2):156-65, 2010.

FARAONE, S.V.; SPENCER, T.J.; MADRAS, B.K.; ZHANG-JAMES, Y.; BIEDERMAN, J. Functional effects of dopamine transporter gene genotypes on in vivo dopamine transporter functioning: a meta-analysis. **Mol Psychiatry**. 19: 880–9, 2014.

FAYERS, P.M.; MACHIN, D. Sample size: how many patients are necessary? **Br J Cancer**. 1995; 72:1–9.

FEHÉR, A.; JUHÁSZ, A.; PÁKÁSKI, M.; KÁLMÁN, J.; JANKA, Z. Association between the 9 repeat allele of the dopamine transporter 40bp variable tandem repeat polymorphism and Alzheimer's disease. **Psychiatry Research**. 220:730–731, 2014.

FERNANDES, A.C.; GARCIA-MARQUES, T. Ilusões temporais: Paradigma experimental. **Laboratório de Psicologia**, 10(2): 265-286, 2012.

FINNERTY, G.T.; SHADLEN, M.N.; JAZAYERI, M.; NOBRE, A.C.; BUONOMANO, D.V. Time in Cortical Circuits. **J Neurosci**. Oct 14;35(41):13912-6, 2015.

FIORILLO, C.D.; NEWSOME, W.T.; SCHULTZ, W. The temporal precision of reward prediction in dopamine neurons. **Nat Neurosci**. Aug;11(8):966-73, 2008.

FONTES, R. et al. Time Perception Mechanisms at Central Nervous System. **Neurol Int**. Apr 1;8(1):5939, 2016.

FOSSELLA, J. et al. Assessing the molecular genetics of attention networks. **BMC Neurosci**. 3:14, 2002.

FRANKE, B. et al. Multicenter analysis of the SLC6A3/DAT1 VNTR haplotype in persistent ADHD suggests differential involvement of the gene in childhood and persistent ADHD. **Neuropsychopharmacology**. 35(3):656–664, 2010.

FUJIOKA, T.; TRAINOR, L.J.; LARGE, E.W.; ROSS, B. Internalized timing of isochronous sounds is represented in neuromagnetic  $\beta$  oscillations. **J Neurosci**. Feb 1;32(5):1791-802, 2012.

FUKUDA, K.; MANCE, I.; VOGEL, E.K.  $\alpha$  Power Modulation and Event-Related Slow Wave Provide Dissociable Correlates of Visual Working Memory. **J Neurosci**. 35(41):14009-16, 2015.

GERMAN, C.L. et al. Regulation of the Dopamine and Vesicular Monoamine Transporters: Pharmacological Targets and Implications for Disease. **Pharmacol Rev**. Oct;67(4):1005-24, 2015.

GOEL, A.; BUONOMANO, D.V. Timing as an intrinsic property of neural networks: evidence from in vivo and in vitro experiments. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**. Jan 20;369(1637):20120460, 2014.

GOLAN, R.; ZAKAY, D. The duality of temporal encoding - the intrinsic and extrinsic representation of time. **Front Psychol**. Aug 31; 6:1288, 2015.

GOLOMBEK, D.A.; BUSSI, I.L.; AGOSTINO, P.V. Minutes, days and years: molecular interactions among different scales of biological timing. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.** 369(1637):20120465, 2014.

GONTIER, E.; HASUO, E.; MITSUDO, T.; GRONDIN, S. EEG Investigations of Duration Discrimination: The Intermodal Effect Is Induced by an Attentional Bias. **PLoS ONE** 8(8): e74073, 2013.

GREEN, A.E. et al. Using genetic data in cognitive neuroscience: from growing pains to genuine insights. **Nat Rev Neurosci.** 9(9):710-20, 2008.

GREENWOOD, T.A. et al. Heritability and Linkage Analysis of Personality in Bipolar Disorder. **J Affect Disord.** 151(2): 748–755, 2013.

GUPTA, D.S. Processing of sub- and supra-second intervals in the primate brain results from the calibration of neuronal oscillators via sensory, motor, and feedback processes. **Front Psychol.** Aug 1; 5:816, 2014.

HABAK, C. et al. Dopamine transporter SLC6A3 genotype affects cortico-striatal activity of set-shifts in Parkinson's disease. **Brain.** 137(11):3025-35, 2014.

HAGGARD, P.; CLARK, S.; KALOGERAS, J. Voluntary action and conscious awareness. **Nature Neuroscience.** 5:382-385, 2002.

HAMIDI, M.; TONONI, G.; POSTLE, B.R. Evaluating frontal and parietal contributions to spatial working memory with repetitive transcranial magnetic stimulation. **Brain Research.** 1230:202-210, 2008.

HANCOCK, P.A.; RAUSCH, R. The effects of sex, age, and interval duration on the perception of time. **Acta Psychologica.** v.133. pag. 170–179, 2010.

HARMON-JONES, E.; GABLE, P.A.; PETERSON, C.K. The role of asymmetric frontal cortical activity in emotion-related phenomena: A review and update. **Biological Psychology.** 84:451–462, 2010.

HARRINGTON, D.L.; ZIMBELMAN, J.L.; HINTON, S.C.; RAO, S.M. Neural modulation of temporal encoding, maintenance, and decision processes. **Cereb Cortex,** 20, 1274–1285, 2010.

HERAI, T.; MOGI, K. Perception of temporal duration affected by automatic and controlled movements. **Conscious Cogn.** 29:23-35, 2014.

HOPKINS, W.G. et al. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. **Med Sci Sports Exerc.** 41(1):3-13, 2009.

HORR, N.K.; WIMBER, M.; DI LUCA, M. Perceived time and temporal structure: Neural entrainment to isochronous stimulation increases duration estimates. **Neuroimage.** May 15; 132:148-56, 2016.

IVRY, R.B.; SPENCER, R.M. The neural representation of time. **Curr Opin Neurobiol.** 14(2):225-32, 2004.

JAHANSHAHI, M.; WILKINSON, L.; GAHIR, H.; DHARMAINDRA, A.; LAGNADO, D.A. Medication impairs probabilistic classification learning in Parkinson's disease. **Neuropsychologia**. 48(4):1096-103, 2010.

JENSEN, O.; MAZAHERI, A. Shaping functional architecture by oscillatory alpha activity: gating by inhibition. **Front Hum Neurosci**. Nov 4; 4:186, 2010.

JENSEN, O.; BONNEFOND, M. Prefrontal  $\alpha$ - and  $\beta$ -band oscillations are involved in rule selection. **Trends Cogn Sci**. Jan;17(1):10-2, 2013.

JONES, C.R.G. et al. The right dorsolateral prefrontal cortex is essential in time reproduction: an investigation with repetitive transcranial magnetic stimulation. **Exp Brain Res**. 158:366–372, 2004.

JONES, C.R.G.; JAHANSHAHI, M. Dopamine Modulates Striato-Frontal Functioning during Temporal Processing. **Front Integr Neurosci**. 5:70, 2011.

JÖNSSON, E.G. et al. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. **Mol Psychiatry**. 2009; 4(3):290-6.

JOZEFOWIEZ, J.; POLACK, C.W.; MACHADO, A.; MILLER, R.R. Trial Frequency Effects in Human Temporal Bisection: Implications for Theories of Timing. **Behav Processes**. 101: 81–88, 2014.

JUNG, T. et al. Removing electroencephalographic artifacts by blind source separation. **Psychophysiology - Wiley Online Library**, v.37, pag.163-178, 2000.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M. Principles of neural science. 4/e. **New York: McGraw Hill**. 1084-1088, 2013.

KLIMESCH, W.  $\alpha$ -band oscillations, attention, and controlled access to stored information. **Trends Cogn Sci**. 16(12):606-17, 2012.

KOCH, G. et al. Impaired reproduction of second but not millisecond time intervals in Parkinson's disease. **Neuropsychologia**. 46:1305–1313, 2008.

KONDO, H.M. et al. Separability and commonality of auditory and visual bistable perception. **Cereb. Cortex**. 22(8):1915–1922, 2012.

KONONOWICZ, T.W.; VAN RIJN, H. Decoupling interval timing and climbing neural activity: A dissociation between CNV and N1P2 amplitudes. **J. Neurosci**. 34:2931-2939, 2014.

KONONOWICZ, T.W. Dopamine-dependent oscillations in frontal cortex index "start-gun" signal in interval timing. **Front Hum Neurosci**. Jun 12; 9:331, 2015.

LAKE, J.I.; MECK, W.H. Differential effects of amphetamine and haloperidol on temporal reproduction: dopaminergic regulation of attention and clock speed. **Neuropsychologia**. 51(2):284-92, 2013.



- LEWIS, P.A.; MIALL, R.C. Remembering the time: a continuous clock. **Trends Cogn Sci.** 10(9):401-6, 2006.
- LIZIO, R.; VECCHIO, F.; FRISONI, G.B.; FERRI, R.; RODRIGUEZ, G.; BABILONI, C. Electroencephalographic rhythms in Alzheimer's disease. **Int J Alzheimers Dis.** 927573, 2011.
- LUSTIG, C.; MECK, W.H. Modality differences in timing and temporal memory throughout the lifespan. **Brain Cogn.** 77(2):298-303, 2011.
- MACAR, F.; VIDAL, F. Timing processes: an outline of behavioural and neural indices not systematically considered in timing models. **Can J Exp Psychol.** 63(3):227-39, 2009.
- MAGNANI, B.; OLIVERI, M.; FRASSINETTI, F. Exploring the reciprocal modulation of time and space in dancers and non-dancers. **Exp Brain Res.** 232:3191–3199, 2014.
- MAITRA, S. et al. Potential contribution of dopaminergic gene variants in ADHD core traits and co-morbidity: a study on eastern Indian probands. **Cell Mol Neurobiol.** 34(4):549-64, 2014.
- MAKSIMOV, M.; VAHT, M.; MURD, C.; HARRO, J.; BACHMANN, T. Brain dopaminergic system related genetic variability interacts with target/mask timing in metacontrast masking. **Neuropsychologia.** 71:112-8, 2015.
- MATELL, M.S.; MECK, W.H. Cortico-striatal circuits and interval timing: coincidence detection of oscillatory processes. **Cognitive Brain Research.** 21(2):139-170, 2004.
- MATELL, M.S.; MECK, W.H. Neuropsychological mechanisms of interval timing behavior. **Bioessays.** 22:94–103, 2002.
- MATTHEWS, W.J.; MECK, W.H. Time perception: the bad news and the good. **Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci.** 5(4):429-446, 2014.
- MECK, W.H. Neuroanatomical localization of an internal clock: A functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. **BRAIN RESEARCH.** 1109:93 – 107, 2009.
- MECK, W.H. et al. Gene-dose dependent effects of methamphetamine on interval timing in dopamine-transporter knockout mice. **Neuropharmacology.** 62(3):1221-9, 2012.
- MERCHANT, H.; HARRINGTON, D.L.; MECK, W.H. Neural Basis of the Perception and Estimation of Time. **Annu. Rev. Neurosci.** 36:313–36, 2013.
- MIGNINI, F. et al. DRD2/ANKK1 TaqIA and SLC6A3 VNTR polymorphism in alcohol dependence: association and gene-gene interaction study in a population of Central Italy. **Neurosci Lett.** 522:103–107, 2012.
- MINKWITZ, J. et al. Time perception at different EEG-vigilance levels. **Behav Brain Funct.** Sep 21; 8:50, 2012.

- MIONI, G.; MATTALIA, G.; STABLUM, F. Time perception in severe traumatic brain injury patients: a study comparing different methodologies. **Brain and Cognition**. 305-12, 2013.
- MITA, A. et al. Interval time coding by neurons in the presupplementary and supplementary motor areas. **Nature Neuroscience**. 12:502 – 507, 2009.
- NARAYANAN, N.S.; RODNITZKY, R.L.; UC, E.Y. Prefrontal dopamine signaling and cognitive symptoms of Parkinson's disease. **Rev.Neurosci**. 24, 267– 78, 2013.
- NATHER, F.C.; BUENO, J.L.O. Efeitos de Imagens Estáticas com Diferentes Representações de Movimento sobre a Percepção Subjetiva de Tempo. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, 19 (2), 217-224, 2006.
- NENADIC, I. et al. Processing of temporal information and the basal ganglia: new evidence from fMRI. **Exp Brain Res**. 148:238-246, 2003.
- NENERT, R. et al. Modulations of on going alpha oscillations predict successful short-term visual memory encoding. **Front Hum Neurosci**. May 8; 6:127, 2012.
- NEUPER, C.; PFURTSCHELLER, G. Event-related dynamics of cortical rhythms: frequency-specific features and functional correlates. **Int J Psychophysiol**. 43:41-58, 2001.
- OLDFIELD, R.C. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. **Neuropsychologia**. 9(1):97-113, 1971.
- OPRISAN, S.A.; BUHUSI, C.V. Why noise is useful in functional and neural mechanisms of interval timing? **BMC Neurosci**. Aug 7; 14:84, 2013.
- PALVA, S.; PALVA, J.M. Functional roles of alpha-band phase synchronization in local and large-scale cortical networks. **Front Psychol**. 2:204, 2011.
- PAN, Y.Q.; QIAO, L.; XUE, X.D.; FU, J.H. Association between ANKK1 (rs1800497) polymorphism of DRD2 gene and attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. **Neurosci Lett**. 590(17):101-5, 2015.
- PAPOUSEK, I. et al. Serotonin transporter genotype (5-HTTLPR) and electrocortical responses indicating the sensitivity to negative emotional cues. **Emotion**. 13(6):1173-81, 2013.
- PARKER, K.L.; RUGGIERO, R.N.; NARAYANAN, N.S. Infusion of D1 Dopamine Receptor Agonist into Medial Frontal Cortex Disrupts Neural Correlates of Interval Timing. **Front Behav Neurosci**. 10(9): 294, 2015.
- PAUS, T. Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. **Nat Rev Neurosci**. 2: 417–424, 2001.
- PHILLIPS, A.G.; VACCA, G.; AHN, S. A top-down perspective on dopamine, motivation and memory. **Pharmacol Biochem Behav**. 90(2):236-49, 2008.

- PIERCE, R.C.; KUMARESAN, V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? **Neurosci Biobehav Rev.** 30(2):215-38, 2006.
- PIGNATELLI, M.; BONCI, A. Role of Dopamine Neurons in Reward and Aversion: A Synaptic Plasticity Perspective. **Neuron.** Jun 3;86(5):1145-57, 2015.
- PLEIL, K.E.; CORDES, S.; MECK, W.H, WILLIAMS, C.L. Rapid and acute effects of estrogen on time perception in male and female rats. **Front Integr Neurosci.** Oct 14; 5:63, 2011.
- PLOMIN, R.; HAWORTH, C.M.A.; MEABURN, E.L.; PRICE, T.S. Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Davis OSP. Common DNA markers can account for more than half of the genetic influence on cognitive abilities. **Psychol.Sci.** 24:562–568, 2013.
- RACAGNI, G.; CANONICO, P.L.; RAVIZZA, L.; PANI, L.; AMORE, M. Consensus on the use of substituted benzamides in psychiatric patients. **Neuropsychobiology.** 50:134–143, 2004.
- RAMMSAYER, T.H. On dopaminergic modulation of temporal information processing. **Biol Psychol.** 36:209-222, 1993.
- RAMMSAYER, T.H. Effects of body core temperature and brain dopamine activity on timing processes in humans. **Biol Psychol.** 46(2):169-92, 1997.
- RICHTER, A. et al. Motivational salience and genetic variability of dopamine D2 receptor expression interact in the modulation of interference processing. **Front Hum Neurosci.** 5(7):250, 2013.
- ROMMELSE, N.N. et al. A review and analysis of the relationship between neuropsychological measures and DAT1 in ADHD. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.** 147B(8):1536-46, 2008.
- SAMAHA, J.; POSTLE, B.R. The Speed of Alpha-Band Oscillations Predicts the Temporal Resolution of Visual Perception. **Curr Biol.** 25(22):2985-90, 2015.
- SANEI, S., CHAMBERS, J.A. Egg Signal Processing. **John Wiley & Sons, Ltd.** 2007.
- SCHWARTZE, M.; TAVANO, A.; SCHRÖGER, E.; KOTZ, S.A. Temporal aspects of prediction in audition: cortical and subcortical neural mechanisms. **Int J Psychophysiol.** Feb;83(2):200-7, 2012.
- SHI, Z.; MÜLLER, H.J. Multisensory perception and action: development, decision-making, and neural mechanisms. **Front Integr Neurosci.** 7:81, 2013.
- SHIH, M.C.; HOEXTER, M.Q.; ANDRADE, L.A.; BRESSAN, R.A. Parkinson's disease and dopamine transporter neuroimaging: a critical review. **Sao Paulo Med J.** May 4;124(3):168-75, 2006.

SIEBNER, R. et al. Continuous Transcranial Magnetic Stimulation during Positron Emission Tomography: A Suitable Tool for Imaging Regional Excitability of the Human Cortex. **NeuroImage**. 14:883-890, 2001.

SMITH, Y.; VILLALBA, R. Striatal and extrastriatal dopamine in the basal ganglia: an overview of its anatomical organization in normal and Parkinsonian brains. **Mov Disord**. 23(3):S534-47, 2008.

SNYDER, A.C.; FOXE, J.J. Anticipatory attentional suppression of visual features indexed by oscillatory alpha-band power increases: a high-density electrical mapping study. **J Neurosci**. Mar 17;30(11):4024-32, 2010.

STELZEL, C.; BASTEN, U.; MONTAG, C.; REUTER, M.; FIEBACH, C.J. Frontostriatal involvement in task switching depends on genetic differences in d2 receptor density. **J Neurosci**. Oct 20;30(42):14205-12, 2010.

SYSOEVA, O.V.; TONEVITSKY, A.G.; WACKERMANN, J. Genetic Determinants of Time Perception Mediated by the Serotonergic System. **PLoS ONE**. 5(9): e12650, 2010.

SZURHAJ, W. et al. Basic mechanisms of central rhythms reactivity to preparation and execution of a voluntary movement: a stereo electroencephalographic study. **ClinNeurophysiol**. 114:107-119, 2003.

TEIXEIRA, S. et al. Time Perception Distortion in Neuropsychiatric and Neurological Disorders. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**. 12:567-582, 2013.

TEIXEIRA, S. et al. Proposal for using time estimation training for the treatment of Parkinson's disease. **Med Hypotheses**. 2016; 95:58-61.

TEKI, S.; GRIFFITHS, T.D. Working memory for time intervals in auditory rhythmic sequences. **Front. Psychol**. 5:1329, 2014.

TEKIN, S.; CUMMINGS, J.L. Frontal-subcortical neuronal circuits and clinical neuropsychiatry: an update. **J Psychosom Res**. 53(2):647-54, 2002.

THÖNES, S.; OBERFELD, D. Time perception in depression: a meta-analysis. **J Affect Disord**. 175:359-72, 2015.

TONG, J.H. et al. An association between a dopamine transporter gene (SLC6A3) haplotype and ADHD symptom measures in nonclinical adults. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**. 168B(2):89-96, 2015.

UHLHAAS P.J. et al. Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. **Front Integr Neurosci**. Jul 30; 3:17, 2009.

VADEN, R.J.; HUTCHESON, N.L.; MCCOLLUM, L.A.; KENTROS, J.; VISSCHER, K.M. Older adults, unlike younger adults, do not modulate alpha power to suppress irrelevant information. **Neuroimage**. Nov 15;63(3):1127-33, 2012.

VAN RIJN, H.; GU, B.M.; MECK, W.H. Dedicated clock/timing-circuit theories of time perception and timed performance. **Adv Exp Med Biol.** 829:75-99, 2014.

VAN RIJN H. et al. Contingent negative variation and its relation to time estimation: a theoretical evaluation. **Front Integr Neurosci.** 5(27):91, 2011.

VASCONCELOS, A.C. et al. Association study of the SLC6A3 VNTR (DAT) and DRD2/ANKK1 Taq1A polymorphisms with alcohol dependence in a population from northeastern Brazil. **Alcohol Clin Exp Res.** 39(2):205-11, 2015.

WIENER, M.; LEE, Y.S.; LOHOFF, F.W.; COSLETT, H.B. Individual differences in the morphometry and activation of time perception networks are influenced by dopamine genotype. **Neuroimage.** 89:10-22, 2014.

WIENER, M.; LOHOFF, F.W.; COSLETT, H.B. Double dissociation of dopamine genes and timing in humans. **J. Cogn. Neurosci.** 23:2811–2821, 2011.

WIENER, M.; TURKELTAUB, P.; COSLETT, H.B. The image of time: A voxel-wise meta-analysis. **NeuroImage.** 49:1728–1740, 2010.

WILLIAMS, S.N.; UNDIH, A.S. Dopamine-sensitive signaling mediators modulate psychostimulant-induced ultrasonic vocalization behavior in rats. **Behav Brain Res.** 296(1):1-6, 2016.

WISE, R.A. Dopamine, learning and motivation. **Nature reviews.** 5(6):483-494, 2004.

WITTMANN, M. The inner sense of time: how the brain creates a representation of duration. **Nat Rev Neurosci.** 14(3):217-23, 2013.

WITTMANN, M.; LELAND, D.S.; CHURAN, J.; PAULUS, M.P. Impaired time perception and motor timing in stimulant-dependent subjects. **Drug Alcohol Depend.** 90(2-3):183-92, 2007.

YU, V.; BUSHOVA, M.; SVETLIK, V. Phase interactions between EEG rhythms during short time interval perception. *Vestnik Moskovskogo Universiteta.* **Biologiya**, No. 2, pp. 8–12, 2015.

ZHANG, J.; TAN, L.C. Revisiting the Medical Management of Parkinson's Disease: Levodopa versus Dopamine Agonist. **Curr Neuropharmacol.** 14(4):356-63, 2015.

ZHANG, L.; PTÁČEK, L.J.; FU, Y.H. Diversity of human clock genotypes and consequences. **Prog Mol Biol Transl Sci.** 119:51-81, 2013.

ZHOU, B.; PÖPPEL, E.; BAO, Y. In the jungle of time: the concept of identity as a way out. **Front Psychol.** 29:5:844, 2014.

**ANEXOS**

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI  
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO  
Laboratório de Mapeamento e Plasticidade Cerebral-LAMPLACE

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado senhor (a),

Convidamos você a participar voluntariamente de nossa pesquisa, respondendo os questionários de avaliação psicológica, fazendo atividade de avaliação da percepção do tempo associada ao mapeamento cerebral por eletroencefalografia e disponibilizando uma amostra de material de origem biológica (sangue periférico) para a pesquisa “**Marcadores genéticos associados à percepção do tempo**”, realizada na Universidade Federal do Piauí (UFPI). Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Você será submetido a coleta sanguínea periférica para análise de marcadores genéticos associados a percepção do tempo, além de passar por uma entrevista (investigação).

**Declaração de Idade:** Eu declaro que tenho mais que 18 anos e que participarei por livre vontade do projeto de pesquisa intitulado “Marcadores genéticos associados à percepção do tempo”.

**Objetivo:** Eu entendo que a pesquisa tem como finalidade avaliar se o desempenho na percepção temporal tem relação com polimorfismos genéticos. Uma amostra de sangue minha será obtida por meio de punção venosa, de forma asséptica e executada por profissionais treinados, para que possa ser extraído DNA para avaliação de polimorfismos associados a dopamina e a serotonina. Também executarei atividades de percepção temporal em frente ao computador, enquanto minha atividade elétrica cortical será avaliada por intermédio de uma técnica não invasiva e indolor chamada eletroencefalografia. Também responderei questionários relacionados a escalas de variáveis psicológicas (ansiedade, depressão, memória, nível de atenção e hiperatividade).

**Participação no estudo:** Para participar deste estudo afirmo que tenho idade entre 18 e 32 anos, não fiz uso de produtos com cafeína há mais de 12 horas e não estou utilizando medicamentos controlados. Você não terá custo ao participar deste projeto, como também não receberá pagamento ou qualquer gratificação financeira. Caso você se sinta lesado(a), poderá pleitear, junto aos órgãos competentes, indenização, que será concedida por determinação legal, caso seja comprovado a ocorrência de eventuais danos decorrentes da sua participação neste projeto. Suas informações pessoais serão mantidas em sigilo, sendo sua identidade preservada.

**Detalhamento da técnica:** Entendo que a punção venosa é uma técnica que utiliza seringa para obter uma pequena amostra de sangue. Ela é realizada de forma asséptica, para evitar infecção. Apesar de causar incômodo durante a coleta, ela é uma técnica segura quando executada por profissionais. A eletroencefalografia é um exame seguro, indolor e não invasivo, onde eletrodos são devidamente colocados sobre a superfície da cabeça (escalpo) com o intuito de registrar a atividade elétrica cerebral. A tarefa de percepção temporal também é um método seguro e não invasivo, será realizada enquanto a minha atividade elétrica cerebral é avaliada, onde apertarei teclas ou usarei o *mouse* do computador para executar as tarefas, que serão devidamente explicadas pelos pesquisadores e que não demandam esforço.

**Confidencialidade:** Eu entendo que todas as informações coletadas no estudo são confidenciais e que meu nome não será divulgado em momento algum. Entendo ainda que toda e qualquer informação será utilizada somente para fins acadêmicos. Os resultados do estudo serão publicados em revistas científicas e meu nome em nenhum momento será citado. Os materiais concedidos ficarão sob a guarda da Universidade Federal do Piauí, *Campus*

Universitário Ministro Reis Velloso (UFPI-CMRV), sob cuidados dos responsáveis pela pesquisa, e poderei solicitar a eliminação do material em qualquer segmento da pesquisa.

**Riscos:** Entendo que a coleta sanguínea pode causar dor, o que será evitado por meio da experiência dos profissionais. A coleta também pode causar incômodo local após o procedimento e raramente pode causar inflamação e infecção, o que será evitado utilizando técnicas de assepsia da região antes da obtenção do sangue. Neste contexto, entendo que por meio da captação do sinal da eletroencefalografia, os pesquisadores podem observar alguma possível disfunção neurológica. Porém, isto não levará a constrangimento devido experiência do pesquisador em lidar com os sujeitos em pesquisa. Também entendo que o período de coleta dos dados é estimado em 120 minutos, o que poderá causar incômodo devido ao tempo na posição sentado. Para evitar esses efeitos você poderá interromper a coleta de dados em qualquer momento que apresente dor devido à postura continuada. Poderei me incomodar com as perguntas referentes às variáveis psicológicas, porém estou ciente que os profissionais que as executam estão treinados e manterão a confidencialidade. Caso ocorra qualquer alteração, você será encaminhado pelo pesquisador para acompanhamento médico. Além disso, o pesquisado responsável ao perceber qualquer risco ou dano significativo do participante comunicará imediatamente ao Sistema CEP/CONEP. Porém, em todo momento serão consideradas minhas dimensões física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual.

**Benefícios:** Entendo que, apesar de não me beneficiar diretamente, a presente pesquisa trará conhecimento sobre uma área pouco conhecido, que são as diferenças inter-individuais da percepção temporal. De tal modo, poderei contribuir para o entendimento de como funciona esse mecanismo, o que poderá ajudar pessoas que possuem essa percepção alterada em muitas doenças, contribuindo para seu entendimento, o que poderá levar a trazer novas abordagens terapêuticas no futuro.

**Liberdade para interromper a participação:** Sou livre para desautorizar o uso da minha amostra biológica, do dados eletroencefalográficos e das informações obtidas em escalas psicológicas a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ou penalização às partes envolvidas.

Este termo de Consentimento Livre e Esclarecido é feito em duas vias, sendo uma para o participante e a outra para o pesquisador. Em caso de dúvidas quanto aos seus direitos como voluntário de pesquisa, entre em contato com o CEP-UFPI, em Parnaíba-PI, que é o órgão responsável por garantir os cuidados éticos das pesquisas realizadas com o seu material:

Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI – Parnaíba  
Campus Universitário Ministro Reis Velloso  
Av. São Sebastião, 2819, Parnaíba, Piauí, CEP 64.202-020  
Telefone: (86) 3323-5125

Os responsáveis pela pesquisa podem ser contatados pelos telefones (86) 9839-2898 ou (86) 8837-4232 ou pelos e-mails: pintogr@gmail.com ou silmar Teixeira@ufpi.edu.br

Diante destas informações, declaro meu consentimento livre para ceder os materiais de origem biológica e informações para a pesquisa “**Marcadores genéticos associados à percepção do tempo**”.

Parnaíba-PI, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

Nome da voluntário(a): \_\_\_\_\_

RG/CPF: \_\_\_\_\_

Tel.: ( ) \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

#### ASSINATURAS

\_\_\_\_\_  
Voluntária

\_\_\_\_\_  
Responsável pelo Projeto



## INVENTÁRIO DE EDINBURGH

PERGUNTAS	E	D
PRIMEIRA PARTE		
<b>Que mão você usa:</b>		
1 - Para lançar?		
2 - Para escrever?		
3 - Para desenhar?		
4 - Para jogar tênis ou pingue-pongue?		
5 - Para usar a tesoura?		
6 - Para usar o barbeador ou passar batom?		
7 - Para se pentear?		
8 - Para escovar os dentes?		
9 - Para usar uma faca sem ser para comer (cortar um barbante, apontar um lápis)?		
10 - Para comer com uma colher?		
11 - Para martelar?		
12 - Para usar a chave de fenda?		
SEGUNDA PARTE		
13 - Com que mão você segura uma faca para comer, ao mesmo tempo que o garfo?		
14 - Se você tiver duas malas, com que mão segura a mais pesada?		

15 - Ao varrer, qual a mão que fica por cima, no cabo da vassoura?		
16 - E no cabo do ancinho (ciscador)?		
17 - Que mão você usa para desenroscar a tampa de um frasco?		
18 - Com que mão você segura o fósforo para acendê-lo?		
19 - Com que mão você distribui as cartas do baralho?		
20 - Com que mão você segura a linha para enfiar no buraco da agulha?		
TERCEIRA PARTE		
21 - Com qual pé você prefere chutar?		
22 - Que olho você usa quando precisa usar apenas um dos olhos?		
TOTAL		

Adaptado de Oldfield (1971).