



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA

ISABELE ALVES DE SOUSA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO rs6277 DO GENE *DRD2* EM UMA
POPULAÇÃO HÍGIDA SUBMETIDA À TAREFA COGNITIVA DE PRODUÇÃO DE
TEMPO**

PARNAÍBA – PI
2024

ISABELE ALVES DE SOUSA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO rs6277 DO GENE *DRD2* EM UMA
POPULAÇÃO HÍGIDA SUBMETIDA À TAREFA COGNITIVA DE PRODUÇÃO DE
TEMPO**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPar, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto.

Coorientador: Dr. Francisco Victor Costa Marinho

PARNAÍBA – PI

2024

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba

S725i Sousa, Isabele Alves de

Influência do polimorfismo rs6277 do gene DRD2 em uma população hígida submetida à tarefa cognitiva de produção de tempo [recurso eletrônico] / Isabele Alves de Sousa. – 2024.

46 p.

TCC (Bacharelado em Biomedicina) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto.

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Victor Costa Marinho.

1. Dopamina. 2. Cognição. 3. Neurogenética. 4. Percepção temporal.
I. Pinto, Giovanny Rebouças. II. Título.

CDD: 612

ISABELE ALVES DE SOUSA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO rs6277 DO GENE *DRD2* EM UMA
POPULAÇÃO HÍGIDA SUBMETIDA À TAREFA COGNITIVA DE
PRODUÇÃO DE TEMPO**

Trabalho de Conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal
do Delta do Parnaíba - UFDPar,
como requisito obrigatório para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Giovanny
Rebouças Pinto.

Coorientador: Dr. Francisco Victor
Costa Marinho

DATA DA APROVAÇÃO: 18/12/2024

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto (Orientador)

Universidade Federal do Delta do Parnaíba



Prof. Dr. Hygor Ferreira Fernandes

Universidade Federal do Piauí



Prof. Dr. Manoel Dias de Souza Filho

Universidade Federal do Delta do Parnaíba

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Ivonete, por acolher meus sonhos e sonhá-los comigo. Pelo amor, carinho, lembretes e incontáveis ligações. A senhora me salva, me motiva, me dá sermões, me cuida e me ama incondicionalmente. Obrigada por tanto.

Ao meu pai, Everardo, por ser minha inspiração. Por me ensinar todos os dias o que a perseverança e a força de vontade fazem. Pelo colo, aconchego, proteção e principalmente pela fé. Meu irmão, Edilson, obrigada pelos conselhos, pelas advertências e pelas vibrações sinceras a cada conquista. Amo você. E amo o Bento, por mesmo sem saber, ao dizer que me amava com sua melhor entonação aos 4 anos de idade, me dava forças para viver.

À Vânia, minha mãe biológica, a qual admiro e me inspiro todos os dias. Agradeço por todos esses anos que se misturam em apoio incondicional, amor imensurável e choros de saudade. Também agradeço a David, Sara e Tio Valdo, vocês têm meu coração e cuidam dele um zelo e senso de humor jamais vistos. Ao Vitor, meu pai biológico, ou melhor dizendo: ao meu Babu. Que me apoiou em todas as decisões e vibrou feliz com meus feitos mesmo sem entender do mundo acadêmico. Aos meus avós: Francisca Rosa e Elizeu. Vocês são meu acalento.

À minha avó Conceição. Obrigada por tanto amor, oração e incontáveis almoços, que me salvavam nos dias corridos ou tristes. E à minha Talidia, que sentia esses momentos e não exitava em me chamar, em conversar, ou só me abraçar e dizer que tudo ia ficar bem. Obrigada, tia. Tudo ficou.

À minha avó, Livramento (*in memoriam*), que sonhava em me ver formada. Ao meu avô, Monteiro (*in memoriam*), que me viu poucas vezes e demonstrou o amor de uma vida inteira. Meu coração talvez nunca se recuperará da partida de vocês. Aos meus gatos, Vitório e Douglas. E a todos os meus pets, em especial à Pandora (*in memoriam*), que me acompanhou desde o ensino fundamental e partiu 9 meses antes desse TCC.

À UFDPar, por anos incríveis e pelos programas de apoio à ciência e permanência estudantil que me permitiram chegar até aqui. Aos meus orientadores, Giovanny, Manoel e Victor Marinho, por todo o auxílio. À professora Loredana e professora Keiko, que inspiram, incentivam e aconselham. À professora Renata Canalle, responsável pelo meu despertar para genética. À Neide, pela amizade maravilhosa. A todo o grupo de profissionais do Laboratório Escola, vocês tornaram o estágio um momento lindo e leve. Todos vocês são seres incríveis.

Aos meus amigos do IFPI: Sergina, Vanessa, Verônica e Weslley pelos longos dez anos de amizade que se fortalece a cada dia. À Millena, Sabrina e Sthefany, Henrique, Andressa, Letícia, Larissa, Lisandra e Rafinha que tornaram a graduação mais leve juntamente com a T25 da Biomedicina.

Ao meu grupo de pesquisa, GeHMed. Yale, Ivã, Manu, Gabriel, Marina e Romério por tanto companheirismo. Ao John, Bruna, Victor Augusto e Cassia, vocês me ensinaram muito sobre o amor e respeito, e isso diz muito sobre a gente.

E por fim, e mais importante, à minha fé, que mesmo em momentos difíceis esteve me guiando e dando forças para concluir essa etapa.

RESUMO

Introdução: A habilidade de temporização na percepção temporal é um componente crucial para organização na vida cotidiana. Atualmente a percepção pode ser avaliada por tarefas como estimar, reproduzir, comparar e produzir o tempo. A dopamina é um neurotransmissor crucial para tarefas cognitivas, e os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em seus receptores podem alterar sua funcionalidade e expressão. O SNP rs6277 presente no gene *DRD2* é o foco desse estudo devido sua associação a alterações do sistema dopaminérgico vinculadas a distúrbios psiquiátricos. Dada a relevância da dopamina, estudos acerca de sua influência sobre a percepção temporal podem elucidar o quanto essas variações genotípicas podem influenciar nas tarefas de avaliação. **Objetivo:** Avaliar a influência do SNP rs6277 em uma população hígida submetida à realização da atividade de percepção temporal mediante a tarefa de produção de tempo. **Metodologia:** Foram coletados dados de 122 voluntários do sexo masculino com idade entre 18 e 32 anos. Para a análise do polimorfismo realizou-se extração de DNA do sangue periférico e posterior genotipagem por Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (qPCR). Para obtenção dos dados da tarefa de produção do tempo foi utilizado *software* específico onde eram apresentados estímulos a serem seguidos pelos voluntários para a análise do processamento neural nos intervalos de 1, 4, 7 e 9 segundos. Os dados foram analisados a partir dos testes estatísticos: Qui-quadrado (χ^2) para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg; e Kruska-Wallis para análise de variância dos dados comportamentais em relação as genótipos. **Resultados:** Acerca do SNP rs6277 foram obtidas as frequências alélicas G=60,25% e A=39,75%, e as genotípicas GG=36,89%, AG=46,72% e AA= 16,39%. Para os dados comportamentais, observou-se a predominância do perfil de superprodução e diferenças na precisão da execução da tarefa pelos participantes. **Conclusão:** A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que não houve relação significativa na influência genética do sistema dopaminérgico em relação ao desempenho da tarefa de avaliação da percepção proposta.

Palavras-chave: Cognição. Dopamina. Neurogenética. Percepção temporal.

ABSTRACT

Introduction: Temporal processing skill in perception of time is a crucial component for organizing daily life. Currently, perception can be assessed through tasks such as estimating, reproducing, comparing, and producing time. Dopamine is a key neurotransmitter for cognitive tasks, and single nucleotide polymorphisms (SNPs) in its receptors can alter their functionality and expression. The SNP rs6277, located in the *DRD2* gene, is the focus of this study due to its association with dopaminergic system alterations linked to psychiatric disorders. Given the importance of dopamine, studies on its influence on temporal perception can elucidate how these genotypic variations may impact assessment tasks. **Objective:** To evaluate the influence of SNP rs6277 in a healthy male population subjected to a temporal perception activity using a time production task. **Methodology:** Data were collected from 122 male volunteers aged between 18 and 32 years. For the polymorphism analysis, DNA was extracted from peripheral blood and genotyped using quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR). Data for the time production task were obtained using specific software, where stimuli were presented to participants for the analysis of neural processing at intervals of 1, 4, 7, and 9 seconds. Data were analyzed using statistical tests: Chi-square (χ^2) to verify Hardy-Weinberg Equilibrium and Kruskal-Wallis for variance analysis of behavioral data across genotypes. **Results:** Regarding SNP rs6277, the allele frequencies were G=60.25% and A=39.75%, and the genotype frequencies were GG=36.89%, AG=46.72%, and AA=16.39%. For behavioral data, a predominance of the overproduction profile was observed, along with differences in task execution accuracy among participants. **Conclusion:** Based on the obtained results, it can be concluded that there was no significant genetic influence of the dopaminergic system on the performance of the proposed temporal perception assessment task.

Keywords: Cognition. Dopamine. Neurogenetics. Temporal perception.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processamento de informações da percepção temporal.....	9
Figura 2 - Síntese das catecolaminas.....	11
Figura 3 - Metabolismo dopaminérgico em neurônios.....	11
Figura 4 - Representação das vias dopaminérgicas.....	12
Figura 3 - Localização do gene DRD2 no cromossomo 11.....	16
Figura 4 - Posicionamento do voluntário durante a tarefa de produção de tempo.....	20
Figura 5 - Tarefa de Produção de tempo.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Protocolos utilizados para a padronização da reação de qPCR.....	22
Tabela 2 - Protocolo de termociclagem.....	22
Tabela 3 - Análise das frequências genotípicas e alélicas do SNP rs6277.....	24
Tabela 4 - Frequência em diferentes regiões do polimorfismo DRD2 rs6277.....	26
Tabela 5 - Apresentação das médias e desvio padrão para EA e ER com base nos genótipos do polimorfismo rs6277.....	27
Tabela 6 - Teste de Kruskal-Wallis.....	27
Tabela 7 - Teste de normalidade para ER e EA para o genótipo GG, AG e AA.....	28
Tabela 8 - Comparações aos pares para EA e ER para os intervalos com diferenças significativas.....	28
Tabela 9 - Erros absolutos separados por genótipos.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3,4-dihidroxi-L-fenilalanina	L-Dopa
AADC	L-aminoácido Aromático Descarboxilase
AC	Adenilciclase
ACh	Acetilcolina
AVH	Ácido Homovalínico
COMT	Catecol-O-metiltransferase
DA	Dopamina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DRD2	Receptor de Dopamina D2
EA	Erro Absoluto
ER	Erro Relativo
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
MAO	Monoaminase
NAChRs	Receptores Nicotínicos de Acetilcolina Neuronais
NITLab	Laboratório de Neuroinovação e Tecnologia
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa
SN	Substância Negra
SNC	Sistema Nervoso Central
SNpc	Porção Pars Compacta da Substância Negra
SNPs	Polimorfismos de Nucleotídeo Único
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TEA	Transtorno do Espectro Autista

TH

Tirosina Hidroxilase

UFDPar

Universidade Federal do Delta do Parnaíba

UFPI

Universidade Federal do Piauí

VMAT2

Transportador Vesicular de Monoamina 2

VTA

Área Tegmentar Ventral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2.1 PERCEPÇÃO TEMPORAL.....	9
2.2 SISTEMA DOPAMINÉRGICO.....	11
2.2.1 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS.....	11
2.2.2 ASPECTOS PATOLÓGICOS.....	14
2.3 GENE DRD2 E O POLIMORFISMO rs6277.....	16
3. OBJETIVOS.....	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 AMOSTRAS.....	20
4.2 TAREFA DE PERCEPÇÃO TEMPORAL.....	20
4.3 EXTRAÇÃO DO DNA.....	22
4.4 DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS, PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO E GENOTIPAGEM.....	22
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS.....	25
5.2 DADOS COMPORTAMENTAIS DA TAREFA DE PRODUÇÃO DE TEMPO.....	27
6. CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS.....	33
APÊNDICE.....	40
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	40

1. INTRODUÇÃO

O tempo representa um papel fundamental na percepção do indivíduo para o mundo além de estar intrinsecamente ligado à organização humana. Segundo o psicólogo francês Paul Fraisses (1984) a noção humana sobre o tempo pode ser dividida em dois conceitos, o mensurável, por sequências regulares de sucessões (horas, dias, meses, anos...) e o tempo subjetivo, sendo este uma experiência individual para cada ser humano. Tal experiência subjetiva sobre a interpretação da duração de tempo em determinadas situações, diz respeito à percepção do tempo. Esse senso subjetivo do tempo, por exemplo, pode levar à sensação de que intervalos longos pareçam ser mais curtos e o mesmo se aplica em sentido inverso (Simen; Matell, 2016).

Culturalmente, devido a necessidade de mensurar o tempo para uma organização à nível individual e de sociedade, a grandeza do tempo é observada e categorizada em períodos. Porém, apesar de existir diferenças organizacionais entre culturas e da forma como o tempo é categorizado, a percepção subjetiva do tempo é vista, inevitavelmente, associada à maneira como são compreendidas as decisões tomadas para rotinas diárias, e em ações necessárias para um ambiente dinâmico (Janca; Bullen, 2003; Kent; Nelson; Northoff, 2023). Em outras palavras, no dia a dia há influência do relógio interno no controle neurofisiológico do movimento, por exemplo permitindo o ajuste nas frações de tempo entre uma palavra e outra. Sua influência também é observada em informações e julgamentos da percepção do tempo assimiladas de forma subconsciente, em ações diárias simples, tal como quando há a capacidade de predizer quando ocorrem as mudanças em um semáforo, ou mesmo quando é estimado o tempo em que um café fica pronto (Jones *et al.*, 2008).

O interesse no desenvolvimento de capacidades cognitivas e no entendimento dos mecanismos neurobiológicos relacionados à temporalidade está presente desde os primeiros estudos da psicologia experimental (Pouthas, 2000). Dentre alguns processos mentais envolvidos na cognição temos: a tomada de decisão, a autorregulação, o comportamento e a linguagem. Esses processos relacionam-se com a percepção do tempo apresentando disfunções que estão vinculadas a maioria dos transtornos psiquiátricos podendo gerar predisposição a desenvolver doenças subjacentes, perpetuação dos sintomas, e até mesmo evolução da recuperação dessas condições (Etkin; Gyurak; O'hara, 2022).

É possível notar que, como apresentado anteriormente, a cognição e a percepção do tempo dispõem de grande importância clínica e científica e devida sua complexidade faz-se

necessário a avaliação de tarefas que investiguem como esse sistema é modulado (Mioni *et al.*, 2014). Grondin (2010) define que existem quatro principais métodos tradicionalmente definidos entre demais autores para realizar essa avaliação, sendo divididos em: estimar, reproduzir, comparar e produzir o tempo. A produção do tempo, em resumo, refere-se à capacidade de o indivíduo produzir um intervalo de tempo. Ou seja, o sujeito submetido a esta tarefa é informado de um valor numérico em que deve produzir por um período de tempo que julgar ser equivalente à uma duração de tempo previamente informada. (Fung *et al.*, 2021; Glicksohn, 2009). A dopamina, um neurotransmissor de grande relevância que desempenha papel importante no sistema nervoso central, função endócrina, emoção e cognição, desempenha mecanismos capazes de modular a percepção do tempo. Contudo, os mecanismos que levam a essa modulação e as bases neurais do relógio interno necessitam de melhor compreensão (Tomasi *et al.*, 2015).

De um ponto de vista fisiopatológico em humanos, a dopamina possui relações importantes com distúrbios neurológicos e psiquiátricos. Ademais, quando observada do ponto de vista molecular, ela possui receptores que são acoplados à proteína G e categorizados de D1 a D5 (Love *et al.*, 2022). O receptor D2, codificado pelo gene *DRD2*, possui diversas associações com vícios em álcool, nicotina e opióides. Algumas variantes desse gene geram fenótipos que podem influenciar na redução expressiva dos sinais dopaminérgicos, levando assim a uma irregularidade no sistema de recompensa relacionado a dopamina (Aliasghari *et al.*, 2020).

Variantes observadas no gene *DRD2*, a exemplo do polimorfismo *DRD2 rs6277*, podem ser classificadas como sinônimas, ou seja, não influenciam na sequência final de aminoácidos no produto do gene. Contudo, estudos avaliam a influência dessas variações sinônimas com a instabilidade do RNA mensageiro (mRNA) (Kukreti *et al.*, 2006).

Neurônios dopaminérgicos oriundos da substância negra (SN) e da área tegmentar ventral (VTA) possuem projeções densas para diferentes áreas no encéfalo. Essas células produtoras de dopamina são agrupadas e designadas como células A, com suas respectivas subdivisões, constituindo os sistemas mesocortical e mesolímbico. Além disso, esses agrupamentos contribuem para o reforço tanto negativos quanto positivos no sistema de recompensa, na tomada de decisão e cognição (Baik, 2020).

Os neurotransmissores dopaminérgicos, assim como as células do grupo A, estão eletivamente associados, em estudos, ao sistema de recompensa e também desempenham um papel na modulação do relógio interno. Isso leva à hipótese de que tanto a percepção do

tempo quanto o sistema de recompensas compartilham fatores modulatórios em comum (Fung *et al.*, 2021).

Portanto, variações do gene *DRD2*, que implicam em instabilidade no mRNA causando a diminuição da regulação dopaminérgica, podem estar associadas a padrões comportamentais observados na tarefa cognitiva de produção do tempo na percepção temporal. E essas modulações, principalmente as que estão relacionadas com os mecanismos moleculares dos neurotransmissores, como a dopamina, envolvidos na percepção do tempo, não estão suficientemente elucidadas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

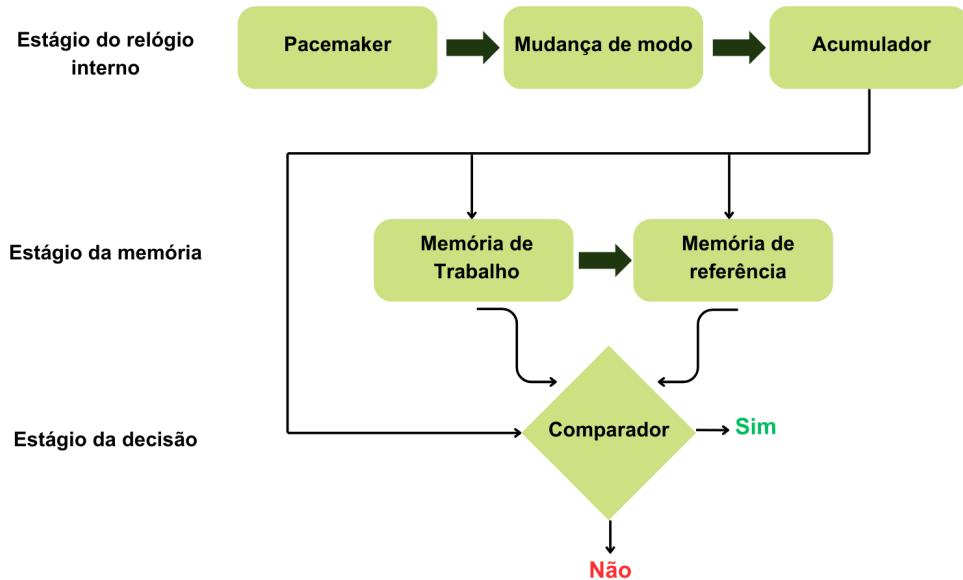
2.1 PERCEPÇÃO TEMPORAL

O tempo está presente em inúmeros aspectos da vida humana auxiliando nas experiências individuais e coletivas, que estão ligadas a maioria dos processos cognitivos. Do mesmo modo, a percepção do tempo é um mecanismo multidimensional complexo e possui conexões com a percepção motora, controle motor, sistema de tomada de decisões e memória (Naghibi *et al.*, 2024). A temporização do relógio interno pode ser influenciada por fatores externos como emoções, atividades físicas, músicas, caracterizando-se de uma dinâmica entre a subjetividade do indivíduo e as condições ambientais em que o mesmo se encontra ocasionando a sensação de experienciar o tempo com mais lentidão ou rapidez, mesmo que o intervalo de tempo físico não se altere. (Fung *et al.*, 2021).

Teorias acerca da temporização do relógio interno começaram a ser documentadas em meados do século XIX, as quais já apontavam a relação da percepção com a ocorrência de eventos observados e ações realizadas por um indivíduo (Pöppel, 1978). Contudo, apenas no final do século XIX que estudos sobre temporalidade voltados para psicologia experimental da percepção e estimativa do tempo foram iniciados, revelando teorias sobre múltiplos relógios e escalas temporais utilizados para a organização de tarefas de percepção do tempo que configuraram uma variação temporal (Merchant *et al.*, 2013).

O processamento da percepção temporal é composto por três processos (Figura 1) que ocorrem a partir de um evento cronometrado, o qual chamaremos de estímulo. Quando o estímulo é imposto sobre o indivíduo, pulsos são emitidos em uma frequência média constante a partir do *pacemaker* e encaminhados para o acumulador que irá fornecer matéria prima para a medição do tempo. Em sequência, a contagem de pulsos obtida a partir do estímulo (contagem atual) é armazenada temporariamente na memória de trabalho e será comparada com um valor previamente armazenado para aquele estímulo na memória de referência. Assim, é realizada uma avaliação da similaridade entre esses dois valores, de contagem atual com o valor da memória de referência, que será utilizada para definir a resposta sobre produção ou estimativa do tempo. Comparado com um cronômetro, quando esse processamento ocorre ele pode ser iniciado, pausado e finalizado para um ou mais eventos simultaneamente (Pouthas; Perbal, 2004; Allman *et al.*, 2014).

Figura 1 - Processamento de informações da percepção temporal.



Fonte: Adaptado de Allman, 2014.

Podendo ser avaliada mediante modelos de estudos utilizando emissão de pulso ou taxas de oscilações, as tarefas que caracterizam a perspectiva temporal como estimação e produção do tempo utilizam do relógio interno para produzir ou identificar um período de tempo alvo. Na tarefa de produção de tempo, os pacientes podem produzir mais ou menos tempo do que lhes foi indicado, demonstrando a subjetividade e diferenças no relógio interno de cada um (Bartholomew *et al.*, 2015).

Alterações no processo da percepção são controladas por uma mudança de modo na atenção que gera a sincronização dos sinais promovidos à medida que esse sistema é recrutado. É sugerido que na temporização os gânglios basais e a interação com a inervação dopaminérgica agem como um *pacemaker*, no sentido que sua ação está envolvida com a mensurabilidade do relógio interno (Teixeira *et al.*, 2013).

Buscando distinguir organizadamente as tarefas de temporização, as tarefas de temporização foram categorizadas como implícitas e explícitas. Na categoria explícita são fornecidas informações específicas sobre o tempo que busca ser estimado e faz-se necessário que os indivíduos submetidos a estas tarefas avaliem a duração dos eventos, seja comparando, estimando, bissectando ou reproduzindo os intervalos temporais informados para cada uma delas. No entanto, as tarefas implícitas não especificam o tempo que o estímulo durará e o indivíduo submetido a essa tarefa pode utilizar a informação armazenada na memória de referência para predizer em quanto tempo o estímulo irá ocorrer. Ou seja, por meio do

aprendizado da estrutura temporal da tarefa a qual está sendo submetido, o indivíduo é avaliado quanto a sua capacidade de aprendizado, detecção e discriminação de estímulos (Buonomano *et al.*, 2023).

Para poder mensurar e observar a maneira como o relógio interno funciona, alguns testes foram metodologicamente elaborados. Em tarefas para estimar o tempo, a pessoa testada é exposta a um intervalo de tempo e em seguida deve responder com o tempo aproximado. Nas tarefas de produção, o paciente testado deve realizar alguma ação, como apertar um botão, por um período de tempo o qual lhe foi informado anteriormente. Enquanto na reprodução o paciente deve receber instruções visuais ou auditivas sobre um tempo especificado para que posteriormente reproduza o mesmo intervalo da maneira mais aproximada. Essas tarefas podem ser avaliadas em formato bisection ou trisection, onde duas ou três durações são apresentadas ao paciente (Miyawaki, 2022).

2.2 SISTEMA DOPAMINÉRGICO

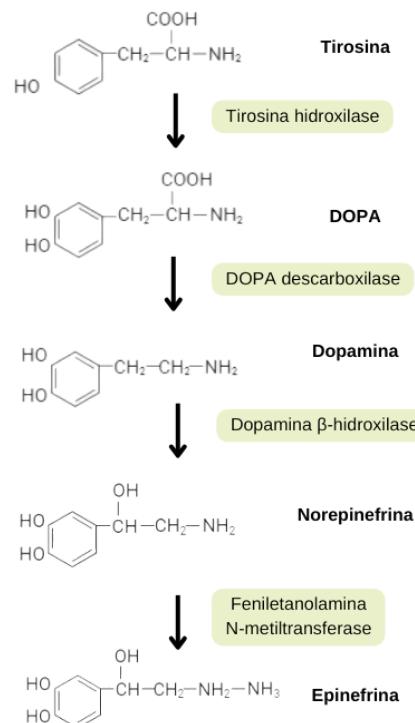
2.2.1 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS

A dopamina é um neurotransmissor e neuromodulador que desenvolve papéis na cognição, funções endócrinas e está presente em vias relevantes para o sistema nervoso central (SNC) que envolvem o mesencéfalo, zonas motoras, sistema límbico e lobos frontais. Sua síntese, juntamente com as catecolaminas epinefrina e norepinefrina têm início com o aminoácido tirosina (Figura 2) sendo convertido em L-dopa (Estevinho; Soares-Fortunato, 2003).

No citosol, a síntese desse neuromodulador é realizada através de reações enzimáticas realizadas pela tirosina hidroxilase (TH) e L-aminoácido aromático descarboxilase (AADC), também conhecida como DOPA descarboxilase. Ambas as enzimas são responsáveis por converter a tirosina em 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) e L-DOPA em dopamina, respectivamente. Quando concluída a sua síntese, a dopamina é agregada à vesículas sinápticas pelo transportador vesicular de monoamina 2 (VMAT2) e armazenada em vesículas presentes nos neurônios catecolaminérgicos (Figura 3). Após o potencial de ação em um neurônio dopaminérgico, esse neurotransmissor é liberado na fenda sináptica podendo se ligar aos receptores de dopamina *D1-like* ou *D2-like*, e posteriormente a dopamina livre no citosol pode ser recaptada e incorporada nas vesículas pelo VMAT2. Por fim, sua degradação em metabólitos é dada via metabolização na fenda sináptica ou pela catecol-*O*-metiltransferase

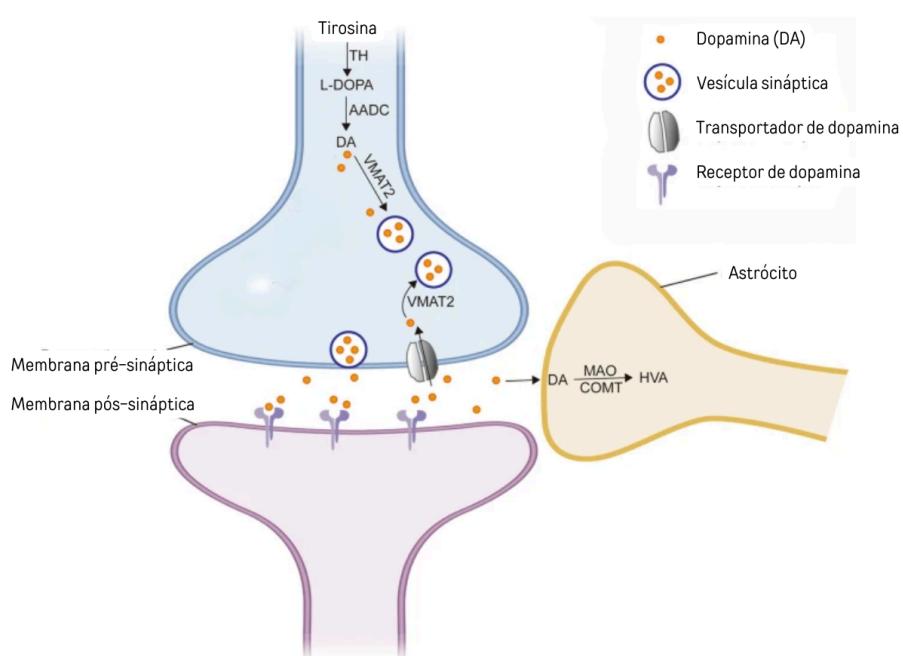
(COMT) e monoaminoxidase (MAO) gerando como produto final o ácido homovanílico (AVH) (Xu; Yang, 2022).

Figura 2 - Síntese das catecolaminas



Fonte: Adaptado de Estevinho, 2003. Via *BioRender.com*.

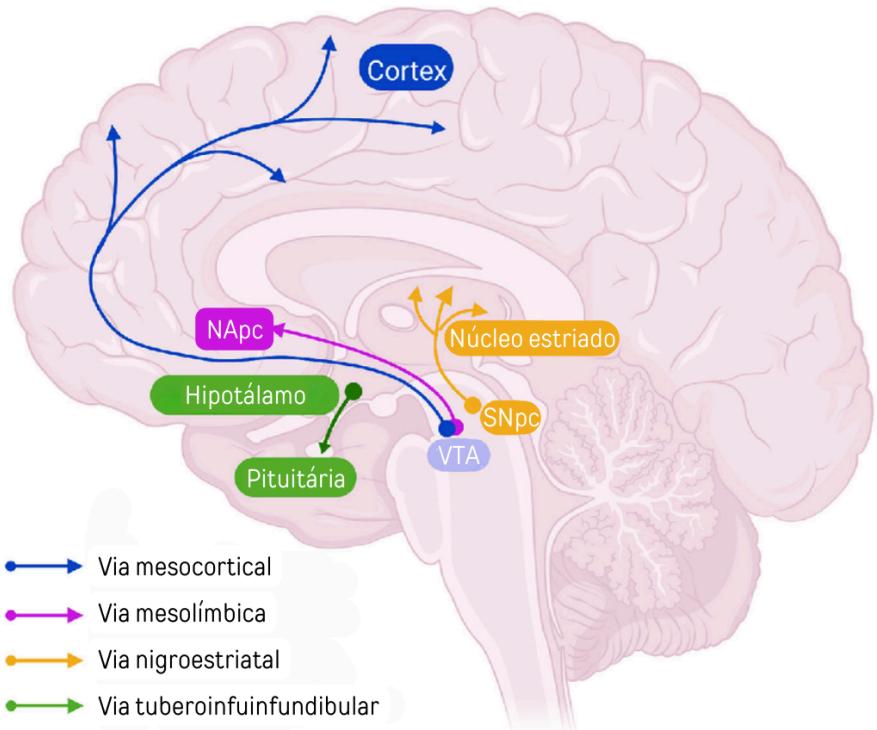
Figura 3 - Metabolismo dopaminérgico em neurônios.



Fonte: Adaptado de Xu e Yang, 2022. Via *BioRender.com*.

Os neurônios dopaminérgicos possuem extensas projeções que alcançam diversos sítios cerebrais, desempenhando um papel central em várias funções neurológicas. Esses neurônios estão localizados predominantemente na área tegmentar ventral (VTA), na porção pars compacta da substância negra (SNpc) e no núcleo arqueado do hipotálamo. As interações entre essas áreas, mediadas pelas projeções dopaminérgicas (Figura 4), possibilitam a definição de quatro principais vias dopaminérgicas: a via mesocortical, que conecta a VTA ao córtex pré-frontal; a via mesolímbica, com projeções da VTA para o núcleo accumbens; a via nigroestriatal, que compreende células da SNpc projetando-se para o núcleo estriado; e a via tuberoinfundibular, que envolve a comunicação entre o eixo hipotálamo-hipófise (Wang *et al.*, 2009).

Figura 4 - Representação das vias dopaminérgicas.



Fonte: Adaptado de Xu e Yang, 2022. Via *BioRender.com*.

É apontado que uma maior ativação no núcleo estriado e no córtex pré-frontal está associada a uma melhora na percepção temporal. Em contrapartida, a redução de precursores de dopamina nessas regiões compromete significativamente essa habilidade, prejudicando a precisão na percepção do tempo. E por modular conexões entre o giro frontal inferior direito e o núcleo estriado, a dopamina pode estar atrelada ao processo de ativação da memória de

trabalho utilizado na percepção temporal auxiliando na tomada de decisão de respostas futuras relacionadas às tarefas de temporização (Mitchell *et al.*, 2018).

Pesquisas com modelos animais demonstram que a suspensão da atividade da dopamina decorrentes de lesões no putâmen e na substância negra influencia na percepção temporal, contudo essas deficiências eram corrigidas mediante a administração de levodopa, fármaco precursor metabólico da dopamina. O papel da dopamina na percepção fomenta que terapêuticas voltadas para a via dopaminérgica auxiliem na melhora da performance das tarefas de temporização (Jones *et al.*, 2008).

A inervação dopaminérgica em regiões cerebrais influencia a expressão de receptores de dopamina, que compõem a superfamília de receptores ligados à proteína G. Os receptores dopaminérgicos possuem classificação em dois grupos baseados em aspectos farmacológicos e de ligação com a proteína G, sendo eles os semelhantes a D1 (*D1-like*) que incluem os receptores D1 e D5, e os semelhantes ao receptor D2 (*D2-like*) sendo esses os receptores D2, D3 e D4. Os grupos *D1-like* e *D2-like* possuem níveis diferentes de expressão nas regiões cerebrais que viabilizam a ação da dopamina na modulação do desenvolvimento neuronal mediante migração, proliferação e diferenciação celular. Ocasionando assim conectividades e disfunções sinápticas que permitem a pressuposição de que modulações geradas nesses processos contribuem para disfunções observadas em distúrbios neuropsiquiátricos (Money; Stanwood, 2013).

2.2.2 ASPECTOS PATOLÓGICOS

Concentração, motivação, memória, habilidade de experienciar prazeres e demais atividades cognitivas são moduladas em parte pela dopamina, e também são tarefas afetadas em desordens psicológicas como ansiedade, depressão, transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH), assim como desordens neurológicas a exemplo da esquizofrenia e Alzheimer. Posto isso, no decorrer das últimas décadas inúmeros modelos de estudo avaliam o sistema dopaminérgico em parâmetros de influência, fisiopatologia e terapêuticas na busca de compreender os aspectos e o estabelecimento dessas desordens (Moraga-Amaro *et al.*, 2014; Dunlop; Nemerooff, 2007).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, a esquizofrenia é uma desordem neurológica multifatorial caracterizada pelo comprometimento do desempenho cognitivo dos pacientes acometidos, e afeta mais de 26 milhões de pessoas no mundo. Atualmente, todos os tratamentos farmacológicos utilizados para esse transtorno são antagonistas do receptor D2 da

dopamina, que demonstram-se efetivos no quadro de alucinação, sendo este o mais frequentemente associado à doença (McCutcheon *et al.*, 2023).

A hipótese de que o Transtorno Depressivo Maior (TDM) está relacionado à redução das transmissões dopaminérgicas tem ganhado cada vez mais respaldo científico. O TDM é caracterizado por um conjunto de sintomas que interagem entre si, formando um quadro crônico e, frequentemente, complexo. Dentre esses sintomas, destaca-se a anedonia, um elemento central para o diagnóstico do TDM, definida pela perda total ou parcial da capacidade de experimentar prazer. Nesse contexto, os neurônios dopaminérgicos têm sido amplamente estudados devido à sua relação estabelecida com diversas experiências prazerosas e com o sistema de recompensa, cuja desregulação pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de quadros depressivos (Dunlop; Nemeroff, 2007).

No Transtorno do Espectro Autista (TEA), uma desordem do neurodesenvolvimento, podem ser observados padrões de comportamento envolvendo comunicação, comportamentos repetitivos, ansiedade e hiperatividade, dentre diversos outros quadros que compõem uma extensa variação de gravidade nos indivíduos. Em decorrência da ação crucial na regulação de tarefas cognitivas, a dopamina é alvo de estudos sobre seu papel no TEA. Do ponto de vista neuroanatômico do TEA, são observadas deficiências nas regiões de córtex pré-frontal e frontal, gânglios basais, e estriado dorsal, regiões estas envolvidas na inervação e sinalização do sistema dopaminérgico. E estudos clínicos com intervenções farmacológicas da via de transmissão dopaminérgica demonstram evoluções nos quadros do espectro que corroboram com as hipóteses levantadas acerca dos papéis que esse neurotransmissor exerce (Saha *et al.*, 2023).

Outrossim, profissionais da psicologia e psiquiatria definem os vícios como transtornos neuropsiquiátricos caracterizados por comportamentos como busca compulsiva e persistência, mesmo diante das inúmeras consequências nocivas à saúde e ao convívio social. Embora o comportamento compulsivo relacionado à busca por drogas seja amplamente discutido no contexto dos vícios e suas consequências negativas, os vícios comportamentais têm se tornado um problema crescente e alarmante na sociedade. Esses comportamentos compulsivos patológicos, como vício em jogos de azar, alimentação excessiva, uso abusivo de celulares e dependência da internet, envolvem circuitos do sistema de recompensa similares aos ativados no vício em substâncias (Zou *et al.*, 2017).

O abuso de substâncias é uma condição caracterizada pelo uso descontrolado e não medicamentoso de drogas como opióides, álcool, cocaína e nicotina. Esse transtorno está intimamente relacionado à dopamina, um neurotransmissor fundamental para o sistema de

recompensa cerebral. Alterações nos níveis de dopamina influenciam a busca incessante por recompensas, um comportamento típico de indivíduos acometidos pelo abuso de substâncias. Substâncias viciantes, ao aumentarem artificialmente os níveis de dopamina no cérebro, reforçam positivamente esses comportamentos, criando um ciclo de dependência química. Esse mecanismo não apenas dificulta o controle do consumo, mas também perpetua alterações neuroquímicas que contribuem para o estabelecimento da cronicidade do transtorno e aumentam os desafios para o tratamento. Nesse sentido, o consumo excessivo e crônico de substâncias a exemplo do álcool podem estar associados a alterações na percepção temporal (Wise; Robble, 2020; Nuyens; Billieux; Maurage, 2021).

Ademais, estudos evidenciam que os mesmos circuitos de recompensa cerebrais observados no vício em drogas estão envolvidos no comportamento de compulsão por alimentos observada em determinados indivíduos com sobrepeso, evidenciando semelhanças neurobiológicas entre os dois transtornos. Esse comportamento de alimentação compulsiva é a causa majoritária da prevalência dos casos de obesidade no mundo. A irregularidade dopaminérgica influencia na busca descontrolada por alimentos reforçando os padrões alimentares compulsivos (Aliasghari *et al.*, 2021).

A nicotina é o principal composto químico causador de vício presente no tabaco e o vício estabelecido pelo seu uso é responsável por milhões de mortes pelo mundo. Esse psicoativo é capaz de entrar na circulação cerebral e se ligar aos receptores nicotínicos de acetilcolina neuronais (NACRs) que estão em sua maioria localizados pré-sinapticamente no SNC modulando a liberação de acetilcolina (ACh), dopamina, serotonina, glutamato, acido gama-aminobutírico (GABA) e norepinefrina. A nicotina possui capacidade de gerar uma cascata de eventos a partir dos NACRs envolvendo os sistemas cerebrais mesolímbico e mesocortical dependentes de dopamina que culminam em um reforço positivo. E estudos farmacogenéticos evidenciam a forte contribuição de fatores genéticos, incluindo a expressão de receptores da DA, associados ao início, à gravidade e ao tratamento do vício em nicotina (Herman *et al.*, 2014).

2.3 GENE DRD2 E O POLIMORFISMO rs6277

Os receptores de dopamina desempenham um papel fundamental na transmissão dopaminérgica. Além disso, fatores genéticos envolvendo genes que codificam esses receptores podem representar riscos potenciais para o desenvolvimento de fenótipos associados a desregulação das vias dopaminérgicas. O receptor D2 da dopamina é codificado

pelo gene *DRD2*, localizado em 11q22-23 (Figura 3), e pertence ao grupo de receptores D2-like, que são caracterizados por sua função inibitória por se ligar aos sítios de proteína G (inibitória) inibindo a Adenilciclase (AC) e ativando os canais de potássio. Esses receptores D2-like são frequentemente encontrados em células neuronais não dopaminérgicas, e o receptor D2 está presente em quantidades significativas no núcleo caudado, putâmen, núcleo accumbens, tubérculo olfatório e córtex cerebral. Assim, eles desempenham um papel crucial na mediação de funções cerebrais, como a regulação da cognição, locomoção e motivação (Bhatia; Lenchner, 2019; Kim *et al.*, 2022)

Figura 3 - Localização do gene *DRD2* no cromossomo 11.



Fonte: Ensembl Archive, 2024.

O receptor D2 possui duas isoformas geradas pelo splicing alternativo do mRNA responsável por sua codificação: a isoforma longa ($D2_L$) e a curta ($D2_S$). Essas isoformas se diferenciam em 29 aminoácidos inseridos na $D2_L$, cuja localização específica influencia a interação com diferentes tipos de proteínas G, desempenhando papéis distintos nos mecanismos de sinalização celular. Apesar da dificuldade em definir os papéis intrínsecos de cada isoforma devido ao uso de diferentes linhas celulares para os ensaios, estudos destacam algumas características distintas entre elas. Por exemplo, a isoforma $D2_S$ apresenta maior afinidade pela dopamina e maior potencial inibitório sobre a adenilil ciclase (AC). No entanto, embora a $D2_S$ demonstre essa afinidade diferenciada pelo neurotransmissor, ambas as isoformas desempenham papéis importantes na regulação celular e no sistema dopaminérgico (Romanelli; Williams; Neve, 2010; Ford, 2014).

A expressão, disponibilidade e funcionalidade dos receptores de dopamina podem ser moduladas por polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), os quais, ao originarem determinados fenótipos, podem impactar significativamente a população. Entre eles, o SNP rs6277 tem recebido destaque por sua influência na disponibilidade de receptores D2 em regiões cerebrais específicas (Zmigrod; Robbins, 2021).

Deve-se levar em consideração que até as mínimas alterações no metabolismo da dopamina (DA) e na disponibilidade de receptores D2 estão sujeitas a desencadear sérios distúrbios neurológicos, a exemplo da esquizofrenia. Nesse contexto, a influência da genética torna-se especialmente relevante, dado que o gene *DRD2* apresenta alta variabilidade polimórfica, particularmente em relação aos SNPs, que consistem em variações que afetam

apenas uma base nitrogenada, potencialmente impactando funções biológicas essenciais (Noble, 2003).

Nesse cenário, embora o SNP rs6277 configure uma mutação sinônima, ou seja, não altere a sequência final da proteína, ele pode exercer um impacto significativo no metabolismo e na funcionalidade desse neurotransmissor. Estudos *in vitro* associam esse polimorfismo (C957T) à alterações na estabilidade do RNA mensageiro (mRNA), resultando em uma redução na expressão dos receptores D2, com potenciais implicações no funcionamento do sistema dopaminérgico (Hunt *et al.*, 2014). No entanto, *in vivo*, estudos o relacionaram com a disponibilidade de receptores na região estriatal, sendo o alelo T responsável pelo aumento da disponibilidade e o alelo C pela redução (Hirvonen *et al.*, 2009; Jääskeläinen, 2014).

Evidências de estudos genéticos apontam associações relevantes entre o *DRD2 rs6277* e condições como dependência alcoólica (Ponce *et al.*, 2008; Swagell *et al.*, 2012), dependência de nicotina (Voisey *et al.*, 2012) e vício em jogos. Essas associações são frequentemente mediadas pela desregulação do sistema dopaminérgico, contribuindo para a amplificação de problemas psicossociais e dificuldades interpessoais nos indivíduos portadores desta variante genética (Kim *et al.*, 2022).

Entretanto, é observado que na literatura há uma lacuna quando se trata de estudos que avaliam diretamente a associação entre o polimorfismo rs6277 e o desempenho em tarefas de percepção temporal.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do polimorfismo rs6277 do gene de receptor D2 da dopamina em uma população hígida submetida à realização da atividade de percepção temporal mediante a tarefa de produção de tempo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter as frequências populacionais (alélicas e genotípicas) e verificar o equilíbrio de Hardy-Weinberg do polimorfismo;
- Compreender a influência do sistema dopaminérgico nas atividades da percepção temporal;
- Avaliar a influência do polimorfismo *DRD2* rs6277 sobre a percepção temporal.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

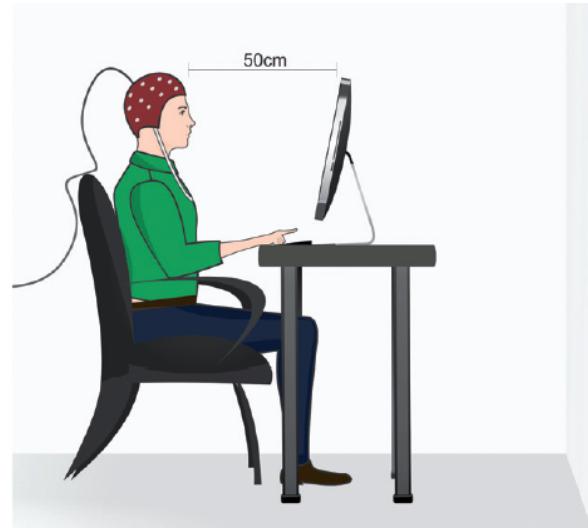
4.1 AMOSTRAS

Para a realização do presente estudo foram recrutados 122 voluntários do sexo masculino, no campus da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar), limitados quanto ao sexo para evitar possíveis interferentes como as variações hormonais, com idade entre 18 e 32 anos, que não tenham utilizado drogas psicotrópicas e sem histórico de distúrbios neuropsiquiátricos. Ademais, os indivíduos foram instruídos a não consumir álcool, alimentos e medicamentos à base de cafeína, ou fazer uso de tabaco nas 24 horas antecedentes à coleta dos dados comportamentais. Seguindo a Resolução nº 466/2012, acerca de pesquisas envolvendo seres humanos, os participantes foram informados sobre a pesquisa, e, ao concordarem em participar, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE, autorizando a coleta e armazenamento de seus dados e amostras, de acordo com o projeto aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa em seres humanos da Universidade Federal do Piauí (UFPI) (Parecer: no 4.088.910). Para a coleta dos dados necessários para a pesquisa, o Laboratório de Genética e Biologia Molecular e o Laboratório de Neuro-Inovação e Tecnologia (NITLab), localizados no Núcleo de Pós Graduação da UFDPar, foram utilizados para a realização dos experimentos da parte molecular e coleta de dados neurológicos, respectivamente.

4.2 TAREFA DE PERCEPÇÃO TEMPORAL

Para realização da tarefas, foi utilizado um software que apresentava os estímulos que deviam ser seguidos pelos voluntários. A tarefa de produção de tempo envolvia um estímulo (círculo amarelo em um fundo preto) que aparecia na tela do computador, os estímulos eram apresentados de forma randômica em intervalos de tempo de 1, 4, 7 ou 9 segundos. O voluntário era posicionado sentado a uma distância de 50 centímetros da mesa com o monitor (Figura 4) o qual apresentava o software para a realização da tarefa de produção.

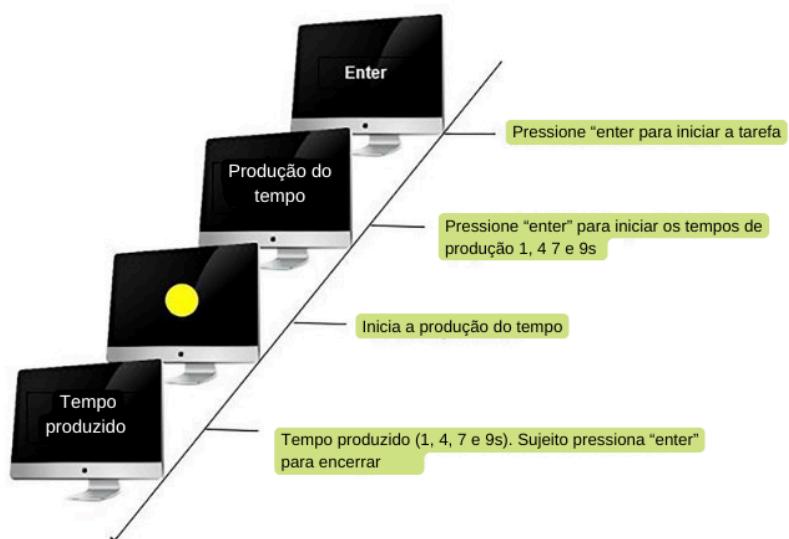
Figura 4 - Posicionamento do voluntário durante a tarefa de produção de tempo.



Fonte: Rocha *et al.*, 2019.

Na tarefa de produção de tempo, objeto de estudo da presente pesquisa, inicialmente o software indicava ao voluntário um valor numérico o qual ele deveria tentar seguir para apresentar o estímulo na tela no tempo que considerasse equivalente ao que lhe foi previamente dito. Para executar a tarefa o voluntário apertava o comando “*enter*” para o estímulo aparecer, esperava o tempo que achar necessário e apertava o comando novamente para cessar o estímulo, produzindo assim o tempo que lhe foi estipulado. Para cada participante houveram 40 repetições de intervalos de tempo. Essas repetições eram armazenadas pelo programa em 4 trilhas, que iam de 0 a 9 totalizando 10 repetições por trilha.

Figura 5 - Tarefa de Produção de tempo.



Fonte: Adaptado de Martins e Silva *et al.*, 2022.

4.3 EXTRAÇÃO DO DNA

O ácido desoxirribonucleico (DNA) foi extraído a partir dos leucócitos provenientes das amostras de sangue periférico coletadas de cada voluntário. Durante o processo de extração, para obtenção do material genético, ocorre a lise das membranas celulares. Contudo, para que seja apropriado para os experimentos, o DNA precisa ser separado dos demais componentes celulares. Para isso, utilizou-se o kit *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega), seguindo os protocolos estabelecidos pelo fabricante. A concentração e a pureza do DNA foram determinadas por análise em espectrofotômetro (BioSpec-nano, Spectrophotometer for LIFE SCIENCE, ShimadzuBiotech), nos comprimentos de onda de 260 nm e 280 nm e por eletroforese em gel de agarose a 0,8% utilizada para avaliar a integridade do DNA. As amostras de sangue periférico e DNA extraídos das mesmas pertencem ao banco de amostras do Grupo de Pesquisa em Genética Humana e Médica (GeHMed) da UFDPar e estão armazenadas no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da presente instituição.

4.4 DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS, PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO E GENOTIPAGEM

A genotipagem das amostras de DNA para o SNP rs6277 foi realizada por Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (qPCR). Em função da alta sensibilidade dessa técnica, todas as amostras foram diluídas para a concentração de DNA de 2 ng/ μ L. E uma vez que as amostras foram diluídas, deu-se início ao processo de padronização do protocolo de genotipagem. Para isso, seis amostras foram testadas simultaneamente em três protocolos distintos, os quais podem ser observados na tabela 1. Os protocolos diferenciam-se entre si apenas no volume dos reagentes.

Tabela 1 - Protocolos utilizados para a padronização da reação de qPCR.

Reagentes (μ L/poço)	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3
Master Mix	12,5 μ L	5 μ L	2,5 μ L
Sonda	1,25 μ L	0,5 μ L	0,25 μ L
Distribuição	13,75 μ L	5,5 μ L	2,75 μ L
DNA	11,25 μ L	4,5 μ L	2,25 μ L
Volume final	25 μ L	10 μ L	5 μ L

Fonte: Autoria própria, a partir do protocolo padrão, 2024.

Para a genotipagem do *DRD2* rs6277 por meio de qPCR foram utilizadas sondas TaqMan-SNP Genotyping Assays (Applied Biosystem, USA, ID C_11339240_10, nº catálogo 4351379) e TaqMan-Genotyping Master Mix (Applied Biosystem, USA), seguindo o protocolo 3 com volume final de 5 μ L, uma vez que este, quando comparado ao protocolo 1, ambos apresentaram o mesmo padrão de amplificação das amostras testes e controles negativos. Ademais, os resultados obtidos pela reação foram coletadas pelo equipamento ABI 7500 FAST REAL-TIME PCR System (Applied Biosystem) e os registros das reações foram feitos pelo software Sequence Detection Software (SDS) versão 2.3 (Applied Biosystems, USA). A definição do protocolo de termociclagem, o qual pode ser visualizado na tabela 2, foi realizada obedecendo às condições do fabricante do master mix.

Tabela 2 - Protocolo de termociclagem.

Número de Ciclos	Leitura pré-PCR	Desnaturação inicial	Cycling Stage		Leitura pós-PCR
			Desnaturação	Anelamento/ extensão	
40	60°C (1')	95°C (10')	92°C (15'')	60°C (1:30')	60°C (1')

Fonte: Autoria própria, a partir do protocolo padrão, 2024.

As 122 amostras disponíveis no banco amplificaram perfeitamente com o protocolo 3, seguindo o curva de amplificação esperada para cada genótipo.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As frequências genotípicas e alélicas foram calculadas por simples contagem e checadas quanto ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg por meio do teste do Qui-Quadrado (χ^2) utilizando a calculadora *Court lab HWE calculator*, disponibilizada pela Tufts University. Os dados fornecidos pelo software utilizado na tarefa de produção do tempo foram tabulados utilizando software de planilhas (Google Sheets). Em seguida, as variáveis de cada participante foram transformadas em valores para representar a precisão global, chamada de erro absoluto (EA) e a razão ou erro relativo (ER) estimado da duração alvo pelos participantes. Para obtenção do EA, foi calculada a diferença entre o tempo objetivo e o tempo produzido pelos participantes, e para os valores de ER foi obtido através da divisão do valor produzido pelo participante pelo tempo objetivo estabelecido pelo software.

Os genótipos foram avaliados por frequência absoluta e relativa e as medidas comportamentais passaram por medidas de média, desvio padrão, erro padrão e intervalo de confiança a 95%. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para analisar a normalidade dos dados. Após isso, foram realizados os testes de Kruskal-Wallis e de comparações por pares. Todas as análises foram realizadas no programa JAMOVI 2.3.28, considerando o nível de significância de $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS

A genotipagem foi realizada através de qPCR, seguindo os protocolos descritos na metodologia. Dentre as 122 amostras utilizadas, 45 apresentaram genótipo GG (36,89%), 57 apresentaram-se como AG (46,72%) e 20 como AA (16,39%). As frequências genotípicas e alélicas foram calculadas por simples contagem e, então, checadas quanto ao EHW (Tabela 3). Comparando os valores observados com os esperados, foi confirmado que a população se encontra em equilíbrio para o SNP rs6277, pois não houve quaisquer desvios nos valores das frequências ($\chi^2 = 0,06$; $p = 0,80$). Tal fato permitiu que as análises fossem realizadas com segurança, uma vez que foi demonstrado, para o SNP rs6277, que a população não se encontra sob a ação de fatores externos que influenciam nas frequências alélicas e genotípicas, como deriva genética e efeito fundador.

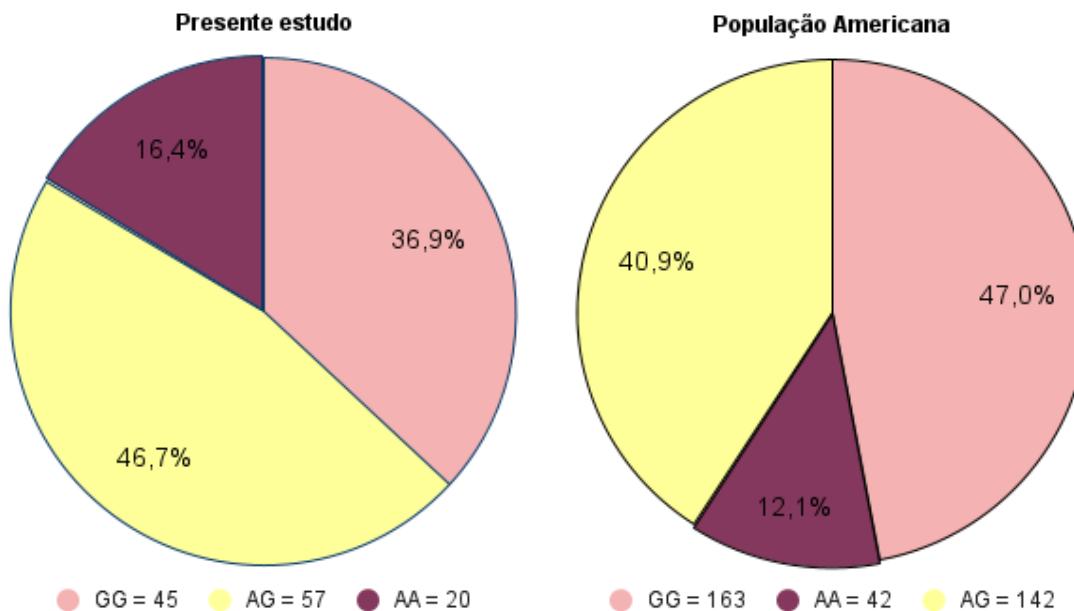
Tabela 3 - Análise das frequências genotípicas e alélicas do SNP rs6277.

Genótipo	n	Frequência genotípica (%)	Frequência alélica	EHW
GG	47	36,89		
AG	57	46,72	G = 0,6	$\chi^2 = 0,06$
AA	20	16,39	A = 0,4	$p = 0,80$
Total	122	100		

Fonte: Autoria própria, 2024.

De acordo com os dados disponibilizados pelo Ensembl, um importante navegador que fornece dados sobre o genoma humano, a frequência alélica do *DRD2* rs6277, mundialmente, corresponde a G=76% e A=24%, enquanto a frequência genotípica observada é de 61,1% para o genótipo GG, 29% para GA e 9,9% para AA. No entanto, dentre os dados fornecidos pela plataforma, não são disponibilizadas informações específicas acerca da frequência do SNP no Brasil. Apesar disso, as frequências genotípicas observadas no presente estudo se equiparam aos da população americana geral (figura 6), representada por subpopulações de origem latino-americana, como colombianos, peruanos e estadunidenses de ancestralidade mexicana.

Figura 6 - Distribuições genotípicas do presente estudo e da população americana geral.



Fonte: Autoria própria, 2024.

No entanto, dados apresentados por Ramos-Lopez *et al* (2018), ao conduzirem um estudo avaliando a relação entre o polimorfismo *DRD2* rs6277, o consumo de açúcar e aos níveis de triglicerídeos em uma população mexicana, encontraram valores de frequências alélicas (G=32,6%; A=67,4%) e genotípicas (GG=12,15%; AG=40,9%; AA=47%) completamente distintos, especialmente no que se refere aos genótipos GG e AA.

Em adição, dados disponíveis no Ensembl revelam que as frequências obtidas no presente estudo também se assemelham às da população sul asiática geral (GG=47,9%; AG=40,3%; AA=11,9%) representada, principalmente, por sub-populações de origem indiana ou paquistanesa. Resultados apresentados por Kukreti *et al.* (2006), ao analisarem a associação entre o *DRD2* rs6277 e a esquizofrenia em um grupo amostral com casos e controles no sul da Índia, revelam para o grupo controle os valores alélicos para G=55,2% e A=44,8% e genótipos para GG=33,1%, AG=44,1% e AA=22,8%. Em concordância com o apresentado anteriormente, Amir e colaboradores (2020), em um estudo também sobre a relação entre o sistema dopamínérigo e pacientes diagnosticados com esquizofrenia, encontraram valores de frequências aléicas (G=58%; A=42%) e genotípicas (GG=34%; AG=48%; AA=18%) na população paquistanesa. Os dados de frequências em diferentes populações podem ser observados na tabela 4.

Tabela 4 - Frequência em diferentes regiões do polimorfismo DRD2 rs6277.

População	DRD2 rs6277					n	Referência
	G	A	GG	AG	AA		
Brasil	60,25	39,75	36,89	46,72	16,39	122	Presente trabalho
Mundial	76	24	61,1	29	9,9	2504	Ensembl
África	94	6	89,9	9,2	0,9	661	Ensembl
América	67	33	47	40,9	12,1	347	Ensembl
Leste Asiático	94	6	87,5	12,5	-	504	Ensembl
Sul Asiático	68	32	47,9	40,3	11,9	489	Ensembl
Europa	46	54	19,5	52,3	28,2	503	Ensembl
México	32,6	67,4	12,15	40,9	47	215	Ramos-Lopez <i>et al</i> , 2018
Índia	55,2	44,8	33,1	44,1	22,8	145	Kukreti <i>et al</i> , 2006
Paquistão	58	42	34	48	18	100	Amir <i>et al</i> , 2020

Fonte: Autoria própria, 2024.

5.2 DADOS COMPORTAMENTAIS DA TAREFA DE PRODUÇÃO DE TEMPO

O software responsável por realizar a tarefa de produção do tempo, que busca avaliar a percepção temporal, armazenava dados à medida que o voluntário dava início e fim a produção do estímulo no monitor posicionado diante deles. O valor armazenado correspondia aos segundos que os participantes julgavam equivalentes ao tempo pré-estabelecido pelo software. Com isso, foram obtidos dados acerca do EA e ER para os intervalos de tempo realizados pelos participantes (1, 4, 7 e 9 segundos). Em posse dos dados comportamentais de cada voluntário sobre tarefa de produção do tempo, foram realizadas análises descritivas para associando-os aos seus respectivos genótipos observados. Os resultados acerca de média, desvio padrão, intervalo de confiança e erro padrão podem ser observados na tabela 5.

Juntamente com a análise descritiva dos dados, foi realizada a avaliação utilizando o teste de Shapiro-Wilk a fim de verificar a normalidade dos dados obtidos na pesquisa e posteriormente o teste de Kruskal-Wallis (tabela 6). Pode-se observar (tabela 7), que os dados não se apresentaram em distribuição normal ($p<0.001$). Em decorrência dos resultados de anormalidade para os dados comportamentais em associação com os genótipos, as análises seguintes foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis, que é um teste não-paramétrico equivalente ao teste paramétrico One Way ANOVA e se baseia no ranqueamento dos valores para avaliar a presença ou ausência de diferenças significativas.

Tabela 5 - Apresentação das médias e desvio padrão para EA e ER com base nos genótipos do *DRD2* rs6277.

	GG			AG			AA		
	Média ± DP	Erro Padrão	IC 95%	Média ± DP	Erro Padrão	IC 95%	Média ± DP	Erro padrão	IC 95%
EA1s	0.46 ± 0.70	0.03	0.39 – 0.52	0.41 ± 0.67	0.02	0.36 – 0.47	0.41 ± 0.58	0.04	0.33 – 0.43
EA4s	1.62 ± 1.51	0.07	1.48 – 1.76	17.78 ± 392.202	16.42	-14.47 – 50.05	1.58 ± 1.51	0.10	1.37 – 1.79
EA7s	2.82 ± 3.05	0.14	2.53 – 3.10	2.22 ± 2.43	2.22	2.02 – 2.42	2.83 ± 2.82	0.19	2.44 – 3.22
EA9s	4.89 ± 31.15	1.46	2.01 – 7.78	2.89 ± 3.04	2.89	2.64 – 3.14	3.97 ± 5.89	0.41	3.15 – 4.79
ER1s	1.79 ± 4.37	0.20	1.38 – 2.20	1.90 ± 4.65	1.90	1.52 – 2.28	1.70 ± 3.96	0.28	1.15 – 2.25
ER4s	3.39 ± 17.56	0.82	1.76 – 5.01	1.90 ± 10.19	1.90	1.06 – 2.74	1.87 ± 9.56	0.67	0.54 – 3.20
ER7s	5.55 ± 31.23	1.47	2.66 – 8.45	4.09 ± 25.69	4.09	1.97 – 6.20	4.75 ± 28.40	2.00	0.79 – 8.72
ER9s	3.22 ± 22.00	1.03	1.19 – 5.26	4.31 ± 29.00	4.31	1.93 – 6.70	3.74 ± 24.78	1.75	0.28 – 7.19

Fonte: Autoria própria, 2024.

Tabela 6 - Teste de Kruskal-Wallis.

	X ²	gl	p		X ²	gl	p
EA1s	4.65	2	0.098	ER1s	1.42	2	0.491
EA4s	12.04	2	0.002	ER4s	6.59	2	0.037
EA7s	20.14	2	< .001	ER7s	7.24	2	0.027
EA9s	17.43	2	< .001	ER9s	7.29	2	0.026

Fonte: Autoria própria, 2024.

Tabela 7 - Teste de normalidade para ER e EA para o genótipo GG, AG e AA.

	GG		AG		AA	
	Shapiro-Wilk		Shapiro-Wilk		Shapiro-Wilk	
	W	p	W	p	W	p
EA1s	0.2101	< .001	0.2127	< .001	0.1993	< .001
EA4s	0.1312	< .001	0.0832	< .001	0.0937	< .001
EA7s	0.1350	< .001	0.1031	< .001	0.1206	< .001
EA9s	0.0865	< .001	0.0957	< .001	0.0988	< .001
ER1s	0.4464	< .001	0.3946	< .001	0.5361	< .001
ER4s	0.8346	< .001	0.0198	< .001	0.8115	< .001
ER7s	0.7304	< .001	0.7626	< .001	0.8158	< .001
ER9s	0.0613	< .001	0.7705	< .001	0.4559	< .001

Fonte: Autoria própria, 2024.

O SNP rs6277 configura uma mutação que não altera a sequência final da proteína. No entanto, estudos indicam impactos significativos no metabolismo e na funcionalidade do receptor, incluindo a redução da estabilidade do mRNA e uma menor expressão dos receptores associados à sua presença. Essas alterações podem levar à desregulação do sistema dopaminérgico, o que potencialmente explica mudanças em tarefas moduladas por esse sistema (Jääskeläinen, 2014).

Os resultados obtidos pelo teste de Kruskal-Wallis indicaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nos intervalos de 4, 7 e 9 segundos, tanto para o erro relativo quanto para o erro absoluto. Na Tabela 8, as comparações pareadas permitem identificar as diferenças significativas observadas no ranqueamento dos dados.

Tabela 8 - Comparações aos pares para EA e ER para os intervalos com diferenças significativas.

					W	p	W	p	
EA4s	AG	GG	4.658	0.003	ER4s	AA	AG	-3.3093	0.051
EA7s	AA	AG	-4.4070	0.005	ER7s	AG	GG	-3.290	0.052
EA7s	AG	GG	5.7880	< 0.001	ER9s	AG	GG	-3.455	0.039
EA9s	AA	AG	-5.19	< 0.001					
EA9s	AG	GG	4.43	0.005					

Fonte: Autoria própria.

Outros polimorfismos do gene *DRD2* já foram associados à influência nas tarefas de avaliação da percepção temporal, como o *DRD2/ANKK1-Taq1a*. Em um estudo conduzido por Jonsson *et al.* (1999), foi demonstrado que esse polimorfismo tem um impacto negativo na precisão de tarefas temporais em intervalos de sub segundos. Essa associação pode ser explicada pela redução na expressão de receptores D2, estimada entre 30% e 40%, devido à presença de apenas uma cópia do alelo mutado (Wiener *et al.*, 2014). Dito isto, com a relevância do sistema dopaminérgico na modulação da percepção, investigar polimorfismos no gene *DRD2*, como o analisado neste estudo, a ampliação do entendimento sobre a relação entre genética e percepção temporal, possibilitando avanços na identificação de marcadores genéticos relevantes para transtornos neuropsiquiátricos.

De posse dos resultados obtidos, é possível inferir que não há diferenças significativas entre os genótipos estudados quando associados aos dados comportamentais da percepção temporal. Dessa forma, na presente pesquisa o fator genético (SNP rs6277) não modifica o ranqueamento dos valores da produção de tempo. Portanto, na presente pesquisa, é importante levar em consideração o tamanho da amostra ($n=122$) analisada para a associação de genótipo e comportamento como um fator limitante para a realização de estudos de genética populacional.

Adicionalmente, uma análise relevante a partir do grupo amostral estudado refere-se à média obtida no Erro Relativo (ER) em comparação ao coeficiente padrão ($c=1$). Os resultados indicaram, para todos os intervalos avaliados na tarefa de produção temporal, a predominância de um perfil de superprodução ($ER > 1$), independentemente do genótipo. Esses achados corroboram com os resultados obtidos do teste de Kruskal-Wallis, reforçando a uniformidade desse comportamento nos grupos analisados. Em contrapartida, Bartholomew e colaboradores (2015), em um dos maiores estudos realizados até então sobre fatores genéticos e não genéticos que influenciam a percepção temporal, com um amplo tamanho amostral ($n=647$), relataram perfis consistentes de subprodução para todos os intervalos avaliados (3 a 15 segundos). Essa divergência entre os achados, em parte, pode ser decorrente da diferença significativa do número amostral dos dois estudos. Porém, destaca a necessidade de explorar mais profundamente as variáveis metodológicas e contextuais que podem influenciar esses resultados.

Além disso, um achado relevante deste estudo refere-se aos valores de erro absoluto (EA), que indicam a precisão dos participantes na execução da tarefa. A análise do EA, observada na tabela 8, baseia-se em mensurar a diferença entre a média dos valores

registrados para cada genótipo e o valor real estabelecido na tarefa de produção (intervalos de 1, 4, 7 e 9 segundos), refletindo a acurácia individual no desempenho temporal.

Tabela 9 - Erros absolutos separados por genótipos.

Genótipos	DRD2 rs6277 e Produção do Tempo			
	Erro Absoluto			
	EA1S	EA4S	EA7S	EA9S
GG	0,54	2,38	4,18	4,11
AG	0,59	13,78	4,78	6,11
AA	0,59	2,42	2,25	3,74

Fonte: Autoria própria, 2024.

Pode-se observar dentre os valores, o EA discrepante no intervalo de 4 segundos no genótipo AG com valor de 13,78 segundos. Rocha e colaboradores (2019), em um estudo sobre os efeitos dos estímulos magnéticos transcranianos de baixa frequência na tarefa de reprodução temporal, destacam que altos valores nesse parâmetro de avaliação indicam baixo desempenho na tarefa de avaliação da percepção temporal. Esses valores são considerados elevados quando superam o intervalo alvo estabelecido, refletindo imprecisão na execução. Entretanto, essa discrepância não apresenta associação com o genótipo, uma vez que os resultados de ranqueamento não demonstraram alterações significativas entre os grupos. Logo, dentro das análises realizadas, essa variação pode ser atribuída ao acaso.

Assim, este estudo destaca o papel fundamental do sistema dopaminérgico em processos cognitivos, especialmente na percepção temporal. A análise da literatura revelou que o impacto direto e específico do polimorfismo *DRD2 rs6277* no contexto da produção temporal ainda é pouco explorado, evidenciando uma lacuna significativa nesse campo. E apesar da limitação relacionada ao tamanho amostral, os resultados obtidos são relevantes e inéditos, trazendo contribuições importantes para o entendimento da percepção temporal e ampliando o conhecimento sobre a associação entre fatores genéticos e as tarefas de avaliação da percepção.

6. CONCLUSÃO

Esta pesquisa permitiu avaliar e determinar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo *DRD2* rs6277 em uma população masculina hígida do Estado do Piauí, associando esses dados ao desempenho na tarefa cognitiva de produção de tempo na percepção temporal, realizada por 122 voluntários.

Portanto, conclui-se que não foi observada uma relação genética significativa entre o polimorfismo avaliado e a tarefa de produção de tempo na percepção temporal. Contudo, foram obtidas informações relevantes sobre a precisão na execução da tarefa e o perfil de produção dos participantes. Ademais, estudos futuros poderão explorar diferentes populações, ampliar o número amostral e integrar outras variáveis, contribuindo para um entendimento mais abrangente das interações entre genética e cognição.

REFERÊNCIAS

- ALIASGHARI, F. *et al.* Associations of the ANKK1 and DRD2 gene polymorphisms with overweight, obesity and hedonic hunger among women from the Northwest of Iran. **Eating and Weight Disorders-Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity**, v. 26, p. 305-312, 2021.
- ALLMAN, M. J., *et al.* Properties of the internal clock: first-and second-order principles of subjective time. **Annual review of psychology**, v. 65, n.1, p. 743-771, 2014.
- AMIR, Qurat-ul-Ain *et al.* Synonymous polymorphism rs201256011 in dopamine receptor type 2 gene is associated with schizophrenia and PANSS score in Pakistani population: a first report. **International Journal of Clinical Practice**, v. 74, n. 9, p. e13536, 2020.
- BAIK, J.. Stress and the dopaminergic reward system. **Experimental & molecular medicine**, v. 52, n. 12, p. 1879-1890, 2020.
- BARTHOLOMEW, A. J.; MECK, W. H.; CIRULLI, E. T. Analysis of genetic and non-genetic factors influencing timing and time perception. **PLoS one**, v.10, n.12, p. e0143873, 2015.
- BHATIA, A.; LENCHNER, J. R.; SAADABADI, Abdolreza. Biochemistry, dopamine receptors. **StatPearls Publishing**, Treasure Island (FL); 2023.
- BUONOMANO, D. V. *et al.* Time for Memories. **Journal of Neuroscience**, v. 43, n. 45, p. 7565-7574, 2023.
- CECCARINI, M. R. *et al.* Association Between DRD2 and DRD4 Polymorphisms and Eating Disorders in an Italian Population. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022.
- COULL, J. T.; NOBRE, A. C. Dissociating explicit timing from temporal expectation with fMRI. **Current opinion in neurobiology**, v. 18, n.2, p. 137-144, 2018.

DAVID, S. P., *et al.* Genetic variation in the dopamine D4 receptor (DRD4) gene and smoking cessation: follow-up of a randomised clinical trial of transdermal nicotine patch. **The pharmacogenomics journal**, v.8, n.2, p. 122-128, 2008.

DUNLOP, B. W.; NEMEROFF, C. B. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. **Archives of general psychiatry**, v. 64, n. 3, p. 327-337, 2007.

ESTEVINHO, M. F.; SOARES-FORTUNATO, J. M. Dopamina e receptores. **Revista Portuguesa de Psicossomática**, v. 5, n. 1, p. 21-31, 2003.

ETKIN, A.; GYURAK, A.; O'HARA, R.. A neurobiological approach to the cognitive deficits of psychiatric disorders. **Dialogues in clinical neuroscience**, 2022.

FONTELES, I. R. A.; MEDEIROS, E. M.; NOGUEIRA, C. R. A.. Motivação para comportamentos de risco: Procura por sensações, dopamina e gene D4. **Psique**, v. 14, 2018.

FORD, Christopher P. The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. **Neuroscience**, v. 282, p. 13-22, 2014.

FRAISSE, Paul. Perception and estimation of time. **Annual review of psychology**, v. 35, n. 1, p. 1-37, 1984.

FUNG, B. J.; SUTLIEF, E.; SHULER, M. G. H.. Dopamine and the interdependency of time perception and reward. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 125, p. 380-391, 2021.

GILSBACH, S., *et al.* Effects of the DRD4 genotype on neural networks associated with executive functions in children and adolescents. **Developmental cognitive neuroscience**, v. 2 n. 4, p. 417-427, 2012.

GLICKSOHN, J. *et al.* Time production and EEG alpha revisited. **NeuroQuantology**, v. 7, n. 1, 2009.

GRONDIN, S.. Timing and time perception: A review of recent behavioral and neuroscience findings and theoretical directions. **Attention, Perception, & Psychophysics**, v. 72, n. 3, p. 561-582, 2010.

HERMAN, Aryeh I. et al. Pharmacogenetics of nicotine addiction: role of dopamine. **Pharmacogenomics**, v. 15, n. 2, p. 221-234, 2014.

HIRVONEN, Mika M. et al. C957T polymorphism of dopamine D2 receptor gene affects striatal DRD2 in vivo availability by changing the receptor affinity. **Synapse**, v. 63, n. 10, p. 907-912, 2009.

HUNT, R. C. *et al.* Exposing synonymous mutations. **Trends in Genetics**, v. 30, n. 7, p. 308-321, 2014.

JÄÄSKELÄINEN, S. K. *et al.* Variation in the dopamine D2 receptor gene plays a key role in human pain and its modulation by transcranial magnetic stimulation. **PAIN®**, v. 155, n. 10, p. 2180-2187, 2014.

JANCA, A.; BULLEN, C.. The Aboriginal concept of time and its mental health implications. **Australasian Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. S40-S44, 2003.

JONES, C. RG *et al.* Basal ganglia, dopamine and temporal processing: performance on three timing tasks on and off medication in Parkinson's disease. **Brain and cognition**, v. 68, n. 1, p. 30-41, 2008.

KENT, L.; NELSON, B.; NORTHOFF, G.. Can disorders of subjective time inform the differential diagnosis of psychiatric disorders? A transdiagnostic taxonomy of time. **Early intervention in psychiatry**, v. 17, n. 3, p. 231-243, 2023.

KIM, Esther et al. Interaction effects of DRD2 genetic polymorphism and interpersonal stress on problematic gaming in college students. **Genes**, v. 13, n. 3, p. 449, 2022.

KUKRETI, Ritushree et al. Association of DRD2 gene variant with schizophrenia. **Neuroscience letters**, v. 392, n. 1-2, p. 68-71, 2006.

LOVE, Cameron R. et al. The Drosophila dopamine 2-like receptor D2R (Dop2R) is required in the blood brain barrier for male courtship. **Genes, Brain and Behavior**, v. 22, n. 1, p. e12836, 2023.

MARTINS E SILVA, D. C. et al. Non-immersive 3D virtual stimulus alter the time production task performance and increase the EEG theta power in dorsolateral prefrontal cortex. **International Journal of Neuroscience**, v. 132, n. 6, p. 563-573, 2022.

MCCUTCHEON, R. A.; KEEFE, R. SE; MCGUIRE, P. K. Cognitive impairment in schizophrenia: aetiology, pathophysiology, and treatment. **Molecular psychiatry**, v. 28, n. 5, p. 1902-1918, 2023.

MERCHANT, H.; HARRINGTON, D. L.; MECK, W. H. Neural basis of the perception and estimation of time. **Annual review of neuroscience**, v. 36, n. 1, p. 313-336, 2013.

MIONI, G. *et al.* Different methods for reproducing time, different results. **Attention, Perception, & Psychophysics**, v. 76, p. 675-681, 2014.

MITCHELL, J. M., *et al.* Dopamine, time perception, and future time perspective. **Psychopharmacology**, v. 235, p. 2783-2793, 2018.

MIYAWAKI, E. K. "subjective time perception, dopamine signaling, and Parkinsonian slowness." **Frontiers in Neurology** v. 13, p. 927160, 2022.

MONEY, K. M.; STANWOOD, G. D. Developmental origins of brain disorders: roles for dopamine. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 7, p. 260, 2013.

MORAGA-AMARO, R., *et al.* Dopamine receptor D3 deficiency results in chronic depression and anxiety. **Behavioural brain research**, v. 274, p. 186-193, 2014.

NAGHIBI, N., *et al.* Embodying time in the brain: A multi-dimensional neuroimaging meta-analysis of 95 duration processing studies. **Neuropsychology Review**, v. 34, n.1: 277-298, 2024.

NOBLE, E. P. **D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes.** American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, v. 116, n. 1, p. 103-125, 2003.

NOBLE, E. P. **D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes.** American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, v. 116, n. 1, p. 103-125, 2003.

NUYENS, F. M.; BILLIEUX, J.; MAURAGE, P.. Time perception and alcohol use: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 127, p. 377-403, 2021.

PONCE, G. et al. DRD2 and ANKK1 genotype in alcohol-dependent patients with psychopathic traits: association and interaction study. **The British Journal of Psychiatry**, v. 193, n. 2, p. 121-125, 2008.

POPPET, E.. Time perception. **Handbook of sensory physiology**, v. 8, p. 713-729, 1978.

POUTHAS, V. *et al.* ERPs and PET analysis of time perception: spatial and temporal brain mapping during visual discrimination tasks. **Human brain mapping**, v. 10, n. 2, p. 49-60, 2000.

POUTHAS, V.; PERBAL, S.. Time perception depends on accurate clock mechanisms as well as unimpaired attention and memory processes. **Acta neurobiologiae experimentalis**, v. 64, n. 3, p. 367-385, 2004.

ROCHA, K. *et al.* Low-frequency rTMS stimulation over superior parietal cortex medially improves time reproduction and increases the right dorsolateral prefrontal cortex predominance. **International Journal of Neuroscience**, v. 129, n. 6, p. 523-533, 2019.

ROMANELLI, R. J.; WILLIAMS, J. T.; NEVE, K. A. Dopamine receptor signaling: intracellular pathways to behavior. **The dopamine receptors**, p. 137-173, 2010.

SAHA, S. *et al.* Analysis of neurotransmitters validates the importance of the dopaminergic system in autism spectrum disorder. **World Journal of Pediatrics**, p. 1-12, 2023.

SIMEN, P.; MATELL, M.. Why does time seem to fly when we're having fun?. **Science**, v. 354, n. 6317, p. 1231-1232, 2016.

SWAGELL, C. D. *et al.* DRD2 C957T and Taq IA genotyping reveals gender effects and unique low-risk and high-risk genotypes in alcohol dependence. **Alcohol and alcoholism**, v. 47, n. 4, p. 397-403, 2012.

TEIXEIRA, S., *et al.* Time perception distortion in neuropsychiatric and neurological disorders. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)**, 2013, 12.5: 567-582.

TOMASI, D., *et al.* Dissecting neural responses to temporal prediction, attention, and memory: effects of reward learning and interoception on time perception. **Cerebral Cortex**, 2015, 25.10: 3856-3867.

VOISEY, J. *et al.* A DRD2 and ANKK1 haplotype is associated with nicotine dependence. **Psychiatry research**, v. 196, n. 2-3, p. 285-289, 2012.

WANG, G. *et al.* Imaging of brain dopamine pathways: implications for understanding obesity. **Journal of addiction medicine**, v. 3, n. 1, p. 8-18, 2009.

WIENER, M. *et al.* Individual differences in the morphometry and activation of time perception networks are influenced by dopamine genotype. **Neuroimage**, v. 89, p. 10-22, 2014.

WISE, R. A.; ROBBLE, Mykel A. Dopamine and addiction. **Annual review of psychology**, v. 71, n. 1, p. 79-106, 2020.

XU, H.; YANG, F.. The interplay of dopamine metabolism abnormalities and mitochondrial defects in the pathogenesis of schizophrenia. **Translational psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 464, 2022.

ZMIGROD, L. ; ROBBINS, T. W. Dopamine, cognitive flexibility, and IQ: Epistatic catechol-o-MethylTransferase: DRD2 gene–gene interactions modulate mental rigidity. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 34, n. 1, p. 153-179, 2021.

ZOU, Z. et al. Definition of substance and non-substance addiction. **Substance and non-substance addiction**, p. 21-41, 2017.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezado,

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 “Influência genética e do ritmo circadiano sobre a percepção do tempo e comportamento do córtex cerebral”, realizada na Universidade Federal do Piauí (UFPI). Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Leia atentamente as considerações do trabalho e assine o final caso se sinta à vontade em participar:

Objetivo: Eu entendo que a pesquisa tem como finalidade avaliar se o desempenho na percepção temporal, atividade eletrofisiológica cerebral, polimorfismos genéticos e ritmo circadiano. 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 ao sistema dopaminérgico, serotoninérgico, gabaérgico e de genes associado ao ciclo circadiano (Clock Genes). 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 eletroencefalograma. 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. Não terei custos ao participar deste projeto, como também não receberei pagamento ou qualquer gratificação financeira. Caso me sinta lesado, poderei pleitear, junto aos órgãos competentes, indenização, que será concedida por determinação legal, caso seja comprovado a ocorrência de eventuais danos decorrentes da minha participação neste projeto. Minhas informações pessoais serão mantidas em sigilo, sendo minha 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 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 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. Também entendo que o período de coleta dos dados é estimado em 55 minutos, o que poderá causar incômodo devido ao tempo na posição sentado. Para evitar esses efeitos, posso interromper a coleta de dados em qualquer momento que eu 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, poderei ser encaminhado pelo pesquisador para acompanhamento médico. Além disso, o pesquisador 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 conhecida, que são as diferenças interindividuais 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, dos 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 silmarteixeira@ufpi.edu.br.

Diante dessas informações, declaro meu consentimento livre para ceder o material de origem biológica e de outras informações para a pesquisa “Influência genética e do ritmo circadiano sobre a percepção do tempo e comportamento do córtex cerebral”.

Parnaíba – PI, _____ de _____ de 20____

Voluntário (nome completo): _____

Voluntário

Pesquisador responsável