

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

Carolina de Castro Andrade Jorge

**CONTRIBUIÇÃO DO POLIMORFISMO RS686 NO GENE *DRD1* PARA A
DIFICULDADE DE APRENDIZAGEM DA MATEMÁTICA EM UMA AMOSTRA
POPULACIONAL DE CRIANÇAS EM IDADE ESCOLAR**

Belo Horizonte
2022

Carolina de Castro Andrade Jorge

**CONTRIBUIÇÃO DO POLIMORFISMO RS686 NO GENE *DRD1* PARA A
DIFICULDADE DE APRENDIZAGEM DA MATEMÁTICA EM UMA AMOSTRA
POPULACIONAL DE CRIANÇAS EM IDADE ESCOLAR**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Genética

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Raquel Santos Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Rubatino

Belo Horizonte
2022

043

Jorge, Carolina de Castro Andrade.

Contribuição do polimorfismo rs686 no gene DRD1 para a dificuldade de aprendizagem da matemática em uma amostra populacional de crianças em idade escolar [manuscrito] / Carolina de Castro Andrade Jorge. – 2022.

102 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profª Drª Maria Raquel Santos Carvalho. Coorientador: Prof. Dr. Fernando Rubatino.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Genética. 2. Dificuldade de aprendizagem. 3. Matemática. 4. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. 5. Receptores de Dopamina D1. 6. Memória de Curto Prazo. I. Carvalho, Maria Raquel Santos. II. Rubatino, Fernando Victor Martins. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
 Programa de Pós-Graduação em Genética

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO / TESE

ATA DA DEFESA DE TESE	160/2022
Carolina de Castro Andrade Jorge	Entrada: 2º/2016
	CPF: 076.571.166-41

Às quatorze horas do dia **19 de agosto de 2022**, reuniu-se remotamente a Comissão Examinadora de Tese, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: "**CONTRIBUIÇÃO DO POLIMORFISMO R5686 NO GENE DRD1 PARA A DIFICULDADE DE APRENDIZAGEM DA MATEMÁTICA EM UMA AMOSTRA POPULACIONAL DE CRIANÇAS EM IDADE ESCOLAR**", requisito para obtenção do grau de Doutora em **Genética**. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, **Maria Raquel Santos Carvalho**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	CPF	Indicação
Maria Raquel Santos Carvalho	UFMG	349.651.730-15	APROVADA
Fernando Victor Martins Rubatino	Santa Casa	038.304.516-95	APROVADA
Paulo Ricardo Gazzola Zen	UFCSIPA	393.152.740-91	APROVADA
Patrícia Martins de Freitas	UFBA	038.332.236-77	APROVADA
Leandro Martins de Freitas	UFBA	046.937.576-08	APROVADA
Evanguedes Kalapothakis	UFMG	494.307.426-04	APROVADA

Pelas indicações, a candidata foi considerada: **APROVADA**

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 19 de agosto de 2022.

Maria Raquel Santos Carvalho - Orientadora

Fernando Victor Martins Rubatino - Coorientador

Paulo Ricardo Gazzola Zen

Patrícia Martins de Freitas

Leandro Martins de Freitas

Evanguedes Kalapothakis

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Victor Martins Rubatino, Usuário Externo**, em 19/08/2022, às 17:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Martins de Freitas, Usuário Externo**, em 20/08/2022, às 16:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Ricardo Gazzola Zen, Usuário Externo**, em 22/08/2022, às 10:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Raquel Santos Carvalho, Membro**, em 22/08/2022, às 11:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Evanguedes Kalapothakis, Membro**, em 22/08/2022, às 18:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Martins de Freitas, Usuário Externo**, em 22/08/2022, às 19:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1682145** e o código CRC **86569B6D**.

*À Deus, pelo cumprimento da Sua
palavra.*

AGRADECIMENTOS

A prof^a. Dr^a. Maria Raquel agradeço pela orientação, por todos os ensinamentos que contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pela paciência comigo durante estes últimos anos. Agradeço também à todos os professores que de alguma forma contribuíram para meu crescimento pessoal, acadêmico e profissional;

Aos colegas do LGHM agradeço pela grata amizade, pelas experiências trocadas e pelo apoio.

Ao Prof. Dr. Vitor Haase, a Ms. Giulia Paiva e toda equipe do laboratório de Neuropsicologia do Desenvolvimento agradeço pela coleta de material biológico, realização dos testes para triagem, diagnóstico neuropsicológico e por todo ensinamento.

Ao Prof. Dr. Fernando Rubatino do Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte agradeço por todo aprendizado com a técnica de HRM, pela disposição em ajudar e por aceitar ser coorientador deste trabalho.

A CAPES agradeço pelo apoio financeiro que me permitiu dedicar com exclusividade aos meus estudos e à pesquisa.

Agradeço aos pacientes e seus familiares pela participação neste estudo;

Ao meu esposo e filhos agradeço por serem meus maiores incentivadores, pelo amor, compreensão, paciência dedicados a mim e pela base sólida que temos como família.

Aos meus pais, irmãos, sogros, cunhados e sobrinhos agradeço por todo apoio, incentivo e alegrias diárias. A minha amada avó Júlia por torcer por mim e pelas suas orações.

Aos meus amigos agradeço pelo companheirismo, momentos de descontração

E por último, porém mais importante, agradeço a Deus que acreditou em mim, me fortificou e cumpriu em mim a sua palavra.

RESUMO

A dificuldade de aprendizagem na Matemática (DAM) é um transtorno do desenvolvimento cognitivo, que afeta a capacidade de um indivíduo de adquirir habilidades numéricas e aritméticas. A frequência da DAM varia entre 1 a 8% entre crianças em idade escolar. A DAM é uma característica multifatorial, podendo ser causada por variáveis sociais, emocionais, econômicas, neurodesenvolvimentais e genéticas. A DAM pode influenciar negativamente o contexto familiar, profissional, social, emocional e intelectual do indivíduo. Nosso grupo de pesquisa investigou a contribuição de genes do sistema dopaminérgico (*DAT1* e *COMT*) para a memória de trabalho e DAM em crianças em idade escolar. O receptor dopaminérgico D1 (codificado pelo gene *DRD1*) é o principal alvo da dopamina no córtex pré-frontal. A expressão do gene *DRD1* é em parte modulada pelo polimorfismo rs686, que apresenta dois alelos, G e A. O alelo G na 3'-UTR afeta a ligação do miR-504 e se associa a uma diminuição da expressão do receptor D1. Este estudo visou analisar a contribuição do receptor dopaminérgico D1 para a DAM e fenótipos correlatos, usando como marcador o polimorfismo funcional rs686. Foram genotipadas 574 crianças (254 meninos) matriculadas da 2ª a 4ª série do Ensino Fundamental em Belo Horizonte (MG) ou Porto Alegre (RS). Foram realizados teste de desempenho escolar (TDE aritmética e TDE ortografia), inteligência (Matrizes Coloridas Progressivas de Raven), memória de trabalho (Cubos de Corsi e Digit Span - *forward* e *backward*), entre outros. A genotipagem do rs686 foi feita por *High Resolution Melting* (HRM). O efeito do rs686 foi avaliado sob os modelos genotípicos codominante, A-dominante, G-dominante e heterose através de teste U de Mann-Whitney e ANOVA de Kruskal-Wallis, usando-se SPSS v.25. Observou-se associação significativa do genótipo, sob o modelo G-dominante, com os resultados de Cubos de Corsi *forward* em ambos os sexos, testados separadamente. Interessantemente, o efeito dos genótipos foi invertido conforme o sexo. Nos modelos de ANOVA multivariada considerando-se os dois sexos juntos, observa-se efeito da interação sexo genótipo sobre os resultados da tarefa de Cubos de Corsi *forward*. Como esperado, a magnitude do efeito do genótipo é pequena (r^2 ajustado=0,16). Em meninos, os genótipos A/G + G/G se associaram a pior desempenho do que o genótipo A/A (Teste de medianas, $p=0,022$; U de Mann-Whitney, $p=0,017$). Nas meninas, os genótipos A/G + G/G se associaram a melhor desempenho, quando comparados ao genótipo A/A (Teste de medianas, $p=0,017$; U de Mann-Whitney, $p=0,012$). Modelos baseados em ANOVA multivariada, investigando os efeitos de sexo, genótipo e resultados na tarefa Cubos de Corsi *forward* sobre o desempenho no TDE aritmética não foram significativos. Efeito de sexo em tarefas de MT visuoespacial já foram descritos anteriormente, porém o efeito de sexo e modelo genotípico em geral não foi investigado. Este é o primeiro estudo a investigar os efeitos de sexo, do rs686 sob os diferentes modelos e sua interação sobre os resultados em uma tarefa de memória de trabalho e o desempenho em aritmética.

Palavras-chave: genética, dificuldade de aprendizagem, dificuldade de aprendizagem na Matemática, polimorfismo rs686, DRD1, memória de trabalho

ABSTRACT

Math Learning Disabilities (MLD) is a cognitive development disorder that affects an individual's ability to acquire numerical and arithmetic skills. The frequency of MLD ranges from 1 to 8% among school-age children. MLD is a multifactorial characteristic and can be caused by social, emotional, economic, neurodevelopmental and genetic variables. MLD can negatively influence the individual's family, professional, social, emotional and intellectual context. Our research group investigated the contribution of dopaminergic system genes (DAT1 and COMT) to working memory and AMD in school-age children. The D1 dopamine receptor (encoded by the DRD1 gene) is the main target of dopamine in the prefrontal cortex. The expression of the DRD1 gene is in part modulated by the rs686 polymorphism, which has two alleles, G and A. The G allele in the 3'-UTR affects miR-504 binding and is associated with a decrease in D1 receptor expression. This study aimed to analyze the contribution of the D1 dopaminergic receptor to AMD and related phenotypes, using the functional polymorphism rs686 as a marker. A total of 574 children (254 boys) enrolled in the 2nd to 4th grades of Elementary School in Belo Horizonte (MG) or Porto Alegre (RS) were genotyped. School performance tests (Arithmetic TDE and spelling TDE), intelligence (Raven Progressive Color Matrices), working memory (Corsi Cubes and Digit Span - forward and backward), among others, were performed. Genotyping of rs686 was performed by High Resolution Melting (HRM). The effect of rs686 was evaluated under codominant, A-dominant, G-dominant and heterosis genotypic models using Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis ANOVA, using SPSS v.25. There was a significant association between the genotype, under the G-dominant model, with the results of forward Corsi Cubes in both sexes, tested separately. Interestingly, the effect of genotypes was inverted according to sex. In multivariate ANOVA models considering both sexes together, an effect of the sex genotype interaction on the results of the forward Corsi Cubes task is observed. As expected, the magnitude of the genotype effect is small (adjusted $r^2=0.16$). In boys, the A/G + G/G genotypes were associated with worse performance than the A/A genotype (median test, $p=0.022$; Mann-Whitney U, $p=0.017$). In girls, the A/G + G/G genotypes were associated with better performance when compared to the A/A genotype (median test, $p=0.017$; Mann-Whitney U, $p=0.012$). Models based on multivariate ANOVA, investigating the effects of sex, genotype, and results in the forward Corsi Cubes task on performance in the arithmetic TDE were not significant. Gender effects on visuospatial TM tasks have been described previously, but the effect of sex and genotypic model in general has not been investigated. This is the first study to investigate the effects of gender, rs686 under different models and their interaction on outcomes on a working memory task and performance in arithmetic.

Key words: learning difficulties, Mathematics learning difficulties, rs686 polymorphism, DRD1, working memory

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Regiões do cérebro associadas ao domínio cognitivo específico da Matemática.....	16
Figura 2. Regiões do cérebro associadas ao domínio cognitivo geral da rede aritmética.....	17
Figura 3. As duas características do sistema de número aproximado.	20
Figura 4. Modelo neurocognitivo do Código Triplo	21
Figura 5. Modelo de multicomponentes da memória de trabalho.....	35
Figura 6. Representação das quatro vias dopaminérgicas no cérebro humano.....	38
Figura 7. Estrutura esquemática dos receptores de dopamina da família D1	40
Figura 8. Estrutura esquemática dos receptores de dopamina da família D2	41
Figura 9. Modelo da influência dos níveis de dopamina e sua relação com a ativação de DRD1 e com o fenótipo da memória de trabalho	43
Figura 10. Estrutura esquemática do gene <i>DRD1</i>	44
Figura 11. Exemplo de curva de dissociação normalizada gerada por HRM	46
Figura 12. Exemplo de resultados de HRMs revelando diferentes curvas de dissociação.....	47
Figura 13. Ciclos de amplificação usado na PCR para o sequenciamento de sanger do polimorfismo rs686 do gene <i>DRD1</i>	56
Figura 14. Ciclos de amplificação da PCR-HRM para o polimorfismo rs686 do gene <i>DRD1</i>	57
Figura 15. Eletroferograma de três indivíduos sequenciados para o SNP rs686 do gene <i>DRD1</i>	59
Figura 16. Derivação e alinhamento da curva de dissociação do rs686 do gene <i>DRD1</i> ao HRM	60
Figura 17. Distribuição das médias dos resultados da tarefa Cubos de Corsi forward conforme o genótipo no rs686, sob o modelo G-dominante.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Testes da avaliação neuropsicológica.....	53
Tabela 2. Composição da amostra.....	62
Tabela 3. Resultados e parâmetros estatísticos dos testes psicométricos usados ...	63
Tabela 4. Resultados das correlações (Spearman) entre os testes usados neste estudo.	65
Tabela 5. Frequências alélicas e genóticas, teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg	66
Tabela 6. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo codominante	67
Tabela 7. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo A-dominante	68
Tabela 8. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo G-dominante.....	69
Tabela 9. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo heterose.....	70
Tabela 10. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo codominante	71
Tabela 11. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo A-dominante	72
Tabela 12. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo G-dominante	73
Tabela 13. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo heterose.....	74
Tabela 14. Médias e desvios-padrão dos resultados na tarefa Cubos de Corsi <i>forward</i> , na amostra total e conforme o sexo, sob o modelo G-dominante	76
Tabela 15. Efeitos de genótipo no modelo G-dominante, sexo e Cubos de Corsi <i>forward</i> sobre o TDE aritmética.....	77
Tabela 16. Avaliação dos efeitos de sexo, genótipo sob o modelo G-dominante e sua interação sobre os resultados da tarefa Cubos de Corsi, <i>forward</i>	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HTTLPR	<i>5-Hydroxytryptamine (Serotonin) Transporter</i>
9-HPT	<i>Nine-Hole Peg Test</i>
aCGH	<i>Microarray-based Comparative Genomic Hybridization</i>
ANS	<i>Approximate Number System</i>
ATP	<i>Adenosina Trifosfato</i>
cAMP	<i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i>
CBCL	<i>Child Behaviour Checklist</i>
COMT	<i>Catechol-o-methyltransferase</i>
DAM	Dificuldade de aprendizagem da Matemática
DAMO	Dificuldade de aprendizagem da Matemática e Ortografia
DAT	<i>Dopamine transporter</i>
DE	Dificuldade de Escrita
DL	Dificuldade de Leitura
DOPAC	<i>Ácido 3,4 – Dihidroxifenilacético</i>
DRD1	Dopamine Receptor D1
DRD2	Dopamine Receptor D2
DRD3	Dopamine Receptor D3
DRD4	Dopamine Receptor D4
DRD5	Dopamine Receptor D5
EHW	Equilíbrio de <i>Hardy-Weinberg</i>
FAFICH	Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas
FAM43A	<i>Family with sequence similarity 43, member A</i>
FISH	<i>Fluorescence in Situ Hybridization</i>
FMR1	<i>Fragile X Mental Retardation 1</i>

GLM	Modelo Linear Generalizado
GWAS	<i>Genome Wide Association Study</i>
HRM	<i>High Resolution Melting</i>
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
L-DOPA	<i>L-3,4-Dihidroxifenilalanina</i>
LGHM	Laboratório de Genética Humana e Médica
LND	Laboratório de Neuropsicologia do Desenvolvimento
LPI	Avaliação de Leitura de palavras/pseudopalavras isoladas
LSG1	<i>Large Subunit Gtpase 1</i>
MAOA	<i>Monoamine Oxidase A</i>
MAOB	<i>Monoamine Oxidase B</i>
MAQ	<i>Mathematics Anxiety Questionnaire</i>
MG	Minas Gerais
miR-504	MicroRNA-504
MLPA	<i>Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification</i>
MT	Memória de trabalho
PAR2	Região pseudoautosômica 2
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PKA	<i>Protein Kinase A</i>
qPCR	<i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
RS	Rio Grande do Sul
S100B	<i>S100 Calcium Binding Protein B</i>
SECTM1	<i>Secreted and Transmembrane 1</i>
SIP	Sulco intraparietal
SLC6A4	<i>Solute Carrier Family 6 Member 4</i>

SNAP	Questionário Swanson, Nolan e Pelham
SNP	<i>Single-Nucleotide Polymorphism</i>
SPOCK1	<i>SPARC (Osteonectin), Cwcv And Kazal Like Domains Proteoglycan 1</i>
SYBL1	<i>Vesicle Associated Membrane Protein 7</i>
TDAH	Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade
TDE	Teste de desempenho escolar
TFL	Teste de Fluência de Leitura
Tm	Temperatura de <i>Melting</i>
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VAMP7	<i>Vesicle Associated Membrane Protein 7</i>
VNTR	<i>Variable Number Tandem Repeat</i>
W	Fração de Weber
WISC	<i>Wechsler Intelligence Scale Children</i>
Z	Escore z

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Habilidades Matemáticas	15
1.1.1. Habilidades matemáticas precursoras	18
1.2. A Dificuldade de Aprendizagem da Matemática	21
1.2.1. As manifestações fenotípicas da dificuldade de aprendizagem da matemática 23	
1.2.2. O Diagnóstico neuropsicológico da dificuldade de aprendizagem da matemática 23	
1.2.3. Etiologia da dificuldade de aprendizagem na matemática.....	25
1.2.3.2. Aspectos neurodesenvolvimentais.....	26
1.2.3.3. Aspectos genéticos.....	27
1.3. Estudos de associação genética	28
1.4. Contribuições do nosso grupo de pesquisa para a investigação da DAM/DAMO .	32
1.5. Memória de trabalho.....	34
1.6. O sistema dopaminérgico e a aprendizagem.....	36
1.6.1. Os receptores dopaminérgicos	39
1.7. Técnicas de análise de SNP.....	45
1.7.1. HRM	45
1.8. Hipóteses	47
1.9. Justificativa e relevância.....	47
1.10. Objetivos	49
1.10.1. Objetivo geral	49
1.10.2. Objetivos específicos	49
2. METODOLOGIA	50
2.1. Aspectos éticos	50
2.2. Amostra.....	50
2.3. Delineamento da pesquisa	51
2.4. Triagem pelo TDE, Tarefa de Transcodificação Numérica e Matrizes Coloridas de Raven.....	51
2.5. Avaliação neuropsicológica	52
2.6. Métodos moleculares	54
2.6.1. Material biológico	54
2.6.2. Genotipagem do polimorfismo rs686 em <i>DRD1</i>	55
2.7. Análises estatísticas.....	57
3. RESULTADOS	59

3.1 Padronização da metodologia de genotipagem por HRM.....	59
3.2. Estudo de associação	61
3.2.1 Análises descritivas da amostra e dos parâmetros psicométricos.....	61
3.2.2. Normalidade da distribuição das variáveis psicométricas em estudo	64
3.2.3. Correlações entre as variáveis.....	64
3.2.4. Frequências alélicas, genotípicas e Equilíbrio de Hardy-Weinberg	66
3.2.5. Influência dos modelos genotípicos e do sexo	66
3.2.6. Efeitos de sexo na tarefa de Cubos de Corsi <i>forward</i>	75
4. DISCUSSÃO	80
4.1 Método de genotipagem desenvolvido	81
4.2. Características gerais da amostra, que possam impactar os resultados obtidos	82
4.3. Características das variáveis avaliadas, que possam impactar os resultados obtidos	82
4.3.1 Necessidade do uso <i>escore-z</i>	83
4.3.2 Normalidade da distribuição da variável.....	83
4.3.3 Correlações	83
4.4. Associações observadas, efeitos de sexo e modelo genotípico, e seus significados.	84
5. CONCLUSÕES	88
6. REFERÊNCIAS ELETRÔNICAS E BIBLIOGRÁFICAS	89

1. INTRODUÇÃO

1.1. Habilidades Matemáticas

As habilidades matemáticas compreendem a capacidade de obter, processar e reter informações matemáticas (KARSENTY, 2014). Essas habilidades são essenciais à vida cotidiana dos seres humanos e estão se tornando cada vez mais cruciais com o aumento do desenvolvimento tecnológico da sociedade contemporânea (KANZAFAROVA et al, 2015). Baixas habilidades matemáticas podem afetar a escolaridade e a empregabilidade de um indivíduo, além de afetar sua saúde mental e a situação econômica dos países (KUCIAN e von ASTER, 2015).

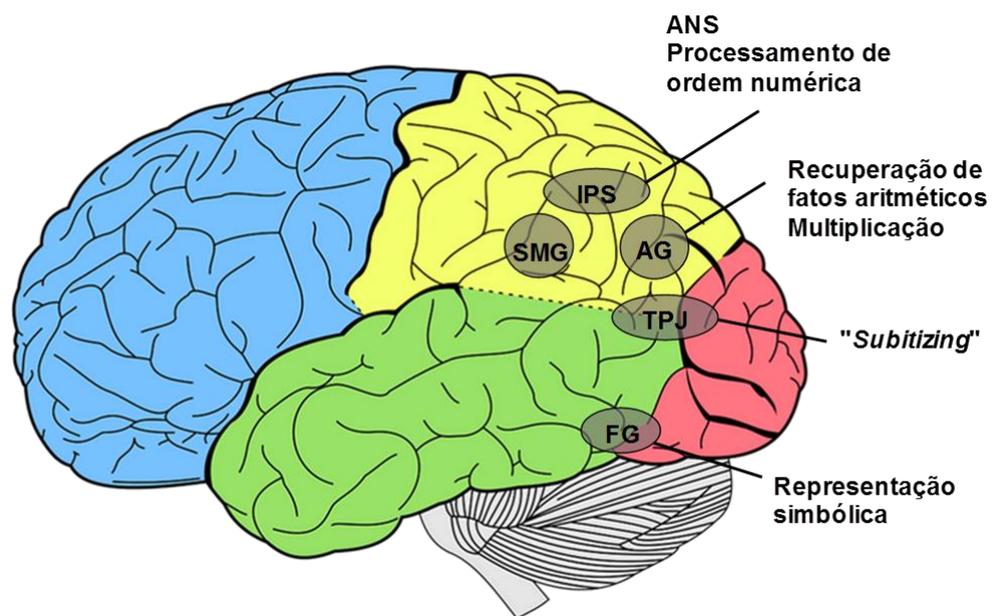
As habilidades matemáticas apresentam um desenvolvimento complexo e multidimensional, podendo compreender várias habilidades cognitivas e regiões cerebrais (VOGEL & De SMEDT, 2021). Pesquisas de neuroimagem têm demonstrado que as habilidades cognitivas associadas à matemática são mapeadas em várias regiões do córtex cerebral. Essas regiões cerebrais são capazes de formar redes funcionais bastante dinâmicas que interagem de várias maneiras a fim de permitir o processamento eficaz e flexível das informações matemáticas (PETER & De SMEDT, 2018). O funcionamento adequado dessas regiões cerebrais é ainda moldado por aspectos como a idade, educação, fatores ambientais e genéticos.

Dentre as habilidades cognitivas envolvidas na matemática estão as habilidades de domínio específico e simultaneamente as habilidades de domínio geral. Essas habilidades trabalham em conjunto para apoiar a construção das habilidades matemáticas no cérebro (VOGEL & De SMEDT, 2021).

Habilidades de domínio específico da matemática são aquelas que envolvem operações mentais restritas ao domínio acadêmico da Matemática. Como exemplo podemos citar a representação de quantidades numéricas: representação de números aproximados, representação de números verbais e visuais. Além disso, se encontram também os processos de contagem e ordenação, a recuperação de fatos aritméticos e conhecimento processual aritmético. As regiões cerebrais e rede funcionais que suportam essas habilidades são principalmente, mas não exclusivamente, localizadas no córtex parietal, incluindo o sulco intraparietal, giro angular e giro supramarginal, associados com o processamento da magnitude, ordenação, recuperação de fatos aritméticos e multiplicação (HYDE et al., 2010; KUCIAN et al., 2011; VOGEL & De

SMEDT, 2021). A região occipitotemporal, relacionadas com o *subitizing* e processamento simbólico, também fazem parte da rede funcional que suporta as habilidades específicas da Matemática (YEO et al., 2017; ARSALIDOU & TAYLOR, 2011; XU, 2009; ANSARI et al., 2007). Na Figura 1, estão representadas as principais regiões cerebrais e suas respectivas funções cognitivas associadas às habilidades de domínio específico da matemática.

Figura 1. Regiões do cérebro associadas ao domínio cognitivo específico da Matemática



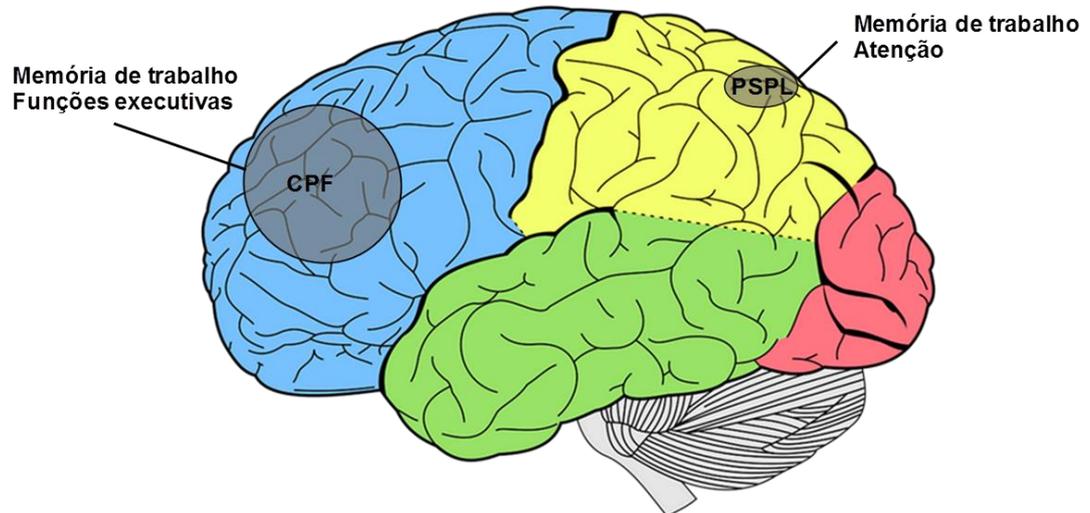
Nota: A região de cor azul indica o lobo frontal; Lobo parietal em amarelo; Lobo temporal em verde e lobo occipital em vermelho. IPS = Sulco intraparietal; SMG = giro supramarginal; AG = giro angular; FG = giro fusiforme.

Fonte: Produzida pela autora, adaptação de imagem obtida em pixabay (<https://pixabay.com/pt/illustrations>).

Habilidades de domínio geral são menos específicas a determinado domínio acadêmico e podem ser usadas para processar informações de um modo geral e estão envolvidas no processo de aprendizagem. Dentre as habilidades de domínio geral importantes para a matemática estão a memória de trabalho (MT), funções executivas e habilidades visuoespaciais. As regiões cerebrais que medeiam essas habilidades estão localizadas especialmente no córtex pré-frontal, incluindo o giro cingulado anterior (associada à MT e funções executivas) (ANSARI et al., 2005). Além disso, o córtex parietal póstero-superior também tem sido associado à MT e à alocação de

recursos atencionais na rede aritmética. Na figura 2 estão representadas as regiões frontal e o parietal pósterio-superior e suas respectivas funções cognitivas de domínio geral envolvidas na matemática.

Figura 2. Regiões do cérebro associadas ao domínio cognitivo geral da rede aritmética.



Nota: A região de cor azul indica o lobo frontal; Lobo parietal em amarelo; Lobo temporal em verde e lobo occipital em vermelho. CPF = Córtex pré-frontal; PSPL = córtex parietal pósterio-superior.

Fonte: Produzida pela autora, adaptação de imagem obtida em pixabay (<https://pixabay.com/pt/illustrations>).

Estudos de neuroimagem têm revelado que durante o desenvolvimento ocorre uma redução da dependência de mecanismos de domínio geral e o aumento da especialização funcional de regiões cerebrais específicas para o processamento numérico (KUCIAN et.al., 2008; KAUFMANN et al., 2014; VOGEL et.al., 2015). Essa mudança funcional tem sido relacionada à automatização no processamento de números, facilitando a realização de cálculos mais complexos (BUTTERWORTH et al., 2010; EMERSON & CANTLON, 2015).

Durante os estágios iniciais do desenvolvimento de competências matemáticas, as crianças resolvem tarefas numéricas por meio de estratégias de contagem ineficientes, geralmente usando a contagem de dedos. Nesta fase inicial os processos matemáticos são realizados principalmente nas áreas frontais. Mais tarde, após a prática e a automatização, as tarefas aritméticas são realizadas especialmente em regiões parietais e áreas occipito-temporais (ANSARI, 2008).

Vogel e De Smedt (2021) citam que a interação entre os domínios específico e

geral é dinâmica e varia ao longo de um continuum funcional com funções de domínio específico de um lado e funções de domínio geral do outro lado. Sendo assim, um déficit em qualquer um desses domínios cognitivos pode interferir, em algum momento, no processo de aprendizagem da matemática (AGOSTINI et al., 2022).

1.1.1. Habilidades matemáticas precursoras

Dois sistemas neurocognitivos precursores têm sido associados ao desenvolvimento de habilidades de domínio específico da matemática: o sistema de número aproximado (ANS, do inglês: *approximate number system*) e o “*subitizing*”. O ANS é a capacidade de comparar e discriminar grandes magnitudes aproximadamente enquanto o “*subitizing*” é a capacidade de discriminar pequenas quantidades sem contar. Essas duas habilidades de representações numéricas são inatas e estão presentes em fetos no último semestre de gestação e recém-nascidos da espécie humana. Além disso, estes sistemas centrais são evolutivos e também se encontram presentes em outras espécies de animais como macacos, aves, peixes e abelhas (NIEDER, 2013; NIEDER et al., 2002; SCHLEGER et al., 2014).

O ANS e o *subitizing* fornecem uma base crucial para a percepção de quantidades, porém sua associação com o desenvolvimento de habilidades matemáticas simbólicas é questionada. Há estudos que relacionam essas habilidades com o desenvolvimento de habilidades numéricas e aritméticas, como também estudos recentes que encontraram uma relação fraca ou inexistente entre elas.

O *subitizing* também denominado de sistema de rastreamento de objetos permite o reconhecimento preciso e rápido de 1 a 4 objetos dentro de uma cena visual. Este sistema também é considerado como um sistema de habilidades visuoespaciais de domínio geral, pois utiliza-se da memória de trabalho para reter com precisão um pequeno número de objetos.

O *subitizing* evolui rapidamente durante o desenvolvimento humano. As crianças com 6 meses apresentam uma capacidade de reconhecimento de um objeto, enquanto crianças de 12 meses já são capazes de reconhecer de 3 a 4 objetos de forma precisa. Acredita-se que o *subitizing* seja um sistema primitivo essencial para o desenvolvimento conceitual da contagem, uma vez que apresenta a propriedade de reconhecer um número limitado de objetos com alta precisão. Várias regiões cerebrais foram associadas ao processo de *subitizing*. Dentre elas estão o córtex parietal inferior

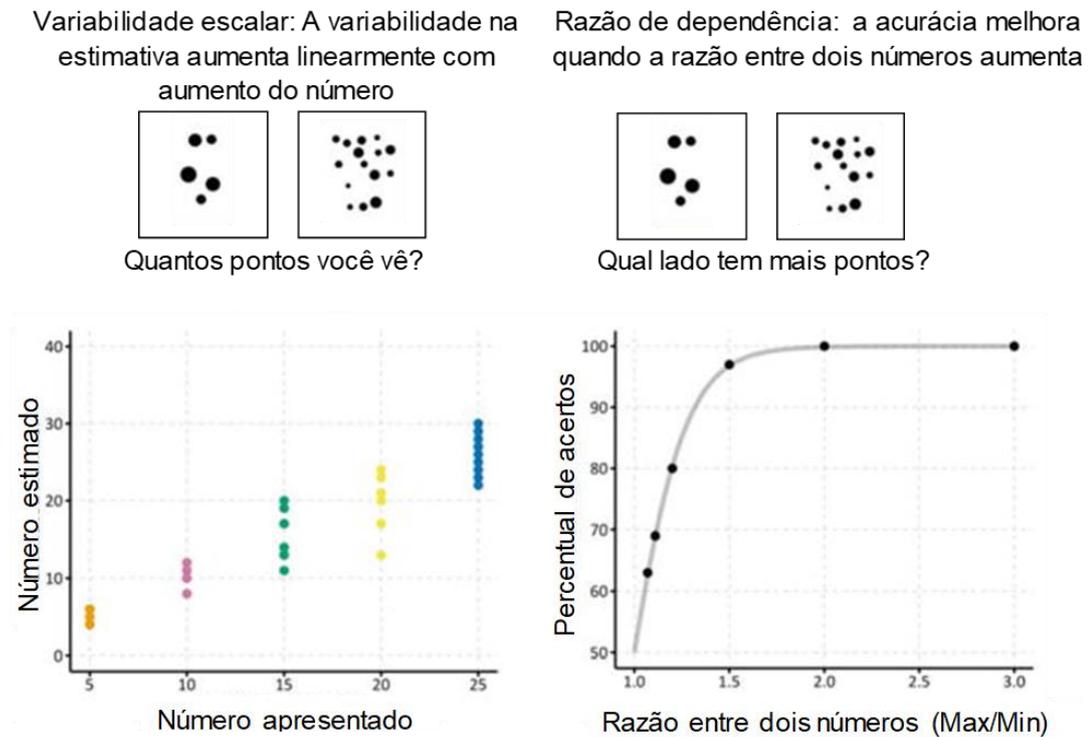
e posterior, o córtex occipital e a junção temporoparietal.

Já o ANS representa um sistema intuitivo utilizado para estimar e discriminar diferentes números de objetos de diferentes conjuntos (VOGEL & De SMEDT, 2021). A acuidade do ANS aumenta durante o desenvolvimento, principalmente durante os primeiros anos de vida. Bebês recém-nascidos podem diferenciar conjuntos com uma proporção numérica mínima de 1:3, aos seis meses com proporção de 1:2, em aproximadamente 9 a 12 meses de idade com proporção de 2:3. Entre o terceiro e o quarto ano, as crianças podem discriminar os conjuntos com uma proporção de 3:4 e adultos com uma proporção de 7:8 (PIAZZA, 2010).

O ANS pode ser avaliado através da capacidade de comparar e discriminar aproximadamente as diferenças no número de magnitude entre dois conjuntos de objetos (PIAZZA et al., 2010). Indivíduos com maior acuidade e eficiência no ANS apresentam mais altas taxas de precisão e mais rápidos tempos de resposta ao serem avaliados. Uma forma de medir o ANS é utilizando a fração de Weber, denominada como “ w ” (DEHAENE, 2007). Um valor w mais baixo significa que o indivíduo precisa de uma maior diferença entre os conjuntos de pontos para discriminar sua magnitude sem contar, então quanto maior o valor w , menor a precisão (HALBERDA, 2008).

O ANS apresenta duas características comportamentais. Primeiro, à medida que o número de itens apresentados aumenta, as estimativas tornam-se mais variáveis. Em segundo lugar, o desempenho na escolha de qual é o maior conjunto de pontos, depende da proporção entre a quantidade de pontos dos conjuntos.

Figura 3. As duas características do sistema de número aproximado.

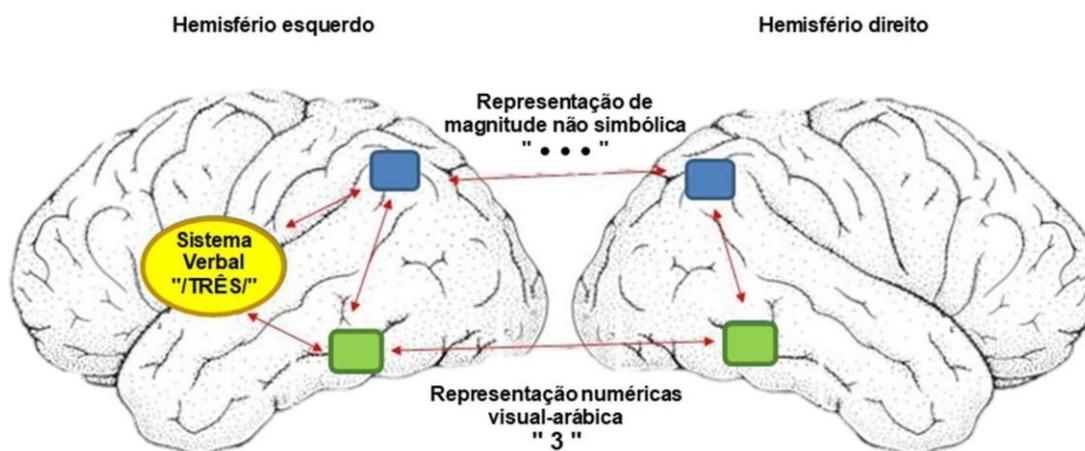


Nota: Esquerda: variabilidade escalar, a variabilidade aumenta linearmente conforme o número de pontos apresentados aumenta. Direita: dependência da razão, a precisão cresce e o tempo de reação diminui à medida que a razão entre dois números aumenta.

Fonte: Adaptado de Odic e Starr, 2018.

Este modelo foi proposto por Dehaene (1992; 1997). No modelo do código triplo, o ANS é a base semântica para dois outros “códigos” de representação numérica mental: (I) uma representação numérica verbal-fonológica (ex.: três) que se desenvolve na área perisilviana esquerda; e, (II) uma representação numérica visual-arábica (ex.: 3) que se apresenta nas áreas associadas com a via visual ventral. Na Figura 4, apresenta-se as três redes de representação numérica mental do modelo “Código Triplo”.

Figura 4. Modelo neurocognitivo do Código Triplo



Nota: Os quadrados azuis da parte superior caracterizam a representação de magnitude não simbólica nos lóbulos parietais. Já os quadrados verdes na parte inferior indicam a representação numérica visual-arábica nas áreas associadas à via visual ventral. O círculo amarelo no hemisfério esquerdo configura a representação numérica verbal-fonológica na área perisilviana esquerda.
Fonte: adaptada de Dehaene, 1997.

1.2. A Dificuldade de Aprendizagem da Matemática

A Dificuldade de Aprendizagem da Matemática (DAM) pode ser classificada como um transtorno cognitivo, que afeta a capacidade de um indivíduo em adquirir habilidades numéricas e aritméticas (BUTTERWORTH, 2005). Além disso, a DAM também é caracterizada por uma dificuldade temporária ou persistente, onde o indivíduo apresenta um desempenho em matemática abaixo da média esperada para a idade (DSM-V, APA, 2014). Em critérios de pesquisa, a DAM refere-se ao desempenho em testes de desempenho padronizados abaixo dos percentis 25 a 35 (GEARY & HOARD, 2005; JORDAN et al., 2003). Critérios mais rigorosos, isto é, desempenho abaixo do percentil 10, definem a discalculia (também chamada de discalculia do desenvolvimento). A discalculia é um transtorno específico da aprendizagem da Matemática (MURPHY et al., 2007).

A frequência da DAM varia entre 1 a 8% entre crianças em idade escolar. Estes dados diferem conforme os critérios utilizados para diagnósticos e país de estudo. (ARCHIBALD et al., 2013; BUTTERWORTH & KOVAS, 2013; GEARY, 2010; LEWIS et al., 1994; MARGARI et al., 2013; SHALEV et al., 1998; BARBARESI et al., 2005). No Brasil, um estudo realizado em São José do Rio Preto (São Paulo) com 2.893 crianças que haviam completado a primeira etapa do Ensino Fundamental (5^o série)

revelou que 7,8% (226 crianças) apresentaram DAM (BASTOS et al., 2016).

A DAM pode ser dividida em quatro subtipos de acordo com déficits cognitivos: (1) causado por um déficit no ANS. Indivíduos com déficit apenas no ANS sem outras deficiências associadas são classificados como portadores de DAM pura ou discalculia do desenvolvimento; (2) caracterizado por um déficit em processos verbais; (3) déficit no funcionamento executivo e/ou MT; (4) déficits de atenção espacial (VENNERI et al., 2003; VERDINE et al., 2014).

O subtipo de DAM associado a déficit no ANS, ou seja, associado ao domínio cognitivo específico da matemática é responsável apenas por uma minoria dos casos (MAZZOCCO e RASANEN, 2013). Já as alterações em aspectos de domínio cognitivo geral são mais frequentes, sendo assim, a sobreposição de sintomas associados a outras desordens cognitivas pode ocorrer e levar a comorbidade da DAM com outros transtornos. Frequentemente, a DAM apresenta comorbidade com outros transtorno e distúrbios neurodesenvolvimentais tais como transtorno do déficit de atenção por hiperatividade (TDAH), autismo e principalmente, transtorno de aprendizagem da leitura (dislexia) (DIRKS et al., 2008; GROSS-TSUR; MANOR; SHALEV, 1998). Foi descrito que indivíduos com DAM têm duas vezes mais chances de também ter deficiência de leitura do que aqueles sem deficiência em matemática (WAGNER et al., 2002).

Além disso, a presença de outros distúrbios neurológicos pode aumentar a prevalência da DAM. Em um estudo recente, foi demonstrado que a prevalência de discalculia, dislexia e suas taxas de comorbidade em uma grande amostra populacional de crianças chinesas com epilepsia idiopática e em uma amostra de comparação de escolares com desenvolvimento típico, que a as taxas de prevalência foram cerca de duas vezes maiores em crianças com epilepsia idiopática do que em outros escolares (CHENG et al., 2022).

Fatores motivacionais e emocionais também estão associados ao desempenho em matemática (HAASE et al., 2012). As emoções, a motivação e a metacognição (capacidade do ser humano de monitorar e autorregular os processos cognitivos) desempenham um papel importante na capacidade dos indivíduos de controlar o seu processo de aprendizagem, especialmente quando envolvem estudos acadêmicos (AZEVEDO et al., 2017; EFKLIDES, 2011). Alterações emocionais com a ansiedade matemática, por exemplo, podem afetar a memória e o processo de aprendizagem. Os pensamentos preocupantes produzidos pela ansiedade matemática podem ocupar a

MT disponível e assim interferir no processo de resolução de problemas matemáticos, conseqüentemente, interferindo no desempenho matemático. Em um estudo recente, van Dijck e colaboradores (2022) descobriram que a AM também está ligada à codificação espacial da ordem serial na memória de trabalho (MT) verbal. Ou seja, indivíduos que organizam sequências da esquerda para a direita na MT verbal apresentam níveis mais baixos de ansiedade matemática em comparação com aqueles que não a espacializam. Além disso, esses codificadores espaciais têm maior capacidade verbal de MT, melhores habilidades de julgamento de ordem numérica e pontuações mais altas em Matemática.

1.2.1. As manifestações fenotípicas da dificuldade de aprendizagem da matemática

Enquanto fenótipo, a DAM é heterogênea e depende em grande parte da idade (desenvolvimento hierárquico de acordo com a idade), grau de escolaridade (instruções matemáticas existentes) e presença de comorbidades (SOARES et al., 2018). O fenótipo DAM pode variar também de acordo com habilidades e déficits cognitivos prejudicados (HAASE et al., 2012; KUCIAN e VON ASTER, 2015).

Dentre os fenótipos descritos para a DAM estão as dificuldades em várias tarefas matemáticas, como ler e escrever números em diferentes formatos, comparar números e quantidades, realizar as operações aritméticas básicas e dificuldades em estimar tempo e medidas (VIGNA et al., 2022; BUTTERWORTH, 2005; BUTTERWORTH, 2010; MURPHY et al., 2007).

Alterações na MT também podem estar associadas a heterogeneidade da DAM. Cárdenas e colaboradores (2021), através de um estudo utilizando eletroencefalograma, sugerem que indivíduos com DAM apresentam tipicamente MT no nível médio ou abaixo da média. Já Peter's e colaboradores (2020) indicam que o preditor mais forte de DAM isolada e comórbida são as habilidades espaciais, enquanto Grant e colaboradores (2020) acreditam que o déficit na MT verbal e memória semântica são fatores exclusivos do grupo comórbido.

1.2.2. O Diagnóstico neuropsicológico da dificuldade de aprendizagem da matemática

O diagnóstico da DAM é feito através de uma avaliação completa das habilidades de domínio específico da cognição numérica (como ANS, subitização, quantificação, seriação, comparação e cálculo) e habilidades de domínio geral que envolvem o processamento da aritmética (como leitura e escrita de números, capacidade de efetuar operações escritas e recuperar informações aritméticas) (AGOSTINI et al., 2022; HAASE et al., 2011).

As habilidades matemáticas podem ser medidas inicialmente através do desempenho em algum teste específico e padronizado de rendimento escolar, como, por exemplo, o Teste de Desempenho Escolar (TDE) (GOMIDES et al., 2021; STEIN, 1994). O TDE é o único teste psicométrico padronizado de desempenho escolar para uso clínico disponível no Brasil. Este teste compreende três subtestes: Leitura (de palavras isoladas), Escrita (de palavras isoladas) e Aritmética (STEIN, 1994). No entanto, é necessário levar em conta que usar exclusivamente testes psicométricos pode não ser o ideal para diagnosticar a DAM. No contexto de uma população geralmente de baixo desempenho, ou seja, quando a maioria das crianças apresenta um desempenho ruim nas tarefas matemáticas, é difícil distinguir o desenvolvimento numérico atípico do típico ruim utilizando somente testes psicométricos. Sendo assim, outras abordagens diagnósticas podem ser mais adequadas nesse contexto (GOMIDES et al., 2021).

Crianças em idade pré-escolar também podem ser diagnosticadas com DAM, pois podem apresentar comprometimento nas habilidades numéricas inatas (STOCK, DESOETE e ROEYERS, 2010). No entanto, é preciso levar em conta que a variação na velocidade de desenvolvimento dessas crianças é ampla e, portanto, é comum haver diferenças no domínio das habilidades cognitivas. Assim, algumas crianças em idade pré-escolar podem ser simplesmente aprendizes lentos, mas não necessariamente portadores de DAM (KUCIAN e VON ASTER, 2015).

Os achados da neurofisiologia e de neuroimagem também podem contribuir para o diagnóstico da DAM, pois através deles é possível identificar alterações em áreas específicas do cérebro para o aprendizado da matemática (KUCIAN E VON ASTER, 2015). No entanto, atualmente, isso não é viável na prática clínica. Os estudos nessa área ainda são escassos e não nos permitem a utilização desses dados na prática clínica (VOGEL & De SMEDT, 2021).

1.2.3. Etiologia da dificuldade de aprendizagem na matemática

A etiologia da DAM é heterogênea. Variáveis sociais, emocionais, econômicas, neurodesenvolvimentais e genéticas estão entre os possíveis fatores, que contribuem para o desenvolvimento da DAM (MAZZOCCO e MYERS, 2003; MAZZOCCO e THOMPSON, 2005; SHALEV e GROSS-TSUR, 2001). Vários estudos propõem um modelo de herança multifatorial para este transtorno (ALARCÓN et al., 1997; BADIAN e GHUBLIKIAN, 1983; BUTTERWORTH, 2005; GROSS-TSUR et al., 1996; KOVAS et al., 2007; RUBINSTEN e HENIK, 2009; SHALEV et al., 2000; MIRANDA, 2011).

1.2.3.1. Aspectos sociais, emocionais e econômicos

Entre as principais causas de DAM estão o baixo nível de escolaridade dos pais, baixo nível socioeconômico e o ensino inadequado (KOPERA-FRYE, DEHAENE e STREISSGUTH, 1996; MILLER e MERCER, 1997). Pais com níveis educacionais mais altos têm maior probabilidade de realizar atividades numéricas com seus filhos, incluindo compartilhar práticas de contagem. Essas atividades, embora associadas à educação dos pais, estão também relacionadas ao nível socioeconômico da família e têm efeitos sobre vários outros aspectos (BENAVIDES-VARELA et al., 2016).

Outro fator associado a DAM é a exposição a agentes teratogênicos. O consumo de álcool durante a gravidez pode causar alterações neurodesenvolvimentais, que afetam a aquisição de habilidades matemáticas (KODITUWAKKU, 2010; KOPERAFRYE et al., 1996). Além disso, o uso de cigarros, maconha e álcool em grandes quantidades na adolescência foi associado a notas mais baixas em Matemática (HOLLAR & MOORE, 2004). O consumo de álcool em excesso na adolescência também pode afetar negativamente a aprendizagem verbal e capacidade de memorização, que por sua vez afetam a aprendizagem (NGUYEN-LOUIE et al., 2016).

No âmbito emocional, a ansiedade tem uma contribuição relevante no processo de aprendizagem (AUERBACH et al., 2012; BYNNER & PARSONS, 2006; MILLER & MERCER, 1997; PARSONS & BYNNER, 1997). A incapacidade de administrar a ansiedade atrapalha o processo de aprendizagem, interferindo negativamente no desempenho de tarefas associadas à MT. A ansiedade ocupa a memória com pensamentos intrusivos de preocupação, impedindo que o indivíduo use todo seu

potencial na aprendizagem (PASSOLUNGI et al., 2016). Alguns estudos têm demonstrado, que a ansiedade matemática está associada a piores resultados em atividades Matemática (DOWKER et al., 2012; HAASE et al., 2012; HEMBREE, 1990; SHI e LIU, 2016).

1.2.3.2. Aspectos neurodesenvolvimentais

A ativação cerebral anormal, irregularidades macro- e microestruturais nas áreas parietais e outras áreas fundamentais para o processamento numérico foram encontradas em indivíduos com DAM (BERTELETTI; PRADO; BOOTH, 2014; KAUFMANN; PIXNER; GÖBEL, 2011; KUCIAN et al., 2006; KUCIAN e VON ASTER, 2015; ROTZER et al., 2008; RYKHLEVSKAIA et al., 2009). Relatos de ativação neural irregular em áreas cerebrais gerais também foram relatados e tais relatos indicam que não há evidências de déficits neurais isolados associados a DAM (PETERS & ANSARI, 2019).

Bulthé e colaboradores (2019) encontram uma associação das regiões parietal, temporal e frontal com déficit nas representações de magnitudes não simbólicas.

Redução de ativação cerebral em regiões parietais, lobo frontal e áreas occipitais também foi descrita em indivíduos com DAM. Kucian e colaboradores (2006), em um estudo de redes neurais, identificaram uma ativação cerebral mais fraca em quase toda a rede neuronal para cálculo aproximado, incluindo o SIP e o giro frontal, em crianças com DAM. Outros estudos têm corroborado estes resultados (BERTELETTI et al., 2014; KAUFMANN et al., 2011). Sommerauer e colaboradores (2020) ainda encontraram uma mudança dependente da idade na atividade cerebral do SIP esquerdo.

Além das funções cerebrais anormais, diferenças morfológicas no cérebro de crianças com DAM também já foram relatadas. A DAM foi caracterizada por redução do volume de substância cinzenta e branca em áreas fundamentais para o desenvolvimento da numerosidade como no córtex parietal incluindo o SIP (ISAACS et al., 2001; KUCIAN; VON ASTER, 2015; ROTZER et al., 2008; RYKHLEVSKAIA et al., 2009; CAPPELLETTI & PRINCE, 2014; McCASKEY et al., 2020). Reduções no volume de substância cinzenta e branca também foram encontradas em regiões importantes para o desenvolvimento de habilidades relacionadas aos domínios cognitivos gerais (córtex frontal e áreas subcorticais) (ROTZER et al., 2008;

RYKHLEVSKAIA et al., 2009). Em um estudo longitudinal recente, McCaskey e colaboradores (2020) destacam que os volumes de substância cinzenta e branca são reduzidos persistentemente ao longo do desenvolvimento. As substâncias cinzenta e branca são reduzidas em uma ampla rede das regiões frontal, parietal, temporal e occipital (McCASKEY et al., 2020; MICHELS et al., 2022).

Ademais, anormalidades nas conexões de fibra nervosas entre as regiões cerebrais também foram associadas a DAM. Déficit na conexão entre as áreas parietais com as áreas frontal e occipitotemporal foram observados em crianças com DAM (KUCIAN e VON ASTER, 2015; RYKHLEVSKAIA et al., 2009). Também foram descritas hiperconectividade em regiões cerebrais visuais em adultos com discalculia (BULTHÉ et al., 2019).

1.2.3.3. Aspectos genéticos

A DAM tem sido associada a uma variedade de fatores genéticos intrínsecos, incluindo mutações genéticas e polimorfismos que podem causar alterações no desenvolvimento e conectividade neural. Por sua vez, alterações neurais e desenvolvimentais podem prejudicar sistemas cognitivos e, conseqüentemente, impactar negativamente as baixas habilidades matemáticas.

Estudos genético-epidemiológicos com gêmeos e famílias revelam a existência de fatores genéticos associados a DAM. Alarcón e colaboradores (1997) realizaram um estudo com 40 pares de gêmeos monozigóticos e 23 pares de dizigóticos e relataram que cerca de 58 e 39% dos gêmeos de probandos com DAM também apresentavam DAM. Em um estudo maior realizado por Kovas e colaboradores (2007) em uma amostra de 2.596 pares de gêmeos de 10 anos, foi encontrado que tanto a dislexia quanto a DAM são moderadamente hereditárias (47% e 43%, respectivamente). Esta pesquisa também revelou uma influência ambiental compartilhada modesta de 16% e 20% e uma correlação genética de 0,67 entre a dislexia e a DAM, sugerindo que esses transtornos são causados em grande parte pelos mesmos fatores genéticos.

Um estudo mais recente com gêmeos, avaliou o senso numérico em 2259 pares de gêmeos: 836 pares monozigóticos, 733 dizigóticos do mesmo sexo e 689 dizigóticos do sexo oposto, com uma idade média de 16,6 anos. Este estudo encontrou que o senso numérico é moderadamente herdável (32%), com diferenças

individuais sendo amplamente explicadas por influências ambientais não compartilhadas (68%) e nenhuma contribuição de fatores ambientais compartilhados (TOSTO et al., 2014).

Shalev e Gross-Tsur (2001) em um estudo com famílias relataram que mais de 50% dos irmãos de indivíduos com DAM também tinham DAM. Shalev e colaboradores descrevem também que a frequência de afetados nas famílias dos probandos tem sido estimada em 5 a 10 vezes maior do que na população geral, reforçando dessa forma a existência de um componente genético para a DAM (SHALEV e GROSS-TSUR, 2001).

Além disso, várias síndromes apresentam a DAM como endofenótipo o que indica que alterações em loci gênicos específicos podem desencadear DAM (HAASE et al., 2012). Crianças com síndrome de deleção 22q11.2 apresentam déficits no cálculo, na resolução de problemas matemáticos e quantidades numéricas (De SMEDT et al., 2009). As crianças com síndrome de Turner são frequentemente afetadas pela DAM (KARIPIDIS & HONG, 2020). Indivíduos com síndrome de Turner têm um funcionamento mais lento e propenso a erros em problemas complexos de Matemática (MAZZOCCO, 2009). Crianças com síndrome do X frágil geralmente apresentam DAM e dislexia (MURPHY, 2009), enquanto crianças com mielomeningocele apresentam déficits em matemática simples, contagem e resolução de problemas (ENGLISH et al., 2009). Crianças com neurofibromatose tipo 1 têm déficits em cálculos, problemas com a Matemática e mais variabilidade em habilidades matemáticas do que outras condições genéticas (MOORE, 2009). Além disso, crianças com Síndrome de Williams-Beuren apresentam déficits visuoespaciais significativos, que podem comprometer as habilidades matemáticas (O'HEARN & LUNA, 2009).

1.3. Estudos de associação genética

Estudos de associação em escala genômica (GWAS, do Inglês: *Genome-Wide Association Study*) são realizados a fim de identificar determinantes genéticos para as habilidades matemáticas. Esse tipo de estudo possibilita a detecção de genes/regiões genômicas, que apresentam efeitos discretos e moderados no desenvolvimento de um determinado transtorno e, portanto, são interessantes no estudo de transtornos poligênicos e multifatoriais, como a DAM (CARVALHO & HAASE, 2019a,b).

Em 2010, Docherty e colaboradores realizaram um GWAS com 600 crianças de 10 anos de idade (300 com bom desempenho em Matemática e 300 com baixo desempenho). Neste estudo, foram encontrados 10 SNPs (do Inglês: *Single-nucleotide polymorphism*) associados ao desempenho em Matemática. Estes SNPs foram encontrados em 10 genes diferentes (*MMP7*, *GRIK1*, *DNAH5*, *SAMD3*, *ARID1B*, *FLJ20160*, *GUCY1A2*, *NRCAM*, *DLD* e *NUAK1*). Quando combinados, os 10 SNPs foram responsáveis por 2,9% da variância fenotípica observada. No entanto, este estudo não tem sido considerado por apresentar muitas falhas. Docherty e colaboradores, neste estudo, usaram apenas um dos membros de pares de gêmeos. Cuidado para não incluir o segundo gêmeo no estudo não foi tomado. Este detalhe é importante, porque a gemelaridade em si é um fator de risco para dificuldade de aprendizado. Além disso, estes indivíduos foram selecionados em função da dislexia. Estes resultados refletiriam então o componente genético da DAM dentro da dislexia. Outros aspectos considerados falhos são o fato da genotipagem ser feita em *pool*, a tese à distância e a ausência de correção para múltiplas testagens.

Ludwig e colaboradores (2013) também avaliaram o componente genético da DAM dentro da dislexia. Eles realizaram um GWAS em uma amostra de crianças alemãs e austríacas portadoras de dislexia. Para o GWAS foram feitas análises de SNPs autossômicos. Os resultados sugerem que o SNP rs133885 presente no gene da Miosina 18B contribui para a DAM em crianças com dislexia. O SNP rs133885 consiste em uma substituição de uma guanina por uma adenina (G>A). Portadores do genótipo GG do rs133885 apresentaram um desempenho mais baixo em tarefas matemáticas e uma menor profundidade no SIP direito do que portadores do genótipo AA e AG. O SIP direito é ativado durante o processamento numérico (CHOCHON et al., 1999; FIAS et al., 2007). No entanto, este estudo foi replicado por Pettigrew e colaboradores (2015) em uma amostra contendo diferentes amostras e não foi observado associação entre rs133885 e habilidades matemáticas em indivíduos com dislexia ou na população geral.

Em 2014, foi realizado um GWAS comparando estudantes de cursos com alto nível de exigência em habilidades matemáticas vs. estudantes de cursos com pouco uso de Matemática (BARON-COHEN et al., 2014). Foi encontrado um SNP significativamente associado, mesmo após correção para múltiplas testagens de Bonferroni, o rs789859 ($p=0,000015$). Esse SNP pode ter os alelos G ou T e é localizado em uma região intergênica do cromossomo 3q29, a aproximadamente 700

pb a montante do gene *FAM43A*, dentro de sua região regulatória, e 1,3 kb a jusante de *LSG1*. Deleções e duplicações nesta região já foram associadas à dificuldade de aprendizagem, esquizofrenia e autismo. A função de *FAM43A* não é bem esclarecida. *FAM43A* é expresso numa variedade de tecidos, incluindo tecidos do cérebro, cerebelo e medula espinhal. O SNP rs789859 está em desequilíbrio de ligação com seis outras variantes. Duas destas variantes (rs150293579 e rs1675923) mapeiam dentro de *LSG1*. Ambas variantes regulam o estado da cromatina em vários tipos de células do sistema nervoso central humano. As quatro variantes restantes mapeiam perto de *FAM43A* e também regulam estados de cromatina em tipos de células cerebrais e alteram sítios de ligação à transferrina. O fato de rs789859 estar localizado em uma região relacionada à dificuldade de aprendizado e condições neurológicas é consistente com a contribuição para a DAM (BARON-COHEN et al., 2014; CHOCHON et al., 1999; FIAS et al., 2007). A associação desta região com a habilidade matemática ainda não foi replicada.

Davis e colaboradores (2014) realizaram um GWAS de habilidades de leitura e Matemática em uma amostra de aproximadamente 3.000 pares de gêmeos. Neste estudo não foram encontrados *loci* replicáveis com níveis convincentes de evidência de associação.

Por fim, em um GWAS recente foi relatado quatro variantes genéticas do gene *SPOCK1* (rs1012694, rs11743006, rs17778739 e rs17777541) com uma associação significativa do genoma com a habilidade matemática em crianças chinesas de 7 a 13 anos (valor mínimo de $p = 5,67 \times 10^{-10}$, máximo $\beta -2.43$). O gene *SPOCK1* está localizado no cromossomo 5q31.2 e codifica uma glicoproteína testican-1, altamente conservada, que está associada à progressão e prognóstico de tumores, bem como à neurogênese (CHEN et al., 2017). Este resultado, entretanto, ainda não foi corroborado.

Recentemente, os estudos de associação têm sido desenvolvidos em grandes amostras como o United Kingdom Biobank (UKBiobank), usando como fenótipo o nível educacional (*educational attainment*), assim como o tipo de curso ou certificados obtidos. Estes estudos oferecem uma alternativa aos estudos de GWAS baseados em amostras pequenas, que apresentam baixa reprodutibilidade.

Por exemplo, Okbay e colaboradores (2022) conduziram um GWAS de nível educacional em uma amostra de aproximadamente 3 milhões de indivíduos e identificaram 3.952 SNPs associados independentemente em todo o genoma. Um

escore poligênico de todo o genoma explicou 12 a 16% da variância do nível educacional e contribui para a previsão de risco para dez doenças, dentre elas doenças cardiometabólicas, pulmonares, muscular-esqueléticas, enxaquecas e depressão maior.

Rabinowitz e colaboradores (2020) criaram um escore poligênico para nível educacional usando resultados de um GWAS. Os resultados sugeriram que o desempenho acadêmico de um adolescente é um mecanismo através do qual a propensão poligênica para o nível educacional influencia o ensino pós-secundário entre adolescentes afro-americanos urbanos.

Hill e colaboradores (2019) realizaram uma análise multicaracterística de estudos de associação de todo o genoma para combinar dois grandes estudos de GWAS de educação e inteligência totalizando uma amostra de 248.482 indivíduos. Eles encontraram 187 loci independentemente associados à inteligência. Encontraram evidências de que a neurogênese e a mielinização – assim como os genes expressos na sinapse e aqueles envolvidos na regulação do sistema nervoso – podem explicar algumas das diferenças biológicas na inteligência.

Lee e colaboradores (2018) em uma análise de GWAS do nível educacional em uma amostra de aproximadamente 1,1 milhão de indivíduos identificaram 1.271 SNPs associados independentemente. Os SNPs foram encontrados em genes envolvidos nos processos de desenvolvimento do cérebro e na comunicação neurônio a neurônio. Os SNPs identificados foram associados a desempenho cognitivo (225), habilidade matemática (618) e notas mais altas em Matemática (365). Uma análise conjunta do nível educacional, desempenho cognitivo, habilidade matemática e notas mais altas em Matemática gerou escore poligênico que explica 11-13% da variação no nível educacional e 7-10% da variação no desempenho cognitivo.

Trampush e colaboradores (2015), usando coortes do Cognitive Genomics Consortium (COGENT), analisaram a relação entre capacidade cognitiva geral e variantes associadas ao nível educacional. Fizeram também uma meta-análise com 24.189 indivíduos com dados neurocognitivos dos estudos sobre escolaridade e, em seguida, com 53.188 indivíduos de um GWAS recente sobre cognição. Um SNP (rs1906252) localizado em 6q16.1, foi significativamente associado a capacidade cognitiva geral em COGENT. Em 2017, Trampush e colaboradores realizaram outra meta-análise de GWAS para examinar a associação de variação genética comum à função cognitiva geral em uma amostra de 35.298 indivíduos saudáveis de

ascendência europeia em 24 coortes do COGENT. Além disso, eles utilizaram pesquisas individuais de SNP e análises de pontuação poligênica para identificar a sobreposição genética com outros fenótipos neurocomportamentais relevantes. Na meta-análise dos GWAS, eles identificaram mais dois SNP, rs76114856 no gene *CENPO* e rs6669072 perto da *LOC105378853* no cromossomo 1 associados ao desempenho cognitivo. A análise baseada em genes identificou mais três *loci* significativos nos cromossomos 17q21.31, 17p13.1 e 1p13.3.

1.4. Contribuições do nosso grupo de pesquisa para a investigação da DAM/DAMO

Nosso grupo de pesquisa vem estudando as bases genéticas das dificuldades de aprendizagem desde 2009, a fim de identificar a contribuição da Genética para as dificuldades de aprendizagem e aspectos cognitivos relacionados.

Miranda (2011), com o objetivo de investigar as bases genéticas da DAM, avaliou a história familiar de 34 crianças com DAM e 24 controles normais em uma amostra de escolares da população de Belo Horizonte. Foi identificada agregação familiar, sendo que alguns heredogramas foram compatíveis com herança autossômica dominante com penetrância incompleta, outros com herança recessiva ligada ao cromossoma X. Em outros, ainda, havia apenas um afetado, não sendo possível inferir padrão de herança.

Vianna (2011) avaliou a contribuição das microdeleções/microduplicações em 22q11.2 para o fenótipo DAM. Foram genotipadas, com a técnica MLPA (kits SALSA MLPA P250-A1 e P250-B1), 82 crianças com DAM e 130 controles normais, testados da população escolar de Belo Horizonte. Foi observada uma frequência de microdeleções de 1:82 indivíduos com DAM/DAMO sugerindo uma associação da região 22q11.2 como a DAM.

Carvalho e colaboradores (2014), em um estudo realizado em crianças com DAM e controles, sugerem que a deleção da região 22q11.2 DS (LCR22-4 para LCR22-5) possa ser uma das causas genéticas da DAM. Além disso, caracterizaram uma nova síndrome nesta região.

A presença da DAM em indivíduos com síndromes genéticas causadas por deleções e/ou duplicações, pode ajudar na compreensão dos processos genéticos causadores da DAM. Diante deste contexto, Salazar (2013) avaliou a contribuição de microdeleções e microduplicações intersticiais em regiões sindrômicas para o fenótipo

DAM. Foram genotipadas, através da técnica MLPA (Kits SALSA MLPA P245-A2, P245-B1), 90 crianças com DAM e 90 controles normais, pareados por sexo, idade e turma. Em seus resultados, alterações intersticiais nas regiões cobertas pela técnica não contribuíram para a dificuldade de aprendizagem da Matemática.

Martins (2014) avaliou a contribuição das expansões do trinucleotídeo CGG a 5'UTR do gene *FMR1* em uma amostra de indivíduos com DAM e em uma amostra controle. Não foi encontrada evidência sugerindo uma associação das expansões a DAM. No entanto, esse estudo permitiu conhecer as frequências alélicas desse *locus* para a população de Belo Horizonte.

Martins (2018) investigou a contribuição dos alelos *gray zone* e pré-mutação do gene *FMR1* para MT, a influência da Repetição em Tandem de Número de Variável (VNTR, do inglês: *Variable Number Tandem Repeat*) do gene *DAT1* sobre a MT e contribuição do polimorfismo *COMT* Val158Met para a ansiedade matemática em cerca de 350 escolares.

Na investigação do gene *FMR1*, foi encontrada uma menina com um alelo pré-mutação e três crianças com alelos *gray zone* (1 menina e 2 meninos). Déficits na MT e DAM foram identificados na menina com pré-mutação e em um menino com alelo *gray zone* do grupo DAM (2/121). A conclusão deste estudo é que, embora não se observe aumento da frequência de alelos pré-mutação ou *gray-zone* no grupo com DAM/DAMO, quando comparado aos controles normais, o fenótipo presente nos indivíduos com DAM/DAMO e alterações em *FMR1* é o descrito na literatura para portadores de mutações expansivas neste gene (MARTINS et al., 2022).

Jorge (2016) avaliou a contribuição de microdeleções e microduplicações subteloméricas para o fenótipo DAM através da técnica de MLPA (Kits SALSA MLPA P070-B2 e P070-B3). Entre os 140 casos investigados, foram encontradas três crianças com DAM e alterações subteloméricas: um menino com uma microdeleção no gene *SYBL1* (ou *VAMP7*) na PAR2 (Xq28/Yq12); uma menina com uma duplicação em *S100B* (21q22.3); e, outra menina com uma duplicação em *SECTM1* (17q25.3). O estudo também identificou que alelo do gene *SYBL1* que está deletado corresponde ao do cromossoma Y. Esse dado é importante, pois estudos de expressão desenvolvidos em células humanas sugerem que o alelo presente no cromossoma Y é inativado por metilação (D'ESPOSITO et al., 1996). Assim, a cópia remanescente do gene está no cromossoma X e provavelmente não está causando perda de função e não está contribuindo para o fenótipo.

Na análise do gene *DAT1*, meninos heterozigotos apresentaram pior desempenho em relação às meninas heterozigotas. Em relação ao polimorfismo *COMT* Val158Met, meninos homozigotos se mostraram menos ansiosos que meninas homozigotas (MARTINS, 2018).

Vasconcelos (2018) avaliou a contribuição de um polimorfismo de VNTR de 48bp no gene *DRD4* para o desempenho em MT em uma amostra de 373 crianças em idade escolar. Não houve diferença quanto ao sexo, idade e resultados nas tarefas de MT entre os grupos genotípicos. No entanto, foi identificada interação significativa entre “sexo” e “genótipo” ($p=0,035$). Meninos com os genótipos 2/2; 2/4; 2/6; 3/4; 3/5; 3/6; 4/5; 4/8; 5/5; 5/6; 6/6 repetições apresentaram melhor desempenho em MT do que as meninas. Estes são resultados preliminares e mais indivíduos serão genotipados para este polimorfismo.

Além disso, nosso grupo de pesquisa tem caracterizado o sistema dopaminérgico em relação a ansiedade matemática através da análise da associação de polimorfismos em genes do sistema serotoninérgico *MAOA*, *MAOB* e *SLC6A4* (*5-HTTLPR*) (CARVALHO et al., 2022).

Existem evidências relacionando processos de MT à modulação dopaminérgica no córtex pré-frontal (FURMAN et al., 2021; D'ESPOSITO & POSTLE, 2015). Sendo assim, nós propusemos a analisar fenótipos correlatos a DAM, incluindo MT, e sua relação com a variabilidade de *DRD1* e biodisponibilidade de dopamina na população.

1.5. Memória de trabalho

A memória de trabalho (MT) também denominada memória operacional é uma memória de curta duração, poucos segundos ou minutos, que apresenta capacidade limitada e que está envolvida no armazenamento e processamento temporários. A MT é necessária para a realização de várias tarefas do nosso cotidiano, incluindo a aprendizagem e o desempenho acadêmico (GATHERCOLE et al., 2003; BULL et al., 2008). Este tipo de memória é processado pelo córtex pré-frontal e não deixa arquivos. No processo de formação da MT, ocorre uma excitação das espinhas dendríticas dos neurônios das sinapses da região pré-frontal, durante um curto período de tempo.

Um modelo popularmente conhecido de multicomponentes para a memória de trabalho foi descrito por Baddeley e Hitch (1974) e aprimorado por Baddeley (2000). De acordo com esse modelo de multicomponentes, a MT é composta por quatro

componentes: o executivo central, o componente fonológico, o viso-espacial e o buffer episódico (Figura 5).

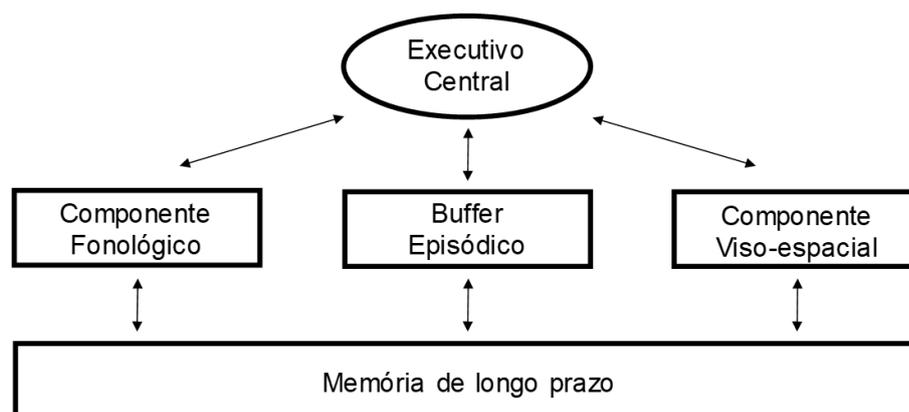
O executivo central é o sistema de controle atencional da MT, responsável pela alocação da atenção entre os diferentes subsistemas (BADDELEY, 2003). Este sistema realiza interações entre as informações que estão sendo processadas e as que se encontram na memória de longa duração. Além disso, o executivo central controla os componentes fonológico e viso-espacial. São quatro as funções principais do executivo central: a) atenção seletiva, habilidade de focar a atenção em informações relevante e inibir outras informações que causam distrações; b) flexibilidade mental, capacidade de coordenar simultaneamente várias atividades cognitivas; c) ajuda a selecionar e executar planos e estratégias; d) capacidade de ativar e recuperar informações da memória de longo prazo.

O componente fonológico armazena por um curto período de tempo a informação verbalmente codificada. A capacidade do componente fonológico pode ser medida por meio de tarefas de repetição de listas de dígitos, denominada *Digit Span* (WERHEID et al., 2002).

Já o componente viso-espacial armazena informações visuais e espaciais por um breve período de tempo. Uma das tarefas utilizadas para avaliar este componente é o *Corsi Block* (tarefa de memorização de sequências de posições de até nove blocos idênticos separados espacialmente) (KESSELS et al., 2000).

O buffer episódico é responsável pela integração de informações fonológicas, visuais e espaciais provenientes do meio externo ou da memória de longo prazo.

Figura 5. Modelo de multicomponentes da memória de trabalho



Indivíduos com DAM podem apresentar MT prejudicada. Em um estudo realizado por Rotzer e colaboradores (2009), utilizando ressonância magnética funcional, foram comparadas a atividade cerebral associada aos processos de memória de trabalho espacial em 14 crianças de 8 a 10 anos de idade com DAM e 12 controles normais. Crianças com DAM apresentaram ativação neural mais fraca em comparação ao grupo controle durante uma tarefa de memória de trabalho espacial no sulco intraparietal direito (IPS), na ínsula direita e no lobo frontal inferior direito. Além disso, foi encontrada uma associação entre a atividade do IPS direito com o desempenho no teste *Digit Span forward* e *Corsi Block*. Revelando assim o envolvimento dos processos de memória de trabalho espacial nas bases neurais da DAM. Esses processos de memória de trabalho espacial deficientes podem inibir a formação de representações de números espaciais, bem como o armazenamento e recuperação de fatos aritméticos (ROTZER et al., 2009).

1.6. O sistema dopaminérgico e a aprendizagem

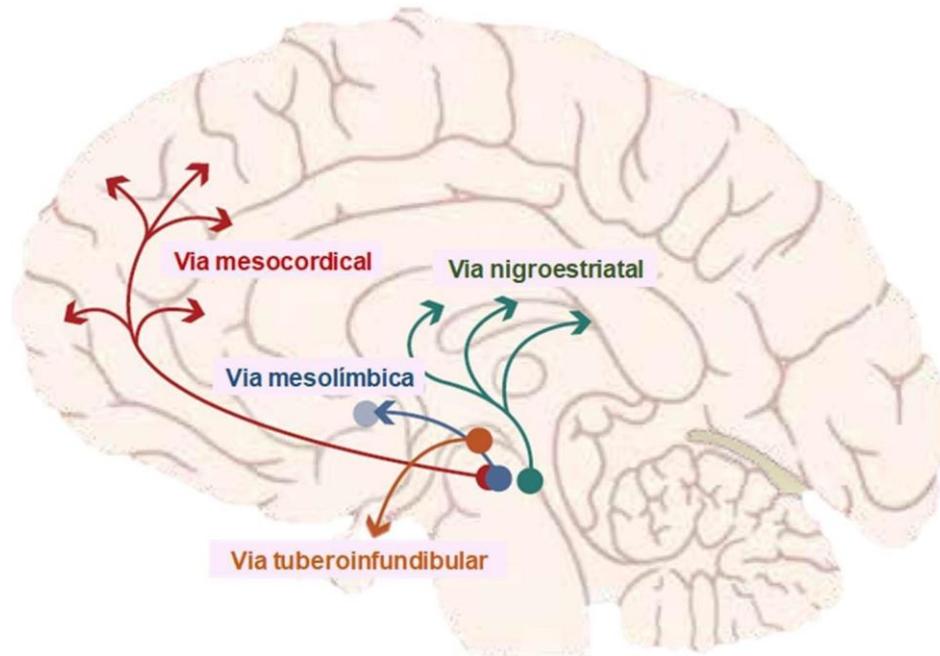
Muitos distúrbios neurocognitivos estão associados a disfunção da neurotransmissão dopaminérgica, serotoninérgica e GABAérgica. A dopamina é a principal catecolamina presente no cérebro dos mamíferos (CHAKRAVARTHY et al., 2018). Ela está associada ao desenvolvimento e regulação de diversos processos fisiológicos, comportamentais e cognitivos e, portanto, é o foco deste trabalho.

Entre os processos associados à dopamina, está a consolidação do aprendizado, memória e emoções. Portanto é esperado que alterações na sua sinalização provoque alterações nessas funções (DE LA MORA et al., 2010). Indivíduos que apresentam prazer em aprender, apresentam também uma maior retenção da informação e conseqüentemente maiores níveis de dopamina. Enquanto isso, indivíduos que não encontram prazer no aprendizado apresentam uma menor retenção de informações, o que resulta em baixos níveis de desempenho e níveis de dopamina. Foi relatado também que a diminuição de dopamina seria o indutor de ansiedade e comportamentos semelhantes à depressão, enquanto a modulação da função dopaminérgica pode diminuir o seu efeito através do tratamento com um precursor da dopamina, L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), que permite o aumento dos níveis de dopamina. Além disso, comportamentos semelhantes aos da ansiedade estão associados ao nível de dopamina e seus metabólitos, incluindo a razão entre o

metabólito da dopamina, ácido 3,4 – dihidroxifenilacético (DOPAC) e a dopamina (turnover de dopamina) e atividade de MAOA e ou MAOB. Portanto, é importante entender como o sistema dopaminérgico codifica as informações e como as vias dopaminérgicas equilibram as informações para conduzir a expressão de comportamentos, memória, aprendizagem e ansiedade (JONES e MILLER, 2008).

Os neurônios dopaminérgicos se localizam principalmente na área tegumentar ventral e na substância negra do mesencéfalo. O sistema dopaminérgico no cérebro é dividido em quatro vias principais de neurotransmissão: mesolímbica, mesocortical, nigroestriatal e túbero- infundibular. A via mesolímbica se origina na área tegumentar ventral e se conecta com o sistema límbico por meio do núcleo accumbens, amígdala, hipocampo e córtex pré-frontal medial. Essa via está relacionada ao sistema de recompensa, regulando a motivação, aprendizagem de reforço, memória, medo/ansiedade, entre outros processos cognitivos. A via mesocortical também se inicia na área tegumentar ventral e projeta os neurônios dopaminérgicos para áreas corticais (córtex frontal medial, parte anterior do giro do cíngulo e córtex temporal medial). Essa via está associada com atenção, orientação e também memória e aprendizagem. A via nigroestriatal se inicia na parte compacta da substância negra e se projeta para o estriado. Essa via é envolvida no controle dos movimentos intencionais, sua degeneração está associada à Doença de Parkinson. A quarta via, tuberoinfundibular, surge a partir dos núcleos arqueados periventriculares do hipotálamo, onde axônios são projetados para a eminência mediana do hipotálamo. Nesta via a dopamina é liberada na circulação porta e inibe a liberação de prolactina pela hipófise (STANDAERT e GALANTER, 2009). Na Figura 6, estão representadas as quatro vias do sistema dopaminérgico.

Figura 6. Representação das quatro vias dopaminérgicas no cérebro humano



Fonte: Adaptado de MENDEZ-DIAZ et al., 2017.

A neurotransmissão dopaminérgica ocorre por meio de processos relacionados, que incluem síntese, liberação, captação e armazenamento da dopamina, seguidos pelo catabolismo. Além disso, a função do sistema também é influenciada pelos níveis de atividade dos receptores de dopamina (JONES e MILLER, 2008).

A síntese de dopamina consiste na conversão da tirosina em L-DOPA, que é realizada pela enzima tirosina hidroxilase. Em seguida, a L-DOPA é descarboxilada pela enzima aminoácido aromático descarboxilase formando a dopamina (MISSALE et al., 1998; YAMAMOTO et al., 2010). Uma vez sintetizada, a dopamina é transportada através do transportador de monoamina vesicular para dentro de vesículas pré-sinápticas. Com a estimulação da célula nervosa, as vesículas de armazenamento de dopamina se fundem com a membrana plasmática, liberando dopamina na fenda sináptica. Esta liberação pode ocorrer em dois padrões distintos: liberação tônica e fásica. No modo tônico, a dopamina é liberada em níveis basais de forma constante, o que é vital para o funcionamento dos circuitos neurais. Na liberação tônica, pequenas quantidades de dopamina podem se difundir para o meio extracelular. Em contraste, na forma fásica, a dopamina é liberada em picos na fenda sináptica e é rapidamente removida deste espaço por mecanismos de recaptção, que impedem sua difusão para o espaço extracelular (STANDAERT e GALANTER,

2009).

A maior parte da dopamina liberada na fenda sináptica é transportada de volta à célula pré-sináptica pelo transportador de dopamina (DAT1). Novamente dentro da célula pré-sináptica, a dopamina pode ser reciclada em vesículas para uso subsequente na neurotransmissão (pelo transportador de monoamina vesicular) ou pode ser degradada pela ação das enzimas monoamina oxidase (MAOA ou MAOB) ou catecol-O-metiltransferase (COMT)(STANDAERT e GALANTER, 2009). No processo de metabolização, a dopamina é convertida em DOPAL, que por sua vez é convertida em DOPAC que é catalisada em ácido homovanílico. O ácido homovanílico é filtrado pelos rins e, em seguida, excretado na urina (EISENHOFER et al., 2004)

A dopamina na fenda sináptica também pode ligar-se a receptores dopaminérgicos pós-sinápticos e pré-sinápticos. Existem cinco subtipos principais de receptores de dopamina (DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 e DRD5). Estes receptores são metabotrópicos, acoplados a proteína G e possuem sete domínios transmembranares. Além disso, os receptores de dopamina são divididos em duas famílias de acordo com os efeitos sobre a formação da adenosina 3',5'-monofosfato cíclico na cascata de sinalização dopaminérgica e conforme o tamanho da terceira alça citoplasmática e da região C-terminal. Muito da resposta dopaminérgica é modulada por variantes genéticas nos receptores dopaminérgicos.

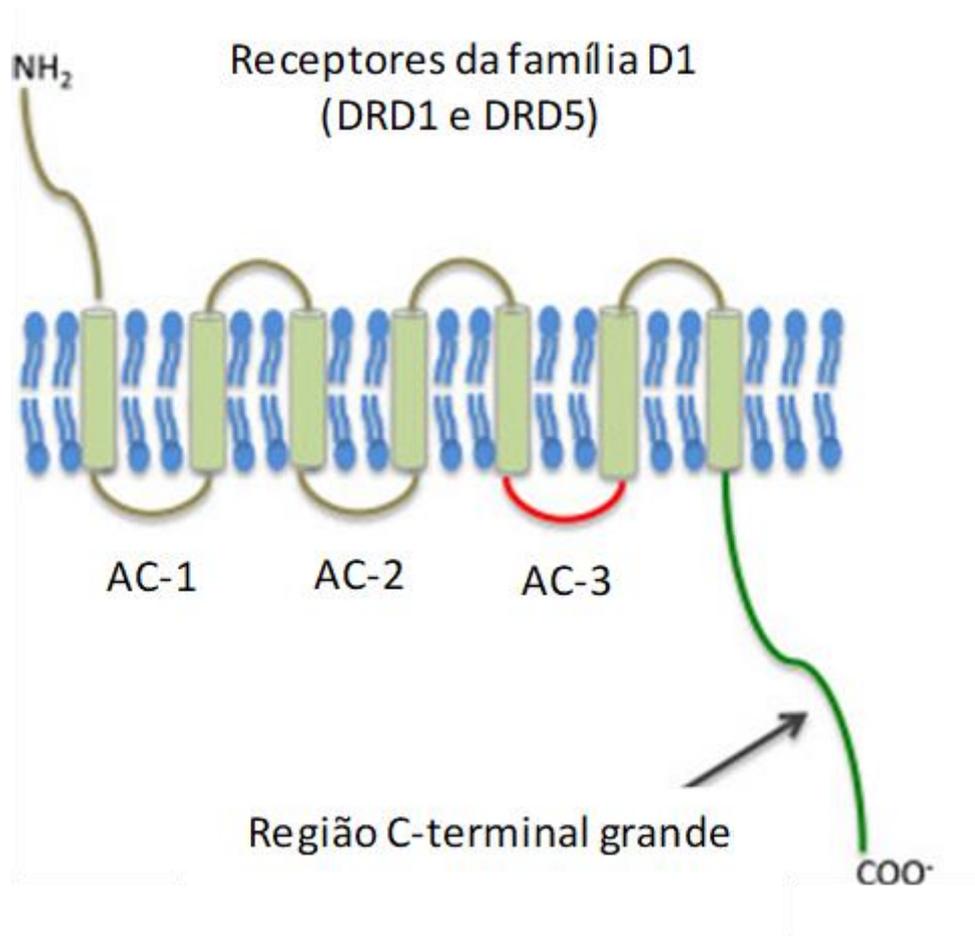
1.6.1. Os receptores dopaminérgicos

A família D1 é composta por dois receptores (DRD1 e DRD5) e família D2 é composta por três receptores (DRD2, DRD3 e DRD4) (MISSALE et al., 1998; STANDAERT e GALANTER, 2009).

Receptores da família D1 possuem uma terceira alça citoplasmática pequena e uma grande região C-terminal (Figura 7). Sua estimulação ativa a enzima adenilato ciclase, que transforma ATP (adenosina trifosfato) em cAMP (do Inglês: *Cyclic adenosine monophosphate*), aumentando assim os níveis de cAMP (TESMER et al., 1997). O cAMP intracelular ativa a proteína quinase dependente de cAMP (PKA, do inglês: *protein kinase A*), que modula a atividade de seus efetores (KIM et al., 2006). A estimulação da família D1 é excitatória, a ativação destes receptores está associada a abertura de canais de cálcio e a modulação de canais sódio e potássio (SURMEIER e KITAI, 1993; SURMEIER et al., 1995; BIBB et al., 1999). Estas alterações em canais

iônicos, conseqüentemente, despolariza a célula, promovem a liberação da dopamina na fenda sináptica e a propagação do impulso elétrico (CALIER et al., 2003; RANGEL-BARAJAS, CORONEL e FLORÁN, 2015).

Figura 7. Estrutura esquemática dos receptores de dopamina da família D1

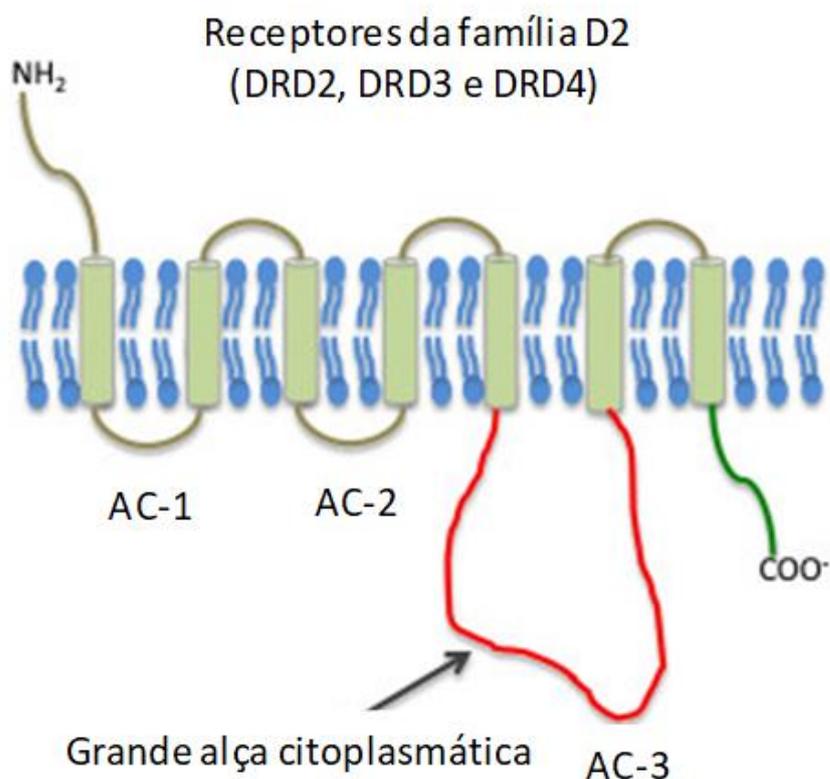


Nota: Ac indica alça citoplasmática.
Fonte: adaptado de PANDEY et al., 2013

Em contraste, os receptores da família D2, apresentam uma terceira alça citoplasmática grande e uma pequena região C-terminal (Figura 8). Quando acoplados à proteína G, produzem uma estimulação neuronal inibitória. Receptores D2 inibem a atividade da adenilato ciclase, diminuindo o cAMP e a atividade da PKA, que modula a atividade de seus efetores. Além disso, receptores D2 ativam os canais de K⁺ retificadores acoplados à proteína G e promovem o fechamento dos canais de cálcio voltagem dependentes (MISSALE et al., 1998). O aumento da abertura dos canais de

K^+ , aumenta a corrente que hiperpolariza o neurônio, sendo necessária uma maior despolarização para atingir o limiar de descarga. O fechamento dos canais de Ca^{2+} resulta em níveis diminuídos de Ca^{2+} intracelular. O Ca^{2+} intracelular é necessário para o deslocamento da vesícula sináptica e sua fusão com a membrana pré-sináptica. A diminuição dos níveis de Ca^{2+} resulta em uma liberação diminuída de dopamina (STANDAERT e GALANTER, 2009).

Figura 8. Estrutura esquemática dos receptores de dopamina da família D2



Nota: Ac indica alça citoplasmática.
Fonte: adaptado de PANDEY et al., 2013

Os níveis dos receptores DRD1 e DRD2 são cerca de 10 vezes maiores do que os níveis dos outros subtipos de receptores de dopamina no cérebro humano, exceto no estriado ventral (HULEY & JENNER, 2006).

Alterações na expressão de genes dos receptores de dopamina podem estar associadas à quantidade de dopamina disponível na fenda sináptica e, conseqüentemente, a motivação, memória, aprendizagem e ansiedade. No presente trabalho, focaremos no receptor dopaminérgico DRD1.

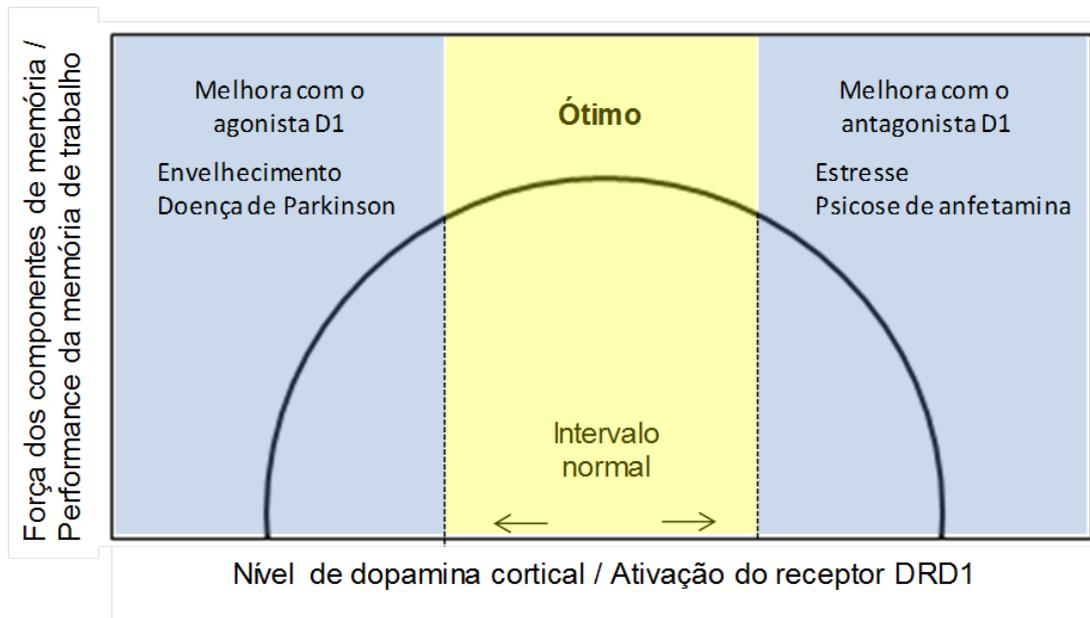
1.6.1.1. Receptor DRD1

O gene do receptor de dopamina *DRD1* foi clonado e caracterizado em 1990 (DEARRY et al., 1990). Este gene está localizado no cromossomo 5q35.2 e apresenta dois éxons: o éxon 1, que não é codificante, e um éxon 2, onde a proteína do receptor é codificada. Estes dois éxons são separados por um pequeno íntron de 116 pb. O gene *DRD1* também apresenta dois transcritos, um transcrito longo formado pelos dois éxons e um transcrito mais curto, composto apenas pelo éxon codificante (LEE et al., 1996).

O DRD1 é o receptor dopaminérgico mais abundante no sistema nervoso central, sendo altamente expresso no córtex pré-frontal e estriado e moderadamente expresso no hipocampo (BERGSON et al., 1995; LEDONNE e MERCURI, 2017). Como principal alvo da dopamina no córtex pré-frontal, o DRD1 participa de processos cognitivos mediados por essa região. Este gene tem sido associado ao transtorno do espectro autista, doença de Parkinson, memória, cognição social, funcionamento atencional e executivo, MT, mecanismos de reforço e distúrbios neuropsiquiátricos (SAWAGUCHI e GOLDMAN-RAKIC, 1991; ABI-DARGHAM et al., 2002; DREHER; JACKSON, 1989; MEYER; SHULTS, 1993; MISENER et al., 2004; LUCA et al., 2007; XING et al., 2012; SARINANA et al., 2014; FEDOSOVA et al., 2021; MPOULIMARI & ZINTZARAS, 2022)

Em relação a memória, alterações no nível de expressão dos receptores DRD1 podem modular a transmissão excitatória em neurônios, que estão associados ao processo de memorização (GOLDMAN-RAKIC et al., 2000). Níveis reduzidos ou aumentados de receptores DRD1 apresentam uma atividade reduzida nos neurônios pré-frontais envolvidos na MT, enquanto, níveis moderados desses receptores apresentam uma atividade aprimorada, como pode ser visto na Figura 9.

Figura 9. Modelo da influência dos níveis de dopamina e sua relação com a ativação de DRD1 e com o fenótipo da memória de trabalho



Fonte: adaptado de Goldman-Rakic et al., 2000

A densidade de receptores DRD1 também já foi associada positivamente com o desempenho em um teste psicológico que é administrado a pacientes para medir a disfunção do lobo frontal (Wisconsin Card Sort Task). Além disso, o envelhecimento normal também causa uma redução nos níveis de dopamina, na função do receptor DRD1 e na MT. Tratamentos que reduzem o nível de receptores DRD1 também causam deficiências no desempenho da MT.

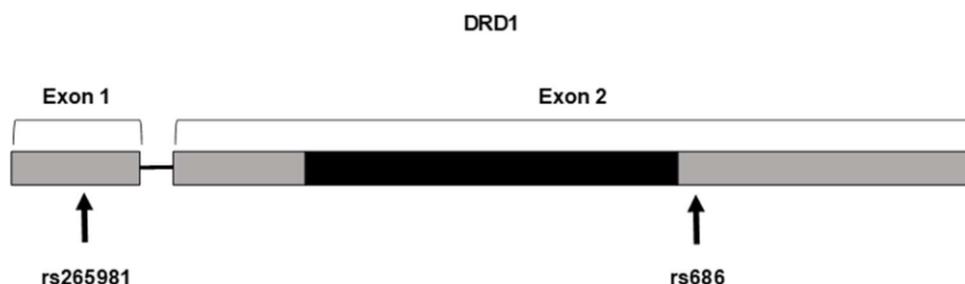
No córtex pré-frontal, os receptores DRD1 estão envolvidos na manutenção de uma escolha (JENNI et al. 2017). A densidade ou ativação do receptor DRD1 no córtex pré-frontal modula a tomada de decisão impulsiva (PATTIJ *et al.* 2014; SONNTAG *et al.* 2014; WANG *et al.* 2017) e a administração sistêmica de um antagonista de DRD1 aumentou a preferência por uma recompensa menor mais cedo em relação a uma recompensa maior mais tarde, ou seja, escolha impulsiva (KOFFARNUS *et al.* 2011; PATTIJ *et al.* 2014).

Os níveis de expressão deste gene podem ser afetados por polimorfismos genéticos. O polimorfismo rs686 se destaca por alterar sua expressão gênica (HUANG et al., 2008).

1.6.1.2. Polimorfismo rs686 do gene *DRD1*

O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs686 é um polimorfismo de substituição de uma adenina por uma guanina localizado na região 3' não traduzida (3' UTR) do gene *DRD1* (Figura 10). O alelo G é menos frequente e está associado a uma diminuição da expressão do gene em relação ao alelo A. O alelo G inibe a ligação do miR-504 à 3'-UTR do gene, indicando um potencial mecanismo causal através do qual este SNP modula a expressão gênica (HUANG et al., 2008; HUANG e LI, 2009). O miR-504 é expresso em regiões corticais e hipocâmpais do cérebro humano, conhecido por regular a densidade de espinhas dendríticas em neurônios do hipocampo em cultura (CHOI et al., 2015).

Figura 10. Estrutura esquemática do gene *DRD1*



Nota: A linha preta representa um íntron. Regiões cinza representam regiões não codificantes e a região preta indica o local de codificação do gene.

Fonte: adaptado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1812> acesso em 21 de março de 2019

Alguns estudos já investigaram uma associação entre o polimorfismo rs686 com a modulação do sistema dopaminérgico no comportamento e/ou aprendizagem relacionados a recompensa. Além disso, foram descritas também associações deste polimorfismo com fenótipos de adição, como a dependência de álcool, nicotina e opióides, com fenótipos psiquiátricos, como a esquizofrenia e depressão, e com pior resposta ao tratamento farmacológico com antipsicóticos. Porém, até o presente momento, o SNP rs686 do gene *DRD1* ainda não foi investigado no contexto da DAM.

Esse SNP foi associado ao comportamento materno, onde mães que eram heterozigotas (A/G) tendiam a desviar o olhar de seus bebês com menor frequência (MILEVA-SEITZ et al., 2012). O genótipo A/G de *DRD1* (rs686) também foi significativamente associado ao comportamento de fumar (RUZILAWATI et al., 2020).

O alelo G do SNP rs686 foi associado com a modulação do sistema de

recompensa e com a ativação medial do córtex frontal orbital durante a antecipação da recompensa (BAKER et al., 2019). O alelo G tem sido associado também a sintomas depressivos, uso de opioides e impulsividade (JIMÉNEZ, PEREIRA-MORALES e FARERO, 2018; MOSES et al., 2020).

Já o alelo A deste SNP está relacionado a uma maior expressão do gene e tem sido associado ao aumento no risco de Doença de Parkinson, autismo e esquizofrenia, vícios e dependências, impulsividade em crianças com TDAH e a um aumento da inibição proativa (FEDOSOVA et al., 2021; ZHU et al., 2011; HUANG et al., 2008; BATEL et al., 2008; ZHU et al., 2013; HETTINGER et al., 2008; OADES et al., 2008; BEU et al., 2017).

1.7. Técnicas de análise de SNP

Há diversos métodos de detecção de variantes genéticas em genes/regiões candidatas, que se diferenciam quanto ao objetivo pretendido, a facilidade de execução, confiabilidade e custos. Dentre estas técnicas, estão a técnica de FISH (*fluorescent in-situ hybridization*); aCGH (*Microarray-based Comparative Genomic Hybridization*); MLPA (*Multiplex Ligation Probe-dependent Amplification*), qPCR (*Quantitative Polymerase Chain Reaction*), PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) e PCR-HRM (*Polymerase Chain Reaction-High Resolution Melting*).

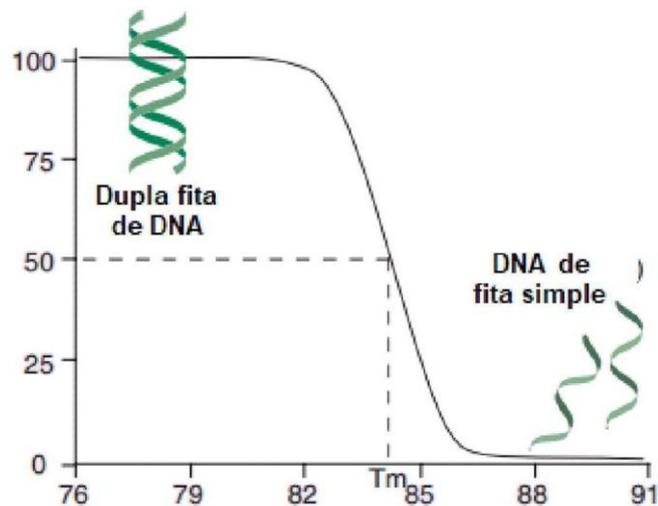
Neste trabalho, optamos por utilizar a técnica de PCR-HRM para investigar a etiologia da DAM/DAMO em crianças em idade escolar da população de Belo Horizonte/MG e Porto Alegre/RS.

1.7.1. HRM

A técnica de HRM consiste em uma PCR quantitativa em tempo real na presença de um fluoróforo, seguida por análise da curva de dissociação dos *amplicons*. Durante a PCR, fluoróforos, não inibidores de PCR, se intercalam a dupla fita de DNA. Após a PCR, a temperatura é aumentada gradativamente induzindo a desnaturação da dupla fita dos *amplicons* e a liberação da fluorescência. Grandes quantidades de DNA em fita dupla irão emitir altos níveis de fluorescência em temperaturas baixas, mas ao passo em que a temperatura é aumentada a

fluorescência irá diminuir, gerando assim uma curva de dissociação (Figura 11).

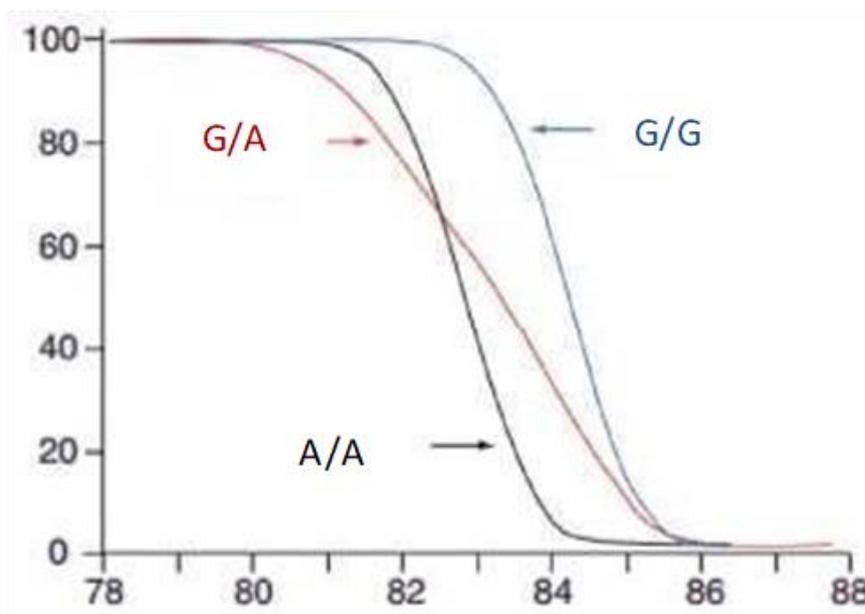
Figura 11. Exemplo de curva de dissociação normalizada gerada por HRM



Nota: A fita dupla terá uma forte fluorescência a baixas temperaturas. À medida que a temperatura é aumentada, a fluorescência irá diminuir, refletindo a dissociação do DNA em cadeias simples. A temperatura de dissociação (T_m) é a temperatura na qual a fluorescência normalizada é de 50%.
Fonte: adaptado de REED, KENT e WITTEWER, 2007

O comportamento das curvas de dissociação dos produtos de PCR é variado e depende de seu conteúdo GC, comprimento, composição da sua sequência e de seu estado, homo- ou heterozigoto (QIAN et al, 2010). Diferenças na composição do DNA alvo podem ser detectadas por um *software* específico, que compara as curvas e temperaturas de dissociação (T_m) das amostras (MONTGOMERY, 2007). T_m descreve a temperatura em que metade dos *amplicons* se dissociou em fita simples. Na Figura 12, é apresentado um modelo de curva de dissociação gerada em *software* específico.

Figura 12. Exemplo de resultados de HRMs revelando diferentes curvas de dissociação



Nota: A análise das curvas de dissociação permite a genotipagem de SNPs. Considere um SNP G>A com os possíveis genótipos G/G, G/A e A/A. Todos os três genótipos podem ser facilmente distinguidos. As curvas G/G e A/A apresentam formas similares, porém a T_m do homozigoto G/G é aproximadamente 1° C mais alta que a do homozigoto A/A. A curva de dissociação do heterozigoto apresenta uma transição mais gradual a uma maior faixa de temperatura.

Fonte: adaptado de REED; KENT; WITTWER, 2007

Como o fluoróforo é adicionado antes da amplificação, nenhum outro processo é necessário após o início da PCR; logo, a necessidade de automação e o risco de contaminação são reduzidos (REED e WITTWER, 2004).

1.8. Hipóteses

Diante deste contexto e tendo em vista a continuidade dos estudos do nosso grupo de pesquisa, sobre o sistema dopaminérgico na DAM, levantamos a seguinte hipótese: existe associação do polimorfismo rs686 do gene *DRD1* com fenótipos/endofenótipos da dificuldade de aprendizagem escolar em crianças em idade escolar.

1.9. Justificativa e relevância

A DAM é um transtorno de aprendizagem frequente que compromete principalmente a aquisição e o desenvolvimento das habilidades matemáticas.

Indivíduos com DAM podem apresentar uma série de dificuldades escolares e em tarefas básicas do dia-a-dia, tais como: orientação direita e esquerda, dificuldade em olhar horas, pegar ônibus e contar dinheiro. Tais dificuldades, por sua vez, podem desencadear frustrações, desinteresse e tornar os indivíduos afetados menos produtivos (BUTTERWORTH, 2010; KUCIAN e VON ASTER, 2015; PEARD, 2010).

Estudos realizados no Reino Unido e nos Estados Unidos revelaram que mesmo na presença de alfabetização adequada, a baixa habilidade matemática afeta as oportunidades de emprego e os salários dos indivíduos afetados (RIVERA-BATIZ, 1992; PARSONS et al., 2005). Sendo assim, a DAM gera um impacto negativo nas perspectivas de emprego, na saúde física e mental dos indivíduos, além de afetar a economia do país.

O diagnóstico da DAM é feito com base em vários testes neurocognitivos aplicados por uma equipe especializada. Quanto mais cedo o indivíduo é encaminhado para o diagnóstico e intervenção, menos o aprendizado dele é prejudicado. A busca por estratégias que facilitem a identificação precoce deste transtorno é necessária, sendo a Genética uma abordagem promissora. A dificuldade no aprendizado da Matemática é descrita como uma condição complexa e multifatorial. Desse modo, muitas pesquisas sugerem a existência de vários genes atuando na determinação do fenótipo. No entanto, não se sabe exatamente quais genes e mecanismos moleculares estão diretamente envolvidos na etiologia da DAM.

Há evidências de que genes do sistema dopaminérgicos estão associados a fenótipos/endofenótipos neurocognitivos ligados a DAM. Neste contexto, Vasconcelos (2018) e Martins (2018) investigaram a contribuição dos genes do sistema dopaminérgico *DRD4*, *DAT1* e *COMT* para a MT e DAM em crianças em idade escolar da população de Belo Horizonte. No entanto, até o presente momento, não há trabalhos descritos na literatura, que investiguem a associação do polimorfismo rs686 no gene do receptor dopaminérgico *DRD1* com DAM/DAMO. Nesse sentido, este trabalho visa dar seguimento e analisar a contribuição de um polimorfismo no gene *DRD1* do sistema dopaminérgicos para a dificuldade de aprendizagem da matemática e fenótipos correlatos.

Compreender melhor a Genética da DAM ajudaria a estimar a contribuição dos diversos fatores de risco. Além disso, os perfis genéticos encontrados podem ser relevantes para a compreensão dos mecanismos neuropsicológicos subjacentes.

1.10. Objetivos

1.10.1. Objetivo geral

Investigar a etiologia da DAM/DAMO em crianças em idade escolar da população de Belo Horizonte/MG e Porto Alegre/RS.

1.10.2. Objetivos específicos

- Desenvolver um método de baixo custo, baseado em HRM, para genotipagem do polimorfismo rs686 do gene *DRD1*;
- Investigar a existência de relação entre o polimorfismo rs686 do gene *DRD1* com a DAM/DAMO em crianças em idade escolar da população de Belo Horizonte/MG e Porto Alegre/RS.
- Avaliar a existência de associação entre o polimorfismo rs686 do gene *DRD1* com fenótipos/endofenótipos correlatos da DAM/DAMO em crianças em idade escolar da população de Belo Horizonte/MG e Porto Alegre/RS.

2. METODOLOGIA

2.1. Aspectos éticos

Este trabalho faz parte de dois projetos de pesquisa:

- Projeto Discalculia - “Discalculia do Desenvolvimento em crianças de idade escolar: triagem populacional e caracterização de aspectos cognitivos e genéticos moleculares”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-MG) parecer nº ETIC 42/08 (Anexo 1);
- Projeto Endofenótipos - “Endofenótipos das dificuldades de aprendizagem da Matemática”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-MG) projeto CAAE 15070013.1.0000 (Anexo 2).

A participação no estudo foi realizada mediante a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos pais ou responsáveis (Anexo 3 e 4) e assentimento das crianças, fornecido oralmente ou por escrito, conforme a faixa etária.

2.2. Amostra

Para realização deste estudo foram utilizados dois conjuntos de amostras biológicas provenientes dos estudos de base populacional dos projetos dos quais este estudo faz parte. A amostra proveniente do projeto Discalculia é composta por 1720 estudantes de dez escolas públicas e uma escola particular de Belo Horizonte - MG. Os alunos foram selecionados aleatoriamente dentre as crianças matriculadas entre a 2ª e 5ª série (3º a 6º ano) do ensino fundamental.

Em relação ao projeto Endofenótipos, propõe-se avaliar 2.000 crianças em idade escolar, sendo 1.000 de Belo Horizonte-MG e 1.000 de Porto Alegre- RS. Atualmente, já foram coletadas 930 amostras (582 de Belo Horizonte-MG e 348 de Porto Alegre-RS). Os participantes são selecionados aleatoriamente entre crianças e adolescentes matriculados da 4ª a 6ª série (3º e 5º ano) do ensino fundamental de 11 escolas públicas.

No presente estudo, participaram 472 indivíduos de Belo Horizonte-MG, sendo 156 estudantes provenientes do projeto Discalculia e 316 estudantes participantes do projeto Endofenótipos. Além disso, também foram avaliados 102 indivíduos de Porto

Alegre-RS, oriundos do projeto Endofenótipos. Os demais alunos foram excluídos deste estudo por falta de material biológico, resultados de testes neuropsicológicos incompletos e/ou por apresentarem baixo funcionamento intelectual.

2.3. Delineamento da pesquisa

A pesquisa foi constituída inicialmente através da aplicação de três testes: TDE (Teste de desempenho escolar), um teste de avaliação do desempenho escolar; teste das Matrizes Coloridas de Raven, um teste que avalia a inteligência; e pelo teste de Transcodificação Numérica que avalia a capacidade de conversão de notações numéricas verbais em símbolos numerais arábicos.

A segunda etapa consiste em uma avaliação neuropsicológica individual e na coleta de material biológico. Nesta avaliação, são analisados aspectos comportamentais, emocionais e cognitivos por meio da observação do comportamento e uso de diferentes testes neurocognitivos e psicológicos padronizados. Nos intervalos entre um teste e outro, são coletadas amostras biológicas dos indivíduos. A realização de todos os testes, além da coleta de material biológico, é feita pelos alunos de graduação ou pós-graduação em Neurociências ou da Saúde da Criança e do Adolescente do LND, FAFICH- UFMG, sob a coordenação do professor Dr. Vitor Geraldi Haase.

E por fim, o DNA genômico das amostras biológicas foi extraído e analisado geneticamente por alunos do LGHM, ICB-UFMG, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Raquel Santos Carvalho.

2.4. Triagem pelo TDE, Tarefa de Transcodificação Numérica e Matrizes Coloridas de Raven

Na primeira parte da pesquisa, as crianças foram avaliadas usando o TDE, tarefa de Transcodificação Numérica e Matrizes Coloridas de Raven.

O teste Matrizes Coloridas de Raven avalia o desenvolvimento intelectual das crianças. Este teste consiste em completar vários desenhos ou matrizes com um fundo colorido a partir de seis encaixes alternativos, dentre os quais apenas um completa corretamente cada desenho/matriz apresentado (ANGELINI et al., 1999). Os participantes que apresentam o percentil maior do que 15 ($P > 15$) neste teste são

classificados como probandos de inteligência normal. Já os participantes, que obtiveram um desempenho inferior ao percentil 15 no teste ($P < 15$) apresentam baixo desenvolvimento intelectual e não são incluídos nesta amostra.

O TDE é um teste de desempenho escolar constituído por três subtestes, que avaliam as capacidades básicas implicadas no desenvolvimento escolar: aritmética, escrita e leitura (STEIN, 1994). Sua aplicação é coletiva, com avaliação individual. De acordo com o percentil (P) de aproveitamento no teste, as crianças são classificadas em: DAM, $P < 25$ no subteste de aritmética; DAMO (Dificuldade de aprendizagem na Matemática e Ortografia), $P < 25$ nos subtestes de aritmética e escrita; DE (Dificuldade de Escrita), $P < 25$ no subteste de escrita; DL (Dificuldade de leitura), $P < 25$ no subteste de leitura; e Controles, $P > 25$ nos três subtestes (Aritmética, Escrita e Leitura) (MOURA et al., 2013).

A tarefa de Transcodificação Numérica é aplicada com o objetivo de investigar o conhecimento das crianças sobre a sintaxe numérica. O processo de transcodificação numérica requer a conversão de notações numéricas verbais em numerais. A capacidade de transcodificação de números é avaliada por meio de uma tarefa de ditado de números, na qual os números são apresentados oralmente e a criança deve escrevê-los em sua forma arábica (MOURA et al., 2014).

2.5. Avaliação neuropsicológica

Com o objetivo de caracterizar o perfil cognitivo de cada participante, uma avaliação neuropsicológica pormenorizada é realizada utilizando os instrumentos de avaliação listados na Tabela 1. Esta avaliação inclui testes que investigam habilidades numéricas e não numéricas do indivíduo, incluindo estimação de magnitude não simbólica, memória de trabalho, ansiedade matemática, inteligência, atenção, orientação visuoespacial e visuoconstrutiva, coordenação motora, funções executivas, processamento fonológico, leitura de palavras e pseudopalavras. Ao final, os resultados dos indivíduos testados são comparados utilizando-se *escore z* (Z) por idade, para as variáveis que refletem neurodesenvolvimento, e *escore z* por série, para as variáveis que refletem influência da educação escolar.

Tabela 1. Testes da avaliação neuropsicológica

Domínios	Testes	Referências
Comportamento	SNAP-IV	Mattos et al.(2006)
	CBCL	Bordin et al. (2013); Rocha et al. (2013)
Ansiedade matemática	MAQ	Haase et al. (2012); Wood et al. (2012)
Inteligência	WISC-IV	Rueda et al. (2013)
Destreza motora	Nine-Hole Peg Test (9-HPT)	Poole et al. (2005)
Habilidades Visuoespaciais e Visuocontrutivas	Figura Complexa de Rey	Rigoni (2016)
Atenção – alertness	Reação Simples	Costa et al. (2011)
Memória verbal e não-verbal	Dígit Span	Figueiredo & Nascimento (2007)
	Cubos de Corsi	Santos et al. (2005)
Funções executivas	Teste dos Cinco Dígitos	Malloy-Diniz et al. (2015)
Consciência Fonológica	Supressão de fonemas	Lopes-Silva et al. (2014)
Habilidades de Leitura	LPI	Salles et al. (2013)
	Teste de Fluência de Leitura (TFL)	Justi & Roazzi (2012)
Habilidades Numéricas	Comparação Não Simbólica	Costa et al. (2011); Pinheiro Chagas et al. (2014) Moura et al. (2013) Moura et al. (2014)
	Leitura de Numerais Arábicos Ditado de Numerais Arábicos	
	Adição	Costa et al. (2011); Haase et al. (2014)
	Subtração Multiplicação Problemas Aritmética- WISC IV	Costa et al. (2011) Rueda et al. (2013)

Nota: SNAP-IV = Questionário Swanson, Nolan e Pelham-IV; CBCL = *Child Behaviour Checklist*; MAQ = *Mathematics Anxiety Questionnaire*; WISC IV = *Wechsler Intelligence Scale for Children IV*; LPI = avaliação de leitura de palavras / pseudopalavras isoladas.

Fonte: elaborado pela autora.

2.6. Métodos moleculares

2.6.1. Material biológico

O material biológico das crianças/adolescentes é coletado por estudantes do LND previamente capacitados. São coletados cerca de 5 mL de sangue periférico em tubo EDTA ou 3 mL de saliva em tubo Falcon de 15 mL contendo 500µL de EDTA 0,5M. As amostras são armazenadas a -20 °C até a realização da extração de DNA. O DNA extraído é armazenado no banco de material biológico do LGHM.

2.6.1.1. Extração e purificação do DNA

Para purificação das amostras de saliva, foram adicionados 5 mL de dextrose a 3% e 3 mL de solução de TNE [17 mM Tris/HCl (pH 8.0), 50 mM NaCl e 7 mM EDTA diluídos em 66% de etanol] à solução de saliva e EDTA previamente coletada. Em seguida, os tubos contendo a saliva foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm em uma temperatura de 4° C para a precipitação das células bucais. O sobrenadante foi então descartado e as células bucais ressuspendidas em 3 mL de TNE. O tubo foi centrifugado a 2000 rpm por 5 minutos a 4° C e o sobrenadante foi descartado. Em seguida foram adicionados 1,3 mL de solução de digestão [10 mM Tris (pH 8,0), 0.5% SDS, 5 mM EDTA] e a mistura foi transferida para um tubo de 2 mL. Ao tubo de 2 mL foram adicionados 30 µL de proteinase K (10 mg/mL) e a mistura foi então incubada a 56°C por uma noite. Após a incubação, proteínas e outros contaminantes foram removidos usando-se 500 µL de solução contendo 8 M de acetato de amônio e 1 mM EDTA, seguido de centrifugação a 12.000 rpm durante 15 minutos. Do sobrenadante foram transferidos 900 uL para dois tubos de 1,5 mL contendo 540 µL de isopropanol gelado. As soluções foram misturadas invertendo-se o tubo suavemente por várias vezes até completa precipitação do DNA. O DNA precipitado foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, o DNA foi lavado com 1 mL de etanol 70% e centrifugado novamente a 12.000 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação, o etanol foi descartado e cada tubo foi mantido à temperatura ambiente por 15 a 20 minutos para evaporação do etanol. O DNA foi então ressuspendido em 200 µL de tampão TE [Tris 10 mM (pH 7,8) e EDTA 1 mM].

2.6.1.2. Mensuração da concentração e qualidade do DNA

A concentração e pureza do DNA foram determinadas por espectrofotometria utilizando-se o Nanodrop2000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, EUA). A concentração de DNA foi obtida por leituras a 260 nm. As razões das absorvâncias a 260nm/280nm e 230nm/260nm foram usadas para estimar a pureza do DNA. Valores de razão da absorvância 260nm/280nm próximos de 1,8 indicam que o DNA está puro. Já a razão 260nm/230nm é usada como uma medida secundária da pureza de ácido nucléico. Os valores esperados da absorvância 260nm/230nm para ácidos nucleicos “puros” estão na faixa de 2,0-2,2 (DESJARDINS & CONKLIN, 2010).

2.6.2. Genotipagem do polimorfismo rs686 em *DRD1*

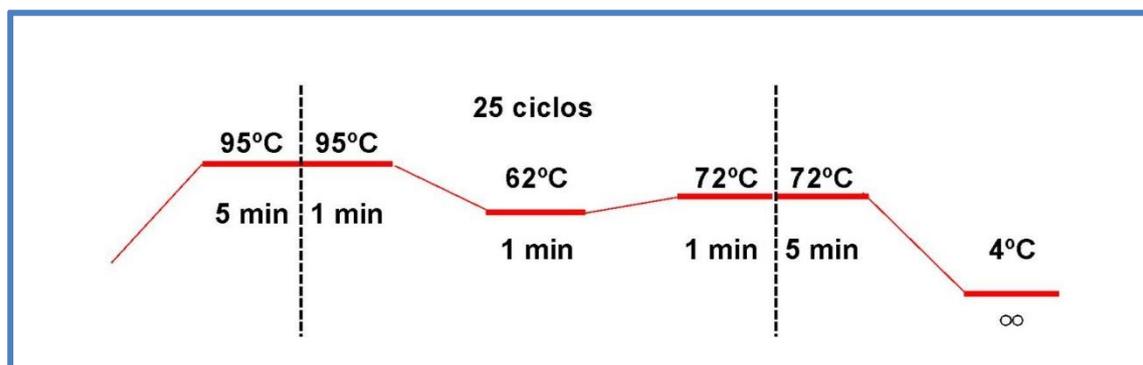
A genotipagem dos polimorfismos rs686 do gene *DRD1* foi feita em duas etapas: (1) Sequenciamento de 13 amostras (26 cromossomas) de indivíduos controles saudáveis que tem por objetivo a obtenção de controles internos para a reação de genotipagem dos SNPs pela técnica de HRM; (2) Genotipagem por HRM de 472 crianças/adolescentes de idade escolar da população de Belo Horizonte/MG e 102 da população de Porto Alegre/RS.

2.6.2.1. Sequenciamento Sanger

A fim de gerar controles de reação para a genotipagem dos SNPs foi realizada a amplificação e sequenciamento das regiões genômicas em 13 indivíduos controles saudáveis.

Para amplificação e sequenciamento, foram desenhados *primers* utilizando-se o programa Primer3Plus (www.bioinformatics.nl/primer3plus). A sequência dos primers utilizados foram: *Forward*, 5'GCTCCCCATGTTTGTAGTG3'; *Reverse* 5'CAGACCCTTGGAGAAGCTGT3' (tamanho do *amplicon* 331 pb). As reações de amplificação foram realizadas utilizando-se 5 µL de tampão IVB 5x (Phoneutria, Belo Horizonte, MG, Brasil), 15 pmol de cada *primer*, 20 mM de dNTP, 2,5 U/µL de Taq DNA polimerase, 15 ng de DNA e 2 µL de DMSO 100% em um volume final de 25 µL. Na figura 13, são apresentadas as condições de ciclagem usadas na PCR.

Figura 13. Ciclos de amplificação usado na PCR para o sequenciamento de sanger do polimorfismo rs686 do gene *DRD1*



Fonte: produzido pela autora

A verificação da amplificação do produto de PCR foi realizada por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida a 8%. Após a verificação, os produtos de PCR obtidos foram purificados com uma solução de NaCl 2,5 M contendo 20% de PEG 8000 (Polietilenoglicol 8000), segundo protocolo descrito por Lis e Schleif (1975).

Os produtos de PCR purificados foram submetidos a uma nova amplificação utilizando-se o kit de sequenciamento BigDye Terminator Cycle Sequencing versão 3.1 (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*). As reações de PCR e condições de ciclagem e purificação foram realizadas conforme descrito pelo fabricante. O sequenciamento foi realizado no sequenciador ABI-PRISM 3730 Genetic Analyzer (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*) da Plataforma Multiusuários da FIOCRUZ/MG.

As sequências e os cromatogramas obtidos após o sequenciamento foram visualizados e alinhados utilizando o software CodonCode Aligner (*CodonCode Corporation, Dedham, MA, USA*).

2.6.2.2. PCR-HRM para genotipagem do polimorfismo rs686

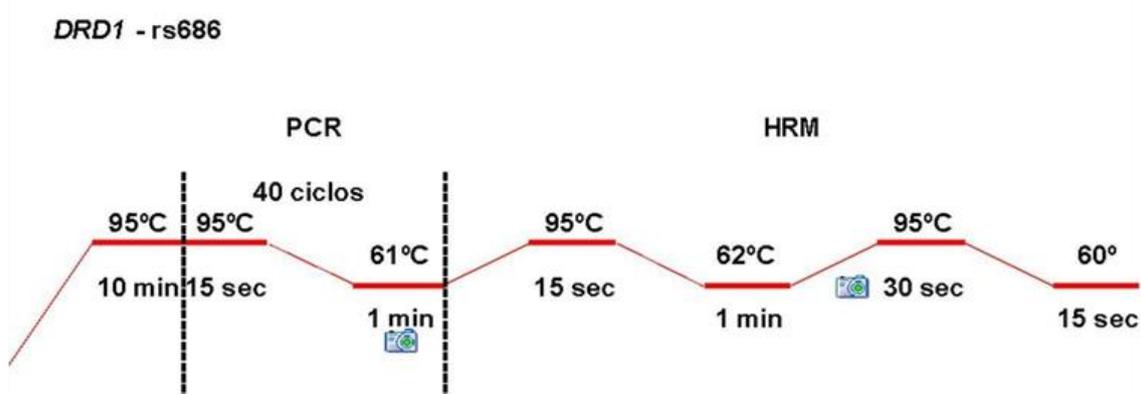
Os *primers* foram desenhados, utilizando-se o programa Primer3Plus (www.bioinformatics.nl/primer3plus) e as T_m foram calculadas através do programa OligoCalc (www.appliedbiosystems.com). Para que os estágios de anelamento e extensão ocorram em uma única etapa, permitindo uma amplificação rápida e eficiente, a T_m de cada *primer* foi em torno de 60 °C. Os *primers* desenhados para a genotipagem do SNP foram: *Forward*, 5'GTGTGTTGGAAAGCAGCAGA3'; *Reverse*,

5'TCACACAAAACGGTCAGCAC3'. O tamanho do *amplicon* foi de 163 pb.

O método de HRM foi realizado utilizando o MeltDoctor™ HRM Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) e as reações foram padronizadas utilizando 5 µL do MeltDoctor™ HRM Master Mix, 3 pmol de cada *primer* e 10 ng de DNA em um volume final de 10 µL.

Na Figura 14, encontra-se descrito as condições utilizadas para a PCR-HRM do SNP rs686. Os dados obtidos foram analisados através do software High Resolution Melt v3.0.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Figura 14. Ciclos de amplificação da PCR-HRM para o polimorfismo rs686 do gene *DRD1*



Nota: as máquinas fotográficas simbolizam os momentos nos quais é feita a leitura da fluorescência.

Fonte: produzido pela autora

2.7. Análises estatísticas

A fim de caracterizar a amostra, foram realizadas análises descritivas e exploratórias dos dados no software SPSS versão 25. As variáveis foram avaliadas quanto à distribuição. A normalidade da distribuição das variáveis psicométricas em estudo foi avaliada através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Como vai ser avaliado o efeito do sexo, a avaliação da normalidade foi feita na amostra separada conforme o sexo. Para análise das correlações entre as variáveis TDE, cálculos, MT (Digit Span e tubos de Corsi), inteligência (Matrizes Coloridas de Raven) e ansiedade matemática (MAQ) foi utilizado o coeficiente de correlação de postos de Spearman.

Após a genotipagem da amostra, as frequências alélicas, genotípicas, e o teste do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foram calculados utilizando o software WPCALC (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>). De acordo com os

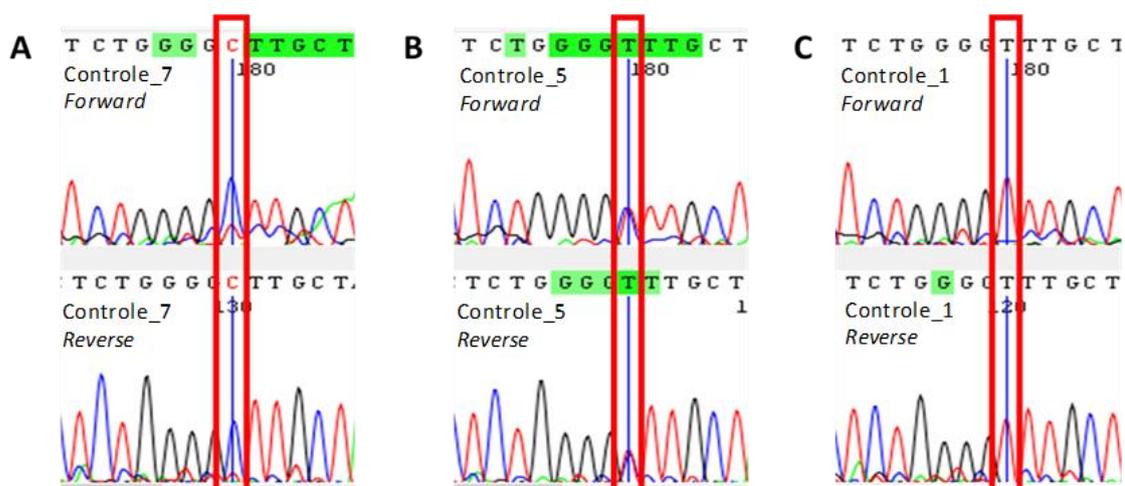
resultados obtidos, modelos baseados em Modelos Lineares Generalizados (GLM) ou ANOVA foram criados para as análises de associação considerando-se efeitos de sexo, genótipo e interação sexo-genótipo, sob os diferentes modelos genotípicos: codominante (A/A vs. A/G vs. G/G), A-dominante (A/A + A/G vs. G/G), G-dominante (A/A vs. A/G + G/G) e heterose (A/A + G/G vs. A/G).

3. RESULTADOS

3.1 Padronização da metodologia de genotipagem por HRM

Para gerar controles para a reação de genotipagem do polimorfismo DRD1 rs686 por HRM, foi feito sequenciamento de Sanger de uma amostra de 13 indivíduos (Figura 15). Os três possíveis genótipos emergiram nestes indivíduos.

Figura 15. Eletroferograma de três indivíduos sequenciados para o SNP rs686 do gene *DRD1*

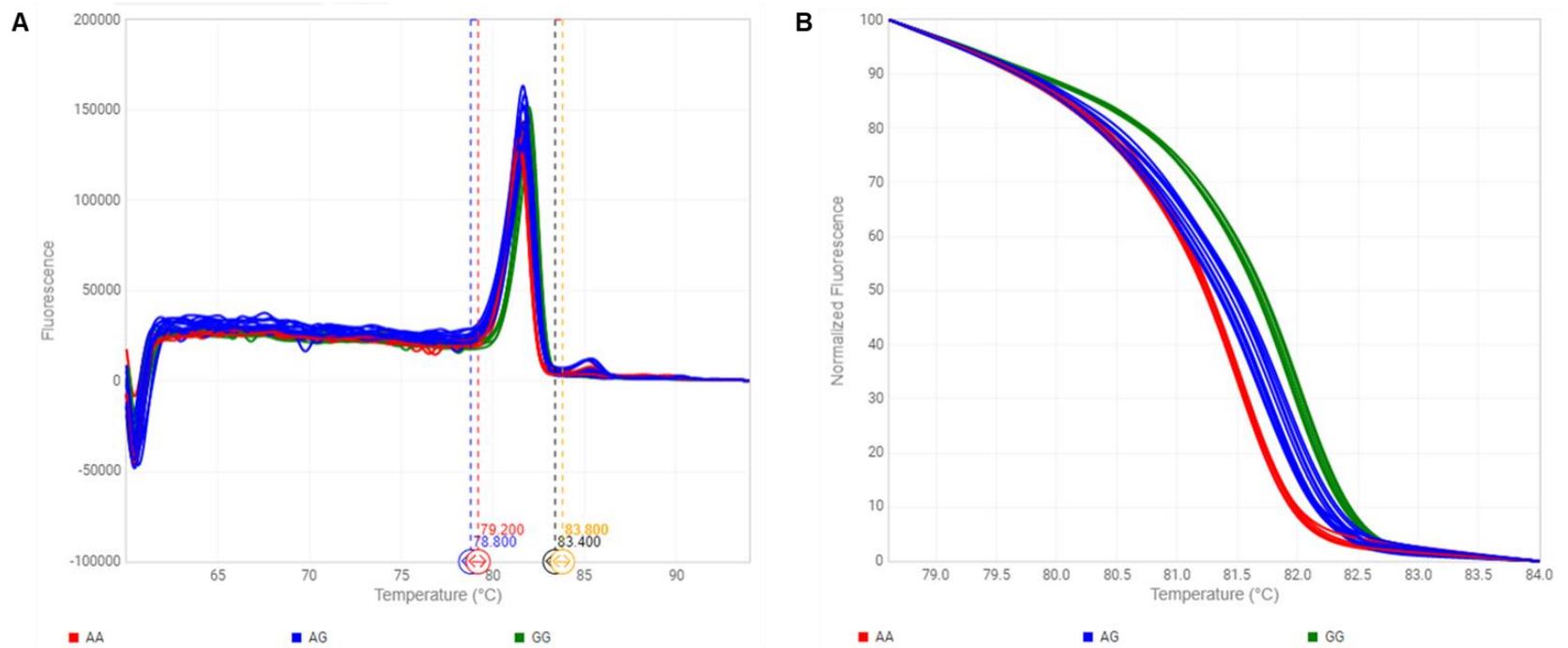


Nota: A região do SNP rs686 está destacada com a demarcação em vermelho. A base A está representada em verde; a base T em vermelho; a base C em azul; e a base G em preto.

Fonte: Produzido pela autora utilizando o software CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, Dedham, MA, EUA).

Após o sequenciamento, a padronização da técnica da HRM para este SNP foi realizada com sucesso. Obtivemos uma amplificação precisa, sem reações inespecíficas e/ou dímeros de *primers*. A Figura 16-A mostra um gráfico derivado da curva de dissociação dos *amplicons*, indicando que não há produtos de amplificação inespecífica. Já na figura 16-B, é mostrado o alinhamento da curva de dissociação, onde se pode distinguir as curvas de dissociação geradas para cada genótipo. A partir da genotipagem das 13 amostras controles, obtivemos resultados congruentes com os resultados encontrados no sequenciamento.

Figura 16. Derivação e alinhamento da curva de dissociação do rs686 do gene *DRD1* ao HRM



Nota: (A) gráfico derivado da curva de dissociação ao HRM. As curvas verdes, azuis e vermelhas se referem às curvas de dissociação dos produtos de PCR da amplificação do rs686. O gráfico mostra que na temperatura de 81,5°C, 50% dos produtos de PCR foram dissociados. As barras delimitam a região de temperaturas onde ocorre a dissociação. (B) gráfico de alinhamento das curvas de dissociação. Curvas de dissociação em verde apresentam uma maior T_m e revelam o genótipo homocigoto G/G. Curvas em vermelho apresentam menor T_m e mostram a dissociação dos produtos homocigotos para o alelo A. Curvas em azul apresentam uma T_m intermediária e apontam a dissociação dos genótipos heterocigotos A/G.

Fonte: produzido pela autora utilizando o software High Resolution Melt v3.0.1 (Applied Biosystems).

3.2. Estudo de associação

3.2.1 Análises descritivas da amostra e dos parâmetros psicométricos

A amostra genotipada para o polimorfismo rs686 do gene *DRD1* é composta por 657 alunos atendendo escolas públicas de Belo Horizonte e Porto Alegre. Após a genotipagem, foram excluídas 83 crianças, por estarem cursando séries iniciais e também crianças com mais de 11 anos, totalizando 574 indivíduos analisados. As distribuições conforme sexo, idade e demais fenótipos (RAVEN, TDE aritmética, TDE ortografia, Cubos de Corsi *forward* e *backward*, MAQ-A e MAQ-B) foram similares entre as amostras de Belo Horizonte e Porto Alegre. Houve diferenças significativas em Cálculos (adição e subtração complexas), Digit spam (*backward*), MAQ-C e MAQ-D. Em todas as tarefas avaliadas, a média da amostra coletada em Porto Alegre foi mais baixa, provavelmente refletindo o nível educacional das escolas coletadas e o fato que a amostra coletada em Porto Alegre inclui apenas crianças cursando 3^a. e 4^a. séries. O polimorfismo rs686 está em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, na amostra de Porto Alegre ($X^2=0,0498ns$). Considerando-se que a exclusão da amostra de Porto Alegre iria retirar da amostra os indivíduos/escola com menor desempenho, que as variáveis de interesse (TDE aritmética e Cubos de Corsi *forward*) não apresentaram diferenças significativas entre Porto Alegre e Belo Horizonte, e que o polimorfismo rs686 está em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, os dados foram analisados conjuntamente.

A composição da amostra quanto a sexo, idade, ano escolar e classificação (diagnóstico) é apresentada na Tabela 2. Dentre os 574 alunos avaliados de 8 a 11 anos, 19% apresentaram algum tipo de dificuldade de aprendizagem na Matemática (11,7 % DAM e 7,3% DAMO).

Tabela 2. Composição da amostra

	Características	Frequência	Porcentagem %
Sexo	Feminino	320	55,7
	Masculino	254	44,3
Idade	8 anos	126	22
	9 anos	277	48,3
	10 anos	135	23,5
	11 anos	36	6,3
Ano escolar	3º ano	170	29,6
	4º ano	310	54
	5º ano	94	16,4
Classificação	DT	455	79,3
	DAM	67	11,7
	DAMO	42	7,3
	DAO	10	1,7

Nota: DT - Desenvolvimento típico; DAM - Dificuldade de aprendizagem da Matemática; DAMO - Dificuldade de aprendizagem da Matemática e da ortografia; DAO - Dificuldade de aprendizagem da ortografia.

Fonte: produzido pela autora.

Os resultados das análises descritivas dos testes psicométricos usados, em escore-Z, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados e parâmetros estatísticos dos testes psicométricos usados

		Zescore_p													
		Zescore_p	Zescore_p	Zescore_p	Zescore_p	or_anoesc	Zescore_p								
	CPM-Raven z score based on 1999 norms	or_grade_TDE_Spell	or_grade_TDE_Arith	or_anoesc_ular_Calc	or_anoesc_ular_Calc	ulos_Adic_ular_Calc	ulos_Subt_ular_Calc	plicacao_ulos_Multi	Zescore_p_ular_Calc						
		ativoDisca	mativoDis	ao_simple	racao_sim	ples_e_co	_complex	olar_MAQ	olar_MAQ	olar_MAQ	olar_MAQ	n_Forward	n_backwa	cks_Forward	ward_SPA
		o	ndo	lexa	mplexa	a	_A	_B	_C	_D	_SPAN	rd_SPAN	ard_SPAN	N	
N	Válido	574	574	574	562	562	562	540	540	538	540	504	505	494	494
	Omisso	0	0	0	12	12	12	34	34	36	34	70	69	80	80
Média		0,790	-0,001	-0,108	-0,019	0,052	0,025	0,004	0,000	-0,015	0,016	-0,091	-0,110	0,008	-0,043
Erro de média padrão		0,030	0,040	0,042	0,043	0,042	0,043	0,044	0,044	0,042	0,041	0,043	0,043	0,046	0,047
Mediana		0,859	0,152	-0,089	0,086	-0,021	-0,221	-0,005	-0,133	-0,018	-0,014	-0,115	-0,342	-0,031	-0,302
Erro Desvio		0,722	0,953	0,997	1,015	0,989	1,023	1,018	1,012	0,981	0,956	0,970	0,957	1,020	1,042
Variância		0,521	0,909	0,995	1,029	0,979	1,046	1,036	1,024	0,962	0,914	0,941	0,917	1,041	1,085
Assimetria		-0,220	-0,887	-0,082	-0,959	0,119	0,948	0,624	0,639	0,020	-0,004	0,626	0,589	0,071	-0,169
Erro de assimetria		0,102	0,102	0,102	0,103	0,103	0,103	0,105	0,105	0,105	0,105	0,109	0,109	0,110	0,110
Curtose		-0,522	0,568	0,092	1,430	-0,374	1,899	0,932	0,323	-0,606	-0,650	0,954	0,721	0,721	0,595
Erro de Curtose		0,204	0,204	0,204	0,206	0,206	0,206	0,210	0,210	0,210	0,210	0,217	0,217	0,219	0,219
Intervalo		3,582	5,051	5,859	6,936	5,945	7,713	6,040	5,721	4,462	4,477	6,543	6,042	7,101	7,152
Mínimo		-0,972	-3,253	-3,426	-4,875	-2,868	-2,129	-2,104	-1,806	-2,180	-2,210	-3,043	-2,131	-3,108	-4,103
Máximo		2,610	1,797	2,433	2,061	3,077	5,584	3,936	3,915	2,282	2,267	3,501	3,911	3,994	3,049

Fonte: Produzido pela autora

3.2.2. Normalidade da distribuição das variáveis psicométricas em estudo

As variáveis foram avaliadas quanto à distribuição. A normalidade da distribuição das variáveis psicométricas em estudo foi avaliada através do teste de Kolmogorov-Smirnov (Tabela Suplementar 1). Como vai ser avaliado o efeito do sexo, a avaliação da normalidade foi feita na amostra separada conforme o sexo. A maioria das variáveis apresentaram distribuição não normal. Consequentemente, foram usados testes não paramétricos.

3.2.3. Correlações entre as variáveis

As correlações de Spearman entre os resultados dos testes neuropsicológicos aplicados foram realizadas. Correlações significativas são geralmente moderadas a baixas. Correlações mais altas e significativas foram observadas apenas entre os escores-Z de TDE aritmética e Multiplicação ($r=0,64$, $p\leq 0,000$); Adição e subtração ($r=0,68$, $p\leq 0,000$) e MAQ-C e MAQ-D ($r=0,62$, $p\leq 0,000$). Os resultados das correlações estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados das correlações (Spearman) entre os testes usados neste estudo.

		CPM-Raven z score based on 1999 norms	Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo	Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo	Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicacao_simples_e_complexa	Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa	Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa	Zescore_por_anoescolar_MAQ_A	Zescore_por_anoescolar_MAQ_B	Zescore_por_anoescolar_MAQ_C	Zescore_por_anoescolar_MAQ_D	Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN	Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Backward_SPAN	Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN	Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Backward_SPAN
CPM-Raven z score based on 1999 norms	ró	–													
	p														
	N														
Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo	ró	0,309	–												
	p	0,000													
	N	574	574												
Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo	ró	0,304	0,540	–											
	p	0,000	0,000												
	N	574	574	574											
Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicacao_simples_e_complexa	ró	0,202	0,478	0,494	–										
	p	0,000	0,000	0,000											
	N	562	562	562	562										
Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa	ró	0,220	0,488	0,542	0,682	–									
	p	0,000	0,000	0,000	0,000										
	N	562	562	562	562	562									
Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa	ró	0,180	0,495	0,640	0,549	0,596	–								
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000									
	N	562	562	562	562	562	562								
Zescore_por_anoescolar_MAQ_A	ró	-0,138	-0,223	-0,352	-0,323	-0,366	-0,357	–							
	p	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000								
	N	540	540	540	540	540	540	540							
Zescore_por_anoescolar_MAQ_B	ró	-0,052	-0,062	-0,181	-0,141	-0,197	-0,169	0,572	–						
	p	0,227	0,153	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000							
	N	540	540	540	540	540	540	540	540						
Zescore_por_anoescolar_MAQ_C	ró	-0,017	0,059	-0,029	0,037	-0,006	-0,007	0,307	0,364	–					
	p	0,690	0,172	0,505	0,387	0,897	0,879	0,000	0,000						
	N	538	538	538	538	538	538	538	538	538					
Zescore_por_anoescolar_MAQ_D	ró	-0,058	-0,041	-0,102	-0,054	-0,049	-0,115	0,250	0,246	0,624	–				
	p	0,177	0,344	0,017	0,213	0,251	0,007	0,000	0,000	0,000					
	N	540	540	540	540	540	540	540	540	538	540				
Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN	ró	0,166	0,252	0,190	0,133	0,125	0,179	-0,036	-0,020	-0,075	-0,028	–			
	p	0,000	0,000	0,000	0,003	0,005	0,000	0,436	0,670	0,106	0,549				
	N	504	504	504	493	493	493	471	471	469	471	504			
Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Backward_SPAN	ró	0,289	0,285	0,233	0,188	0,242	0,267	-0,128	-0,066	0,016	-0,042	0,206	–		
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,154	0,729	0,366	0,000			
	N	505	505	505	494	494	494	472	472	470	472	504	505		
Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN	ró	0,248	0,161	0,202	0,123	0,168	0,148	-0,149	-0,134	-0,044	-0,024	0,127	0,153	–	
	p	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000	0,001	0,001	0,004	0,348	0,613	0,005	0,001		
	N	494	494	494	483	483	483	461	461	459	461	493	494	494	
Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Backward_SPAN	ró	0,348	0,192	0,243	0,234	0,189	0,185	-0,229	-0,103	-0,026	-0,032	0,129	0,218	0,299	–
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,571	0,492	0,004	0,000	0,000	
	N	494	494	494	483	483	483	461	461	459	461	493	494	494	494

Fonte: Produzido pela autora

3.2.4. Frequências alélicas, genotípicas e Equilíbrio de Hardy-Weinberg

As frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo rs686 são apresentadas na Tabela 5. Estas frequências não se desviaram significativamente dos esperados sob a hipótese de Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($X^2 = 0,81$; $p = 0,67$).

Tabela 5. Frequências alélicas e genotípicas, teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg

	Frequências alélicas		Frequência genotípica			HWE
	Alelo A N (%)	Alelo G N (%)	A/A N (%)	A/G N (%)	G/G N (%)	X ²
Amostra total	603 (0,5253)	545 (0,4747)	153 (26,7)	297 (51,7)	124 (21,6)	0,8068ns
Meninos	264 (0,5197)	244 (0,4803)	65 (25,6)	134 (52,8)	55 (21,6)	0,8182ns
Meninas	339 (0,5297)	301 (0,4703)	88 (27,5)	163 (50,9)	69 (21,6)	0,1599ns

Nota: Teste HWE no WPCALC (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>). ns - Não significante.

Fonte: Produzido pela autora

3.2.5. Influência dos modelos genotípicos e do sexo

Os resultados dos Testes de Comparação de Medianas, U de Mann-Whitney e/ou Teste de Kruskal-Wallis estão apresentados nas Tabelas 6 a 13, conforme sexo e modelo genotípico, para as variáveis transformadas por escore-Z para as variáveis: Raven; TDE *spelling*; TDE aritmética; Cálculos Adição, simples e complexa; Cálculos Subtração, simples e complexa; Cálculos Multiplicação, simples e complexa; MAQ-A; MAQ-B; MAQ-C e MAQ-D; *Digit Span forward*; *Digit Span Backward*; Cubos de Corsi *Forward* e Cubos de Corsi *Backward*.

Tabela 6. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo codominante

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste de Kruskal-Wallis (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,153	0,260
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,745	0,890
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,043	0,302
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,932	0,926
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,083	0,414
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,169	0,168
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,625	0,604
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,593	0,455
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,028	0,220
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,576	0,129
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,781	0,475
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,299	0,262
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,047	0,059
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,986	0,991

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 7. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo A-dominante

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste U de Mann-Whitney (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 normas são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,199a	0,132
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_ADOM	0,542a	0,643
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,021a	0,127
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,826a	0,811
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,042a	0,204
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,097a	0,078
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,427a	0,331
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,407a	0,218
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,015a	0,091
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,407a	0,043
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,591a	0,285
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,495a	0,225
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,861a	0,478
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,926a	0,904

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é 0,050.

a. Sig. Assintótica Corrigida pela Continuidade de Yates

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 8. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo G-dominante

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste U de Mann-Whitney (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,516a	0,879
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_GDOM	1,000a	0,991
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,883a	0,829
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,978a	0,825
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,880a	0,981
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,951a	0,928
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,759a	0,593
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,686a	0,546
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,983a	0,907
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,913a	0,622
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,968a	0,801
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,401a	0,488
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,022a	0,017
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,973a	0,924

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

a. Sig. Assintótica Corrigida pela Continuidade de Yates

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 9. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninos, sob o modelo heterose

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste U de Mann-Whitney (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,080a	0,169
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,706a	0,710
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,099a	0,285
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,938a	0,696
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,158a	0,307
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,197a	0,127
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,804a	0,746
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,849a	0,636
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,066a	0,202
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,478a	0,225
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,790a	0,278
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,156a	0,113
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,086a	0,134
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,975a	0,988

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

a. Sig. Assintótica Corrigida pela Continuidade de Yates

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 10. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo codominante

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste de Kruskal-Wallis (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,350	0,210
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,860	0,698
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,218	0,090
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,541	0,295
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,721	0,828
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,114	0,437
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,418	0,048
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,777	0,894
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,101	0,295
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,352	0,252
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,601	0,430
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,295	0,521
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,041	0,043
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de Polimorfismo DRD1_rs686.	0,811	0,564

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 11. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo A-dominante

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste U de Mann-Whitney (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,485a	0,640
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,713a	0,403
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,781a	0,266
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,376a	0,293
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,906a	0,642
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	1,000a	0,666
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,374a	0,017
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,659a	0,709
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,742a	0,840
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,494a	0,975
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,534a	0,444
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,208a	0,346
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,578a	0,332
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_ADOM.	0,939a	0,865

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

a. Sig. Assintótica Corrigida pela Continuidade de Yates

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 12. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo G-dominante

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste U de Mann-Whitney (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,206a	0,078
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,935a	0,688
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,179a	0,152
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,956a	0,452
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,605a	0,819
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,059a	0,314
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,753a	0,824
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,948a	0,877
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,090a	0,162
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,468a	0,119
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,807a	0,449
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,346a	0,365
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,017a	0,012
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_GDOM.	0,713a	0,342

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

a Sig. Assintótica Corrigida pela Continuidade de Yates

Fonte: Produzido pela autora.

Tabela 13. Avaliação do efeito do genótipo no rs686 no gene DRD1 em meninas, sob o modelo heterose

Variável; hipótese nula	Teste de Mediana (p)	Teste U de Mann-Whitney (p)
As medianas de CPM-Raven z score based on 1999 norms são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,658a	0,234
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Spelling_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,732a	0,742
As medianas de Zescore_por_grade_TDE_Arithmetic_normativoDiscalculia&Endo são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,123a	0,028
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Adicao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_HET.	,430a	0,124
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Subtracao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,500a	0,557
As medianas de Zescore_por_anoescolar_Calculos_Multiplicacao_simples_e_complexa são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,114a	0,208
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_A são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,262a	0,083
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_B são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,596a	0,659
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_C são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,055a	0,152
As medianas de Zescore_por_anoescolar_MAQ_D são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,185a	0,150
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,399a	0,195
As medianas de Zescore_por_IDADE_DigitSpan_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,951a	0,968
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_Forward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,118a	0,146
As medianas de Zescore_por_IDADE_CorsiBlocks_backward_SPAN são iguais nas categorias de DRD1_HET.	0,607a	0,323

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,050.

a. Sig. Assintótica Corrigida pela Continuidade de Yates.

Fonte: Produzido pela autora.

Nos meninos, foram observadas diferenças significativas sob o modelo codominante para TDE Aritmética (Testes de Medianas, $p=0,043$), MAQ-C (Teste de

Medianas $p=0,028$) e Cubos de Corsi *forward, span* (Teste de Medianas $p=0,047$). Sob o modelo A-dominante foram encontradas diferenças significativas em TDE Aritmética (Testes de Medianas, $p= 0,021$), Cálculos Subtração, simples e complexa (Testes de Medianas, $p= 0,042$) e MAQ-C (Testes de Medianas, $p= 0,015$). Já sob o modelo G-dominante diferenças significativas foram observadas em: Cubos de Corsi *forward, span* (Teste de Medianas $p=0,022$; U de Mann-Whitney $p=0,017$).

Nas meninas, foram observadas diferenças significativas sob o modelo codominante em Cubos de Corsi *forward, span* (Teste de Medianas $p=0,041$; Kruskal-Wallis $p=0,043$). Além disso, sob o modelo G-dominante, foram observadas diferenças significativas em Cubos de Corsi *forward, span* (Teste de Medianas $p=0,017$; U de Mann-Whitney $p=0,012$).

A única variável que apresentou associação significativa com o genótipo em ambos os sexos foi Cubos de Corsi *forward*. Associação significativa foi detectada tanto sob o modelo codominante quanto G-dominante. Para as análises subsequentes, foi usado o modelo G-dominante, porque foi o que apresentou os resultados mais significativos, tanto no teste de tendência central quanto nos de dispersão.

Os gráficos Q-Q das tarefas Cubos de Corsi *forward* e TDE aritmética são apresentados na Figura Suplementar 1. Observe que os desvios da normalidade são pequenos e se concentram nas extremidades das distribuições, pelo que, optou-se por avaliar efeitos de interação genótipo e sexo usando modelos baseados em ANOVA.

3.2.6. Efeitos de sexo na tarefa de Cubos de Corsi *forward*

Inicialmente, foi avaliada a associação do sexo em relação os resultados da tarefa de Cubos de Corsi *Forward* utilizando o U de Mann-Whitney. Não se detectou diferenças significativas entre os sexos quanto aos resultados na tarefa ($p=0,160$).

Considerando-se estes resultados, foram avaliadas as distribuições dos resultados na tarefa de Cubos de Corsi *forward* conforme o sexo e genótipo sob o modelo G dominante na amostra (Tabela 14). Além disso dois modelos foram testados, usando-se ANOVA:

1. Efeito de Cubos de Corsi *forward*, genótipo (modelos G-dominante) e sexo sobre o TDE aritmética.
2. Efeito sobre genótipo (Modelo G-dominante) e sexo sobre o Cubos de Corsi *forward*.

Tabela 14. Médias e desvios-padrão dos resultados na tarefa Cubos de Corsi *forward*, na amostra total e conforme o sexo, sob o modelo G-dominante

Sex	DRD1_Gdom	N	Média*	DP*
Total	A/A	131	0,062	1,074
	A/G + G/G	363	-0,012	1,001
	Total	494	0,008	1,020
Masculino	A/A	56	-0,105	1,088
	A/G + G/G	167	0,150	1,009
	Total	223	0,086	1,033
Feminino	A/A	75	0,187	1,053
	A/G + G/G	196	-0,150	0,976
	Total	271	-0,056	1,007

Nota: * = média e desvio-padrão dos valores em escore-Z por idade.

Fonte: Produzido pela autora.

3.2.7.1. Modelo 1 - Efeito de Cubos de Corsi *forward*, genótipo (modelo G-dominante) e sexo sobre o TDE aritmética

Na Tabela 15, são apresentados os resultados da análise univariada de variância.

Tabela 15. Efeitos de genótipo no modelo G-dominante, sexo e Cubos de Corsi forward sobre o TDE aritmética

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Modelo corrigido	96,329	72	1,338	1,609	0,002
Intercepto	4,216	1	4,216	5,071	0,025
Sex	0,680	1	0,68	0,818	0,366
Zage_Corsi_Forward_Span	40,214	22	1,828	2,199	0,002
DRD1_Gdom	2,086	1	2,086	2,509	0,114
Sex*Zage_Corsi_Forward_Span	15,464	18	0,856	1,033	0,420
Sex*DRD1_Gdom	1,087	1	1,087	1,307	0,254
Zage_Corsi_F_Span*DRD1_Gdom	14,557	17	0,856	1,030	0,424
Sex*Zage_Corsi_F_Span*DRD1_Gdom	12,127	12	1,011	1,216	0,269
Padrão	349,992	421	0,831		
Total	468,996	494			
Total corrigido	446,321	493			

Fonte: Produzido pela autora

Observou-se efeito significativo dos resultados na tarefa Cubos de Corsi *forward* sobre os resultados do TDE aritmética. Nenhum efeito significativo do genótipo sob o modelo G-dominante, sexo, ou das interações entre sexo * genótipo, sexo * Cubos de Corsi *forward*, e sexo * genótipo * Cubos de Corsi *forward* foi detectado.

3.2.7.2. Modelo 2 - Efeito sobre genótipo (Modelo G-dominante) e sexo sobre o Cubos de Corsi *forward*

A significância estatística desta interação foi avaliada por ANOVA univariada, tendo como variável dependente os resultados da tarefa Cubos de Corsi *forward*, e os fatores sexo e genótipo no rs686, sob o modelo G-dominante, e interação sexo e genótipo. Na Tabela 16, são mostrados os resultados desta ANOVA. O modelo da interação sexo*genótipo no rs686, sob o modelo G-dominante foi significativo ($Z=8,099$; $p=0,005$). A magnitude do efeito, medida pelo η^2 ajustado foi de 1,6%. Portanto, existe um efeito, pequeno mas significativo, do genótipo, apenas quando se considera o modelo G-dominante e a interação com o sexo. Na Figura 17, observe a interação entre genótipo, sob o modelo G-dominante, e sexo, sobre os resultados da tarefa Cubos de Corsi *forward*.

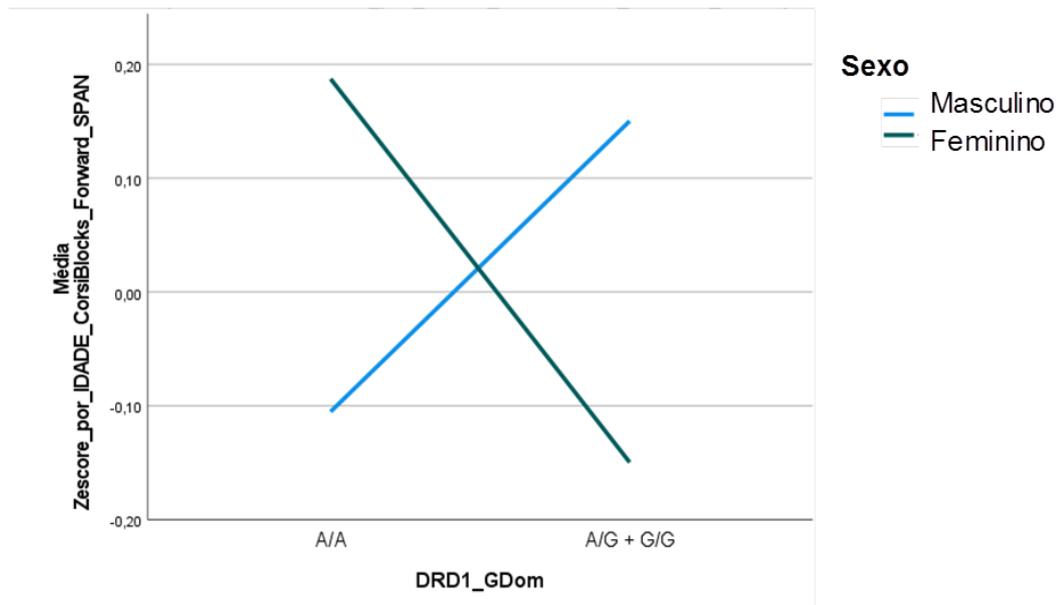
Tabela 16. Avaliação dos efeitos de sexo, genótipo sob o modelo G-dominante e sua interação sobre os resultados da tarefa Cubos de Corsi, *forward*

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.	Eta parcial quadrado
Modelo corrigido	11,371 ^a	3	3,790	3,701	0,012	0,022
Intercepto	0,163	1	0,163	0,159	0,690	0,000
Sex	0,001	1	0,001	0,001	0,972	0,000
DRD1_Gdom	0,157	1	0,157	0,153	0,695	0,000
Sex*DRD1_Gdom	8,294	1	8,294	8,099	0,005	0,016
Padrão	501,787	490	1,024			
Total	513,190	494				
Total corrigido	513,158	493				

Nota - ^a. $r^2=0,022$ (r^2 Ajustado=0,016)

Fonte: Produzido pela autora.

Figura 17. Distribuição das médias dos resultados da tarefa Cubos de Corsi *forward* conforme o genótipo no rs686, sob o modelo G-dominante.



Levando-se em consideração o sexo, o efeito do genótipo se inverte. Ou seja, meninos A/A têm desempenho pior do que os A/G+G/G, com uma diferença de cerca de 1/4 de desvio-padrão. Já, as meninas A/A têm desempenho melhor do que as A/G+G/G, também com uma diferença de cerca de 1/3 de desvio-padrão.

4. DISCUSSÃO

A DAM é um transtorno cognitivo de etiologia diversificada. Vários estudos sugerem um componente genético para esse transtorno (GEORGITSI et al., 2021; ULFARSSON et al., 2017). Muitos distúrbios neurocognitivos estão associados a disfunção da neurotransmissão dopaminérgica. A dopamina está associada ao desenvolvimento e regulação de diversos processos fisiológicos, comportamentais e cognitivos. Entre os processos associados à dopamina, está a consolidação do aprendizado, memória e emoções. Nesse âmbito, nosso grupo de pesquisa tem investigado a associação entre genes do sistema dopaminérgico e a DAM. O polimorfismo *COMT* Val158Met, que afeta os níveis de dopamina no córtex pré-frontal, foi relacionado a manifestações de ansiedade matemática e consequentemente a DAM (JULIO-COSTA, 2019). O gene da monoamina oxidase (*MAOA*), enzima que catalisa neurotransmissores no sistema nervoso central, incluindo dopamina e serotonina, também tem sido relacionado à DAM e ao baixo desempenho de MT (CARVALHO et al., 2022). No entanto, até o momento, nenhum estudo investigou a contribuição de genes dos receptores dopaminérgico para a DAM e fenótipos correlatos.

Neste contexto, investigamos a contribuição do sistema dopaminérgico para a aprendizagem da matemática, através de um estudo de associação par-a-par, com o rs686 no receptor dopaminérgico DRD1. Para este estudo, desenvolvemos um método baseado em HRM para genotipagem deste polimorfismo. Crianças (574) foram avaliadas quanto a variáveis adquiridas e inatas associadas à aquisição do conhecimento/habilidade matemática e suas dificuldades. Estas crianças foram avaliadas em suas escolas e representam a população em geral, não uma coorte de crianças com dificuldade de aprendizagem avaliadas em clínicas ou serviços especializados.

Na avaliação das frequências alélicas e genóticas do polimorfismo rs686, não houve um desvio significativo em relação aos valores esperados sob a hipótese de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, tendo como consequência que eventuais diferenças entre os grupos de genótipos não refletem distorções na estrutura genética da população.

Nos estudos de associação, foram testados modelos genotípicos (codominante, G-dominante, A-dominante e heterose). Observou-se associação entre o polimorfismo rs686 e Cubos de Corsi *forward*, sob o modelo G-dominante, com interação entre sexo e genótipo. Diferença de efeito do polimorfismo sob o modelo G-dominante conforme o sexo foi observada: meninas A/A apresentaram melhor desempenho na tarefa Cubos de Corsi *forward* do que as meninas A/G + G/G, enquanto os meninos G/A + G/G apresentaram melhor desempenho do que os meninos A/A nesta tarefa (Tabela 8; Tabela 12, Figura 17, acima).

Nesta discussão, serão abordados os seguintes tópicos: 1. o método de genotipagem desenvolvido; 2. Características gerais da amostra, que possam impactar os resultados obtidos; 3. Características das variáveis avaliadas, que possam impactar os resultados obtidos; 4. Associações observadas, efeitos de sexo e modelo genotípico, e seus significados.

4.1 Método de genotipagem desenvolvido

O polimorfismo SNP rs686 é um polimorfismo de substituição de uma adenina por uma guanina localizado na região 3' não traduzida (3'-UTR) do gene *DRD1* (HUANG et al., 2008). O alelo G está associado a uma diminuição da expressão do gene em relação ao alelo A. Esta diferença funcional é atribuída na literatura a abolição da ligação do miR-504 a 3'-UTR do gene quando na presença do alelo G (HUANG et al., 2009). Neste trabalho, desenvolvemos com sucesso um ensaio HRM para genotipar o polimorfismo rs686. Este método de genotipagem, até o presente momento, ainda não havia sido desenvolvido e usado para caracterização do polimorfismo rs686. Através do método desenvolvido conseguimos identificar os três genótipos do SNP estudado. O resultado da genotipagem das treze amostras submetidas ao sequenciamento de Sanger apresentou 100% de concordância com os resultados da Genotipagem por HRM.

Atualmente, os métodos baseados na plataforma Sequenom MassARRAY e sonda TaqMan são comumente usados para a detecção do SNP rs686. Apenas um estudo descrito recentemente utiliza um ensaio pré-definido para análise de curva de fusão de SNIp humano, o LightSNIp. Sendo assim, esta é a primeira aplicação do PCR-HRM convencional para genotipar o polimorfismo rs686. Embora estas técnicas mais descritas para análise do rs686 sejam simples e rápidas, elas têm alto custo. O

método de PCR-HRM convencional tem a vantagem de não precisar projetar sondas, não é apenas fácil de operar, mas também tem a vantagem de obter resultados rápidos a baixo custo, com alta precisão e operação de tubo fechado, que é mais adequado para aplicação clínica.

Com base nos dados divulgados da fase 3 do 1000 Genome Project, o SNP rs686 apresenta como menor alelo, na população mundial, o alelo G, exceto em populações africanas. A distribuição alélica nas populações africanas é caracterizada por ter o alelo A como o alelo menos frequente do polimorfismo rs686. Na nossa amostra, o alelo menos frequente foi o alelo G, assim como na população mundial. As frequências alélicas neste polimorfismo foram próximas ($A = 0,525$ e $G = 0,475$), o que reduz a pressão sobre o tamanho amostral, quando comparado a SNPs com *minor allele frequency* (MAF) baixa (e.g., 0,01-0,05). Além disto, o fato do Teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg não ter evidenciado diferenças em relação aos esperados reforça que diferenças entre grupos provavelmente não refletem peculiaridades da estrutura genética da população.

4.2. Características gerais da amostra, que possam impactar os resultados obtidos

Sobre a amostra, é importante salientar que foram selecionadas crianças de ambos os sexos, com idades entre 8 e 11 anos e cursando de terceira a quinta série do Ensino Fundamental. Esta escolha é importante, porque nesta faixa etária as crianças já foram expostas o suficiente à Matemática, para permitir uma avaliação de desempenho. A amostra original era composta de 657 crianças. Foram excluídas 83 crianças cursando séries iniciais, porque as tarefas usadas requerem que o indivíduo tenha sido exposto pelo menos às operações fundamentais (adição, subtração, multiplicação). Foram excluídas também crianças com mais de 11 anos, que se estão cursando a quinta série, sofreram alguma reprovação. Estes cortes podem ter levado à perda de algumas associações, mas não predispõem associações espúrias.

4.3. Características das variáveis avaliadas, que possam impactar os resultados obtidos

4.3.1 Necessidade do uso escore-z

Os resultados dos testes mostram efeitos de série escolar e de idade. Usou-se escore-z por série escolar para aquelas variáveis mais influenciadas pela escolarização (e.g., TDEs, adição, subtração, multiplicação). Para variáveis mais próximas do componente biológico da aprendizagem, usou-se escore-z por idade (e.g., RAVEN, memória de trabalho).

4.3.2 Normalidade da distribuição da variável

Os testes de normalidade sugerem que, exceto pelo TDE Aritmética, todas variáveis usadas neste estudo não tenham distribuição normal, na amostra, embora a maioria delas tenha, por pressuposto, distribuição normal na população. Parte dos desvios da normalidade é gerada pelos critérios de seleção da amostra ou por características de variáveis específicas. Por exemplo, indivíduos com resultados no RAVEN abaixo do P15 foram excluídos da amostra, em função da dificuldade de estabelecer-se diagnóstico diferencial entre inteligência abaixo de -1DP e dificuldade de aprendizagem da matemática.

Além disso, algumas variáveis apresentam características próprias do teste utilizado. A estimativa da Fração de Weber, por exemplo. Indivíduos que obtêm escores brutos superiores a 0,600 têm o resultado excluído, porque se considera que não conseguiram efetivamente realizar a tarefa.

Efeito de teto é observado em algumas variáveis, como a transcodificação, que não foi usada isoladamente neste estudo, mas é parte do critério usado para definir desenvolvimento típico e dificuldade de aprendizagem da matemática. Outras tarefas apresentam pouca variância, como Digit span *backward*, de tal forma que não detectar associações pode representar limitações impostas pelo tamanho amostral.

4.3.3 Correlações

As correlações são muito semelhantes às observadas na literatura. A maioria é de baixa à moderada, mas significativas. Correlações acima de 0,60 são observadas para variáveis que se espera que se correlacionem, e.g., Z-escore para adição e subtração.

4.4. Associações observadas, efeitos de sexo e modelo genotípico, e seus significados

Não foram detectadas diferenças nos resultados da tarefa de Cubos de Corsi *forward*, quando comparados meninos e meninas. Este resultado é semelhante ao encontrado por Voyer e colaboradores (2017), em uma meta-análise dos estudos avaliando efeito de sexo em tarefas de MT visuoespacial. Quando computados o conjunto dos estudos, existe uma diferença significativa entre os sexos, com indivíduos do sexo masculino apresentando melhor desempenho, quando consideradas todas as tarefas e idades em conjunto. Entretanto, quando considerados apenas os estudos usando Cubos de Corsi em crianças ou adolescentes (até 13 anos ou entre 13-17 anos), não houve diferenças significativas. Portanto, nosso resultado está de acordo com o reportado na literatura.

Neste trabalho, encontramos uma associação significativa do polimorfismo rs686 em ambos os sexos com os resultados da tarefa Cubos de Corsi *forward*. Esta associação significativa foi detectada sob o modelo G-dominante. Entretanto, o efeito dos genótipos foi invertido conforme o sexo, ou seja, em meninos, os genótipos A/G + G/G se associaram com pior desempenho, ao passo que em meninas estes genótipos se associaram a melhor desempenho. Ao contrário, na presença do genótipo A/A, meninas apresentaram melhor rendimento do que os meninos.

Alguns estudos já utilizaram modelos genotípicos para avaliar associações entre o rs686 e fenótipos cognitivos. Jiménez e colaboradores (2018) analisaram a associação entre sintomas depressivos e o polimorfismo rs686 em 239 jovens colombianos (76% mulheres). Os indivíduos com os genótipos A/G e G/G apresentaram mais sintomas depressivos medidos com a escala PHQ-9, quando comparados aos com o genótipo A/A (JIMÉNEZ et al., 2018).

Mileva-Seitz e colaboradores (2012) apresentaram evidências de heterose em DRD1 rs686 para o comportamento materno. No estudo, foram avaliadas 187 mães caucasianas. A variação nos comportamentos maternos foi avaliada durante uma interação mãe-bebê de 30 minutos aos seis meses pós-parto. As mães heterozigotas tendiam a desviar o olhar de seus bebês com menos frequência do que as mães homozigotas (MILEVA-SEITZ et al., 2012).

O papel da neurotransmissão dopaminérgica na modulação da função cognitiva está bem estabelecido. Estudos em animais e humanos têm demonstrado que a

função da MT é crítica na modulação dopaminérgica do circuito frontoestriatal (COOLS & D'ESPOSITO, 2009). A função ideal da MT depende de uma concentração ideal de dopamina no cérebro. A relação entre o desempenho cognitivo e os níveis de dopamina segue uma função “em forma de U invertido”, onde tanto pouca quanto muita dopamina prejudicam o desempenho (Cools & D'ESPOSITO, 2011). Outros genes são determinantes dos níveis de dopamina no córtex préfrontal, como a COMT, MAOA, DRD2, DAT1 (<https://www.genome.jp/pathway/map04728>).

No cortex pré-frontal, dois receptores de dopamina modulam as representações de memória ativa armazenadas, os receptores DRD1 e DRD2 (COHEN et al. 2002). A variabilidade dos receptores DRD1 disponíveis pode estar associada a diferenças individuais nas funções cerebrais que requerem liberação fásica de dopamina. Vários estudos têm investigado a associação do gene *DRD1* com alterações cognitivas em algumas características psiquiátricas como doença de Alzheimer, Parkinson, autismo, TDAH, jogo patológico, esquizofrenia, depressão, uso de opióides e transtorno bipolar (HOLMES et al., 2001; FERRARI et al., 2016; MARIGGIÓ et al., 2021; LOBO et al., 2007; HOENICKA et al., 2010; JIMÉNEZ et al., 2018; MOISÉS et al., 2020; SEVERINO et al., 2005). Usando dados do GTex, foi descrita uma correlação inversa da expressão no gene DRD1 no córtex pré-frontal com a idade ($r=-0,22$) (STANFILL & CAO, 2020). Entretanto, correlação positiva foi descrita em uma amostra de pacientes mais jovens (ROTHMOND et al., 2012).

A MT é parte essencial da função executiva, dependendo de neurônios pré-frontais modulados funcionalmente através da ativação dos receptores de dopamina DRD1 e DRD2. Uma relação em forma de U invertido entre a disponibilidade do receptor DRD1 pré-frontal e o desempenho no teste de MT Wisconsin Card Sorting Test, indica que tanto pouca quanto muita estimulação do receptor D1 prejudicam a MT (TAKAHASHI et al., 2012). Além disso, há evidências de que as habilidades cognitivas gerais inatas, incluindo a MT, estão relacionadas às taxas de renovação do receptor D1 no córtex pré-frontal e que um *pool* intracelular de receptores D1 imaturos está disponível para acomodar as demandas cognitivas (WASS et al., 2018).

Alguns estudos já avaliaram o impacto do DRD1 sobre a MT (WIŁKOŚĆ et al., 2010; FAZIO et al., 2018; AYABE et al., 2019). Fazio e colaboradores (2018) sugerem que uma maior expressão de *DRD1* esteja associada à menor atividade do córtex pré-frontal e a um maior desempenho em tarefas de MT. Ayabe e colaboradores (2019) acreditam que o aumento na liberação de dopamina e na sinalização do receptor D1

no hipocampo, melhora o desempenho em tarefas de MT espacial. Wiłkość e colaboradores (2010) indicam que a MT em indivíduos saudáveis podem ser modulada por genes do sistema dopaminérgicos. Além disso, estes autores sugerem que o padrão dessa influência pode ser diferente em homens e mulheres e entre indivíduos saudáveis e pacientes esquizofrênicos.

O sexo é uma variável biológica crítica não só para a memória de trabalho, mas também para muitos transtornos psiquiátricos como ansiedade, depressão e esquizofrenia, TDAH e vícios patológicos (WILLIAMS et al., 2021). Em TDAH, por exemplo, há diferenças sexuais na expressão comportamental das dificuldades. Meninos são mais hiperativos e apresentam mais dificuldades em termos de inibição da resposta motora e flexibilidade cognitiva do que as meninas (CARBONNEAU et al., 2021).

Uma combinação de fatores é responsável por essa influência do sexo no sistema dopaminérgico. Nas mulheres, a responsividade desse sistema é aumentada e isso se deve a diferenças fisiológicas como a distribuição neuroanatômica díspar de neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo, aos níveis basais aumentados de dopamina descritas neste sexo e a regulação hormonal ovariana. Além disso, um complexo sistema de fatores como por exemplo a expressão de autorreceptores dopaminérgicos pode moldar a magnitude, a disseminação regional e a duração da dopamina na sinapse (ZACHRY et al., 2021; LIU et al., 2022). Diferenças sexuais na regulação da liberação de dopamina nos terminais dopaminérgicos no corpo estriado foram identificadas. Nestes terminais, camundongos fêmeas apresentam cerca de 10% menos receptores de dopamina D1 em neurônios espinhosos médios GABAérgicos. Essa redução na expressão do receptor de dopamina, em fêmeas, pode reduzir o *feedback* de GABA nos terminais de dopamina e levar a uma maior liberação de dopamina (ZACHRY et al., 2021).

Pouco se sabe sobre os feitos específicos do sexo na função dos receptores dopaminérgicos. Alguns estudos têm investigado estes efeitos na função dos receptores DRD1. Em indivíduos com depressão, a ligação do receptor D1 é alterada, mulheres com depressão apresentam uma falta de relação potencial de ligação inter-hemisférica para o receptor dopaminérgico D1 dentro do putâmen dorsal (CANNON et al., 2009). Em pessoas com vício patológico, os homens, que apresentam uma concentração mais alta de receptores dopaminérgico D1 no núcleo accumbens em comparação com as mulheres, apresentam uma maior suscetibilidade para

desenvolver dependência. Este fato se deve ao fato dos receptores D1 excitatórios no núcleo accumbens estarem relacionados com as propriedades de reforço das substâncias viciantes (ANDERSEN et al., 1997). Juntos, esses achados indicam que existem diferenças sexuais nas respostas funcionais do receptor dopaminérgico D1, que por sua vez podem influenciar a MT espacial.

Este estudo é exploratório. Aqui identificamos diferença no efeito do genótipo, conforme o modelo genotípico e o sexo. Seria interessante a repetição deste modelo de estudo em amostras independentes.

5. CONCLUSÕES

Em conclusão, observamos que o genótipo no rs686 do gene *DRD1* afeta o desempenho em tarefa de memória de trabalho, especificamente na Cubos de Corsi *forward*. O efeito é dependente do modelo genotípico e foi invertido conforme o sexo. Meninos com os genótipos A/G + G/G apresentaram pior desempenho na tarefa de Cubos de Corsi *forward*, ao passo que em meninas estes genótipos se associaram a melhor desempenho. Na presença do genótipo A/A, observou-se o contrário, meninas apresentaram desempenho significativamente menor e meninos, significativamente maior.

6. REFERÊNCIAS ELETRÔNICAS E BIBLIOGRÁFICAS

ABI-DARGHAM, Anissa et al. Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 9, p. 3708-3719, 2002.

ANGELINI, Arrigo Leonardo et al. Manual matrizes progressivas coloridas de Raven: escala especial. São Paulo: **Centro Editor de Testes e Pesquisas em Psicologia**, 1999.

AGOSTINI, Francesca; ZOCCOLOTTI, Pierluigi; CASAGRANDE, Maria. Domain-General Cognitive Skills in Children with Mathematical Difficulties and Dyscalculia: A Systematic Review of the Literature. **Brain Sciences**, v. 12, n. 2, p. 239, 2022.

ALARCÓN, M. et al. A twin study of mathematics disability. **Journal of Learning Disabilities**, v. 30, n. 6, p. 617-623, 1997.

ANSARI, D. Effects of development and enculturation on number representation in the brain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 4, p. 278-291, 2008.

ANSARI, Daniel e cols. Ligando a atenção visual e o processamento de números no cérebro: o papel da junção temporo-parietal na comparação de números simbólicos e não simbólicos pequenos e grandes. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 19, n. 11, pág. 1845-1853, 2007.

ANSARI, Daniel et al. Neural correlates of symbolic number processing in children and adults. **Neuroreport**, v. 16, n. 16, p. 1769-1773, 2005.

ARCHIBALD, Lisa MD et al. Language, reading, and math learning profiles in an epidemiological sample of school age children. **PloS one**, v. 8, n. 10, p. e77463, 2013.

ARSALIDOU, Marie; TAYLOR, Margot J. Is $2+2=4$? Meta-analyses of brain areas needed for numbers and calculations. **Neuroimage**, v. 54, n. 3, p. 2382-2393, 2011.

AUERBACH, R. P.; KERTZ, S.; GARDINER, C. K. Predicting adolescent risky behavior engagement: The role of cognitive vulnerability and anxiety. **International Journal of Cognitive Therapy**, v. 5, n. 3, p. 300-315, 2012.

AZEVEDO R, Mudrick N, Taub M, Wortha F. Coupling between metacognition and emotions during STEM learning with advanced learning technologies: A critical analysis, implications for future research, and design of learning systems. **Teachers College Record**. 2017 Dec 1;119(13):1-8.

BADDELEY, Alan. Working memory. **Current biology**, v. 20, n. 4, p. R136-R140, 2010.

BADDELEY, Alan. Working memory: looking back and looking forward. **Nature reviews neuroscience**, v. 4, n. 10, p. 829-839, 2003.

BADDELEY, Alan. The episodic buffer: a new component of working memory?. **Trends in cognitive sciences**, v. 4, n. 11, p. 417-423, 2000.

BADDELEY, Alan D.; HITCH, Graham. Working memory. In: Psychology of learning and motivation. **Academic press**, 1974. p. 47-89.

BADIAN, N. A.; GHUBLIKIAN, M. The personal-social characteristics of children with poor mathematical computation skills. **Journal of Learning Disabilities**, v. 16, n. 3, p. 154-157, 1983.

BAKER, Travis E. et al. Modulation of orbitofrontal-striatal reward activity by dopaminergic functional polymorphisms contributes to a predisposition to alcohol misuse in early adolescence. **Psychological medicine**, v. 49, n. 5, p. 801-810, 2019.

BARBARESI, William J. et al. Math learning disorder: Incidence in a population- based birth cohort, 1976–82, Rochester, **Minn. Ambulatory Pediatrics**, v. 5, n. 5, p. 281-289, 2005.

BARON-COHEN, S. et al. A genome wide association study of mathematical ability reveals an

association at chromosome 3q29, a locus associated with autism and learning difficulties: a preliminary study. **PLoS One**, v. 9, n. 5, p. e96374, 2014.

BASTOS, José Alexandre et al. The prevalence of developmental dyscalculia in Brazilian public school system. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 74, n. 3, p. 201-206, 2016.

BATEL, Philippe et al. A haplotype of the DRD1 gene is associated with alcohol dependence. Alcoholism: **Clinical and Experimental Research**, v. 32, n. 4, p.567-572, 2008.

BENAVIDES-VARELA, Silvia et al. Numerical activities and information learned at home link to the exact numeracy skills in 5–6 years-old children. **Frontiers in psychology**, v. 7, p. 94, 2016.

BERGSON, Clare et al. Regional, cellular, and subcellular variations in the distribution of D1 and D5 dopamine receptors in primate brain. **Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 12, p. 7821-7836, 1995.

BERTELETTI, I.; PRADO, J.; BOOTH, J. R. Children with mathematical learning disability fail in recruiting verbal and numerical brain regions when solving simple multiplication problems. **Cortex**, v. 57, p. 143-155, 2014.

BEU, N. D.; BURNS, N. R.; BAETU, Irina. Polymorphisms in dopaminergic genes predict proactive inhibition in a Go/No-Go task. 2017.

BIBB, James A. et al. Phosphorylation of DARPP-32 by Cdk5 modulates dopamine signalling in neurons. **Nature**, v. 402, n. 6762, p. 669, 1999.

BORDIN, Isabel A. et al. Child Behavior Checklist (CBCL), Youth Self-Report (YSR) and Teacher's Report Form (TRF): an overview of the development of the original and Brazilian versions. **Cadernos de saúde pública**, v. 29, p. 13-28, 2013.

BULL, Rebecca; ESPY, Kimberly Andrews; WIEBE, Sandra A. Short-term memory, working memory, and executive functioning in preschoolers: Longitudinal predictors of mathematical achievement at age 7 years. **Developmental neuropsychology**, v. 33, n. 3, p. 205-228, 2008.

BULTHÉ, Jessica et al. Multi-method brain imaging reveals impaired representations of number as well as altered connectivity in adults with dyscalculia. **NeuroImage**, v. 190, p. 289-302, 2019.

BUTTERWORTH, B. Foundational numerical capacities and the origins of dyscalculia. **Trends Cogn Sci**, v. 14, n. 12, p. 534-41, Dec 2010.

BUTTERWORTH, B. The development of arithmetical abilities. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 46, n. 1, p. 3-18, 2005

BUTTERWORTH, B.; VARMA, S.; LAURILLARD, D. Dyscalculia: from brain to education. **Science**, v. 332, n. 6033, p. 1049-1053, 2011.

BUTTERWORTH, Brian; KOVAS, Yulia. Understanding neurocognitive developmental disorders can improve education for all. **Science**, v. 340, n. 6130, p. 300-305, 2013.

BYNNER, J.; PARSONS, S. Does numeracy matter more?, 2006.

CALLIER, Sophie et al. Evolution and cell biology of dopamine receptors in vertebrates. **Biology of the Cell**, v. 95, n. 7, p. 489-502, 2003.

CAPPELLETTI, Marinella; PRICE, Cathy J. Residual number processing in dyscalculia. **NeuroImage: Clinical**, v. 4, p. 18-28, 2014.

CÁRDENAS, Sonia Y. et al. Arithmetic processing in children with dyscalculia: an event-related potential study. **PeerJ**, v. 9, p. e10489, 2021.

CARVALHO MRS, Barbosa de Carvalho AH, Paiva GM, Andrade Jorge CC, Dos Santos FC, Koltermann G, de Salles JF, Moeller K, Maia de Oliveira Wood G, Haase VG. MAOA-LPR polymorphism and math anxiety: A marker of genetic susceptibility to social influences in girls? **Ann N Y Acad Sci**. 2022 Jun 28. doi: 10.1111/nyas.14814.

CARVALHO, M.R.S., Haase, V.G. (2019). Genetics of Dyscalculia 1: In Search of Genes. In: Fritz, A., Haase, V., Räsänen, P. (eds) *International Handbook of Mathematical Learning Difficulties*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97148-3_21

CARVALHO, M.R.S., Haase, V.G. (2019). Genetics of Dyscalculia 2: In Search of Endophenotypes. In: Fritz, A., Haase, V., Räsänen, P. (eds) *International Handbook of Mathematical Learning Difficulties*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97148-3_22.

CARVALHO, M. R. et al. Are 22q11.2 distal deletions associated with math difficulties? *American Journal of Medical Genetics Part A*, v. 164A, n. 9, p. 2256-62, Sep 2014.

CHAKRAVARTHY, Srinivasa et al. As muitas facetas da dopamina: em direção a uma teoria integrativa do papel da dopamina no gerenciamento dos recursos energéticos do corpo. *Fisiologia e comportamento*, v. 195, p. 128-141, 2018.

CHEN, Huan et al. A genome-wide association study identifies genetic variants associated with mathematics ability. *Scientific reports*, v. 7, p. 40365, 2017.

CHENG, Dazhi et al. Dyscalculia and dyslexia in Chinese children with idiopathic epilepsy: different patterns of prevalence, comorbidity and gender differences. *Epilepsia Open*, 2022.

CHOCHON, F. et al. Differential contributions of the left and right inferior parietal lobules to number processing. *Journal of cognitive neuroscience*, v. 11, n. 6, p. 617-630, 1999

CHOI, Su-Yeon et al. Post-transcriptional regulation of SHANK3 expression by microRNAs related to multiple neuropsychiatric disorders. *Molecular brain*, v. 8, n. 1, p. 74, 2015.

COSTA, Annelise Júlio et al. A hand full of numbers: a role for offloading in arithmetics learning?. *Frontiers in psychology*, v. 2, p. 368, 2011.

DAVIS, Oliver SP et al. The correlation between reading and mathematics ability at age twelve has a substantial genetic component. *Nature Communications*, v. 5, p. 4204, 2014.

DEARRY, Alien et al. Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature*, v. 347, n. 6288, p. 72, 1990.

D'ESPOSITO M, Postle BR. The cognitive neuroscience of working memory. *Annu Rev Psychol*. 2015 Jan 3;66:115-42. doi: 10.1146/annurev-psych-010814-015031. Epub 2014 Sep 19. PMID: 25251486; PMCID: PMC4374359.

D'ESPOSITO, Maurizio et al. A synaptobrevin-like gene in the Xq28 pseudoautosomal region undergoes X inactivation. *Nature genetics*, v. 13, n. 2, p. 227, 1996.

DE FIGUEIREDO, Vera LM; DO NASCIMENTO, Elizabeth. Performances in the forward and backward digit span in the WISC-III and WAIS-III/Desempenhos nas duas tarefas do subteste dígitos do WISC-III e do WAIS-III. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, v. 23, n. 3, p. 313-319, 2007.

DE SALLES, Jerusa Fumagalli et al. Normas de desempenho em tarefa de leitura de palavras/pseudopalavras isoladas (LPI) para crianças de 1º ano a 7º ano. *Estudos e Pesquisas em Psicologia*, v. 13, n. 2, p. 397-419, 2013.

DE SMEDT, B. et al. Mathematical learning disabilities in children with 22q11.2 deletion syndrome: a review. *Developmental Disabilities Research Reviews*, v. 15, n. 1, p. 4-10, 2009.

DEHAENE, S. *The number sense*. New York: Oxford University Press, 1997

DEHAENE, Stanislas et al. Symbols and quantities in parietal cortex: Elements of a mathematical theory of number representation and manipulation. *Sensorimotor foundations of higher cognition*, v. 22, p. 527-574, 2007.

DEHAENE, Stanislas. Varieties of numerical abilities. *Cognition*, v. 44, n. 1-2, p. 1-42, 1992.

DESJARDINS, Philippe; CONKLIN, Deborah. NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids.

Journal of visualized experiments: **JoVE**, n. 45, 2010.

DIRKS, Evelien et al. Prevalence of combined reading and arithmetic disabilities. **Journal of Learning Disabilities**, v. 41, n. 5, p. 460-473, 2008.

DOCHERTY, S. J. et al. A genome-wide association study identifies multiple loci associated with mathematics ability and disability. **Genes Brain Behav**, v. 9, n. 2, p. 234-47, Mar 1 2010.

DOWKER, A.; BENNETT, K.; SMITH, L. Attitudes to Mathematics in Primary School Children. **Child Development Research**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

DREHER, Jakub K.; JACKSON, David M. Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of rats. **Brain research**, v. 487, n. 2, p. 267-277, 1989.

EFKLIDES A. Interactions of metacognition with motivation and affect in self-regulated learning: The MASRL model. **Educational psychologist**. 2011 Jan 26;46(1):6-25.

EISENHOFER, Graeme; GOLDSTEIN, David S. Peripheral dopamine systems. In: **Primer on the Autonomic Nervous System**. Academic Press, 2004. p. 176-177.

EMERSON, Robert W.; CANTLON, Jessica F. Continuity and change in children's longitudinal neural responses to numbers. **Developmental science**, v. 18, n. 2, p. 314-326, 2015.

ENGLISH, Lianne H. et al. Mathematical development in spina bifida. **Developmental disabilities research reviews**, v. 15, n. 1, p. 28-34, 2009.

FEDOSOVA, Anna et al. Genetic markers as risk factors for the development of impulsive-compulsive behaviors in patients with Parkinson's disease receiving dopaminergic therapy. **Journal of Personalized Medicine**, v. 11, n. 12, p. 1321, 2021.

FIAS, W. et al. Processing of abstract ordinal knowledge in the horizontal segment of the intraparietal sulcus. **J Neurosci**, v. 27, n. 33, p. 8952-6, Aug 15 2007.

FURMAN DJ, Zhang Z, Chatham CH, Good M, Badre D, Hsu M, Kayser AS. Augmenting Frontal Dopamine Tone Enhances Maintenance over Gating Processes in Working Memory. **J Cogn Neurosci**. 2021 Aug 1;33(9):1753-1765. doi: 10.1162/jocn_a_01641. PMID: 33054556; PMCID: PMC8647935.

GATHERCOLE, Susan E. et al. Working memory skills and educational attainment: Evidence from national curriculum assessments at 7 and 14 years of age. **Applied Cognitive Psychology: The Official Journal of the Society for Applied Research in Memory and Cognition**, v. 18, n. 1, p. 1-16, 2004.

GEARY, David C. Mathematical disabilities: Reflections on cognitive, neuropsychological, and genetic components. **Learning and individual differences**, v. 20, n. 2, p. 130-133, 2010.

GEARY, David C.; HOARD, Mary K. Learning disabilities in arithmetic and mathematics. **Handbook of mathematical cognition**, p. 253-268, 2005.

GEORGITSI, Marianthi et al. The polygenic nature and complex genetic architecture of specific learning disorder. **Brain Sciences**, v. 11, n. 5, p. 631, 2021.

GOLDMAN-RAKIC, P. S.; CASTNER, S.; WILLIAMS, G. 204. Clinical implications of the inverted U-shaped curve relating D1 stimulation and behavior. **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 8, p. S62, 2000.

GOLDMAN-RAKIC, Patricia S.; MULY III, E. Christopher; WILLIAMS, Graham V. D1 receptors in prefrontal cells and circuits. **Brain Research Reviews**, 2000.

GOMIDES, Mariuche Rodrigues de Almeida et al. The quandary of diagnosing mathematical difficulties in a generally low performing population. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 15, p. 267-274, 2021.

GRANT, Jeremy G.; SIEGEL, Linda S.; D'ANGIULLI, Amedeo. From Schools to Scans: A Neuroeducational Approach to Comorbid Math and Reading Disabilities. **Frontiers in Public Health**, p. 469, 2020.

- GROSS-TSUR, V.; MANOR, O.; SHALEV, R. S. Developmental dyscalculia: Prevalence and demographic features. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 38, n. 1, p. 25-33, 1996.
- GROSS-TSUR, V.; MANOR, O.; SHALEV, R. S. Developmental dyscalculia: Prevalence and demographic features. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 38, n. 1, p. 25-33, 1996.
- HAASE, Vitor Geraldi et al. Discalculia e dislexia: semelhança epidemiológica e diversidade de mecanismos neurocognitivos. **Dislexia: novos temas, novas perspectivas**, p. 257-282, 2011.
- HAASE, Vitor Geraldi et al. Math self-assessment, but not negative feelings, predicts mathematics performance of elementary school children. **Child Development Research**, v. 2012, 2012.
- HALBERDA, Justin; FEIGENSON, Lisa. Developmental change in the acuity of the "Number Sense": The Approximate Number System in 3-, 4-, 5-, and 6-year-olds and adults. **Developmental psychology**, v. 44, n. 5, p. 1457, 2008.
- HEMBREE, R. The nature, effects, and relief of mathematics anxiety. **Journal for research in mathematics education**, p. 33-46, 1990.
- HETTINGER, Joe A. et al. A DRD1 haplotype is associated with risk for autism spectrum disorders in male-only affected sib-pair families. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 147, n. 5, p. 628-636, 2008.
- HOLLAR, D.; MOORE, D. Relationship of substance use by students with disabilities to long-term educational, employment, and social outcomes. **Substance use & misuse**, v. 39, n. 6, p. 931-962, 2004.
- HUANG, Weihua et al. Significant association of DRD1 with nicotine dependence. **Human genetics**, v. 123, n. 2, p. 133-140, 2008.
- HUANG, Weihua; LI, Ming D. Differential allelic expression of dopamine D1 receptor gene (DRD1) is modulated by microRNA miR-504. **Biological psychiatry**, v. 65, n. 8, p. 702-705, 2009.
- HURLEY, M. J.; JENNER, P. What has been learnt from study of dopamine receptors in Parkinson's disease?. **Pharmacology & therapeutics**, v. 111, n. 3, p. 715-728, 2006.
- HYDE, Daniel C. et al. A espectroscopia no infravermelho próximo mostra especialização parietal direita para número em bebês pré-verbais. **Neuroimagem**, v. 53, n. 2, pág. 647-652, 2010.
- ISAACS, E. et al. Calculation difficulties in children of very low birthweight. **Brain**, v. 124, n. 9, p. 1701-1707, 2001.
- IUCULANO, Teresa et al. Cognitive tutoring induces widespread neuroplasticity and remediates brain function in children with mathematical learning disabilities. **Nature communications**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2015.
- JENNI, Nicole L.; LARKIN, Joshua D.; FLORESCO, Stan B. Prefrontal dopamine D1 and D2 receptors regulate dissociable aspects of decision making via distinct ventral striatal and amygdalar circuits. **Journal of Neuroscience**, v. 37, n. 26, p. 6200-6213, 2017.
- JIMÉNEZ, Karen M.; PEREIRA-MORALES, Angela J.; FORERO, Diego A. A functional polymorphism in the DRD1 gene, that modulates its regulation by miR-504, is associated with depressive symptoms. **Psychiatry investigation**, v. 15, n. 4, p. 402, 2018.
- JONES, Douglas C.; MILLER, Gary W. The effects of environmental neurotoxicants on the dopaminergic system: A possible role in drug addiction. **Biochemical pharmacology**, v. 76, n. 5, p. 569-581, 2008.
- JORDAN, Nancy C.; HANICH, Laurie B.; KAPLAN, David. A longitudinal study of mathematical competencies in children with specific mathematics difficulties versus children with comorbid mathematics and reading difficulties. **Child development**, v. 74, n. 3, p. 834-850, 2003.
- JORGE, C.C.A. Contribuição das microdeleções e microduplicações subteloméricas para o fenótipo Dificuldade de Aprendizagem na Matemática. **Dissertação (Mestrado em Genética) – Instituto de**

Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

JUSTI, Cláudia Nascimento Guaraldo; ROAZZI, Antonio. A contribuição de variáveis cognitivas para a leitura e a escrita no português brasileiro. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, v. 25, p. 605-614, 2012.

KANZAFAROVA, R. F.; KAZANTSEVA, A. V.; KHUSNUTDINOVA, E. K. Genetic and environmental aspects of mathematical disabilities. **Russian Journal of Genetics**, v. 51, n. 3, p. 223-230, 2015.

KARSENTY, R. (2014) 'Mathematical Ability', in Lerman, S. (eds) **Encyclopedia of Mathematics Education**. Dordrecht: Springer, pp. 372 – 375.

KARIPIDIS, Iliana I.; HONG, David S. Specific learning disorders in sex chromosome aneuploidies: Neural circuits of literacy and mathematics. In: **American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics**. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2020. p. 518-530.

KAUFMANN, L.; KUCIAN, K.; VON ASTER, M. Development of the numerical brain. In: (Ed.). **The Oxford Handbook of Numerical Cognition**, 2014.

KAUFMANN, L.; PIXNER, S.; GÖBEL, S. M. Finger usage and arithmetic in adults with math difficulties: evidence from a case report. **Handy numbers: finger counting and numerical cognition**, p. 53, 2011.

KESSELS, Roy PC et al. The Corsi block-tapping task: standardization and normative data. **Applied neuropsychology**, v. 7, n. 4, p. 252-258, 2000.

KODITUWAKKU, P. W. A neurodevelopmental framework for the development of interventions for children with fetal alcohol spectrum disorders. **Alcohol**, v. 44, n. 7-8, p. 717-28, Nov-Dec 2010.

KOFFARNUS, Mikhail N. et al. Effects of selective dopaminergic compounds on a delay discounting task. **Behavioural pharmacology**, v. 22, n. 4, p. 300, 2011.

KOPERA-FRYE, K.; DEHAENE, S.; STREISSGUTH, A. P. Impairments of number processing induced by prenatal alcohol exposure. **Neuropsychologia**, v. 34, n. 12, p. 1187-1196, 1996.

KOVAS, Yulia et al. Overlap and specificity of genetic and environmental influences on mathematics and reading disability in 10-year-old twins. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 48, n. 9, p. 914-922, 2007.

KUCIAN, K.; VON ASTER, M. Developmental dyscalculia. **European journal of pediatrics**, v. 174, n. 1, p. 1-13, 2015.

KUCIAN, Karin et al. Treinamento da linha numérica mental em crianças com discalculia do desenvolvimento. **NeuroImage**, v. 57, n. 3, pág. 782-795, 2011.

KUCIAN, Karin et al. Development of neural networks for exact and approximate calculation: A fMRI study. **Developmental neuropsychology**, v. 33, n. 4, p. 447-473, 2008.

KUCIAN, K. et al. Impaired neural networks for approximate calculation in dyscalculic children: a functional MRI study. **Behav Brain Funct**, v. 2, p. 31, 2006.

LEDONNE, Ada; MERCURI, Nicola B. Current concepts on the physiopathological relevance of dopaminergic receptors. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 11, p. 27, 2017.

LEE, Sang-Hyeon; MINOWA, Mari T. and MOURADIAN, M. Maral. Two distinct promoters drive transcription of the human D1A dopamine receptor gene. **Journal of Biological Chemistry**, 271.41 p. 25292-25299, 1996.

LEWIS, C.; HITCH, G. J.; WALKER, P. The prevalence of specific arithmetic difficulties and specific reading difficulties in 9-to 10-year-old boys and girls. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 35, n. 2, p. 283-292, 1994.

LIS, John T.; SCHLEIF, Robert. Size fractionation of double-stranded DNA by precipitation with polyethylene glycol. **Nucleic acids research**, v. 2, n. 3, p. 383-390, 1975.

LUCA, P. et al. Association of the dopamine receptor D1 gene, DRD1, with inattention symptoms in families selected for reading problems. **Molecular psychiatry**, v. 12, n. 8, p. 776-785, 2007.

LUDWIG, K. U. et al. A common variant in myosin-18B contributes to mathematical abilities in children with dyslexia and intraparietal sulcus variability in adults. **Transl Psychiatry**, v. 3, p. e229, Feb 19 2013.

MARGARI, Lucia et al. Neuropsychopathological comorbidities in learning disorders. **BMC neurology**, v. 13, n. 1, p. 198, 2013.

MARTINS, Aline A.S.. Frequências alélicas na repetição CGG do gene FMR1 em indivíduos com desenvolvimento típico e dificuldade de aprendizagem da matemática. **Dissertação (Mestrado em Genética) – Instituto de Ciências Biológicas**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MARTINS, Aline A.S.. Contribuição de mutações expansivas no gene FMR1 e de polimorfismos nos genes COMT e DAT1 para Memória de Trabalho, Dificuldade de aprendizagem da Matemática e ansiedade matemática. **Tese (Doutorado em genética) – Instituto de Ciências Biológicas**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

MARTINS, AAS, Paiva GM, Matosinho CGR, Coser EM, Fonseca PAS, Haase VG, Carvalho MRS. Working memory and arithmetic impairments in children with FMR1 premutation and gray zone alleles. **Dement Neuropsychol**. 2022 Jan-Mar;16(1):105-114. doi: 10.1590/1980-5764-DN-2021-0035. PMID: 35719251; PMCID: PMC9170264.

MATTOS, Paulo et al. Apresentação de uma versão em português para uso no Brasil do instrumento MTA-SNAP-IV de avaliação de sintomas de transtorno do déficit de atenção/hiperatividade e sintomas de transtorno desafiador e de oposição. **Revista de psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 28, p. 290-297, 2006.

MAZZOCCO, M. M.; MYERS, G. F. Complexities in Identifying and Defining Mathematics Learning Disability in the Primary School-Age Years. **Ann Dyslexia**, v. 53, n. 1, p. 218-253, Jan 1 2003.

MAZZOCCO, M. M.; THOMPSON, R. E. Kindergarten predictors of math learning disability. **Learning Disabilities Research & Practice**, v. 20, n. 3, p. 142-155, 2005.

MAZZOCCO, Michèle MM. Mathematical learning disability in girls with Turner syndrome: a challenge to defining MLD and its subtypes. **Developmental disabilities research reviews**, v. 15, n. 1, p. 35-44, 2009.

MAZZOCCO, Michèle MM; RÄSÄNEN, Pekka. Contribuições de estudos longitudinais para a evolução das definições e conhecimento da discalculia do desenvolvimento. **Tendências em Neurociências e Educação**, v. 2, n. 2, p. 65- 73, 2013.

MCCASKEY, Ursina et al. Persistent differences in brain structure in developmental dyscalculia: a longitudinal morphometry study. **Frontiers in human neuroscience**, p. 272, 2020.

MÉNDEZ-DÍAZ, Mónica et al. Neurobiología de las adicciones. **Revista de la Facultad de Medicina UNAM**, v. 60, n. 1, p. 6-16, 2017.

MEYER, Merle E.; SHULTS, Jonathan M. Dopamine D1 receptor family agonists, SK&F38393, SK&F77434, and SK&F82958, differentially affect locomotor activities in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 46, n. 2, p. 269-274, 1993.

MICHELS, Lars; BUECHLER, Roman; KUCIAN, Karin. Increased structural covariance in brain regions for number processing and memory in children with developmental dyscalculia. **Journal of neuroscience research**, v. 100, n. 2, p. 522-536, 2022.

MICHELS, Lars; O’GORMAN, Ruth; KUCIAN, Karin. Functional hyperconnectivity vanishes in children with developmental dyscalculia after numerical intervention. **Developmental Cognitive Neuroscience**, v. 30, p. 291-303, 2018.

MILEVA-SEITZ, V. et al. Dopamine receptors D1 and D2 are related to observed maternal behavior.

Genes, Brain and Behavior, v. 11, n. 6, p. 684-694, 2012.

MILLER, S. P.; MERCER, C. D. Educational Aspects of Mathematics Disabilities. **Journal of Learning Disabilities**, v. 30, n. 1, p. 47-56, 1997.

MIRANDA, M. As bases genéticas da dificuldade de aprendizagem da Matemática. Dissertação (Mestrado em Genética) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

MISENER, V. L. et al. Linkage of the dopamine receptor D1 gene to attention-deficit/hyperactivity disorder. **Molecular psychiatry**, v. 9, n. 5, p. 500-509, 2004.

MISSALE, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological reviews**, v. 78, n. 1, p. 189-225, 1998.

MOORE, Bartlett D. Potential influences on mathematical difficulties in children and adolescents with neurofibromatosis, type 1. **Developmental disabilities research reviews**, v. 15, n. 1, p. 45-51, 2009.

MOSES, Tabitha EH; BURMEISTER, Margit; GREENWALD, Mark K. Heroin delay discounting and impulsivity: Modulation by DRD1 genetic variation. **Addiction biology**, v. 25, n. 3, p. e12777, 2020.

MOURA, Ricardo et al. From “five” to 5 for 5 minutes: Arabic number transcoding as a short, specific, and sensitive screening tool for mathematics learning difficulties. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v. 30, n. 1, p. 88-98, 2014.

MOURA, Ricardo et al. Transcoding abilities in typical and atypical mathematics achievers: the role of working memory and procedural and lexical competencies. **Journal of experimental child psychology**, v. 116, n. 3, p. 707-727, 2013.

MPOULIMARI, Ioanna; ZINTZARAS, Elias. Synthesis of genetic association studies on autism spectrum disorders using a genetic model-free approach. **Psychiatric Genetics**, v. 32, n. 3, p. 91-104, 2022.

MURPHY, Melissa M. et al. Cognitive characteristics of children with mathematics learning disability (MLD) vary as a function of the cutoff criterion used to define MLD. **Journal of learning disabilities**, v. 40, n. 5, p. 458-478, 2007.

MURPHY, M. M. A review of mathematical learning disabilities in children with fragile X syndrome. **Dev Disabil Res Rev**, v. 15, n. 1, p. 21-7, 2009.

NGUYEN-LOUIE, T. T. et al. Drinkers' memory bias for alcohol picture cues in explicit and implicit memory tasks. **Drug and alcohol dependence**, v. 160, p. 90-96, 2016.

NIEDER, A.; FREEDMAN, D. J.; MILLER, E. K. Representation of the quantity of visual items in the primate prefrontal cortex. *Science*, v. 297, n. 5587, p. 17081711, 2002.

NIEDER, Andreas. Coding of abstract quantity by ‘number neurons’ of the primate brain. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 199, n. 1, p. 1-16, 2013.

OADES, Robert D. et al. The influence of serotonin-and other genes on impulsive behavioral aggression and cognitive impulsivity in children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Findings from a family-based association test (FBAT) analysis. **Behavioral and Brain Functions**, v. 4, n. 1, p. 48, 2008.

ODIC, Darko; STARR, Ariel. An introduction to the approximate number system. **Child Development Perspectives**, v. 12, n. 4, p. 223-229, 2018.

O'HEARN, Kirsten; LUNA, Beatriz. Mathematical skills in Williams syndrome: Insight into the importance of underlying representations. **Developmental disabilities research reviews**, v. 15, n. 1, p. 11-20, 2009.

PANDEY, Pratima; MERSHA, Mahlet D.; DHILLON, Harbinder S. A synergistic approach towards understanding the functional significance of dopamine receptor interactions. **Journal of Molecular Signaling**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2013.

- PARSONS, S.; BYNNER, J. Numeracy and employment. **Education+ Training**, v. 39, n. 2, p. 43-51, 1997.
- PARSONS, Samantha; BYNNER, John. Does numeracy matter more?. **Natl Res Dev Cent Adult Lit Numer**, p.1-37, 2005.
- PASSOLUNGI, M. C. et al. Mathematics Anxiety, Working Memory, and Mathematics Performance in Secondary-School Children. **Frontiers in psychology**, v. 7, 2016
- PATTIJ, Tommy; SCHETTERS, Dustin; SCHOFFELMEER, Anton NM. Dopaminergic modulation of impulsive decision making in the rat insular cortex. **Behavioural brain research**, v. 270, p. 118-124, 2014.
- PEARD, R. Dyscalculia: What is its prevalence? **Research evidence from case studies. Procedia - Social and Behavioral Sciences**, v. 8, p. 106-113, 2010.
- PETERS, Lien; ANSARI, Daniel. Are specific learning disorders truly specific, and are they disorders?. **Trends in Neuroscience and Education**, v. 17, p. 100115, 2019.
- PETERS, Lien; DE BEECK, Hans Op; DE SMEDT, Bert. Cognitive correlates of dyslexia, dyscalculia and comorbid dyslexia/dyscalculia: Effects of numerical magnitude processing and phonological processing. **Research in Developmental Disabilities**, v. 107, p. 103806, 2020.
- PETTIGREW, Kerry A. et al. Lack of replication for the myosin-18B association with mathematical ability in independent cohorts. *Genes*, **Brain and Behavior**, v. 14, n. 4, p. 369-376, 2015.
- PIAZZA, Manuela et al. Developmental trajectory of number acuity reveals a severe impairment in developmental dyscalculia. **Cognition**, v. 116, n. 1, p. 33-41, 2010.
- PIAZZA, Manuela. Neurocognitive start-up tools for symbolic number representations. **Space, time and number in the brain**, p. 267-285, 2011.
- PINHEIRO-CHAGAS, Pedro et al. In how many ways is the approximate number system associated with exact calculation?. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e111155, 2014.
- POOLE, Janet L. et al. Measuring dexterity in children using the Nine-hole Peg Test. **Journal of Hand Therapy**, v. 18, n. 3, p. 348-351, 2005.
- QIAN, Jun et al. Rapid detection of JAK2 V617F mutation using high-resolution melting analysis with LightScanner platform. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, n. 23-24, p. 2097-2100, 2010.
- RANGEL-BARAJAS, Claudia; CORONEL, Israel; FLORÁN, Benjamín. Dopamine receptors and neurodegeneration. **Aging and disease**, v. 6, n. 5, p. 349, 2015.
- RIVERA-BATIZ, Francisco L. Quantitative literacy and the likelihood of employment among young adults in the United States. *Journal of Human Resources*, p. 313-328, 1992.
- ROTHMOND DA, Weickert CS, Webster MJ. Developmental changes in human dopamine neurotransmission: cortical receptors and terminators. **BMC Neurosci**. 2012 Feb 15;13:18. doi: 10.1186/1471-2202-13-18.
- ROTZER, S. et al. Optimized voxel-based morphometry in children with developmental dyscalculia. **Neuroimage**, v. 39, n. 1, p. 417-22, 2008.
- ROTZER, Stephanie et al. Dysfunctional neural network of spatial working memory contributes to developmental dyscalculia. **Neuropsychologia**, v. 47, n. 13, p. 2859-2865, 2009.
- RUBINSTEN, O.; HENIK, A. Developmental dyscalculia: heterogeneity might not mean different mechanisms. **Trends Cogn Sci**, v. 13, n. 2, p. 92-9, 2009.
- RUEDA, F. J. M. et al. WISC-IV: Escala Wechsler de Inteligência para crianças. **São Paulo: Casa do Psicólogo**, 2013.

RUZILAWATI, Abu Bakar et al. Smoking Genes: A Case–Control Study of Dopamine Transporter Gene (SLC6A3) and Dopamine Receptor Genes (DRD1, DRD2 and DRD3) Polymorphisms and Smoking Behaviour in a Malay Male Cohort. **Biomolecules**, v. 10, n. 12, p. 1633, 2020.

RYKHLEVSKAIA, E. et al. Neuroanatomical correlates of developmental dyscalculia: combined evidence from morphometry and tractography. **The developing human brain**, v. 172, 2009.

SALAZAR, G. C. Contribuição das microdeleções/microduplicações intersticiais para o fenótipo de dificuldade de aprendizagem na matemática. **Dissertação (Mestrado em Genética) – Instituto de Ciências Biológicas**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

SANTOS, F. H. et al. Cross-cultural differences for three visual memory tasks in Brazilian children. **Perceptual and motor skills**, v. 101, n. 2, p. 421-433, 2005.

SARIÑANA, Joshua et al. Differential roles of the dopamine 1-class receptors, D1R and D5R, in hippocampal dependent memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 22, p. 8245-8250, 2014.

SAWAGUCHI, Toshiyuki; GOLDMAN-RAKIC, Patricia S. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. **Science**, v. 251, n. 4996, p. 947-950, 1991.

SCHLEGER, Franziska et al. Magnetoencephalographic signatures of numerosity discrimination in fetuses and neonates. **Developmental neuropsychology**, v. 39, n. 4, p. 316-329, 2014

SHALEV, R. S. et al. Developmental dyscalculia: prevalence and prognosis. **European child & adolescent psychiatry**, v. 9, n. 2, p. S58-S64, 2000.

SHALEV, Ruth S. et al. Developmental dyscalculia is a familial learning disability. **Journal of learning disabilities**, v. 34, n. 1, p. 59-65, 2001.

SHALEV, Ruth S. et al. Persistence of developmental dyscalculia: What counts? Results from a 3-year prospective follow-up study. **The journal of Pediatrics**, v. 133, n. 3, p. 358-362, 1998.

SHALEV, Ruth S.; GROSS-TSUR, Varda. Developmental dyscalculia. *Pediatric neurology*, v. 24, n. 5, p. 337-342, 2001.

SHI, Z.; LIU, P. Worrying Thoughts Limit Working Memory Capacity in Math Anxiety. **PloS one**, v. 11, n. 10, p. e0165644, 2016.

SILVA, Júlia Beatriz Lopes et al. Processamento fonológico e desempenho em aritmética: uma revisão da relevância para as dificuldades de aprendizagem. **Temas em Psicologia**, v. 23, n. 1, p. 157-173, 2015.

SOARES, Neelkamal; EVANS, Teresa; PATEL, Dilip R. Specific learning disability in mathematics: a comprehensive review. **Translational pediatrics**, v. 7, n. 1, p. 48, 2018.

SOLTANLOU, Mojtaba et al. Training causes activation increase in temporo-parietal and parietal regions in children with mathematical disabilities. **Brain Structure and Function**, p. 1-15, 2022.

SOMMERAUER, Gerrit et al. The semantic control network mediates the relationship between symbolic numerical order processing and arithmetic performance in children. **Neuropsychologia**, v. 141, p. 107405, 2020.

SONNTAG, Kai C. et al. Viral over-expression of D1 dopamine receptors in the prefrontal cortex increase high-risk behaviors in adults: comparison with adolescents. **Psychopharmacology**, v. 231, n. 8, p. 1615-1626, 2014.

STANDAERT, D.; GALANTER, Joshua M. Farmacologia da neurotransmissão dopaminérgica. **Princípios de Farmacologia: A Base Fisiopatologia da Farmacoterapia**, p. 166-185, 2009.

STANFILL AG, Cao X. Expression of Dopamine-Related Genes in Four Human Brain Regions. **Brain Sci.** 2020 Aug 18;10(8):567. doi: 10.3390/brainsci10080567.

STEIN, Lílian Milnitsky. TDE: teste de desempenho escolar: manual para aplicação e interpretação. São Paulo: **Casa do Psicólogo**, p. 1-17, 1994.

STOCK, Pieter; DESOETE, Annemie; ROEYERS, Herbert. Detecting children with arithmetic disabilities from kindergarten: Evidence from a 3-year longitudinal study on the role of preparatory arithmetic abilities. **Journal of Learning Disabilities**, v. 43, n. 3, p. 250-268, 2010.

SURMEIER, D. J.; KITAI, S. T. D1 and D2 dopamine receptor modulation of sodium and potassium currents in rat neostriatal neurons. In: **Progress in brain research. Elsevier**, 1993. p. 309-324.

SURMEIER, D. James et al. Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. **Neuron**, v. 14, n. 2, p. 385-397, 1995.

SUN, Ji; SUN, Pei. The relationship between numerosity perception and mathematics ability in adults: the moderating role of dots number. **PeerJ**, v. 9, p. e12660, 2021.

TESMER, John JG et al. Crystal structure of the catalytic domains of adenylyl cyclase in a complex with Gs α -GTP γ S. **Science**, v. 278, n. 5345, p. 1907-1916, 1997.

TOSTO, M. G. et al. Why do we differ in number sense? Evidence from a genetically sensitive investigation. **Intelligence**, v. 43, p. 35-46, 2014.

van DIJCK JP, FIAS W, CIPORA K. Spatialization in working memory and its relation to math anxiety. **Ann N Y Acad Sci**. 2022 Mar 10. doi: 10.1111/nyas.14765. Epub ahead of print. PMID: 35274298.

VASCONCELOS, Núbia L.M.. Investigação da associação entre a VNTR do gene DRD4 e o desempenho em tarefas de Memória de Trabalho em uma amostra de crianças em idade escolar. **Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

VENNERI, Annalena; CORNOLDI, Cesare; GARUTI, Margherita. Arithmetic difficulties in children with visuospatial learning disability (VLD). **Child neuropsychology**, v. 9, n. 3, p. 175-183, 2003.

VERDINE, B. N. et al. Deconstructing building blocks: Preschoolers' spatial assembly performance relates to early mathematical skills. **Child development**, v. 85, n. 3, p. 1062-1076, 2014.

VIANNA, Gabrielle S.. Contribuição das deleções em 22q11.2 para os fenótipos Dificuldade de Aprendizagem da Matemática, Dificuldade de Aprendizagem da Matemática e escrita e Distúrbios de Fonação. **Dissertação (Mestrado em Genética) – Instituto de Ciências Biológicas**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011

VIGNA, Giulia et al. Dyscalculia in Early Adulthood: Implications for Numerical Activities of Daily Living. **Brain Sciences**, v. 12, n. 3, p. 373, 2022.

VOGEL, Stephan E.; DE SMEDT, Bert. Developmental brain dynamics of numerical and arithmetic abilities. **npj Science of Learning**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2021.

VOGEL, Stephan E.; REMARK, Alicia; ANSARI, Daniel. Differential processing of symbolic numerical magnitude and order in first-grade children. **Journal of experimental child psychology**, v. 129, p. 26-39, 2015.

WANG, Zhiyan et al. Distinct roles of dopamine receptors in the lateral thalamus in a rat model of decisional impulsivity. **Neuroscience Bulletin**, v. 33, n. 4, p. 413-422, 2017.

WERHEID, Katja et al. The adaptive digit ordering test clinical application, reliability, and validity of a verbal working memory test. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v. 17, n. 6, p. 547-565, 2002.

WOOD, Guilherme et al. Math anxiety questionnaire: similar latent structure in Brazilian and German school children. **Child Development Research**, v. 2012, 2012.

XING, Bo et al. The dopamine D1 but not D3 receptor plays a fundamental role in spatial working memory and BDNF expression in prefrontal cortex of mice. **Behavioural brain research**, v. 235, n. 1, p. 36-41, 2012.

XU, Yaoda. Distinctive neural mechanisms supporting visual object individuation and identification. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 21, n. 3, p. 511-518, 2009.

YAMAMOTO, K., RUUSKANEN, J. O., WULLIMANN, M. F., & VERNIER, P. Two tyrosine hydroxylase genes in vertebrates: new dopaminergic territories revealed in the zebrafish brain. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 43, n. 4, p. 394-402, 2010.

YEO, Darren J.; WILKEY, Eric D.; PRICE, Gavin R. A busca pela área de forma numérica: uma meta-análise de neuroimagem funcional. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 78, p. 145-160, 2017.

ZHU, Feng et al. An association study between dopamine D1 receptor gene polymorphisms and the risk of schizophrenia. **Brain research**, v. 1420, p. 106-113, 2011.

ZHU, Feng et al. Dopamine D1 receptor gene variation modulates opioid dependence risk by affecting transition to addiction. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e70805, 2013.