

Desenvolvimento neuropsicomotor e estabilidade genômica associados aos níveis de folato e ferro sanguíneos de pré-escolares

Maiara de Queiroz Fischer ¹
Patrícia Molz ²
Liziane Hermes ³
Caroline dos Santos ⁴
Luana Beatriz Limberger ⁵
Diene da Silva Schlickmann ⁶
Jorge André Horta ⁷
Jane Dagmar Pollo Renner ⁸
Daniel Prá ⁹
Silvia Isabel Rech Franke ¹⁰

^{1,4,5,6,9} Laboratório de Nutrição Experimental. Universidade de Santa Cruz do Sul. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Faculdade de Medicina. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 6681. Porto Alegre, RS, Brasil. CEP: 90.619-900. E-mail: patricia.molz@gmail.com

^{3,7,8,10} Programa de Pós-graduação em Promoção da Saúde. Universidade de Santa Cruz do Sul. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

Resumo

Objetivos: avaliar o desenvolvimento neuropsicomotor e a estabilidade genômica associados ao folato e ferro sanguíneos em pré-escolares.

Métodos: estudo transversal, no qual avaliou-se exames bioquímicos (hemograma completo, ferritina sérica, ferro e folato), desenvolvimento neuropsicomotor (Teste Denver II) e genotoxicidade (citoma de micronúcleos em células bucais esfoliadas) de 55 crianças com 36-59 meses de idade. Para a análise dos dados, empregou-se os testes T de Student, Kruskal-Wallis e correlação de Pearson ou Spearman, com nível de significância de $p < 0,05$.

Resultados: a prevalência de anemia foi de 1,8%. Pelo teste de Denver II foram classificadas 32,7% das crianças como normais e 67,3% como suspeita de atraso. As crianças com suspeita de atraso apresentaram pequena redução no hematócrito e hemoglobina ($p = 0,05$ e $p = 0,14$), redução intermediária de ferro e folato ($p = 0,29$ e $p = 0,23$) e redução marcante de ferritina ($p = 0,03$). Ferro e folato associaram-se significativamente com a frequência de células com lesões no DNA ($p < 0,05$). A frequência de células binucleadas associou-se positivamente com Red Cell Distribution Width (RDW) ($r = 0,56$; $p = 0,02$), nas crianças sem atraso e negativamente com folato ($r = -0,33$; $p = 0,05$), nas crianças com atraso.

Conclusões: este estudo mostrou baixa prevalência de anemia, mas elevada taxa de crianças com suspeita de atraso neuropsicomotor, possivelmente associada com baixos níveis de ferritina. Ademais, observou-se associação entre ferro e folato com dano no DNA, o que pode ter contribuído para o atraso neuropsicomotor.

Palavras-chave Ferro, Folato, Criança, Desenvolvimento neuropsicomotor, Estabilidade genômica

Introdução

Considerados nutrientes essenciais, o ferro e o folato desempenham papel primordial no metabolismo humano, sendo fundamentais para a produção de energia e metabolismo celular. A deficiência de ambos os nutrientes representa um problema de saúde pública mundial, afetando todas as faixas etárias, especialmente, gestantes e crianças em idade pré-escolar.^{1,2}

Evidências sugerem que a deficiência de ferro provoca efeitos a longo prazo, como deficiências no desenvolvimento cognitivo e psicomotor, bem como a redução na capacidade produtiva. Além disso, o estado psicológico da criança e comportamentos alimentares na infância estão relacionados a vários aspectos da nutrição nessa fase.³⁻⁵

O folato possui papel chave na divisão celular normal e durante períodos de crescimento e desenvolvimento. As causas da deficiência de folato vão desde uma alimentação inadequada até condições associadas com o aumento da renovação celular. Ademais, sua deficiência pode afetar a memória e a capacidade de linguagem, assim como o surgimento da anemia megaloblástica.^{1,5,6}

O desenvolvimento infantil é resultado da interação entre fatores genéticos, biológicos e ambientais. Desta forma, o “*The Denver Developmental Screening Test II* (Denver II)” é um teste de rastreamento de risco de desenvolvimento infantil, que estima o nível de desenvolvimento, sendo capaz de investigar precocemente possíveis alterações no desenvolvimento psicomotor de crianças de 0-6 anos de idade.^{7,8}

O ferro e o folato também atuam em processos celulares importantes para as células nervosas sendo considerados essenciais para a síntese e reparação do DNA.^{9,10} Estes nutrientes podem atuar na estabilidade do genoma, exercendo um importante papel no metabolismo do DNA. O ferro, além de ser requerido para o transporte de oxigênio também está presente na enzima ribonucleotídeo redutases que catalisa a formação de desoxinucleotídeos. Já a deficiência de folato está relacionada a formação de micronúcleos, um tipo específico de do no DNA.^{2,11}

Neste sentido, existem na literatura diferentes tipos de ensaios que avaliam a estabilidade do genoma. O ensaio de citoma de micronúcleos em células bucais esfoliadas (BMCyt) é uma técnica citogenética utilizada para medir biomarcadores de danos ao DNA (originários de um defeito durante a divisão celular), bem como morte celular no epitélio oral de forma rápida e não invasiva.¹²

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar

o desenvolvimento neuropsicomotor e a estabilidade genômica associados aos níveis de folato e ferro sanguíneos de pré-escolares.

Métodos

Trata-se de um estudo transversal, com crianças, entre 36 e 59 meses de idade, de ambos os sexos, matriculadas nas escolas infantis da rede municipal de Venâncio Aires, RS. Pais/responsáveis de crianças que haviam participado de um estudo anterior (105 crianças) foram convidados a participar do presente estudo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC (CAAE 39631014.3.0000.5343, parecer nº 928.529). Foram excluídos do estudo 50 crianças que não foram encontradas por mudança de endereço de seus responsáveis/pais. Todas as etapas foram realizadas, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo pai/responsável pela criança.

Por meio de questionário aplicado ao pai/responsável, coletaram-se informações referentes à criança, tais como: data de nascimento, informações sobre o uso de suplementação e sobre os dados socioeconômicos, sendo este último classificado conforme a Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP).¹³ Por conseguinte, cada criança foi conduzida a salas específicas, nas próprias escolas, para a realização da avaliação antropométrica e coleta de células da mucosa oral, além do rastreio de risco do desenvolvimento neuropsicomotor.

As medidas antropométricas (peso e altura) foram coletadas de acordo com a Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN),¹⁴ utilizando uma balança digital da marca Plenna® e um estadiômetro vertical portátil da marca Invicta Plastics®. A partir das medidas antropométricas, calculou-se o valor do índice de massa corporal (IMC), sendo o estado nutricional classificado segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS),¹⁴ de acordo com o IMC para idade (IMC/I), a partir do escore-z. Os dados foram tabulados e avaliados no programa Anthro, da OMS.

O nível de dano de DNA foi avaliado através do teste BMCyt. Primeiramente, coletaram-se células da mucosa oral, localizadas na região interna da bochecha, com o auxílio do cytobrush, sendo esse material armazenado em falcons contendo 1 mL de metanol. Por conseguinte, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), onde as lâminas foram preparadas, coradas e analisadas de acordo com o protocolo de

Thomas *et al.*¹²

O desenvolvimento neuropsicomotor foi avaliado pelo Teste de Triagem do Desenvolvimento de II (Denver II),^{7,8} no qual é possível investigar quatro áreas do desenvolvimento: pessoal-social, motor fino, linguagem e motor grosso, sendo composto por 125 itens/atividade ao total. O teste permite verificar ainda, a capacidade de compreensão de instruções, conceituação de palavras, nomeação de figuras e habilidades pessoal-social, o que respalda a escolha do teste, nesse estudo, por sua alta sensibilidade.

O tempo de realização do teste foi de aproximadamente vinte minutos, no qual foram aplicados os itens referentes às idades entre 36 e 59 meses. No momento da realização do teste, cada um dos itens, era registrado “passa” ou “falha” na ficha específica do teste.

Na avaliação de cada um dos itens testados eram atribuídos escores que permitiam interpretar os itens testados da seguinte forma: “normal”, quando a criança executava todos os itens/atividades previstos para sua idade; “cautela”, quando a criança não executava ou recusava-se a realizar a atividade que era feita por 75 a 90% das crianças daquela idade; e “atraso”, quando a criança não executava a atividade feita por 90% das crianças. A partir dessa avaliação o Denver II permite duas classificações globais: Normal, quando não há atrasos e, no máximo, uma única cautela; e Suspeita de atraso, quando há duas ou mais cautelas e/ou um ou mais atrasos.⁷

Na segunda etapa do estudo, realizou-se a coleta sanguínea por um profissional habilitado, em um laboratório de análises clínicas do município de Venâncio Aires, RS. Foram coletados 5,0 mL de sangue de cada criança e armazenados em diferentes frascos, devidamente identificados, e encaminhadas para o Laboratório de Bioquímica do Exercício - UNISC, onde foram realizados os hemogramas completos (hemoglobina, hematócrito, Volume Corpuscular Médio - VCM, Hemoglobina Corpuscular Média - HCM, Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média - CHCM e Red Distribution Width - RDW), utilizando-se o analisador Sysmex, XS-800i, para ferritina sérica e para determinação de ferro utilizou-se o equipamento Miura 200 (I.S.E. S.r.l. Clinical Chemistry Solution, Itália), pelo método turbidimetria e colorimetria, respectivamente. Já, os níveis séricos de folato foram determinados pelo método de imunoquimioluminescência no equipamento ARCHITECT Immunoassay Analyzer (Abbott Diagnostics, USA) em um laboratório de análises clínicas do município de Santa Cruz do Sul, RS. Avaliou-se os níveis de

Proteína C Reativa (PCR) como um marcador inflamatório (PCR <0,6 mg/dL), uma vez que, no caso do indivíduo apresentar infecções, os resultados de ferritina poderiam estar alterados. Os valores de referência utilizados para as análises bioquímicas foram: >11,0 g/dL para hemoglobina, >33% para hematócrito, >79 fL para VCM, >27,4 pg para HCM, >34,4g/L para CHCM, >11,5% para RDW, >12 ng/mL para ferritina, >50 µg/dL para ferro e >3,10 ng/mL para folato.⁵

As análises estatísticas foram realizadas no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 20.0 e os gráficos construídos no programa *GraphPad Prism* versão 6.01. Os dados hematológicos foram analisados pelo teste *t* de *Student* e o dano no DNA pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*. A análise de correlação de *Pearson* ou *Spearman* também foram empregados. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

Resultados

Das 105 crianças do estudo anterior, 50 crianças foram excluídas devido a recusas em participar na pesquisa, mudança de endereço, ou não interesse/disponibilidade dos responsáveis/pais em levá-las ao laboratório e outros motivos que possam ter comprometido a participação. Assim sendo, participaram do estudo 55 crianças, com idade média de 49,03±6,19 meses, sendo 54,5% do sexo feminino, 45,5% estavam matriculadas no nível III (crianças com idade entre 36 a 47 meses) e 54,6% no nível pré A (crianças com idade acima de 48 meses). A maioria das crianças avaliadas, no presente estudo, estava eutrófica (67,3%), cerca da metade delas pertencia a classe socioeconômica B2 e 76,4% dessas crianças foram suplementadas com ferro dos 6 aos 24 meses de idade (Tabela 1).

No presente estudo, a prevalência de anemia foi de 1,8%, considerando-se apenas a hemoglobina. Ao avaliar os níveis de ferritina e ferro sérico, observou-se que 3,6% e 10,9%, respectivamente das crianças, apresentaram valores abaixo do recomendado e nenhuma criança apresentou deficiência de folato. De acordo com o teste de Denver II, 32,7% das crianças foram classificadas em normais e 67,3% com suspeita de atraso neuropsicomotor.

Ao associar-se as variáveis hematológicas com o Denver II, verificou-se que as crianças suspeitas de atraso apresentaram pequena diminuição (inferior a 2%) nos níveis de hematócrito e de hemoglobina ($p=0,15$ e $p=0,05$, respectivamente), diminuição intermediária nos níveis de ferro (5%, $p=0,29$) e folato (8%, $p=0,23$) e diminuição marcante nos

níveis de ferritina (17%, $p=0,03$). As crianças consideradas normais apresentaram valores reduzidos de hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e ferro. No entanto, maior frequência de células binucleadas, micronúcleos, broto e ponte, contudo sem diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) (Tabela 2).

Ao avaliar a associação entre os parâmetros hematológicos com os danos no DNA, verificou-se uma correlação negativa entre os níveis de ferro sérico com a frequência de micronúcleos ($r=-0,27$ e $p=0,05$) e a frequência de pontes nucleares ($r=-0,28$ e $p=0,04$) (Figura 1).

O nível de folato no sangue apresentou uma

correlação negativa com a frequência de células binucleadas ($r=-0,28$ e $p=0,04$) e uma correlação positiva com brotos nucleares ($r=0,32$ e $p=0,02$) (Figura 1).

Segundo o critério de classificação do Denver II, quando associado os parâmetros hematológicos com danos no DNA, verificou-se uma correlação positiva entre os níveis de red distribution width (RDW) e a frequência de células binucleadas ($r=0,55$; $p=0,02$) entre as crianças sem atraso. Em relação às crianças com atraso, observou-se uma correlação negativa entre os níveis de folato sanguíneos e a frequência de células binucleadas ($r=-0,33$; $p=0,05$).

Tabela 1

Característica da amostra dos pré-escolares.

Variável	N	%	$\bar{X} \pm DP$
Idade da criança (anos)			49,03±6,19
Sexo			
Masculino	25	45,5	
Feminino	30	54,5	
Estado Nutricional			
Magreza	1	1,8	
Eutrofia	37	67,3	
Sobrepeso	16	29,1	
Obesidade	1	1,8	
Classe Social			
B1	9	16,4	
B2	28	50,9	
C1	15	27,3	
C2	3	5,4	
Suplementação			
Sim	42	76,4	
Não	13	23,6	

DP= desvio-padrão.

Tabela 2

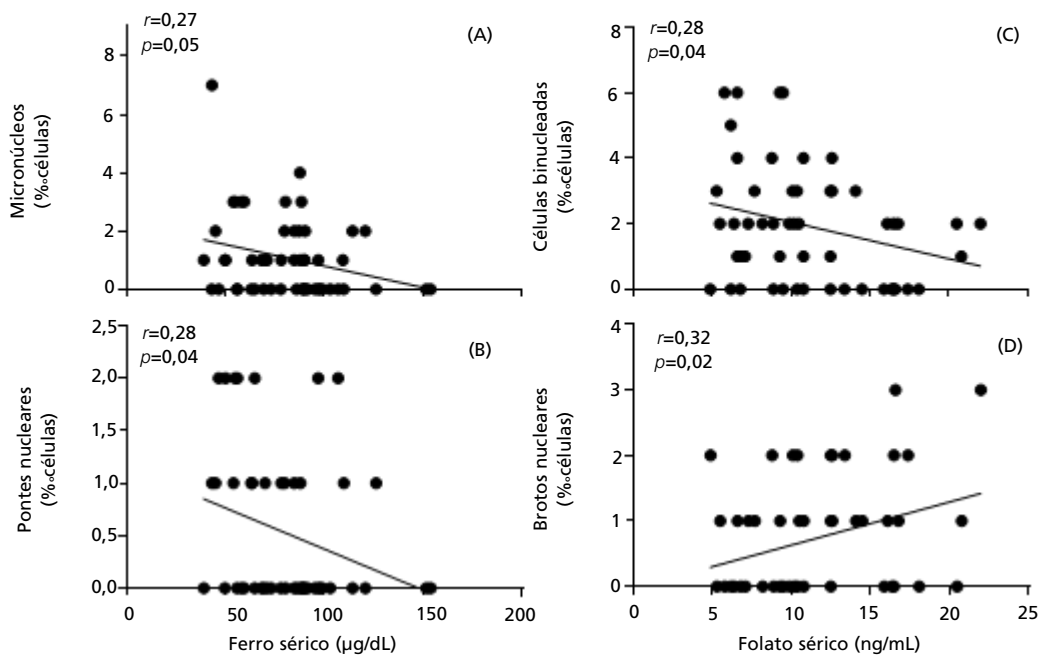
Comparação de médias dos parâmetros conforme a classificação do Denver II.

	Normal (n=18)	Suspeita de atraso (n=37)	p
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	
Hemoglobina (g/dL)	12,66 ± 0,76	12,44 ± 0,63	0,14
Hematócrito (%)	36,90 ± 1,99	36,05 ± 1,71	0,05
VCM (fL)	78,89 ± 5,67	78,70 ± 2,84	0,43
HCM (pg)	27,09 ± 2,39	27,16 ± 1,24	0,44
CHCM (g/L)	34,29 ± 0,97	34,51 ± 0,93	0,21
RDW (%)	13,09 ± 1,68	12,99 ± 0,76	0,41
Ferritina (ng/mL)	49,74 ± 13,68	41,49 ± 16,08	0,03
Ferro (µg/dL)	78,80 ± 27,91	82,89 ± 24,16	0,29
Folato (ng/mL)	11,77 ± 4,61	10,82 ± 4,27	0,23
PCR (mg/dL)	0,32 ± 0,34	0,31 ± 0,45	0,75
Binucleada (n° céls.)	2,06 ± 1,51	1,86 ± 1,90	0,44
Micronúcleo (n° céls.)	1,50 ± 1,79	0,86 ± 1,08	0,22
Broto (n° céls.)	0,94 ± 1,30	0,76 ± 0,86	0,96
Ponte (n° céls.)	0,89 ± 0,96	0,46 ± 0,69	0,10

DP= desvio-padrão; p: nível de significância de acordo com o teste U de *Mann-Whitney* bicaudal (dano no DNA e PCR) e teste *t* de *Student* (parâmetros hematológicos) unicaudal; VCM= Volume Corpuscular Médio; HCM= Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM= Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; RDW= Red Distribution Width; PCR=Proteína C Reativa (apenas 35 indivíduos).

Figura 1

Correlação entre os níveis sanguíneos de ferro e micronúcleos (A), ferro e pontes nucleares (B), folato e células binucleadas (C) e folato e brotos nucleares (D) de crianças (n=55) com idade entre 36 e 59 meses. *r* e *p*: coeficiente de correlação e nível de significância, respectivamente, de acordo com o teste de *Pearson* indicado na figura.



Discussão

A prevalência de anemia encontrada no presente estudo é considerada normal, de acordo com a classificação do nível de importância como problema de saúde pública, definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS),⁵ que classifica como normal, a prevalência de anemia $\leq 4,9\%$. Prá e colaboradores,¹⁵ ao conduzir uma pesquisa no município de Santa Cruz do Sul-RS, também pertencente à região do Vale do Taquari e Rio Pardo, avaliando 30 crianças saudáveis com idade média de $11,5 \pm 2,5$ anos, observaram prevalência de anemia semelhante à encontrada em nosso estudo (3,3%, apenas um indivíduo com anemia). Numa meta-análise, avaliando a prevalência de anemia em crianças em diferentes regiões brasileiras, verificou-se uma variação na prevalência de anemia, superior ao do presente estudo, entre 35,0% a 68,8%,¹⁶ indicando um problema moderado-severo de saúde pública brasileira.

A baixa prevalência de anemia e níveis adequados de folato encontrado no presente estudo pode ser justificada pelo fato dessas crianças já terem participado de pesquisas anteriores (realizadas em 2012 e 2013), pois os pais/responsáveis já haviam sido orientados sobre a biodisponibilidade e alimentos fontes de ferro.

Considerando os níveis de ferritina e ferro sérico, no presente estudo, foram encontrados, respectivamente, 3,6%, e 10,9% abaixo dos valores recomendados. Esses percentuais de deficiência de ferro (10,9%) foram inferiores ao de outro estudo realizado no sul do Brasil, que encontrou 16,1% das crianças entre 3 e 4 anos com deficiência de ferro de acordo com a ferritina.¹⁷

É importante ressaltar que os resultados de ferritina podem estar alterados, quando comparados com o ferro sérico, em situações de inflamação. Por isso, recomenda-se avaliar a PCR como um marcador inflamatório. Das crianças que participaram do estudo, foi possível avaliar os níveis de PCR apenas em 66,6% das crianças avaliadas, dessas 80,0% estavam dentro dos valores recomendados, porém 20,0% da amostra apresentaram alguma alteração nos níveis de PCR. Esse aspecto deve ser considerado como uma limitação do estudo. Sugere-se que os baixos níveis de anemia e deficiência de ferro, bem como níveis adequados de folato, encontrados no nosso estudo, possam ser devidos à classificação socioeconômica da família (50,9% classe média) e estado nutricional adequado (67,3% de eutrofia) para a maioria dos

indivíduos.⁵

Nossos resultados indicaram também uma alta prevalência de suplementação de ferro no período dos 6 aos 24 meses de idade (76,4%), diferentemente dos dados encontrados no estudo de Oliveira *et al.*,¹⁸ no qual verificaram uma baixa prevalência do uso do suplemento em Porto Velho, Acre, Brasil (13,5%). Deve-se, ainda, considerar a culinária da região que apresenta alto consumo de pães e massas, que são produzidas com farinha de trigo e milho, enriquecidas com ferro (4,2 mg/100g de farinha) e ácido fólico (150 μg /100g de farinha), segundo legislação específica, desde 2004 no Brasil.^{19,20} A região dos Vales do Taquari e Rio Pardo também apresenta uma grande ingestão de carne, sendo o ferro (ferro heme) contido nesse alimento melhor absorvido quando comparado com o ferro não heme.^{5,21} Outro fator que deve ser considerado é o consumo de alimentos fontes de vitamina C, os quais podem facilitar a absorção do ferro não heme. Pesquisas anteriores indicam que a região apresenta consumo elevado de carnes e vísceras e alimentos fontes de vitamina C, como por exemplo, bergamota (tangerina).¹⁵

Nossos achados revelam que 67,3% das crianças avaliadas pelo teste de Denver II estavam com desempenho suspeito de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, valor acima do encontrado no estudo realizado por Brito *et al.*,⁸ que ao avaliar crianças com idades entre 4 a 5 anos, encontraram 46,3% das crianças apresentaram atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.

No que se refere às variáveis hematológicas associadas ao teste de Denver II, encontramos menores níveis de hemoglobina, hematócrito, VCM, RDW, PCR, ferritina e folato nas crianças suspeitas de atraso, corroborando com o estudo de Schatz *et al.*²² Os autores avaliaram a eficácia do Denver II em 50 crianças com anemia falciforme, entre 1 e 3,5 anos de idade e, verificaram que 30% delas estavam com suspeita de atraso, além de apresentarem menores níveis de hematócrito quando comparadas às crianças normais.

Algumas limitações do Denver II que poderiam estar associadas com o número elevado de crianças com suspeitas de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, segundo relatos das monitoras, que as crianças que ficavam muito cansadas e com sono no dia seguinte, dormiam na noite anterior em horários considerados tardios; timidez; falta de empatia pelo entrevistador; falta de incentivo em casa, por parte dos pais, que pudessem não ter paciência para ensinar e brincar com as crianças, em muitos casos; algumas atividades do teste Denver II

são complexas e não estão adaptadas aos dias atuais, e o Denver II não permite que se estimule a criança a desenvolver as atividades durante o teste, para não interferir na naturalidade no desenvolvimento da atividade pela criança.

Fenech²³ demonstrou que tanto a deficiência de micronutrientes como o excesso podem ter efeitos prejudiciais em danos genômicos. Em nosso estudo, observou-se maior frequência de células binucleadas, micronúcleos, broto e ponte nas crianças normais. Não encontramos na literatura explicação para tal achado. Contudo, nosso grupo hipotetiza que a provável causa desses danos seria uma maior proliferação celular devido à intensa formação de memória imunológica nos linfócitos T nessa idade e, por isso, apresentariam maior propensão a danos no DNA, já que os linfócitos T sofrem quebras do DNA na recombinação somática.^{24,25} Estudos futuros são necessários para testar e confirmar essa hipótese.

A carência de folato é conhecida por causar amplificação do dano no cromossomo, que provavelmente pode contribuir para a formação de micronúcleos, brotos e pontes.²⁶ Prá *et al.*¹⁵ verificaram que a ingestão de ferro diminui a frequência de micronúcleos e pontes nucleares.

O teste de BMCyt é uma técnica efetiva para o estudo de deficiência orgânica celular e nuclear, causado tanto, pela deficiência, como pelo excesso de micronutrientes.²⁶ Além disso, sabe-se que o desenvolvimento neuropsicomotor das crianças deve ser estimulado pelos pais/responsáveis, nessa fase inicial de aprendizagem, o que contribuiria para a diminuição de atrasos neuropsicomotores. Nossos resultados mostraram que os níveis de ferro reduziram a frequência de micronúcleos e pontes nucleares, já o folato reduziu as células binucleadas, entretanto, aumentou a frequência de brotos. O grande número de crianças com suspeita de atraso

avaliadas pelo Denver II, no presente estudo, é preocupante, sugerindo que essas crianças sejam futuramente reavaliadas. Outro aspecto relevante é o expressivo resultado de dano no DNA, que mostra forte influência dos micronutrientes pesquisados.

O red distribution width (RDW), que é utilizado na avaliação da variabilidade no tamanho dos eritrócitos, pode estar aumentado na anemia megaloblástica, que por sua vez, pode ser causada pela deficiência de folato.^{5,6} Observou-se, em nossos resultados, que as crianças normais apresentaram maiores níveis de red distribution width (RDW), associando-se com maior frequência de células binucleadas. Porém, nessas mesmas crianças, observou-se que o folato no sangue diminuiu a frequência de células binucleadas. São necessários mais estudos, para explorar o efeito entre os níveis principalmente de red distribution width (RDW) e folato sobre o desenvolvimento neuropsicomotor.

Uma limitação desse estudo foi a não inclusão do consumo alimentar que poderia ter fornecido informações relevantes quanto à quantidade e qualidade da dieta das crianças. Também devemos considerar perdas geradas no momento da coleta de sangue, pois muitos pais/responsáveis não tinham interesse ou disponibilidade em levá-las até o local da coleta.

Podemos concluir que a presente pesquisa mostrou que, na população estudada, houve uma baixa prevalência de anemia e níveis adequados de folato, porém, verificou-se uma taxa elevada de crianças com suspeita de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor. Observou-se também uma associação entre os níveis de nutrientes (ferro e folato sanguíneos) e dano no DNA. Estudos adicionais são necessários para avaliar o papel desses micronutrientes na genotoxicidade e desenvolvimento neuropsicomotor de crianças.

Referências

- Algarin C, Karunakaran KD, Reyes S, Morales C, Lozoff B, Peirano P, Biswal B. Differences on Brain Connectivity in Adulthood Are Present in Subjects with Iron Deficiency Anemia in Infancy. *Front Aging Neurosci.* 2017; 9: 54.
- Casey GJ, Tinh TT, Tien NT, Hanieh S, Cavalli-Sforza LT, Montresor A, Biggs BA. Sustained effectiveness of weekly iron-folic acid supplementation and regular deworming over 6 years in women in rural Vietnam. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017; 11 (4): e0005446.
- Yılmaz D, Bayar-Muluk N, Bayoğlu B, İdil A, Anlar B. Screening 5 and 6 year-old children starting primary school for development and language. *Turk J Pediatr.* 2016; 58 (2): 136-44.
- grawal S, Berggren KL, Marks E, Fox JH. Impact of high iron intake on cognition and neurodegeneration in humans and in animal models: a systematic review. *Nutr Rev.* 2017; 75 (6): 456-70.
- WHO (World Health Organization). Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control. Geneva: World Health Organization; 2001.
- Zeeshan F, Attia Bari SF, Jabeen U, Rathore AW. Correlation between maternal and childhood VitB12, folic acid and ferritin levels. *Pak J Med Sci.* 2017; 33 (1): 162-6.
- Frankenburg WK, Dodds J, Archer P, Bresnick B, Maschka P, Edelman N, Shapiro H. Denver II Training Manual. Denver: Denver Developmental Materials; 1992.

8. Brito CML, Vieira GO, Costa COM, Oliveira NF. Desenvolvimento neuropsicomotor: o teste de Denver na triagem dos atrasos cognitivos e neuromotores de pré-escolares. *Cad Saúde Pública* 2011; 27 (7): 1403-14.
9. Bailey LB, Stover PJ, McNulty H, Fenech MF, Gregory JF, Mills JL, Pfeiffer CM, Fazili Z, Zhang M, Ueland PM, Molloy AM, Caudill MA, Shane B, Berry RJ, Bailey RL, Hausman DB, Raghavan R, Raiten DJ. Biomarkers of Nutrition for Development—Folate Review. *J Nutr.* 2015; 145 (7): 1636S-80S.
10. Abdullah K, Thorpe KE, Mamak E, Maguire JL, Birken CS, Fehlings D, Hanley AJ, Macarthur C, Zlotkin SH, Parkin PC. Optimizing early child development for young children with non-anemic iron deficiency in the primary care practice setting (OptEC): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2015; 16 (1): 132.
11. Prá D, Franke SIR, Henriques JAP, Fenech M. Review: Iron and Genome Stability: an update. *Mutat Res.* 2012; 733 (1): 92-9.
12. Thomas P, Harvey S, Gruner T, Fenech M. The buccal cytochrome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutat Res.* 2008; 638 (1): 37-47.
13. ABEP (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa). 2013. [acesso em 1 mar 2015]. Disponível em: www.abep.org/new/criterioBrasil.aspx.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde. Brasília, DF; 2011.
15. Prá D, Bortoluzzi A, Müller LL, Hermes L Horta JA, Maluf SW, Henriques JA, Fenech M, Franke SI. Iron intake, red cell indicators of iron status, and DNA damage in young subjects. *Nutrition.* 2011; 27 (3): 293-7.
16. Vieira RCS, Ferreira GS. Prevalência de anemia em crianças brasileiras, segundo diferentes cenários epidemiológicos. *Rev Nutr.* 2010; 23 (3): 433-44.
17. Bortolini GA, Vitolo MR. Relação entre deficiência de ferro e anemia em crianças de até 4 anos de idade. *J Pediatr.* 2010; 86 (6) 488-92.
18. Oliveira CSM, Augusto RA, Muniz PT, Silva AS, Cardoso MA. Anemia e deficiência de micronutrientes em lactentes atendidos em unidades básicas de saúde em Rio Branco, Acre, Brasil. *Ciênc Saude Colet.* 2016; 21 (2): 517-30.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova regulamento técnico para a fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico. *Diário Oficial da União, Brasília, DF;* 2002.
20. Steluti J, Selhub J, Paul L, Reginaldo C, Fisberg RM, Marchioni DML. An overview of folate status in a population-based study from São Paulo, Brazil and the potential impact of 10 years of national folic acid fortification policy. *Eur J Clin Nutr.* 2017. doi: 10.1038/ejcn.2017.60.
21. Bortolini GA, Vitolo MR. Importância das práticas alimentares no primeiro ano de vida na prevenção da deficiência de ferro. *Rev Nutr.* 2010; 23 (6): 1051-62.
22. Schatz J, McClellan CB, Puffer ES, Johnson K, Roberts KW. Neurodevelopmental screening in toddlers and early preschoolers with sickle cell disease. *J Child Neurol.* 2008; 23 (1): 44-50.
23. Fenech M. Dietary reference values of individual micronutrients and nutrients for genome damage prevention – current status and a road map to the future. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91 (5):1438-54.
24. Xu Y. DNA damage: a trigger of innate immunity but a requirement for adaptive immune homeostasis. *Nat Rev Immunol.* 2006; 6 (4): 261-70.
25. Dadi S, Le Noir S, Asnafi V, Beldjord K, Macintyre EA. Normal and pathological V(D)J recombination: contribution to the understanding of human lymphoid malignancies. *Adv Exp Med Biol.* 2009; 650: 180-94.
26. Wang XU, Thomas P, Xue J, Fenech M. Folate deficiency induces aneuploidy in human lymphocytes in vitro—evidence using cytokinesis-blocked cells and probes specific for chromosomes 17 and 21. *Mutat Res.* 2004; 551 (1): 167-80.

Recebido em 8 de Novembro de 2016

Versão final apresentado em 27 de Junho de 2017

Aprovado em 10 de Julho de 2017