Gizele Thame

"Repercussões do folato medicamentoso sobre a concentração do folato intra-eritrocitário e vitamina B12 sérica em gestantes, no contexto da avaliação do consumo alimentar"

**Tese de doutorado no curso de Pós-graduação no
Departamento de Saúde Materno-Infantil da
Faculdade de Saúde Pública - USP.**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Fernandes Moron
Co-orientadora: Profa. Dra. Néia Schor**

São Paulo

2004

45025/2004 doc

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Assinatura: _____

Data: 27 de Abril de 2004

"Descobrir o ponto vital é a condição essencial da nossa vida e se consegue através da observação. Trata-se, portanto, de perceber as coisas. Trata-se de polir a alma".

Mokiti Okada

GRATIDÃO

Gratidão

Registro aqui minha profunda gratidão a todos que contribuíram para tornar realidade esta TESE de DOUTORADO.

GRATIDÃO A DEUS

- Imensa gratidão a Deus que me concedeu a inteligência e a permissão de estudar.
- Gratidão especial ao filósofo Mokiti Okada que deixou ensinamentos com as diretrizes da vida nas quais sigo minha caminhada.

GRATIDÃO PARA COM OS CONTRIBUINTES NESTA TESE

- Sou muito grata ao Prof. Dr. Antonio Fernandes Moron, meu orientador nesta tese de Doutorado e que também orientou minha tese de Mestrado. Nesta caminhada de 10 anos, tive o privilégio de ser conduzida por um professor altamente qualificado, exigente, altruísta, carinhoso e sensato. Obrigado professor pelo exemplo profissional que oferece, pelo incentivo, pelo apoio, pelo direcionamento que influenciaram meu desenvolvimento profissional. Agradeço o tempo a mim dedicado durante todos estes anos e muito obrigado pela amizade.
- Gratidão pela Profa. Dra. Néia Schor minha co-orientadora responsável por tornar realidade esta tese cuidando dos aspectos burocráticos e principalmente cuidando de mim e também do meu orientador. Obrigado Profa. Néia por me ensinar e me ajudar a contornar obstáculos naturais, que desafiaram minha determinação e persistência.
- Agradeço a todos do Departamento de Saúde Materno-Infantil da Faculdade de Saúde Pública - USP especialmente a Iara Macedo e ao

Leandro Cleto pela paciência, ajuda e amizade.

- Agradecimento muito especial a Prof. Dra. Sonia Tucunduva Philippi e as acadêmicas do Curso de Nutrição, Ana Carolina Teixeira e Ivy Rodrigues Paes de Oliveira do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da USP que não mediram esforços para interpretar e analisar os dados dos questionários nutricionais.
- Agradecimento especial aos membros da banca examinadora Profa. Dra. Anelise Riedel Abrahão e Prof. Dr. José Mendes Aldrighi pelas pertinentes e preciosas sugestões no exame de qualificação.
- Gratidão aos membros da banca no período de pré-banca com sugestões – todas pertinentes, que contribuíram muito para o resultado final desta tese.
- Agradecimento muito especial à enfermeira Karina Salinas responsável pela logística desenvolvida nas instituições que participaram desta tese e por todas as coletas sanguíneas realizadas ao longo do ano de 2003. Sou grata pelo empenho e carinho com o qual conduziu este trabalho.
- Agradecimento fundamental ao Dr. Antonio Ferrari e ao Laboratório MARJAN pelo fornecimento do medicamento Endofolin entregues às gestantes durante toda a gravidez.
- Sou grata a Dra. Sandra Menosi Gualandro e à Márcia Marangão Guimarães da Fundação Pró-sangue que carinhosamente abriram as portas do laboratório de Hematologia e realizaram as determinações laboratoriais desta tese incluindo técnicas não utilizadas rotineiramente.
- Sou muito grata ao Dr. Fernão Dias de Lima do Departamento de Estatística da Faculdade de Saúde Pública da USP pela análise estatística realizada com muito empenho e carinho.
- Gratidão especial a Valeria Yugue pela inestimável ajuda prestada por ocasião das últimas correções nesta tese – no momento de “confusão” final.
- Agradecimento profundo às gestantes que entenderam a

grandiosidade da participação em estudos científicos e altruistamente submeteram-se aos procedimentos desta pesquisa.

- Sou grata às inúmeras pessoas que deram sua parcela de contribuição e aquelas que emprestaram suas experiências pessoais para mim que hoje termino uma longa caminhada de especialização, mestrado e DOUTORADO.

GRATIDÃO À FAMÍLIA

- Sou grata aos meus pais Milim Thame e Edna Boni Thame por ter nascido deles e por terem me ensinado a amar as pessoas, o estudo, o trabalho, a vida. Agradeço o exemplo de carinho, compreensão, companheirismo, paciência, fé, renúncia, justiça, honra. Espero ser um pouquinho do muito que vocês são.
- Agradeço o amor, o cuidado, incentivo, o apoio e as constantes "lições de vida" que recebo de minha irmã Susete Thame Gutierrez que com sua visão subnormal ensina a todos a mim também que "... eu posso apesar de".
- Agradeço meu cunhado Arnaldo Antonio Gutierrez pelo carinho e apoio que oferece à minha irmã, aos meus pais, a mim e aos meus filhos.
- Gratidão ao meu sobrinho Tiago pela retidão, pelo amor, pelo humor e pela arte que demonstra em sua vida e em suas fotos. Sou grata pelo carinho que me dedica.
- Sou grata ao meu marido Eduardo César de Toledo Almeida por todo cuidado que me dedica, por todas as ações, nem sempre por mim compreendidas e que me proporcionaram desenvolvimento pessoal, profissional e espiritual. Obrigado pelo carinho e amizade, nos momentos em que eu mais precisava.
- Ao meu primogênito Raul Thame de Toledo Almeida eu agradeço por tornar realidade o meu sonho de ser mãe e por se tornar um homem que conseguiu unir a "força" no Jiu-jitsu que pratica, e a

"sensibilidade" nos quadros que pinta. Sou muito grata pelo amor que me dedica e pela confiança que em mim deposita. Agradeço por me fazer desenvolver a virtude da "espera" e da "aceitação" com sua característica introvertida.

- Ao meu filho Samuel Thame de Toledo Almeida agradeço a criança hipercinética que foi que me obrigou a desenvolver o bom senso, a criatividade e a maleabilidade no trato com as pessoas. Agradeço por ter se tornado um homem sensato, cumpridor de suas metas e amoroso. Sinto gratidão a sua namorada Carolina Bittencourt, por todo amor que dedica ao meu filho e a toda minha família e que me fizeram gostar de ser "sogra".
- Sou muito grata a minha filha Raquel Thame de Toledo Almeida, por ser o "sol que ilumina nossa família" com sua meiguice, seu carinho, seu companheirismo e seu cuidado em manter a união da família. Obrigado pela paciência com essa mãe sempre ocupada e por você ser minha "amigona". Agradeço por estar se tornando uma mulher brilhante.

Resumo

Thame G. **Repercussões do folato medicamentoso sobre a concentração do folato intra-eritrocitário e vitamina B12 sérica em gestantes, no contexto da avaliação do consumo alimentar.** São Paulo; 2004. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Objetivo. Avaliação dos níveis de **folato** intra-eritrocitário e vitamina B12 sérica em gestantes, antes e após administração medicamentosa de ácido fólico; e análise da dieta usual destas gestantes, quanto ao atendimento da demanda de **folato** no período gestacional. **Métodos.** Vinte e sete gestantes foram analisadas através de questionário de frequência alimentar (QFA), quanto à ingestão dietética de **folato** e vitamina B12. Foram colhidas amostras de sangue venoso para dosagens laboratoriais. As medidas do **folato**, da vitamina B12 e do hematócrito, foram tomadas em três momentos. A comparação para a verificação da existência de diferença entre os três momentos foi realizada através de testes não paramétricos em função das medidas não apresentarem uma distribuição normal e ao número de casos que passaram pelos três momentos de coleta. A comparação entre os três momentos foi feita através do teste de Friedman. **Resultados.** O **folato** intra-eritrocitário e o hematócrito apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os 3 momentos distintos. Já a vitamina B12 não mostrou diferença estatisticamente significativa. Das 27 gestantes que realizaram a primeira coleta, somente 21 realizaram as duas primeiras coletas sanguíneas e destas, 11 (52,4%) apresentaram-se inadequadas em **folato** intra-eritrocitário na primeira coleta sanguínea sendo que 7 delas (63,6%) apresentaram concentrações adequadas na segunda coleta. As que tinham concentrações sanguíneas adequadas de **folato** intra-eritrocitário na primeira coleta permaneceram com taxas adequadas na segunda e terceira coletas. Das quatro gestantes com taxas inadequadas na segunda coleta, somente três realizaram a terceira coleta e delas, duas (66,7%)

passaram às concentrações adequadas na terceira coleta, ou seja, após 60 dias de uso do medicamento. Das 10 gestantes com taxas inadequadas na primeira coleta, 9 (90,0%) apresentaram concentrações adequadas na terceira coleta. **Conclusões.** Para a diminuição da prevalência dos DTNs a conduta de receitar ácido fólico para as gestantes não é suficiente, visto que o tubo neural fecha-se nos primeiros 26 a 28 dias pós-concepção e neste período, no grupo analisado neste estudo, mais da metade apresentou deficiência em **folato** no exame laboratorial e todas elas, ou seja, 100% das gestantes apresentaram consumo insuficiente desse nutriente na dieta usual. Esse resultado indica uma tendência de carência de folato na população para gestação e, com vistas a uma ação em Saúde Pública, a intervenção medicamentosa deve ser iniciada previamente à gestação. Estudos pré-gestacionais são necessários para viabilizar uma mudança nesse perfil.

Descritores: Nutrição. Pré-natal. Suplementação vitamínica. Ácido fólico. Folato. Defeitos do tubo neural.

Summary

Thame G. **Repercussões do folato medicamentoso sobre a concentração do folato intra-eritrocitário e vitamina B12 sérica em gestantes, no contexto da avaliação do consumo alimentar.** [Folate supplementation effects on the level of red cell folate and serum vitamin B12 among pregnant women, and their dietary habits evaluation]. São Paulo; 2004. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Objective. Evaluation of the red cell folate and serum vitamin B12 levels among pregnant women, before and after oral administration of folic acid, and their dietary habit analysis, regarding the attendance of the folate needs in the pregnancy period. **Methods.** The regular diet of 27 women was evaluated through filling a questionnaire about their frequency food ingestion relative to folate and vitamin B12. The women venous blood were analyzed for the accomplishment of laboratory determinations. The folate and vitamin B12, and hematological levels were assayed at three times. These three moments were compared using non-parametric tests, because the number of samples at the three moments and their no normal distribution profile. The comparison of the three moments was been using the Friedman test. **Results.** The red cell folate and hematological levels presented significant statistical differences between each three moments. The vitamin B12 level did not show significant statistical difference. From twenty seven women at the initial measure, only twenty one had participated at the second measure, and them, eleven (52,4%) presented low red cell folate concentration, and these eleven women, seven of them (63,6%) presented suitable results at the second measure. All of them with adequate results at the initial measure remained in the same situation at the three moments. The four pregnant women with low levels at the second measure, only three had reach the third measure. Two of them presented suitable results at the third measure, after sixty days of folate oral administration. Nine women (90,0%), from ten pregnant

women with initial low folate concentration, present suitable folate levels at the third measure. **Conclusions.** For the reduction of the prevalence of the NTDs, the procedure of prescribing folic acid to the pregnant women is not enough, considering that the neural tube closes in the first 26 to 28 days after the conception and during this period, in the group analyzed by this study, more than half of it presented folate deficiency in the laboratorial tests and all of them, what means 100% of the pregnant women had presented insufficient consumption of this nutrient in their usual diet. This result indicates a trend of lack of folate among the pregnant population that advises to a Public Health action and an intervention with medicines must be initiated previously to the gestation. Pre-pregnancy studies are necessary to make a change in this profile possible.

Descriptors: Nutrition. Pre-natal. Supplementary vitamin. Folic acid. Folate. Defects of tube neural.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO 17

2. ANÁLISE DA LITERATURA 20

 2.1 Folato e Ácido fólico 20

 2.2 Vitamina B12 ou Cobalamina 27

 2.3 Defeitos de Tubo Neural (DTN)..... 30

3. OBJETIVOS..... 44

4. MATERIAIS E MÉTODOS 46

 4.1 Pacientes..... 46

 4.2 Análise Laboratorial 48

 4.2.1 Valores de Referência 48

 4.3 Análise Dietética Nutricional 48

 4.4 Análise dos dados do Questionário de Frequência Alimentar (QFA) 49

 4.5 Análise Estatística 51

5. RESULTADOS..... 54

 5.1 Características das gestantes 54

 5.3 Resultados dietéticos 63

6. DISCUSSÃO 66

 6.1 Grau de escolaridade 67

 6.2 Número de gestações (primigestas ou multigestas) e Intervalo interpartal 68

 6.3 Fumo e Alcoolismo 68

 6.4 Informação sobre o folato como prevenção de malformações 68

7. CONCLUSÃO 73

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 76

ANEXOS..... 89

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O **folato** e a **vitamina B12** são indispensáveis à formação de novos tecidos especialmente na gestação onde há rápido ganho de novos tecidos na mãe e no feto. Em função disto o estado nutricional pré-gestacional é fundamental.

Para atender a demanda do feto, ocorre um aumento da necessidade de nutrientes, sendo que a alimentação normal não é capaz de suprir a quantidade de **folato** necessária. É preciso complementar através de elevação de consumo, de fortificação alimentar e de suplementação medicamentosa onde a conscientização da mulher em idade reprodutiva torna-se indispensável.

A deficiência de **folato** em gestantes tem repercussão sobre o feto, no que se refere às malformações congênitas, especialmente os defeitos de fechamento do tubo neural (DTN). Atualmente estuda-se a correlação da deficiência da **vitamina B12** com o aumento do risco de defeitos de fechamento do tubo neural (DTN).

Considerando-se os escassos trabalhos encontrados na literatura em relação à suplementação em gestantes com **folato**, e ao comportamento da **vitamina B12** diante dessa suplementação, acreditamos ser importante verificar em gestantes, a intervenção medicamentosa com 2mg de folato por dia e o monitoramento das concentrações de folato intra-eritrocitário e de vitamina B12 sérica, com o objetivo de definir possíveis procedimentos que minimizem o problema das anomalias fetais.

No Brasil não existem ações voltadas a prevenção deste grave problema que afeta famílias, hospitais e a saúde financeira do país e, ao nosso ver, cabe aos alunos, professores e dirigentes da Faculdade de Saúde Pública levantar a bandeira em defesa de uma política de saúde preventiva.

Este é um trabalho original que visa realçar a necessidade de conscientização das mulheres em idade reprodutiva e dos profissionais da área de saúde, na prevenção de malformações fetais, com indicação de possíveis alterações nas condutas terapêuticas de fácil aplicabilidade para a população, atendendo assim às expectativas para a implantação de uma Política de Saúde Pública efetiva.

2. ANÁLISE DA LITERATURA

2.1 Folato e Ácido fólico

Os termos **Folato** e **Ácido Fólico** são considerados sinônimos, embora a maioria dos autores prefiram utilizar o termo **folato** para designar os poliglutamatos (que é a forma encontrada na alimentação, também conhecido como **folato** "livre") e o termo ácido fólico para o ácido pteroilpoliglutamato, cujo radical pteroil se conjuga com ácido L-glutâmico. Não possuem atividade enzimática por si próprios, sendo reduzido, enzimaticamente, nos tecidos a ácido tetrahydrofolato, que é a forma ativa. (LEHNINGER, 1993).

O **folato** é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B, cuja forma é naturalmente encontrada em alimentos.

O **ácido fólico** é a forma sintética do **folato**, utilizada para suplementação e fortificação de alimentos.

O **folato** "livre" dos alimentos é absorvido da mesma forma que o ácido glutâmico através do trato gastrointestinal (OMS, 1970).

O **ácido fólico** é uma molécula composta por um anel duplo de pteridina ligado ao ácido para-aminobenzóico que, por sua vez forma ligações, de uma a nove moléculas de ácido glutâmico. Uma enzima chamada diidrofolato redutase reduz o ácido fólico a uma molécula chamada tetrahydrofolato, que funciona como um carregador de unidades isoladas de átomo de carbono, formando coenzimas **folato** que participam de numerosas reações metabólicas envolvendo a transferência de carbono entre reações que são essenciais para a síntese normal de DNA (RAPAPORT, 1990).

Figura 1 – Ácido fólico (desenhado através do software **ISIS/Draw**)

Figura 2 – Ácido fólico em 3D (desenhado através do software **ISIS/Draw**)

A utilização e função do **folato** podem estar prejudicadas em condições como a gravidez. Como a deficiência de **folato** parece ter participação nos defeitos do tubo neural em recém nascidos, em setembro de 1992, a U.S. Public Health Service recomendou que todas as mulheres antecipando uma gravidez consumissem 0,4 mg/dia de ácido fólico para reduzir os riscos de defeitos como a anencefalia ou a spina bífida. (MAHAN, 1996).

"The Food and Nutrition Board's Standing Committee", propôs que a referência de ingestão diária é considerada para o prolongamento da vida e redução do risco de anomalias e doenças crônicas. Baseado na análise de metabolismo de nutrientes em humanos e dados de ingestão na

população de Estados Unidos, este comitê faz recomendações para cada grupo de idade. O RDA (*Recommended Dietary Allowances*) para mulheres grávidas é de 600 µg/dia (*Institute of Medicine*, 2001).

SAUBERLICH, em 1995, ressalta que a mais comum causa de comprometimento da taxa de **folato** é a baixa ingestão da vitamina, mas relata que outros numerosos fatores, incluindo drogas, álcool e fumo podem impedir a utilização do **folato** e contribuir para a causa de sua deficiência.

A ingestão crônica de álcool está associada às concentrações elevadas de homocisteína e provavelmente ao defeito do metabolismo do **folato** freqüentemente observado em pacientes alcoólatras. (HLTBERG, 2000).

CORTÉS, em 2000, relata quatro causas principais de deficiência de ácido fólico que são: ingestão inadequada, problemas de absorção, interferências produzidas por medicamentos como alguns anticonvulsivantes e gestação. Reafirmando que a deficiência de ácido fólico tem um papel predominante na patogenia das malformações congênitas, ressalta que essa deficiência também está relacionada às doenças cardiovasculares em adultos e que estratégias preventivas devem ser incluídas na promoção da saúde, desde a vida pré-natal até a vida adulta.

VAN der put, em 2001, publica um artigo revisional onde reafirma que a administração de **folato** reduz substancialmente o risco de defeito de tubo neural e relata que o distúrbio no metabolismo de **folato** está relacionado ao aumento das concentrações de homocisteína encontrada no sangue de mães de crianças com DTN, observação esta que levou os cientistas a estudarem as enzimas envolvidas no metabolismo **folato**-dependentes da homocisteína. Assim, verificou-se que uma mutação no gene da enzima metiltetrahidrofolato redutase está associado ao aumento do risco de DTN

e causa elevação nas concentrações de homocisteína que podem ser normalizadas com o aumento da ingestão de **folato**.

Os **folatos** são encontrados em vegetais verdes e frescos, frutas, feijões, nozes, fígado e rim. Em certos alimentos o **folato** pode estar ligado a outras substâncias, como exemplos, nas verduras o ácido fólico está unido de forma inespecífica às fibras de celulose e tanto o leite humano como o leite de vaca contém aproximadamente 50mg de **folato** total por litro ligado a proteínas b-lactoglobulinas. (OMS, 1972).

BAILEY, em 1995, analisando as recomendações de ingestão de **folato** na dieta de americanos, observa que são bastante semelhantes em todo o mundo. O enfoque geral é no sentido de aumentar o consumo de alimentos contendo **folato**, o que inclui legumes verdes e frutas cítricas.

Estudando a ingestão de **ácido fólico** em mulheres jovens americanas HILTON JJ (2002) concluiu que a ingestão inadequada é comum em jovens entre 18 e 24 anos de idade.

ACHON M, em 2002, analisou altas doses de suplementação de **ácido fólico** em ratas. Relata possível efeito negativo na utilização da dieta ao status de proteínas, em função da redução da função do nitrogênio digestivo. Relata também que as concentrações da vitamina B6 e B12 não sofrem alterações.

O **folato** se degrada rapidamente durante a cocção. O aquecimento durante o processo de enlatados também pode destruir o **folato**. A ingestão na dieta varia amplamente nos diferentes grupos sócio-econômicos, refletindo tanto o conteúdo da dieta quanto à forma de preparação. A necessidade diária tem um acréscimo na gestação, sendo que a dieta só consegue suprir na presença de frutas cruas, suco de frutas, vegetais frescos ou levemente cozidos. Na tabela abaixo, seguem

exemplos da quantidade de **folato** em alguns alimentos.

Tabela 1– Tabela de alimentos contendo **folato**

ALIMENTO	FOLATO µg
Fígado de frango, 100g, cozido	770
Fígado de boi, 100g, cozido	220
Lentilhas, 250g, cozidas	210
Feijão, branco, cozido, 250g	144
Brócolis, 250g, cozido	104
Espinafre, 250g, cozido	103
Suco de laranja, 250g	75
Germe de trigo, cru, 2 colheres de sopa	50
Tofu, 250g	55
Mamão papaia, 100g	53
Suco de vegetais verdes, 250g	51
Ovos, 1 unidade	25
Banana, 1 unidade	22

**Northwester University – Nutrition Facts*

O **folato** plasmático é captado por todos os tecidos, mas com avidez especial pelo fígado, onde participa de reações metabólicas e é armazenado. O fígado libera o **folato** armazenado, para utilização em outros tecidos, mas apenas através de um circuito que envolve sua excreção para a bile e reabsorção a partir do intestino delgado para o plasma.

Esta circulação entero-hepática parece ser necessária para manter as concentrações plasmáticas normais. Isso explica por que as concentrações começam a cair dentro de horas quando indivíduos normais recebem álcool, pois a liberação de **folato** das células hepáticas para a bile fica prejudicada e a circulação entero-hepática é interrompida.

Para a manifestação de uma anemia megaloblástica, demora um pouco mais. Se um indivíduo adulto, previamente normal, deixar de ingerir ácido

fólico, vai desenvolver essa anemia dentro de aproximadamente cinco meses. (RAPAPORT, 1990).

A Organização Mundial da Saúde relata outras situações que podem provocar a anemia megaloblástica como, por exemplo, a administração de certos medicamentos anticonvulsivantes, pois o medicamento impede a desconjugação intestinal do **folato** alimentar. Parece que os contraceptivos orais também podem provocar esse tipo de anemia, alterando a absorção do **folato**. Enfermidades do intestino delgado também impedem a absorção. (OMS, 1972).

A absorção do **folato** ocorre no terço proximal do intestino delgado (jejuno), através do transporte passivo e ativo dos enterócitos (LAMBIE & JOHNSON, 1985). Há um predomínio da absorção dos **folatos** na forma de monoglutamato (70%) contra a forma poliglutamato (30%). Neste sentido os preparados farmacológicos são facilmente absorvidos pelos enterócitos do jejuno, pois são constituídos por **folatos** na forma monoglutamatos (ROSE & MENUTTI, 1995).

O fígado é o principal tecido de reserva do organismo humano de **folato**, na forma de poliglutamatos. Outra fração do **folato** é excretada na bile como metiltetrahidrofolato, forma predominante no plasma sérico (80-90%) que é reabsorvido, ficando disponível para ser novamente distribuído para os tecidos, via circulação entero-hepática (BASU & DICKERSON, 1996).

O **folato** é ativamente transportado através da placenta para o feto. Não há alteração na absorção de **folato** em uma gestação saudável.

No plasma, os **folatos** podem se ligar à albumina ou a outras proteínas chamadas proteínas carregadoras de **folatos**, que parecem ser as responsáveis pelo transporte de **folato** do organismo materno para o feto, através do mecanismo contra o gradiente de concentração (transporte

ativo pela placenta). (STEEGERS-THEUNISSEN, 1995).

A forma biologicamente ativa do ácido fólico é o ácido tetraidrofolato em sua forma metilada (metil THF). Esse co-fator atua na biossíntese dos DNA e RNA. O THF aceita unidades isoladas de carbono 3 da serina para formar um "pool" de co-fatores intercambiáveis como o 5-10 metileno-THF, o 5-10-metenil-THF e o 10-formil-THF. Este último cede seu grupo formil a duas das enzimas da síntese das purinas (guanina e adenina), e o 5-10-metileno-THF cede seu grupo C-1 à timina sintetase, responsável pela síntese da timina (ESKES, 1997).

O metil-THF está implicado em uma reação catalizada pela metionina sintetase (enzima dependente da vitamina B12), na qual o grupo metil do 5-metil-THF é transferido a homocisteína, gerando o THF e a metionina. As concentrações de homocisteína se elevam nas condições de depleção de ácido fólico e tem sido apontada a hipótese de que o aminoácido homocisteína seja o agente teratogênico para os Defeitos de Tubo Neural. (STEEGERS T e col., 1996).

2.2 Vitamina B12 ou Cobalamina

A vitamina B12 é co-fator na conversão do metil malonil CoA em succinil CoA. Também é co-fator na síntese de metionina, a partir da homocisteína e, juntamente com o **folato**, é requerido para a síntese de DNA. Há algumas condições que manifestam baixas concentrações de vitamina B12 sérica, incluindo deficiência de ferro, gestação, vegetarianismo, gastrectomias, uso de contraceptivos orais, competição parasitária, deficiência pancreática, tratamento de epilepsia e idade avançada (CHANARIN, 1987).

Dentre os vários compostos de cobalaminas que apresentam atividade como a vitamina B12, a cianocobalamina e a hidroxicobalamina são as formas mais ativas. A cianocobalamina (assim chamada por conter um grupo cianeto ligado ao átomo de cobalto) é a forma mais estável e, portanto a forma pela qual a vitamina é produzida comercialmente por fermentação bacteriana. (LEHNINGER, 1993).

É substancialmente armazenada no organismo (aproximadamente 2000 µg) e as maiores concentrações são absorvidas no fígado. A circulação recicla a vitamina da bile e das secreções intestinais, reduzindo a necessidade diária a pequenas doses. Qualquer excesso da vitamina é excretado na urina. (MAHAN, 1996).

A cobalamina é essencial para o metabolismo normal de todas as células, especialmente a do trato gastrointestinal, medula óssea e tecidos nervosos. (HENDLER, 1994).

A placenta pode funcionar como um depósito de determinadas vitaminas além de ser um meio de transferência das mesmas para o feto. Para algumas vitaminas como a B6 e a B12, foi demonstrada grande capacidade de retenção pela placenta. (BERGER, 1988).

Para suprir as necessidades diárias da gravidez e lactação normais, a RDA (*Recommended Dietary Allowances*) recomenda uma dose de cobalamina de 2.4 µg/dia para gestantes e 2.8 µg/dia para lactantes. (DRIs, 2001).

Tabela 2 - DRIs para Vitaminas

Vitaminas: Comparação entre as atuais DRIs, as novas DRIs e ULs (limites máximos)			
VITAMINA	DRI ATUAL*	NOVA DRI**	UL***
Vitamina A	5000 IU	900 µg (3000 IU)	3000 µg (10,000 IU)
Vitamina C	60 mg	90 mg	2000 mg
Vitamin D	400 IU (10 µg)	15 mcg (600 IU)	50µg(2000 IU)
Vitamina E	30 IU (20 mg)	15 mg	1000 mg
Vitamina K	80 µg	120 µg	ND
Tiamina (B1)	1.5 mg	1.2 mg	ND
Riboflavina (B2)	1.7 mg	1.3 mg	ND
Nicotinamida	20 mg	16 mg	35 mg
Vitamina B6	2 mg	1.7 mg	100 mg
Folato	400 µg (0.4 mg)	400 µg origem alimentar, 200 mcg sintética ##	1000 µg sintética
Vitamina B12	6 µg	2.4 µg ###	ND
Biotina	300 µg	30 µg	ND
Ácido pantotênico	10 mg	5 mg	ND
Colina	Não estabelecido	550 mg	3500 mg

* As DRIs são valores estabelecidos pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para utilização em rotulagem de alimentos. Foram baseadas inicialmente nos valores mais elevados de Doses Diárias Recomendadas de 1968 (Recommended Dietary Allowance (RDA)) para cada nutriente, garantindo que cada nutriente seja fornecido para todas as faixas etárias.

** As DRIs (Dietary Reference Intakes) são as mais recentes recomendações dietéticas estabelecidas pelo *Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine* de 1997 a 2001. Os valores mostrados são os mais altos DRIs para cada nutriente.

O valor limite (UL) é o mais alto nível de ingestão considerado seguro para utilização para adultos, incorporando um fator de segurança. Em alguns casos, valores mais baixos de ULs podem ser estabelecidos para crianças.

Recomenda-se que mulheres em idade fértil tomem 400 mcg de ácido fólico sintético proveniente de alimentos fortificados e suplementos alimentares, em adição à dieta normal.

Recomenda-se que pessoas com mais de 50 anos, tomem vitamina B12 recomendadas através de alimentos fortificados ou suplementos, melhorando a biodisponibilidade.

ND - Valor limite não determinado. Não há efeitos adversos observados em altas ingestões do nutriente.

*DRIs

O distúrbio no metabolismo do **folato** e da metionina também é causado pela deficiência de vitamina B12, portanto, o **folato** fica retido na forma de metiltetrahidrofolato, tornando-o indisponível para outras reações, incluindo a síntese de timidina essencial na síntese de DNA.

Sabe-se que a insuficiência de **folato** é um risco para DTN e há controvérsias sobre a insuficiência de vitamina B12 e sua associação com o risco aumentado para DTN. Atualmente estuda-se essa associação e RAY (2003) relata que parece haver uma moderada associação entre insuficiência materna de vitamina B12 e o risco de fetos com DTNs, a partir de um artigo revisional com 17 estudos encontrados desde 1980 até outubro de 2002.

SUAREZ (2003) em estudo caso-controle analisou essa associação na população mexicana e conclui que o nível sérico insuficiente de vitamina B12 pode ser um importante fator etiológico para DTN.

2.3 Defeitos de Tubo Neural (DTN)

Nos Estados Unidos, os defeitos de tubo neural ocorrem em aproximadamente 1 em 1000 nascimentos, são causa importante de morbidade e mortalidade perinatal, e só são ultrapassados em frequência pelos defeitos cardíacos congênitos. No início da década de 90, aproximadamente, 1,3% de todas as mortes de conceitos nos Estados Unidos foram por DTN. Na China, as taxas de DTN têm variado de 6 a 13 por 1000 nascimentos, seguido pela Irlanda com 6 por 1000 nascimentos. Aproximadamente 2.500 a 3.000 crianças com DTN nascem nos Estados Unidos a cada ano. (ROSE e MENNUTTI, 1994).

Aproximadamente 4.000 grávidas nos Estados Unidos são afetadas a cada ano por dois dos DTN (espinha bífida e anencefalia) e estima-se que 2.500 crianças nascem com DTN. (CDC, 1995). O *Center For Disease Control and Prevention (CDC Editorial Note)* destaca que durante 1980 a 1990, foram estimados 18.000 conceitos nascidos com espinha bífida nos Estados Unidos e que em 1990 aproximadamente 5.000 (28%) destas crianças tenham morrido. Custos médicos e cirúrgicos anuais para todas as pessoas com espinha bífida excederam US\$200 milhões de dólares. O custo "per capita" dos pacientes com espinha bífida foi calculado em US\$250.000 dólares.

Figura 3 – Espinha bífida

Estudo Colaborativo Latino-americano de Malformações Congênicas (ECLAMC), efetuado na cidade de São Paulo, registrou 1 caso de DTN em cada 800 nascimentos, no período de 1982 a 1984 (BRUNONI, 1986).

A incidência de DTN varia entre grupos raciais, localização geográfica e outros fatores predispostos como o excesso de exposição ao calor. MILUNSKY e col. (1992) estudaram mulheres americanas que estiveram expostas ao calor (sauna, febre) no primeiro trimestre de gestação e encontrou associação entre exposição e aumento de risco para defeitos de tubo neural.

Há diferenças raciais pronunciadas na prevalência de DTN com taxas mais altas em caucasianos que em latino-americanos e negros com ênfase em taxas muito altas em população migrante da Austrália ocidental. É possível que essas diferenças na prevalência sejam devidas exclusivamente a fatores ambientais como as diferenças na ingestão de nutrientes de **folato** ou algum outro fator ambiental. (SCOTT e col., 1995).

O diagnóstico exato de DTN pré-natal ocorre durante o começo do segundo trimestre da gravidez usando imagens ultra-sonográficas e por análise de alfa-fetoproteína plasmática e do líquido amniótico e acetilcolinesterase do líquido amniótico. Entretanto, mais de 90% dos casos de DTN ocorrem em mulheres que não são identificadas como de risco para estas anomalias. Por outro lado, a taxa de recorrência é extremamente alta, variando de 2% a 5% (CHA, 1996).

O tubo neural é a estrutura embrionária que origina o sistema nervoso do feto. O processo de formação do tubo neural ocorre no primeiro mês de gestação, em 2 etapas distintas denominadas de neurulação primária e secundária. A neurulação primária é a formação do tubo neural da região craniana até a região lombar alta. Na terceira semana pós-concepção, inicia-se a formação do tubo neural com o espessamento do ectoderma e surgimento da placa neural. Com a invaginação deste tecido e a aproximação de suas bordas, dá-se o fechamento do tubo neural. Este fechamento começa na região torácica, progredindo cranialmente, onde se completa aproximadamente no vigésimo quarto dia pós-concepção, e caudalmente o processo se completa aproximadamente no vigésimo sexto dia. O fechamento precoce resulta em espinha bífida e o tardio, em anencefalia. Meningo e Mielomeningocele (espinha bífida) são compatíveis com a vida com comprometimento físico e mental.

Figura 4 – Formação do Tubo Neural

A neurulação secundária é a formação do tubo neural da região lombar e sacral. Grupos de células indiferenciadas localizadas caudalmente ao tubo neural passam por processo de vacuolização e coalescimento, integrando-se em seguida ao eixo do tubo neural já formado. A neurulação secundária se completa por volta da sétima semana de gestação (O'RAHILLY, 1994).

A possibilidade de que o ácido fólico pudesse estar envolvido com essas malformações foi levantada por HIBBARD em 1.964 e o interesse em vitaminas e DTN cresceu a partir de relatos em 1980 por SMITHELLS e colaboradores com uma alta redução na ocorrência de DTN em pacientes com suplementação vitamínica materna.

SAUBERLICH, 1995, relata que o aumento pelo interesse no **folato** nos grupos populacionais é o resultado de três aspectos da vitamina: (1) a associação do baixo nível de **folato** no plasma com elevada concentração de homocisteína plasmática e o risco aumentado de arteriosclerose, (2) o benefício do **folato** na redução da incidência de defeitos de tubo neural, e (3) o efeito do **folato** na ocorrência de câncer.

Estudo duplo-cego e randomizado em mulheres com antecedente de DTN, relata que a suplementação com ácido fólico reduziu o risco de recorrência de DTN em 71% dos casos. (MRC, 1991)

A suplementação de ácido fólico antes da concepção e durante o início da gravidez, pode ser um importante método para prevenir os defeitos do tubo neural. O efeito desta prevenção tem sido comparado com a prevenção da síndrome de rubéola por vacinação antes da criança atingir a idade reprodutiva, ou de diabete embriopática por estrito controle da glicose materna (ROSE e MENNUTTI, 1994).

SCOTT, 1994, mostrou o alto fator protetor em prevenir ocorrência e recorrência de DTN. A ingestão de ácido fólico nos diferentes estudos variou e o consenso foi de que 400 ug de ácido fólico provavelmente fornecem a proteção ideal.

Foram emitidas recomendações pelo *UK Department of Health* e pelo CDC em Atlanta para que todas as mulheres que potencialmente possam engravidar devam consumir 400 ug de ácido fólico por dia para prevenir a ocorrência e 4,0 mg por dia para prevenir recorrência.

WILSON, em 2003, citou que mulheres em idade fértil devem ingerir uma quantidade de 0.4 mg a 1.0 mg de ácido fólico por dia e que mulheres com risco para DTN devem ingerir altas doses, de 4.0 mg a 5.0 mg diariamente, estas devem ingerir ácido fólico isoladamente e não em formato multivitamínico, devido a riscos de ingestão excessiva de outras vitaminas, tais como a vitamina A. A definição dessas altas doses deve ter supervisão médica cuidadosa em função do risco de não diagnóstico de deficiência de vitamina B12.

Em 1993, em tentativa de colaborar com a diminuição dos DTN, os *US Department of Health and Human Services* e do *Food and Drug*

Administration decidem fortificar produtos em grão nos Estados Unidos com ácido fólico (CDC, 1993).

BALEN, 1995, observando mulheres atendidas por especialistas para indução de ovulação, onde há consciência da recomendação de suplementação de **folato** no período pré-concepcional, verificou que menos de 3% seguem esta orientação.

Questionando mulheres jovens a respeito de ácido fólico, WILD (1996) encontrou entre estudantes de medicina e de biologia, menos da metade estavam cientes dos benefícios do ácido fólico e somente 10% na população geral tinham conhecimento do assunto. A grande maioria nunca tinha ouvido falar em ácido fólico. O mesmo autor acredita que conhecimento sobre **folatos** pode ser efetiva e eficientemente entregues em escolas para poder atingir a conscientização necessária do público alvo.

CZEIZEL, 1996, relata trabalhos onde sugere que o aumento na ingestão de **ácido fólico** pode também ter efeito protetor em doenças coronárias, defeitos de membros, câncer cervical e colo retal. Entretanto, a evidência de prevenção de outros defeitos de nascimento tem menor abrangência. O mesmo autor, em 1998, ressalta que o consumo de alimentos enriquecidos com **ácido fólico** pode ser a melhor maneira de se prevenir as DTN e outras anormalidade congênitas. A suplementação vitamínica no período pré-concepcional é a forma apropriada de prevenção primária, entretanto a grande proporção é de gestações não planejadas.

SHAW e col., 1995 fazem uma investigação para verificar a utilização de multivitamínicos contendo ácido fólico, no período pré-concepcional e durante o primeiro mês de gestação, que poderia estar associado ao risco reduzido de fissura orofacial. Neste estudo caso controle, mulheres na Califórnia que tiveram conceptos com anomalias orofacial e mulheres

controles são avaliadas, entre 1987 e 1989. Os autores encontram risco reduzido (25-50%) de fissura orofacial, nas mães que utilizaram multivitamínicos contendo **ácido fólico**, entretanto não podem associar a redução somente ao ácido fólico, visto que os multivitamínicos continham outros componentes. O consumo de cereal contendo **ácido fólico** também foi associado com a redução do risco da anomalia.

HAYES e col., 1996 realizaram estudos para verificar se a suplementação com ácido fólico no período periconcepcional, pode reduzir o risco de fissuras orais. Calcularam o risco para todas as fissuras orais, fenda palatina e lábio leporino com ou sem fenda palatina. No grupo controle, as mulheres também tinham conceitos com outras anomalias congênitas diferentes das fissuras orais ou defeitos de tubo neural. Os resultados deste estudo não suportam a associação entre o uso de suplementação com ácido fólico e o risco de fissura oral.

Outros estudos mostram que o uso periconcepcional de **ácido fólico** diminui a ocorrência e recorrência de DTN e também de outras malformações congênitas como as fissuras labiopalatinas, algumas malformações do trato geniturinário e os defeitos cardíacos e que doses de 4 mg diários de ácido fólico para mulheres que tenham tido filhos com esses defeitos congênitos são recomendados. (CZEIZEL, 1996; SHAW, 1995).

A suplementação com **ácido fólico** no período pré-concepcional pode reduzir a incidência de prematuros, presença de baixo peso e tamanhos pequenos para a idade gestacional, segundo ROLSCHAU, 1999.

Um estudo de caso controle de implicações para prevenção, propõe que seja implementado pelo médico no cuidado primário de mulheres que planejam gravidez. Se as mulheres com baixas concentrações de **folato** sanguíneo fossem identificadas, o risco de DTN poderia ser reduzido em

mais que 85%. Sem esse delineamento, é improvável ter o mesmo efeito, porque pode ser preciso uma dose mais alta para as mulheres com baixo nível de **folato**. Os autores enfatizam o potencial para prevenir essa condição agora que as mulheres de alto risco podem ser identificadas facilmente com um simples teste de sangue (DALY e col., 1995).

Continuam os debates quanto à taxa de **ácido fólico** requerida para resposta hematológica. A maior preocupação com relação ao uso de **ácido fólico** é que ele pode mascarar a anemia perniciosa que pode ser seguida de uma futura deterioração do sistema nervoso (BERESFORD, 1994).

Em 1996, TUCKER e col. publicaram os benefícios da fortificação de **folato** em cereais, elevando o nível de 140ug para 100mg. No ano seguinte, BRANTIGAN (1997), aponta a preocupação com relação ao risco de mascarar uma possível deficiência de vitamina B12, escondendo uma anemia macrocística. Ele enfatiza que pacientes devam ingerir **ácido fólico**, mas questiona quanto à taxa que deva ser administrada à população durante a suplementação.

BROWN, 1997, refere à suplementação na dieta de mulheres em idade reprodutiva com 400µg de **ácido fólico** por dia, aumentando efetivamente as concentrações de **folato** intra-eritrocitário associados ao baixo risco de DTN. O autor enfatiza que a concentração protetora do **folato** intra-eritrocitário pode ser obtida por elevação no consumo de vegetais verdes, frutas e cereais fortificados com **ácido fólico** no café da manhã.

Estudo caso controle entre gestantes que apresentavam fetos com DTN e gestantes com fetos normais, foi realizado por KIRKE e col. (1993) dosando-se vitamina B12 plasmática, **folato** plasmático e intra-eritrocitário, com valores significativamente mais baixos no grupo estudo.

Numa revisão da literatura com sete estudos caso controle com concentrações de **folato**, RUSH (1994) encontra diferença significativa, com concentrações de **folato** plasmático mais baixos no grupo estudo, foi encontrada em apenas um dos sete trabalhos e em duas das publicações foram encontradas concentrações mais baixas de **folato** intra-eritrocitário.

SCOTT e col., 1994 realizaram um estudo caso controle entre mulheres com antecedentes de gestação afetada por DTN e mulheres sem antecedentes, dosando **folato** plasmático e vitamina B12. Não encontram diferença significativa nos grupos analisados e relatam que muitos casos não são clinicamente deficientes em nenhuma das vitaminas, sugerindo metabolismo prejudicado nas funções de uma das vitaminas.

Em estudo de caso controle realizado WILD e col. (1993), entre mulheres com e sem história de DTN, dosando-se **folato** sérico e intra-eritrocitário e analisando a ingestão de **folato** pela dieta, as concentrações sangüíneas não foram significantemente diferentes entre as mulheres analisadas, mas foi observada diferença entre a ingestão e as concentrações encontradas no sangue: nas mulheres do grupo controle houve correlação entre ingestão e taxas sangüíneas e nas do grupo estudo não.

WILD e col., 1995 realizaram um estudo semelhante ao anterior, utilizando método específico por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) para determinar concentrações de 5-metiltetrahidrofolato, a forma predominante de **folato** no plasma, em mulheres com histórico de dois fetos afetados por DTN e mulheres controle. Novamente a concentração plasmática não foi significantemente diferente entre os grupos, entretanto a relação entre 5-metiltetrahidrofolato no plasma e **folato** na dieta (assegurado por sete dias de ingestão elevada) diferiu nos dois grupos: mulheres com história de DTN requerem mais **folato** na dieta que as mulheres controle. Os autores sugerem que tais mulheres podem ter

deficiência no metabolismo do **folato**.

Em 1996, em estudo caso-controle realizado por WALD e col., entre gestantes com e sem DTN, encontraram concentrações mais baixas de **ácido fólico** sérico, **folato** intra-eritrocitário e vitamina B12 plasmática, mas a comparação não foi significativa. O mesmo autor, em 2001, analisa os efeitos das doses de ácido fólico e conclui que os níveis de **ácido fólico** na fortificação alimentar devem ser aumentados e recomenda que as mulheres que planejam engravidar devem ingerir 5mg de **ácido fólico** por dia e não 4mg preconizado anteriormente.

A suplementação com **ácido fólico** como prevenção de DTN foi estudada por MILLIS e col., em 1996, e relatam que a suplementação previne alguns dos DTN, mas somente aqueles cujas gestantes apresentaram metabolismo anormal de homocisteína.

SWAIN e col., 1997 realizam um estudo com administração de **folato** em pacientes com doenças cardiovasculares, que apresentaram taxas elevadas de homocisteína. Verificam que, com a administração de **folato**, as concentrações de homocisteína são reduzidas.

Em análise comparativa entre grupos de mulheres com história anterior de DTN e mulheres controle, LUCOCK e col., em 1997, não encontram diferença quanto às concentrações de vitamina B12 plasmática e **folato** intra-eritrocitário, mas as concentrações de homocisteína foram significativamente mais altas no grupo-estudo.

Enquanto os defeitos do tubo neural (DTN) são conhecidos pela heterogeneidade e por ter múltiplas etiologias, a maioria destes defeitos tem sua origem em componentes genéticos e fatores ambientais. A prevenção primária com a suplementação vitamínica tem sido a arma para controlar o fator ambiental, reduzindo o número de malformações.

Entretanto, o mecanismo pelo qual ele ocorre ainda permanece obscuro.

Embora BLOCK e MARSH, 1994, tenham relatado que os benefícios da suplementação sobrepujam os seus inconvenientes, BRANTIGAM, 1997, observa que a deficiência de vitamina B12 é um problema comum no idoso e ainda que esta deficiência é uma condição não benigna podendo acarretar problemas neurológicos bastante avançados por causa da ausência de um sintoma alertando a anemia.

Um simpósio sobre DTN no Reino Unido (BLOCK e MARSH, 1994), acentuou o debate em torno da fortificação alimentar e da suplementação vitamínica, permanecendo algumas controvérsias quanto ao uso de **folato** na gestação.

A promoção do aumento do **folato** está direcionada ao aumento do consumo alimentar, ao uso de suplementação com **ácido fólico** e fortificação de alimentos. CORTÉZ em 2000, lembra que o aumento do consumo alimentar não eleva a concentração sanguínea aos valores requeridos na presença de gestação, que a suplementação medicamentosa só é útil na prevenção da recorrência de DTN visto que a população não está sensibilizada com essa patologia e que a proporção de gestação planejada é muito baixa. Conclui, que a prevenção primária só é possível através da fortificação de alimentos e relata que desde 1º Janeiro de 1999 a população chilena tem a fortificação voluntária na farinha de panificadoras e que a partir de 1º de Janeiro de 2000 a fortificação é obrigatória com 220 µg de ácido fólico para cada 100 gramas de farinha.

O mais recente estudo publicado por CZEIZEL (2003) recomenda a urgência em introduzir um programa mandatário de fortificação em farinhas na Hungria com 4 vitaminas (**ácido fólico**, vitamina B12, B6 e B2) embora já exista um tipo de pão fortificado com **ácido fólico**, vitamina B2 e vitamina B6. Estudo controlado e randomizado com

suplementação de ácido fólico, indica a redução na ocorrência de malformações congênitas cardiovasculares e defeitos no trato urinário. Tem-se demonstrado a associação positiva entre doenças cardiovasculares e hiperhomocisteinemia que é considerada um fator etiológico independente na patogenia de doenças isquêmicas cardíacas, trombose venosa profunda além de doenças vasculares na placenta durante a gestação. Os autores também citam associações encontradas em hiperhomocisteinemia e cânceres, como exemplo, o câncer de cólon. Há uma forte evidência de que as quatro vitaminas (**ácido fólico**, vitamina B12, B6 e B2) podem reduzir a concentração sérica da homocisteína e conseqüentemente os defeitos de tubo neural.

WILSON RD e colaboradores, na revisão realizada em 2003, que antecede a publicação das informações e procedimentos padrões do "*Genetics Committee and Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada*" recomendam que:

- Mulheres em idade reprodutiva devam ser aconselhadas sobre os benefícios da suplementação com **ácido fólico** durante as visitas ginecológicas anuais e teste de Papanicolau, especialmente se uma gravidez é contemplada;
- Mulheres devem ser aconselhadas a manter uma dieta nutricional saudável com ricas fontes de **ácido fólico** tais como brócolis, espinafre, milho, feijão, lentilha, etc.;
- Mulheres que possam engravidar devem ingerir multivitamínicos contendo 0,4mg a 1,0 mg de ácido fólico diariamente;
- Mulheres com risco intermediário ou alto risco para DTN, (diabéticas insulino-dependentes, epiléticas tratadas com ácido valpróico ou carbamazepina), devem ser aconselhadas à suplementação com altas doses de **ácido fólico** (4,0mg a 5,0mg por dia). Neste caso deve ser ingerido **ácido fólico** isolado e não no formato de multivitamínicos, devido ao risco de excessiva ingestão de outras vitaminas como a vitamina A;

- A escolha de 5,0mg de **ácido fólico** por dia deve ter acompanhamento médico, para minimização do risco de deficiência de vitamina B12 não diagnosticada;
- Sinais ou sintomas de deficiência de vitamina B12 devem ser considerados antes do início de uma suplementação com **ácido fólico** em doses maiores que 1,0mg/dia;
- História familiar de três gerações deve ser levantada de mães e pais para identificação de risco elevado de defeitos congênitos (DTN, cardíacos, cromossômicos, genéticos).

MALOUF (2003) do "*Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group*" afirma que **folatos** são vitaminas essenciais ao desenvolvimento do sistema nervoso central e que essa deficiência pode levar às DTNs. Na vida adulta essa deficiência tem sido descrita há décadas por produzir a anemia megaloblástica e mais recentemente, a quantidade de **folato** inadequada, não severa a ponto de produzir anemia, tem sido associada com a elevação da concentração sanguínea do aminoácido homocisteína que por sua vez é risco para doenças arteriais, demência e doença de Alzheimer. Entretanto relata o risco que é atribuído ao **ácido fólico** para pessoas que têm deficiência de vitamina B12 não diagnosticada, podendo ocasionar dano neurológico irreversível ao sistema nervoso central e periférico. Por esta razão, após quatro estudos duplo-cego, randomizados, placebo-controlado em grupos com suplementação com **ácido fólico** com e sem vitamina B12 em pacientes idosos saudáveis e pacientes com algum tipo de demência, recomendam suplementação com ácido fólico envolvendo simultânea administração de vitamina B12.

Não foram encontrados na literatura brasileira estudos que embasassem a relevância da problemática em termos de saúde pública das seguintes variáveis: fumo, número de partos e intervalo interpartal, demonstrando a relevância destes itens no presente estudo.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Os objetivos do estudo foram:

1. Avaliar os níveis de **folato** intra-eritrocitário e vitamina B12 sérica em gestantes, submetidas à administração medicamentosa de ácido fólico.
2. Analisar a dieta usual quanto ao atendimento da demanda de **folato** no período gestacional.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Para atender aos objetivos deste trabalho foram analisadas amostras de 27 gestantes, por ocasião da primeira consulta de pré-natal. O tamanho da amostra foi determinado após estudo estatístico, para comparar as condições de avaliação com o objetivo de estudar um grupo de gestantes em três condições de avaliação.

Para o plano amostral foi utilizado um nível de significância $\alpha = 0.05$ e um poder $\beta = 0,90$ acrescido de 20% para perda esperada em estudo prospectivo.

As gestantes procuraram voluntariamente, os serviços de pré-natal, distribuídas de forma homogênea, nas instituições públicas e privada em diferentes bairros da cidade de São Paulo.

As instituições utilizadas foram:

- Casa Domingos Delascio do Hospital São Paulo UNIFESP
- Serviço de Pré-natal do Hospital Municipal Leonor de Mendes Barros
- Policlínica Taboão

A escolha de instituições públicas e privadas teve como objetivo ter uma amostragem aleatória quanto à variável sócio-econômica. O impacto sócio-econômico não foi objeto de análise neste estudo.

Todas as gestantes foram consultadas sobre a vontade em participar do estudo, sendo obtidas na ocasião da coleta de sangue as assinaturas no **“Termo de Consentimento Livre Esclarecido”**.

Para a inclusão das gestantes neste estudo, os pré-requisitos foram:

- Estar no primeiro trimestre da gestação,
- Não estar ingerindo nenhum complexo vitamínico,
- Não fazer uso de anticonvulsivante,
- Assinar o consentimento livre e esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Desistência da paciente na permanência no estudo,
- Suspensão da ingestão do medicamento,
- Intercorrência obstétrica (placenta prévia, abortamento, pré-eclâmpsia, óbito fetal)

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública da USP para as instituições envolvidas. A assinatura de cada gestante no consentimento livre e esclarecido foi obtida após explicação do objetivo, da importância e dos detalhes do protocolo da pesquisa. Foram assinadas duas vias permanecendo uma, com a gestante.

As gestantes realizaram coleta sanguínea em 3 tempos distintos, antes do uso de **folato**, 30 e 60 dias após o primeiro dia do uso do ácido fólico na concentração de 2 mg diárias ingerindo 1 (um) comprimido ao dia. O medicamento utilizado foi o Endofolin® fornecido pelo Laboratório Marjan.

Foram colhidos 10ml de sangue venoso da face anterior do antebraço para determinações laboratoriais. Uma parte do sangue (7ml) foi colhida em tubo seco que, após retração do coágulo, foi centrifugado a 2.500 rpm durante 10 minutos. Os soros foram separados em tubos plásticos tipo "Eppendorf" e posteriormente congelados a -20°C. O soro foi utilizado para a dosagem das concentrações séricas de vitamina B12. Os 3ml restantes de sangue foram colhidos em tubo com anticoagulante (EDTA), para a realização de determinações do **folato** intra-eritrocitário e do

hematócrito.

As amostras de sangue das gestantes foram analisadas pelo laboratório de Hematologia da Fundação Pró-sangue do Governo do Estado de São Paulo.

4.2 Análise Laboratorial

Para determinação do ácido fólico intra-eritrocitário e da vitamina B12 sérica, foi utilizado o equipamento Access e o método de quimioluminescência que é baseado na detecção da luz emitida como resultado de uma reação química na qual os fótons produzidos são quantificados e o resultado é comparado aos valores de referência.

Para a dosagem do **folato** intra-eritrocitário foi realizada a lise da amostra, no máximo até 3 horas após a coleta sanguínea e congelada a -20°C. Todas as amostras de sangue foram analisadas, sem que o analista pudesse identificar a amostra.

4.2.1 Valores de Referência

Foram utilizados os seguintes valores de referência pela metodologia empregada:

- Valores abaixo de 180 pg/ml foram considerados inadequados para vitamina B12 e valores iguais ou superiores a 180 pg/ml foram considerados adequados.
- Valores abaixo de 199 ng/ml foram considerados inadequados para o folato intra-eritrocitário e valores iguais ou superiores a 199 ng/ml foram considerados adequados.

4.3 Análise Dietética Nutricional

A análise dietética nutricional foi realizada através das respostas do questionário preenchido pelas gestantes, durante a primeira coleta sanguínea. O questionário teve como objetivo verificar a frequência e qualidade alimentares, possibilitando a estimativa da qualidade de

ingestão dietética de ácido fólico e de vitamina B12.

A avaliação foi realizada com a utilização do Programa Excel e do Software "Virtual Nutri" (PHILIPPI ST, 1996), para verificação da qualidade de ingestão destes nutrientes no grupo estudado.

O instrumento para estimar a ingestão dietética neste estudo, foi adaptado, pela autora desta pesquisa, para a ingestão de **folato** e vitamina B12, a partir de "*Food Frequency Questionnaire*" criado e desenvolvido para estudos epidemiológicos caso-controle (BLACK, 1993), utilizando a tabela de Krause (MAHAN, 1998).

4.4 Análise dos dados do Questionário de Frequência Alimentar (QFA)

Para a análise dos dados do QFA, as porções dos alimentos nas diferentes frequências assinaladas pelos entrevistados, foram convertidas para a frequência diária. Para isso, multiplicou-se fatores de conversão para cada porção de alimento em determinada frequência (Tabela 3).

Para a obtenção de cada fator, dividiu-se o número de vezes de consumo do alimento pelo período (dias).

Por exemplo:

$$1x\text{ semana} = \frac{1\text{ dia}}{7\text{ dias}} = 0,14$$

Tabela 3 - Fatores de conversão utilizados para análise do QFA

Frequência	Fator de conversão
1x semana	0,14
2x semana	0,28
3x semana	0,43
4x semana	0,57
5x semana	0,71
1 x mês	0,03

2x mês	0,06
3x mês	0,1
1x 6 meses	0,005
2x 6 meses	0,01
4x 6 meses	0,022

Assim, se o entrevistado assinalou que consumia 100g de peixe 4x semana, pelo cálculo teremos: $100g \times 0,57 = 57g$ de peixe consumido diariamente.

A partir do valor em gramas dos alimentos, em consumo diário, utilizou-se o Software "Virtual Nutri" (PHILIPPI ST, 1996), para obter os valores de ingestão diária de vitamina B12 e **folato**.

Os alimentos no QFA não estão especificados segundo às suas variedades, por isso para realizar o cálculo no "Virtual Nutri" (PHILIPPI ST, 1996), foram considerados os seguintes tipos:

- peixe espada
- banana nanica
- manga haden
- batata holandesa
- leite integral
- cereal de aveia, tipo granola

Para o cálculo não foi considerado o leite em pó, uma vez que as entrevistadas relataram consumir leite líquido. Sendo assim só utilizando os valores do leite fluído.

As medidas caseiras adotadas foram:

- copo de 250 ml
- colher de sopa.

4.5 Análise Estatística

Os dados do questionário, que contemplam a caracterização das gestantes e os dados das medidas foram digitados em planilha Excell. Os dados, de cada gestante pesquisada, relativos à caracterização das mesmas geraram um registro. Já os dados das medidas dos nutrientes foram digitados para cada momento da coleta, gerando tantos registros quanto foram os retornos das mesmas.

A seguir, foi realizado um pareamento, ou seja, os registros das medidas foram colocados em mesmo registro que posteriormente foi agregado ao registro da caracterização da gestante.

As medidas do **folato**, da vitamina B12 e do hematócrito, foram tomadas em três momentos. A comparação para a verificação da existência de diferença entre os três momentos foi realizada através de testes não paramétricos em função das medidas não apresentarem uma distribuição normal e ao número de casos que passaram pelos três momentos de coleta (20).

A comparação entre os três momentos foi feita através do teste de Friedman -*Two-way Friedman Analysis* - (SIEGEL, 1999).

Para fins da verificação da melhora das gestantes em relação à adequação do consumo da vitamina B12 e do **folato** nos três momentos, procedeu-se à reclassificação das medidas segundo a adequação e inadequação das concentrações destes nutrientes. Através de tabelas, as medidas classificadas foram comparadas para a verificação da mudança da classificação entre dois momentos, ou seja, entre os momentos 1 e 2, 2 e 3 e entre os momentos 1 e 3, onde momento 1 é a realização da primeira coleta sanguínea sem o uso do medicamento; momento 2 é na segunda coleta sanguíneas após 30 dias do uso do medicamento e momento 3, após 60 dias do uso do medicamento. O teste utilizado foi o de McNemar (Prova de McNemar para significância das mudanças) (SIEGEL, 1999).

O consumo dos nutrientes, **folato** e vitamina B12, obtido através do inquérito alimentar foi comparado com o valor correspondente dos exames. A comparação foi realizada através do coeficiente de correlação de postos de Kendall (SIEGEL, 1999).

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

5. RESULTADOS

5.1 Características das gestantes

A média de idade das gestantes no dia da primeira coleta sanguínea foi de 28,4 anos com desvio padrão de 7,3 anos. A média da idade gestacional na primeira coleta sanguínea foi de 10,6 semanas com um desvio padrão de 2,2 semanas. Outras características estão descritas abaixo.

Distribuindo as gestantes por grupos de **escolaridade**, encontramos 8 (29,6%) com 1º grau; 17 (63,0%) com 2º grau e 2 (7,4%) com grau de escolaridade superior (Tabela 4 e Gráfico 1).

Tabela 4 - Distribuição de frequência das gestantes segundo a escolaridade

Escolaridade	N	%
1º. Grau	08	29,6
2º. Grau	17	63,0
Superior	02	7,4
Total	27	100,0

Gráfico 1 - Escolaridade das gestantes

No grupo estudado contamos com 7 **primigestas** e 20 **multigestas**. Das primigestas, 42,9% apresentaram concentração inadequada de **folato** intra-eritrocitário e de vitamina B12. Das multigestas, 45%

apresentaram concentrações inadequadas de **folato** e 30% apresentaram inadequação quanto à concentração da vitamina B12 na primeira coleta sanguínea (Tabelas 5 e 6; Gráficos 2 e 3).

Tabela 5 - Numero de gestações e concentração de folato

Gestações	Concentração de Folato Intra-eritrocitário					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Primigesta	3	42,9	4	57,1	7	100,0
Multigesta	9	45,0	11	55,0	20	100,0
Total	12		15		27	

Tabela 6 - Numero de gestações e concentração de vitamina B12

Gestações	Concentração de vitamina B12					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Primigesta	3	42,9	4	57,1	7	100,0
Multigesta	6	30,0	14	70,0	20	100,0
Total	9		18		27

Gráfico 2 – Concentrações de folato intra eritrocitário em função da ocorrência de partos

Gráfico 3 – Concentrações de vitamina B12 em função da ocorrência de partos

Das multigestas com **intervalo interpartal** maior que dois anos, 43,8% apresentaram concentração inadequada de **folato** e 18,8% concentração inadequada de vitamina B12. As gestantes com intervalo interpartal menor que dois anos apresentaram inadequação de **folato** em 50% delas e inadequação de vitamina B12 em 75% delas (Tabelas 7 e 8; Gráficos 4 e 5).

Tabela 7 - Multigestas segundo intervalo interpartal e concentração de folato intra eritrocitário

Intervalo Interpartal	Concentração de Folato Intra-eritrocitário					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Menos 2 anos	2	50,0	2	50,0	4	100,0
2 anos ou +	7	43,8	9	56,2	16	100,0
Total	9		11		20	100,0

Tabela 8 - Multigestas segundo intervalo interpartal e concentração de vitamina B12

Intervalo Interpartal	Concentração de vitamina B12 sérica					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Menos 2 anos	3	75,0	1	25,0	4	100,0
2 anos ou +	3	18,8	13	81,2	16	100,0
Total	6		14		20	100,0

Gráfico 4 - Concentração de folato intra eritrocitário em multigestas de acordo com o intervalo interpartal

Gráfico 5 – Concentração de vitamona B12 em multigestas de acordo com o intervalo interpartal

Dentre as **fumantes**, 48% apresentaram deficiência de **folato** e 32% estavam deficientes em vitamina B12 (Tabelas 9 e 10; Gráficos 6 e 7). No grupo estudado não houve relato de **alcoolismo**.

Tabela 9: Hábito de fumar e a concentração de folato intra eritrocitário

Hábito de Fumar	Concentração de Folato Intra-eritrocitário					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Não	12	48,0	13	52,0	25	100,0
Sim	0	0,0	2	100,0	2	100,0
Total	12		15		27

Gráfico 6 – Concentração de folato intra eritrocitário e o hábito de fumar

Tabela 10: Hábito de fumar e a concentração de vitamina B12

Hábito de Fumar	Concentração de vitamina B12 sérica					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Não	8	32,0	17	68,0	25	100,0
Sim	1	50,0	1	50,0	2	100,0
Total	9		18		27

Gráfico 7 – Concentração de vitamina B12 e o hábito de fumar

As gestantes foram questionadas a respeito do **conhecimento do folato como prevenção** de malformações em fetos e 19 (70,4%) relataram não ter essa informação. Delas, 47,4% estavam com concentrações inadequadas desse nutriente e 31,6% apresentavam deficiência em vitamina B12. Das 8 (29,6%) que relataram ter conhecimento do **folato** como prevenção de malformações, 37,5% estavam deficientes de **folato** e de B12 (Tabelas 11 e 12; Gráfico 8).

Tabela 11: Conhecimento prévio de folato como preventivo de malformações fetais segundo a concentração de folato

Conhecimento Folato	Concentração de Folato Intra-eritrocitário					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Não	9	47,4	10	52,6	19	100,0
Sim	3	37,5	5	62,5	8	100,0
Total	12		15		27

Gráfico 8 – Conhecimento prévio das gestantes em relação à prevenção de malformações e a concentração de folato

Tabela 12: Conhecimento prévio de folato como preventivo de malformações fetais segundo a concentração de vitamina B12

Conhecimento Folato	Concentração de vitamina B12					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Não	6	31,6	13	68,4	19	100,0
Sim	3	37,5	5	62,5	8	100,0
Total	9		18		27	

5.2 Resultados laboratoriais

Do grupo de 27 gestantes, 6 (seis) delas realizaram somente a primeira coleta sanguínea, uma realizou a primeira e segunda coletas, e 20 (vinte) realizaram todas as coletas (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Coletas de amostras nos três momentos

O **folato** intra-eritrocitário e o hematócrito apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os 3 momentos distintos. Já a vitamina B12 não mostrou diferença estatisticamente significativa.

Das 21 gestantes que realizaram as duas primeiras coletas sanguíneas, inicialmente, 10 (47,6%) apresentaram concentrações adequadas de **folato** intra-eritrocitário e 11 (52,4%) apresentaram-se inadequadas em **folato** na primeira coleta.

Das 11 (onze) gestantes que apresentaram concentrações inadequadas de **folato** na primeira coleta sanguínea, 7 (63,6%) apresentaram-se com concentrações adequados na segunda coleta (Tabela 9). As que tinham concentrações sanguíneas adequadas de **folato** intra-eritrocitário na primeira coleta permaneceram com taxas adequadas na segunda e terceira coletas.

Tabela 13: Comparação da adequação da concentração de folato intra-eritrocitário entre as coletas 1 e 2

Coleta 1	Coleta 2					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Inadequado	4	36,4	7	63,6	11	100,0
Adequado	0	0,0	10	100,0	10	100,0
Total	4		17		21	

McNemmar Test - p = 0,0156 *

Das quatro gestantes com taxas inadequadas na segunda coleta, somente três realizaram a terceira coleta e delas, duas (66,7%) passaram às concentrações adequadas na terceira coleta, ou seja, após 60 dias de uso do medicamento.

Das 10 gestantes com taxas inadequadas na primeira coleta, 9 (90,0%) apresentaram concentrações adequadas na terceira coleta (Tabela 14).

Tabela 14 - Comparação da adequação da concentração de folato intra-eritrocitário entre as coletas 1 e 3

Coleta 1	Coleta 3					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Inadequado	1	19,0	9	90,0	10	100,0
Adequado	0	0,0	10	100,0	10	100,0
Total	1		19		20	

McNemmar Test - p = 0,0039 *

Foram encontradas associações estatisticamente significantes em relação à comparação da adequação do **folato** entre os momentos um e dois e os momentos um e três (Teste de McNemmar).

Não foi encontrada nenhuma associação quando comparados as adequações do consumo da vitamina B12 entre os momentos um e dois,

dois e três e um e três (Teste de McNemmar).

Gráfico 10 – Concentração de folato inadequado nos três momentos

No momento 1 – momento da primeira coleta sanguínea, onde 27 gestantes participavam do estudo, 11 estavam inadequadas quanto à taxa eritrocitária de folato. Delas, somente 10 realizaram a segunda coleta e neste momento, 6 gestantes (60%) apresentaram adequação no componente dosado. No momento 3, quando 3 gestantes com folato inadequado realizaram a terceira coleta sanguínea, duas delas (66,6%) permaneceram com valores abaixo do valor de referência.

5.3 Resultados dietéticos

O consumo de **folato** e de vitamina B12 versus concentração sanguínea na primeira coleta, mostra que todas as gestantes apresentaram um consumo inadequado de **folato** no questionário respondido por elas e destas, 11 (40,74%) com inadequação deste nutriente no resultado laboratorial.

No consumo dietético da vitamina B12 encontramos 12 (44,4%) gestantes com consumo diário inferior ao recomendado e 41,7% delas apresentaram inadequação na concentração sanguínea de vitamina B12 (Tabela 15).

Tabela 15 - Comparação entre a adequação de consumo alimentar de vitamina B12 e a concentração sérica

Consumo	Concentração sérica de vitamina B12					
	Inadequado		Adequado		Total	
	N	%	N	%	N	%
Inadequado	5	41,7	7	58,3	12	100,0
Adequado	4	26,7	11	72,3	15	100,0
Total	1		19		27	

Pelo consumo alimentar usual das gestantes analisadas neste estudo, os alimentos que mais participaram no fornecimento de **folato** foram em ordem sequencial: o pão francês, seguido pelo mamão papaia, feijão cozido e alface. Já para a vitamina B12 o alimento que mais participou foi o bife de fígado de boi, em seguida o leite, o peixe e o ovo de galinha (Ver anexo 6).

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Houve uma dificuldade muito grande para encontrar gestantes que preenchessem os critérios pré-estabelecidos para inclusão neste estudo. O comentário pertinente é que o critério de estar no primeiro trimestre de gestação acrescido do critério de não estar ingerindo vitamina é que inviabilizou a utilização de uma amostra maior. Acreditamos ter dois grupos de gestantes, as que procuram o atendimento pré-natal após o primeiro trimestre de gestação e, um grupo menor que procura atendimento precocemente e pela característica deste grupo (de se cuidar mais) elas já chegam ingerindo multivitamínicos.

Para estudos similares é altamente recomendável a execução de um estudo piloto para a identificação e minimização das dificuldades encontradas.

Cabe ressaltar o alto custo das dosagens laboratoriais especialmente o *kit* para a realização da hemólise para determinação do ácido fólico eritrocitário. Um dos componentes deste kit é um liofilizado que após reconstituição permanece estável somente 15 dias em geladeira. Somente o liofilizado tem um custo de quase R\$ 2.000,00 que em função da pequena demanda de gestantes no período de 15 dias, torna essa determinação inviável para qualquer estudo. Este foi também outro grande limitador da amostra atingida neste trabalho.

A literatura descreve que a determinação do folato intra-eritrocitário realizada neste estudo é mais efetiva e eficiente que a determinação do folato sérico entretanto, em função deste alto custo cabe a sugestão para a realização de estudos com determinação de ácido fólico sérico e intra-eritrocitário com vista a determinar a real eficiência da determinação sérica para a população brasileira.

Outra dificuldade foi a perda de seguimento durante o estudo de 25,93% (7 gestantes) devido aos seguintes motivos:

- 1 aborto
- 1 internação – ficou sem o medicamento por 15 dias
- 1 médico mudou o medicamento
- 3 gestantes pararam a medicação por conta própria
- 1 gestante viajou para fora do estado de S.P.

Coleta domiciliar foi oferecido as 10 gestantes que não retornaram na data agendada. Esta ação teve sucesso em 3 gestantes e consideramos ter sido uma medida que minimizou a perda de seguimento.

As gestantes submetidas ao protocolo desta pesquisa foram analisadas quanto às **características**:

- Grau de escolaridade
- Número de gestações (primigestas ou multigestas) e Intervalo interpartal (maior que dois anos)
- Fumo e Alcoolismo
- Informação do **folato** como prevenção de malformações

Alguns comentários relacionados a cada característica são realizados a seguir, lembrando que é pequeno o número de casos avaliados neste estudo para subdivisão em grupos.

6.1 Grau de escolaridade

Assumindo que o grau de escolaridade possa refletir a situação socioeconômica, as gestantes deste estudo foram distribuídas em 3 grupos e analisadas as concentrações sanguíneas dos nutrientes avaliados e encontramos no grupo com 1º grau, 25% das gestantes com **folato** inadequado; 52,9% de inadequação no grupo com 2º grau e 50% no grupo com grau universitário. Com relação à vitamina B12 apresentaram

taxas inadequadas 12,5% das gestantes com 1º grau, 41,2% com 2º grau e 50% com grau superior. Para os dois nutrientes, não foi observada associação entre escolaridade e as concentrações. Este resultado nos leva a pensar que a dieta ocidental usual, para os nutrientes em questão, não sofre interferência da situação sócio-econômica e que a dieta não supre as necessidades de **folato** e da vitamina B12 diante de gestação.

6.2 Número de gestações (primigestas ou multigestas) e Intervalo interpartal

Concentrações inadequadas de **folato** e vitamina B12 foram encontradas de forma semelhante no grupo das primigestas e multigestas o que nos leva a crer que esta característica não é relevante e, no grupo das multigestas, quando observado o intervalo interpartal menor que 2 anos, encontramos uma diferença significativa na deficiência da vitamina B12, ou seja, quando o intervalo interpartal é menor que 2 anos observa-se uma porcentagem maior de gestantes com deficiência de B12 comparado as gestantes com intervalo interpartal maior que 2 anos.

6.3 Fumo e Alcoolismo

Na literatura encontramos citações que relacionam o fumo e o álcool como fatores contribuintes para a diminuição do **folato** no organismo humano (SAUBERLICH, em 1995). Apesar disto, neste grupo analisado não houve uma maior deficiência no grupo das fumantes comparado ao grupo das não fumantes e nenhuma gestante relatou presença de alcoolismo.

6.4 Informação sobre o folato como prevenção de malformações

BALEN em 1995 verificou que menos de 3% das mulheres que tinham conhecimento da necessidade do uso do **folato** como prevenção de anomalias, seguem essa recomendação. Quase 10 anos depois, no presente estudo cujo critério de inclusão era não estar ingerindo nenhuma vitamina, encontramos quase 30% que conheciam esta recomendação e

que também não a seguiram, como consequência, quase 40% delas estavam com essa deficiência. É um quadro preocupante que reforça a necessidade de estudos como este, onde as atitudes preventivas são enfocadas.

Se a recomendação de prevenção não atinge um grande número na população, cabe pensar em fortificação. Neste aspecto, GREEN T, em 2003 desenvolve um estudo com fortificação alimentar e simulação de ingestão de ácido fólico e conclui que o melhor cenário é fortificar pães, entretanto, relata que é impossível fortificar alimentos assegurando que as mulheres em idade reprodutiva recebam mais que 400 µg de ácido fólico por dia sem expor outras pessoas a excessivas quantidades de **folato**. No questionário alimentar, utilizado neste estudo, o pão aparece como o alimento que mais contribuiu para o consumo de **folato**, confirmando a simulação de ingestão de ácido fólico, realizada no estudo de Green T, acima citado.

Após a recomendação mandatária do FDA (*Food Drug Administration*) em 1º/Janeiro/1998 para fortificar cereais, e a recomendação do consumo de 400 µg/dia de **folato** a mulheres em idade reprodutiva, pelo PHS (*Public Health Services*) em 1992, é interessante verificar os recentes artigos (MMWR, Sep 2002; Johansson M, Dez 2002; Olney RS, 2002; Rader JI, 2002; Reisch HS, 2002) que abordam a fortificação com ácido fólico em cereais onde se observa que as concentrações sanguíneas de **folato** aumentaram e que a recomendação da ingestão diária de **folato** para prevenção de DTN não atinge satisfatoriamente o grupo envolvido. Neste estudo, com 70% das gestantes sem a informação de **folato** com prevenção de DTN, observamos que esse cenário também ocorre aqui no Brasil.

Vale a pena ressaltar o estudo de Rinsky-Eng J (2002) com mulheres que tiveram fetos com DTN onde 9 anos após a recomendação nacional de

consumir 4 mg de ácido fólico diariamente antes de outra gestação para prevenção de recorrência de DTN, somente 47% desse grupo seletivo de mulheres conheciam esta recomendação. O autor relata que essas mulheres foram receptivas no recebimento desta informação. Este resultado nos remete a questionar a qualidade do atendimento e a conscientização dos profissionais envolvidos com estas gestantes especialmente no pós-parto.

As gestantes foram submetidas aos exames laboratoriais e responderam ao questionário dietético alimentar.

Comentários relacionados aos **resultados** deste estudo são realizados a seguir:

- Concentrações de **folato** intra-eritrocitário (dias 0, 30 e 60)

A diferença estatisticamente significativa encontrada nas concentrações de **folato** intra-eritrocitário é justificada pela intervenção do medicamento ingerido pelas gestantes. A conduta médica adequada para a gestante ingerir 2 mg/dia de ácido fólico medicamentoso eleva as concentrações eritrocitárias de **folato** em todas as gestantes. A atenção deve-se voltar àquelas gestantes que estavam com concentrações sanguíneas inadequadas na primeira coleta. No grupo em estudo, elas representaram 52,4%. A resposta ao medicamento foi satisfatória visto que 30 dias após o uso do medicamento 11,1% permaneciam inadequadas e 60 dias após o medicamento 3,7% estavam com concentrações abaixo do valor de referência.

- Concentrações de vitamina B12 sérica

Os resultados encontrados nas concentrações da vitamina B12 com 2mg/dia de **folato**, com 60 dias de acompanhamento laboratorial, não reforçam a preocupação com relação à diminuição da vitamina B12 na presença da suplementação com **folato** (BERESFORD, 1994; RADER JI.,

2002; WILSON, 2003). Novas investigações com mais de 60 dias de acompanhamento pós-medicação e com outras dosagens de **folato**, são aconselháveis.

- Avaliação dietética nutricional

Os resultados dessa avaliação indicam uma população carente com padrão alimentar inadequado para atender a demanda da gestação. Isso reforça que a intervenção medicamentosa procede. O retrato encontrado foi inadequado nas concentrações sanguíneas para os dois nutrientes analisados. A intervenção medicamentosa mudou o perfil nutricional mas ressaltamos a necessidade de intervenção para a população em geral visto que para as malformações, intervir no início da gravidez pode ser tarde.

Os quatro alimentos que mais contribuíram para o consumo de **folato** pela dieta usual das gestantes são de fácil acesso a toda população e como todas as gestantes apresentaram consumo alimentar inadequado para este nutriente, como sugestão, acreditamos que a fortificação de pães seria conveniente. A fortificação alimentar com **folato** pode mascarar deficiências de vitamina B12, portanto o ideal seria oferecer à população pão enriquecido com **folato** e com vitamina B12.

Para o consumo da vitamina B12, acreditamos que orientação nutricional pode melhorar acentuadamente o quadro encontrado e que há necessidade de estudos voltados a esta análise. Com vistas à fortificação alimentar e pensando somente na vitamina B12, o adequado seria fortificar o leite, componente que aparece no questionário desta pesquisa como o segundo alimento na contribuição do consumo desta vitamina, além de ser de fácil acesso à população e consumido, também, por idosos que são conhecidamente deficientes nesta vitamina. Entretanto, se existir o pão enriquecido com **folato** e também com vitamina B12, não haveria a necessidade de fortalecimento do leite, que já é fonte de **folato**.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Para a diminuição da prevalência dos DTNs a conduta de receitar ácido fólico para as gestantes não é suficiente, visto que o tubo neural fecha-se nos primeiros 26 a 28 dias pós-concepção e neste período, no grupo analisado neste estudo, mais da metade apresentou deficiência em **folato** no exame laboratorial e todas elas, ou seja, 100% das gestantes apresentaram consumo insuficiente desse nutriente na dieta usual. Esse resultado indica que a população tem um padrão inadequado e com vistas a uma ação em Saúde Pública, a intervenção medicamentosa deve ser iniciada previamente à gestação.

Há necessidade de campanhas nacionais de conscientização da população brasileira sobre a importância de **ingestão de ácido fólico medicamentoso**, pelo menos 2 meses antes da gestação e **orientação nutricional** para a população em geral, elevando-se o consumo de alimentos ricos nos dois componentes aqui analisados.

Outro aspecto fundamental é a necessidade de monitoramento pré-natal constante. Com os resultados deste estudo consideramos imprescindível a inclusão das **dosagens de ácido fólico e vitamina B12 como exames laboratoriais obrigatórios na rotina pré-natal**.

No presente grupo de gestantes, mais da metade (52,4%) após 30 dias de utilização do medicamento, deveriam ter aumentado a dosagem diária de 2mg/dia para 5mg/dia.

Embora a **fortificação alimentar com ácido fólico e vitamina B12** não tenha sido alvo deste estudo, é importante observar que esta pode ser uma boa estratégia para prevenção de DTN e também de outras anomalias, sendo ainda necessários estudos brasileiros, com acompanhamento laboratorial, para determinação do alimento e da

quantidade adequada desses nutrientes a ser utilizada na fortificação.

Recentes estudos analisam a associação entre a insuficiência de vitamina B12 e o aumento do risco de Defeitos de Tubo Neural, porém verificamos que há escassez de estudos enfocando a insuficiência de vitamina B12 e insuficiência concomitante ou não de **folato**.

A pergunta pertinente e atual é se a deficiência de vitamina B12 é fator etiológico para DTN. **Outros estudos brasileiros envolvendo folato e vitamina B12, com diferentes quantidades na suplementação são imprescindíveis.**

Os resultados do presente estudo mostram uma tendência de carência destes elementos na população, realçando a efetividade da intervenção com ácido fólico que poderia modificar este quadro. **Novos estudos pré-gestacionais** são necessários para mostrar a importância de se modificar esse perfil.

Sendo a Saúde Pública imprescindível para a saúde de uma nação, é inconcebível que estudos como este sejam tão escassos no Brasil.

Este trabalho reúne prevenção, baixo custo e utilidade prática, itens que viabilizam uma Política de Saúde Pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achon M, Alonso-Aperts E, Varela-Moreiras G. High dietary folate supplementation: effects on diet utilization and methionine metabolism in aged rats. **J Nutr Health Aging**. 2002;6(1):51-4.

Bailey LB, Cerda JJ. Folacin and iron status and hematological finding in black and Spanish-American adolescents from urban low-income households. **Am J Clin Nutr** 1980; 33: 1997-2001.

Bailey LB. **Folate in health and disease**; New York: Marcel Dekker; 1995. Folate requirements and dietary recommendations; p. 123-51 (Clinical Nutrition in Health and Disease, 1).

Balen A. Minimal compliance with Department of Health recommendation for routine folate prophylaxis to prevent fetal neural tube defects. **Br J Obstetr Gynaecol** 1995; 102:171.

Basu TK & Dickerson JW. Pteroylglutamic Acid (Folic Acid, Folacin) In: **Vitamins in Human Health and Disease**. UK CAB International. 1996. P 86-105

Beresford SA. How do we get enough folic acid to prevent some neural tube defects? **Am J Public Health** 1994; 84: 348-50.

Berger H. Vitamins and Minerals in Pregnancy and Lactation. Nestlé Nutrition Workshop Series. Nestec Ltd., Vevey/Raven Pres. Ltd., New York, vol. 16, 1988.

Black AK, Allen LH, Pelto GH, Mata MP, Chávez A. Iron, vitamin B12 and folate status in Mexico: associated factors in men and women and during pregnancy and lactation. **J Nutr** 1994; 124: 1179-88.

Black AE, Prentice AM, Goldberg GR, Jebb AS, Bingham AS, Livingstone MBE, Coward WA. Measurements of total energy expenditure provide insights into the validity of dietary measurement of energy intake. **J Am Diet Assoc** 1993; 93: 572-9.

Block G, Marsh J, editors. **Neural tube defects**. Chichester (UK): John Wiley; 1994. (CIBA Foundation Symposium, 181).

Brantigan CO. Folate supplementation and the risk of masking vitamin B12 deficiency. **JAMA** 1997; 277: 884-5.

Brown JE, Jacobs DR, Hartman TJ, Barosso GM, Stang JS, Gross MD, Zeuske MA. Predictors of red cell folate level in women attempting pregnancy. **JAMA** 1997; 277: 548-52

Brunoni D. Alto risco genético - aspectos neonatais. **Pediatr Mod** 1986; 21: 415-47.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for use of folic acid to reduce number of spina bífida cases and other neural tube defects. **JAMA** 1993; 269: 1233, 1236-8.

Centers for Disease Control and Prevention. Prevention Program for Reducing Risk for Neural Tube Defects - South Carolina, 1992-1994. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep** 1995; 44(8): 141-2.

Cha SC. Prevenção dos defeitos do tubo neural. In: Moron AF, Cha SC, Isfer EV. **Abordagem multiprofissional em medicina fetal**. 1. ed. São Paulo: Escritório Editorial; 1996. p.99-106.

Chanarin I. Megaloblastic anemic, cobalamin and folate. **J Clin Pathol**

1987; 40: 369-406.

Cortéz MF, Hirsch BS, Pia de La Maza CM. The importance of folic acid in present medicine. **Rev Med. Chile** 2000; 128(2):1-9.

Czeizel AE, Kalinas A. The etiological role of hyperhomocysteinemia in the origin of neural tube defects. **Orv Hetil.** 2003 Oct; 144(40):1981-9.

Czeizel AE. Periconceptional folic acid containing multivitamin supplementation. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol** 1998; 78:151-61.

Czeizel AE. Folic acid and prevention of birth defects. **JAMA** 1996; 275: 1635-1636.

Czeizel AE. Reduction of urinary tract and cardiovascular defects by periconceptional multivitamin supplementation. **Am J Med Genet** 1996; 62:179-83.

Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. **JAMA** 1995;274 (21): 1698-1702.

DRIs - Dietary Reference Intakes: Applications in dietary assessment. Food and Nutrition Board, **Institute of Medicine**, National Academy Press; Washington, D.C.: 2001.

Dudley RF. **Pioneirismo e liderança em quimioluminescência**; 2. ed. São Paulo: Análise; 1995. Imunoensaio por quimioluminescência: uma alternativa ao radioimunoensaio. p. 5-14.

Economides DL, Ferguson J, MacKenzie Iz, Darley J, Ware II, Holmes-Siedle M. Folate and vitamin B12 concentration in maternal and fetal

blood, and amniotic fluid in second trimester pregnancies complicated by neural tube defects. **Br J Obstet Gynaecol** 1992; 99: 22-5.

Emery AEH, Timson J, Watson-Williams EJ. Pathogenesis of spina bifida. **Lancet** 1969; 2: 909-10.

Eskes TKAB. Folates and the fetus. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, **71**: 105-11, 1997.

Green T, Newton R, Bourn D. Estimated folic acid intakes from simulated fortification of the New Zealand food supply. **N Z Med J.** 2003 Jan 24;116(1168):U294. Comment in: **N Z Med J.** 2003 Jan 24;116(1168):U292.

Hayes C, Werler MM, Willett WC, Mitchell AA. Case-control study of periconceptional folic acid supplementation and oral clefts. **Am J Epidemiol** 1996; 143: 1229-34.

Hendler SH. A enciclopédia de vitaminas e minerais. Rio de Janeiro. Editora Campus, 1994.

Hibbard BM. The role of folic acid in pregnancy with particular reference to anaemia, abruption and abortion. **J. Obstet. Gynaecol Br. Commonw** 1964; 71:529-42.

Hilton JJ. Folic acid intake of young women. **J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.** 2002 Mar-Apr;31(2):172-7.

Hytten FG, Leitch I. **The physiology of human pregnancy.** Oxford: Blackwell; 1964. The volume and composition of the blood. p.1- 49.

Hiltberg B, Berglund M, Andersson A, Frank A. Elevated plasma hom

ocysteine in alcoholics. **Alcoholism Clin Exp Res** 1993; 17:687-9.

Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline** [Monograph on line], National Academy Press. Washington D.C. 2000. 592 pages. Available from: URL:<http://www.nap.edu/books/0309065542/html> [2002 Jan 07].

Jackson IMD, Doig WB, McDonald G. Pernicious anaemia as a cause of infertility. **Lancet** 1967; 2: 1159.

Johansson M, Witthoft CM, Bruce A, Jagerstad M. Study of wheat breakfast rolls fortified with folic acid. The effect on folate status in women during a 3-month intervention. **Eur J Nutr.** 2002 Dec;41(6):279-86.

Kirke PN, Molloy AM, Daly LE, Burke H, Weir DG, Scott JM. Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. **Q J Med** 1993; 86: 703-8.

Knowledge and use of folic acid by women of childbearing age - United States, 1997. **MMWR** 1997;46:721-3.

Lambie DG & Johnson RH. Drugs and folate metabolism. **Drugs, 30:** 145-55, 1985.

Lehninger AL. **Princípios de Bioquímica.** 8 ed., São Paulo, Editora Sarvier, 1993.

Lindenbaum J, Allen RH. Clinical spectrum and diagnosis of folate deficiency. In: Bailey LB. **Folate in health and disease.** New York: Marcel Dekker; 1995. p. 43-73.

Lucock MD, Wild J, Lumb CH, Oliver M, Kendall R, Daskalakis I et al. Risk

of neural tube defect-affected pregnancy is associated with a block in maternal one-carbon metabolism at the level of N-5-methyltetrahydrofolate: homocysteine methyltransferase. **Biochem Mol Med** 1997; 61: 28-40.

Magnus P, Magnus EM, Berg K. Increased levels of apo-transcobalamins I and II in amniotic fluid from pregnant women with previous neural tube defect offspring **Clin Genet** 1986; 30: 167-72.

Mahna LK, Escot-Stump S. **Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy**. 9th edition, Philadelphia, EUA. WB. Saunders Company, 1996.

Mahan LK, Escott-Stump S. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo, Roca, 1998. 1179p.

Malouf M, Grimley EJ, Areosa SA.; Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group. Folic acid with or without vitamin B12 for cognition and dementia. **Cochrane Database Syst Rev**. 2003. (4):CD004514.

Medical Research Council (MRC). Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council vitamin study. **Lancet** 1991; 338: 131-7.

Mills JL, Conley MR. Folic acid to prevent neural tube defects: scientific advances an public health issues. **Curr Opin Obstet Gynecol** 1996; 8:394-7.

Mills JL, Tuomilehto Y, Yu KE, Colman N, Blaner WS, Koskela P et al. Maternal vitamin levels during pregnancies producing infants with neural tube defects **J Pediatr** 1992; 120: 863-71.

Milunsky A, Ulcickas M, Rothman KJ, Willett W, Jick SS, Sicj H. Maternal heat exposure and neural tube defects. **JAMA** 1992; 268: 882-5.

MMWR Folate status in women of childbearing age, by race/ethnicity-- United States, 1999-2000. **MMWR** Morb Mortal Wkly Rep. 2002 Sep 13;51(36):808-10.

Molloy AM, Kirke P, Hillary I, Weir DG, Scott JM. Maternal serum folate and vitamin B12 concentrations in pregnancies associated with neural tube defects. **Arch Dis Child** 1985; 60: 660-5.

Moreno JMM. Boyle P, Gorgojo L, Maisonneuve P, Rodriguez JCF, Salvini S Willet WC. Development and Validation of a Food Frequency Questionnaire in Spain. **Intern J Epidemiology** 1993; 22: 512-9.

Nogueira NN. **Estudo comparativo sobre os efeitos da suplementação com ferro (diferentes concentrações), ácido fólico e zinco no estado nutricional de adolescentes grávidas e de seus conceitos.** São Paulo; 1997. [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP]

O'Rahilly R, Muller R. Neurulation in the normal human embryo. In: CIBA Foundation Symposium 181. 1994; West Sussex, England: John Wiley and Sons.

Organización Mundial de la Salud. **Anemias nutricionales.** Ginebra; 1972. OMS - (Serie de Informes Técnicos, 503).

Olney RS, Mulinare J. Trends in neural tube defect prevalence, folic acid fortification, and vitamin supplement use. **Semin Perinatol.** 2002 Aug;26(4):277-85.

Phillip ST, Szarfarc SC, Latterza AR. Programa Virtual Nutri [software]. Versão 1.1 windows. São Paulo. Departamento de Nutrição. Faculdade de Saúde Pública/USP.

Rader JI. Folic acid fortification, folate status and plasma homocysteine. **J Nutr.** 2002 Aug;132(8 Suppl):2466S-2470S.

Rapaport SI. **Hematologia introdução.** 2.ed. San Diego: Rocca; 1990. Anemias megaloblásticas. p. 42-60

Ray JG, Blom HJ. Vitamin B12 insufficiency and the risk of fetal neural tube defects. **BJM.** 2003; 96(4):289-95.

Reisch HS, Flynn MA. Folic acid and the prevention of neural tube defects (NTDs). Challenges and recommendations for public health. **Can J Public Health.** 2002 Jul-Aug;93(4):254-8.

Rinsky-Eng J, Miller L. Knowledge, use, and education regarding folic acid supplementation: continuation study of women in Colorado who had a pregnancy affected by a neural tube defect. **Teratology** 2002;66 Suppl 1:S29-31.

Rolschau J, Kristoffersen K, Ulrich marianne, Grinsted P, et al. The influence of folic acid supplement on the outcome of pregnancies in the county of Funen in Denmark - Part I. **Eur J Obs Gynecol and Rep Biol** 1999; 87:105-10.

Rose NC, Mennutti MT. Periconceptional folate supplementation and neural tube defects. **Obstet Gynecol** 1994; 37: 605-20.

Rose NC, Mennutti MT. Periconceptional folic acid supplementation as a social intervention. **Sem. Perinatol.**, 19: 243-54, 1995.

Rush D. Periconceptional folate and neural tube defect. **Am J Clin Nutr** 1994; 59: 511-6.

Sauberlich HE. Folate status of U.S. population groups. In: Bailey LB. **Folate in health and disease**. New York: Marcel Dekker; 1995. p . 171-194.

Scott J, Weir DG, Kirke PN. Prevention of neural tube defects with folic acid a success but [editorial] **Q J M** 1994; 87:705-7.

Scott JM, Weir DG, Molloy A, McPantlin J, Daly L, Kirke P. Folic acid metabolism and mechanisms of neural tube defects. Block G, March J, editors. **Neural tube defects**. Chichester (UK): John Wiley; 1994. P. 180-91. (CIBA Foundation Symposium 181).

Scott JM, Weir DG, Kirke PN. Folato e defeito de tubo neural. In: Bailey LB. **Folate in health and disease**. New York: Marcel Dekker; 1995. p. 329-60.

Shaw GM, Lammer EJ, Wasserman CR, O'Malley CD, Tolarova MM. Risk of orofacial clefts in children born to women using multivitamins containing folic acid periconceptionally. **Lancet** 1995; 345: 393-6.

Siegel S. **Estatística Não-Paramétrica** ed.: 1999.

Smithells RW, Sheppard S, Schorah J. Vitamin deficiencies and neural tube defects. **Arch Dis Child** 1976; 51: 944-9.

Smithells RW, Sheppard S, Schorah CJ, Seller MJ. Possible prevention of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. **Lancet** 1980; 1: 339-40.

Steegers-Tehunissen RPM, Boers G, Trijbels FJM, Finkelstein JD, Blom HJ, Thomas CMG, Borm GF, Wouters MGAJ, Eskes TKAB. Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor for neural-tube defects? **Metabolism**, **43**: 1475-80, 1994.

Steegers-Theunissen RP. Folate metabolism and neural tube defects: a review. **Eur. J. Obstet. Gyneco. Reprod. Biol**, **61**: 39-48, 1995.

Suarez L, Hendricks K, Felkner M, Gunter E. Maternal serum B12 levels and risk for neural tube defects in a Texas-Mexico border population. **Ann Epidemiol**. 2003; 13(2):81-8.

Swain RA, St Clair L. The role of folic acid in deficiency states and prevention of disease. **J Fam Pract** 1997; 44: 138-44.

Thame G, Guerra-Shinoraha EM, Santos HG, Moron AF. Folato, vitamina B12, ferritina sérica e defeitos de tubo neural. **RBGO** 1998; 20: 449-53.

Thame G, Guerra-Shinoraha EM, Moron AF. Serum folate by two methods in pregnant women carrying fetuses with neural tube defects. **Clinical Chemistry** 2002; 48(7); 1094-5.

Thame G. **Análise comparativa do folato sérico entre gestantes portadoras de fetos com e sem defeitos de tubo neural por dois métodos imunológicos automatizados**. São Paulo; 1999. [Tese de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Tucker KL, Mahnken B, Wilson PWF, Jacques P, Selhub J. Folic acid fortification of the food supply: potential benefits and risks for the elderly population. **JAMA** 1997; 276: 1879-85.

Van Der Put NMJ, Straaten HWM, Trijbels FJM, Blom HJ. Folate, Homocysteine and Neural Tube Defects: An Overview. **Exp Biol Med** 2001; 226(4):243-270.

Vonesh EF. Sample Sizes in the Multivariate Analysis of Repeated Measurements. **Biometrics** 42, 601-10. September 1986.

Wald NJ, Hackshaw AK, Stone R, Sourial NA. Blood folic acid and vitamin B12 in relation to neural tube defects. **Br J Obstet Gynaecol** 1996; 103, 319-24.

Wald NJ, Law MR, Morris JK, Wald DS. Quantifying the effect of folic acid. **Lancet** 2001; 358:2069-73.

Wild J, Lucock MD, Schorah CJ. Periconceptional folate and neural tube defects. **Am J Clin Nutr** 1995; 61:615-6.

Wild J, Schorah C, Maude K, Levene MI. Girls should be taught at school about importance of folic acid [letter]. **BMJ** 1996; 312: 974.

Wild J, Schorah CJ, Sheldon TA, Smithells EW. Investigation of factors influencing folate status in women who have had a neural tube defect affected infant. **Br J Obstet Gynaecol** 1993; 100: 546-9.

Wilson RD, Davies G, Desilets V, Reid GJ, Summers A, Wyatt P, Young D; Genetics Committee and Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. The use of folic acid for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. **J Obstet Gynaecol Can.** 2003 Nov;25(11):959-73.

Winer, B.J. & Michels, K.M. Statistical Principles in Experimental Design. **New York: MacGraw-Hill.** 1991: 928

World Health Organization. **Nutritional anaemias**. Geneva; 1968. WHO- (Technical Report Series, 405).

Yates JRW, Ferguson-Smith MA, Shenkin A, Guzman-Rodrigues R, White M, Clark BJ. Is disordered folate metabolism the basis for the genetic predisposition to neural tube defects? **Clin Genet** 1987; 31: 279-87.

ANEXOS

Anexo 1 – Consentimento livre e esclarecido A 1

Anexo 2 – Questionário da gestante A 2

Anexo 3 – Questionário avaliação nutricional A 3

Anexo 4 – Procedimentos A 4

Anexo 5 – Diário da gestante A 5

Anexo 6 – Estatística dos alimentos A 9

ANEXO 1

***"Folato eritrocitário, vitamina B12 sérica e avaliação dietética
nutricional em gestantes brasileiras com uso de folato
medicamentoso e acompanhamento laboratorial"***

Projeto de pesquisa para doutorado no curso de
Pós-graduação no Departamento de Saúde
Materno-Infantil da Faculdade de Saúde Pública
- U S P

Orientador: Prof. Dr. Antonio Fernandes Moron

Co-orientadora: Profa. Dra. Néia Schor

Doutoranda: Gizele Thame (fones 9169-0102 ou 5083-5407 ramal 206)

Enfermeira: Karina Salinas (fones 9561-7317 ou 6191-6524)

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Para que as gestantes sejam incluídas no estudo, elas precisam preencher os critérios abaixo relacionados:

- Assinar o consentimento livre e esclarecido
- Estar no primeiro trimestre da gestação
- Não estar ingerindo nenhum complexo vitamínico
- Não fazer uso de anticonvulsivante

As gestantes receberão o complexo vitamínico ENDOFOLIN e realizarão 3 coletas sanguíneas para realização das determinações de Ácido Fólico Eritrocitário, Vitamina B12 e eritrograma nos seguintes tempos:

- *Dia 0 – sem o uso de vitaminas*
- *30 dias após o uso do Endofolin*
- *60 dias após o Endofolin.*

Consentimento livre e esclarecido

Estamos desenvolvendo um estudo a respeito do uso de folato em gestantes que têm bebês normais e com malformações especialmente os defeitos de tubo neural (bebês que nascem sem cérebro ou com defeitos na medula espinhal).

Esta pesquisa poderá ajudar a esclarecer a dúvida que hoje os cientistas têm com relação ao uso de folato para as mulheres que estão iniciando uma gravidez.

Os resultados deste estudo poderão vir a evitar problemas nos bebês e beneficiar mulheres que já tiveram filhos com esse tipo de defeito.

Com este experimento, pretendemos verificar os níveis de folato e de vitamina B12 no sangue. Para isso, após sua autorização, serão colhidos, 10 ml de sangue na face anterior do antebraço para realização dos exames laboratoriais (dosagens de folato, vitamina B12 e hematócrito). Este procedimento acontecerá em 3 datas diferentes. A primeira será realizada por ocasião de sua consulta de rotina. Nesta consulta, você receberá a orientação de tomar complexo vitamínico. A segunda coleta sanguínea deverá ser realizada 30 dias após o início do medicamento e a terceira coleta, após 60 dias do início do medicamento.

Estas coletas de sangue serão realizadas com material descartável. Este procedimento apesar de seguro, poderá causar incômodo e dor local, já que é feita uma pequena incisão na pele e na veia. Podem ocorrer também outras reações, tais como vermelhidão e hematomas (manchas roxas). Em raríssimos casos podem ocorrer desmaios após a coleta de sangue. Todas essas reações são de curta duração. A coleta de amostras de sangue durante a gravidez não causa qualquer dano nem afeta o desenvolvimento do feto.

Estes exames serão realizados sem nenhum custo para você e os resultados serão entregues ao seu médico.

Você deverá tomar um comprimido por dia do complexo vitamínico Endofolin® (*Laboratório Marjan*), durante toda a gestação. Você receberá gratuitamente o

medicamento durante todo o período que deverá tomá-lo. Você deverá anotar em seu diário todas as datas em que ingeriu o medicamento. É muito importante que não se esqueça de tomá-lo diariamente.

Você tem total liberdade de recusar-se a participar, bem como poderá tirar este consentimento, em qualquer momento, sem nenhuma penalização ou prejuízo ao seu cuidado. É só comunicar seu médico ou ligar para a enfermeira Karina Salinas no telefone 9561-7317 ou para Gizele Thame, no telefone 9169-0102.

Os questionários anexos deverão ser respondidos por você, e garantimos total sigilo quanto às informações dadas.

Se não entendeu alguma coisa que foi explicada a respeito desta pesquisa, deverá perguntar. Você deverá fazer todas as perguntas que quiser.

Este documento será assinado em duas vias, devendo uma via ficar com você. Antecipadamente agradecemos sua cooperação.

Nome do Médico: _____

Endereço e Telefone: _____

Assinatura: _____ Data: ____ / ____ / 2.003

Nome da autora da pesquisa: *Gizele Thame*

Endereço e telefone: R. Aibi, 146, São Paulo. Fone: (11) 9169-0102

Assinatura: _____ Data: ____ / ____ / 2.003

Entendi tudo que me foi explicado e autorizo minha participação voluntária nesta pesquisa.

Nome da gestante: _____

Assinatura: _____ Data: ____ / ____ / 2.003

ANEXO 2

Protocolo: Folato e B12 em gestantes sem e após uso de vitamina

Paciente nº _____

NOME: _____ RG: _____

Endereço: _____

Fone: _____ Idade: _____ (anos) Escolaridade: _____

Nº de gestações (com a atual): _____ Nº de filhos vivos: _____

Nº de filhos mortos: _____ Nº de abortos: _____

Nº de filhos portadores de anomalias: _____

Gravidez atual - planejada: () Sim () Não

desejada: () Sim () Não () Dúvidas

Data da última menstruação: _____/_____/2.003.

Hoje com _____ semanas de gestação. Data de hoje: ____/____/2.00__.

Data prevista para o parto: _____/_____/_____

Qual o intervalo interpartal? Ou seja, qual o tempo da data do seu último parto para a data prevista do parto desta gravidez?

() Menos de 2 anos () Mais de 2 anos

Uso de vitaminas nesta gestação até a data de hoje: () Não () Sim

Ultra-sonografia: Há diagnóstico de malformações: () Não () Sim

Tipo _____

Você é fumante? () Não () Sim. Quantos cigarros fuma/ dia? _____

Você faz uso de bebidas alcoólicas? () Não () Sim

Com que frequência bebe? () Raramente () Toda semana () Todo dia

Você já ouviu falar sobre o uso de folato para se evitar anomalias fetais?

() Não () Sim Como soube? () Médico Amigo () TV, Livros, etc.

Quando tomou conhecimento?

() Antes da sua primeira gestação () Depois da sua primeira gestação

ANEXO 3

Avaliação da Frequência de INGESTÃO DIETÉTICA de FOLATO e VITAMINA 12

CONSUMO MÉDIO NOS ÚLTIMOS 6 MESES:

Alimento	Nº de vezes						Dia	Semana	Mês	6 Meses	Porção
	0	1	2	3	4	5					
Espinafre cozido	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Aspargo cozido	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Brócolis cozido	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Alface crua	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Fígado de boi	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Rim de boi	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Picanha de boi	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Feijão cozido	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Batata cozida	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Pão francês	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Cereal de aveia	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Nozes/ Amêndoas	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Ovos	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Peixe	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Leite de vaca (pó)	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Leite de vaca (liq)	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Queijo tipo prato	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Mamão papaia	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Banana crua	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Tomate vermelho	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Manga	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	
Pêra	()	()	()	()	()	()	[]	[]	[]	[]	

NOTA: O campo "Porção" deverá ser preenchido com a quantidade média ingerida do alimento em: unidade, concha, copo, xícara, colher, folha, fatia etc.

ANEXO 4**PROCEDIMENTO DIA 0, 30 e 60**

CrITÉRIOS de inclusão	CrITÉRIOS de exclusão
Assinar o consentimento livre e esclarecido	Desistência da paciente na permanência do estudo
Gestantes no primeiro trimestre da gestação	Suspensão da ingestão do medicamento
Não estar tomando complexo vitamínico	Intercorrência obstétrica
Não fazer uso de anticonvulsivante	Abortamento

Procedimento no Dia 0:

Obter o consentimento informado das gestantes que desejarem participar da pesquisa;

Entregar 2 questionários às gestantes, para que sejam respondidos (informações gerais e informações sobre a dieta);

Entregar o medicamento e o diário da paciente;

Realizar a coleta sangüínea.

Procedimento no Dia 30 (30 dias após o início da medicação):

Verificar a adesão das gestantes ao tratamento, pelo diário da paciente;

Realizar a 2ª coleta sangüínea;

Procedimento no Dia 60 (60 dias após o início da medicação):

Recolher o diário da paciente;

Realizar a 3ª coleta sangüínea;

Importante:

→ A 2ª coleta deverá ser realizada o mais próximo possível do 30º dia após o primeiro dia da medicação.

→ A 3ª coleta deverá ser realizada o mais próximo possível do 60º dia após o primeiro dia da medicação.

ANEXO 5

Nome da gestante:

Se você não ingerir a vitamina, favor anotar no local da data, NÃO TOMEI.
É importante que você a tome todos os dias.

1º mês	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia
DATA					

1º mês	6º dia	7º dia	8º dia	9º dia	10º dia
DATA					

1º mês	11º dia	12º dia	13º dia	14º dia	15º dia
DATA					

1º mês	16º dia	17º dia	18º dia	19º dia	20º dia
DATA					

1º mês	21º dia	22º dia	23º dia	24º dia	25º dia
DATA					

1º mês	26º dia	27º dia	28º dia	29º dia	30º dia
DATA					

2º mês	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia
DATA					
2º mês	6º dia	7º dia	8º dia	9º dia	10º dia
DATA					
2º mês	11º dia	12º dia	13º dia	14º dia	15º dia
DATA					
2º mês	16º dia	17º dia	18º dia	19º dia	20º dia
DATA					
2º mês	21º dia	22º dia	23º dia	24º dia	25º dia
DATA					
2º mês	26º dia	27º dia	28º dia	29º dia	30º dia
DATA					

ANEXO 6

Estatísticas descritivas do peso, folato e vitamina B12 por alimento consumido.													
		PESO				FOLATO				VITAMINA B12			
Alimento	N	Soma	Média	DesvioP	Mediana	Soma	Média	DesvioP	Mediana	Soma	Média	DesvioP	Mediana
ALFACE	27	892,9	33,07	44,99	13,68	500	18,52	25,19	7,66	0	0	0	0
ASPARGO FRESCO	2	7,47	3,74	4,9	3,74	9,56	4,78	6,28	4,78	0	0	0	0
BANANA NANICA	24	1769	73,7	92,54	44,07	337,9	14,08	17,68	8,42	0	0	0	0
BATATA HOLANDESA COZIDA	26	1512	58,14	53,78	51,6	151,2	5,81	5,38	5,16	0	0	0	0
BOI FIGADO FRITO	17	180,9	10,64	12,13	8,04	376,3	22,13	25,22	16,72	191,7	11,28	12,85	8,52
BROCOLIS COZIDO	19	152	8	11,09	3	76,01	4	5,55	1,5	0	0	0	0
ESPINAFRE COZIDO	12	115,3	9,61	19,61	2,1	168,4	14,03	28,63	3,07	0	0	0	0
FEIJAO COZIDO	27	3150	116,7	108,6	61,06	646,2	23,93	22,28	12,52	0	0	0	0
GRANOLA	5	85,16	17,03	18,4	14,28	68,98	13,8	14,9	11,57	0	0	0	0
LEITE	1	250	250	.	250	12,5	12,5	.	12,5	0,9	0,9	.	0,9
LEITE ESTERILIZADO INTEGRAL	22	5831	265	309,5	191	291,5	13,25	15,47	9,55	20,99	0,95	1,11	0,69
LEITE EST. INTEG. LONGA VIDA - 3,5% GORD. - PADRAO	1	250	250	.	250	12,5	12,5	.	12,5	0,9	0,9	.	0,9