

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: SAÚDE DA CRIANÇA  
E DO ADOLESCENTE

**CONSUMO HABITUAL DE ALIMENTOS RICOS EM FOLATO COMO UM  
POSSÍVEL FATOR DE PROTEÇÃO PARA A SÍNDROME DE DOWN.**

BRUNA BINOTTO BROGNOLI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil, 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: SAÚDE DA CRIANÇA  
E DO ADOLESCENTE

**CONSUMO HABITUAL DE ALIMENTOS RICOS EM FOLATO COMO UM  
POSSÍVEL FATOR DE PROTEÇÃO PARA A SÍNDROME DE DOWN**

BRUNA BINOTTO BROGNOLI

**Orientadora: Profa. Dra. Lavínia Schüler-Faccini**

A apresentação desta dissertação de mestrado é exigência do Programa de Pós- Graduação em Ciências Médicas: Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil, 2010.

**B866c** Brognoli, Bruna Binotto

Consumo habitual de alimentos ricos em folato como um possível fator de proteção para a Síndrome de Down / Bruna Binotto Brognoli ; orient. Lavinia Schüler-Faccini. – 2010.

71 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Síndrome de Down [2. Prevenção e controle](#) [3. Dieta](#) 4. Hábitos alimentares 5. Ácido fólico [1. Schüler-Faccini, Lavinia II. Título.](#)

NLM: WS 107

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE**

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

07 / 12 / 2010

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

**-Ana Maria Pandolfo Feoli-** Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

**-Maria Teresa Vieira Sanseverino-** Serviço de Genética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**-Têmis Maria Félix-** Programa de Pós Graduação da Saúde da Criança e do Adolescente- Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## AGRADECIMENTOS

Tantos nomes, tantas pessoas...

A começar por aqueles que me deram embasamento teórico para que eu chegasse até aqui, aquelas que mostraram a graça e o dom de ser nutricionista e estudar, pesquisar, exercer e cada vez mais me apaixonar. As minhas professoras da graduação que me “incluiram o gene” do mestrado.

À Dra Vera Valente por ter colocado no meu caminho aquela que foi incansável e me acompanhou por toda esta caminhada: a Dra. Lavínia Schüler-Faccini, minha orientadora, que me acolheu de braços abertos e com seu conhecimento me ajudou e orientou “geneticamente” meu trabalho. Obrigada pela paciência e por acreditar que ao meu tempo, tudo daria certo.

A todos os professores que passaram por mim nestes anos de mestrado, cada qual com sua área, cada qual com seu encanto. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Saúde da Criança e do Adolescente, ao coordenador na minha época de ingresso Dr. Marcelo Goldani e Rosane Blanguer pela paciência e pelas tantas vezes que me orientaram e solucionaram as minhas intermináveis dúvidas. Ao atual coordenador, Dr. Renato Procianoy.

Ao CAPES pelo incentivo à pesquisa e por ter me contemplado com a bolsa. Ao Dr. Roberto Giugliani pela oportunidade de fazer meu estágio didático em uma de suas disciplinas.

Aos meus familiares e amigos que apesar do pouco conhecimento em ácido fólico ou Síndrome de Down, estiveram sempre ao meu lado me incentivando e me dando confiança para que eu chegasse até o final. Meu muito obrigada especial à minha irmã Belisa, companheira incansável, que sempre fez questão de me provar que eu conseguiria e tudo daria certo.

A todos pela paciência, credibilidade e incentivo, meu muito obrigada.

## RESUMO

Objetivo: Verificar se há diferença entre o consumo habitual de folato entre mães de crianças com Síndrome de Down e mães de crianças sem malformações.

Métodos: Foi realizado um estudo de caso-controle, com um total de 100 mães das quais 50, incluídas no grupo caso, apresentavam filhos com Síndrome de Down e 50, consideradas grupo controle, tinham filhos sem malformações congênitas. Aplicou-se um questionário de consumo habitual de alimentos contendo questões relativas à classificação sócio-econômica e ao consumo de alimentos-fonte e alimentos fortificados com esta vitamina. Todas participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Resultados: Entre as variáveis analisadas, somente a quantidade de ácido fólico consumida habitualmente e a idade no momento do nascimento do filho, diferiram-se significativamente entre os grupos. Mães caso consumiram em média 359,1  $\mu\text{g}/\text{dia}$  ( $\text{dp} \pm 91,9$ ) de folato, enquanto as mães do grupo controle, 425,5  $\mu\text{g}/\text{dia}$  ( $\text{dp} \pm 104,3$ ), ( $p=0,001$ ). A idade que tiveram seus filhos foi no grupo caso 27, 5 anos ( $\text{dp} \pm 4,8$ ) de e no grupo controle de 25,4 ( $\text{dp} \pm 5,3$ ), ( $p=0,042$ ). Somente 3,4% das entrevistadas relataram uso de ácido fólico ou polivitamínicos de forma periconcepcional ou em algum momento da gestação.

Conclusões: Embora pelo presente estudo tenha havido diferença significativa entre o consumo de folato no grupo caso e no controle é importante que não se descarte possíveis fatores bioquímicos envolvidos e aqui não avaliados.

Palavras-chave: Fortificação Alimentar. Ácido Fólico. Síndrome de Down. Cuidados Pré-Gestacionais. Defeitos Congênitos. Defeitos do Tubo Neural.

## ABSTRACT

Objective: Check if exists difference between the usual consumption of folate in mothers of children with Down Syndrome and in mothers of children without congenital abnormalities.

Methods: A case-control study was accomplished, with a sample of 100 mothers from which, 50 had children with Down Syndrome and 50, considered group control, children without congenital abnormalities. A questionnaire of quantitative frequency was applied containing questions related to the socioeconomic class and the food-source consumption, and foods fortified with folic acid. All participants signed the Informed Consent Form.

Results: Among the variables in analysis, only the daily amount of folic acid consumed and the age that the mothers had their babies were significant different between the two groups. Mothers of children with Down Syndrome consumed 359,1  $\mu\text{g}/\text{day}$  ( $\text{dp} \pm 91,9$ ) of folate, while the mothers of control group consumed, 425,5  $\mu\text{g}/\text{day}$  ( $\text{dp} \pm 104,3$ ), ( $p=0,001$ ). The age that they had their babies were in group case 27, 5 years ( $\text{dp} \pm 4,8$ ) and in the control group, 25,4 ( $\text{dp} \pm 5,3$ ), ( $p=0,042$ ). Only 3,4% of the interviewee related use of folic acid or others vitamins before or during the pregnancy.

Conclusion: Although in the present study has been a significant difference between the consumption of folate in the case group and in the control, is important not to discard possible biochemical factors involved and here not evaluated.

**Keywords:** Food Fortification. Folic Acid. Down Syndrome. Periconceptional Care. Congenital Defects. Neural Tube Defects.

## LISTA DE ABREVIATURAS

SD- síndrome de Down

EUA- Estados Unidos da América

DTN- Defeito de Tubo Neural

RDA- Recommended Dietary Allowances

QFA- Questionário de Frequência Alimentar

APAE- Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais

AFAD- Associação de Familiares e Amigos do Down.

HCY- Homocisteína.

SAM- S- adenosilmetionina

MTHFR- Metilenotetrahidrofolato

DNA- Ácido desoxirribonucléico

POF- Pesquisa do Orçamento Familiar



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>08</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>09</b>
2.1 SÍNDROME DE DOWN .....	09
2.2 ÁCIDO FÓLICO.....	12
2.3 ÁCIDO FÓLICO E DEFEITOS CONGÊNITOS .....	17
2.4 ÁCIDO FÓLICO E SÍNDROME DE DOWN.....	20
<b>3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO</b> .....	<b>24</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>25</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
5.1 DELINEAMENTO .....	26
5.2 POPULAÇÃO EM ESTUDO .....	26
5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	27
5.4 TAMANHO DA AMOSTRA .....	27
<b>5.5 VARIÁVEIS EM ESTUDO</b> .....	<b>28</b>
5.6 MÉTODOS .....	28
<b>5.6.1 Desenvolvimento do Questionário Dietético</b> .....	<b>28</b>
<b>5.6.2 Teste do Questionário</b> .....	<b>29</b>
<b>5.6.3 Aplicação do Questionário</b> .....	<b>30</b>
<b>5.6.4 Estimativa da quantidade de ácido fólico ingerido</b> .....	<b>31</b>
<b>5.6.5 Análise dos Dados</b> .....	<b>31</b>
<b>5.6.6 Análise estatística</b> .....	<b>32</b>
5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	32
<b>5.7.1 Autorização para pesquisa</b> .....	<b>33</b>
<b>5.7.2 Consentimento Informado Livre e Esclarecido</b> .....	<b>33</b>
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>8 CONCLUSÕES</b> .....	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>45</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>51</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Down (SD) é uma complexa doença genética que resulta da presença e expressão de três cópias dos genes localizados no cromossomo 21 (trissomia do 21). É a mais freqüente e reconhecida forma de retardo mental em humanos. Na maioria dos casos, esta alteração genética ocorre a partir de um erro na segregação do cromossomo 21 durante a meiose.

Aproximadamente, cerca de 96% dos casos de trissomia no cromossomo 21 são de origem materna, enquanto apenas 4% dos casos, são devidos a não-disjunção paterna, seguido em bem menores proporções a não disjunção pós-zigótica. Desde a identificação do primeiro caso de trissomia em humanos, uma série de pesquisas e estudos têm sido realizados com o intuito de esclarecer os fatores que influenciam esta não-disjunção cromossômica na espécie humana.

Há mais de 50 anos a fortificação alimentar tem sido utilizada como recurso para melhorar o estado nutricional das populações suscetíveis a carências nutricionais. Uma dessas formas de fortificação é a que utiliza o ácido fólico na farinha de trigo e de milho. Esta fortificação já vem sendo utilizada há bastante tempo em muitos países e nos últimos anos, no Brasil.

Dentre as possíveis causas que influenciam na taxa de não-disjunção meiótica em nossa espécie, a associação de polimorfismos maternos relacionados ao metabolismo do folato e da homocisteína tem gerado grande entusiasmo entre os pesquisadores.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 SÍNDROME DE DOWN

A Síndrome de Down (SD), ou trissomia do cromossomo 21, é a mais freqüente e reconhecida forma de retardo mental em humanos, com a prevalência de 1 em 700 a 1000 recém nascidos vivos, observando-se um leve decréscimo de prevalência no decorrer de décadas (Eskes,2006; Coppédé et al.,2006). É uma falha relacionada a um erro na segregação cromossômica (Biselli et al.,2008) sendo considerada uma complexa doença genética resultante da presença e expressão de 3 cópias dos genes localizados no cromossomo 21 (James et al.,1999).

Em 1866 a SD foi descrita pelo pesquisador John Langdon Down. O número certo de cromossomos na espécie humana foi descrito em 1956 e com ele, a suspeita de uma anormalidade cromossômica em pacientes com SD só foi comprovada em 1959, por Lejeune e colaboradores (Mérgabané et al.,2009).

Estima-se que 1 a cada 150 concepções sejam com a trissomia no 21, no entanto, 80% destas gestações são interrompidas precocemente por aborto espontâneo (Takamura et al.,2004).

Na maioria dos casos, esta alteração genética ocorre a partir de um erro na segregação do cromossomo 21 durante a meiose materna (Biselli et al.,2008; Coppédè et al.,2006). O processo de não-disjunção que resulta em duas cópias do cromossomo 21 acontece na anáfase da meiose I, durante a maturação do oócito antes do período de ovulação, e/ ou ainda, na anáfase da meiose II, próximo ao referido período (Migliore et al.,2009).

Aproximadamente, cerca de 96% dos casos de trissomia no cromossomo 21 são de origem materna, enquanto apenas 4% dos casos são devidos a não-disjunção paterna, seguido em bem menores proporções a não disjunção pós-zigótica (Kohli et al.,2008; Migliore et al.,2009).

Embora as características clínicas da SD sejam bem conhecidas, permanecem pouco claros os mecanismos pelos quais o cromossomo extra relaciona-se às malformações nestes indivíduos. (Meijer et al.,2006; Coppedè et al.,2006). Recentes progressos em estudos com ratos, sugerem uma associação entre as alterações fenotípicas presentes na SD e a superexpressão de genes específicos (Mérgabané et al.,2009). Um exemplo são as malformações cardíacas congênitas, observadas em 40 a 50% das crianças com síndrome de Down (Meijer et al.,2006 ; Eskes,2006).

Associado à patogênese neurológica, a excessiva síntese de produtos gênicos derivados da super-expressão dos genes presentes no cromossomo 21, é também responsável pelas características dismórficas da SD bem como pela patogênese imunológica e endócrina nestes pacientes (Mérgabané et al.,2009). Cerca de 5% destes pacientes têm anomalias gastro-intestinais e possuem um risco de 15 a 20% de apresentarem mielodisplasia transitória e leucemia (Santos-Rebouças et al.,2008; Meijer et al.,2006).

Embora a percepção da SD como uma doença metabólica ainda não esteja bem esclarecida, a super-expressão de genes que codificam determinadas enzimas levam a aberrações bioquímicas que atuam sobre diversas interações metabólicas resultando na disfunção celular e contribuindo para a patogênese única desta síndrome (Pogribna et al., 2001).

Em 1960, a expectativa de vida de pacientes com a SD era de cerca de 30 anos. Hoje em dia, as cirurgias cardíacas, vacinação, antibióticos, hormônios tireoidianos, tratamento de

leucemia e os anticonvulsivantes promovem um aumento na expectativa de vida destes pacientes que gira atualmente, em torno de 50 anos (Eskes, 2006).

Desde a identificação do primeiro caso de trissomia em humanos, uma série de pesquisas e estudos têm sido realizados com o intuito de esclarecer os fatores que influenciam esta não-disjunção cromossômica na espécie humana. No entanto, estes estudos têm tido pouco sucesso. Até o momento, embora muitas características já tenham sido observadas, como por exemplo, a presença em todas as etnias, entre irmãos gêmeos, somente a idade materna avançada no momento da concepção (superior a 35 anos) foi comprovadamente reconhecida como fator de risco etiológico. (Kohli et al.,2008; Eskes, 2006; Coppedè et al.,2006). No entanto, um grande número de mães com idade materna inferior a 35 anos apresenta filho com SD, o que sugeriria, uma suscetibilidade genética de não-disjunção (Coppedè , 2009).

Estima-se, por exemplo, que o risco de conceber uma criança com SD aos 30 anos, seja de 1 em 1000, enquanto, com idade superior a 40 anos, este risco aumenta para 9 em 1000 (Takamura et al.,2004).

Na década de 70, quando a amniocentese para identificação do cariótipo fetal começou a ser usada, o risco de perdas fetais relacionadas ao procedimento era incerto e por esse motivo o exame só era oferecido a mulheres com 37 anos ou mais, o que representava menos de 5% das gestantes. Hoje em dia, embora 10% das gestações ocorram em mulheres a partir dos 35 anos, 20% a 30% do total das cromossomopatias acontecem nessa faixa etária (Gardiner et al., 2008; Berghella et al., 2010).

Nos últimos anos, diversos estudos têm procurado elucidar possíveis relações entre alterações nos genes responsáveis pelo metabolismo do ácido fólico e o possível risco para a SD em humanos (Kohli et al., 2008).

## 2.2 ÁCIDO FÓLICO

O folato (2-amino-4-hidroxi-6-metilenoaminobenzol-L-glutâmico) (figura 1) é uma vitamina considerada essencial encontrada em carnes, vegetais de folhas verdes, frutas e feijões. É desta forma considerada essencial, por não ser sintetizada pelo nosso corpo, sendo a dieta a sua única fonte (Patterson, 2008; Dary, 2009). A forma sintética encontrada em alimentos fortificados e suplementos alimentares é conhecida como ácido fólico (Patterson, 2008).

O ácido fólico, folato ou vitamina B9 é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B essencial para uma série de reações metabólicas específicas no meio celular e vital para o funcionamento e crescimento normal do organismo (Rasmussen, 2010).

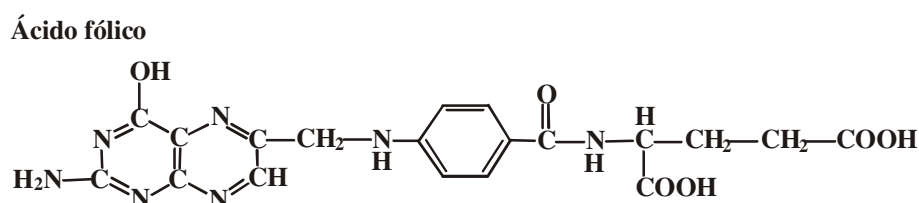
O ácido fólico tem papel fundamental na biossíntese de purinas e pirimidinas e, conseqüentemente, na formação do DNA e RNA, aspecto indispensável ao desenvolvimento fetal (Mezzomo et al., 2007). Esta vitamina, em sua forma sintética ou natural, participa também de outros ciclos metabólicos em nosso corpo, envolvidos com a metilação (Patterson, 2008).

A absorção do folato alimentar em concentrações fisiológicas no homem, é feita principalmente no primeiro terço do intestino delgado (O'Leary, Sheehy, 2001). As reservas normais de folato no organismo variam de 5 a 10 mg, sendo cerca da metade armazenada no fígado sob a forma de poliglutamato (Lucock, 2000).

Esta reserva é suficiente por pouco tempo, de modo que a deficiência de folato pode aparecer aproximadamente em 4 meses quando a dieta é pobre nesta vitamina. A excreção do folato pelo organismo é feita pelas vias urinárias e biliares, sob a forma ativa e inativa (Lucock, 2000).

A deficiência de folato é mais comumente encontrada em países em desenvolvimento e os indivíduos de baixa classe social são os principais afetados além dos adolescentes que possuem uma alimentação especialmente deficiente neste nutriente (Vitolo et al.,2006; Wehby et al.,2009). Esta deficiência pode ser causada por uma ingestão inadequada, absorção deficiente (ex.: alcoolismo), demanda aumentada (ex.: gestação e lactação), metabolismo deficiente, infecções, hemorragia e uso de determinadas medicações (ex.: anticonvulsivantes e contraceptivos) (Wehby et al., 2009).

A ingestão diária, segundo a RDA (*Recommended Dietary Allowances*), deveria ser de 400 µg/dia para homens e mulheres saudáveis, e em função da necessidade aumentada durante a gestação, o recomendado neste período seria de 600µg/ dia (Trumbo et al,2003; Gardiner et al.,2008; Pacheco et al.,2009).



**Figura 1.** Estrutura do ácido pteroilglutâmico (PteGlu 1) (Fonte: Coomes, 1998).

Embora este nutriente seja encontrado em um amplo grupo de alimentos, facilmente ocorre esta deficiência, geralmente associada à baixa ingestão em relação à demanda metabólica. Dentre as principais fontes encontram-se os vegetais de folhas verdes como espinafre, repolho, aspargo e brócolis; em frutas, como laranja e banana e frutas cítricas em geral; e em outros alimentos tais como vísceras, carnes, feijão e ovos. A principal fonte alimentar desta vitamina é, no entanto, o levedo de cerveja (Wehby, et al.,2009)

A perda do folato pode ser bastante acentuada quando os alimentos forem cozidos, podendo reduzir a biodisponibilidade desta vitamina em até 90% ,quando o cozimento ocorrer por um período prolongado (Kaluski et al., 2002).

Visando reduzir a deficiência desta vitamina, em 1998, a Food and Drug Administration (FDA) exigiu a fortificação e o enriquecimento dos cereais e de todas as farinhas com o ácido fólico nos níveis de 140 $\mu$ g/ 100g de farinha de trigo. Esta fortificação tornou-se obrigatória primeiramente nos Estados Unidos da América (EUA), embora quem tenha dado início ao processo tenha sido o Canadá para que então pudesse exportar seus produtos aos EUA (De Wals et al.,2007). A obrigatoriedade da fortificação ocorreu no primeiro dia de 1998 nos EUA e no final do mesmo ano, no Canadá (De Wals et al.,2007). O Chile tornou obrigatória a fortificação em 2000 (López-Camello et al.,2005).

Seguindo estas orientações, o Brasil através da resolução RDC 344 de 2002, obrigou os fabricantes de farinha de trigo e milho a adicionarem no mínimo 150 $\mu$ g de ácido fólico para cada 100 gramas de farinha produzida. Embora decretado em 2002, todos fabricantes tiveram o prazo máximo de Junho de 2004 para fortificação, sendo esta efetivamente colocada em prática entre 2003 e 2004 (Erickson, 2002; Mathews et al,2002; Pacheco et al.,2009).

O objetivo desta fortificação foi de aumentar de 30 a 70% o consumo de ácido fólico na população como um todo.

Os níveis de folato podem ser aumentados com o consumo de alimentos fonte ou com a ingestão de ácido fólico, o componente sintético acrescido à alimentos fortificados ou sob a forma de suplemento dietético (Gardiner et al., 2008).

Este ácido fólico que é acrescido aos alimentos possui uma biodisponibilidade de 85 a 100% enquanto o folato em sua forma natural, presente nos alimentos in natura tem a biodisponibilidade de 50%, além de ser mais suscetível a destruição no cozimento ou preparo (Kaluski et al.,2002).



Os micronutrientes podem ter importante papel na melhoria da saúde reprodutiva de mulheres de países em desenvolvimento. Nos últimos anos, um progresso considerável foi alcançado em relação à compreensão do papel metabólico do folato. Estudos têm evidenciado que deficiência de folato contribui para elevação das concentrações plasmáticas de homocisteína, sendo a principal causa dos defeitos do tubo neural, malformações do sistema nervoso central ocasionadas por desenvolvimento alterado durante a embriogênese (Almeida et al., 2008).

O benefício da suplementação do ácido fólico durante o período periconcepcional na redução do risco de defeitos do tubo neural (DTN), tem sido demonstrada tanto em estudos observacionais como experimentais (De Wals et al., 2007).

Existem ainda pesquisas que apontam a relação entre a deficiência de congêneres do ácido fólico com câncer de cólon, leucemia, doenças mieloproliferativas, certas enfermidades crônicas da pele, além de outras doenças debilitantes crônicas (Dary, 2009). O metabolismo do ácido fólico tem sido extensamente estudado nos DTN, principalmente após o trabalho do MRC, 1991, que refere que o uso de ácido fólico no período periconcepcional seria protetor contra o desenvolvimento de DTN. Além disso, baixos níveis de ácido fólico induzem alterações no metabolismo da metionina que resulta em hiperhomocisteinemia (Ray et al., 2003; Tamura et al., 2006).

Quando em altas concentrações, a homocisteína é auto-oxidada formando peróxido de hidrogênio, espécie reativa que contribui para lesão de células endoteliais. Estudos epidemiológicos mostram que concentração sanguínea elevada de homocisteína é um fator de risco independente para doenças oclusivas vasculares, além de estar associada a aumento de mortalidade por doenças cardiovasculares, maior incidência de demência, doença de Alzheimer e fratura óssea. Particularmente em mulheres, concentrações elevadas de

homocisteína têm se correlacionado a maior risco de desfechos adversos da gestação, como os defeitos do tubo neural (Almeida et al.,2008).

Em seres humanos, a homocisteína, que resulta do metabolismo da metionina, tem dois destinos metabólicos prováveis: a remetilação (dependente de vitamina B12 e ácido fólico como coenzimas) ou a transulfuração (dependente de vitamina B6) (Selhub, 2002).

O ácido fólico normalmente encontra-se associado à vitamina B12 no metabolismo intracelular. A vitamina B12 intracelular (Lucock, 2000), também conhecida como cobalamina, apresenta-se sob duas formas de coenzimas ativas: a metilcobalamina e a desoxiadenosilcobalamina (Lucock, 2000).

O efeito mais pronunciado da deficiência de ácido fólico e vitamina B12 é a diminuição da síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA), devido a menor disponibilidade de purinas e dTMP. Isso leva à parada das células na fase S e uma alteração no tamanho e na forma dos núcleos de células em rápida divisão. O bloqueio na síntese de DNA retarda a maturação de glóbulos vermelhos, causando produção de glóbulos vermelhos macrocíticos (anormalmente grandes) com membranas frágeis, gerando a chamada "anemia megaloblástica" (Lucock,2000).

No entanto, é importante ressaltar que, assim como a deficiência desta vitamina pode apresentar manifestações negativas, o excesso pode provocar efeitos adversos e precipitar manifestações patológicas. O ácido fólico que em quantidades adequadas pode prevenir certos tipos de cânceres, em excesso, pode exacerbar outros (Dary, 2009).

O excesso de ácido fólico pode também, mascarar a anemia megaloblástica causada pela deficiência de vitamina B12, mas não pode aliviar e tampouco evitar os defeitos neurológicos decorrentes da carência da mesma, podendo causar danos irreparáveis ao sistema nervoso central (Tamura et al., 2006).

Os níveis séricos de folato são um importante indicador para verificar excesso ou carência desta vitamina, ajudando na estimativa de necessidade de folato adicional, de forma individual (Dary, 2009). Folato em níveis de 7 nmol/ L são necessários para evitar balanço negativo que se não tratado, pode dar origem à anemia megaloblástica. 10 nmol/L são necessários para evitar altos níveis séricos de homocisteína, condição esta que seria favorável para o surgimento de doenças cardio-vasculares. No entanto, para redução de risco de defeitos do tubo neural, a concentração sérica recomendada, seria de 15,9 nmol/L. (Dary, 2009).

Embora o nível sérico máximo de folato ainda não tenha sido determinado, costuma-se utilizar o valor de 45 nmol/L como o limite superior recomendado (Dary, 2009).

Também considerando estes dados, o Food and Drug Administration (FDA) recomenda que a concentração de ácido fólico suplementada, não ultrapasse 1mg/dia para todos os produtos farmacêuticos e alimentícios (Annotation, 1994).

### 2.3 ÁCIDO FÓLICO E DEFEITOS CONGÊNITOS

O uso de vitaminas antes e durante a gestação tem sido bastante estudado e recomendado, como forma de melhorar a saúde da mãe e da criança, lhe assegurando um desenvolvimento e crescimento adequado e sadio (Wehby et al, 2009). A suplementação periconcepcional, junto com a vacinação contra a rubéola têm sido as medidas mais eficientes na prevenção de defeitos ao nascimento (Castilla et al., 2000).

Além das necessidades energéticas, a gestante apresenta também, a necessidade de nutrientes específicos aumentada, dentre os quais neste trabalho enfatizamos o ácido fólico. O suprimento de todas essas necessidades - sejam energéticas, de macro ou micronutrientes- é

indispensável para promover a manutenção e sustentação das condições clínicas da gestante e do feto (Ortiz-Andrellucchi et al.,2009).

Programas de saúde pública têm dado bastante ênfase a este tipo de suplementação, uma vez que este grupo de mulheres é mais susceptível a carências nutricionais (Ortiz-Andrellucchi et al., 2009).

O folato como anteriormente dito, é essencial na síntese de DNA, tRNA e aminoácidos e sua deficiência é uma condição comum e particularmente importante durante a gestação quando as necessidades metabólicas estão aumentadas ou o folato disponível está reduzido, pela diminuição da absorção intestinal ou metabolismo renal (Rosenblatt; Fenton, 2001).

Os defeitos do tubo neural são malformações congênitas resultantes do fechamento incompleto ou incorreto do tubo neural entre a terceira e quarta semana de desenvolvimento embrionário (Pacheco et al., 2009).

Embora os DTNs tenham etiologia multifatorial sendo causados por fatores genéticos e ambientais, sabe-se que a ingestão inadequada de folato no período periconcepcional está associada a uma maior incidência destes defeitos (Boushey et al, 2001; Rasmussen, 2010).

O fechamento do tubo neural, primórdio do sistema nervoso central, ocorre em quatro ou cinco locais, em múltiplos pontos simultâneos e de forma bidirecional neste período inicial da gestação. Quando esse tubo não consegue completar a neurulação ou envoltórios, ocorre o defeito, que tem a sua morfologia dependente do tipo de falha e do local afetado, originando doenças que causam morte ou seqüelas graves nos recém-nascidos, sendo as mais freqüentes a anencefalia e a espinha bífida (Mezzomo et al., 2007).

Estes DTNs correspondem a uma série de anomalias com alta morbidade e mortalidade, acometendo cerca de 300.000 recém nascidos no mundo por ano, resultando em

média 41.000 mortes ao ano (Blencowe et al.,2010). Estima-se uma prevalência mundial de 1/1000 recém nascidos-vivos e no Brasil, a taxa estimada é de 1,6/1000 (Pacheco et al.,2009).

A anencefalia é invariavelmente associada à morte prematura ou algumas horas após o nascimento. Já nos casos de espinha bífida, é possível que a criança viva por mais tempo, mas apresentando sempre seqüelas em níveis variados. As cirurgias costumam ser bastante freqüentes nestes casos e observa-se uma série de comprometimentos, sendo os mais comuns: paralisia de membros inferiores, incontinência, convulsões e comprometimento do sistema nervoso central (Blencowe et al.,2010).

Considerando que o tubo neural se forma até o 27º dia após a concepção (Candito et al.,2007 ;Rasmussen, 2010; Blencowe et al.,2010), onde a maioria das mulheres não sabe que está grávida o ideal seria que todas mulheres em idade fértil (usualmente entre 15 e 45 anos) apresentassem uma alimentação rica em alimentos-fonte de ácido fólico ou este nutriente suplementado. Esta ingestão aumentada deveria iniciar-se pelo menos, um mês antes da gestação e se manter até três meses após a concepção (Mezzomo et al.,2007; Houghton et al., 2007; Gardiner et al., 2008).

Há um consenso na literatura, que esta suplementação periconcepcional, reduz substancialmente os riscos de defeitos do tubo neural. Esta redução evidenciada, fez com que políticas públicas suplementassem ácido fólico sintético à mulheres gestantes. (Eichalzer et al., 2006).

Desde 1980, estudos têm sido feitos para avaliar esta relação entre a administração periconcepcional do ácido fólico e a redução dos DTNs (Roberts, 1991; Blencowe et

al., 2010). Estes estudos epidemiológicos demonstram que o ácido fólico quando ingerido em quantidades adequadas pelas mães pode prevenir de 50 a 70% dos defeitos do tubo neural (Pacheco et al, 2009; De Wals et al., 2007).

Em uma revisão sistemática da literatura, observou-se que dosagens diárias de suplementação superiores a 5mg/dia de ácido fólico reduzem entre 75% e 91% a incidência de defeitos do tubo neural, dependendo da concentração sérica basal de ácido fólico e da idade das mulheres, em comparação com uma redução entre 23% e 66% quando usados 0,4mg a 0,8mg diários, permitindo, assim, observar uma evidente relação direta entre dose e efeito protetor para as malformações do tubo neural (Wald et al., 2001). Outra referência refere que a suplementação de 4 mg/dia apresentaria níveis de prevenção de 47%, 2 mg suplementadas reduziria em 41% o risco e 1 mg , 22% (Eichholzer et al., 2006).

Em relação à fortificação dos alimentos, com 0,1mg a 0,2mg de ácido fólico, foi evidenciada uma redução de incidência de defeitos do tubo neural entre 7% e 23% (Wald et al., 2001), ou seja, bastante inferior à suplementação medicamentosa, o que formenta discussão sobre a validade da fortificação alimentar (Mezzomo et al., 2007).

## 2.4 ÁCIDO FÓLICO E SÍNDROME DE DOWN

A deficiência de folato *in vitro* e *in vivo* tem sido associada à hipometilação do DNA, quebras nas fitas de DNA, alterações na recombinação cromossômica, e falhas na segregação cromossômica (Ray et al., 2003). Desta forma, associou-se a possibilidade de que as interações gene-nutrientes, associadas ao metabolismo anormal do folato e a hipometilação do

DNA podem aumentar o risco de não disjunção cromossômica (Ray et al., 2003; Brandalize et al., 2007).

A metilação do DNA tem um importante papel em diversos processos biológicos, incluindo a regulação de genes temporais e a estabilidade centromérica (Santos-Rebouças et al., 2008). A doação de átomos de carbono para a manutenção da metilação do DNA é realizada pelo ciclo do folato, que envolve uma série de reações intimamente integradas e dependentes de outros nutrientes obtidos pela alimentação, como as vitaminas B12, B6, a metionina e o zinco (Santos-Rebouças et al., 2008).

Todos estes micronutrientes são direta ou indiretamente necessários para a conversão da homocisteína à metionina que é um precursor direto da S-adenosilmetionina (SAM), maior doador celular do grupo metil. Falhas no metabolismo do folato, resultam em prejuízos na segregação cromossômica (Santos-Rebouças et al., 2008).

Polimorfismos em genes codificadores de enzimas que estão relacionados ao metabolismo do folato têm sido avaliados como possíveis fatores etiológicos para a SD (Biselli et al., 2008).

Dentre as possíveis causas que influenciam na taxa de não-disjunção meiótica em nossa espécie, a associação de polimorfismos maternos relacionados ao metabolismo do folato e da homocisteína têm gerado grande entusiasmo entre os pesquisadores. James et al.(1999) descreveram a hipótese de que a metilação aberrante do DNA, como resultado do metabolismo anormal do folato, devido a algumas mutações, aumentam a taxa de não-disjunção, fazendo com que a mutação seja um fator de risco para a SD. Esta mutação pode ocorrer em diferentes genes envolvidos no metabolismo da homocisteína que é diretamente associada à rota metabólica do ácido fólico. Dentre os genes envolvidos, encontram-se o *MTR*, *MTRR*, *CBS* e o principal neste caso, o *MTHFR*.

O gene *MTHFR* que codifica a enzima metilenotetrahidrofolato redutase catalisa a redução do 5,10-metilenotetrahidrofolato a 5- metilenotetrahidrofolato, que é a forma do folato circulante. A atividade desta enzima ajuda a manter a quantidade normal da homocisteína (Brandalize et al, 2007; Santos-Rebouças et al., 2008).

O 5-metilenotetrahidrofolato é vital ao metabolismo dos ácidos nucléicos e aminoácidos e conseqüentemente, para divisão celular e para todo o processo de desenvolvimento. O produto de todas estas reações é a liberação do grupo metil, essencial à síntese de metionina que é responsável pela remetilação do DNA (Brandalize et al,2007).

Entre os quatro polimorfismos relacionados com a termolabilidade desta enzima, o melhor caracterizado do gene *MTHFR* é a mutação C677T que converte alanina em resíduo de valina, tornando a enzima termolável (Biselli et al.,2008, Eskes, 2006). Esta mutação pode representar um importante fator de risco para doenças vasculares e também para a presença de defeitos congênitos, como os defeitos do tubo neural (Eskes, 2009).

Outro importante polimorfismo encontrado no gene *MTHFR* é a mutação A1298C, uma mutação de ponto no exon 7 que resulta na substituição do aminoácido glutamato por alanina O polimorfismo C677T do gene *MTHFR*, associado com a elevação da homocisteína e/ ou baixos níveis de folato no plasma podem aumentar o risco de concepção de um filho com Síndrome de Down (James et al., 1999; Patterson, 2008; Wang et al., 2008; Coppedè, 2009).

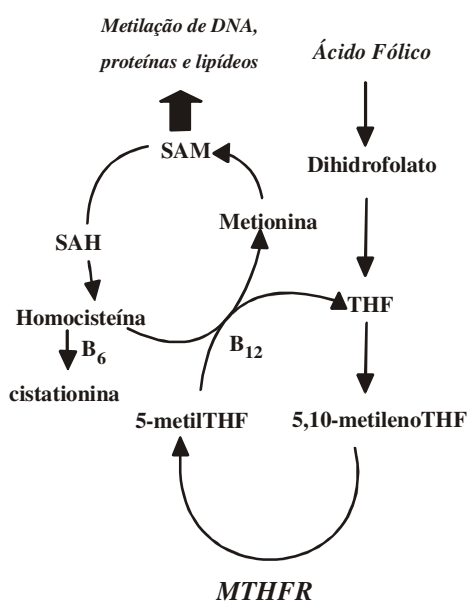
As mutações anteriormente descritas resultam na maioria das vezes em um aumento dos níveis de Hcy e, como conseqüência, uma diminuição na concentração de metionina, o que resulta na desproporção de SAM em relação ao SAH, levando a hipometilação do DNA (Biselli et al., 2008). Isso poderia predispor riscos de não-disjunção de cromossomos na meiose, sugerindo que gestantes com ingestão deficiente de ácido fólico ou com mutações no gene da *MTHFR* estariam predispostas a ter oócitos com cromossomos em duplicata. Tais



oócitos quando fecundados levariam à formação de diferentes trissomias (Roseblatt, 1999).

Embora haja indícios desta associação, o resultado dos estudos é bastante conflitante, refletindo na complexa interação das variantes genéticas envolvidas no metabolismo do folato e os micronutrientes ingeridos. A influência do folato, vitamina B12 e homocisteína é de particular interesse porque a variação genética que possa existir neste metabolismo tem mostrado um aumento no risco para vários defeitos congênitos (James, 2004).

Todas estas investigações nos mostram evidências preliminares da existência de um componente genético da não disjunção cromossômica durante a meiose humana relacionado ao metabolismo da homocisteína. A potencial importância desta associação é essencial para que as observações originais na trissomia do 21 seja confirmada ou refutada (Hassold et al., 2001).



**Figura 2.** Via de metilação do DNA – Papel do SAM e SAH.

### **3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO**

Embora seja a mais comum causa de retardo mental moderada em humanos, os fatores etiológicos da SD, - exceto a idade materna avançada, - ainda são desconhecidos.

Os estudos investigando a associação da trissomia do 21 com o ácido fólico, ainda que contraditórios, têm-se mostrado promissores, sendo necessários mais estudos na área para evidenciar se a carência de folato, associado ou não a um metabolismo anormal desta vitamina, estaria relacionado com a SD.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

- Verificar se a quantidade de folato presente na dieta habitual das mães estaria relacionada à etiologia da SD.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a quantidade média de ingestão de folato através da dieta em uma amostra de mães de crianças com Síndrome de Down e em mães de crianças controles;
- Verificar se outras variáveis em estudo diferenciaram-se entre o grupo de Mães de crianças com SD e controles, sendo elas:
  - Idade materna;
  - Renda familiar e
  - Número de filhos.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 DELINEAMENTO

O estudo é do tipo caso-controle.

### 5.2 POPULAÇÃO EM ESTUDO

Casos: foram consideradas como casos, todas as mães que tiveram um filho com Síndrome de Down. Estas mães foram localizadas e entrevistadas através da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAEs) e Associação dos Pais e Amigos do Down (AFAD) de algumas localidades do Rio Grande do Sul.

Controles: foram consideradas controles, mães de crianças sem malformações congênitas. Estas mães foram alocadas na sala de espera da Zona 14 do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, esperando a coleta de sangue de seus filhos. O serviço não atende exclusivamente pacientes de Porto Alegre, havendo entrevistadas de diversas localidades. Estas crianças são encaminhadas à coleta de sangue por motivos variados, não investigados pelo estudo.

### 5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídas do estudo, mães que se recusaram a participar, aquelas em que não houve confirmação do diagnóstico da Síndrome de Down no momento da pesquisa e, mulheres que apresentaram idade superior a 35 anos no momento do nascimento da criança ou que tiveram seus filhos nascidos antes de 2002 (quando os fabricantes iniciaram a fortificação das farinhas com o ácido fólico). Foram também excluídas aquelas mães com suplementação periconcepcional ou durante o primeiro trimestre da gestação de ácido fólico ou de outros polivitamínicos que pudessem conter em sua fórmula a vitamina em análise.

### 5.4 TAMANHO DA AMOSTRA

Para o presente estudo foram incluídas 50 mães de crianças com síndrome de Down e 50 mães controle. Considerando que foi estimada uma ingestão média, através da dieta, por mulheres em idade reprodutiva de Porto Alegre de aproximadamente 404,7 mcg/dia (Ferreira et al.,2005), esta amostra tem 90% de poder de detectar uma diferença de ingestão de ácido fólico entre mães caso e controles de aproximadamente 2,2 vezes com 95% de significância.

## **5.5 VARIÁVEIS EM ESTUDO**

Foram avaliadas características demográficas sociais e aspectos relacionados com a gestação e alimentação das mulheres entrevistadas. As seguintes variáveis serão questionadas:

- Idade materna;
- Renda Familiar;
- Número de filhos;
- Filho (a) que apresenta algum defeito congênito;
- Consumo de alimentos-fonte de ácido fólico.

## **5.6 MÉTODOS**

### **5.6.1 Desenvolvimento do Questionário Dietético**

Em função de não haver um questionário de Consumo Habitual específico para o folato e alimentos fortificados com o ácido fólico, criou-se para o estudo um questionário com alimentos adaptados à realidade e aos hábitos alimentares no Brasil. Foram para tal, incluídos pães variados, feijão-preto, batata-inglesa, farinha de trigo e carne vermelha. Elaboramos um questionário de consumo habitual contendo questões sobre o consumo dos alimentos ricos em folato.

Para elaboração do questionário, precisou-se levar em conta que, embora se encontrem na literatura diversas tabelas com a composição dos alimentos com referências comuns em outros países como Estados Unidos e países europeus, uma série de condições são diferentes em relação à realidade brasileira. O clima diferenciado bem como as condições agrícolas e a forma de cultivo da terra fazem com que alguns valores de macro e micronutrientes possam sofrer variações quando comparados com os alimentos nacionais. Assim, para o cálculo da quantidade de ácido fólico encontrado nos alimentos-fonte, utilizamos o Programa de Nutrição da Escola Paulista de Medicina versão 2.5 (Escola Paulista de Medicina, 2001) que embora apresente também como referências tabelas estrangeiras, é o mais adaptado a realidade brasileira. É importante destacar que ao analisar os dados objetivamos a utilização da tabela TACO , criada e adaptada à realidade e aos alimentos brasileiros no entanto, esta tabela ainda não há quantidades descritas de ácido fólico e folato para os alimentos em questão, motivo este que nos fez optar pelo programa Nutwin.

### **5.6.2 Teste do Questionário**

O questionário elaborado foi primeiramente aplicado à 12 mães que embora apresentassem filhos com síndrome de Down, os haviam tido com idade superior àquela que possibilitava suas participações no estudo. Estes questionários serviram apenas para teste não sendo incluídos no estudo.

### 5.6.3 Aplicação do Questionário

Objetivando atingir classes sociais semelhantes entre os grupos caso e controle, aplicou-se o questionário em mães com crianças em atendimento gratuito, seja em APAES, AFADs ou no centro de coletas sanguíneas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Para facilitar a especificação de quantidades ingeridas, utilizou-se quando possível, medidas caseiras padrão, por exemplo, pão de forma (22 g), pão francês (50g), reduzindo desta forma complicações. Um livro com fotos ilustrativas de porções também foi utilizado para facilitar a quantificação dos alimentos ingerido (Monteiro et al,2007). O questionário foi aplicado exclusivamente pela pesquisadora e as respostas não foram nem induzidas nem questionadas. O desenho do presente estudo, não permitiu cegamento do examinador em relação aos casos e aos controles, podendo representar, um viés de aferimento.

A entrevistadora ao abordar as mães, explicava o objetivo do trabalho e o tipo e instrumento que seria aplicado. Após ler-se em conjunto com a entrevistada o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e esclarecidas possíveis dúvidas referentes, a mãe optava por participar ou não. Eram então, em um primeiro momento, feitas as questões presentes no questionário (Apêndice 1) e após, a entrevistadora pergunta os alimentos que são freqüentemente ingeridos nas refeições habituais (desjejum, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, janta, ceia e algum outro intervalo). Quando a entrevistada revelava algum alimento que estava na listagem do questionário, era perguntando a freqüência alimentar (número de vezes por semana e quantidade ingerida). As mulheres entrevistadas não tinham acesso a listagem dos alimentos para não houvesse indução ou alteração da resposta.

O questionário alimentar desenvolvido para este estudo incluiu os 46 principais alimentos-fonte de ácido fólico, sendo em sua forma natural ou aqueles à base de farinha de



trigo / milho ou suplementados com esta vitamina. Os alimentos incluídos deveriam, no mínimo, fornecer 10 µg de ácido fólico para cada 100g de alimento. Foram somente computados alimentos que eram ingeridos uma ou mais vezes na semana.

Apesar de sabermos que a dieta atual de cada mãe pode não representar o que era seu hábito durante a concepção, consideramos o dado atual mais importante, pois evita o viés recordatório naquelas crianças com idades superiores há um ano.

#### **5.6.4 Estimativa da quantidade de ácido fólico ingerido**

Foi utilizado o Programa de Nutrição da Escola Paulista de Medicina-Universidade de São Paulo, software “Programa de Apoio à Nutrição” versão 2.5 (Escola Paulista de Medicina,2001), para retirar medidas caseiras e a quantidade de folato nos alimentos-fonte.

#### **5.6.5 Análise dos Dados**

A análise dos dados foi realizada de duas maneiras: foi utilizado o programa de nutrição do Centro de Informática em Saúde da Escola Paulista de Medicina- Universidade de São Paulo, software “Programa de Apoio à Nutrição”versão 2.5 para quantificar as medidas caseiras e estimar a quantidade de folato consumida em cada um dos alimentos-fonte. Este programa apresenta 600 alimentos pré-cadastrados com o controle de 64 nutrientes o que permite quantificar o folato consumido com maior exatidão.

Quando necessários, também foram acrescentados alimentos no programa com informações de rótulos ou adquiridas diretamente com as empresas alimentícias do Brasil.

#### **5.6.6 Análise estatística**

Para avaliar a existência de correlação entre idade, renda familiar, número de filhos, e o consumo de ácido fólico, foi utilizada a correlação de Pearson, considerando que a maior parte das variáveis apresentou distribuição normal. O teste não paramétrico de Kolmogorov Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados.

Para verificar possíveis diferenças entre as variáveis nos grupos caso e controle, foi feita a regressão logística simples e ajustada, sendo calculado o Odds Ratio e o intervalo de confiança de 95% e um p significativo  $< 0,05$ . Os dados são descritos por média e desvio padrão ou mediana e limite mínimo e limite máximo.

O banco de dados foi elaborado no programa Excel 2003, e a análise estatística realizada com o programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 18.0.

#### **5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

### **5.7.1 Autorização para pesquisa**

O projeto foi previamente aprovado pela Comissão Científica e Ética do HCPA pelo Protocolo nº 07101.

### **5.7.2 Consentimento Informado Livre e Esclarecido**

Foi fornecido às participantes do estudo, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 2) com dados sobre a pesquisa, havendo um termo específico para mães de criança com a Síndrome de Down e outro para as mães controle.

## 6 RESULTADOS

Participaram deste estudo 100 mães, 50 com filhos com Síndrome de Down confirmados, e 50 com filhos sem mal-formações congênicas. As mães-caso foram selecionadas a partir de APAES, AFADs ou por contatos fornecidos pelas instituições. Em sua maioria as mães eram habitantes de Porto Alegre ou cidades na redondeza.

Conforme mostra a Tabela 1, sobre a caracterização da amostra, a média de idade em que as mães das crianças com síndrome de Down tiveram seus filhos, foi de 27,5 anos ( $dp \pm 4,8$ ). Já as mães de crianças sem síndrome de Down, tiveram seus filhos, com uma média de idade de 25,4 ( $dp \pm 5,3$ ). Com base na média de idade dos grupos comparados, observou-se um  $p = 0,042$ , havendo diferença significativa entre a idade em que as mães entrevistadas tiveram seus filhos em questão.

A média de renda familiar mensal foi no grupo caso, de R\$ 1003,2 ( $dp \pm 511,9$ ) e no grupo controle foi de 955,7 ( $dp \pm 462,9$ ). Não observou-se diferença significativa ( $p = 0,628$ ) na renda média mensal entre os grupos. A mediana do número de filhos, foi no grupo caso de 2,24 (sendo o limite inferior 1 e o superior, 5 filhos) e no grupo controle de 2,02 (sendo o valor mínimo de 1 filho e o máximo de 7).

Das crianças com síndrome de Down, 62 % (31 crianças) eram do sexo feminino e 38% (19 crianças) do sexo masculino. As mães controle, apresentaram 23 crianças do sexo masculino (46%) e 27 (54%) do sexo feminino.

No gráfico 1, a seguir, observa-se que a média diária do consumo de alimentos-fonte e à base de farinhas fortificadas, quando considerados em conjunto, foi no grupo caso de 359,1  $\mu\text{g}/\text{dia}$  ( $dp \pm 91,9$ ) e no grupo controle de 425,5  $\mu\text{g}/\text{dia}$  ( $dp \pm 104,3$ ).

**Tabela 1- Caracterização da Amostra**

Variável	Casos	Controles	p
n	50	50	
Idade mãe (anos)	<b>27,5 (dp ± 4,85)</b>	<b>25,4 (dp ±5,31)</b>	<b>0,042</b>
Número de filhos	2,24 (1-5)	2,02 (1-7)	0,383
Renda Familiar	1003,2 (dp± 511,9)	955,7 (dp=±462,9)	0,628

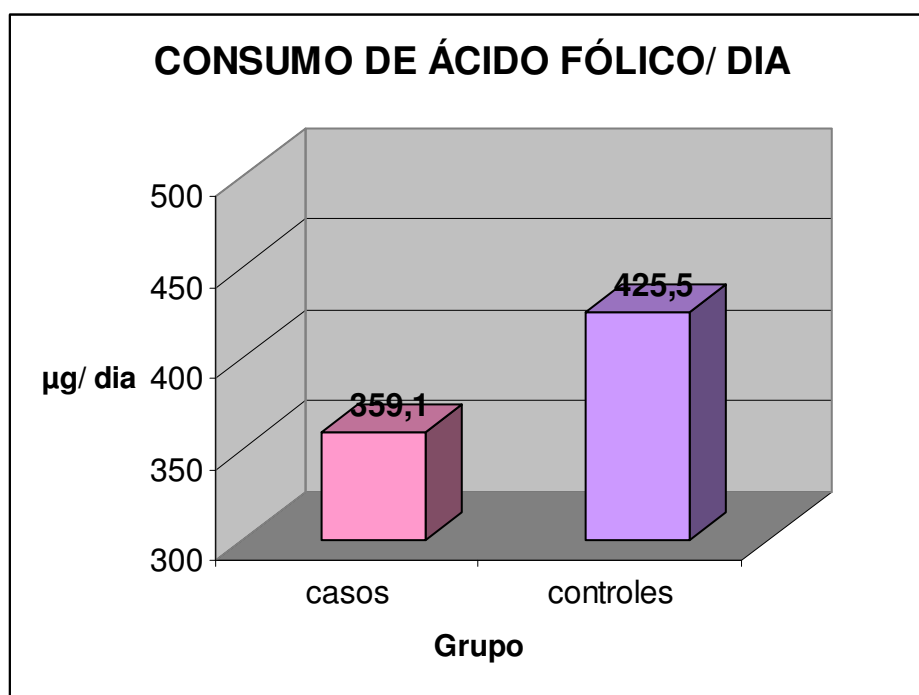


Gráfico 1- Média do consumo diário de ácido fólico em µg.

Dentre as variáveis em estudo, apenas a quantidade diária e semanal de ácido fólico consumidos e a idade no momento do nascimento, foram estatisticamente diferentes entre o grupo caso e o grupo controle ( $p < 0,001$  e  $p < 0,042$  respectivamente). Nem o número de filhos, nem a renda familiar correlacionaram-se com um maior ou menor consumo de ácido fólico. Embora não tenha sido discriminado neste estudo, observa-se, que a maior parte dos alimentos-fonte consumidos são aqueles à base de farinha, como pães, bolos, bolachas e produtos industrializados como um todo.

Os achados estatísticos neste estudo, com esta amostra de 100 mães, sugere que a quantidade de ácido fólico consumida seja um possível fator protetor para SD. Ou seja, provavelmente, quanto mais ácido fólico, menor a chance de concepção de crianças com SD. No estudo evidenciou-se que cada 10 g de ácido fólico consumidos representariam uma redução de risco 6,5%.

Observou-se que 34 mães (68%) do grupo caso e 21 mães (42%) do grupo controle consumiam quantidades inferiores a 400 µg/ dia. Apenas uma das mães do grupo caso (2 %) e 5 das mães do grupo controle (10%) consumiam mais de 600 µg/ dia de folato. Se considerando a amostra entrevistada como um todo, 55 mães (55%) não consumiam o valor mínimo recomendado de folato por dia.

Das 116 mães entrevistadas no total, apenas 4 (3,4%) relataram o uso de ácido fólico ou polivitamínicos podendo haver em sua fórmula o ácido fólico. Estas mães foram excluídas do estudo. Ficou claro, durante a aplicação da entrevista e do questionário que embora sejam gestações relativamente recentes, ainda há pouca informação e conhecimento em geral a respeito do consumo e suplementação de ácido fólico no período periconcepcional e mesmo no pré-natal.

## 7 DISCUSSÃO

Mesmo com a base cromossômica da SD bem caracterizada, o motivo de não disjunção do cromossomo 21 segue em partes, uma incógnita. Os estudos têm sido bastante congruentes em sua maioria, que uma hipometilação do DNA estaria relacionada com o erro meiótico (Ray et al., 2003). Entre os possíveis fatores de risco associados à SD, somente a idade materna avançada é um fator etiológico bem estabelecido. No presente estudo- por critérios de seleção de amostra- observamos que as mães do grupo caso, tiveram seus filhos com uma média de idade de 27,5 (dp± 4,85) visto que o foco do nosso trabalho foi sobre as possíveis causas de não-disjunção independente da idade.

Relatos na literatura, desde James et al (1999) sugerem que mães de crianças com síndrome de Down apresentariam metabolismo anormal do folato que através de alterações em genes e enzimas específicas resultariam em uma hipometilação do DNA. As evidências demonstram muitos casos de SD em família com crianças com DTN e vice-versa (Barkai, et al 2003).

Desde 1998, a Food and Drug Administration obriga todos os fabricantes de farinhas dos Estados Unidos a acrescentarem 140 µg de ácido fólico para cada 100 gramas de farinha. Seguindo o mesmo padrão de exigência norte-americana, diversos países do mundo passaram, no decorrer dos anos, a tornar obrigatório também este enriquecimento (De Wals et al., 2007).

No Brasil, esta regra implementou-se no ano de 2002, embora o prazo máximo para início da fortificação tenha sido Junho de 2004, quando passou-se a exigir dos fabricantes de farinha de trigo e milho um acréscimo de 150 µg de ácido fólico para cada 100 g de farinha (Pacheco et al., 2009). Se observarmos o valor recomendado em 1998 pela FDA, fica claro que no Brasil a quantia exigida para fortificação é levemente superior. Outros países, assim

como no Chile, estas quantidades são também superiores. Acredita-se que esta leve alteração se deva ao baixo consumo de alimentos ricos em ácido fólico nestes países.

A utilização de vitaminas ou minerais sintéticos é uma forma de atingir quantidades específicas em uma população com carências ou com necessidades aumentadas. Na medida em que a medicina avança e com ela o conhecimento científico aliado, muitas doenças e manifestações clínicas passam a ser associadas a carências nutricionais. São estas diretrizes que movem políticas públicas de saúde para normatização da fortificação alimentar e suplementação de alguns micronutrientes.

A maior parte estudos encontrados na literatura buscam avaliar e comparar entre os grupos a ação de genes e enzimas associados à SD. São poucos os estudos avaliando a quantidade de consumo de ácido fólico alimentar.

O Questionário de Consumo Habitual é um instrumento de fácil aplicação e objetivo, sendo utilizado como uma forma de avaliação dietética em muitos estudos epidemiológicos. A vantagem deste é que por não ser auto-responsivo, evita a indução das respostas por meio do contato com os principais alimentos-fonte. Quando o interesse é por um nutriente específico é possível adaptar-se o questionário, concentrando a maior parte das informações sobre o nutriente em estudo. Foi com base nestes objetivos, que o adaptamos, incluindo neste, alimentos fonte de folato, disponíveis e acessíveis à população brasileira.

O questionário foi aplicado no total de 116 mães, das quais, 16 foram excluídas do estudo, 12 por terem idade superior a 35 anos no momento do nascimento da criança e 4 por terem relatado uso de suplemento de ácido fólico em algum momento da gestação ou de polivitamínicos que pudessem conter em sua formulação a vitamina que avaliamos.

Embora a amostra tenha sido de conveniência e as mães tenham sido alocadas em serviços de atendimento gratuito, a renda média mensal das famílias, que poderia ser um fator determinante na quantidade de alimentos-fonte ingerida, não mostrou-se diferente entre os



grupos. Sabe-se que classes sócio-econômicas mais altas tendem a consumir mais frutas, verduras, carnes e leguminosas.

Estudos das últimas décadas relatam uma importante mudança no padrão alimentar brasileiro. O consumo de hortaliças, frutas, verduras e leguminosas e oleaginosas diminuíram significativamente enquanto o número de produtos industrializados bem como de farináceos aumentou de forma aberrante.

A Pesquisa do Orçamento Familiar (POF), (IBGE,2008/2009) mostrou que na região Sul, o consumo de alimentos panificados, em especial o pão francês, manteve-se bastante elevado. Os gastos com estes produtos só mostraram-se inferiores aos gastos com carnes, leites e derivados. Este dado torna explícito o efeito positivo da fortificação de ácido fólico em produtos farináceos.

A média de consumo diário no presente estudo, incluindo alimentos fortificados e alimentos-fonte, foi no grupo caso de 359,1 ( $\pm 91,9$ )  $\mu\text{g}/\text{dia}$  e no grupo controle, 425,5 ( $\pm 104,3$ )  $\mu\text{g}/\text{dia}$ . Mais da metade das mães entrevistadas (55%) não consumia a quantidade mínima de 400  $\mu\text{g}/\text{dia}$  e apenas 12% do total da amostra consumia mais que 600  $\mu\text{g}/\text{dia}$  recomendados para mulheres planejando uma gestação ou já grávidas.

Outros estudos nacionais como o de Santos-Rebouças et al (2008) conduzido no estado do Rio de Janeiro não observou diferença significativa ( $p=0,82$ ) entre os grupos caso e controle, avaliando dieta de mães de crianças com SD e sem malformações, sendo o consumo médio/dia no grupo caso de 224.28 ( $\pm 100.66$ )  $\mu\text{g}/\text{dia}$  e no grupo controle de 216.70 ( $\pm 62.45$ )  $\mu\text{g}/\text{dia}$ . Neste estudo, evidenciou-se que 93,7 % das mulheres em idade gestacional apresentavam uma ingestão inadequada de folato, sendo valores abaixo dos preconizados pela RDA.

Ferreira et al (2007) avaliando mulheres em idade fértil na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, observou um consumo diário médio de 404 µg/ dia da vitamina. Da amostra entrevistada, 88 % (352 mulheres) ingeriam menos do que os 400 µg/ dia recomendados. Através do QFA, Yen et al (2003) obtiveram uma média de consumo de 458,5 µg/dia.

Vitolo et al (2006) realizaram um estudo na cidade de São Leopoldo no Rio Grande do Sul, com adolescentes para avaliar a quantidade de consumo de ácido fólico. Observou-se na amostra de adolescentes do sexo feminino um consumo médio de 144,5 ±106 µg/dia entre aquelas de 10 a 13 anos e 123.0± 92 µg/dia entre as adolescentes de 14 a 19 anos.

Pesquisas mais recentes realizadas por Houghton et al (2007) no Canadá encontraram valores de consumo de ácido fólico entre 151- 410 µg/dia. Parte da diferença encontrada pode estar relacionada a fatores sócio-culturais e quantidades especificadas de ácido fólico suplementados em seus alimentos visto que não há uma quantidade padrão entre os países.

Cabe colocar que, embora estes estudos avaliem a quantidade de ácido fólico ingerida por estas mulheres em idade fértil, em nenhum há uma adequação quanto à biodisponibilidade. Os valores nutricionais do folato natural e do ácido fólico sintético apresentam uma biodisponibilidade diferente. Do ácido fólico acrescido aos alimentos e farinhas, há um aproveitamento de 85 a 100% enquanto o folato em sua forma natural tende a ser somente 50% aproveitado.

Embora tenhamos encontrado uma média de consumo diário de 359,1 µg/dia nas mães de criança com SD e de 425,5 µg/dia no grupo de mães de crianças sem malformações, é importante ressaltar que não consideramos cocção, exposição à luz ultravioleta ou qualquer outro fator que pudesse diminuir a biodisponibilidade desta vitamina.

É importante ressaltarmos, os possíveis vieses envolvidos neste estudo, que incluem o não cegamento da pesquisadora, uma vez que todas mães foram entrevistadas por esta e automaticamente alocadas no grupo caso ou no grupo controle. É possível também, que mães

apresentando filhos com Síndrome de Down, em função do envolvimento mais direto com o estudo, tenham tido diferente motivação para lembrar e relatar os alimentos habitualmente consumidos.

Com a fortificação no Brasil, em quantidades de 150 µg/ 100 g de farinha, o objetivo do Ministério da Saúde era de aumentar cerca de 100 µg/dia a quantidade de ácido fólico na dieta das pessoas. No entanto, é provável que não houvesse uma previsão de que com a transição nutricional, ao invés de complementar, esta fortificação tornou-se responsável por grande ou maior parte do consumo mostrando-se assim insuficiente.

Embora as entrevistadas tenham sido em sua grande maioria de classes sócio-econômicas mais baixas, chamou a atenção o desconhecimento e a pouca orientação sobre o uso de suplementos vitamínicos. Ao realizar, qualquer uma das perguntas sobre suplementos, todo conhecimento parecia ser sobre o sulfato ferroso. Nem mesmo polivitamínicos foram de um modo geral relatados.

A prevalência do uso de ácido fólico periconcepcional varia amplamente na literatura, ficando entre 0,5% e 52% em estudos realizados em vários países das Américas, Europa, Austrália e Ásia, podendo-se observar que o baixo nível educacional e sócio-econômico, a menor idade materna, a falta de um parceiro e a gestação não planejada são fortes preditores do uso reduzido de ácido fólico no período periconcepcional da gestação.

Um levantamento de dados atual, em um Hospital privado da Dinamarca, ao entrevistar 84 puérperas, Rasmussem et al (2010) evidenciaram que 69 destas (82%) tinham conhecimento sobre ácido fólico e 75 destas mães (89%) haviam feito uso do suplemento de forma adequada. No nosso estudo, embora não tenham sido incluídas, apenas 3,4% das entrevistadas (4 mães) relataram o uso de suplemento.

Um estudo multicêntrico avaliou 2008 mulheres em 6 diferentes países sul-americanos entre eles Argentina, Brasil, Bolívia, Chile, Equador e Paraguai. Desta, 1190 (42,4%)

relataram ter feito uso de suplemento vitamínicos durante, ou antes, da gestação, no entanto, ao se questionar o tipo e quantia de vitamina suplementada, apenas 508 (22%) souberam relatar. E destas, somente 339 (14,8%) consumiram ácido fólico (Castilla et al 2000).

Em um estudo realizado por Mezzomo et al (2007), na cidade de Pelotas no Rio Grande do Sul, evidenciou-se que das 1450 mães entrevistadas no pós-natal, apenas 4,3% (62 mães) utilizaram suplemento de ácido fólico de forma periconcepcional e 31,8% utilizaram em algum momento da gestação.

Evans et al (2010) avaliaram 2002 mulheres em idade fértil na Pensilvânia e encontraram suplementação de ácido fólico em 25,6% destas. Neste estudo, quanto mais avançada a idade das mulheres entrevistadas, maior os índices de suplementação.

Com uma grande massa de estudos, relacionando de forma concordante, o baixo consumo de ácido fólico com aparecimento de DTN e na medida em que incorpora-se à medidas básicas de saúde o uso de suplementos periconcepcionais e durante a gestação, fica clara a necessidade dos programas de saúde pública no Brasil reverem sua atuação na sociedade. Qualquer medida de mudança relacionada ao consumo seja por meio de alimentos-fonte ou de suplemento oral de ácido fólico seria de grande valia e bastante pertinente.

Mais do que os benefícios já conhecidos e comprovados do uso de ácido fólico em quantidades suficientemente adequadas, os resultados deste estudo que, embora tenha sido aplicado em uma amostra restrita e específica, poderá ser expandido a outras populações, podendo elucidar benefícios ainda mais claros e convincentes a respeito do ácido fólico. É importante uma educação nutricional, orientar os pacientes quanto às escolhas alimentares, mas sabemos que embora de suma importância, em períodos gestacionais isso não é o suficiente. Se não houver uma conscientização em massa nos profissionais de saúde, valores ainda inferiores aos recomendados serão observados e talvez com eles, o reflexo na saúde e desenvolvimento dos bebês.

## 8 CONCLUSÕES

É importante ressaltar, que em função da amostra utilizada ser relativamente pequena e dos possíveis vieses envolvidos no desenho deste estudo, os resultados aqui encontrados não devem ser definitivos nem conclusivos para a associação da Síndrome de Down com um menor consumo de Folato. Nos chama, no entanto a atenção, a diferença significativa encontrada entre os grupos, de 359,1 µg/dia no grupo caso e de 425,5 µg/dia no grupo controle, sugerindo uma possível relação a ser mais bem investigada.

Impossível negligenciar que outros fatores bioquímicos – aqui não analisados- possam também ser determinantes do desfecho, mas de qualquer forma, sabe-se que pela RDA o mínimo recomendado ao dia é de 400 µg. Quando comparando a outros estudos, discutidos anteriormente, podemos relatar que embora em partes ainda sejam inferiores às recomendações, a quantidade de ácido fólico/dia tem melhorado significativamente em nosso estado.

Com a transição nutricional, a fortificação alimentar de farinhas tem assumido um papel ainda mais importante na saúde da sociedade. A maior parte dos alimentos relatados presentes na lista eram os farináceos. Mais que alimentos-fonte o consumo passou a ser de alimentos fortificados e analisando sob o ponto de vista deste trabalho, são visíveis os benefícios da fortificação.

O objetivo deste trabalho é principalmente, estimular a elaboração de outros estudos nos mesmos moldes para que possa então, com os resultados acreditar ou desacreditar na hipótese avaliada. Independente da possível relação com a SD que neste estudo evidenciou-se, fica claro o pouco conhecimento a respeito desta vitamina, dos seus alimentos-fonte e principalmente da sua suplementação periconcepcional, que deveria ter sido incorporada há

anos na rotina médica de mulheres em idade fértil. Esperamos que os dados aqui apresentados ,sejam úteis para incentivo de fortificações alimentares bem como de orientação a população em geral. Com tantos benefícios já comprovados e outros que vêm sendo investigados cabe a nós, profissionais da saúde e aos órgãos públicos a disseminação destes achados em todos extratos sociais, nas idades mais variadas.

## REFERÊNCIAS

1. Almeida LC, Tomita L, D'Almeida V, Cardoso MA. Preditores sócio-demográficos, de estilo de vida e gineco-obstétricos das concentrações séricas ou plasmáticas de homocisteína, ácido fólico e vitaminas B12 e B6 em mulheres de baixa renda de São Paulo, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, (2008) 24(3):587-596.
2. Barkai G, Arbuzova S, Berkenstadt M, Heifetz S, Cuckle H. Frequency of Down's syndrome and neural-tube defects in the same family. *Lancet*. 2003;361(9366):1331-5.
3. Berghela V, Buchanan E, Pereira L, Baxter JK. Preconception Care. *Obstet Gynecol* 2010;108:1615–22.
4. Biselli JM Brumati D, Frigeri VF, Zampieri BL, Goloni-Bertollo EM, Pavarino-Bertelli EC. A80G polymorphism of reduced folate carrier 1 (RFC1) and C776G polymorphism of transcobalamin 2 (TC2) genes in Down's syndrome etiology. *Sao Paulo Med J.* (2008) ;126(6):329-32.
5. Biselli JM, Goloni-Bertollo EM, Zampieri BI, Haddad R, Eberlin MN, Pavarino-Bertelli EC. Genetic polymorphisms involved in folate metabolism and elevated plasma concentrations of homocysteine: maternal risk factors for Down syndrome in Brazil. *Genetics and Molecular Research*(2008); 7 (1): 33-42.
6. Blencowe H, Cousens S, Modell B, Lawn J. Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders. *International Journal of Epidemiology* (2010) ;39:i110–i121.
7. Boushey CJ, Edmonds JW, Welshimer K. Estimates of the Effects of Folic- Acid fortification and Folic-acid Bioavailability for women. *Nutrition* (2001); 17: 873-879.
8. Brandalize A.P.C., Bandinelli E., Borba J.B., Félix T.M., Roisenberg I., Schüler-Faccini L. Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2007) 40: 787-791.
9. Candito M., Rivate R, Herbeth B, Boisson C, Rudigoz RC, Luton D, Journel H, Oury JF, Roux F, Saura R, Vernhet I et al. Nutritional and Genetic Determinants of Vitamins B and Homocysteine Metabolisms in Neural Tube Defects: A Multicenter Case–Control Study. *American Journal of Medical Genetics Part A* (2007); 9999:1–6.

10. Castilla EE, Dutra MG, Lopez-Comelo JS, Rittler M, Orioli IM. Awareness of Benefit of Periconcepcional Folic Acid Supplementation in South America. *Community Genetic* (2000); 3: 71-6.
  11. Coppéde F. The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome. *Mutation Research* 682 (2009) 54–70.
  12. Coppéde F, Marini G, Bargagna S, Stuppia L, Minichilli F, Fontana I, Colognato R, Astrea G, Palka G, Migliore L. Folate Gene Polymorphisms and the Risk of Down Syndrome Pregnancies in Young Italian Women. *American Journal of Medical Genetics* (2006) 140A:1083–1091.
  13. Dary O. Nutritional interpretation of folic acid interventions. *Nutrition Reviews* (2009); 67(4):235–44.
  14. De Wals P, Tairou F, Van Allen MI, Uh SH, Lowry RB, Sibbald B, Evans JA, Van den Hof MC, Zimmer P, Crowley M, Fernandez B, Lee NS, Niyonsenga T. Reduction in Neural-Tube Defects after Folic Acid Fortification in Canada. *N Engl J Med* (2007);357:135-42.
  15. Eichholzer M, Tönz O, Zimmermann R. Folic acid: a public-health challenge. *Lancet* (2006); 367: 1352- 61.
  16. Erickson JD. Folic Acid and prevention of Spina Bifida and Anencephaly 10 years after the U.S Public Health Service Recommendation. *MMWR* (2002) 51:RR-13.
- Artigo I. 17. Eskes TK. Abnormal folate metabolism in mothers with Down syndrome offspring: review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* (2006): 124(2):130-3.
- Artigo II.
18. Evans L., Weisman CS. Folic Acid Supplementation in younger and older nonpregnant women of reproductive age. Findings from the Central Pennsylvania Women's Health Study (CePAWHS). *Women's Health Issues* 20 (2010) 50–57.
  19. Ferreira AF, Giugliani R. Consumption of folic acid-fortified flour and folate-rich foods among women at reproductive age in South Brazil. *Community Genet.* 2008;11(3):179-84.
  20. Gardiner PM, Nelson L; Shellhaas CS, Dunlop AL, Long R, Andrist S, Jack BW. The clinical content of preconception care: nutrition and dietary supplements . *American Journal of Obstetrics & Gynecology* (2008); S345- 56.



21. Hassold T, Sherman S. Down Syndrome: genetic recombination and origin of the extra chromosome 21. *Clin Genet* (2000); 57:95.
22. Houghton LA, Sherwood KL, O'Connor DL. How well do blood folate concentrations predict dietary folate intakes in a sample of Canadian lactating women exposed to high levels of folate? An observational study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2007, 7:25.
23. James SJ. Maternal metabolic phenotype and risk of down syndrome: Beyond Genetics. *AM J Med Genet* (2004); 127(a): 1-4.
24. James SJ, Pogribna M, Pogribny IP, Melnyk S, Hine RJ, Gibson JB, Y Pi, Tafoya DL, Swenson DH, Wilson VL, Gaylo DW. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999;70:495–501.
25. Kaluski DN, Amitai Y, Haviv A, Goldsmith R, Leventhal A. Dietary folate and the incidence and prevention of neural tube defects: A proposed triple intervention Approach in Israel. *Nutrition Reviews* (2002); 60(11): 303-307.
26. Kohli U, Arora S, Kabra M, Ramakrishnan L, Gulati S, Pandey RM. Prevalence of MTHFR C677T polymorphism in north Indian mothers having babies with Trisomy 21 Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract.* 2008 Oct;12(2):133-7.
27. López Camelo JS, Orioli IM, Dutra MG, Nazer-Herrera J, Rivera N, Ojeda MH, Canessa A, Wettig E, Fontannaz AM, Mellado C, Castilla EE. Reduction of Birth Prevalence Rates of Neural Tube Defects After Folic Acid Fortification in Chile. *American Journal of Medical Genetics* (2005); 135A:120–125.
28. Lucock M. Folic Acid: Nutritional Biochemistry, Molecular Biology, and Role in Disease Processes. *Molecular Genetics and Metabolism* (2000) 71: 121–38.
29. Mathews TJ, Honein MA, Erickson JD. Spina bifida and anencephaly prevalence- United States, 1991-2001. *MMWR* (2002) 51:RR-13.
30. Mégarbané A., Ravel A, Mircher C, Sturtz F, Grattau Y, Rethore MO, Delabar JM, Mobley WC. The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: the past, present, and future of research and treatment of Down syndrome. *Genetics IN Medicine* (2009); 11: 1-6.

31. Meijer WM, Werler MM, Louik C, Hernandez-Diaz S, de Jong-van den Berg LTW, Mitchell AA. Can Folic Acid Protect against Congenital Heart Defects in Down Syndrome? *Birth Defects Research* (2006) 76:714–717.
32. Mezzomo CLS, Garcias GL, Scowitz ML, Scowitz JT, Brum CB, Fontana T, Unfried RI. Prevenção de defeitos do tubo neural: prevalência do uso da suplementação de ácido fólico e fatores associados em gestantes na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro,(2007) 23(11):2716-2726.
33. Migliore L, Migheli F, Coppedè F. Susceptibility to Aneuploidy in Young Mothers of Down Syndrome Children. *TheScientificWorld JOURNAL* (2009) 9, 1052–1060.
34. Monteiro JP, Pfrimer K, Tremeschin MH, Molina MC, Chiarello P. Nutrição e Metabolismo- Consumo Alimentar- Visualizando Porções. Ed.Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007.
35. Muller R. Ácido Fólico na prevenção dos defeitos do fechamento do tubo neural. *Rev Pediatría Moderna* (1999); 35(10): 815-7.
36. O’leary KO, Sheehy PJA. Influence of folic acid-fortified food on folate status in a folate depletion-repletion rat model. *British J Nutr* (2001) ;85: 441-446.
37. Ortiz-Andrellucchi A, Doreste-Alonso J, Henriquez-Sanchez P, Cetin I, Majem LS. Dietary assessment methods for micronutrient intake in pregnant women: a systematic review. *British Journal of Nutrition* (2009), 102, S64–S86.
38. Pacheco SS, Braga C, Impieri de Souza I, Figueiroa JN. Effects of folic acid fortification on the prevalence of neural tube defects. *Rev Saúde Pública* 2009;43(4) : 1-6.
39. Patterson D. Folate metabolism and the risk of Down syndrome. *Down Syndrome Research and Practice* (2008); 12(2): 93-7.
40. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Despesas, Rendimentos e Condições de Vida. Rio de Janeiro: IBGE 2010. Disponível em [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoedevida/pof/2008\\_2009/POFpublicacao.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoedevida/pof/2008_2009/POFpublicacao.pdf). Acessado em 12 de Julho de 2010.
41. Pogribna M, Melnyk S, Pogribny I, Chango A, Yi P, James SJ. Homocysteine Metabolism in children with Down Syndrome: In vitro modulation. *AM J Hum Genet*( 2001); 69: 88-95.

42. Rasmussen MM. Folic acid supplementation in pregnant women. *Dan Med Bull* (2010);57:A4134.

43. Ray JG, Meier C, Vermeulen MJ, Cole DEC, Wyatt PR. Prevalence of Trisomy 21 Following Folic Acid Food Fortification. *American Journal of Medical Genetics* (2003); 120A:309–313.

Artigo III. 44. Roberts L. MRC denies blocking access to genome data. *Science*. 1991 Dec 13;254(5038):1583.

Artigo IV.

45. Rodrigues CSC, Santos JM, Pimentel MMG. The impact of folate pathway polymorphisms combined to nutritional deficiency as a maternal predisposition factor for Down syndrome. *Disease Markers* 25 (2008) 149–157.

46. Roseblatt DS, Fenton WA. Inherited disorders of folate and cobalamin transport and metabolism. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*. 8 ed McGraw-Hill Medical Publishing Division: New York (2001).

47. Santos-Rebouças C.B., Corrêa JC, Bonomo A, Fintelman-Rodrigues N, Moura KCV, Rodrigues CS, Santos JM, Pimentel MM. The impact of folate pathway polymorphisms combined to nutritional deficiency as a maternal predisposition factor for Down syndrome. *Dis Markers*, 2008, 25(3): 149-57.

Artigo V. 48. Selhub J. Folate, vitamin B12 and vitamin B6 and one carbon metabolism. *J Nutr Health Aging*. 2002;6(1):39-42.

Artigo VI.

Artigo VII.

49. Takamura N, Kondoh T, Ohgi S, Arisawa K, Mine M, Yamashita S, Aoyagi k. Abnormal folic acid-homocysteine metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in Japan. *Eur J Nutr* (2004) 43 : 285–87.

50. Tamura T, Picciano MF. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr* 2006;83:993–1016.

51. Trumbo PR, Yates AA, Schicker-Renfro S, Suitor C. Dietary Reference Intakes: revised nutritional equivalents for folate, vitamin E and provitamin A carotenoids, *Journal of food Composition and Analysis* (2003); 16: 379-382.

52. Vitolo MR, Canal Q, Campagnolo PDB, Gama CM. Factors associated with risk of low folate intake among adolescents. *Jornal de Pediatria* ,2006; 82(2): 121-6.

53. Wald N, Law MR, Morris JK, Wald DS. Quantifying the effect of folic acid. *Lancet* (2001); 358: 2069- 73.
  
54. Wang SS, Qiao FI, Feng L, Juan-juan LV. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in China. *J Zhejiang Univ Sci B* 2008 9(2):93-99.
  
55. Wehby GL, Castilla EE, Lopez-Camelo JS, Murray JF. Predictors of multivitamin use during pregnancy in Brazil. *Int J Public Health*. 2009 ; 54(2): 78–87.
  
56. Yen J, Zoumas-Morse C, Pkiz B, Rock C. Folate intake assessmentL Validation of a new approach. *Journal of the American Dietetic Nutrition* 2003; (103)8: 991-1000.
  
57. Programa de Apoio à Nutrição. Versão 2.5 DOS. São Paulo: Escolas Paulistas de Medicina, 2001.

# ANEXOS

**ANEXO 1****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****PARA GRUPO CONROLE****10.1 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****Prezada Senhora:**

Os defeitos congênitos são defeitos que aparecem, normalmente, uma única vez nas famílias afetadas, porém em alguns casos pode haver repetição do problema. O entendimento das possíveis causas que levam a formação destas malformações, nos seus aspectos genéticos, poderá contribuir para o planejamento de uma estratégia de prevenção destas doenças.

O objetivo deste trabalho é definir a quantidade de alimentos ricos em ácido fólico (uma vitamina) que foram consumidos em média pelas mães. Esta pesquisa está voltada para mães de crianças com síndrome de Down e mães de crianças sem malformações, procurando verificar se existem hábitos alimentares diferentes entre estes dois grupos de mães. Você está sendo convidada a participar do grupo de mães de crianças sem a Síndrome de Down.

Gostaríamos de pedir sua autorização para a participação no estudo, que inclui um questionário com perguntas sobre a ingestão de alimentos-fonte deste nutriente. Essas informações serão utilizadas para estudos posteriores.

Não será necessário realizar nenhum exame e não haverá qualquer dano físico.

É conferido o pleno direito de recusar a participação no estudo e esta recusa não afetará de nenhuma maneira a assistência recebida do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Caso queira participar assine este documento. Se você tiver entre 15 e 18 anos, seu responsável legal deverá também assinar. As informações desta pesquisa são mantidas em sigilo, sendo apenas utilizadas de forma científica e anônima, em relatos especializados. Caso alguma informação derivada deste estudo for importante à senhora ou sua família todo esforço será realizado para informá-la.

Pelo presente Consentimento Informado, declaro que fui esclarecido:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida sobre o questionário ou outros assuntos relacionados a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isso prejudique o meu cuidado e tratamento;
- da segurança de que não serei identificado e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com minha privacidade;

Os pesquisadores responsáveis por este projeto são a Dra. Lavínia Schüler Faccini e a nutricionista Bruna Binotto Brognoli (Fone:51- 99918200 ou 51-32235992).

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Nome e Assinatura do Paciente

---

Nome e Assinatura do Responsável

**ANEXO 2****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****PARA GRUPO CASO****10.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****Prezada Senhora:**

Os defeitos congênitos são defeitos que aparecem, normalmente, uma única vez nas famílias afetadas, porém em alguns casos pode haver repetição do problema. O entendimento das possíveis causas que levam a formação destas malformações, nos seus aspectos genéticos, poderá contribuir para o planejamento de uma estratégia de prevenção destas doenças.

O objetivo deste trabalho é definir a quantidade de alimentos ricos em ácido fólico (uma vitamina) que são consumidos em média pelas mães. Esta pesquisa está voltada para mães de crianças com síndrome de Down e mães de crianças sem malformações, procurando verificar se existem hábitos alimentares diferentes entre estes dois grupos de mães.

Gostaríamos de pedir sua autorização para a participação no estudo, que inclui um questionário com perguntas sobre a ingestão de alimentos-fonte deste nutriente. Essas informações serão utilizadas para estudos posteriores.

Não será necessário realizar nenhum exame e não haverá qualquer dano físico.

É conferido o pleno direito de recusar a participação no estudo. Caso queira participar assine este documento. Se você tiver entre 15 e 18 anos, seu responsável legal deverá também assinar. As informações desta pesquisa são mantidas em sigilo, sendo apenas utilizadas de forma científica e anônima, em relatos especializados. Caso alguma informação derivada deste estudo for importante à senhora ou sua família todo esforço será realizado para informá-la.

Pelo presente Consentimento Informado, declaro que fui esclarecido:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida sobre o questionário ou outros assuntos relacionados a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isso prejudique o meu cuidado e tratamento;
- da segurança de que não serei identificado e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com minha privacidade;

Os pesquisadores responsáveis por este projeto são a Dra. Lavínia Schüler Faccini e a nutricionista Bruna Binotto Brognoli (Fone:51- 99918200 ou 51-32235992).

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Nome e Assinatura do Paciente

---

Nome e Assinatura do Responsável

# APÊNDICE



APÊNDICE 1

## QUESTIONÁRIO APLICADO NA PESQUISA

11.1 Questionário de Pesquisa – Trabalho de Mestrado

Nº do questionário: \_\_\_\_\_

1. Idade em que foi mãe: \_\_\_\_\_ Sexo da criança: ( ) F ( ) M

2. Cidade que Reside: \_\_\_\_\_

3. Local da Coleta: \_\_\_\_\_

4. Escolaridade do responsável pela casa:

( ) Analfabeto ( ) 1º Grau ( ) 2º Grau ( ) Nível Superior ( ) Pós-graduação

Informações sobre a pesquisada:

5. Profissão: \_\_\_\_\_ 6. Você possui renda? ( ) Sim ( ) Não

7. Depende financeiramente de alguém? ( ) Sim ( ) Não

Qual a Renda Familiar? R\$ \_\_\_\_\_

8. Quantos Filhos você tem? \_\_\_\_\_ Algum deles apresenta má-formação? ( ) Sim

( ) Não Caso sim, qual o problema? \_\_\_\_\_

Qual a ordem do filho afetado? \_\_\_\_\_ Parto ( ) Normal ( ) Cesária

9. Você fez pré-natal? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não sabe

10. Teve acompanhamento médico ao longo da gestação? ( ) Sim ( ) Não

11. Durante a gestação você recebeu orientações sobre a suplementação de alguma vitamina? ( ) Sim ( ) Não

12. Fez uso de algum suplemento vitamínico ao longo da gestação? ( ) Sim ( ) Não Caso sim você lembra qual tipo? \_\_\_\_\_

13. Fazia uso de algum medicamento contínuo antes de saber que estava grávida? ( ) Sim ( ) Não

14. Alguma vez você teve orientação sobre a suplementação de uma vitamina chamada ácido fólico que pode prevenir malformações em crianças? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não sabe



**APÊNDICE 2**

**ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO**

# ARTIGO

**CONSUMO HABITUAL DE ALIMENTOS RICOS EM FOLATO COMO UM  
POSSÍVEL FATOR DE PROTEÇÃO PARA A SÍNDROME DE DOWN.**

***FOLATE-RICH FOODS INTAKE AS A POSSIBLE PROTECTION FACTOR FOR  
DOWN SYNDROME..***

**Bruna Binotto Brognoli<sup>1</sup> e Lavínia Schüler-Faccini<sup>2</sup>**

Título Abreviado: Consumo de alimentos ricos em folato e risco para síndrome de Down.

Endereço para correspondência e contato:

Bruna Binotto Brognoli

Rua Paulino Chaves, 576. Cep: 90640-200- Porto Alegre- RS- Brasil

Telefones: (51) 99918200/ 32235992- e-mail: budybrognoli@hotmail.com

Introdução: Desde 2004 a fortificação com ácido fólico tornou-se obrigatória entre os fabricantes de farinha de trigo e milho no Brasil, seguindo condutas anteriormente adotadas em outros países ao redor do mundo, nas doses de 150 µg de folato para cada 100 g de farinha.

Objetivo: Comparar a quantidade diária de ácido fólico consumido por mães de crianças com síndrome de Down e mães de crianças sem a malformação.

Métodos: Foi realizado um estudo de caso-controle, com uma amostra de 100 mães das quais 50 apresentavam filhos com síndrome de Down e 50, consideradas grupo controle, não apresentavam filhos com malformações genéticas. Aplicou-se um questionário de frequência quantitativa contendo questões relativas à classificação sócio-econômica e ao consumo de alimentos-fonte e alimentos fortificados com a vitamina em questão. Todas participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

---

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Saúde da Criança e do Adolescente

<sup>2</sup> Departamento de Genética da UFRGS e Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil.

Resultados: Entre as variáveis em análise, somente a quantidade diária de ácido fólico consumida e a idade ao nascimento da criança diferiu-se significativamente entre os grupos de mães. Mães caso consumiram em média 359,1 µg/dia de ácido fólico enquanto as mães do grupo controle, 425,5 µg/dia ( $p=0,001$ ).

Conclusões: Pelo presente estudo pode-se identificar o consumo adequado de ácido fólico como um fator protetor para a Síndrome de Down. Desde a fortificação alimentar, o valor recomendado pela RDA de 400 µg/dia tem sido mais facilmente atingido e com ele os benefícios da diminuição do risco associado.

Palavras-chave: Fortificação Alimentar. Ácido Fólico. Síndrome de Down. Cuidados Pré-Gestacionais. Defeitos Congênitos. Defeitos do Tubo Neural.

## **INTRODUÇÃO**

A Síndrome de Down (SD) é a mais freqüente causa de retardo mental em humanos que resulta da presença e expressão de três cópias dos genes localizados no cromossomo 21 (trissomia do 21) (1,2). Embora as características clínicas da Síndrome de Down sejam bem conhecidas, os mecanismos pelo qual ocorre a não disjunção ainda são pouco claros (3,4). Até o momento, somente a idade materna avançada - no momento da concepção (superior a 35 anos), foi comprovadamente reconhecida como fator etiológico. (2,5,6).

Dentre as possíveis causas que influenciam na taxa de não-disjunção meiótica em nossa espécie, a associação de polimorfismos maternos relacionados ao metabolismo do folato e da homocisteína tem gerado grande entusiasmo entre os pesquisadores (5,7,8).

O ácido fólico ou folato (sua forma sintética) é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B e vital para o funcionamento e crescimento normal do organismo (9). Embora esta vitamina seja encontrada em um amplo espectro de alimentos como o levedo de cerveja, nos vegetais de folhas verdes e em frutas como laranja e banana além de carnes, ovos e feijão é bastante comum a ingestão insuficiente desta vitamina (10).

O valor recomendado pela RDA (*Recommended Dietary Allowances*) é de 400 µg/dia, e para mulheres em idade fértil e durante o primeiro trimestre gestacional de 600 µg/dia (7,11,12).

Para atingir níveis de ingestão adequados, a fortificação alimentar vem sendo utilizada há mais de 50 anos. Uma destas formas de fortificação é a que utiliza o ácido fólico na farinha de trigo e de milho, implementada a partir de 1998 (13,14) em alguns países e em 2002, através de uma resolução do Ministério da Saúde, no Brasil, devendo ser efetivamente colocada em prática até 2004. A resolução prevê que a cada 100 g de farinha, sejam acrescidos 150 µg de ácido fólico (12, 14).

A ingestão inadequada de ácido fólico no período periconcepcional está intimamente associada aos defeitos do tubo neural (9, 16), este estudo objetiva verificar se há uma relação da baixa ingestão habitual de alimentos ricos em ácido fólico com uma maior predisposição à Síndrome de Down avaliando a ingestão habitual de alimentos-fonte em mulheres do estado do Rio Grande do Sul- Brasil.

## **SUJEITOS E MÉTODOS**

Este estudo de caso-controle, avaliou 100 mulheres em diferentes cidades no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Metade das mães (n= 50) foram incluídas no grupo controle não havendo filhos com má-formações congênitas e a outra metade (n= 50) foram alocadas no

grupo caso, apresentando pelo menos um filho com a trissomia livre. Foram excluídas do estudo mães que tenham tido seus filhos com mais de 35 anos, que tenham suplementado ácido fólico periconcepcional ou durante a gestação e que tiveram seus filhos antes de 2002, quando ainda não havia iniciado a fortificação com ácido fólico as farinhas de trigo e milho no Brasil.

A amostra de mães com crianças com Síndrome de Down foi obtida através de serviços gratuitos de apoio às crianças e seus familiares como Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) e Associação de Familiares e Amigos do Down (AFAD) do Rio Grande do Sul. As mães do grupo controle foram entrevistadas em uma das zonas de atendimento do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A amostra foi de conveniência.

Todas as mulheres para participarem do estudo tiveram que assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para avaliar a quantidade de ácido fólico consumido habitualmente pelas entrevistadas, aplicou-se um questionário de consumo habitual contendo questões relativas à classificação sócio-econômica e ao consumo de alimentos fonte e farináceos suplementados com ácido fólico. O questionário foi adaptado para o nutriente em questão e para a realidade brasileira. Para quantificar o ácido fólico ingerido semanalmente por estas mulheres, utilizou-se o programa de nutrição do Centro de Informática em Saúde da Escola Paulista de Medicina- Universidade de São Paulo, software “Programa de Apoio à Nutrição” versão 2.5 (17) . Quando necessários, também foram acrescentados alimentos no programa com informações de rótulos ou adquiridas diretamente com as empresas alimentícias do Brasil.

Todas as mulheres foram abordadas e entrevistadas pela mesma pesquisadora.

As variáveis estatísticas foram características demográficas sociais e aspectos relacionados à alimentação das mulheres entrevistadas.



Para avaliar a existência de correlação entre idade, renda familiar, número de filhos, e o consumo de ácido fólico, foi utilizada a correlação de Pearson, considerando que a maior parte das variáveis apresentou distribuição normal. O teste não paramétrico de Kolmogorov Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados.

Para possíveis diferenças entre as variáveis nos grupos caso e controle, foi feita a regressão logística simples e ajustada, sendo calculado o Odds Ratio e o intervalo de confiança de 95% e um erro amostral de 5%. Os dados são descritos por média e desvio padrão ou mediana e limite mínimo e limite máximo.

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão Científica e Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

## **RESULTADOS**

Conforme mostra a Tabela 1, sobre a caracterização da amostra, a média de idade em que as mães das crianças com síndrome de Down tiveram seus filhos, foi de 27,5 anos (dp  $\pm$  4,8). Já as mães de crianças sem síndrome de Down, tiveram seus filhos, com uma média de idade de 25,4 (dp  $\pm$  5,3). Com base na média de idade dos grupos comparados, observou-se um  $p= 0,042$ , havendo diferença significativa entre a idade em que as mães entrevistadas tiveram seus filhos em questão.

A média de renda familiar mensal foi no grupo caso, de R\$ 1003,2 (dp  $\pm$  511,9) e no grupo controle foi de 955,7 (dp  $\pm$  462,9). Não se observou diferença significativa ( $p= 0,628$ ) na renda média mensal entre os grupos. A mediana do número de filhos, foi no grupo caso de 2,24 (sendo o limite inferior 1 e o superior, 5 filhos) e no grupo controle de 2,02 (sendo o valor mínimo de 1 filho e o máximo de 7).

Das crianças com síndrome de Down, 62 % (31 crianças) eram do sexo feminino e 38% (19 crianças) do sexo masculino. As mães controle, apresentaram 23 crianças do sexo masculino (46%) e 27 (54%) do sexo feminino.

A média diária do consumo de alimentos-fonte e à base de farinhas suplementadas, quando considerados em conjunto, foi no grupo caso de 359,1 (dp  $\pm$  91,9) e no grupo controle de 425,5 (dp  $\pm$  104,3). Sendo esta, a única das variáveis em estudo que diferenciou-se significativamente entre o grupo caso e o grupo controle ( $p < 0,001$ ).

Nem a idade materna no momento da gestação, nem o número de filhos, nem a renda familiar correlacionaram-se com um maior ou menor consumo de ácido fólico. Embora não tenha sido discriminado neste estudo, observa-se, que a maior parte dos alimentos- fonte consumidos são aqueles à base de farinha, como pães, bolos, bolachas e produtos industrializados como um todo.

Os achados estatísticos neste estudo, com esta amostra de 100 mães, sugere que a quantidade de ácido fólico consumida seja um fator protetor para SD. Ou seja, quanto mais ácido fólico, menor a chance de concepção de crianças com SD. No estudo evidenciou-se que cada 10 g de ácido fólico consumidos representariam uma redução de risco 6,5%.

Das 116 mães entrevistadas, somente 4 (3,4%) relataram uso de suplemento periconcepcional ou durante a gestação sendo desta maneira, excluídas da amostra. Chamou atenção o desconhecimento das mães entrevistadas no estudo, a respeito desta vitamina bem como a desinformação quanto à suplementação, ainda mais por serem gestações relativamente recentes.

Observou-se que 34 mães (68%) do grupo caso e 21 mães (42%) do grupo controle consumiam quantidades inferiores a 400  $\mu$ g/ dia. Apenas 1 das mães do grupo caso (2 %) e 5 das mães do grupo controle (10%) consumiam mais de 600  $\mu$ g/ dia de ácido fólico. Se

considerando a amostra entrevistada como um todo, 55 mães (55%) não consumiam o valor mínimo recomendado de ácido fólico por dia.

## **DISCUSSÃO**

No presente estudo, até por critérios de seleção de amostra, observou-se uma média de idade de 27,5 anos ( $dp \pm 4,85$ ) entre as mães de crianças com Síndrome de Down, sugerindo a possível ação ou interação de outros fatores predisponentes para a não disjunção do cromossomo 21 que não a idade materna avançada.

Relatos na literatura demonstram muitos casos de SD em famílias com crianças com defeitos do tubo neural e vice-versa (18).

Desde 1998 quando passou a fortificar-se as farinhas com ácido fólico, chama atenção, que o Brasil, assim como o Chile, tornaram obrigatórias quantidades superiores às aquelas recomendadas pela Food and Drug Administration (FDA). Acredita-se que esta leve alteração se deva ao baixo consumo de alimentos ricos em ácido fólico nestes países.

Estudos das últimas décadas relatam uma importante mudança no padrão alimentar brasileiro. O consumo de hortaliças, frutas, verduras, leguminosas e oleaginosas diminuíram significativamente enquanto o número de produtos industrializados bem como de farináceos aumentou de forma aberrante.

A Pesquisa do Orçamento Familiar (IBGE/2008-2009) (19) mostrou que na região Sul, em especial na área urbana, o consumo de alimentos panificados, em especial o pão francês, teve um aumento significativo comparado aos dados de outros censos realizados. Nesta pesquisa, a região sul apresentou consumo médio de 144 g/dia de farinha o que resultaria em um aumento de 270  $\mu\text{g}/\text{dia}$  de ácido fólico (12).

A média de consumo diário no presente estudo, incluindo alimentos fortificados e alimentos-fonte, foi no grupo caso de 359,1  $\mu\text{g}/\text{dia}$  e no grupo controle, 425,5  $\mu\text{g}/\text{dia}$ . Mais da

metade das mães entrevistadas (55%) não consumia a quantidade mínima de 400 µg/ dia e apenas 12% do total da amostra consumia mais que 600 µg/ dia recomendados para mulheres planejando uma gestação ou já grávidas.

Outros estudos nacionais como o de Santos-Rebouças et al.(20) conduzido no estado do Rio de Janeiro não observou diferença significativa ( $p=0,82$ ) entre os grupos caso e controle, avaliando dieta de mães de crianças com SD e sem malformações, sendo o consumo médio/dia no grupo caso de  $224.28 \mu\text{g}/\text{dia} \pm 100.66$  e no grupo controle de  $216.70 \pm 62.45$ . Neste estudo, evidenciou-se que 93,7 % das mulheres em idade gestacional apresentavam uma ingesta inadequada de folato, sendo valores abaixo dos preconizados pela RDA.

Avaliando mulheres em idade fértil na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Ferreira et al. (21) observaram um consumo diário médio de 404 µg/ dia de ácido fólico. Da amostra entrevistada, 88 % (352 mulheres) ingeriam menos do que os 400 µg/ dia recomendados. Através do Questionário de Frequência Alimentar (QFA), Yen et al (22) obtiveram uma média de consumo de 458,5 µg/dia.

Pesquisas mais recentes realizadas por Houghton et al. (23), no Canadá encontraram valores de consumo de ácido fólico entre 151- 410 µg/dia. Parte da diferença encontrada pode estar relacionada a fatores sócio-culturais e quantidades especificadas de ácido fólico suplementados em seus alimentos visto que não há uma quantidade padrão entre os países.

Cabe colocar, que embora estes estudos avaliem a quantidade de ácido fólico ingerida por estas mulheres em idade fértil, em nenhum há uma adequação quanto à biodisponibilidade. Os valores nutricionais do folato natural e do ácido fólico sintético apresentam uma biodisponibilidade diferente. Do ácido fólico acrescido aos alimentos e farinhas, há um aproveitamento de 85 a 100% enquanto o folato em sua forma natural tende a ser somente 50% aproveitado (24).

Embora tenhamos encontrado uma média de consumo diário de 359,1 µg/dia nas mães de criança com SD e de 425,5 µg/dia no grupo de mães de crianças sem malformações, é importante ressaltar que não consideramos cocção, exposição à luz ultravioleta ou qualquer outro fator que pudesse diminuir a biodisponibilidade desta vitamina.

No que diz respeito à suplementação oral periconcepcional de ácido fólico há relatos de prevalências variando entre 0,5% e 52% em estudos realizados em vários países das Américas, Europa, Austrália e Ásia, podendo-se observar que o baixo nível educacional e sócio-econômico, a menor idade materna, a falta de um parceiro e a gestação não planejada são fortes preditores do uso reduzido.

Um levantamento de dados atual (9), em um Hospital privado da Dinamarca, ao entrevistar 84 puérperas evidenciou que 69 destas (82%) tinham conhecimento sobre ácido fólico e 75 destas mães (89%) haviam feito uso do suplemento de forma adequada.

Um estudo multicêntrico avaliou 2008 mulheres em 6 diferentes países sul-americanos entre eles Argentina, Brasil, Bolívia, Chile, Equador e Paraguai. Destas, 1190 (42,4%) relataram ter feito uso de suplemento vitamínicos durante ou antes da gestação. Destas, somente 339 (14,8%) consumiram ácido fólico (25).

Em um estudo realizado por Mezzomo et al. (26), na cidade de Pelotas no Rio Grande do Sul, evidenciou-se que das 1450 mães entrevistadas no pós-natal, apenas 4,3% (62 mães) utilizaram suplemento de ácido fólico de forma periconcepcional e 31,8% utilizaram em algum momento da gestação.

Evans et al (27) avaliaram 2002 mulheres em idade fértil na Pensilvânia e encontraram suplementação de ácido fólico em 25,6% destas. Neste estudo, quanto mais avançada a idade das mulheres entrevistadas, maior os índices de suplementação.

Mais do que os benefícios já conhecidos e comprovados do uso de ácido fólico em quantidades suficientemente adequadas, os resultados deste estudo que embora tenha sido

aplicado em uma amostra restrita e específica poderá ser expandido quem sabe à outras populações e poder-se-á elucidar benefícios ainda mais claros e convincentes a respeito do ácido fólico. É importante uma educação nutricional, orientar os pacientes quanto às escolhas alimentares, mas sabemos que embora de suma importância, em períodos gestacionais isso não é o suficiente. Uma conscientização em massa nos profissionais de saúde poderá prover a suplementação periconcepcional adequada bem como a promoção do conhecimento sobre alimentos fonte e possíveis benefícios de determinadas vitaminas e isso refletirá positivamente, na saúde e desenvolvimento dos bebês.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Artigo VIII. 1. Eskes TK. Abnormal folate metabolism in mothers with Down syndrome offspring: review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* (2006); 1;124(2):130-3.  
Artigo IX.

2. Coppéde F, Marini G, Bargagna S, Stuppia L, Minichilli F, Fontana I, Colognato R, Astrea G, Palka G, Migliore L. Folate Gene Polymorphisms and the Risk of Down Syndrome Pregnancies in Young Italian Women. *American Journal of Medical Genetics* (2006) 140A:1083–1091.

3. Meijer WM, Werler MM, Louik C, Hernandez-Diaz S, de Jong-van den Berg LTW, Mitchell AA. Can Folic Acid Protect against Congenital Heart Defects in Down Syndrome? *Birth Defects Research* (2006) 76:714–717.

4. Mégarbané A., Ravel A, Mircher C, Sturtz F, Grattau Y, Rethore MO, DelabarJM, Mobley WC. The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: the past, present, and future of research and treatment of Down syndrome. *Genetics IN Medicine* (2009); 11: 1-6.

Artigo X.

Artigo XI.

Artigo XII. 5. Kohli U, Arora S, Kabra M, Ramakrishnan L, Gulati S, Pandey RM. Prevalence of MTHFR C677T polymorphism in north Indian mothers having babies with Trisomy 21 Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract.* 2008 Oct;12(2):133-7.

Artigo XIII.

Artigo XIV.

**Artigo XV.** 6. Coppéde F. The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome. *Mutation Research* 682 (2009) 54–70.

7. Gardiner PM, Nelson L; Shellhaas CS, Dunlop AL, Long R, Andrist S, Jack BW. The clinical content of preconception care: nutrition and dietary supplements . American Journal of Obstetrics & Gynecology (2008); S345- 56.
8. Berghella V, Buchanan E, Pereira L, Baxter JK. Preconception Care. *Obstet Gynecol* 2010;108:1615–22.
9. Rasmussen MM. Folic acid supplementation in pregnant women. *Dan Med Bull* (2010) ;57:A4134.
10. Wehby GL, Castilla EE, Lopez-Camelo JS, Murray JF. Predictors of multivitamin use during pregnancy in Brazil. *Int J Public Health*. 2009 ; 54(2): 78–87.
11. Trumbo PR, Yates AA, Schicker-Renfro S, Suitor C. Dietary Reference Intakes: revised nutritional equivalents for folate, vitamin E and provitamin A carotenoids, *Journal of food Composition and Analysis* (2003); 16: 379-382.
12. Pacheco SS, Braga C, Impieri de Souza I, Figueiroa JN. Effects of folic acid fortification on the prevalence of neural tube defects. *Rev Saúde Pública* 2009;43(4) : 1-6.
13. De Wals P, Tairou F, Van Allen MI, Uh SH, Lowry RB, Sibbald B, Evans JA, Van den Hof MC, Zimmer P, Crowley M, Fernandez B, Lee NS, Niyonsenga T. Reduction in Neural-Tube Defects after Folic Acid Fortification in Canada. *N Engl J Med* (2007);357:135-42.
14. Erickson JD. Folic Acid and prevention of Spina Bifida and Anencephaly 10 years after the U.S Public Health Service Recommendation. *MMWR* (2002) 51:RR-13.
15. Mathews TJ, Honein MA, Erickson JD. Spina bifida and anencephaly prevalence- United States, 1991-2001. *MMWR* (2002) 51:RR-13.
16. Boushey CJ, Edmonds JW, Welshimer K. Estimates of the Effects of Folic- Acid fortification and Folic-acid Bioavailability for women. *Nutrition* (2001); 17: 873-879.
17. Programa de Apoio à Nutrição. Versão 2.5 DOS. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, 2001.
18. Barkai G, Arbuzova S, Berkenstadt M, Heifetz S, Cuckle H. Frequency of Down's syndrome and neural-tube defects in the same family. *Lancet*. 2003;361(9366):1331-5.

19. Pesquisa de Orçamentos familiar 2008-2009: Despesas, Rendimentos e Condições de Vida. Rio de Janeiro: IBGE 2010. Disponível em [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008\\_2009/POFpublicacao.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/POFpublicacao.pdf). Acessado em 12 de Julho de 2010.
20. Santos-Rebouças C.B., Corrêa JC, Bonomo A, Fintelman-Rodrigues N, Moura KCV, Rodrigues CS, Santos JM, Pimentel MM. The impact of folate pathway polymorphisms combined to nutritional deficiency as a maternal predisposition factor for Down syndrome. *Dis Markers*, 2008, 25(3): 149-57.
21. Ferreira AF, Giugliani R. Consumption of folic acid-fortified flour and folate-rich foods among women at reproductive age in South Brazil. *Community Genet.* 2008;11(3):179-84.
22. Yen J, Zoumas-Morse C, Pkiz B, Rock C. Folate intake assessmentL Validation of a new approach. *Journal of the American Dietetic Nutrition* 2003; (103)8: 991-1000.
23. Houghton LA, Sherwood KL, O'Connor DL. How well do blood folate concentrations predict dietary folate intakes in a sample of Canadian lactating women exposed to high levels of folate? An observational study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2007, 7:25.
24. Kaluski DN, Amitai Y, Haviv A, Goldsmith R, Leventhal A. Dietary folate and the incidence and prevention of neural tube defects: A proposed triple intervention Approach in Israel. *Nutrition Reviews* (2002); 60(11): 303-307.
25. Castilla EE, Dutra MG, Lopez-Comelo JS, Rittler M, Orioli IM. Awareness of Benefit of Periconcepcional Folic Acid Supplementation in South America. *Community Genetic* (2000); 3: 71-6.
26. Mezzomo CLS, Garcias GL, Sclowitz ML, Sclowitz JT, Brum CB, Fontana T, Unfried RI. Prevenção de defeitos do tubo neural: prevalência do uso da suplementação de ácido fólico e fatores associados em gestantes na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro,(2007) 23(11):2716-2726.
27. Evans L., Weisman CS. Folic Acid Supplementation in younger and older nonpregnant women of reproductive age. Findings from the Central Pennsylvania Women's Health Study (CePAWHS). *Women's Health Issues* 20 (2010) 50–57.



**Tabela 1- Caracterização da Amostra**

Variável	Casos	Controles	P
n	50	50	
Idade mãe	27,5 (dp= 4,85)	25,4 (dp= 5,31)	0,042
Número de filhos	2,24 (1-5)	2,02 (1-7)	0,383
Renda Familiar	1003,2 (dp= 511,9)	955,7 (dp= 462,9)	0,628