

Determinação dos valores do ácido fólico sérico na gravidez normal

Determination of serum levels of folic acid in normal pregnancy

Maria Helena Setsuko Morita¹, Mônica Vázquez Lopez¹

Resumo

Objetivo: avaliar a concentração sérica do ácido fólico em gestantes normais. **Métodos:** estudaram-se 62 grávidas, atendidas no ambulatório de Pré-natal do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Santa Casa de São Paulo, denominadas de Grupo A (de estudo ou de gestantes). Foram agrupadas nos três trimestres de acordo com idade gestacional (subgrupos A1, A2 e A3); o grupo-controle, denominado de B (ou não gestantes), constou de 31 mulheres normais, no menacme, não grávidas, atendidas no ambulatório de Ginecologia do mesmo Departamento. Utilizou-se o método de dosagem por radioisótopos. **Resultados:** obtiveram-se médias dos valores séricos de ácido fólico para o grupo de grávidas de 4,3094 + 2,0663 ng/ml, quando tomado em conjunto e de 4,9589 + 2,1822 ng/ml, 4,0170 + 1,9141 ng/ml e 4,0285 + 2,0847 ng/ml para o primeiro, segundo e terceiro trimestres, respectivamente. Para as não grávidas encontrou-se média de 4,3403 + 1,6747 ng/ml. Estes resultados não se mostraram diferentes quando a média dos valores do grupo de grávidas foi comparada com a das não grávidas; tampouco foram diferentes as médias dos valores séricos de ácido fólico dos três trimestres entre si e quando cotejados, isoladamente, com a média dos valores das não grávidas. **Conclusões:** Conclui-se que a gravidez não altera a concentração sérica de ácido fólico.

Descritores: Ácido fólico, Gravidez, Defeitos do tubo neural, Volume plasmático, Radioisótopos

Abstract

Purpose: To evaluate the folic acid serum concentration in non pregnant and pregnant women. **Methods:** There were observed two groups of women attended at the Pre

natal and Gynecology outpatient dept from the Department of Obstetrics and Gynecology of Santa Casa of São Paulo. The first one, called A (or pregnant women) of 62 normal pregnant women, organized in three groups according to their pregnancy period (sub groups A1, A2 and A3); the second group denominated B (or non pregnant women), formed by 31 non pregnant normal women, in reproductive age, taken care in the clinic of Gynecology of the same Department. The method had been used for dosage was radioisotopes. **Results:** The average serum values of folic acid for the group of pregnant women was 4,3094 + 2,0663 ng/ml, when considered all together and 4,9589 + 2,1822 ng/ml, 4,0170 + 1,9141 ng/ml and 4,0285 + 2,0847 ng/ml for the first, second and third trimesters, respectively, using the radioisotopes dosage method. For non pregnant women, was found the average value 4,3403 + 1,6747 ng/ml. This result does not show significant differences when compared to the average value of the two groups - pregnant and non pregnant; even the average serum value of folic acid was not different in the three trimesters or alone with the average of the value of the non pregnant. **Conclusions:** It can be concluded that pregnancy does not change the serum concentration of folic acid.

Key-words: Folic acid, Pregnancy, Neural tube defect, Plasma volume, Radioisotopes

Introdução

O ácido fólico é o mais importante fator de risco para os defeitos do tubo neural identificado até hoje. Apresenta um papel importante na multiplicação celular, sendo, portanto, imprescindível durante a gestação. O folato participa do controle no número dos eritrócitos, alargamento do útero e o crescimento da placenta e do feto (Scholl, Johnson, 2000).

Folato, ácido fólico, folacina e ácido pteroilglutâmico são denominações sinônimas de vitamina hidrossolúvel contendo pteridina. É requisito para o crescimento normal na fase reprodutiva (gestação e lactação) e na formação de anticorpo. Atua como coenzima no metabolismo de aminoácidos (glicina) e síntese de purinas e pirimidinas, síntese de ácido nucleico DNA e RNA e é vital para a divisão celular e síntese protéica. Conseqüentemente, sua deficiência pode

1. Professor Assistente da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

Trabalho realizado: Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Endereço para correspondência: Maria Helena S. Morita. Rua Teodoro Sampaio, 744. cj 85, Pinheiros - 05406-000 - São Paulo, SP – Brasil. Fone/Fax (11) 3082 4037 / E-mail: maria_morita@uol.com.br

ocasionar alterações na síntese de DNA e alterações cromossômicas (Vitolo, 2003; Santos, Pereira, 2007).

Entre as conseqüências desta deficiência estão listadas algumas das complicações obstétricas (doença hipertensiva específica da gravidez, descolamento prematuro da placenta, abortamento, parto pré-termo e baixo peso ao nascer) apesar da controvérsia dos estudos (Whalley et al, 1970; Blot et al, 1981; George et al, 2002). No entanto, é indiscutível o papel da deficiência de ácido fólico no desenvolvimento de defeitos do tubo neural (DTN), notadamente entre eles, anencefalia, encefalocele e espinha bífida tendo sido considerado o fator de risco mais importante para estas mal-formações (Wald et al, 2001; Tamura, Picciano, 2006; Aiguo et al, 2007).

Um estudo brasileiro mostrou ainda, que mulheres com mutações no gene codificador do ácido fólico têm nove vezes mais probabilidade de ter filhos com síndrome de Down, por produzirem menor quantidade de ácido fólico (Nasser et al, 2005).

A suplementação dessa vitamina periconcepcional e durante o primeiro trimestre de gravidez tem reduzido a ocorrência e recorrência de tais malformações em 50 a 70% (Santos, Pereira, 2007; Paula et al, 2006). Contudo, como muitas mulheres desconhecem seu estado inicial gravídico, e portanto não fazem uma suplementação destas vitaminas; foram implementadas medidas de largo alcance, como a obrigatoriedade, desde 2004, da fortificação com ácido fólico das farinhas de milho e trigo em todo Brasil (Frey, Hauser, 2003; Horovitz et al, 2005; Santos, Pereira, 2007).

Acredita-se que mais de um terço das gestantes no mundo são deficientes em ácido fólico. No plasma, o folato circula ligado a diferentes glicoproteínas específicas, e entre estas a metiltetraidrofolato é a encontrada em maior quantidade no soro. Na gravidez, por ação hormonal, há aumento da concentração de proteínas transportadoras, mas tal alteração não se correlaciona com os níveis de folato. As gestantes são propensas a desenvolver deficiência de folato devido, provavelmente, ao aumento da demanda desse nutriente para o crescimento fetal e tecidos maternos. Outros fatores que contribuem para a deficiência de folato são: dieta inadequada, hemodiluição fisiológica gestacional e influências hormonais (Vitolo, 2003). A incidência da deficiência é oito vezes maior em gestações múltiplas, e parece ser aumentada em adolescentes grávidas (Campbell, 1995).

Alguns estudos, na tentativa de caracterizar os valores normais de ácido fólico na gestação, apontaram valores discrepantes que variam de 4,89µg/mL/dia a 8,3µg/mL/dia para o período de 16 a 20 semanas de gravidez (Lopes et al, 2004; Fonseca et al, 2006) provavelmente devido ao método e população estudados (Kondo et al, 2005).

Neste sentido, este estudo se propõe quantificar as concentrações séricas do ácido fólico em gestantes de baixo risco durante os três trimestres e comparar com as concentrações séricas em pacientes não grávidas.

Material e Métodos

O material constou de amostras de sangue venoso periférico obtido de gestantes e não gestantes, atendidas no ambulatório de Pré-natal e Ginecologia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Santa Casa de São Paulo, por um período de três anos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética Médica da Santa Casa de São Paulo. No total, 62 gestantes com achados clínicos (hemograma, urina tipo I, sorologia para sífilis e proctoparasitológico de fezes) e obstétricos normais com feto único e idade variando entre 18 e 35 anos; intervalo inter-partal igual ou maior que dois anos e hemoglobina iguais ou maiores que 11,0 g/dl. As gestantes relataram ciclos eumenorreicos com data da última menstruação conhecida, sem uso de medicamentos incluindo polivitamínicos e outros contendo ferro.

As pacientes deste grupo (denominado Grupo A) foram subdivididas em três subgrupos, de acordo com a idade gestacional estabelecida por critérios clínicos (regra de Nagêlle) e ultra-sonográfico, a saber: grupo A1 (19 gestantes, com idade gestacional até 13 semanas e seis dias, correspondente ao primeiro trimestre); grupo A2 (23 gestantes com idade gestacional entre 14 semanas e 27 semanas e seis dias, correspondente ao segundo trimestre); grupo A3 (20 gestantes, com gestacional entre 28 semanas e 41 semanas e seis dias).

O grupo B foi formado por 31 mulheres não-grávidas atendidas no Ambulatório de Ginecologia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Santa Casa de São Paulo, eumenorreicas com idade entre 18 e 35 anos; portadoras, ao exame clínico, de doenças ginecológicas sem repercussão sistêmica; níveis de hemoglobina iguais ou maiores que 12g/dl e sem uso de medicamentos inclusive polivitamínicos ou aqueles contendo ferro. Raça, religião, estado civil, profissão, paridade, nível sócio-econômico e condições alimentares não foram levados em conta na análise dos resultados.

Amostras de 10 ml de sangue periférico foram obtidas nas 93 pacientes em posição sentada, punccionando-se a veia cefálica, na fossa antecubital, após jejum de oito horas sem orientação dietética prévia. O material assim obtido foi colocado em tubo de ensaio seco e limpo, sem anticoagulante, identificado e imediatamente encaminhado ao Laboratório Central da Santa Casa de São Paulo.

Amostras de 10 ml de sangue periférico foram colhidas com as 93 pacientes em posição sentada,

puncionando-se a veia cefálica, na fossa antecubital. O material assim obtido foi colocado em tubo de ensaio seco e limpo, sem anticoagulante, identificado e imediatamente encaminhado ao Laboratório Central da Santa Casa de São Paulo. As pacientes se encontravam em jejum de oito horas e dispensou-se a orientação dietética prévia.

O material assim colhido foi separado o soro, e este imediatamente armazenado em freezer para que todas as amostras fossem processadas na mesma ocasião e dosado o ácido fólico, visto que a validade do kit, uma vez aberto, seria de apenas 30 dias em refrigeração adequada.

A medida da concentração do ácido fólico foi realizada, em duplicata, por método de radio-imunoensaio, contendo Iodo 125 (I 125), denominado "Solid Phase No Boil Assay Dualcount for Folic Acid/ Vitamin B12" da marca DPC (Diagnostic Products Corporation), Los Angeles, CA 90045.

Metodologia

O procedimento envolveu três passagens. Primeiro houve liberação do ácido fólico da amostra de sangue por desnaturação da proteína ligadora endógena por incubação em pH alcalino, acima de 12. A seguir foi acrescentado outra proteína ligadora, a beta lactoalbumina, a qual tem afinidade igual, tanto para forma MTHF (forma predominante do ácido fólico em circulação) como para PGA (ácido pteroilglutâmico), a forma estável, do ácido fólico. Finalmente, com a ligação estabilizada fez-se a centrifugação e decantação para que fosse feita a quantificação do ácido fólico presente no precipitado, utilizando-se de contador gama. O sobrenadante é a proteína ligadora. O "kit" para realização do exame é fornecido em solução, tornando-o de pronto uso, incluindo o ^{125}I marcado que é capturado pelo ácido fólico. O valor encontrado foi transformado em concentração do ácido fólico colocando-o em uma curva padrão em escala semi-logarítmica.

Ou seja, a dosagem feita em duplicata, forneceu dois valores, x_1 e x_2 , e a concentração do ácido fólico foi obtida de acordo com a fórmula:

$$(X - \text{NSB}) \times 100 \div \text{MB} = y$$

$$X = \frac{(x_1 + x_2)}{2}$$

NSB= ligação não específica (específico para cada kit)

MB= ligação máxima (específico para cada kit)

y= é levado a gráfico em escala semi-logarítmica, obtendo-se o valor final da dosagem

Os valores de normalidade da concentração de ácido fólico sérico variam de 3,0 a 17 ng/ml, de acordo com testes não paramétricos, conforme consta nas instruções do fabricante. Este kit é calibrado para fornecer valores entre 0,5 a 24 ng/ml.

Resultados

No subgrupo A1, de 19 gestantes do primeiro trimestre da gravidez a média (\bar{x}) e desvio padrão (\pm) da concentração sérica de ácido fólico neste grupo foram de $\bar{x} = 4,9589 \pm 2,1822$ ng/ml e a amplitude de variação foi de 0,9 ng/ml a 8,80 ng/ml.

Valores de ácido fólico sérico do subgrupo A2, correspondentes a 23 gestantes no segundo trimestre e cuja média e desvio padrão foram: $\bar{x} = 4,0170 \pm 1,9141$ ng/ml, com resultados variando entre mínimo de 1,55 ng/ml e máximo de 7,80 ng/ml.

Os valores séricos de ácido fólicos encontrados nas 20 gestantes do terceiro trimestre, constituintes do subgrupo A3. A média foi de $4,0285 \pm 2,0847$ ng/ml, com resultados variando entre 0,58 ng/ml, como valor mínimo e 8,50 ng/ml, como máximo.

Os resultados de 31 pacientes não gestantes, denominadas de Grupo B, a média dos valores séricos de ácido fólico foi de $4,3403 \pm 1,6747$ ng/ml, com valor mínimo de 1,80 ng/ml e máximo de 9,10 ng/ml.

A análise estatística utilizada para comparar as amostras foram procedimentos não-paramétricos, por meio do teste da mediana e o teste de Mann-Whitney, e o procedimento paramétrico, de acordo com o teste t e a análise de variância, cujos resultados encontram-se na Tabela 2.

Para avaliar a homogeneidade das amostras baseou-se nos mesmos estudos, e, a análise dos valores

Tabela 1

Estudo estatístico dos resultados obtidos, através da análise de variância.

Grupo	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média dos Quadrados	F	Probabilidade
Entre os Subgrupos e Grupo B	11,581	3	3,860	1,032	0,3826
Dentro dos Subgrupos	333,027	89	3,742		
Total	344,609	92			

Tabela 2

Estudo estatístico dos resultados obtidos, através da análise de variância.

Grupo	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média dos Quadrados	F	Probabilidade
Entre os Subgrupos e Grupo B	11,581	3	3,860	1,032	0,3826
Dentro dos Subgrupos	333,027	89	3,742		
Total	344,609	92			

Tabela 3

Análise de Variância

Grupos	Estatística	p-value
B e A ₁	$\lambda = 1,358$	25,0%
B e A ₂	$\lambda = 0,381$	54,0%
B e A ₃	$\lambda = 0,347$	55,8%
A ₁ e A ₂	$\lambda = 2,206$	14,5%
A ₁ e A ₃	$\lambda = 1,924$	17,4%
A ₂ e A ₃	$\lambda < 0,001$	98,7%

A Tabela 3 descreve os valores de p-value, os quais, por serem relativamente altos, indicam que os grupos não têm diferenças significativas de acordo com os níveis de (α) usualmente adotados, ou seja, 1%, 2,5%, 5% ou mesmo 10%.

de p de cada um desses testes, constantes na Tabela 3 permitiu-nos a conclusão no referida no trabalho.

No trabalho considerou-se como estudo estatístico a análise de variância e o p resultante permitiu concluir não existir diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos A1, A2 e A3; assim como entre cada um deles e o grupo B (Tabela 3).

Ou seja, as análises estatísticas permitem afirmar que não há diferenças significativas entre médias dos valores de ácido fólico sérico para o grupo de gestantes e o grupo de não gestantes.

Assim também, como não há diferenças significativas entre as médias dos valores de ácido fólico sérico para os três trimestres da gestação, quando comparados entre si e com o grupo de não gestantes. (Tabela 1)

Discussão

A descoberta da relação causal entre o ácido fólico e a anemia megaloblástica, e posterior conhecimento da participação dessa vitamina na síntese do DNA, possibilitaram novo campo de pesquisa. (Gisondi et al, 2007)

Neste trabalho, esperava-se observar nas pacientes não grávidas, que a concentração sérica de ácido fólico fosse maior do que nas gestantes, por não apresentarem aumento de necessidade e de volume plasmático e pela tendência à diminuição ao longo da gravidez (Souza et al, 2003; Vítolo, 2003). Nossos resultados, todavia, não confirmaram a hipótese de queda, pois não

houve diferença significativa dos valores de ácido fólico comparando-se os diferentes grupos de grávidas entre si e cada um desses grupos, e o conjunto dos grupos com o de não gestantes. Apesar do fato de as grávidas participantes do trabalho pertencer à classe sócio-econômica de baixo poder aquisitivo, esperando-se por isso algum grau de déficit nutricional, não observamos diminuição na concentração de ácido fólico no soro. Diferentemente dos resultados observados em diversos trabalhos realizados em países, como Inglaterra (Chanarin et al, 1965), Escócia (Hall et al, 1976), Canadá (Lowenstein et al, 1966), que demonstraram diminuição significativa nos valores do ácido fólico, durante a gravidez, de mulheres em condições sócio-econômicas, igualmente desfavorecidas (Nogueira et al, 2003). Poucos registram aumento ou manutenção da concentração sérica de ácido fólico durante a gravidez (Baker et al, 1957; Ho et al, 1988). Em todos os trabalhos analisados a metodologia empregada foi diferente da utilizada neste trabalho, o que torna extremamente difícil a comparação dos resultados. As populações estudadas apresentam características biológicas, socioculturais e econômicas diferentes; em alguns trabalhos utiliza-se suplementação com ferro e ácido fólico; outros consideram o estado morfológico da medula óssea, etc. Pelos motivos expostos, isto é, seleção de participantes e métodos de dosagem diferentes, torna-se muito difícil a comparação destes trabalhos com o nosso.

Entre os poucos trabalhos que utilizaram o método por radioisótopos para avaliação da concentração de ácido fólico durante a gravidez, estão os de Bruinse et al (1985) que observaram queda na concentração a medida que a gestação evolui e Ho et al (1988), cujo trabalho não mostrou diferença significativa com o transcorrer da gravidez.

O nosso trabalho utilizou-se da metodologia por radioisótopos, que apresenta grande sensibilidade e especificidade, apesar de possíveis influências da volemia, do "clearance" metabólico, da síntese de proteínas ligadoras e de variações próprias de cada fabricante (como pH do meio, diluição, proteínas ligadoras do folato a serem utilizadas no experimento). Ademais, tal metodologia é de fácil reprodutibilidade, de baixo

custo financeiro e técnico e, portanto, clinicamente acessível.

Talvez, por estas diferenças metodológicas, os resultados deste trabalho se contrapõem à maioria dos relatos na literatura. Nossos resultados permitem algumas suposições. Assim, a amplitude de variações nos resultados individuais, mostra que o ácido fólico sérico apresenta grandes diferenças, não sendo, talvez, bom método para se avaliar a quantidade de folato do organismo, particularmente em gestantes, que devem apresentar rápida renovação do estoque desta vitamina. Se considerarem os valores de ácido fólico relacionados à hemodiluição (conseqüente ao aumento de volume plasmático) (Nogueira et al, 2003), conforme Hall et al (1976), os resultados do presente trabalho podem ser interpretados como aumentados. Corroboram esta hipótese os fatos de, fisiologicamente, haver aumento na concentração de proteínas transportadoras, com conseqüente aumento dos sítios de ligação e, aumento na concentração sérica de ácido fólico frente à suplementação (Wald et al, 2001)

Por outro lado, se não há associação entre o aumento da volemia e concentração sérica de ácido fólico (Bruinse et al, 1985), estes resultados devem ser tomados como inalterados. Este fato permite formular a hipótese de estado potencial de deficiência de ácido fólico, considerando-se o aumento das proteínas transportadoras e concentração de ácido fólico frente à suplementação.

Este estado potencial de deficiência não determina aparecimento de anemia megaloblástica, mas pode ter importância em complicações da gestação como parto pré-termo, retardo de crescimento fetal etc. (George et al, 2002)

Ainda dentro desta hipótese, cabe a indagação sobre a suplementação rotineira do ácido fólico. Além dos relatos que demonstram elevação dos níveis sanguíneos frente à suplementação, acrescenta-se a recomendação da WHO (1972) que eleva as necessidades diárias de ácido fólico para 800 µg durante a gravidez. (Fonseca et al, 2006)

Conclusões

Desta forma, os resultados deste trabalho, mesmo sem mostrar diminuição significativa nos níveis séricos de ácido fólico durante a gestação normal, abrem novas perspectivas para seu estudo no ciclo gravídico-puerperal, como, por exemplo, correlação entre concentração no sangue da vitamina e volume plasmático, utilizando-se, ou não, da suplementação; correlação entre os valores sanguíneos e a concentração de proteína transportadora; comparação dos valores em diferentes compartimentos maternos e fetais, que serão objetos de estudos futuros.

Referências Bibliográficas

- Aiguo R, Le Z, Ling H, Zhiwen L, Yihua T, Zhu L. Comparison of blood folate levels among pregnant Chinese women in areas with high and low prevalence of neural tube defects. *Public Health Nutr*. 2007; 10:762-8.
- Baker H, Erdberg R, Pasher I, Sobotka H. Study of folic acid and vit.B12 in blood and urine during normal pregnancy. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1957; 94:513-5.
- Blot I, Papiernick F, Kaltwasser JP, Werner E, Tchernia G. Influence of routine administration of folic acid and iron during pregnancy. *Gynecol Obstet Invest*. 1981; 12:294-304.
- Bruinse HW, Berg H, Haspel AA. Maternal serum folacin levels during and after normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1985; 20:153-8.
- Campbell BA. Megaloblastic anemia in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*. 1995; 38: 455-62.
- Chanarin I, Rothman D, Berry V. Iron deficiency and its relation to folic acid status in pregnancy: results of clinical trial. *Br Med J*. 1965; 1:480-5.
- Fonseca DJM, Marques SR, Prates JC, Ribeiro EC, Smith RL, Alonso LG. Neural tube closure defects: a discussion of current models and clinical presentation of a skull from the Museum of Anatomy of a Brazilian University. *Eur J Anat*. [serial on line] 2006; [2008 May 5]10 (3): 115-20. Available from: http://www.sociedadananatomica.es/EuropeanJournalofAnatomy/SUMMARIES/CDB18DC5-3D99-4ABB-B033-9324433197B1_files/04-L.GarciaAlonso.pdf
- Frey L, Hauser WA. Epidemiology of neural tube defects. *Epilepsia*. 2003; 44 Suppl 3:4-13.
- George L, Mills JL, Johansson ALV, Nordmark A, Olander B, Granath F, et al. Plasma folate levels and risk of spontaneous abortion. *JAMA*. 2002; 288:1867-73.
- Gisoni P, Fantuzzi F, Malerba M, Girolomoni G. Folic acid in general medicine and dermatology. *J Dermatolog Treat*. 2007; 18:138-46.
- Hall MH, Pirani BBK, Campbell D. The cause of the fall in serum folate in normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1976; 83:132-6.
- Ho CH, Yuan CC, Yeh SH. Serum folate levels in normal full-term pregnant Chinese women. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1988; 67:417-20.
- Horovitz DDG, Llerena Jr JC, Mattos RA. Atenção aos defeitos congênitos no Brasil: panorama atual. *Cad Saúde Pública*. 2005; 21:1055-64.
- Kondo A, Kamihira O, Shimosuka Y, Okai I, Gotoh O, Ozawa H. Awareness of the role of folic acid, dietary folate intake and plasma folate concentration in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*. 2005; 31: 172-7.
- Lopes MAB, Bunduki V, Zugaib M - Como administrar o ácido fólico no período periconcepcional? *Rev Assoc Med Bras*. 2004; 50:349-62.
- Lowenstein L, Cantlie G, Ramos O, Brunton L. The incidence and prevention of folate deficiency in a pregnant clinic population. *Can Med Assoc J*. 1966; 95:797-806.
- Nasser C, Nobre C, Mesquita S, Ruiz JG, Carlos HR, Prouvot L. Semana da conscientização sobre a importância do ácido fólico. *J Epilepsy Clin Neurophysiol*. 2005; 11:199-203.
- Nogueira NN, Parente JV, Cozzolino SMF. Mudanças na concentração plasmática de zinco e ácido fólico em adolescentes grávidas submetidas a diferentes esquemas de suplementação *Cad Saúde Pública*. 2003; 19:155-60.
- Paula TBC, Diniz AS, Kruze IKGA, Prado ACF, Silva MSG, Andrade CRNA. Impacto do consumo das farinhas de trigo e milho fortificadas com ácido fólico e ferro sobre as taxas de folato intracitoplasmático e hemoglobina das mulheres em idade reprodutiva na Região Metropolitana do Recife. [Resumos] *Rev Bras Saude Matern Infant*. 2006; 6(supl.1):s137.
- Santos LMP, Pereira MZ. The effect of folic acid fortification on the reduction of neural tube defects. *Cad Saude Pública*. 2007; 23:17-24.
- Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of

pregnancy. Am J Clin Nutr. 2000; 71(5 Suppl):1295S-303S.

Souza AI, Batista Filho M. Diagnóstico e tratamento das anemias carenciais na gestação: consensos e controvérsias. Rev Brás Saúde Matern Infant. 2003; 3:473-9.

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

Vítolo MR. Nutrição: da gestação à adolescência. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores; 2003.

Wald NJ, Law MR, Morris JK, Wald DS. Quantifying the effect of

folic acid. Lancet. 2001; 358:2069-73.

Whalley PJ, Scott DE, Pritchard JA. Maternal folate deficiency and pregnancy wastage. III. Pregnancy- induced hypertension. Obstet Gynecol. 1970; 36:29-31.

WHO - World Health Organization - Nutritional anaemias. Geneva, WHO, 1972. (Technical Report, 503).

Trabalho recebido: 16/04/2008

Trabalho aprovado: 27/08/2009