



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS (PPGFARMA)

**EFEITOS NOS NÍVEIS SÉRICOS, ADESÃO TERAPÊUTICA,
PARÂMETROS CLÍNICOS, E HEMATOLÓGICOS APÓS MUDANÇA
EM POSOLOGIA DO ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM DOENÇA
FALCIFORME**

MARIA ISABEL SILVA SOARES

Salvador

2020

**EFEITOS NOS NÍVEIS SÉRICOS, ADESÃO TERAPÊUTICA,
PARÂMETROS CLÍNICOS, E HEMATOLÓGICOS APÓS MUDANÇA
EM POSOLOGIA DO ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM DOENÇA
FALCIFORME**

MARIA ISABEL SILVA SOARES

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação *Stricto Sensu* Em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ney C. A. Boa Sorte

Linha de Pesquisa: Linha 02 - Avaliação de Fármacos, Biomarcadores, Produtos Naturais e Sintéticos

**Salvador
2020**

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB
Dados fornecidos pelo autor

S676e

Soares, Maria Isabel Silva

EFEITOS NOS NÍVEIS SÉRICOS, ADESÃO TERAPÊUTICA, PARÂMETROS CLÍNICOS, E HEMATOLÓGICOS APÓS MUDANÇA EM POSOLOGIA DO ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM DOENÇA FALCIFORME / Maria Isabel Silva Soares.-- Salvador, 2020.

110 fls : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Ney Cristian Amaral Boa Sorte.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências da Vida. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGFARMA,

1.Anemia Falciforme. 2.Doença da Hemoglobina SC. 3.Ácido Fólico. 4.Adesão ao medicamento. 5.Testes Hematológicos; Evolução Clínica.

CDD: 615

FOLHA DE APROVAÇÃO

"EFEITOS NOS NÍVEIS SÉRICOS, ADESÃO TERAPÊUTICA, PARÂMETROS CLÍNICOS E HEMATOLÓGICOS APÓS MUDANÇA DE POSOLOGIA DO ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM DOENÇA FALCIFORME"

MARIA ISABEL SILVA SOARES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, em 13 de outubro de 2020, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:

Ney Cristian A. Boa Sorte

Ney Boa Sorte
Professor Auxiliar Doutor
Departamento de Ciências
da vida / UNEB
Mat. 74542440-8

Professor(a) Dr.(a) NEY CRISTIAN AMARAL BOA SORTE
Universidade do Estado da Bahia - UNEB/ PPGFARMA
Doutorado em Saúde Coletiva
Universidade Federal da Bahia

Genoile Oliveira Santana Silva

Professor(a) Dr.(a) GENOILE OLIVEIRA SANTANA SILVA
Universidade do Estado da Bahia - UNEB/ PPGFARMA
Doutorado em Medicina e Saúde
Universidade Federal da Bahia

Lucia de Araújo Costa Beisl Noblat

Professor(a) Dr.(a) LUCIA DE ARAÚJO COSTA BEISL NOBLAT
Universidade Federal da Bahia - UFBA/ PPGASFAR
Doutorado em Medicina e Saúde
Universidade Federal da Bahia

A Deus.

À minha família.

A todas as crianças com Doença Falciforme, pela demonstração de carinho e doçura, ainda que nas adversidades, e revelarem para mim, um exemplo e incentivo a empenhar-me nos estudos; por me permitirem, enquanto profissional de saúde, o meu melhor sorriso, afeto e dedicação a esta causa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Nossa Senhora, e aos meus guias e mentores espirituais, pela proteção, sabedoria e força para persistir nesse valioso sonho.

Aos meus pais, Jayme e Maria do Socorro, grandes incentivadores de meus estudos, pelo apoio incondicional em minha formação acadêmica. Pela paciência, carinho, dedicação, suporte e amor.

À minha família e amigos; em especial minha irmã Cecília “Ceci”, por todo apoio, carinho e momentos de alegria compartilhados.

Aos amigos professores Mileno Mota, Ana Patrícia Queiroz e Rosa Malena, os maiores incentivadores e apoiadores para a minha inserção no programa de mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ney Boa Sorte, por seus ensinamentos e valiosas contribuições para a consecução deste trabalho.

A todos que compõem o Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Estado da Bahia, professores e colaboradores, especialmente ao Prof. Dr. Aníbal de Freitas Jr., por não medir esforços para oferecer aos mestrandos formação de qualidade.

Aos colegas de mestrado acadêmico, pelos momentos de aprendizagem e descontração, tornando a jornada mais leve e agradável.

À Prof. Dra. Teresita Bendicho pela prestatividade e inestimáveis contribuições na área de análises clínicas e hematologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – BRASIL (CAPES) – código de financiamento 001, pela concessão de bolsa de estudos.

A toda equipe de profissionais da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Salvador, pelo valioso apoio logístico para a concretização da pesquisa, sobretudo à Dra. Tatiana Amorim, Dra. Paula Andrade, Dra. Flávia Cal, Dra. Amanda Gordiano, Joseane Rodrigues (Jô), Alene Almeida, Patrícia Lessa e Vanessa Lemos.

A Yasmin Mazzafera e Juliana Rocha, estudantes de Medicina e Farmácia, pela colaboração e dedicação na realização da pesquisa.

A todos, que, direta ou indiretamente, participaram dessa jornada e contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO

SOARES, M.I.S. **Efeitos nos Níveis Séricos, Adesão Terapêutica, Parâmetros Clínicos e Hematológicos após mudança em Protocolo Clínico de Ácido Fólico em Crianças com Doença Falciforme** (dissertação). Salvador: Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, 2020; 110f.

Introdução: A Doença Falciforme (DF), uma das patologias hematológicas hereditárias de mais elevada frequência mundial, tem no estado da Bahia, a maior incidência do Brasil. Em seu manejo, o ácido fólico (AF) apresenta-se como terapia profilática para a anemia hemolítica persistente. Em geral, o AF era utilizado em doses diárias de 5mg, após os dois anos de idade. Atualmente, tem-se preconizado a redução desta posologia, sendo recomendado a dose de 5mg, três vezes na semana.

Objetivo: Comparar os níveis séricos de ácido fólico, em crianças com DF, acompanhadas por Serviço de Referência em Triagem Neonatal do estado da Bahia, durante o período de novembro de 2018 a março de 2020, antes e após a mudança na posologia prescrita desse medicamento, analisando-se os efeitos clínico-laboratoriais e de adesão terapêutica. **Métodos:** Estudo observacional, longitudinal, prospectivo, com crianças entre 2 a 11 anos, com hemoglobinopatias SS ou SC, diagnosticadas pela triagem neonatal, em uso de AF. Foram aplicados questionários validados, Teste de Morisky-Green (TMG) e Brief Medication Questionnaire (BMQ), para avaliação da adesão à farmacoterapia, e coleta, em prontuário eletrônico, de dados sociodemográficos, parâmetros hematológicos, níveis séricos de AF, e eventos clínicos. Após três a quatro meses da mudança, nova mensuração e avaliação dessas variáveis foram realizadas. Após análise descritiva, comparação dos níveis de AF, parâmetros hematimétricos, adesão e eventos clínicos foram realizados com teste de McNemar e teste de Wilcoxon. **Resultados:** Todas as 50 crianças apresentaram níveis medianos de folato sérico elevados nos dois momentos de aferição. A atualização da prescrição reduziu os níveis séricos de folato em 22%, no entanto sem alterações no percentual de indivíduos com folato elevado. Esse achado foi ainda mais significativo para as crianças em uso de AF 5mg/dia, que tiveram suas prescrições ajustadas para AF 5mg, 3x/semana ($p=0,040$). A adesão terapêutica foi “máxima” em apenas 36,8% e 39,5%, respectivamente para o TMG e BMQ. **Considerações finais:** O ajuste das prescrições de AF reduziu os níveis séricos medianos de folato, no entanto, sem alterações relevantes para parâmetros hematimétricos, eventos clínicos e adesão. Dessa forma, faz-se necessário reavaliar a aplicação posológica de suplementação adequada do ácido fólico, considerando condições clínicas da criança, impactos futuros a sua saúde e custo-efetividade.

Palavras-chave: Anemia Falciforme; Doença da Hemoglobina SC; Ácido Fólico; Testes Hematológicos; Evolução Clínica; Adesão ao Medicamento.

ABSTRACT

SOARES, M.I.S. **Effects on Serum Levels, Therapeutic Adherence, and Clinical and Haematological Parameters after Change in Clinical Protocol of Folic Acid in Children with Sickle Cell Disease** (dissertation). Salvador: Department of Life Sciences, University of the State of Bahia, 2020; 110f.

Introduction: Sickle cell disease (SCD), one of the world's most frequent hereditary hematological diseases, has the highest incidence in Brazil in the state of Bahia. In its management, folic acid (FA) is a prophylactic therapy for persistent hemolytic anaemia. In general, FA was used in daily doses of 5mg after two years of age. Nowadays, the reduction of this dosage has been recommended, and the dose of 5mg is recommended three times a week. **Objectives:** This study aimed to compare serum folic acid levels in children with SCD, followed by the Neonatal Screening Reference Service in the state of Bahia, from November 2018 to March 2020, before and after the change in the prescribed dosage of this drug, analyzing the clinical and laboratory effects and therapeutic adherence. **Methods:** This is an observational, longitudinal, prospective study with children aged 2 to 11 years, with SS or SC hemoglobinopathies, diagnosed by neonatal screening, using FA. Validated questionnaires, Morisky-Green Test (TMG) and Brief Medication Questionnaire (BMQ) were applied to assess adherence to pharmacotherapy. Sociodemographic data, hematological parameters, serum FA levels, and clinical events were collected through electronic medical records. Three to four months after the change, a new measurement and evaluation of these variables were performed. After descriptive analysis, comparison of PA levels, hematimetric parameters, adherence and clinical events were performed using the McNemar test and Wilcoxon. **Results:** All 50 children had median elevated serum folate levels at both measurement times. Updating the prescription reduced serum folate levels by 22%, however without changes in the percentage of individuals with high folate. This finding was even more significant for children using FA 5mg / day, who had their prescriptions adjusted to FA 5mg, 3x / week. Therapeutic adherence was "maximum" at only 36.8% and 39.5%, respectively for TMG and BMQ. **Final considerations:** The adjustment of FA prescriptions reduced serum folate levels, however, with no relevant changes for hematimetric parameters, clinical events and adherence. Thus, it is necessary to re-evaluate the dosage application of adequate folic acid supplementation, considering the child's clinical conditions, future impacts on their health and cost-effectiveness.

Keywords: Anemia, Sickle Cell; Hemoglobin SC Disease; Folic Acid; Medication Adherence.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAA – Anemia Aplásica Aguda
AF – Ácido Fólico
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APAE – Associação de Pais e Amigos Excepcionais
AVC – Acidente Vascular Cerebral
BMQ – Brief Medication Questionnaire
CEP – Comitê de Ética e Pesquisa
CH – Crise Hemolítica
CH₃ – grupamento metil
CHCM – Concentração De Hemoglobina Corpuscular Média
DF – Doença Falciforme
DFTN – defeitos de fechamento do tubo neural
DHF – diidrofolato
DHFR – diidrofolato redutase
dTMP – deoxitimidina monofosfato
dUMP – deoxiuridina
ET-1 – endotelina -1
FA – Folic Acid
FAP – fator ativador de plaquetas
FR – receptores de folato
FT – fator tecidual
FvW – fator de von Willebrand
GCP II – glutamato carboxipeptidase II
Hb – Hemoglobina
Hb S – Hemoglobina S
Hb F – Hemoglobina Fetal
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média
Ht – Hematócrito
HUPES – Hospital Universitário Professor Edgard Santos
ICAM-1 – moléculas de adesão intercelular
M-Glu – monoglutamato
MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase

MTR – metionina sintase
NO – Óxido Nítrico
NUPEC – Núcleo de Pesquisa Científica
OMS – Organização Mundial da Saúde
PCFT – transportador de folato próton-acoplado
P-Glu – poliglutamato
PNTN – Programa Nacional de Triagem Neonatal
RDC - Resolução de Diretoria Colegiada
RDW – *Red Cell Distribution Width*
RFC-1 – carreador de folato reduzido
SAH – s-adenosilhomocisteína
SAM – S-adenosilmetionina
SE – Sequestro Esplênico
SESAB – Secretária da Saúde do Estado da Bahia
SHM – serina metiltransferase
SRTN – Serviço de Referência em Triagem Neonatal
STA – Síndrome Torácica Aguda
SUS – Sistema Único de Saúde
THF - tetraidrofolato
TN – Triagem Neonatal
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMG – Teste de Morisky-Green
TYMS – timidilato sintase
UMFA – *unmetabolized folic acid*
UL - *Tolerable Upper Intake Level*
VCAM-1 – moléculas de adesão vascular
VCM – Volume Corpuscular Médio
5-metil-THF – 5-metil-tetrahidrofolato

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 – Mecanismo de vaso-oclusão na Doença Falciforme	23
Figura 2 – Estrutura química do ácido fólico.....	32
Figura 3 – Absorção do folato em sua forma monoglutamato e poliglutamato.....	33
Figura 4 – Metabolismo do Folato	34
Figura 5 – Decaimento de folato no fígado, plasma e tecidos periféricos, identificando meias-vidas idênticas (98,5 dias) em cada compartimento	36
Figura 6 – Países com fortificação mandatória de ácido fólico para farinhas e grãos cereais em 2018	37
Figura 7 – Fluxograma com principais etapas do estudo. APAE-Salvador, nov./2018-mar./2019	47
Figura 8 – Fluxograma da dinâmica para obtenção da amostra final do estudo. APAE-Salvador, nov./2018-mar./2020	52
Figura 9 - Distribuição dos valores de folato sérico (ng/ml) antes e após mudança da prescrição de 44 crianças em uso de (AF) profilático.....	61
Gráfico 1 – Box plot representando valores séricos de ácido fólico (ng/ml) das 52 crianças com DF, SRTN, acompanhadas entre novembro de 2018 a março de 2020.....	56
Gráfico 2 – Box plot representando valores séricos de ácido fólico (ng/ml) das 50 crianças com DF, SRTN, acompanhadas entre novembro de 2018 a março de 2020.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência de manifestações clínicas da Doença Falciforme, segundo faixa etária	27
Tabela 2 – Descrição epidemiológica das 52 crianças acompanhadas	53
Tabela 3 – Descrição do esquema posológico antes e após mudança da prescrição para as 50 crianças monitoradas.....	58
Tabela 4 – Níveis de folato sérico segundo ajuste da prescrição para as 44 crianças com posologias predominantes.....	59
Tabela 5 – Parâmetros analíticos do Eritrograma em função do ajuste das prescrições das 50 crianças estudadas.....	65
Tabela 6 – Adesão ao Ácido Fólico antes e após ajustes das prescrições segundo TMG e BMQ em 38 crianças com Doença Falciforme.....	67
Tabela 7 – Eventos clínicos em função do ajuste da prescrição das doses de ácido fólico das 50 crianças, segundo tipo de hemoglobinopatia.....	71

SUMÁRIO

RESUMO	07
ABSTRACT	08
LISTA DE ABREVIATURAS	09
LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS	11
LISTA DE TABELAS	12
1.INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1. Objetivo Primário	18
2.2. Objetivos Secundários	18
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1. Doença Falciforme: Conceito, História e Epidemiologia	19
3.2. Aspectos Fisiopatológicos da Doença Falciforme	22
3.3. Programa Nacional de Triagem Neonatal para o diagnóstico de Doença Falciforme	24
3.4. Manifestações Clínicas da Doença Falciforme	26
3.4.1. Anemia Hemolítica	28
3.4.2. Anemia Aplásica Aguda	28
3.4.3. Crises álgicas ou vaso-oclusivas	28
3.4.4. Insuficiência de múltiplos órgãos	29
3.4.5. Infecções	30
3.5. Tratamento da Doença Falciforme	30
3.5.1. Ácido Fólico	31
3.5.1.1. Absorção e Metabolismo	31
3.5.1.2. Política de Fortificação	36
3.6. Adesão ao Tratamento Farmacológico	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1. Desenho do Estudo	42
4.2. Local, População e Amostra.....	42
4.2.1. Cálculo e Seleção Amostral	43
4.2.2. Critérios de Inclusão.....	44

4.2.3. Critérios de Exclusão	44
4.3. Instrumentos Utilizados	44
4.4. Procedimento de Coleta de Dados	46
4.5. Operacionalização das Variáveis	49
4.6. Análise Estatística	51
4.7. Aspectos Éticos	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 Aspectos sócio-demográficos	53
5.2 Níveis séricos e posologia pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico	55
5.3 Parâmetros hematimétricos pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico	64
5.4 Adesão terapêutica pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico.....	66
5.5 Ocorrência de eventos clínicos pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico	70
6. CONCLUSÃO	73
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS	75
APÊNDICES	84
Apêndice I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	84
Apêndice II – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido.....	86
ANEXOS	88
Anexo I – Questionários para avaliação da adesão à terapia profilática com ácido fólico antes e após ajuste de protocolo clínico	88
Anexo II – Formulário de acompanhamento clínico-laboratorial de pacientes	90
Anexo III – Comprovante de submissão de artigo científico	91
Anexo IV – Artigo Científico	92

1. INTRODUÇÃO

A Doença Falciforme (DF) é uma das patologias hematológicas genéticas mais frequentes, mundialmente, apresentando-se como importante problema de saúde pública no Brasil, em função de sua prevalência, manifestações clínicas e morbimortalidade. No país, estima-se a existência de mais de dois milhões de portadores do gene da HbS, com registros de nascimento de cerca de 3000 crianças por ano com a doença, sendo a incidência média de 1 a cada 1000 nascidos vivos, segundo dados do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) do Ministério da Saúde (BRASIL, 2015).

A Bahia representa o estado brasileiro com maior ocorrência da Doença Falciforme, concentrando a incidência de 1 a cada 650 nascidos vivos (BRASIL, 2015; CANÇADO; JESUS, 2007). Dados da cobertura estadual do Programa de Triagem Neonatal registraram incidência média de um caso para 677 nascidos vivos, entre os anos de 2007 e 2009 e, os municípios de Salvador (23,2%), Feira de Santana (4,6%), Lauro de Freitas (2,2%), Camaçari (1,9%) e Valença (1,8%) foram apontados como os de maior número absoluto de triados positivos para Doença Falciforme (AMORIM et al., 2010).

A DF caracteriza-se por uma hemoglobinopatia, decorrente da mutação em um dos genes estruturais da hemoglobina (Hb), presente nos eritrócitos, originando uma hemoglobina anormal, denominada hemoglobina S (HbS). Em sua origem genotípica, pode ocorrer na forma homocigótica (HbSS) - conhecida por anemia falciforme, ou associada, em heterocigose, a outra hemoglobina variante (HbSC, HbSD), ou em interação com as talassemias (α , β^0 , β^+) (TEIXEIRA, 2016; FELIX; SOUZA; RIBEIRO, 2010).

A alteração genética é caracterizada pela mutação no gene da cadeia beta globínica, que leva a substituição do ácido glutâmico pela valina. Tal condição resulta na formação da HbS que, quando desoxigenada, forma polímeros, que alteram a estrutura dos eritrócitos, promovendo, em consequência, modificações em sua forma, flexibilidade e tempo de vida útil, fazendo-os adquirir um formato alongado, em “foice” (FREITAS et al., 2018; CALDAS et al., 2010).

Esse afoijamento das hemácias consiste em um dos principais mecanismos responsáveis pelo quadro fisiopatológico da doença, que se manifesta por anemia

hemolítica crônica, fenômenos vaso-oclusivos, alterações imunológicas e comprometimento multissistêmico (CALDAS et al., 2010). Para além do comprometimento fisiológico, a Doença Falciforme compromete a qualidade de vida do portador, em suas abordagens cotidianas sociais de estudo, trabalho, relações interpessoais, e aspectos psicológicos (FREITAS et al., 2018; DIAS, 2013).

No manejo da Doença Falciforme, a suplementação de folato (vitamina B9), a partir do ácido fólico apresenta-se como importante terapia profilática. O folato é uma vitamina hidrossolúvel, sendo fundamental para a eritropoiese. Nas anemias hemolíticas, tal como na DF, a eritropoiese apresenta-se aumentada, considerando a reduzida meia vida dos eritrócitos (DIXIT et al 2017; NOGUEIRA, 2015; PANIZ, 2015). As células falciformes têm sobrevida reduzida, entre 16 a 20 dias, ao passo que o eritrócito normal dura 120 dias (FELIX; SOUZA; RIBEIRO, 2010).

Para a prevenção da deficiência de folato, no Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), recomenda sua suplementação em 1 a 2 mg diários (BRASIL, 2002). Na prática clínica, a utilização de ácido fólico é realizada com a prescrição de 5mg/dia, todos os dias, o que pode predispor sua sobrecarga nas crianças suplementadas. De fato, estudo prévio indicou existir uma elevada frequência de excesso de ácido fólico sérico em crianças com doença falciforme no estado da Bahia (NOGUEIRA, 2015).

Evidências científicas apontam que o excesso de ácido fólico pode estar associado, dentre outras situações, ao aumento do risco de desenvolvimento do câncer e aceleração da progressão tumoral, quando da existência de lesões pré-neoplásicas, além da possibilidade de mascaramento do diagnóstico de anemia por deficiência de B12 (DIXIT et al 2017; PANIZ, 2015; BASSOLI, 2009; ULRICH; POTTER, 2006).

A segurança do consumo crônico de ácido fólico em doses elevadas não está completamente elucidada. O *Institute of Medicine* recomenda um nível diário máximo de ingestão tolerável (UL) de ácido fólico, provenientes de alimentos fortificados ou suplementos, de 1000µg para adultos, e entre 300µg e 400µg para crianças entre 1 a 8 anos. O UL define valores a partir dos quais há aumento de riscos de efeitos adversos à saúde (ULRICH; POTTER, 2006; *INSTITUTE OF MEDICINE*, 1998). Assim, adaptações na prescrição de ácido fólico (5mg/dia, 3x/semana) estão sendo adotadas

pela instituição *locus* do estudo, de forma a adequar-se, o mais próximo, ao preconizado, atualmente, pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2002).

Diante deste cenário, caracterizado pela elevada incidência da DF, especialmente na Bahia; alto potencial de morbimortalidade, que atinge especialmente os pacientes mais jovens; evidências prévias de que a suplementação do ácido fólico esteja resultando em elevados níveis séricos na grande maioria das crianças suplementadas, aliado a carência de trabalhos pertinentes ao tema, tem-se plenas justificativas para o estudo proposto.

Acresce-se, ainda, a abordagem em estudos prévios quanto à problemática da adesão ao tratamento farmacológico em doenças crônicas que acometem a população pediátrica, apresentando-se como uma questão complexa, e com causas associadas a múltiplos aspectos sociais, demográficos, comportamentais e culturais. Tal temática é referida como frequente em indivíduos com Doença Falciforme por Caldas et al (2010).

O tema da pesquisa foi escolhido em decorrência de sua relevância e caráter atual, com enfoque científico e prático para a área das ciências médico-farmacêuticas. A investigação permitirá apontar o impacto de ajustes no protocolo clínico de prescrição do ácido fólico em crianças com Doença Falciforme e oferecer informações atualizadas sobre o assunto em referência.

Considerando a relevância da temática, a presente pesquisa de mestrado tem como objetivo comparar e avaliar os níveis séricos de folato, em crianças com Doença Falciforme, em acompanhamento ambulatorial, antes e após ajustes nas prescrições das doses profiláticas de ácido fólico; e investigar e apontar os efeitos clínico-laboratoriais e de adesão terapêutica, resultantes das adaptações do protocolo.

2. OBJETIVOS (discutir com orientador)

2.1. Objetivo Primário

Descrever e comparar os níveis séricos de ácido fólico, em crianças com Doença Falciforme, em acompanhamento ambulatorial, antes e após ajustes nas prescrições das doses profiláticas.

2.2. Objetivos Secundários

2.2.1. Estudar variações dos parâmetros analíticos do eritrograma das crianças acompanhadas em consequência de ajustes nas prescrições das doses profiláticas do ácido fólico;

2.2.2. Verificar a adesão à terapia profilática com ácido fólico, antes e após ajustes nas prescrições das doses profiláticas, comparando método indireto e resultados laboratoriais;

2.2.3. Analisar o impacto clínico da mudança nas prescrições das doses profiláticas do ácido fólico, em crianças com Doença Falciforme.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Doença Falciforme: Conceito, História e Epidemiologia

A Doença Falciforme é um termo genérico, utilizado para denominar um grupo de alterações genéticas caracterizadas pela mutação em um dos genes estruturais da hemoglobina (Hb), presente nos eritrócitos, levando a produção de uma hemoglobina anormal, denominada hemoglobina S (HbS). Genotipicamente, essa hemoglobinopatia pode ocorrer com a presença de hemoglobina S em homozigose (HbSS) – conhecida como anemia falciforme, associada, em heterozigose, a outra hemoglobina variante (HbSC, HbSD), ou em interação com as talassemias (α , β^0 , β^+) (FREITAS et al., 2018; BRASIL, 2015; FELIX; SOUZA; RIBEIRO, 2010).

A HbS é formada a partir da mutação no cromossomo 11, pela substituição pontual de uma base nitrogenada, adenina por timina (GAG por GTG) no sexto códon do gene da beta-globina, resultando na codificação da valina ao invés do ácido glutâmico. Tal mutação interfere nas propriedades físico-químicas da molécula da HbS em seu estado desoxigenado, ocasionando alterações em sua solubilidade e tendência a polimerização. Essas cadeias de polímeros, no interior das hemácias, provocam alterações em sua forma, flexibilidade e tempo de vida útil, fazendo-os adquirir um formato alongado, em “foice” (GALIZA NETO; PITOMBEIRA 2002; FREITAS et al., 2018; FEITOZA; GOULART, 2012). Esse afoçamento das hemácias consiste em um dos principais mecanismos responsáveis pelo quadro fisiopatológico da doença, que se manifesta, principalmente, por anemia hemolítica crônica, fenômenos vaso-oclusivos, alterações imunológicas, podendo evoluir para comprometimentos multissistêmicos (CALDAS et al, 2010).

As primeiras observações científicas sobre a Doença Falciforme remontam do século XIX, quando em 1835, o médico brasileiro José Martins da Cruz Jobim discursou sobre a doença, com observações de grande acometimento na população mais pobre do Rio de Janeiro. Data de 1910 a primeira publicação científica sobre a doença, pelo médico americano James Bryan Herrick, que relatou quadro de anemia hemolítica crônica e icterícia, em um jovem estudante negro proveniente da Ilha de Granada, no Caribe. Nos achados hematológicos, Herrick descreveu anemia, eosinofilia e presença de eritrócitos em formato alongado, em foice (BRASIL, 2015; CAVALCANTI, 2007; HERRICK, 1910).

O termo inglês *sickle cell disease* (doença falciforme) foi utilizado pela primeira vez em 1922 por Vernon Mason. Em 1947, o pesquisador brasileiro Jessé Accioly propôs o mecanismo da hereditariedade da DF, a partir de observações de pacientes com anemia falciforme e parentes próximos (BRASIL, 2015). À época, o geneticista estadunidense, James Van Gúndia Neel, em trabalho experimental independente, chegou às mesmas conclusões (AZEVEDO, 2010).

A hipótese mais aceita sobre o surgimento da HbS é o da ocorrência da mutação no continente africano há milhões de anos; com sua dispersão pelas américas a partir do tráfico de negros escravizados. Atualmente, há relatos da doença em habitantes do Mediterrâneo, África, Índia, Américas, Europa e Ásia (NOGUEIRA, 2015; DIAS, 2013). Identificado como fator protetor para a malária, esta condição contribuiu para a seleção do gene da HbS e sua disseminação. Tal explicação foi proposta por Anthony Allison, em 1954, consolidando as observações de Jobim, de que os eritrócitos dos indivíduos com traço falciforme eram mais dificilmente parasitados pelo *Plasmodium falciparum* comparado a indivíduos normais.

A condição da ação seletiva protetora da hemoglobina S contra a malária está bem consolidada em literatura científica. No entanto, o mecanismo pelo qual essa ocorre, ainda não está bem definido, podendo decorrer de uma composição de diversos processos fisiológicos, entre os quais inibição do crescimento parasitário; mecanismos diferenciais de adesão aos eritrócitos, polimorfismos eritrocitários e componente imunológico adquirido (PEDROSA, 2016; MACHADO et al., 2010).

Em estudo recente, Wastnedge *et al.* (2018) indicam meta-estimativa global para a prevalência da Doença Falciforme em sua condição clínica mais grave, ou seja, indivíduos homozigóticos (HbSS – anemia falciforme) de 112 por 100.000 nascidos vivos, sendo ainda maior em certas localidades como a África, com uma prevalência de 1.125 por 100.000. Esses autores apontam, ainda, que 90% dos casos de AF ocorrem nos países de baixa e média renda, e 90% das crianças com anemia falciforme nesses locais morrem antes do quinto ano de vida.

No Brasil, estima-se a cada ano, o nascimento de cerca de 3000 crianças com DF, sendo evidenciado, assim, a relevância epidemiológica desse problema de saúde pública. Sua ocorrência é maior entre indivíduos negros, grupos mais pobres da sociedade, residentes dos bairros periféricos, e naqueles com menor acesso às condições de saúde e educação. As manifestações clínicas iniciam na primeira

infância, com expressivos impactos sobre as condições psicológicas e sociais do indivíduo (DIAS, 2013; FELIX et al., 2010).

A distribuição do gene S no Brasil ocorre de forma muito heterogênea, sendo a prevalência de heterozigotos para a HbS, maior nas regiões norte e nordeste (6% a 10%), comparado às regiões sul e sudeste (2% e 3%). Esse cenário é dependente direto da composição negroide ou caucasoide da população, considerando a difusão histórica dos povos. Entre os estados brasileiros com maior frequência do gene S, em relação a proporção de nascidos vivos por ano, respectivamente para as frequências de Doença Falciforme e Traço Falciforme, estão: Bahia (1:650 e 1:17), Rio de Janeiro (1:1200; 1:21), Pernambuco (1:1400 e 1:23), e Minas Gerais (1:1400 e 1:23) (CANÇADO; JESUS, 2007).

No país, o rastreio para a Doença Falciforme é realizado pelo Ministério da Saúde a partir de duas estratégias em saúde: 1) o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), instituído em 2001 pela portaria GM/MS nº 822/2001, que inclui em suas competências e atribuições, ações para diagnóstico precoce, tratamento, acompanhamento das crianças diagnosticadas e oferta de informações, orientação e aconselhamento genético para a DF; e 2) a Rede Cegonha, criada em 2011, com objetivos de implementação de uma rede de cuidados para assegurar o direito ao planejamento reprodutivo e a atenção humanizada à gravidez, ao parto e ao puerpério, bem como garantir às crianças o direito ao nascimento seguro e ao crescimento e desenvolvimento saudáveis. Nesta estão ainda incluídas ações para diagnóstico de DF na rotina do pré-natal (BRASIL, 2016; BRASIL, 2015; BRASIL, 2002).

A execução de tais programas contribui para maior sobrevida e qualidade de vida às crianças, proporcionando a redução da morbimortalidade, a partir dos encaminhamentos para aplicação de medidas importantes no manejo da DF tais, como terapia medicamentosa profilática, imunização e cuidados gerais educativos preventivos à saúde (NOGUEIRA, 2015; RAMALHO; MAGNA; PAIVA-E-SILVA, 2003).

3.2 Aspectos Fisiopatológicos da Doença Falciforme

A hemoglobina S mutante (HbS) possui diferentes propriedades físico-químicas, com alterações em sua estabilidade e solubilidade, quando em seu estado desoxigenado, com forte tendência à formação de polímeros. Essas cadeias de polímeros, no interior das hemácias, promovem alterações em sua forma, flexibilidade e tempo de vida útil, fazendo-as adquirir um formato alongado, em “foice”. Tais hemácias falcizadas relacionam-se ao quadro de hemólise crônica e vaso-oclusão, bases fisiopatológicas da doença falciforme (SONATI; COSTA, 2008).

A velocidade e extensão da polimerização no interior dos eritrócitos depende de fatores tais como: grau de desoxigenação, concentração intracelular de hemoglobina S e presença ou ausência de hemoglobina F. Dentre as consequências dessa polimerização estão a desidratação celular, devido à perda de íons potássio (K⁺) e água (sistema de co-transporte do K-Cl); aumento do cálcio celular e da membrana (ativação do canal de Gardos); formação de polímeros de Hb com proteínas da membrana; e exposição de moléculas da membrana celular como fosfatidil-serina e CD36. Essas modificações resultam em aumento da adesão de hemácias falcizadas ao endotélio; enrijecimento da membrana e toda hemácia, encurtando sua sobrevivência em circulação; promoção de lesões microvasculares; e depleção do óxido nítrico (NO), contribuindo para vasoconstricção e ativação do processo inflamatório (ZAGO; PINTO, 2007).

Hemácias falcizadas são mais aderentes ao endotélio vascular e às proteínas da matriz extravascular, quando comparado às hemácias normais. A aderência ao endotélio é mediada por vários receptores da superfície eritrocitária, incluindo as proteínas BCAM/Lu, CD47, CD147, ICAM-4 e fosfatidil-serina. Além dessas moléculas, os reticulócitos, em número aumentado nas doenças falciformes, apresentam maior expressão dos antígenos CD36 e VL-4, favorecendo a adesão ao endotélio (SONATI; COSTA, 2008; ZAGO; PINTO, 2007).

A hemólise crônica de hemácias falciformes libera hemoglobina livre e arginase. A primeira, leva à conversão do óxido nítrico (NO) em nitrato inativo, enquanto a enzima destrói a L-arginina, substrato para a produção de NO, levando à diminuição de sua concentração. A redução da biodisponibilidade do NO altera a homeostasia vascular, contribuindo para vasoconstricção, com aumento da ativação

plaquetária e expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais (SONATI; COSTA, 2008).

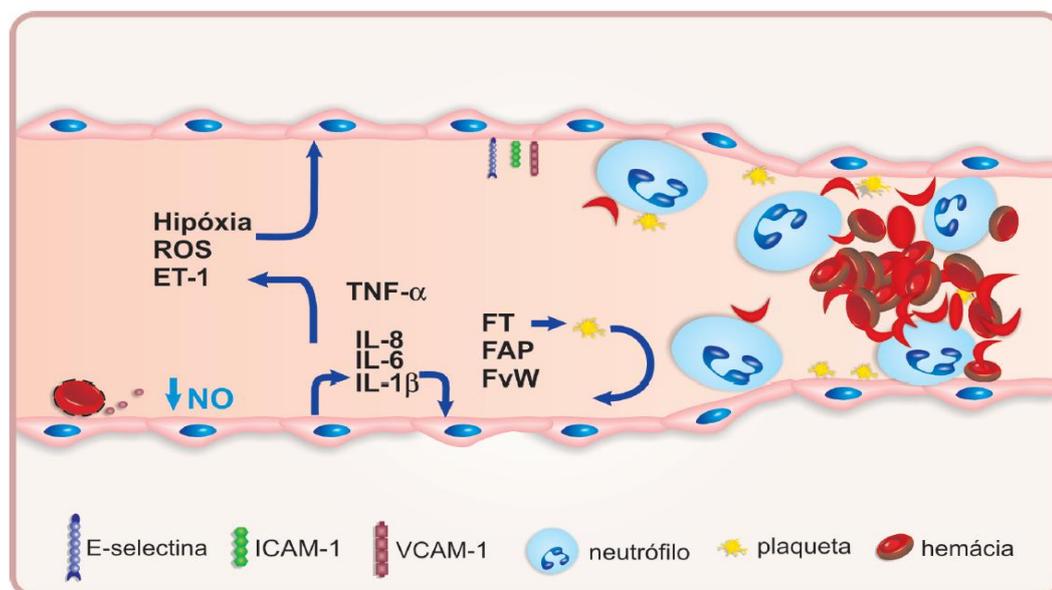


Figura 1 – Mecanismo de vaso-oclusão na Doença Falciforme.

Hemácias falcizadas com aderência ao endotélio vascular mediada por receptores da superfície eritrocitária (CD-47, fosfatidil-serina) e antígenos expressos por reticulócitos (CD-36). Hemoglobina livre na circulação tem efeito deletério no vaso e consome NO sintetizado pelas células endoteliais, alterando a homeostasia vascular e contribuindo para vasoconstrição, ativação plaquetária e expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais. Juntamente com a presença de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), a hipóxia e os vasoconstritores como Endotelina-1 (ET-1), esses mecanismos contribuem para a ativação das células endoteliais. Aumento da expressão das moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina) na superfície do vaso e liberação de citocinas e quimiocinas (IL-8, IL-6 e IL-1 β , TNF- α) contribuem para a inflamação vascular e a ativação das células sanguíneas. O endotélio lesado expõe Fator Tecidual (FT) que desencadeia a cascata da coagulação e libera Fator de von Willebrand (FvW) e Fator Ativador de Plaquetas (FAP), culminando com adesão plaquetária à parede vascular. Neutrófilos ativados por citocinas inflamatórias recrutados para o sítio inflamatório, aumentam a produção de peróxidos e expõem maior quantidade de moléculas de adesão em sua superfície, facilitando a adesão ao endotélio, a outros neutrófilos, a plaquetas e hemácias falciformes, culminando com eventos vaso-oclusivos. Adaptado de Costa; Conran; Fertrin, 2013.

Além de produção de NO, as células endoteliais liberam Endotelina-1, peptídeo pró-inflamatório e potente vasoconstrictor de grandes e pequenas artérias e veias. Esse peptídeo, contribui ainda para o aumento da expressão de moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), moléculas de adesão vascular (VCAM-1), e proteínas de adesão como a E-selectina; estimula monócitos a secretarem citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α); bem como substâncias que aumentam a produção de superóxidos pelos neutrófilos (lesão vascular) (COSTA; CONRAN; FERTRIN, 2013).

O endotélio lesado expõe Fator Tecidual (FT), que desencadeia a cascata da coagulação e libera multímeros de von Willebrand que participam da homeostasia

primária. Além disso, são produzidos fibronectina e trombospondina, ligantes entre endotélio e células, pelas plaquetas (COSTA; CONRAN; FERTRIN, 2013; SONATI; COSTA, 2008).

Os neutrófilos ativados por essas citocinas inflamatórias são recrutados para o sítio inflamatório, aumentam a produção de peróxidos e expõem maior quantidade de moléculas de adesão em sua superfície, facilitando a adesão ao endotélio, a outros neutrófilos, a plaquetas e hemácias falciformes, culminando com eventos vaso-oclusivos (ZAGO; PINTO, 2007).

3.3 Programa Nacional de Triagem Neonatal para o diagnóstico da Doença Falciforme

Data de meados dos anos 50, os primeiros relatos de realização de triagem neonatal para o rastreio de doenças metabólicas, genéticas e/ou infecciosas. Com o objetivo de diagnosticar e tratar indivíduos antes do surgimento das manifestações clínicas, a triagem teve sua implementação em diversos países preconizada pelo Organização Mundial da Saúde (OMS), a partir da década de 60, com o estabelecimento de critérios para a sua realização (RODRIGUES et al., 2010; BRASIL, 2002).

A elegibilidade de uma patologia, para a triagem neonatal, considera como exigências: fácil detecção laboratorial; possibilidade de realização de testes de identificação com elevada sensibilidade e especificidade; não apresentação de características clínicas, em período neonatal; compor um programa economicamente viável e logístico não somente para a triagem, bem como para o acompanhamento dos casos; minimização ou eliminação das manifestações clínicas com o tratamento (BRASIL, 2002).

No Brasil, a primeira triagem neonatal ocorreu em 1976, na cidade de São Paulo, com a realização de testes para o diagnóstico de Fenilcetonúria. Posteriormente, na década de 80, foi incluído o rastreio precoce para o Hipotireoidismo Congênito, sendo essas iniciativas, pioneiras na América Latina. Em 1992, a triagem neonatal foi incorporada ao Sistema Único de Saúde (SUS), a partir da Portaria GM/MS nº 22/92, ficando determinado a obrigatoriedade do teste em todos

os recém-nascidos vivos, e a avaliação para a Fenilcetonúria e Hipotireoidismo Congênito (RODRIGUES et al., 2010; BRASIL, 2002).

Com vistas a ampliar a Triagem Neonatal existente, incluindo a detecção de outras doenças precoces, tais como, Doença Falciforme, Hemoglobinopatias e Fibrose Cística, aumentar a taxa de cobertura populacional para 100% dos nascidos-vivos, e garantir o tratamento e acompanhamento contínuo aos triados com diagnóstico positivo, o Ministério da Saúde, instituiu, em 2001, através da Portaria nº822/2001, o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), popularmente conhecido como “Teste do Pezinho”. A partir desta portaria, o teste de triagem neonatal tornou-se direito de todo recém-nascido, sendo dever do Estado, dos pais e de toda a sociedade civil prover condições ao seu cumprimento (BRASIL, 2016; ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR, 2010).

No estado da Bahia, a triagem neonatal para Fenilcetonúria e Hipotireoidismo Congênito iniciou em 1992, pela Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Salvador, em convênio com o SUS e Secretaria da Saúde do Estado da Bahia (SESAB). Em 2000, a instituição implementou a triagem para a Doença Falciforme e, em 2001, foi credenciada como Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN). No ano de 2014, a organização foi habilitada na fase IV do PNTN, sendo responsável pelas triagens para Doença Falciforme, Hipotireoidismo Congênito, Fenilcetonúria, Aminoacidopatias, Fibrose Cística, Hiperplasia Adrenal Congênita e Deficiência de Biotinidase; bem como, encaminhamentos de casos suspeitos de Fibrose Cística para serviço especializado (ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR, 2019).

O “Teste do Pezinho” é um exame de sangue colhido em papel-filtro, por meio de punção de calcanhar dos recém-nascidos com lanceta apropriada. Deve ser realizado, preferencialmente, entre o 3º e o 5º dia de nascimento, para que o tratamento seja instituído o mais precocemente possível. As crianças, que continuarem internadas, devem fazer a coleta no hospital. Os filtros passam por um período de secagem, devendo ficar distantes de líquidos, insetos, calor ou luminosidade direta. As amostras devidamente secas, e acondicionadas em temperatura entre 2°C a 8°C, em saco plástico, são semanalmente enviadas, através da Empresa Brasileira de Correios e Telégrafos, ao SRTN de Salvador, para análise

laboratorial (BRASIL, 2016; ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR, 2010).

Os recém-nascidos com exames alterados são reconvocados, por busca ativa, para confirmação do teste, com a realização de nova coleta. Os casos positivamente confirmados são acompanhados periodicamente por equipe multidisciplinar de saúde, composta por médico hematologista pediátrico, nutricionista, assistente social, odontólogo, médico geneticista e psicólogo, com orientações sobre a doença, bem como o aconselhamento genético (AMORIM et al., 2010).

A implantação do PNTN impactou positivamente na saúde das crianças com DF, proporcionando maior sobrevida e qualidade de vida, a partir da detecção precoce e da aplicação de medidas importantes no seu manejo, tais como profilaxia medicamentosa, imunização e cuidados preventivos à saúde. Estudo transversal de avaliação do PNTN na Bahia, entre 2007 a 2009, demonstrou melhoria no acesso a triagem neonatal, com reflexos no aumento da capacidade de detecção da DF, com cobertura média de 88,9% dos recém-nascidos vivos, e adesão de 100% dos municípios ao programa (NOGUEIRA, 2015; AMORIM et al., 2010; RAMALHO; MAGNA; PAIVA-E-SILVA, 2003).

Dados recentes do Ministério da Saúde, entre 2004 e 2017, demonstraram avanços para indicadores da triagem neonatal no Brasil. Nesse período, observou-se aumento em 14,5% da cobertura do PNTN, alcançando 85,8% dos neonatos, em 2017. Foi igualmente constatada melhora no percentual de recém-nascidos que realizaram a coleta de primeira amostra para o teste do pezinho até o 5º dia de vida, variando de 44,8% em 2004, para 53,1% em 2017. A mediana de idade, em dias, do recém-nascido em primeira consulta também foi um indicador importante de crescimento da cobertura do programa, antecipando de 43 dias para 34 dias, no período considerado (BRASIL, 2019).

3.4 Manifestações Clínicas da Doença Falciforme

A Doença Falciforme encerra um amplo espectro de manifestações clínicas, desde pacientes apresentando pouca sintomatologia, até quadros graves, com frequentes internações. Tais manifestações apresentam-se com importante variação

em sua frequência de ocorrência, dependente da faixa etária, tal como demonstrado na Tabela 1 (CALDAS et al., 2010; ZAGO; PINTO, 2007).

Os principais fenômenos responsáveis pela apresentação clínica da doença são oclusão vascular e hemólise crônica. A associação de tais eventos culmina na lesão progressiva de tecidos e órgãos como pulmões, baço, coração, ossos, rins, fígado, retina e pele (BRAGA, 2007).

Entre os fatores genéticos que mais influenciam na gravidade clínica da DF estão: níveis de hemoglobina fetal (Hb F), coexistência de alfa-talassemia e tipo de haplótipo associado ao gene da Hb S (NOGUEIRA, 2015).

As principais manifestações clínicas da Doença Falciforme incluem: Anemia Hemolítica, Anemia Aplásica Aguda, Crises vaso-oclusivas, Dactilite, Sequestro Esplênico, Síndrome Torácica Aguda, Acidente Vascular Cerebral (AVC), Priapismo, Infecções (Tabela 1).

Tabela 1. Principais manifestações clínicas e causas de óbito da Doença falciforme, segundo etapas do desenvolvimento humano.

	Sintoma ou Sinal	Fases do desenvolvimento		
		Recém-nascido e Criança	Adolescente	Adulto
Principal quadro clínico	Infecções	+	+	
	Dactilite	+		
	Sequestro Esplênico (SE)	+		
	Síndrome Torácica Aguda (STA)		+	+
	Acidente Vascular Cerebral (AVC)		+	
	Degeneração crônica dos órgãos			+
	Crises algicas			+
	Úlcera de Perna		+	+
	Priapismo		+	
Principais causas de óbito	SEPSE	+		
	Sequestro Esplênico (SE)	+		
	Síndrome Torácica Aguda (STA)	+	+	+
	Degeneração crônica dos órgãos			+

Fonte: Adaptado de BRASIL (2015).

3.4.1 Anemia Hemolítica

A anemia nesses pacientes é causada pela menor sobrevivência dos eritrócitos; trata-se de um quadro hemolítico acompanhado do aumento da bilirrubina indireta e reticulocitose.

Entre os fatores que contribuem para o quadro de anemia e/ou sua exacerbação estão: carência de folato, insuficiência renal, crises aplásicas, esplenomegalia persistente e reação hemolítica pós-transfusional tardia (ZAGO; PINTO, 2007).

O processo hemolítico crônico resulta em um conjunto de sintomas e consequências no indivíduo falcêmico, especialmente nos homozigotos (HbSS), dentre eles: retardo da maturação sexual, sobrecarga cardíaca, com insuficiência cardíaca na terceira década de vida e contribuição para a formação das úlceras de perna (SOUZA et al., 2016; ZAGO; PINTO, 2007).

3.4.2 Anemia Aplásica Aguda

A anemia aplásica aguda tem maior incidência nos primeiros anos de vida. Em geral, ocorre durante ou após um processo infeccioso, sendo mais frequentemente relacionada ao Parvovírus humano B19 (ZAGO; PINTO, 2007).

O diagnóstico é dado a partir da observação da queda abrupta dos níveis de hemoglobina e reticulopenia. Dentre as complicações, referentes à aplasia da série vermelha, estão: sequestro esplênico e hepático, síndrome torácica aguda, glomerulonefrite, acidente vascular cerebral e miocardite (VERÍSSIMO, 2007).

3.4.3 Crises álgicas ou vaso-oclusivas

A vaso-oclusão é o resultado de um complexo mecanismo que culmina na adesão de células vermelhas, leucócitos e plaquetas ao endotélio e à parede vascular, com consequente redução do fluxo sanguíneo (COSTA; CONRAN; FERTRIN, 2013).

Caracterizadas pela presença de dor em extremidades, região lombar, abdome ou tórax, as crises algicas são as manifestações mais frequentes no indivíduo falciforme. São decorrentes da vaso-oclusão microvascular, incluindo os episódios de priapismo, síndrome torácica aguda e úlceras crônicas (SOUZA et al., 2016; BRASIL, 2009).

Entre os principais fatores desencadeantes para as crises vaso-oclusivas estão: desidratação, exposição prolongada ao frio, estresse emocional, exercício físico extenuante, hipóxia ou infecções. Além da dor, são comuns o edema, o calor, a hiperemia e a restrição de movimento (SOUZA et al., 2016; SOUZA et al., 2015; BRASIL, 2015).

3.4.4 Insuficiência de múltiplos órgãos

A evolução da Doença Falciforme está associada a ampla manifestação de complicações clínicas, que afetam diretamente o funcionamento de órgãos e sistemas. Essas podem promover desde impactos na qualidade de vida à danos crônicos em órgãos vitais, associados a risco de vida, implicando em ocorrências, tais como, úlcera de perna, retinopatia, insuficiência renal, colelitíase, síndrome torácica aguda, complicações cardiorrespiratórias e acidente vascular cerebral (VAN TUIJN et al., 2017).

As lesões teciduais na DF ocorrem a partir de quatro mecanismos básicos: anemia; vaso-oclusão com hipóxia, necrose, fibrose e desorganização microvascular; sobrecarga de ferro; e asplenia (ZAGO; PINTO, 2007).

Em coorte ambispectiva com 150 adultos com Doença Falciforme, acompanhados por 13 anos, o comprometimento crônico de múltiplos órgãos relacionados à DF esteve associado à mortalidade precoce. Neste estudo, essa foi a causa primária ou secundária em 45% das 22 mortes registradas no período (CHATURVEDI et al., 2018).

Avaliação em coorte prospectiva de danos crônicos a órgãos em pacientes falciformes adultos, demonstraram que ao longo de 7 anos de acompanhamento, 62% dos indivíduos monitorados desenvolveram uma nova complicação associada a Doença Falciforme, com progressão na prevalência da lesão de órgãos, dentre as

quais: osteonecrose avascular (de 12,5% a 20,4%), insuficiência renal (6,7% a 23,4%) e retinopatia (de 39,7% a 53,8) em todo o grupo monitorado (VAN TUIJN et al., 2017).

3.4.5 Infecções

Especialmente até os 5 primeiros anos de vida, indivíduos com DF apresentam repetitivos episódios de vaso-oclusão, com a conseqüente congestão do baço por eritrócitos falcizados, que ocasionam infartos e trombose, culminando com a atrofia e fibrose do órgão, fenômeno conhecido por auto-esplenectomia. No entanto, anterior a essa ocorrência, a capacidade fagocítica mediada por opsoninas e a produção de anticorpos são afetadas, em resposta à agressão esplênica, resultando em asplenia funcional por volta do 6º ao 8º ano de vida. A redução do funcionamento do baço tem como conseqüências o favorecimento do risco de infecções, especialmente por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* e *Klebsiella* sp., associadas a septicemias e elevada mortalidade (NOGUEIRA, 2015; ZAGO; PINTO, 2007; DI NUZZO; FONSECA, 2004).

A criança com anemia falciforme, até os 5 anos, apresenta 30 a 100 vezes mais risco de infecção por pneumococo, comparado às saudáveis de mesma faixa etária (LOGGETTO et al., 1999), sendo igualmente frequente infecções por *Haemophilus influenzae* tipo b até os 3 anos (WARE, 1997; KNIGHT-MADEN; SERJEANT, 2001).

Infecções por salmonelas são apontadas entre as mais frequentes em indivíduos com anemia falciforme (DI NUZZO; FONSECA, 2004). Coorte retrospectiva, realizada na Arábia Saudita, entre 2012 a 2018, demonstrou alta virulência da salmonela em pacientes pediátricos com DF, com conseqüentes complicações multissistêmicas, como osteomielite, abscessos hepáticos, esplênicos, e sepse (ALFAWAZ et al., 2019).

3.5 Tratamento da Doença Falciforme

O manejo da Doença Falciforme é realizado a partir de medidas gerais e preventivas com objetivo de reduzir as conseqüências da anemia crônica, vaso-

oclusão e a suscetibilidade a infecções. Estas incluem: a) boa nutrição; b) hidratação; c) acompanhamento ambulatorial contínuo; d) uso de analgésicos, anti-inflamatórios e antipiréticos para o controle da dor ou febre; e) antibioticoprofilaxia, normalmente realizada com Penicilina, entre os 3 meses e 5 anos de idade; f) imunização (*Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae*; Hepatite B, varicela, hepatite A); g) transfusão, sendo aplicada em condições muito específicas, como na reposição do volume sanguíneo por hemorragia ou sequestro esplênico ou para aumentar a capacidade de carrear oxigênio, como nas exacerbações da anemia; h) hidroxiureia, atuando como agente indutor da produção de hemoglobina fetal e, dessa forma, inibindo a polimerização da desoxi-HbS, evitando a falcização dos eritrócitos, a anemia hemolítica crônica, crises álgicas, infarto e necrose em diversos órgãos; i) profilaxia com ácido fólico (AF), sendo fundamental para a eritropoiese. O AF é essencial na síntese de purinas e timidilato e, conseqüentemente, na síntese, replicação e reparo do DNA. A sua deficiência, é um dos fatores que contribui para o quadro de anemia megaloblástica (BASSOLI, 2009; MOUSINHO-RIBEIRO et al., 2008; LOBO et al., 2007; BRASIL, 2002).

3.5.1. Ácido Fólico

3.5.1.1. Absorção e Metabolismo

O ácido fólico (AF) é a forma sintética, oxidada e mais estável de apresentação do folato (vitamina B₉). O termo “folato” é utilizado para designar compostos com estrutura química semelhante ao ácido fólico, porém sob a forma de poliglutamato, estando principalmente presentes em vegetais folhosos verdes, legumes, frutas cítricas, grãos integrais e carnes bovina, suína e de aves (LIEW, 2016; PANIZ, 2015; BASSOLI, 2009).

O AF ocorre sob a forma ativa de monoglutamato, estando presente em alimentos fortificados e suplementos. Foi isolado em 1941, a partir das folhas do espinafre, das quais provém seu nome (do latim, *folium* – folha). Quimicamente, está estruturado em um anel de pteridina, uma molécula de ácido p-aminobenzóico (PABA) e uma molécula de ácido glutâmico, sendo também conhecido como ácido pteroilglutâmico (VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010; BASSOLI, 2009). (Figura 2).

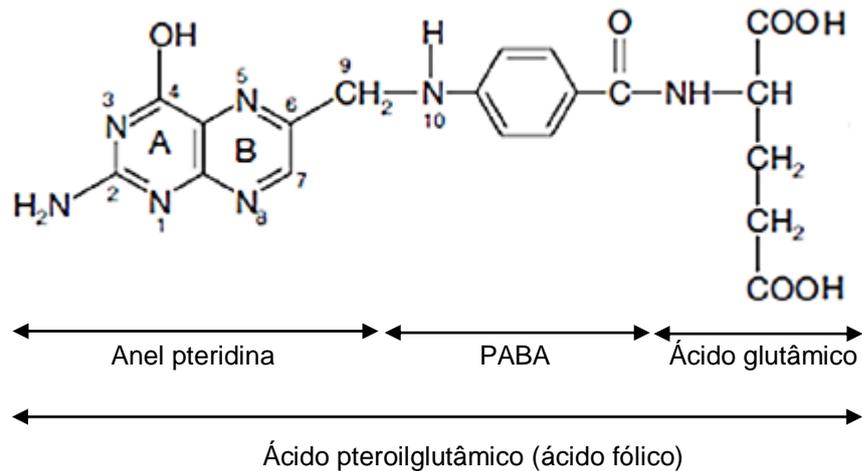


Figura 2 – Estrutura química do ácido fólico. Adaptado de Paniz, 2015.

A absorção do folato no organismo ocorre essencialmente no intestino delgado (jejuno proximal). As formas poliglutamato de folato em alimentos naturais não transpõem a membrana celular, e dessa forma são hidrolisadas à forma de monoglutamato pela enzima glutamato carboxipolipeptidase II (GCP_{II}), existentes nas membranas dos enterócitos (PANIZ, 2015; LAANPERE et., 2010).

O folato sob a forma monoglutamato e o ácido fólico sintético entram nos enterócitos por difusão passiva ou por transporte ativo mediado pelo transportador de folato próton-acoplado (PCFT). Uma vez dentro da célula, o ácido fólico é reduzido a diidrofolato (DHF) e, posteriormente, à tetraidrofolato (THF) pela diidrofolato redutase (DHFR). O ácido fólico absorvido e o monoglutamato são convertidos a 5-metiltetraidrofolato (5-metil-THF) antes do transporte para a veia mesentérica. No entanto, é necessário considerar os limites de ação da enzima DHFR quando da suplementação de ácido fólico em valores superiores a 200µg e, conseqüentemente, o surgimento, na circulação de AF não metabolizado (UMFA – *unmetabolized folic acid*) (SELHUB; ROSENBERG, 2016; PANIZ, 2015; LAANPERE et., 2010; TROEN et al., 2006) (Figura 3).

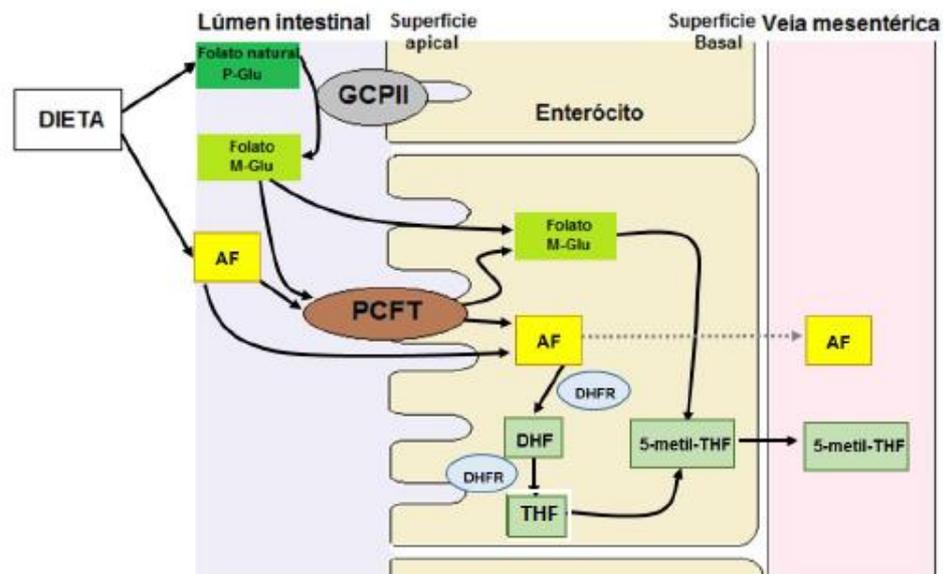


Figura 3 – Absorção do folato em sua forma monoglutamato e poliglutamato.

AF: ácido fólico; P-Glu: poliglutamato; M-Glu: monoglutamato; GCPII: glutamato carboxipeptidase II; PCFT: transportador de folato próton-acoplado; DHF: diidrofolato; THF: tetrahydrofolato; DHFR: diidrofolato redutase; 5-metil-THF: 5-metil-tetrahydrofolato. Adaptado de Paniz, 2015 e Laanpere et al., 2010.

O transporte do folato circulante para as células dos tecidos periféricos é mediado pelos transportadores RFC1 (carreador de folato reduzido) e FR (receptores de folato); apresentando, esses, maior afinidade pelo ácido fólico, enquanto os primeiros, pelas formas reduzidas de folato em comparação ao ácido fólico (PANIZ, 2015).

Uma vez dentro das células, as formas monoglutamato são convertidas a poliglutamato pela enzima folilpoliglutamato sintase, permitindo a retenção do folato. Desse modo, a forma poliglutamato é predominante no interior celular (PANIZ, 2015). O tempo médio de residência nos tecidos para a forma de poliglutamato é longo, variando de 199 a 212 dias em várias doses (ALPERS, 2016).

Dentro da célula, o 5-metil THF, a forma predominante do folato na circulação é utilizado na remetilação da homocisteína a metionina e THF numa reação dependente das vitaminas B2 e B12, e catalisada pela enzima metionina sintase. Essa é convertida a S-adenosilmetionina (SAM), um doador universal de grupamentos metil (CH₃) envolvido nas reações biológicas de metilação de DNA, RNA, proteínas e histonas, pela ação da metionina adenosil transferase (VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010; BASSOLI, 2009) (Figura 4).

No ciclo do folato, o THF ao receber um grupamento metil da serina, na presença de vitamina B6, origina o 5,10-metileno THF. Este por sua vez, pode seguir os seguintes caminhos: 1) doar o grupamento metila para o uracil, formando o nucleotídeo timina, que é utilizado na síntese e reparo do DNA; 2) ser oxidado a 10-formil THF, cofator para a síntese de purinas; 3) ser reduzido a 5-metil THF e voltar para a rota de metilação da homocisteína a metionina (PANIZ, 2015; BASSOLI, 2009), conforme mostra a figura 4.

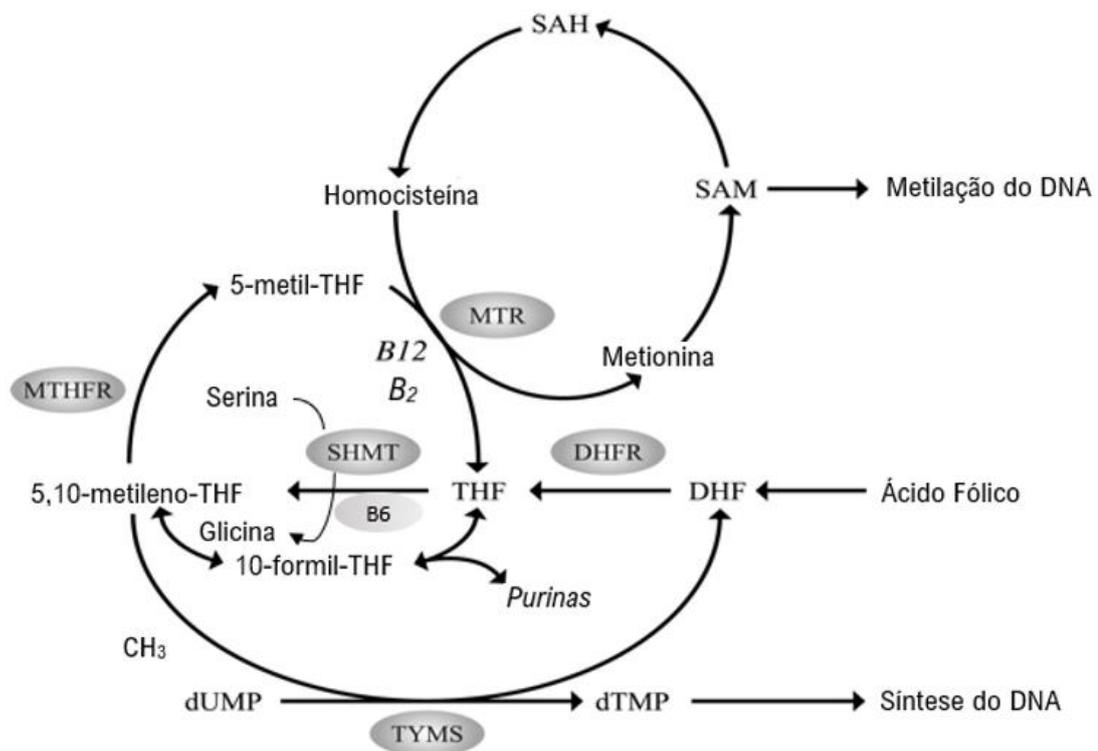


Figura 4 – Metabolismo do Folato.

DHF: diidrofolato; THF: tetrahydrofolato; DHFR: diidrofolato redutase; SHMT: serina metiltransferase; MTHFR: metileno-tetrahydrofolato redutase; MTR: metionina sintase; SAM: s-adenosilmetionina; SAH: s-adenosilhomocisteína; TYMS: timidilato sintase; dUMP: deoxiuridina; dTMP: deoxitimidina monofosfato. Adaptado de Skibola et al., 2004.

O folato é excretado pela via urinária, fecal ou na bile em formas metabolicamente ativas e inativas. Na urina, sua excreção se dá principalmente pelas formas de pteridinas e ácido benzoilglutâmico, formados a partir da ruptura do carbono da posição 9 com o nitrogênio da posição 10 do ácido fólico (Figura 2) (VANNUCHI; MONTEIRO, 2010; BALUZ; CARMO; ROSA, 2002).

O fígado é o principal local do metabolismo de um carbono e tem uma concentração maior de folato do que outros tecidos, sendo assim, o principal local de seu armazenamento, que se dá sob a forma de poliglutamato (BALUZ; CARMO; ROSA, 2002). A retenção de folatos nas células hepáticas e em outras células é auxiliada pela conversão em derivados poli- γ -glutamil e pela associação com proteínas específicas de ligação ao folato, a maioria das quais são enzimas envolvidas no metabolismo do folato. Como o folato é secretado na bile e reabsorvido, a circulação enterohepática é um aspecto importante da fisiologia do folato. Estima-se que pelo menos 10% da ingestão diária de folato entraria na circulação enterohepática (GREGORY; QUINLIVAN, 2002).

Nas fezes, o folato excretado corresponde às frações alimentares não absorvidas, secreção biliar e à síntese por bactérias intestinais (VANNUCHI; MONTEIRO, 2010).

Decaimento de folato no plasma, tecidos e fígado está representado pela Figura 5. O folato apresenta meia-vida em torno de 98,5 dias, apresentando taxas de decaimento e remoção lentas em relação ao transporte pelos compartimentos (plasma, fígado e tecidos periféricos). Assim, em todos esses locais de distribuição, a concentração de folato permanece em equilíbrio, e a meia-vida do folato em cada compartimento é idêntica (DUNCAN; REED; NIJHOUT, 2013).

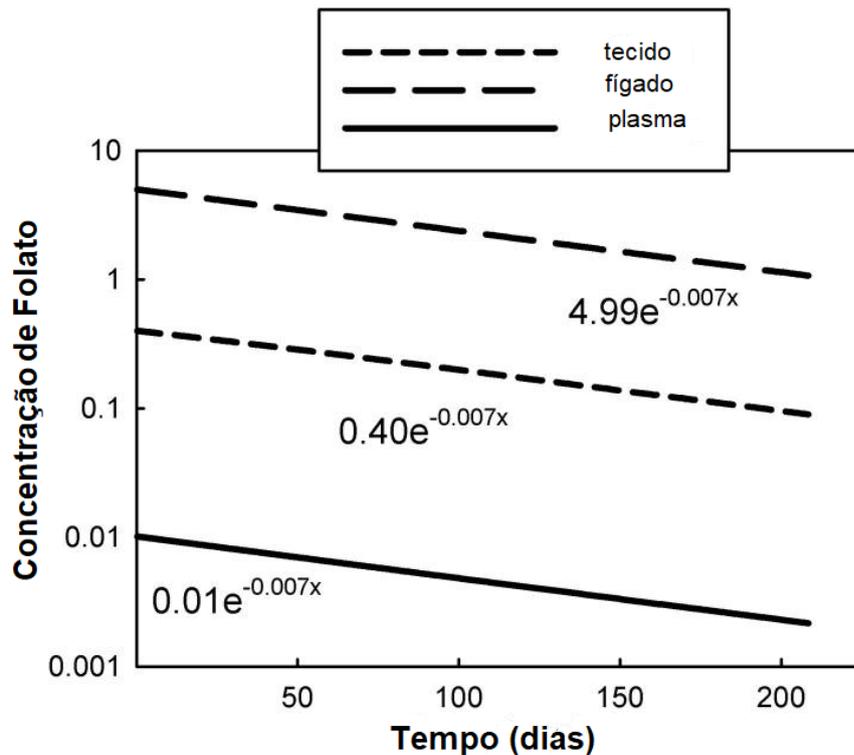


Figura 5 – Decaimento de folato no fígado, plasma e tecidos periféricos, identificando meias-vidas idênticas (98,5 dias) em cada compartimento. Adaptado de Duncan; Reed; Nijhout, 2013.

3.5.1.2. Política de Fortificação

A política de fortificação das farinhas e grãos cereais partiu da necessidade de reduzir a deficiência de folato, e a incidência de defeitos de fechamento do tubo neural (DFTN), como espinha bífida e anencefalia, objetivando, especialmente, o aumento da ingestão diária de ácido fólico por mulheres no período periconcepcional (DOLIN et al., 2018; MUDRYJ et al., 2016; ULRICH; POTTER, 2006; KIM, 2006). Abaixo, mapa demonstrativo dos países com Legislação Obrigatória de Fortificação de Cereais (farinha de trigo, farinha de milho e arroz) em 2018 (Figura 6).

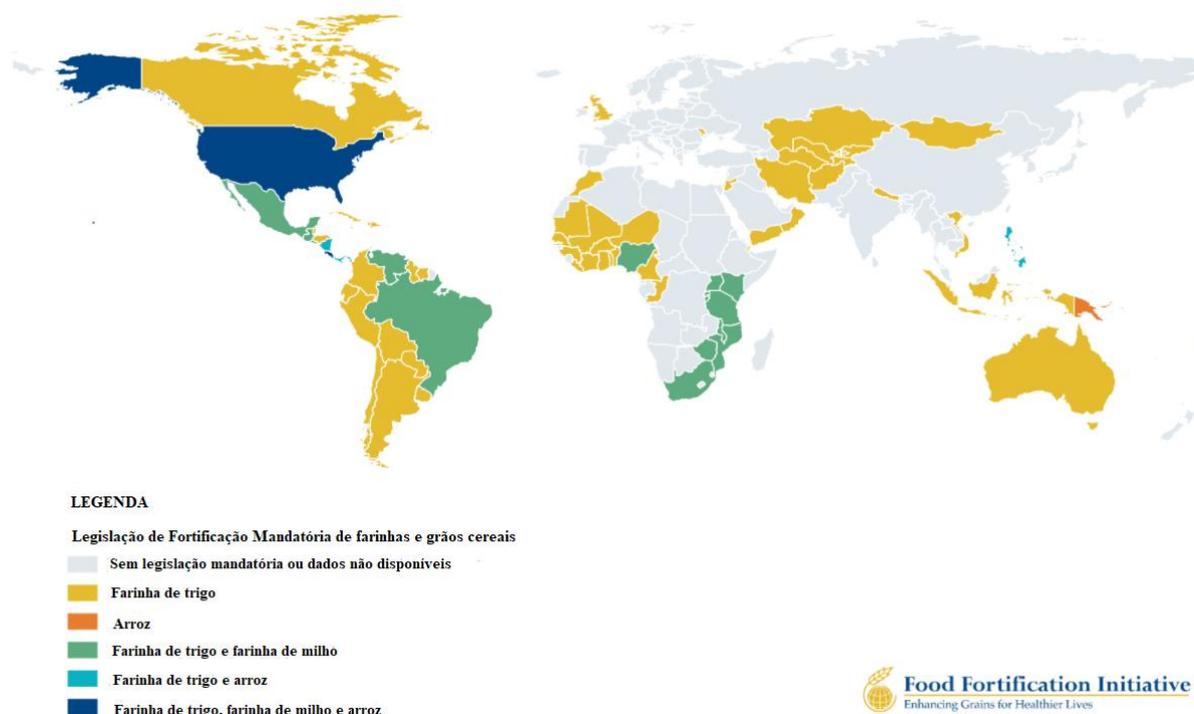


Figura 6 – Países com fortificação mandatória de ácido fólico para farinhas e grãos cereais em 2020. Adaptado de *Food Fortification Initiative*. Disponível em http://www.ffinetwork.org/global_progress/index.php.

Nos Estados Unidos, essa medida foi adotada a partir de 1998, seguido pelo Canadá e Chile, em 1998 e 2002, respectivamente. No Brasil, a fortificação mandatória teve início em 2004, sendo regulamentada pela RDC nº344 de 13 de dezembro de 2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Em 2017, essa resolução foi revogada pela RDC nº150 de 13 de abril de 2017 da ANVISA, sendo estabelecido que cada 100g de farinha de trigo ou milho deva conter 140 µg a 220 µg de ácido fólico e 4mg a 9mg de ferro. Dentre as atualizações dessa última resolução pode-se destacar a fixação de valores intermediários mínimos e máximos de ácido fólico e ferro, informações quanto à rotulagem das farinhas embaladas e determinação de condições para aplicação da obrigatoriedade do enriquecimento (BRASIL; 2017; SANTOS; PEREIRA, 2007; BRASIL, 2002b; ULRICH; POTTER, 2006).

Nos países que adotaram a política de fortificação, observaram-se resultados expressivos na redução de casos de defeitos do tubo neural, com estudos no Brasil apontando para diminuição desses eventos em até 30% (ALABURDA; SHUNDO, 2007; SANTOS; PEREIRA, 2007; HONEIN et al., 2001). Contudo, tal medida, somada à prática do consumo de polivitamínicos contribuíram para aumentos significativos dos

níveis séricos de folato, atingindo valores suprafisiológicos (folato sérico > 45nmol/l) e, das concentrações plasmáticas de ácido fólico não metabolizado (UMFA>1,35nmol/l), especialmente em crianças e idosos, população que apresenta elevado consumo de alimentos derivados de farinha de trigo e/ou milho, bem como suplementos nutricionais (PANIZ, 2015; BRITTO; CANÇADO, GUERRA-SHINOHARA, 2014; BASSOLI, 2009).

A efetivação da política de fortificação das farinhas com ácido fólico, em diversos países, e a prática da utilização de suplementos contendo folato, despertou para a discussão sobre aumentos de seus níveis séricos e de UMFA no organismo e possíveis resultados negativos à saúde (SMITH et al., 2008; BASSOLI, 2009; PANIZ, 2015).

3.6. Adesão ao Tratamento Farmacológico

Adesão (do latim *adhaerere*; do inglês *adherence*) é um termo que define a extensão na qual o comportamento de uma pessoa – usar medicamentos, seguir uma dieta e/ou executar mudanças no estilo de vida, corresponde às recomendações acordadas com o profissional de saúde. Dessa forma, o termo *adherence* assume a ideia do paciente como participativo/colaborativo de todo o processo de cuidado. Esse diferencia-se do também usado *compliance*, que define a capacidade do paciente em cumprir a prescrição, presumindo papel passivo do mesmo (ARONSON, 2007; WHO, 2003).

Os métodos de avaliação da adesão ao tratamento farmacológico subdividem-se em diretos (objetivos) e indiretos (subjetivos). Os métodos diretos ocorrem a partir da aplicação de técnicas analíticas que estimam a dose e frequência do uso do fármaco. São exemplos da aplicação desses métodos para classificação da adesão: detecção do fármaco ou metabólito em fluidos biológicos (dosagem sérica ou urinária), concentração de marcadores químicos e observação direta do paciente. A vantagem de sua utilização está na possibilidade de anular a interferência do relato do paciente na avaliação da adesão à farmacoterapia. Dentre as limitações destacam-se o elevado custo financeiro, sobretudo para a aplicação em larga escala na prática clínica; avaliação da adesão restrita ao período de utilização recente do fármaco, o que pode contribuir para um falso dado de aderência, vez que o paciente pode simular um comportamento de adesão, com a utilização do medicamento conforme regime terapêutico prescrito, próximo dos períodos de realização dos exames laboratoriais; e

dificuldade de monitoramento da utilização do fármaco pelo paciente por profissional de saúde. Este último, mais especificamente para o caso de observação direta do uso do fármaco pelo paciente, especialmente em ambiente ambulatorial, onde o usuário do medicamento pode simular a sua ingestão (OBRELI-NETO et al., 2012; BEN, 2011).

Os métodos indiretos correlacionam o comportamento da adesão com informações fornecidas pelo próprio paciente e/ou estimativas indiretas. Podem ser aplicados a partir da contagem das unidades de medicamentos, diário do paciente, registro de dispensação pela farmácia, registros em prontuários, dispositivos eletrônicos para monitoramento de tomadas do medicamento (*Medication Event Monitoring System – MEMS*), e questionários ou entrevistas estruturadas (OBRELI-NETO et al., 2012). No geral, com exceção do *MEMS*, os métodos subjetivos são pouco onerosos, de fácil aplicação, sendo uma alternativa interessante para uso em serviços de saúde de grande demanda, e que disponham de recursos tecnológicos e financeiros reduzidos (MACLAUGHLIN et al., 2005; FARMER, 1999). Entre as limitações de sua aplicação estão a possibilidade de manipulação das respostas pelos pacientes, quanto ao adequado e regular uso do tratamento farmacológico prescrito, com a superestimação do comportamento de adesão (BROWN et al., 2016; OBRELI-NETO et al., 2012; BEN, 2011).

Alguns autores (VIRIJENS et al., 2013; BUCHANAN et al., 2012; HAWWA et al., 2009) têm utilizado a combinação de mais um método em paralelo para avaliação da adesão, com objetivo de conduzir estudos mais robustos, e reduzir vieses e limitações de cada método. Assim, essa estratégia promoveria, de forma válida, o aumento da sensibilidade para a detecção de condições de não adesão ao tratamento farmacológico prescrito, sendo útil para o monitoramento da terapêutica. Entre os questionários mais utilizados na avaliação da adesão de diferentes enfermidades está o Teste de Morisky-Green (TMG). Foi desenvolvido originalmente por Morisky, Green e Levine para estimar a adesão de pacientes em tratamento para hipertensão arterial, sendo, posteriormente, aplicado a outras condições clínicas. A partir deste questionário, é possível verificar se o paciente adota atitudes em relação ao seu tratamento, proporcionando informações sobre as causas do descumprimento. Uma segunda ferramenta igualmente utilizada para a mensuração da adesão é o Brief

Medication Questionnaire (BMQ). Trata-se de um teste autorreferido, validado, que permite avaliar a adesão ao cumprimento terapêutico (CHAMORRO et al., 2008).

A não adesão a farmacoterapia é considerada um dos maiores problemas de saúde pública, impactando negativamente no curso e sucesso do tratamento, contribuindo para redução da eficácia dos medicamentos, complicações ou agravamentos das enfermidades, e assim, aumento dos custos de assistência à saúde (WALSH et al., 2014; STEINER et al., 2013; OBRELI-NETO et al., 2012).

Estima-se que 50% dos pacientes portadores de enfermidades crônicas sejam não aderentes a terapias medicamentosas, sendo este valor ainda maior para os países em desenvolvimento (TAVARES et al., 2016; WHO, 2003).

As causas para a baixa adesão são multifatoriais e envolvem aspectos sociais, demográficos, comportamentais e culturais. Fatores relacionados à polifarmácia, tempo prolongado de tratamento, via de administração do fármaco, dificuldades de acesso aos medicamentos, custos, crenças sobre a segurança e eficácia, questões relacionadas à recordação, falhas em consultas e interconsultas são pontuadas como de importante impacto no processo de aderência ao tratamento farmacológico. Essa problemática torna-se ainda mais complexa, quando se considera a população pediátrica, na qual apenas 58% das que utilizam medicamento a longo prazo, aderem ao tratamento. Para esse público, é relevante, ainda, as condições de aceitação do medicamento por motivos de facilidade de administração, textura, aparência ou paladar (AL-HASSANY, 2019; ADRIANO et al., 2017; LIBERATO et al., 2008; BUGNI et al., 2012).

Dentre as formas mais comuns de não adesão ao tratamento estão: omissão/falhas de doses, intervalos inadequados entre as doses, resistência pelo usuário do medicamento, interrupção precoce, não aquisição dos medicamentos, não compreensão das orientações do profissional de saúde, e demora para retorno às consultas (STEINER et al., 2013).

Nos EUA, estima-se que a baixa adesão contribua para um gasto anual de até 289 bilhões de dólares com cuidados desnecessários à saúde, bem como é responsável por 125 mil mortes anuais e pelo menos 10% dos casos de hospitalização. No Brasil, estudos de representatividade nacional sobre o impacto

econômico da não adesão são escassos (BILGER et al., 2019; TAVARES et al., 2016; VISWANATHAN et al., 2012).

A não adesão é uma condição extremamente importante a ser verificada no indivíduo com Doença Falciforme. Especialmente na infância, os portadores de DF necessitam fazer uso de ao menos um medicamento, por um longo período. Tal aspecto, somado a outros fatores, favorecem diretamente à má adesão ao tratamento preconizado (CALDAS et al., 2010).

Revisão sistemática entre crianças com Doença Falciforme registrou elevada variação nas taxas de adesão, apresentando-se entre 16% a 89%, estando a não adesão associada ao aumento de eventos vaso-oclusivos e hospitalizações (WALSH et al., 2014).

Em outra recente meta-análise de adesão a medicamentos em pacientes com Doença Falciforme, as taxas de adesão variaram entre 12% a 100% para todos os medicamentos avaliados, destacando a importante contribuição de fatores demográficos, médicos e psicossociais (LOISELLE et al., 2016).

Barreiras associadas à recordação, à crença e ao acesso foram apontadas entre as mais frequentes para a não adesão, com impactos à qualidade vida, em estudo transversal avaliando uso de hidroxiureia por adolescentes e adultos jovens com Doença Falciforme, por Badawy *et al* (2017).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do Estudo

Estudo observacional, longitudinal, prospectivo, cuja exposição corresponde à prescrição do ácido fólico antes (não expostos) e depois (expostos) da mudança das doses profiláticas para a anemia carencial prescritas pelos médicos hematologistas pediátricos do SRTN. Tem como desfechos: os níveis de folato séricos, adesão terapêutica, parâmetros laboratoriais e eventos clínicos.

4.2 Local, População e Amostra

O estudo foi desenvolvido na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Salvador, única instituição da Bahia credenciada pelo Ministério da Saúde como Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN) no estado, desde 2001, realizando a triagem neonatal (TN) dentro das diretrizes da Portaria GM/MS nº 822/2001.

Em sua estrutura, a Organização Social Filantrópica mantém o Centro Educacional Especializado, o Centro de Formação e Acompanhamento Profissional, o Centro Médico, Laboratório de Análises Clínicas, o Centro de Diagnóstico e Pesquisa e a Central de Doações, além dos programas: Grupo Pais Apoio e Programa do Voluntariado (ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR, 2019).

Criado em 1992, o Centro de Diagnóstico e Pesquisa (CEDIP) da APAE-Salvador atua, desde 2001, como Serviço de Referência em Triagem Neonatal para todo o estado da Bahia, com a cobertura de mais de 85% dos nascidos vivos, realizando mais de 190.000 exames de “teste do pezinho”/ano, com incidência geral de positividade para Doença Falciforme em 1:677 nascidos-vivos triados. O CEDIP dispõe, ainda, do Núcleo de Pesquisa Científica (NUPEC), criado em 2006, que coordena e apoia o desenvolvimento de estudos que atendam à demanda da instituição, bem como da comunidade científica (ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR, 2019; AMORIM et al., 2010).

O SRTN, após o processo de triagem neonatal, faz a confirmação dos casos suspeitos de doença falciforme, por meio da dosagem quantitativa do perfil de

hemoglobina, identificando o percentual de HbS, HbC, HbA2, HbA1 e HbF, conforme o tipo de hemoglobinopatia, definindo o diagnóstico da criança, dos pais e realizando o aconselhamento genético. Essas crianças são acompanhadas por uma equipe multiprofissional, incluindo os médicos pediatra, geneticista, hematologista pediátrico, assistente social, enfermeiro, nutricionista e cirurgião dentista. Rotineiramente são prescritos a profilaxia com penicilina V oral ou penicilina benzatina, para prevenir infecções e o ácido fólico, para minimizar a ocorrência de anemia carencial. Estudos hematológicos, de função renal, cardíaca, pulmonar e hepato-biliar constituem parâmetros de seguimento ao comprometido pela Doença Falciforme. Na APAE, consultas e exames laboratoriais são realizados periodicamente, a cada 3 a 4 meses, ou por avaliação da necessidade por especialista. Os pacientes triados foram monitorados, tendo sua farmacoterapia com ácido fólico avaliada periodicamente pelo farmacêutico pesquisador. Estimou-se 120 pacientes sem mudança no protocolo de prescrição do ácido fólico no momento em que o estudo foi planejado.

A população de interesse foi composta por crianças de 2 a 11 anos com diagnóstico de doença falciforme SS ou SC, assistidas, ambulatorialmente, pelo SRTN do estado da Bahia (APAE- Salvador), entre novembro de 2018 a março de 2020, e que faziam uso de terapia de reposição com ácido fólico diariamente.

4.2.1 Cálculo e Seleção Amostral

Considerando os achados de Nogueira et. al. (2017), que observou que 93,0% das crianças com DF avaliadas tinham excesso de ácido fólico sérico, tendo como poder 80%, nível de confiança de 95% e estimando uma redução de 25% na proporção de excesso de níveis séricos de folato após mudança do regime de prescrição, obteve-se uma estimativa de 59 pacientes a serem estudados.

A seleção dos pacientes deu-se por amostragem não casual, com a seleção de crianças em uso prévio de ácido fólico profilático, que não tiveram suas prescrições atualizadas, conforme o novo Protocolo de prescrição, detalhado no item 4.4. A população foi composta por crianças acompanhadas em Serviço Ambulatorial Interdisciplinar de Atenção à Criança com Doença Falciforme, que ainda mantinham a prescrição do uso de ácido fólico diário antes do início do estudo, em novembro de 2018.

4.2.2 Critérios de Inclusão

Foram incluídas: 1) Crianças com idade entre 2 e 11 anos, acompanhados pelo Serviço Ambulatorial Interdisciplinar de Atenção à Criança com Doença Falciforme da APAE, Salvador-Bahia, durante o período do estudo; 2) Crianças com posologias prévias de ácido fólico comprimido revestido de 5mg, diariamente, ou seja, anterior a mudança no protocolo de prescrição desse medicamento. Participaram, igualmente, no estudo, àquelas em uso de ácido fólico comprimido revestido de 5mg, ½ comprimido, diariamente; ácido fólico solução oral de 0,2mg/ml, 10 gotas/dias; ácido fólico solução oral de 0,2mg/ml, 20 gotas diariamente; e 3) crianças cujos pais e/ou responsáveis autorizaram a participação na pesquisa mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e, quando pertinente, Termo de Assentimento Livre Esclarecido (TALE), pelos participantes maiores de 6 anos (Apêndice I).

4.2.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes nos quais não foi possível obter dosagem dos níveis séricos de ácido fólico após mudança no Protocolo, ou cujos dados da evolução clínica e/ou laboratorial não estiveram disponíveis.

Não foram igualmente elegíveis pacientes em regime de hipertransfusão sanguínea (transfusão crônica), por possíveis interferências nos valores hematimétricos com a realização dessa terapêutica.

4.3 Instrumentos Utilizados

A adesão à terapia com ácido fólico foi mensurada a partir de métodos diretos e indiretos. O ácido fólico foi quantitativamente determinado no soro humano através de imunoensaio de Quimioluminescência com partículas paramagnéticas, utilizando o kit "Access® Folate" e o equipamento Beckman Coulter Unicel DXI 800, sendo as amostras colhidas de indivíduos em jejum de, no mínimo 8 horas. Para os resultados de exames que assumiram valores acima do limite de detecção do método (ácido fólico > 25,8ng/ml), realizaram-se as diluições das amostras a fim de se determinar a concentração do analito, de forma a obter resultados mais exatos.

Trata-se de um ensaio de receptores de ligação competitivo. Inicialmente, uma amostra de soro é tratada para que libere folato das proteínas de ligação endógena. A proteína de ligação do folato, anticorpos de rato antiproteína de ligação do folato, conjugado ácido fólico-fosfatase alcalina e anticorpos de captura de cabra anti-rato ligados a partículas paramagnéticas são adicionados ao recipiente de reação folato da amostra, que compete com o conjugado ácido fólico-fosfatase alcalina pelos locais de ligação de uma quantidade limitada de proteínas de ligação do folato. Os complexos resultantes ligam-se à fase sólida através dos anticorpos de rato antiproteína de ligação do folato. Após a incubação num recipiente de reação, os materiais ligados à fase sólida são retidos num campo magnético, enquanto os materiais não ligados são removidos, por lavagem. Em seguida, o substrato quimioluminescente, Lumi-Phos* 530, é adicionado ao recipiente e a luz gerada pela reação é medida com um luminômetro. A produção de luz é inversamente proporcional a concentração de ácido fólico na amostra. A quantidade de analito presente na amostra é determinada a partir de uma curva de calibração multiponto armazenada no sistema (BECKMAN COULTER INC, 2005).

Os métodos indiretos, utilizados para avaliação da adesão, consistiram em adaptações das versões em português do Teste de Morisky-Green (TMG) e do Brief Medication Questionnaire (BMQ) (Anexo I).

O Teste de Morisky-Green consiste em 4 perguntas objetivas para avaliação da adesão à farmacoterapia prescrita com respostas “SIM” ou “NÃO” (Anexo I), equivalendo, respectivamente, a 0 e 1 ponto. A soma desse escore, permite a classificação em baixa adesão (0 a 1 ponto), moderada adesão (2 a 3 pontos) ou aderente (4 pontos). O Brief Medication Questionnaire é um instrumento composto por três domínios que se propõe a identificar barreiras à adesão, considerando regime de tratamento medicamentoso prescrito, crenças e recordação em relação à farmacoterapia, sob a perspectiva do paciente. Através deste último, avalia-se a adesão ao tratamento considerando os últimos sete dias precedentes à entrevista, classificando os participantes em aderente (nenhuma resposta positiva); provável aderência (resposta positiva em 1 domínio); provável baixa adesão (resposta positiva em 2 domínios); e baixa adesão (resposta positiva em 3 domínios) (ISTILLI, 2014; BEN, 2011; BEN et al., 2011).

Para o presente estudo, foi considerado ao final da abordagem “regime”, a questão complementar: “Algum motivo levou à interrupção da terapia medicamentosa?”. Essa pergunta foi utilizada para marcar o escore em relação à interrupção da terapia devido a atrasos na dispensação do medicamento ou outro motivo, que ocorreram em períodos superiores à última semana. A mesma estratégia, de obter uma complementação da informação, foi utilizada por BEN (2011) em estudo de avaliação da adesão a tratamento anti-hipertensivo utilizando TMG e BMQ. O escore de problemas pontuados pelo BMQ em cada domínio foi obtido a partir da comparação das respostas dos pacientes com a prescrição recebida, registrada em prontuário eletrônico. Igualmente foi questionado aos cuidadores a forma de administração do ácido fólico às crianças, descrevendo possíveis dificuldades de aceitação do medicamento pelas mesmas.

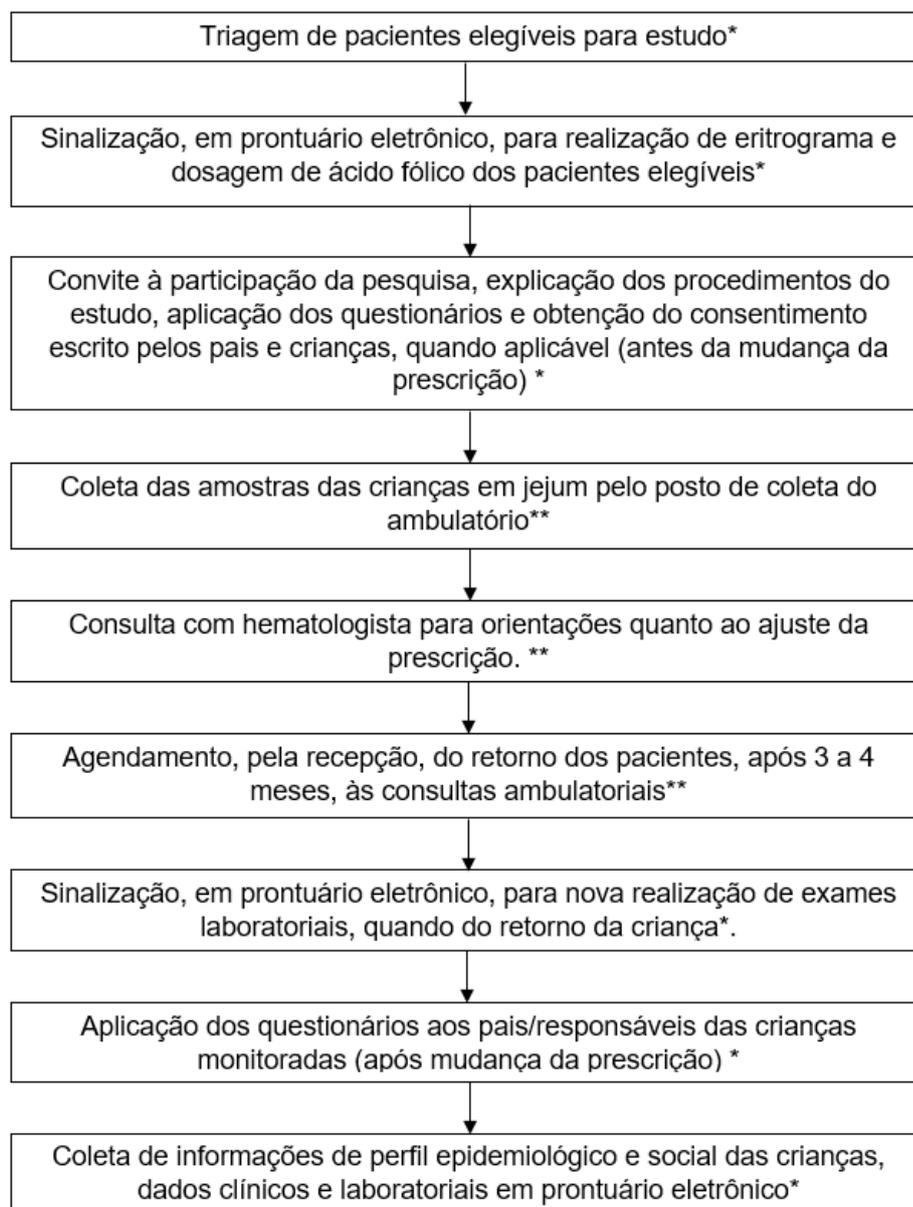
A monitorização dos níveis séricos de ácido fólico, bem como resultados do eritrograma foram realizados com auxílio de “Formulário de acompanhamento clínico-laboratorial de pacientes” (Apêndice II), composto pelos seguintes blocos que permitiram a análise das informações necessárias para o seguimento dos pacientes em questão: 1) Identificação do paciente; 2) Níveis séricos de ácido fólico antes e após ajuste no Protocolo Clínico; 3) Resultados do Eritrograma antes e após ajuste no Protocolo Clínico; 4) Descrição de Eventos Clínicos.

4.4 Procedimentos de Coleta de Dados

A coleta de dados ocorreu durante toda a monitorização, entre novembro de 2018 e março de 2020, através da análise das informações contidas nos prontuários eletrônicos e prescrições médicas, e de questionário aplicado aos pais/responsáveis das crianças acompanhadas pelo Serviço Ambulatorial Interdisciplinar de Atenção à Criança com Doença Falciforme da APAE, com sede em Salvador-Ba. Nessas fontes, foram coletadas informações referentes ao perfil epidemiológico e social das crianças; níveis séricos de ácido fólico antes e após o ajuste no Protocolo Clínico, considerando registros periódicos e regimes terapêuticos diferentes; parâmetros analíticos do eritrograma (hemoglobina e índices hematimétricos).

Após o início do protocolo, todas as crianças que preencherem os critérios de inclusão tiveram os níveis de folato sérico e índices hematimétricos avaliados antes da mudança do protocolo de prescrição do ácido fólico, dentro da rotina de coleta de

exames laboratoriais já realizadas no SRTN, APAE Salvador. Todos as análises laboratoriais foram feitas de forma automatizada, sendo os laudos emitidos por equipe responsável. No retorno para consulta médica de seguimento, dentro de 3 a 4 meses após a mudança posológica, nova coleta de ácido fólico e parâmetros hematimétricos foi realizada. Nestes momentos, também foram aplicados os instrumentos que mensuraram a adesão terapêutica, descritos anteriormente (Figura 7).



* Etapas grupo de pesquisa. ** Etapas rotina APAE-Salvador

Fonte: construída pelo autor.

Figura 7 – Fluxograma com principais etapas do estudo. APAE-Salvador, nov. /2018-mar. /2020.

Foram acompanhadas crianças com os seguintes esquemas posológicos prévios:

- a) AF 5mg, 1 comprimido, diariamente;
- b) AF 5mg, ½ comprimido, diariamente;
- c) AF 0,2mg/ml, 10 gotas, diariamente;
- d) AF 0,2mg/ml, 20 gotas, diariamente.

Após mudança da prescrição, as posologias foram atualizadas para:

- e) AF 5mg, 1 comprimido, 3x/semana (segundas-feiras, quartas-feiras e sextas-feiras);
- f) AF 0,2mg/ml, 40 gotas, diariamente.

As crianças em uso de comprimido, mantiveram a forma farmacêutica, bem como àquelas em uso de solução oral, sendo realizados os ajustes dessa última a partir do peso atualizado da criança. Foi instituído pela Unidade de Atendimento Ambulatorial, que crianças em uso de AF solução (0,2mg/ml), acima de 15kg e/ou 2 anos, teriam suas posologias atualizadas para 40 gotas/dia.

Foi preocupação dos pesquisadores, a comparação das informações sobre a farmacoterapia prescrita para a criança, disponível em prontuário eletrônico, e as fornecidas pelos pais e/ou responsáveis, somente após finalização da aplicação do questionário. Essa conduta teve como objetivo evitar um possível viés na confirmação das informações dadas pelos cuidadores, o que poderia induzir a uma resposta não verdadeira aos instrumentos de avaliação da adesão.

A mudança da prescrição foi fundamentada em acordo comum entre as hematologistas da instituição, com respaldo em base científica e consenso entre especialistas. As três médicas não compuseram o grupo de pesquisa, e foram responsáveis pela atualização das prescrições de ácido fólico. As orientações aos cuidadores, quanto ao novo esquema posológico, foram repassadas durante consulta de rotina, de forma oral e escrita (prescrição).

Entre as variáveis do estudo, a dosagem dos níveis séricos de folato não está inclusa como rotina no acompanhamento de pacientes com Doença Falciforme (BRASIL, 2015; BRASIL, 2012). Frente aos objetivos do estudo, durante todo o

desenvolvimento da pesquisa, priorizou-se pela informação atualizada da sua ocorrência, etapas, e a população de interesse (amostra) a todos os partícipes envolvidos (hematologistas, profissionais da coleta, recepção, laboratório).

A coleta e processamento das amostras biológicas seguiu etapas padronizadas observadas em protocolo institucional e kit de reagentes, com finalidades de reprodutibilidade e segurança na emissão dos resultados, sendo realizadas em laboratório da APAE-Salvador. A partir desse levantamento, elaborou-se, em programa Excel®, um banco de dados que permitiu discutir os efeitos dos ajustes no protocolo clínico do ácido fólico em crianças com Doença Falciforme.

4.5 Operacionalização das Variáveis

As variáveis utilizadas no estudo foram:

1. Perfil epidemiológico e social das crianças com DF: idade, sexo, cor da pele referida por genitor/responsável legal, idade à primeira consulta ao SRTN, procedência/naturalidade, escolaridade materna, renda familiar, obtidos na anamnese social realizada rotineiramente no serviço, disponível nos prontuários e confirmada no momento de aplicação dos questionários;
2. Dados laboratoriais das crianças com DF: níveis séricos de ácido fólico antes de após ajuste de prescrição posológica; parâmetros analíticos do eritrograma – Hemoglobina (Hb), Hematócrito (Ht), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), *Red Cell Distribution Width* (RDW) e contagem de Reticulócitos.
3. Tempo de uso do esquema terapêutico com ácido fólico antes do ajuste da prescrição;
4. Tipo de Hemoglobinopatia (SS ou SC) e Eventos clínicos;
5. Níveis séricos de ácido fólico antes e depois da intervenção.

Os eventos clínicos coletados foram: 1) Crises álgicas ou vaso-oclusivas, definidas como a presença de dor em extremidades, região lombar, abdome ou tórax, não atribuídas às outras causas clínicas e que tenham requerido uso de analgesia ou atendimento de urgência/emergência; 2) Dactilite, definida como a presença de dor com edema em mãos e/ou pés; 3) Sequestro Esplênico (SE), definido como

diminuição nos níveis de hemoglobina (Hb) em pelo menos 2g/dl em relação ao valor basal do paciente, com evidência de resposta medular compensatória (reticulocitose persistente ou eritroblastose) e aumento rápido do baço (pelo menos 2cm em relação ao tamanho basal); 4) Anemia Aplásica Aguda (AAA), definida como exacerbação aguda da anemia crônica, com queda dos níveis de Hb em mais de 2g/dl, e presença de reticulopenia; 5) Crise Hemolítica (CH), caracterizada como piora da palidez e da icterícia acompanhada de queda dos níveis de Hb, aumento da bilirrubina indireta e reticulocitose; 6) Síndrome Torácica Aguda (STA), definida como presença de um novo infiltrado pulmonar em raios-X de tórax associados com dor torácica e sinais respiratórios; 7) Acidente Vascular Cerebral (AVC), caracterizado pela ocorrência de hemiparesia, afasia ou disfasia, convulsões e monoparesias associados ou não a alterações de achado de tomografia computadorizada; 8) Priapismo, definido como falha na detumescência do pênis acompanhada de dor, conforme descrito história clínica e exame físico); 9) Internação por infecção (qualquer internação em ambiente hospitalar, mesmo que em unidade básica de saúde, com duração maior que seis horas, que tenham requerido o uso de medicações antibióticas endovenosas) com registro do sítio da infecção ou, quando não foi possível definir um sítio específico, descrito como “infecções sem sítio específico”. Estas complicações foram obtidas dos prontuários baseado na descrição dos dados clínicos e/ou laboratoriais ou pela referência do médico de qualquer uma delas no diagnóstico dos pacientes. Foram classificadas como presentes ou ausentes, tanto para o período anterior a mudança da prescrição, quanto para o período posterior.

Para a análise estatística, recategorizou-se a adesão obtida pelos instrumentos TMG e BMQ em “aderentes” e “não aderentes”, sendo considerado “aderentes”, àqueles com adesão máxima, ou seja, os pacientes que pontuaram nas 4 questões do Morisky-Green e os que não pontuaram em nenhum domínio do Brief Medication Questionnaire. As demais classificações de adesão terapêutica, foram reclassificadas como “não aderentes”.

Os níveis séricos de ácido fólico foram considerados adequados quando se encontravam entre os valores de referência preconizados pelo kit utilizado, ou seja, entre 5,9-25,8 ng/ml. Valores abaixo de 5,9 ng/ml foram classificados como “abaixo do recomendado” e acima de 25,8 ng/ml, classificados como “níveis excessivos”.

4.6 Análise Estatística

A caracterização da população do estudo fundamentou-se em estatística descritiva, por meio de medidas de tendência central e dispersão. A comparação dos níveis séricos de ácido fólico e parâmetros hematimétricos antes e depois da mudança de protocolo de prescrição foi realizada com test-t para amostras pareadas ou teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas, conforme indicado.

A prevalência de adesão terapêutica pré-mudança foi obtida pela razão entre o total de pacientes considerados como tendo boa adesão e todos os participantes, multiplicado por 100. Para avaliar se houve mudança na frequência de adesão terapêutica e na ocorrência de eventos clínicos pré- e pós-mudança foi realizado o teste de McNemar.

Para avaliar a associação entre variáveis, clínicas e farmacológicas com a presença de adesão, bem como entre eventos clínicos e hemoglobinopatia, foram utilizados os testes do qui-quadrado ou o exato de Fisher, quando indicados. As demais comparações de proporções antes e depois da mudança do protocolo (dados com dependência) foram avaliadas por meio do teste de McNemar.

As análises foram realizadas com o programa estatístico STATA®, versão 13.1 e o GraphPad Prism® versão 8.0. Foram considerados significantes valores de $p < 0,05$.

4.7 Aspectos Éticos

Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos de pesquisa envolvendo seres humanos, conforme Resolução CNS nº 466/2012, tendo aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Complexo HUPES, parecer nº 3.186.618, CAEE 06079219.0.0000.0049. Todos as crianças participantes foram incluídas após prévia autorização dos pais ou responsável legal e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; às maiores e iguais a 6 anos, foram aplicados, ainda, Termo de Assentimento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período do estudo, foram identificadas 58 crianças que se enquadraram nos critérios de inclusão. Destas, a amostra de análise se constituiu de 52 crianças com Doença Falciforme em que foram obtidas as dosagens séricas de ácido fólico pré- e pós-mudança de protocolo de prescrição. (Figura 8). Dessas, duas foram excluídas da análise estatística, por tratar-se de casos *outlier* para os valores séricos de ácido fólico dosados. Esta opção se deve a intenção de preservar uma amostra mais homogênea, minimizando possíveis vieses nos resultados e interpretação dos dados (Figura 8 e Gráfico 1).

Para a avaliação do objetivo adesão, foram considerados 38 crianças, que apresentavam respostas para ambos questionários, TMG e BMQ, antes e após ajuste da prescrição. (Figura 8).

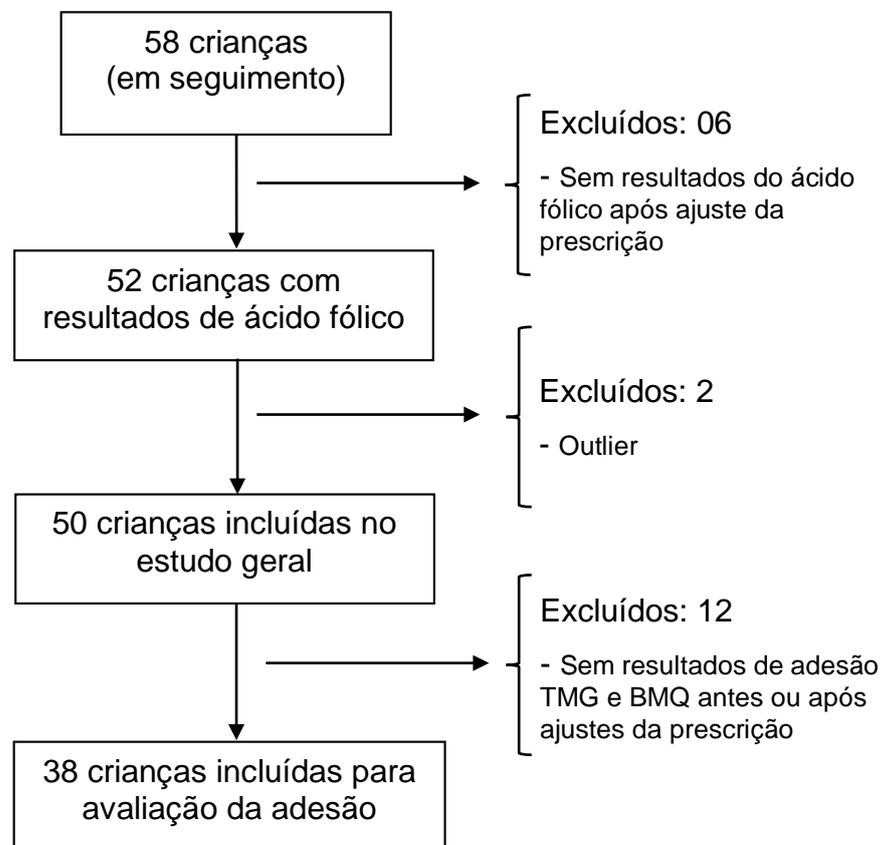


Figura 8 – Fluxograma da dinâmica para obtenção da amostra final do estudo. APAE-Salvador, nov. /2018- mar./2020.

Fonte: construída pelo autor.

5.1 Aspectos sócio-demográficos

Realizou-se o seguimento de 52 crianças com diagnóstico de Doença Falciforme pela Triagem Neonatal, durante o período de novembro de 2018 a março de 2020. Quanto ao perfil epidemiológico e social, os pacientes eram, em maioria, do sexo masculino (63,5%), pardos (52,0%), com diagnóstico de hemoglobinopatia SS (59,6%), em faixa etária pré-escolar (67,3%), naturais do interior do estado da Bahia (88,5%); e apresentaram média (DP) de idade de 4,7 (2,3) anos, e mediana (p25-p75) de 4,0 (3,0 – 6,0) anos, variando de 2,0 a 10,0 anos (Tabela 2).

Tabela 2 – Descrição epidemiológica das 52 crianças diagnosticadas com DF monitoradas pelo SRTN. Novembro de 2018 a março de 2020.

Variável	n	%
Sexo		
Feminino	19	36,5
Masculino	33	63,5
Cor da pele referida pelo cuidador		
Amarelo	-	-
Branco	4	7,7
Indígena	1	1,8
Pardo	27	52,0
Negro	13	25,0
Não declararam ou dados ausentes	7	13,5
Hemoglobinopatia		
HbSS	31	59,6
HbSC	21	40,4
Faixa etária		
Pré-escolar (2 a 4 anos)	35	67,3
Escolar (5 a 9 anos)	14	26,9
Adolescente (10 a 19 anos)	3	5,8
Procedência		
Salvador e Região Metropolitana	6	11,5
Interior do estado	46	88,5

Continuação da Tabela 2.

Variável	n	%
Escolaridade Materna		
Até Fundamental Completo	18	34,6
Ensino Médio em diante	32	61,5
Não declararam ou dados ausentes	2	3,9
Renda Familiar		
Menor que 1 salário mínimo	20	38,5
Maior ou igual a 1 salário mínimo	30	57,7
Não declararam ou dados ausentes	2	3,8

Fonte: construída pelo autor.

A maioria das crianças com Doenças Falciforme monitoradas eram do sexo masculino. São poucos os estudos com abordagem de gênero para a DF. Conforme descrevem Feitoza & Goulart (2012), o gene responsável pela doença não está associado ao sexo, não havendo, portanto, relação entre a prevalência de hemoglobinas anormais e sexo. Dessa forma, o predomínio da população masculina pode ser justificado pelo reduzido tamanho amostral e a técnica de amostragem não causal.

Com relação à etnia, nossos resultados demonstraram semelhança com a literatura, evidenciando amplo predomínio de negros ou pardos (FEITOZA; GOULART, 2012; FELIX; SOUZA; RIBEIRO, 2010; BRASIL, 2002).

Quanto à hemoglobinopatia, a maioria das crianças eram homozigóticas para a hemoglobina S, diferentemente do observado em coorte ambispectiva (CALDAS et al., 2010) com crianças com DF, acompanhadas por SRTN do estado da Bahia. Na capital baiana, 17,4% dos nascidos-vivos apresentam algum tipo de hemoglobina anômala, sendo a incidência para anemia falciforme e hemoglobinopatia SC de 0,2% e 0,9%, nessa ordem (ADORNO et al., 2005; CALDAS et al., 2010).

No estudo, a maioria das crianças com Doença Falciforme acompanhadas eram naturais do interior da Bahia. No estado, os casos de DF não se apresentam distribuídos uniformemente, como destacam Amorim et al., (2010), sendo observados regiões de tendência à maior incidência (>2 casos/1000 nascidos vivos), concentradas

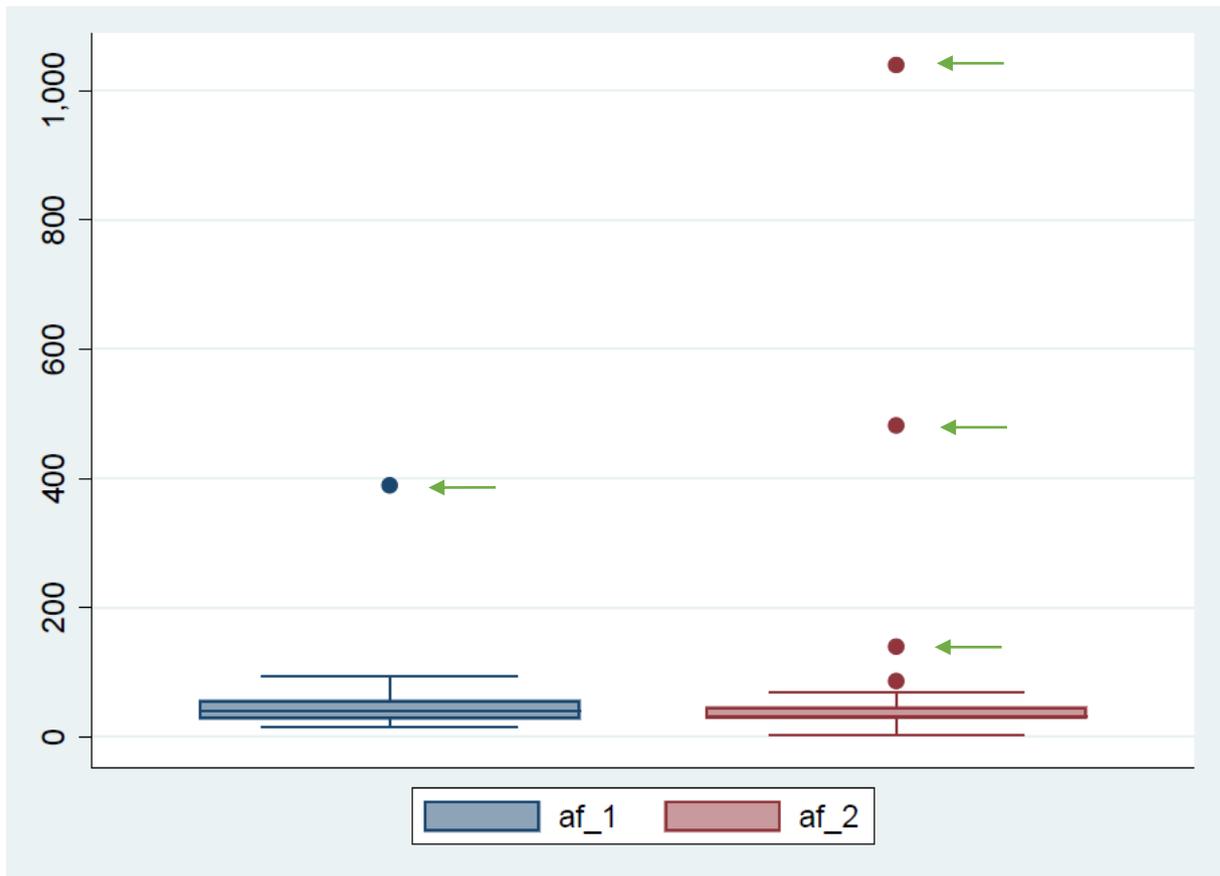
no Litoral, Recôncavo e médio e baixo São Francisco. Uma provável justificativa para expressiva porcentagem de participantes do interior está na demanda de atendimentos da instituição. A APAE-Salvador é a instituição credenciada pelo Ministério da Saúde como Serviço de Referência em Triagem Neonatal do estado, prestando atendimentos em diversas áreas da medicina, bem como triagens para Doença Falciforme, Hipotireoidismo Congênito, Fenilcetonúria, Aminoacidopatias, Hiperplasia Adrenal Congênita e Deficiência de Biotinidade. No entanto, na cidade de Salvador, pelo menos duas outras instituições fazem o seguimento da população com DF, o que acaba por distribuir, de forma mais homogênea, os atendimentos aos municípios.

Quanto à escolaridade materna, 61,5% declararam ter ensino médio em diante, sendo que destas, 7/32 (21,8 %) tinham iniciado o curso de formação superior de ensino. Cenário semelhante foi encontrado em estudo de Figueiredo et al. (2018) sobre orientações em saúde para familiares de crianças com doença falciforme. Esses autores verificaram que 75,0% dos cuidadores possuíam ensino médio em diante, no entanto, apresentavam insuficiência de informações gerais sobre a doença, complicações e cuidados necessários (FIGUEIREDO et al., 2018). Entre os cuidadores que relataram renda maior ou igual a um salário mínimo, 25/30 (83,3%) recebiam abaixo de dois salários. Estudos sócio epidemiológicos com acometidos da Doença Falciforme, no Brasil, apontam renda per capita em torno um salário mínimo (MARQUES; SOUZA; PEREIRA, 2015; DIAS, 2013; FÉLIX; SOUZA; RIBEIRO, 2010).

5.2 Níveis séricos e posologia pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico

Em análise dos níveis séricos de ácido fólico das 52 crianças com Doença Falciforme, identificaram-se dois pacientes com valores muito acima do limite superior de normalidade (valores de referência: 5,9-25,8 ng/ml), especificamente 482 ng/ml e 1040 ng/ml (após ajuste da prescrição) sendo considerados *outlier*, como demonstrado no gráfico 1, sendo, por esse motivo, excluído das análises estatísticas. Os níveis séricos antes do ajuste da prescrição eram 74,92 ng/ml e 389,35 ng/ml, respectivamente.

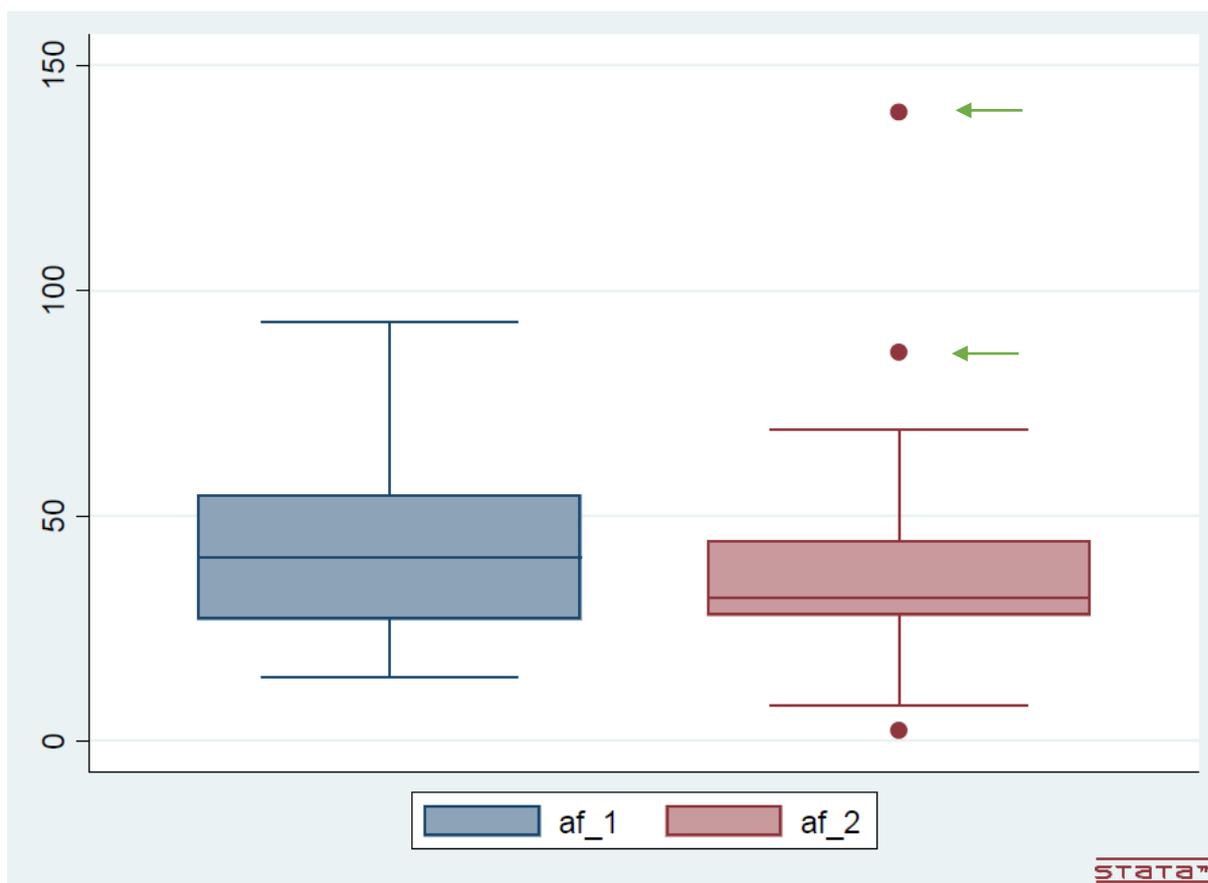
Gráfico 1 – Box plot representando valores séricos de ácido fólico (ng/ml) das 52 crianças com DF, SRTN, acompanhadas entre novembro de 2018 a março de 2020.



Fonte: construída pelo autor. STATA® 13.1.

Após exclusão de dois casos considerados como *outlier*, foram comparados os níveis de ácido fólico antes e após ajuste de prescrição de 50 crianças com hemoglobinopatias HbSS e HbSC (gráfico 2).

Gráfico 2 – Box plot representando valores séricos de ácido fólico (ng/ml) das 50 crianças com DF, SRTN, acompanhadas entre novembro de 2018 a março de 2020.



Fonte: construída pelo autor. STATA® 13.1.

Foram acompanhadas crianças com diferentes doses prévias de ácido fólico profilático, em período anterior ao ajuste da prescrição. Predominaram as posologias AF 5mg, 1x/dia, diário (20/50); seguido dos esquemas posológicos AF 2,5mg, 1x/dia, diário (11/50); e AF 0,2mg/ml, 20 gotas, diário (15/50) (Tabela 3).

Adotou-se para o ácido fólico solução oral gotas 0,2mg/ml, que 1 ml corresponde a 20 gotas, tal como descrito na maioria dos bulários dos fabricantes consultados. No entanto, observou-se a existência de formulações no mercado em que 1ml equivalia a 30 gotas. Para todos os laboratórios farmacêuticos, cada 1ml da solução contém 0,2mg do fármaco. Dessa forma, as 20 ou 40 gotas prescritas podem variar para uma dose diária de ácido fólico igual ou inferior a 200µg/dia e 400µg/dia, respectivamente, a depender do fabricante.

Após a mudança do Protocolo de Prescrição, as crianças em uso de comprimido (AF 5mg e AF 2,5mg), mantiveram a mesma forma farmacêutica, bem como àquelas em uso de solução oral, com exceção de três pacientes, que migraram de AF 0,2mg/ml, 10 gotas/dia para 1 comprimido, 3x/semana (1/50); e AF 0,2mg/ml, 20 gotas/dia para 1 comprimido, 3x/semana (2/50) (Tabela 3).

Tabela 3 – Descrição do esquema posológico antes e após mudança da prescrição para as 50 crianças monitoradas.

Posologia antes prescrita	Posologia posterior prescrita			Total
	AF 5mg, 1 comp., 3x/semana	AF 0,2mg, 20 gotas, 1x/dia	AF 0,2mg, 40 gotas, 1x/dia	
AF 5mg, 1 comp., 1x/dia	20	0	0	20
AF 5mg, 1/2 comp., 1x/dia	11	0	0	11
AF 0,2mg/ml, 10 gotas, 1x/dia	1	1	2	4
AF 0,2mg/ml, 20 gotas, 1x/dia	2	0	13	15
Total	34	1	15	50

Fonte: construída pelo autor.

Falta nas unidades de saúde e/ou dificuldade no acesso justificaram a substituição do ácido fólico solução oral gotas por comprimido, para as crianças que não mantiveram as formas farmacêuticas, após ajuste da prescrição. Essa substituição, realizada pelas hematologistas, teve como objetivo prover a continuidade do tratamento da anemia hemolítica. A APAE-Salvador não dispõe de Serviço de Farmácia e dispensação de medicamentos, sendo estes, utilizados pelas crianças com Doença Falciforme, disponibilizados pelas redes básicas de saúde ou através de aquisição em farmácia comunitária.

Quanto aos níveis séricos de folato, foram observados valores acima do recomendado em 82,5% (41/50) das crianças estudadas, em período anterior ao ajuste da prescrição. Nenhuma criança apresentou valor abaixo do recomendado, seja antes ou após a mudança do protocolo.

O ajuste da prescrição de ácido fólico, nas 50 crianças monitoradas, reduziu os níveis medianos de folato sérico de 40,8 para 31,7 ($p=0,1296$). Entretanto, a proporção de indivíduos com folato elevado manteve-se alta (46/50; 92,0%).

A distribuição dos níveis de folato sérico, nos grupos de pacientes com as posologias predominantes, antes e após mudança da prescrição, é demonstrado na Tabela 04.

Tabela 4 – Níveis de folato sérico segundo ajuste da prescrição para as 44 crianças com posologias predominantes

Ajuste da Prescrição (antes → depois)	N	Níveis séricos de AF (ng/ml) antes			Níveis séricos de AF (ng/ml) após			p*
		mediana	p25	p75	mediana	p25	p75	
AF 5mg, 1x/dia → AF 5mg, 3x/semana	20	42,7	29,7	55,8	30,7	27,7	42,6	0,0400
AF 2,5mg, 1x/dia → AF 5mg, 3x/semana	11	48,0	34,5	64,5	32,2	28,7	53,0	0,2754
AF 200µg, 1x/dia → AF 400µg, 1x/dia	13	38,2	26,3	46,0	28,5	26,7	43,7	0,7869

AF: Ácido Fólico

* Considerou-se significativo se $p < 0,05$ - teste não-paramétrico de Wilcoxon.

Na avaliação do impacto da mudança da prescrição nos níveis séricos de folato, foram considerados as posologias mais predominantes, ou seja, àqueles com um grupo amostral maior, de forma a reduzir a margem de erro e aumentar o nível de confiança das análises.

Para o subgrupo de crianças em uso de AF 5mg, 1x/dia, com ajuste para AF 5mg, 3x/semana, observou-se uma manutenção da proporção de indivíduos com níveis de folato sérico elevado (17/20; 85,0%), entretanto com redução significativa das medianas dos níveis, de 42,7 para 30,7 ($p=0,004$) (Tabela 4). Foi ainda perceptível, maior tendência à redução dos níveis séricos de folato, com a mudança da prescrição (Figuras 9A e 9B).

A mudança da prescrição de AF 2,5mg, 1x/dia para AF 5mg, 3x/semana, reduziu de forma importante, mas não significativa, as medianas dos níveis séricos de folato de 48,0 para 32,2 ($p=0,2754$) (Tabela 4). Para este subgrupo, o ajuste da prescrição não modificou o percentual de indivíduos com níveis de ácido fólico aumentados, sendo verificados inicialmente em 9/11 (81,8%) das crianças e, após mudança do Protocolo, 11/11 (100,0%). Tendência de redução dos níveis séricos de folato foram observados com a mudança do esquema posológico (Figuras 9C e 9D).

No grupo de crianças em uso de AF 0,2mg/ml, 20 gotas, diário que tiveram suas prescrições atualizadas para AF 0,2mg/ml, 40 gotas, diário, observou-se redução não significativa nos níveis de folato sérico, sendo inicialmente de 38,2 para 28,5 ($p=0,7869$) (Tabela 4). O número de indivíduos com ácido fólico acima do limite preconizado permaneceu elevado, a princípio em 10/13 (76,9%), e após posterior ajuste da prescrição, em 12/13 (92,3%). Constatou-se tendência à uniformidade entre a proporção de indivíduos que aumentaram ou reduziram os níveis séricos de folato, com a mudança do Protocolo (Figuras 9E e 9F).

Neste último subgrupo, o ajuste da prescrição, teoricamente associado ao aumento da posologia, em nosso estudo, demonstrou redução dos níveis medianos (p_{25} - p_{75}) de folato sérico, de (38,2 [26,3-46,0]) para (28,5 [26,7-43,7]) ($p=0,7869$), no entanto com faixas similares para os percentis (Tabela 4). Esse esquema posológico ainda que dentro da faixa de ingestão segura tolerável recomendada (Ulrich & Potter, 2006; Institute of Medicine, 1998; BRASIL, 2002), implicou em níveis séricos de folato acima do limite preconizado. Tais resultados podem ter tido interferência da dieta alimentar, bem como da pequena população amostral do estudo.

Estima-se para o ácido fólico um tempo de meia-vida, ou seja, período de tempo necessário para que a concentração plasmática do fármaco se reduza à metade da inicial, em torno de 100 dias (DUNCAN; REED; NIJHOUT, 2013). O pico plasmático máximo do fármaco é alcançado em 30 a 60 minutos (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ), sendo a sua configuração monoglutamato (alimentos fortificados e suplementos) altamente estável e biodisponível (em torno de 98,0%) (BASSOLI, 2009; BALUZ; CARMO; ROSA, 2002). Ao ser absorvido, o ácido fólico é distribuído, podendo uma parte ser armazenada no tecido hepático sob a forma de poliglutamato, reabsorvido pelo intestino, ou converter-se em metabólitos ativos e inativos. Essa elevada distribuição, promove pequenas variações na concentração plasmática do folato (DUNCAN; REED; NIJHOUT, 2013; VANNUCHI; MONTEIRO, 2010; BALUZ; CARMO; ROSA, 2002; GREGORY; QUINLIVAN, 2002). Dessa forma, o fato da criança não ter utilizado o medicamento no dia da coleta possivelmente pouco influencie para variações dos níveis séricos de folato. No estudo, não foi confirmado com os cuidadores quanto ao uso do ácido fólico no dia que realizaram as coletas de folato sérico e parâmetros hematimétricos em laboratório.

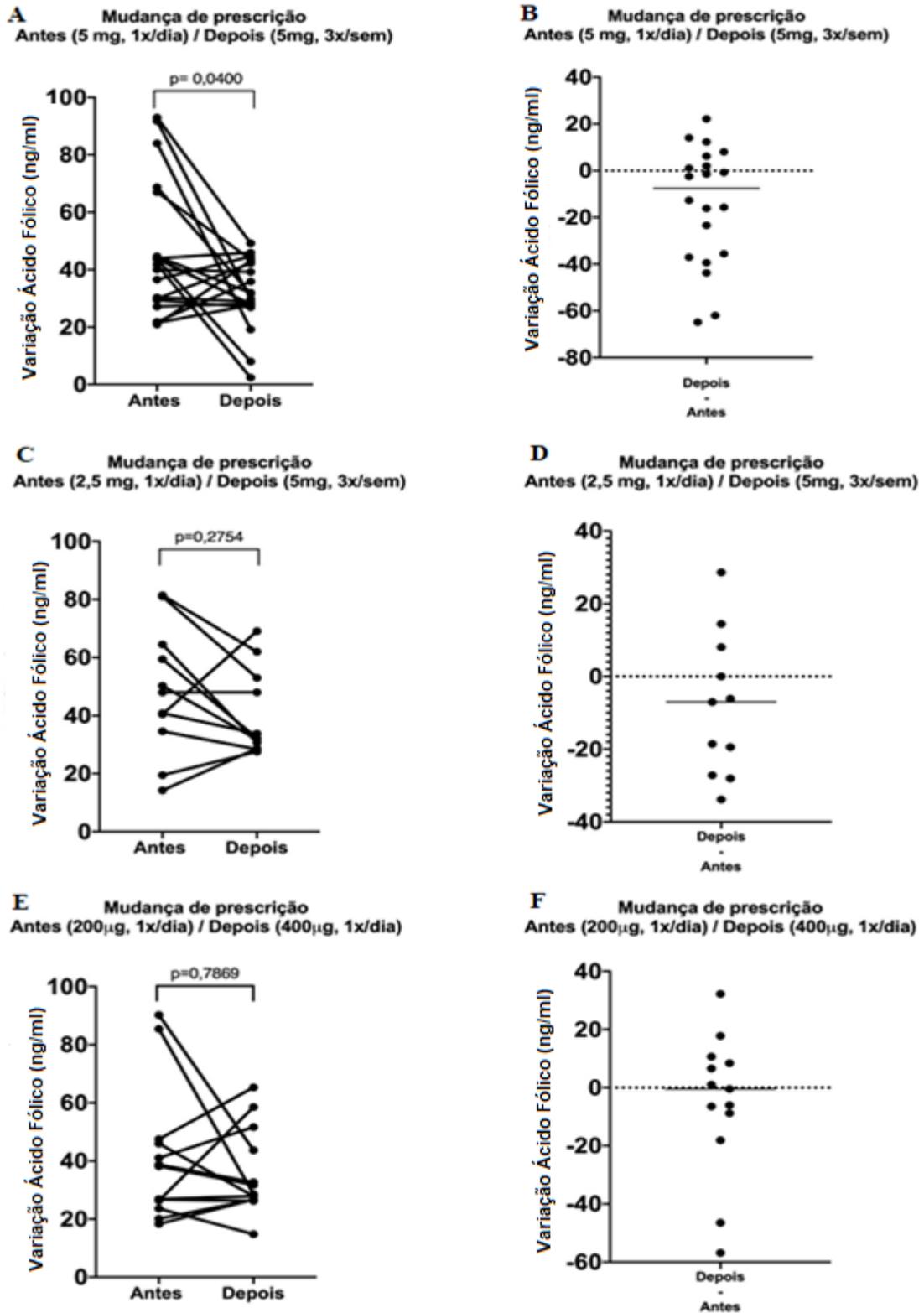


Figura 9 – Distribuição dos valores de folato sérico (ng/ml) antes e após mudança da prescrição de 44 crianças em uso de (AF) profilático. (A; B) crianças em uso de AF 5mg, 1 comprimido, diário que tiveram prescrições ajustadas para AF 5mg, 1 comprimido, 3 vezes na semana; (C; D) crianças em uso de AF 5mg, ½ comprimido, diário que tiveram prescrições ajustadas para AF 5mg, 3 vezes na semana; (E; F) crianças em uso de AF 0,2mg/ml, 20 gotas por dia que tiveram prescrições ajustadas para AF 0,2mg/ml, 40 gotas por dia. Considerou-se significativo se $p < 0,05$ – teste de Wilcoxon.

Verificou-se, no estudo, crianças com níveis séricos de folato três vezes superior ao limite máximo recomendado. Valores aumentados de folato sérico foram igualmente encontrados por Azzam; Attala (2019), em estudo conduzido na Arábia Saudita, de mudança de prescrição de ácido fólico, em crianças com Doença Falciforme, suplementadas regularmente. Nesse estudo, níveis séricos de folato estiveram aumentados em 93,2% das crianças, permanecendo elevados em 42,5%, mesmo após ajuste da prescrição para 1mg/dia. Os autores observaram crianças com quase o dobro dos valores de referência preconizados para folato sérico.

Níveis séricos elevados de ácido fólico tem sido objeto de estudos científicos, que têm demonstrado evidências que sua ingestão excessiva é patogênica, influenciando dentre outras situações, na progressão de lesões pré-cancerosas existentes e não diagnosticadas, além da possibilidade de mascaramento do diagnóstico de anemia por deficiência de vitamina B12 (DIXIT et al 2017; MUDRYJ et al., 2016; PANIZ, 2015; BASSOLI, 2009; ULRICH; POTTER, 2006).

Aumentos consideráveis das concentrações de folato na célula, através da ingestão de doses relativamente altas de ácido fólico a longo prazo, são associados a possibilidade de inibição das enzimas dependentes de folato, e influenciar no funcionamento normal do ciclo do folato. Excesso de ácido fólico pode interferir, ainda, no metabolismo, transporte celular e funções regulatórias dos folatos naturais, por competir com as formas reduzidas, pela ligação a enzimas, proteínas transportadoras e proteínas de ligação, a exemplo do que ocorre no plexo coroide cerebral, com o transporte de folato para o cérebro. Elevadas concentrações de UMFA, acabam por competir pela ligação a receptores de folato, inibindo o transporte da forma metil-THF para o cérebro (PANIZ, 2015; SMITH; KIM; REFSUM, 2008).

Estudos apontam para uma relação entre elevado folato sérico e mascaramento de diagnóstico de anemia por deficiência de vitamina B12, levando ao agravamento de danos neurológicos (MORRIS et al., 2005). Recente artigo de revisão relatou aumento, em cerca de 4 vezes, do risco de anemia e problemas cognitivos, em idosos, com folato sérico elevado e vitamina B12 insuficiente, em comparação àqueles com folato sérico e vitamina B12 normais (SELHUB; ROSENBERG, 2016). Tais achados levantam a preocupação sobre os possíveis desfechos clínicos adversos em idosos quando da ingestão excessiva de ácido fólico (MUDRYJ et al., 2016; MORRIS et al., 2005).

Elevados níveis de folato também foram associados a maiores riscos de resistência à insulina (HOMA-IR) em crianças cujas mães durante a gravidez apresentavam deficiência de vitamina B12, e alto folato, em *Pune Maternal Nutrition Study* (YAJNIK et al., 2008).

Relação inversa entre presença de UMFA no plasma e citotoxicidade de células *natural killer* (NK) foram observados por Troen et al. (2006). Nesse estudo foram constatados redução de citotoxicidade NK em mulheres saudáveis na pós-menopausa que consumiram dieta rica em folato e suplementos de ácido fólico, em comparação às que consumiram dieta pobre em folato e nenhum suplemento. As células NK são importantes componentes da resposta imune inata, representando a primeira linha de defesa na imunidade antitumoral, sendo igualmente importantes no combate às infecções virais (DUARTE, 2016; BORTONCELLO; ALMEIDA; PERES, 2013).

Impactos sobre mudanças epigenéticas nos filhos de gestantes suplementadas com ácido fólico ao final da década de 1960 foram avaliados em Ensaio de Suplementação com Ácido Fólico de Aberdeen (FAST). Nesse estudo, foi observado que o uso de suplemento de ácido fólico materno está associado a mudanças na metilação do DNA da prole, que persistem por muitos anos após a exposição *in utero*. Tais alterações de metilação ocorreram em genes implicados no desenvolvimento embrionário, resposta imune e proliferação celular (RICHMOND et al., 2018).

Muito tem-se discutido sobre os efeitos da suplementação com o ácido fólico sobre a modulação da carcinogênese. Nesse contexto são levantados os efeitos paradoxais do ácido fólico: com a ação de reduzir a incidência de câncer devido ao papel das coenzimas do folato na biossíntese de purina e timidilato, e assim, aumento do *pool* de nucleotídeos para reparo do DNA antes do início e promoção precoce do câncer; e, por outro lado, o AF pode contribuir para o aumento da incidência de câncer, pois a oferta aumentada de nucleotídeos, necessário para replicar células mutadas, poderia estimular a formação de focos ocultos do câncer (BAGGOTT; OSTER; TANURA, 2012; BASSOLI, 2009; KIM, 2006).

Dose e momento de intervenção têm sido considerados críticos na avaliação do duplo papel do ácido fólico na carcinogênese (KIM, 2006; KIM, 2004, BASSOLI, 2009). Song et al (2000), utilizando modelos murinos para avaliação do desenvolvimento e progressão do câncer colorretal, determinaram que a suplementação de folato exerce papel protetor na tumorigênese colorretal e intestinal,

quando da intervenção anterior ao estabelecimento de focos neoplásicos; tendo efeito oposto, quando o folato dietético é iniciado após lesões pré-neoplásicas.

Essas preocupações podem se aplicar ao grupo de crianças estudadas dado que a grande maioria delas se encontrava com níveis de ácido fólico séricos acima dos valores recomendados. Efeitos desse excesso a médio e longo prazo nestas crianças ainda são desconhecidos. De antemão, os resultados preliminares sugerem que a posologia deve ser reduzida ainda mais, não sendo possível descartar a não necessidade de suplementação na maioria das crianças. Essa resposta somente poderá ser obtida por meio de um estudo de intervenção, um Ensaio Clínico Randomizado, cego, placebo controlado.

Em relação à hemoglobinopatia, o ajuste da prescrição não influenciou para alterações significativas nos níveis de AF, com a redução não significativa, estatisticamente, dos níveis medianos (p25-p75) de folato sérico de 40 (26,7-50,2) para 31,7 (27,8-43,7) ng/ml ($p=0,474$) nas crianças com anemia falciforme, e de 43,5 (30,3-59,4) para 31,7 (28,0-46,0) ng/ml ($p=0,184$) nas com hemoglobinopatia SC.

5.3 Parâmetros hematimétricos pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico

Quanto aos parâmetros hematimétricos, não foram observadas diferenças significativas em função do ajuste da prescrição de ácido fólico. As crianças em uso de AF solução oral gotas 200µg/dia, que tiveram suas prescrições atualizadas para 400µg/dia, tiveram aumento considerável nos níveis medianos (p25-p75) de reticulócitos (8,0%[4,3-10,9] para 8,4% [6,1-14,8]), após ajuste da prescrição ($p=0,039$), no entanto sem relevância clínica, visto ausência de alterações para os níveis de hemoglobina, sugerindo o não agravamento da anemia. Nenhum dos pacientes estava em regime de hipertransfusão e somente um deles (1/13), iniciou uso da hidroxiureia no período após ajuste de prescrição do ácido fólico (Tabela 5).

Tabela 5 – Parâmetros analíticos do Eritrograma em função do ajuste das prescrições das 50 crianças estudadas.

Parâmetros Analíticos do Eritrograma	Ajuste do Protocolo de Prescrição de Ácido Fólico											
	Crianças monitoradas (n=50)			AF 5mg, 1x/dia → AF 5mg, 3x/sem (n=20)			AF 2,5mg, 1x/dia → AF 5mg, 3x/sem (n=11)			AF 0,2mg, 1x/dia → AF 0,4mg, 1x/dia (n=13)		
	mediana	p25	p75	mediana	p25	p75	mediana	p25	p75	mediana	p25	p75
Hb (g/dl) ^a	8,9	7,9	10,8	9,9	8,5	10,9	10,0	7,8	10,8	8,2	7,4	9,5
Hb (g/dl) ^b	9,4	7,8	10,8	9,7	8,5	11,2	9,9	8,4	10,8	8,0	7,3	9,4
Valor de p*		0,152			0,575			0,449			0,529	
Ht (%) ^a	28,1	24,7	33,1	30,7	25,3	33,5	31,3	25,5	34,0	26,0	23,3	28,9
Ht (%) ^b	29,0	24,0	34,0	29,8	25,7	34,7	31,4	26,1	33,9	24,0	22,7	29,4
Valor de p*		0,588			0,910			0,858			0,133	
VCM (fl) ^a	88,2	81,0	94,0	88,3	80,0	94,5	87,0	85,0	93,0	90,0	85,0	95,0
VCM (fl) ^b	88,0	80,0	93,0	88,0	80,0	92,0	88,0	83,0	93,0	88,0	86,0	94,0
Valor de p*		0,694			0,202			0,684			0,777	
HCM (pg) ^a	28,5	26,1	31,2	28,5	25,9	30,7	28,7	26,3	30,3	28,4	26,1	31,2
HCM (pg) ^b	28,3	25,6	31,0	27,9	25,5	30,7	28,3	25,9	30,9	28,5	26,9	31,0
Valor de p*		0,080			0,062			0,142			0,650	
CHCM (g/dl) ^a	32,3	31,7	32,8	32,4	32,0	32,7	32,3	31,2	32,3	31,4	31,0	32,0
CHCM (g/dl) ^b	32,0	31,5	32,7	32,4	31,7	33,0	31,8	31,1	32,3	32,2	31,8	32,9
Valor de p*		0,163			0,563			0,168			0,249	
RDW (%) ^a	19,5	18	21,7	19,4	18,1	21,4	19,1	18,0	20,8	19,4	17,5	21,9
RDW (%) ^b	19,2	17,2	22,1	19,5	17,0	22,2	19,1	18,2	22,1	18,7	16,9	22,1
Valor de p*		0,553			0,794			0,449			0,780	
Reticulócitos (%) ^a	5,9	3,4	11,2	4,4	2,3	11,8	5,4	3,5	10,6	8,0	4,3	10,9
Reticulócitos (%) ^b	7,5	3,5	11,8	5,2	3,4	10,5	6,7	3,2	10,5	8,4	6,1	14,8
Valor de p*		0,003			0,095			0,229			0,039	

AF: Ácido Fólico; Hb: Hemoglobina; Ht: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: *Red Cell Distribution Width*.

^a Parâmetro analítico antes do ajuste do Protocolo de Prescrição do ácido fólico.

^b Parâmetro analítico após ajuste do Protocolo de Prescrição do ácido fólico.

* Considerou-se significativo se $p < 0,05$ – teste não paramétrico de Wilcoxon. *Fonte: construída pelo autor.*

Nova mensuração e avaliação dos níveis séricos de folato e parâmetros hematimétricos foram realizados 3 a 4 meses após ajuste da prescrição. Esse período é considerado como suficiente para atingir o estágio de equilíbrio das concentrações séricas e plasmáticas do folato, em resposta à variação da ingestão, definido como uma média de 12 a 14 semanas nos estudos de Quinlivan; Gregory (2007) e Alpers (2016).

Assim, os resultados obtidos para os parâmetros hematimétricos já refletem as novas posologias prescritas, indicando uma estabilidade nestes parâmetros após os ajustes.

5.4 Adesão terapêutica pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico

A adesão terapêutica ao ácido fólico foi “máxima”, ou seja, pacientes “aderentes”, em 36,8% e 39,5% das trinta e oito crianças acompanhadas antes do ajuste da prescrição, permanecendo a mesma proporção após a mudança, segundo TMG e BMQ, respectivamente (Tabela 6).

A forma farmacêutica antes ($p=0,534$) e após ($p=0,259$) ajuste da prescrição para o TMG, bem como para o BMQ, antes ($p=0,259$) e depois ($p=0,692$), respectivamente, não foram associados a maior adesão.

Achados similares foram observados, para antes e depois, segundo o tipo de hemoglobinopatia ($p= 0,101$ e $p=0,532$, respectivamente), tanto para o TMG, quanto para o BMQ ($p=0,310$ e $p=0,957$, respectivamente), conforme descrito na tabela 6. Mesmo sem significância, observou-se que pacientes HbSS registraram mais que o dobro da adesão comparado aos de hemoglobinopatia SC (47,8% vs. 20,0%; $p=0,101$) em momento anterior à alteração da prescrição, segundo análise por TMG (Tabela 6).

Observou-se discreto aumento da adesão, segundo TMG e BMQ, para os pacientes de hemoglobinopatia SC, após ajuste da prescrição. Este apresentou-se como estatisticamente irrelevante ($p=0,157$), e pode ser justificado pelo reduzido tamanho amostral.

Tabela 6 – Adesão ao Ácido Fólico antes e após ajustes das prescrições segundo TMG e BMQ em 38 crianças com Doença Falciforme

ADESÃO TMG							
Variáveis	Antes do ajuste da prescrição			Após ajuste da prescrição			p* A vs D
	N	Aderente n (%)	p*	N	Aderente n (%)	p*	
Total	38	14 (36,8)		38	15 (39,5)		0,706
Forma farmacêutica							
Comprimido	26	9 (34,6)	0,534 ^b	26	9 (34,6)	0,259 ^b	>0,999
Solução Oral	11	5 (45,4)		11	6 (54,6)		0,317
Hemoglobinopatia							
HbSS	23	11 (47,8)	0,101 ^a	23	10 (43,5)	0,532 ^b	0,654
HbSC	15	3 (20,0)		15	5 (33,3)		0,157
ADESÃO BMQ							
Variáveis	Antes do ajuste da prescrição			Após ajuste da prescrição			p* A vs D
	N	Aderente n (%)	p*	N	Aderente n (%)	p*	
Total	38	15 (39,5)		38	15 (39,5)		>0,999
Forma farmacêutica							
Comprimido	26	9 (34,6)	0,259 ^b	26	10 (38,4)	0,692 ^b	0,655
Solução Oral	11	6 (54,5)		11	5 (45,4)		0,564
Hemoglobinopatia							
HbSS	23	11 (47,8)	0,310 ^a	23	9 (39,1)	0,957 ^b	0,317
HbSC	15	4 (26,7)		15	6 (40,0)		0,317

A vs. D: antes *versus* depois; realizado teste de McNemar

* Considerou-se significativo se $p < 0,05$.

^aTeste exato de Fisher. ^bTeste do Qui-quadrado de Pearson.

Fonte: construída pelo autor.

O ajuste da prescrição também não esteve associado a maior ou menor adesão das crianças a farmacoterapia com ácido fólico ($p=0,706$ e $p>0,999$, respectivamente, para o TMG e o BMQ) (Tabela 6).

Os resultados obtidos pelos métodos indiretos, apesar da não interferência nos níveis séricos, demonstram falhas na adesão à terapia com ácido fólico nas crianças com DF estudadas. Problemas relacionados à adesão terapêutica são principalmente observados nos casos de tratamento de doenças crônicas, onde o paciente necessita utilizar o medicamento por um período maior de tempo, podendo inclusive interrompê-lo quando assintomático (STEINER et al., 2013).

Especialmente no público pediátrico, a adesão tem forte influência da crença dos pais/cuidadores sobre a condição de saúde da criança, complexidade do regime terapêutico, resistência infantil, mudanças na rotina, influência do profissional de saúde (ASTON; WILSON; TERRY, 2019; STEINER et al., 2013).

A forma farmacêutica não interferiu nas taxas de adesão ao AF (Tabela 6). Esta observação sugere que a aderência seja mais específica do paciente do que do fármaco, tal como aponta estudos anteriores (AMORIM et al., 2010; LEITE, VASCONCELLOS, 2003). Pacientes com a condição mais grave da doença (SS) apresentaram o dobro da adesão pelo TMG (Tabela 6). A anemia falciforme consiste na forma de apresentação mais grave da doença falciforme, resultando em maior número médio de crises vaso oclusivas e morbimortalidade (CALDAS et. al., 2010). A gravidade da doença ou ausência de sintomas apresentam importante impacto na adesão (STEINER, 2013; COUTINHO; SOUSA, 2011).

A maioria crianças em seguimento apresentou níveis de ácido fólico sérico elevados, ainda que elevada porcentagem de pacientes “não aderentes” à farmacoterapia com AF (Tabelas 4 e 6) fosse obtida pela aferição com os questionários (método indireto). Algumas hipóteses podem ser aventadas para explicar este achado. Primeiramente, a ocorrência dessa condição pode ser explicada pela possibilidade de suplementação a partir de outras fontes não medicamentosas, tal como ingestão de alimentos enriquecidos (farinhas de trigo, milho, arroz). Não foi objetivo deste estudo averiguar questões relacionadas à dieta nutricional, porém pesquisadores apontam elevado consumo de biscoitos, massas, cereais e derivados por crianças nessa faixa etária (ALVES et al., 2019; LEAL et al., 2015; FILHA et al., 2012). Uma segunda explicação consiste no fato de que as doses utilizadas estejam acima das necessidades das crianças, dado que com o diagnóstico precoce obtido pela Triagem Neonatal e os cuidados preventivos estabelecidos, a morbimortalidade

dos eventos clínicos associados a DF tende a ser reduzida (CALDAS et al., 2010; SABARENSE et al., 2016).

Observou-se concordância entre os resultados para avaliação da adesão a partir da aplicação de metodologia indireta com questionários estruturados TMG e BMQ. No entanto, para a combinação de métodos diretos (determinação dos níveis séricos de folato) e indiretos (questionários validados), os achados não foram equivalentes.

Tal como no estudo, alguns autores têm utilizado a combinação de mais um método em paralelo para avaliação da adesão, em vista a conduzir estudos mais robustos, e reduzir vieses e limitações de cada método (OBRELI-NETO et al., 2011; VIRIJENS et al., 2013; BUCHANAN et al., 2012 HAWWA et al., 2009). Steiner *et al.* (2013) apontam que a validade de uma medida da adesão aumenta quando da aplicação de mais de um método, ainda que adotado por somente a minoria das publicações.

Em contrapartida, ainda são questionadas a adequada forma de interpretar os resultados para avaliação da adesão à farmacoterapia advindos da aplicação de diferentes metodologias, e os impactos sobre a sensibilidade e especificidade dessa análise (OBRELI-NETO, 2012).

Alguns estudos apontam para a concordância de achados com a aplicação de diferentes metodologias, enquanto outros indicam diferenças significativas entre os resultados. Obreli-Neto et al. (2011) não encontraram diferença significativa de resultados entre o Teste de Morisky-Green e o registro de retirada de medicamentos em uma população de idosos portadores de diabetes mellitus e hipertensão arterial. Kasper et al. (2017) encontraram correlação baixa a moderada entre os testes de Morisky-Green e Brief Medication Questionnaire, aplicados à pacientes atendidos em Unidade de Saúde da Família.

Para Ben (2011) não há um padrão-ouro para a avaliação da adesão, e assim esta deve considerar os recursos disponíveis nos serviços de saúde, e as estratégias empregadas devem obedecer às normas básicas psicométricas de confiabilidade e validade. Dessa forma, a utilização de uma abordagem multimétodos mostra-se como válida nos estudos e na prática clínica, como forma de estimar o comportamento da adesão a terapia com fármacos.

5.5 Ocorrência de eventos clínicos pré- e pós- mudança de protocolo de prescrição do ácido fólico

Verificou-se, durante o acompanhamento das crianças, predominância das intercorrências clínicas entre as com diagnóstico de anemia falciforme, comparado aos de hemoglobinopatia SC, ainda que com o ajuste da prescrição (Tabela 7). O mesmo cenário foi observado por Silva Filha et al., (2012), em estudo com crianças de 0 a 6 anos, diagnosticadas com Doença Falciforme e acompanhadas por serviço de hematologia especializado. Episódios dolorosos, infecção e crise hemolítica foram as intercorrências clínicas que apresentaram as maiores médias de ocorrência nesse estudo, com registros médios de eventos/criança de 2,9; 2,3; 2,1, respectivamente. Crises algicas e internação por infecção foram os eventos mais frequentes, semelhante ao observado por Caldas et al., (2010) em coorte de crianças com Doença Falciforme atendidas em SRTN.

Para os eventos clínicos constatados nos dois momentos da coleta (antes e após ajuste de prescrição), realizou-se teste estatístico de McNemar, para observação da continuidade do evento clínico nos dois períodos de observação do estudo. Constatou-se continuidade de crise algica em 5/12 pacientes ($p= 0,781$), dactilite em 1/1 paciente ($p=0,317$), internação por infecção em 1/7 pacientes ($p=0,317$), e sequestro esplênico em 1/1 pacientes ($p=\text{não calculável}$). Nos demais casos em que foram identificados eventos clínicos, os pacientes com registros dessas condições não eram os mesmos. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre eventos clínicos antes e após ajuste nas prescrições (Tabela 7).

O ajuste da prescrição de ácido fólico profilático não impactou na ocorrência de eventos clínicos, mantendo, essas manifestações agudas, a mesma proporção de casos antes e após mudança do Protocolo.

Tabela 7 – Eventos clínicos em função do ajuste da prescrição das doses de ácido fólico das 50 crianças com Doença Falciforme, segundo tipo de hemoglobinopatia.

Evento clínico	Antes do ajuste da prescrição N(%)				p	Após ajuste da prescrição N(%)				p ^c A vs D
	Total N(%)	Hemoglobinopatia		Total N(%)		Hemoglobinopatia		p		
		HbSS	HbSC			HbSS	HbSC			
Crises álgicas	12 (24,0)	8 (66,7)	4 (33,3)	1,000 ^a	11 (22,0)	5 (45,4)	6 (54,5)	0,201 ^b	0,781	
Crise hemolítica	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	-	
Síndrome Torácica Aguda	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	2 (4,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	1,000 ^a	-	
Dactilite	1 (2,0)	1 (100)	0 (0,0)	1,000 ^a	2 (4,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	0,519 ^a	0,317	
Priaprismo	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	-	
Internação por infecção	7 (14,0)	6 (85,7)	1 (14,3)	0,229 ^a	4 (8,0)	4 (100,0)	0 (0,0)	0,284 ^a	0,317	
Sequestro esplênico	1 (2,0)	1 (100)	0 (0,0)	1,000 ^a	1 (2,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	1,000 ^a	nc	
Anemia Aplástica Aguda	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	1 (2,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	1,000 ^a	-	
Acidente Vascular Cerebral	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	-	-	

A vs D: antes *versus* depois; realizado com o teste de McNemar.

nc: não calculável.

^aTeste exato de Fisher. ^b Teste do Qui-quadrado de Pearson. ^cTeste de McNemar

Considerou-se significativo se $p < 0,05$.

As limitações do presente estudo incluem o tamanho amostral e a não mensuração do folato eritrocitário, este como melhor indicador da reserva de ácido fólico. Também não foram investigados os efeitos da dieta sobre os níveis de folato. Histórico de falta às consultas e casos de transferência de unidade de atendimento foram fatores que dificultaram o seguimento prospectivo de algumas crianças, contribuindo para ocorrências de perdas. Pontos fortes do nosso estudo foram a exclusão de fatores confundidores, tais como transfusão crônica, e a consideração do uso de hidroxíureia, condições que podem diminuir as taxas de hemólise, e assim, reduzir hipoteticamente as necessidades do folato.

6. CONCLUSÃO

A mudança em Protocolo Clínico de Ácido Fólico em Crianças com Doença Falciforme no SRTN da Bahia impactou para a redução dos níveis séricos de folato, no entanto sem alterações no percentual de indivíduos com folato elevado, ou seja, acima dos valores de referência preconizados. Esse achado foi ainda mais significativo para as crianças em uso de ácido fólico 5mg, diários, que tiveram suas prescrições ajustadas para 5mg, 3x/semana.

Por outro lado, a mudança da prescrição não esteve associada à piora no padrão de ocorrência de eventos clínicos e/ou impactos, relevantes, nos parâmetros hematimétricos e na adesão.

A maioria das crianças acompanhadas durante o período do estudo mostraram-se clinicamente estáveis para a Doença Falciforme. O que mostra a evolução no acompanhamento dessa doença pelos Serviços de Referência em Triagem Neonatal, com progressiva melhoria na cobertura e prognóstico dos pacientes.

Observou-se contraste entre a adesão referida pelos questionários e dosagem sérica de ácido fólico. Ações com foco em educação em saúde e reforço da necessidade do uso racional do medicamento são essenciais junto aos cuidadores. Monitoramento dos níveis séricos de ácido fólico, através de exames laboratoriais e observação da dieta, são necessários, visto a carência de informações quanto aos impactos clínicos futuros relacionados ao seu uso contínuo, especialmente no público pediátrico.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Praticamente todas as crianças em seguimento tiveram níveis de ácido fólico elevados, ainda que com a mudança do Protocolo de prescrição, sugerindo a necessidade de reavaliação do esquema posológico desse medicamento, de forma a adequá-lo à condição clínica das mesmas, considerando a necessidade de suplementação; impactos futuros a sua saúde; e fatores relacionados à custo-efetividade.

Desta forma, este estudo, pioneiro no Brasil, em nosso conhecimento, fomenta uma importante discussão acerca da terapia profilática com o uso de ácido fólico para

crianças com doença falciforme, no que diz respeito a sua necessidade e a adequada posologia a ser empregada.

Novos estudos serão necessários para responder a estas perguntas, especialmente um ensaio clínico randomizado, placebo controlado, cego comparando reposição em doses mais baixas (200 a 400 mcg/dia) à não reposição.

REFERÊNCIAS

- ADRIANO, L.A. *et al.* Adesão ao tratamento farmacológico em pacientes com artrite idiopática juvenil por meio de questionários. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 23-29, 2017.
- ALABURDA, J.; SHUNDO, L. Ácido fólico e fortificação de alimentos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.2, p.95-102, 2007.
- ALFAWAZ, T. *et al.* Severity of Salmonella infection among sickle cell diseases pediatric patients: Description of the infection pattern. **International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine**, [s. l.], v.6, p.115-117, 2019.
- AL-HASSANY, L. *et al.* Assessing methods of measuring medication adherence in chronically ill children—a narrative review. **Patient Preference and Adherence**, [s. l.], v.13, p.1175-1189, 2019.
- ALPERS, D.H. Absorption and blood/cellular transport of folate and cobalamin: pharmacokinetic and physiological considerations. **Biochimie**, v.126, p. 52–56, 2016.
- ALVES, M.A. *et al.* Padrões alimentares de adolescentes brasileiros por regiões geográficas: análise do Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes (ERICA). **Cad Saúde Pública.**, [s. l.], v.35, n.6, p.1-15, 2019.
- AMORIM, T. *et al.* Avaliação do Programa de Triagem Neonatal da Bahia entre 2007 e 2009. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v.80, n. 3, p. 10-13, ago./out. 2010.
- ARONSON, J.K. Compliance, concordance, adherence. **Br J Clin Pharmacol.**, [s. l.], v.63, n.4, p.383-384, 2007.
- ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR. **Manual de Práticas do Programa de Triagem Neonatal da Bahia**.2. ed. Salvador, 2010.
- ASSOCIAÇÃO DE PAIS E AMIGOS DOS EXCEPCIONAIS DE SALVADOR. **Teste do Pezinho. 2019**. Disponível em: <http://www.apaesalvador.org.br/teste-do-pezinho/> Acesso em: 16 nov.2019.
- ASTON, J.; WILSON, K.A.; TERRY, D.R.P. The treatment-related experiences of parents, children and young people with regular prescribed medication. **International Journal of Clinical Pharmacy**, [s. l.], v.41, p.113–121, 2019.
- AZEVÊDO, E.S. Comentários sobre a descoberta do mecanismo de herança da anemia falciforme. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v.80, n.3, p. 3-4, ago./out. 2010.
- AZZAM, M.; ATTALA, S. Serum Folate Levels in Patients with Chronic Hemolytic Anemia on Regular Folic Acid Supplementation Before and After Dose Modification. **Indian Pediatrics**, [s. l.], v.56, p.845-848, 2019.

BADAWY, S.M. *et al.* Barriers to hydroxyurea adherence and health-related quality of life in adolescents and young adults with sickle cell disease. **European Journal of Haematology**, [s. l.], v.98, p. 608-614, 2017.

BAGGOTT, J.E, OSTER, R.A, TANURA, T. Meta-analysis of cancer risk in folic acid supplementation trials. **Cancer Epidemiol.**, [s. l.], v.36, n.1, 2012; p.78-81, 2012.

BALUZ, K.; CARMO, M.G.T.; ROSAS, G. O papel do ácido fólico na prevenção e na terapêutica oncológica: revisão. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.48, n.4, p. 597-607, 2002.

BASSOLI, Bruna Kempfer. **Ácido Fólico: efeitos paradoxais na promoção da hepatocarcinogênese em ratos**. 2009. 158F. Tese (Doutorado em Nutrição Experimental) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009.

BECKMAN COULTER INC. **Access® Immunoassay Systems** – Folate. 2005. Disponível em: <http://www.biosystemsne.com.br/files/product/4b3390f9ec51a.511a14208.pdf>. Acesso em: 09 jun.2019

BEN, Ângela Jornada. **Confiabilidade e Análise de Desempenho de Dois Questionários de Avaliação da Adesão ao Tratamento Anti-hipertensivo: Teste de Morisky-Green e Brief Medication Questionnaire**. 2011. 106F. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2011.

BEN, A.J. *et al.* Teste de Morisky-Green e Brief Medication Questionnaire para avaliar a adesão a medicamentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.46, n.2, p. 279-289, 2012.

BILGER, M. *et al.* Using Adherence-Contingent Rebates on Chronic Disease Treatment Costs to Promote Medication Adherence: Results from a Randomized Controlled Trial. **Applied Health Economics and Health Policy**. jul.2019. doi: 10.1007/s40258-019-00497-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40258-019-00497-0>. Acesso em: 30 set. 2019.

BORTONCELLO, B.P.; ALMEIDA, F.B.; PERES, A. Células *Natural Killer* e seu potencial na imunoterapia contra o câncer. **Ciência em Movimento**, [s. l.], v.16, n.30, p.17-25, 2013.

BRAGA, J.A.P. Medidas gerais no tratamento das doenças falciformes. **Rev.Bras.Hematol.Hemoter.**, v.29, n.3, p.233-238, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes**. Brasília, DF, 2002. 142p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº344, de 13 de dezembro de 2002**. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_344_2002_COMP.pdf/b4d87885-dcb9-4fe3-870d-db57921cf73f. Acesso em: 14 dez.2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº150, de 13 de abril de 2017. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília-DF, nº 73, p.37, 17 abr. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 822, de 06 de junho de 2001**. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822_06_06_2001.html. Acesso em: 04 dez. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Eventos Agudos em Doença Falciforme**. 2009. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_eventos_agudos_doenca_falciforme.pdf. Acesso em: 05 out.2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doença Falciforme: conhecer para cuidar**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2015. 40p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Triagem Neonatal Biológica: Manual Técnico**. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática, 2016. 83p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Triagem Neonatal – Doenças Falciformes e outras Hemoglobinopatias**. 2017. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/doencas-falciformes-df-e-outras-hemoglobinopatias>. Acesso em: 19 ago.2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Indicadores da Triagem Neonatal no Brasil**. 2019. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/indicadores-da-triagem-neonatal-no-brasil>. Acesso em: 09 nov.2019.

BRITTO, J.C.; CANÇADO, R.; GUERRA-SHINOHARA, E.M. Concentrations of blood folate in Brazil studies prior to and after fortification of wheat and cornmeal (maize flour) with folic acid: a review. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, [s. l.], v. 36, n.4, p.275-286, 2014.

BROWN, M.T. *et al.* Medication Adherence: Truth and Consequences. *Am J Med Sci.*, [s. l.],v.351, n.4, p. 387-399, 2016.

BUCHANAN, T.S. *et al.* Adherence to Varenicline Among African American Smokers: An Exploratory Analysis Comparing Plasma Concentration, Pill Count, and Self-report. **Nicotine & Tobacco Research**, [s. l.], v.14, n.9, p. 1083–1091, 2012.

BUGNI, V.M. *et al.* Fatores associados à adesão ao tratamento de crianças e adolescentes com doenças reumáticas crônicas. **J Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.88, n.6, p.483-488, 2012.

CALDAS, P. *et al.* Eventos clínicos e fatores associados em uma coorte de crianças com Doença Falciforme. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v.80, n.3, p. 14-19, ago./out. 2010.

CANÇADO, R.D.; JESUS, J.A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.29, n.3, p. 203-206, 2007.

CAVALCANTI, Juliana Manzoni. **Doença, Sangue e Raça: o caso da anemia falciforme no Brasil, 1933-1949**. 2007. 148F. Dissertação (Mestrado em História das Ciências) – Casa de Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, 2007.

CHATURVEDI, S. *et al.* Clustering of end-organ disease and earlier mortality in adults with sickle cell disease: A retrospective-prospective cohort study. **Am J Hematol.**, v.93, p.1153-1160, 2018.

COSTA, F. F.; CONRAN, N.; FERTRIN, K. Y. Anemia Falciforme. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu,2013. Cap 27, p. 205-223.

COUTINHO, F.H.P.; SOUSA, I.M.C. Percepção dos indivíduos com hipertensão arterial sobre sua doença e adesão ao tratamento medicamentoso na estratégia de saúde da família. **Revista Baiana de Saúde Pública**, [s. l.],v.35, n.2, p.397-411, 2011.

DIAS, Ana Luísa de Araújo. **A (Re) Construção Do Caminhar: Itinerário Terapêutico de Pessoas com Doença Falciforme com Histórico de Úlcera de Perna**. 2013. 191F. Dissertação (Mestrado em Saúde Comunitária) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2013.

DI NUZZO, D.V.P.; FONSECA, S.F. Anemia falciforme e infecções. **J Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.80, n.5, p.347-354, 2004.

DIXIT, R. *et al.* Folate supplementation in people with sickle cell disease. **Cochrane Database Syst Ver**, p.1-35, 22 mai.2017.

DOLIN, C.D.; DEIERLEIN, A.L; EVANS, M.I. Folic Acid Supplementation to Prevent Recurrent Neural Tube Defects: 4 Milligrams Is Too Much. **Fetal Diagnosis and Therapy**, v.44, p.161-165, 2018.

DUARTE, M.Q. **Ação das células imunitárias natural killer 2016 contra células tumorais**. 2016. 23F. Monografia (Bacharelado em Medicina) – Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2016.

DUNCAN, T.M.; REED, M.C.; NIJHOUT, H.F. The relationship between intracellular and plasma levels of folate and metabolites in the methionine cycle: A model. **Mol Nutr Food Res**, v.57, n.4, p. 628–636, 2013.

FARMER, K.C. Methods for measuring and monitoring medication regimen adherence in clinical trials and clinical practice. **Clinical Therapeutics**, [s. l.], v.21, n.6, p.1074-1090, 1999.

FEITOZA, J.M.; GOULART, L.S. Aspectos clínicos e assistenciais dos pacientes portadores de Anemia Falciforme em unidades básicas de saúde no centro-oeste do Brasil. **Revista HCPA**, Rio Grande do Sul, v. 32, n.4, p.400-405, 2012

FELIX, A.A.; SOUZA, H.M.; RIBEIRO, S.B.F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. **Rev.Bras.Hematol.Hemoter.**, São Paulo, v.32, n.3, p.203-208, 2010.

FIGUEIREDO, S.V. *et al.* Importância das orientações em saúde para familiares de crianças com doença falciforme. **Rev Bras Enferm** [Internet], v.;71, n.6, p.3150-3158, 2018.

S FILHA, E.O. *et al.* Consumo dos grupos alimentares em crianças usuárias da rede pública de saúde do município de Aracaju, Sergipe. **Rev Paul Pediatr.**, São Paulo, v.30, n.4, p.529-536, 2012.

FREITAS, S.L.F. *et al.* Qualidade de vida em adultos com doença falciforme: revisão integrativa da literatura. **Revista Brasileira de Enfermagem**, [s. l.], v.71, n.1, p.207-217, 2018.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Farmanguinhos ácido fólico**, p.1-8, 2018.

GALIZA NETO, G.C.; PITOMBEIRA, M.S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v.39, n.1, p.51-56, 2003.

GREGORY, J.F.; QUINLIVAN, E.P. Reassessing folic acid consumption patterns in the United States (1999–2004): potential effect on neural tube defects and overexposure to folate. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 6, p. 1773–1779, 2007.

GREGORY, J.F.; QUINLIVAN, E.P. In Vivo Kinetics of Folate Metabolism. **Annu. Rev. Nutr**, v. 22, p.199–220, 2002.

HAWWA, A.F. *et al.* The development of an objective methodology to measure medication adherence to oral thiopurines in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia—an exploratory study. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 65, p. 1105–1112, 2009.

HERRICK, J.B. Peculiar Elongated and Sickle-shaped Red Blood Corpuscles in a Case of Severe Anemia. **Yale Journal of Biology and Medicine**, New Haven, v.74, n.3, p.179-184, 2001. Reprinted from: *Arch. Intern. Med.*, Chicago, v.5, p.517-521, 1910.

HONEIN, M.A. *et al.* Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. **Jama**, [s. l.], v. 285, n. 23, p. 2981-2986, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes: Thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington (District of Columbia): **National Academy Press**; 1998.

ISTILL, Plínio Tadeu. **Adesão ao agente antidiabético oral de pessoas com Diabetes mellitus: uso do *Brief Medication Questionnaire***. 2014. 111F. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2014.

KASPER, M.D. *et al.* Adesão à Terapia Medicamentosa e Qualidade de Vida de Usuários de uma Unidade de Saúde da Família de Novo Hamburgo-RS. **Rev. Bras. Farm. Hosp. Serv. Saúde**, São Paulo, v.8, n.4, p.11-17, 2017.

KIM, Y-I. Folate: a magic bullet or a double edged sword for colorectal cancer prevention? **Gut.**, [s. l.], v.55, p.1387-1389, 2006.

KIM Y-I. Folate, colorectal carcinogenesis, and DNA methylation: lessons from animal studies. **Environ Mol Mutagen**, [s. l.], v.44, n.1, p.10-25, 2004.

KNIGHT-MADDEN, J.; SERJEANT, G.R. Invasive pneumococcal disease in homozygous sickle cell disease: Jamaican experience 1973- 1997. **J Pediatr.**, [s. l.], v.13, p.65-70, 2001.

LAANPERE, M. *et al.* Folate-mediated one-carbon metabolism and its effect on female fertility and pregnancy viability. **Nutrition Reviews**, [s. l.], v.68, n.2, p.99-113, 2010.

LEAL, K.K. *et al.* Qualidade da dieta de pré-escolares de 2 a 5 anos residentes na área urbana da cidade de Pelotas, RS. **Rev Paul Pediatr.**, São Paulo, v.33, n.3, p.310-317, 2015.

LEITE, S.N.; VASCONCELLOS, M.P.C. Adesão à terapêutica medicamentosa: elementos para a discussão de conceitos e pressupostos adotados na literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s. l.], v.8, n.3, p.775-782, 2003.

LIBERATO, E. *et al.* **Fármacos em crianças**. In: BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Formulário Terapêutico Nacional. Brasília, DF, p. 18-25p, 2008.

LIEW, S-C. Folic acid and diseases – supplement it or not? **Rev. Assoc. Med. Bras.**, [s. l.], v.62, n.1, p.90-100, 2016.

LOBO, C.; MARRA, V.N.; SILVA, R.M.G. Crises dolorosas na doença falciforme. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, [s. l.], v.29, n.3, p.247-258, 2007.

LOISELLE, K. *et al.* Systematic and Meta-Analytic Review: Medication Adherence Among Pediatric Patients with Sickle Cell Disease. **Journal of Pediatric Psychology**, [s. l.], v.41, n.4, p.406-418, 2016.

MACHADO, P. *et al.* A contribuição dos polimorfismos humanos do eritrócito na proteção contra a malária. **Revista Pan-Amaz Saúde**, [s. l.], v.1, n.4, p.85-96, 2010.

MACLAUGHLIN, E. J. *et al.* Assessing medication adherence in the elderly: which tools to use in clinical practice? **Drugs Aging**, [s. l.], v.22, n.3, p.231-255, 2005.

MARQUES, L.S.; SOUZA, A.C.A.; PEREIRA, A.R. O viver com a doença falciforme: percepção de adolescentes. **Rev Ter Ocup Univ**, São Paulo, v.26, n.1,109-117, 2015.

MORRIS, M.C. *et al.* Dietary folate and vitamin B12 intake and cognitive decline among community-dwelling older persons. **Arch. Neurol.** [s. l.], v. 62, n.4, p. 641-645, 2005.

MOUSINHO-RIBEIRO, R.C. *et al.* Importância da avaliação da hemoglobina fetal na clínica da anemia falciforme. **Rev.Bras.Hematol.Hemoter.**, [s. l.], v.30, n.2, p.136-141, 2008.

MUDRYJ, A.N. *et al.* Folate intakes from diet supplements may place certain Canadians at risk for folic acid toxicity. **British Journal of Nutrition**, Reino Unido, v.116, p.1236-1245, 2016.

NOGUEIRA, Zeni Drubi. **Perfil Lipídico e Nutricional de Crianças com Doença Falciforme**. 2015. 81F. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2015.

OBRELI-NETO, P.R. *et al.* Effect of a 36-month pharmaceutical care program on pharmacotherapy adherence in elderly diabetic and hypertensive patients. **Int J Clin Pharm**, [s. l.], v.33, n.4, p.642-649, 2011.

OBRELI-NETO, P. R. *et al.* Métodos de avaliação da adesão à farmacoterapia. **Revista Brasileira de Farmácia**, [s. l.], v. 93, n.4, p. 403-410, 2012.

PANIZ, Clóvis. **Efeitos do ácido fólico não metabolizado na metilação global do DNA, na expressão de RNAm dos genes de DHFR, MTHFR, interferon- γ , TNF- α e interleucina-8, e na citotoxicidade das células NK**. 2015. 194F. Tese(Doutorado em Análises Clínicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2015.

PEDROSA, Ana Raquel Realista Coelho dos Santos. **Hemoglobinopatias e Malária: obstáculos com potencial futuro**. 2016. 17F. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) – Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2016.

RAMALHO, A.S.; MAGNA, L.A.; PAIVA-E-SILVA, R.B. A Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n.4, p. 1195-1199, jul./ago.2003.

RICHMOND, R.C. *et al.* The long-term impact of folic acid in pregnancy on offspring DNA methylation: follow-up of the Aberdeen Folic Acid Supplementation Trial (AFASST). **International Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 47, n.3, p.928-937, 2018.

RODRIGUES, D.O.W. *et al.* Diagnóstico histórico da triagem neonatal para doença falciforme. **Rev. APS.**, Juiz de Fora, v.13, n.1, p.34-45, jan./mar./2010.

SABARENSE, A.P. *et al.* Caracterização da mortalidade em crianças com doença falciforme diagnosticada pelo Programa de Triagem Neonatal. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.91, n.3, 2015.

SANTOS, Q. *et al.* Avaliação da segurança de diferentes doses de suplementos de ácido fólico em mulheres do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.47, n.5, p.952-957, 2013.

SANTOS, L.M.P.; PEREIRA, M.Z. Efeito da fortificação com ácido fólico na redução dos efeitos do tubo neural. **Caderno de Saúde Pública**, v. 23, n.1, p.17-24, 2007.

SELHUB, J.; ROSENBERG, I.H. Excessive folic acid intake and relation to adverse health outcome. **Biochimie**, v. 126, p.71-78, 2016.

SMITH, A.D.; KIM, Y.I.; REFSUM, H. Is folic acid good for everyone? **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 87, p.517-533, 2008.

SONATI, M.F.; COSTA, F.F. The genetics of blood disorders: hereditary hemoglobinopathies. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.84, n.4, p. S40-51, 2008.

SOUZA, G.G.O. *et al.* Crise álgica em portadores de doença falciforme. **Rev.Med.Minas Gerais**; Minas Gerais, v.25, n.6, p.23-27, 2015.

SOUZA, J.M. *et al.* Fisiopatologia da Anemia Falciforme. **Revista Transformar**. v. 8, 2016.

STEINER, S.A. *et al.* Adesão ao tratamento de doenças crônicas em pediatria: uma revisão crítica da literatura. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v.23, n.2, p.5-11, 2013.

TAVARES, N.U.L. *et al.* Fatores associados à baixa adesão ao tratamento farmacológico de doenças crônicas no Brasil. **Rev. Saúde Pública.**, [s. l.], v.50, n.2, p. 1-11, 2016.

TEIXEIRA, Rozana dos Santos. **Função endotelial e sua associação com manifestações clínicas e endoteliais em crianças e adolescentes com anemia falciforme**. 2016. 100F. Dissertação (Mestrado em Medicina e Saúde Humana) – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, BA, 2016.

TROEN, A.M. *et al.* Unmetabolized Folic Acid in Plasma is Associated with Reduced Natural Killer Cytotoxicity among Postmenopausal Women. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n.1, p.189-194, 2006.

ULRICH, C.M.; POTTER, J.D. Folate Supplementation: Too Much of a Good Thing? **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Filadélfia, v.15, n.2, p.189-193, 2006.

VAISH, S. *et al.* Synthetic folic acid intakes and status in children living in Ireland exposed to voluntary fortification. **Am J Clin Nutr**, [s. l.], v.103, p.512-518, 2016.

VANNUCHI, E.; MONTEIRO, T.H. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes – Ácido Fólico. *In*: ILSI - BRASIL – International Life Sciences Institute - Brazil, v. 10, p.1-24, 2010.

VAN TUIJN, C.F.J. *et al.* Prospective evaluation of chronic organ damage in adult sickle cell patients: A seven-year follow-up study. **American Journal of Hematology**, v.92, n.10, p.84-90, 2017.

VERISSIMO, M.P.A. Aplasia transitória da célula vermelha na anemia falciforme. **Rev. bras. hematol. hemoter.**, v.29, n.3, 268-270, 2007.

VIRIJENS, B. *et al.* **Successful Projection of the Time Course of Drug Concentration in Plasma During a 1-Year Period From Electronically Compiled Dosing-Time Data Used as Input to Individually Parameterized Pharmacokinetic Models.** *J Clin Pharmacol*, [s. l.], v.45, p. 461-467, 2005.

VISWANATHAN, M. *et al.* Interventions to Improve Adherence to Self-administered Medications for Chronic Diseases in the United States. **Annals of Internal Medicine**, v.157, n.11, p.785-795, 2012.

WARE, R.E. Salmonella infection in sickle cell disease: a clear and present danger. **JPediatr.**, v.130, p.130:350-351, 1997.

WASTNEDGE, E. *et al.* The global burden of sickle cell disease in children under five years of age: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Global Health**, [s. l.], v.8, n.2, p.1-9, 2018.

WALSH, K. E. *et al.* Medication Adherence Among Pediatrics Patients With Sickle Cell Disease: A Systematic Review. **Pediatrics**. v.134, n.6, p. 1174-1183, 2014.

WHO [internet]. **Adherence to long-term therapies: evidence for action.** Section 1. 2003. Disponível em: https://www.who.int/chp/knowledge/publications/adherence_Section1.pdf?ua=1. Acesso em: 10 nov.2019.

YAJNIK, C.S. *et al.* Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. **Diabetologia**, [s. l.], v.51, p. 29-38, 2008.

ZAGO, M.A.; PINTO, A.C.S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. **Revista de Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n.3, p. 207-214, 2007.

APÊNDICE I – TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Estudo: **MUDANÇA EM PROTOCOLO CLÍNICO DE PRESCRIÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM DOENÇA FALCIFORME: EFEITOS NOS NÍVEIS SÉRICOS, ADESÃO TERAPÊUTICA E PARÂMETROS CLÍNICOS E HEMATOLÓGICOS**

Pesquisador Responsável: **MARIA ISABEL SOARES E DRA. MARIA EFIGÊNIA LEITE**

O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) a autorizar a participação de seu filho (a) nesta pesquisa. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

O objetivo desta pesquisa é comparar os níveis séricos de ácido fólico nas crianças que são acompanhadas pelo Serviço de Triagem Neonatal antes e após ajuste da posologia prescrita para esse medicamento, com o objetivo de avaliar os efeitos clínicos, laboratoriais e de adesão, e tem como justificativa contribuir para o uso do ácido fólico nas doses adequadas para o controle da Doença Falciforme e oferecer à sociedade conhecimentos atualizados sobre a doença.

Com o seu consentimento, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: responder aos questionários de adesão (Teste de Morisky-Green e Brief Medication Questionnaire) em dois momentos distintos, antes e após ajuste da posologia (dose) do ácido fólico; permitir acesso ao prontuário de seu filho (a) para coleta de dados epidemiológicos e sociais, resultados laboratoriais do eritrograma (exame de sangue) e evoluções médicas do hematologista (médico que acompanha seu filho (a)).

Toda pesquisa com seres humanos envolve algum tipo de risco, ainda que seja o da quebra de confidencialidade. No nosso estudo, os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são cansaço e comprometimento do tempo do respondedor, que serão minimizados através da realização das perguntas em local reservado e em tempo de espera da consulta, com um tempo estimado de 10-15min. A coleta de sangue será realizada por profissionais especializados da APAE, em dias já previstos/programados no acompanhamento de rotina das crianças. A equipe em saúde é capacitada para resolução de quaisquer intercorrências associadas ao procedimento, tais como dor, hematomas e/ou desmaios, através de: prescrição de analgésicos se persistência da dor, dispensação de compressa de água gelada e/ou pomadas anti-inflamatórias; disponibilidade de suporte por equipe médica e de enfermagem. Para evitar qualquer exposição indevida dos dados de seu filho(a), eles serão identificados pelas iniciais de seus nomes e por número de registro de atendimento, constante em prontuário eletrônico. Os dados armazenados serão protegidos em uma planilha modelo EXCEL, com senha de acesso, de conhecimento apenas da equipe de pesquisa

Esta pesquisa também pode trazer benefícios. Os possíveis benefícios resultantes da participação na pesquisa são adequar as prescrições de ácido fólico de forma a ter um melhor controle da Doença Falciforme, sem comprometer outros parâmetros clínicos e laboratoriais. O estudo trará informações e conhecimentos atualizados sobre a Doença Falciforme, seu manejo pelo uso do ácido fólico, podendo beneficiar, igualmente futuros pacientes.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento durante a pesquisa, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que a criança recebe ou possa vir a receber na instituição.

Rubrica do pesquisador

Página 1 de 2

Rubrica do participante responsável

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos na instituição. Transporte e alimentação são custos previstos no acompanhamento ambulatorial de rotina, não estando relacionados, portanto, à participação na pesquisa, uma vez que essa será desenvolvida nos dias de consulta.

Caso ocorra algum problema ou dano com a criança, resultante da participação na pesquisa; a mesma receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal e garantimos indenização diante de eventuais fatos comprovados.

Solicitamos também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, o nome do seu filho (a) será mantido em sigilo absoluto, bem como em todas as fases da pesquisa.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como é garantido a você o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que você queira saber antes, durante e depois da participação.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Maria Isabel Silva Soares, pelo telefone: (71) 3273-8303 e pelo e-mail misoaresfarmacia@gmail.com ou com a Dra. Maria Efigênia Leite, no mesmo telefone, e e-mail efigenia.leite@apaesalvador.org.br, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/HUPES- COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA; HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS- UFBA. Endereço: Rua Dr. Augusto Viana, S/n - Canela, SALVADOR (BA) - CEP: 4011060; FONE: (71) 3283-8043 / E-MAIL: cep.hupes@gmail.com.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma sua e outra para os pesquisadores.

Declaração de Consentimento

Concordo em participar do estudo intitulado: Efeito da Mudança em Protocolo Clínico de Prescrição de Ácido Fólico em crianças com Doença Falciforme: estudo de coorte prospectiva.

Assinatura do participante ou responsável	Polegar direito	Data: ____/____/____
---	-----------------	----------------------

Eu, Maria Isabel Silva Soares, declaro cumprir as exigências contidas no item IV.3 da 466/ Resolução nº 2012 MS.

Assinatura do investigador	Data: ____/____/____
----------------------------	----------------------

Rubrica do pesquisador

Página 2 de 2

Rubrica do participante responsável

APÊNDICE II – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Estudo: **Mudança Em Protocolo Clínico De Prescrição de Ácido Fólico Em Crianças Com Doença Falciforme: Efeitos nos níveis séricos, adesão terapêutica e parâmetros clínicos e hematológicos**

Pesquisador Responsável: **MARIA ISABEL SOARES E DRA. MARIA EFIGÊNIA LEITE**

Olá garoto ou garota, tudo bem?

Fizemos este documento para que você conheça nossa proposta de uma pesquisa científica que precisa de sua participação. Vamos explicar nesse termo/documento o que você precisa saber sobre ela. Você pode ler sozinho ou pedir a ajuda de seu pai ou mãe ou outro parente ou, ainda, de um pesquisador da nossa equipe. Qualquer dúvida ou pergunta que você tiver é só nos falar, ok?

Você toma todo dia um remédio chamado ácido fólico que serve para evitar que seu sangue fique fraco, com anemia. Nos últimos meses, as médicas mudaram a forma como você toma este remédio para três vezes por semana. Isso aconteceu porque tomar o remédio todos os dias podia deixar seu sangue com ácido fólico muito alto e isso poderia fazer algum mal pra você.

Nós queremos saber o que vai acontecer com a quantidade de ácido fólico no seu sangue com essa mudança, e se tomar o remédio três vezes por semana, ao invés de todos os dias, pode fazer com que sua mãe ou quem te ajuda a tomar o remédio, esqueçam de te dar o remédio.

Você não terá que fazer nada para participar da pesquisa, a não ser nos autorizar a utilizar os resultados dos exames que você faz no seu acompanhamento. Nenhum exame de sangue (furada de injeção) será feito por nós da pesquisa. Somente a furadinha que já faz pra colher os exames que a sua médica pediu. Também não vai ganhar nenhum prêmio pra fazer parte dessa pesquisa.

Nós vamos utilizar as respostas que sua mãe, ou seu pai, ou seu parente que cuida de você der para umas perguntas que faremos a um deles. Também vamos olhar o que a sua médica escreveu no computador sobre sua consulta (prontuário eletrônico). Não se preocupe!! Somente a gente da pesquisa vai saber o que está escrito lá e nunca iremos colocar seu nome em nenhum dos papéis que utilizaremos.

Toda pesquisa com pessoas pode ter algum risco ou perigo. Nós explicamos a seu pai ou a sua mãe ou a seu parente que cuida de você, que responder as nossas perguntas pode atrasar em 10 a 15 minutos sua presença aqui na APAE. Como dissemos, você não será furado(a) por causa da pesquisa. Você já faz isso por causa do seu acompanhamento médico aqui.

No final da pesquisa vamos poder dizer se tomar o remédio ácido fólico três vezes por semana garante que a quantidade de ácido fólico no seu sangue ainda está boa pra deixar ele forte. Também vamos saber se você tomou mesmo o remédio sem esquecer.

Em outro dia, caso você tenha dúvidas ou queira perguntar alguma coisa sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Maria Isabel Silva Soares, pelo telefone: (71) 3273-8303 e pelo e-mail misoaresfarmacia@gmail.com, ou com a Dra. Maria Efigênia Leite, no mesmo telefone, e e-mail efigenia.leite@apaesalvador.org.br, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/HUPES- COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA; HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS- UFBA. Endereço: Rua Dr. Augusto Viana, S/n - Canela, SALVADOR (BA) - CEP: 4011060; FONE: (71) 3283-8043 / E-MAIL: cep.hupes@gmail.com.

Esse Termo é assinado em duas vias (duas folhas), sendo uma sua e outra para os pesquisadores. Caso você não saiba escrever ainda pode deixar seu OK colocando o dedo no lugar indicado (um quadrado) que vai estar atrás dessa folha aqui.

Rubrica do pesquisador

Página 1 de 2

Rubrica do participante responsável

APÊNDICE II – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaração de Assentimento

Eu vou participar da pesquisa científica chamada “Mudança Em Protocolo Clínico De Prescrição De Ácido Fólico Em Crianças Com Doença Falciforme: Efeitos nos níveis séricos, adesão terapêutica e parâmetros clínicos e hematológicos.

<hr/> Assinatura do participante ou responsável	Polegar direito	Data: ____/____/____
---	-----------------	----------------------

Eu, Maria Isabel Silva Soares e/ou Maria Efigênia Leite, declaro (amos) cumprir as exigências contidas no item IV.3 da Resolução nº 466/2012 MS.

<hr/> Assinatura do investigador	Data: ____/____/____
----------------------------------	----------------------

ANEXOS

ANEXO I – QUESTIONÁRIOS PARA AVALIAÇÃO DA ADESÃO À TERAPIA PROFILÁTICA COM ÁCIDO FÓLICO ANTES E APÓS AJUSTE DE PROTOCOLO CLÍNICO

Iniciais nome paciente:	Data preenchimento questionário:	
Nº Registro do paciente:	Nº Prontuário do paciente:	
Grau de parentesco do respondente:	Idade respondente:	
Nível de instrução do respondente:	Nº filhos respondente:	
Cor da pele:	Naturalidade:	Renda Familiar (SM):
Respondente é responsável por administrar o medicamento? SIM () NÃO ()		

TESTE DE MORISKY-GREEN (TMG)

1. Alguma vez, já esqueceu de administrar o ácido fólico ao seu filho? ()
2. Às vezes, sente dificuldade em administrar o ácido fólico ao seu filho no horário indicado pelo hematologista? ()
3. Quando seu filho se sente bem, alguma vez já deixou de dar a ele o ácido fólico? ()
4. Já deixou de dar o ácido fólico ao seu filho por ele se sentir mal ao tomá-lo? ()

Legenda - Interpretação do questionário:

Respostas possíveis: SIM (S), NÃO (N)

Pontuações possíveis: Cada resposta sim = 0 e não = 1

- Baixa adesão: 0 a 1 ponto
- Moderada adesão: 2 a 3 pontos
- Aderente: 4 pontos

VERSÃO EM PORTUGUÊS DO INSTRUMENTO BRIEF MEDICATION QUESTIONNAIRE (BMQ)

1) Quais medicações seu filho usou na ÚLTIMA SEMANA?

Entrevistador: Para cada medicamento anote as respostas no quadro abaixo:

Se o entrevistado não souber responder ou se recusar a responder coloque NR.

NA ÚLTIMA SEMANA					
a) Nome da medicação e dosagem	b) Quantos dias tomou esse remédio	c) Quantas vezes por dia tomou esse remédio	d) Quantos comprimidos tomou em cada vez	e) Quantas vezes esqueceu de tomar algum medicamento	f) Como essa medicação funciona para ele 1=Funciona Bem 2=Funciona Regular 3=Não funciona bem

Algum motivo levou à interrupção da terapia medicamentosa? Se sim, especificar:

2) Alguma das suas medicações causa problema em seu filho? (0) Não (1) Sim

a) Se o entrevistado respondeu SIM, por favor, liste os nomes das medicações e quanto elas o incomodam

Quanto essa medicação incomodou seu filho?					
Medicação	Muito	Um pouco	Muito pouco	Nunca	De que forma seu filho é incomodado por ela?

3) Agora, citarei uma lista de problemas que as pessoas, às vezes, têm com seus medicamentos.

Quanto é difícil para você e seu filho?	Muito difícil	Um pouco difícil	Não muito difícil	Comentário (Qual medicamento)
Abrir ou fechar a embalagem				
Ler o que está escrito na embalagem				
Lembrar de administrar o medicamento				
Conseguir o medicamento				
Tomar tantos comprimidos ao mesmo tempo				

Descrever forma de administração do ácido fólico, detalhar possíveis dificuldades e aceitação pela criança:

Escore de problemas encontrados pelo BMQ

DR – REGIME (questões 1a – 1e)	1=sim	0 = não
DR1. O R falhou em listar (espontaneamente) os medicamentos prescritos no relato inicial?	1	0
DR2. O R interrompeu a terapia devido ao atraso na dispensação da medicação ou outro motivo?	1	0
DR3. O R relatou alguma falha de dias ou de doses?	1	0
DR4. O R reduziu ou omitiu doses de algum medicamento?	1	0
DR5. O R administrou alguma dose extra ou medicação a mais do que o prescrito?	1	0
DR6. O R respondeu que “não sabia” a alguma das perguntas?	1	0
DR7. O R se recusou a responder a alguma das questões?	1	0
NOTA: ESCORE ≥ 1 INDICA POTENCIAL NÃO ADESÃO soma:		<i>Tregime</i>
CRENÇAS		
DC1. O R relatou “não funciona bem” ou “não sei” na resposta 1g?	1	0
DC1. O R nomeou as medicações que incomodam seu filho	1	0
NOTA: ESCORE ≥ 1 INDICA RASTREAMENTO POSITIVO PARA BARREIRAS DE CRENÇAS soma:		<i>Tcrenças</i>
RECORDAÇÃO		
DRE1. O R relata esquema de múltiplas doses de medicamentos (2 ou mais vezes/dia)?	1	0
DRE2. O R relata “muita dificuldade” ou “alguma dificuldade” em responder a 3c?	1	0
NOTA: ESCORE ≥ 1 INDICA ESCORE POSITIVO PARA BARREIRAS DE RECORDAÇÃO soma:		<i>Trecord</i>

R = respondente NR = não respondente

ANEXO II – FORMULÁRIO DE ACOMPANHAMENTO CLÍNICO-LABORATORIAL DE PACIENTES”

DADOS PESSOAIS:				
Nº Registro Paciente:		Iniciais Nome Paciente:		Idade:
Sexo:	Cor da Pele:	Naturalidade:	Idade à 1ª consulta ao SRTN:	
Escolaridade materna:			Renda Familiar (salários mínimos):	
DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS ANTES DO AJUSTE DA PRESCRIÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO:				
Posologia Atual:			Tempo do Esquema Terapêutico:	
Níveis Séricos de Ácido Fólico:			Data do Exame:	
Tipo de Hemoglobinopatia: SS () SC ()				
DADOS ERITROGRAMA:				
Hemoglobina (g/dl):		Hematócrito (%):	VCM (fl):	
HCM (pg):		CHCM (g/dl):	RDW (%):	
Contagem de Reticulócitos (%):				
DESCRIÇÃO DE EVENTOS CLÍNICOS:				
Crises Álgicas ()		Dactilite ()	Sequestro Esplênico (SE) ()	
Crise Hemolítica ()		Priaprismo ()	Anemia Aplásica Aguda (AAA)	
Síndrome Torácica Aguda (STA) ()		Internação por infecção ()	Acidente Vascular Cerebral (AVC) ()	
DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS APÓS AJUSTE DA PRESCRIÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO:				
Posologia Atual:			Tempo do Esquema Terapêutico:	
Níveis Séricos de Ácido Fólico:			Data do Exame:	
Tipo de Hemoglobinopatia: SS () SC ()				
DADOS ERITROGRAMA:				
Hemoglobina (g/dl):		Hematócrito (%):	VCM (fl):	
HCM (pg):		CHCM (g/dl):	RDW (%):	
Contagem de Reticulócitos (%):				
DESCRIÇÃO DE EVENTOS CLÍNICOS:				
Crises Álgicas ()		Dactilite ()	Sequestro Esplênico (SE) ()	
Crise Hemolítica ()		Priaprismo ()	Anemia Aplásica Aguda (AAA)	
Síndrome Torácica Aguda (STA) ()		Internação por infecção ()	Acidente Vascular Cerebral (AVC) ()	

ANEXO III – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO

Ciência & Saúde Coletiva

Ciência & Saúde Coletiva**ADESÃO AO USO DO ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM
DOENÇA FALCIFORME DIAGNOSTICADAS NA TRIAGEM
NEONATAL: FATORES ASSOCIADOS**

Journal:	<i>Ciência & Saúde Coletiva</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Free Theme Article
Keywords:	Anemia Falciforme, Doença da Hemoglobina SC, Ácido Fólico, Adesão ao medicamento

SCHOLARONE™
Manuscripts

ANEXO IV–ARTIGO CIENTÍFICO

ADESÃO AO USO DO ÁCIDO FÓLICO EM CRIANÇAS COM DOENÇA FALCIFORME DIAGNOSTICADAS NA TRIAGEM NEONATAL: FATORES ASSOCIADOS**ADHERENCE TO FOLIC ACID SUPPLEMENTATION AMONG CHILDREN WITH SICKLE CELL DISEASE DIAGNOSED THROUGH THE NEWBORN SCREENING PROGRAM: ASSOCIATED FACTORS****RESUMO**

Objetivo: analisar a adesão à farmacoterapia com ácido fólico em crianças com doença falciforme, diagnosticadas na triagem neonatal. **Método:** Estudo transversal, com 47 crianças de 2 a 11 anos, com diagnóstico de doença falciforme SS ou SC. Níveis séricos de ácido fólico foram dosados, e o Teste de Morisky-Green (TMG) e o Brief Medication Questionnaire (BMQ) foram aplicados aos cuidadores. Considerou-se “aderentes” aqueles com adesão máxima. **Resultados:** Verificaram--se 34,0% e 40,4% de “aderentes”, respectivamente, para o TMG e o BMQ. Ácido fólico sérico estava elevado em 78,7% dos participantes, e nenhum deles apresentou deficiência. Forma farmacêutica ($p=0,719$), faixa etária ($p=0,875$), renda ($p=0,944$) e escolaridade do cuidador ($p=0,070$) não foram associados a maior adesão. Pacientes com anemia falciforme registraram mais que o quádruplo da adesão comparado aos de hemoglobinopatia SC (48,3% vs. 11,1%; $p=0,012$). Dificuldade de acesso ao medicamento e interrupção/atraso no tratamento foram os fatores mais citados para a não adesão. **Conclusões:** Observou-se contraste entre a adesão referida pelos questionários e os níveis séricos elevados de ácido fólico sérico. Monitoramento dos níveis de AF são necessários, considerando possíveis impactos à saúde associados ao seu uso contínuo.

Palavras-chave: Anemia Falciforme; Doença da Hemoglobina SC; Ácido Fólico; Adesão ao medicamento.

ABSTRACT

Objective: to analyze medication adherence to folic acid in children with sickle cell disease diagnosed by neonatal screening. **Method:** Sectional study with 47 children between 2 and 11 years old with sickle cell anemia or hemoglobin SC disease. Seric folic acid was measured and Morisky-Green Test (MGT) and Brief Medication Questionnaire (BMQ) were applied to

caregivers. Maximum adherence by MGT or BMQ was considered adherent. **Results:** According by MGT and BMQ, medication adherence was observed in 34.0% and 40.4%, respectively. Serum folic acid was high in 78.7% of the children, and none of them presented deficiency. Pharmaceutical form ($p=0.719$), age group ($p=0.875$), income ($p=0.944$) and education of the caregiver ($p=0.070$) were not associated to higher adherence. Patients with sickle cell anemia registered four-fold more adherence compared to hemoglobin SC disease (48.3% vs. 11.1%; $p=0.012$). Difficulty of access to the medication and interruption/lagging of treatment were the most cited factors for non-adherence. **Conclusions:** There was a contrast between the adherence reported by the questionnaires and the high serum folic acid levels. Folic acid levels monitoring is necessary, considering possible health impacts associated with persistent elevated folate seric levels.

Keywords: Anemia, Sickle Cell; Hemoglobin SC Disease; Folic Acid; Medication Adherence.

INTRODUÇÃO

Doença Falciforme (DF) compreende um grupo de alterações genéticas caracterizadas pela mutação no gene que codifica a cadeia β da hemoglobina (β globina), levando à produção de uma hemoglobina estruturalmente anormal denominada hemoglobina S (HbS). Genotipicamente, essa hemoglobinopatia pode ocorrer com a presença da mutação para HbS em homozigose, denominada anemia falciforme (SS), ou associada, em heterozigose, a uma mutação responsável pela ocorrência de outra hemoglobina variante anômala (SC, SD), ou ainda em interação com mutações causadoras de talassemias ($S\alpha$, $S\beta$ o , $S\beta+$).1-3 .

A DF representa uma das doenças hematológicas hereditárias de mais elevada frequência mundial, configurando-se como importante problema de saúde pública no Brasil, em função de suas manifestações clínicas e morbimortalidade.4-6 Sua incidência média, no país, é de 1 caso a cada 1000 nascidos vivos, sendo a Bahia o estado de maior ocorrência da doença, com estimativas de um afetado a cada 650 casos.5,7 Desde 2001, por meio da portaria n o 822/01, as hemoglobinopatias foram incluídas no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Essa ação de saúde pública, por meio da assistência multidisciplinar, pôde promover o tratamento precoce com conseqüente aumento da sobrevivência dos afetados e melhoria da sua qualidade de vida. 8,9

A abordagem terapêutica multidisciplinar envolve, dentre outros, cuidados médicos, farmacêuticos, nutricionais, psicoterápicos, de enfermagem e de odontologia. 1 O tratamento farmacológico primário consiste na prescrição de medicamentos para o controle da dor e/ou

febre, antibioticoprofilaxia (normalmente realizada com penicilina), imunização (pneumococos, meningococos, influenza, varicela e hepatite A) e terapia profilática com ácido fólico (AF).^{10,11} A suplementação de AF nas anemias hemolíticas justifica-se pelo aumento da eritropoiese, considerando, nessas condições, a reduzida meia vida dos eritrócitos.^{11,12}

Por tratar-se de uma condição crônica, a maioria dos afetados pela DF, especialmente na infância, necessitam fazer uso de ao menos um medicamento, por um longo período.^{13,14} Tal aspecto, somado a outros fatores, favorecem diretamente a má adesão ao tratamento preconizado.¹⁴ Adesão é um termo que define a extensão na qual o comportamento de uma pessoa – usar medicamentos, seguir uma dieta e/ou executar mudanças no estilo de vida, corresponde às recomendações acordadas com o profissional de saúde.¹⁵

A adesão à farmacoterapia pode ser avaliada a partir de métodos objetivos ou subjetivos, diretos ou indiretos, tais como detecção do fármaco ou metabólito em fluidos biológicos (dosagem sérica ou urinária); contagem das unidades de medicamentos, diários do paciente, registro de dispensação pela farmácia, registros em prontuários, dispositivos eletrônicos para monitoramento de tomadas do medicamento (Medication Event Monitoring System – MEMS), e questionários ou entrevistas estruturadas.^{16,17}

A baixa adesão impacta negativamente no curso e sucesso do tratamento, contribuindo para redução da eficácia dos medicamentos, complicações ou agravamentos das enfermidades, e assim, aumento dos custos de assistência à saúde.^{13, 14} Estudos realizados em crianças brasileiras que tenham avaliado adesão à farmacoterapia entre o público infantil diagnosticado com DF são escassos.¹⁸ Em especial, trabalhos que avaliaram a adesão ao ácido fólico e com avaliação dos níveis séricos deste analito não foram encontrados no Brasil, e são raros ao nível mundial.^{19, 20}

Diante disso, este estudo objetivou analisar a adesão ao tratamento profilático com ácido fólico, a partir de resultados laboratoriais e aplicação de questionários específicos de avaliação de adesão junto aos responsáveis das crianças com DF diagnosticadas por triagem neonatal, e acompanhadas regularmente em Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN).

MÉTODOS

Corte transversal com 47 pacientes pediátricos, atendidos em caráter ambulatorial pelo SRTN do estado da Bahia, a Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Salvador (Apaes Salvador). Foram incluídas crianças com idade entre 2 e 11 anos, atendidas entre março e outubro de 2019, com diagnóstico de doença falciforme SS ou SC, em uso de ácido fólico

profilático, que possuíam resultados de exames laboratoriais em prontuário eletrônico, e cujo responsável legal e/ou participante, após leitura e assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e/ou Termos de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE), respondeu os instrumentos de adesão. Foi adotado como critério de exclusão alguma limitação dos cuidadores que impossibilitasse responder ao questionário ou ausência do responsável pelo tratamento no momento da aplicação dos instrumentos.

Para a avaliação da adesão à terapia com ácido fólico prescrita foram utilizadas as versões validadas em português do Teste de Morisky-Green (TMG) e do Brief Medication Questionnaire (BMQ).²¹ O TMG consiste em 4 perguntas objetivas, com respostas “SIM” ou “NÃO”, equivalendo respectivamente a 0 e 1 ponto. A soma desse score, permite a classificação em baixa adesão (0 a 1 ponto), moderada adesão (2 a 3 pontos) ou aderente (4 pontos). O BMQ é um instrumento composto por três domínios que permite identificar barreiras à adesão, considerando regime de tratamento medicamentoso prescrito, crenças e recordação em relação à farmacoterapia, sob a perspectiva do paciente. Este último questionário permite a avaliação da adesão ao tratamento considerando os últimos sete dias precedentes à entrevista, classificando os participantes em aderente (nenhuma resposta positiva); provável aderência (resposta positiva em 1 domínio); provável baixa adesão (resposta positiva em 2 domínios); e baixa adesão (resposta positiva em 3 domínios).^{17, 21}

Para o presente estudo, foi considerado, ao final da abordagem “regime” no questionário BMQ, a questão complementar: “Algum motivo já levou à interrupção da terapia medicamentosa?” Essa pergunta foi utilizada para marcar o score em relação à interrupção da terapia devido a atrasos na dispensação do medicamento ou outro motivo, que ocorreram em períodos superiores à última semana. A mesma estratégia, de obter uma complementação da informação, foi utilizada em estudo anterior.¹⁷ de avaliação da adesão a tratamento anti-hipertensivo utilizando TMG e BMQ. O score de problemas pontuados pelo BMQ em cada domínio foi obtido a partir da comparação das respostas dos pacientes com a prescrição recebida, registrada em prontuário eletrônico.

A aplicação dos questionários e complementos de relatos espontâneos dos cuidadores permitiram obter os principais fatores associados à não adesão à terapia medicamentosa com ácido fólico, os quais foram classificados em: dificuldade de acesso ao medicamento (falta no posto de saúde, falta na drogaria, custo elevado); subutilização (falha de dias ou doses; subdoses); resistência por parte da criança em utilizar o medicamento (não gosta do sabor, dificuldade para engolir comprimido, reclamação por polifarmácia); necessidade de interrupção

ou atraso da farmacoterapia; histórico de faltas do paciente às consultas no período do estudo; relato de reação adversa; dificuldade em lembrar de administrar o medicamento; e dificuldades referentes à apresentação comercial (abertura/fechamento da embalagem, compreensão das informações em bulário ou embalagem secundária).

A partir do prontuário eletrônico do paciente, obteve-se informações quanto aos registros do diagnóstico da hemoglobinopatia (SS ou SC); resultados laboratoriais dos níveis séricos de ácido fólico; parâmetros hematimétricos; evolução clínica de médico hematologista; e perfil epidemiológico e social das crianças com DF; este último complementado com informações diretas do cuidador, no decorrer da aplicação dos questionários, compreendendo: gênero, idade, procedência, cor da pele referida pelo cuidador, renda familiar e escolaridade materna.

O ácido fólico foi quantitativamente determinado no soro humano através de imunoensaio de Quimioluminescência com partículas paramagnéticas, utilizando o kit “Access® Folate” e o equipamento Beckam Coulter Unicel DXI 800(23), sendo as amostras colhidas de indivíduos em jejum. Para os resultados de exames que assumiram valores acima do limite de detecção do método (ácido fólico > 25,8 ng/ml), realizaram-se as diluições das amostras a fim de se determinar a concentração do analito, de forma a obter resultados mais exatos.²²

Análise descritiva exploratória das variáveis envolvidas no estudo e análise bivariada foram realizadas. Para a análise estatística bivariada, categorizou-se a adesão TMG e BMQ em “aderentes” e “não aderentes”, sendo considerados “aderentes”, aqueles com adesão máxima, ou seja, os pacientes que pontuaram nas 4 questões do Morisky-Green e os que não pontuaram em nenhum domínio do Brief Medication Questionnaire. As demais classificações de adesão terapêutica, foram reclassificadas como “não aderentes”. Foram considerados adequados os níveis de ácido fólico séricos compreendidos entre 5,9 e 25,8 ng/ml.²² A análise estatística foi realizada com o programa Stata® versão 13.1 e o GraphPad Prism versão 8.0, aplicando-se os testes qui-quadrado e exato de Fisher, para comparações entre variáveis categóricas, e o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparar os valores do ácido fólico segundo o tipo de hemoglobinopatia, forma farmacêutica e adesão (TMG e BMQ), com critério de significância estatística de $p < 0,05$.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos – UFBA (parecer nº 3.165.041, em 22/02/2019). Todas as crianças

participantes foram incluídas após prévia autorização dos pais ou responsável legal e assinatura do TCLE; às maiores de 6 anos, foi aplicado, ainda, o TALE.

RESULTADOS

Foram identificadas 47 crianças com doença falciforme em uso de terapia profilática com ácido fólico, no período do estudo. Quanto ao perfil epidemiológico e social, os pacientes foram na maioria do sexo masculino (57,5%), pardos (59,6%), tinham diagnóstico de hemoglobinopatia SS (61,7%), faixa etária pré-escolar (70,2%), procedentes do interior da Bahia (83,0%). Apresentaram média (DP) de idade de 4,4 (2,2) anos, mediana (p25-p75) de 4,0 (3,0 – 6,0) anos, variando de 2,0 a 11,0 anos (Tabela 1).

Predominaram prescrições de ácido fólico em comprimidos com posologia de 5 mg, uma vez ao dia, todos os dias da semana; seguido dos esquemas posológicos: ½ comprimido de 5 mg, uma vez ao dia, todos os dias da semana e, solução oral 0,2mg/ml, 20 gotas, diário (Tabela 2). No estudo, observou-se, a partir da aplicação dos questionários, casos de divergências (29,3%; 12/41) entre o que foi prescrito pelo hematologista e o que era utilizado pelas crianças.

A adesão terapêutica ao ácido fólico foi “máxima” em 34,1% e 40,4% dos pacientes, segundo o TMG e BMQ, respectivamente. A principal barreira apontada para os casos de não adesão foi a de regime terapêutico (51,0%), em relação a falhas de dias e doses de tratamento, seguido do domínio recordação (34,0%), relacionado à lembrança em utilizar os medicamentos (Tabela 2).

Quanto aos níveis séricos de ácido fólico, nenhum paciente apresentou valores abaixo da normalidade. Entretanto, houve predomínio de resultados elevados, acima do limite superior de normalidade (78,7%; 37/47).

Os principais fatores relacionados à não adesão ao ácido fólico, obtidos por relato espontâneo dos cuidadores, foram dificuldade de acesso ao medicamento (59,6%), e interrupção/atraso no tratamento (49,0%), decorrentes principalmente pela falta do medicamento no posto de saúde, mudança na rotina (viagem, partilha na responsabilidade da administração do medicamento, quando no caso de guarda compartilhada da criança). Dificuldades referentes a apresentação comercial (46,8%) e resistência da criança (42,5%) também estiveram presentes em quase metade da população monitorada, com destaques para dificuldades quanto a leitura e entendimento do bulário e de dados da embalagem secundária, e quanto à deglutição do comprimido pelo paciente (Gráfico 1).

A forma farmacêutica ($p=0,719$), faixa etária ($p=0,875$), escolaridade do cuidador ($p=0,070$) e renda familiar ($p=0,944$) não foram associados a maior adesão, considerando o questionário TMG. Resultados similares foram observados para o questionário BMQ, para a forma farmacêutica ($p=0,112$), faixa etária ($p=0,825$), escolaridade do cuidador ($p=0,345$) e renda familiar ($p=0,736$). Contudo, observou-se que pacientes com hemoglobinopatia SS registraram mais que o quádruplo de adesão comparado aos de hemoglobinopatia SC (48,3% vs. 11,1%; $p=0,012$), segundo análise por TMG (Tabela 3). Os níveis séricos de ácido fólico foram similares entre os tipos de hemoglobinopatia, segundo a forma farmacêutica (Figura 1A) e a classificação da adesão referida por questionários (Figura 1B).

DISCUSSÃO

Os resultados encontrados demonstraram que a maioria dos pacientes apresentou adesão “moderada” e “provável adesão” para o TMG e BMQ, respectivamente, o que está relacionado com falhas na adesão em pelo menos um dos itens questionados. Os principais fatores que contribuíram para a não adesão foram dificuldade de acesso ao medicamento, principalmente devido ao constante desabastecimento nas unidades de saúde, relatado pelos cuidadores, e mudanças nas rotinas das crianças. Apesar disso, os níveis séricos de ácido fólico observados foram excessivos em 75% das crianças avaliadas e nenhuma delas apresentava deficiência.

Poucos estudos avaliaram a adesão ao ácido fólico em crianças com DF, especialmente comparando métodos indiretos, como questionários ou registros de dispensação, com a dosagem do metabólito em fluidos biológicos. Patel et al. mostraram que a adesão média ao ácido fólico em coorte prospectiva de crianças com doença falciforme foi de 60% em um ano de seguimento.¹⁹ Nesse trabalho, foi utilizado como parâmetro para medir a aderência, a razão entre o número de dias esperados entre os períodos de recarga e os dias observados entre os períodos de recarga para medicamentos de uso diário. No entanto, os autores referem que a adesão pode ter assumido valores menores, uma vez que a dispensação do medicamento não necessariamente corresponde ao uso deste pelo paciente ou seu uso na dose e intervalo de tempo adequados.

Múltiplos foram os fatores que contribuíram para não adesão ao ácido fólico. No presente estudo, o domínio mais pontuado para a não adesão, segundo BMQ, foi o de Regime Terapêutico, em relação a falhas de dias e doses do tratamento, seguido de Recordação. Problemas relacionados a adesão terapêutica são principalmente observados nos casos de tratamento de doenças crônicas, no qual o paciente necessita utilizar do medicamento por um período maior de tempo, podendo inclusive interrompê-lo quando assintomático.¹⁴ No estudo,

não foram observados casos de suspensão do AF quando a criança se encontrava estável. Outra característica da amostra estudada, corresponde a complexidade do regime terapêutico, fator apontado, em estudos prévios, como interferente nas taxas de adesão ao tratamento medicamentoso.^{13, 23, 24} Bugni et al. observaram, em crianças com doenças reumatológicas, que a utilização diária de mais de três medicamentos diferentes foi indicadora de má adesão.²⁴ As crianças com doença falciforme atendidas ambulatorialmente, realizam em média uso de três medicamentos/dia.^{13, 19}

Dificuldade de acesso foi o fator associado a não adesão mais referido entre os cuidadores das crianças estudadas. A dificuldade de acesso foi igualmente observada em estudo transversal com adultos em uso contínuo de medicamentos, que demonstrou que a falta de recursos financeiros para a aquisição dos medicamentos e não ter conseguido obtê-los nos serviços de saúde representa importante impacto para a continuidade efetiva da terapia farmacológica.²⁵ De fato, o desabastecimento tem sido referido como importante fator que contribui para a não adesão, com necessidades de interrupção do tratamento; sendo apontado como principal barreira de acesso no Brasil.²⁶ Segundo avaliação da assistência farmacêutica no Brasil, a média anual nacional de indisponibilidade de medicamentos essenciais é de 25%; sendo o tempo médio de desabastecimento de 84 dias/ ano.²⁷

O ácido fólico constitui um Componente Básico da Assistência, fazendo parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) sob apresentação comprimido 5mg e gotas 0,2mg/ml. Embora não exista um consenso nacional, preconiza-se a reposição de 1 a 5 mg/dia de ácido fólico¹⁰ e, mais recentemente, o uso de 5 mg três vezes/semana em pacientes em uso de hidroxiuréia²⁸ O uso de comprimidos como forma farmacêutica na faixa etária pediátrica torna a precisão da posologia mais difícil.²⁹ Apesar disso, no presente estudo não foram observadas diferenças significantes na adesão referida entre as formas farmacêuticas. Contudo, alguns cuidadores relataram dificuldades de acesso a forma farmacêutica prescrita (comprimido ou gotas), outros demonstraram não compreensão da posologia presente na receita médica e, dessa forma, realizaram substituições por conta própria; implicando em falhas de dias e doses do fármaco. Isso foi confirmado com um percentual de quase 30% de divergência entre o prescrito pelo médico hematologista e o realmente efetivado referido pelo cuidador. A prescrição do ácido fólico na instituição é realizada conforme peso e idade dos pacientes, tendo modificações do regime terapêutico ao longo do acompanhamento da criança. Essa condição foi referida como importante barreira a adesão nos pacientes acompanhados.

Outros aspectos relacionados a rotina de acompanhamento destas crianças foram relatados como relacionados à não adesão. Modificações em rotina, por conta de viagem para a realização de consultas, responsabilidade compartilhada para administração do medicamento, foram fatores que igualmente interferiram na adesão, tal como descrito em revisão sistemática.¹³ A adesão terapêutica é facilitada quando os tratamentos farmacológicos são mais simples, de curta duração e quando o processo de sua utilização interfere pouco em rotinas habituais. A necessidade de administração do medicamento por um cuidador, igualmente torna o processo de adesão em crianças mais complexo, sendo necessário considerar aspectos como o responsável estar ou não doente, ser ou não pai/mãe da criança.^{30, 31}

Em relação a possíveis relações do perfil epidemiológico e social dos participantes com a adesão, faixa etária da criança, renda e escolaridade do cuidador não demonstraram associação com a adesão ao fármaco, semelhante ao encontrado em acompanhamento de pacientes pediátricos com condição crônica de saúde e em uso contínuo de medicamentos em outro estudo.³² A forma farmacêutica também não interferiu nas taxas de adesão ao ácido fólico. Esta observação sugere que a aderência seja mais específica do paciente do que específica do fármaco, tal como apontam trabalhos anteriores.^{19, 24, 32} Contudo, um achado deste trabalho foi relevante: pacientes com a condição mais grave da doença (SS) apresentaram adesão mais de quatro vezes superior aos SC, quando aferidos pelo TMG. De fato, é sabido que a gravidade da doença ou ausência de sintomas apresentam importante impacto na adesão.^{14, 33} Apesar desse achado significativo, os níveis séricos de ácido fólico não diferiram de acordo com o tipo de hemoglobinopatia.

A elevada porcentagem de pacientes “não aderentes” à farmacoterapia com ácido fólico contrastou com o achado de que a maior parte das crianças monitoradas apresentaram níveis de ácido fólico sérico elevados. Ademais, não houve diferença significativa nos níveis séricos de ácido fólico daqueles classificados como “aderentes” e “não aderentes”. Algumas hipóteses podem ser elencadas para este achado. Primeiramente, a ocorrência dessa condição pode ser explicada pela possibilidade de suplementação através de outras fontes não medicamentosas, tal como ingestão de alimentos enriquecidos (farinhas de trigo, milho, arroz)^{34, 35} Não foi objetivo do estudo averiguar questões relacionadas à dieta, porém pesquisadores apontam elevado consumo de biscoitos, massas, cereais e derivados por crianças nessa faixa etária.³⁶⁻³⁸

Outra possibilidade explicativa diz respeito à prescrição de doses excessivas que podem manter níveis séricos elevados, mesmo com o uso irregular do medicamento em casos não

aderentes. Achados de níveis séricos elevados em 78,7% das crianças, quando somente 37,8% deles eram aderentes aos questionários, podem indicar essa possibilidade. Uma terceira hipótese pode estar representada por uma possível falta de eficácia da suplementação de ácido fólico nestas crianças. Dois estudos recentes sugerem essa possibilidade. Uma recente revisão encontrou apenas um estudo duplocego, controlado por placebo, no qual se relatou níveis mais altos de AF no grupo suplementado, mas nenhuma diferença nas medidas de hemoglobina entre os grupos suplementado e placebo.¹² Adicionalmente, Nguyen et al. em coorte de pacientes jovens de 1 a 24 anos com anemia falciforme (SS) que pararam de tomar o ácido fólico, não encontraram nenhum efeito da suplementação de AF sobre o status de folato ou síntese de hemácias.³⁹ Embora anemias hemolíticas, como a causada pela doença falciforme, possam resultar em folatopenia, menores necessidades dessa vitamina do que as ingeridas poderiam explicar a menor metabolização do ácido fólico e seu excesso sérico.

As limitações do presente estudo incluem o desenho transversal, que não permitiu a avaliação da adesão ao longo do tempo e o tamanho amostral que limitou a capacidade de investigar as interações entre as variáveis do estudo por meio de análise multivariada. Além disso, a investigação da dieta é um aspecto importante para avaliação, já que os níveis de folato sérico variam significativamente com a dieta, independente da técnica de dosagem laboratorial, sérica ou eritrocitária, esta última um melhor indicador da reserva de ácido fólico que a concentração sérica do folato.³⁵ Estudos futuros devem considerar essas limitações em seu desenho para responder questões surgidas após o presente trabalho. Especificamente, estudos de eficácia da suplementação do ácido fólico nestes pacientes devem ser realizados.

Portanto, baseado nos questionários aplicados, os resultados do estudo sugerem a necessidade de melhoria da adesão do ácido fólico pelas crianças com doença falciforme. Ações com foco em educação em saúde e reforço da necessidade do seu uso racional são imprescindíveis junto aos cuidadores. Faz-se necessário, ainda, o monitoramento dos níveis de ácido fólico a partir de resultados de exames e observação da dieta, vez que os mesmos apresentaram valores muito acima do limite de referência, não se tendo uma resposta concreta do impacto dessa elevação na saúde das crianças em uso contínuo. Adicionalmente, as doses preconizadas de suplementação do ácido fólico devem ser revisadas, bem como medidas para reduzir a interrupção do fornecimento do medicamento durante o seu uso.

AGRADECIMENTOS

À equipe de profissionais do Centro de Diagnóstico e Pesquisa da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Salvador (APAE-Salvador) pelo apoio logístico.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Doença falciforme: diretrizes básicas da linha de cuidado. Brasília: MS; 2015.
2. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010;376(9757):2018-31.
3. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sickle cell disease. *Lancet*. 2017.
4. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, Temperley WH, Williams TN, Weatherall DJ, Hay SI. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet*. 2013;381(9861):142-51.
5. Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29:204-6.
6. Caldas P, Boa-Sorte N, Amorim T, Freitas M, Ribeiro R, Fonseca SFd. Eventos Clínicos e Fatores Associados em uma coorte de crianças com Doença Falciforme. *Gaz. méd. Bahia*. 2010;80(3):14-9.
7. Amorim T, Pimentel H, Fontes MIMM, Purificação A, Lessa P, Boa-Sorte N. Avaliação do programa de triagem neonatal da Bahia entre 2007 e 2009 - As lições da doença falciforme. *Gaz. méd. Bahia*. 2010;80(3):4.
8. Bandeira FMGC, Bezerra MAC, Santos MNN, Gomes YM, Araújo AS, Abath FGC. Importância dos programas de triagem para o gene da hemoglobina S. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29:179-84.
9. Arduini GAO, Rodrigues LP, Trovó de Marqui AB. Mortality by sickle cell disease in Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2017;39(1):52-6.
10. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Doença falciforme: condutas básicas para tratamento. Brasília: MS; 2012.
11. Braga JAP. Medidas gerais no tratamento das doenças falciformes. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29:233-8.
12. Dixit R, Nettem S, Madan SS, Soe HHK, Abas AB, Vance LD, Stover PJ. Folate supplementation in people with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;3:CD011130.

13. Walsh KE, Cutrona SL, Kavanagh PL, Crosby LE, Malone C, Lobner K, Bundy DG. Medication adherence among pediatric patients with sickle cell disease: a systematic review. *Pediatrics*. 2014;134(6):1175-83.
14. Steiner SA, Torres MRF, Penna FJ, Melo MdCBd. Adesão ao tratamento de doenças crônicas em pediatria: uma revisão crítica da literatura. *Rev Med Minas Gerais*. 2013;23:7.
15. Aronson JK. Compliance, concordance, adherence. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;63(4):383-4.
16. Obreli-Neto PR, Baldoni AdOB, Guidoni CM, Bergamini D, Hernandez KdC, da Luz RT, da Silva FB, de Oliveira e Silva R, Pereira LRL, Cuman RKN. Métodos de avaliação de adesão à farmacoterapia. *Rev Bras Farm*. 2012;93(4):8.
17. Ben AJ. Confiabilidade e Análise de Desempenho de Dois Questionários de Avaliação da Adesão ao Tratamento Anti-hipertensivo: Teste de Morisky-Green e Brief Medication Questionnaire [dissertação]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011.
18. Bitarões EL, Oliveira BMD, Viana MB. Adesão à antibioticoterapia profilática em crianças com anemia falciforme: um estudo prospectivo. *J Pediatr*. 2008;84:316-22.
19. Patel NG, Lindsey T, Strunk RC, DeBaun MR. Prevalence of daily medication adherence among children with sickle cell disease: a 1-year retrospective cohort analysis. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;55(3):554-6.
20. Azzam M, Attalla S. Serum Folate Levels in Patients with Chronic Hemolytic Anemia on Regular Folic Acid Supplementation Before and After Dose Modification. *Indian Pediatr*. 2019;56(10):845-8.
21. Ben AJ, Neumann CR, Mengue SS. The Brief Medication Questionnaire and Morisky-Green test to evaluate medication adherence. *Rev Saude Publica*. 2012;46(2):279-89.
22. Beckman Coulter Inc. Access® Immunoassay Systems – Folate. 2005. [acessado 2019 jun 09]. Disponível em: <http://www.biosystemsne.com.br/files/product/4b3390f9ec51a.511a14208.pdf>.
23. Tavares NUL, Bertoldi AD, Mengue SS, Arrais PSD, Luiza VL, Oliveira MA, Ramos LR, Farias MR, Pizzol TSD. Factors associated with low adherence to medicine treatment for chronic diseases in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2016;50(suppl 2):10s.

24. Bugni VM, Ozaki LS, Okamoto KY, Barbosa CM, Hilário MO, Len CA, Terreri MA. Factors associated with adherence to treatment in children and adolescents with chronic rheumatic diseases. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88(6):483-8.
25. Remondi FA, Cabrera MA, Souza RK. [Non-adherence to continuous treatment and associated factors: prevalence and determinants in adults 40 years and older]. *Cad Saude Publica*. 2014;30(1):126-36.
26. Nascimento RCRM, Álvares J, Guerra AA, Gomes IC, Costa EA, Leite SN, Costa KS, Soeiro OM, Guibu IA, Karnikowski MGO, Acurcio FA. Availability of essential medicines in primary health care of the Brazilian Unified Health System. *Rev Saude Publica*. 2017;51(suppl 2):10s.
27. Brasil. Organização Pan Americana da Saúde (OPAS). Avaliação da assistência farmacêutica no Brasil: estrutura, processo e resultados. Brasília: OPAS; 2005.
28. Brasil. Ministério da Saúde (MS). CONITEC – Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias em Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas de Doença Falciforme. Brasília: MS; 2016.
29. Feitosa AC, Lima HJAd, Caetano JA, Andrade LMd, Beserra EP. Terapia antiretroviral: fatores que interferem na adesão de crianças com HIV/AIDS. *Escola Anna Nery Rev Enferm*. 2008;12:515-21.
30. Liberato SMD, Souza AJGd, Gomes ATdL, Medeiros LPd, Costa IKF, Torres GdV. Relação entre adesão ao tratamento e qualidade de vida: revisão integrativa da literatura. *Rev EletrEnferm*. 2014;16(1):191-8.
31. Klein JM, Gonçalves AdGA. A adesão terapêutica em contexto de cuidados de saúde primários. *Psico-USF*. 2005;10:113-20.
32. Adriano LS, Fonteles MMdF, Azevedo MdFM, Beserra MPP, Romero NR. Medication adherence in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rev Bras Reumatol*. 2017;57:23-9.
33. Coutinho FHP, de Sousa IMC. Percepção dos indivíduos com hipertensão arterial sobre sua doença e adesão ao tratamento medicamentoso na estratégia de saúde da família. *Revista Baiana de Saúde Pública*. 2011;35(2):15.
34. Brasil. Portaria Nº 1.793, de 11 de agosto de 2009. , (2009). Institui a Comissão Interinstitucional para Implementação, Acompanhamento e Monitoramento das Ações de

Fortificação das Farinhas de Trigo, de Milho e de seus Subprodutos. Diário Oficial da União 2009; 11 ago.

35. Vaish S, White M, Daly L, Molloy AM, Staines A, Sweeney MR. Synthetic folic acid intakes and status in children living in Ireland exposed to voluntary fortification. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(2):512-8.

36. Alves MA, Souza AM, Barufaldi LA, Tavares BM, Bloch KV, Vasconcelos FAG. Dietary patterns of Brazilian adolescents according to geographic region: an analysis of the Study of Cardiovascular Risk in Adolescents (ERICA). *Cad Saude Publica*. 2019;35(6):e00153818.

37. Leal KK, Schneider BC, França GV, Gigante DP, dos Santos I, Assunção MC. [Diet quality of preschool children aged 2 to 5 years living in the urban area of Pelotas, Brazil]. *Rev Paul Pediatr*. 2015;33(3):311-8.

38. S. Filha EdO, Araújo JS, Barbosa JS, Gaujac DP, Santos CFdS, Silva DGd. Consumo dos grupos alimentares em crianças usuárias da rede pública de saúde do município de Aracaju, Sergipe. *Rev Paul Pediatr*. 2012;30:529-36.

39. Nguyen GT, Lewis A, Goldener C, Reed B, Dulman RY, Yang E. Discontinuation of Folic Acid Supplementation in Young Patients With Sickle Cell. Anemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017;39(6):470-2.

Tabela 1 – Caracterização sociodemográfica das 47 crianças com Doença Falciforme estudadas, março a outubro de 2019, Serviço de Referência em Triagem Neonatal (SRTN) da Bahia.

Variável	n	%
Sexo		
Feminino	20	42,5
Masculino	27	57,5
Cor da pele referida pelo cuidador		
Amarelo	-	-
Branco	4	8,5
Indígena	1	2,1
Pardo	28	59,6
Negro	10	21,3
Não declararam ou dados ausentes	4	8,5
Hemoglobinopatia		
HbSS	29	61,7
HbSC	18	38,3
Faixa etária		
Pré-escolar (2 a 4 anos)	33	70,2
Escolar (5 a 9 anos)	11	23,4
Adolescente (10 a 19 anos)	3	6,4
Procedência		
Salvador e Região Metropolitana	8	17,0
Interior do estado	39	83,0
Escolaridade Materna		
Até Fundamental Completo	20	42,5
Ensino Médio em diante	25	53,2
Não declararam ou dados ausentes	2	4,3
Renda Familiar		
Menos de 1 salário mínimo	20	42,5
De 1 a menos que 2 salários mínimos	23	48,9
Maior ou igual a 2 salários mínimos	2	4,3
Não declararam ou dados ausentes	2	4,3

Tabela 2 – Esquemas terapêuticos, adesão pelos métodos TMG e BMQ, níveis séricos de ácido fólico categorizados das 47 crianças estudadas, março a outubro de 2019, SRTN, Bahia.

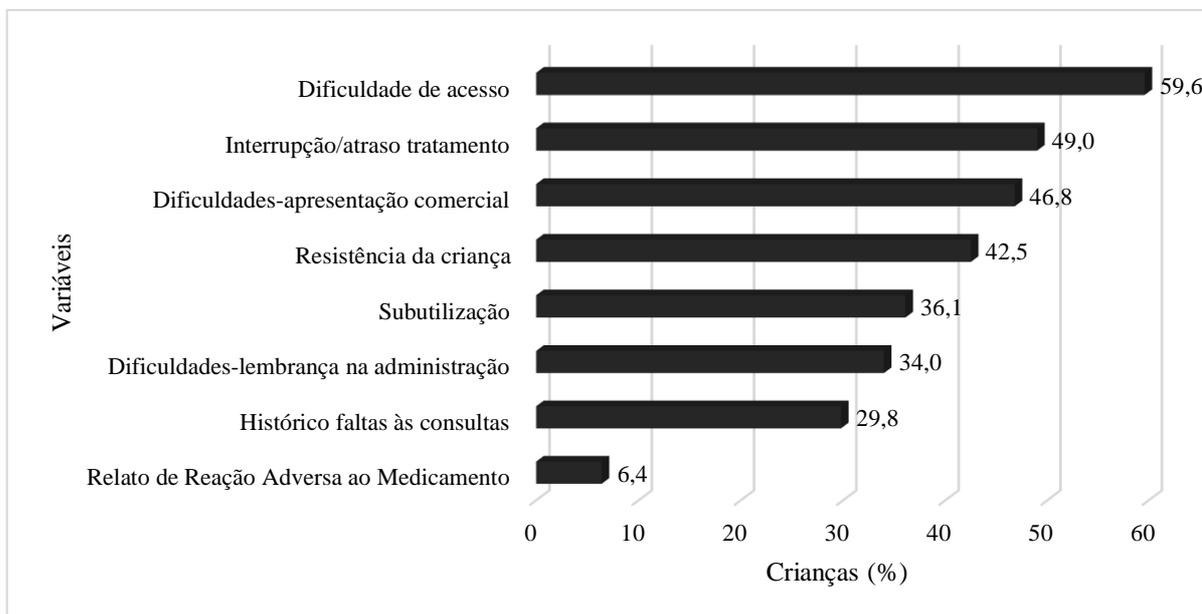
Variável	n	%
Esquema terapêutico		
AF 5mg (1comp, 1x/dia)	18	38,3
AF 5mg (1/2comp, 1x/dia)	13	27,7
AF 0,2mg (10gotas, 1x/dia)	3	6,3
AF 0,2mg (20gotas, 1x/dia)	13	27,7
Adesão - TMG		
Baixa Adesão	2	4,3
Moderada Adesão	29	61,7
Aderente	16	34,0
Adesão - BMQ		
Baixa Adesão	3	6,4
Provável Baixa Adesão	10	21,3
Provável Aderência	15	31,9
Aderente	19	40,4
Escore BMQ		
Regime (escore)		
0	23	49,0
≥ 1	24	51,0
Crenças (escore)		
0	42	89,4
≥ 1	5	10,6
Recordação (escore)		
0	31	66,0
≥ 1	16	34,0
Níveis séricos de AF categorizados		
Níveis séricos adequados (5,9-25,8ng/ml)	10	21,3
Níveis séricos elevados especificados (> 25,8ng/ml)	37	78,7

AF:Ácido Fólico; TMG: Teste de Morisky-Green; BMQ: Brief Medication Questionnaire.

Tabela 3 – Análise univariada entre as variáveis do estudo e o perfil de adesão, segundo TMG e BMQ, das crianças monitoradas.

Variável	TMG				p	BMQ		p
	Total		Aderente			Aderente		
	N	%	N	%		N	%	
Forma Farmacêutica					0,719			0,112
Comprimidos	31	66,0	10	32,3		10	32,3	
Gotas	16	34,0	6	37,5		9	56,2	
Faixa etária					0,875			0,825
2-4 anos	33	70,2	11	33,3		13	39,4	
> 4 anos	14	29,8	5	35,7		6	42,9	
Escolaridade do cuidador					0,07			0,345
Até Fundamental Completo	20	44,4	10	50,0		10	50,0	
A partir do Ensino Médio	25	55,6	6	24,0		9	36,0	
Renda Familiar					0,944			0,736
≥ 1SM	25	55,6	9	36,0		10	40,0	
< 1 SM	20	44,4	7	35,0		9	45,0	
Haemoglobinopatia					0,012			0,435
SS	29	61,7	14	48,3		13	44,9	
SC	18	38,3	2	11,1		6	33,3	
Níveis séricos de ácido fólico					0,23			0,487
Adequados	10	21,3	5	50,0		5	50	
Elevados	37	78,7	11	29,7		14	37,8	

Gráfico 1 – Percentual dos Principais motivos para não adesão a farmacoterapia ao ácido fólico, segundo BMQ



Distribuição dos valores de ácido fólico (em ng/mL) segundo forma farmacêutica, tipo de hemoglobinopatia e adesão (TMG e BMQ)

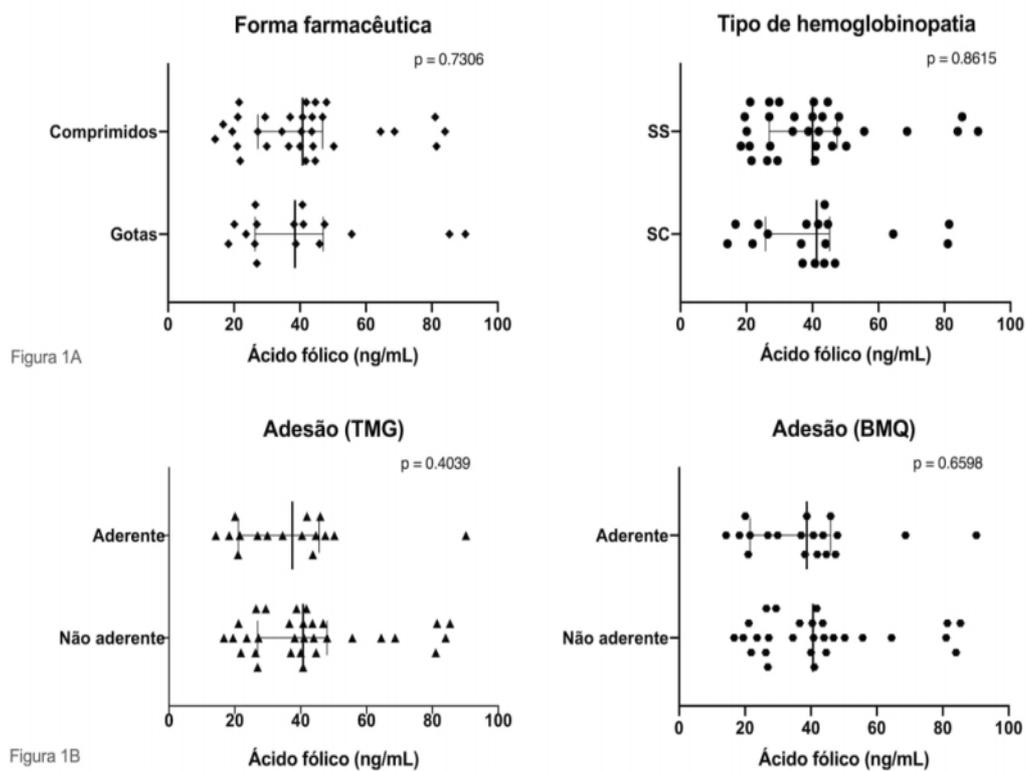


Figura 1A

Figura 1B

As barras verticais nos gráficos representam a mediana e o intervalo interquartil dos dados

Figura 1. Distribuição dos valores de ácido fólico segundo o tipo de hemoglobinopatia, forma farmacêutica e adesão.