

Folatos y Embarazo, conceptos actuales. ¿Es necesaria una suplementación con Ácido Fólico?

Folate and Pregnancy, current concepts. It is required folic acid supplementation?

Erika Castaño^{a,*}, Raúl Piñuñuri^{a,b,*}, Sandra Hirsch^a, Ana María Ronco^a

^aLaboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, Chile

^bEscuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Salud, Universidad Bernardo O'Higgins, Santiago, Chile

*Estos autores contribuyeron igualmente en la elaboración del manuscrito.

Recibido el 03 de noviembre de 2016; aceptado el 23 de marzo de 2017

Resumen

El aporte de folatos durante el embarazo es esencial para un desarrollo fetal y placentario adecuados y para la salud del individuo a largo plazo. Su deficiencia puede inducir alteraciones y patologías fetales como bajo peso al nacer, recién nacidos de pre término y defectos del tubo neural (DTN). Por ello, varios países han decidido implementar políticas públicas de fortificación de alimentos con ácido fólico (AF). Chile inició la fortificación de la harina de trigo con AF en el año 2000, logrando reducir en un 43% la prevalencia de DTN. Sin embargo, además de la elevada ingesta de pan de nuestra población (principal alimento fortificado con AF), muchas mujeres embarazadas consumen suplementos de AF, lo que podría estar superando las concentraciones máximas de AF recomendadas. Adicionalmente, si la dieta materna es reducida en vitamina B₁₂ (vit B₁₂), se alteraría la razón óptima folatos/vit B₁₂ lo que modificaría la metilación de genes específicos y otras vías metabólicas pudiendo afectar el desarrollo fetal y la salud de los recién nacidos a largo plazo. Creemos que, transcurridos 17 años del inicio de la fortificación de la harina de trigo con AF, es necesario evaluar los posibles efectos secundarios de un alto consumo de AF, no solo durante el embarazo, sino también en la población general. Presentamos antecedentes acerca del mecanismo de acción de folatos y vit B₁₂ a nivel celular, y conceptos actuales sobre las posibles consecuencias de un aporte materno elevado de AF sobre la descendencia.

Palabras clave:

Folatos;
ácido fólico;
vitamina B12;
fortificación de
alimentos;
suplementación con
ácido fólico;
desarrollo fetal;
programación fetal

Abstract

Folate intake during pregnancy is essential for an adequate fetal and placental development and for the long time health of the individual. Its deficiency may induce fetal pathologies, including neural tube disease (NTD). Therefore, several countries implemented public policies to fortify foods with folic acid (FA). Chile started the fortification of wheat flour with FA in the year 2000, decreasing a 43% the prevalence of NTD. However, despite the high consumption of bread (the main fortified food with FA) by our population, a high number of pregnant women consume FA supplements, thus, over passing the maximal recommended FA intake. Additionally, if the diet is reduced in vitamin B₁₂, the optimal ratio folates/vit B₁₂ may be altered, thus inducing changes in the methylation of specific genes and other metabolic pathways, affecting fetal development and the long-term health of the neonates. We think that, after 16 years of the initiation of the fortification of wheat flour with FA, it is necessary to evaluate the possible side effects of a high intake of FA in the pregnant population and their offspring. This article shows antecedents about mechanisms of folates and vit B₁₂ at cellular level, and their possible consequences of an elevated FA maternal intake on the offspring.

Keywords:

Folates;
folic acid;
vitamin B₁₂;
food fortification;
folic acid supplementa-
tion;
fetal development;
fetal programming

Introducción

El período gestacional es clave para un desarrollo fetal adecuado y para una vida saludable^{1,2}. Diferentes factores genéticos, ambientales y endocrinos pueden influir de manera positiva o negativa durante este período. El estado nutricional de la madre es sin duda uno de los principales factores ambientales que influyen en el embarazo. Esto comprende la selección de los alimentos, los nutrientes contenidos en ellos, su metabolismo y el transporte de ellos hacia el feto a través de la placenta. La deficiencia nutricional de vitaminas del complejo B, entre las que se cuentan folatos y vit B₁₂, ha sido relacionada con algunas alteraciones durante el embarazo, como bajo peso al nacer, partos prematuros y malformaciones fetales, entre otras^{3,4}. Los defectos del tubo neural (DTN) constituyen una de las malformaciones fetales que se origina por la deficiencia en el aporte de folato materno en el período previo a la concepción y durante el primer mes de desarrollo fetal etapa en la que se produce el cierre del tubo neural⁵.

Presentamos conceptos actuales acerca de relación/interacción entre los niveles maternos de folatos y vit B₁₂ y sus posibles efectos sobre la descendencia. La búsqueda de la información se realizó a través de las bibliotecas virtuales "Pubmed" y "SciELO", utilizando los descriptores *folate*, *folic acid*, *vitamin b12*, *pregnancy*, *high levels*, *offspring*. Se dio prioridad a la información proveniente de meta análisis, ensayos controlados randomizados y estudios longitudinales.

Fortificación con ácido fólico y embarazo

Durante el embarazo, los requerimientos de folatos aumentan desde 400 a 600 µg/día para garantizar el

crecimiento fetal y placentario debido a su papel crítico en la síntesis de DNA y replicación celular⁶. El déficit de folatos durante este período se ha relacionado con una serie de complicaciones como preeclampsia, aborto espontáneo, mortinatalidad, bajo peso al nacer, prematuridad^{3,7} y malformaciones del tubo neural, incluyendo espina bífida y anencefalia⁵. Debido a la esencialidad de los folatos en el embarazo, y a la alta incidencia de las malformaciones congénitas asociadas a su déficit⁸, países de Norte y Sudamérica impulsaron políticas de fortificación de alimentos o suplementación con AF. En Chile, las autoridades del Ministerio de Salud (MINSAL) implementaron a partir de enero del año 2000, una fortificación mandatoria de la harina de trigo con una cantidad de AF equivalente a 2,0-2,4 mg/1.000 g de producto⁹. En un estudio realizado post-fortificación, un año después de su implementación, la prevalencia de nacimientos con DTN disminuyó en un 43% (17,1 a 9,7 por cada 10.000 nacidos vivos)¹⁰.

En el año 2010, el MINSAL realizó una evaluación al programa de fortificación de harinas encontrándose que los niveles de AF en las harinas de trigo fortificada superaba la recomendación establecida por la *Food and Drug Administration*, (FDA, EE.UU.)⁹. Según esta evaluación, se encontró que la concentración de AF en las muestras (n = 175) estaba un rango 0,02-7 mg/kg de producto. Sólo un 23% de las muestras presentó un rango de fortificación dentro de los valores establecidos (2,0-2,4 mg/kg) y en promedio, la concentración de AF en las muestras evaluadas, fue de 2,5 mg/kg. Por ello, el MINSAL decidió modificar el rango de AF a niveles entre 1,8-2,6 mg/kg, decreto que entró en vigencia a partir de marzo de 2012⁹; sin embargo, lo que se hizo fue ampliar el rango de dosis de fortificación.

Según la Encuesta Nacional de Consumo Alimen-

tario (ENCA, 2010)¹¹ una mujer adulta consume entre 73 y 184 gramos de pan al día que contiene un 70% de harina de trigo¹⁰. De acuerdo al MINSAL, 1 kg de harina tiene en promedio 2.500 µg de AF, por tanto el consumo de esa cantidad de pan aporta entre 128 y 323 µg de AF al día, sin considerar el consumo de otros alimentos fortificados con esta vitamina como pastas, productos de pastelería, repostería, cereales de desayuno, galletas, etc. Hay que considerar además, que los estudios que determinan ingesta de nutrientes a través de encuestas alimentarias, tienden a subestimar específicamente la ingesta de folatos¹². Adicionalmente, en el estudio de Hertrampf y cols (2003), las concentraciones de folatos en mujeres en edad fértil aumentaron considerablemente a partir de la fortificación con AF¹³. En estudios en los que se ha determinado las concentraciones circulantes de folatos en una población de adultos en general, se encontró que un 12%¹⁴ y 40%¹³ presentaron niveles sobre el valor de referencia reportados como normal. Considerando el elevado consumo de pan en Chile, es altamente improbable que exista deficiencia de folatos.

Suplementación con ácido fólico

Otra de las estrategias para disminuir la incidencia de DNT propuesta por países desarrollados, como EEUU, es la ingesta de suplementos de 400 µg/día de AF en mujeres en edad fértil y durante los 3 primeros meses de embarazo¹⁵. En Chile, la normativa determinada por el MINSAL a través de la "Guía Perinatal 2015" sugiere iniciar suplementación de 1.000 µg/d de AF durante el período pre-concepcional y, en caso de existir antecedentes de malformación del tubo neural, suplementar con 4.000 a 5.000 µg/día¹⁶. Con este escenario, se podría pensar que una mujer embarazada cubre sus requerimientos nutricionales de folatos y difícilmente tendría deficiencia de este nutriente; sin embargo, en Chile no existe información sobre el estado nutricional de estas vitaminas en mujeres embarazadas. Por otro lado, el consumo de suplementos de AF entre 1.000 y 5.000 µg, claramente está superando el nivel máximo tolerable (UL, Upper Level) establecido para el AF (1.000 µg/día)⁶. Si bien el UL es un valor seguro ya que si se consume esta cantidad no representa un riesgo para la salud, a la fecha no existen estudios que determinen los efectos adversos del consumo de AF en cantidades superiores al UL en humanos. Actualmente resulta de gran interés estudiar los posibles efectos secundarios de la fortificación con AF. Castillo-Lancellotti y cols. (2010), estimaron que el consumo de AF desde alimentos fortificados en niños (desde los 8 hasta los 13 años) en el período post-fortificación podría estar superando el UL¹⁷.

Transporte de folato al feto

Los folatos son transferidos desde la madre al feto a través de la placenta por medio de 3 transportadores específicos (RFC, FOLR1, PCFT/HCP1)¹⁸ además de transportadores de eflujo adicional pertenecientes a la súper-familia ABC que se encuentran presentes en la placenta humana¹⁹. En nuestro laboratorio hemos encontrado que el transporte de folato placentario varía de acuerdo al peso de nacimiento²⁰ y a la edad gestacional²¹. Adicionalmente, encontramos que en recién nacidos de pretérmino (32 a 36 semanas de gestación), las concentraciones séricas de folatos fueron mayores y las de vitamina B₁₂ menores, comparadas con las concentraciones séricas en recién nacidos de término²¹. Lo mismo observamos en recién nacidos de término pequeños para la edad gestacional (PEG) en comparación con recién nacidos de término adecuados para la edad gestacional (AEG)²⁰. Estos resultados nos hacen pensar que existe una interacción entre folatos y vit B₁₂ que está relacionada con la edad gestacional y con el peso al nacer.

Algunos estudios han señalado que un posible desbalance materno en la razón folatos/vit B₁₂ estaría relacionada con el riesgo de desarrollar en su descendencia alteraciones metabólicas tempranas, aumentando el riesgo de mayor adiposidad y de resistencia a la insulina²²⁻²⁴.

Interacción entre folatos y vit B₁₂ - Trampa de folato

Los folatos participan en el metabolismo de los compuestos de 1-carbono y junto con la vit B₁₂ contribuyen a la síntesis de metionina y S-adenosilmetionina (SAM), sustrato de las reacciones de metilación en el organismo. La metilación del DNA es uno de los mecanismos epigenéticos más estudiados en vertebrados²⁵. Durante el embarazo, los requerimientos de vit B₁₂ aumentan de 2,4 a 2,6 µg/día⁶. En Chile el consumo de esta vitamina en mujeres de 14 a 64 años es 1,6 µg/d (IC 95% 0,7 a 3,0 µg/d) siendo mayor en zonas rurales¹¹. Adicionalmente, se ha observado que el 10% de las mujeres en edad reproductiva presentan niveles de vit B₁₂ inferiores a 149 pmol/L y el 13% por debajo de 185 pmol/L (la deficiencia o estado marginal de vit B₁₂ está definido en adultos como valores < 148 pmol y 148-221 pmol²⁶, respectivamente). Por el contrario, no se encontró deficiencia de folatos en esta población¹³. El mayor riesgo de deficiencia de vit B₁₂ estaría en las mujeres vegetarianas²⁷ debido a que la mayor fuente de esta vitamina se encuentra en productos cárneos. En Chile, sólo se conoce la prevalencia de deficiencia de vit B₁₂ en adultos mayores la que se estima en un rango de 25,4 a 54,1%²⁸.

En condiciones de adecuados niveles circulantes de folatos y vit B₁₂, la homocisteína (Hcy) es convertida a metionina por la acción de la metionina sintasa (MS) que utiliza 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF) como sustrato y vit B₁₂ como cofactor. Esta reacción genera SAM y tetrahidrofolato (THF); si la homocisteína no es degradada en esta vía, puede ingresar a la vía de transulfuración donde se genera cisteína y a partir de ésta se sintetiza glutatión^{1,29} (Figura 1A). Adicionalmente, la vit B₁₂ disponible actúa principalmente como cofactor de dos enzimas importantes, la MS y la metil malonil CoA mutasa (MMCoAM), esta última, cataliza la conversión de metil malonil CoA (MMCoA) a succinil CoA para ingresar al Ciclo de Krebs³⁰ (Figura 1A).

Cuando los niveles plasmáticos de folatos (elevados) y vit B₁₂ (deficiencia) se encuentran alterados, opera un mecanismo conocido como “trampa de folato”, en la cual los folatos resultan atrapados como 5-MTHF, la principal forma circulante del folato en plasma y a nivel celular³¹, y el proceso de síntesis de metionina es ineficiente, resultando en una acumulación de Hcy y disminución de SAM^{3,25}. SAM es requerido para la metilación del DNA, proteínas y lípidos³², en consecuencia, en condiciones deficientes de SAM se produce una alteración en estas reacciones. Adicionalmente, SAM actúa como un activador alostérico de la cistationina-β-sintetasa (CβS)³³, enzima que cataliza la degradación de Hcy por la vía de la transulfuración a cistationina, usando la vitamina B₆ como cofactor; ésta es posteriormente convertida a cisteína; importante precursor del glutatión³⁴. El glutatión (γ-glutamyl-cisteinil-glicina, GSH) es la principal molécula participante en el equilibrio de las reacciones de óxido-reducción en las células³⁵. Las concentraciones de GSH disminuyen dramáticamente en condiciones de estrés oxidativo o por una disminución en la disponibilidad de sus precursores. Por ello, si la disponibilidad de SAM disminuye, como consecuencia de la trampa de folato, la CβS no puede ser activada, y, en consecuencia, la Hcy no puede ser re-metilada ni degradada, liberándose al plasma donde es susceptible a oxidación, aumentando las especies reactivas del oxígeno y generando una disminución en la disponibilidad de glutatión³⁴ (Figura 1B).

Otra consecuencia de la trampa de folato es que elevados niveles de folatos deben metabolizarse aceleradamente para lo cual las concentraciones de metilcobalamina (MeB12) deben ser suficientes para actuar como cofactor de la MS (Figura 1B). Esta condición generaría un aumento en la oxidación de la vit B12 disminuyendo su flujo hacia la mitocondria³⁰, generando, posiblemente, una depleción intracelular de vit B12. En consecuencia, una elevada ingesta de AF podría estar conduciendo a una deficiencia de vit B12. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para comprobar esta hipótesis.

Trampa de folatos en el embarazo y programación fetal

De acuerdo a la hipótesis de Barker³⁶, efectos ambientales adversos durante la concepción, desarrollo fetal y en la vida temprana condicionan la aparición de enfermedades metabólicas en la edad adulta³⁷; sin embargo, los mecanismos por los cuales un evento durante la gestación afecta el fenotipo a determinada edad no han sido totalmente dilucidados. Hay recientes evidencias que indican que bajo situaciones ambientales adversas los mecanismos epigenéticos podrían verse alterados³⁸.

Alteraciones en la disponibilidad en los donantes de grupos metilo (folato, vit B₁₂, betaína, colina) afectarían la expresión de ciertos genes importantes para el desarrollo fetal y la salud del individuo a largo plazo^{39,40}. Las reacciones de metilación ocurren en secuencias CpG localizadas en zonas de regulación de la expresión de genes de tal forma que una hiper metilación disminuye la expresión del gen y una hipometilación la activa⁴¹.

En mujeres embarazadas suplementadas con 400 µg/d de AF, se observó que se puede afectar la metilación en una región reguladora del gen del factor de crecimiento insulínico 2 (IGF2) influyendo el crecimiento intrauterino y en consecuencia, el peso al nacer⁴². Adicionalmente, en un meta-análisis reciente con aproximadamente 2000 recién nacidos se observó una asociación entre los niveles plasmáticos de folatos maternos y la metilación de sitios CpG en 320 genes⁴³. Estos genes se relacionan con distintas patologías como: el gen de adenomatosis poliposis coli 2 (*APC2*), involucrado en el desarrollo cerebral y en la etiología del cáncer; el gen *GRM8*, codificante de un receptor de glutamato, involucrado en desórdenes del neuro-desarrollo como hiperactividad por déficit atencional y espectro autista; el gen *SLC16A12* involucrado en catarata juvenil y glucosuria renal; el gen *KLK4* involucrado en malformación dental; el gen *ILHX1* involucrado en anomalías del desarrollo uterino; el gen *IHH*, involucrado en malformaciones del esqueleto, entre otros⁴³. En resumen, este trabajo⁴³ sugiere que las concentraciones de folato periconcepcionales se relacionan con otros defectos del nacimiento desconocidos hasta el momento.

En estudios en animales se observó que altos niveles de AF durante la gestación afectan el fenotipo metabólico de la descendencia en edad adulta, relacionándose con un aumento en la ganancia de peso, intolerancia a la glucosa, aumento de niveles plasmáticos de insulina y disminución de adiponectina en hembras y aumentos de leptina en machos⁴⁴. También la restricción materna de vit B₁₂ se ha relacionado con aumento del peso corporal, del porcentaje de grasa y alteraciones del perfil lipídico en la descendencia de ratas Wistar⁴⁵.

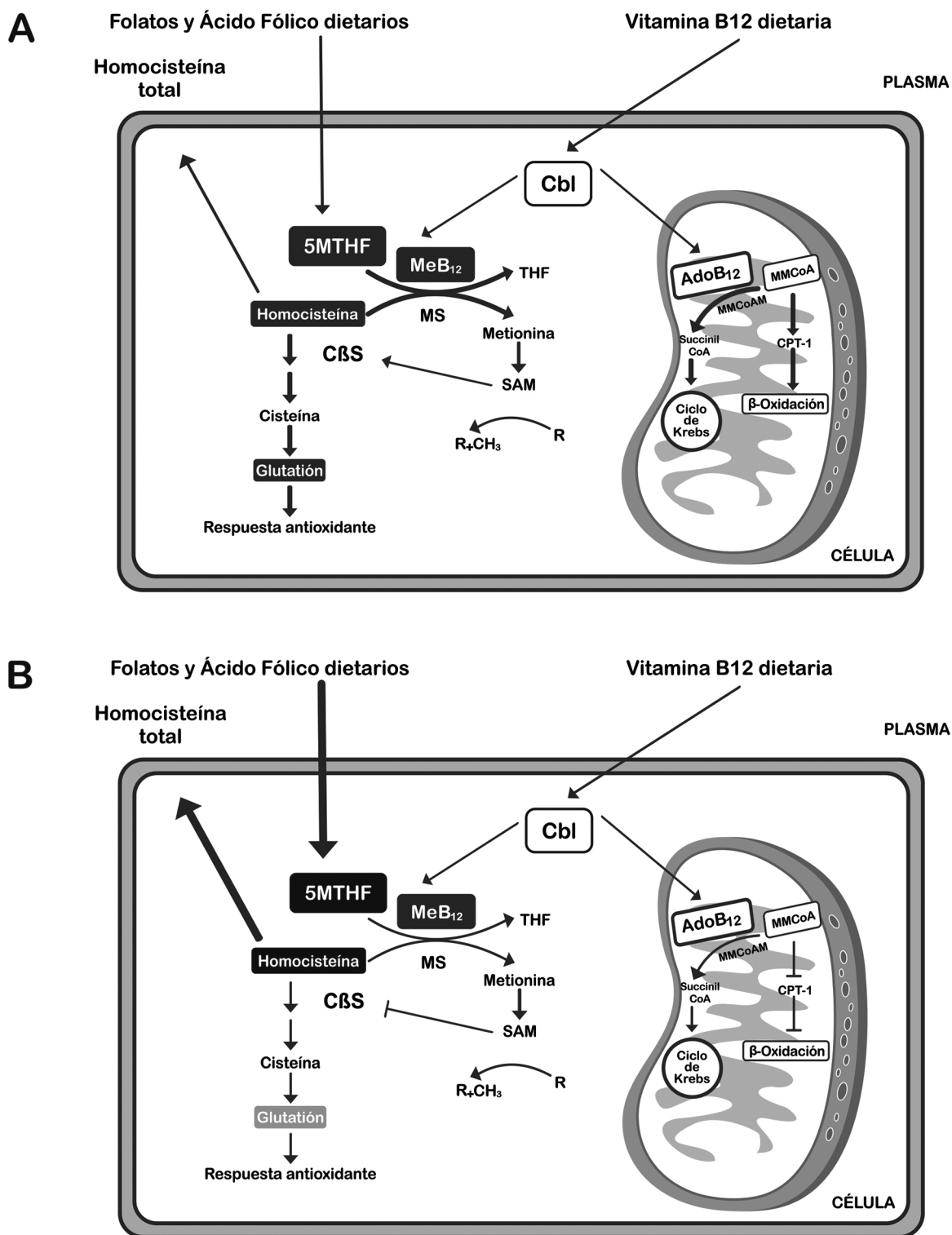


Figura 1. Metabolismo de folatos y vit B₁₂. **A.** Metabolismo normal. **B.** Metabolismo en condiciones de elevada razón folatos/vit B12. Abrev: 5-MTHF, 5-Metiltetrahidrofolato; THF, Tetrahidrofolato; CBS, Cistationina β Sintasa; MS, Metionina Sintasa; SAM, S-Adenosilmetionina; MeB₁₂, Metil Vitamina B12 o Metilcobalamina; AdoB₁₂, Adenosil Vitamina B12 o Adenosilcobalamina; MMCoAM, Metilmalonil CoA Mutasa; MMCoA, Metilmalonil CoA; CPT-1, Carnitina Palmitoiltransferasa 1.

Por otra parte, estudios epidemiológicos han mostrado que las alteraciones en los niveles maternos de vit B₁₂ presentan un mayor riesgo de alteraciones metabólicas en su descendencia como: menores niveles de colesterol HDL⁴⁶, resistencia a la insulina y mayor adiposidad⁴⁷; o de alteraciones en los niveles maternos de folatos, evidenciado en el estudio de PUNE-India, que la concentración de folatos en glóbulos rojos a las 28 semanas de gestación se asoció positivamente con adiposidad e índice HOMA-IR en sus hijos a los 6, 9,5 y 13 años de edad^{23,24}.

Los efectos de las alteraciones maternas de estas vitaminas sobre el desarrollo de resistencia a la insulina (RI) obesidad y enfermedades cardiovasculares (ECV) no están del todo claros. La alteración en los niveles de vit B₁₂ y folatos y su relación con obesidad, diabetes y resistencia a la insulina, podría explicarse por modificaciones epigenéticas (hipo o hiper metilación) en determinados genes. Además, por alteración del metabolismo de lípidos causado por deficiencia de vit B₁₂ debido a que la β -oxidación de ácidos grasos estaría bloqueada por aumento de ácido metil malónico (AMM) el cual inhibe la carnitina-palmitoil-transferasa (CPT1) (Figura 1B) conduciendo al aumento de la lipogénesis²². Otra causa puede ser un aumento del estrés oxidativo dado por la oxidación de la Hcy en la que se genera súper óxido y peróxido de hidrógeno³⁴, y por una disminución en los precursores de GSH como la cisteína³⁵.

Conclusiones y Discusión

Durante el desarrollo fetal el aporte de folatos y vit B₁₂ es esencial; su deficiencia ha sido asociada a numerosas alteraciones en el recién nacido lo que ha sido reportado en numerosas publicaciones científicas^{1,3,17,48}. Sin embargo, la fortificación de alimentos y suplementación adicional con AF durante el embarazo, sumado a una baja ingesta de vit B₁₂, podría generar un desbalance en la razón folatos/vit B₁₂ cuyas consecuencias a largo plazo se desconocen. Una razón aumentada de folato/vit B₁₂ durante el embarazo altera la metilación del DNA, ya sea por hiper o hipometilación de genes específicos, inhibiendo (genes protectores) o aumentando (genes relacionados con enfermedades) respectivamente, la expresión de esos genes en forma permanente conduciendo una programación fetal a largo plazo⁴³.

La información actual nos permite plantear que la ingesta excesiva de AF, una condición que podría producirse con el consumo elevado de alimentos fortificados con AF y suplementación adicional, no es inocua. Por ello, en países como Chile, donde la ingesta de alimentos fortificados con AF es elevada, la suplementa-

ción con AF durante el embarazo, especialmente en el último trimestre debería ser analizada. Adicionalmente, y como medida más extrema, se podría revisar la política de fortificación de la harina de trigo con AF, sobre todo considerando que esta medida involucra a toda la población. Estudios recientes han encontrado una asociación temporal entre la fortificación con AF y cáncer de colon en Chile y otros países⁴⁹.

Idealmente, intensificar la fiscalización de la fortificación para evitar sobre-fortificación. Una de las alternativas utilizadas en países europeos que no tienen una política de fortificación con AF, es la suplementación previa a la concepción y durante la gestación. Recientemente, Gildestad y cols. (2016), han observado que la estrategia mencionada se ha asociado con una reducción de la incidencia de DNT en el período 2006 a 2013 presentando un riesgo relativo ajustado de 0,54 (OR: 0,31-0,91; IC 95%), es decir, el consumo de suplementos de AF previo al embarazo redujo el riesgo de DNT en el recién nacido en un 46% similar a lo observado en Chile post fortificación de la harina de trigo con AF⁵⁰.

En resumen, sería necesario realizar más estudios en humanos, en esta área, que contribuyan con evidencia sólida para tomar las mejores decisiones en las políticas públicas de fortificación y suplementación con AF.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Financiación

FONDECYT 1130188.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Fekete K, Berti C, Cetin I, Hermoso M, Koletzko BV, Decsi T. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters. *Matern Child Nutr.* 2010;6 Suppl 2:23-38.
2. Barker DJP. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261:412-7.
3. Tamura T, Picciano MF. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:993-1016.
4. Li F, Watkins D, Rosenblatt DS. Vitamin B(12) and birth defects. *Mol Genet Metab.* 2009;98:166-72.
5. Imbard A, Benoist J-F, Blom HJ. Neural tube defects, folic acid and methylation. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10:4352-89.
6. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins and C. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline.* Washington (DC): National Academies Press (US); 1998.
7. Furness D, Fenech M, Dekker G, Khong TY, Roberts C, Hague W. Folate, vitamin B12, vitamin B6 and homocysteine: impact on pregnancy outcome. *Matern Child Nutr.* 2013;9:155-66.
8. Castillo-Lancellotti C, Tur JA, Uauy R. Impact of folic acid fortification of flour on neural tube defects: a systematic review. *Public Health Nutr.* 2013;16: 901-11.
9. Informe Programa fortificación de harinas. Ministerio de Salud Pública. Instituto de Salud Pública de Chile. Informe Programa Fortificación de Harinas. 2010.
10. Hertrampf E, Cortés F. National food-fortification program with folic acid in Chile. *Food Nutr Bull.* 2008;29:S231-7.
11. MINSAL. Ministerio de Salud Gobierno de Chile. Encuesta Nacional de Salud 2009 - 2010. Santiago de Chile: 2009.
12. Stamm RA, Houghton LA. Nutrient intake values for folate during pregnancy and lactation vary widely around the world. *Nutrients.* 2013;5:3920-47.
13. Hertrampf E, Cortés F, Erickson JD, et al. Consumption of folic acid-fortified bread improves folate status in women of reproductive age in Chile. *J Nutr.* 2003;133:3166-9.
14. Hirsch S, Ronco AM, Guerrero-Bosagna C, et al. Methylation status in healthy subjects with normal and high serum folate concentration. *Nutrition.* 2008;24:1103-9.
15. MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. *Lancet* (London, England). 1991;338:131-7.
16. Ministerio de Salud - Gobierno de Chile, Subsecretaría de Salud Pública, División Prevención y Control de Enfermedades, Departamento de Ciclo Vital, Programa Nacional Salud de la Mujer. *Guía Perinatal* 2015. 2015.
17. Castillo-Lancellotti C, Tur JA, Uauy R. Fortificación de la harina de trigo con ácido fólico en Chile. Consecuencias no intencionadas. *Rev Med Chil.* 2010;138:832-40.
18. Solanky N, Requena Jiménez A, D'Souza SW, Sibley CP, Glazier JD. Expression of folate transporters in human placenta and implications for homocysteine metabolism. *Placenta.* 2010;31:134-43.
19. Keating E, Araújo JR, Martel F. The placental transport of folates. Interference by xenobiotics and pathological conditions. *Canal BQ.* 2011;8:44-8.
20. Caviedes L, Iñiguez G, Hidalgo P, et al. Relationship between folate transporters expression in human placentas at term and birth weights. *Placenta.* 2016;38:24-8.
21. Castaño E, Caviedes L, Hirsch S, Llanos M, Iñiguez G, Ronco AM. Folate Transporters in Placentas from Preterm Newborns and Their Relation to Cord Blood Folate and Vitamin B12 Levels. *PLoS One.* 2017;12:e0170389.
22. Deshmukh U, Katre P, Yajnik CS. Influence of maternal vitamin B12 and folate on growth and insulin resistance in the offspring. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2013;74:145-54-6.
23. Krishnaveni G V, Veena SR, Karat SC, Yajnik CS, Fall CHD. Association between maternal folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in Indian children. *Diabetologia.* 2014;57:110-21.
24. Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, et al. Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia.* 2008;51:29-38.
25. Scott JM. Folate and vitamin B12. *Proc Nutr Soc.* 1999;58:441-8.
26. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? *Am J Clin Nutr.* 2009;89:693S-6S.
27. Visentin CE, Masih SP, Plumtree L, et al. Low Serum Vitamin B-12 Concentrations Are Prevalent in a Cohort of Pregnant Canadian Women. *J Nutr.* 2016;146:1035-42.
28. Sanchez H, Albala C, Lera L, Dangour AD, Uauy R. Effectiveness of the National Program of Complementary Feeding for older adults in Chile on vitamin B12 status in older adults; secondary outcome analysis from the CENEX Study (ISRCTN48153354). *Nutr J.* 2013;12:124.
29. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica.* 2014;44:480-8.
30. Obeid R, Fedosov SN, Nexo E. Cobalamin coenzyme forms are not likely to be superior to cyano- and hydroxyl-cobalamin in prevention or treatment of cobalamin deficiency. *Mol Nutr Food Res.* 2015;59:1364-72.
31. Molloy AM. Genetic aspects of folate metabolism. *Subcell Biochem.* 2012;56:105-30.
32. Schaevitz L, Berger-Sweeney J, Ricceri L. One-carbon metabolism in neurodevelopmental disorders: using broad-based nutraceuticals to treat cognitive deficits in complex spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;46 Pt 2:270-84.
33. Ereño-Orbea J, Majtan T, Oyenarte I, Kraus JP, Martínez-Cruz LA. Structural insight into the molecular mechanism of allosteric activation of human cystathionine β synthase by S-adenosylmethionine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:E3845-52.
34. Hoffman M. Hypothesis: hyperhomocysteinemia is an indicator of oxidant stress. *Med Hypotheses.* 2011;77:1088-93.
35. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic Biol Med.* 2016;95:27-42.
36. Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr.* 2004;23:588S-595S.
37. Tomar AS, Tallapragada DSP, Nongmaithem SS, Shrestha S, Yajnik CS, Chandak GR. Intrauterine Programming of Diabetes and Adiposity. *Curr Obes Rep.* 2015;4:418-28.
38. Penailillo R, Guajardo A, Llanos M, Hirsch S, Ronco AM. Folic acid supplementation during pregnancy induces sex-specific changes in methylation and expression of placental 11 β hydroxysteroid dehydrogenase 2 in rats. *PLoS One.* 2015;10:e0121098.
39. Waterland RA, Michels KB. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. *Annu Rev Nutr.* 2007;27:363-88.
40. Waterland RA, Dolinoy DC, Lin J-R, Smith CA, Shi X, Tahiliani KG. Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at Axin Fused. *Genesis.* 2006;44:401-6.
41. Murray R, Burdge GC, Godfrey KM, Lillycrop KA. Nutrition and Epigenetics in Human Health. *Med Epigenetics.* 2014;2:20-7.
42. Steegers-Theunissen RP, Obermann-Borst SA, Kremer D, et al. Periconceptional

- maternal folic acid use of 400 µg per day is related to increased methylation of the IGF2 gene in the very young child. *PLoS One*. 2009;4:1-5.
43. Joubert BR, den Dekker HT, Felix JF, et al. Maternal plasma folate impacts differential DNA methylation in an epigenome-wide meta-analysis of newborns. *Nat Commun*. 2016;7:10577.
 44. Keating E, Correia-Branco A, Araújo JR, et al. Excess perigestational folic acid exposure induces metabolic dysfunction in post-natal life. *J Endocrinol*. 2015;224:245-59.
 45. Kumar KA, Lalitha A, Pavithra D, et al. Maternal dietary folate and/or vitamin B12 restrictions alter body composition (adiposity) and lipid metabolism in Wistar rat offspring. *J Nutr Biochem*. 2013;24:25-31.
 46. Adaikalakoteswari A, Vatish M, Lawson A, et al. Low maternal vitamin B12 status is associated with lower cord blood HDL cholesterol in white Caucasians living in the UK. *Nutrients*. 2015;7:2401-14.
 47. Stewart CP, Christian P, Schulze KJ, et al. Low maternal vitamin B-12 status is associated with offspring insulin resistance regardless of antenatal micronutrient supplementation in rural Nepal. *J Nutr*. 2011;141:1912-7.
 48. Barua S, Kuizon S, Junaïd MA, et al. Folic acid supplementation in pregnancy and implications in health and disease. *J Biomed Sci*. 2014;21:77.
 49. Hirsch S, Sánchez H, Albala C, et al. Colon cancer in Chile before and after the start of the flour fortification program with folic acid. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21:436-9.
 50. Gildestad T, Oyen N, Klungsoyr K, Nilsen RM, Daltveit AK, Vollset SE. Maternal use of folic acid supplements and infant risk of neural tube defects in Norway 1999-2013. *Scand J Public Health*. 2016;619-26.