

FUNCIÓN DE LOS MICRONUTRIENTES DURANTE EL PERÍODO PERICONCEPCIONAL

Dres. Irene Cetin^{a,b}, C. Bertia^{a,b} y S. Calabrese^{a,b}

Resumen

Introducción. Se han establecido relaciones entre la deficiencia de micronutrientes y un riesgo significativamente alto de problemas reproductivos, desde infertilidad hasta defectos estructurales en el feto y enfermedades a largo plazo. En esta revisión, nos concentramos en los riesgos reproductivos relacionados con la ingesta de determinados micronutrientes durante el período periconcepcional, un momento clave para determinar el desarrollo y la salud del feto, ya que es la etapa en la que pueden iniciarse diversos trastornos.

Métodos. Se realizaron búsquedas en las bases de datos *Embase*, *Medline* y *PubMed*, en bibliografía científica indexada en *Google* y en los periódicos de la biblioteca en línea de la Universidad de Milán, a fin de identificar publicaciones relevantes. La búsqueda se orientó principalmente a estudios *in vivo* sobre humanos pero, cuando fue necesario, también se tuvieron en cuenta estudios sobre animales y experimentos *in vitro* y de cultivos celulares.

Resultados. Las etapas clave que podrían resultar afectadas por los nutrientes incorporados durante el período periconcepcional son la fertilidad, la concepción, la implantación, la organogénesis fetal y la placentación. Estos mecanismos son influidos por las concentraciones de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de homocisteína total (tHcy) en plasma. El período preconcepcional es de particular importancia, ya que afecta tanto la fertilidad como las primeras etapas de la gestación. La ingesta de macronutrientes en la dieta y el estado de salud materno afectan las diferentes fases del inicio y el desarrollo del embarazo, así como del embrión.

Conclusión. Si bien se han realizado pocos estudios sobre humanos, y solamente se han obtenido pruebas concluyentes respecto del consumo periconcepcional de folato y la prevención de defectos del tubo neural (DTN), los datos encontrados indican que los micronutrientes pueden afectar la fertilidad, la embriogénesis y la placentación y que el uso

profiláctico de algunos micronutrientes puede ser útil para prevenir diversas complicaciones durante el embarazo. Sería recomendable generar conciencia sobre la necesidad de una dieta saludable, no sólo durante el embarazo, sino también antes. Sin embargo, se necesitan más estudios sobre humanos para determinar con exactitud los requerimientos de micronutrientes durante el período periconcepcional.

Palabras clave: período periconcepcional, micronutrientes, ERO, nutrición antes de la concepción, embarazo.

Introducción

Se reconoce ampliamente que la dieta es uno de los factores ambientales que mayor influencia tiene sobre el desarrollo del embrión y del feto, así como sobre la salud materna (Keen y col., 2003). Se ha observado una asociación específica entre la deficiencia de micronutrientes y un incremento de los riesgos relacionados con la reproducción, desde infertilidad hasta defectos estructurales en el feto y enfermedades a largo plazo (McArdle y Ashworth, 1999; Ashworth y Antipatis, 2001; Black, 2001; Andersen y col., 2006). Se han obtenido datos que permiten indicar que el suplemento con micronutrientes puede ayudar a prevenir ciertos trastornos durante el embarazo (Ladipo, 2000; Bendich, 2001; Díaz y col., 2003). Algunos ejemplos: aumentar la ingesta de calcio y magnesio puede reducir el riesgo de trastornos hipertensivos inducidos por el embarazo, un consumo adecuado de hierro, zinc, yodo, calcio y ácido fólico durante el embarazo puede favorecer su desarrollo, aumentar la ingesta de ácido fólico antes del embarazo puede reducir los trastornos congénitos, aumentar la ingesta de ácido fólico y vitamina B₁₂ puede reducir la anemia megaloblástica materna, proporcionar suplementos de zinc durante el embarazo puede aumentar el peso al nacer y reducir la posibilidad de parto prematuro.

Además, dado que ciertos micronutrientes, como la vitamina A, el hierro y el zinc, también afectan el funcionamiento del sistema inmunitario, la deficiencia de estos componentes podría dar lugar a infecciones dañinas, y una mayor ingesta de vi-

a. Unidad de Obstetricia y Ginecología, Departamento de Ciencias Clínicas, Hospital L. Sacco, Universidad de Milán, Milán, Italia.

2. Centro de Investigación Fetal Giorgio Pardi, Universidad de Milán, Milán, Italia.

Correspondencia:

irene.cetin@unimi.it

tamina A permitiría reducir la mortalidad materna (West y col., 1999).

Asimismo, una ingesta adecuada de distintos nutrientes mejora directamente la calidad de la leche materna (Picciano, 2003; Allen, 2005). Sin embargo, aún no se ha establecido con claridad cuáles son los mecanismos biológicos responsables por estas asociaciones.

Dado que el embarazo está compuesto por diferentes etapas que conforman un continuo, el momento en que la madre sufre una deficiencia nutricional influye tanto sobre el transcurso del embarazo como sobre las posibles enfermedades que su hijo tendrá en la adultez, ya que colabora en la determinación de la fisiopatología posnatal y podría alterar el número de células o la diferenciación celular en el embrión en desarrollo (Newnham y col., 2002; Fleming y col., 2004; Rhind, 2004; Buckley y col., 2005; De Boo y Harding, 2006). Cada etapa del desarrollo embrionario y fetal se ve notablemente afectada por las hormonas y los nutrientes maternos (Ashworth y Antipatis, 2001; Sacks, 2004; Gluckman y col., 2008).

Por otro lado, los ejes somatotropos placentarios, maternos y fetales son fundamentales para regular esta interacción (Gluckman y Pinal, 2002).

Bloomfield y col. (2004) demostraron que la desnutrición periconcepcional en ovejas, entre los 60 días previos a la concepción y los 30 días posteriores, altera el desarrollo del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA) e induce una maduración acelerada varios meses antes, lo que permite sugerir que lo ocurrido durante el período cercano a la concepción afecta notablemente el desarrollo en etapas posteriores de la gestación. Los autores encontraron valores de base de cortisol significativamente mayores y una marcada asociación positiva entre la concentración plasmática de cortisol y hormona adrenocorticotrópica en fetos de ovejas desnutridas, respecto del grupo de control.

Edwards y McMillen (2002) demostraron que no era posible revertir el efecto negativo sobre el eje HHA fetal causado por la deficiencia de nutrientes materna antes de la gestación y durante la primera semana de embarazo si se comenzaba una dieta de mantenimiento a partir de la segunda semana de embarazo.

También, la restricción de nutrientes en las ovejas durante el desarrollo embrionario preimplantación determina una disfunción cardiovascular a largo plazo en la cría (Gardner y col., 2004). Resulta de interés que una dieta materna baja en proteínas durante los primeros días de embarazo redujo el número de células, tanto en la masa celular interna

como en el blastocisto intermedio a tardío, y redujo las concentraciones de insulina y aminoácidos esenciales en el suero materno. Estos datos permiten sugerir que la programación a largo plazo del crecimiento y la fisiología posnatales (por ejemplo, estrés metabólico) puede ser inducida irreversiblemente durante el período preimplantación por un déficit de proteínas en la madre, que restringe la proliferación embrionaria temprana (Kwong y col., 2000). De modo similar, los experimentos de transferencia de embriones de ratones permitieron revelar una correlación entre una dieta materna baja en proteínas previa a la implantación y ciertas condiciones en la cría como un mayor peso desde el nacimiento, hipertensión y comportamiento anómalo relacionado con la ansiedad. Esta correlación indica que el aumento del peso perinatal debido a la falta de proteínas en la madre fue inducido dentro de los blastocistos, donde, según proponen los autores, el endodermo visceral del saco vitelino actuó como mediador (Watkins y col., 2008).

Además, mediante estudios de hijos de mujeres expuestas a la hambruna invernal holandesa de 1944, se demostró que la falta de nutrientes durante el primer trimestre del embarazo guarda relación con una mayor prevalencia de arteriopatía coronaria, mayores concentraciones lipídicas y obesidad (Ravelli y col., 1999; Roseboom y col., 2000, 2001), mientras que cuando la hambruna afectó una etapa posterior de la gestación, los hijos sufrían una menor tolerancia a la glucosa en la vida adulta (Ravelli y col., 1998).

El período periconcepcional, específicamente, es clave para determinar el desarrollo y la salud fetal. El origen de varias malformaciones y trastornos relacionados con el embarazo (por ejemplo: anomalías congénitas, pérdida fetal, aborto, crecimiento fetal insuficiente, parto prematuro y preeclampsia) podría darse durante este período (Steeegers, 2005).

El objetivo de esta revisión es resumir los hallazgos recientes sobre los factores de riesgo para la reproducción relacionados con los micronutrientes incorporados durante el período periconcepcional. Se evaluaron estudios *in vivo* sobre humanos. La mayoría de estos estudios son observacionales y retrospectivos, y se concentran en la ingesta de calorías y macronutrientes. Los datos encontrados sobre la relación específica entre cada micronutriente y los trastornos reproductivos son escasos, incoherentes o contradictorios (Osrin y col., 2000; Shah y Sachdev, 2004). Por lo tanto, también se incluyeron estudios *in vitro* y de cultivo celular sobre animales, a fin de investigar los efectos de los micronutrientes incorporados durante las diferentes

etapas sobre el inicio y el curso del embarazo, y sobre el desarrollo del embrión.

Métodos

Se realizaron búsquedas en las bases de datos *Embase*, *Medline* y *PubMed* (todos los años de publicación), bibliografía científica indexada en *Google* y periódicos de la biblioteca en línea de la Universidad de Milán, a fin de identificar todos los artículos relevantes escritos en inglés. Algunos de los términos buscados fueron: ingesta de micronutrientes, suplementos de micronutrientes, deficiencia de micronutrientes, período periconcepcional, período preconcepcional, ingesta alimentaria, dieta, embriogénesis, placentación, salud fetal, nutrición materna, desarrollo del embarazo, estrés oxidativo (EO) y fertilidad. Se tuvieron en cuenta experimentos sobre humanos y sobre animales, estudios *in vitro* y cultivos celulares. Se realizó una evaluación crítica de los resúmenes a fin de identificar los artículos relevantes que se refirieran a las etapas clave del período periconcepcional que podrían estar afectadas por la nutrición, y donde se analizaran los efectos de la ingesta de micronutrientes y la salud materna durante las diferentes etapas del inicio y el desarrollo del embarazo y el embrión. Se examinaron las listas de referencia de los artículos incluidos en esta revisión en busca de artículos adicionales, y también se tuvieron en cuenta libros.

Función de micronutrientes específicos incorporados en la dieta

La malnutrición es el estado producido por una ingesta inadecuada de alimentos. Este estado puede deberse a la falta de macronutrientes, es decir, desnutrición (malnutrición de proteínas o calorías, o deficiencias vitamínicas o minerales) o al exceso de macronutrientes, es decir, hipernutrición (obesidad) o de sustancias inadecuadas (alcoholismo). Resulta interesante que la deficiencia de vitaminas o minerales puede presentarse tanto con la desnutrición (especialmente en los países en desarrollo o en transición) como con la hipernutrición (Young y col., 2004). Por ejemplo, los patrones y las tendencias occidentales de alimentación difundidos mundialmente, con gran cantidad de calorías y pocos nutrientes, que suelen incluir *snacks*, comidas rápidas, bebidas gaseosas y alimentos precocinados, y que suelen omitir el desayuno, presentan un desequilibrio nutricional. Generalmente, estas dietas implican una ingesta de micronutrientes que no cumple con los valores diarios recomendados (Nicklas y col., 2001; Paeratakul y col., 2003; Drewnowski y Spencer, 2004; Cordain y col., 2005).

Por este motivo, el consumo inadecuado de micronutrientes, representa un tema importante para la salud pública en todo el mundo, especialmente, para los grupos de población vulnerables, como niños, ancianos, embarazadas y mujeres en período de lactancia. Hay pruebas sólidas de que una ingesta adecuada de micronutrientes previene varios trastornos congénitos graves, reduce el riesgo de parto prematuro y nacimiento con bajo peso, y mejora la salud de la madre. Se cree que los micronutrientes afectan el desarrollo del embarazo al alterar el metabolismo de la madre y el feto mediante su función o participación en las enzimas, las vías de transducción y transcripción de señales, y el estrés oxidativo (EO) (McArdle y Ashworth, 1999). En este trabajo, abordamos los micronutrientes sobre los cuales hay información suficiente y que representan una mayor preocupación para la salud pública. En la *Tabla 1* se muestran las principales funciones de estos elementos.

Antioxidantes

Las complejas defensas antioxidantes están distribuidas en varios compartimientos celulares y en el medio externo. A su vez, el plasma contiene una variedad de sustancias con propiedades antioxidantes.

Los antioxidantes son necesarios para la homeostasis. Un desequilibrio entre los antioxidantes y los prooxidantes puede provocar daños por estrés oxidativo (EO), un elemento clave de la patogénesis de diversas enfermedades (Agarwal y col., 2008), ya que afecta el estado redox, las vías de señalización relacionadas con este estado y la expresión genética (revisión de Ruder y col., 2008). Mediante contribuciones directas e indirectas, los antioxidantes mejoran varios aspectos de la respuesta inmunitaria (Bendich, 2001; Arrigoni y De Tullio, 2002) y limitan los aspectos patológicos de la respuesta mediada por la citoquina.

Los antioxidantes están presentes en formas enzimáticas (por ejemplo: superóxido dismutasa [SOD], catalasa, glutatión [GSH] peroxidasa y GSH reductasa) y no enzimáticas (por ejemplo: vitamina C, vitamina E, selenio, zinc, taurina, hipotaurina, GSH, β -caroteno y caroteno) (Agarwal y col., 2008). Muchos antioxidantes se incorporan a través de la dieta, como la vitamina E y otros tocoferoles, la vitamina C o el β -caroteno, mientras que las proteínas y los péptidos, como el glutatión, la ceruloplasmina y la metalotioneína, se sintetizan de forma endógena (Grimble, 1998). La vitamina E es un antioxidante que impide la propagación del daño ocasionado por el radical libre en las membranas biológicas, por lo

que evita la autooxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Traber, 2006). La vitamina C o ácido l-ascórbico, presente principalmente en frutas y verduras, tiene un efecto protector contra el daño oxidativo inducido por el radical libre, ya que actúa como agente reductor (Levine y col., 2006). También es importante para la síntesis del colágeno, la carnitina y las catecolaminas. Otras vitaminas solubles en agua, como la vitamina B₁₂, el ácido fólico, la vitamina B₆ o la riboflavina, son fundamentales para la defensa oxidativa. Los carotenoides y los polifenoles son antioxidantes potentes. Otros micronutrientes, como el magnesio, el cobre, el zinc, el manganeso y el selenio, participan en la defensa antioxidante como cofactores de las enzimas (el zinc en la metalotioneína, el cobre en la ceruloplasmina, el cobre, el selenio y el zinc en la SOD, el selenio en la GSH peroxidasa) (Fang y col., 2002).

Folato

El folato se encuentra en diversos alimentos (hortalizas de hoja verde, frutas, hígado, pan, etc.). Una ingesta inadecuada de folato en la dieta reduce la biosíntesis del ADN y, por lo tanto, la división celular, lo cual causa anemia, leucopenia y trombocitopenia, entre otras enfermedades (Informe FAO/OMS, 2004a). La reducción del ciclo de metilación eleva la concentración plasmática de homocisteína total (tHcy), o hiperhomocisteinemia (HHCY). La HHCY está

relacionada con la etiología de varios trastornos, como la trombosis arterial o venosa, la demencia vascular por desmielinización y algunas neuropatías como la degeneración combinada subaguda de la médula espinal y los nervios periféricos. Un metaanálisis de estudios aleatorios permitió demostrar que un suplemento diario de 0,5 a 5 mg de ácido fólico y aproximadamente 0,5 mg de vitamina B₁₂ permitiría reducir las concentraciones de homocisteína en sangre en una proporción de entre un cuarto y un tercio (Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration, 1998). Además, gracias a su eficacia para la eliminación de radicales libres oxidantes, el ácido fólico actúa como antioxidante y protege componentes como las membranas celulares o el ADN frente al daño de los radicales libres (Joshi y col., 2001).

Vitamina B₁₂ o cobalamina

Las bacterias y las algas sintetizan la vitamina B₁₂, que suele incorporarse en la dieta mediante productos de origen animal, como leche, hígado, carne o huevos (Informe FAO/OMS, 2004b). La baja concentración de vitamina B₁₂ está relacionada con la HHCY y con concentraciones elevadas de ácido metilmalónico. Las principales manifestaciones clínicas de la deficiencia de vitamina B₁₂ son la anemia, la mielopatía y la neuropatía (Carmel, 2006). En el estudio *Pune Maternal Nutrition Study* se realizó una observación interesante, ya que se

Tabla 1. Principales funciones de los micronutrientes que afectan el período periconcepcional.

Micronutriente	Función	Referencias
Folato	Participa de la replicación de ADN (ciclo celular) y del ciclo de metilación (ciclo de los aminoácidos cisteína y metionina).	Informe FAO/OMS (2004a), Scholl y Johnson (2000)
Vitamina B₁₂	Conversión de homocisteína en metionina como cofactor de la metionina sintasa.	Ryan-Harshman y Aldoori (2008)
Vitamina B₆	Metabolismo de aminoácidos, lípidos, unidades monocarbono y glucógeno como coenzima; vías de gluconeogénesis, biosíntesis del grupo hemo y de neurotransmisores.	Mackey y col. (2006)
Vitamina A	Crecimiento y diferenciación de varias células y tejidos.	Ross (2006)
Antioxidantes	Sistemas de defensa contra especies de radical libre.	Fang y col. (2002)
Hierro	Hematopoyesis, metabolismo del ácido nucleico, transporte de oxígeno a los tejidos en hemoglobina de glóbulos rojos, medio de transporte de electrones dentro de las células, participación en importantes sistemas enzimáticos.	Cook y col. (1992), Beard (2003), Informe FAO/OMS (2004c), Wood y Ronnenberg (2006)
Zinc	Funciones estructurales, regulatorias y catalíticas como cofactor de varias metaloenzimas.	McCall y col. (2000), Hambidge (2000)
Cobre	Neurotransmisión, maduración de neuropéptidos, fosforilación oxidativa, defensa.	Turnlund (2006)

demonstró que a los 6 años de edad, los niños cuyas madres habían tenido una baja concentración de vitamina B₁₂ a las 18 semanas de gestación y una concentración elevada de folato a las 28 semanas, presentaban una mayor resistencia a la insulina (Yajnik y col., 2008).

Además, se estableció una asociación entre una elevada concentración de folato en eritrocitos en la madre a las 28 semanas de gestación y un mayor índice de masa grasa y un porcentaje superior de grasa corporal en el niño. Los autores suponen que la deficiencia de vitamina B₁₂ impide la generación de metionina a partir de la homocisteína, ya que atrapa el folato como 5-methyltetrahydrofolato y, en consecuencia, reduce la síntesis de proteínas y la deposición de tejido magro.

Asimismo, el aumento de la lipogénesis podría deberse a la inhibición de la β -oxidación, como resultado de las elevadas concentraciones de metilmalonil coenzima A. De hecho, podría suponerse que el desequilibrio entre una cantidad adecuada de metilo aportado por el folato y un bajo cofactor de vitamina B₁₂ provocaría un mayor agotamiento de los depósitos mitocondriales de cobalamina, y así alteraría el funcionamiento de otras reacciones que dependen de la vitamina B₁₂ (Rosemberg, 2008). En conjunto, estos resultados permiten postular que los defectos en el metabolismo de las unidades monocarbono cumplen un papel determinante en la programación intrauterina de enfermedades que se manifiestan durante la adultez.

Vitamina B₆

Los alimentos de origen animal son ricos en vitamina B₆, al igual que los granos enteros y varias verduras. La deficiencia de vitamina B₆ puede ocasionar HHCY (Mackey y col., 2006). Además, una baja concentración de vitamina B₆ en plasma es un factor de riesgo independiente para la trombosis (Saibeni y col., 2003).

Vitamina A

La vitamina A puede obtenerse de los alimentos como vitamina A preformada, en forma de retinol o retinil-ésteres de origen animal, o como provitamina A de origen vegetal, es decir, carotenoides de provitamina A como el β -caroteno. La mayor concentración de vitamina A se encuentra en la carne de hígado y el aceite de hígado de pescado. Las verduras de hoja amarilla y verde proporcionan carotenoides de provitamina A (Ross, 2006). El retinol es el metabolito endógeno de la vitamina A, y el ácido retinoico (RA), derivado de esta vitamina, es un compuesto morfogenéticamente activo. La vitamina A afecta

la visión y el metabolismo de retinoides oculares, así como la diferenciación celular (relacionada con el desarrollo embrionario y el sistema inmunitario). Los carotenoides tienen propiedades antioxidantes. La deficiencia de vitamina A está vinculada con xeroftalmia y anemia por deficiencia de vitamina A, mientras que la hipervitaminosis (exceso de esta vitamina) estaría vinculada con teratogénesis, anomalías hepáticas y pérdida mineral ósea.

Se ha observado que, en los roedores, el control de la determinación neural y la diferenciación se interrumpe cuando disminuye la concentración de RA, mientras que si la concentración de RA es inadecuadamente elevada, se producen anomalías en el desarrollo de los núcleos del cerebelo y el rombencéfalo. Por lo tanto, se supone que incluso el cerebro adulto puede ser susceptible al desequilibrio de RA, especialmente el hipocampo (McCaffery y col., 2003).

Hierro

Las fuentes nutricionales de hierro son la carne vacuna, de pollo y de pescado, los cereales, el pan y las verduras verdes (Informe FAO/WHO, 2004c). En todo el mundo, la deficiencia de hierro representa el déficit nutricional más frecuente (Scholl, 2005), en algunos casos acompañado de anemia. Si bien la deficiencia de hierro es una causa común de anemia, ésta también puede deberse a otras causas (por ejemplo, deficiencia de folato, vitamina B₁₂ y vitamina B₆).

Se han realizado estudios sobre humanos y sobre animales donde se ha demostrado que la anemia por deficiencia de hierro durante las primeras etapas de la vida está relacionada con alteraciones del desarrollo conductual y neural, y se ha sugerido que tiene efectos irreversibles sobre las condiciones neuroquímicas y neurobiológicas del sujeto (revisado por Beard, 2003, 2007). La explicación de estos efectos puede estar relacionada con alteraciones de la morfología, la composición neuroquímica y la biogenética en el sistema nervioso central. De hecho, los datos obtenidos sobre niños indican la presencia de alteraciones de la mielinización de la materia blanca, cambios en el metabolismo de monoaminas en el cuerpo estriado y el funcionamiento del hipocampo (Beard, 2008).

Zinc

El zinc se encuentra en abundancia en la carne vacuna, los mariscos, las legumbres, las leguminosas y los cereales de grano entero (Informe FAO/WHO, 2004d; King y Cousins, 2006). El zinc tiene propiedades antioxidantes, ya que contrarresta la oxidación mediante la unión de grupos sulfhidrilos en proteínas

y la ocupación de los sitios de unión del hierro y el cobre en los lípidos, las proteínas y el ADN (Zago y Oteiza, 2001). Se han encontrado pruebas de daño oxidativo en ratas y ratones con deficiencia de zinc (Oteiza y col., 1995), aunque se ha demostrado que las sales de zinc protegen contra el daño oxidativo y el agotamiento del glutatión en ratones (Bagchi y col., 1998). Además, el zinc se encuentra en el cerebro, ligado a las proteínas, y es importante para su estructura y funcionamiento (Bhatnagar y Taneja, 2001).

Cobre

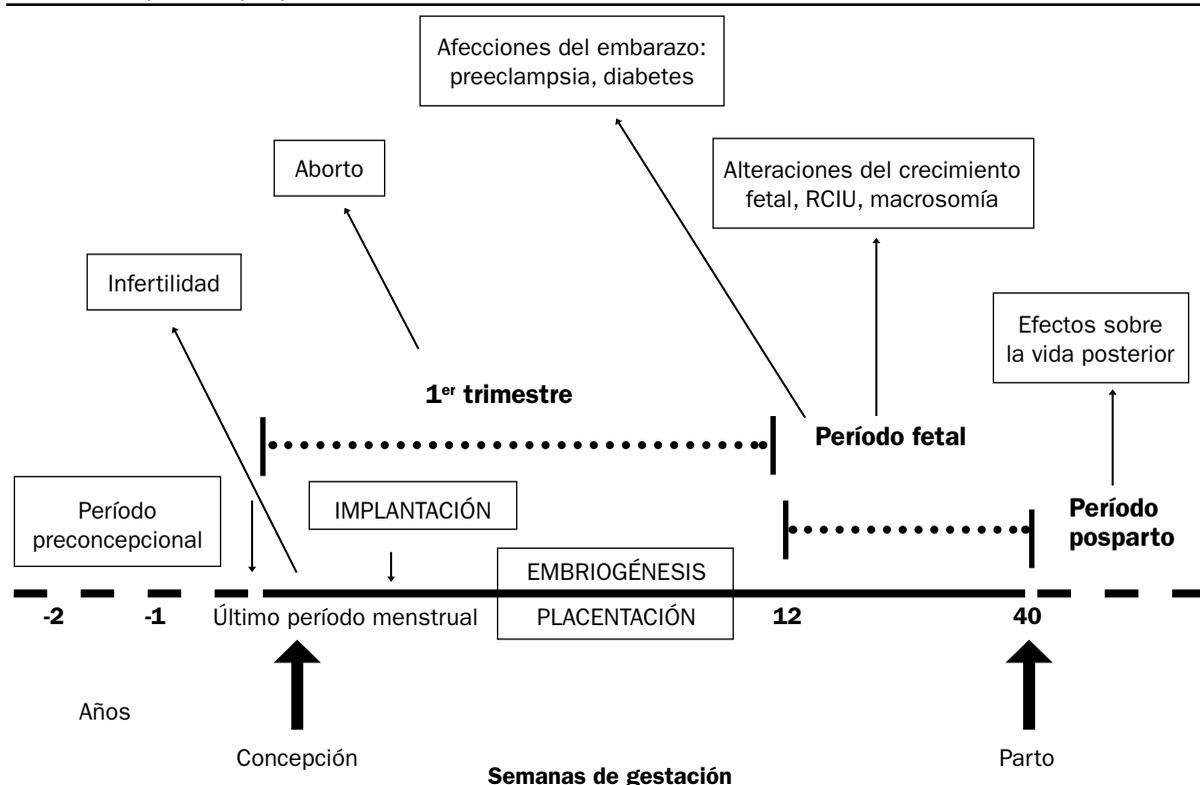
Las principales fuentes alimentarias de cobre son los mariscos, las nueces, las semillas, las legumbres, el salvado y germen de trigo, el hígado y las vísceras. El cobre tiene varias funciones biológicas relacionadas con la formación de tejidos conectivos, el metabolismo del hierro, el funcionamiento cardíaco, la función inmunitaria (Turnlund, 2006) y el desarrollo del sistema nervioso (Prohaska, 2000; Gybina y Pro-

haska, 2003). Afortunadamente, se sigue recabando información sobre la función del hierro y el cobre en el desarrollo neurocognitivo y neuroconductual durante los últimos dos tercios de la gestación, y sobre las consecuencias a largo plazo de la deficiencia perinatal de estos nutrientes (Beard y col., 2003; Penland y Prohaska, 2004; Gybina y Prohaska, 2006; Beard, 2008). Se ha reconocido que el equilibrio de cobre y hierro garantiza un adecuado desarrollo cerebral, ya que la deficiencia de hierro provoca hipomielinización (Prohaska y Gybina, 2005), lo cual permite sugerir que la acumulación de hierro en el cerebro de ratas durante el crecimiento perinatal depende de la adecuada ingesta de cobre de las madres.

Etapas clave y mecanismos posiblemente afectados por la nutrición durante el período periconcepcional

Las etapas del período periconcepcional son: preconcepción, concepción, implantación, placen-

Gráfico 1. Diferentes etapas del embarazo que representan un continuo, desde el período preconcepcional hasta el período posparto.



Durante cada etapa pueden originarse varias malformaciones y trastornos relacionados con el embarazo, tanto generales como específicos. Preconcepción, concepción, implantación, placentación, embriogénesis y organogénesis son las etapas del período periconcepcional, que representa un lapso fundamental para determinar el desarrollo fetal. Desde el punto de vista nutricional, la ingesta preconcepcional afecta el estado de salud general de las mujeres en edad fértil y, por lo tanto, su potencial de reproducción. En consecuencia, la nutrición de la madre durante este período afecta el inicio y las primeras etapas del embarazo, y altera entonces tanto la salud materna como el desarrollo embrionario durante todo el embarazo.

tación y embriogénesis u organogénesis (*Gráfico 1*), más otros procesos celulares específicos que tienen lugar durante las diferentes etapas de la embriogénesis (Hirschi y Keen, 2000). Más allá del efecto de la información genética, cada uno de estos pasos puede verse afectado por la nutrición materna y, específicamente, por los desequilibrios de micronutrientes (Finnell y col., 2004; Allen, 2005). En particular, estos desequilibrios pueden alterar la organogénesis fetal (embriogénesis) y la placentación.

Embriogénesis

La asociación entre la concentración de folato de la madre y los defectos del tubo neural (DTN) en el feto ha sido ampliamente reconocida, ya que se ha demostrado en varios estudios intervencionales y observacionales (revisión de de Bree y col., 1997; Pitkin, 2007). El tubo neural da origen a la columna vertebral, y los DTN ocurren cuando el cerebro y el cráneo, o la médula espinal y la columna espinal protectora, no se desarrollan correctamente durante las primeras cuatro semanas posteriores a la concepción. El folato actúa como coenzima para la transferencia de unidades monocarbono en el metabolismo de aminoácidos y ácidos nucleicos. Además, el folato aporta el sustrato para la remetilación de la homocisteína a metionina, catalizada por la metionina sintasa y la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

Algunos autores han propuesto que la alteración del metabolismo de la homocisteína que provoca HHCY es el mecanismo implicado en los DTN, ya que las concentraciones de tHcy encontradas en el plasma o el líquido amniótico de los niños con DTN y de sus madres son superiores a las observadas entre quienes no padecían estos defectos (Locksmith y Duff, 1998; Tamura y Picciano, 2006). Además, la HHCY depende de ciertas afecciones hereditarias y adquiridas (polimorfismos genéticos de MTHFR 677 C→T y 1298 A→C, metionina sintasa [MTR] 2756 C→G, metionina sintasa reductasa [MTRR] 66 A→G) (Guéant y col., 2003) y de deficiencias de folato o vitamina B₆/B₁₂ debido a la desregulación de su metabolismo normal o a una baja ingesta en la dieta (Steen y col., 1998).

Implantación y placentación

El proceso de implantación y placentación también puede verse alterado por la nutrición materna. El funcionamiento placentario es fundamental para la nutrición del feto durante el embarazo (Cross y Mickelson, 2006; Jansson y Powell, 2006; Pafilis y col., 2007). La placenta forma una estructura vellosa con varias ramificaciones que proporciona nu-

trientes y oxígeno al feto (Cetin y col., 2005) para garantizar el crecimiento fetal adecuado (Sparks y col., 1998). Específicamente, la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) se asocia con diversas alteraciones de las funciones de transporte placentario, mientras que la aceleración del crecimiento fetal, combinado con diabetes materna, se presenta con un aumento de la actividad de los sistemas placentarios (Sacks, 2004; Cetin y Alvino, 2009). La nutrición puede estar relacionada con alteraciones del desarrollo de la placenta. De hecho, aunque el feto haya tenido un crecimiento normal en el comienzo, puede experimentar restricciones de crecimiento durante la segunda parte de la gestación, debido a una falta de nutrientes ocurrida en una etapa más temprana. En la primera etapa del embarazo, las arterias espirales musculares maternas se transforman en vasos recubiertos de fibrinoides, y tras la invasión de los citotrofoblastos endovasculares, estos vasos bañan las vellosidades coriónicas de sangre materna que transporta oxígeno y nutrientes para el desarrollo fetal. Se han informado defectos en este proceso en casos de embarazos complicados por RCIU (Sibley y col., 2005; Cetin y Alvino, 2009). Algunos de los mecanismos propuestos incluyen una reducción de la cantidad y la superficie de las arteriolas de las vellosidades terciarias, una obliteración vascular secundaria (Gagnon, 2003), o un aumento de la susceptibilidad de los trofoblastos a la apoptosis debido a citoquinas inflamatorias o reducción de oxígeno (Crocker y col., 2003).

Asimismo, se ha sugerido que la liberación inadecuada de los agentes vasoactivos óxido nítrico (NO) y monóxido de carbono por las células trofoblásticas invasoras reduce la transformación de la arteria espiral (Lyll, 2003).

Diabetes

En un modelo con ratones se observó que el desarrollo de blastocistos y la posterior implantación se ven afectados por la concentración elevada de D-glucosa en las madres diabéticas (Leunda-Casi y col., 2001, 2002). Esta relación también se ha demostrado en cultivos de embriones de rata, así como la presencia de EO con diabetes (Cedeberg y col., 2001; Ornoy, 2007). La diabetes está relacionada con un desequilibrio entre las defensas prooxidantes y antioxidantes a favor de los prooxidantes, lo que provoca modificaciones de la estructura y la función oxidativa de las biomoléculas. Estas modificaciones pueden provocar una disfunción trofoblástica secundaria (Janiaux y col., 2006). La eliminación de los radicales libres se logra mediante reacciones enzimáticas y no enzimáticas.

Especies reactivas de oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno (ERO), las especies reactivas de nitrógeno y las especies reactivas de cloro son producidas en los seres humanos y los animales en determinadas condiciones fisiológicas y patológicas (revisión de Fang y col., 2002).

Los radicales libres tienen una función clave en el origen de la vida y la evolución biológica, por ejemplo, en la transducción de señales y la transcripción genética, en la regulación de la agregación plaquetaria, en la adhesión y la angiogenesis de leucocitos, o en la mediación de la respuesta inmunitaria. Como oxidantes e inhibidores de las enzimas con centro de hierro-sulfuro, las ERO provocan la oxidación de biomoléculas como el ADN, los lípidos o las proteínas, por lo que provocan daño y muerte celular (efecto citotóxico). Además, las ERO participan de la reproducción femenina, en procesos fisiológicos como la foliculogénesis, la maduración de ovocitos, la ovulación, la formación del cuerpo lúteo, el ciclo endometrial, la luteólisis, la implantación, la embriogénesis y el embarazo (revisión de Taylor, 2001, Agarwal y col., 2005, 2008). Tal como se ha demostrado en sistemas de cultivo embrionario y en hembras embarazadas con diabetes inducida, las ERO podrían afectar la teratogénesis diabética y contribuir al desequilibrio de prostaglandina, ocasionado por las vías de mioinositol y ácido araquidónico, lo cual vincula mecanismos potencialmente teratogénicos (Akazawa, 2005).

En estudios *in vitro* de ratas, se observó que una concentración elevada de glucosa impidió el desarrollo embrionario preimplantación o indujo la degeneración de los embriones debido a apoptosis de los blastocistos (Kos y Vogel, 2005) por la supresión de la expresión de insulina y glucoquinasa, la reducción de la función mitocondrial, el aumento de la formación de ERO y la aceleración de la apoptosis. Otras causas fueron la activación de las vías habituales de señalización de estrés, lo que puede afectar los ejes proliferativos, metabólicos y neuroendócrinos durante el desarrollo posterior (Evans y col., 2002). Por lo tanto, el desequilibrio del control homeostático de la exposición a ERO provoca EO, situación que puede afectar la fertilización e inducir la apoptosis y, entonces, provocar fragmentación del embrión, problemas para la implantación o aborto (Agarwal y col., 2008), o alterar la actividad metabólica dentro de los embriones para el desarrollo fetal y posnatal.

El EO durante la embriogénesis y en la placenta podría estar relacionado con complicaciones durante el embarazo, como anomalías congénitas,

gestación anembrionada, aborto y preeclampsia (Evers y col., 2004; Jauniaux y col., 2006; Agarwal y col., 2005; Forges y col., 2007). Resulta de interés que en un modelo de embriopatía diabética en ratones se ha demostrado una asociación entre los DTN y la expresión deficiente de Pax3, un gen necesario para el cierre del tubo neural, y que el EO inducido por la hiperglucemia también cumplía una función (Li y col., 2005).

Preeclampsia y RCIU

La patogénesis de la preeclampsia se establece durante el primer trimestre, cuando la transformación inadecuada de las arterias espirales ocasiona una reducción de la perfusión de la placenta durante el tercer trimestre. El EO y los mediadores inflamatorios también están involucrados en la implantación anormal asociada con la preeclampsia y la RCIU. De hecho, no solo la disfunción endotelial es una causa importante del trastorno, sino que además las alteraciones del funcionamiento preceden la preeclampsia observable clínicamente, lo cual permite sugerir que existe una interacción entre la menor perfusión y los factores maternos (Roberts y col., 2003).

La placentación anormal provoca isquemia placentaria, lo que genera EO placentario y aumenta los valores de peroxidación lipídica (revisión de Agarwal y col., 2008). Se ha relacionado la HHcy con complicaciones del embarazo, como desprendimiento o infarto placentario y preeclampsia (Goddijn-Wessel y col., 1996; Tamura y Picciano, 2006; Braekke y col., 2007). En este contexto, se observó que la concentración de vitamina B₆ de la madre influía sobre los procesos reproductivos a lo largo de todo el embarazo (Ronnenberg y col., 2007). Los autores informaron que también se había encontrado esta relación en un estudio de casos y controles (Wouters y col., 1993), donde se demostró la presencia de concentraciones plasmáticas de B₆ significativamente bajas en las mujeres con antecedentes de aborto espontáneo recurrente, en comparación con las pacientes del grupo de control. Además, se detectó una concentración significativamente menor de vitamina B₆ en plasma entre las mujeres con desprendimiento o infarto de placenta que entre las mujeres del grupo de control (Goddijn-Wessel y col., 1996).

Asimismo, en algunos estudios se han documentado asociaciones entre una baja concentración de vitamina B₆ y respuestas inflamatorias (Friso y col., 2001; Saibeni y col., 2003). A su vez, la inflamación fue vinculada con pérdidas tempranas del embarazo (Thellin y Heinen, 2003).

Influencia de la dieta y el estado de salud de la madre antes de la concepción

La nutrición de la madre durante el período preconcepcional es fundamental para la salud reproductiva (Allaire y Cefalo, 1998), ya que afecta tanto la fertilidad como las primeras etapas de la gestación. Contar con una reserva insuficiente de energía puede tener un efecto negativo sobre la ovulación y los ciclos menstruales, y complicar el comienzo del embarazo. Por otro lado, una acumulación excesiva de grasa puede inhibir la concepción, ya que afecta la ovulación debido a la insensibilidad a la insulina, el exceso de hormonas sexuales masculinas y la superproducción de leptina (grupo de trabajo de laESHRE, Capri). También se sabe que el sobrepeso y la obesidad antes de la concepción aumentan el riesgo de complicaciones maternas durante el embarazo, como hipertensión gestacional, diabetes gestacional, parto por cesárea, macrosomía, así como de trastornos congénitos como DTN, otras anomalías neurológicas, enfermedad cardíaca congénita, malformaciones intestinales y diversas anomalías congénitas (ADA, 2002; Watkins y col., 2003; Bartley y col., 2005; Catalano y Ehrenberg, 2006; Oken, 2009).

Son interesantes los resultados del estudio sobre la salud de las enfermeras *Nurses' Health Study II* (un estudio de cohortes prospectivo de más de 116.000 mujeres de entre 24 y 42 años), donde se demostró que las características de una dieta que favoreciera la fertilidad eran una baja ingesta de grasas trans con una mayor ingesta simultánea de grasas monoinsaturadas, una baja ingesta de proteínas animales y mayor ingesta de proteínas vegetales, una mayor ingesta de carbohidratos ricos en fibras y con bajo índice glucémico, una mayor preferencia por los productos lácteos ricos en grasas y una mayor ingesta de hierro no hemínico (Chavarro y col., 2007a). En particular, las grasas trans insaturadas incorporadas en la dieta pueden aumentar el riesgo de infertilidad ovulatoria cuando se consumen en lugar de los carbohidratos o las grasas insaturadas comúnmente encontradas en aceites vegetales no hidrogenados (Chavarro y col., 2007b). Al reemplazar fuentes animales de proteína por fuentes vegetales se reduce el riesgo de infertilidad debido a anovulación (Chavarro y col., 2008).

En madres holandesas de niños con defectos del tracto de salida (OTD), se observó una ingesta dietaria de grasas saturadas antes de la concepción mayor que la de las mujeres del grupo de control (Smedts y col., 2008). En un estudio de casos y controles, el consumo de una dieta occidental (elevada ingesta de vísceras, carnes rojas, carne procesada, pizza, legumbres, papa, papas fritas, condimentos y

mayonesa, con una baja ingesta de frutas, es decir, pobre en fibra, hierro, vitaminas, antioxidantes y carbohidratos complejos y con elevados niveles de ácidos grasos saturados, proteínas, azúcar y sodio) por parte de la madre aproximadamente duplicó el riesgo de que el hijo padeciera labio leporino o paladar hendido, en comparación con las madres que consumían una dieta mediterránea (elevada ingesta de pescado, ajo, nueces y verduras) (Vujkovic y col., 2007). Estos factores están relacionados con el EO y las vías inflamatorias que afectan la fertilidad. Los efectos patológicos se manifiestan mediante diversos mecanismos, como daño lipídico y del ADN, inhibición de la síntesis de proteínas y agotamiento del ATP (Agarwal y col., 2005). Los nutrientes modulan la producción de citoquinas mediante su influencia sobre las concentraciones tisulares de las moléculas involucradas en la composición biológica de las citoquinas. Existe una relación entre la producción anormal de citoquinas y la aterosclerosis. En diversos estudios se ha analizado la asociación entre la ingesta de grasas en la dieta y la aterosclerosis. En particular, se ha sugerido una asociación entre la ingesta de grasas saturadas y la aterosclerosis y la arteriopatía coronaria. Estas grasas saturadas incluidas en la dieta derivan principalmente de fuentes animales y contienen colesterol. El colesterol puede aumentar la producción de citoquinas.

Se ha informado que la incidencia de defectos congénitos en los hijos de madres con diabetes pregestacional es casi 3 veces superior a la incidencia entre los hijos de una población sin diabetes (Sheffield y col., 2002). Casele y Laifer (1998) han demostrado que las mujeres diabéticas suelen comenzar su embarazo con un bajo control glucémico.

En algunos estudios observacionales, se demostró una asociación entre un breve intervalo entre embarazos y un mayor riesgo de complicaciones, probablemente debido a la carencia de nutrientes de la madre (Smith y col., 2003). Según lo sugerido por Smits y Essed (2001), la deficiencia de folato en la madre podría ser un factor relevante, especialmente respecto del riesgo de restricción del crecimiento fetal (van Eijsden y col., 2008).

Otro problema potencial es que las mujeres en edad fértil y las mujeres embarazadas comienzan su embarazo sin reservas adecuadas de hierro o con deficiencia de hierro (Viteri y Berger, 2005; Milman, 2006). Se han establecido asociaciones entre la anemia preconcepcional, especialmente la anemia por deficiencia de hierro, y un menor crecimiento infantil y un mayor riesgo de complicaciones del embarazo (Scholl y Hediger, 1994; Ronnenberg y col., 2004; Buckley y col., 2005). Es posible suponer

que la anemia durante el período periconcepcional tiene un efecto independiente sobre el crecimiento infantil, ya que afecta la síntesis hormonal (Allen, 2001), o que la anemia preconcepcional moderada se agrava durante el embarazo (Breyman, 2002), lo que provoca los déficits de crecimiento registrados.

En un estudio observacional prospectivo realizado en China, se observó que el riesgo de parto prematuro y de neonatos con bajo peso al nacer prácticamente se duplicaba entre las mujeres que padecían anemia moderada, y se triplicaba entre

las mujeres que padecían anemia grave durante las primeras etapas del embarazo (4 a 8 semanas) (Zhou y col., 1998).

Efectos de los micronutrientes periconcepcionales sobre el embarazo. Período preconcepcional

El estado nutricional y la dieta de la madre durante el período previo a la concepción afecta la salud reproductiva. En la *Tabla 2*, se muestran datos acerca del efecto de los micronutrientes pericon-

Tabla 2. Estudios sobre el impacto de los micronutrientes preconcepcionales sobre el embarazo humano

Referencia	Tipo de estudio	Micronutriente	Variable	Resultados
Groenen y col. (2004)	Estudio de casos y controles. Holanda. Cuestionario sobre frecuencia alimentaria.	Ingesta preconcepcional de varias vitaminas y minerales	Espina bífida	La ingesta de hierro, magnesio y niacina está asociada con un riesgo 2 a 5 veces superior de espina bífida.
Velie y col. (1999)	Estudio poblacional de casos y controles. California. Cuestionario de 98 preguntas sobre frecuencia alimentaria.	Ingesta de zinc en dieta y suplementos preconcepcionales	DTN	El riesgo de DTN para los niños y fetos se redujo cuando la ingesta materna de zinc era mayor.
Krapels y col. (2004a)	Estudio de casos y controles. Holanda. Cuestionario sobre frecuencia alimentaria.	Ingesta dietaria preconcepcional	Hendiduras orofaciales	Una mayor ingesta de hierro, magnesio y ácido ascórbico redujo el riesgo de hendiduras orofaciales entre los neonatos.
Smedts y col. (2008)	Estudio de casos y controles. Holanda. Cuestionario semicuantitativo sobre frecuencia alimentaria.	Ingesta en dieta de riboflavina y nicotinamida	Defectos del tracto de salida (OTD)	La ingesta en dieta de riboflavina y nicotinamida era menor entre las madres de niños con OTD que en el grupo de control ($P < 0,05$). La baja ingesta en dieta de riboflavina ($<1,20$ mg/día) y nicotinamida ($<13,5$ mg/día) aumentó a más del doble el riesgo de OTD en la niñez.
Verkleij-Hagoort y col. (2006)	Estudio de casos y controles. Holanda. Cuestionario sobre frecuencia alimentaria.	Ingesta en dieta de vitamina B	Cardiopatía congénita	Se observó una asociación entre una dieta baja en vitamina B12 y un mayor riesgo de cardiopatías congénitas en el niño.
Ronnenberg y col. (2002)	Estudio prospectivo de casos y controles. China. Evaluación hematológica.	Concentración de vitamina B antes de la concepción	Parto prematuro, bajo peso al nacer, neonato pequeño para la edad gestacional	El riesgo de parto prematuro fue 60% menor entre las mujeres con una concentración de vitamina B12 ≥ 258 pmol/l que entre las mujeres con deficiencia de vitamina B12 ($P < 0,05$), y fue 50% menor entre las mujeres con una concentración de vitamina B6 ≥ 30 nmol/l que entre las mujeres con deficiencia de vitamina B6.
Ronnenberg y col. (2007)	Estudio prospectivo. China. Evaluación hematológica.	Concentración de vitamina B antes de la concepción	Concepción, pérdida temprana del embarazo, embarazo clínico	Una baja concentración de vitamina B6 redujo la probabilidad de concepción y aumentó el riesgo de pérdida temprana del embarazo en los ciclos conceptivos.

cepcionales sobre el embarazo en seres humanos. A pesar de que algunas investigaciones sobre dietas se refieren al período periconcepcional, los datos reflejan el estado nutricional de la madre durante el período preconcepcional.

La suplementación preconcepcional con ácido fólico es un objetivo de la salud pública para prevenir los DTN (revisión de Pitkin, 2007). Se ha sugerido que una baja concentración de hierro afecta negativamente los reguladores importantes del crecimiento y el desarrollo en las ratas (Gambling y col., 2002). Se observó una relación entre una baja concentración de ferritina ($<12 \mu\text{g/l}$), marcador del agotamiento de las reservas de hierro, y un menor peso al nacer, y entre una concentración elevada de ferritina ($\geq 60 \mu\text{g/l}$), biomarcador de la inflamación crónica o aguda, y un mayor riesgo de bajo peso al nacer y restricción del crecimiento fetal (Ronnenberg y col., 2004).

Queda abierta la pregunta sobre si el suplemento de hierro, que generalmente se inicia en la segunda mitad del embarazo, reduce la incidencia de nacimientos prematuros con bajo peso, o si la anemia afecta el desarrollo placentario únicamente durante las primeras etapas del embarazo y, por lo tanto, debe prevenirse antes de la concepción. Resulta interesante que, en un estudio aleatorio controlado realizado en Carolina del Norte donde se suministró a mujeres de bajos ingresos un suplemento de hierro profiláctico entre las 12 semanas de gestación y el tercer trimestre de embarazo, aproximadamente, se registró un peso al nacer significativamente superior entre los hijos del grupo que recibió el suplemento, en comparación con el grupo de control (Siega-Riz y col., 2006).

Se observó que la concentración de vitamina B₆ influía sobre los procesos reproductivos desde el comienzo del embarazo (Ronnenberg y col., 2007). Es posible que los efectos que una baja concentración de vitamina B₆ en la madre antes del embarazo tiene sobre las primeras etapas de la gestación se deban, primeramente, a la participación de las coenzimas dependientes de la vitamina B₆ en el metabolismo de aminoácidos, lípidos, ácidos nucleicos y glucógeno. Luego, si se tiene en cuenta la asociación entre la deficiencia de vitamina B₆ y la alteración de las enzimas que afectan la integridad estructural de las paredes arteriales, podría suponerse que tal deficiencia afecta la implantación y el desarrollo placentario temprano. Por lo tanto, evaluar los niveles hematológicos de esta vitamina antes de la concepción debería ser de gran utilidad, ya que probablemente afecten el período periconcepcional.

Por el contrario, las concentraciones de bio-

marcadores evaluadas en distintos momentos del embarazo se ven afectadas por la expansión del volumen plasmático, lo que dificulta la interpretación de la relación entre estos valores y las condiciones del parto puede ser compleja (de Weerd y col., 2003a).

A pesar de la escasez de estudios que hagan referencia a los hábitos alimentarios preconcepcionales, es claro que hay una relación entre el desequilibrio de micronutrientes antes de la concepción y un adecuado inicio de ella, así como el desarrollo saludable del embarazo.

Fertilidad

El análisis de los datos obtenidos en el estudio *Nurses' Health Study II* demuestra que el consumo de suplementos férricos y de hierro no hemínico en los alimentos podría reducir el riesgo de infertilidad ovulatoria (Chavarro y col., 2006). El folato parece ser importante para la calidad y la maduración de los ovocitos (Ebisch y col., 2007). El zinc afecta la ovulación y el ciclo menstrual. El desequilibrio de ERO afecta la maduración de los ovocitos, la ovulación, la luteolisis y la atresia folicular. El EO y la apoptosis están relacionados con la foliculogénesis, la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. En particular, el EO tiene efectos perjudiciales sobre la progresión de la segunda división meiótica, la disminución de la gonadotropina, ciertas acciones antiesteroideogénicas, daño del ADN e inhibición de la producción de ATP de proteínas (Ruder y col., 2008). Por este motivo, los antioxidantes podrían tener una acción positiva, que se explicaría a partir de los efectos neutralizantes de las ERO (Forges y col., 2007; Ruder y col., 2008).

De forma similar, el folato, el zinc, las ERO y los tioles afectan la apoptosis, que es importante para la regulación de la atresia folicular (Hussein, 2005), la degeneración del cuerpo lúteo y la descamación del endometrio. Las concentraciones de estos nutrientes podrían, entonces, tener efectos significativos sobre la reproducción. La baja concentración de folato y la HHCY son fundamentales, principalmente porque participan de la división celular (por ejemplo, de ovogonia o células granulosas), la producción de citoquinas inflamatorias, el EO, la apoptosis y las reacciones de metilación defectuosas (Forges y col., 2007). En este contexto, la síntesis de ADN es importante para el desarrollo de ovocitos, y varias enzimas involucradas en la síntesis de ADN dependen del zinc o la vitamina B (Ebisch y col., 2007). Se ha demostrado que la deficiencia de vitaminas A, C y D disminuye la fertilidad en las ratas y las truchas arco iris, según informaron Ebisch y col. (2007).

Sin embargo, si bien se ha demostrado que la adición de las vitaminas C y E fortalece las defensas antioxidantes en medios *in vitro*, no se han obtenido resultados definitivos y concluyentes sobre el suplemento oral con antioxidantes en estudios humanos.

Concepción e implantación

La interacción de los nutrientes con el sistema epigenético puede causar variaciones relacionadas con la remodelación de la cromatina y la regulación de la expresión genética que son parte de la programación del desarrollo de consecuencias patológicas en la adultez (revisión de Junien, 2006). Tras la fertilización, el genoma del cigoto pasa por una desmetilación rápida en secuencias de codificación y secuencias repetitivas. Después de la implantación, el genoma del ectodermo y el mesodermo embrionario se hipermetila mediante una metilación de novo, mientras que el genoma celular extraembrionario, como el endodermo primario y el trofoblasto, permanece hipometilado. Estos procesos pueden ser incrementados por el aporte de metilos proporcionados por la vía de folato y metionina.

En este contexto, los experimentos sobre ratas y ratones permitieron demostrar que los suplementos de metilo y las dietas con ingesta adecuada de zinc durante el embarazo afectan las modificaciones fenotípicas de los hijos (Wolff y col., 1998; Cooney y col., 2002; Prasolova y col., 2006; Maret y Sandstead, 2008). Sinclair y col. (2007) obtuvieron la primera prueba clínica sobre cómo un suplemento periconcepcional de folato, vitamina B₁₂ y metionina en ovejas maduras afectó las alteraciones epigenéticas de la metilación del ADN y el fenotipo relacionado con la salud de las crías durante la adultez. Cuando el aporte de metilo de la dieta alrededor del momento de la concepción era suficiente, se observaron cambios significativos en los ciclos de metionina dentro de los folículos ováricos de las ovejas. Como resultado, las crías en su adultez tenían más peso y grasa, resistencia a la insulina, alteraciones en la respuesta inmunitaria y presión sanguínea elevada. Junto con estos resultados clínicos, se registró una modificación de la metilación de 4% de 1400 islas de citidina-guanosina (CpG) asociadas con genes, especialmente en los fetos masculinos, lo que indica que el efecto de la dieta periconcepcional sobre los ciclos de metionina podría afectar un fragmento significativo del genoma en la cría y, por lo tanto, tener efectos a largo plazo sobre la salud en la adultez.

Se ha sugerido que el metabolismo de unidades monocarbono afectaría la aparición de trastornos

genéticos, como los DTN. Resulta de interés la demostración de que el genotipo MTHFR altera el metabolismo de la homocisteína principalmente cuando el nivel de folato es bajo, lo que permite sugerir un efecto interactivo entre la genética y los nutrientes para la reducción de riesgos (Guéant y col., 2003). También se ha sugerido que las interacciones entre genes y nutrientes que afectan el metabolismo de las unidades monocarbono podrían influir sobre la posibilidad de supervivencia y sobre el riesgo de trisomía (Wilson y col., 1999). Se ha informado una asociación entre los polimorfismos de los genes relacionados con el folato y la prevalencia de desprendimiento placentario (revisión de Tamura y Picciano, 2006), un dato que resulta interesante, aunque no concluyente. Incluso los retinoides representan un ejemplo de interacción entre genes y nutrientes (revisión de Finnell y col., 2004). Este tema comenzó a llamar la atención en 1969, cuando se observaron respuestas teratogénicas diferenciales a los retinoides en tres cepas de ratas. Luego, la gran cantidad de datos obtenidos en diversos experimentos durante las últimas dos décadas permite sugerir que la actividad biológica de los retinoides está mediada por una superfamilia de receptores de retinoides codificada por diferentes genes y que regula la proliferación y la diferenciación celular (revisión de Finnell y col., 2004). Específicamente, la expresión de los receptores y la disponibilidad de compuestos retinoides en concentraciones adecuadas contribuyen a la homeostasis y al desarrollo normales del organismo. Por lo tanto, la alteración de la concentración de los retinoides que interactúan con el genotipo embrionario puede provocar defectos tales como malformaciones congénitas.

Placentación

En un estudio prospectivo sobre 1.650 embarazos, se observó una relación inversa entre una baja concentración de hierro en el comienzo del embarazo y el tamaño de la placenta (Hindmarsh y col., 2000). También se observó una relación inversa entre la concentración de ferritina sérica y los niveles generales de capilarización de las vellosidades periféricas. Asimismo, se registró una clara relación inversa entre la superficie de los capilares que participan del intercambio de gas en las vellosidades terminales e intermedias maduras y la ferritina sérica, lo que permite sugerir que la anemia influye sobre el patrón de vascularización placentaria.

El uso de antioxidantes parece ser útil para reducir el daño de la placenta, lo que explica el riesgo de preeclampsia debido a su limitada capacidad enzimática antioxidante durante el primer trimestre

(Jauniaux y col., 2004). De hecho, puesto que los factores de riesgo de la preeclampsia también son factores de riesgo de la aterosclerosis, pueden sugerirse otras similitudes (Gratacós, 2000). Se ha postulado que el EO es relevante para la alteración de la función endotelial que provoca la aterosclerosis (Navab y col., 2004). En consecuencia, se supone que una reducción de la perfusión placentaria genera radicales libres que producen un daño oxidativo sistémico, de acuerdo con la presencia registrada de EO en la circulación y los tejidos de mujeres con preeclampsia (Roberts y col., 2003). Gratacós y col. (1998) y Jain y Wise (1995) confirmaron que la concentración de peróxido lipídico en suero es significativamente superior y que la concentración de vitamina E en suero es significativamente inferior en las mujeres con preeclampsia, en comparación con las mujeres con embarazos normales.

Al respecto, también se observó que la reducción de la defensa antioxidante materna y placentaria que ocurre con la preeclampsia está relacionada con un agotamiento excesivo de los antioxidantes debido a una mayor generación de radicales libres de oxígeno (Jauniaux y col., 2006). Además, la placentación anormal ocasiona un aumento de la peroxidación lipídica placentaria, probablemente debido a la presencia de oxidasa NADPH en la membrana microvellosa sincitial placentaria, lo que genera un aumento del radical superóxido (revisión de Agarwal y col., 2008).

Hasta el momento, no se ha evaluado la nutrición durante el período periconcepcional o durante las primeras etapas del embarazo en mujeres que luego padecen preeclampsia. Sin embargo, podríamos postular que los nutrientes afectan el EO mediante el aumento o la reducción de radicales libres o antioxidantes, o mediante la provisión de sustratos para formar ERO. Asimismo, podrían modificar la respuesta inflamatoria durante el período en que ocurre la placentación. En particular, se reconoce que la ingesta adecuada de vitaminas C y E durante el segundo trimestre del embarazo mejora la incidencia bioquímica del EO (Jauniaux y col., 2006). De forma similar, la función postulada de la deficiencia de elementos traza en la preeclampsia está relacionada con la presencia de tales elementos en la metalotioneína (zinc), la ceruloplasmina (cobre), la SOD (cobre, selenio, zinc) y los peróxidos de glutatión (selenio). Además, se ha sugerido que los ácidos grasos n-3 podrían ayudar a prevenir la preeclampsia, de acuerdo con un estudio prospectivo de cohorte que incluyó a 1.718 mujeres (Oken y col., 2007). En teoría, los ácidos grasos n-3 alterarían los prostanoides y favorecerían los

eicosanoides vasodilatadores. Resulta interesante que se haya demostrado que las mujeres con preeclampsia presentan una menor concentración de ácidos grasos n-3 en eritrocitos (revisión de Roberts y col., 2003).

Además, en un estudio observacional de una comunidad islandesa que tradicionalmente consume pescado y aceite de hígado de bacalao, se detectó una relación inversa entre la proporción de PUFA n-3 de cadena larga en los glóbulos rojos de las mujeres entre la 11ª y 15ª semana de embarazo y el peso placentario (Magnusardottir y col., 2009).

Se ha postulado que algunos trastornos placentarios se deben a deficiencias de folato o vitamina B¹², o a defectos de las vías metabólicas de metionina-homocisteína (Goddijn-Wessel y col., 1996; Ray y Laskin, 1999). En este contexto, se ha demostrado que la HHCY provoca inflamación vascular, reduce la biodisponibilidad de NO, un importante vasodilatador endotelial, y posiblemente esté asociada con la producción de ERO (Forges y col., 2007). Esto significa que la deficiencia de folato o HHCY podría estar relacionada con la disfunción endotelial y, por lo tanto, con la endovascularización placentaria (Ray y Laskin, 1999), una teoría respaldada por la asociación registrada entre concentraciones elevadas de homocisteína en suero y un mayor riesgo de enfermedades como trastornos ateroscleróticos, tromboembólicos y neurodegenerativos (revisión de Díaz-Arrastia, 2000; Kuo y col., 2005; Folstein y col., 2007; Forges y col., 2007).

Embriogénesis

Hay pruebas científicas de que el ácido fólico (la forma sintética de la vitamina folato) tiene una importancia fundamental durante los períodos preconcepcional y periconcepcional para la protección contra DTN del feto en desarrollo (MRC, 1991; Czeizel y Dudás, 1992; Bendich, 2001; Moore y col., 2003; Czeizel y col., 2004; Shah y Sachdev, 2004; Padmanabhan, 2006).

En general, se recomienda a las mujeres que consuman 0,4 mg/día cuando planean quedar embarazadas y se les recomiendan 4 mg/día cuando han tenido un embarazo previo afectado por DTN (de Bree y col., 1997; Geisel, 2003; Pitkin, 2007).

Debido a su participación en la síntesis de ADN y la división celular, el ácido fólico tiene una función elemental en el desarrollo fetal. A la vez, la baja concentración de folato parece aumentar el riesgo de parto prematuro, bajo peso al nacer y restricción del crecimiento fetal, así como otras malformaciones fetales (Czeizel y col., 1999; Tamura y Picciano, 2006). Se ha establecido una asociación

entre la baja concentración de vitamina B₁₂ y la HH-CY, y entre una concentración elevada de tHcy y la aparición de DTN (Mills y col., 1995; Ray y Laskin, 1999; Ray y Blom, 2003) y cardiopatías congénitas (Verkleij-Hagoort y col., 2008). Las células de la cresta neural participan no sólo de la embriogénesis del tubo neural, el labio y el paladar, sino también del desarrollo cardiovascular. La migración y la diferenciación de las células de la cresta neural son influidas por la homocisteína. La vitamina B₁₂ es un determinante relevante para la vía de homocisteína, por lo que contribuye a la embriogénesis del corazón durante las primeras semanas posteriores a la concepción (Verkleij-Hagoort y col., 2008). En un estudio de casos y controles realizado en Holanda, se observó que la ingesta periconcepcional de tiamina, niacina y piridoxina (vitamina B₆) parece colaborar con la prevención de defectos por hendiduras orofaciales (Krapels y col., 2004b). Este resultado puede estar relacionado con la participación de la vitamina B₆ en la vía de la homocisteína.

Respecto de la vitamina A, se cree que los retinoides afectan el desarrollo de varios sistemas embrionarios (revisión de Finnell y col., 2004). En particular, se observaron varias anomalías embrionarias en embriones de codorniz con deficiencia de vitamina A que se desarrollaban sin RA (Maden y col., 1996). Por lo tanto, el RA tiene una función fundamental en el desarrollo del sistema nervioso central (Maiden y col., 1996), es decir, en la supervivencia de la cresta neural, la aparición de neuritis y la formación del rombencéfalo. La vitamina A y el RA son parte del sistema regulatorio normal necesario. No obstante, se ha demostrado que la ingesta excesiva (>10.000 UI/día) tiene un efecto teratogénico en los animales (Williamson, 2006). También se observaron malformaciones en embriones humanos expuestos a RA debido a que la madre recibió un tratamiento contra el acné con el fármaco Accutane (13-cis RA) (revisión de McCaffery y col., 2003).

Sin embargo, existen otros resultados contradictorios (Dolk y col., 1999). De hecho, si bien la recomendación general es que la ingesta de vitamina A o retinol inferior a 3.000 µg (10.000 UI) por día no implica riesgos, algunos postulan que la ingesta de vitamina A de hasta 9.000 µg (30.000 UI) por día es inocua (Miller y col., 1998). En este contexto, en un estudio poblacional de casos y controles realizado en Noruega, no se encontraron pruebas de un mayor riesgo de hendiduras cuando la ingesta total de vitamina A o retinol fue superior a 3.000 µg (10.000 UI) (Johansen y col., 2008).

A partir de modelos animales, se ha demostrado que una deficiencia grave de zinc en la madre

durante las primeras etapas del embarazo provoca problemas en la implantación, abortos y malformaciones fetales, como labio leporino o paladar hendido, malformaciones cerebrales u oculares, y diversas anomalías cardíacas, pulmonares o urogenitales (Keen y col., 2003). El déficit de zinc puede ocasionar anomalías bioquímicas y funcionales (Maret y Sandstead, 2008). Resultan de interés los datos registrados por Keen y col. (2003), quienes informaron que incluso una deficiencia de zinc transitoria (5 a 6 días), puede resultar teratogénica en modelos de roedores, y que una deficiencia de zinc periconcepcional de 3 días de duración puede tener un efecto negativo sobre el desarrollo embrionario. La teoría de que la deficiencia de zinc representa un riesgo teratogénico para los seres humanos puede ser respaldada por la correlación observada entre una baja concentración plasmática de zinc en el primer y tercer trimestre del embarazo y un mayor riesgo de malformaciones y bajo peso al nacer, respectivamente. Se cree que la deficiencia de zinc influye sobre el desarrollo embrionario y fetal a través de una reducción de la proliferación celular, de la síntesis de proteínas o del ritmo de polimerización de tubulina, y no a través de un aumento del daño oxidativo celular o de la apoptosis y una reducción de la unión de hormonas y factores de transcripción que dependen de las regiones de dedo de zinc (Jankowski-Hennig y col., 2000; MacKenzie y col., 2002).

Se ha sugerido que la deficiencia de cobre está asociada a teratogenicidad (Keen y col., 1998). En estudios sobre animales, los embriones extraídos de hembras con deficiencia de cobre y cultivados durante 48 horas en suero con concentraciones de cobre adecuadas o insuficientes presentaron diversas anomalías, como hinchazón de rombencéfalo, ampollas, acumulación de sangre y distensión de los vasos mayores (Hawk y col., 1998). Dado que la actividad de la SOD fue menor en los embriones cultivados en suero con deficiencia de cobre, y que la suplementación con antioxidantes (cobre-zinc SOD o GSH peroxidasa) redujo la teratogenicidad del suero con deficiencia de cobre, puede postularse que la dismorfología se debe, en parte, al daño inducido por el radical libre debido a una deficiencia del sistema de defensa oxidante. Además, los embriones con deficiencia de cobre también presentaron una baja actividad de la citocromo c oxidasa, en comparación con los embriones de control, lo que permite sugerir que varios factores contribuyen a las anomalías inducidas por la deficiencia de cobre.

Se observaron resultados similares en embriones de sapos *Xenopus laevis* que recibieron una

dieta baja en cobre durante 120 días (Fort y col., 2000). Por el contrario, si bien se ha sugerido que la deficiencia de cobre afecta el desarrollo del embrión humano, no se ha demostrado una relación causal entre la baja concentración de cobre y la presencia de malformaciones en el feto. Es decir, no se ha comprobado si los efectos de la deficiencia de cobre sobre el embrión o el feto se deben directamente a una deficiencia del micronutriente o si ocurren de forma indirecta a través del metabolismo regulado por la deficiencia de cobre de la madre (por ejemplo: como consecuencia de anemia, producción de hormonas de embarazo o factores de crecimiento, etc.) (Keen y col., 1998).

En un estudio cuyo objetivo era evaluar los efectos del etanol sobre el desarrollo fetal, se trataron embriones de *Xenopus laevis* con ácido ascórbico dos horas antes de la exposición al etanol, y luego se transfirieron a un medio con 100 mM de etanol, o sin él, durante doce horas. Se inhibió la producción de ERO inducida por el etanol y la activación de NF-κB, y los embriones tratados con etanol quedaron protegidos contra la microencefalía y el retraso del crecimiento, lo que permite sugerir que el ácido ascórbico es un eficaz agente protector contra el síndrome de alcoholismo fetal humano (Peng y col., 2005). Además, el tratamiento antioxidante con vitaminas E y C suministrado a ratas con diabetes inducida por estreptozotocina redujo la proporción de malformaciones fetales y el daño tisular relacionado con el radical de oxígeno (Cedeberg y col., 2001).

Sivan y col. (1996) también han demostrado un efecto profiláctico de la vitamina E contra la embriopatía diabética. Se demostró que la inclusión de vitamina E en el medio de cultivo, que estimula el desarrollo antes y después de la transferencia del embrión, reduce el daño de la ERO en embriones bovinos (Olson y Seidel, 2000).

En conjunto, estos datos permiten sugerir que los antioxidantes tienen efectos beneficiosos para el desarrollo embrionario, posiblemente mediante una reducción de la incidencia de la apoptosis (Agarwal y col., 2008).

De forma similar, incluir en la dieta un nivel de PUFA que aumente específicamente las concentraciones de ácido araquidónico redujo significativamente la incidencia de embriopatía diabética en ratas (Reece y col., 1996).

También se ha registrado una reducción significativa de la incidencia de malformaciones fetales relacionadas con la diabetes y de RCIU en ratas diabéticas al suministrar un suplemento de ácido lipoico (Al Gaffi y col., 2004).

Conclusiones

Llevar a término un embarazo sin complicaciones es una de los grandes objetivos de la vida. Si bien son escasos, existen datos que permiten sugerir que los micronutrientes tienen una función significativa durante el período periconcepcional. La adecuada nutrición de las mujeres debe ser plantearse como objetivo a fin de prevenir los desequilibrios nutricionales nocivos. En particular, la dieta durante el primer trimestre puede ser más importante para el desarrollo y la diferenciación de diversos órganos. Además, la nutrición previa a la concepción también es fundamental para un óptimo inicio y desarrollo del embarazo. Desafortunadamente, la ingesta nutricional de las mujeres en edad fértil durante el período preconcepcional parece ser inadecuada (de Weerd y col., 2003b; Mouratidou y col., 2006), principalmente en lo que respecta a los micronutrientes, aunque también debido a la adopción generalizada de la dieta occidental (Popkin y Gordon-Larsen, 2004). Por lo tanto, deberían aumentarse los esfuerzos para fomentar una dieta y un estilo de vida saludables, no solamente durante el embarazo sino también antes, ya que muchas veces los embarazos no son planeados.

Un metaanálisis permitió observar la relación entre el cuidado preconcepcional y la reducción del riesgo de anomalías congénitas en los hijos de mujeres con diabetes mellitus pregestacional (Ray y col., 2001). También se ha documentado la función de la suplementación preconcepcional con ácido fólico en la prevención de DTN. En este contexto, dada la frecuencia relativamente elevada de los polimorfismos MTRR y MTHFR entre la población general, debe enfatizarse la importancia de contar con concentraciones adecuadas de vitaminas (cobalamina y folato) durante el embarazo (Wilson y col., 1999).

Sin embargo, solamente se han obtenido pruebas concluyentes sobre el efecto del folato preconcepcional para la prevención de DTN, y los estudios prospectivos sobre la relación entre la nutrición materna periconcepcional y el desarrollo del embarazo son escasos. Resulta interesante que la ingesta de magnesio y ácido ascórbico superior a los valores diarios recomendados, de 375,9-502,9 y 97,9-295,8 mg/día, respectivamente, reduce significativamente el riesgo de hendiduras orofaciales (Krapels y col., 2004a). Si se tiene en cuenta que los valores diarios recomendados para las mujeres embarazadas son de 300-360 mg/día de magnesio y 90 mg/día de ácido ascórbico, estos resultados podrían indicar que las recomendaciones de estos nutrientes son insuficientes para las mujeres en

edad reproductiva. Además, si bien la mayoría de los datos indican que debería evitarse una ingesta de vitamina A superior a 3.000 µg/día durante el período periconcepcional, esta conclusión ha sido debatida recientemente (Miller y col., 1998; Johansen y col., 2008). Del mismo modo, hay desacuerdo sobre la necesidad de utilizar una profilaxis de hierro durante las primeras etapas del embarazo.

En particular, aún deben definirse correctamente y comprenderse las causas o, al menos, los mecanismos potenciales que explican la relación entre la ingesta de micronutrientes durante el período periconcepcional y el desarrollo del embarazo. Específicamente, debe estudiarse el momento en que se sufre la deficiencia en estudios *in vitro* y modelos animales. Además, es de gran necesidad realizar más estudios experimentales e intervencionales sobre seres humanos, a fin de ajustar los valores diarios recomendados y, en consecuencia, la nutrición periconcepcional recomendada para la madre.

Financiamiento

Esta revisión fue realizada con el apoyo financiero de la red de excelencia EURRECA (*European Micronutrient Recommendations Aligned*), proyecto número FP6036196-2, financiado por la Comisión Europea.

Referencias

- ADA Reports. Position of the American Dietetic Association: nutrition and lifestyle for a healthy pregnancy outcome. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1479-1490.
- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 2005;3:28. doi:10.1186/1477-7827-3-28.
- Agarwal A, Gupta S, Sekhon L, Shah R. Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid Redox Signal* 2008;10:1375-1403.
- Akazawa S. Diabetic embryopathy: studies using a rat embryo culture system and an animal model. *Cong Anom* 2005;45:73-79.
- Al Ghaffli MHM, Padmanabhan R, Kataya HH, Berg B. Effects of α-lipoic acid supplementation on maternal diabetes-induced growth retardation and congenital anomalies in rat fetuses. *Mol Cell Biochem* 2004;261:123-135.
- Allaire AD, Cefalo RC. Preconceptional health care model. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 1998;78:163-168.
- Allen LH. Biological mechanisms that might underlie iron's effects on fetal growth and preterm birth. *J Nutr* 2001;131:581S-589S.
- Allen LH. Multiple micronutrients in pregnancy and lactation: an overview. *Am J Clin Nutr* 2005;81:1206S-1212S.
- Andersen HS, Gambling L, Holtrop G, McArdle HJ. Maternal iron deficiency identifies critical windows for growth and cardiovascular development in the rat postimplantation embryo. *J Nutr* 2006;136:1171-1177.
- Arrigoni O, De Tullio MC. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochim Biophys Acta* 2002;1569:1-9.
- Ashworth CJ, Antipatis C. Micronutrient programming of development throughout gestation. *Reproduction* 2001;122:527-535.
- Bagchi D, Vuchetich PJ, Bagchi M, Tran MX, Krohn RL, Ray SD, Stohs SJ. Protective effects of zinc salts on TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation, glutathione depletion, DNA damage and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacol* 1998;30:43-50.
- Bartley KA, Underwood BA, Deckelbaum RJ. A life cycle micronutrient perspective for women's health. *Am J Clin Nutr* 2005;81:1188S-1193S.
- Beard J. Iron deficiency alters brain development and functioning. *J Nutr* 2003;133:1468S-1472S.
- Beard J. Recent evidence from human and animal studies regarding iron status and infant development. *J Nutr* 2007;137:524S-530S.
- Beard JL. Why iron deficiency is important in infant development. *J Nutr* 2008;138:2534-2536.
- Beard J, Erikson KM, Jones BJ. Neonatal iron deficiency results in irreversible changes in dopamine function in rats. *J Nutr* 2003;133:1174-1179.
- Bendich A. Micronutrients in women's health and immune function. *Nutrition* 2001;17:858-867.
- Bhatnagar S, Taneja S. Zinc and cognitive development. *Br J Nutr* 2001;85:S139-S145.
- Black RE. Micronutrients in pregnancy. *Br J Nutr* 2001;85:S193-S197.
- Bloomfield FH, Oliver MH, Hawkins P, Holloway AC, Campbell M, Gluckman PD, Harding JE, Challis JRG. Periconceptional undernutrition in sheep accelerates maturation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis in late gestation. *Endocrinology* 2004;145:4278-4285.
- Braekke K, Ueland PM, Harsem NK, Karlsen A, Blomhoff R, Staff AC. Homocysteine, cysteine, and related metabolites in maternal and fetal plasma in preeclampsia. *Pediatr Res* 2007;62:319-324.
- Breyman C. Iron supplementation during pregnancy. *Fet Mat Med Rev* 2002;13:1-29.
- Buckley AJ, Jaquiere AL, Harding JE. Harding Nutritional programming of adult disease. *Cell Tissue Res* 2005;322:73-79. DOI 10.1007/s00441-005-1095-7.
- Casele HL, Laifer SA. Factors influencing preconception control of glycemia in diabetic women. *Arch Intern Med* 1998;158:1321-1324.
- Catalano P, Ehrenberg H. The short and long-term implications of maternal obesity on the mother and her offspring. *BJOG* 2006;113:1126-1133.
- Cedeberg J, Simán CM, Eriksson UJ. Combined treatment with vitamin E and vitamin C decreases oxidative stress and improves fetal outcome in experimental diabetic pregnancy. *Pediatr Res* 2001;49:755-762.
- Cetin I, Alvino G. Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport. A review. *Placenta* 2009;30:S77-S82.

- Cetin I, Alvino G, Radaelli T, Pardi G. Fetal nutrition: A review. *Acta Paediatr* 2005;94:7S-13S.
- Charmel R. Cobalamin (Vitamin B₁₂). En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10a ed. EE.UU.: Lippincott Williams & Wilkins; 2006:Págs. 482-497.
- Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Iron intake and risk of ovulatory infertility. *Obstet Gynecol* 2006;108:1145-1152.
- Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Diet and lifestyle in the prevention of ovulatory disorder infertility. *Obstet Gynecol* 2007a;110:1050-1058.
- Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Dietary fatty acid intakes and the risk of ovulatory infertility. *Am J Clin Nutr* 2007b;85:231-237.
- Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Protein intake and ovulatory infertility. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:210.e1-210.e7.
- Cook JD, Baynes RD, Skikne BS. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr Res Rev* 1992;5:189-202.
- Cooney CA, Dave AA, Wolff GL. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring. *J Nutr* 2002;132:2393S-2400S.
- Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA, O'Keefe JH, Brand-Miller J. Origins and evolution of the western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 2005;81:341-354.
- Crocker IP, Cooper S, Ong SC, Baker PN. Differences in apoptotic susceptibility of cytotrophoblasts and syncytiotrophoblasts in normal pregnancy to those complicated with preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Pathol* 2003;162:637-643.
- Cross JC, Mickelson L. Nutritional influences on implantation and placental development. *Nutr Rev* 2006;64:S12-S18. doi: 10.1301/nr.may.
- Czeizel AE, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992;327:1832-1835.
- Czeizel AE, Timár L, Sárközi A. Dose-dependent effect of folic acid on the prevention of orofacial clefts. *Pediatrics* 1999;104:e66. DOI: 10.1542/peds.104.6.e66.
- Czeizel AE, Dobó M, Vargha P. Hungarian cohort-controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation shows a reduction in certain congenital abnormalities. *Birth Def Res (Part A)* 2004;70:853-861.
- De Boo H, Harding JE. The development origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 2006;46:4-14.
- de Bree A, van Dusseldorp M, Brouwer IA, van het Hof KH, Steegers-Theunissen RPM. Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:643-660.
- de Weerd S, Steegers-Theunissen RPM, de Boo TM, Thomas CMG, Steegers EAP. Maternal periconceptional biochemical and hematological parameters, vitamin profiles and pregnancy outcome. *Eur J Clin Nutr* 2003a;57:1128-1134.
- de Weerd S, Steegers EAP, Heinen MM, van den Eertwegh S, Vehof RMEJ, Steegers-Theunissen RPM. Preconception nutritional intake and lifestyle factors: first results of an explorative study. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 2003b;111:167-172.
- Diaz JR, de las Cagigas A, Rodríguez R. Micronutrient deficiencies in developing and affluent countries. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:S70-S72.
- Diaz-Arrastia R. Homocysteine and neurologic disease. *Arch Neurol* 2000;57:1422-1428.
- Dolk HM, Nau H, Hummler H, Susan M, Barlow SM. Dietary vitamin A and teratogenic risk: European Teratology Society discussion paper. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 1999;83:31-36.
- Drewnowski A, Spencer SE. Poverty and obesity. The role of energy density and energy costs. *Am J Clin Nutr* 2004;79:6-16.
- Ebisch IMW, Thomas CMG, Peters WHM, Braat DDM, Steegers-Theunissen RPM. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update* 2007;13:163-174.
- Edwards LJ, McMillen IC. Impact of maternal under-nutrition during the periconceptional period, fetal number, and fetal sex on the development of the hypothalamo-pituitary adrenal axis in sheep during late gestation. *Biol Reprod* 2002;66:1562-1569.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002;23:599-622.
- Evers IM, de Valk HW, Visser GHA. Risk of complications of pregnancy in women with type 1 diabetes: nationwide prospective study in the Netherlands. *Br Med J* 2004;328:915-918.
- Fang Y-Z, Yang S, We G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002;18:872-879.
- FAO/WHO Report. Folate and folic acid. En: Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition. 2nd ed. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004a: Págs. 289-302.
- FAO/WHO Report. Iron. En: Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition. 2nd ed. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004b: Págs. 246-278.
- FAO/WHO Report. Vitamin B₁₂. En: Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition. 2nd ed. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004c: Págs. 279-288.
- FAO/WHO Report. Zinc. En: Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition. 2nd ed. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004d: Págs. 230-245.
- Finnell RH, Shaw GM, Lammer EJ, Brandl KL, Carmichael SL, Rosenquist TH. Gene-nutrient interactions: importance of folates and retinoids during early embryogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;198:75-85.
- Fleming Tom P, Fleming TP, Kwong WY, Porter R, Ursell E, Fesenko I, Wilkins A, Miller DJ, Watkins AJ, Eckert JJ. The embryo and its future. *Biol Reprod* 2004;71:1046-1054.
- Folstein M, Liu T, Peter I, Buel J, Arsenault L, Scott T, Qiu WW. The homocysteine hypothesis of depression. *Am J Psychiatry* 2007;164:861-867.
- Forges T, Monnier-Barbarino P, Alberto JM, Guéant-

- Rodriguez RM, Daval JL, Guéant JL. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. *Hum Reprod Update* 2007;1-14. doi:10.1093/humupd/dml063.
- Fort DJ, Stover EL, Rogers RL, Copley HF, Morgan LA, Foster ER. Chronic boron or copper deficiency induces limb teratogenesis in *Xenopus*. *Biol Trace Element Res* 2000;77:173-187.
 - Friso S, Jacques PF, Wilson PWF, Rosenberg IH, Selhub J. Low circulating vitamin B₆ is associated with elevation of the inflammation marker C-reactive protein independently of plasma homocysteine levels. *Circulation* 2001;103:2788-2791.
 - Gagnon R. Placental insufficiency and its consequences. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 2003;110:S99-S107.
 - Gambling L, Charania Z, Hannah L, Antipatis C, Lea RG, McArdle HJ. Effect of iron deficiency on placental cytokine expression and fetal growth in the pregnant rat. *Biol Reprod* 2002;66:516-523.
 - Gardner DS, Pearce S, Dandrea J, Walker R, Ramsay MM, Stephenson T, Symonds ME. Peri-implantation undernutrition programs blunted angiotensin II evoked baroreflex responses in young adult sheep. *Hypertension* 2004;43:1290-1296.
 - Geisel J. Folic acid and neural tube defects in pregnancy. A review. *J Perinat Neonat Nurs* 2003;17:268-279.
 - Gluckman PD, Pinal CS. Maternal-placental-fetal interactions in the endocrine regulation of fetal growth. Role of somatotrophic axes. *Endocrine* 2002;19:81-89.
 - Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med* 2008;359:61-73.
 - Goddijn-Wessel TAW, Wouters MGJ, vd Molen EF, Spuijbroek MDEH, Steegers-Theunissen RPM, Blom HJ, Boers GHJ, Eskes TKAB. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for placental abruption or infarction. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 1996;66:23-29.
 - Gratacós E. Lipid-mediated endothelial dysfunction: a common factor to preeclampsia and chronic vascular disease. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 2000;92:63-66.
 - Gratacós E, Casals E, Deulofeu R, Cararach V, Alonso PL, Fortuny A. Lipid peroxide and Vitamin E patterns in women with different types of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:1072-1076.
 - Grimble RF. Nutritional modulation of cytokine biology. *Nutr* 1998;14:634-640.
 - Groenen PMW, van Rooij IALM, Peer PGM, Ocké MC, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RPM. Low maternal dietary intakes of iron, magnesium, and niacin are associated with spina bifida in the offspring. *J Nutr* 2004;134:1516-1522.
 - Guéant J-L, Guéant-Rodriguez R-M, Anello G, Bosco P, Brunaud L, Romano C, Ferri R, Romano A, Candito M, Namour B. Genetic determinants of folate and vitamin B₁₂ metabolism: a common pathway in neural tube defect and down syndrome? *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1473-1477.
 - Gybina AA, Prohaska JR. Increased rat brain cytochrome c correlates with degree of perinatal copper deficiency rather than apoptosis. *J Nutr* 2003;133:3361-3368.
 - Gybina AA, Prohaska JR. Variable response of selected cuproproteins in rat choroid plexus and cerebellum following perinatal copper deficiency. *Genes Nutr* 2006;1:51-60.
 - Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr* 2000;130:1344S-1349S.
 - Hawk SN, Uriu-Hare JY, Daston GP, Jankowski M, Kwik-Urbe C, Rucker RB, Keen CL. Rat embryos cultured under copper-deficient conditions develop abnormally and are characterized by an impaired oxidant defense system. *Teratology* 1998;57:310-320.
 - Hindmarsh PC, Geary MPP, Rodeck CH, Jackson MR, Kingdom JCP. Effect of early maternal iron stores on placental weight and structure. *Lancet* 2000;356:719-723.
 - Hirschi KK, Keen CL. Nutrition in embryonic and fetal development. *Nutrition* 2000;16:495-499.
 - Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: metaanalysis of randomised trials. *BMJ* 1998;316:894-898.
 - Hussein MR. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Hum Reprod Update* 2005;11:162-178.
 - Jain SK, Wise R. Relationship between elevated lipid peroxides, vitamin E deficiency, and hypertension in preeclampsia. *Mol Cell Biochem* 1995;151:33-38.
 - Jankowski-Hennig MA, Clegg MS, Daston GP, Rogers JM, Keen CL. Zinc-deficient rat embryos have increased caspase 3-like activity and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;271:250-256.
 - Jansson T, Powell TL. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? A review. *Placenta* 2006;27:S91-S97.
 - Jauniaux E, Cindrova-Davies T, Johns J, Dunster C, Hempstock J, Kelly FJ, Burton GJ. Distribution and transfer pathways of antioxidant molecules inside the first trimester human gestational sac. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1452-1458.
 - Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placenta-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implication in human evolution. *Hum Reprod Update* 2006;12:747-755.
 - Johansen AMW, Lie RT, Wilcox AJ, Andersen LF, Drevon CA. Maternal dietary intake of vitamin A and risk of orofacial clefts: a population based case-control study in Norway. *Am J Epidemiol* 2008;167:1164-1170.
 - Joshi R, Adhikari S, Patro BS, Chattopadhyay S, Mukherjee T. Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity. *Free Rad Biol Med* 2001;30:1390-1399.
 - Junien C. Impact of diets and nutrients/drugs on early epigenetic programming. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:359-365.
 - Keen CL, Uriu-Hare JY, Hawk SN, Jankowski MA, Daston GP, Kwik-Urbe CL, Rucker RB. Effect of copper deficiency on prenatal development and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1998;67:1003S-1011S.
 - Keen CL, Clegg MS, Hanna LA, Lanoue L, Rogers JM, Daston GP, Oteiza P, Uriu-Adams JY. The plausibility of micronutrient deficiencies being a significant contributing factor to the occurrence of pregnancy complications. *J Nutr* 2003;133:1597S-1605S.

- King JC, Cousins RJ. Zinc. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th edn. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 271-285.
- Kos M, Vogel M. Morphological findings in infants and placentas of diabetic mother. En: Djelmis J, Desoje G, Ivanisevic M (editores). *Diabetology of Pregnancy*. Basel: Karger, 2005: Págs. 127-143.
- Krapels IPC, van Rooij IALM, Ocké MC, West CE, van der Horst CMAM, Steegers-Theunissen RPM. Maternal nutritional status and the risk for orofacial cleft offspring in humans. *J Nutr* 2004a;134:3106-3113.
- Krapels IPC, van Rooij IALM, Ocké MC, van Cleef BAGL, Kuijpers- Jagtman AMM, Steegers-Theunissen RPM. Maternal dietary B vitamin intake, other than folate, and the association with orofacial cleft in the offspring. *Eur J Nutr* 2004b;43:7-14.
- Kuo H-K, Sorond FA, Chen J-H, Hashmi A, Milberg WP, Lipsitz LA. The role of homocysteine in multisystem age-related problems: a systematic review. *J Gerontol Med Sci* 2005;60A:1190-1201.
- Kwong WY, Wild AE, Roberts P, Willis AC, Fleming TP. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 2000;127:4195-4202.
- Ladipo OA. Nutrition in pregnancy: mineral and vitamin supplements. *Am J Clin Nutr* 2000;72:280S-290S.
- Leunda-Casi A, de Hertogh R, Pampfer S. Decreased expression of fibroblast growth factor-4 and associated dysregulation of trophoblast differentiation in mouse blastocysts exposed to high D-glucose *in vitro*. *Diabetologia* 2001;44:1318-1325.
- Leunda-Casi A, Genicot G, Donnay I, Pampfer S, de Hertogh R. Increased cell death in mouse blastocysts exposed to high D-glucose *in vitro*: implication of an antioxidative stress in glucose metabolism. *Diabetologia* 2002;45:571-579.
- Levine M, Katz A, Padayatty SJ. Vitamin C. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 507-524.
- Li R, Chase M, Jung S-K, Smith PJS, Loeken MR. Hypoxic stress in diabetic pregnancy contributes to impaired embryo gene expression and defective development by inducing oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;289:E591-E599.
- Locksmith GJ, Duff P. Preventing neural tube defects: the importance of periconceptional folic acid supplements. *Obstet Gynecol* 1998;91:1027-1034.
- Lyall F. Development of the utero-placental circulation: the role of carbon monoxide and nitric oxide in trophoblast invasion and spiral artery transformation. *Microsc Res Tech* 2003;60:402-411.
- Mackenzie GG, Zago MP, Keen CL, Oteiza PI. Low intracellular zinc impairs the translocation of activated NF- κ B to the nuclei in human neuroblastoma IMR-32 cells. *J Biol Chem* 2002;277:34610-34617.
- Mackey AD, Davis SR, Gregory JF III. Vitamin B₆. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*; 10th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 452-461.
- Maden M, Gale E, Kostetskii I, Zile M. Vitamin A-deficient quail embryos have half a hindbrain and other neural defects. *Curr Biol* 1996;6:417-426.
- Magnusardottir AR, Steingrimsdottir L, Thorgeirsdottir H, Hauksson A, Skuladottir GV. Red blood cell n-3 polyunsaturated fatty acids in first trimester of pregnancy are inversely associated with placental weight. *Act Obstet Gynaecol Scand* 2009;88:91-97.
- Maret W, Sandstead HH. Possible roles of zinc nutrition in the fetal origins of disease. *Exp Gerontol* 2008;43:378-381.
- McArdle HJ, Ashworth CJ. Micronutrients in fetal growth and development. *Br Med Bull* 1999;55:499-510.
- McCaffery PJ, Adams J, Maden M, Rosa-Molinar E. Too much of a good thing: retinoic acid as an endogenous regulator of neural differentiation and exogenous teratogen. *Eur J Neurosci* 2003;18:457-472.
- McCall KA, Huang C-C, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr* 2000;130:1437S-1446S.
- Miller RK, Hendrickx AG, Mills JL, Hummler H, Wiegand U-F. Periconceptional vitamin a use: how much is teratogenic? *Reprod Toxicol* 1998;12:75-88.
- Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, Lee JL, Conley MR, Weir DG. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995;345:149-151.
- Milman N. Iron and pregnancy-a delicate balance. *Ann Hematol* 2006;85:559-565.
- Moore LL, Bradlee ML, Singer MR, Rothman KJ, Milunsky A. Folate intake and the risk of neural tube defects: an estimation of dose-response. *Epidemiology* 2003;14:200-205.
- Mouratidou T, Ford F, Prountzou F, Fraser R. Dietary assessment of a population of pregnant women in Sheffield, UK. *Br J Nutr* 2006;96:929-935.
- MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991;338:131-137.
- Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, Vahabzadeh K, Hama S, Hough G, Kamranpour N, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res* 2004;45:993-1007.
- Newnham JP, Moss TJM, Nitsos I, Sloboda DM, Challis JRG. Nutrition and the early origins of adult disease. *Asia Pac J Clin Nutr* 2002;11:S537-S542.
- Nicklas TA, Baranowski LNT, Cullen KW, Berenson G. Eating patterns, dietary quality and obesity. *J Am Coll Nutr* 2001;20:599-608.
- Oken E. Excess gestational weight gain amplifies risks among obese mothers. *Epidemiology* 2009;20:82-83.
- Oken E, Ning Y, Rifas-Shiman SL, Rich-Edwards JW, Olsen SF, Gillman MW. Diet during pregnancy and risk of preeclampsia or gestational hypertension. *Ann Epidemiol* 2007;17:663-668.
- Olson SE, Seidel GE. Culture of *in vitro*-produced bovine embryos with vitamin e improves development *in vitro* and after transfer to recipients. *Biol Reprod* 2000;62:248-252.

- Ornoy A. Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. *Reprod Toxicol* 2007;24:31-41.
- Osrin D, de L, Costello AM. Maternal nutrition and fetal growth: practical issues in international health. *Semin Neonatol* 2000;5:209-219.
- Oteiza PL, Olin KL, Fraga CG, Keen CL. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr* 1995;125:823-829.
- Padmanabhan R. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenit Anom (Kyoto)* 2006;46:55-67.
- Paeratakul S, Ferdinand DP, Champagne CM, Ryan DH, Bray GA. Fast-food consumption among US adults and children: dietary and nutrient intake profile. *J Am Diet Assoc* 2003;103:1332-1338.
- Pafilis J, Batistatou A, Iliopoulou A, Tsanou E, Bakogiannis A, Dassopoulos G, Charalabopoulos K. Expression of adhesion molecules during normal pregnancy. *Cell Tissue Res* 2007;329:1-11. DOI 10.1007/s00441-007-0406-6.
- Peng Y, Kwok KHH, Yang P-H, Ng SSM, Liu J, Wong OG, He M-L, Kung H-F, Lin MCM. Ascorbic acid inhibits ROS production, NF- κ B activation and prevents ethanol-induced growth retardation and microencephaly. *Neuropharmacology* 2005;48:426-434.
- Penland JG, Prohaska JR. Abnormal motor function persists following recovery from perinatal copper deficiency in rats. *J Nutr* 2004;134:1984-1988.
- Picciano MF. Pregnancy and lactation: physiological adjustments, nutritional requirements and the role of dietary supplements. *J Nutr* 2003;133:1997S-2002S.
- Pitkin RM. Folate and neural tube defects. *Am J Clin Nutr* 2007;85:285S-288S.
- Popkin BM, Gordon-Larsen P. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:S2-S9.
- Prasolova LA, Trut LN, Oskina IN, Gulevich RG, Plyusnina IZ, Vsevolodov EB, Latipov IF. The effect of methyl supplements during pregnancy on the phenotypic modification of offspring agouti coat color in rats. *Russ J Genet* 2006;42:67-71. DOI: 10.1134/S1022795406010091.
- Prohaska JR. Long-term functional consequences of malnutrition during brain development: copper. *Nutr* 2000;16:502-504.
- Prohaska JR, Gybina AA. Rat brain iron concentration is lower following perinatal copper deficiency. *J Neurochem* 2005;93:698-705.
- Ravelli ACJ, van der Meulen JHP, Michels RPJ, Osmond C, Barker DJP, Hales CN, Bleker OP. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 1998;351:173-177.
- Ravelli ACJ, van der Meulen JHP, Osmond C, Barker DJP, Bleker OP. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr* 1999;70:811-816.
- Ray JG, Blom HJ. Vitamin B₁₂ insufficiency and the risk of fetal neural tube defects. *Q J Med* 2003;96:289-295. doi:10.1093/qjmed/hcg043.
- Ray JG, Laskin CA. Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: a systematic review. *Placenta* 1999;20:519-529.
- Ray JG, O'Brien TE, Chan WS. Preconception care and the risk of congenital anomalies in the offspring of women with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Q J Med* 2001;94:435-444.
- Reece EA, Wu Y-K, Wiznitzer A, Homko C, Yao J, Borinstein M, Sloskey G. Dietary polyunsaturated fatty acid prevents malformations in offspring of diabetic rats. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:818-823.
- Rhind SM. Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal reproductive development and function. *Anim Reprod Sci* 2004;82(83):169-181.
- Roberts JM, Balk JL, Bodnar LM, Belizán JM, Bergely E, Martinez A. Nutrient involvement in preeclampsia. *J Nutr* 2003;133:1684S-1692S.
- Ronnenberg AG, Goldman MB, Chen D, Aitken IW, Willett WC, Selhub J, Xu X. Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese women. *Am J Clin Nutr* 2002;76:1385-1391.
- Ronnenberg AG, Wood RJ, Wang X, Xing H, Chen C, Chen D, Guang W, Huang A, Wang L, Xu X. Preconception hemoglobin and ferritin concentrations are associated with pregnancy outcome in a prospective cohort of Chinese women. *J Nutr* 2004;134:2586-2591.
- Ronnenberg AG, Venners SA, Xu X, Chen C, Wang L, Guang W, Huang A, Wang X. Preconception B vitamin and homocysteine status, conception, and early pregnancy loss. *Am J Epidemiol* 2007;2:9. DOI: 10.1093/aje/kwm078.
- Roseboom TJ, van der Meulen JHP, Osmond C, Barker DJP, Ravelli ACJ, Schroeder-Tanka JM, van Montfrans GA, Michels RPJ, Bleker OP. Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart* 2000;84:595-598.
- Roseboom TJ, van der Meulen JHP, Ravelli ACJ, Osmond C, Barker DJP, Bleker OP. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Mol Cell Endocrinol* 2001;185: 93-98.
- Rosemberg IH. Metabolic programming of offspring by vitamin B₁₂/folate imbalance during pregnancy. *Diabetología* 2008;51:6-7.
- Ross AC. Vitamin A and carotenoids. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10 ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 351-375.
- Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB. Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Hum Reprod Update* 2008;14:345-357.
- Ryan-Harshman M, Aldoori W. Vitamin B₁₂ and health. *Can Fam Physician* 2008;54:536-541.
- Sacks. Determinants of fetal growth. *Current Diabetes Reports* 2004;4:281-287.
- Saibeni S, Cattaneo M, Vecchi M, Zighetti ML, Lecchi A, Lombardi R, Meucci G, Spina L, de Franchis R. Low vitamin B₆ plasma levels, a risk factor for thrombosis, in inflammatory bowel disease: role of inflammation and correlation with acute phase reactants. *Am J Gastroenterol* 2003;98:112-117.
- Scholl TO. Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. *Am J Clin Nutr* 2005;81:1218S-1222S.

- Scholl TO, Hediger ML. Anemia and iron-deficiency anemia: compilation of data on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1994;59:492S-501S.
- Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1295S-1303S.
- Shah D, Sachdev HPS. Maternal micronutrients and fetal outcome. *Indian J Pediatr* 2004;71:985-990.
- Sheffield JS, Butler-Koster EL, Casey BM, McIntire DD, Leveno KJ. Maternal Diabetes Mellitus and infant malformations. *Obstet Gynecol* 2002;100:925-930.
- Sibley CP, Turner MA, Cetin I, Ayuk P, Boyd CAR, D'souza SW, Glazier JD, Greenwood SL, Jansson T, Powell T. Placental phenotypes of intrauterine growth. *Pediatr Res* 2005;58:827-832.
- Siega-Riz AM, Hartzema AG, Turnbull C, Thorp J, McDonald T, Cogswell ME. The effects of prophylactic iron given in prenatal supplements on iron status and birth outcomes: a randomized controlled trial. *Br J Nutr* 2006;96:929-935.
- Sinclair KD, Allegrucci C, Sinh R, Gardner DS, Sebastian S, Bispham J, Thurston A, Huntley Jf, Rees WD, Maloney CA, et al. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *PNAS* 2007;104:19351-19356.
- Sivan E, Reece EA, Wu Y-K, Homko C, Polansky M, Borenstein M. Dietary vitamin E prophylaxis and diabetic embryopathy: morphologic and biochemical analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:793-799.
- Smedts HPM, Rakhshandehroo M, Verkleij-Hagoort AC, de Vries JHM, Ottenkamp J, Steegers EAP, Steegers-Theunissen RPM. Maternal intake of fat, riboflavin and nicotinamide and the risk of having offspring with congenital heart defects. *Eur J Nutr* 2008;47:357-365.
- Smith GCS, Pell JP, Dobbie R. Interpregnancy interval and risk of preterm birth and neonatal death: retrospective cohort study. *Br Med J* 2003;327:313. doi:10.1136/bmj.327.7410.313.
- Smits LJM, Essed GGM. Short interpregnancy intervals and unfavourable pregnancy outcome: role of folate depletion. *Lancet* 2001;358:2074-2077.
- Sparks JW, Ross JC, Cetin I. Intrauterine growth and nutrition. En: Polin RA, Fox WW (editores). *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia, USA: WB Saunders Company; 1998: Págs. 267-289.
- Steegers EAP. Begin at the beginning: some reflections on future periconceptional and obstetric care and research in the Netherlands. *Eur Clinics Obstet Gynaecol* 2005;1:203-214. DOI 10.1007/s11296-005-0011-8.
- Steen MT, Bodie AM, Fisher AJ, MacMahon W, Saxe D, Sullivan KM, Dembure PP, Elsas LJ. Neural-tube defects are associated with low concentrations of cobalamin (Vitamin B₁₂) in amniotic fluid. *Prenatal Diagn* 1998;18:545-555.
- Tamura T, Picciano MF. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr* 2006;83:993-1016.
- Taylor CT. Antioxidants and reactive oxygen species in human fertility. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001;10:189-198.
- TheESHRECapriWorkshopGroup. Nutrition and reproduction in women. *Hum Reprod Update* 2006;12:193-207. doi:10.1093/humupd/dmk003.No.3.
- Thellin O, Heinen E. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. *Toxicology* 2003;185:179-184.
- Traber MG. Vitamin E. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th edn. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 396-411.
- Turnlund JR. Copper. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (editores). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 286-299.
- van Eijsden M, Smits LJM, van der Wal MF, Bonsel GJ. Association between short interpregnancy intervals and term birth weight: the role of folate depletion. *Am J Clin Nutr* 2008;88:147-153.
- Velie EM, Block G, Shaw GM, Samuels SJ, Schaffer DM, Kulldorff M. Maternal supplemental and dietary zinc intake and the occurrence of neural tube defects in California. *Am J Epidemiol* 1999;150:605-616.
- Verkleij-Hagoort AC, de Vries JHM, Ursem NTC, de Jonge R, Hop WCJ, Steegers-Theunissen RPM. Dietary intake of B-vitamins in mothers born a child with a congenital heart defect. *Eur J Nutr* 2006;45:478-486. DOI 10.1007/s00394-006-0622-y.
- Verkleij-Hagoort AC, van Driel LMJW, Lindemans J, Isaacs A, Steegers EAP, Helbing WA, Uitterlinden AG, Steegers-Theunissen RPM. Genetic and lifestyle factors related to the periconception vitamin B₁₂ status and congenital heart defects: a Dutch case-control study. *Mol Genet Metab* 2008;94:112-119.
- Viteri FE, Berger J. Importance of pre-pregnancy and pregnancy iron status: can long-term weekly preventive iron and folic acid supplementation achieve desirable and safe status? *Nutr Rev* 2005;63:S65-S76.
- Vujkovic M, Ocke MC, van der Spek PJ, Yazdanpanah N, Steegers EA, Steegers-Theunissen RPM. Maternal western dietary patterns and the risk of developing a cleft lip with or without a cleft palate. *Obstet Gynecol* 2007;110:378-384.
- Watkins ML, Rasmussen SA, Honein MA, Botto LD, Moore CA. Maternal obesity and risk for birth defects. *Pediatrics* 2003;111:1152-1158.
- Watkins AJ, Wilkins A, Cunningham C, Perry VH, Seet MJ, Osmond C, Eckert JJ, Torrens C, Cagampang FRA, Cleal J, et al. Low protein diet fed exclusively during mouse oocyte maturation leads to behavioural and cardiovascular abnormalities in offspring. *J Physiol* 2008;586.8:2231-2244.
- West KP Jr, Katz J, Khatry SK, LeClerq SC, Pradhan EK, Shrestha SR, Connor PB, Dali SM, Christian P, Pokhrel RP, Sommer A on behalf of the NNIPS2 Study Group. Double blind, cluster randomised trial of low dose supplementation with vitamin A or β-carotene on mortality related to pregnancy in Nepal. *Br Med J* 1999;318:570-575.
- Williamson CS. Nutrition in pregnancy. *Nutr Bull* 2006;31:28-59.
- Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B, Yang H, Gravel RA, Rozen R. A common variant in

- methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B₁₂) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab* 1999;67:317-323.
- Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA. Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. *FASEB J* 1998;12:949-957.
 - Wood RJ, Ronnenberg AG. Iron. En: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ (ed). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: Págs. 248-270.
 - Wouters MG, Boers GHJ, Blom HJ, Trijbels JMF, Thomas CMG, Borm GF, Steegers-Theunissen RPM, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993;60:820-825.
 - Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, Refsum H, Rao S, Fisher DJ, Bhat DS, Naik SS, Coyaji KJ, Joglekar CV, 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.
 - Young H, Borrel A, Holland D, Salama P. Public nutrition in complex emergencies. *Lancet* 2004;364:1899-1909.
 - Zago MP, Oteiza PI. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Rad Biol Med* 2001; 266-274. doi:10.1016/S0891-5849(01)00583-4.
 - Zhou L-M, Yang W-W, Hua JZ, Deng C-Q, Tao X, Stoltzfus RJ. Relation of hemoglobin measured at different times in pregnancy to preterm birth and low birth weight in Shanghai, China. *Am J Epidemiol* 1998;148:998-1006.

***Muy a menudo amamos las cosas y usamos a las personas,
cuando deberíamos estar usando las cosas y amando a las personas.***

Abraham Lincoln