



Artículo de revisión

Distintas necesidades de ácido fólico en poblaciones específicas

Aurora Elizabeth Serralde Zúñiga,* Guillermo Meléndez Mier,* Héctor Infante Sierra*

* Departamento de Nutriología Clínica. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán".

Correspondencia:

Aurora Elizabeth Serralde Zúñiga
Departamento de Nutriología Clínica.
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición "Salvador Zubirán". Vasco de
Quiroga 15. Col. Sección XVI. 14000,
México, DF. Tel. 54870900 ext 2234.
Correo electrónico:
aurozabeth@yahoo.com.mx

Fecha de recepción: 4-Mayo-2006

Fecha de aceptación: 15-Julio-2006

Resumen

La evaluación de las recomendaciones de ingestión de vitaminas ha sido basada en los requerimientos para prevenir sus deficiencias y enfermedades asociadas a ellas. Los folatos han servido como prototipo para demostrar la influencia del genotipo sobre los requerimientos de nutrimentos. Según estudios epidemiológicos la deficiencia de folatos y la elevación de homocisteína incrementa el riesgo de desarrollar defectos del cierre del tubo neural (DCTN) y enfermedades cardiovasculares. Diversas alteraciones en la función de los receptores, transportadores o enzimas debidas a polimorfismos en los genes que los codifican afectan negativamente el metabolismo de los folatos, tal es el caso de C677T que tiene alta prevalencia en nuestro país y modifica la respuesta a la dieta, con incremento en los requerimientos de folatos. En vista de proveer las mejores recomendaciones para todos, es necesario incluir el impacto de la variación genética y considerar los requerimientos de cada individuo según su perfil genómico.

Palabras clave: Ácido fólico, folatos, requerimientos, polimorfismos.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(4): 241-246.

Abstract

The evaluation of recommendations for vitamins has been based on requirements to prevent deficiencies and diseases associated with them. Folates have served as a prototype to demonstrate the influence of the genotype on nutrient requirements. According to epidemiological studies, folate deficiency and increases in homocysteine levels increase the risk of developing neural tube defects and cardiovascular diseases. Different alterations in the function of receptors, transporters or enzymes due to polymorphism in the genes that encode them, negatively affect folate metabolism. An example is the case of C677T which has a high prevalence in our country and modifies the response to diet, with increases in folate requirements. In order to provide better recommendations for the entire population, it is necessary to include the impact of genetic variation and to consider the requirements of every individual according to his or her genomic profile.

Key words: Folic acid, folates, requirements, polymorphisms.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(4): 241-246.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, hubo un cambio en la visión sobre las funciones y relevancia de la nutrición en la promoción de la salud poblacional a largo plazo y se ha reconocido que los nutrimentos influyen en el desarrollo de algunas enfermedades crónicas, este interés fomentó el desarrollo de disciplinas que estudian las interacciones

entre nutrimentos y genes; la nutrigenómica evalúa el papel de los nutrimentos en la expresión génica y la nutrigenética la respuesta de un individuo a la dieta según su genotipo. Se ha incrementado la investigación básica y molecular para determinar el impacto de las variaciones genéticas comunes (polimorfismos) sobre los requerimientos nutrimentales y su asociación con eventos médicos adversos; los folatos han servido como prototipo para

demostrar la influencia del genotipo en el estado que guarda este micronutriente en el individuo y por lo tanto en el riesgo de desarrollar ciertas enfermedades asociadas con su deficiencia.

El abordaje tradicional para establecer deficiencias clínicas mediante puntos de corte de mediciones séricas cuando generalmente se presentan signos y síntomas de la patología ha quedado atrás, actualmente los marcadores de un estado inadecuado se determinan por la evidencia generada del incremento en el riesgo de enfermedad con datos de estudios clínicos y epidemiológicos. Los requerimientos nutrimentales son la expresión numérica de la cantidad que un individuo dado, en un momento y condiciones específicas necesita para mantener la salud y un estado nutricional óptimo. Las concentraciones sanguíneas de un nutriente dependen por lo tanto del aporte y utilización en el sujeto, lo anterior es determinado por la ingestión y disponibilidad: absorción, digestión, distribución, almacenamiento y excreción. En este contexto, pequeñas alteraciones en la función de los receptores, transportadores o enzimas de los folatos debidas a polimorfismos en los genes que los codifican son consideraciones indispensables para el control del estado óptimo en cada individuo, porque un genotipo adverso pudiera condicionar un incremento en los requerimientos¹ (Figura 1).

METABOLISMO DE LOS FOLATOS

Las interacciones entre la dieta y el genotipo pueden afectar el metabolismo de los folatos, específicamente la remetilación de homocisteína a metionina, por lo que existe una relación inversa entre la concentración de folatos y homocisteína; esta última, es metabolizada a través de dos vías, en condiciones normales aproximadamente la mitad es convertida por transulfuración a cisteína y el otro 50% es remetilado para formar metionina y después S-adenosilmetionina que es uno de los principales donadores de grupos metilo para reacciones de metilación del ADN (ácido desoxirribonucleico) (Figura 2), proteínas, lípidos, neurotransmisores, etc.; por lo cual si se altera este ciclo existen efectos negativos en la expresión génica, en la función de la membrana, señalización y en los niveles de neurotransmisores.

Son tres las enzimas relacionadas con la hiperhomocisteinemia e hiperhomocisteinuria: cistationina β -sintasa (CBS), metionina sintasa (MS) y la metilene-tetra-hidrofolato-reductasa (MTHFR). La homocisteína fue descrita por primera vez en 1932 y en 1962 se identificó en la orina de niños con retraso mental, de los cuales el 50% tenían arterioesclerosis precoz y tromboembolia y el 25% morían por estos eventos antes de los 30 años.²

Existen diversos estudios epidemiológicos que han mostrado asociación entre niveles altos de homocisteína e in-

cremento en el riesgo para diversas enfermedades cardiovasculares, defectos del cierre del tubo neural (DCTN) y otros defectos al nacimiento como síndrome de Down, cáncer, trastornos neuropsiquiátricos y deterioro cognitivo.³⁻⁸

DEFECTOS ENZIMÁTICOS COMUNES

Aproximadamente 50-100 genes están involucrados directa o indirectamente en el metabolismo de los folatos, incluyendo receptores, proteínas de unión, enzimas, etc., que influyen en los metabolitos derivados. El bajo aporte de folatos y los polimorfismos relacionados a la homocisteína pueden interactuar y contribuir al riesgo de enfermedad cardiovascular. La evidencia respecto a la participación de factores genéticos en la elevación de homocisteína como factor de riesgo independiente fue resumida en dos meta-análisis,^{9,10} además, la hipometilación del ADN está asociada con anomalías en su síntesis, alteración en la replicación, segregación anormal, como es el caso de la no disyunción en la trisomía 21^{11,12} e inestabilidad genómica, que constituye una de las hipótesis en la generación del cáncer.¹³

Se han evaluado diversos polimorfismos en relación con los efectos fenotípicos sobre el biomarcador o estado del nutriente. Para la mayoría de esas variantes, las consecuencias parecen ser mínimas y sólo algunas pueden surgir como predictores individuales de enfermedad o de los niveles del nutriente debido a que los individuos pueden requerir mayor o menor aporte para mantener la función adecuada.

A continuación se mencionan los polimorfismos (se enuncia primero la inicial del alelo normal, la localización del nucleótido afectado y al final la letra del alelo mutado: T-Timina, C-Citosina, G-Guanina y A-Adenina) para las

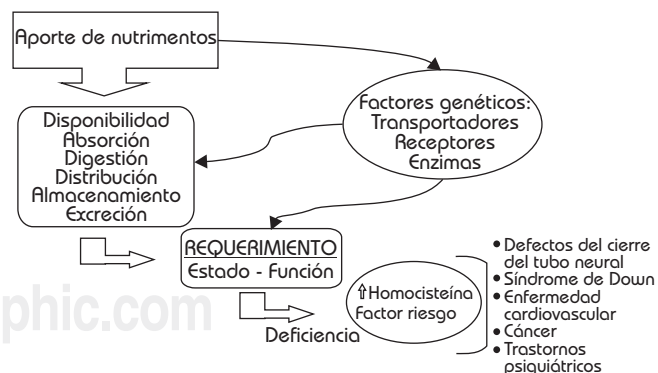


Figura 1. La ingestión de nutrientes modula los efectos genéticos, los cuales determinan la disponibilidad y los requerimientos de ácido fólico, si no se cubren las necesidades del sujeto existe un incremento en metabolitos intermedios como la homocisteína, considerada un factor de riesgo para diversas enfermedades.

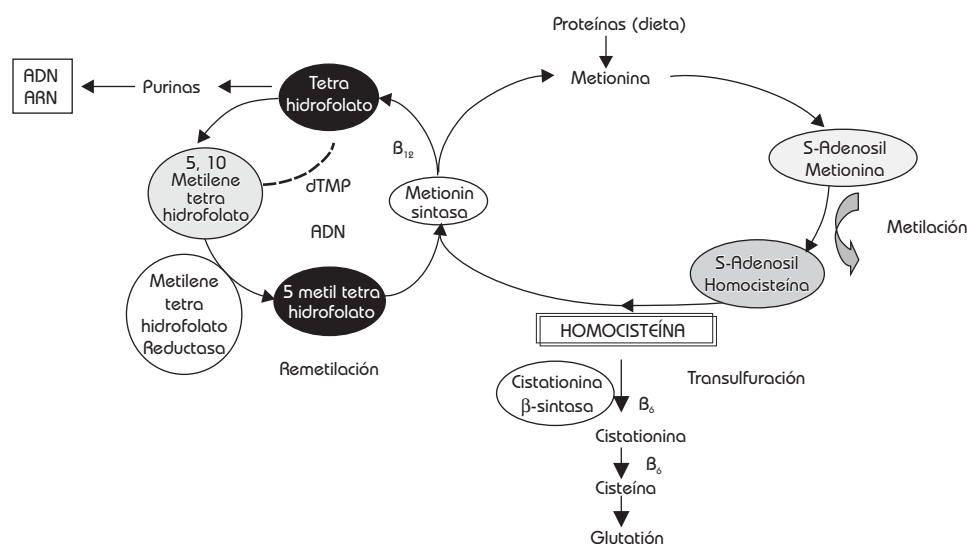


Figura 2. Metabolismo de los folatos. La homocisteína es metabolizada a través de dos vías: por transulfuración a cisteína, para lo que se requiere a la vitamina B6 y por remetilación a metionina y después S-adenosilmetionina que es uno de los principales donadores de grupos metilo para reacciones de metilación y tiene como cofactor a la vitamina B12. Podemos observar el sitio de acción de las 3 enzimas relacionadas con la hiperhomocisteinemia: CBS, MS y la MTHFR.

enzimas más importantes relacionadas con el metabolismo de los folatos para la CBS: T833C, G919A y 844ins68 en donde existe incremento en la actividad enzimática en heterocigotos, por lo que se considera protector; en la MS: A2756G ocurre un cambio de aspartato por glicina, también ha sido descrito como protector y respecto a la MTHFR se han descrito 18 mutaciones, 14 son muy raras y afectan del 0-20% su actividad,¹⁴⁻¹⁶ 3 prácticamente no tienen efecto y de éstas la más común es A1298C que condiciona el cambio de glutamato por alanina. Por su alta prevalencia, el polimorfismo más importante es C677T, su caracterización se realizó en 1991¹⁷ y la identificación genética en 1995,¹⁸ consiste en un cambio en alanina por valina, lo que confiere termolabilidad a la enzima, en los homocigotos existe reducción de más del 50% de la actividad enzimática y por lo tanto de la síntesis de 5 metil tetrahidrofolato, usado para la remetilación de homocisteína a metionina. También se reduce la afinidad por su cofactor (riboflavina), se asocia a hiperhomocisteinemia, particularmente si el aporte de folatos es bajo porque los sujetos con este genotipo tienen requerimientos más altos y riesgo para anomalías congénitas,¹⁹ con resultados aún controversiales en enfermedad cardiovascular.^{20,21}

Se han propuesto diversas explicaciones para algunas inconsistencias mostradas en los estudios, como son interacciones genéticas, ambientales y variaciones nutrimentales. Se ha explorado la distribución geográfica y étnica del alelo y genotipos asociados, ya que esta información puede contribuir a las asociaciones gen-enfermedad al aportar datos de la población de referencia y la genética poblacional, porque sabemos existen variaciones étnicas por presiones evolutivas; todo esto ayudará a evaluar el impacto en la salud, específicamente estimando la fracción atribuible poblacional.

INTERACCIÓN GENÉTICA

La prevalencia de ser homocigoto C677T en un estudio con 7,000 recién nacidos en 16 áreas en el mundo fue baja en individuos de raza negra (2.7%), alta en regiones como China (20%), el sur de Italia (26%) y la más alta se documentó en México con 32%, en este estudio concluyen que la prevalencia es baja en poblaciones con ancestros de origen africano, intermedio para las poblaciones con ancestros europeos y alta en las poblaciones con ancestros hispanos.²²

En México los DCTN tienen alta prevalencia (1 de cada 250 concepciones que alcanzan las 20 semanas de gestación),²³ este número es 3 a 4 veces mayor a lo registrado en otros grupos étnicos relacionados (España y Sudamérica).²⁴ Mutchinik y cols²⁵ estudiaron la frecuencia de la mutación en nuestro país en un estudio multicéntrico con 250 mujeres en edad reproductiva y reportaron las siguientes proporciones para el alelo silvestre o normal CC (17.6%), heterocigoto para la mutación CT (47.6%) y homocigoto TT (34.8%), con una frecuencia de 0.414 y 0.586% para los alelos C y T. Al comparar estos resultados con los reportes de estudios realizados en otros países como Irlanda, Japón y Estados Unidos la razón de momios para ser homocigoto para esta mutación es de 5.8 (IC 95% 3.4-10.3), estos hallazgos pudieran explicar los DCTN en nuestra población. Sin embargo, existen excepciones, por ejemplo el genotipo TT es común en el sur de Italia y la tasa de DCTN no, estas diferencias pueden explicarse por las interacciones con otros factores ambientales y nutricionales. Además se ha reportado también interacciones entre los polimorfismos, en sujetos heterocigotos para A1298C y C677T existe la misma reducción en la actividad de la MTHFR que en los individuos homoci-

gotos para C677T; u ocurrir efectos contrarios como es el caso del polimorfismo en la MS A2756G (protector) y de la MTHFR C677T, en el que se observa reducción en los niveles de homocisteína.²⁶

INTERACCIÓN CON LA DIETA

En la génesis de las enfermedades asociadas a hiperhomocisteinemia se han descrito otros factores de riesgo como los niveles de folatos y de otras vitaminas; debido a que su deficiencia puede exacerbar los efectos de los polimorfismos o por el contrario, neutralizarlos, si la ingestión es adecuada o incluso superior a lo recomendado. Algunos trabajos se han centrado en el estudio de la influencia de la ingestión de esta vitamina y su relación con las concentraciones séricas de ésta y de homocisteína. En las políticas de salud se han sugerido tres acciones para evitar su deficiencia: incrementar el consumo de alimentos naturales ricos en éstos, fortificación y prescripción de suplementos de ácido fólico. La influencia del tipo de folatos consumidos es importante, ya que los presentes en los alimentos naturales tienen pobre disponibilidad porque pueden ser inactivados durante el almacenamiento, preparación y cocción, además se encuentran en forma de poliglutamatos que deben ser convertidos en monoglutamatos para su absorción en yeyuno y las intervenciones realizadas para incrementar su consumo en la población no han sido lo suficientemente efectivas.²⁷ Ha sido utilizado el ácido fólico sintético disponible como suplemento, porque tiene mejor disponibilidad y estabilidad (220 µg de ácido fólico equivale a 380 µg de folatos). La Food Drug Administration desde enero de 1998 ordenó fortificar las harinas con ácido fólico y en los países en donde se ha implementado ha resultado ser una maniobra preventiva exitosa para mejorar el aporte a la población y evitar su deficiencia, reduciendo así principalmente los DCTN porque en las primeras semanas de gestación cuando el riesgo es mayor, la mayoría de las mujeres aún no saben que están embarazadas.²⁸⁻³²

Las intervenciones con ácido fólico pueden modular los efectos deletéreos de los polimorfismos. Existen estudios que han documentado la reducción significativa en las concentraciones de homocisteína con la suplementación³³ de 400 µg después de cuatro semanas de intervención 8%, 15% y 20% en sujetos con el genotipo para la MTHFR CC, CT, y TT respectivamente³⁴ y 11%, 15% y 18% con alimentos con alto contenido en folatos.³⁵

Ashfield-Watt y colaboradores³⁶ estudiaron a 126 individuos sanos con los siguientes genotipos para la MTHFR 42 TT, 42 CT y 42 CC, a los cuales asignaron tres intervenciones dietéticas de cuatro meses cada una: 1) de exclusión de folatos, en el cual debían consumir su dieta de forma habitual, pero eran excluidos alimentos fortificados

y sustituidos por no fortificados; 2) rica en folatos, los individuos ingerían alimentos fortificados y naturales con alto contenido en folatos (aproximadamente 400 µg) y 3) a la dieta de exclusión se agregó un suplemento de ácido fólico con 400 µg. Concluyeron que los individuos homocigotos TT sí responden a la maniobra, aunque requieren un mayor aporte de folatos que aquéllos con genotipo CT o CC para tener niveles similares a éstos y de homocisteína (Figuras 3 y 4). Este incremento aparente en los requerimientos de los homocigotos TT para la MTHFR que según los resultados previos estarían comprendidos entre 400 a 600 µg, es un factor muy importante a considerar en las políticas para la fortificación y suplementación por el incremento en el riesgo de tener efectos negativos por su deficiencia.

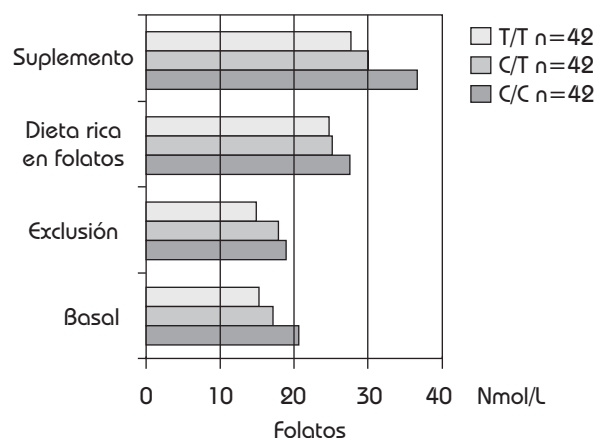


Figura 3. Promedio de las concentraciones de folatos de 126 sujetos con diferentes genotipos para la MTHFR (TT, CT y CC) sometidos a 3 intervenciones en la dieta. Tanto el genotipo ($p < 0.005$) como las intervenciones ($p < 0.001$) tuvieron efectos independientes en los niveles de folatos; no se encontró interacción.

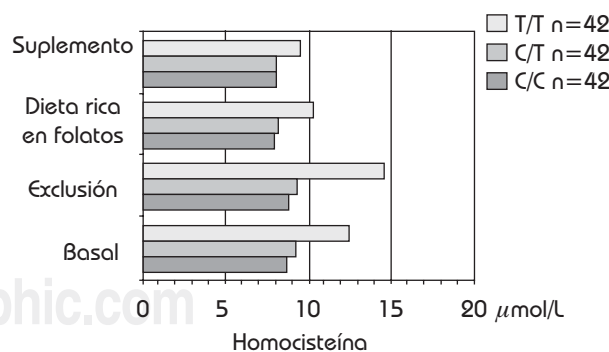


Figura 4. Promedio de las concentraciones de homocisteína de 126 sujetos con diferentes genotipos para la MTHFR (TT, CT y CC) sometidos a 3 intervenciones en la dieta. Tanto en el estado basal como en todas las intervenciones existió diferencia en los niveles de homocisteína en los sujetos homocigotos TT en comparación con los otros genotipos ($p < 0.05$).

Aunque los folatos han servido para explicar las relaciones entre la variabilidad genética, los requerimientos del nutrimento y el riesgo de enfermedad, también han sido descritas las dificultades para realizar investigación en este campo. En el aspecto genético es posible que se enmascaren las diferencias en los estudios de casos y controles por la diversidad étnica en la prevalencia de la variante y el poder para detectar las diferencias por el número de sujetos de los estudios en las categorías de interés raras. Respecto a variables nutricionales, la edad, género, imprecisiones en la cuantificación del aporte o determinaciones de los metabolitos pueden modificar las diferencias bioquímicas en los estudios con diferentes genotipos.

CONCLUSIONES

La nutrigenómica y nutrigenética estudian las complejas interacciones entre los genes y nutrimentos, los folatos han servido como prototipo para demostrar la influencia del genotipo sobre los requerimientos de este micronutriente. El bajo aporte de folatos y los polimorfismos relacionados a la homocisteína pueden interactuar y contribuir al riesgo de desarrollar ciertas enfermedades como las cardiovasculares y DCTN, estos últimos tienen alta prevalencia en México al igual que el polimorfismo en la MTHFR C677T, que al reducir la actividad enzimática influye negativamente en el metabolismo de los folatos, modifica la respuesta a la dieta y condiciona un incremento en los requerimientos de los sujetos portadores, y es exacerbado por un bajo aporte. Lo anterior, es importante considerarlo en el desarrollo de políticas preventivas con la fortificación y suplementación eficaz para la reducción de las enfermedades asociadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Mohillo A. Genetic variation and nutritional requirements in Nutrigenetics and Nutrigenomics. Simopoulos A, Ordoñas J (eds). *World Rev Nutr Diet* Basel, Karger, 2004 (93): 153-163.
- Boander-Gouaille C. *Focus on homocysteine and the vitamins involved in its metabolism*. Second edition. Springer-Verlag France. 2002: 15-31.
- Mangoni A, Jackson S. Homocysteine and cardiovascular disease: Current evidence and future prospects. *Am J Med* 2002; 112: 556-565.
- Weir D, Scott J. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular and related disease: Nutritional implications. *Nutr Res Rev* 1998; 11: 311-338.
- Vollset S, Refsum H, Irgens L. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: The Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 962-968.
- Eichbolzer M, Lutby J, Moser U, Fowler B. Folate and risk of colorectal, breast and cervix cancer: The epidemiological evidence. *Swiss Med Wkly* 2001; 131: 539-549.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 476-483.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F. Homocysteine and cognitive function in healthy elderly community dwellers in Italy. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 668-73.
- Wald D, Law M, Morris J. Homocysteine and cardiovascular disease: Evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325: 1202-8.
- Klerk M, Verhoef P, Clarke R. MTHFR Studies Collaboration Group. MTHFR 677C → T polymorphism and risk of coronary heart disease: A meta-analysis. *JAMA* 2002; 288: 2023-31.
- Rosenblatt D. Folate and homocysteine metabolism and gene polymorphism in the etiology of Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 429-30.
- James J, Pogribna M, Pogribny I, Melnyk S, Hine R, Gibson J, Yi P, Tapoça D, Swenson D, Wilson V, Gaylor D. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 495-501.
- Duthie S, Narayanan S, Brand G. Impact of folate deficiency on DNA stability. *J Nutr* 2002; 132: 2444S-9S.
- Goyette P, Summer J, Milos R, Duncan A, Rosenblatt D, Matthews R, Rozen R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: Isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature Genet* 1994; 7: 195-200.
- Goyette P, Frosst P, Rosenblatt D, Frozen R. Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe MTHFR deficiency. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 1053-9.
- Goyette P, Christensen B, Rosenblatt D, Rozen R. Severe and mild mutations in cis for the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, and description of 5 novel mutations in MTHFR. *Am J Hum Genet* 1996: 1286-75.
- Kang S, Wong P, Susmano A. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Genet* 1991; 48: 536-45.
- Frosst P, Blom H, Milos R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Gen* 1995; 10: 111-3.
- Van Der Put N, Steegers-Theunissen R, Frosst P, Tribels F, Eskes T, van der Heuvel L, Mariman E, den Heijer M, Rozen R, Blom H. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifid. *Lancet* 1995; 346: 1070-1.
- The Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 Investigators. Homocysteine lowering with folic acid and vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354(15): 1567-77.
- Kluijtmans L, Kastelein J, Lindemans J. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1997; 96: 2573-7.
- Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Redlund M, Stoll C, Alembik Y, Dott B, Czeizel A, Zelman-Kohan G, Scaramo G, Bianca S, Ettore G, Tenconi R, Bellato S, Scala I, Mutchinik O, López M, De Walle H, Hofstra R, Joutchenko L,

- Kavteladze L, Bermejo E, Martínez M, Gallagher M, Erickson J, Vollset S, Mastroiacovo P, Andria G, Botto L. Geographical and ethnic variation of the 677C > T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7,000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet* 2003; 40: 619-25.
23. Mutchinik O, Lisker R, Babinsky V. Programa Mexicano de Registro y Vigilancia Epidemiológica de Malformaciones Congénitas Externas (RYVEMCE). *Rev Salud Pública* 1988; 30: 88-100.
24. International Claeringhouse for Birth defects Monitoring Systems. Congenital Malformations Worldwide (ICBDMS) Amsterdam, 1991: 41-58.
25. Mutchinik O, López M, Luna L, Waxman J, Babinsky V and the RYVEMCE Collaborative Group. High Prevalence of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab* 1999; 68: 461-7.
26. Tsai M. Polygenic influence on plasma homocysteine: association of two prevalent mutations, the 844ins68 of cystathionine synthase, with lowered plasma homocysteine levels. *Atherosclerosis* 2000; 149: 131-7.
27. Cuskelly G, McNulthy H, Scott J. Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet* 1996; 347: 657-9.
28. Rosenberg I. Virtual folate: virtual success? *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 177-8.
29. Lewis C, Crane N, Wilson D, Yetley E. Estimated folate intakes: data updated to reflected food fortification, increased bioavailability, and dietary supplement use. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 198-207.
30. Jacques P, Selhub J, Bostom A. The effect of folic acid fortification on plasma folate and homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340: 1149-54.
31. Quinlivan E, Gregory J. Effect of food fortification on folic acid intake in the United States. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 221-5.
32. Homocysteine Lowering Trialist' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta analysis of randomized trials. *BMJ* 1998; 316: 894-8.
33. Shelnutt K, Kauwell G, Chapman C. Folate status response to controlled folate intake is affected by the methylenetetrahydrofolate reductase 677C → T polymorphism in young women. *J Nutr* 2003; 133: 4107-11.
34. Fohr I, Prinz-Langenohl A, Brönstrup A, Bohlmann A, Nau H, Berthold H, Pietrzik K. 5, 10 Methylenetetrahydrofolate reductase genotype determines the plasma homocysteine-lowering effect of supplementation with 5-methyltetrahydrofolate or folic acid in healthy young women. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 275-82.
35. Silaste M, Rantala M, Sääpi M, Alfthan G, Aro A, Kesäniemi A. Polymorphisms of key enzymes in homocysteine metabolism affect diet responsiveness of plasma homocysteine in healthy women. *J Nutr* 2001; 131: 2643-7.
36. Ashfield-Watt P, Pullin C, Whiting J, Clark Z, Moat S, Newcombe R, Burr M, Lewis M, Powers H, McDowell I. Methylenetetrahydrofolate reductase 677C → T genotype modulates homocysteine responses to a folate-rich diet or a low-dose folic acid supplement: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 180-6.