

叶酸在蛋鸡体内吸收代谢及其机制研究进展

孙丹丹^{1,2} 张军民^{1,2} 赵青余^{1,2} 秦玉昌^{1*}

(1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193;2.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,农业农村部华北动物遗传资源与营养科学观测实验站,北京 100193)

摘要: 叶酸摄入不足是全球普遍存在的问题,人体叶酸水平过低增加贫血、胎儿畸形、心脑血管疾病、癌症和认知障碍的风险。然而,氧化型叶酸的摄入可能引起叶酸过量导致的潜在致病风险。氧化型叶酸可在蛋鸡体内转化为天然的5-甲基四氢叶酸形式并富集于鸡蛋中,使人体在摄入食物的同时,解决叶酸摄入不足问题。本文综述了叶酸在鸡蛋中的富集规律及其在肠道、肝脏、卵巢、肾脏中的吸收和代谢过程,阐释了叶酸在蛋鸡体内代谢调控机制,旨在为叶酸在蛋鸡中的进一步研究提供参考依据。

关键词: 叶酸;吸收;代谢;富集;蛋鸡

中图分类号: S831

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2020)06-2467-09

叶酸是一类水溶性B族维生素,是生物体内重要的一碳单位供体和载体,参与细胞内甲基化反应、核酸合成和氨基酸代谢,是细胞增殖和代谢的关键辅因子。然而,人体不能合成叶酸,必须从外源获得。目前,无论是发达国家还是发展中国家,叶酸缺乏仍然是普遍存在的健康问题^[1]。根据《中国居民膳食营养素参考摄入量》(WS/T 578.5—2018),成人叶酸推荐摄入量为400 μg/d。在2010—2012年间我国居民膳食叶酸平均摄入量为180.9 μg/d,叶酸充足率仅为9.0%^[2]。因此,我国居民需要额外补充叶酸以满足需要量。

叶酸分为氧化型和还原型。添加剂、补充剂和强化食物中常见的叶酸形式为蝶酰谷氨酸(pteroylglutamic acid, PteGlu),是一种化工合成的氧化型叶酸。由于PteGlu是一种非天然形式叶酸,对人体健康的利弊还存在很大争议^[3]。过量摄入PteGlu掩盖了维生素B₁₂缺乏症的早期症状,延误治疗,导致神经系统不可逆损伤;服用抑制二

氢叶酸还原酶的药物,使PteGlu不能转化为活性形式进入叶酸代谢循环,导致功能性叶酸缺乏;亚甲基四氢叶酸还原酶多态性导致5-甲基四氢叶酸(5-methyltetrahydrofolate, 5-MTHF)合成降低^[4]。5-MTHF是一种具有生物活性的还原型叶酸,能克服PteGlu过量、药物抑制及基因多态性引起的代谢紊乱。鸡蛋中叶酸主要以5-MTHF形式存在于蛋黄中^[5],在蛋鸡饲料中添加PteGlu,经蛋鸡转化生产的富叶酸鸡蛋提供的天然叶酸是普通鸡蛋的2倍多,使人体能够在补充其他营养物质的同时改善叶酸摄入不足的问题。给小鼠饲喂富叶酸蛋黄粉与同时饲喂PteGlu和胆碱添加剂的效果相同^[6]。鸡蛋中叶酸十分稳定,在室温和低温条件储存27 d以及煮煎后其含量没有显著变化^[7],而且与其他富含叶酸的食物相比,鸡蛋叶酸的有效性最高^[8]。因此,富叶酸鸡蛋是优良的膳食叶酸来源,但其富集量受到多种因素影响。

收稿日期:2019-11-23

基金项目:北京市科委计划课题(Z181100009318008);中国农业科学院科技创新工程协同创新任务主要农产品营养品质评价与调控项目(CAAS-XTX20190025-8);中国农业科学院科技创新工程项目(ASTIP-IAS12)

作者简介:孙丹丹(1989—),女,山东泰安人,博士研究生,研究方向为农产品功能成分评价。E-mail: sundandan1227@126.com

*通信作者:秦玉昌,研究员,博士生导师,E-mail: qinyuchang@caas.cn

1 叶酸在鸡蛋中的富集规律

蛋鸡将添加在饲料中的叶酸转化为天然易吸收的叶酸形式富集于蛋黄中。大量研究表明,蛋鸡饲料中添加叶酸能显著提高鸡蛋中叶酸含量,但叶酸添加到一定量时,鸡蛋中叶酸含量达到饱和。不同环境因素、蛋鸡品种、生长阶段等因素影响鸡蛋叶酸沉积量以及达到饱和时叶酸添加量^[5,9-11]。

饲料中叶酸添加量是影响鸡蛋中叶酸富集量的主要因素。表 1 总结了叶酸添加量与鸡蛋中叶酸含量关系,结果表明,鸡蛋中叶酸含量随饲料中叶酸添加量的增加而显著升高,达到一定添加量时,鸡蛋中叶酸含量不再显著增加。Ogundare 等^[12]给哈可蛋鸡饲料中分别添加 0.5 和 1.0 mg/kg PteGlu 时,鸡蛋中叶酸含量分别为对照组的 2.1 和 2.6 倍;在海兰褐、海兰 W98 和海兰 W36 蛋鸡饲料中添加 4~16 mg/kg PteGlu 时,鸡

蛋中叶酸可达到最高沉积量^[13-15]。由于叶酸是一种不稳定的化合物,在光照、空气或加热条件下很容易被氧化分解^[16],导致不同实验室间检测结果差异较大。例如,17 个来自不同国家的实验室检测豆粉、鱼粉和麦片中叶酸含量,实验室间的变异系数分别为 24%、35% 和 24%^[17];Strandler 等^[5]比较了不同文献和数据库中鸡蛋叶酸含量发现,蛋黄叶酸含量为 5.1~27.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,并检测出 5-MTHF 和 10-甲酰叶酸 2 种形式;Nojavan 等^[18]在蛋黄中检测出 5-MTHF、5-甲酰叶酸和 10-甲酰叶酸 3 种形式,且比例和含量与其他报道^[5]存在较大差异。因此,叶酸检测方法可能是导致不同文献中鸡蛋叶酸含量差异较大的一个重要因素。通过叶酸添加组和对照组比值消除不同文献报道间的叶酸检测值差异得出:叶酸添加量在 0.5~8.0 mg/kg 时,鸡蛋中叶酸含量增加倍数最高。叶酸添加形态(PteGlu 和 5-MTHF)对鸡蛋叶酸含量没有显著影响^[9]。

表 1 叶酸添加量对鸡蛋中叶酸含量的影响

Table 1 Effects of supplemental level of folic acid on folate content in eggs

蛋鸡品种 Layer species	叶酸添加量 Supplemental level of folic acid/(mg/kg)	鸡蛋叶酸含量 Egg folate content/ ($\mu\text{g}/\text{egg}$)	参考文献 Reference
海兰褐 Hy-line brown	0 6	42.1 82.4	[19]
黑哈可 Black Harco	0 0.5 1.0	17.6 40.6 46.6	[12]
海兰 CV20 Hy-line CV20	0 4	19.7 39.0	[10]
雪弗白 Shaver white 雪弗褐 Shaver brown	0 8.82(PteGlu) 9.05(5-MTHF)	28.2 43.9 47.3	[9]
海兰 W98 Hy-line W98	0 4	20.8 57.2	
海兰 W36 Hy-line W36	0 4	17.7 49.6	
海兰 CV20 Hy-line CV20	0 2 4	22.3 46.4 57.9	[11]

续表 1

蛋鸡品种 Layer species	叶酸添加量 Supplemental level of folic acid/(mg/kg)	鸡蛋叶酸含量 Egg folate content/ ($\mu\text{g}/\text{egg}$)	参考文献 Reference
	0	35.0	
	2	56.1	
海兰褐 Hy-line brown	4	52.2	[15]
	8	70.9	
	16	83.9	
	32	75.0	
	0	16.6	
	2	32.8	
	4	48.2	
海兰 W36 Hy-line W36	8	31.6	
	16	29.5	
	32	45.8	
	64	35.8	
	128	34.5	[13]
	0	16.8	
	2	42.2	
	4	31.0	
海兰 W98 Hy-line W98	8	49.5	
	16	47.1	
	32	42.2	
	64	46.7	
	128	42.8	

PteGlu: 蝶酰谷氨酸 pteroylglutamic acid; 5-MTHF: 5-甲基四氢叶酸 5-methyltetrahydrofolate。

饲料原料内源性叶酸含量影响鸡蛋叶酸含量。蛋鸡饲喂玉米基础饲料产生的鸡蛋中叶酸含量大于大麦基础饲料,显著高于小麦基础饲料^[10];饲料中非淀粉多糖影响叶酸消化吸收,在小麦基础饲料中添加 β -葡聚糖酶或木聚糖酶,不能显著提高鸡蛋叶酸含量^[10];常规基础饲料和有机基础饲料对鸡蛋中叶酸含量没有显著影响^[5]。蛋鸡饲喂不同水平叶酸,鸡蛋中叶酸在第3周时可达稳定的富集状态^[15,19]。不同品种以及不同生长阶段的蛋鸡对叶酸的需要量存在差异。蛋鸡品种(来航、宝万斯和海兰)不影响鸡蛋中叶酸含量^[9,11];但给雪弗褐和雪弗白蛋鸡饲料中添加相同浓度的叶酸,两者血清叶酸含量和血浆同型半胱氨酸含量差异显著^[9];Hebert等^[13]在海兰 W36 和海兰 W98 蛋鸡基础饲料中分别添加 2~128 mg/kg 叶酸,海兰 W98 蛋鸡的蛋重、蛋黄重和采食量显著高于海兰 W36,因此,海兰 W98 对叶酸的需要量高于海兰 W36;Jing等^[20]发现,饲料中

添加叶酸能增加 24 周龄雪弗白蛋重和产蛋总量,而在 58 周龄时不受影响。

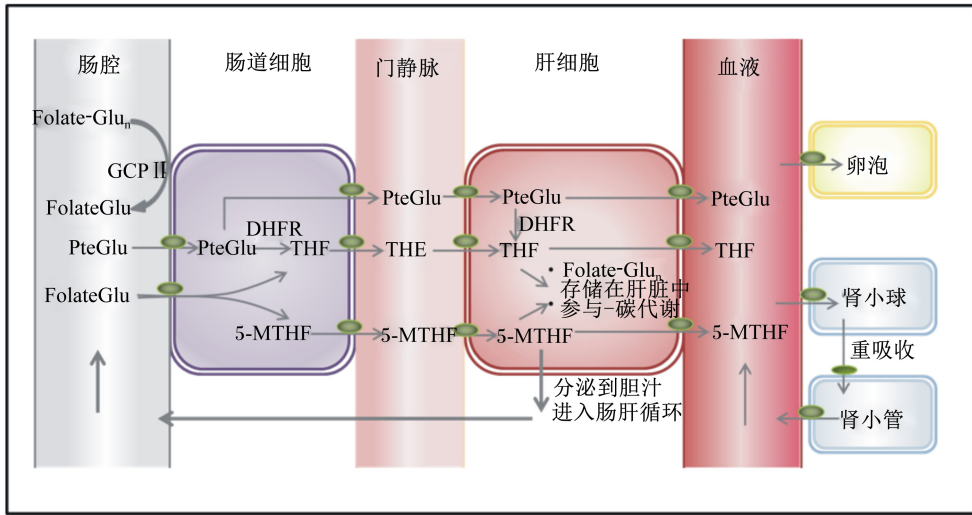
综上,叶酸添加量和饲料原料中叶酸含量是影响鸡蛋叶酸富集量的主要因素,随着叶酸摄入量的增加,鸡蛋中叶酸显著增加并在一定程度达到饱和状态。鸡蛋中叶酸富集规律受到叶酸在蛋鸡体内的吸收、代谢和转运的影响,从肠道中吸收叶酸到鸡蛋中叶酸的沉积涉及一系列复杂的调控过程。

2 叶酸在蛋鸡体内的吸收与转运

PteGlu 是单谷氨酸形式,可直接被肠黏膜吸收。大多数天然来源的叶酸是多聚谷氨酸形式,不能直接穿过肠细胞膜,首先在十二指肠和空肠的刷状缘膜上转化成单谷氨酸形式被肠黏膜吸收^[21]。叶酸从小肠运输到肝门静脉系统后,到达肝血窦和肝细胞基底膜。肝脏中叶酸为单谷氨酸形式时,有 4 个可能的流向:1) 转化成多聚谷氨酸

形式储存,肝脏是多聚谷氨酸叶酸储存的重要位置,大约有 50% 的叶酸储存在肝脏中^[22];2) 作为甲基供体和载体参与一碳代谢,用于核酸合成和甲基化反应^[23];3) 由肝微管膜分泌到胆汁中,返

回到十二指肠和空肠重吸收,完成肠肝循环^[23];4) 进入肝静脉,最终进入体循环,经体循环将叶酸运输至各组织器官^[22](图 1)。



Folate-Glu_n:多聚谷氨酸叶酸 polyglutamic acid folate; FolateGlu:单谷氨酸叶酸 glutamate folate; PteGlu:蝶酰谷氨酸 pteroylglutamic acid; THF:四氢叶酸 tetrahydrofolate; GCP II:谷氨酸羧肽酶 II glutamic acid carboxypeptidase II; DHFR:二氢叶酸还原酶 dihydrofolate reductase, 5-MTHF:5-甲基四氢叶酸 5-methyltetrahydrofolate。

图 1 叶酸在蛋鸡体内的吸收与代谢

Fig.1 Absorption and metabolism of folate in layers^[21-23]

2.1 肠道吸收

蛋鸡肠道对叶酸水平有很强的适应性。单谷氨酸叶酸通过质子耦合叶酸转运蛋白 (proton-coupled folate transporter, PCFT) 和还原型叶酸转运蛋白 (reduced folate transporter, RFC) 穿过近端空肠的顶端刷状缘膜,肠细胞中高浓度叶酸有利于叶酸穿过基底外侧膜进入浆膜周围的空间^[24-25]。当叶酸浓度小于 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 时,蛋鸡空肠黏膜到浆膜叶酸吸收率显著增加,当叶酸浓度大于 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶酸的吸收率没有显著变化^[26]。叶酸过量时,蛋鸡十二指肠对叶酸吸收下降^[27];蛋鸡饲料中添加 5-MTHF 使空肠 PCFT 和 RFC mRNA 表达量显著下调^[24-25]。哺乳动物在叶酸缺乏条件下,小肠 RFC mRNA 和蛋白表达量增加,提高了肠道对叶酸的吸收;叶酸过量条件下, RFC mRNA 表达量降低,减少肠道叶酸吸收^[28-29]。因此,肠道适应性吸收是影响鸡蛋叶酸富集量的首要因素。

此外,肠道中的叶酸除了来源于食物,肠道微生物也能合成叶酸供宿主利用。家禽肠道微生物

优势菌群包括乳杆菌属、链球菌属、双歧杆菌属、肠杆菌科、梭菌科等^[30],这些菌群都能独立的合成叶酸^[31]。饲料中添加叶酸能优化雏鹅盲肠菌群结构,增加有益菌如杆菌属、拟杆菌属的丰度等^[32]。补充能合成叶酸的益生菌如乳酸乳球菌或双歧杆菌能显著增加叶酸缺乏大鼠的机体叶酸水平^[33-34]。因此,除了饲料来源的叶酸外,肠道微生物合成的叶酸也通过肠细胞吸收进入血液循环,进一步富集到鸡蛋中。

2.2 肠肝循环

肠道叶酸净吸收不仅取决于肠道中叶酸水平,也受到肝脏经由胆汁返回到肠道的叶酸水平的影响。通过肠肝循环进入到血液的叶酸占血液总叶酸含量的 50%^[35]。血液中叶酸的含量与从胆汁释放和重吸收的叶酸含量成正比^[36]。当蛋鸡饲料中分别添加 10.0 mg/kg PteGlu 和 11.3 mg/kg 5-MTHF 时,肝脏叶酸含量没有显著变化^[36],可能是由于肠肝循环以及肝脏不断将叶酸运输到不同的组织器官。叶酸缺乏时,叶酸半衰期从 15 d 增加到 40 d,肝脏和肾脏保留了大量叶酸,说明蛋鸡

本身具有保留叶酸的高效机制^[37]。因此,肠肝循环是影响血液中叶酸含量的重要因素。

2.3 卵巢吸收

血液循环中的叶酸是卵黄叶酸沉积的前体池。当叶酸含量增加时,血液叶酸含量与鸡蛋叶酸含量呈平行比例关系,当叶酸含量增加到一定程度时,血液和鸡蛋中叶酸含量均达到饱和^[36],蛋黄中叶酸含量是血浆中叶酸含量的43倍^[37]。这表明血液中叶酸含量可能不是限制鸡蛋叶酸富集量的因素,并且蛋鸡卵巢具有高效的叶酸转运机制。

在哺乳动物中,卵巢叶酸转运蛋白包括叶酸受体(folate receptor,FR)和RFC,FR α 通过内吞作用增强叶酸的吸收^[38],RFC控制叶酸的双向吸收^[39]。FR α 存在于小鼠卵巢的卵母细胞和粒层细胞周围以及人卵泡阶段的卵母细胞^[40]。卵泡液中的叶酸主要来自于血液,血液中叶酸含量变化影响卵泡液中叶酸含量^[41]。孕前服用叶酸能极显著提高卵泡液中叶酸的含量^[42];在牛囊胚形成过程中,FR和RFC在质膜和基底膜上表达,是摄取叶酸的2种重要方式^[43]。Jing等^[25]发现,RFC在蛋鸡卵巢大量表达,但蛋鸡卵巢其他叶酸转运方式以及调节机制尚不清楚。

2.4 肾脏过滤和重吸收

血液中叶酸进入肾脏,经肾小球过滤后近端小管腔刷状缘膜上的FR α 结合叶酸进行重吸收^[44],重吸收后的叶酸通过肾小管基底外侧膜上的RFC进入血液循环^[45]。由于高效的重吸收机制,血液中叶酸处于正常生理水平下,FR α 能高效的摄取肾小球滤液中所有叶酸,尿液中几乎没有叶酸,但血液叶酸含量过高时,重吸收过程开始达到饱和^[46]。FR α 基因敲除后,小鼠肾脏5-MTHF外排增加,肾脏叶酸积累减少^[46]。因此,肾小管重吸收在维持叶酸平衡中发挥关键作用,但叶酸在过量或缺乏情况下蛋鸡肾脏叶酸转运蛋白的调节机制还有待研究。

3 叶酸代谢

PteGlu是用于生产富叶酸鸡蛋的主要叶酸添加形式。由于它是非天然叶酸,需要在细胞内转化成为有活性形式叶酸。叶酸在细胞内代谢如图2所示,肠道细胞和肝细胞中的PteGlu在二氢叶酸还原酶(DHFR)的催化下还原为二氢叶酸

(DHF)和四氢叶酸(THF),随后丝氨酸羟甲基转移酶(SHMT)催化THF结合来自丝氨酸的羟甲基,产生5,10-亚甲基四氢叶酸和甘氨酸,在亚甲基四氢叶酸还原酶的作用下转化为5-MTHF,5-MTHF是一种生理学可运输的叶酸形式,可分泌到血液或经胆汁被小肠重吸收^[47]。因此,PteGlu转化为活性形式尤其是5-MTHF,是最终转运和沉积到蛋黄中的主要叶酸形式。当PteGlu含量过高时,肠道细胞和肝细胞中DHFR达到饱和,一些未代谢的PteGlu进入门静脉循环和血液循环^[47],所以可能有少量PteGlu富集于蛋黄中。

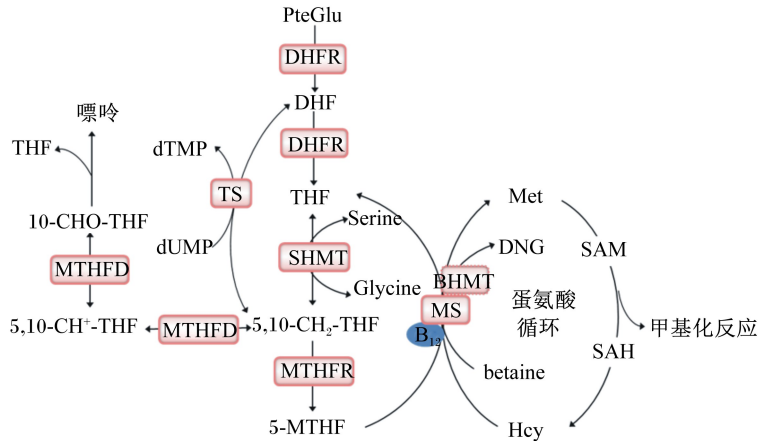
5-MTHF将甲基转移给同型半胱氨酸生成蛋氨酸,然后转化为S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine,SAM),SAM是所有甲基化反应包括DNA、RNA、蛋白质和脂质的底物,甲基化反应后转变为S-腺苷同型半胱氨酸(SAH),进一步转化为同型半胱氨酸(Hcy)^[48]。SAH是甲基转移相关酶的抑制剂,与DNA甲基转移酶结合的亲和力大于SAM,因此,甲基转移酶反应效率取决于SAH与SAM的稳态平衡^[49]。叶酸是Hcy的主要甲基供体,决定了SAM和SAH含量。在肉仔鸡饲料中添加叶酸极显著增加肝脏脂肪酸合酶基因的甲基化水平^[50]。叶酸缺乏导致断奶大鼠和青年大鼠肝脏RFC启动子低甲基化,RFC表达增加,叶酸输出蛋白Abcg2基因超甲基化,Abcg2表达降低,成年大鼠则呈现相反的反应^[51]。因此,叶酸水含量可能通过影响叶酸转运蛋白基因甲基化水平及其他表观遗传学机制影响基因表达,使机体呈现适应性转运机制。

4 小结

饲料添加剂和饲料原料中叶酸含量是影响鸡蛋叶酸富集量的主要因素,随着叶酸摄入量的增加,蛋鸡血液和鸡蛋叶酸含量先增加后达到饱和。肠道微生物产生的叶酸含量也可能影响鸡蛋中叶酸含量。由于肠道叶酸转运蛋白的适应性调节,使得蛋鸡血液及鸡蛋中叶酸含量达到饱和。此外,肠肝循环和肾脏重吸收可能是限制血液叶酸含量的重要因素。蛋鸡肝脏、肾脏和卵巢叶酸转运蛋白对叶酸吸收转运的调节机制尚不清楚,需进一步研究。由于检测方法和前处理方法的影响,不同实验室测得的鸡蛋叶酸富集量差异较大。因此,标准化叶酸提取方法和检测方法以及添加

不同水平叶酸对蛋鸡体内叶酸形态和分布的影响

也有待进一步研究。



DHFR: 二氢叶酸还原酶 dihydrofolate reductase; SHMT: 丝氨酸羟甲基转移酶 serine hydroxymethyl transferase; MTHFR: 亚甲基四氢叶酸还原酶 methylenetetrahydrofolate reductase; MTHFD: 亚甲基四氢叶酸脱氢酶 methylenetetrahydrofolate dehydrogenase; MS: 蛋氨酸合酶 methionine synthetase; BHMT: 甜菜碱同型半胱氨酸甲基转移酶 betaine homocysteine methyltransferase; TS: 胸苷酸合成酶 thymidylate synthetase; Hcy: 同型半胱氨酸 homocysteine; SAM: S-腺苷甲硫氨酸 S-adenosylmethionine; SAH: S-腺苷同型半胱氨酸 S-adenosyl-homotryptophan; Met: 蛋氨酸 methionine; PteGlu: 蝶酰谷氨酸 pteroylglutamic acid; DHF: 二氢叶酸 dihydrofolate; THF: 四氢叶酸 tetrahydrofolate; 5, 10-CH₂-THF; 5, 10-亚甲基四氢叶酸 5, 10-methylenetetrahydrofolate; 5, 10-CH⁺-THF; 5, 10-次甲基四氢叶酸 5, 10-methylene tetrahydrofolate; 10-CHO-THF: 10-甲酰四氢叶酸 10-formyltetrahydrofolate; dTUP: 脱氧尿苷酸 deoxyuridylic acid; dTMP: 脱氧胸苷酸 deoxythymidine; Glycine: 甘氨酸; Serine 丝氨酸; betaine: 甜菜碱。

图2 叶酸代谢

Fig.2 Folate metabolism^[47-48]

参考文献:

- [1] DE BENOIST B. Conclusions of a WHO technical consultation on folate and vitamin B₁₂ deficiencies[J]. Food and Nutrition Bulletin, 2008, 29 (Suppl. 2): S238-S244.
- [2] 何宇纳,王竹,赵丽云,等.2010~2012年中国居民膳食维生素摄入状况[J].营养学报,2017,39(2):112-115.
- [3] FIELD M S, STOVER P J. Safety of folic acid[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2018, 414(1):59-71.
- [4] SCAGLIONE F, PANZAVOLTA G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing[J]. Xenobiotica, 2014, 44(5):480-488.
- [5] STRANDLER H S, JASTREBOVA J, MATTISSON I. Folate content in Swedish eggs: influence of breed, feed and processing[J]. European Food Research and Technology, 2011, 233(6):923-930.
- [6] SUGIYAMA A, AWAJI H, HORIE K, et al. The beneficial effect of folate-enriched egg on the folate and homocysteine levels in rats fed a folate and choline-deficient diet[J]. Journal of Food Science, 2012, 77(12):H268-H272.
- [7] ALTIC L, MCNULTY H, HOEY L, et al. Validation of folate-enriched eggs as a functional food for improving folate intake in consumers[J]. Nutrients, 2016, 8(12):777.
- [8] SEYOUM E, SELHUB J. Properties of food folates determined by stability and susceptibility to intestinal pteroylpolylglutamate hydrolase action[J]. The Journal of Nutrition, 1998, 128(11):1956-1960.
- [9] TACTACAN G B, JING M, THIESSEN S, et al. Characterization of folate-dependent enzymes and indices of folate status in laying hens supplemented with folic acid or 5-methyltetrahydrofolate[J]. Poultry Science, 2010, 89(4):688-696.
- [10] HEBERT K, TACTACAN G B, DICKSON T M, et al. The effect of cereal type and exogenous enzyme use on total folate content of eggs from laying hens consuming diets supplemented with folic acid[J]. Journal of

- Applied Poultry Research, 2011, 20(3):303-312.
- [11] DICKSON T M, TACTACAN G B, HEBERT K, et al. Optimization of folate deposition in eggs through dietary supplementation of folic acid over the entire production cycle of Hy-Line W36, Hy-Line W98, and CV20 laying hens[J]. Journal of Applied Poultry Research, 2010, 19(1):80-91.
- [12] OGUNDARE M J, BOLU S A. Effects of dietary fortification of vitamin A and folic acid on the composition of chicken egg[J]. Chemical Biology, 2012:129-138.
- [13] HEBERT K, HOUSE J D, GUENTER W. Effect of dietary folic acid supplementation on egg folate content and the performance and folate status of two strains of laying hens[J]. Poultry Science, 2005, 84(10):1533-1538.
- [14] HOUSE J D, BRAUN K, BALLANCE D M, et al. The enrichment of eggs with folic acid through supplementation of the laying hen diet[J]. Poultry Science, 2002, 81(9):1332-1337.
- [15] HOEY L, MCNULTY H, MCCANN E M E, et al. Laying hens can convert high doses of folic acid added to the feed into natural folates in eggs providing a novel source of food folate[J]. British Journal of Nutrition, 2009, 101(2):206-212.
- [16] STRANDLER H S, PATRING J, JÄGERSTAD M, et al. Challenges in the determination of unsubstituted food folates: impact of stabilities and conversions on analytical results[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2015, 63(9):2367-2377.
- [17] PUWASTIEN P, PINPRAPAI N, JUDPRASONG K, et al. International inter-laboratory analyses of food folate[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2005, 18(5):387-397.
- [18] NOJAVAN Y, KAMANKESH M, SHAHRAZ F, et al. Ion pair-based dispersive liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography as a new method for determining five folate derivatives in foodstuffs[J]. Talanta, 2015, 137:31-37.
- [19] 田传欢, 张俊平, 唐守营, 等. 添加叶酸对蛋鸡生产性能及鸡蛋中叶酸含量的影响[J]. 饲料工业, 2015, 36(增刊2):34-36.
- [20] JING M, MUNYAKA P M, TACTACAN G B, et al. Performance, serum biochemical responses, and gene expression of intestinal folate transporters of young and older laying hens in response to dietary folic acid supplementation and challenge with *Escherichia coli* lipopolysaccharide[J]. Poultry Science, 2014, 93(1):122-131.
- [21] CHANDLER C J, WANG T T, HALSTED C H. Pteroylpolyglutamate hydrolase from human jejunal brush borders. Purification and characterization. [J]. Journal of Biological Chemistry, 1986, 261(2):928-933.
- [22] STEINBERG S E. Mechanisms of folate homeostasis [J]. American Journal of Physiology, 1984, 246(4):G319-G324.
- [23] DESAI A, SEQUEIRA J M, QUADROS E V. The metabolic basis for developmental disorders due to defective folate transport[J]. Biochimie, 2016, 126:31-42.
- [24] JING M, TACTACAN G B, RODRIGUEZ-LECOMPTE J C, et al. Proton-coupled folate transporter (PCFT): molecular cloning, tissue expression patterns and the effects of dietary folate supplementation on mRNA expression in laying hens[J]. British Poultry Science, 2010, 51(5):635-638.
- [25] JING M, TACTACAN G B, RODRIGUEZ-LECOMPTE J C, et al. Molecular cloning and tissue distribution of reduced folate carrier and effect of dietary folate supplementation on the expression of reduced folate carrier in laying hens[J]. Poultry Science, 2009, 88(9):1939-1947.
- [26] TACTACAN G B, RODRIGUEZ-LECOMPTE J C, KARMIN O, et al. Functional characterization of folic acid transport in the intestine of the laying hen using the everted intestinal sac model[J]. Poultry Science, 2011, 90(1):83-90.
- [27] TACTACAN G B, RODRIGUEZ-LECOMPTE J C, K O, et al. The adaptive transport of folic acid in the intestine of laying hens with increased supplementation of dietary folic acid[J]. Poultry Science, 2012, 91(1):121-128.
- [28] SAID H M, CHATTERJEE N, UL HAQ R, et al. Adaptive regulation of intestinal folate uptake: effect of dietary folate deficiency [J]. American Journal of Physiology Cell Physiology, 2000, 279(6):C1889-C1895.
- [29] LIU M J, GE Y B, CABELOF D C, et al. Structure and regulation of the murine reduced folate carrier gene: identification of four noncoding exons and promoters and regulation by dietary folates[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(7):5588-5597.
- [30] STANLEY D, HUGHES R J, MOORE R J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on

- health, productivity and disease [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(10):4301-4310.
- [31] MAGNÚSDÓTTIR S, RAVCHEEV D, DE CRÉCY-LAGARD V, et al. Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes [J]. *Frontiers in Genetics*, 2015, 6:148.
- [32] 程漫漫, 张廷荣, 王宝维, 等. 饲料中添加叶酸和维生素 B₁₂ 对雏鹅盲肠菌群结构的影响 [J]. *动物营养学报*, 2018, 30(8):2987-2996.
- [33] POMPEI A, CORDISCO L, AMARETTI A, et al. Administration of folate-producing bifidobacteria enhances folate status in wistar rats [J]. *Journal of Nutrition*, 2008, 137(12):2742-2746.
- [34] LEBLANC J G, SYBESMA W, STARRENBURG M, et al. Supplementation with engineered *Lactococcus lactis* improves the folate status in deficient rats [J]. *Nutrition*, 2010, 26(7/8):835-841.
- [35] STEINBERG S E. Mechanisms of folate homeostasis [J]. *American Journal of Physiology*, 1984, 246(4):G3194-G324.
- [36] TACTACAN G. Characterization of factors influencing the regulation of dietary folic acid deposition in the eggs [D]. Ph. D. Thesis. Winnipeg: The University of Manitoba, 2011:51-66.
- [37] SHERWOOD T A, ALPHIN R L, SAYLOR W W, et al. Folate metabolism and deposition in eggs by laying hens [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1993, 307(1):66-72.
- [38] SIU M K Y, KONG D S H, CHAN H Y, et al. Paradoxical impact of two folate receptors, FR α and RFC, in ovarian cancer: effect on cell proliferation, invasion and clinical outcome [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e47201.
- [39] MATHERLY L H, HOU Z J, DENG Y J. Human reduced folate carrier: translation of basic biology to cancer etiology and therapy [J]. *Cancer Metastasis Reviews*, 2007, 26(1):111-128.
- [40] STRANDGAARD T, FODER S, HEUCK A, et al. Maternally contributed folate receptor 1 is expressed in ovarian follicles and contributes to preimplantation development [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2017, 5:89.
- [41] STEEGERS-THEUNISSEN R P M, STEEGERS E A P, THOMAS C M G, et al. Study on the presence of homocysteine in ovarian follicular fluid [J]. *Fertility and Sterility*, 1993, 60(6):1006-1010.
- [42] BOXMEER J C. The homocysteine pathway in human subfertility [J]. *Erasmus University Rotterdam*, 2009, 28(4):21-527.
- [43] KWONG W Y, ADAMIAK S J, GWYNN A, et al. Endogenous folates and single-carbon metabolism in the ovarian follicle, oocyte and pre-implantation embryo [J]. *Reproduction*, 2010, 139(4):705-715.
- [44] ZHAO R B, MATHERLY L H, GOLDMAN I D. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues [J]. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2009, 11(1):e4.
- [45] WANG Y H, ZHAO R B, RUSSELL R G, et al. Localization of the murine reduced folate carrier as assessed by immunohistochemical analysis [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Biomembranes*, 2001, 513(1):49-54.
- [46] BIRN H, SPIEGELSTEIN O, CHRISTENSEN E I, et al. Renal tubular reabsorption of folate mediated by folate binding protein [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2005, 16(3):608-615.
- [47] HU J, WANG B, SAHYOUN N R. Application of the key events dose-response framework to folate metabolism [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56(8):1325-1333.
- [48] FIELD M S, KAMYNINA E, CHON J, et al. Nuclear folate metabolism [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2018, 38(1):219-243.
- [49] FRISO S, UDALI S, DE SANTIS D, et al. One-carbon metabolism and epigenetics [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2017, 54:28-36.
- [50] 邢晋祎, 张渝洁, 张宁波, 等. 叶酸添加水平对肉仔鸡肝脏中脂肪代谢相关基因表达和甲基化的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31(5):2098-2106.
- [51] NAJAR R A, RAHAT B, HUSSAIN A, et al. Gene specific epigenetic regulation of hepatic folate transport system is responsible for perturbed cellular folate status during aging and exogenous modulation [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2016, 60(6):1501-1513.

Advances in Absorption and Metabolism of Folate and Its Mechanism in Layers

SUN Dandan^{1,2} ZHANG Junmin^{1,2} ZHAO Qingyu^{1,2} QIN Yuchang^{1*}

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Scientific Observing and Experiment Station of Animal Genetic Resources and Nutrition in North China of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Insufficient folate intake is a global problem, and low levels of folate in the human body increase the risk of anemia, malformation, cardiovascular and cerebrovascular diseases, cancer and cognitive impairment. However, excessive intake of oxidized folic acid may cause a potential risk. The oxidized folic acid is converted into a natural form of 5-methyltetrahydrofolate by the layers, so that the human can solve the problem of insufficient folic acid intake while ingesting food. This paper reviewed the folic acid enrichment rule in eggs and its absorption and metabolism in the intestine, liver, ovary and kidney, and the metabolic regulation mechanism of folate in layers was explained. The purpose of this paper was to provide theoretical basis for further research of folic acid in layers. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(6):2467-2475]

Key words: folate; absorption; metabolism; enrichment; layers