



UNIVERSITETI KATOLIK  
“ZOJA E KËSHILLIT TË MIRË”

**FAKULTETI I FARMACISË**

**DOKTORATË NË**

**“SHËNDET PUBLIK, DIAGNOZË MOLEKULARE E SËMUNDJEVE  
INFEKTIVE DHE FARMAKOVIGJILANCË”**

**EDICIONI I DYTË**

**TEMA**

***“Vlerësimi i Niveleve të Acidit Folik tek Gratë Shqiptare në  
Moshë Fertile”***

UDHËHEQËS SHKENCOR  
Prof. Bruno ZAPPACOSTA

KANDIDATI  
BIANKA HOXHA  
MATRIKULLA. Zo725N070002

VITI AKADEMIK

2021- 2022

*Dëshiroj të falenderoj **Fondacionin Rotary,**  
**Klubin Rotarian të Firenze-Sud dhe District 55**  
për mbështetjen e tyre financiare  
në zhvillimin dhe finalizimin e këtij projekti kërkimor.*

# PËRMBAJTJA

<b>Shkurtime</b> .....	<b>IV</b>
<b>Lista e Tabelave</b> .....	<b>VIII</b>
<b>Lista e Figurave</b> .....	<b>IX</b>
<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>X</b>
<b>1 FOLATI DHE ACIDI FOLIK: STRUKTURA DHE FUNKSIONET BIOKIMIKE</b> .....	<b>1</b>
1.1 Hyrje.....	1
1.2 Përthithja dhe Shpërndarja.....	3
1.3 Qarkullimi dhe Eliminimi.....	9
1.4 Metabolizmi i Folatit dhe FA.....	10
1.4.1 Cikli i Sintezës së Metioninës.....	12
1.4.2 Ndërkonvertimi Serinë-glicinë.....	14
1.4.3 Sinteza e Nukleotideve.....	15
1.4.4 Kompartimentet Qelizore të Metabolizmit me Një Atom Karbon.....	16
1.4.5 Mekanizmat e Kontrollit të Metabolizmit me Një Atom Karbon.....	20
<b>2 KONSIDERATA NUTRICIONALE</b> .....	<b>23</b>
2.1 Modelet Dietike dhe Shëndeti.....	23
2.2 Rekomandimet dhe Burimet e Marrjes së Folatit dhe FA.....	24
<b>3 PROGRAMI I FORTIFIKIMIT USHQIMOR</b> .....	<b>31</b>
<b>4 MUNGESA E FOLATIT</b> .....	<b>32</b>
<b>5 FOLATI DHE SËMUNDJET</b> .....	<b>34</b>
5.1 Anemia.....	34
5.2 Sëmundje Kardiovaskulare.....	35
5.3 Kanceri.....	36
5.4 Gjendjet Neurologjike.....	37
5.5 Vleresimet Epigjenetike.....	38
<b>6 BIOMARKERËT E NIVELIT TË FA</b> .....	<b>39</b>
<b>7 SHTATËZËNËSIA DHE ZHVILLIMI I HERSHËM</b> .....	<b>41</b>
7.1 Suplementimi i tepërt me FA.....	43
<b>8 QËLLIMI I STUDIMIT</b> .....	<b>46</b>
<b>9 MATERIALE DHE METODA</b> .....	<b>48</b>

9.1	Struktura e Studimit dhe Pjesëmarrësit.....	48
9.2	Mbledhja e Mostrave.....	49
9.3	Vlerësimi i Hematokritit.....	51
9.4	Kalkulimi i Folatit në RBC.....	52
9.5	Analiza Statistikore.....	52
<b>10</b>	<b>REZULTATET.....</b>	<b>54</b>
10.1	Karakteristikat e Pjesëmarrësve në Hulumtim.....	54
10.2	Markerët Biokimikë.....	56
10.2.1	Folati në Serum.....	56
10.2.2	Folati në RBC.....	61
10.2.3	Vitamina B12 në Serum.....	66
<b>11</b>	<b>DISKUTIME.....</b>	<b>68</b>
<b>12</b>	<b>REFERENCA.....</b>	<b>76</b>

## Shkurtime

ADP	Adenozin Difosfat
AHCY	S-adenozil-L-homocisteinë hidrolazë
AI	Marrja Adekuate
AICAR	Fosforibozil Aminoimidazol Karboksamide Formiltransferaza
ALDH1L2	Aldehyd Dehidrogjenaza 1 pjesë e Familjes L2
ASDs	Çrregullimet e Spektrit të Autizmit
ATIC	5-aminoimidazol-4-karboksamide ribonukleotide formil-transferazë/IMP ciklohidrolazë
ATP	Adenozin Trifosfat
BCRP	Proteina Rezistente ndaj Kancerit të Gjirit
BHMT	Betaine-Homocisteine Metiltransferaza
BOND	Biomarkues mbi Ushqyerjen dhe Zhvillimin
CAR T	Receptori i Antigjenit Kimerik
CBS	Cistationin Beta Sintaza
CH <sub>3</sub>	Grupi Metil
CI	Intervalet e Besimit
CNS	Sistemi Nervor Qëndror
CRH	Hormoni Çlirues i Kortikotropinës
CSE	Cistationin Gamma Liaza
CSF	Lëngu cerebrospinal
cSHMT	Hidroksimetiltransferaza e Serinës Citoplazmatike
DFEs	Ekivalentët e Folateve Dietike
DHF	Dihidrofolat
DHFR	Dihidrofolat Reduktaza
DMGDH	Dimetilglicin Dehidrogjenaza
DRIs	Referenca e Marrjes Dietike
dTPM	Deoksitimidin Monofosfati
dUMP	Deoksiuridilati
EAR	Kërkesa Mesatare e Vlerësuar
ECL	Elektrokemilumineshenca
ECLIA	Elektrokemilumineshenca Immunoassay
f-MET tRNAs	Formilmetionil-tRNAs
FA	Acid Folik
FAD	Flavin Adenine Dinukleotidi

FAO	Organizata e Ushqimit dhe Bujqësisë
FATP	Proteina Transportuese e Acideve Yndyrore
FBP	Proteina Lidhëse të Folateve
FNB	Bordi i Ushqimit dhe Ushqyerjes
FPG	Folylpolyglutamat
FPGS	Sintaza e Folate-Poli- $\gamma$ -Glutamatit
FRs	Receptorët e Folateve
FR $\alpha$	Receptorët Alfa të Folateve
FR $\beta$	Receptorët Beta të Folateve
FR $\delta$	Receptorët Delta të Folateve
GART	Fosforibozilglicinamid Formyltransferaza
GCL	Glutamat Cisteine Ligaza
GCPII	Glutamat Karboksipeptidaza II
GCS	Sistemi i Ndarjes së Glicinës
GLUT	Transportuesi i Glukozës
GlyC	Bartës i Glicinës
GNMT	Glicinë N-metiltransferaza
GPI	Glikozilfosfoinozitol
GS	Sintaza e Glutathionit
GSH	Glutathioni
HFM	Malabsorbimi i Trashëguar i Folateve
hRFC	Transportuesi Human i Reduktuar i Folateve
IGF2	Faktori i Rritjes i Ngjashëm me Insulinën 2
IOM	Instituti i Mjekësisë
K3EDTA	Acid etilendiaminetetraacetik tri-kaliumi
MAT	Adenoziltransferaza
MBA	Analiza mikrobiologjike
MFT	Transportuesi i Folateve Mitokondriale
MRP	Proteinat e Lidhura me Rezistencën e Barnave
MS	Metionin Sintaza
MT	Metiltransferazat
MTFMT	Metionil-tRNA Formiltransferaza
MTHF	Metiltetrahidrofolat
MTHFC	Metilentetrahidrofolat Ciklohidrolaza
MTHFD	Metilentetrahidrofolat Dehidrogjenaza

MTHFD1	Metilentetrahydrofolat Dehidrogjenaza 1
MTHFD1L	Enzima e ngjashme me Metilentetrahydrofolat Dehidrogjenaza NADP+ Vartëse 1
MTHFD2L	Enzima e ngjashme me Metilentetrahydrofolat Dehidrogjenaza NADP+ Vartëse 2
MTHFR	Metilentetrahydrofolat Reduktaza
mTOR	Targeti Mekanik i Rapamicinës
MTR	Metionin Sintaza
MTRR	Reduktaza e Sintazë Metioninës
MTX	Metotreksat
MUFAs	Acidet mono-Yndyrore të Pangopura
NADP	Nikotinamid Adenine Dinukleotid Fosfat
NTDs	Defektet e Tubit Neural
OAT	Transportuesit Organikë të Anionit
OR	Raporti i Gjasave
pABAGlu	p-Amino-Benzoil Poliglutamati
Pba	Analiza e Lidhjes së Proteinave
Pcft	Transportuesi i Folatit i Çiftuar me Proton
PLP	Piridoksal Fosfat
PUFAs	Acidet poli-Yndyrore të Pangopura
RBC	Qeliza e Kuqe e Gjakut
RDA	Shtesat e Rekomanduara të Ushqimit
RFC	Transportuesi i Reduktuar i Folatit
RI	Marrja e Rekomanduar
RNI	Marrja e Rekomanduar e Ushqimit
SAH	S-Adenozil-Homocisteinë
SAHH/AHCY	S-Adenozil-L-Homocisteinë Hidrolazë
SAM	S-Adenozilmetioninë
SAMC	Proteina Bartëse Mitokondriale S- Adenozilmetioninë
SARDH	Sarkozin Dehidrogjenaza
SB	Spina Bifida
SD	Devijimi Standard
SDH	Sarkozin Dehidrogjenaza
SFAs	Acidet Yndyrore të Ngopura
SFXN1	Siderofleksina 1
SHMT	Serine Hidroksimetiltransferaza
SNAT	Transportues Neutral i Aminoacideve të Shoqëruar me Natrium

SNPs	Variacion i Vetëm Nukleotid
SUMO	Modifikues i Vogël i Lidhur me Ubiquitin
THF	Tetrahidrofolat
TPA	Tripropilaminë
TS	Timidilat Sintaza
TYMS	Timidilat Sintaza
UL	Niveli i Sipërm i Tolerueshëm i Marrjes
UMFA	Acidi Folik i Pametabolizuar
UNICEF	Fondi Ndërkombëtar i Kombeve të Bashkuara për Emergjencën e Fëmijëve
WHO	Organizata Botërore e Shëndetësisë
WRA	Gratë në Moshë Fertiliteti



## **Lista e Tabelave**

**Tabela 1.1.** Lokalizimi nënqelizor i reaksionit të folatit (Wagner, 2001).

**Tabela 2.1.** Dietat mesdhetare dhe ajo e stilit përëndimor dhe efektet e tyre në fertilitetin e grave (Skoracka et al.,2021).

**Tabela 2.2.** Shembuj të rekomandimeve të marrjes së folatit në mbarë botën (Bailey et al., 2015).

**Tabela 2.3.** RDAs për folatin (Institute of Medicine, 1998).

**Tabela 2.4.** Përmbajtja e folatit dhe FA në ushqime (United States Department of Agriculture , 2019).

**Tabela 10.1.** Veçoritë e përgjithshme dhe mesataret gjeometrike për folatin në serum, folatin në RBC, vitaminën B12 në serum, në WRA shqiptare, së bashku me intervalet e besimi prej 95%.

**Tabela 10.2.** Nivelet e folatit në serum në WRA shqiptare në lidhje me moshën, konsumin e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik.

**Tabela 10.3.** Prevalenca (%) e përqendrimeve “adekuate” të folatit në serum sipas moshës, dietës së frutave dhe perimeve, zakonit të pirjes së duhanit dhe aktivitetit fizik.

**Tabela 10.4** Nivelet e folatit në RBC në WRA shqiptare në lidhje me moshën, konsumin e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik.

**Tabela 10.5.** Prevalenca (%) e përqendrimeve “adekuate” (limiti  $\geq 305$  nmol/L) dhe “optimale” (limiti  $>906$  nmol/L) të folatit në RBC sipas moshës, dietës së frutave dhe perimeve, zakonit të pirjes së duhanit dhe aktivitetit fizik.

**Tabela 10.6.** WRA shqiptare me nivele të folateve në RBC mbi ose nën 906 nmol/L, siç përcaktohet nga mosha, konsumi i frutave dhe perimeve, zakoni i pirjes së duhanit dhe aktiviteti fizik

**Tabela 10.7.** Raportet e gjasave (OR) për statusin “adekuat” të përqendrimeve të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në serum sipas karakteristikave të specifikuar.

**Tabela 10.8.** Nivelet e vitaminës B12 në serum në WRA shqiptare në lidhje me moshën, konsumin e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik.

**Tabela 10.9.** Prevalenca (%) e përqendrimeve “adekuate” të vitaminës B12 në serum sipas moshës, dietës së frutave dhe perimeve, zakonit të pirjes së duhanit dhe aktivitetit fizik.

## Lista e Figurave

**Figura 1.1.** Struktura e folatit.

**Figura 1.2.** Struktura e acidit folik.

**Figura 1.3.** Paraqitje skematike e vendndodhjes dhe funksioni i transportuesve qelizor të folatit (Shulpekova et al., 2021).

**Figura 1.4.** Pasqyrim i përgjithshëm i përthithjes së folatit dhe FA dhe rrugëve kryesore metabolike në zorrë dhe mëlçi (Karmin et al., 2020).

**Figura 1.5.** Ndarja sipas organeleve qelizore e metabolizmit të njësive me një atom karbon (Lionaki et al., 2022).

**Figura 5.1.** Trajtimet e kancerit dhe sëmundjeve inflamatore që targetojnë FRs (Frigerio et al., 2019).

**Figura 7.1.** Zhvillimi i hershëm dhe metabolizmi i njësive me një atom karbon: proceset e mundshme (Korsmo & Jiang, 2021).

**Figura 9.1.** Grafiku i rrjedhës së studimit të popullsisë së regjistruar.

**Figura 9.2.** Për matjen sasiore *in vitro* të folatit në eritrocite (folati në RBC), pasqyrim i Elecsys® Folate RBC Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA).

**Figura 9.3.** Pasqyrë e teknologjisë së lazerit të përdorur në analizat e Citometrisë së Rrjedhës Fluoreshente.

**Figura 10.1.** Paraqitja grafike e WRA (%) të regjistruara në studim sipas konsumit të frutave dhe perimeve (racione/ditë).

**Figura 10.2.** Paraqitja grafike e WRA (%) të regjistruara në studim sipas zakonit të duhanpirjes.

**Figura 10.3.** Paraqitja grafike e WRA (%) të regjistruara në studim sipas aktivitetit fizik.

**Figura 10.4.** Paraqitja grafike e diferencave në nivelin e folatit në serum midis WRA që janë: nën 30 vjeç; 30 deri në 39 vjeç; dhe 40-44 vjeç.

**Figura 10.5.** Paraqitja grafike e prevalencës (%) së folatit “adekuat” në serum në WRA shqiptare në lidhje me moshën, dietën e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik.

**Figura 10.6.** Paraqitja grafike e prevalencës (%) së përqendrimeve “adequate” (limiti  $\geq 305$  nmol/L) dhe “optimale” (limiti  $> 906$  nmol/L) të folatit në RBC tek WRA shqiptare në lidhje me moshën, dietën e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik.

**Figura 10.7.** Paraqitja grafike e WRA shqiptare me nivele të folateve në RBC mbi ose nën 906 nmol/L, siç përcaktohet nga mosha, konsumi i frutave dhe perimeve, zakoni i pirjes së duhanit dhe aktiviteti fizik.

## ABSTRAKT

**Hyrje:** Përfitimet parandaluese të folatit të nënës në disa keqformime të lindjes janë të mirë përcaktuara dhe lidhja midis nivelit të folatit dhe defekteve të tubit neural (NTDs) përbën një objektiv kryesor për politikatat aktuale të shëndetit publik.

**Qëllimi:** U synua të vlerësohej dhe raportohej niveli i folatit në gjak tek gratë shqiptare në moshë fertiliteti (WRA), bazuar në limitet e rekomanduara nga Organizata Botërore e Shëndetësisë (WHO), si një mënyrë për të rritur përdorimin e tyre në monitorimin dhe vlerësimin e terapive me acid folik (FA) dhe programeve të fortifikimit të ushqimit, e cila do të ndihmojë në drejtimin e përpjekjeve në mbarë botën për të shmangur NTDs dhe aneminë nga mungesa e folatit.

**Metodat:** Studimi vlerësoi nivelet e folatit në serum, folatit në rruazat e kuqe të gjakut (RBC) dhe nivelet e vitaminës B12 në serum në 412 WRA shqiptare të shëndetshme, midis 18 dhe 44 vjeç. Të gjitha analizat statistikore janë kryer duke përdorur softuerin R.

**Rezultatet:** Mesatarja e përgjithshme gjeometrike (95% intervali i besueshmërisë) e folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 ishin përkatësisht 13.30 nmol/L (12.64-13.99 nmol/L), 597.53 nmol/L (583.71-611.67 nmol/L), dhe 397.50 pmol/L (383.32-412.20 pmol/L). Pothuajse të gjitha WRA shqiptare (94.42%) nuk përmbushnin nivelin optimal të folatit në RBC të rekomanduar nga WHO (>906 nmol/L)

**Fjalë kyçe:** *Folati; Gratë në moshë fertiliteti; folati në RBC; folati në serum; Vitamina B12; Defektet e tubit neural*

**Fusha e Interesit:** *Shëndeti Publik*

## ABSTRACT

**Introduction:** The preventive benefits of maternal folate on several birth malformations are well-established and the association between folate status and neural tube defects (NTDs) is a primary target of current public health policies.

**Aim:** We aimed to evaluate and report blood folate status in Albanian women of childbearing age (WRA), based on cutoffs recommended by the World Health Organization (WHO), as a way to enhance their usage in monitoring and evaluating folic acid (FA) therapies and food fortification programs, which will help to guide worldwide efforts to avoid NTDs and folate deficiency anemia.

**Methods:** The study evaluated levels of serum folate, red blood cell (RBC) folate and serum vitamin B12 in 412 of presumably healthy Albanian WRA, between 18 and 44 years old. All statistical analyses were performed using R software.

**Results:** The overall geometric means (95% confidence interval) of serum folate, RBC folate, and vitamin B12 were 13.30 nmol/L (12.64-13.99 nmol/L), 597.53 nmol/L (583.71-611.67 nmol/L), and 397.50 pmol/L (383.32-412.20 pmol/L) respectively. Almost all Albanian WRA (94.42%) did not meet the WHO-recommended optimum RBC folate level (>906 nmol/L).

**Keywords:** *Folate; Women of childbearing age; RBC folate; serum folate; Vitamin B12; Neural Tube Defects*

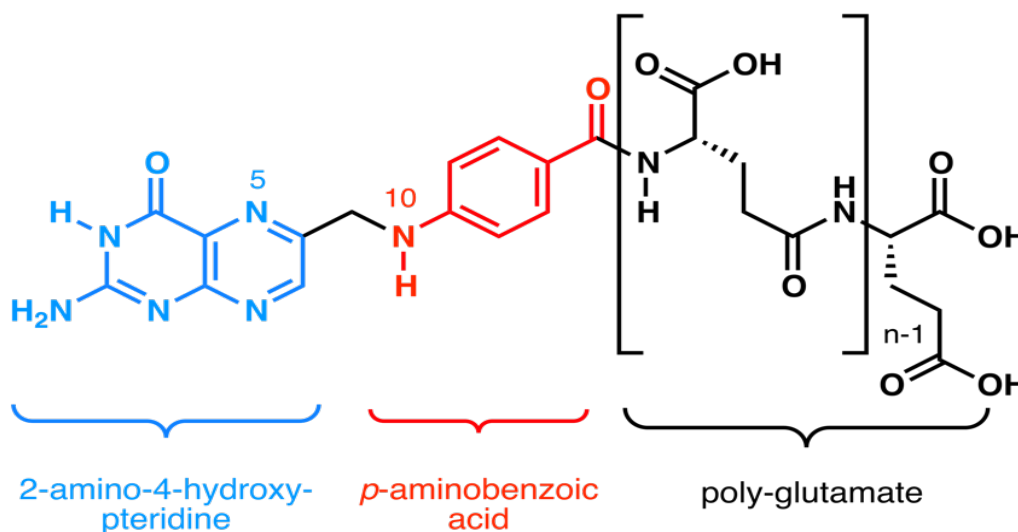
**Issue section:** *Public Health*

# 1 FOLATI DHE ACIDI FOLIK: STRUKTURA DHE FUNKSIONET BIOKIMIKE

## 1.1 Hyrje

Folati përfaqëson një familje molekulash thelbësore të cilat përmbajnë një unazë pteridine të bashkuar me një acid p-aminobenzoik dhe një ose më shumë mbetje glutamati (Figura 1.1). Format mbizotëruese natyrore janë poliglutamitet të përbëra nga deri në njëmbëdhjetë molekula të njëpasnjëshme të acidit glutamik (Chanarin, 1969).

Acidi folik (FA, acidi pteroil-L-glutamik, Vitamina B9) është molekula sintetike e klasës së folatit e pranishme në formën e një monoglutamiti (Figura 1.2) (Blakely, 1987). Në vitin 1930, Lucy Wills, një studiuese mjekësore, zbuloi për herë të parë FA (Wills, 1931), i cili u nxorr fillimisht nga spinaqi në vitin 1941 (fjala “folik” vjen nga fjala latine “folium”, që do të thotë “gjethe”) (Molloy, 2002). FA ka epërsi mbi folatin natyral për sa i përket stabilitetit dhe qëndrueshërisë, gjë që e bën atë ideal për përdorim në suplemente vitaminash, medikamente dhe ushqime të fortifikuara me një jetëgjatësi të lartë.

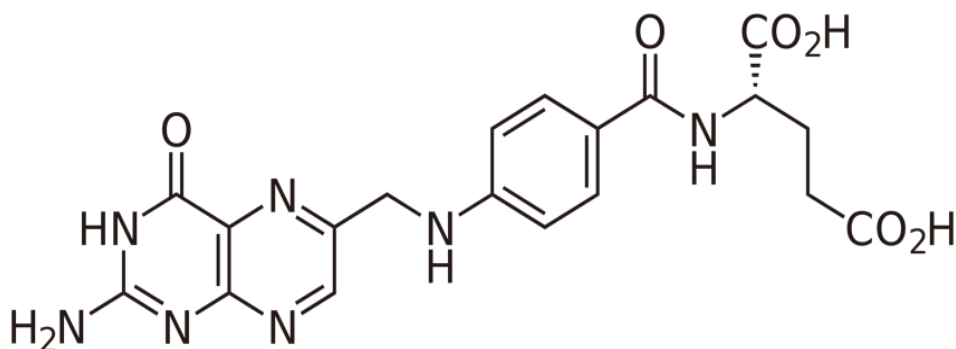


**Figura 1.1.** Struktura e folatit.

Lloje të ndryshme të folatit përfshihen në procese të ndryshme kyçe si ko-faktorë në një sërë reaksionesh të transferimit të njësive një-karbonike. Format e poliglutamitit janë komponimet biologjikisht aktive dhe janë substrate dukshëm më efikase për enzimët e varura nga folati sesa derivatet e monoglutamitit.

FA nuk ka asnjëveprim koenzimativ derisa të aktivizohet brenda qelizës nëpërmjet reduktimit metabolik në formën biologjikisht aktive 5,6,7,8-tetrahidrofolat (THF). Reduktimi enzimatik i FA në THF është një proces me dy hapa i katalizuar nga enzima dihidrofolat reduktaza (DHFR), e cila përdor si dhurues elektronesh nikotinamid adeninë dinukleotid fosfatin (NADPH) (Bailey & Ayling, 2009).

Në varësi të shkallës së oksidimit, njësitë me një atom karboni mund të ekzistojnë si: format (5- ose 10-formil-THF ose 5,10-metenil-THF), formaldehid (5,10-metilen-THF) ose metanol (L-5-metil-THF (Blakley & Benkovic, 1985). Forma aktive dhe më e përhapur e folatit në gjak e lëngjet jashtëqelizore është L-5-metil-THF. Ky metabolit aktiv formohet gjithashtu pas marrjes orale të FA.



**Figura 1.2.** Struktura e acidit folik.

FA, si një dhurues i grupeve metil, është një rregullator kryesor i kapacitetit metilues të DNA dhe histoneve (Alavian-Ghavanini & Rüegg, 2018). Prania e lëndëve ushqyese me përmbajtje të dhuruesve të grupeve metil tek nëna gjatë shtatzënisë së hershme është thelbësore për zhvillimin optimal të fetusit, me pasoja afatgjata për shëndetin e fëmijës dhe ndjeshmërinë ndaj sëmundjeve. Niveli jo i përshtatshëm i folatit/FA tek gratë në moshë fertiliteti (WRA) lidhet me një rrezik në rritje të defekteve të tubit neural (NTDs) që prekin shtatzëninë dhe sëmundjeve kongjenitale të zemrës (Bailey & Berry, 2005), gjithashtu edhe aneminë megaloblastike tek të rriturit dhe fëmijët për shkak të dëmtimit të sintezës së DNA (World Health Organization, 2017). Nivelet e reduktuara të folatit kanë qenë gjithashtu të lidhura me një sërë sëmundjesh kardiovaskulare dhe neurologjike (Djukic, 2007; Moat et al., 2004).

## 1.2 Përthithja dhe Shpërndarja

Gjitarët nuk janë në gjendje të sintetizojnë folatin, prandaj për të përmbushur kërkesat e tyre, duhet ta marrin atë nëpërmjet burimeve ushqimore ose suplementeve. Termi folat dhe FA nuk janë sinonime, edhe pse ato përdoren shpesh në mënyrë të ndërsjelltë. Ata kanë biodisponibilitet shumë të ndryshëm për shkak të strukturës së tyre molekulare jo të njëjtë.

Burimet natyrore të folatit janë të pranishme si derivate të reduktuara dhe poliglutamate të THF, këto derivate paraqesin format natyrale të vitaminës që gjenden në qeliza dhe në dietën ushqimore (Fox & Stover, 2008). Derivatet e poliglumatit hidrolizohen në monoglutamate në traktin gastrointestinal nga një hidrolazë (glutamate karboksipeptidaza II në zorrën e njeriut ose  $\gamma$ -glutamil hidrolaza në zorrën e miut), e vendosur në kufirin e vleve të enterociteve, përpara se të përthithen përmes mukozës së zorrëve. Reaksioni hidrolitik i  $\gamma$ -glumatit kërkon një pH optimal të ulët i cili korrespondon me pH e ulët në sipërfaqen e mukozës së duodenit proksimal (Halsted, 1989; Shafizadeh & Halsted, 2007). Për këtë arsye, tretja dhe përthithja e folatit të marrë me anë të dietës ushqimore mund të ndikohet nga kombinimet e vakteve (p.sh., alkooli ose ushqimet e pasura me vitaminë C), mungesat e mikronutrientëve (p.sh., zinku) dhe teknikat e përgatitjes së ushqimit (p.sh., të papërpunuara kundrejt të gatuar ose të përpunuara) duke rezultuar në këtë mënyrë në një biodisponueshmëri me rreth 50% (Gropper & Smith, 2013).

FA, nga ana tjetër, është një monoglumat i cili nuk kërkon hidrolizë për tu përthithur nga zorra (Hu & Sahyoun, 2016) dhe është praktikisht plotësisht i biodisponueshëm, veçanërisht kur merret me stomak bosh (Caudill, 2010). Megjithatë, kur merret me ushqim, vetëm 85% e FA përthithet, me sa duket për shkak të adsorbimit ose lidhjes me përbërësit ushqimor (Caudill, 2010).

Difuzioni pasiv nëpërmjet membranave qelizore është i ulët për shkak të natyrës hidrofile të molekulave të ngarkuara të folatit dhe FA. Prandaj, për të ndërmjetësuar përthithjen e tyre në zorrë dhe transportin në organet sistemike, nevojiten transportues tejet të specializuar. Transportuesi i reduktuar i folatit (RFC), transportuesi i folatit i çiftuar me proton (PCFT) dhe receptorët e folatit (FRs) janë tre mekanizma transporti gjenetikisht unikë dhe funksionalisht të ndryshëm që këto molekula jashtëzakonisht hidrofile përdorin për të hyrë në qeliza. Secili prej tyre ka një rol specifik për të kryer në realizimin e transportit të folatit nëpërmjet epitelit intestinal dhe në indet sistemike. RFC dhe PCFT janë të dy stereospecifik për 5-formil-THF (Sirotnak et al., 1979; Qiu et al.,

2006), ndërsa FR $\alpha$  dhe FR $\beta$  të njeriut dhe të miut kanë specificitet të veçant për diastereomeret (6S) dhe (6R) të folatit të reduktuar si 5-metil-THF dhe 5-formil-THF (Wang et al., 1992; Brigle et al., 1994). Afiniteti i reduktuar i lidhjes për (6S) 5-metil-THF i atribuohet një zëvendësimi të tre mbetjeve të aminoacideve (Leu49, Phe104, and Gly164) tek FR $\beta$ .

RFC (pH optimal 7.4) dhe PCFT (pH optimal 5.5), janë të dy të përfshirë në përthithjen e folateve monoglutamate përgjatë të gjithë epitelit intestinal të zorrës së hollë proksimale dhe i shpërndajnë ato në indet sistemike në përputhje me pH e mikromjedisit përkatës. Këta transportues folati shprehen të dy në mënyrë të bollshme përgjatë membranës apikale të enterociteve (Zhao et al., 2011; Visentin et al., 2014). PCFT (SLC46A1) është identifikuar si transportuesi kryesor për përthithjen e folatit dhe FA në zorrën proksimale (Visentin et al., 2014). Hulumtimet e hershme duke përdorur vezikulat e membranës apikale të vileve jejunale të miut kanë mundësuar një shpjegim të mekanizmit të çiftimit protonik të përdorur. PCFT vepron si një simporter folat-proton dhe një transportues folati me afinitet të lartë, në pH të ulët, i cili fiton më shumë efikasitet funksional në mikromjedisin acid të jejunumit proksimal. Derivatet e monoglutamatit transferohen nga zona me pH të ulët (lumen) në zonën me pH të lartë (enterocitet), për shkak të një gradienti transvezikular të pH i cili shkakton një transport të shtuar unidireksional të folatit dhe krijon një gradient domethënës transmembranor të përqendrimit të folatit, duke paraqitur kështu një mekanizëm të çiftuar me proton (Schron et al., 1985).

Shkëmbyesi anionik RFC (SLC19A1) është rruga kryesore për transferimin e folatit dhe FA në indet sistemike në një pH fiziologjik (Matherly & Goldman, 2003; Matherly et al., 2007). RFC dallohet nga PCFT për shkak të afinitetit shumë të ulët për FA (K<sub>i</sub> 150–200 M) dhe për pH optimal neutral. Një gradient kimik transmembranor shumë i vogël krijohet nga RFC. Gradienti anionik transmembranor, veçanërisht gradienti i fosfatit organik, është forca lëvizëse për transportin e ndërmjetësuar nga RFC të folatit brenda në qeliza (Goldman, 1971; Henderson & Zevely, 1983).

Në pH neutral deri mesatarisht acid, dy FRs (FR $\alpha$  dhe FR $\beta$ ) të ankoruara në membranën qelizore nga një lipid si glikosilfosfatidilinozitol (GPI), transportojnë folatin përmes endocitozës së ndërmjetësuar nga receptorët (Brigle et al., 1994; Salazar & Ratnam 2007). Afiniteti i FRs për FA është i lartë (K<sub>d</sub> 1–10 nM). Hyrja brenda qelizës e folatit nëpërmjet FRs së lidhur me membranën fillon kur një molekulë FA lidhet me një FRs në sipërfaqen e qelizës. Kjo pasohet nga invaginimi i membranës plazmatike në atë

pozicion dhe zhvillimi i një vezikule (endosome) e cila migron në citoplazmë dhe acidifikohet në një pH prej 6.5, duke krijuar kushte optimale për ndarjen përfundimtare të FA nga kompleksi me FRs (Yang et al., 2007).

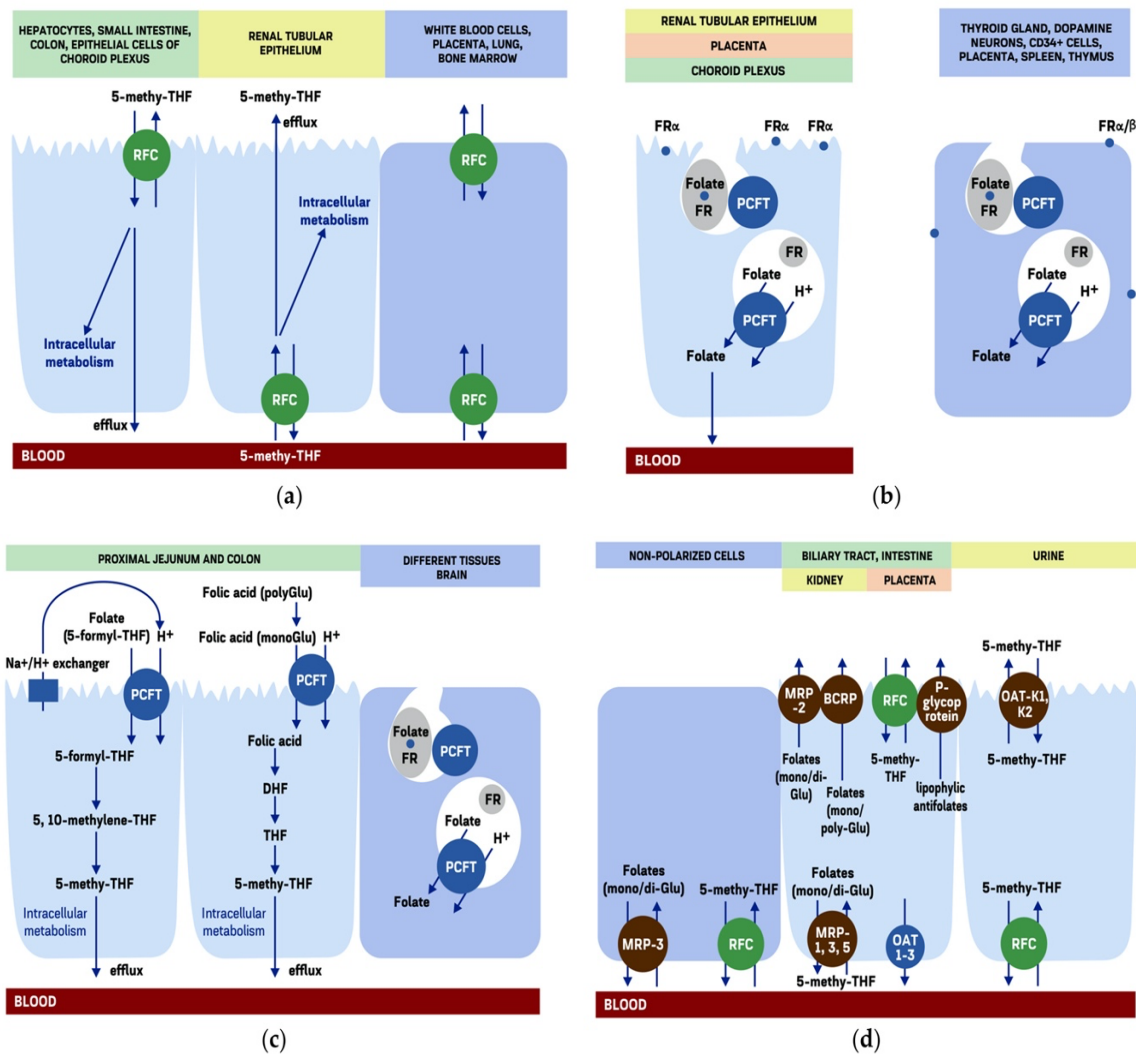
FRs janë proteina homologe me modele shprehjesh të ndryshme në varësi të indeve. Ato janë të koduara nga tre gjene të veçantë në kromozomin 11 të quajtur  $\alpha$ ,  $\beta$ , dhe  $\gamma$  (Salazar & Ratnam 2007; Lu & Low, 2002). FRs janë të pranishme në sipërfaqen e qelizës për të lejuar që folati të transportohet përmes membranës qelizore me anë të endocitozës: FR $\alpha$  është e pranishme në epitelin e (veshkave, pleksusit koroid, retinës, mitrës dhe placentës), FR $\beta$  gjendet në qelizat hematopoietike (placentë, shpretkë, timus dhe në monocitet CD34+), dhe FR $\delta$  në limfocitet T rregullatore. FR $\alpha$  është e shprehur gjithashtu në membranën bazolaterale të qelizave epiteliale të pigmentuara të retinës dhe në disa qeliza tumorale (Smith et al., 1999; Chancy et al., 2000; Parker et al., 2005). Po kështu, PCFT është përgjegjëse për transportin në zona me pH të ulët të folatit në një sërë indesh normale dhe kanceroze. Prania e të njëjtëve transportues fiziologjik të folatit në qelizat tumorale përfaqëson një objektiv të rëndësishëm për medikamentet terapeutike kundër kancerit dhe sëmundjeve autoimune si Metotreksati (MTX) ose analogeve strukturore të molekulave të folatit (Zhao & Goldman, 2003; Wessels et al., 2008). Rëndësia e PCFT në përthithjen e folatit në zorrë u tregua gjatë zbulimit të një mutacioni i cili shkaktonte humbje të funksionit në këtë proteinë në individët me përthithjen jo të mirë të trashëguar të folatit (HFM) (Qiu et al., 2006; Zhao et al., 2007; Min et al., 2008).

PCFT e njeriut kodohet nga një gjen i pozicionuar në kromozomin 17q11.2 dhe shprehet gjerësisht në zorrën e hollë, veshka, mëlçi, placentë, retinë dhe tru, si në indet e miut ashtu edhe në indet e njeriut (Qiu et al., 2006). Përkatësisht, gjeni human RFC (hRFC) gjendet në inde specifike në kromozomin 21q22.3. Metilimi i genit promotor, arkitektura e përgjithshme e promotorit si dhe struktura e kromatinës kanë të ngjarë të kenë një rol në rregullimin e shprehisë së këtij gjeni në zorrë, hepatocitet, qelizat e epelitit renale dhe pleksusin koroid (Matherly et al., 2007). Studimet e kryera tek minjtë tregojnë se shprehja e të dyve, RFC (Liu et al., 2005) dhe PCFT (Qiu et al., 2007) rriten në mënyrë të ndjeshme në zorrën e hollë kur ata ushqehen me një dietë të varfër në FA. Shprehja e FR $\alpha$  dhe FR $\beta$  rregullohet (up-regulation) gjithashtu nga nivelet e ulëta të FA (Zhao & Goldman, 2003). FR $\alpha$  modulohet nga receptori i estrogjenit dhe medikamentet glukokortikoide.

Nivelet e larta të folatit në brendësi të enterociteve duhet të rrisin kalimin e folatit nëpërmjet membranës bazolaterale të hapësirës periserosale drejt sistemit vaskular.



Megjithatë, nuk ka asnjë mekanizëm të dukshëm që kryen daljen e folatit nga enterocitet, pasi as RFC dhe as PCFT nuk janë të shprehura në membranën bazolaterale. Proteinat e lidhura me rezistencën ndaj medikamenteve (MRP1–5/ABCC1-ABCC5) janë eksportues kaseta lidhëse të adenosinës trifosfatit me kapacitet të lartë (ATP-binding cassette) me një afinitet modest për folatin/antifolatit (Kms 0.2–2 mM). MRP3 shprehet veçanërisht në këtë zone të qelizës dhe mund të paraqesë një rrugëdalje për folatit (Kruh & Belinsky, 2003).



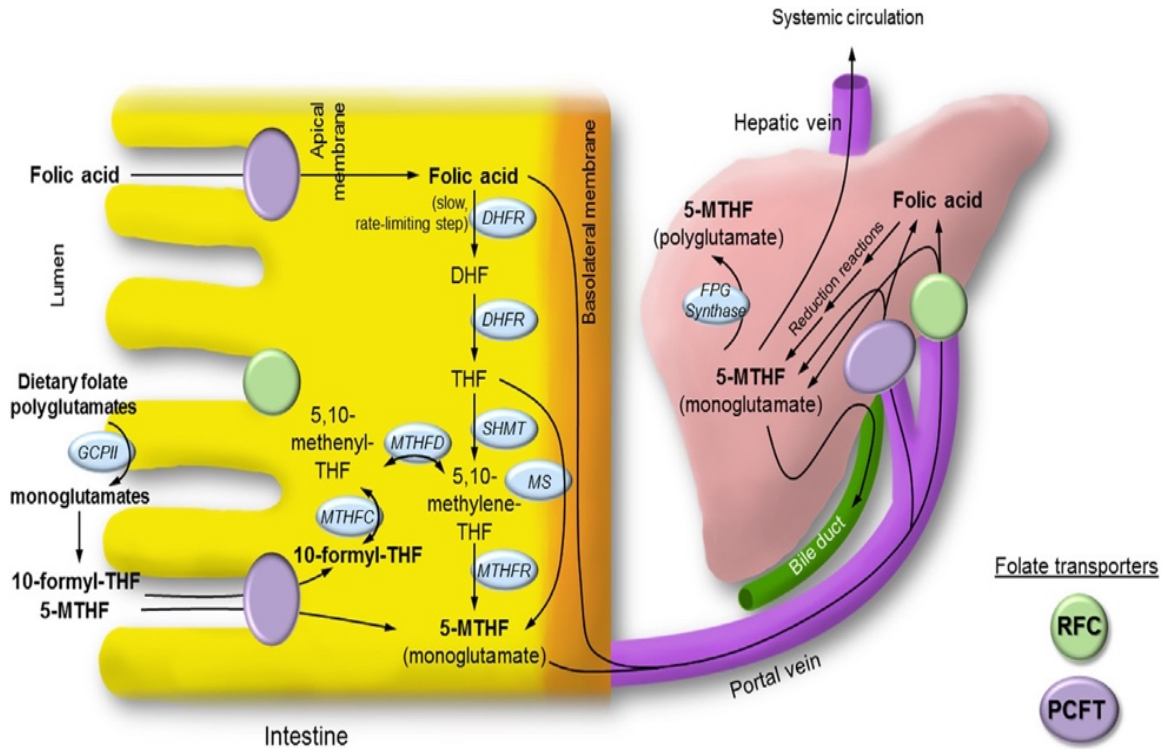
**Figura 1.3.** Paraqitje skematike e vendndodhjes dhe funksioni i transportuesve qelizor të folatit (Shulpekova et al., 2021): (a) RFC, *transportuesi i reduktuar i folatit*; (b) FR, *receptorët e folatit*; (c) PCFT, *transportuesi i folatit i çiftuar me proton*; (d) MRP, *proteinat e lidhura me rezistencën e barnave*; OAT, *transportuesit organikë të anionit*; BCRP, *proteina rezistente ndaj kancerit të gjirit*.

Mikromjediset e ndryshme intestinale ndikojnë në stabilitetin e folatit gjatë kohës që ai përparon nëpër qelizën e mukozës së zorrëve dhe hyn në qarkullimin e portalit hepatic nëpërmjet membranës bazolaterale. Në këtë mënyrë, shumica e folateve të marra me anë të ushqimit dhe FA ndajnë të njëjtin fat metabolik pasi shndërrohen në L-5-metil-THF brenda enterociteve (Figura 1.3) (Shulpekova et al., 2021). L-5-metil-THF qarkullon i palidhur ose pak i lidhur me proteinat e plazmës dhe shpërndahet në qeliza nëpërmjet endocitozës së ndërmjetësuar nga RFC ose FRs (Zhao et al., 2009; Low & Kularatne, 2009). RFC është selektiv për L-5-metil-THF dhe folatin e reduktuar, por ka një afinitet të ulët për FA. Përkundrazi, FRs kanë afinitet të lartë për FA dhe L-5-metil-THF dhe shprehen me bollëk në pleksusin koroid, në placentë dhe në tubat proksimale të veshkave, ku janë përgjegjës për ripërthithjen e folateve, nëpërmjet endocitozës së ndërmjetësuar nga receptorët. Si një alternativë tjetër e kalimit të L-5-metil-THF në organe të ndryshme, PCFT është një bartës i ngopshëm i cili transporton folatin e oksiduar (FA) dhe të reduktuar me të njëjtin efikasitet. PCFT është bollshëm i përqendruar në membranën sinusoidale të mëlçisë dhe lehtëson transferimin e folateve në hepatocite (Horne, 1990; Horne & Reed, 1992).

Pasi arrin në mëlçi folati mund të ndjekë disa rrugë (Figura 1.4) (Karmin et al., 2020):

- Monoglutamatet THF që rrjedhin në qarkullimin portal mund të përthithen nga hepatocitet, ku shndërrohen në derivate të poliglutamateve të THF dhe akumulohen ose sekretohen në gjak ose në bilë. Sekretimi i folatit nëpër membranën kanalikulare biliare ndërmjetësohet nga MRP2 (Mottino et al., 2000);
- Çlirimi i 5-metil-THF hepatic në bilë pasohet nga ripërthithja në zorrën e hollë dhe më pas rishpërndahet në mëlçi dhe inde të tjera, duke përfunduar kështu ciklin e qarkullimit enterohepatik;
- Monoglutamatet THF të shpërndara në qeliza metabolizohen nga enzima folat-poli- $\gamma$ -glutamat sintaza (FPGS) në formën e poliglutamateve (Shane, 1989). Zgjatja e zinxhirit të glutamatit është mekanizmi kryesor për akumulimin dhe depozitimin e folatit në qeliza. Zgjatja e zinxhirit redukton afinitetin për transportuesit e membranës, duke rritur edhe afinitetin për enzimat e varura nga folati që ndodhen brenda qelizave. Triglutamati duket të jetë gjatësia minimale e poli- $\gamma$ -glutamatit e nevojshme për akumulimin qelizor të folatit (Osborne et al., 1993; Lowe et al., 1993);

- 5-metil-THF transportohet me shpejtësi nga gjaku në lëngun cerebrospinal (CSF) kryesisht nëpërmjet barrierës neuro-vaskulare nga transportuesit e specializuar të folatit (Segal, 2001).



**Figura 1.4.** Pasqyrim i përgjithshëm i përthithjes së folatit dhe FA dhe rrugëve kryesore metabolike në zorrë dhe mëlçi (Karmin et al., 2020). PCFT, *transportuesi i folatit i çiftuar me proton*; RFC, *transportuesi i reduktuar i folatit*; DHF, *dihidrofolat*; THF, *tetrahydrofolat*; 5-MTHF, *5-metiltetrahydrofolat*; DHFR, *dihidrofolat reduktaza*; SHMT, *serine hidrosimetiltransferaza*; MTHFR, *metilentetrahydrofolat reduktaza*; MTHFD, *metilentetrahydrofolat dehidrogjenaza*; MTHFC, *metilentetrahydrofolat ciklohidrolaza*; MS, *metionin sintaza*; GCPII, *glutamat karboksipeptidaza II*; FPG synthase, *sintaza e folylpolyglutamatit*.

Një pjesë e folatit të plazmës lidhet me proteina me afinitet të ulët si albumina (Kd folate ~1 mM) (Freisheim et al., 1989). Fraksioni i folatit të lidhur përbën afërsisht 50% të fraksionit total qarkullues të plazmës, dhe ky raport rritet me uljen e përqendrimit të folatit në gjak (Waxman & Schreiber, 1973). Një proteinë lidhëse me afinitet të lartë për folatet (FBP) është gjithashtu e pranishme në përqendrime të ulëta në plazmë (Kd folate~1 nM). FA ka një afinitet të lartë për FBP, gjë që mund të shpjegojë nivelet e ulëta të FA në plazmën gjatë periudhës së mos konsumimit të ushqimeve dhe lëngjeve. Nivelet

e FBP rriten gjatë shtatzënisë dhe arrijnë nivele të larta dhe kritike në disa pacientë me leuçemi (Waxman & Schreiber, 1973).

Qelizat e kuqe të gjakut (RBC) përmbajnë më shumë folate se sa plazma, dhe pothuajse të gjitha folatet në RBC janë poliglutamate të 5-metil-THF. RBC e maturuara dhe limfocitet kanë një kapacitet të kufizuar për të transportuar dhe ruajtur folatin, dhe rezervat e tyre të folatit rriten gjatë eritropoezës dhe duket se ruhen gjatë gjithë ciklit jetësor qelizor, me shumë gjasa për shkak të lidhjes me proteinat (Fort et al., 1993). Si rezultat, nivelet e folatit të RBC përdoren shpesh për të vlerësuar nivelet afatgjatë të folatit. Niveli i folatit në plazmën esëll është gjithashtu një parashikues shumë i mirë, megjithatë nivelet e folatit në plazëm mund të ndikohen nga koha e marrjes së vaktit të fundit dhe duket se pasqyrojnë marrjen e folatit nëpërmjet dietës ushqimore.

Mbajtja e folatit në brendësi të inde ndikohet nga faktorë fiziologjikë dhe ushqyes. Mungesa e rëndë e vitaminës B12, siç shihet në aneminë pernicioze të patrajtuar, prish homeostazën e metabolizmit të njësive me një atom karbon duke reduktuar rrjedhën e reaksionit të metionin sintazës (MTR) (Shane & Stokstad, 1985). Pamjaftueshmëria e vitaminës B12 redukton aktivitetin e MTR, një nga dy enzimat e varura nga vitamina B12, duke rezultuar në një mungesë funksionale të folatit për shkak të akumulimit të monoglutamatit 5-metyl-THF. Meqenëse monoglutamati 5-metil-THF është një substrat i dobët për enziminë FPGS, ai mund të dalë lehtësisht jashtë qelizës. Si rrjedhojë krijohet në mënyrë indirekte një deficitit brendaqelizor i folatit (Wagner, 2001).

Shumica e enzimave të ciklit të njësive me një atom karboni preferojnë folatin e poliglutamatar mbi monoglutamatet, sepse ato kanë një  $K_m$  2-70 herë më të ulët. 5-metil-THF në qeliza, përpara se të ndodhë poliglutamilimi, fillimisht duhet të demetilohet nga MTR. Kur nivelet e folatit në inde janë të larta, konkurrenca për MTR midis poliglutamateve endogjene 5-metil-THF dhe monoglutamatit 5-metil-THF të transportuar pengon demetilinimin e 5-metil-THF dhe rrjedhimisht shndërrimin në poliglutamate të qëndrueshme. Si rezultat, ky proces homeostatik shmang akumulimin e tepërt të folatit në inde kur përqendrimet e folatit në plazmë janë të larta (Cook et al., 1987; Matthews et al., 1987).

### **1.3 Qarkullimi dhe Eliminimi**

Gjatë konsumit normal të ushqimit dhe në kushtet e niveleve normale të folatit në gjak, i gjithë folati qarkullon në organizëm ngadalë duke pasur një gjysmë jetë mbi 100 µg/ditë (Gregory et al., 1998). FA e pametabolizuar dhe folati i reduktuar gjenden në gjak të

pandryshuara edhe kur merren suplemente në doza të larta (Schmitz et al., 1994). Ekskretimi urinar i folatit të pa metabolizuar është gati i papërfillshëm.

Katabolizmi i folatit në produkte fiziologjike është rruga kryesore e qarkullimit të folatit në të gjithë trupin (Murphy et al., 1976). Është propozuar se hapi i parë në katabolizmin e folatit përfshin ndarjen e folilpolyglutamateve brendaqelizore në lidhjen C9-N10 për shkak të një dëmtimi oksidativ (Suh et al., 2001). P-amino-benzoilpolyglutamatet (pABAGlu) dhe pjesa e pterinës janë produktet kryesore të ndarjes gjatë këtij katabolizmi. pABAGlu që përftohet hidrolizohet në monoglutamat dhe më pas N-acetilohehet në mëlçi përpara se të ekskretohet në urinë si N-acetilaminobenzoilmonoglutamat. Pjesa e pterinës eliminohet në bilë dhe shfaqet në feçe. Folatet ripërthithen në tubulin proksimal renal pasi filtrohen në glomerul (Williams & Huang, 1982; Selhub et al., 1987). Si rezultat, pjesa më e madhe e folatit të çliruar ripërthithet. Afiniteti i derivateve të folatit për FBP në tubat proksimale të veshkave lidhet në përpjestim të zhdrejtë me klirensin e tyre renal (Selhub et al., 1987). Një pjesë e 5-metil-THF çlirohet në bilë, por në doza prej 400 µg ose më pak në ditë, pjesa më e madhe e tij ripërthithet në zorrë. Humbja e folatit nëpërmjet kësaj rruge mund të jetë e konsiderueshme në çrregullimet e keqpërthithjes (sëmudjet e malabsorbimit). Një sasi e folatit eliminohet gjithashtu përmes feçes dhe urinës; sasia ndryshon sipas dozës dhe përqendrimeve plazmatike të folatit. Nëqoftëse përqendrimi i plazmës tejkalon 45 nmol/L, fraksioni i 5-metil-THF i ekskretuar në urinë rritet (De Meer et al., 2005).

Sëmudjet që nxisin ndarjen nëpërmjet oksidimit të folatit kanë më shumë gjasa të rrisin nevojat për folate. Shtatzënia rrit katabolizmin e folateve, veçanërisht në tremujorin e dytë, dhe ky katabolizëm i rritur është i pavarur nga konsumi i shtuar i folateve me anë të dietës ushqimore (McPartlin et al., 1993).

#### **1.4 Metabolizmi i Folatit dhe FA**

Tërësia e njësisë me një atom karboni është një term funksional që i referohet një grupi koenzimash të folateve që janë të balancuara metabolikisht (Zheng & Cantley, 2019). Roli kryesor i koenzimave të folateve është të marrin ose të japin njësi me një atom karbon në procese të rëndësishme metabolike. Krijimi dhe transportimi i grupeve metil dhe njësisive të tjera me një atom karbon, brenda dhe jashtë organelave brendaqelizore, rregullohet ngushtë nga reaksionet enzimatisht. Përqendrimi i enzimave të folatit është më i lartë se përqendrimi i folatit brendaqelizor. Kështu, aktivitetet brendaqelizore të folatit janë të ndërlidhura nga një mekanizëm kompleks konkurrimi në kushtet e një furnizimi

të kufizuar me ko-faktorë të folateve brenda sistemit (Fox & Stover, 2008). Studimet sugjerojnë se krijimi i komplekseve multienzimë dhe një ndarje fizike dinamike janë thelbësore për modulimin e aktivitetit të këtyre rrugëve metabolike (Stover & Field, 2011).

Poliglutametet janë molekulat natyrale të folatit që gjenden në inde me shkallë të ndryshme oksidimi. Enzima FPGS shton grupet  $\gamma$ -karboksil në zinxhirët fundorë të derivateve monoglutamate, të cilat transportohen në qeliza, për të sintetizuar poliglutametet. Ky proces i zgjatjes së zinxhirit që ndodh në lizozomë siguron grupin  $\alpha$ -karboksil, ndihmon në ruajtjen e folatit brenda qelizës dhe rrit afinitetin e lidhjes me proteinat (Shane, 1989). Aktiviteti i FGPS është më i lartë në mëlçi dhe mund të gjendet në sasi të konsiderueshme në shumicën e indeve të gjitarëve, megjithatë duket se mungon në indet e muskujve dhe qelizat e maturuara të gjakut (Moran & Colman, 1984). Izoenzimat e FGPS të koduara nga një gjen i vetëm gjenden në citosolin dhe mitokondritë e qelizave të gjitarëve (Chen et al., 1996). Izoenzima mitokondriale ka për detyrë të formojë rezervën e nevojshme të folateve mitokondriale (Lin et al., 1993).

Nevojitet një proces redoks për të kaluar nga një gjendje oksidimi në një tjetër, pasi vetëm kur folati është në formën e tij plotësisht të reduktuar të THF mund të transportojë njësi me një atom karboni. Kur njësitë me një atom karboni integrohen si derivate të folatit, fitimi (reduktimi) ose humbja (oksidimi) e elektroneve mund të përdoren për t'i kaluar ato nga një gjendje oksidimi në një tjetër. Gjendja e oksidimit të koenzimave të folatit duhet dalluar nga niveli i oksidimit të njësisë me një atom karbon që transportohen.

FA është një pro-vitaminë kimikisht e qëndrueshme dhe plotësisht e oksiduar që gjendet në ushqime të fortifikuara dhe suplemente vitaminash e transportohet lehtësisht përmes epitelit të zorrëve nga PCFT. Megjithatë, ai duhet të reduktohet në THF nga enzima DHFR dhe të konvertohet nga FPGS në një formë poliglutamati për të funksionuar si një bashk-faktor metabolik (O'Broin et al., 1975). Hapi i parë, reduktimi i FA në 7,8-dihidrofolat (DHF), është një reaksion metabolik me shpejtësi të kufizuar (Bailey & Ayling, 2009). Reduktimi i mëtejshëm i DHF në THF prodhon një stereozomer aktiv L (ose 6S) për shkak të asimetrisë në karbonin 6 të THF.

Molekula kryesore e folateve e cila pranon njësitë me një atom karbon në ciklin e njësisë-karbonike është versioni poliglutamit i THF (Wagner, 2001). Shndërrimi i THF në 5,10-metilen-THF është një hap fillestar i rëndësishëm në ciklin e njësisë me një atom karbon. Burimi primar i njësisë me një atom karbon është  $\beta$ -karboni 3 i serinës i

transferuar në THF nga serina hidrosimetiltransferaza (SHMT) e varur nga piridoksal fosfati (PLP) që rezulton në formimin e 5,10-metilen-THF dhe glicinës (Gregory et al., 2000). Një pjesë e 5,10-metilen-THF të formuar reduktohet në mënyrë të pakthyeshme në 5-metil-THF, nga metilen tetrahidrofolat reduktaza (MTHFR). Ky është një proces që përfshin oksidimin e NADPH në NADP<sup>+</sup> dhe reduktimin e njëkohshëm të flavin adenine dinukleotidit (FAD) në flavine adenine dinukleotidit FADH<sub>2</sub>. Një pjesë e këtij metabolizmi mund të ndodhë në mëlçi përpara çlirimit të L-5-metil-THF në qarkullimin periferik. Forma kryesore e folatit që merr pjesë në metabolizmin e njeriut është L-5-metil-THF, e cila është gjithashtu forma e folatit që transportohet në plazmë (Kelly et al., 1997). MTR është një nga dy enzimat e varura nga vitamina B12 tek njerëzit. MTR katalizon metilimin e homocisteinës për të sintetizuar metioninën duke përdorur 5-metil-THF si dhurues të grupeve metil (Shane & Stokstad, 1985; Wagner, 2001).

Koenzimata e folatit dhe enzimat e lidhura me to janë të localizuara në organelle të ndryshme të qelizës (Wagner, 2001). Metabolizmi i njësisive me një atom karboni ndodh në citosol, mitokondri dhe bërthamën e qelizave të gjitarëve (Figura 1.5) (Lionaki et al., 2022). Në citosolin e qelizave, koenzimat e folatit përfshihen në tre cikle metabolike kryesore që janë të ndërlidhura me njëra-tjetrën (Shane, 2008):

- cikli i sintezës së metioninës;
- ndërkonvertimi serinë-glicinë;
- sinteza e nukleotideve.

Pavarësisht nga fakti se këto cikle sintetike janë të vendosura në citosol, qelizat e gjitarëve kanë një reserve të konsiderueshme të folatit në mitokondri, e cili është e përfshirë në furnizimin me prekursorë të një atom karbonit për metabolizmin citosolik të njësisive me një atom karbon. Komponenti kryesor i këtyre cikleve është 5,10-metilen-THF pasi mund të përfshihet drejtpërdrejt në sintezën e timidilatit, të reduktohet në 5-metil-THF në ciklin e sintezës së metioninës ose të oksidohet në 10-formil-THF për sintezën e purinave.

#### **1.4.1 Cikli i Sintezës së Metioninës**

Metionina është një aminoacid thelbësor që ndikon në disa rrugë të varura nga folati dhe vepron si një pararendës për biosintezën e proteinave. Enzima MTR përdor një grup metil N-5 të cilin e zhvendos nga substrati 5-metil-THF për të metiluar homocisteinën dhe për të sintetizuar metioninën (Shane & Stokstad, 1985). Grupi metil N-5 transferohet fillimisht në koenzimën e vitaminës B12 për të gjeneruar metilcianokobalaminë, dhe më

pas grupi metil zhvendoset tek homocisteina, duke rezultuar në formimin e metioninës (Korimerla & Wahl, 2022). Flavoproteina MTHFR është e rëndësishme në metabolizmin e njësive me një atom karbon sepse konverton 5,10-metilen-THF në 5-metil-THF, i cili e drejton në mënyrë të pakthyeshme grupin me një atom karbon në metilimin e homocisteinës (Kutzbach & Stokstad, 1971; Shane, 2008).

Enzima metionin adenziltransferaza (MAT) katalizon shndërrimin e metioninës në S-adenozilmetioninë (SAM) duke përdorur një molekulë ATP. SAM mund të përdoret si ko-faktor dhe dhurues i grupit metil në një sërë reaksionesh metilimi, duke përfshirë metilimin e DNA, histoneve dhe një shumëllojshmëri proteinash, si dhe sintezën e neurotransmetuesve, fosfatidilkolinës dhe molekulave të tjera të vogla. Metilimi i varur nga SAM kontrollon proceset kryesore biologjike si transkriptimi bërthamor, translatimi i mRNA, sinjalizimi qelizor (Miranda & Jones, 2007), lokalizimi i proteinave (Winter-Vann et al., 2003), dhe degradimi i molekulave të vogla (Stead et al., 2004). Reaksioni i pakthyeshëm i katalizuar nga MTHFR frenohet gjithashtu nga SAM.

S-adenozil-homocisteina (SAH) përfaqëson një frenues të fuqishëm të disa metiltransferazave dhe sintetizohet nga veprimi enzimatik i metiltransferazave të shumta (MT). Shumica e proceseve të metil transferazës frenohen nga nga SAM dhe aktiviteti i tyre rregullohet nga raporti SAM:SAH (Chiang, 1998). Adenzina dhe homocisteina janë produktet katabolike të hidrolizës së molekulës SAH të katalizuar nga S-adenozil-L-homocisteinë hidrolaza (SAHH/AHCY). Homocisteina e çliruar nga kjo hidrolizë del në qarkullim ose kthehet përsëri në metioninë nëpërmjet reaksionit të metionin sintazës të varur nga folati, reaksion i cili ndodh në shumicën e indeve në organizëm.

Ka disa enzima të cilat frenohen nga një formë specifike e folatit për shkak të ngjashmërive strukturore me formën e folatit që shërben si substrat për këto enzima. Forma të ndryshme të folatit veprojnë si substrate, por ekziston një rast në të cilin folati vepron si një rregullator alosterik. 5-metil-THF përfaqëson një frenues specifik të rrugës alternative për konvertimin e SAM në SAH nga enzima glicine N-metiltransferazë (GNMT) (Wagner et al., 1985).

Hapi i fundit i ciklit të metioninës varet nga sasia e metioninës dhe kolinës në dietë për sintezën dhe rimetilimin e homocisteinës në metioninë. Në mëlçi dhe veshkë, homocisteina mund të kthehet përsëri në metioninë nëpërmjet betaine-homocistein metiltransferazës (BHMT) të varur nga  $Zn^{2+}$  dhe B6 por e pavarur nga folati. Enzima BHMT katalizon transferimin e një grupi metil nga betaina (trimetilglicina) tek homocisteina për të prodhuar metioninë dhe dimetilglicinë (Shane, 2008). Oksidimi i



kolinës në mitokondritë e qelizave të mëlçisë prodhon betainë. Studimet sugjerojnë se 30% e procesit të rimetilimit të homocisteinës mund të realizohet nga enzima BHMT në mëlçi (Mudd & Poole, 1975).

Procesi i transsulfurimit, i cili përfshin dy enzima të varura nga PLP, cistathionine  $\beta$ -sintaza dhe cistationaza, gjithashtu mund të konvertojë homocisteinën në cisteinë në mëlçi dhe veshka. Procesi i transsulfurimit është i lidhur me ekuilibrin redoks sepse cisteina përdoret për të gjeneruar glutation. Cisteina përfundimisht transformohet në glutation (GSH) në një proces enzimatik me dy hapa, që kërkon energji (Sbodio et al., 2019). Në hapin e parë, glutamat cistein ligaza (GCL) lidh glutaminin me cisteinën duke sintetizuar G-glutamyl-cisteinën. G-glutamyl-cisteina më pas konjugohet me glicinën nga GSH sintaza (GS), duke rezultuar në formimin e GSH. Rruga e transsulfurimit rregullohet kryesisht nga SAM, e cila pengon sintezën e 5-metil-THF të ndërmjetësuar nga MTHFR duke rritur aktivitetin e cistationin beta sintazës (CBS) (Kutzbach & Stokstad, 1971; Finkelstein, 2007).

Procesi i metionin sintazës gjithashtu rigjeneron THF, i cili është i nevojshëm për sintezën e 5,10-metilen-THF dhe 10-formil-THF, të cilët janë të përfshirë drejtpërdrejt në sintezën e timidilatit dhe purinave (Woeller et al., 2007).

Proceset e metilimit janë vendimtare për zhvillimin, shprehjen e gjeneve dhe integritetin e genomës. Niveli joadekuate i folatit ndikon në ciklin e metioninës së varur nga folati (Wolffe et al., 1999). Kur niveli i folatit është i ulët, kapaciteti i trupit për të rimeteluar homocisteinën qelizore zvogëlohet, duke rezultuar në një rritje të homocisteinës në plazmë, e cila është një shenjë indirekte e pamjaftueshmërisë së folatit (Refsum et al., 1998; Jacques et al., 1999).

#### **1.4.2 Ndërkonvertimi Serinë-glicinë**

Grupi hidroksimetil i serinës është një burim kryesor i njësive me një atom karbon për metabolizmin e njësive me një atom karbon të varur nga folati (Gregory et al., 2000). Kthimi i ndërsjelltë i serinës dhe glicinës është funksioni kryesor i enzimes SHMT të varur nga vitamina B6 (Shane, 2008). Serina kontribuon në gjenerimin e 5,10-metilen-THF duke i dhuruar  $\beta$ -karbone THF. Reaksioni është afër ekuilibrit dhe mund të kthehet lehtësisht në kah të kundërt.

Dy izozima SHMT të veçanta, një citosolike dhe një mitokondriale, gjenden në indet e gjitarëve dhe janë të koduara nga gjene të ndryshme (Garrow et al., 1993). Studimet sugjerojnë se enzima mitokondriale, e cila gjendet në të gjitha indet, është

përgjegjëse për pjesën më të madhe të njësive me një atom karboni të nevojshëm për metabolizmin citosolik të njësive me një atom karboni (Gregory et al., 2000; Stover et al., 1997). Enzima citosolike e SHMT ka një shpërndarje indore më të kufizuar se ajo mitokondriale; enzima citosolike shprehet kryesisht në mëlçi dhe veshka, si dhe në qelizat të cilat riprodhohen me shpejtësi. Enzima SHMT citosolike hepatike mund të luajë një rol kyç në glukoneogjenezën duke sintetizuar serinë nga glicina.

Megjithëse grupet me një atom karbon të transportuara nga THF mund të përftoheshin drejtpërdrejt në citosol nga degradimi i histidinës, purinave dhe serinë. Format i është burimi kryesor i njësive me një atom karboni për metabolizmin bërthamor dhe citosolik të njësive me një atom karboni dhe gjenerohet nga metabolizmi mitokondrial i njësive me një atom karbon (Tibbetts & Appling, 2010; Fox & Stover, 2008). Format mund të prodhohet në mitokondri nëpërmjet SHMT2 ose në citosol nëpërmjet aktivitetit SHMT1 ose SHMT2a.

SHMT1 prodhon 5,10-metilen-THF, i cili fillimisht transformohet në 5,10-metenil-THF në citosol duke reduktuar NADP<sup>+</sup> në NADPH dhe më pas në 10-formil-THF nëpërmjet hidrolizës. Metilentetrahidrofolat dehidrogjenaza 1 (MTHFD1) katalizon këtë proces të kthyeshëm me dy hapa, përkatësisht nëpërmjet aktivitetit të saj metilen-THF dehidrogjenazë dhe methenil-THF ciklohidrolazë. 10-formil-THF i formuar mund të konvertohet në mënyrë të kthyeshme në THF dhe në format, në një reaksion që prodhon ATP të ndërmjetësuar nga aktiviteti i formil-1-karbon-tetrahidrofolat sintetazës të MTHFD1 (MacFarlane et al., 2011; Pietzke et al., 2020).

Reaksioni mitokondrial nëpërmjet SHMT2 prodhon 5,10-metilen-THF, i cili oksidohet në 10-formil-THF dhe më pas hidrolizohet në format. 10-formil-THF i prodhuar në mitokondri përdoret nga mitokondritë për sintezën e proteinave. Ndërsa formati i gjeneruar nga mitokondria ripërthithet në rezervën citosolike të njësive me një atom karbon si 10-formil-THF. Një enzimë e kthyeshme e C1 tetrahidrofolat sintetazës (MTHFD1) mund të reduktojë 10-formil-THF në 5,10-metilen-THF në citosol.

### **1.4.3 Sinteza e Nukleotideve**

Folatet janë faktorë kyç thelbësorë për sintezën e deoksitimidin monofosfatit (dTMP) dhe purinave, të cilat janë pararendëse për sintezën e DNA dhe RNA. Njësitë me një karbon të 5,10-metilen-THF përfshihen në 3 rrugë kryesore të varura nga folati. Siç u përmend më parë, 5,10-metilen-THF përdoret drejtpërdrejt për sintezën e timidilatit, ose

reduktohet në 5-metil-THF në ciklin e sintezës së metioninës, ose oksidohet në 10-formil-THF për sintezën e purinës.

Timidilati është një nukleotid veçanërisht i nevojshëm për sintezën e DNA. Enzimat e përfshira në formimin e timidilatit synojnë të zhvendosen në bërthamën e qelizës gjatë fazës S të ciklit qelizor, kur dhe sintetizohet DNA (Woeller et al., 2007). Aktiviteti i timidilat sintazës (TS) është më i madhi në qelizat me rritje të shpejtë dhe katalizon transferimin e një grupi me një karbon nga 5,10-metilen-THF në pozicionin 5 të deoksiuridilatit (dUMP) me oksidimin e një molecule FADH<sub>2</sub> (Baggott & Tamura, 2015). Reaksioni pasohet nga reduktimi i 5,10-metilen-THF në një grup metil për sintezën e dTMP.

Fakti që njësia me një atom karbon, e cila transferohet për të prodhuar acidin timidilik, shfaqet në nivelin e oksidimit të metanolit, ndërsa burimi i njësisë me një atom karbon, 5,10-metilen-THF, ekziston në nivelin e oksidimit të formaldehidit, është karakteristika kryesore e këtij procesi. Ky reduktim nuk kërkon përdorimin e burimeve të jashtme të elektroneve. Molekula e folatit vepron gjithashtu si një agjent reduktues dhe elektronet e nevojshme për këtë reduktim vijnë nga oksidimi i THF në DHF. Enzima DHFR është e rëndësishme për reduktimin në THF të DHF të gjeneruar gjatë sintezës së timidilatit (Blakley & Benkovic, 1985).

Rrjedhimisht, THF mund të ripërdoret në reaksionet e metabolizmit me një atom karbon për sintezën e 5,10-metilen-THF dhe 10-formil-THF, e të ripërdoret në sintezën e timidilatit dhe purinave. Biosinteza e unazës së purinave (adeninës dhe guaninës) kryhet nga komplekse të specializuara multienzimatike, të njohura si purinozome, nëpërmjet enzimave fosforibozilglicinamideformiltransferazës (GART) dhe fosforibosil aminoimidazol karboksamid formiltransferazës (AICAR transformilazë) (Ghannad-Zadeh & Das, 2021). Të dyja enzimat pranojnë një njësi me një atom karbon nga 10-formil-THF dhe çlirojnë THF. Veçanërisht, imazhet me super rezolucion zbuluan se purinozomet ndodhen pranë mitokondrive, duke sugjeruar se ato janë të pozicionuara në mënyrë aktive rreth rajoneve me ATP të lartë dhe bollëk metabolitësh (French et al., 2016).

#### **1.4.4 Kompartimentet Qelizore të Metabolizmit me Një Atom Karbon**

Metabolizmi i folatit është i ndarë midis citosolit dhe mitokondrive në mëlçi e ndoshta edhe në indet e tjera gjithashtu. Cook dhe Blair (Cook & Blair, 1979) ishin të parët të cilët e demonstruan këtë, duke treguar se folati radioaktiv i injektuar tek minjtë shpërndahej në

mënyrë të ndryshme midis citosolit dhe mitokondrive. Megjithatë, koenzimat e folatit nuk transferohen lehtësisht ndërmjet organeleve të ndryshme qelizore. Nga ana tjetër, produktet metabolike të reaksioneve të folatit zhvendosen lehtësisht midis organeleve qelizore.

Ekziston një kompartmentim i enzimave sikurse ekzistonte një kompartmentim gjithashtu i koenzimave të folatit. Disa prej tyre janë të vendosura në citosol, ndërsa të tjerët gjenden si në citosol ashtu edhe në mitokondri (Horne et al., 1989; Horne et al., 1992). Tabela 1.1 tregon se ku ka më shumë gjasa të gjendet secila nga enzimat metabolizuese të folatit.

Disa enzima mitokondriale të varura nga folati janë vërtetuar të jenë pjesërisht ose plotësisht të lidhura me membranën e brendshme mitokondriale, siç u përmend edhe më parë. Enzimat SHMT, sistemi i ndarjes së glicinës (GCS), sarkozin dehidrogjenaza (SDH) dhe dimetilglicina dehidrogjenaza (DMGDH), të cilat sintetizojnë të gjitha 5,10-metilen-THF, janë të lidhura tek membrana e brendshme e mitokondrive të qelizave të mëlçisë së minjve (Motokawa & Kikuchi, 1971; Bergeron et al., 1998; Da Cruz et al., 2003). Enzimat metilentetrahydrofolat dehidrogjenaza NADP<sup>+</sup> vartëse 2 (MTHFD2L) dhe metilentetrahydrofolat Dehidrogjenaza NADP<sup>+</sup> vartëse 1 (MTHFD1L) (Prasanna & Appling, 2009) janë të përfshira në shndërrimin e 5,10-metilen-THF në format, gjithashtu është zbuluar se janë të lidhura ngushtë me membranën e brendshme mitokondriale.

Monoglutamatet e THF ose 5-formil-THF transportohen në mitokondri nëpërmjet transportuesit mitokondrial të folatit (MFT) dhe përfaqësojnë 40% të folatit total qelizor (Shin et al., 1976; Lin et al., 1993; Titus & Moran, 2000; McCarthy et al., 2004). Monoglutamatet e THF ruhen në mitokondri pasi shndërrohen në poliglutamate THF. Mitokondritë përmbajnë folilpolyglutamate me zinxhirë glutamati të cilët janë të ngjashëm ose më të gjatë se folati citozolik (Lin et al., 1993). FPGS mitokondriale njerëzore, e cila shton mbetje glutamati në rezervën mitokondriale të folatit, është i lidhur me membranën e brendshme (Nair & McGuire, 2005). Ky konvertim është i rëndësishëm për krijimin e një rezerve të veçantë ko-faktorësh të cilët nuk janë në ekuilibër me poliglutamatet THF në citosol (Lin et al., 1993). Në mitokondriet e qelizave të mëlçisë së minjve, THF dhe 10-formil-THF përbëjnë shumicën e koenzimave të folateve, me vetëm 11% të 5-formil-THF dhe më pak se 7% të 5-metil-THF (Horne et al., 1989). Ndërsa ko-faktorët THF që marrin pjesë në reaksionet e citoplazmës janë rreth 45% 5-metil THF, 30% 10-formil-THF dhe 5-formil-THF dhe 25% THF.

Dhuruesit e njësive me një atom karbon, duke përfshirë serinën, glicinën dhe formatin, transferojnë njësi me një atom karboni midis mitokondrive dhe citoplazmës. 10-formil-THF mitokondrial mund të shndërrohet në THF nga aldehid dehidrogjenaza 1 mitokondriale pjesë e familjes L2 (ALDH1L2) (Krupenko et al., 2015) ose përpunohet nga metionil-tRNA formiltransferaza (MTFMT) për të gjeneruar formilmationil-tRNA (f-Met tRNA), duke nxitur kështu sintezën e proteinave mitokondriale (Minton et al., 2018) veçmas sintezës së formatit nëpërmjet MTHFD1L. Për më tepër, për shkak se mitokondrive u mungon aktiviteti i MAT, hyrja e SAM në mitokondri është thelbësor për të mbështetur proceset e metilimit mitokondrial. Gjени SLC25A26 kodon proteinën bartëse mitokondriale SAM (SAMC), e cila lehtëson transportin e SAM në matriksin mitokondrial (Horne et al., 1997; Agrimi et al., 2004).

Sinteza e glicinës nga serina (Yoshida & Kikuchi, 1970), sinteza e N-formilmationinës që transferon sintezën e RNA për fillimin e sintezës së proteinave mitokondriale dhe gjenerimi i formatit nga aminoacidet serin, glicin, dimetilglicin dhe sarkozina, janë të gjitha të nevojshme për metabolizmin citozolik të njësive me një atom karboni (Figura 1.5). Njësitë e një atom karbonit të prodhuara nga mitokondria transportohen përsëri në citosol dhe shërbejnë si burimi kryesor i njësive me një atom karbon për metabolizmin citosolik me një njësi karboni. Ky shkëmbim midis tërërisë së rezervave citoplazmike dhe mitokondriale të THF nëpërmjet membranave mitokondriale është i kufizuar dhe mbështetet më së shumti nga një lëvizje e njëanshme e njësive me një atom karbon nga serina në format dhe më pas në metioninë (Tibbetts & Appling, 2010).

Horne et al. (1992) zbuloi një përthithje të ndërmjetësuar nga një proteinë bartëse të folilmonoglutamateve të reduktuara (5-metil-THF dhe 5-formil-THF) në mitokondritë e izoluara të qelizave të mëlçisë së minjve duke përdorur kushte fiziologjike. Marrja e FA kryej me një ritëm të ngadaltë. Gjetjet e mëvonshme sugjerojnë se mitokondritë përvetësojnë folate në një formë të reduktuar, sikurse monoglutamatet nga citoplazma. Në mitokondri, kjo tërësi koenzimash të folateve do të poliglutamilohehet dhe do të lidhet me njësitë me një atom karboni. Kjo perspektivë mbështetet nga mungesa e aktivitetit të DHFR në mitokondri (Wang et al., 1967). Kohët e fundit është zbuluar se MFT rregullon hyrjen e koenzimës së folateve në mitokondritë e qelizave të gjitarëve (Titus & Moran, 2000). MFT i përket familjes së bartësve mitokondrial të transportuesve të brendshëm të membranës mitokondriale (Palmieri, 2004), i cili përfshin shkëmbyesin e mirënjohur adenzinë trifosfat/adenzinë difosfat (ATP/ADP) (Pebay-Peyroula et al., 2003).

**Tabela 1.1.** Lokalizimi nënqelizor i reaksionit të folatit (Wagner, 2001).

Enzima që katalizon reaksionin e folatit	Citozol	Mitokondria
dihidrofolat reduktaza	◆	
timidilat sintaza	◆	
5,10-metilen-THF dehidrogjenaza	◆	▲
5,10-metenil-THF ciklohidrolazë	◆	▲
fosforibozilglicinamid transformilaza	◆	
amino karboksamide ribotid transformylase	◆	
10-formil-THF dehidrogjenaza	◆	▲
10-formil-THF sintaza	◆	▲
metionil t-RNA formiltransferaza		▲
formimi joenzimatik i 5,10-metilen-THF		▲
dimetilglicin dehidrogjenaza		▲
sarkozina dehidrogjenaza		▲
sistemi enzimatik i ndarjes së glicinës	◆	▲
Serine hidroksimetiltransferaza	◆	
glutamat formiminotransferaza	◆	
formimino-THF ciklodeaminaza	◆	
5,10-metenilte-THF sintetazë	◆	
reaksion i vogël i katalizuar nga serinë	◆	
hidroksimetiltransferaza	◆	
5,10-metilen-THF reduktazë	◆	
metionin sintaza	◆	
metionin adenoziltransferaza	◆	
shumëllojshmëri e reaksioneve të metiltransferazës	◆	
glicine N-metiltransferaza	◆	

Hulumtimet e fundit të zhvilluara mbi linjat qelizore të gjitarëve treguan rëndësinë e rrugës mitokondriale të njësive me një atom karbon në ruajtjen e folatit citosolik. Kur SHMT2 ose MTHFD1L eliminohen, u konstatua një çrregullim i metabolizmit të folatit

mitokondrial, që çoi në një largim të THF citosolik për shkak të një ndryshimi në rrugën citosolike kundrejt prodhimit të formatit (Zheng et al., 2018).

Metabolizmi bërthamor i njësisive me një atom karbon u raportua nga Stover dhe kolegët, të cilët demonstruan sintezën e dTMP të ndërmjetësuar nga folati në bërthamë (Anderson et al., 2007; Woeller et al., 2007; Anderson & Stover, 2009). Ata zbuluan se gjatë fazave S dhe G2/M të HeLa dhe linjës qelizore të kancerit të gjirit të njeriut (qelizat MCF-7), SHMT citoplazmike (cSHMT), TS, DHFR dhe MTHFD1, të gjitha zhvendosen në bërthamë pasi modifikohen nga modifikuesi i vogël i lidhur me ubiquitin (SUMO). Enzimata transportohen në bërthamë, ku krijojnë një kompleks multienzimatik me proteinat e laminës bërthamore, si dhe me faktorët e riprodhimit dhe riparimit të DNA (Anderson et al., 2012; Woeller et al., 2007). Këto enzima të modifikuara nga SUMO zhvillojnë një cikël sinteze të dTMP në të cilin serina vepron si një dhurues i njësisive me një atom karboni përmes reaksionit të cSHMT.

#### **1.4.5 Mekanizmat e Kontrollit të Metabolizmit me Një Atom Karbon**

Në mungesë të një mekanizmi të rregulluar kontrolli, pjesa më e madhe e reaksioneve biokimike me një atom karboni do të ishin jashtëzakonisht të ndjeshme ndaj ndryshimeve të konsumimit ushqimor të folatit, vitaminave B6 dhe B12, dhe kolinës, si dhe ndaj luhatjeve të përqendrimeve qelizore të makronutrientëve si p.sh. serina, glicina, dhe metionina, pas ngrënies. Sipas kërkimeve të kryera ndër vite, ekzistojnë kontrolle të fuqishme homeostatike në aktivitetet metabolike të varura nga folati (Shane, 2011; Stover & Field, 2011).

MTHFR dhe GNMT janë enzima kryesore, aktivitetet e të cilave rregullohen nga metabolitë specifike të prodhuar gjatë reaksioneve me një atom karbon. SAM pengon prodhimin e 5-metil-THF, ndërsa 5-metil-THF pengon përdorimin e SAM. Kur dieta përmban përqendrime adekuate të metioninës, reaksioni i katalizuar nga MAT siguron që të prodhohet mjaftueshëm SAM për të penguar procesin e lidhur me MTHFR. Në këto kushte, prodhimi i 5-metil-THF është i panevojshëm. Për shkak se ka më pak 5-metil-THF, GNMT nuk është i bllokuar dhe mund të vazhdojë të largojë SAM e tepërt duke ruajtur raportin SAM:SAH.

Ndërsa, kur nivelet e metioninës të marrë me anë të ushqimit janë të ulëta, megjithëse, MAT prodhon më pak SAM, MTHFR nuk do të frenohet më. Prandaj, nivelet e 5-metil-THF do të rriten dhe do të kontribuojnë në rimetilimin e homocisteinës dhe do të bllokoi GNMT. Gjenerimi i 5-metil-THF i katalizuar nga MTHFR është i pakthyeshem

*in vivo* dhe shkakton një akumulim të 5-metil-THF në qelizë. Paaftësia e mëtejshme e qelizës për të përdorur 5-metil-THF e tepërt të sintetizuar gjatë mungesës së theksuar të vitaminës B12 për shkak të mungesës së aktivitetit të MTR, rezulton në një “kurth metil” folati, i cili mund të dëmtojë biosintezën *de novo* të purinave dhe timidilatit (Hoffbrand & Herbert, 1999).

Ky proces rregullues ndihmon për të kursyer sasinë e vogël në dispozicion të metioninës për një sërë reaksionesh të metiltransferazës. 5-metil-THF është e vetmja njësi me një karbon në nivelin e oksidimit të metanolit që merr pjesë në transferimin e grupit metil tek homocisteina për sintezën e metioninës, ndërsa MTR është enzima përgjegjëse për këtë reaksion metabolik. Gjatë këtij procesi, grupi metil transportohet nga 5-metil-THF tek vitamina B12 (cianokobalaminë) e cila shërben si ko-faktor për të krijuar metilcianokobalaminë, dhe më pas transferohet tek homocisteina (Hondorp & Matthews, 2006). Efekti i niveleve të kobalaminës në aktivitetin dhe veprimin *in vivo* të MTR përbën një fakt tjetër të rëndësishëm të ndikimeve dietike në metabolizmin e njësive me një atom karbon. Një mungesë e vetëm njëerës prej të dy vitaminave (FA ose B12) mund të shkaktojë të njëjtat anomali hematologjike. Shpjegimi biologjik lidhet me bashkëvarësinë e MTR nga folati dhe vitamina B12. THF duhet të rigjenerohet në procesin e metionin sintazës përpara konvertimit në 5,10-metilen-THF, i cili kërkohet për sintezën e timidilatit dhe, si rrjedhim, sintezën e DNA.

Megjithëse metionina është një aminoacid i rëndësishëm, është komponenti homocisteinë i molekulës i cili nuk mund të gjenerohet dhe duhet të inkorporohet me patjetër në mënyrë që të sintetizohet si përfundim molekula e metioninës. Kafshëve u mungon kapaciteti për të gjeneruar homocisteinën dhe ajo nuk gjendet shpesh edhe në dietën e tyre ushqimore. Rritja e përqendrimeve të homocisteinës në plazëm, e shkaktuar nga deficieti i folatit dhe/ose i vitaminës B12, është një pjesë tjetër e ndërveprimit midis këtyre dy vitaminave. Homocisteina është e përfshirë në dy reaksione kryesore metabolike: shndërrimi në metioninë dhe katabolizimi nëpërmjet rrugës së transsulfurimit. Katabolizmi i homocisteinës frenohet nga mungesa e vitaminës B6, e cila çon në një rritje të homocisteinës plazmatike dhe niveleve brendaqelizore të SAH.

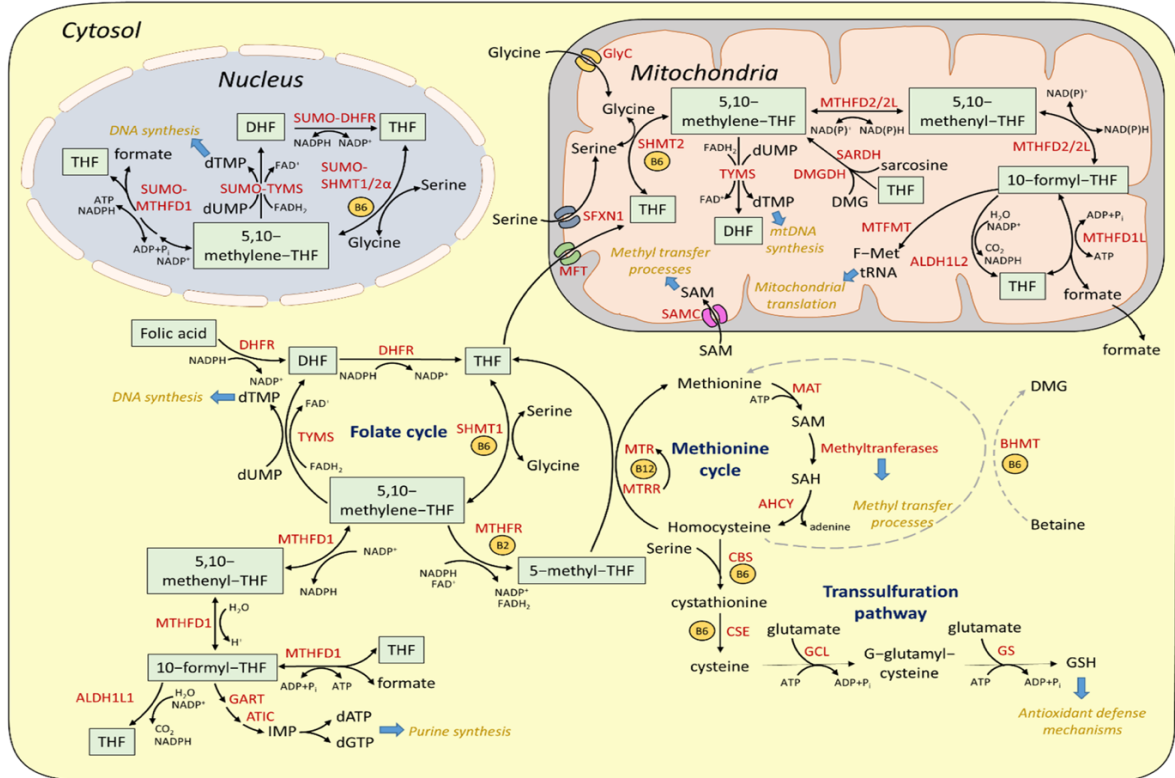
Kështu që folati dhe vitamina B12 janë të përfshira në metilimin e homocisteinës, ndërsa vitamina B6 dhe folati përfshihen në marrjen (dhe reduktimin në nivelin e grupit metil) e njësive me një karbon nga serina, dhe gjithashtu vitamina B6 është e përfshirë në katabolizmin e homocisteinës (Pasternack et al., 1996; Shane, 2008). Rrjedhimisht, një homeostazë e komprometuar e metabolizmit të njësive me një atom karbon, me një



sintezë të reduktuar të timidilatit dhe purinave, rimetilim të dëmtuar të homocisteinës dhe ulje të raportit SAM:SAH e lidhur me kapacitetin e reduktuar të metilimit, janë të lidhura qartë me një mungesë të theksuar të folatit, vitaminës B12 dhe vitaminës B6, si dhe sëmundjeve të trashëguara.

Rregullimi homeostatik i metabolizmit të folatit mund të përmbledhet si më poshtë:

- rregullimi homeostatik ndodh edhe kur ka një konsum të lartë të folatit dhe përqendrim të lartë të folatit brendaqelizor;
- 5-methyl-THF dhe 5-formyl-THF (Stover & Schirch, 1991) mund të bllokojnë disa enzima të varura nga folati;
- 5-metil-THF inhibon enziminë GNMT, shfrytëzimin e SAM dhe glicinës për të krijuar sarkozinë dhe SAH;
- SAM funksionon si një aktivizues alosterik i cistationin b-sintazës dhe një frenues alosterik i MTHFR;
- ndryshimet në përqendrimin e metabolitëve specifikë të metabolizmit të njësjive me një atom karbon prirën të ruajnë rrjedhën e rrugëve metabolike. Këto efekte të kombinuara favorizojnë ndjeshëm ekuilibrin (Figura 1.5).



**Figura 1.5.** Ndarja sipas organeleve qelizore e metabolizmit të njësjive me një atom karbon (Lionaki et al., 2022).

## 2 KONSIDERATA NUTRICIONALE

### 2.1 Modelet Dietike dhe Shëndeti

Në kërkim të kurës përfundimtare për të gjitha sëmundjet, njerëzimi ka qenë kryesisht i pasuksesshëm. Janë të paktë komponentët ushqimorë që ofrojnë aq shumë karakteristika biologjike thelbësore dhe të larmishme sa FA dhe vitaminat e grupit B. Përveç kësaj, pak lëndë ushqyese mund të kenë potencialin të modifikojnë, edhe pse jo plotësisht, një gamë të gjerë të problemeve klinike. Zhvendosja e vëmendjes nga kequshqyerja tek mbiushqyerja dhe sëmundja gjatë viteve 70, rezultoi në një shtim të udhëzimeve të shëndetit publik mbi optimizimin e parametrave ushqimor. Me një popullsi në plakje dhe një interes në rritje për shëndetin, ekspertë nga bota akademike dhe ajo industriale u mblodhën së bashku në vitet 90 për të vendosur trendin funksional të ushqimit që ne njohim sot.

Studime të ndryshme janë kryer për të zbuluar lidhjen midis zakoneve të ushqyerjes dhe sëmundjeve kronike. Qeveritë dhe shkencëtarët i kanë kushtuar vëmendje të madhe ushqyerjes së nënës dhe një numër i madh studimesh kanë eksploruar kohët e fundit ndikimin e trajtimeve dietike ushqimore gjatë shtatzënisë në rezultatet e lindjes (Black et al., 2013). Në këtë kontekst, zbulimi se dieta e përgjithshme e nënës mund të sigurojë mbrojtje të mëtejshme kundër defekteve të tubit neural (NTDs) ka marrë një vëmendje të konsiderueshme (Botto et al., 2006). Disa studime tregojnë se prevalenca e Spina bifida (SB) është e ulët në rajonet ku dieta mesdhetare u praktikua për herë të parë, si në Evropën Jugore (Vujkovic et al., 2009). Për më tepër, studimet kanë sugjeruar se ekziston një lidhje midis konsumimit të dietës mesdhetare dhe fertilitetit. U vu re një ulje e rrezikut të infertilitetit të shkaktuar nga problemet e ovulacionit, në një studim cohort i gjerë nga Chavarro et al. (2007) në 17,544 gra të cilat kishin planifikuar një shtatzëni ose që mbetën shtatzënë gjatë provës.

Disa studime vëzhguese tregojnë se një dietë e bazuar në parimet thelbësore të modelit të dietës tradicionale mesdhetare është e lidhur fort me përmirësimin e shëndetit dhe është konsideruar si një standard i cilësisë ushqimore për shkak të komponentëve kryesorë të saj (Grosso et al., 2017). Ky model dietetik karakterizohet nga një konsum i lartë i perimeve, frutave, drithërave, bishtajoreve, vajit të ullirit, karbohidrateve të parafinuara, bulmetit me pak yndyrë, mishit të pulës, peshkut dhe verës së kuqe. Këto modele të të ushqyerit karakterizohen nga një konsum i ulët i mishit të kuq dhe ushqimeve tejet të përpunuara (Carlos et al., 2018). Dieta mesdhetare është një burim thelbësor i

donatorëve të metilit, si folati, të cilët janë ko-faktorë thelbësorë në rrugë të ndryshme të aktiviteteve qelizore të përfshira në rritjen dhe zhvillimin e placentës dhe fetusit (Timmermans et al., 2012).

Pavarësisht evidencave që konfirmojnë këtë dietë karakteristike si një nga më të shëndetshmet, ne aktualisht po kontribuojmë në një braktisje graduale të dietës mesdhetare në shumicën e vendeve mesdhetare. Kryesisht brezat e rinj duke përfshirë edhe WRA po kalojnë në dietën e stilit perëndimor, të pasur me ushqime të rafinuara dhe karbohidrate të thjeshta si dhe mish të kuq dhe të përpunuar.

Në ndryshim nga dieta mesdhetare, dieta perëndimore karakterizohet nga mungesa e frutave dhe perimeve të freskëta, drithërave të parafinuara, pulave me përmbajtje të ulët yndyre dhe konsumit të peshkut (Tabela 2.1). Mund gjithashtu të përcaktohet nga një konsum i lartë i kalorive, yndyrave dhe indeksit glicemik, si dhe një marrje e pakët e fibrave dietike dhe vitaminave (Bentov, 2014) dhe është zbuluar të ketë një efekt negativ në fertilitet (Silvestris et al., 2019). Ky proces i ndryshimit të dietës ushqimore po ndikon në vendet e Mesdheut jugor dhe atij lindor, ku bashkekzistojnë kequshqyerja, obeziteti dhe çrregullimet kronike të lidhura me dietën (Christ et al., 2019).

## **2.2 Rekomandimet dhe Burimet e Marrjes së Folatit dhe FA**

Bordi i Ushqimit dhe Ushqyerjes (FNB) botoi të përditësuar në vitin 1998 Marrjet e Referencës Dietike (DRIs) (Bailey, 1998; Institute of Medicine, 1998), të cilat përfshijnë vlerësimin e nevojës për folate në grupimet demografike, të njohur si Kërkesa Mesatare e Vlerësuar (EAR). EAR për folate është sasia e folatit e nevojshme për të përmbushur nevojat e gjysmës së popullsisë. Shtesat e Rekomanduara të Ushqimit (RDA) u llogaritën duke marrë për bazë EAR dhe u përcaktuan si niveli mesatar i konsumit ushqimor ditor i nevojshëm për të përmbushur kërkesat ushqimore të 98% të popullsisë. Çdo vend ka një udhëzues specifik të rekomandimeve të konsumit të folatit Tabela 2.2 (Bailey et al., 2015). Grupet e ekspertëve të Organizatës së Ushqimit dhe Bujqësisë (FAO) dhe Organizatës Botërore të Shëndetësisë (WHO) miratuan RDA e Institutit të Mjekësisë të Shteteve të Bashkuara (IOM) (Institute of Medicine, 1998) si bazë për marrjen e rekomanduar të lëndëve ushqyese (World Health Organization, 2005). Rekomandimet e IOM ndahen në shumë kategori dhe ndryshojnë sipas moshës dhe gjinisë (Institute of Medicine, 1998) si më poshtë:

- EAR: konsumi mesatar tipik i lëndës ushqyese që plotëson nevojat e 50% të popullsisë;

- RDA: paraqet nivelin mesatar të konsumit ushqimor ditor i nevojshëm për të përmbushur kërkesat ushqimore të 98% të popullsisë, bazuar tek EAR, i përshtatur sipas variacioneve në popullatë;
- Marrja Adekuate (AI): sasia e lëndës ushqyese të konsumuar nga një grup pa shenja të mungesës së saj;
- Niveli i Sipërm i Tolerueshëm i Marrjes (UL): nivelet maksimale të marrjes ditore që nuk kanë gjasa të shkaktojnë pasoja negative shëndetësore për popullatën e përgjithshme, duke përfshirë individët e ndjeshëm, kur lënda ushqyese konsumohet për periudha të gjata kohore.

RDA aktuale për folatin janë renditur në Tabelën 2.3 si  $\mu\text{g}$  ekuivalentësh të folatit dietik (DFEs). DFEs u krijuan për të pasqyruar se FA ka një biodisponibilitet më të lartë se folati i dietës. Kur merret me ushqim, FA ka një biodisponibilitet prej të paktën 85%, nga ana tjetër vetëm rreth 50% e folatit që gjendet natyrshëm në ushqime është i disponueshëm (National Institute of Health, 1989). DFE llogaritet si:  $\mu\text{g DFE} = \mu\text{g folat natyral} + (1,7 \times \mu\text{g FA})$ . Bazuar në këtë ekuacion, vlerat paraqiten si më poshtë (*Office of Dietary Supplements – Folate*, n.d.):

- $1 \mu\text{g DFE} = 1 \mu\text{g folat ushqimor}$ ;
- $1 \mu\text{g DFE} = 0.6 \mu\text{g FA}$  nga ushqimet e fortifikuara ose suplementet dietike të konsumuara me ushqime;
- $1 \mu\text{g DFE} = 0.5 \mu\text{g FA}$  nga suplementet dietike të marra me stomak bosh.

Folatet gjenden në një shumëllojshmëri ushqimesh. Burimet më të pasura të folatit përfshijnë mëlçinë dhe veshkat e kafshëve, kërpudhat, perimet me gjethe jeshile të errët, agrumet dhe thjerrëzat. FA është një version sintetik dhe i qëndrueshëm i folatit i cili përdoret për suplementimin e dietës dhe fortifikimin e ushqimeve (Iyer & Tomar, 2009). Për më tepër, një mënyrë për të marrë FA është duke konsumuar ushqime të fortifikuara me FA, si drithëra dhe makarona, ose duke marrë suplemente ose multivitamina të cilat përmbajnë FA në sasi të mjaftueshme. Multivitaminat dhe vitaminat prenatale të cilat përmbajnë FA, si dhe suplementet që përmbajnë vitamina shtesë të kompleksit B ose vetëm FA, përdoren për të arritur nivelet optimale të FA. Suplementet për të rriturit zakonisht përmbajnë 400 deri në 800  $\mu\text{g}$  FA, ndërsa multivitaminat e fëmijëve sigurojnë 200 deri në 400  $\mu\text{g}$  FA.

Shumë produkte bulmetore përgatiten duke përdorur fermentime mikrobike të cilat mund të sintetizojnë folatin dhe për këtë arsye rrisin ndjeshëm përmbajtjen e folatit në produktin përfundimtar (Lin & Young, 2000). Sipas Zyrës së Suplementeve Dietike të Institutit Kombëtar të Shëndetësisë, ushqimet me përmbajtjen më të lartë në folate janë renditur në Tabelën 2.4 (*Office of Dietary Supplements – Folate*, n.d.).

**Tabela 2.1.** Dietat mesdhetare dhe ajo e stilit perëndimor dhe efektet e tyre në fertilitetin e grave (Skoracka et al., 2021). MUFAs, *acidet mono-yndyrore të pangopura*; PUFAs, *acidet poli-yndyrore të pangopura*; SFAs, *acidet yndyrore të ngopura*.

Karakteristikat e dietës							
	Burimi ose lloji i yndyrës	Mishi dhe peshku	Bulmeti	Drithërat dhe bishtajoret	Fruta dhe perime	Të tjera	Ndikimi në fertilitet
<b>Dieta Mesdhetare</b>	MUFAs dhe PUFAs nga arrat dhe vaji i ullirit	Mish pule, peshku i moderuar	Konsum i lartë	Drithërat, konsumi i lartë i bishtajoreve	Kryesisht perime dhe fruta të freskëta, konsum i lartë i fibrave dietike	Konsum i moderuar i verës së kuqe, të thatë, konsum i ulët i ëmbëlsirave	Direkt: Rrit shanset për fekundim, mbështet teknologjinë riprodhuese të asistuar
	SFAs dhe acide trans-yndyrore nga ushqimet e përpunuara, mishi dhe ushqimet e shpejta	Mishi i kuq, mishi i përpunuar	Konsum i ulët	Drithëra të rafinuara, konsum i ulët i bishtajoreve	Konsum i ulët i frutave të freskëta	Konsumimi i lartë i ëmbëlsirave dhe pijeve të ëmbla	Indirekt: Rrit rrezikun e rezistencës ndaj insulinës, diabetit të tipit 2 dhe sindromës së vezores policistike; dëmton ovulacionin

**Tabela 2.2** Shembuj të rekomandimeve të marrjes së folatit në mbarë botën (Bailey et al., 2015). m: muaj; y: vite; AI, marrja adekuate; DFE, ekuivalentët e folateve dietike; RI, marrja e rekomanduar; RNI, marrja e rekomanduar e ushqimit. \*AI

	Shtetet e Bashkuara të Amerikës dhe Kanada μg/d DFE	FAO/WHO μg/d DFE	Australi Zeland e Re μg/d DFE	Mbretëria e Bashkuar μg/d folati	Irland μg/d folati	Gjermani Zvicër Austri μg/d DFE	Holand μg/d DFE	Vendet Nordike μg/d folati	Azia Juglindore μg/d folati
Kategoritë	RDA/AI	RNI	RDI/AI	RNI	RDA	RI	RDA/AI	RI	RDA
<b>Foshnja</b>									
0-6 m	65*	80	65*	50	50	(<4 m) 60	(0-5 m) 50*	Pa përcaktim	(0-5 m) 80
7-12 m	80*	80	80*	50	50	(4-11 m) 80	(6-11 m) 60*	50	(6-11 m) 80
<b>Fëmijë</b>									
1-3 y	150	160	150	70	100	(1-4 y) 200	85*	(12-23 m) 60	160
4-8 y	200	(4-6 y) 200; (7-9 y) 300	200	(4-6 y) 100; (7-10 y) 150	(4-10 y) 200	(4-9 y) 300	150*	(2-5 y) 80; (6-9 y) 130	(4-6 y) 200; (7-9 y) 300
<b>Meshkuj</b>									
9-13 y	300	(≥10 y) 400	300	(≥11y) 200	(≥11 y) 300	(≥10 y) 400	225*	(10-13 y) 200	(≥10 y) 400
≥14 y	400		400				(14-18 y) 300*; (≥19 y) 300	(≥14 y) 300	
<b>Femra</b>									
9-13 y	300	(≥10 y) 400	300	(≥11 y) 200	(≥11 y) 300	(≥10 y) 400	225*	(10-13 y) 200	(≥10 y) 400
≥14 y	400		400				(14-18 y) 300*; (≥19 y) 300	(14-17 y) 300, (18-30 y) 400; (≥30 y) 300	
Shtatzëna (te gjitha moshat)	600	600	600	300	(gjysma e dyte) 500	600	400*	500	600
Laktacioni (te gjitha moshat)	500	500	500	260	(6 muajt e pare) 500	600	400*	500	(6 muajt e pare) 500; (6 muajt e dyte) 500

**Tabela 2.3.** RDAs për folatin (Institute of Medicine, 1998). DFE, *ekuivalentët e folateve dietike*; \*AI: *marrja adekuate*.

<b>Mosha</b>	<b>Mashkull</b>	<b>Femër</b>	<b>Shtatzënia</b>	<b>Laktacioni</b>
<b>Nga lindja deri ne 6 muaj*</b>	65 µg DFE*	65 µg DFE*		
<b>7–12 muaj*</b>	80 µg DFE*	80 µg DFE*		
<b>1–3 vjet</b>	150 µg DFE	150 µg DFE		
<b>4–8 vjet</b>	200 µg DFE	200 µg DFE		
<b>9–13 vjet</b>	300 µg DFE	300 µg DFE		
<b>14–18 vjet</b>	400 µg DFE	400 µg DFE	600 µg DFE	500 µg DFE
<b>19+ vjet</b>	400 µg DFE	400 µg DFE	600 µg DFE	500 µg DFE

**Tabela 2.4.** Përmbajtja e folatit dhe FA në ushqime (United States Department of Agriculture, 2019). \* Si pjesë e nismës për fortifikimin me folat, janë fortifikuar me acid folik.

Ushqimi	Microgram (µg) DFE për vakt	Vlera Ditore (%)
Mëlçi viçi, e zier, 3 oz	215	54
Spinaq, i zier, ½ filxhan	131	33
Bizele të zeza të ziera, ½ filxhan	105	26
Drithërat e mëngjesit, të fortifikuara me 25% të vlerës ditore*	100	25
Oriz, i bardhë, me kokërr mesatare, i gatuar, ½ filxhan *	90	22
Asparag, i zier 4 dege	89	22
Lakrat e Brukselit, të ngrira, të ziera, ½ filxhan	78	20
Spageti, të gatuar, të pasuruara, ½ cup*	74	19
Sallatë jeshile, e grirë, 1 filxhan	64	16
Avokado, e papërpunuar, e prerë në feta, ½ filxhan	59	15
Spinaq i papërpunuar, 1 filxhan	58	15
Brokoli, i copëtuar, i ngrirë, i gatuar, ½ filxhan	52	13
Zarzavate mustardë, të copëtuara, të ngrira, të ziera, ½ filxhan	52	13
Bukë, e bardhë, 1 fetë *	50	13
Bizele të gjelbra, të ngrira, të ziera, ½ filxhan	47	12
Fasule, të konservuara, ½ filxhan	46	12



<b>Grurë, 2 lugë gjelle</b>	<b>40</b>	<b>10</b>
<b>Lëng domate, e konservuar, ¾ filxhan</b>	36	<b>9</b>
<b>Gaforre, 3 oz</b>	36	<b>9</b>
<b>Lëng portokalli, ¾ filxhan</b>	35	<b>9</b>
<b>Zarzatet e rrepës, të ngrira, të ziera, ½ filxhan</b>	32	<b>8</b>
<b>Kikirikë, të pjekur të thatë, 1 oz</b>	27	<b>7</b>
<b>Portokall, i freskët, 1 i vogël</b>	29	<b>7</b>
<b>Papaja, e papërpunuar, e prerë në kubikë, ½ filxhan</b>	27	<b>7</b>
<b>Banane, 1 e mesme</b>	24	<b>6</b>
<b>Maja e bukëpjekësit, ¼ lugë çaji</b>	23	<b>6</b>
<b>Vezë e plotë, e zier, 1 e madhe</b>	22	<b>6</b>
<b>Pjepër, i papërpunuar, i prerë në kubikë, ½ filxhan</b>	17	<b>4</b>
<b>Fasule të pjekura vegjetariane, të konservuara, ½ filxhan</b>	15	<b>4</b>
<b>Peshk, i gatuar, 3 oz</b>	12	<b>3</b>
<b>Qumësht, 1% yndyrë, 1 filxhan</b>	12	<b>3</b>
<b>Mish viçi i bluar, 85% pa yndyrë, i gatuar, 3 oz</b>	7	<b>2</b>
<b>Gjoks pule, i pjekur, 3 oz</b>	<b>3</b>	<b>1</b>

### 3 PROGRAMI I FORTIFIKIMIT USHQIMOR

Studimi i kryer nga Këshillit Kërkimor Mjekësor i Vitaminave, i botuar në 1991, zbuloi se konsumimi i 4 mg FA para konceptimit zvogëloi gjasat për një shtatzëni me NTDs me 72% (“Prevention of Neural Tube Defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study”, 1991). Daly et al. (1995) identifikoi një lidhje log-lineare midis nivelit të folatit në gjakun e një gruaje dhe shanseve të saj për të pasur një shtatzëni me NTDs. Berry et al. (1999) zbuloi se marrja e suplementit prej 400 µg FA në ditë para konceptimit reduktoi rrezikun e NTDs me 85% në nëngrupin e veriut dhe me 40% në nëngrupin e jugut, në një studim të kryer në 1999 në një zonë të Kinës me shkallë të lartë të NTDs (rajoni verior) dhe në një me shkallë të ulët (rajoni jugor). Wald et al. (2001) zbuloi se rritja e konsumit të FA me 0,1 mg/ditë rrit përqendrimin e folatit në gjak me 0.94 ng/mL tek gratë në moshë fertiliteti.

Pasurimi i miellit si pjesë e një nisme të qeverisë amerikane për të trajtuar pamjaftueshmërinë e lëndëve ushqyese ka të ngjarë të ishte përpjekja e parë moderne për të krijuar një produkt për qëllime funksionale të lidhura me rezultatet ushqyese. Shtetet e Bashkuara të Amerikës ishin vendi i parë i cili nisi fortifikimin e detyrueshëm me FA të miellit në 1998 (Honein et al., 2001). Shtatëdhjetë e tetë shtete kanë autorizuar fortifikimin me FA të miellit dhe ky fortifikim i detyrueshëm duhet të inkurajohet më tej, veçanërisht në pjesën më të madhe të vendeve Aziatike, Evropiane dhe Afrikane (Sayed et al., 2008). Pavarësisht dëshmimeve se një fortifikim i tillë është i suksesshëm (López-Camelo et al., 2005; De Wals et al., 2007), Evropa ka akoma punë për të bërë për të zbatuar fortifikimin e detyrueshëm me FA të miellit (Burton, 2016). Kosova tashmë është një ndër vendet të cilat e kanë pasuruar miellin me FA dhe hekur (Ministria e Shëndetësisë, 2014). Ky projekt është mbështetur nga Fondi Ndërkombëtar i Kombeve të Bashkuara për Emergjencën e Fëmijëve (UNICEF) dhe ka marrë mbështetje financiare nga Komiteti Kombëtar i Holandës. Ndërkohë, në Shqipëri nuk ka studime dhe asnjë nismë në lidhje me planet parandaluese për sa i përket këtyre çështjeve të rëndësishme (*Albania*, n.d.).

Në Evropë, prevalenca e NTDs nuk është ulur, prevalenca është vlerësuar të jetë 0.91 për 1000 lindje nga viti 1991 deri në 2011 (Khoshnood et al., 2015). Nga ana tjetër, prevalenca e NTDs në Kanada është ulur nga 1.58 për 1000 lindje përpara fortifikimit në 0.86 për 1000 lindje pas fortifikimit (De Wals et al., 2007). Po kështu, prevalenca e SB dhe anencefalisë në Shtetet e Bashkuara u ul nga 0.76 për 1000 lindje përpara fortifikimit në 0.56 për 1000 lindje pas fortifikimit me FA (Williams et al., 2002). Dështimi në

zbatimin e një zgjidhje kaq të lirë dhe efikase do të rezultojë në shtatzëni të prekura nga NTDs çdo vit.

#### 4 MUNGESA E FOLATIT

Historikisht, nevojat për folat janë përkufizuar si sasia e nevojshme që duhet konsumuar për të parandaluar një deficit të rëndë me simptoma klinike (*Recommended Dietary Allowances*, 1989). Kohët e fundit, theksi është zhvendosur në identifikimin e konsumit të sasive të nevojshme që lidhen me ruajtjen e zhvillimit normal të reaksioneve të transferimit të njësive me një atom karbon. Treguesit funksionalë të niveleve të folatit përfshijnë defekte të zbuluara nga devijimet në rrugët metabolike të tilla si hipometilimi i DNA (Jacob et al., 1998), mosinkorporimi i uracilit (Blount et al., 1997), dhe hiperhomocisteinemia (Selhub et al., 1993; Bailey, 2009).

Mungesa e FA është identifikuar si një faktor rreziku i mirëpërcaktuar për shumicën e rasteve me NTDs në mbarë botën gjatë dekadave të fundit (Li et al., 2016). Marrja e pamjaftueshme është shkaku kryesor i pamjaftueshmërisë së folatit. Për shkak të lidhjes së ngushtë të folatit me kequshqyerjen, konsumimin e alkoolit dhe sëmundjet e keqpërthithjes (malabsorbimit), pamjaftueshmëria e izoluar e folatit është e pazakontë (Bailey et al., 2015). Prandaj, mungesa e folatit në përgjithësi bashkëshoqërohet me deficite të tjera ushqyese. Pamjaftueshmëria e folatit mund të shfaqet tek njerëzit e çdo moshe për shkak të konsumit të pamjaftueshëm dhe/ose nevojës në rritje për këtë vitaminë. Ka edhe arsye të tjera të cilat kontribuojnë në pamjaftueshmërinë e folatit, të cilat përfshijnë një rritje të kërkesës për shkak të shtatzënisë ose çrregullimeve neoplazike, kushteve të malbasorbimit dhe medikamenteve antifolat ose frenuesve të tjerë metabolikë (McLean et al., 2009; Hillman et al., 2016). Alkoolizmi është një ndër shkaktarët kryesor të nivelit të ulët të folatit në qytetërimet perëndimore, ndërsa në vendet e pazhvilluara, çrregullimet e keqpërthithjes si sëmundja e Sprue Tropikale, janë shkaktarët më të përhapur (Halsted et al., 2002; Hillman et al., 2016).

Ka disa kategori që janë më të rrezikuara nga mungesa e folatit si WRA, gratë shtatzëna, të moshuarit dhe njerëzit me polimorfizëm të MTHFR (Dwyer et al., 2015). Rritja e nevojave për folat është lidhur me aneminë, kancerin dhe pacientët me dializë renale (Shabert, 2004). Për më tepër, niveli i folatit mund të jetë shqetësues kur përdoren disa barna terapeutike, të tilla si ilaçet antikonvulsant, kontraktivët oralë, sulfasalazina, triamtereni dhe metformina (Arcot & Shrestha, 2005). Disa çrregullime të malabsorbimit si sëmundja e celiakisë, sëmundja inflamatore e zorrëve dhe sëmundja e Sprue Tropikale

mund të çojnë në deficit të folatit për shkak të një përthithjeje të dëmtuar (Shabert, 2004). Konsumimi kronik i alkoolit karakterizohet zakonisht nga marrja e pamjaftueshme e ushqimit dhe dietat me mungesë folati. Alkooli mund të shkaktojë keqpërthithje, përthithje të dëmtuar hepatike, pakësim të depozitimit endogjen të folatit dhe rritje të sekretimit nga veshkat (Halsted et al., 2002).

Simptoma mbizotëruese klinike të mungesës së folatit ose vitaminës B12 janë ngjarje të lidhura me gjakun, të tilla si rënia e niveleve të folatit plazmatik, e ndjekur nga një rritje e përqendrimit të homocisteinës plazmatike dhe një ulje e niveleve të folatit në RBC (Wickramasinghe, 2006). Ndryshimet megaloblastike, në palcën e kockave dhe indeve të tjera të cilat ndahen me shpejtësi, janë të dukshme në nivel morfologjik (Aslinia et al., 2006). Mund të ndodhin modifikime të mëtejshme anormale në nivel të bërthamës, të tilla si hipersegmentimi i bërthamave të neutrofileve ose formimi i mikrobërthamave në limfocite, të cilat janë biomarker të thyerjes ose humbjes kromozomale; kur vërehen në RBC, ato njihen gjithashtu si trupat Howell-Jolly (Howell, 1970; Bills & Spatz, 1977; Lal & Ames, 2011; Bull et al., 2012). Paaftësia e riprodhimit të eritroblasteve rezulton në një ulje dhe prodhim të dëmtuar të eritrociteve, gjë që çon në anemi dhe një reduktim të kapacitetit transportues të oksigjenit në gjak, që mund të shkaktojë simptomat e dobësisë, lodhjes, nervozizmit, dhimbjes së kokës, palpitacioneve dhe vështirësi në frymëmarrje (Higgins, 1995).

Bazuar në sondazhet e kryera në njerëz, për përmbajtjen dhe nivelin e folatit në gjak tek WRA, është kryer një vlerësim sistematik i studimeve të publikuara midis muajit Janar 2000 dhe Qershor 2017 nga Rogers et al. (2018). Hulumtimi përfshiu një përmbledhje të të dhënave nga 39 vende, si dhe 45 sondazhe të cilat analizuan nivelin e folatit në WRA. Mbi 70% e sondazheve ( $n = 32$ ) u kryen në vendet me të ardhura të larta ( $n = 14$ ) ose me të ardhura mesatarisht të larta ( $n = 18$ ), 13 sondazhe u realizuan në vende me të ardhura të ulëta ( $n = 4$ ) dhe në vende me të ardhura mesatarisht të ulëta ( $n = 9$ ). Prevalenca e pamjaftueshmërisë së folatit varioonte nga 7% në 79% në katër studimet e kryera në vendet me të ardhura të ulëta. Në shumë vende me të ardhura të ulëta, prevalenca e pamjaftueshmërisë së folatit ishte më e madhe se 20%, ndërsa shpesh në vendet me të ardhura të larta ishte më pak se 5%. Vetëm 11 nga 18 sondazhet të cilat vlerësuan folatin në RBC zbuluan se prevalenca e mungesës së folatit ishte më e madhe se 40% në shumicën e vendeve. Të dhënat tregojnë qartë se mungesa dhe pamjaftueshmëria e folatit janë padyshim çështje kufizuese në shumë zona në mbarë botën.

WHO lëshoi një udhëzim në vitin 2015 duke inkurajuar kombet për të kryer përpjekje për të arritur përqendrime optimale të folatit, veçanërisht tek WRA (World Health Organization, 2015). Për të arritur reduktimet sa më të mëdha të NTDs, WHO dhe IOM kanë sugjeruar një limit të nivelit të folatit në RBC prej më shumë se 400 ng/mL (>906 nmol/L). Për të ulur mundësinë e një shtatzënie me NTDs, gjithashtu gratë në Evropë rekomandohen aktualisht të konsumojnë 0.4 mg FA para shtatzënisë dhe gjatë tremujorit të parë (Cawley et al., 2016). Të vetme ndryshimet në dietë nuk kanë gjasa të rezultojnë në një konsum të mjaftueshëm ditor të folatit për të dhënë një ulje domethënëse të rrezikut. Për këtë arsye, nevojiten suplemente me FA ose ushqime të fortifikuara me FA.

## 5 FOLATI DHE SËMUNDJET

Folatet janë thelbësore për rimetilimin e homocisteinës në metioninë, sintezën e DNA dhe proliferimin e qelizave, si dhe reaksionet e metilimit që ndikojnë në aktivitete të rëndësishme si metilimi i citozinës në DNA për rregullimin e shprehjes së gjeneve dhe sintezën e neurotransmetuesve. Pamjaftueshmëria e lehtë e folatit, si në nivelin qelizor ashtu edhe në atë të indeve, ndikon në rrugët anabolike të cilat kërkojnë folat dhe lidhet me sëmundjet kardiovaskulare, dëmtimet kognitive dhe një rrezik në rritje të sëmundjeve kronike si kanceri.

### 5.1 Anemia

Folati, si dhe shumë vitamina të tjera të grupit B (si vitamina B12 dhe B6), janë ko-faktorë të nevojshëm në proceset e transferimit të njësive me një atom karbon dhe në biosintezën e aminoacideve që përmbajnë squfur. Nivelet e ulëta të folatit mund të shkaktojnë një frenim të sintezës së purinës, timidilatit dhe metioninës, të cilat kanë një ndikim të drejtpërdrejtë në biosintezën *de novo* të DNA dhe RNA, e cila kërkohet për ndarjen e duhur të qelizave dhe sintezën e proteinave/enzimave, duke shkaktuar kështu zgjatje të fazës S (faza e sintezës) së ndarjes qelizore, duke rezultuar në prekursorë jonormal të RBC dhe krijimin si rjedhojë e qelizave megaloblastike (Hillman et al., 2016).

Mungesa e folatit ndikon si në rimetilimin e homocisteinës ashtu edhe në prodhimin e timidilatit (Van der Put et al., 1996). Siç u diskutua më parë, për shkak se rezervat e folatit në organizëm janë të kufizuara dhe të paqëndrueshme, një pakësim i përkohshëm i marrjes dietike mund të rezultojë në një mungesë afatshkurtër, e cila

manifestohet së pari në indet të cilat proliferojnë në mënyrë aktive, si eritrocitet dhe qelizat e palcës kockore dhe ka efekte të dallueshëm në parametrat e RBC për shkak të shkallës së lartë të *turnover*-it të këtyre qelizave. Janë propozuar dy teori për të shpjeguar se si deficioni funksional i folatit shkakton anemi nga mungesa e kobalaminës (Watanabe & Nakano, 1991; Seetharam, 1999): “kurthi metil” i folatit dhe mungesa e formatit. Si fillim enzima MTR e varur nga vitamina B12 bëhet joaktive në mungesë të theksuar të vitaminës B12 dhe folati citosolik, “bllokohet” si 5-metil-THF. Përqendrimet e larta të 5-metil-THF shpesh shkaktojnë format e tjera të koenzimave të folatit të nevojshme për metabolizmin e njësive me një atom karbon, siç është sinteza e timidilatit, duke rezultuar në një mungesë funksionale të folatit në qelizë (Shane & Stokstad, 1985). Rritja e homocisteinës në qelizë mund të shkaktohet nga një reduktim i sintezës së metioninës, e cila shkakton një rritje të SAM brendaqelizore, i cili është një frenues i fuqishëm i proceseve të varura nga SAM (Yi et al., 2000). Metilimi i DNA/proteinave nga SAM gjithashtu zvogëlohet në prani të mungesës së folatit dhe vitaminës B12, e cila ka një rol kyç në zhvillimin e sëmundjeve kognitive dhe metabolike (Selhub et al., 1993). Nivelet e larta të homocisteinës në gjak janë të lidhura me sëmundjet kardiovaskulare, NTDs (Van der Put et al., 1996; Gerhard & Duell, 1999), dhe disa forma të kancerit (Kim, 1999).

Anemia megaloblastike mund të ndodhë gjatë shtatzënisë (Giles, 1966). Gjithashtu, kequshqyerja, konsumimi i alkoolit, tejpjekja e ushqimit dhe sëmundjet e keqpërthithjes, janë të gjithë faktorë rreziku. Terapia plotësuese me FA dhe cianokobalaminë mund të përdoret për një kohë të kufizuar derisa anemia dhe gjendja themelore që rjedh prej saj të zgjidhen, ose trajtimi zëvendësues duhet të vazhdohet në rastet e përthithjes joadekuate nga zorrët (Carmel, 2008).

## 5.2 Sëmundje Kardiovaskulare

Një nga mekanizmat kryesorë të varur nga folati është i lidhur me prodhimin e homocisteinës, siç u diskutua më parë. Në hulumtimet epidemiologjike, hiperhomocisteinemia, e cila mund të shkaktohet nga mungesa e folatit ose metabolizmi i dëmtuar i folatit, si dhe pamjaftueshmëria e vitaminës B12, shoqërohet me një rrezik në rritje të hipertensionit, sëmundjeve kardiovaskulare dhe sëmundjeve cerebrovaskulare (Boushey et al., 1995; Welch & Loscalzo, 1998; Shamkani et al., 2015).

Studimet tregojnë se konsumimi i 0.5-5.0 mg FA në ditë mund të ulë nivelet e homocisteinës në gjak me një të katërtën, duke ulur gjithashtu rrezikun e sëmundjeve ishemiike të zemrës dhe goditjes në tru respektivisht me 11% dhe 19% (Homocysteine

Studies Collaboration, 2002; Ciaccio et al., 2008). Sipas një studimi tjetër të kryer nga Wald et al. (2001) një rënie prej 3  $\mu\text{mol/L}$  e homocisteinës në gjak arrihet me një dozë ditore prej rreth 0.8 mg FA dhe mund të ulë rrezikun e sëmundjes ishemike të zemrës me 16%, trombozës së venave të thella me 25% dhe goditjes në tru me 24%. Janë sugjeruar disa mekanizma përmes të cilëve hiperhomocisteinemia mund të ndikojë në rrezikun e sëmundjeve të ndryshme, pavarësisht faktit se këto studime vëzhguese nuk tregojnë një efekt të qëndrueshëm (VITATOPS Trial Study Group, 2007; Wang et al., 2019).

Nivele të ulëta të folatit ( $6.7 \pm 5.0$  ng/mL dhe  $9.0 \pm 4.4$  ng/mL në kontrollet,  $p < 0.05$ ) dhe nivele të larta të homocisteinës ( $22.9 \pm 3.5$  kundrejt  $9.0 \pm 2.3$   $\mu\text{mol/L}$  në kontrollet,  $p < 0.001$ ) shfaqin një lidhje me hipertensionin arterial (Scazzone et al., 2014). Eksperimenti Kinez i Parandalimit Primar të Goditjes në Tru, e cila përfshiu 20,000 pacientë me hipertension primar dhe me një gjenotip të njohur MTHFR C677T, por pa histori të infarktimit të miokardit ose goditjes në tru, thekson avantazhet e mundshme të marrjes së suplementeve me FA. Grupi i cili përdori enalapril me FA kishte një reduktim më të madh të incidencës së goditjes ishemike dhe ngjarjeve të kombinuara kardiovaskulare gjatë një periudhe mesatare të ndjekjes prej 4.5 vjetësh (Yang et al., 2018). Të dhënat nga këto prova tregojnë dobinë e FA në parandalimin dhe trajtimin e sëmundjeve kardiovaskulare. Nevojiten studime klinike të mëtejshme të mirëkontrolluara.

### **5.3 Kanceri**

Niveli i ulët i folateve është i lidhur me një sërë sëmundjesh malinje, duke përfshirë limfomën, kancerin kolorektal, leuçeminë, kancerin e gjirit dhe kancerin e prostatës (Tower & Spector, 2007; Xu & Chen, 2009; Collin et al., 2010; Kennedy et al., 2011). Nga ana tjetër, lidhja midis FA të pametabolizuar (UMFA) dhe rrezikut të kancerit është ende e paqartë. Hulumtimet epidemiologjike, në kafshë dhe në njerëz, tregojnë se folati ngadalëson përparimin e kancerit. Një numër në rritje i studimeve epidemiologjike tregojnë se ruajtja e niveleve të duhura të folatit, qoftë nëpërmjet dietës apo suplementeve, mund të ulë rrezikun e kancerit kolorektal (Giovannucci, 2002). Mungesa e folatit është e lidhur me stimulimin e thyerjes kromozomale nga inkorporimi i gabuar i uracilit në sintezën e DNA gjatë procesit të replikimit (Giovannucci, 2002). Polimorfizmat e MTHFR dhe një dietë me një konsum të lartë të alkoolit dhe e varfër në metioninë e folate janë faktorë që mund të shkaktojnë një hipometilim të DNA, duke rezultuar në një

shprehje të papërshtatshme të gjeneve të cilët mund të predispozojnë për kancer (Giovannucci, 2002).

Receptorët dhe transportuesit e folatit, si dhe metabolizmi i njësive me një atom karbon, mbeten tema më tërheqëse kërkimore për shkak të përfshirjes së tyre kritike në një sërë çrregullimesh dhe si objektiva terapeutikë të mundshëm për kancerin dhe gjendjet inflamatore. Trajtimet e synuara për kancerin janë krijuar për të shkatërruar tumoret duke shkaktuar sa më pak efekte anësore. Për shkak se FRs shprehen në një nëngrup qelizash malinje dhe në një numër të vogël indesh normale, ato kanë qënë ndër objektivat e parë për të luftuar kancerin. Studimet klinike po kryhen mbi antitruapat monoklonale të cilët kanë si target FRs në sipërfaqen e qelizave tumorale, siç tregohet në Figurën 5.1 (Frigerio et al., 2019).

#### **5.4 Gjendjet Neurologjike**

Roli i pamjaftueshmërisë së folatit në manifestimet neurologjike tek të rriturit është pak i kuptuar. Megjithatë, goditja në tru, depresioni dhe sëmundja e Alzheimerit janë të gjitha të lidhura me mungesën kronike të folatit (Wang et al., 2007; Smith et al., 2010). Janë paraqitur gjithashtu dëshmi të përfshirjes së deficitit të FA në çrregullimet e spektrit të autizmit (ASDs) (Moretti et al., 2005). FA është e nevojshme për zhvillimin e hershëm neurologjik dhe luan rol në parandalimin e NTDs.

Pleksusi koroid kontrollon shumicën e transportit të folateve në sistemin nervor qëndror (CNS). FR $\alpha$  është i përfshirë në diferencimin e qelizave nervore të glisë dhe RFC e vendosur në membranën bazolaterale të qelizave epiteliale të pleksusit koroid është e përfshirë në transferimin e 5-metil-THF që ndodhet në plazëm drejt indit lidhor të sistemit nervor (Wollack et al., 2008). Aktiviteti i dobët i FRs dhe RFC mund të lidhen me një mungesë të folatit në CNS. Gjithashtu, aktiviteti i gjenit të FRs është tejet i rëndësishëm gjatë zhvillimit embrional, por duket të jetë më pak i rëndësishëm gjatë jetës tek të rriturit, me përjashtim të transportit të folatit në CNS (Liu et al., 2005).

Ndërkohë që nivele të mjaftueshme të FA janë të nevojshme për zhvillimet metabolike dhe ato kognitive, metabolitët e tepërt të njësive me një atom karbon, si homocisteina, mund të shkaktojnë probleme në rritje dhe në zhvillimin neurologjik. Pamjaftueshmëria e folatit lidhet me hiperhomocisteineminë, e cila mund të ndikojë në CNS përmes një mekanizmi ishemik dhe mosfunksionimit sinaptik (Jakaria et al., 2018). Një aktivizim i tepërt i receptorit të glutamatit mund të rezultojë në eksitim të tepruar dhe të shkaktojë dëmtim të CNS. Metabolizmi i dëmtuar i njësive me një atom karbon mund



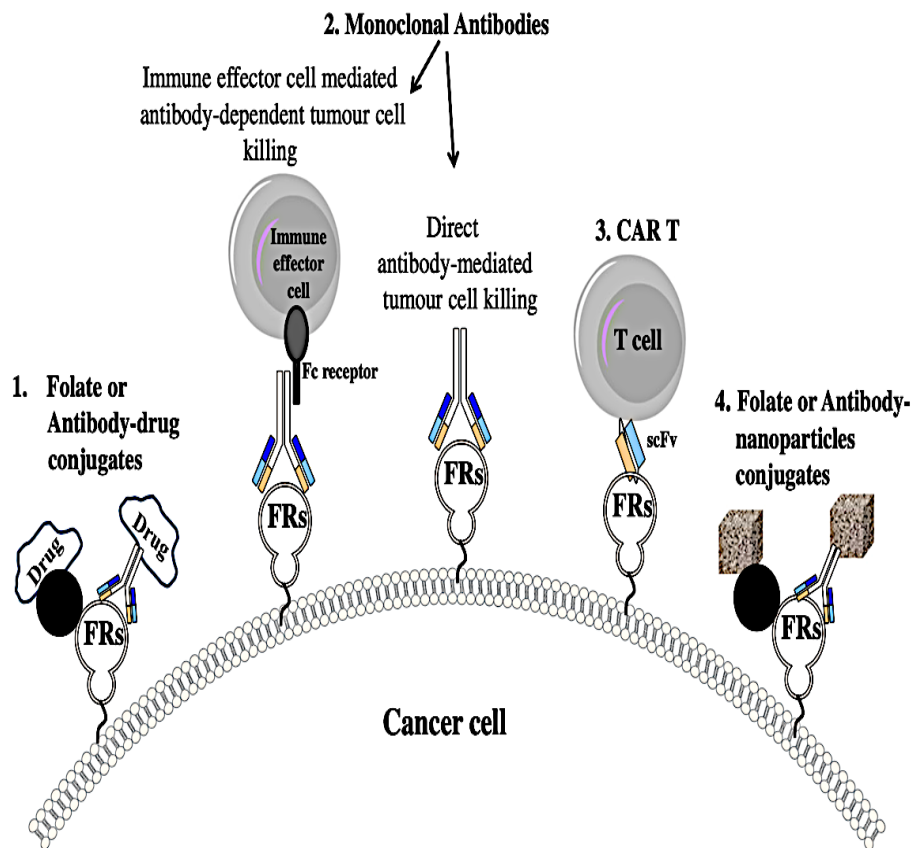
të çojë në mungesë metilimi, që prek më shumë qelizat nervore të glisë, si dhe sintezën e SAM dhe funksionin e transportuesve të serotoninës dhe dopaminës (Charlton, 2014).

### 5.5 Vleresimet Epigjenetike

Polimorfizmat në gjenet, të cilat kodojnë për enzimat e përfshira në përthithjen e folateve dhe metabolizimin si RFC G80A, SHMT1 C1420T, MTHFR C677T dhe MTR A2756G, kanë një ndikim të rëndësishëm në zhvillim ose në rrezikun e sëmundjeve degjenerative (Stover, 2011). MTR, SHMT1 dhe MTHFR janë enzima që kërkojnë ko-faktorë shtesë dietikë për të vepruar. Në këtë pikë është e rëndësishme të merren parasysh jo vetëm lidhjet midis gjeneve e ushqyerjes, por edhe ndërveprimet e folatit me lëndët e tjera ushqyese.

Metilimi është një proces biologjik i cili ndikon në dy mekanizma të rëndësishëm rregullues: ndryshimet epigjenetike dhe shënjimi, fillimisht përmes metilimit të histoneve dhe të DNA. Për më tepër, metilimi i lipideve në indet e trurit, si dhe aminat biogjene të cilat kanë nevojë për metilim për tu sintetizuar, janë të nevojshme për zhvillimin neurologjik dhe kontrollin e ekuilibrit mendor. Shndërrimi i 5,10-metilen-THF në 5-metil-THF nga MTHFR është një hap kritik i cili mund të ndikojë drejtpërdrejt në proceset biologjike të metilimit.

MTHFR C677T dhe MTHFR A1298C janë dy variante gjenetike të njohura për reduktimin e aktivitetit të sintezës së 5-metil-THF përkatësisht me 60% për C677T dhe 40% për homozigotët C1298C (Botto & Yang, 2000). Niveli i ulët i folateve dhe hiperhomocisteinemia janë më të mundshme në subjektet me variantin MTHFR C677T të gjenit. Guo et al. (2012) zbuloi një prevalencë të gjenotipit MTHFR T677T në fëmijët autikë, që ishte dukshëm më i lartë se tek kontrollet. Gjenotipi MTHFR T677T shoqërohet me një rrezik të shtuar për tromboemboli (OR 1.2), goditjes në tru (OR 1.26) dhe niveleve më të larta të homocisteinës. Për më tepër, një meta-analizë tregoi se gjenotipi MTHFR T677T është gjithashtu i lidhur me nivelin e ulët të folatit në gjak dhe mungesën e reagimit ndaj marrjes afatshkurtër të suplementeve të folatit (Colson et al., 2017). Hulumtime të tjera kanë treguar lidhjen e gjenotipit MTHFR T677T me një rrezik të rritur të NTDs tek fëmijët. Varianti MTHFR A1298C rezulton gjithashtu në një aktivitet më të ulët të enzimës, megjithëse funksioni i tij në rrezikun e NTDs është i paqartë (Botto & Yang, 2000).



**Figura 5.1.** Trajtimet e kancerit dhe sëmundjeve inflamatore që targetojnë FRs (Frigerio et al., 2019). FRs: *receptorët e folatit*; CAR T, *Receptori i antigenit kimerik*.

## 6 BIOMARKERËT E NIVELIT TË FA

Ka disa kontradikta përsa i përket përkufizimit të një niveli të ulët të folatit në shtete të ndryshme, ku ky nivel mund të lidhet me përqendrimin e ulët të folatit në gjak, konsumin e ulët të folatit ose shfaqjen e anemisë makrocitike. Sasia e folatit në gjak luhetet përgjatë gjithë ditës (World Health Organization, 2015). Si rezultat, është i papërshtatshëm përdorimi i një matjeje të vetme sasiore të FA në gjak si kriter klinik. Për këtë arsye, për të vlerësuar nivelin e folatit u përzgjedhën dhe u rekomanduan biomarkerët e mëposhtëm nga Paneli i Ekspertëve të Biomarkuesve për Ushqyerjen dhe Zhvillimi (BOND) për një ekspozim të zgjatur:

- përqendrimi i folatit në serum;
- përqendrimi i folatit në RBC;
- përqendrimi i homocisteinës në plazmë.

Faza fillestare e testimit laboratorik duhet të përfshijë përcaktimin e niveleve të folatit në serum/plazmë esëll, e cila shërben si shenjë e parë e ndryshimit të ekspozimit ndaj folatit dhe pasqyron dietën ushqimore të konsumuar së fundmi (Gregory, 2001). Folati në serum është shumë i ndjeshëm ndaj ndërhyrjeve suplementuese me FA, ndërsa folati i marrë në mënyrë natyrale nga ushqimi shpesh rezulton në një përgjigje më të ulët të folatit në serum. Sipas statistikave të popullsisë, përqendrimet e folatit në serum janë tregues të fuqishëm të marrjes së FA, ku nivelet më të larta raportohen tek ata që marrin FA përmes suplementeve dhe ushqimeve të fortifikuara (Yeung et al., 2008; Hopkins et al., 2015).

Duke qenë se eritrocitet grumbullojnë folate vetëm gjatë eritropoezës dhe kanë një jetëgjatësi prej 120 ditësh, përqendrimi i folatit në RBC pasqyron nivelin afatgjatë të folatit dhe nuk ndikohet nga dieta ushqimore e konsumuar së fundmi (Socha et al., 2020). Për më tepër, nivelet e folatit në RBC imitojnë përqendrimet e mëlçisë, mesatarisht 50% të folatit total të trupit, dhe mendohet kështu se pasqyrojnë rezervat e folatit në inde (Wu et al., 1975). Folati në RBC, ashtu si folati në serum, është tejet i ndjeshëm ndaj ndërhyrjeve me FA, kur FA merret në sasi të krahasueshme me folatin e konsumuar në mënyrë natyrale nga ushqimi, shpesh ky i fundit prodhon një përgjigje më të ulët në RBC sesa FA (Clifford et al., 2005).

Kur nuk ka në dispozicion sasi të mjaftueshme të 5-metil-THF për të siguruar grupin metil të nevojshëm për konvertimin e homocisteinës në metioninë, përqendrimet e homocisteinës plazmatike rriten. Niveli i homocisteinës në gjak është i lidhur në mënyrë të zhdrejtë me nivelin e folatit (Selhub et al., 1993). Homocisteina mendohet të jetë një tregues më i saktë i nivelit të vitaminës B12 sesa i nivelit të folatit në popullatat që përdorin suplemente ose ushqime të fortifikuara me FA (Refsum et al., 2004). Homocisteina në serum nuk është një tregues i besueshëm i nivelit të folatit pasi ajo rritet në prani të deficiteve të tjera të vitaminave B, të stilit të jetesës, insuficiencës renale dhe terapive farmakologjike (Jacob et al., 1994; Refsum et al., 2004).

Analiza mikrobiologjike (MBA), kromatografia e lëngshme me performancë të lartë e shoqëruar së bashku me spektrometrinë e masës (HPLC–MS/MS), dhe analiza e lidhjes së proteinave (PBA) janë ndër analizat e ndryshme të përdorura për të përcaktuar përmbajtjen e folatit në gjak dhe RBC. Me kalimin e kohës konfuzione janë shfaqur si rezultat i përdorimit të vlerave të ndryshme limit, për të përcaktuar fraksionin e popullatës me përqendrimet e ulëta të folatit në gjak. Përqendrimet e folatit në RBC prej 363 nmol/L (160 µg/L) tregojnë fillimin e shterimit të folatit, 272 nmol/L (120 µg/L) sugjerojnë

fillimin e eritropoezës në mungesë folati dhe 227 nmol/L (100 µg/L) tregojnë anemi në mungesë folati (Herbert, 1987). WHO vlerëson se përmbajtja e folatit në RBC tek WRA duhet të jetë më shumë se 400 ng/mL (>906 nmol/L) për të reduktuar në mënyrë të ndjeshme rrezikun e NTDs (World Health Organization, 2015).

Nevoja për FA e vlerësuar bazohet kryesisht në aftësinë e marrjeve të specifikuar të folatit për të ruajtur përqendrimet normale të folatit në RBC. Për shkak të lidhjes së tij me folatin e mëlçisë dhe, rrjedhimisht, rezervat e indeve, përqendrimi i folatit në RBC u përcaktua si biomarkeri kryesor i nivelit të folatit në organizëm (Wu et al., 1975). Përqendrimi i folatit në RBC në WRA është lidhur me rrezikun e NTDs, si një tregues i ndjeshëm i niveleve afatgjatë të folatit (World Health Organization, 2015). Përqendrimet normale të homocisteinës u vlerësuan gjithashtu të lidhura me konsumin e folatit dhe u konsideruan si një tregues funksional ndihmës i nivelit të folatit në organizëm.

## **7 SHSTATZËNËSIA DHE ZHVILLIMI I HERSHËM**

Shtatzënia është identifikuar si një fazë kur nevoja për folat rriten për të plotësuar kërkesën për replikim të shpejtë të qelizave dhe zhvillimin e indeve të fetusit, placentës dhe indeve të nënës, për shkak të funksionit jetësor që folati luan në sintezën e DNA, RNA dhe proteinave. Metabolizmi i njësisive me një atom karbon është thelbësor për zhvillimin e hershëm sepse siguron njësitë një karbonike për sintezën e DNA, proteinave dhe lipideve, si dhe modifikimin epigjenetik të gjenomit. Faza prenatale karakterizohet nga proliferimi dhe diferencimi i shpejtë qelizor, duke e bërë atë më vulnerabël ndaj furnizimit me ushqim të nënës. Për shkak se mungesa e folatit në shtatzëni është lidhur me një sërë pasojash negative, mbajtja e një niveli të mjaftueshëm të folatit gjatë shtatzënisë është jetike jo vetëm për shëndetin e nënës, por edhe për fëmijën në zhvillim (Figura 7.1). Ngadalësimi i rritjes prenatale, pesha e ulët në lindje, lindja e parakohshme, rritja e rrezikut të NTDs dhe sëmundjet e kreshtës nervore, si anomalitë kongjenitale të zemrës tek fëmijët, janë të gjitha të lidhura me nivelin e ulët të folatit tek nëna (Stamm & Houghton, 2013).

Disa elemente të zhvillimit neurologjik të tilla si modifikimi epigjenetik dhe riparimi i DNA në gjenet përgjegjëse për zhvillimin nervor, ndikohen nga metabolizmi i njësisive me një atom karbon. Tek minjtë, privimi i folatit dhe kolinës gjatë shtatzënisë së vonë dëmton neurogjenezën dhe nxit apoptozën e neuroneve (Craciunescu et al., 2003; Craciunescu et al., 2010; Langie et al., 2013). Mielinizimi, sinteza e neurotransmetuesve,

marrja e acidit dokosaheksaenoik dhe neuroinflamacioni ndikohen gjithashtu nga metabolizmi i njësive me një atom karbon (Korsmo et al., 2019).

Keqformimet e lindjes janë një nga shkaqet kryesore të vdekjes globalisht, duke prekur rreth 1% deri në 3% të të gjithë të porsalindurve (Atta et al., 2016). Këto ndryshime strukturore ose funksionale të dukshme në lindje praktikisht mund të ndikojnë në çdo zonë të trupit dhe, në varësi të shkallës së dëmtimit, ndikojnë në mbijetesë dhe në cilësinë e jetës. Ekzistojnë të dhëna thelbësore epidemiologjike dhe eksperimentale të cilat lidhin nivelin e folatit me rrezikun, për shfaqjen dhe përsëritjen e NTDs (Beaudin & Stover, 2009). NTDs përfshijnë defektet më serioze dhe më të zakonshme kongjenitale të CNS. Këto anomali, të cilat karakterizohen nga mbyllja e pjesshme e tubit nervor embrional, ndodhin midis ditëve të 21 dhe 28 pas konceptimit, kur pjesa më e madhe e grave nuk janë në dijeni të shtatzënisë së tyre (Botto et al., 1999). Rrugët metabolike përmes të cilave folati nxit mbylljen e tubit nervor dhe zvogëlon rrezikun e NTDs ende nuk janë identifikuar. Dy llojet më të shpeshta të NTDs, anencefalia dhe spina bifida, prekin përkatësisht trurin dhe palcën kurrizore dhe janë të lidhura me një vdekshmëri të lartë, sëmundshmëri, paafësi dhe shpenzime psikologjike dhe ekonomike (Botto et al., 1999). Sipas disa teorive, folati mund të ndikojë në rrezikun e NTDs duke kufizuar biosintezën e nukleotideve dhe ndarjen qelizore, duke rritur homocisteinën ose duke modifikuar potencialin e metilimit qelizor dhe shprehjen e gjeneve (Copp et al., 2013). NTDs kanë më shumë gjasa të shkaktohen nga një ndërveprim kompleks i gjenetikës, dietës me folate dhe faktorëve mjedisorë (Beaudin & Stover, 2007). Hulumtimet gjenetike kanë demonstruar rëndësinë e disa variacioneve të vetme të nukleotideve (SNPs) në gjenet që kodojnë për enzimat metabolike të njësive me një atom karbon tek njerëzit. Polimorfizmat në enzimat e përfshira në metabolizmin e njësive me një atom karbon, të tilla si MTHFR 677C>T, MTHFD1 1958G>A, MTRR 66A>G dhe BHMT 742G>A, lidhen me një rrezik në rritje të NTDs (Li et al., 2016).

FA është i lidhur gjithashtu me një incidencë më të ulët të abortit spontan, sipas një studimi Suedez në të cilin mungesa e FA u shoqërua me një shans në rritje prej 50% të abortit të hershëm (George et al., 2002).

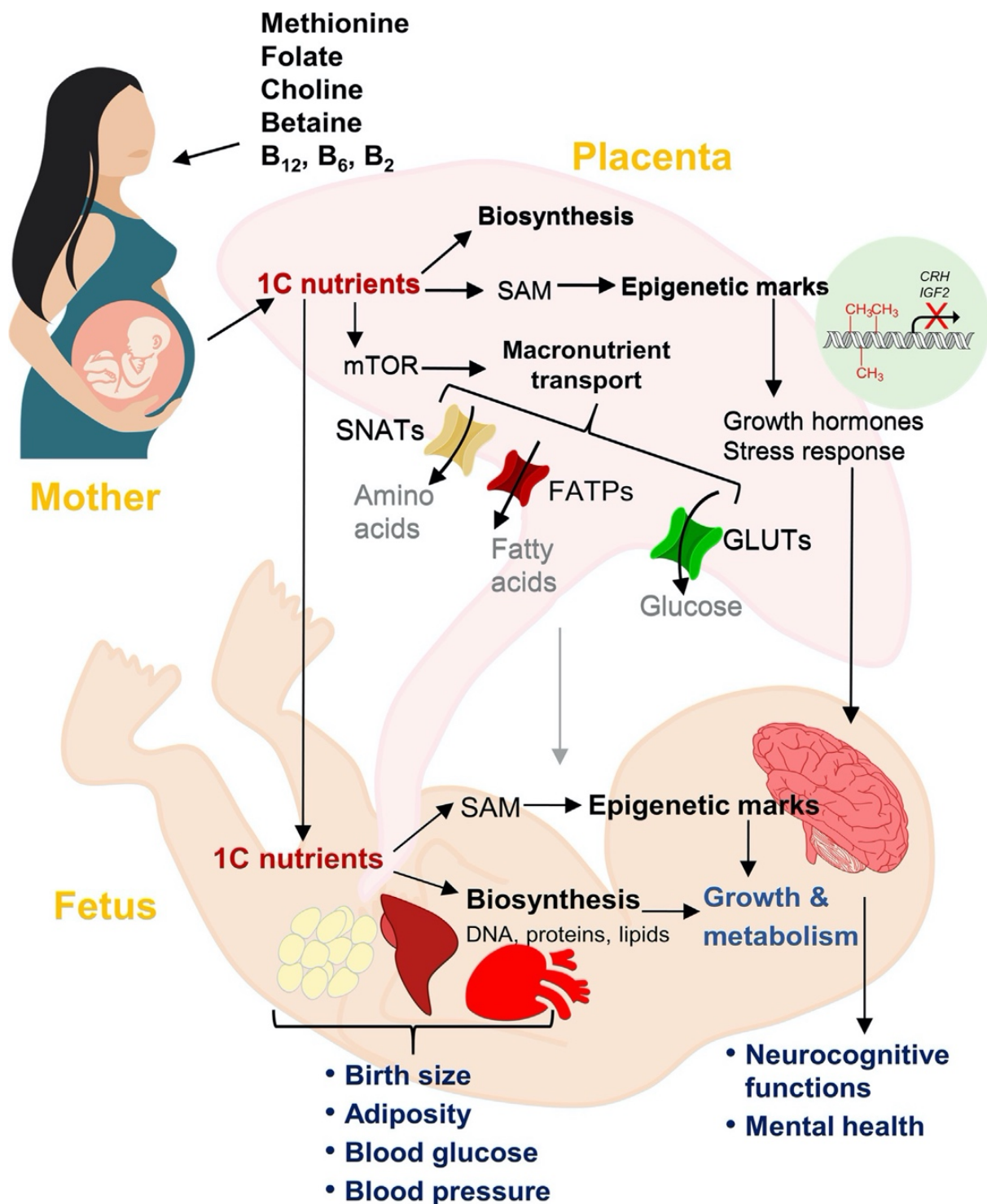
Zbulimet e studimeve tek njerëzit mbi katabolizmin e folateve gjatë shtatzënisë janë kontradiktore. Caudill et al. (1998) nuk vuri re një katabolizëm të rritur në tremujorin e dytë tek gratë shtatzëna, në javën e 14 ose javën e 26 të shtatzënisë, në krahasim me gratë jo shtatzëna që u përdorën si kontrollë. Nga ana tjetër, studime të tjera kanë demonstruar ritme më të larta të katabolizmit të folatit, si dhe një nevojë të shtuar për ko-

faktorë folati dhe të metabolizmit të njësive me një atom karbon gjatë shtatzënisë. Ekskretimi total i pABAGlu në gratë shtatzëna gjatë tremujorit të parë në krahasim me kontrollet (gratë jo shtatzëna) tregoi se sekretimi urinar i pABAGlu dhe acetamidobenzoylglutamate u rrit gjatë tremujorit të dytë (~200%) dhe të tretë (~150%) në gratë shtatzëna, sipas një studim pilot fillestar i 6 grave të shëndetshme jo shtatzëna dhe 6 grave shtatzëna me të njëjtën moshë (McPartlin et al., 1993). Sipas një studimi tjetër, nevoja për folat gjatë shtatzënisë rritet me 200-300 µg në ditë për të kompensuar humbjet katabolike. Katabolizmi i folatit ishte mbi dy herë më i lartë tek gratë shtatzëna sesa tek gratë jo shtatzëna gjatë kësaj periudhe (Higgings et al., 2000).

Lidhja midis folatit dhe NTDs është një objektivi kryesor i politikave aktuale të shëndetit publik. Supplementimi me FA në periudhën perikonceptionale tek WRA, e kombinuar me një fushatë efektive informimi dhe ndërgjegjësimi mbi rëndësinë kritike të një diete të shëndetshme dhe të ekuilibruar gjatë dhe para shtatzënisë, mund të ndihmojë në parandalimin dhe reduktimin e prevalencës së NTDs dhe rezultateve të tjera negative tek fëmijët.

### **7.1 Supplementimi i tepërt me FA**

Folati, vitamina B12, metionina, kolina, betaina, vitamina B6 dhe vitamina B2 luajnë të gjitha një rol në metabolizmin e njësive me një atom karbon si dhurues metili ose ko-faktorë. Ndonëse sasi adekuate të këtyre lëndëve ushqyese janë të nevojshme për zhvillimin metabolik dhe kognitiv, hulumtime të reja kanë nxjerrë në pah shqetësime për sa i përket metabolitëve të tepërt, të cilët formohen gjatë reaksioneve të një atom karbonit, të cilat mund të çojnë në probleme të rritjes dhe të zhvillimit neurologjik (Figure 7.1) (Korsmo & Jiang, 2021). Dobia e përshkrimit të dozave të larta të FA është e diskutueshme, pasi sipas disa autorëve, mund të lidhet me një sërë çrregullimesh klinike. Doza të larta të FA janë lidhur me një rritje të incidencës së qiellzës së çarë, zhvillim të dobët psikomotor, autizëm, abort spontan, vështirësi në frymëmarrje gjatë fëmijërisë dhe rritje të rrezikut të zhvillimit të kancerit. Konsumi i lartë i folatit paraqet një rritje të tepruar të nivelit të folatit në gjak kur nivelet arrijnë mbi 45.3 nmol/L, siç këshillohet nga WHO, kjo tregon se kapaciteti metabolik është tejkaluar (World Health Organization, 2015).



**Figura 7.1.** Zhvillimi i hershëm dhe metabolizmi i njësjive me një atom karbon: proceset e mundshme (Korsmo & Jiang, 2021). CH<sub>3</sub>, grupi metil; CRH, hormoni çlirues i kortikotropinës; FATP, proteina transportuese e acideve yndyrore; GLUT, transportuesi i glukozës; IGF2, faktori i rritjes i ngjashëm me insulinën 2; mTOR, targeti mekanik i rapamicinës; SAM, S-adenozilmetioninë; SNAT, transportues neutral i aminoacideve të shoqëruar me natrium.

Në një studim cohort në Boston, nivelet e folatit mbi limitin prej 45.3 nmol/L në plazmën e nënës shoqëroheshin me një rrezik të shtuar të autizmit (Raghavan et al., 2018). Megjithatë, dëshmitë e lidhura me efektet e dëmshme të sasive të larta të suplementimit me FA mbi nënën ose fetusin ende nuk janë të konsoliduara.

Aftësia e njeriut për të metabolizuar FA është e kufizuar, veçanërisht të nivele të larta të FA (5 mg). Dozat e larta të FA shkaktojnë ngopje/frenim të shpejtë të DHFR, duke rezultuar në një akumulim të FA të pametabolizuar dhe sindromën UMFA (Bailey & Ayling, 2009). Gjatë shtatzënisë, RDAs për folatin është 600 µg. Sipas FAO, UL është niveli më i lartë i konsumit ditor të lëndës ushqimore e cili nuk ka gjasa të shkaktojë pasoja të pafavorshme shëndetësore për praktikisht të gjithë personat në popullatën e përgjithshme (*Recommended Dietary Allowances*, 1989). Folati natyral nuk ka kufi të sipërm, por marrja e tepërt e FA mund të maskojë pamjaftueshmërinë e vitaminës B12, të rrisë FA e pametabolizuar në trup dhe të pengojë enzimën kryesore të njësive me një atom karboni si DHFR dhe MTHFR (Maruvada et al., 2020).



## 8 QËLLIMI I STUDIMIT

Gjatë tre dekadave të fundit, për shkak të karakteristikave metabolike dhe implikimeve klinike të folatit, ka pasur një rritje graduale të interesit për këtë lëndë ushqyese thelbësore (Zappacosta et al., 2013). Folatet, për shkak të rëndësisë së tyre në sintezën e DNA dhe RNA, si pjesë e metabolizmit të njësive me një atom karbon, janë përfshirë në shfaqjen ose parandalimin e disa gjendjeve klinike; ndikimi i mungesës së folatit në shtatzëni është i njohur mirë.

Edhe pse është debatuar intensivisht për një kohë të gjatë, tashmë dihet mirë se mungesa e folatit është një faktor rreziku për NTDs dhe se suplementimi përpara dhe gjatë konceptionit me FA redukton shfaqjen e parë dhe ripërsëritjen e NTDs, si dhe të rezultateve të tjera negative të lindjes. Prevalenca mbarëbotërore e NTDs rezulton veçanërisht e lartë në vendet me të ardhura të ulëta dhe të mesme, në varësi të faktorëve të rrezikut social, etnik dhe gjenetik dhe, në përgjithësi, nga zhvillimi i programeve të parandalimit të shëndetit publik, duke qenë se parandalimi është zgjidhja e vetme mjekësore.

Në SHBA, ku fortifikimi i drithërave me FA është i detyrueshëm që prej vitit 1998, numri i shtatzënive të prekura nga NTDs është ulur ndjeshëm. Rreziku i NTDs që prekin shtatzëninë u propozua nga Daly et al. (1995): rreziku rritej kur përqendrimet e folatit në serum dhe në RBC të nënës ishin më pak se 15.9 nmol/L dhe 906 nmol/L respektivisht.

Disa hulumtime kanë studiuar nivelin e vitaminave B në vende të ndryshme, me rezultate që shpesh zbulojnë një nivel nën-optimal të këtyre vitaminave. Një rishikim sistematik i kohëve të fundit i gjashtëdhjetë e tre studimeve të botuara midis viteve 1990 dhe 2005, nga 15 vende Evropiane, theksoi se si në disa vende si konsumi ashtu edhe niveli i vitaminave B janë të pamjaftueshme dhe përqendrimi i tyre është më i ulët se niveli ideal (Dhonukshe-Rutten et al., 2009). Folati, si temë diskutimi për sa i përket konsumit, metabolizmit dhe nivelit, po bëhet gjithnjë e më kontradiktor, kryesisht për shkak të pasojave të tij në shëndetin publik.

Studimi synon të vlerësojë nivelet mesatare të folatit në serum dhe RBC, në një numër statistikisht domethënës të një popullate grash të shëndetshme në moshë fertiliteti, midis 18 dhe 44 vjeç, që vijnë kryesisht nga zonat urbane (Tirana) të Shqipërisë; bazuar në një rekomandim të kohëve të fundit nga WHO, ku përqendrimet optimale të folatit konsiderohen thelbësore për parandalimin e NTDs, veçanërisht niveli i folatit në RBC,

pasi përqendrimi i folatit në këto qeliza konsiderohet si një biomarker i ndjeshëm i përqëndrimeve afatgjatë të folatit në organizëm dhe është lidhur drejtpërdrejt me rrezikun e NTDs tek WRA.

Nivelet e vitaminës B12 në plazmë, të lidhura ngushtë me metabolizmin e folatit, gjithashtu u analizuan në këtë studim me qëllimin për të vlerësuar më mirë rrezikun e NTDs.

Synohet të vlerësohet dhe raportohet niveli i folatit tek WRA Shqiptare, bazuar në limitet e rekomanduara nga WHO, si një mënyrë për të rritur shfrytëzimin e këtyre të dhënave në monitorimin dhe vlerësimin e terapive me FA dhe programeve të fortifikimit ushqimor, të cilat do të ndihmojnë për të udhëhequr përpjekjet mbarëbotërore për të shmangur NTDs dhe aneminë.

Aktualisht nuk ka të dhëna në literaturë për nivelet e folatit tek gratë shqiptare; kështu që, ky studim është i pari dhe i vetmi i zhvilluar mbi këtë temë derimëtani. Të dhënat e mbledhura janë krahasuar më pas me ato të marra në vende të tjera me situata të ndryshme socialo-ekonomike. Një pyetësor hetimi paralel u plotësua e ndihmoi për të rritur njohuritë e WRA pjesëmarrëse në studim për avantazhet e marrjes/suplementimit me FA për parandalimin e NTDs të ndikuara nga FA.

## 9 MATERIALE DHE METODA

### 9.1 Struktura e Studimit dhe Pjesëmarrësit

Studimi është hartuar dhe kryer në përputhje me Deklaratën e Helsinkit të Shoqatës Botërore të Mjekësisë, Udhëzimeve të Praktikës së Mirë Klinike të Bashkimit Evropian për eksperimentimin e barnave dhe mbi kriteret etike në bazë të të cilave duhet të kryhet çdo eksperiment tek njerëzit, dhe në përputhje me Udhëzimet Shqiptare për Eksperimentet Klinike (Urdhër nr. 226, datë 8 Mars 2018: “Për miratimin e Udhëzuesit për provat klinike”). Protokolle u miratua nga Komisioni i Etikës i Universitetit Katolik “Zoja e Këshillit të Mirë”.

Nga Tetori 2019 deri në Mars 2020, në këtë studim u ftuan të merrnin pjesë 500 gra Shqiptare të shëndetshme të cilat vizituan Poliklinikën “Atë Luigji Monti” në Tiranë; në mesin e këtyre grave u regjistruan edhe studente dhe punonjëse nga Universiteti “Zoja e Këshillit të Mirë”; 430 subjekte (86%) pranuan të merrnin pjesë. Përpara përfshirjes së tyre në provë, të gjitha subjektet e studimit pranuan të merrnin pjesë duke dhënë miratimin e tyre me shkrim.

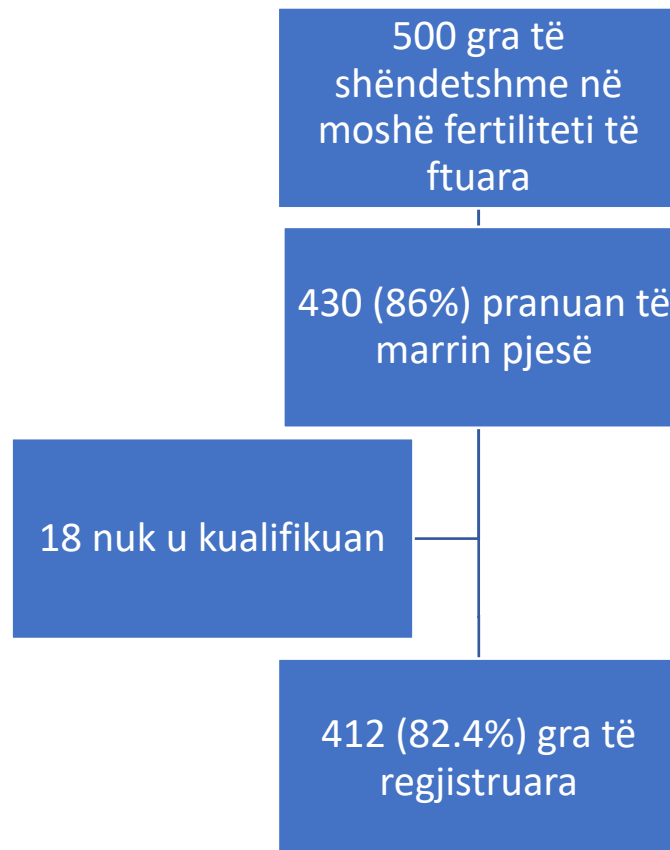
Në studim u përfshinë gra shqiptare nga mosha 18 deri në 44 vjeç; jo shtatzënë dhe jo në pritje për të mbetur shtatzënë në muajt e ardhshëm; që nuk kanë marrë suplemente me FA nga asnjë formulim mjekësor në dy muajt e fundit; nuk vuanin nga ndonjë sëmundje kronike që kërkon trajtim afatgjatë; ndiqnin një dietë të shëndetshme dhe nuk merrnin asnjë suplement vitaminik.

Midis të gjithë subjekteve të regjistruar në studim, 10 prej tyre u përjashtuan, sepse raportuan përdorimin aktual të FA dhe/ose vitaminave të tjera përpara marrjes së mostrës së gjakut. Rezultatet e mostrës së gjakut nga 3 pjesëmarrës nuk u përdorën për analizën e të dhënave për shkak të shtatzënisë së pa raportuar. Pesë gra zgjodhën të braktisin studimin në mënyrë individuale. Më në fund, 412 gra (82.4%) u përfshinë në studim (Figura 9.1).

Pjesëmarrësit u intervistuan dhe u ftuan të plotësonin një pyetësor të standardizuar mbi historinë e tyre mjekësore, stilin e jetesës dhe regjimin ushqimor, i cili përfshinte pyetjet e mëposhtme: a) zakonet e duhanpirjes (N: kurrë ose ish-duhanpirës, Y: duhanpirësi aktual); b) konsumi ditor i frutave dhe perimeve (rezultati 1: një ose më pak racione fruta/perime në ditë, rezultati 2: dy racione fruta/perime në ditë, rezultati 3: tre racione fruta/perime në ditë, rezultati 4: katër racione fruta/perime në ditë, rezultati 5:

pesë ose më shumë racione fruta/perime në ditë); c) aktiviteti fizik (rezultati 1: minimal, rezultati 2: modest, rezultati 3: i mjaftueshëm, rezultati 4: me bollëk).

Pjesëmarrësit u pyetën gjithashtu nëse vuanin nga ndonjë gjendje e cila kërkon teste mjekësore ose laboratorike, ose kërkon nevojën e vizitave mjekësore të paktën dy herë në vit. Nëse po, pjesëmarrësi është pyetur për gjendjen mjekësore dhe trajtimin eventual farmakologjik.



**Figura 9.1.** Grafiku i rrjedhës së studimit të popullsisë së regjistruar.

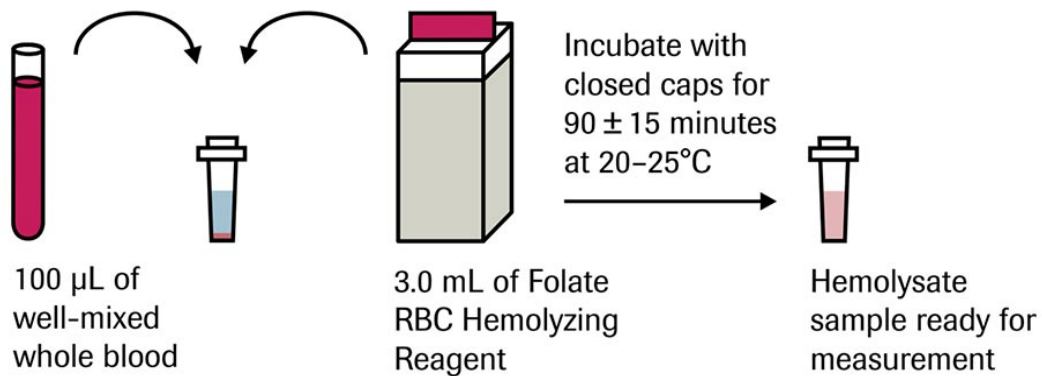
## 9.2 Mbledhja e Mostrave

Mostrat e gjakut komplet u morën nëpërmjet venopunkturës në pacientë esëll midis orës 07:00 -10:00 të mëngjesit. Mostrat e gjakut venoz u mblodhën në tuba BD Vacutainer® që përmbajnë acid etilendiaminetetraacetik tri-kalium (K3EDTA) si antikoagulant dhe u përdorën për matjen e hematokritit, numërimin e qelizave të kuqe të gjakut dhe folatit në RBC. Ndërsa për matjen e folatit në serum dhe matjen e vitamins B12 u përdorën tuba BD Vacutainer® SST™ pa antikoagulant.

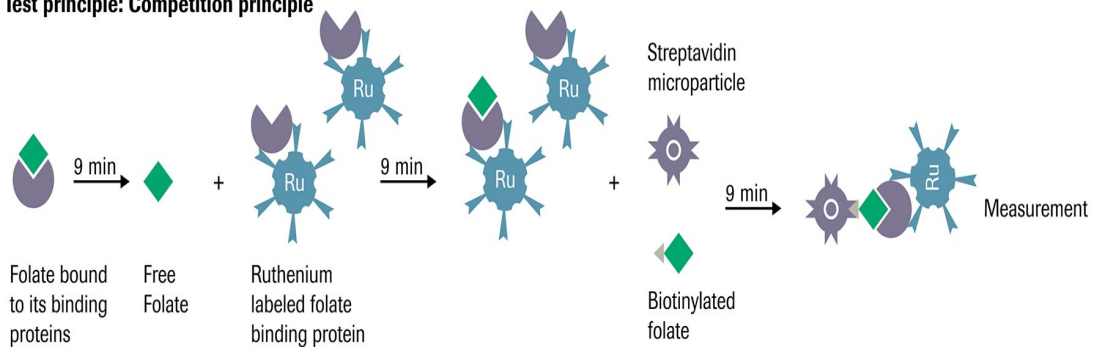
Mostrat për folatin në serum dhe vitaminën B12 u përpunuan brenda 2 orëve nga grumbullimi dhe u analizuan duke përdorur një teknologji të imuno-analizimit

ElectroChemiLuminescence (ECL) në imuno-analizuesin **Cobas e411** (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, DE), në përputhje me udhëzimet e prodhuesit në laboratorin qendror të Poliklinikës “Atë Luigji Monti”.

Mostrat e kontrollit të brendshëm të cilësisë u përpunuan çdo ditë me analizën e mostrës (Folate RBC CalSet, Folate III CalSet and vitamin B12 II CalSet, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, DE).



**Test principle: Competition principle**



**Figura 9.2.** Për matjen sasiore *in vitro* të folatit në eritrocite (folati në RBC), pasqyrim i Elecsys® Folate RBC Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA).

Hemolizati i RBC për analizën e folatit në RBC u përgatit duke përdorur Kompletin e Reagentit Hemolizues të Folatit në RBC (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, DE), sipas udhëzimeve të prodhuesit (Figura 9.2), duke përzier 3.0 mL të Reagentit Hemolizues (tretësirë e acidit askorbik, 0.2%) me 100 µL gjak komplet të përzier mirë në një tub të veçantë, duke shmangur formimin e shkumës. Hemolizati më pas u inkubua me kapak të mbyllur për  $90 \pm 15$  minuta në 20-25 °C dhe u analizua brenda dy orëve duke përdorur teknologjinë Elecsys në imunoanalizatorin **Cobas e411** (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim DE), në përputhje me udhëzimet e prodhuesit.

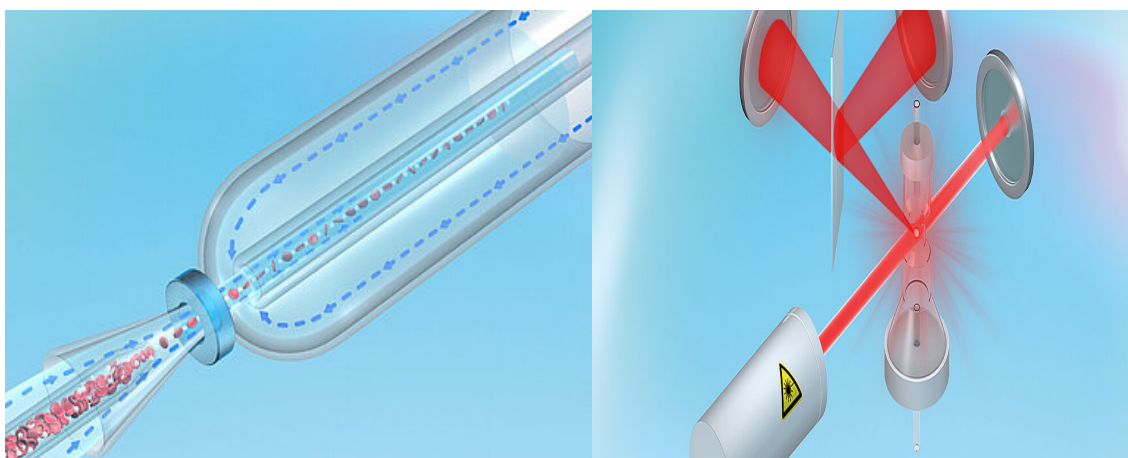
ECL (ElektroChemiLuminiscence) është një teknologji e zhvilluar nga Roche për zbulimin e testeve immune. Bazuar në këtë teknologji dhe duke u kombinuar me teste immune të mirëdizenuara, specifike dhe sensitive, Elecsys jep rezultate të besueshme. Zhvillimi i testeve ECL bazohet në përdorimin e kompleksit ruthenium (ruten) dhe tripropilaminës (TPA). Reaksioni kimioluminëshent për zbulimin e kompleksit të reaksionit inicohet nga aplikimi i një tensioni në tretësirën e mostrës duke rezultuar në një reaksion të kontrolluar në mënyrë preçize. Pas aplikimit të një voltazhin në tretësirën e mostrës, induktohet rrezatimi kimioluminëshent i cili matet nga një fotomultiplikator. Rezultatet përcaktohen nga një kurbë kalibrimi, specifike për këtë instrument, e marrë nga kalibrimi me 2 pika dhe një kurbë kryesore e specifikuar nga barkodi i reagentit.

Niveli adekuat i folatit dhe vitaminës B12 në serum u përcaktua sipas Dhonukshe-Rutten et al. (2009): folati në serum  $>15$  nmol/L and vitamina B12  $\geq 350$  pmol/L. Përqendrimit optimale të folatit në RBC u përcaktuan si  $>906$  nmol/L, sipas Daly et al. (1995) dhe sipas WHO (World Health Organization, 2015) për të reduktuar rrezikun e NTDs. Sipas IOM, përqendrimit e folatit në RBC prej  $\geq 305$  nmol/L konsiderohen adekuate për pjesën tjetër të popullsisë (Institute of Medicine, 1998).

### **9.3 Vlerësimi i Hematokritit**

Hematokriti për analizën e folatit në RBC u mat duke përdorur 20 µL gjak komplet nga analizuesi Sysmex XS-1000i (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt, DE). Numri i saktë i RBC dhe zbulimi i vëllimit arrihet duke përdorur një teknologji të citometrisë së rrjedhës fluoreshente me fokus hidrodinamik. Citometria e rrjedhës fluoreshente përdoret për të ekzaminuar karakteristikat fiziologjike dhe kimike të qelizave. Ai parashikon madhësinë e qelizës, të dhëna strukturore dhe detaje rreth brendësisë së një qelize. Analizatori XS-1000i llogarit haematokritin duke numëruar RBC dhe duke matur vëllimin e tyre (Figura 9.3). Pulset dhe vëllimet pasuese të qelizave të një kampioni specifik bashkohen për të

marrë një lexim të drejtpërdrejtë, jashtëzakonisht të saktë të hematokritit duke përdorur metodën e zbulimit të “lartësisë së pulsit kumulativ”.



**Figura 9.3.** Pasqyrë e teknologjisë së lazerit të përdorur në analizat e Citometrisë së Rrjedhës Fluoreshente.

#### 9.4 Kalkulimi i Folatit në RBC

Përqendrimi i folatit për çdo kampion të hemolizuar të gjakut komplet, llogaritet automatikisht nga analizuesi në nmol/L ose ng/mL. Folati në RBC përfaqëson përqendrimin e folatit në fraksionin e eritrociteve të kampionit të hemolizatit të gjakut komplet. Kështu që, për të llogaritur folatin në RBC, vlera specifike e hematokritit të paracaktuar të mostrës duhet të merret parasysh duke përdorur ekuacionin e mëposhtëm:

$$\text{folati në RBC} = \frac{\text{folati në gjakun komplet}}{\% \text{ hematokriti}} \times 100$$

#### 9.5 Analiza Statistikore

Intervalet e besimit (CI) u llogaritën duke përdorur mesataren  $\pm$  devijimin standard (SD). Regresioni logjistik i shumëfishtë u përdor për të llogaritur raportet e gjasave dhe intervalet e besimit 95% për nivelet “adekuate” të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në serum. Raportet e gjasave për nivelin “adekuat” të folatit në serum, folatit në RBC dhe nivelin e vitaminës B12 u llogaritën bazuar në faktorët e përgjithshëm.

Testi Pearson ose Mantel-Haenszel Chi-square u përdor për të vlerësuar ndryshimet në proporcionet e pjesëmarrësve me nivele të mjaftueshme të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në serum, në lidhje me karakteristikat e specifikuar. Testi i Wilcoxon dhe testi i Cuzick për trendin u përdorën për të ekzaminuar të dhënat mbi nivelet e folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në lidhje me variablat e zgjedhura.

Të gjitha analizat statistikore janë kryer duke përdorur softuerin R, versioni 4.2.0.



## 10 REZULTATET

### 10.1 Karakteristikat e Pjesëmarrësve në Hulumtim

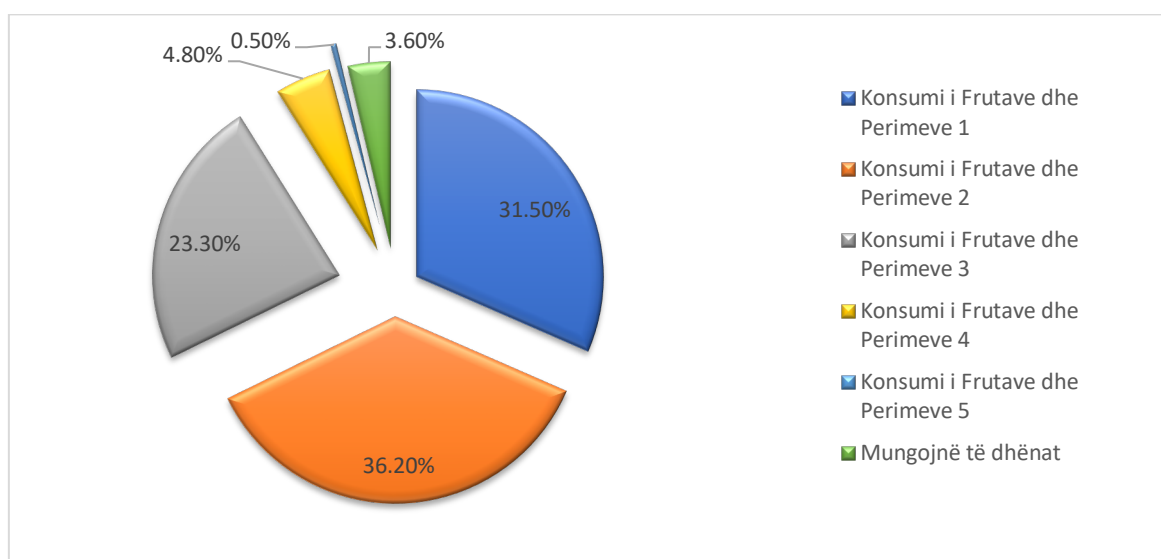
U analizuan të dhënat e marra nga 412 gra shqiptare në moshë fertiliteti të ndara në tre grupmosha (nën 30 vjeç, 30 deri në 39 vjeç, dhe 40 deri në 44 vjeç), ku pjesa më e madhe (54.60%) ishin nën 30 vjeç, pasuar nga gratë nga 30 deri në 39 vjeç (33%) (Tabela 10.1). Në mesin e pjesëmarrësve tanë 14 gra (3.40%) nuk e raportuan moshën e tyre.

Tabela 10.1 tregon mesataret gjeometrike për folatin në serum (13.30 nmol/L), folatin në RBC (597.53 nmol//L) dhe vitaminën B12 në serum (397.50 pmol/L), si dhe intervalet e tyre përkatëse të besueshmërisë prej 95%.

36.20% (N=149) e pjesëmarrësve konsumonin dy racione fruta/perime në ditë, të ndjekur nga pjesëmarrësit që konsumonin një ose më pak racione fruta/perime në ditë (N=130; 31.50%). Siç pritej, numri i pjesëmarrësve u ul në lidhje me rritjen e racioneve të frutave/perimeve të konsumuara. 3.60% nuk kanë raportuar konsumimin e frutave/perimeve në ditë (Figura 10.1).

12.60% nga gratë pjesëmarrëse ishin duhanpirëse aktuale, kundrejt 83.90% të cilat ishin ish-duhanpirëse, ose të cilat nuk pinin kurrë duhan. Ndërsa, 14 gra (3.40%) nuk u përgjigjën (Figura 10.2).

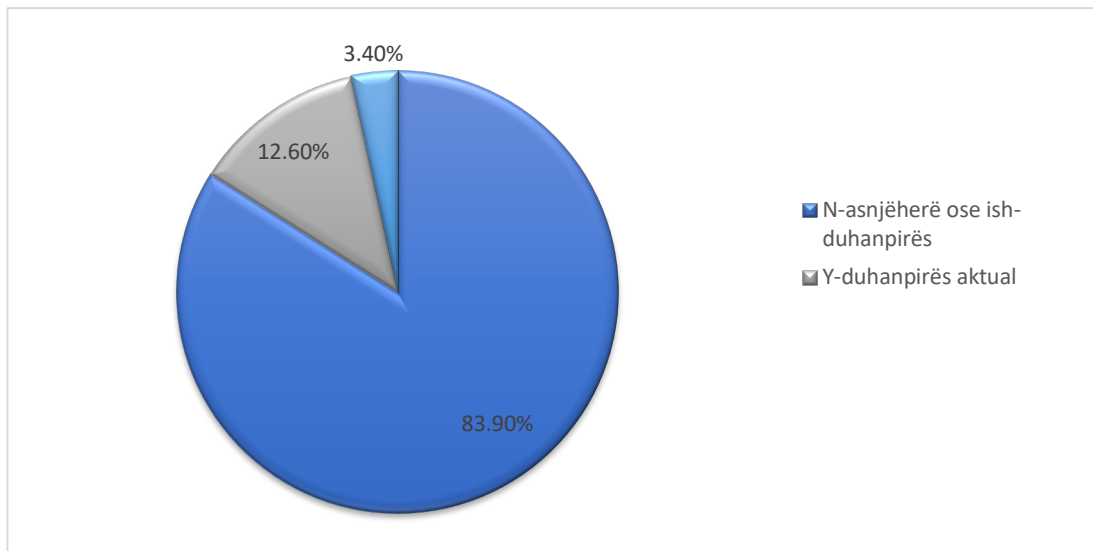
Është interesante se si numri i pjesëmarrësve u zvogëlua në lidhje me rritjen e aktivitetit fizik. U vu re se 38.10% (rezultati 1) e pjesëmarrësve zhvillonin një aktivitet fizik minimal javor kundrejt 4.40% (rezultati 4) të cilat zhvillonin aktivitet të bollshëm fizik (Figura 10.3).



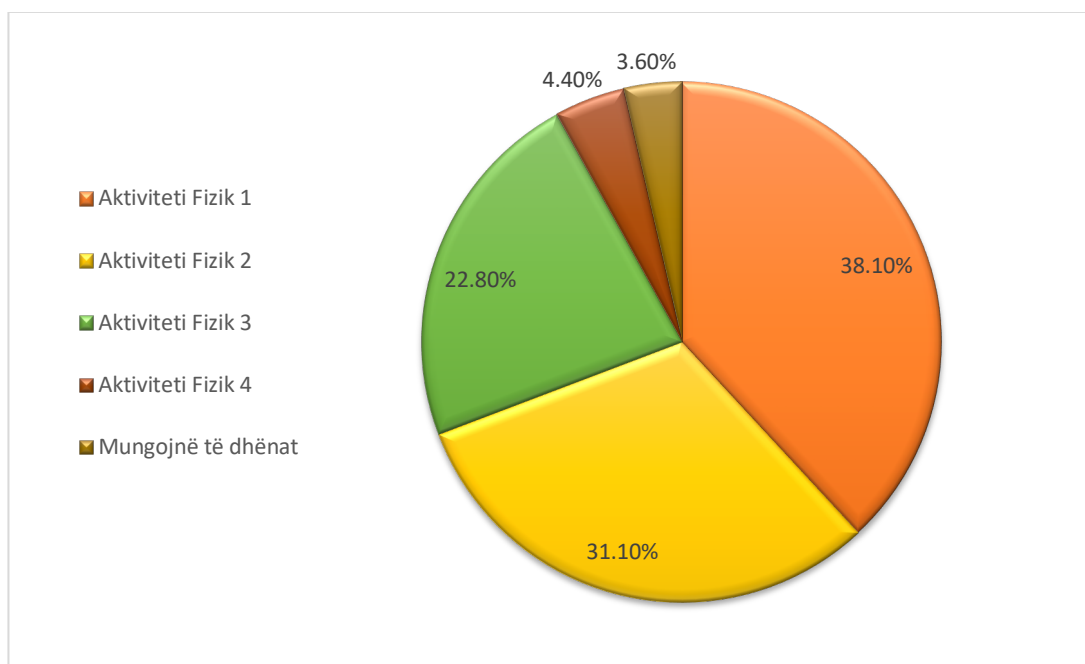
**Figura 10.1.** Paraqitja grafike e WRA (%) të regjistruara në studim sipas konsumit të frutave dhe perimeve (racione/ditë).

**Tabela 10.1.** Veçoritë e përgjithshme dhe mesataret gjeometrike për folatin në serum, folatin në RBC, vitaminën B12 në serum, në WRA shqiptare, së bashku me intervalet e besimi prej 95%. *Y-duhanpirës aktual*; *N-asnjëherë ose ish-duhanpirës*; \* 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; \*\* 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik.

		N=412	%	Mesatare Gjeometrike	95% CI
<b>Gjinia</b>	Femër				
	<30	225	54.60		
	30-39	136	33.00		
<b>Mosha (vitet)*</b>	40-44	37	8.90		
	1	130	31.50		
	2	149	36.20		
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve</b>	3	96	23.30		
	4	20	4.80		
	5	2	0.50		
<b>(racione/ditë)**</b>	N	346	83.90		
	Y	52	12.60		
	1	157	38.10		
<b>Pirja e Duhanit *</b>	2	128	31.10		
	3	94	22.80		
	4	18	4.40		
	<b>Folati në serum (nmo/L)</b>			13.30	12.64 13.99
<b>Folati në RBC (nmol/L)</b>			597.53	583.71 611.67	
<b>Vitamina B12 në serum (pmo/L)</b>			397.50	383.32 412.20	



**Figura 10.2.** Paraqitja grafike e WRA (%) të regjistruara në studim sipas zakonit të duhanpirjes.



**Figura 10.3.** Paraqitja grafike e WRA (%) të regjistruara në studim sipas aktivitetit fizik.

## 10.2 Markerët Biokimikë

### 10.2.1 Folati në Serum

Mesatarja e përgjithshme gjeometrike e folatit në serum ishte 13.30 nmol/L (95% CI: 12.64-13.99, Tabela 10.1). Niveli i folatit në serum u rrit me konsumin e frutave dhe perimeve nga 14.34 nmol/L (95%CI: 12.90-15.93) për pjesëmarrësit të cilët konsumonin 3 racione fruta/perime në ditë në 17.21 nmol/L (95% CI: 13.79-21.46), për pjesëmarrësit

me 4 racione fruta/perime në ditë. Niveli më i lartë i folatit në serum prej 18.71 nmol/L (95% CI: 7.38-47.40) u vu re tek pjesëmarrësit që konsumonin 5 racione fruta/perime në ditë (Tabela 10.2).

U vunë re dallime në nivelin e folatit në serum midis WRA të moshës 30 deri në 39 vjeç, atyre nën 30 vjeç dhe mbi 44 vjeç. Niveli i folatit në serum ishte më i lartë në WRA të moshës 30 deri në 39 vjeç me një vlerë mesatar prej 15.18 nmol/L (95% CI: 13.87-16.61). Vlera e folatit në serum zvogëlohet në 13.07 nmol/L (95% CI: 12.21-13.99) në WRA nën 30 vjeç dhe në 11.52 nmol/L (95% CI: 9.55-13.92) në WRA të moshës 40 deri në 44 vjeç (Tabela 10.2). Për më tepër, përqendrimet e folatit në serum u rritën në pjesëmarrësit jo duhanpirës (Tabela 10.2) (Figura 10.4).

Gjithashtu u vu re se me rritjen e aktivitetit fizik kemi një rritje të nivelit të folatit në serum (Tabela 10.2). Nivelet e folatit në serum janë 12.52 nmol/L (95% CI: 11.54-13.58) tek gratë të cilat pretendojnë se angazhohen në aktivitet fizik minimal. Nga ana tjetër, gratë të cilat kryejnë aktivitet të bollshëm fizik kanë nivele të folatit në serum që rriten në 13.85 nmol/L (95% CI: 11.95-16.06).

Duke përdorur limitin prej >15 nmol/L për të gjithë pjesëmarrësit, prevalenca e një përqendrimi adekuat të folatit në serum ishte 38.23% (95% CI: 33.65- 43.04) (Tabela 10.3). Mosha 30 deri në 39 vjeç lidhej me një prevalencë adekuate të folatit në serum prej 46.54% (95% CI: 38.24-55.08). Grafiku me kolona (Figura 10.5) është përdorur për të pasqyruar prevalencën në WRA bazuar në 4 karakteristikat: mosha; dieta me fruta dhe perime; zakoni i pirjes së duhanit; dhe aktiviteti fizik.

Konsumi i të paktën dy racioneve të frutave dhe perimeve në ditë lidhej me përqendrimet adekuate të folatit në serum prej 40.82% (95% CI: 33.20-48.89). Prevalenca e folatit adekuat në serum rritet në 50.00% (95% CI: 9.45-90.50) me konsumimin e 5 racioneve të frutave dhe perimeve (Tabela 10.3).

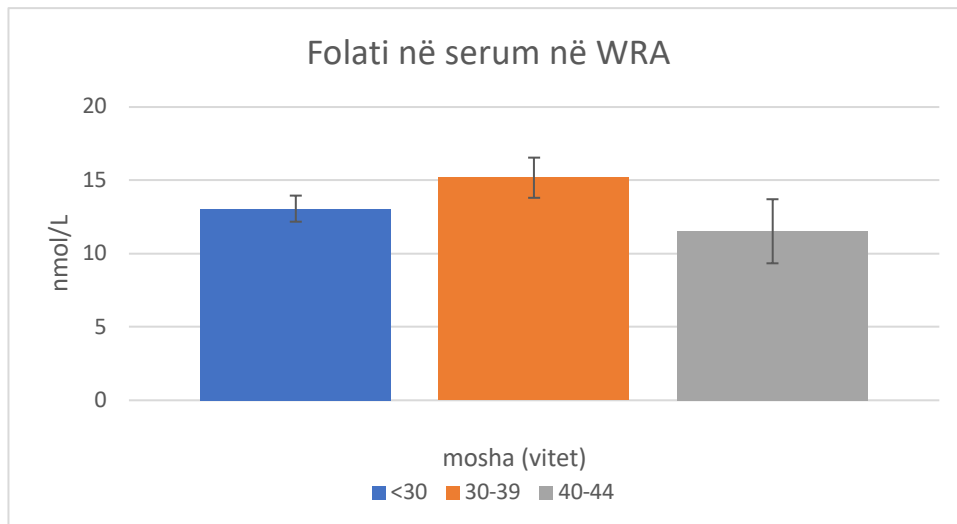
Rezultatet nga regresioni logjistik i shumëfishtë (Tabela 10.7) treguan se pjesëmarrësit 30 vjeç ose më të vjetër në moshë kishin 2.5 herë më shumë gjasa se grupi i referencës për të pasur një nivel adekuat të folatit në serum (OR 95% 0.76-1.88).

**Tabela 10.2.** Nivelet e folatit në serum në WRA shqiptare në lidhje me moshën, konsumin e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik. (Mesataret gjeometrike së bashku me intervalet e besimit prej 95%). *Y-duhanpirës aktual*; *N-asnjëherë ose ish-duhanpirës*; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik. vlera  $p < 0.05$

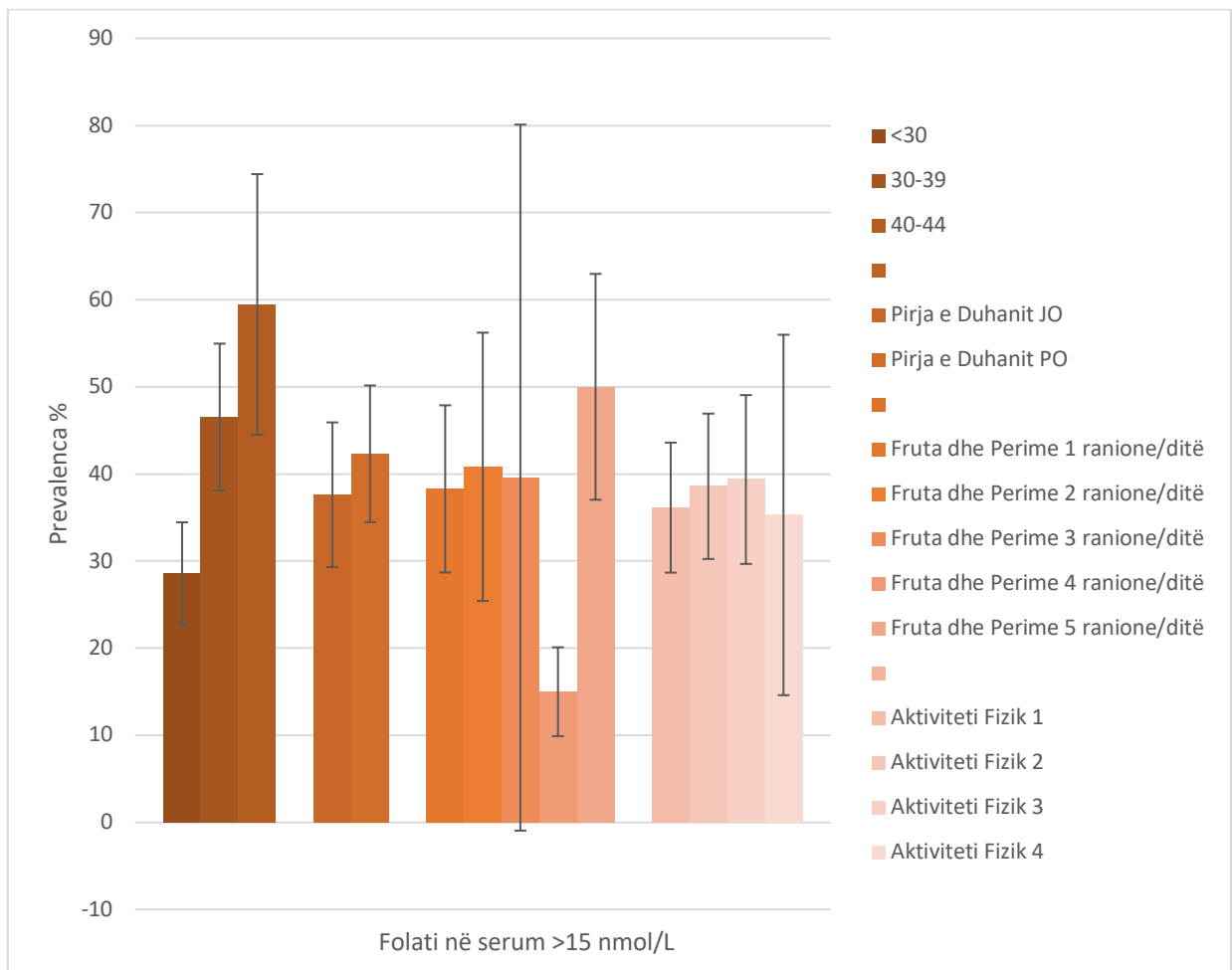
		N	Folati në serum (nmol/L)
			Mesatare (95% CI)
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	225	13.07 (12.21-13.99)
	30-39	136	15.18 (13.87-16.61)
	40-44	37	11.52 (9.55-13.92)
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve (racione/ditë)</b>	1	130	13.47 (11.39-15.94)
	2	149	12.71 (11.69-13.81)
	3	96	14.34 (12.90-15.93)
	4	20	17.21 (13.79-21.46)
	5	2	18.71 (7.38-47.40)
<b>Pirja e Duhanit</b>	N	346	13.17 (12.47-13.92)
	Y	52	12.51 (11.13-14.06)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1	157	12.52 (11.54-13.58)
	2	128	13.92 (12.69-15.27)
	3	94	13.09 (11.71- 14.62)
	4	18	13.85 (11.95-16.06)

**Tabela 10.3.** Prevalenca (%) e përqendrimeve “adekuate” të folatit në serum sipas moshës, dietës së frutave dhe perimeve, zakonit të pirjes së duhanit dhe aktivitetit fizik. *Y-duhanpirës aktual; N-asnjëherë ose ish-duhanpirës; p = 0.68; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik.*

		N	Folati në serum (>15 nmol/L) % (95% CI)
<b>TOTALI</b>		412	38.23 (33.65- 43.04)
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	225	28.57 (23.06-34.81)
	30-39	136	46.54 (38.24-55.08)
	40-44	37	59.46 (43.48-73.65)
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve (racione/ditë)</b>	1	130	38.28 (30.32-46.93)
	2	149	40.82 (33.20-48.89)
	3	96	39.58 (30.38-49.58)
	4	20	15.00 (5.24-36.04)
	5	2	50.00 (9.45-90.50)
<b>Pirja e Duhanit</b>	N	346	37.61 (32.65-42.85)
	Y	52	42.31 (29.87-55.80)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1	157	36.13 (28.99-43.92)
	2	128	38.58 (30.57-47.26)
	3	94	39.36 (30.09-49.47)
	4	18	35.29 (17.31-58.69)



**Figura 10.4.** Paraqitja grafike e diferencave në nivelin e folatit në serum midis WRA që janë: nën 30 vjeç; 30 deri në 39 vjeç; dhe 40-44 vjeç. Shufrat përfaqësojnë CI prej 95%.



**Figura 10.5.** Paraqitja grafike e prevalencës (%) së folatit “adekuat” në serum në WRA shqiptare në lidhje me moshën, dietën e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik. Shufrat përfaqësojnë CI prej 95%.

### 10.2.2 Folati në RBC

Mesatarja e përgjithshme gjeometrike e folatit në RBC ishte 597.53 nmol/L (95% CI: 583.71-611.67) (Tabela 10.1). Kur u krye testi për trendin midis grupeve të renditura, përqendrimi i folatit në RBC u rrit me aktivitetin fizik ( $p < 0.05$ ) dhe konsumin e frutave/perimeve (Tabela 10.4).

Përqendrimet adekuate të folatit në RBC, të përcaktuara si  $\geq 305$  nmol/L për të parandaluar aneminë nga mungesa e folatit, u vunë re në 99.76% (95% CI: 98.64- 99.95) të pjesëmarrësve, 99.56% (95% CI: 97.53-99.92) në WRA nën 30 vjeç, 100 % (95% CI: 97.17-100) në WRA prej 30 deri në 39 vjeç dhe 100% (95% CI: 90.59-100) në mbi 40 vjeç (Tabela 10.5).

**Tabela 10.4.** Nivelet e folatit në RBC në WRA shqiptare në lidhje me moshën, konsumin e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik. (Mesataret gjeometrike së bashku me intervalet e besimit prej 95%). *Y-duhanpirës aktual; N-asnjëherë ose ish-duhanpirës; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik. vlera  $p < 0.05$*

		N	Folati në RBC (nmol/L)
		Mesatare (95% CI)	
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	225	594.86 (577.17-613.11)
	30-39	136	642.91 (617.51-669.36)
	40-44	37	587.91 (538.38-642.00)
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve (racione/ditë)</b>	1	130	657.11 (607.30-711.01)
	2	149	582.93 (560.83-605.91)
	3	96	613.91 (585.47- 643.73)
	4	20	689.81 (625.17-761.13)
	5	2	702.97 (608.94-811.53)
<b>Pirja e Duhanit</b>	N	346	597.03 (582.38-612.05)
	Y	52	592.45 (548.25-640.21)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1	157	575.51 (553.99-597.87)
	2	128	607.16 (583.01-632.30)
	3	94	617.66 (585.84-651.20)
	4	18	627.37 (552.14-712.85)



**Tabela 10.5.** Prevalenca (%) e përqendrimeve “adekuate” (limiti  $\geq 305$  nmol/L) dhe “optimale” (limiti  $> 906$  nmol/L) të folatit në RBC sipas moshës, dietës së frutave dhe perimeve, zakonit të pirjes së duhanit dhe aktivitetit fizik. *Y-duhanpirës aktual; N-asnjëherë ose ish-duhanpirës; p = 0.68; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik.*

		N	Folati në RBC ( $>906$ nmol/L) % (95% CI)	Folati në RBC ( $\geq 305$ nmol/L) % (95% CI)
<b>TOTALI</b>		412	5.58 (3.37-7.79)	99.76 (98.64-99.95)
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	225	1.78 (0.00-3.51)	99.56 (97.53-99.92)
	30-39	136	9.56 (4.62-14.51)	100 (97.17-100)
	40-44	37	16.22 (4.34-28.09)	100 (90.59-100)
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve (racione/ditë)</b>	1	130	6.92 (2.56-11.29)	100 (97.08-100)
	2	149	6.04 (2.21-9.87)	99.32 (96.27-99.88)
	3	96	3.13 (0.00-6.61)	100 (96.15-100)
	4	20	10.00 (0.00-23.15)	100 (83.89-100)
	5	2	0	100 (34.24-100)
<b>Pirja e Duhanit</b>	N	346	6.07 (3.55-8.59)	99.71 (98.37-99.95)
	Y	52	1.92 (0-5.66)	100 (93.12-100)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1	157	4.46 (1.23-7.69)	100 (97.59-100)
	2	128	4.69 (1.03-8.35)	99.21 (95.67-99.86)
	3	94	9.57 (3.63-15.52)	100 (96.07-100)
	4	18	5.56 (0-16.14)	100 (81.57-100)

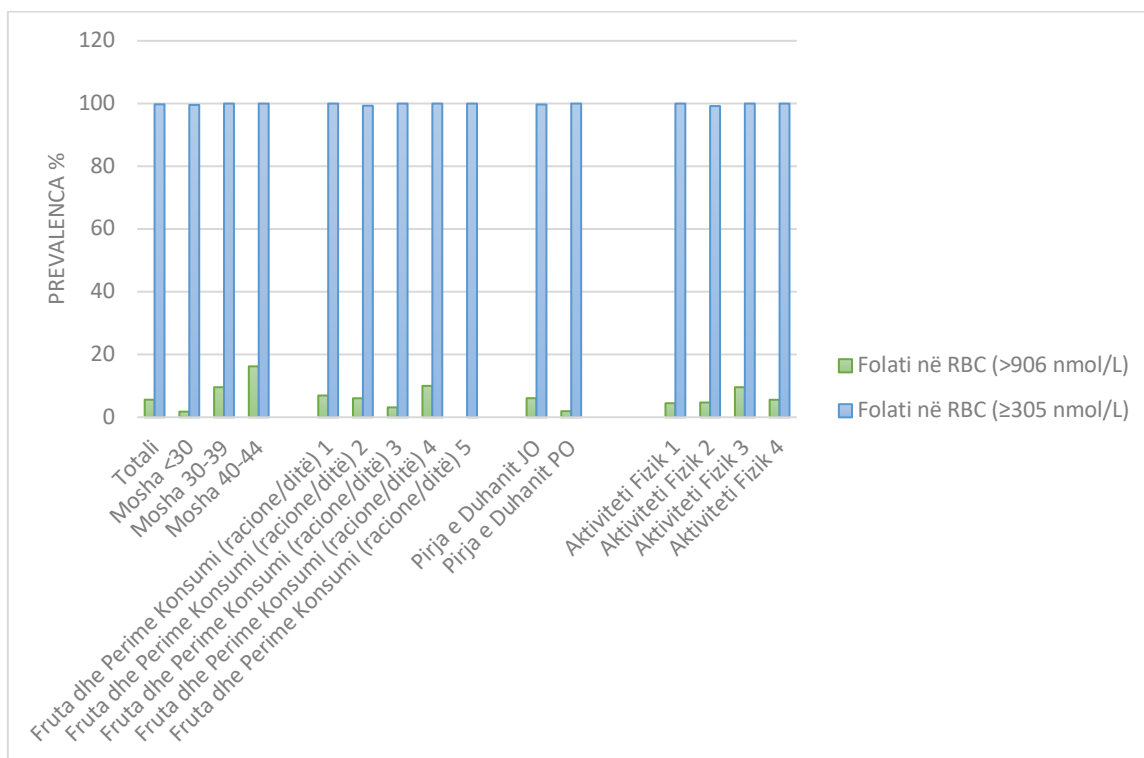
Përqendrimit e folatit në RBC prej >906 nmol/L, u zbuluan në vetëm 5.58% të pjesëmarrësve (Tabela 10.5) (Figura 10.6).

Mosha mesatare prej 34 vjeç lidhet me një përqendrim optimal të folatit në RBC mbi 906 nmol/L. Në të kundërt, përqendrimi i folatit në RBC nën 906 nmol/L shoqërohet nga një moshë mesatare prej 28 vjeç (Tabela 10.6). Vetëm një grua duhanpirëse arriti nivelet optimale të folatit në RBC të kërkuara nga limiti i vendosur prej >906 nmol/L, krahasuar me 21 jo-duhanpirëse.

Numri i grave të cilat nuk plotësonin nivelin e folatit në RBC prej >906nmol/L, pavarësisht se konsumonin të paktën dy racione frutash dhe perimesh në ditë, ishte domethënës. Ndërsa konsumi i frutave dhe perimeve rritet, numri i grave me nivele të folatit në RBC nën 906 nmol/L zvogëlohet (Tabela 10.6).

Aktiviteti fizik është gjithashtu i lidhur në mënyrë të zhdrejtë me numrin e grave me përqëndrime të folatit në RBC nën 906 nmol/L (Tabela 10.6) (Figura 10.7).

Rezultatet nga regresioni logjistik i shumëfishtë treguan se pjesëmarrësit të cilit nuk pinin duhan kishin 2.18 herë më shumë gjasa se grupi i referencës që të kishin nivel të përshtatshëm të folatit në RBC (OR 95% 0.09-54.25) (Tabela 10.7).



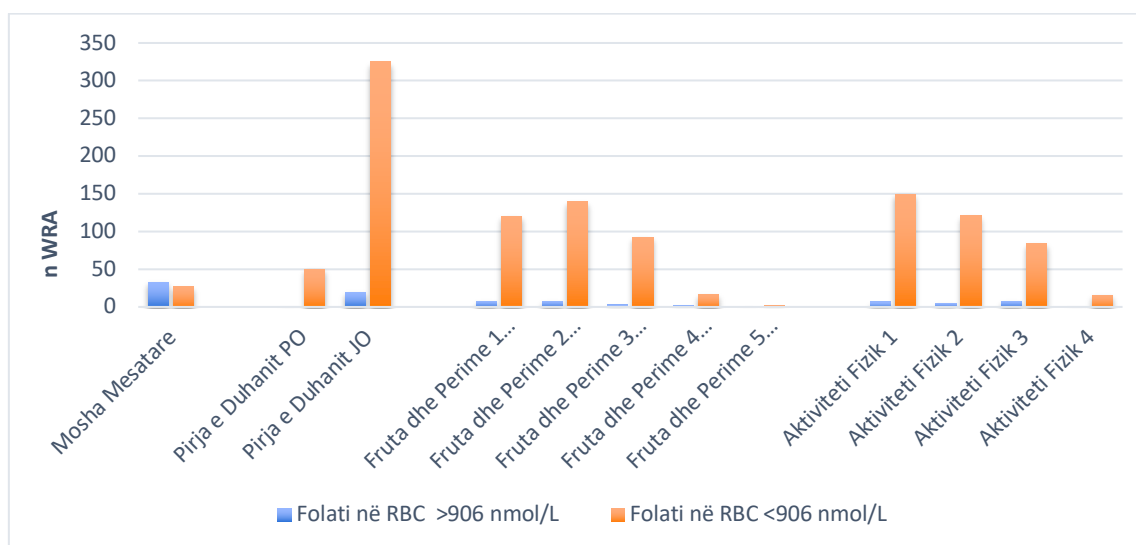
**Figura 10.6.** Paraqitja grafike e prevalencës (%) së përqendrimeve “adekuate” (limiti  $\geq 305$  nmol/L) dhe “optimale” (limiti >906 nmol/L) të folatit në RBC tek WRA shqiptare në lidhje me moshën, dietën e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik.

**Tabela 10.6.** WRA shqiptare me nivele të folateve në RBC mbi ose nën 906 nmol/L, siç përcaktohet nga mosha, konsumi i frutave dhe perimeve, zakoni i pirjes së duhanit dhe aktiviteti fizik. Y-*duhanpirës aktual*; N-*asnjëherë ose ish-duhanpirës*; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik.

	<b>Folati në RBC &gt;906 nmol/L (n)</b>	<b>Folati në RBC &lt;906 nmol/L (n)</b>
<b>Mosha Mesatare</b>	34	28
<b>Pirja e Duhanit Po</b>	1	51
<b>Pirja e Duhanit Jo</b>	21	325
<b>Fruta dhe Perime 1 racione/ditë</b>	9	121
<b>Fruta dhe Perime 2 racione/ditë</b>	9	140
<b>Fruta dhe Perime 3 racione/ditë</b>	3	93
<b>Fruta dhe Perime 4 racione/ditë</b>	2	18
<b>Fruta dhe Perime 5 racione/ditë</b>	0	2
<b>Aktiviteti Fizik 1</b>	7	150
<b>Aktiviteti Fizik 2</b>	6	122
<b>Aktiviteti Fizik 3</b>	9	85
<b>Aktiviteti Fizik 4</b>	1	17

**Tabela 10.7.** Raportet e gjasave (OR) për statusin “adekuat” të përqendrimeve të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në serum sipas karakteristikave të specifikuara. Modeli i regresionit të shumëfishtë logjistik ka marrë parasysh të gjitha variablat në tabelë. *Y-duhanpirës aktual; N-asnjëherë ose ish-duhanpirës.*

		<b>Folati në serum (&gt;15 nmol/L) OR (95% CI)</b>	<b>Folati në RBC (≥305 nmol/L) OR (95% CI)</b>	<b>Vitamina B12 në serum (≥350 pmol/L) OR (95% CI)</b>
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	1.00	1.00	1.00
	≥30	<b>2.52 (1.65 - 3.82)</b>	0.0045 (0.0006- 0.0322)	1.14 (0.75- 1.72)
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve</b>	1 në 2 racione	1.00	1.00	1.00
	3 në 4 racione	1.20 (0.76 - 1.88)	1.27 (0.05-31.37)	1.14 (0.73- 1.79)
<b>Pirja e Duhanit</b>	Y	1.00	1.00	1.00
	N	1.22 (0.67 - 2.19)	<b>2.18 (0.09 -54.25)</b>	1.26 (0.68 - 2.35)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1 në 2	1.00	1.00	1.00
	3 në 4	1.07 (0.68 - 1.67)	1.18 (0.05 -29.29)	1.16 (0.74 - 1.83)



**Figura 10.7.** Paraqitja grafike e WRA shqiptare me nivele të folateve në RBC mbi ose nën 906 nmol/L, siç përcaktohet nga mosha, konsumi i frutave dhe perimeve, zakoni i pirjes së duhanit dhe aktiviteti fizik.

### 10.2.3 Vitamina B12 në Serum

Mesatarja e përgjithshme gjeometrike e vitaminës B12 në serum ishte 397.50 pmol/L (95% CI: 383.32-412.20) (Tabela 10.1). Përqendrimi i vitaminës B12 në serum u rrit me aktivitetin fizik dhe tek subjektet jo duhanpirës (Tabela 10.8).

**Tabela 10.8.** Nivelet e vitaminës B12 në serum në WRA shqiptare në lidhje me moshën, konsumin e frutave dhe perimeve, zakonin e pirjes së duhanit dhe aktivitetin fizik. (Mesataret gjeometrike së bashku me intervalet e besimit prej 95%). *Y-duhanpirës aktual; N-asnjëherë ose ish-duhanpirës; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik. vlera  $p < 0.05$*

		N	Vitamina B12 në serum (pmol/L)
			Mesatare (95% CI)
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	225	407.57 (388.45-427.64)
	30-39	136	425.24 (398.05-454.29)
	40-44	37	379.38 (338.41-425.33)
<b>Konsumi i Frutave dhe Perimeve (racione/ditë)</b>	1	130	439.54 (391.68-493.24)
	2	149	390.71 (367.67-415.19)
	3	96	411.03 (379.51-445.17)
	4	20	367.82 (301.91-448.11)
	5	2	326.79 (5.19-20545.73)
<b>Pirja e Duhanit</b>	N	346	399.30 (383.81-415.42)
	Y	52	381.01 (340.56-426.26)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1	157	406.36 (383.55-430.52)
	2	128	385.32 (360.45-411.92)
	3	94	394.19 (363.60-427.36)
	4	18	429.54 (358.26-515.00)

Duke përdorur limitin  $\geq 350$  pmol/L për të gjithë popullsinë, prevalenca e një niveli adekuat të vitaminës B12 në serum ishte 62.87% (95% CI: 58.06-67.44) (Tabela 10.9). Diapazoni i moshës nga 30 deri në 39 vjeç shoqërohet me një prevalencë më të madhe prej 66.92% (95%CI: 58.45-74.42) të përqendrimit adekuat të vitaminës B12 në serum. 61.95% (95%CI: 56.67-66.95) e pjesëmarrësve që nuk pinë duhan kishin një nivel adekuat të vitaminës B12 në serum në lidhje me prevalencën prej 46.15% (95%CI: 33.34-59.49) në grupin aktual të duhanpirësve (Tabela 10.9).

Rezultatet nga regresioni logjistik i shumëfishtë (Tabela 10.7) nuk treguan dallime të rëndësishme për sa i përket niveleve të vitaminës B12 në serum në lidhje me parametrat e tjerë.

**Tabela 10.9.** Prevalenca (%) e përqendrimeve “adekuate” të vitaminës B12 në serum sipas moshës, dietës së frutave dhe perimeve, zakonit të pirjes së duhanit dhe aktivitetit fizik. *Y-duhanpirës aktual; N-asnjëherë ose ish-duhanpirës; p = 0.68; 14 të dhëna mungojnë për moshën/duhanpirjen; 15 të dhëna mungojnë për konsumin e fruta/perimeve dhe aktivitetin fizik.*

		N	Vitamina B12 në serum ( $\geq 350$ pmol/L) % (95% CI)
<b>TOTALI</b>		412	62.87 (58.06-67.44)
<b>Mosha (vitet)</b>	<30	225	61.71 (55.17-67.85)
	30-39	136	66.92 (58.45-74.42)
	40-44	37	54.05 (38.38-68.96)
<b>Konsumi i</b>	1	130	67.46 (58.86-75.02)
	2	149	60.96 (52.86-68.49)
<b>Frutave dhe</b>	3	96	59.37 (49.37-68.65)
	4	20	68.42 (46.01-84.63)
<b>Perimeve</b>	5	2	50.00 (9.45-90.55)
<b>Pirja e Duhanit</b>	N	346	61.95 (56.67-66.95)
	Y	52	46.15 (33.34-59.49)
<b>Aktiviteti Fizik</b>	1	157	64.52 (56.72-71.61)
	2	128	62.69 (53.99-70.65)
	3	94	63.74 (53.48-72.87)
	4	18	41.18 (21.61-63.99)

## 11 DISKUTIME

Ky studim është fokusuar në analizimin dhe raportimin e përqendrimeve të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në serum, në një grup grash shqiptare të shëndetshme në moshë fertiliteti, nga 18 deri në 44 vjeç. Synimi parësor i përzgjedhjes së kësaj kategorie grash lidhet me rekomandimet e WHO për të ndihmuar në përmirësimin e nivelit të FA tek gratë në moshë fertiliteti (WRA) në momentin e konceptimit. WRA shpesh shfaqin mungesë të folatit, veçanërisht ato të cilat kanë një dietë të varfër. Shtatzënitë e mëparshme, një nivel i ulët socialo-ekonomik dhe intervale të shkurtra ndërmjet shtatzënieve mund të ndikojnë gjithashtu në një nivel jo të përshtatshëm të folatit në WRA. Edhe pse thelbësor gjatë të gjithë jetës, roli i folatit është veçanërisht kritik gjatë fazave të hershme të zhvillimit embrional: Objektivi i strategjisë së shëndetit publik të WHO është të zvogëlojë prevalencën e NTDs midis lindjeve të gjalla duke rritur konsumin e ushqimeve të pasura me folate dhe suplementeve me bazë të FA; në shumë vende (aktualisht rreth 70), fortifikimi i detyrueshëm me FA i disa ushqimeve është zbatuar për të siguruar nivele optimale të folatit, veçanërisht në gratë në moshë fertile (World Health Organization, 2015; Murphy & Westmark, 2020).

Gratë pjesëmarrëse në studim paraqitën një nivel të ulët deri në të moderuar të folatit/FA në gjak, i cili lidhet kryesisht me dietën e pamjaftueshme të frutave dhe perimeve. Në fakt, gjetjet zbuluan se vetëm 38.23% paraqitën nivele adekuate të folatit në serum. Përkundrazi, duke marrë parasysh limitin udhëzues të WHO prej >906 nmol/L, vetëm 5.58% e WRA shqiptare të përfshirë në studim arrinin këtë përqendrim të folatit në RBC.

Një hulumtimi i ngjashëm i kryer në një rajon të Italisë së mesme-jugore zbuloi një mungesë të moderuar të folatit në serum. Ekzistonte një përqendrim joadekuat i folatit në serum në 77.50% të të gjithë subjekteve. Prevalenca e pamjaftueshmërisë ishte 69.60%, duke marrë parasysh vetëm pjesëmarrëset femra (Zappacosta et al., 2013).

Një studim tjetër, Projekti IMMIDIET i kryer në dy popullata evropiane, tregoi përqendrime të folatit në serum, të cilat janë të krahasueshme me gjetjet e hulumtimit tonë aktual (Pounis et al., 2014). Nivelet e folatit në serum të popullsisë italiane ishin zakonisht të pamjaftueshme me një prevalencë prej 66.70%. Megjithatë, pjesëmarrësit nga Mbretëria e Bashkuar paraqitën një profil më të mirë, me një frekuencë të pamjaftueshmërisë prej vetëm 22.10%, me gjasë si rezultat i zbatimit të programit të fortifikimit me FA.

U konsideruan vlerat limit të Daly et al. (1995) dhe Dhonukshe-Rutten et al. (2009) për parandalimin e sëmundjeve kardiovaskulare dhe NTDs. Këto vlera limiti nuk paraqesin domosdoshmërisht një mungesë ushqimore, por më tepër një vlerë kufitare të lidhur me parandalimin e sëmundjeve kardiovaskulare dhe ngjarjeve të NTDs (Daly et al., 1995; Girelli et al., 2003; Pfeiffer et al., 2005; Dhonukshe-Rutten et al., 2009).

Duke përdorur të njëjtin limit ( $>15$  nmol/L), Dhonukshe-Rutten et al. (2009) tregoi se në disa vende Evropiane, si konsumi ashtu edhe niveli i vitaminave B janë të pamjaftueshëm. Nivelet më të ulëta të folatit në serum u raportuan në Norvegji (6.8 nmol/L), Holandë (8.1 nmol/L), dhe Greqi (7.9 nmol/L). Megjithatë, këto rezultate nuk mund të krahasohen me të dhënat e marra në WRA shqiptare, për shkak të shumëllojshmërisë së moshës dhe gjinive të paraqitura në këto studime. Të krahasueshme me vlerën tonë prej 13.30 nmol/L (95% CI: 12.64-13.99 nmol/L), nivele të pamjaftueshme të folatit në serum u zbuluan në Itali (në dy studime: 11.30 nmol/L, 12.70 nmol/L), Republikën Çeke (14.50 nmol/L), Finland (14.30 nmol/L), Suedi (7.20 nmol/L), dhe Portugali (14.80 nmol/L).

Nga ana tjetër, vlera adekuate të folatit në serum ( $>15$  nmol/L) u vunë re në vende të tilla si Spanja (16.60 nmol/L), Gjermania (16.50 nmol/L) dhe Suedia (në një studim: 17.90 nmol/L), me popullsi me karakteristika të ngjashme me grupin tonë kërkimor (Dhonukshe-Rutten et al., 2009).

Një studim i gjerë u krye në 2018 për të vlerësuar të dhënat ekzistuese të 39 vendeve mbi nivelin e folatit në WRA (Rogers et al., 2018). Ky studim mori në konsideratë nivelin e folatit të WRA në vendet me të ardhura të ulëta dhe me të ardhura mesatarisht të ulëta, si dhe në vendet me të ardhura të larta ose me të ardhura mesatarisht të larta. Vlerat limit të përdorura për përcaktimin e përqendrimit adekuat të folatit në serum ndërmjet këtyre vendeve ishin:  $>7$  nmol/L,  $>10$  nmol/L dhe  $>14$  nmol/L. Çdo vend, pavarësisht grupit të të ardhurave ekonomike në të cilin bënte pjesë, ka përdorur limitin e tij përcaktues. Ndryshimet e vlerave limit të aplikuar janë një kufizim për krahasimin e rezultateve të folatit në serum të studimit tonë me ato të raportuara në një pjesë të studimit global të nivelit të folatit (Rogers et al., 2018).

Në vitin 2007, u krijua një skemë vullnetare e fortifikimit të miellit të grurit, në një vend me të ardhura mesatarisht të larta, të ngjashme me ekonominë tonë, si në Belize. Prevalenca e pamjaftueshmërisë së folatit në serum, në Belizë, u vu re të ishte 11% kur përqendrimi limit i përdorur ishte  $>14$  nmol/L (Rogers et al., 2018).



Kur vëzhgojmë nivelet tona të folatit në serum, vërejmë një ndryshim të rëndësishëm midis grupmoshave. Përqindja më e lartë e niveleve adekuate të folatit në serum u arrit tek gratë e moshës mbi 40 vjeç me vlerën përkatëse prej 59.46%. Nga ana tjetër, përqendrimi adekuat arrihet vetëm në një përqindje të kufizuar të grave të moshës nën 30 vjeç. Gratë e moshës nën 30 vjeç përfaqësojnë 54.60% të të gjithë pjesëmarrësve në studim, me nivele të folatit adekuate në serum të arritur në vetëm 28.57% të këtyre subjekteve.

Një gjendje më e qëndrueshme socialo-ekonomike dhe njohuri më të plota shëndetësore mund të ndihmojnë në shpjegimin e një prevalence në përqindje më të lartë të niveleve të përshtatshme të folatit në serum në grupmoshën mbi 30 vjeç. Ky ndryshim në vlerat e folatit në serum midis grupmoshave mund të vijë si rezultat i një ndërëgjegjësimi më të madh për rrezikun që përfshin një konceptim i mundshëm që nuk mbulohet nga një nivel adekuat i folatit ose gjithashtu një interes në rritje për të mbajtur një program të shëndetshëm ushqimor për të parandaluar plakjen.

Në studimin tonë egziston një lidhje midis nivelit të folatit dhe pirjes së duhanit. Mospirja e duhanit lidhet me një profil superior të folatit në mesin e variablave mjedisore jo-dietikë. Pjesëmarrësit të cilët nuk pinin duhan kishin 2.18 herë më shumë gjasa se grupi i referencës për të pasur një nivel adekuat të folatit në RBC. Gjatë analizimit të përqendrimeve të folatit në gjak, një studim i mëparshëm në dhuruesit italianë të gjakut zbuloi gjithashtu një lidhje midis pirjes së duhanit dhe nivelit të ulët të folatit në serum (Pounis et al., 2014). Po kështu, në një studim të një popullsie të shëndetshme greke, joduhanpirësit kishin nivele 13% më të larta të folatit në gjak sesa duhanpirësit (Vardavas et al., 2008). Në një studim të grave shtatzëna, joduhanpirëset kishin nivele 22% më të larta të folatit në gjak sesa duhanpirëset (McDonald et al., 2002).

Mekanizmi biologjik hipotetik i përfshirë në ndryshimin e nivelit të folatit mund të lidhet me përbërësit kimikë të cigares, të cilët mund të ndikojnë në aftësinë e qelizave për të metabolizuar dhe ruajtur folatin (Northrop-Clewes & Thurnham, 2007). Si rezultat i gjenerimit të radikaleve të lira, ndryshimet në ekuilibrin redoks të qelizës mund të kenë një ndikim në metabolizmin e njësive me një atom karbon, duke shteruar format e paqëndrueshme dhe të ndjeshme të folatit. Përveç kësaj, gratë të cilat pinë duhan kanë më pak gjasa të konsumojnë ushqime ose suplemente të pasura me folate.

Sipas të dhënave, 99.76% e grave pjesëmarrëse kishin një nivel adekuat të folatit në RBC. Kjo përqindje e përqendrimit adekuat të folatit në RBC u vu re në shumicën e pjesëmarrësve kur u mor në konsiderat limiti prej  $\geq 305$  nmol/L, i vendosur nga IOM.

Nga ana tjetër, u vu re një përshtatshmëri optimale e ulët e folatit në RBC kur përqendrimi limit i referencës u vendos në >906 nmol/L. Folati në RBC, u zbulua të jetë optimal vetëm në 5.58% të WRA kur aplikohet limiti prej >906 nmol/L.

Nivelet e folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 u matën në një studim cohort tek gratë shtatzëna në Alberta, ku programi i fortifikimit të ushqimit me FA është mandatar që nga viti 1998 (Fayyaz et al., 2014). Për nivelet e të dy vitaminave B, nuk u raportua një mungesë. Megjithatë, kur iu referuan vlerës limit >906 nmol/L, vlerat e folatit në RBC u paraqitën të pamjaftueshme në tremujorin e parë të shtatzënisë, me një prevalencë prej 24% (Fayyaz et al., 2014).

Në një studim nga Zappacosta et al. (2013), asnjë WRA nuk shfaqti nivele të përshtatshme të folatit në RBC kur limiti u vendos në >906 nmol/L. Në mënyrë të ngjashme, këto gjetje u konfirmuan gjithashtu në një studim në popullsinë suedeze (Öhrvik et al., 2018).

Spektori ushqimor në Zvicër ka pasuruar vullnetarisht me FA disa produkte ushqimore, por nuk ka zbatuar një program të organizuar të detyrueshëm të fortifikimit të ushqimit. Fortifikimi vullnetar ushqimor ka disa disavantazhe të rëndësishme, duke përfshirë mungesën e mbikëqyrjes së centralizuar, mungesën e gjurmueshmërisë gjithëpërfshirëse të konsumit total duke rezultuar në një mbulim të parregullt të popullsisë. Sipas një studimi të fundit të kryer në Zvicër, 91.80% e pjesëmarrësve të WRA kishin vlera të folatit në RBC që tregonin një rrezik të rritur për NTDs (>906 nmol/L) (Herter-Aeberli et al., 2020). Këto zbulime janë të krahasueshme me tonat, të cilat tregojnë nivele optimale të folatit në RBC në vetëm 5.58% të WRA shqiptare, bazuar në limitin prej >906 nmol/L.

Duke marrë parasysh rishikimin e Rogers et al. (2018), në gjashtë studime të vendeve me ekonomi me të ardhura mesatarisht të larta, u shqyrtua prevalenca e mungesës së folatit në RBC, e cila varionte nga 1% në 35%. Vetëm shteti i Jordanisë raportoi një prevalencë të lartë të pamjaftueshmërisë së folatit (83% e grave) duke iu referuar limitit për parandalimin e NTDs. Në mënyrë të ngjashme, duke përdorur të njëjtin limit si Jordania (>906 nmol/L), të dhënat tona zbuluan një prevalencë prej 94.42% të pamjaftueshmërisë së folatit në RBC tek WRA shqiptare.

Nga ana tjetër, kur krahasojmë rezultatet tona me rishikimin e kryer për vendet me ekonomi me të ardhura të larta, vlerat e raportuara të prevalencës janë gjithashtu të krahasueshme (Rogers et al., 2018). Rogers et al. (2018) raportoi tre nga katër studimet e analizuara dhe zbuloi se pamjaftueshmëria e folatit ishte e zakonshme në WRA kur vlera

limit e përdorur për vlerësimin e folatit në RBC ishte >906 nmol/L. Prevalenca e kësaj pamjaftueshmërie ishte përkatësisht 23% në Shtetet e Bashkuara të Amerikës, 64% në Irlandë, 73% në Zelandën e Re. Për më tepër, sipas studimit të Riksmaten Adults 2010–2011 në Suedi, prevalenca e pamjaftueshmërisë së folatit në RBC ishte 100%. Në kohën kur u kryen sondazhet, vetëm një nga këto katër vende, Shtetet e Bashkuara të Amerikës, kishte zbatuar programin e fortifikimit me FA.

Vitamina B12, është e lidhur ngushtë me nivelin e folatit (Wagner, 2001). Nivelet e folatit në serum lidhen drejtpërdrejt me nivelet e vitaminës B12 në serum (Zappacosta et al., 2013). Nivelet e ulëta të folatit në serum tek pjesëmarrësit tanë korrespondojnë me nivelet e ulëta të vitaminës B12 në serum. Sipas Dhonukshe-Rutten et al. (2009), në Evropë, popullsia në Gjermani, një studim nga Republika Çeke dhe një nga Italia, shfaqën nivele të ulëta të folatit në serum dhe një nivel në limitin mesatar të vitaminës B12 prej 300 pmol/L. Në vazhdim, në një studim suedez, zbuloi një nivel të moderuar të vitaminës B12 prej 300–350 pmol/L (Dhonukshe-Rutten et al., 2009).

Një përqendrim adekuat i vitaminës B12 u konstatua në 62.87% të grave. Gratë joduhanpirëse kishin një prevalencë më të madhe të mjaftueshmërisë së vitaminës B12 në serum, prej 61.95% krahasuar me 46.15% në grupin e duhanpirëseve.

Gratë të cilat ishin fizikisht aktive, nga ana tjetër, dukej se përdornin më rrallë duhanin dhe kishin tendencë të konsumonin një dietë ushqimore të shëndetshme që përfshin shumë fruta dhe perime, të cilat të gjitha lidhen me nivelet më të larta të folatit në serum në studimin tonë. Aktiviteti fizik u lidh me një nivel më të lartë të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në WRA shqiptare. E njëjta karakteristikë është vënë re më parë në Italinë e mesme-jugore, ku njerëzit aktivë kishin nivele dukshëm më të larta të folatit në serum sesa njerëzit të cilët zhvillonin një jetë sedentare (Zappacosta et al., 2013).

Konsumi i frutave dhe perimeve ishte i lidhur me përmirësimin e nivelit të folatit në WRA shqiptare. Gratë të cilat konsumonin më shumë se katër racione fruta dhe perime kishin një mjaftueshmëri të folatit në serum prej rreth 50%. Megjithatë, konsumi i frutave dhe perimeve mbetet relativisht i ulët në popullatën tonë, duke treguar një rënie të konsumit të dietës mesdhetare, veçanërisht në mesin e grave më të reja (Obeid et al., 2019).

Niveli i folatit tek WRA u ekzaminua në studimin tonë duke vlerësuar përqendrimin e folatit në serum dhe në RBC. Niveli i vitaminës B12 u vlerësua gjithashtu për shkak të implikimit të saj në reaksionet e metabolizmit të njësive me një atom karbon.

Për një mbrojtje sa më të lartë të shtatzënisë së rrezikuar nga NTDs, WHO rekomandoi vlera të folatit në RBC mbi 906 nmol/L. Ky limit u mor si referencë për vlerësimin e përshtatshmërisë së nivelit të folatit në RBC për rezultatet e popullatës sonë të WRA në Shqipëri. Ndërsa përqendrimi i folatit në RBC është një tregues më i mirë i rezervave të folatit në trup, folati në serum ndikohet nga konsumimi së fundmi i folatit. Për këtë arsye, një ulje e përqendrimit të folatit në serum mund të konsiderohet një shënues i hershëm i mungesës së folatit. Përbajtja e folatit në RBC duhet të përdoret për të vlerësuar riskun e mungesës së folatit në grupmosha të ndryshme të WRA. Megjithatë, një pjesë e madhe e studimeve të bazuara në popullatë nuk përfshijnë analizimin e përbajtjen së folatit në RBC dhe kjo qasje nuk përdoret zakonisht në shtete të ndryshme. Vlerat e folatit në RBC, të paraqitura në këtë studim, janë në përputhje me gjetjet e studimeve të ndryshme në të cilat programet e fortifikimit të ushqimit ende nuk janë zbatuar (*Country Profiles*, n.d.) (Zappacosta et al., 2013; Öhrvik et al., 2018; Rogers et al., 2018; Herter-Aeberli et al., 2020).

Problemet me bias-et e mundshme që mund të pasojnë nga përzgjedhja e metodës analitike dhe e nivelit limit mund të ndikojnë gjatë matjes së përqendrimit të folatit dhe prevalencës së mungesës së tij. Me vëllime shumë të vogla të nevojshme të mostrave, MBA ka një ndjeshmëri të lartë dhe është një qasje me kosto të ulët për matjen e të gjitha formave të folatit fiziologjikisht aktive. Megjithatë, nëse krahasojmë teknikat MBA, duhet të kemi parasysh se përdorimi i preparateve të ndryshme mikrobike dhe e kalibruesve të folatit mund të prodhojë rezultate të ndryshme, duke kërkuar gjithashtu modifikime të niveleve limit. Metoda MBA është konsideruar, megjithatë, “standardi i artë” i rekomanduar nga WHO kur krahasohen përqendrimet e folatit në gjak ndërmjet shteteve; sidoqoftë, kërkon procedura të zgjeruara, kështu që shumë studime përdorin metoda imunokimike të cilat janë, në fakt, të ndryshme nga njëra-tjetra.

Sipas hulumtimit të rishikimit global, 60% e sondazheve përdorën një nga format e ndryshme të PBA për të përcaktuar nivelin e folatit, ndërsa vetëm 29% përdorën MBA (Rogers et al., 2018). PBA u zhvillua për të përmbushur nevojat për aplikime terapeutike; megjithatë, paraqet përparësi dhe gjithashtu pengesa të caktuara që duhen zgjidhur. PBA është një test i automatizuar me një kapacitet të lartë të mostrës. Përparësitë përfshijnë saktësinë e mirë, kërkesat e ulëta të përfshirjes së operatorit dhe kostot e përballeshme të reagentëve. PBA mund të japë rezultate brenda një dite ose më pak pas marrjes së mostrës që do të analizohet. Gjatë këtij studimin u përpoqëm t'i merrnim në konsideratë për ti minimizuar me kujdes të gjithë faktorët, të cilët mund të shkaktojnë variacione në

rezultatet e përftuara, si pasojë e zgjedhjes së llojeve të ndryshme të metodave analitike të folatit dhe nevojës së mundshme për vlerat limit specifike të metodave analitike, për të përcaktuar nivelin e folatit. Për këtë arsye, u zgjodh të përdorej një teknologji imunoanalizuese ECL për përcaktimin e niveleve të folatit në serum, folatit në RBC dhe vitaminës B12 në serum tek WRA shqiptare.

Megjithëse janë kryer disa studime në vende të ndryshme për të vlerësuar nivelin e folatit dhe vitaminës B12, karakteristikat e ndryshme të popullatës të cilat janë marrë në konsideratë, si zakonet dietike, stili i jetesës, niveli limit i përdorur, ndryshimet në teknikat analitike dhe prania ose jo e programeve të fortifikimit të ushqimit, kanë prodhuar rezultate shpesh të vështira për t'u krahasuar.

Fatkeqësisht, deri më tani në popullatën shqiptare nuk është zhvilluar asnjë studim mbi nivelet e folatit, e si pasojë nuk ka të dhëna për t'u krahasuar me rezultatet tona.

Pavarësisht se të dhënat e paraqitura në këtë studim janë të një rëndësie të veçantë për shëndetin publik, ky studim përmban si pika të forta ashtu edhe kufizime. Ky është studimi i parë i këtij lloji i cili vlerëson nivelin e folatit në një popullatë të shëndetshme grash shqiptare në moshë fertiliteti. Është e rëndësishme të dallohet çdo pasaktësi që mund të ketë ardhur si rezultat i keqraportimit nga pjesëmarrësit. Konsumi i frutave dhe perimeve u vlerësua duke përdorur një pyetësor të shkurtër të vetë-deklaruar, i cili mund të mos pasqyrojë cilësinë totale dietike.

Folati ka potencialin të luajë një rol në parandalimin e një sërë gjendjesh mjekësore. Zbulimet në lidhje me folatin dhe parandalimin e NTDs duhet të rezultojnë në zbatimin e politikave të shëndetit publik për të përmirësuar konsumin e folatit, veçanërisht në vendet me evidenca të qarta të marrjes së ulët të folatit dhe niveleve të ulta të folatit në serum. Për më tepër, rreziku më i ulët i sëmundjeve kongjenitale të zemrës lidhej ndjeshëm me suplementimin me FA të nënës gjatë tremujorit të parë të shtatzanisë dhe kjo lidhje ishte akoma më e madhe për fenotipet më të rënda të sëmundjeve kongjenitale të zemrës (Qu et al., 2020).

Rezultatet e pasqyruara nga ky studim tregojnë se gratë shqiptare, bazuar në nivelet e tyre të folatit, janë në gjendje të parandalojnë aneminë, por më shumë se 90% e tyre nuk duken të mbrojtura mjaftueshëm nga rreziqet e NTDs. Në çdo rast, në këtë aspekt duhet marrë parasysh, se limiti prej  $>906$  nmol/L i përdorur për studimin e niveleve të folatit në RBC është përcaktuar nga metoda mikrobiologjike, ndërsa metoda imunologjike, si ajo e përdorur në këtë studim, sigurojnë rezultate pak më të ulëta.

Teknika të ndryshme, si suplementimi farmaceutik dhe/ose fortifikimi i detyrueshëm ose vullnetar me FA i produkteve ushqimore, duhet të zbatohen për të arritur qëllimet parandaluese, veçanërisht në WRA. Megjithatë, kjo lloj ndërhyrjeje nuk duhet të përdoret në vend të masave të përmirësimit të dietës ushqimore.

Përpjekje të lidhura me sektorin e shëndetit publik dhe programe të integruara ndërhyrje, veçanërisht për grupet vulnerabël si gratë në moshë fertiliteti, duhet të krijohen dhe zbatohen në Shqipëri.

## 12 REFERENCA

Agrimi, G., Di Noia, M. A., Marobbio, C. M., Fiermonte, G., Lasorsa, F. M., & Palmieri, F. (2004). Identification of the human mitochondrial S-adenosylmethionine transporter: bacterial expression, reconstitution, functional characterization and tissue distribution. *The Biochemical journal*, 379(Pt 1), 183–190. <https://doi.org/10.1042/BJ20031664>

Alavian-Ghavanini, A., & Rüegg, J. (2018). Understanding Epigenetic Effects of Endocrine Disrupting Chemicals: From Mechanisms to Novel Test Methods. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 122(1), 38–45. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12878>

Albania. (n.d.). Food Fortification Initiative. <https://www.ffinetwork.org/albania/?record=3>

Anderson, D. D., & Stover, P. J. (2009). SHMT1 and SHMT2 are functionally redundant in nuclear de novo thymidylate biosynthesis. *PloS one*, 4(6), e5839. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005839>

Anderson, D. D., Woeller, C. F., & Stover, P. J. (2007). Small ubiquitin-like modifier-1 (SUMO-1) modification of thymidylate synthase and dihydrofolate reductase. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 45(12), 1760–1763. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.355>

Anderson, D. D., Woeller, C. F., Chiang, E. P., Shane, B., & Stover, P. J. (2012). Serine hydroxymethyltransferase anchors de novo thymidylate synthesis pathway to nuclear lamina for DNA synthesis. *The Journal of biological chemistry*, 287(10), 7051–7062. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.333120>

Arcot, J., & Shrestha, A. (2005). Folate: methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 16(6-7), 253-266. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.013>

Aslinia, F., Mazza, J. J., & Yale, S. H. (2006). Megaloblastic anemia and other causes of macrocytosis. *Clinical medicine & research*, 4(3), 236–241.

<https://doi.org/10.3121/cmr.4.3.236>

Atta, C. A., Fiest, K. M., Frolkis, A. D., Jette, N., Pringsheim, T., St Germaine-Smith, C., Rajapakse, T., Kaplan, G. G., & Metcalfe, A. (2016). Global Birth Prevalence of Spina Bifida by Folic Acid Fortification Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American journal of public health*, *106*(1), e24–e34. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2015.302902>

Baggott, J. E., & Tamura, T. (2015). Folate-Dependent Purine Nucleotide Biosynthesis in Humans. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, *6*(5), 564–571. <https://doi.org/10.3945/an.115.008300>

Bailey L. B. (1998). Dietary reference intakes for folate: the debut of dietary folate equivalents. *Nutrition reviews*, *56*(10), 294–299. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01662.x>

Bailey, L. B. (2009). *Folate in health and disease*. In *Google Books*. CRC Press. <https://books.google.al/books?id=9y-iHQ0NLjMC&pg=PA74&lpg=PA74&dq=Bailey>

Bailey, L. B., & Berry, R. J. (2005). Folic acid supplementation and the occurrence of congenital heart defects, orofacial clefts, multiple births, and miscarriage. *The American journal of clinical nutrition*, *81*(5), 1213S–1217S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.5.1213>

Bailey, L. B., Stover, P. J., McNulty, H., Fenech, M. F., Gregory, J. F., 3rd, Mills, J. L., Pfeiffer, C. M., Fazili, Z., Zhang, M., Ueland, P. M., Molloy, A. M., Caudill, M. A., Shane, B., Berry, R. J., Bailey, R. L., Hausman, D. B., Raghavan, R., & Raiten, D. J. (2015). Biomarkers of Nutrition for Development-Folate Review. *The Journal of nutrition*, *145*(7), 1636S–1680S. <https://doi.org/10.3945/jn.114.206599>

Bailey, R. L., West Jr., K. P., & Black, R. E. (2015). The Epidemiology of Global Micronutrient Deficiencies. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *66*(2), 22–33. <https://doi.org/10.1159/000371618>



Bailey, S. W., & Ayling, J. E. (2009). The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(36), 15424–15429. <https://doi.org/10.1073/pnas.0902072106>

Beaudin, A. E., & Stover, P. J. (2007). Folate-mediated one-carbon metabolism and neural tube defects: balancing genome synthesis and gene expression. *Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews*, *81*(3), 183–203. <https://doi.org/10.1002/bdrc.20100>

Beaudin, A. E., & Stover, P. J. (2009). Insights into metabolic mechanisms underlying folate-responsive neural tube defects: a minireview. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology*, *85*(4), 274–284. <https://doi.org/10.1002/bdra.20553>

Bentov, Y. (2014). "A Western diet side story": the effects of transitioning to a Western-type diet on fertility. *Endocrinology*, *155*(7), 2341–2342. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1405>

Bergeron, F., Otto, A., Blache, P., Day, R., Denoroy, L., Brandsch, R., & Bataille, D. (1998). Molecular cloning and tissue distribution of rat sarcosine dehydrogenase. *European journal of biochemistry*, *257*(3), 556–561. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2570556.x>

Berry, R. J., Li, Z., Erickson, J. D., Li, S., Moore, C. A., Wang, H., Mulinare, J., Zhao, P., Wong, L. Y., Gindler, J., Hong, S. X., & Correa, A. (1999). Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. China-U.S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. *The New England journal of medicine*, *341*(20), 1485–1490. <https://doi.org/10.1056/NEJM199911113412001>

Bills, T., & Spatz, L. (1977). Neutrophilic hypersegmentation as an indicator of incipient folic acid deficiency. *American journal of clinical pathology*, *68*(2), 263–267. <https://doi.org/10.1093/ajcp/68.2.263>

Black, R. E., Victora, C. G., Walker, S. P., Bhutta, Z. A., Christian, P., de Onis, M., Ezzati, M., Grantham-McGregor, S., Katz, J., Martorell, R., Uauy, R., & Maternal and

Child Nutrition Study Group (2013). Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet (London, England)*, 382(9890), 427–451.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60937-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60937-X)

Blakley, R. L. (1987). Nomenclature and symbols for folic acid and related compounds. Recommendations 1986. *European Journal of Biochemistry*, 168(2), 251–253.

<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1987.tb13413.x>

Blakley, R. L., & Benkovic, S. J. (1985). *Chemistry and biochemistry of pterins*. Wiley.

Blount, B. C., Mack, M. M., Wehr, C. M., MacGregor, J. T., Hiatt, R. A., Wang, G., Wickramasinghe, S. N., Everson, R. B., & Ames, B. N. (1997). Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(7), 3290–3295. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.7.3290>

Botto, L. D., & Yang, Q. (2000). 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *American journal of epidemiology*, 151(9), 862–877.

<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a010290>

Botto, L. D., Lisi, A., Bower, C., Canfield, M. A., Dattani, N., De Vigan, C., De Walle, H., Erickson, D. J., Halliday, J., Irgens, L. M., Lowry, R. B., McDonnell, R., Metneki, J., Poetzsch, S., Ritvanen, A., Robert-Gnansia, E., Siffel, C., Stoll, C., & Mastroiacovo, P. (2006). Trends of selected malformations in relation to folic acid recommendations and fortification: an international assessment. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology*, 76(10), 693–705. <https://doi.org/10.1002/bdra.20307>

Botto, L. D., Moore, C. A., Khoury, M. J., & Erickson, J. D. (1999). Neural-tube defects. *The New England journal of medicine*, 341(20), 1509–1519.

<https://doi.org/10.1056/NEJM199911113412006>

Boushey, C. J., Beresford, S. A., Omenn, G. S., & Motulsky, A. G. (1995). A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*, *274*(13), 1049–1057.

<https://doi.org/10.1001/jama.1995.03530130055028>

Brigle, K. E., Spinella, M. J., Westin, E. H., & Goldman, I. D. (1994). Increased expression and characterization of two distinct folate binding proteins in murine erythroleukemia cells. *Biochemical pharmacology*, *47*(2), 337–345.

[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90025-6)

Bull, C. F., Mayrhofer, G., Zeegers, D., Mun, G. L., Hande, M. P., & Fenech, M. F. (2012). Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Environmental and molecular mutagenesis*, *53*(4), 311–323. <https://doi.org/10.1002/em.21688>

Burton, A. (2016). Folic acid: time for Europe to mandate fortified flour?. *The Lancet. Neurology*, *15*(12), 1208–1209. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30250-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30250-2)

Carlos, S., De La Fuente-Arrillaga, C., Bes-Rastrollo, M., Razquin, C., Rico-Campà, A., Martínez-González, M. A., & Ruiz-Canela, M. (2018). Mediterranean Diet and Health Outcomes in the SUN Cohort. *Nutrients*, *10*(4), 439. <https://doi.org/10.3390/nu10040439>

Carmel, R. (2008). How I treat cobalamin (vitamin B12) deficiency. *Blood*, *112*(6), 2214–2221. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-040253>

Caudill, M. A. (2010). Folate bioavailability: implications for establishing dietary recommendations and optimizing status. *The American journal of clinical nutrition*, *91*(5), 1455S–1460S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674E>

Caudill, M. A., Gregory, J. F., Hutson, A. D., & Bailey, L. B. (1998). Folate catabolism in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intakes. *The Journal of nutrition*, *128*(2), 204–208. <https://doi.org/10.1093/jn/128.2.204>

Cawley, S., Mullaney, L., McKeating, A., Farren, M., McCartney, D., & Turner, M. J. (2016). A review of European guidelines on periconceptual folic acid

supplementation. *European journal of clinical nutrition*, 70(2), 143–154.  
<https://doi.org/10.1038/ejcn.2015.131>

Chanarin, I. (1969). *The megaloblastic anaemias*. Blackwell Scientific Publ.

Chancy, C. D., Kekuda, R., Huang, W., Prasad, P. D., Kuhnel, J. M., Sirotinak, F. M., Roon, P., Ganapathy, V., & Smith, S. B. (2000). Expression and differential polarization of the reduced-folate transporter-1 and the folate receptor alpha in mammalian retinal pigment epithelium. *The Journal of biological chemistry*, 275(27), 20676–20684.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M002328200>

Charlton, C. G. (2014). Methylation reactions at dopaminergic nerve endings, serving as biological off-switches in managing dopaminergic functions. *Neural regeneration research*, 9(11), 1110–1111. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.135310>

Chavarro, J. E., Rich-Edwards, J. W., Rosner, B. A., & Willett, W. C. (2007). Diet and lifestyle in the prevention of ovulatory disorder infertility. *Obstetrics and gynecology*, 110(5), 1050–1058. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000287293.25465.e1>

Chen, L., Qi, H., Korenberg, J., Garrow, T. A., Choi, Y. J., & Shane, B. (1996). Purification and properties of human cytosolic folylpoly-gamma-glutamate synthetase and organization, localization, and differential splicing of its gene. *The Journal of biological chemistry*, 271(22), 13077–13087. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.22.13077>

Chiang, P. K. (1998). Biological effects of inhibitors of S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Pharmacology & therapeutics*, 77(2), 115–134.  
[https://doi.org/10.1016/s0163-7258\(97\)00089-2](https://doi.org/10.1016/s0163-7258(97)00089-2)

Christ, A., Lauterbach, M., & Latz, E. (2019). Western Diet and the Immune System: An Inflammatory Connection. *Immunity*, 51(5), 794–811.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.09.020>

Ciaccio, M., Bivona, G., & Bellia, C. (2008). Therapeutical approach to plasma homocysteine and cardiovascular risk reduction. *Therapeutics and clinical risk management*, 4(1), 219–224. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s1807>

Clifford, A. J., Noceti, E. M., Block-Joy, A., Block, T., & Block, G. (2005). Erythrocyte folate and its response to folic acid supplementation is assay dependent in women. *The Journal of nutrition*, 135(1), 137–143. <https://doi.org/10.1093/jn/135.1.137>

Collin, S. M., Metcalfe, C., Refsum, H., Lewis, S. J., Zuccolo, L., Smith, G. D., Chen, L., Harris, R., Davis, M., Marsden, G., Johnston, C., Lane, J. A., Ebbing, M., Bønaa, K. H., Nygård, O., Ueland, P. M., Grau, M. V., Baron, J. A., Donovan, J. L., Neal, D. E., ... Martin, R. M. (2010). Circulating folate, vitamin B12, homocysteine, vitamin B12 transport proteins, and risk of prostate cancer: a case-control study, systematic review, and meta-analysis. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 19(6), 1632–1642. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0180>

Colson, N. J., Naug, H. L., Nikbakht, E., Zhang, P., & McCormack, J. (2017). The impact of MTHFR 677 C/T genotypes on folate status markers: a meta-analysis of folic acid intervention studies. *European journal of nutrition*, 56(1), 247–260. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1076-x>

Cook, J. D., Cichowicz, D. J., George, S., Lawler, A., & Shane, B. (1987). Mammalian folylpoly-gamma-glutamate synthetase. 4. In vitro and in vivo metabolism of folate and analogues and regulation of folate homeostasis. *Biochemistry*, 26(2), 530–539. <https://doi.org/10.1021/bi00376a027>

Cook, R. J., & Blair, J. A. (1979). The distribution and chemical nature of radioactive folate in rat liver cells and rat liver mitochondria. *The Biochemical journal*, 178(3), 651–659.

Copp, A. J., Stanier, P., & Greene, N. D. (2013). Neural tube defects: recent advances, unsolved questions, and controversies. *The Lancet. Neurology*, 12(8), 799–810. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70110-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70110-8)

*Country Profiles*. (n.d.). Food Fortification Initiative. Retrieved June 27, 2022, from <https://www.ffinetwork.org/country-profiles>

Craciunescu, C. N., Albright, C. D., Mar, M. H., Song, J., & Zeisel, S. H. (2003). Choline availability during embryonic development alters progenitor cell mitosis in developing mouse hippocampus. *The Journal of nutrition*, *133*(11), 3614–3618.

<https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3614>

Craciunescu, C. N., Johnson, A. R., & Zeisel, S. H. (2010). Dietary choline reverses some, but not all, effects of folate deficiency on neurogenesis and apoptosis in fetal mouse brain. *The Journal of nutrition*, *140*(6), 1162–1166.

<https://doi.org/10.3945/jn.110.122044>

Da Cruz, S., Xenarios, I., Langridge, J., Vilbois, F., Parone, P. A., & Martinou, J. C. (2003). Proteomic analysis of the mouse liver mitochondrial inner membrane. *The Journal of biological chemistry*, *278*(42), 41566–41571.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M304940200>

Daly, L. E., Kirke, P. N., Molloy, A., Weir, D. G., & Scott, J. M. (1995). Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *JAMA*, *274*(21), 1698–1702.

De Meer, K., Smulders, Y. M., Dainty, J. R., Smith, D. E., Kok, R. M., Stehouwer, C. D., Finglas, P. M., & Jakobs, C. (2005). [6S]5-methyltetrahydrofolate or folic acid supplementation and absorption and initial elimination of folate in young and middle-aged adults. *European journal of clinical nutrition*, *59*(12), 1409–1416.

<https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602254>

De Wals, P., Tairou, F., Van Allen, M. I., Uh, S. H., Lowry, R. B., Sibbald, B., Evans, J. A., Van den Hof, M. C., Zimmer, P., Crowley, M., Fernandez, B., Lee, N. S., & Niyonsenga, T. (2007). Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada. *The New England journal of medicine*, *357*(2), 135–142.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa067103>

Dhonukshe-Rutten, R. A., de Vries, J. H., de Bree, A., van der Put, N., van Staveren, W. A., & de Groot, L. C. (2009). Dietary intake and status of folate and vitamin B12 and their association with homocysteine and cardiovascular disease in European populations. *European journal of clinical nutrition*, *63*(1), 18–30.

<https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602897>

Djukic, A. (2007). Folate-responsive neurologic diseases. *Pediatric neurology*, 37(6), 387–397. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2007.09.001>

Dwyer, J. T., Wiemer, K. L., Dary, O., Keen, C. L., King, J. C., Miller, K. B., Philbert, M. A., Tarasuk, V., Taylor, C. L., Gaine, P. C., Jarvis, A. B., & Bailey, R. L. (2015). Fortification and health: challenges and opportunities. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 6(1), 124–131. <https://doi.org/10.3945/an.114.007443>

Fayyaz, F., Wang, F., Jacobs, R. L., O'Connor, D. L., Bell, R. C., Field, C. J., & APrON Study Team (2014). Folate, vitamin B12, and vitamin B6 status of a group of high socioeconomic status women in the Alberta Pregnancy Outcomes and Nutrition (APrON) cohort. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*, 39(12), 1402–1408. <https://doi.org/10.1139/apnm-2014-0181>

Finkelstein, J. D. (2007). Metabolic regulatory properties of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 45(12), 1694–1699. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.341>

Fort, D. W., Lark, R. H., Smith, A. K., Marling-Cason, M., Weitman, S. D., Shane, B., & Kamen, B. A. (1993). Accumulation of 5-methyltetrahydrofolic acid and folylpolyglutamate synthetase expression by mitogen stimulated human lymphocytes. *British journal of haematology*, 84(4), 595–601. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1993.tb03133.x>

Fox, J. T., & Stover, P. J. (2008). Folate-mediated one-carbon metabolism. *Vitamins and hormones*, 79, 1–44. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(08\)00401-9](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(08)00401-9)

Freisheim, J. H., Price, E. M., & Ratnam, M. (1989). Folate coenzyme and antifolate transport proteins in normal and neoplastic cells. *Advances in enzyme regulation*, 29, 13–26. [https://doi.org/10.1016/0065-2571\(89\)90091-5](https://doi.org/10.1016/0065-2571(89)90091-5)

French, J. B., Jones, S. A., Deng, H., Pedley, A. M., Kim, D., Chan, C. Y., Hu, H., Pugh, R. J., Zhao, H., Zhang, Y., Huang, T. J., Fang, Y., Zhuang, X., & Benkovic, S. J. (2016).

Spatial colocalization and functional link of purinosomes with mitochondria. *Science (New York, N.Y.)*, 351(6274), 733–737. <https://doi.org/10.1126/science.aac6054>

Frigerio, B., Bizzoni, C., Jansen, G., Leamon, C. P., Peters, G. J., Low, P. S., Matherly, L. H., & Figini, M. (2019). Folate receptors and transporters: biological role and diagnostic/therapeutic targets in cancer and other diseases. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 38(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1123-1>

Garrow, T. A., Brenner, A. A., Whitehead, V. M., Chen, X. N., Duncan, R. G., Korenberg, J. R., & Shane, B. (1993). Cloning of human cDNAs encoding mitochondrial and cytosolic serine hydroxymethyltransferases and chromosomal localization. *The Journal of biological chemistry*, 268(16), 11910–11916. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)50286-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)50286-1)

George, L., Mills, J. L., Johansson, A. L., Nordmark, A., Olander, B., Granath, F., & Cnattingius, S. (2002). Plasma folate levels and risk of spontaneous abortion. *JAMA*, 288(15), 1867–1873. <https://doi.org/10.1001/jama.288.15.1867>

Gerhard, G. T., & Duell, P. B. (1999). Homocysteine and atherosclerosis. *Current opinion in lipidology*, 10(5), 417–428. <https://doi.org/10.1097/00041433-199910000-00006>

Ghannad-Zadeh, K., & Das, S. (2021). One-Carbon Metabolism Associated Vulnerabilities in Glioblastoma: A Review. *Cancers*, 13(12), 3067. <https://doi.org/10.3390/cancers13123067>

Giles, C. (1966). An account of 335 cases of megaloblastic anaemia of pregnancy and the puerperium. *Journal of clinical pathology*, 19(1), 1–11. <https://doi.org/10.1136/jcp.19.1.1>

Giovannucci, E. (2002). Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *The Journal of nutrition*, 132(8 Suppl), 2350S–2355S. <https://doi.org/10.1093/jn/132.8.2350S>



Girelli, D., Martinelli, N., Pizzolo, F., Friso, S., Olivieri, O., Stranieri, C., Trabetti, E., Faccini, G., Tinazzi, E., Pignatti, P. F., & Corrocher, R. (2003). The interaction between MTHFR 677 C-->T genotype and folate status is a determinant of coronary atherosclerosis risk. *The Journal of nutrition*, *133*(5), 1281–1285. <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1281>

Goldman I. D. (1971). The characteristics of the membrane transport of amethopterin and the naturally occurring folate. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *186*, 400–422. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1971.tb46996.x>

Gregory J. F., 3rd (2001). Case study: folate bioavailability. *The Journal of nutrition*, *131*(4 Suppl), 1376S–82S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.4.1376S>

Gregory, J. F., 3rd, Cuskelly, G. J., Shane, B., Toth, J. P., Baumgartner, T. G., & Stacpoole, P. W. (2000). Primed, constant infusion with [2H3] serine allows in vivo kinetic measurement of serine turnover, homocysteine remethylation, and transsulfuration processes in human one-carbon metabolism. *The American journal of clinical nutrition*, *72*(6), 1535–1541. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.6.1535>

Gregory, J. F., 3rd, Williamson, J., Liao, J. F., Bailey, L. B., & Toth, J. P. (1998). Kinetic model of folate metabolism in nonpregnant women consuming [2H2] folic acid: isotopic labeling of urinary folate and the catabolite para-acetamidobenzoylglutamate indicates slow, intake-dependent, turnover of folate pools. *The Journal of nutrition*, *128*(11), 1896–1906. <https://doi.org/10.1093/jn/128.11.1896>

Gropper, S. A. S., & Smith, J. L. (2013). *Advanced nutrition and human metabolism*. Sixth edition. Belmont, CA: Wadsworth/Cengage Learning.

Grosso, G., Marventano, S., D'Urso, M., Mistretta, A., & Galvano, F. (2017). The Mediterranean healthy eating, ageing, and lifestyle (MEAL) study: rationale and study design. *International journal of food sciences and nutrition*, *68*(5), 577–586. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1262335>

Guo, T., Chen, H., Liu, B., Ji, W., & Yang, C. (2012). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese Han

population. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 16(8), 968–973.  
<https://doi.org/10.1089/gtmb.2012.0091>

Halsted, C. H. (1989). The intestinal absorption of dietary folate in health and disease. *Journal of the American College of Nutrition*, 8(6), 650–658.  
<https://doi.org/10.1080/07315724.1989.10720340>

Halsted, C. H., Villanueva, J. A., & Devlin, A. M. (2002). Folate deficiency, methionine metabolism, and alcoholic liver disease. *Alcohol*, 27(3), 169–172.  
[https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(02\)00225-2](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(02)00225-2)

Henderson, G. B., & Zevely, E. M. (1983). Structural requirements for anion substrates of the methotrexate transport system in L1210 cells. *Archives of biochemistry and biophysics*, 221(2), 438–446. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(83\)90162-5](https://doi.org/10.1016/0003-9861(83)90162-5)

Herbert V. (1987). Making sense of laboratory tests of folate status: folate requirements to sustain normality. *American journal of hematology*, 26(2), 199–207.  
<https://doi.org/10.1002/ajh.2830260211>

Herter-Aeberli, I., Wehrli, N., Bärlocher, K., Andersson, M., & Sych, J. (2020). Inadequate Status and Low Awareness of Folate in Switzerland-A Call to Strengthen Public Health Measures to Ensure Sufficient Intakes. *Nutrients*, 12(12), 3729.  
<https://doi.org/10.3390/nu12123729>

Higgins, C. (1995). Deficiency testing for iron, vitamin B12 and folate. *Nursing times*, 91(22), 38–39.

Higgins, J. R., Quinlivan, E. P., McPartlin, J., Scott, J. M., Weir, D. G., & Darling, M. R. (2000). The relationship between increased folate catabolism and the increased requirement for folate in pregnancy. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 107(9), 1149–1154. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2000.tb11115.x>

Hoffbrand, A. V., & Herbert, V. (1999). Nutritional anemias. *Seminars in hematology*, 36(4 Suppl 7), 13–23.

Homocysteine Studies Collaboration. (2002). Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA*, 288(16), 2015–2022.

<https://doi.org/10.1001/jama.288.16.2015>

Hondorp, E. R., & Matthews, R. G. (2006). Methionine. *EcoSal Plus*, 2(1), 10.1128/ecosalplus.3.6.1.7. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.3.6.1.7>

Honein, M. A., Paulozzi, L. J., Mathews, T. J., Erickson, J. D., & Wong, L. Y. (2001). Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA*, 285(23), 2981–2986. <https://doi.org/10.1001/jama.285.23.2981>

Hopkins, S. M., Gibney, M. J., Nugent, A. P., McNulty, H., Molloy, A. M., Scott, J. M., Flynn, A., Strain, J. J., Ward, M., Walton, J., & McNulty, B. A. (2015). Impact of voluntary fortification and supplement use on dietary intakes and biomarker status of folate and vitamin B-12 in Irish adults. *The American journal of clinical nutrition*, 101(6), 1163–1172. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.107151>

Horne, D. W. (1990). Na<sup>+</sup> and pH dependence of 5-methyltetrahydrofolic acid and methotrexate transport in freshly isolated hepatocytes. *Biochimica et biophysica acta*, 1023(1), 47–55. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(90\)90008-c](https://doi.org/10.1016/0005-2736(90)90008-c)

Horne, D. W., & Reed, K. A. (1992). Transport of methotrexate in basolateral membrane vesicles from rat liver. *Archives of biochemistry and biophysics*, 298(1), 121–128. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(92\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0003-9861(92)90102-3)

Horne, D. W., Holloway, R. S., & Said, H. M. (1992). Uptake of 5-formyltetrahydrofolate in isolated rat liver mitochondria is carrier-mediated. *The Journal of nutrition*, 122(11), 2204–2209.

<https://doi.org/10.1093/jn/122.11.2204>

Horne, D. W., Holloway, R. S., & Wagner, C. (1997). Transport of S-adenosylmethionine in isolated rat liver mitochondria. *Archives of biochemistry and biophysics*, 343(2), 201–206.

<https://doi.org/10.1006/abbi.1997.0167>

Horne, D. W., Patterson, D., & Cook, R. J. (1989). Effect of nitrous oxide inactivation of vitamin B12-dependent methionine synthetase on the subcellular distribution of folate coenzymes in rat liver. *Archives of biochemistry and biophysics*, 270(2), 729–733. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(89\)90556-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(89)90556-0)

Howell, W.H. (1890). The life-history of the formed elements of the blood, especially the red blood corpuscles. *Journal of Morphology*, 4(1), 57–116. <https://doi.org/10.1002/jmor.1050040105>

Hu, J., Wang, B., & Sahyoun, N. R. (2016). Application of the Key Events Dose-response Framework to Folate Metabolism. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(8), 1325–1333. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.807221>

Institute of Medicine. (1998). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. In [nap.nationalacademies.org](http://nap.nationalacademies.org). <https://nap.nationalacademies.org/catalog/6015/dietary-reference-intakes-for-thiamin-riboflavin-niacin-vitamin-b6-folate-vitamin-b12-pantothenic-acid-biotin-and-choline>

Iyer, R., & Tomar, S. K. (2009). Folate: a functional food constituent. *Journal of food science*, 74(9), R114–R122. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01359.x>

Jacob, R. A., Gretz, D. M., Taylor, P. C., James, S. J., Pogribny, I. P., Miller, B. J., Henning, S. M., & Swendseid, M. E. (1998). Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *The Journal of nutrition*, 128(7), 1204–1212. <https://doi.org/10.1093/jn/128.7.1204>

Jacob, R. A., Wu, M. M., Henning, S. M., & Swendseid, M. E. (1994). Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. *The Journal of nutrition*, 124(7), 1072–1080. <https://doi.org/10.1093/jn/124.7.1072>

Jacques, P. F., Selhub, J., Bostom, A. G., Wilson, P. W., & Rosenberg, I. H. (1999). The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *The New England journal of medicine*, *340*(19), 1449–1454.

<https://doi.org/10.1056/NEJM199905133401901>

Jakaria, M., Park, S. Y., Haque, M. E., Karthivashan, G., Kim, I. S., Ganesan, P., & Choi, D. K. (2018). Neurotoxic Agent-Induced Injury in Neurodegenerative Disease Model: Focus on Involvement of Glutamate Receptors. *Frontiers in molecular neuroscience*, *11*, 307. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00307>

Karmin, O., Connie W.H., W., Victoria Sid., & Yaw L., Siow. (2020). Nonalcoholic fatty liver disease and use of folate. In *Molecular nutrition : vitamins*. London Academic Press.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811907-5.00028-2>

Kelly, P., McPartlin, J., Goggins, M., Weir, D. G., & Scott, J. M. (1997). Unmetabolized folic acid in serum: acute studies in subjects consuming fortified food and supplements. *The American journal of clinical nutrition*, *65*(6), 1790–1795.

<https://doi.org/10.1093/ajcn/65.6.1790>

Kennedy, D. A., Stern, S. J., Moretti, M., Matok, I., Sarkar, M., Nickel, C., & Koren, G. (2011). Folate intake and the risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer epidemiology*, *35*(1), 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2010.11.004>

Khoshnood, B., Loane, M., de Walle, H., Arriola, L., Addor, M. C., Barisic, I., Beres, J., Bianchi, F., Dias, C., Draper, E., Garne, E., Gatt, M., Haeusler, M., Klungsoyr, K., Latos-Bielenska, A., Lynch, C., McDonnell, B., Nelen, V., Neville, A. J., O'Mahony, M. T., ... Dolk, H. (2015). Long term trends in prevalence of neural tube defects in Europe: population based study. *BMJ (Clinical research ed.)*, *351*, h5949.

<https://doi.org/10.1136/bmj.h5949>

Kim, Y. I. (1999). Folate and cancer prevention: a new medical application of folate beyond hyperhomocysteinemia and neural tube defects. *Nutrition reviews*, *57*(10), 314–321. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1999.tb06905.x>

Korimerla, N., & Wahl, D. R. (2022). Interactions between Radiation and One-Carbon Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1919. <https://doi.org/10.3390/ijms23031919>

Korsmo, H. W., & Jiang, X. (2021). One carbon metabolism and early development: a diet-dependent destiny. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 32(8), 579–593. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.05.011>

Korsmo, H. W., Jiang, X., & Caudill, M. A. (2019). Choline: Exploring the Growing Science on Its Benefits for Moms and Babies. *Nutrients*, 11(8), 1823. <https://doi.org/10.3390/nu11081823>

Kruh, G. D., & Belinsky, M. G. (2003). The MRP family of drug efflux pumps. *Oncogene*, 22(47), 7537–7552. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206953>

Krupenko, N. I., Holmes, R. S., Tsybovsky, Y., & Krupenko, S. A. (2015). Aldehyde dehydrogenase homologous folate enzymes: Evolutionary switch between cytoplasmic and mitochondrial localization. *Chemico-biological interactions*, 234, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.12.022>

Kutzbach, C., & Stokstad, E. L. (1971). Mammalian methylenetetrahydrofolate reductase. Partial purification, properties, and inhibition by S-adenosylmethionine. *Biochimica et biophysica acta*, 250(3), 459–477. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(71\)90247-6](https://doi.org/10.1016/0005-2744(71)90247-6)

Lal, A., & Ames, B. N. (2011). Association of chromosome damage detected as micronuclei with hematological diseases and micronutrient status. *Mutagenesis*, 26(1), 57–62. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq081>

Langie, S. A., Achterfeldt, S., Gorniak, J. P., Halley-Hogg, K. J., Oxley, D., van Schooten, F. J., Godschalk, R. W., McKay, J. A., & Mathers, J. C. (2013). Maternal folate depletion and high-fat feeding from weaning affects DNA methylation and DNA repair in brain of adult offspring. *FASEB journal : official publication of the Federation of American*

*Societies for Experimental Biology*, 27(8), 3323–3334. <https://doi.org/10.1096/fj.12-224121>

Li, K., Wahlqvist, M. L., & Li, D. (2016). Nutrition, One-Carbon Metabolism and Neural Tube Defects: A Review. *Nutrients*, 8(11), 741. <https://doi.org/10.3390/nu8110741>

Lin, B. F., Huang, R. F., & Shane, B. (1993). Regulation of folate and one-carbon metabolism in mammalian cells. III. Role of mitochondrial folylpoly-gamma-glutamate synthetase. *The Journal of biological chemistry*, 268(29), 21674–21679. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)80594-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)80594-8)

Lin, M.Y., & Young, C.M. (2000). Folate levels in cultures of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 10(5-6), 409-413. [http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00056-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00056-X)

Lionaki, E., Ploumi, C., & Tavernarakis, N. (2022). One-Carbon Metabolism: Pulling the Strings behind Aging and Neurodegeneration. *Cells*, 11(2), 214. <https://doi.org/10.3390/cells11020214>

Liu, M., Ge, Y., Cabelof, D. C., Aboukameel, A., Heydari, A. R., Mohammad, R., & Matherly, L. H. (2005). Structure and regulation of the murine reduced folate carrier gene: identification of four noncoding exons and promoters and regulation by dietary folate. *The Journal of biological chemistry*, 280(7), 5588–5597. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412662200>

López-Camelo, J. S., Orioli, I. M., da Graça Dutra, M., Nazer-Herrera, J., Rivera, N., Ojeda, M. E., Canessa, A., Wettig, E., Fontannaz, A. M., Mellado, C., & Castilla, E. E. (2005). Reduction of birth prevalence rates of neural tube defects after folic acid fortification in Chile. *American journal of medical genetics. Part A*, 135(2), 120–125. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30651>

Low, P. S., & Kularatne, S. A. (2009). Folate-targeted therapeutic and imaging agents for cancer. *Current opinion in chemical biology*, 13(3), 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.03.022>

Lowe, K. E., Osborne, C. B., Lin, B. F., Kim, J. S., Hsu, J. C., & Shane, B. (1993). Regulation of folate and one-carbon metabolism in mammalian cells. II. Effect of folylpoly-gamma-glutamate synthetase substrate specificity and level on folate metabolism and folylpoly-gamma-glutamate specificity of metabolic cycles of one-carbon metabolism. *The Journal of biological chemistry*, 268(29), 21665–21673. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)80593-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)80593-6)

Lu, Y., & Low, P. S. (2002). Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. *Advanced drug delivery reviews*, 54(5), 675–693. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(02\)00042-x](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00042-x)

MacFarlane, A. J., Perry, C. A., McEntee, M. F., Lin, D. M., & Stover, P. J. (2011). Mthfd1 is a modifier of chemically induced intestinal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 32(3), 427–433. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq270>

Macrocytic anemias. Hillman R.S., & Ault K.A., & Leporrier M, & Rinder H.M. (Eds.), (2016). *Hematology in Clinical Practice*, 5e. McGraw Hill. <https://hemonc.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1802&sectionid=124977420>

Maruvada, P., Stover, P. J., Mason, J. B., Bailey, R. L., Davis, C. D., Field, M. S., Finnell, R. H., Garza, C., Green, R., Gueant, J. L., Jacques, P. F., Klurfeld, D. M., Lamers, Y., MacFarlane, A. J., Miller, J. W., Molloy, A. M., O'Connor, D. L., Pfeiffer, C. M., Potischman, N. A., Rodricks, J. V., ... Zappalà, G. (2020). Knowledge gaps in understanding the metabolic and clinical effects of excess folate/folic acid: a summary, and perspectives, from an NIH workshop. *The American journal of clinical nutrition*, 112(5), 1390–1403. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa259>

Matherly, L. H., & Goldman, D. I. (2003). Membrane transport of folate. *Vitamins and hormones*, 66, 403–456. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(03\)01012-4](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(03)01012-4)

Matherly, L. H., Hou, Z., & Deng, Y. (2007). Human reduced folate carrier: translation of basic biology to cancer etiology and therapy. *Cancer metastasis reviews*, 26(1), 111–128. <https://doi.org/10.1007/s10555-007-9046-2>



Matthews, R. G., Ghose, C., Green, J. M., Matthews, K. D., & Dunlap, R. B. (1987). Folylpolyglutamates as substrates and inhibitors of folate-dependent enzymes. *Advances in enzyme regulation*, 26, 157–171. [https://doi.org/10.1016/0065-2571\(87\)90012-4](https://doi.org/10.1016/0065-2571(87)90012-4)

McCarthy, E. A., Titus, S. A., Taylor, S. M., Jackson-Cook, C., & Moran, R. G. (2004). A mutation inactivating the mitochondrial inner membrane folate transporter creates a glycine requirement for survival of chinese hamster cells. *The Journal of biological chemistry*, 279(32), 33829–33836. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403677200>

McDonald, S. D., Perkins, S. L., Jodouin, C. A., & Walker, M. C. (2002). Folate levels in pregnant women who smoke: an important gene/environment interaction. *American journal of obstetrics and gynecology*, 187(3), 620–625. <https://doi.org/10.1067/mob.2002.125239>

McLean, E., de Benoist, B., & Allen, L. H. (2008). Review of the magnitude of folate and vitamin B12 deficiencies worldwide. *Food and nutrition bulletin*, 29(2 Suppl), S38–S51. <https://doi.org/10.1177/15648265080292S107>

McPartlin, J., Halligan, A., Scott, J. M., Darling, M., & Weir, D. G. (1993). Accelerated folate breakdown in pregnancy. *Lancet (London, England)*, 341(8838), 148–149. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)90007-4)

Min, S. H., Oh, S. Y., Karp, G. I., Poncz, M., Zhao, R., & Goldman, I. D. (2008). The clinical course and genetic defect in the PCFT gene in a 27-year-old woman with hereditary folate malabsorption. *The Journal of pediatrics*, 153(3), 435–437. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2008.04.009>

Ministria e Shëndetësisë. (2014). *Mielli pasurohet me acid folik dhe hekur – Ministria e Shëndetësisë*. Republika e Kosovës. <https://msh.rks-gov.net/sq/mielli-pasurohet-me-acid-folik-dhe-hekur/>

Minton, D. R., Nam, M., McLaughlin, D. J., Shin, J., Bayraktar, E. C., Alvarez, S. W., Sviderskiy, V. O., Papagiannakopoulos, T., Sabatini, D. M., Birsoy, K., & Possemato, R.

(2018). Serine Catabolism by SHMT2 Is Required for Proper Mitochondrial Translation Initiation and Maintenance of Formylmethionyl-tRNAs. *Molecular cell*, 69(4), 610–621.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.01.024>

Miranda, T. B., & Jones, P. A. (2007). DNA methylation: the nuts and bolts of repression. *Journal of cellular physiology*, 213(2), 384–390. <https://doi.org/10.1002/jcp.21224>

Moat, S. J., Lang, D., McDowell, I. F., Clarke, Z. L., Madhavan, A. K., Lewis, M. J., & Goodfellow, J. (2004). Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. *The Journal of nutritional biochemistry*, 15(2), 64–79. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2003.08.010>

Molloy, A. M. (2002). Folate bioavailability and health. *International journal for vitamin and nutrition research.*, 72(1), 46–52. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.72.1.46>

Moran, R. G., & Colman, P. D. (1984). Measurement of folylpolyglutamate synthetase in mammalian tissues. *Analytical biochemistry*, 140(2), 326–342. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(84\)90174-x](https://doi.org/10.1016/0003-2697(84)90174-x)

Moretti, P., Sahoo, T., Hyland, K., Bottiglieri, T., Peters, S., del Gaudio, D., Roa, B., Curry, S., Zhu, H., Finnell, R. H., Neul, J. L., Ramaekers, V. T., Blau, N., Bacino, C. A., Miller, G., & Scaglia, F. (2005). Cerebral folate deficiency with developmental delay, autism, and response to folinic acid. *Neurology*, 64(6), 1088–1090. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000154641.08211.B7>

Motokawa, Y., & Kikuchi, G. (1971). Glycine metabolism in rat liver mitochondria. V. Intramitochondrial localization of the reversible glycine cleavage system and serine hydroxymethyltransferase. *Archives of biochemistry and biophysics*, 146(2), 461–464. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(71\)90149-4](https://doi.org/10.1016/0003-9861(71)90149-4)

Mottino, A. D., Hoffman, T., Jennes, L., & Vore, M. (2000). Expression and localization of multidrug resistant protein mrp2 in rat small intestine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 293(3), 717–723. <https://jpet.aspetjournals.org/content/293/3/717.long>

Mudd, S. H., & Poole, J. R. (1975). Labile methyl balances for normal humans on various dietary regimens. *Metabolism: clinical and experimental*, 24(6), 721–735. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(75\)90040-2](https://doi.org/10.1016/0026-0495(75)90040-2)

Murphy, M. E., & Westmark, C. J. (2020). Folic Acid Fortification and Neural Tube Defect Risk: Analysis of the Food Fortification Initiative Dataset. *Nutrients*, 12(1), 247. <https://doi.org/10.3390/nu12010247>

Murphy, M., Keating, M., Boyle, P., Weir, D. G., & Scott, J. M. (1976). The elucidation of the mechanism of folate catabolism in the rat. *Biochemical and biophysical research communications*, 71(4), 1017–1024. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(76\)90756-7](https://doi.org/10.1016/0006-291x(76)90756-7)

Nair, J. R., & McGuire, J. J. (2005). Submitochondrial localization of the mitochondrial isoform of folylpolyglutamate synthetase in CCRF-CEM human T-lymphoblastic leukemia cells. *Biochimica et biophysica acta*, 1746(1), 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2005.08.004>

Northrop-Clewes, C. A., & Thurnham, D. I. (2007). Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 377(1-2), 14–38. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.08.028>

O'Broin, J. D., Temperley, I. J., Brown, J. P., & Scott, J. M. (1975). Nutritional stability of various naturally occurring monoglutamate derivatives of folic acid. *The American journal of clinical nutrition*, 28(5), 438–444. <https://doi.org/10.1093/ajcn/28.5.438>

Obeid, R., Holzgreve, W., & Pietrzik, K. (2019). Folate supplementation for prevention of congenital heart defects and low birth weight: an update. *Cardiovascular diagnosis and therapy*, 9(Suppl 2), S424–S433. <https://doi.org/10.21037/cdt.2019.02.03>

*Office of Dietary Supplements - Folate*. (n.d.). Ods.od.nih.gov. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Folate-HealthProfessional/#en133>

Öhrvik, V., Lemming, E. W., Nälsén, C., Becker, W., Ridefelt, P., & Lindroos, A. K. (2018). Dietary intake and biomarker status of folate in Swedish adults. *European journal of nutrition*, 57(2), 451–462. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1328-4>

Osborne, C. B., Lowe, K. E., & Shane, B. (1993). Regulation of folate and one-carbon metabolism in mammalian cells. I. Folate metabolism in Chinese hamster ovary cells expressing *Escherichia coli* or human folylpoly-gamma-glutamate synthetase activity. *The Journal of biological chemistry*, 268(29), 21657–21664. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)80592-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)80592-4)

Palmieri, F. (2004). The mitochondrial transporter family (SLC25): physiological and pathological implications. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 447(5), 689–709.

Parker, N., Turk, M. J., Westrick, E., Lewis, J. D., Low, P. S., & Leamon, C. P. (2005). Folate receptor expression in carcinomas and normal tissues determined by a quantitative radioligand binding assay. *Analytical biochemistry*, 338(2), 284–293. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.026>

Pasternack, L. B., Littlepage, L. E., Laude, D. A., Jr, & Appling, D. R. (1996). <sup>13</sup>C NMR analysis of the use of alternative donors to the tetrahydrofolate-dependent one-carbon pools in *Saccharomyces cerevisiae*. *Archives of biochemistry and biophysics*, 326(1), 158–165. <https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0060>

Pebay-Peyroula, E., Dahout-Gonzalez, C., Kahn, R., Trézéguet, V., Lauquin, G. J., & Brandolin, G. (2003). Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside. *Nature*, 426(6962), 39–44. <https://doi.org/10.1038/nature02056>

Pfeiffer, C. M., Caudill, S. P., Gunter, E. W., Osterloh, J., & Sampson, E. J. (2005). Biochemical indicators of B vitamin status in the US population after folic acid fortification: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2000. *The American journal of clinical nutrition*, 82(2), 442–450. <https://doi.org/10.1093/ajcn.82.2.442>

Pietzke, M., Meiser, J., & Vazquez, A. (2020). Formate metabolism in health and disease. *Molecular metabolism*, *33*, 23–37.

<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.05.012>

Pounis, G., Di Castelnuovo, A. F., de Lorgeril, M., Krogh, V., Siani, A., Arnout, J., Cappuccio, F. P., van Dongen, M., Zappacosta, B., Donati, M. B., de Gaetano, G., Iacoviello, L., & European Collaborative Group of the IMMIDIET Project (2014). Folate intake and folate serum levels in men and women from two European populations: The IMMIDIET project. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, *30*(7-8), 822–830.

<https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.11.014>

Prasannan, P., & Appling, D. R. (2009). Human mitochondrial C1-tetrahydrofolate synthase: submitochondrial localization of the full-length enzyme and characterization of a short isoform. *Archives of biochemistry and biophysics*, *481*(1), 86–93.

<https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.10.028>

Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. (1991). *The Lancet*, *338*(8760), 131–137.

[https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)90133-A](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)90133-A)

Qiu, A., Jansen, M., Sakaris, A., Min, S. H., Chattopadhyay, S., Tsai, E., Sandoval, C., Zhao, R., Akabas, M. H., & Goldman, I. D. (2006). Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell*, *127*(5), 917–928.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.041>

Qiu, A., Min, S. H., Jansen, M., Malhotra, U., Tsai, E., Cabelof, D. C., Matherly, L. H., Zhao, R., Akabas, M. H., & Goldman, I. D. (2007). Rodent intestinal folate transporters (SLC46A1): secondary structure, functional properties, and response to dietary folate restriction. *American journal of physiology. Cell physiology*, *293*(5), C1669–C1678.

<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00202.2007>

Qu, Y., Lin, S., Zhuang, J., Bloom, M. S., Smith, M., Nie, Z., Mai, J., Ou, Y., Wu, Y., Gao, X., Tan, H., & Liu, X. (2020). First-Trimester Maternal Folic Acid Supplementation Reduced Risks of Severe and Most Congenital Heart Diseases in Offspring: A Large

Case-Control Study. *Journal of the American Heart Association*, 9(13), e015652.  
<https://doi.org/10.1161/JAHA.119.015652>

Raghavan, R., Riley, A. W., Volk, H., Caruso, D., Hironaka, L., Sices, L., Hong, X., Wang, G., Ji, Y., Brucato, M., Wahl, A., Stivers, T., Pearson, C., Zuckerman, B., Stuart, E. A., Landa, R., Fallin, M. D., & Wang, X. (2018). Maternal Multivitamin Intake, Plasma Folate and Vitamin B<sub>12</sub> Levels and Autism Spectrum Disorder Risk in Offspring. *Paediatric and perinatal epidemiology*, 32(1), 100–111.  
<https://doi.org/10.1111/ppe.12414>

*Recommended Dietary Allowances*. (1989). National Academies Press.  
<https://doi.org/10.17226/1349>

Refsum, H., Smith, A. D., Ueland, P. M., Nexø, E., Clarke, R., McPartlin, J., Johnston, C., Engbaek, F., Schneede, J., McPartlin, C., & Scott, J. M. (2004). Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clinical chemistry*, 50(1), 3–32.  
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.021634>

Refsum, H., Ueland, P. M., Nygård, O., & Vollset, S. E. (1998). Homocysteine and cardiovascular disease. *Annual review of medicine*, 49, 31–62.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.med.49.1.31>

Rogers, L. M., Cordero, A. M., Pfeiffer, C. M., Hausman, D. B., Tsang, B. L., De-Regil, L. M., Rosenthal, J., Razzaghi, H., Wong, E. C., Weakland, A. P., & Bailey, L. B. (2018). Global folate status in women of reproductive age: a systematic review with emphasis on methodological issues. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1431(1), 35–57.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.13963>

Salazar, M. D., & Ratnam, M. (2007). The folate receptor: what does it promise in tissue-targeted therapeutics?. *Cancer metastasis reviews*, 26(1), 141–152.  
<https://doi.org/10.1007/s10555-007-9048-0>

Sayed, A. R., Bourne, D., Pattinson, R., Nixon, J., & Henderson, B. (2008). Decline in the prevalence of neural tube defects following folic acid fortification and its cost-benefit in South Africa. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology*, 82(4), 211–216. <https://doi.org/10.1002/bdra.20442>

Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2019). Regulators of the transsulfuration pathway. *British journal of pharmacology*, 176(4), 583–593. <https://doi.org/10.1111/bph.14446>

Scazzone, C., Bono, A., Tornese, F., Arsena, R., Schillaci, R., Butera, D., & Cottone, S. (2014). Correlation between low folate levels and hyperhomocysteinemia, but not with vitamin B12 in hypertensive patients. *Annals of clinical and laboratory science*, 44(3), 286–290. <http://www.annclinlabsci.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=25117099>

Schmitz, J. C., Stuart, R. K., & Priest, D. G. (1994). Disposition of folic acid and its metabolites: a comparison with leucovorin. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 55(5), 501–508. <https://doi.org/10.1038/clpt.1994.63>

Schron, C. M., Washington, C., Jr, & Blitzer, B. L. (1985). The transmembrane pH gradient drives uphill folate transport in rabbit jejunum. Direct evidence for folate/hydroxyl exchange in brush border membrane vesicles. *The Journal of clinical investigation*, 76(5), 2030–2033. <https://doi.org/10.1172/JCI112205>

Seetharam, B. (1999). Receptor-mediated endocytosis of cobalamin (vitamin B12). *Annual review of nutrition*, 19, 173–195. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.19.1.173>

Segal, M. B. (2001). Transport of nutrients across the choroid plexus. *Microscopy research and technique*, 52(1), 38–48. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20010101\)52:1<38::AID-JEMT6>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20010101)52:1<38::AID-JEMT6>3.0.CO;2-J)

Selhub, J., Emmanouel, D., Stavropoulos, T., & Arnold, R. (1987). Renal folate absorption and the kidney folate binding protein. I. Urinary clearance studies. *The*

*American journal of physiology*, 252(4 Pt 2), F750–F756.  
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.1987.252.4.F750>

Selhub, J., Jacques, P. F., Wilson, P. W., Rush, D., & Rosenberg, I. H. (1993). Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA*, 270(22), 2693–2698.  
<https://doi.org/10.1001/jama.1993.03510220049033>

Shabert, J. K. (2004). Folate Deficiency. *Encyclopedia of Gastroenterology*, 44–47.  
<https://doi.org/10.1016/b0-12-386860-2/00273-2>

Shafizadeh, T. B., & Halsted, C. H. (2007). gamma-Glutamyl hydrolase, not glutamate carboxypeptidase II, hydrolyzes dietary folate in rat small intestine. *The Journal of nutrition*, 137(5), 1149–1153. <https://doi.org/10.1093/jn/137.5.1149>

Shamkani, W. A., Jafar, N. S., Narayanan, S. R., & Rajappan, A. K. (2015). Acute Myocardial Infarction in a Young Lady due to Vitamin B12 Deficiency Induced Hyperhomocysteinemia. *Heart views : the official journal of the Gulf Heart Association*, 16(1), 25–29. <https://doi.org/10.4103/1995-705X.152998>

Shane B. (2008). Folate and vitamin B12 metabolism: overview and interaction with riboflavin, vitamin B6, and polymorphisms. *Food and nutrition bulletin*, 29(2 Suppl), S5–S19.  
<https://doi.org/10.1177/15648265080292S103>

Shane, B. (1989). Folylpolyglutamate synthesis and role in the regulation of one-carbon metabolism. *Vitamins and hormones*, 45, 263–335. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(08\)60397-0](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(08)60397-0)

Shane, B. (2011). Folate status assessment history: implications for measurement of biomarkers in NHANES. *The American journal of clinical nutrition*, 94(1), 337S–342S.  
<https://doi.org/10.3945/ajcn.111.013367>

Shane, B., & Stokstad, E. L. (1985). Vitamin B12-folate interrelationships. *Annual review of nutrition*, 5, 115–141. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.05.070185.000555>



Shin, Y. S., Chan, C., Vidal, A. J., Brody, T., & Stokstad, E. L. (1976). Subcellular localization of gamma-glutamyl carboxypeptidase and of folate. *Biochimica et biophysica acta*, 444(3), 794–801. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(76\)90326-3](https://doi.org/10.1016/0304-4165(76)90326-3)

Shulpekova, Y., Nechaev, V., Kardasheva, S., Sedova, A., Kurbatova, A., Bueverova, E., Kopylov, A., Malsagova, K., Dlamini, J. C., & Ivashkin, V. (2021). The Concept of Folic Acid in Health and Disease. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(12), 3731. <https://doi.org/10.3390/molecules26123731>

Silvestris, E., Lovero, D., & Palmirotta, R. (2019). Nutrition and Female Fertility: An Interdependent Correlation. *Frontiers in endocrinology*, 10, 346. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00346>

Sirotnak, F. M., Chello, P. L., Moccio, D. M., Kisliuk, R. L., Combebine, G., Gaumont, Y., & Montgomery, J. A. (1979). Stereospecificity at carbon 6 of fomyltetrahydrofolate as a competitive inhibitor of transport and cytotoxicity of methotrexate in vitro. *Biochemical pharmacology*, 28(19), 2993–2997. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(79\)90599-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(79)90599-9)

Skoracka, K., Ratajczak, A. E., Rychter, A. M., Dobrowolska, A., & Krela-Kaźmierczak, I. (2021). Female Fertility and the Nutritional Approach: The Most Essential Aspects. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 12(6), 2372–2386. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab068>

Smith, A. D., Smith, S. M., de Jager, C. A., Whitbread, P., Johnston, C., Agacinski, G., Oulhaj, A., Bradley, K. M., Jacoby, R., & Refsum, H. (2010). Homocysteine-lowering by B vitamins slows the rate of accelerated brain atrophy in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *PloS one*, 5(9), e12244. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012244>

Smith, S. B., Kekuda, R., Gu, X., Chancy, C., Conway, S. J., & Ganapathy, V. (1999). Expression of folate receptor alpha in the mammalian retinol pigmented epithelium and retina. *Investigative ophthalmology & visual science*, 40(5), 840–848.

Socha, D. S., DeSouza, S. I., Flagg, A., Sekeres, M., & Rogers, H. J. (2020). Severe megaloblastic anemia: Vitamin deficiency and other causes. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 87(3), 153–164. <https://doi.org/10.3949/ccjm.87a.19072>

Stamm, R. A., & Houghton, L. A. (2013). Nutrient intake values for folate during pregnancy and lactation vary widely around the world. *Nutrients*, 5(10), 3920–3947. <https://doi.org/10.3390/nu5103920>

Stead, L. M., Jacobs, R. L., Brosnan, M. E., & Brosnan, J. T. (2004). Methylation demand and homocysteine metabolism. *Advances in enzyme regulation*, 44, 321–333. <https://doi.org/10.1016/j.advenzreg.2003.11.012>

Stover, P. J. (2011). Polymorphisms in 1-carbon metabolism, epigenetics and folate-related pathologies. *Journal of nutrigenetics and nutrigenomics*, 4(5), 293–305. <https://doi.org/10.1159/000334586>

Stover, P. J., & Field, M. S. (2011). Trafficking of intracellular folate. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 2(4), 325–331. <https://doi.org/10.3945/an.111.000596>

Stover, P. J., Chen, L. H., Suh, J. R., Stover, D. M., Keyomarsi, K., & Shane, B. (1997). Molecular cloning, characterization, and regulation of the human mitochondrial serine hydroxymethyltransferase gene. *The Journal of biological chemistry*, 272(3), 1842–1848. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.3.1842>

Stover, P., & Schirch, V. (1991). 5-Formyltetrahydrofolate polyglutamates are slow tight binding inhibitors of serine hydroxymethyltransferase. *The Journal of biological chemistry*, 266(3), 1543–1550.

Suh, J. R., Herbig, A. K., & Stover, P. J. (2001). New perspectives on folate catabolism. *Annual review of nutrition*, 21, 255–282. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.21.1.255>

Tibbetts, A. S., & Appling, D. R. (2010). Compartmentalization of Mammalian folate-mediated one-carbon metabolism. *Annual review of nutrition*, 30, 57–81. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104810>

Timmermans, S., Steegers-Theunissen, R. P., Vujkovic, M., den Breeijen, H., Russcher, H., Lindemans, J., Mackenbach, J., Hofman, A., Lesaffre, E. E., Jaddoe, V. V., & Steegers, E. A. (2012). The Mediterranean diet and fetal size parameters: the Generation R Study. *The British journal of nutrition*, *108*(8), 1399–1409. <https://doi.org/10.1017/S000711451100691X>

Titus, S. A., & Moran, R. G. (2000). Retrovirally mediated complementation of the glyB phenotype. Cloning of a human gene encoding the carrier for entry of folate into mitochondria. *The Journal of biological chemistry*, *275*(47), 36811–36817. <https://doi.org/10.1074/jbc.M005163200>

Tower, R. L., & Spector, L. G. (2007). The epidemiology of childhood leukemia with a focus on birth weight and diet. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, *44*(3), 203–242. <https://doi.org/10.1080/10408360601147536>

U.S. Department of Agriculture. (2019). *FoodData Central*. Usda.gov. <https://fdc.nal.usda.gov/>

Van der Put, N. M., van den Heuvel, L. P., Steegers-Theunissen, R. P., Trijbels, F. J., Eskes, T. K., Mariman, E. C., den Heyer, M., & Blom, H. J. (1996). Decreased methylene tetrahydrofolate reductase activity due to the 677C-->T mutation in families with spina bifida offspring. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, *74*(11), 691–694. <https://doi.org/10.1007/s001090050073>

Vardavas, C. I., Linardakis, M. K., Hatzis, C. M., Malliaraki, N., Saris, W. H., & Kafatos, A. G. (2008). Smoking status in relation to serum folate and dietary vitamin intake. *Tobacco induced diseases*, *4*(1), 8. <https://doi.org/10.1186/1617-9625-4-8>

Visentin, M., Diop-Bove, N., Zhao, R., & Goldman, I. D. (2014). The intestinal absorption of folate. *Annual review of physiology*, *76*, 251–274. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020911-153251>

VITATOPS Trial Study Group, Hankey, G. J., Algra, A., Chen, C., Wong, M. C., Cheung, R., Wong, L., Divjak, I., Ferro, J., de Freitas, G., Gommans, J., Groppa, S., Hill, M.,

Spence, D., Lees, K., Lisheng, L., Navarro, J., Ranawaka, U., Ricci, S., Schmidt, R., ... Song, S. (2007). VITATOPS, the VITAMINS TO prevent stroke trial: rationale and design of a randomised trial of B-vitamin therapy in patients with recent transient ischaemic attack or stroke (NCT00097669) (ISRCTN74743444). *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 2(2), 144–150. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2007.00111.x>

Vujkovic, M., Steegers, E. A., Looman, C. W., Ocké, M. C., van der Spek, P. J., & Steegers-Theunissen, R. P. (2009). The maternal Mediterranean dietary pattern is associated with a reduced risk of spina bifida in the offspring. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 116(3), 408–415. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01963.x>

Wagner, C. (2001). BIOCHEMICAL ROLE OF FOLATE IN CELLULAR METABOLISM\*. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 18, 161 - 180. <https://doi.org/10.1081/crp-100108171>

Wagner, C., Briggs, W. T., & Cook, R. J. (1985). Inhibition of glycine N-methyltransferase activity by folate derivatives: implications for regulation of methyl group metabolism. *Biochemical and biophysical research communications*, 127(3), 746–752. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(85\)80006-1](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(85)80006-1)

Wald, N. J., Law, M. R., Morris, J. K., & Wald, D. S. (2001). Quantifying the effect of folic acid. *Lancet (London, England)*, 358(9298), 2069–2073. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(01\)07104-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(01)07104-5)

Wang, F. K., Koch, J., & Stokstad, E. L. (1967). Folate coenzyme pattern, folate linked enzymes and methionine biosynthesis in rat liver mitochondria. *Biochemische Zeitschrift*, 346(5), 458–466

Wang, X., Qin, X., Demirtas, H., Li, J., Mao, G., Huo, Y., Sun, N., Liu, L., & Xu, X. (2007). Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet (London, England)*, 369(9576), 1876–1882. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60854-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60854-X)

Wang, X., Shen, F., Freisheim, J. H., Gentry, L. E., & Ratnam, M. (1992). Differential stereospecificities and affinities of folate receptor isoforms for folate compounds and antifolate. *Biochemical pharmacology*, 44(9), 1898–1901. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(92\)90089-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(92)90089-2)

Wang, Y., Jin, Y., Wang, Y., Li, L., Liao, Y., Zhang, Y., & Yu, D. (2019). The effect of folic acid in patients with cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 98(37), e17095. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017095>

Watanabe, F., & Nakano, Y. (1991). Comparative biochemistry of vitamin B12 (cobalamin) metabolism: biochemical diversity in the systems for intracellular cobalamin transfer and synthesis of the coenzymes. *The International journal of biochemistry*, 23(12), 1353–1359. [https://doi.org/10.1016/0020-711x\(91\)90275-r](https://doi.org/10.1016/0020-711x(91)90275-r)

Waxman, S., & Schreiber, C. (1973). Measurement of serum folate levels and serum folic acid-binding protein by 3H-PGA radioassay. *Blood*, 42(2), 281–290. <https://doi.org/10.1182/blood.V42.2.281.281>

Welch, G. N., & Loscalzo, J. (1998). Homocysteine and atherothrombosis. *The New England journal of medicine*, 338(15), 1042–1050. <https://doi.org/10.1056/NEJM199804093381507>

Wessels, J. A., Huizinga, T. W., & Guchelaar, H. J. (2008). Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 47(3), 249–255. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kem279>

Wickramasinghe, S. N. (2006). Diagnosis of megaloblastic anaemias. *Blood reviews*, 20(6), 299–318. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2006.02.002>

Williams, L. J., Mai, C. T., Edmonds, L. D., Shaw, G. M., Kirby, R. S., Hobbs, C. A., Sever, L. E., Miller, L. A., Meaney, F. J., & Levitt, M. (2002). Prevalence of spina bifida and anencephaly during the transition to mandatory folic acid fortification in the United States. *Teratology*, 66(1), 33–39. <https://doi.org/10.1002/tera.10060>

Williams, W. M., & Huang, K. C. (1982). Renal tubular transport of folic acid and methotrexate in the monkey. *The American journal of physiology*, 242(5), F484–F490. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1982.242.5.F484>

Wills, L. (1931). Treatment of "pernicious anaemia of pregnancy" and "tropical anaemia". *British medical journal*, 1(3676), 1059–1064. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.3676.1059>

Winter-Vann, A. M., Kamen, B. A., Bergo, M. O., Young, S. G., Melnyk, S., James, S. J., & Casey, P. J. (2003). Targeting Ras signaling through inhibition of carboxyl methylation: an unexpected property of methotrexate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(11), 6529–6534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1135239100>

Woeller, C. F., Anderson, D. D., Szebenyi, D. M., & Stover, P. J. (2007). Evidence for small ubiquitin-like modifier-dependent nuclear import of the thymidylate biosynthesis pathway. *The Journal of biological chemistry*, 282(24), 17623–17631. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702526200>

Wolffe, A. P., Jones, P. L., & Wade, P. A. (1999). DNA demethylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(11), 5894–5896. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.11.5894>

Wollack, J. B., Makori, B., Ahlawat, S., Koneru, R., Picinich, S. C., Smith, A., Goldman, I. D., Qiu, A., Cole, P. D., Glod, J., & Kamen, B. (2008). Characterization of folate uptake by choroid plexus epithelial cells in a rat primary culture model. *Journal of neurochemistry*, 104(6), 1494–1503. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05095.x>

World Health Organization. (2005). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. Apps.who.int. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42716>

World Health Organization. (2015). Guideline: optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects. . In *apps.who.int*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/161988>

World Health Organization. (2015). *VMNIS/ Serum and red blood cell folate concentrations for assessing folate status in populations.*

[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162114/1/WHO\\_NMH\\_NHD\\_EPG\\_15.01.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162114/1/WHO_NMH_NHD_EPG_15.01.pdf?ua=1)

World Health Organization. (2017). Nutritional anaemias: tools for effective prevention and control. In *apps. who.int*. World Health Organization.

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/259425>

Wu, A., Chanarin, I., Slavin, G., & Levi, A. J. (1975). Folate deficiency in the alcoholic-its relationship to clinical and haematological abnormalities, liver disease and folate stores. *British journal of haematology*, 29(3), 469–478. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1975.tb01844.x>

Xu, X., & Chen, J. (2009). One-carbon metabolism and breast cancer: an epidemiological perspective. *Journal of genetics and genomics = Yi chuan xue bao*, 36(4), 203–214. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(08\)60108-3](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(08)60108-3)

Yang, J., Chen, H., Vlahov, I. R., Cheng, J. X., & Low, P. S. (2007). Characterization of the pH of folate receptor-containing endosomes and the rate of hydrolysis of internalized acid-labile folate-drug conjugates. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 321(2), 462–468. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.117648>

Yang, X., Zhang, M., Song, R., Liu, C., Huo, Y., & Qian, G. (2018). The modifying effect of the MTHFR genotype on the association between folic acid supplementation and pulse wave velocity: Findings from the CSPPT. *Cardiovascular therapeutics*, 36(6), e12473. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12473>

Yeung, L., Yang, Q., & Berry, R. J. (2008). Contributions of total daily intake of folic acid to serum folate concentrations. *JAMA*, 300(21), 2486–2487.

<https://doi.org/10.1001/jama.2008.742>

Yi, P., Melnyk, S., Pogribna, M., Pogribny, I. P., Hine, R. J., & James, S. J. (2000). Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-

adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. *The Journal of biological chemistry*, 275(38), 29318–29323. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002725200>

Yoshida, T., & Kikuchi, G. (1970). Major pathways of glycine and serine catabolism in rat liver. *Archives of biochemistry and biophysics*, 139(2), 380–392. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(70\)90490-x](https://doi.org/10.1016/0003-9861(70)90490-x)

Zappacosta, B., Persichilli, S., Iacoviello, L., Di Castelnuovo, A., Graziano, M., Gervasoni, J., Leoncini, E., Cimino, G., & Mastroiacovo, P. (2013). Folate, vitamin B12 and homocysteine status in an Italian blood donor population. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*, 23(5), 473–480. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.10.001>

Zhao, R., & Goldman, I. D. (2003). Resistance to antifolate. *Oncogene*, 22(47), 7431–7457. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206946>

Zhao, R., Diop-Bove, N., Visentin, M., & Goldman, I. D. (2011). Mechanisms of membrane transport of folate into cells and across epithelia. *Annual review of nutrition*, 31, 177–201. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-072610-145133>

Zhao, R., Matherly, L. H., & Goldman, I. D. (2009). Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. *Expert reviews in molecular medicine*, 11, e4. <https://doi.org/10.1017/S1462399409000969>

Zhao, R., Min, S. H., Qiu, A., Sakaris, A., Goldberg, G. L., Sandoval, C., Malatack, J. J., Rosenblatt, D. S., & Goldman, I. D. (2007). The spectrum of mutations in the PCFT gene, coding for an intestinal folate transporter, that are the basis for hereditary folate malabsorption. *Blood*, 110(4), 1147–1152. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-02-077099>

Zheng, Y., & Cantley, L. C. (2019). Toward a better understanding of folate metabolism in health and disease. *The Journal of experimental medicine*, 216(2), 253–266. <https://doi.org/10.1084/jem.20181965>



Zheng, Y., Lin, T. Y., Lee, G., Paddock, M. N., Momb, J., Cheng, Z., Li, Q., Fei, D. L., Stein, B. D., Ramsamooj, S., Zhang, G., Blenis, J., & Cantley, L. C. (2018). Mitochondrial One-Carbon Pathway Supports Cytosolic Folate Integrity in Cancer Cells. *Cell*, *175*(6), 1546–1560.e17.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.041>