

# Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Moleküler Biyolojisi ve Hastalıklarla İlişkisi\*

## *Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Enzyme and Its Association with Diseases*

Miriş DİKMEN

*Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR*

**ÖZET:** Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat siklusunda önemli bir rol oynar ve homosistein aminoasitinin metaboizmasına katkıda bulunur. MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolat'ı 5-metil tetrahidrofolat'a katalize eder. Böylece homosisteinin metiyonine remetilasyonu için gerekli olan folatın aktif formu meydana gelir. MTHFR genindeki bazı mutasyonlar, MTHFR enzim aktivitesinde azalmaya neden olur. MTHFR enzim eksikliği, plazma homosistein düzeyindeki artışla, homosistein düzeyindeki artış da vasküler hastalıklarla ilişkilidir. Bu makalede, MTHFR enziminin yapısı ve moleküler genetiği konusunda bilgi verilmiştir. Özellikle MTHFR genin yaygın iki polimorfizmi (MTHFR C677T ve A1298C) ile serebrovasküler hastalıklar, venöz tromboz, nöral tüp defektler, diyabet, kanser ve migren gibi bazı hastalıklar arasındaki ilişki vurgulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Metilentetrahidrofolat redüktaz, Polimorfizm, Homosistein

**ABSTRACT:** Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) plays an important role in the folate cycle and contributes to the metabolism of the amino acid homocysteine. It catalyses the reduction of 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate, thus generating the active form of folate required for remethylation of homocysteine to methionine. Some of the mutations in the MTHFR gene cause a decrease in MTHFR activity. Deficiency of MTHFR may be associated with an increase in plasma homocysteine, which in turn is associated with an increased risk of vascular disease. This article summarizes the structure and molecular genetics of this enzyme. Particular emphasis has been given on two common polymorphisms in MTHFR gene (MTHFR C677T and A1298C) and related clinical manifestations; such as cerebrovascular disease, venous thrombosis, neural tube defects, diabetes, cancer and migraine.

**Key Words:** Methylenetetrahydrofolate reductase, Polymorphism, Homocysteine

### GİRİŞ

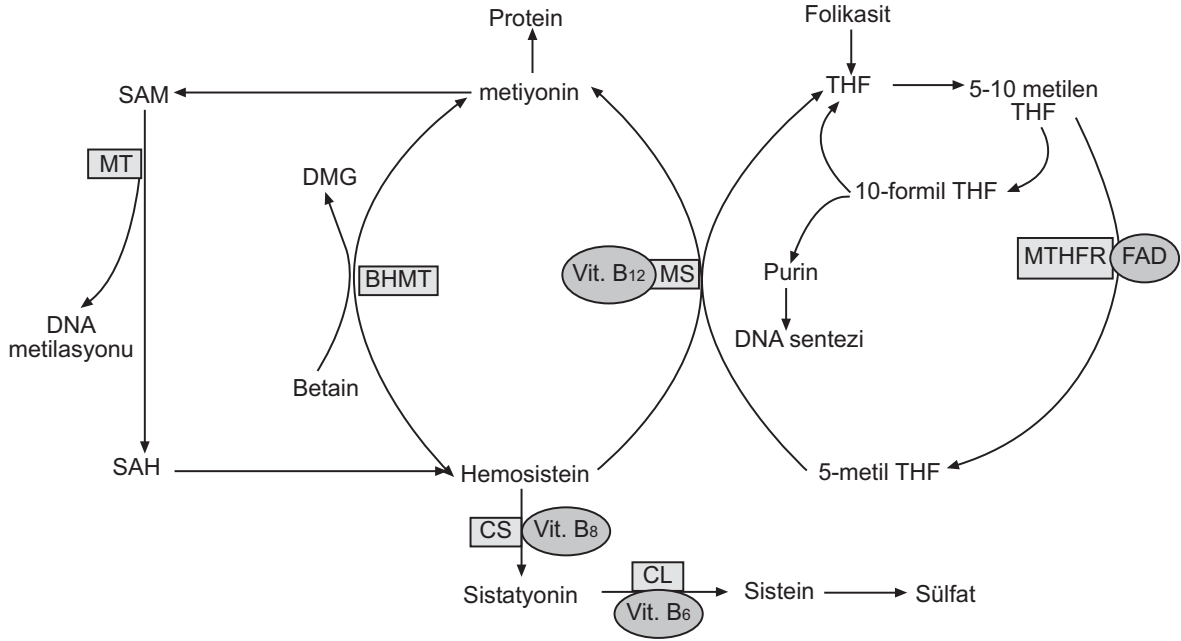
Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat metaboizmasında önemli bir enzimdir (1,2). İnsan MTHFR geni, kromozom 1p36.3'de lokalize olmuştur ve 656 aminoasitten oluşan MTHFR enzimini kodlar (2). MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolatı (5,10-metilen THF) irreversible olarak 5-metil tetrahidrofolata (5-metil THF) dönüştürür (2,3,4). 5-metil THF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar (3,4,6). 5,10- metilen THF ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'a okside olmaktadır (3,4). MTHFR geninde meydana gelen bir

mutasyon (en yaygın olanı C677T polimorfizmi) enzim aktivitesini azaltmaktadır (5,6). Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5-metil THF düzeyi azalmakta, 5,10- metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır (1,3-6).

MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, enzimde inaktivasyona neden olarak, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur (7-8). MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği açıklanmıştır (9). Hiperhomosisteinemi ve homosisteinürinin ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferik nöropati, gelişme geriliği, hipotonia, strok, tromboz gibi klinik özellikler görülür (9,10). MTHFR eksikliğinin hafif olduğu durumlarda popülasyon genelinde oldukça sık rastlanmakta olup, özellikle arterial hastalıkların oluşumunda bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (9,10).

Yazışma ve tıpkı basım için Arş.Gör.Dr. Miriş Dikmen Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. TR-26480 Eskişehir (Türkiye) (e-mail: mdikmen@ogu.edu.tr)

\* Bu makale Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiş olan projenin bir kısmıdır.



**Şekil 1.** Homosistein'in transsülfürasyon ve remetilasyon metabolize yolları. (MTHFR: metilentetrahidrofolat redüktaz, MS: Metiyonin sentetaz CS: Sistatyonin  $\beta$  sentetaz, CL: Sistatyonin  $\gamma$  liyaz, BHMT: Betain homosistein metil transferaz, MT: Metil transferaz SAM: S-adenozilmetiyonin, SAH: S-adenozilhomosistein THF: Tetrahidrofolat, DMG: Dimetilglisin) (5,7,11,14,17,32). Vücuttaki homosistein transsülfürasyon veya yeniden metilasyon (remetilasyon) yollarını kullanarak metabolize olur. *Transsülfürasyon yolunda*; homosistein, vitamin B<sub>6</sub> bağımlı bir enzim olan sistatyonin  $\beta$  sentetaz katalizörlüğünde sistatyonin'e, o da sisteine hidrolize olur. Bu sistein de daha sonra sülfata hidrolize olarak idrarla atılır. *Remetilasyon yolunda*; homosisteinden, metiyonin'in yeniden sentezi iki farklı yolla gerçekleşir.

**Kısa yolda**; betain homosistein metiltransferaz (BHMT) enzimi, bir metil vericisi olan betainin metil grubunu, homosisteine aktararak metiyonin oluştururken kendisi dimetilglisine dönüşür. **Uzun yolda**; 5-metiltetrahidrofolat bir metil grubu vericisidir. 5,10 metilentetrahidrofolat, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aracılığıyla 5-metiltetrahidrofolata dönüşür. Metilen, metil grubundan daha yükseltgenmiş olduğundan metilentetrahidrofolatın hem bir karbon verici hemde bir hidrid iyonu tedarik edici rolü vardır. 5-metiltetrahidrofolatın bir metil grubu, kobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) bağımlı enzim olan metiyonin sentaz aracılığı ile homosisteine aktarılarak metiyonin oluşturulurken diğer taraftan da tetrahidrofolat meydana gelir. Bu tetrahidrofolat tekrar 5-10 metilentetrahidrofolata dönüşür. Fazla metiyoninin bir kısmı proteinlerin yapısına katılırken, bir taraftan da SAM'ı, o da SAH'ı meydana getirir. (5,7,11,14,17,32).

### METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (MTHFR) ENZİMİNİN YAPISI VE GÖREVİ

5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR), bir flavoprotein olup MTHFR familyasının (EC 1.5.2.20) bir üyesidir (2,11,12).

Memelilerde MTHFR'nin yapısı hakkındaki ilk bilgiler, domuz karaciğer enziminin saflaştırılması ile elde edilmiştir (12,14,15). Enzim sitoplazmik bir protein olup, iki altbirimden oluşan homodimer yapıdadır (15). İnsanlarda yapılan Western analizler sonucu 2 izoformunun olduğu açıklanmıştır (2,14). Bu izoformlar dokulara öz olup, 70 kDa'luk küçük alt birimlere sahip izoform karaciğerden, 77kDa'luk büyük alt birimlere sahip izoform ise diğer dokulardan purifiye edilmiştir (2,14). Enzim, tripsinle

proteolizise uğratıldığında, 77 kDa'luk altbirim 40 kDa ve 37 kDa'luk kısımlara ayrılmaktadır (14,15). Bu ayrılma sonucunda S-adenozil metiyonin (SAM) inhibisyonu ortadan kalkar, ancak enzimin katalitik aktivitesi değişmez. Yapılan çalışmalar sonucunda katalitik bölge olan 40 kDa'luk N-uç bölgenin substrat ve koenzim bağlama kısımlarına sahip olduğu, regülör bölge olan 37 kDa'luk C-uç bölgesinin ise, SAM bağlama kısmına sahip olduğu gösterilmiştir (14,15). Memeli enzimi kendisine nonkovalent olarak bağlı FAD koenzimi içerir. Bu koenzim, NADPH'ın metilentetrahidrofolata transferini sağlar (11-15).

MTHFR, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir ve 656 aminoasitten oluşur (1,2). MTHFR enzimi, homosisteinin remetilasyon döngüsünde

(homosistein, transsülfürasyon ve remetilasyon yollarını kullanarak metabolize olur) görev yapar (2). MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolatı (5,10-metilen THF) geri dönüşümsüz olarak 5-metil tetrahidrofolata (5-metil THF) dönüştürür (Şekil 1) (2,3). 5-metil THF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. Bunun için 5-metil THF, metil grubunu vererek homosisteinin dönüşümünde rol oynar. 5,10- metilen THF ise deoksüridilata timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'a okside olmaktadır (3). MTHFR geninde meydana gelen bir mutasyon (en yaygın olanı C677T polimorfizmi) enzim aktivitesini azaltmaktadır (16). Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5-metil THF düzeyi azalmakta, 5,10-metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır (1-4,16).

MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomların geniş bir dağılım gösterdiği anlaşılmaktadır (9,10). Hiperhomosisteinemia ve homosisteinüriyanın ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferik nöropati, gelişme geriliği, hipotoni, strok, tromboz gibi klinik özellikler görülür (9,10). MTHFR eksikliğinin hafif olduğu durumlara popülasyon genelinde oldukça sık rastlanır, bu durum da arterial hastalıkların oluşumunda bir risk faktörüdür (9,10).

### **METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (MTHFR) GENİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ**

MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur (6,7,8). Yapılan cDNA çalışmalarıyla insan ve fare MTHFR geninin yapısı araştırılmıştır (9,14). Her iki gen de 11 ekzon içermekte olup, ekzon uzunluğu ve ekzon-intron sınırları benzer özellik göstermektedir (9,14). Her iki genin de kodlama sekansları, kodlanan aminoasitler ele alındığında % 85 özdeştir (9,14).

İnsan MTHFR geni kromozom 1p36.3'de yer alır ve bu genin N-terminal ucunun yapısı tamamen açıklanamamıştır (9,14,17,18). MTHFR geninin promotör bölgesi, transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için belirli konsensus dizilerine sahipken TATA kutusu içermez (2). Bu gen bölgesinde alternatif kaynaşma (splicing) olayları meydana gelmekte ve bunun sonucunda, değişik dokularda, farklı

MTHFR transkriptleri (3 transkript) oluşmaktadır (14,17,18).

İnsan genomik klonunun (17 kb), 2.2kb uzunluğundaki MTHFR cDNA sekansının tamamını içerdiği belirlenmiştir. Bu MTHFR cDNA, her biri 102-432 bç uzunluğunda toplam 11 ekzon ile 250 bç-1,5 kb'a kadar olabilen (bir intron hariç;4,2 kb uzunluğunda) intronlar içerir (9). Ekzon1, ATG başlama kodonunu taşır, 5' ve 3' kaynaşma bölgelerinde GT ve AG dinükleotidlerinden oluşan konsensus dizileri yer alır. Ekzon1'in 3'ucu, cDNA'da poliadenilasyon bölgesiyle sonlanmıştır (9). Poliadenilasyon sinyali (AACCTA), poliadenilasyon bölgesinin 15 bç önünde yer alır (9).

İnsan ve fare MTHFR geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda MTHFR geninde 15 farklı mutasyon belirlenmiştir (9,12). Bu mutasyonlardan, vasküler hastalık, nöral tüp defektleri ve kolon kanseri ile yakından ilişkili olduğu açıklanan C677T polimorfizmi, enzimin katalitik bölgesinde, özellikle nöral tüp defektlerinde etkili olan A1298C polimorfizmi ise enzimin regülatör bölgesinde ortaya çıkmaktadır (3,17,19,20,21,22).

### **Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni C677T Polimorfizmi**

C677T polimorfizmi, MTHFR proteinin N-terminal katalitik bölgesini etkileyen 4. ekzonda meydana gelir (10,18). MTHFR C677T polimorfizminde, MTHFR enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan C (Sitozin)'in →T (Timin)'e değişimi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonu vardır (9,12,26,28). Bu mutasyon, genin ürünü olan proteinin 226. pozisyonunda Alanin'in yerine Valin'in geçmesine neden olur (23,26,28). Bunun sonucu MTHFR aktivitesi azalır (23,26,28). Azalan MTHFR aktivitesi, 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya ve bunun sonucu olarak da homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artmaya neden olur (21,23-28).

MTHFR'nin C677T polimorfizminde, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir (8,20).

MTHFR'nin C677T polimorfizminin, kardiyovasküler hastalıklar, nöral tüp kusurları, strok, Down sendromu, meme ve endometrial kanser gibi hastalıklarda bir risk faktörü olduğu açıklanmıştır (11,21). Yapılan çeşitli araştırmalarda, MTHFR 677TT geno-

tipli hastalarda, akut lösemi, kolorektal ve akciğer kanserlerine yakalanma riskinin azaldığı, endometrial kanserlerine ise yakalanma riskinin arttığı ileri sürülmüştür (11,29,30).

C677T mutasyonunda, MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir (3,31). MTHFR eksikliğinde, homosisteinden metiyonin oluşumundaki bir bozukluk, organizmayı hem metiyonin (ve S-adenozilmetiyonin) azalmasına hem de homosistein birikiminden doğan toksik etkilere maruz bırakır (3,21,31).

Koroner, periferik ya da serebral vasküler hastalıklığı olan 190 Hollandalı hastada yapılan araştırmada, 677CT ya da 677TT genotipinde 677CC genotipli bireylere göre MTHFR aktivitesi önemli oranda düşmüş ve homosistein seviyeleri yükselmiştir (31).

Beslenme alışkanlığı, çevresel farklılıklar, ve genetik faktörler homosistein konsantrasyonunu etkiler (32-34). Jee ve ark.'nın bir çalışmasında Japonya'da kardiyovasküler hastalıkların artışı ile 677C→T polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (31).

**MTHFR C677T ve Serebrovasküler Hastalıklar:** Strok'lu hastaların yaklaşık %20-50'sinde, orta şiddette hiperhomosisteinemi ortaya çıkabilir (11). Strok'lu 900 hastayı içeren ve 1994'ten beri 24 çalışmanın yer aldığı bir meta-analiz çalışmasında, kontrollere göre strok'lu hastaların, artan homosistein düzeylerine sahip olduğu belirlenmiştir (11).

Yine Morita ve arkadaşlarının 256 strok'lu hasta ve 325 kontrol ile yaptığı bir çalışmada, TT genotipi ile strok arasında önemli derecede ilişki olduğu ileri sürülmüştür (35). Bu çalışmada plazma homosistein seviyelerinin, CC veya CT genotipli hastalara göre, TT genotipli hastalarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (35).

**MTHFR C677T ve Venöz Trombozis:** Homosisteinin sülfidril grubunun, hipometilasyon ve açılma etkisi nedeniyle, homosisteinin, damar endotelinde zararlı etkilere neden olduğu bilinmektedir (11). Homosisteinin, damarlarda oluşturduğu bu hasar nedeni ile platelet tüketimini artırdığı, sonuçta da trombozise neden olduğu belirtilmiştir (36). 677 TT genotipin venöz tromboziste önemli bir risk faktörü olduğunun ileri sürülmesine rağmen, bu görüşü desteklemeyen bulgular da mevcuttur (11). Transsülfürasyon enzimi olan sistatyonin beta-sentetazın,

homozigot eksikliği gibi diğer bir risk faktörü taşıyan bireyler arasında, MTHFR C677T'nin mutasyonu tromboembolizm için önemli bir risk faktörü olabilir (11). Yine konjenital trombolitik hastalarda, faktör II 20210G\*A veya faktör V 1691G\*A mutasyonunun MTHFR 677T mutasyonu ile birlikte bulunmasının venöz trombozis riskini önemli derecede artırdığı rapor edilmiştir (11,36).

**MTHFR C677T ve Nöral Tüp Kusurları:** Mutant T allelinin, nöral tüp defektleri için risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (6). Yine nöral tüp defektlerinde kan folat seviyesinin düşük olması da önemli bir risk faktörüdür (37). Yapılan çalışmalar, MTHFR polimorfizmi ile birlikte oluşan folat eksikliğinin, nöronal gelişimi etkilediği ve nöral tüp kusuru oluşumunu artırdığını göstermiştir (6,11,37,38).

**MTHFR C677T Ve Diabetes Mellitus:** Diyabetik nefropati, diabetes mellitusun yaygın bir durumudur. Tip 2 diyabetli Japon hastalar arasında diyabetik nefropati ile 677T allelinin ilişkisi araştırıldı (11). Tip 2 diyabette, C677T polimorfizminin, miyokardial infarkt riskini ve karotid arterial duvar kalınlaşmasını artırdığı gözlemlendi (11). Buna zıt olarak, İrlandalı (tip 1), Alman (tip 1 veya 2) ve Japon (tip 2) diyabetik hastalarından oluşan çalışmalarda, MTHFR gen polimorfizminin, diyabetik nefropati ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (11). Yine bir başka çalışmada da (39), tip 1 ve 2 diyabetik hastalarda, C677T polimorfizminin plazma homosisteini üzerinde önemli bir etkisi görülmemiştir.

A1298C ve C677T insan MTHFR gen mutasyonlarının diyabetik nefropati ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (22). Bu her iki mutasyonun diyabetik popülasyonlarda sıklığı yüksektir (22). Shpichinetsky ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, her iki polimorfizim açısından diyabetik nefropatisi olan ya da olmayan hastalarda, allel sıklığı ile genotip dağılımı açısından önemli bir farklılık bulunamadı (22). Ancak serum folat düzeyi 15,4 nmol/l'den küçük olan hastalarda diyabetik nefropati insidansı oldukça yüksek bulundu (22).

**MTHFR C677T ve Kanser:** MTHFR polimorfizminden kaynaklanan azalan enzim aktivitesi, tümör süpresör genlerin stabilitesini ve hipometilasyonunu etkiler (11). Akciğer kanserli hasta örnekleri ile yapılan çalışmalarda, 677T allelinin, bir tümör süpresör gen olan p16'nın ekspresyonunun artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11). Yapılan bir çalışmada, TT genotipli kişilerin lenfositlerinde azalan MTHFR aktivitesi, timin sentezi için gerekli olan

5,10-metilentetrahidrofolatın konsantrasyonunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir (40). Bu da sitozin deaminasyonu sonucu urasil oluşumunu engelleyerek DNA hasarını azaltır (41). 677T allelinin, muhtemelen, yeterli folat alınımı ile, bireylerde timin ve pürin sentezi için artan 5,10 metilentetrahidrofolat düzeyi oluşturarak, koleraktel kanser riskini azalttığı ileri sürülmüştür (11,42).

677T allelinin akciğer kanseri, lösemi (42) ve kolon kanserine (14) karşı koruyucu bir potansiyeli olduğu açıklanmasına rağmen, aynı durumun endometrial ve ovarial kanser gibi diğer kanser tipleri için geçerli olmadığı açıklanmıştır (11,43). Servikal intraepitelial kanserli kişiler ile yapılan bir çalışmada da 677 TT ve CT genotip sıklığının yüksek olduğu bildirilmiştir (44).

**MTHFR C677T ve Migren:** Migrenin patofiziyojisi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Migrende, dura materin perivasküler aksionlarından vazoaaktif nörotransmitterlerin salınımı ya da serebral kan damarlarının ağırlı vazodilatasyonu gerçekleşir (45). Hiperhomosisteinemi, serotonin, norepinefrin ve dopamin gibi nörotransmitterlerin sentezini artırır. C677T mutasyonu sonucu MTHFR aktivitesindeki azalma, homosistein ve nörotransmitterlerin seviyelerinde artmaya neden olur (45). Bu nedenle homozigot C677T mutasyonun migren için bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (45).

#### **Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni A1298C Polimorfizmi**

MTHFR geninde belirlenen başka bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan A(Adenin)'in→C (Sitozin)'e değişimi sonucu, MTHFR proteinindeki Glutamin'in→Alanin'e değişimine neden olan nokta mutasyonudur ve enzimin C-uç regülatör bölgesinde etkilidir (15,17,22,46). Bu mutasyonda da diğer mutasyon tipinde olduğu gibi MTHFR aktivitesi azalır (17,22,46). A1298C polimorfizminin, plazma homosistein konsantrasyonundaki artışı MTHFR C677T polimorfizmi kadar etkilemediği ileri sürülse de, bu polimorfizmin önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır (17,22,46,47).

Nöral tüp kusurlarının gelişmesinde A1298C mutasyonunun ilişkisi yalnızca birkaç çalışmayla açıklanmaya çalışılmıştır (11,17,37). Bu çalışmalarda, neural tüp defektli çocuklarda, bu mutasyonun görülme sıklığının yüksek olduğu açıklanmıştır (11,37,48).

Lievers ve ark., 1298A→C mutasyonunda MTHFR enzim aktivitesinde azalma olduğunu ancak bu durumun homosistein düzeyinde önemli bir etki yapmadığını göstermişlerdir (32). Homosistein'in kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde öneminin yanında 1298A→C mutasyonunun da kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (31,47,48).

#### **MTHFR A1298C ve C677T Mutasyonlarının Kombinasyonu**

A1298C ve C677T mutasyonunun sıklığı popülasyonlara göre ve yaşla birlikte önemli farklılık göstermektedir (11).

A1298C ve C677T mutasyonlarının birlikte heterozigot olduğu durumda, MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır (11). Bu aktivite, C677T mutasyonunun heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür (11). MTHFR 677T/1298C heterozigot durumunun birlikte bulunduğu bireylerde, nöral tüp defektlerinde önemli bir artış olduğu ileri sürülmüştür (5,11,16). Buna karşılık 677CC/1298AA homozigot normal bireylerde akut lenfoblastik lösemi (ALL) gelişimi fazla iken, 677CT/1298AC heterozigot bireylerde, akut lösemi gelişiminin daha az görüldüğü bildirilmiştir (42).

677CC/1298CC genotipine sahip bireylerde 677CC/1298AA genotipli bireylere göre plazma total homosisteininde azalma olduğu açıklanmıştır. Tek başına C677T homozigot mutasyonlu (TT) genotipine sahip bireylerde de plazma homosisteini önemli düzeyde artmaktadır (15,17). van der Put ve ark. yaptıkları bir çalışmada, her iki mutasyon bakımından çift heterozigot olan (A1298C/C677T) bireylerde total plazma homosistein konsantrasyonunun önemli derecede arttığını belirtmişlerdir (15,37,46). A1298C mutasyonu, MTHFR enziminin C-uç regülatör bölgesinde meydana gelmesine karşılık, C677T mutasyonu genin N-uç katalitik bölgesinde meydana gelmekte ve bu nedenle A1298C mutasyonlu bireylerde MTHFR enzim aktivitesindeki azalma C677T mutasyonlu bireylerin enzim aktivitesinden daha az olmaktadır (10,11,15,17,37,46). Daha önceki çalışmalarda da C677T mutasyonun MTHFR aktivitesinde önemli bir etkiye sahip olduğu açıklanmıştır. Hem heterozigot 677CT hem de homozigot mutant 677TT genotiplerinde, MTHFR enzim aktivitesi homozigot atasal tip (677CC) geno-

type göre önemli derecede düşüktür. 677TT genotipi, termolabile MTHFR enzim özelliğine sahiptir (31).

1298 A→C polimorfizminde azalan enzim aktivitelerine rağmen ısı inkübasyonundan sonra 1298A→C genotipleri arasında artan aktivasyon yüzdesinde önemli bir farklılık görülmediği için, bu polimorfizmin enzimin termostabilitesini etkilemediği bildirilmiştir (31).

1298A→C polimorfizminde MTHFR aktivitesinde önemli etkiler görülmesine rağmen ne 1298AC, ne de 1298CC genotipinde artan homosistein düzeylerine rastlanmamıştır (31). 677CC/1298AC ve 677CC/1298CC genotiplerinde MTHFR aktiviteleri, 677CC/1298AA genotip enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında sırasıyla %60-92 ve %52-66 olarak bulunmuştur (31). Heterozigot (677CT/1298AC) genotip durumunda MTHFR aktivitesi ise 677CC/1298AA genotipi ile karşılaştırıldığında, %36-62 olarak bulunmuştur (31).

#### KAYNAKLAR

- Rosenblatt DS. Methylenetetrahydrofolate reductase. *Clin Invest Med*, 2001;24:56-59.
- Homberger G, Linnebank M, Winter C, et al. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. 2000; *Eur J Hum Genet*, 8:725-729.
- Bagley PJ, Jacob S. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Med Sci*, 1998;95:13217-13220.
- Bailey LB, Duhaney RL, Maneval DR, et al. Vitamin B-12 status is inversely associated with plasma homocysteine in young women with C677T and/or A1298C methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *J Nutr*, 2002;132:24665-24709.
- Kim Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: A paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev*, 2000;58:205-217.
- Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*, 1998;64: 169-172.
- Daly SF, Molloy AM, Mills JL, et al. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. *Brit J Obstet Gynaec*, 1999;106:1214-1218.
- Stern LL, Bagley PJ, Rosenberg IH, et al. Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr*, 2000;130: 2238-2242.
- Goyette P, Pai A, Milos R, et al. Gene structure of human mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, 1998; 9:652-656.
- Rady PL, Tying SK, Hundnall SD, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): The incidence of mutations C677T and A1298C in the Ashkenazi Jewish population. *Am J Med Genet*, 1999; 86:380-384.
- Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol*, 2000;13(1):20-33.
- Goyette P, Rozen R. The thermolabile variant 677CT can further reduce activity when expressed in cis with severe mutations for human methylenetetrahydrofolate reductase. *Hum Mutat*, 2000;16:132-138.
- Hustad S, Ueland PM, Vollset SE, et al. Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: Effect modification by the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Clin Chem*, 2001; 46:1065-1071.
- Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase in vascular disease, neural tube defects and colon cancer. IV.Reunion, Metiyonin metabolism, molecular mechanisms and clinical implications.1998; Index no 6, March 1-5, University of Navarra and Granada, Spain. <http://www.boehringer-ingelheim.es/workshop-methionina/anglesa/cap6.htm>. Erişim 12.05.2003
- Sibani S, Christensen B, O'ferrall E, et al. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Hum Mutat*, 2000;15: 280-287.
- Peng F, Labelle LA, Rainey B, et al. Single nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are common in US Caucasian and Hispanic American populations. *Int J Mol Med*, 2001;8: 509-511.
- Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: *Am J Epidemiol*, 2000; 151: 862-77.
- Tonetti C, Burtscher A, Bories D, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency in four siblings: A clinical, biochemical, and molecular study of the family. *Am J Med Genet*, 2000; 91:363-367.
- Goyette P, Frosst P, Rosenblatt DS, et al. Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate

- reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Am J Hum Genet*, 1995;56:1052-1059.
20. Molloy AM, Daly S, Mills JL, et al. Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: Implications for folate intake recommendations. *The Lancet*, 1997; 49: 1591-1593.
  21. Schmitz C, Lindpainter K, Verhoef P, et al. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. *Circulation*, 1996; 94: 1812-1814.
  22. Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, et al. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. *J Nutr*, 2000;130: 2493-2497.
  23. Demuth K, Moatti N, Hanon O, et al. Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid artery geometry in asymptomatic adults. *Thromb Vasc Biol*, 1998;18:1838-1843.
  24. Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, et al. Common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: Association with plasma total homocysteine and folate concentrations. *J Nutr*, 1999; 129:656-1661 .
  25. Lee H, Choi J, Ha K, et al. Influence of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism on plasma homocysteine concentration in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*, 1999;34: 259-263.
  26. Schneider JA, Rees DC, Liu YT, et al. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Am J Hum Genet*, 1998; 62: 1258-1260.
  27. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke*, 1994;25:1924-1930.
  28. Sell SM, Lugenwa PR. Development of a highly accurate, rapid PCR-RFLP genotyping assay for the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Genet Test*, 1999;3:287-289.
  29. Bova I, Chapman J, Sylantiev C, et al. The A677C methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and carotid atherosclerosis. *Stroke*, 1999;30: 2180-2182.
  30. Kang S, Wong PWK, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: An inherited risk factor for coronary artery disease. *J Hum Genet*, 1991;48: 536-545.
  31. Lievers KJA, Boers GHJ, Verhoef V, et al. A second common variant in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine and cardiovascular disease risk. *Journal of Molecular Medicine* Received, 1 February 2001, Published online 5 July, 2001.
  32. Diaz-Arrastia R. Homocysteine and neurologic disease. *Arch Neurol*, 2000;57:1422-1428.
  33. Gemmati D, Previati M, Serino ML, et al. Low folate levels and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase as primary determinant of mild hyperhomocystenemia in normal and thromboembolic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999;19:1761-1767.
  34. Girelli D, Friso S, Trabetti E, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation, plasma homocysteine and folate in subjects from Northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease. *Blood*, 1998; 91:4158-4163.
  35. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998; 18:1465-1469.
  36. Donnelly JG, Rock GA. Genetic determinants of heritable venous thrombosis: Genotyping methods for factor V<sub>LEIDEN</sub> A1691G, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, prothrombin G20210A mutation, and algorithms for venous thrombosis investigations. *Clin Biochem*, 1999;32: 223-228.
  37. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EMB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects. *Am J Hum Genet*, 1998;62:1044-1051.
  38. Dean JCS, Moore SJ, Osborne A, et al. Fetal anticonvulsant syndrome and mutation in the maternal MTHFR gene. *Clin Genet*, 1999; 56: 216-220.
  39. Kaye JM, Stanton KG, Mccann VJ, et al. Homocysteine, folate, methylenetetrahydrofolate reductase genotype and vascular morbidity in diabetic subjects. *Clin Sci*, 2002;102:631-637.
  40. Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, et al. The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. *Cancer Epidem Biomar*, 2001;10(10):1089-1096.
  41. Güneş HV (Editör). *Moleküler Hücre Biyolojisi*. İnci Baskı, Eskişehir: Kaan Kitabevi, 2003:223-224.
  42. Skibola CF, Smith MT, Kane E, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Med Sci*, 1996;96:12810-12815.

43. Thompson JR, Gerald PF, Willoughby MLN, et al. Maternal folate supplementation in pregnancy and protection against acute lymphoblastic leukaemia in childhood: A case-control study. *Lancet*, 2001;358:1935-40.
44. Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res*, 2000; 20:1751-1757.
45. Kowa H, Yasui K, Takeshima T, et al. The homozygous C667T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *American J Med Genet*, 2000;96: 762-764.
46. Langman LJ, Wong BYY, Boggis C, et al. The prevalence and linkage disequilibrium of three methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms varies in different ethnic groups presented at INABIS'98-5th internet world congress on biomedical sciences at McMaster University, Canada, Dec 7-16th. Available at URL <http://www.mcmaster.ca/inabis98/cvdisease/langman0264/index.html>. Erişim 12.05.2003
47. Szczeklik A, Sanak M, Jankowski M, et al. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: Risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *Am J Med Genet*, 2001;101:36-39.
48. Dekou V, Whincup P, Papacost O, et al. The effect of C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on homocysteine levels in elderly men and women from the British Region Heart Study. *Atherosclerosis*, 2001; 154: 659-666.