



**Metilentetrahidrofolat Redüktaz Aktivitesi
ve Folat Metabolizması**
Methylenetetrahydrofolate Reductase Activity
and Folate Metabolism

Nurşen Keser¹, Ayfer Pazarbaşı², Lütfiye Özpak²

¹Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Adana, Turkey

²Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

ABSTRACT

Folate is a vital B vitamin which is easily water-soluble. It is a natural source which is found in the herbal and animal foods. Folate has important duties in the human metabolism, one of them is the adjustment of the level of plasma homocysteine. Reduction in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), which is in charge of the metabolism of homocysteine activity affects the level of homocysteine. Therefore MTHFR is an important enzyme in folate metabolism. Some of the mutations occurring in the MTHFR gene is a risk factor for various diseases and may be caused the hyperhomocysteinemia or the homocystinuria, and they also may lead to metabolic problems. MTHFR is effective in the important pathways such as DNA synthesis, methylation reactions and synthesis of RNA. C677T and A1298C are the most commonly occurring polymorphisms in the gene of MTHFR. The frequency of these polymorphisms show differences in the populations. MTHFR, folate distribution, metabolism of homocysteine and S-adenosylmethionine, by the MTHFR methylation the genetic defects have the potential of affecting the risk of disease in the negative or positive way.

Key words: Folate, homocysteine, MTHFR, polymorphism, methylation.

ÖZET

Folat, suda çözünebilen önemli bir B vitamindir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı gıdalarda doğal olarak bulunmaktadır. Folat, metabolizmada önemli görevler üstlenmektedir. Bunlardan biri de plazma homosistein düzeyinin ayarlanmasıdır. Homosistein metabolizmasında görevli olan metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) aktivitesinde azalma, homosistein seviyesini etkilemektedir.



Bu nedenle MTHFR folat metabolizmasında önemli bir enzimdir. MTHFR geninde meydana gelen bazı mutasyonlar çeşitli hastalıklar için risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüriye sebep olabilmekte, metabolik sorunlara yol açabilmektedir. MTHFR, DNA sentezi, metilasyon reaksiyonları ve RNA sentezi gibi önemli yollarda etkilidir. MTHFR geninde meydana gelen en yaygın polimorfizmler C677T ve A1298C' dir. Bu polimorfizmlerin sıklığı populasyonlarda farklılık göstermektedir. MTHFR, folat dağılımını, homosistein metabolizmasını ve S-adenosilmetionin vasıtasıyla metilasyonu etkilediği için MTHFR' de genetik kusurlar hastalık riskini negatif ve pozitif olarak ayarlama potansiyeline sahiptir.

Anahtar kelimeler: Folat, homosistein, MTHFR, polimorfizm, metilasyon.

Giriş

Folik asit, son dönemlerde biyolojik öneme sahip bir molekül olarak öne çıkmaktadır. Folik asit (folat) pteridin, p-aminobenzoik asit ve glutamik asitten oluşan pteroilglutamik asit yapısında, suda çözünen bir vitamindir. Folik asit ve türevleri başta pürin ve pirimidin homosistein ve metionin aminoasitlerinin metabolizması gibi önemli biyokimyasal olaylarda rol almaktadırlar. Bu nedenle de hematopoetik dokular, gastrointestinal kanal mukozası ve embriyonun gelişmesi gibi DNA yapım ve yıkımının hızlı olduğu dokularda folat esansiyel bir maddedir. Normal DNA ve protein sentezinde folik asit ve vitamin B12 nin gerekli olduğu bilinmektedir^{1,2}.

Yiyeceklerdeki folatlar, 5-metiltetrahidrofolat ve formiltetrahidrofolat olarak bulunmaktadır. 5- metiltetrahidrofolat, besinsel folatların en baskınıdır ve 5-metil-5,6-dihidrofolata kolayca okside edilir. Bu okside olmuş formunda, toplam besin folatlarının tamamını sunabilmektedir. 5 –metil-5,6-dihidrofolat, yemekten sonra midede etkin olan asit şartları altında hızlıca indirgenmektedir. Aynı koşullarda 5-metil tetrahidrofolat nispeten stabildir. Normal mide, bir konsantrasyon gradientine karşı lümen, nitrit ve reaktif oksijen metabolitlerinin güçlü bir inhibitörü olan askorbik asit salgılamaktadır. Askorbik asit 5-metil-5,6-dihidrofolat' in asit koşullarında değerlendirilmesinde kritik bir faktör olabilir. Bu mekanizma besinlerden folatın biyoyararlılığının optimize edilmesinde önemli olabilir. Beslenme ile alınan folatın taşınımı, transmembran pH gradienti ile anyon değişim mekanizmasını devam ettiren süreçler aracılığıyla enterosit fırça membranında yapılır. Folat intraluminal pH' da anyoniktir. Proksimalde daha etkili olmasına rağmen, absorpsiyon jejunum boyunca devam eder. Poliglutamil folatlar, pteroil-γ-glutamil hidrolaz tarafından folilmonoglutamatlara

dönüştürülür ve enterositlerde 5-metil tetrahidrofolata metabolize olmaktadır. Bu monoglutamil folat koenzimi, vitaminin plazma formudur ve B-12 ye bağlı metionin sentaz tarafından monoglutamil tetrahidrofolata dönüştürüldüğü periferel dokulara taşınmaktadır. Monoglutamil tetrahidrofolat, oligo- γ -glutamil tetrahidrofolat oluşturmak için glutamat parçalarını biraraya getiren folilpoliglutamat sentaz (FPGS) substratıdır. Bu reaksiyonun ürünü hexaglutamil tetrahidrofolattır³⁻¹².

Kronik folat ve metil eksikliği; anormal DNA metilasyonu, DNA kırıkları ve kromozom segregasyonunda kusurlarla sonuçlanmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalar, genomik DNA hipometilasyonunun kromozomal değişme ve anormal segregasyonla ilişkili olduğunu göstermektedir. MTHFR; 5,10-metilenTHF'ı, homosisteinin metionine remetilasyonu için metil vericisi olan 5-metilTHF'ye dönüşümünü katalizler. Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5-metil THF düzeyi azalmakta, 5,10- metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır. Yüksek homosistein seviyesi ise kusurlu folat metabolizmasına işaret etmektedir. Bu çalışmanın amacı, MTHFR enziminin folik asit metabolizmasındaki temel işlevlerini ve MTHFR enziminde meydana gelen polimorfizmlerin etkilerini özet olarak sunabilmektir. Bu amaçla folat metabolizması, homosistein metabolizması, tek karbon transfer reaksiyonları, MTHFR aktivitesi, MTHFR polimorfizmleri ve etkileri hakkında bilgiler verilmiştir¹².

Folat Metabolizması

Plasma ve Eritrositlerde Folat

5-metil tetrahidrofolat portal sirkülasyonda serbest bırakılmaktadır. Bu folatın çoğu, karaciğerde tutulmaktadır, bir kısmı ise safrada serbest haldedir. Plasma 5-metiltetrahidrofolat seviyesi, 3-30 ng/ml'dir. Devam eden folat yetersizliğinde vitamin desteği, hücrede ve enterohepatik döngüdeki folilpoliglutamat havuzundan sağlanmaktadır. Hücreye alımın azalması, hücrel folilpoliglutamat sentezinin azalmasına ve folilpoliglutamatların monoglutamatlara hidrolizinin artmasına öncülük etmektedir. Bu proses ekstraselüler plazmada kullanılabilir 5-metiltetrahidrofolatı arttırmaktadır. 5-metiltetrahidrofolat, endositoz reseptörleri aracılığı ile renal proksimal tübülde yeniden absorbe edilmektedir^{12,13}.

Bugün eritrositlerde folatın 5-metiltetrahidrofolat ve formiltetrahidrofolat olarak bulunduğu bilinmektedir¹⁴. Eritrosit folatı metabolik role sahip değildir ve folat dengesinin devamı için

uzun süreli bir tampon olarak düşünülmektedir. Yaşlı eritrositlerde folat retikuloendotelial sistem tarafından değerlendirilmektedir. Daha sonra karaciğere taşınmakta ve enterohepatik döngü aracılığı ile safrada periferik dokulara yeniden dağılmaktadır¹².

Hücrel Transport

Hücrel transport sistemleri iki sınıfa ayrılabilir. Birincisi, membran taşıyıcılarını içermektedir. Karaciğer hücrelerinde folat taşınımı enerjiye bağlıdır ve elektronötral folat hidrojen taşıyıcıları vardır. Anyon değişim mekanizması ile gerçekleşmektedir. Mitokondri ise spesifik folat taşıyıcılarına sahiptir. Hücrel folat taşınımının ikinci sınıfı glikosilfosfotidil inozitol ile plazma mebranına bağlı spesifik folat bağlayıcı proteindir ve bu protein belirli epitelyal hücrelerin apikal mebranında yer almaktadır. Bu yüksek afiniteli folikoenzimlere bağlanabilmektedir^{12,15-18}.

Tek Karbon Transfer Reaksiyonlarında Folat Koenzimleri

Folatın metabolik rolü, oksidasyonun değişik düzeylerinde ortaya çıkan tek karbon birimlerini taşımasıdır. Tek karbon transfer reaksiyonlarından en önemli 5 tanesi; serinin glisine dönüşümü, histidin katabolizması, timidilat, metionin ve pürin sentezidir. Bu reaksiyonlar, FADH2 ve NADPH gibi koenzimler ve spesifik enzim sistemleri aracılığı ile kolaylaştırılmış, farklı elektron transfer basamaklarında yer almaktadır. Folat hücrelere 5-metiltetrahidrofolat olarak girmektedir. Folatın hücrel alımı için B12'ye bağlı metionin sentaz oranı sınırlayıcıdır. Çünkü bu enzim 5-metiltetrahidrofolatın tetrahidrofolat üretimi için gereklidir^{12,19}.

Folata bağlı tek karbon metabolizmasında tek karbon birimlerinin ana orjini SHMT (serinhidroksimetiltransferaz) tarafından katalizlenen reaksiyonda serin'in beta karbonudur. Bu reaksiyonda glisin oluşturulur ve tetrahidrofolat 5-10 metilentetrahidrofolata dönüştürülür¹².

Histidin Katabolizması

FIGLU (formiminoglutamik asit) histidin yıkımından oluşmaktadır. Histidin yüklemesinden sonra FIGLU atılımı folat yetersizliği için yararlanılan bir testdir. FIGLU'nun formimino grubunun tetrahidrofolata transferi 5-10-metheniltetrahidrofolat oluşturur¹².

Pürin ve Pirimidin Nükleotid Sentezi

Folik asit türevlerinin en önemli görevidir. Pirimidin nükleotidlerinin sentezinde 5,10-metilentetrahidrofolat, timidilatmonofosfat(TMP) oluşturmak için deoksiüridilatmonofosfatı (dUMP) metiller. TMP, DNA oluşumunda sınırlayıcı timidilat sentaz (TS) için gereklidir. Metotraksat gibi antifolat kemoterapik ilaçlar dihidrofolata benzer ve dihidrofolatı tetrahidrofolata dönüştüren dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe eder. TMP oluşumu, tümör hücrelerinin hızlı bölünmesinde DNA sentezinin inhibisyonuna öncülük eden tetrahidrofolatın düşük oranlarına karşı hassastır. TS ekspresyonu hücre döngüsünün S fazı boyunca pik noktadadır ve replikasyon oranı ile ilişkilidir. Poliriferasyondaki hücrelerde TS artışı dihidrofolat seviyesini arttırmaktadır. Dihidrofolat, 5-10 metilentetrahidrofolatredüktaz enzimini inhibe etmektedir ve nükleik asit sentezine öncelik tanıyan düzenleyici bir mekanizma sağlamaktadır²⁰.

Serin ve Glisin Dönüşümü

SHMT (serinhidroksimetiltransferaz), serin ve glisin'in birbirine dönüştürülmesi, geri dönüşümlü olarak katalizlemektedir. Bu reaksiyon kofaktör olarak B6 ya ihtiyaç duymaktadır ve oksidasyonun formaldehit düzeyinde tek karbon havuzunda serin'in beta karbonunu sunmaktadır. 5,10-metilentetrahidrofolat, 5-metiltetrahidrofolat oluşturmak için 5,10-metilentetrahidrofolatredüktaz tarafından kullanılmasına rağmen DNA'nın timidin ve pürin sentezinde metilentetrahidrofolat dehidrogenaz ve TS için' de gereklidir. Bu nedenle 5-10 metilentetrahidrofolat bu üç önemli yolak için dallanma noktasıdır^{19,21}.

Homosistein Remetilasyon Döngüsü: Folata Bağlı De Novo Metionin Biyosentezi

Homosistein iki önemli yolakta yer almaktadır ve bazı enzimler tarafından regüle edilmektedir. De novo metionin biyosentezi, sistationin beta sentaz (stimüle edici) ve 5,10-MTHFR (inhibe edici) arasında S-adenosilmetionin (SAM) tarafından düzenlenen transsülfürasyon (sistationine) yolağıdır. Homosistein remetilasyon döngüsünde, 5,10-metilentetrahidrofolat 5,10-MTHFR aracılığı ile 5-metiltetrahidrofolata indirgenmektedir. Bu reaksiyon 5-metiltetrahidrofolat oluşturma yeteneğindeki tek reaksiyondur. B12'ye bağlı metionin sentaz daha sonra homosisteini metionine dönüştürür (5-metiltetrahidrofolatı kullanan ve tetrahidrofolat oluşturan bir basamak). Bu son aşama Metionin sentazı aktive

eden metionin sentaz redüktaz enzimini gerektirmektedir. Homosisteinin metionine dönüşümü için betain kullanımı homosistein metiltransferazı (B12'den bağımsız betain enzimi) kapsamaktadır. De novo sentez edilen metionin, ATP ve metil vericisi SAM (adrenalin, fosfotidil kolin ve karnitin gibi bazı önemli biyomoleküllerin metillenmesinde metil vericisidir) için gerekli olan metionin adenosil transferaz tarafından aktive edilebilir. Bu proses süresince SAM, yeni bir remetilasyon döngüsünün yeniden başlaması için homosisteine hidrolize olan S-adenosilhomosisteine (SAH) dönüştürülmektedir. Bu omurgalılarda homosistein üretimi için tek yoldur. Homosisteinin transülfürasyonu, sistationin betasentaz tarafından katalizlenen, sistationin oluşturmak için serinle yoğunlaştırılmasını gerektirmektedir. Sistationin, B6'ya bağlı gama sistationaz tarafından sistein ve alfa ketobütirata hidrolize edilir. Remetilasyon ve transülfürasyon yollarının metabolik düzenlenmesi, homosistein kullanımını koordine eden SAM'in etkisi altındadır. SAM, sistationin beta sentazı aktive ederken, 5,10-MTHFR'yi inhibe etmektedir. Bu nedenle, SAM seviyesi düştüğünde, sistationin oluşumu azaltılırken 5-metiltetrahidrofolat oluşumu sınırlandırılmamaktadır. Bu durumda homosistein metionin üretimi için muhafaza edilmektedir. Tersine, yüksek SAM seviyesi, sistationin betasentazın aktivasyonundan dolayı homosisteinin sülfürasyonunu arttırmaktadır^{19,22-29}. İnsanlarda metil grupları kullanımı, besinle kazandıkları metioninden fazladır. Bu eksiklik 5-metiltetrahidrofolat ve betainden telafi edilmektedir. SAM'in oluşumunda aktif metil gurupları için devamlı olan gereksinim kreatin oluşumu ile sonuçlanmaktadır¹².

Kısaca, folat başlangıçta 5-metiltetrahidrofolata dönüşmekte, B12 vitaminine bağlı metionin sentetazın katalize ettiği bir reaksiyon yoluyla homosistein ile birleşmekte ve L-metionin ortaya çıkmaktadır. Metioninin oluşumu bu yolla ve bir miktar diyetle alım şeklindedir. Metionin, metionin adenosil transferaz enzimi aracılığı ile ATP ile birleşir ve S-adenosil metionin (SAM) ortaya çıkar. SAM ise merkezi sinir sisteminde gerçekleşen 35 kadar transmetilasyon reaksiyonundan sorumludur. (folat metabolizması). Folatlar ilk kez 1940'larda sentezlenmiş, başlangıçta tüm işlevlerinin hemopoetik alanda olduğu düşünülmüştür. Oysa bugün bu vitaminin doğum kusurlarını önlediği ve kardiyovasküler alandaki etkileri bilinmektedir^{30,31}.

Homosistein Metabolizması

Homosistein (Hcy) ilk olarak 1932 yılında Butz ve Du Vigneaud tarafından tanımlanan sülfür içeren bir aminoasittir. Hcy metabolizmasındaki bazı enzim defektleri sonucu ciddi biçimde

artmış homosistein seviyeleri ile seyreden ve homosistinuri denilen hastalık ortaya çıkmaktadır.. İlk olarak 1969 yılında Mc Kully ve arkadaşları ile başlayan pek çok çalışmada yüksek homosistein düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklar için güçlü bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Serbest sülfhidril grubu taşıyan bir aminoasit olan homosistein diyetle alınmaz, proteinlerin yapısına katılmaz ve sadece metiyonin metabolizmasının bir ara ürünü olarak vücutta oluşturulur.

Homosisteinin metilasyonla metionin'e dönüştürülmesi B12, transsülfürasyonla sisteine dönüştürülmesi ise B6 vitaminine bağımlı enzimatik reaksiyonlardır. Normal koşullarda homosistein üretimi ve metabolizması arasında sıkı bir denge mevcuttur. Plazma homosistein düzeyi, popülasyonlar arasında farklılık göstermesine rağmen, normal plazma homosistein düzeyi 5-15 mmol/L olarak kabul edilmektedir. Homosistein düzeyi; metabolizmadaki genetik bozukluklar (enzim defektleri gibi), kronik hastalıklar, vitamin ve beslenme eksiklikleri, kişisel özellikler (yaş, cinsiyet vb.) ve bazı ilaçlardan etkilenmektedir. Özellikle; homosistein düzeyi yaşla birlikte artış göstermekte olup, erkeklerde bayanlara göre daha yüksektir. Artmış plazma homosistein düzeyi hiperhomosisteinemiye ve dolayısıyla homosisteinüriye neden olmaktadır. Artan plazma homosistein düzeyi, arteriyel ve venöz trombozis, stok, miyokardiyal infarkt ve kronik renal yetersizlik gibi birçok hastalıklar için önemli risk faktörüdür. Artan homosistein düzeyi folik asit alımı ile normal seviyelere çekilebilir. Bu nedenle birçok hastalık için risk faktörü olan plazma homosisteinindeki artışın nedeninin araştırılması ve diyetle normal düzeylere çekilmesi sağlık açısından önem taşımaktadır³².

Folat ve Embriyonik Gelişim

Gebelikten önce ve gebelik süresince folat alımı, doğum kusurlarının oluşmasına ve ya yeniden meydana gelmesine karşı koruyucu olabilmektedir. Ek olarak son yıllarda homosistein, koroner arteri ve trombotik hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olarak gösterilmektedir. Folat, toplam plazma homosistein (tHcy) düzeyinin düşürülmesi için etkili bir yoldur^{33,34}.

Gebelik, folat katabolizmasının artışı ve serum ve eritrosit folat düzeylerinin azalışı ile ilişkilidir. İnsanlarda, doğum ağırlığı ve boy uzunluğu maternal ve neonatal folat düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. Folat yetersizliği kobalamin yetersizliği kadar NTD (Nöral Tüp Defekti) için bir risk faktörü olarak sunulmaktadır. Hiperhomosisteinemi folat ya da kobalamin yetersizliği ile meydana gelebilir ve NTD için bir risk faktörüdür. Fetal gelişim boyunca folata bağlı

enzimlerin aktivitesindeki değişiklikler Metilen tetrahidrofolat artışı ve fetusta homosistein hassasiyetindeki artışı desteklemektedir. Folat yetersizliğinin teratojenik etkileri, DNA sentezinde değişiklik, sitogenetik hasar ya da DNA metilasyonunda anormalliklere öncülük eden folata bağlı enzimlerin azalan aktivitesi ile ortaya çıkabilir³⁵.

Folatlar, histidin, metionin, homosistein, serin, glisin amino asitlerinin metabolizması için gerekli tek karbon birimlerinin transferi ve pürin ve pirimidinlerin sentezini içeren biyokimyasal reaksiyonların çoğunda yer almaktadır. Folat, esansiyel amino asit olan metionin metabolizmasında ciddi öneme sahiptir. Adenosilmetionin, DNA metilasyonu ve nörotransmitter üretimini içeren biyolojik metilasyon reaksiyonlarında başlıca metil vericisidir. DNA metilasyonu, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde ve gelişme süresince hücrelerin farklılaşmasında rol oynamaktadır. Homosisteinin metionine remetilasyonu, metionin sentaz enzimi aracılığı ile katalizlenmektedir ve bu reaksiyon metiltetrahidrofolattan metil gurubunun bulunabilirliğine bağlıdır. Homosisteinin metionine remetilasyonu için gerekli metiltetrahidrofolattan meydana gelen MTHFR' nin aktivitesi fetal gelişim süresince yüksektir fakat doğumdan önce azalır. Metionin sentaz aktivitesinin, ikinci trimesterdeki karaciğer ve böbreklerde arttığı bildirilmiştir³⁵.

Folat Yetersizliğinin Teratojenik Etkisi

Folat eksikliğinin teratojenik etkisi için mümkün mekanizmalardan biri, DNA sentezinde değişiklik yapmak için öncülük eden folata bağlı enzimlerin aktivitesinde azalmadır. DNA biyosentezi dihidrofolat üretir. Bu da katabolize olabilen bir folat türüdür. Gebelikte folat katabolizmasının pik yaptığı dönem hipertrofik büyümeye geçiş olduğu dönemdir. Folatlar ve antifolatlar doz ve zamanla ilişkili farklı etkilere sahip olabilirler. Kromozomal fragil bölgelerin varlığı insanlarda yaygındır. Birçok durumda herhangi bir fenotipik anomali ile ilişkili olmamasına rağmen belli fragil bölgelerin meydana gelmesi diyetle alınan folatın yetersizliği ile meydana gelen karsinogenezis ile ilişkilidir³⁵.

Remetilasyon yolunda, metiltetrahidrofolattan metil gurubu homosisteine transfer olur ve daha sonra metionin adenosil metionine aktive edilir. Besinsel metionin verme bu önemli metil vericisinin üretiminde artışa yol açar. Fare embriyolarında, adozin homosistein hidrolaz enzimi için kodlanan gendeki mutasyon embriyonik ölümlere öncülük etmektedir. Bu mutasyon metilasyon reaksiyonlarını inhibe eden hücrel adenosil homosistein düzeylerini arttıracığını düşündürmektedir³⁵.

Homosisteinin Embriyoya Toksik Etkisi

Folat eksikliğinden kaynaklanan homosisteinin birikimi plazmada artan homosistein düzeyleri ile sonuçlanmaktadır. Artmış intraselüler ve extraselüler değerler sitotoksik olmak için uygun değerlerdir. Homosisteinin yüksek konsantrasyonları in vitro üretilen fare embriyoları için embriyotoksiktir. Fetal kayıplarda artış sistationin beta sentaz eksikliğinden dolayı homosisteinuria'lı bayanlarda rapor edilmiştir. Maternal plazmada homosistein düzeyinin artması NTD, tekrarlayan spontan düşüklükler ve plasental bozukluklar için risk faktörü olarak ileri sürülmüştür. Foliküler sıvıda ve amniyon sıvısında homosistein düzeyleri plazmadaki ile önemli ilişki içerisinde. NTD' li yavruya sahip annelerin amniyotik sıvısında homosistein düzeyinin arttığı görülmüştür³⁵.

MTHFR Aktivitesi

Folat, birçok yiyecekte doğal olarak oluşan temel B vitaminidir. Memeliler folatı sentezleyemezler. Yetersiz folat alımı nöral tüp defektleri, down sendromu, kardiovasküler hastalıklar, alzheimer ve çeşitli kanserlerin artan riskleri ile ilgilidir. Folat, dUMP'den dTMP sentezi için gerekmektedir. dUMP, metionin ve SAM üretimi için gereklidir, SAM ise frajil bölgeler ve sentromer gibi spesifik bölgelerde kromozomal fragilitiyi engeller ve DNA metilasyonu için birincil metil vericisidir. Folat eksikliğinin, SAM ve dTMP sentezini azaltma, CpG hipometilasyonu ve DNA'da fazla urasil birleştirme gibi etkileri vardır. Fazla urasil birleşmesi nokta mutasyonu oluşumuna ve kromozom kırıklarına yol açabilir. Ek olarak azalmış dTMP sentezi, tümör gelişiminde fonksiyonu olduğu varsayılan folata hassas frajil bölgelerin ekspresyonu ile ilişkilidir. Sentromerik DNA'nın hipometilasyonu, 1, 9 ve 16. kromozomlar gibi spesifik kromozom kırıklarının yanısıra kromozom kayıpları ile sonuçlanır. Son zamanlarda, folik asit ya da 5-metiltetrahidrofolat eksikliğinin kültüre alınmış insan lenfositlerinde 17 ve 21. Kromozomların anöploidi oranını arttırabildiği gösterilmiştir³⁶.

Folat döngüsü iki temel fizyolojik aşama içermektedir.

1. DNA sentezi ve tamiri için pürin ve pirimidinlerin sentezi
2. Metionin döngüsüyle ilişkili metilasyon.

Bu iki yol iki temel reaksiyon vasıtasıyla etkili bir şekilde dengelenmektedir. Bunlardan birincisi, metilasyon aşamaları için en önemli metil vericisi olan S-

adenozilmetionin(SAM)oluşturmak için homosisteinin re-metilasyonudur(Özellikle embriyonik gelişimin başlangıç peryotları boyunca önemlidir). Metil grubunun transferinden sonra SAM, DNA metilasyonu için gerekli metiltransferazın inhibitörü S-adenozilhomosisteine dönüşmektedir (SAH). SAH, SAH hidrolaz tarafından katalizlenen bir reaksiyonda dönüştürülen homosistein kaynağıdır. İkinci reaksiyon, döngüden homosisteini uzaklaştıran sistationin beta sentaz (CBS) aracılığı ile sistein ve glutatyon üreten trans-sulfürasyon yoludur.

Bu iki yolun (re-metilasyon ve trans-sulfürasyon) metabolik düzenlenmesi homosisteinin nasıl kullanılacağını koordine eden SAM'in etkisi altındadır. Aslında SAM, CBS'yi aktive ederken 5,10-MTHFR'yi inhibe etmektedir. Bu nedenle SAM seviyesi azaldığında 5-metil tetrahidrofolat (5-CH₃-THF) oluşumu sınırsızdır. SAM seviyesi anormal değişimler gösterdiğinde MTHFR'nin fonksiyonel yönünü etkileyebilir. Yüksek SAM, 5-10 MTHFR inhibisyonu aracılığı ile CBS'nin aktivasyonu ile homosisteinin trans-sulfürasyonunu artırır. SAM'in bu fonksiyonel regülasyonu MTHFR enziminin yapısı ile ilişkilidir³⁷.

Folatın birinci fonksiyonu, hem guanin, adenin, timin sentezi için hem de DNA metilasyonunu da içeren temel metilasyon reaksiyonlarına SAM ve metionin sentezi için bir karbon sağlamaktır. Folat eksikliği DNA hipometilasyonu ve anormal gen ekspresyonu gibi durumlarla sonuçlanır. Yüksek homosistein seviyesi kusurlu folat metabolizmasına işaret etmektedir. Homosistein sülfür içeren aminoasittir ve metionin döngüsünde orta düzeyde bir kilit noktasıdır. Bu döngü tüm yaşam için zorunlu olan DNA metilasyonunu içeren transmetilasyon reaksiyonlarının tüm çeşitleri için metil grupları oluşturmaktadır. Tek karbon metabolik döngüsü çoklu enzim interaksiyonları tarafından düzenlenmektedir. En önemli enzimler

- Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR): 5,10-metilenTHF 'yi, homosisteinin metionine remetilasyonu için metil vericisi olan 5-metilTHF'ye dönüşümünü katalizler,
- Metionin sentaz (MS): homosisteinin metionine remetilasyonunu katalizler,
- Metionin SAM oluşturmak için ATP ile reaksiyona girer. SAM, en önemli metil vericisidir ve CBS (sistationin beta sentaz)' ın stimülasyonu ve 5,10-MTHFR'nin inhibisyonu ile kendi sentezini düzenler.
- Metionin sentaz redüktaz, metionin sentaz enzim kompleksinde kobalamin aktivasyonu için gereklidir³⁸.

MTHFR folat metabolizmasında bir anahtar enzimdir. MTHFR geni birinci kromozom (1p36.3) üzerinde yer almaktadır. 2.2 kb uzunluğunda ve 11 ekzondan oluşmaktadır. Folik asit ve MTHFR kompleks biyokimyasal yollar içermektedir. Normal MTHFR aktivitesi metionin ve folat döngüsünün devamına yardımcı olabilir ve homosistein oluşumunu önler³⁹. MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolatın (CH₂-THF) , homosisteinin metionine remetilasyonu için elzem olan 5-metiltetrahidrofolata (CH₃-THF) indirgenmesi için gerekli bir enzimdir⁴⁰. 5-metiltetrahidrofolat DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. Bu nedenle MTHFR nükleik asit sentezinde ve metilasyon reaksiyonları arasında bir karbonun dağılımının düzenlenmesinde anahtar enzimdir⁴¹.

Bu enzimatik varyantlar, S-adenosilmetionin/S-adenozilhomosistein değerinde ve; serumda yüksek homosistein oranları ve S-adenosilmetionin sentezindeki değişikliklerle maternal hipometilasyon durumunu yansıtan metabolik yollara yardımcı olacak potansiyele sahiptir⁴². 5-metiltetrahidrofolat, s-adenosil metionin için metionin aktivasyonunu sağlar. Bu aynı metil gurubu DNA'yı da içeren çok çeşitli bileşenlerde metilat olarak kullanılabilir. Alternatif olarak 5,10-metilentetrahidrofolatın tek karbon birimi DNA ve/veya RNA sentezi içinde kullanılabilir. MTHFR, folat dağılımını, homosistein metabolizmasını ve S-adenosilmetionin vasıtasıyla metilasyonu etkilediği için MTHFR' de genetik kusurlar hastalık riskini negatif ve pozitif olarak ayarlama potansiyeline sahiptir⁴³.

MTHFR, dTMP sentezi ve metilasyonun devam etmesi için folatın biyoyararlılığını etkileyen folat metionin yolunda önemli bir enzimdir. MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolatın homosisteinin metionine remetilasyonunda metil vericisi olarak davranan 5-metiltetrahidrofolata indirgenmesini katalizler. MTHFR, 1998 yılında klonlanmış olup 102 bp'den 432 bp'ye değişen uzunluklarda 11 ekzondan oluşmaktadır⁴⁴.

MTHFR Yapısı

MTHFR enzimi, flavinadenozindinükleotide (FAD) herbiri nonkovalent bağlı dimerler tarafından oluşturulan bir flavoproteindir (riboflavinli bir nükleik asit türevini içeren proteinlerdir. Flavin adenin dinükleotid (fad) ve flavin mononükleotid (fmn) olmak üzere iki çeşidi mevcuttur. Herbir monomer FAD kofaktörüne bağlanan N-terminal katalitik domain ve hücrede metionin düzeylerine cevaben allosterik SAM inhibitör düzenleyici enzim aktivitesini sınırlandıran C-terminal domain içermektedir. Herbir monomerde katalitik domain 677. pozisyonda, düzenleyici domain 1298. Pozisyonda yer almaktadır³⁷.

MTHFR enzimatik aktivitesi, farklı yollarda etkili olabilmektedir. Gen sekansında polimorfizmler ya kofaktörü FAD'ın ya da substratı için enzim afinitesini değiştirebilir. Metionin ya da SAM'in yüksek konsantrasyonları MTHFR aktivitesi için inhibitördür ve sonunda FAD kofaktörünün yetersiz konsantrasyonu enzimatik aktiviteyi azaltmaya yol açabilir. MTHFR aktivitesinin azaldığı durumlarda, 5-10-metilentetrahidrofolat konsantrasyonu artmakta, 5-metiltetrahidrofolat konsantrasyonu düşmektedir. Bu değişim dengede iken urasil birleşimini azaltarak kromozom kırıklarının sayısında meydana gelen bir azalma CpG adacıklarında metilasyonu arttırarak dTTP sentezini desteklemektedir. Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5-metil THF düzeyi azalmakta, 5,10- metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır. MTHFR enzimi, plazma total homosistein (tHcy) konsantrasyonunda artış ve kardiyovasküler risk artışı ile ilişkili termolabil enzim varyantı olarak Kang ve ark. tarafından ortaya çıkarılmıştır. Plazma total homosistein konsantrasyonları bazı hastalıklarda artmaktadır. Folatlar, kobalamin, B6 ve riboflavin gibi B vitaminlerin alımı, yaşam tarzı, fizyolojik ve genetik faktörler ile plazma total homosistein konsantrasyonu belirlenmektedir⁴⁵.

MTHFR Polimorfizmleri

MTHFR geninde birçok polimorfizm literatürde bildirilmiştir. Diğer taraftan, populasyon dinamikleri ve hastalıklarla ilişkili olarak birkaç tanesi çalışılmıştır.

MTHFR C677T polimorfizmi

4. ekzon 677. Pozisyonda sitozinin timine transisyonudur. Enzim aktivitesinde azalma ve alaninin valin yerine geçmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu C677T transisyonu, 37°C de enzim aktivitesini azaltarak termolabiliteye sebep olan bir mutasyondur. Normal CC genotipi ile karşılaştırıldığında CT heterozigot ve TT homozigot enzim aktivitesi sırası ile %35 ve %70 azalmaktadır. T alleli için homozigotluk, Hcy seviyesini orta derecede yükselten azalmış enzim aktivitesi ile ilişkilidir⁴⁴.

MTHFR A1298C polimorfizmi

7.ekzon 1298. Pozisyonda adeninin sitozine transisyonudur. Glutamatın alanine değişimi ile sonuçlanır. Bu mutasyon mboll tanıma bölgesinde değişiklik yapar ve %33 allel frekansına sahiptir. Enzim aktivitesi azalır fakat C677T allelindeki azalma ile aynı ölçüde değildir. A1298C nin ne homozigot ne de heterozigot durumu, yüksek homosistein konsantrasyonuna ya da C677T homozigot durumu için belirgin olan düşük folat konsantrasyonuna etki etmektedir.

Ayrıca, azalan MTHFR aktivitesi ile ilişkili olarak, down sendromlu çocukların annelerinin yüksek frekansta MTHFR C677T ve A1298C'nin heterozigot polimorfizmine sahip olduğu belirtilmiştir⁴⁴.

Folat, MTHFR genotipi ve onun kofaktörü riboflavin arasındaki ilişki karmaşıktır. 1-Folat konsantrasyonu arttığında, kırılma-füzyon ve anöploididen kaynaklanan genomik instabilite azalır. 2-Yüksek MTHFR aktivitesinde genom hipometilasyonu ve anöploidi azalır. 3- Kırılma-füzyon döngüsü riski yüksek riboflavin ve düşük folat durumlarında artmaktadır. 4-Genom hipometilasyonu ve anöploidi riski düşük riboflavin ve düşük folat durumlarında artmaktadır. Bu karmaşık ilişki MTHFR C677T polimorfizminin önemli klinik sonuçlar için nasıl bir risk olduğunu açıklayabilmektedir. Kırılma-füzyon döngüleri ve kromozom kırıklarının önlenmesi, lösemi ve lenfoma gibi durumlar ile ilişkili olabilen DNA'da urasil inkorporasyonu aracılığı ile gerçekleşir⁴⁴.

MTHFR Polimorfizmlerinin Bazı Hastalıklarla İlişkisi

Düşük folat alımının artan kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. MTHFR ve kanser arasındaki ilişki farklı kanserlerde araştırılmıştır. C677T homozigotluğu endometrial kanser riskini 2.8 kat arttırmıştır. Oysaki ovaryum tümörlü hastalarda MTHFR geninde delesyonlar gözlenmiştir. Tersine, farklı çalışmalar TT homozigotlarında kolorektal kanser riskini 1.2-3 kat, akut lösemi riskini 4.3 kat azalttığını göstermiştir. Fakat, koruyucu etkisi folatı yetersiz olan bireylerde kaybolabilmektedir. Bazı çalışmalar A1298C polimorfizmi ve kolorektal kanser riski arasında ilişki olduğunu belirtmiştir. Bütün çalışmalarda, CC bireylerinde AA ile karşılaştırıldığında indirgenmiş bir riske sahip olduğu gözlenmiştir⁴⁴.

Yapılan çalışmalarda 677T homozigotlarına sahip bireylerde diğer MTHFR genotipleri ile karşılaştırıldığında koroner kalp hastalığı için %19 daha yüksek riske sahip olduğu belirtilmiştir. MTHFR genotiplerinde 72 çalışmayı aşkın bir meta analiz, MTHFR mutasyonlu insanlarda kalp hastalıkları, tromboz ya da akciğer damarlarında tıkanıklığa sahip olma riskini arttırmakta olduğunu göstermiştir⁴⁴. Diğer taraftan 60 koroner ateroskleroz hastası ile yapılan başka bir çalışmada MTHFR 677 C-T ve 1298 A-C polimorfizmlerinin koroner arter hastalıklarının gelişiminde ve tıkalı damar oluşumunda etkisinin olmadığı ileri sürülmüştür⁴⁶.

Tek karbon folat metabolizmasının anahtar moleküllerinden folik asit ve homosistein gebeliğin devamı için önemlidir. Folat, DNA sentezi ve hücre bölünmesi için gereklidir ve tek

karbon metabolizma yolağında metabolize olmaktadır. Bu nedenle plasenta gibi hızlı büyüyen doku için folat gerekli bir faktördür. Plasenta anneden bebeğe nutrientlerin transferi için bir kanal olarak görev yapmaktadır. Folat bazı aminoasitlerin metabolizması için substrat olarak davranır, transmetilasyon ve transsulfurasyon yollarında yer almaktadır. Hiperhomosistenemia, nöral tüp defektleri, plasental bozukluklar ya da preeklamsi gibi gebelikle ilişkili hastalıklar için risk faktörü olarak görülmektedir. Hiperhomosistenimia, folik asit, vitaminler ve diğer besleyicilerin yetersiz alımından dolayı artmaktadır ya da tek karbon folat metabolizmasında yer alan enzimlerin etkinliğindeki değişiklikten kaynaklanmaktadır. MTHFR, genom stabilitesi, imprinting, ekspresyon ve kanda homosistein değerini yeterli olarak devam ettirmeyi etkileyen bir dizi fizyolojik prosesin yer aldığı folat ve homosistein metabolik yollarında önemli bir enzimdir. homosistein/folat yoluyla ilişkili hastalıkları araştırmak için önemli bir aday enzim olan metilentetrahidrofolatı kodlar⁴⁷.

MTHFR'nin gebelikteki önemine bakıldığında, bu gendeki nükleotid varyasyonlarının gebelerde sonucu etkileyebileceği düşünülmektedir. Rohini ve ark., yaptıkları araştırmada, A1298C, C alleli ve homozigot genotiplerin tekrarlayan gebelik kayıp riskini önemli ölçüde arttırdığını saptamışlardır. Benzer şekilde A1298C polimorfizmi için yapılan meta analizde tekrarlayan gebelik kayıplarında ve spontan abort embriyolarında AC ve CC genotip taşıyıcılığının önemli oranda arttığı gösterilmiştir⁴⁷.

Down sendromu ya da trisomi 21, 21. kromozomda yer alan genlerin 3 kopyasının ekspresyonuna bağlı en sık görülen genetik hastalıktır. Bu durum, olguların yaklaşık %90'ında mayoz süresince maternal nondisjunctiondan kaynaklanmaktadır. Nondisjunction gebelikten önce oosit maturasyonunda I.mayoz süresince meydana gelir. Mayotik nondisjunction henüz aydınlatılamamıştır. Kromozomal nondisjunction ve folat metabolizması arasındaki ilişki son yıllarda ilgi çekmeye başlamıştır. Folat, bölünme ve diğer aşamalarda epigenetik düzenleyici olan hücrel metilasyon reaksiyonlarındaki görevinden dolayı, hücre bölünmesi boyunca genetik materyal dağılımı aşamalarında önemli bir role sahiptir.

Kronik folat ve metil eksikliği; anormal DNA metilasyonu, DNA kırıkları ve kromozom segregasyonunda kusurlarla sonuçlanmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalar, genomik DNA hipometilasyonunun kromozomal değişme ve anormal segregasyonla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bir dizi genetik ve beslenme gibi çevresel faktörler, anöploidizasyonda interaktif bir rol sağlarlar. Down sendromu aynı zamanda anormal homosistein metabolizması

ile de bağlantılıdır. DS' da mayotik nondisjunction altında yatan hücresel ve moleküler mekanizmalar bilinmemektedir. Anne yaşı, DS riski ile inkar edilemez ilişkili olan tek faktördür. Yakın zamanlarda, DNA metilasyonundaki bir kusur mayotik ayrılamamanın potansiyel bir nedeni olarak belirtilmektedir. Bu hipoteze göre sentromerlerin hipometilasyonu, kinetokor ve mikrotübüllerin formasyonunda anomalilere yol açmaktadır. Sentromerik hipometilasyon için gerekli genetik faktörler arasında SAM' in düzenlenmesinde önemli rol oynayan MTRR ve MTHFR'dir⁴².

MTHFR-Çevre Etkileşimleri

Bazı çalışmalarda, beslenme durumu ve C677T polimorfizmi arasında ilişki klinik sonuçlar için araştırılmıştır. Bazılarında nöral tüp defektleri ile ilişkili C677T, TT homozigotluğunun beslenme durumuna bağlı olabileceğini göstermiştir. Hücrelerde folat değeri düştüğünde spina bifida için riskin 13 kat arttığı bildirilmiştir. Maternal multivitamin kullanımı TT homozigotları ve heterozigotlarda spina bifida için riski azaltmaktadır. Kolorektal kanser için yapılan araştırmalar yüksek folat ya da metionin alımının C677T, TT homozigotluğu ile ters ilişkili olduğunu göstermiştir. Diyetle metil desteği yüksek olduğunda, TT bireylerde kolorektal kanser için risk azalabilir. Benzer şekilde, fazla miktarda alkol tüketen TT homozigotları, T alleleline sahip olmayan ancak benzer miktarda alkol tüketenlerden daha fazla riske sahiptir. 5-metiltetrahidrofolat alkol tüketimiyle azaldığında, TT bireyler bu durumu daha az oranda dengeleyebilirler⁴⁴.

MTHFR –Diğer Gen Etkileşimleri

Transkobalamin, cistationin beta sentaz, metionin sentaz redüktaz ve metionin sentaz'ın MTHFR alleleri ile kombinasyonları araştırılmıştır. MTHFR ve transkobalamin genlerindeki polimorfizmler, spontan abortlar için riski arttırabilen homosistein metabolizmasını etkilemektedir. C677T ve Systationin beta sentaz 844ins68 polimorfizmlerine sahip bireylerde spina bifida riskinin arttırdığı gösterilmiştir. Metionin sentaz redüktaz (A66G) ve MTHFR C677T polimorfizmleri için homozigot olan bireylerde spina bifida için riskin arttığı gösterilmiştir. MTHFR C677T, T alleli ile metionin sentaz A2756G, G alleli birlikte bulunduğu kolorektal kanser riskini azalttığı ve korunmada belli derecelerde etkili olabileceği ifade edilmiştir⁴⁴.

Sonuç

MTHFR, folik asit döngüsünde görev alan önemli bir enzimdir. MTHFR enziminde meydana gelen polimorfizmler hücrede folik asit ve homosistein düzeylerini etkilemektedir. Kronik folat ve metil eksikliği; anormal DNA metilasyonu, DNA kırıkları ve kromozom segregasyonunda kusurlarla sonuçlanmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalar, genomik DNA hipometilasyonunun kromozomal değişme ve anormal segregasyonla ilişkili olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan MTHFR polimorfizmleri ile bazı hastalıkların ilişkili olduğu ancak sonuçların popülasyonlar arasında farklılıklar gösterdiği bilinmektedir.

Daha önceki çalışmalarda MTHFR genindeki bazı polimorfizmlerin, down sendromu, kardiyovasküler hastalıklar, nöral tüp defekti ve alzheimer gibi birçok hastalık ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Bu polimorfizmlerin sıklıkları etnik ve bölgesel farklılıklar göstermektedir. Almanlarda C677T homozigot sıklığı %7 iken, Hollanda'da %8.9, Fransa'da %9.5 bulunmuştur. A1298C polimorfizmi ise C677T kadar araştırılmamıştır. Boduroğlu ve ark., 2004 yaptıkları çalışmada folat metabolizması, mikroblesleyiciler ve genler arasındaki ilişkinin tam olarak ortaya çıkarılabilmesi için farklı çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca birçok çalışmada MTHFR genine ait C677T ve A1298C polimorfizmlerinin farklı popülasyonlarda farklı dağılımlara sahip olduğu belirtilmiştir. Uğuz ve arkadaşları 2012 yaptıkları çalışmada, A1298C polimorfizminin klinik yansımalarını net olarak ortaya koyacak geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir⁴⁸.

Kaynaklar

1. Clarok WG, Brater IDC, Johnson AR. Antianemic drugs. In: Goth's Medical Pharmacology. St.Louis: CV Mosby Company, 1988: 3-612.
2. Günaydın MF. Demans hastalarında homosistein, vitamin B12 ve folat ilişkisi (Tıpta uzmanlık tezi). İstanbul, S.B. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2008.
3. Ratanasthien K, Blair JA, Leeming RJ, Cooke WT, Melikian V. Serum folates in man. J Clin Path. 1977; 30:438-48.
4. Stokstad ELR, Koch J. Folic acid metabolism. Physiol Rev. 1967; 47:82-116.
5. Butterworth CE, Santini R, Frohmeyer WB. The pteroylglutamate components of American diets as determined by chromatographic fractionation. J Clin Invest. 1963; 42:1929-39.

6. Donaldson KO, Keresztesy JC. Naturally occurring forms of folic acid. iii. Characterisation and properties of 5-methyldihydrofolate, an oxidation product of 5-methyltetrahydrofolic acid. *J Biol Chem.* 1962; 237:3815–9.
7. Lucock MD, Priestnall M, Daskalakis I, Schorah CJ, Wild J, Levene MI. Nonenzymatic degradation and salvage of dietary folate: Physicochemical factors likely to influence bioavailability. *Biochem Mol Med.* 1995; 55:43–53.
8. Stemmermann G, Heffelfinger SC, Noffsinger A, Hui YZ, Miller MA, Fenoglio-Preiser CM. The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: oncogenes, tumor suppressor genes and growth factors. *Hum Pathol.* 1994; 25:968-81.
9. Herbert V, Larrabee AR, Buchanan JM. Studies on the identification of a folate compound of human serum. *J Clin Invest.* 1962; 41:1134–8.
10. Lucock MD, Hartley R, Smithells RW. A rapid and specific HPLC-electrochemical method for the determination of endogenous 5-Methyltetrahydrofolic acid in plasma using solid phase sample preparation with internal standardization. *Biomed Chromatogr.* 1989; 3:58–64.
11. Cook JD, Cichowitz DJ, George S, Lawler A, Shane B. Mammalian folyl-g-glutamate synthetase, 4. In vitro and in vivo metabolism of folates and analogues and regulation of folate homeostasis. *Biochemistry.* 1987; 26:530–9.
12. Lucock M. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol Genet Metab.* 2000; 71:121-38.
13. Steinberg SE. Mechanisms of folate homeostasis. *Am J Physiol.* 1984; 246:319–24.
14. Lucock M, Daskalakis I, Briggs D, Yates Z, Levene M. Altered folate metabolism and disposition in mothers affected by a spina bifida pregnancy: influence of 677c 3 t methylenetetrahydrofolate reductase and 2756a 3 g methionine synthase genotypes. *Mol Genet Metabol.* 2000; 70:27–44.
15. Ratnam M, Freisheim JH. Proteins involved in the transport of folates and antifolates by normal and neoplastic cells. In *Contemporary Issues in Clinical Nutrition. Folic Acid Metabolism in Health and Disease* (Eds MF Picciano, ELR Stokstad, JF Gregory): 91–120. New York, Wiley-Liss, 1990.
16. Horne DW, Briggs WT, Wagner C. Transport of 5-methyltetrahydrofolic acid and folic acid in freshly prepared hepatocytes. *J Biol Chem.* 1978; 253:3529–35.
17. Horne DW, Reed KA, Said HM. Transport of 5-methyltetrahydrofolic acid in basolateral membrane vesicles from human liver. *Am J Physiol.* 1992; 262:G150–8.
18. Horne DW, Reed KA, Hoefs J, Said HM. 5-methyltetrahydrofolic acid transport in basolateral membrane vesicles from human liver. *Am J Clin Nutr.* 1993; 58:80–4.
19. Banerjee RV, Matthews RG. Cobalamin-dependent methionine synthase, *FASEB J.* 1990; 4:1450–9.

20. Matthews RG, Baugh CM. Interactions of pig liver methylenetetrahydrofolate reductase with methylenetetrahydropteroylpolyglutamate substrates and with dihydropteroylpolyglutamate inhibitors. *Biochemistry*. 1980; 19:2040–5.
21. Green JM, Mackenzie RE, Matthews RG. Substrate flux through methylenetetrahydrofolate dehydrogenase: Predicted effects of the concentration of methylenetetrahydrofolate on its partitioning into pathways leading to nucleotide biosynthesis or methionine regeneration. *Biochemistry*. 1988; 27:8014–22.
22. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulphuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr*. 1992; 55:131–8.
23. Green JM, Ballou JP, Matthews RG. Examination of the Folic Acid 135 role of methylenetetrahydrofolate reductase in incorporation of methyltetrahydrofolate into cellular metabolism. *FASEB J*. 1988; 2:42–7.
24. Leclerc D, Wilson A, Dumas R, Gafuik C, Song D, Watkins D et al. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proc Natl Acad Sci*. 1998; 95:3059–64.
25. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem*. 1990; 1:228–37.
26. Finkelstein JD, Kyle WE, Martin JJ, Pick AM. Activation of cystathionine synthase by adenosylmethionine and adenosylethionine. *Biochem Biophys Res Comm*. 1975; 66:81–7.
27. Finkelstein JD, Martin JJ. Methionine metabolism in mammals: distribution of homocysteine between competing pathways. *J Biol Chem*. 1984; 259:9508–13.
28. Finkelstein JD, Martin JJ. Methionine metabolism in mammals: Adaptation to methionine excess. *J Biol Chem*. 1986; 261:1582–7.
29. Kutzbach C, Stokstad ELR. Mammalian methylenetetrahydrofolate reductase: Partial purification, properties, and inhibition by S-adenosylmethionine. *Biochim Biophys Acta*. 1971; 250:459–77.
30. Fidaner H. Duygudurum bozuklukları ve folatlar. *Duygudurum Dizisi*. 2001; 6:272-6.
31. Jaffe JP, Schilling RF. Erythrocyte folate levels: a clinical study. *Am J Hematol*. 1991; 36:116-21.
32. Alkan N. Polikistik over sendromlu kadınlarda kan CRP, homosistein düzeyleri, obezite ve insülin rezistansı arasındaki ilişkinin araştırılması (Tıpta uzmanlık tezi). İstanbul, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.
33. MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the medical research council vitamin study. *Lancet*. 1991; 338:7-131.
34. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*. 1995; 274:1049-57.

35. Christensen B, Rosenblatt DS. Effects of folate deficiency on embryonic development. *Baillieres Clin Haematol.* 1995; 8:617-37.
36. Beetstra S, Thomas P, Salisbury C, Turner J, Fenech M. Folic acid deficiency increases chromosomal instability, chromosome 21 aneuploidy and sensitivity to radiation-induced micronuclei. *Mutat Res.* 2005; 578:317-26.
37. Martinez-Frias ML. The biochemical structure and function of methylenetetrahydrofolate reductase provide the rationale to interpret the epidemiological results on the risk for infants with Down syndrome. *Am J Med Genet A.* 2008; 146A:1477-82.
38. Eskes TK. Abnormal folate metabolism in mothers with Down syndrome offspring: review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006; 124:130-3.
39. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a huge review. *Am J Epidemiol.* 2000; 151:862-77.
40. Rosenblatt DS. Clinically important genes methylenetetrahydrofolate reductase. *Clin Invest Med.* 2001; 24:56-9.
41. Gaughan DJ, Barbaux S, Kluijtmans LAJ, Whitehead AS. The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene. *Gene.* 2000; 257:279-89.
42. Pozzi E, Vergani P, Dalpra L, Combi R, Silvestri D, Crosti F et al. Maternal polymorphisms for methyltetrahydrofolate reductase and methionine synthetase reductase and risk of children with Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2009; 200:636.e1-636.
43. Esfahani ST, Cogger EA, Caudill MA. Heterogeneity in the prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in women of different ethnic groups. *J Am Diet Assoc.* 2003; 103:200-7.
44. Litwack G. *Folic Acid and Foliates.* London, Elsevier, 2008.
45. Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci.* 2001; 22:195-201.
46. İzmirli M, Alptekin D, Topcuoglu MS, Güzel AI. Investigation of methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in coronary by-passed patients due to coronary atherosclerosis etiology. *Türkiye Klinikleri Cardiovascular Sciences.* 2009; 21:303-8.
47. Nair RR, Khanna A, Singh R, Singh K. Association of maternal and fetal MTHFR A1298C polymorphism with the risk of pregnancy loss: a study on an Indian population and a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013; 99:1311-18.
48. Uğuz N, Erden G, Güngör O, Bal C, Yıldırımka M. MTHFR geninde c677t ve/veya a1298c polimorfizmi tespit edilen bireylerde bu polimorfizm sıklıklarının incelenmesi. *Journal of Clinical and Experimental Investigations.* 2012; 3:472-6.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Nurşen Keser

Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

Adana, Turkey

e-mail: bionursen@gmail.com