

Alkol Kullanım Bozukluğunda Metilentetrahidrofolat Redüktaz Gen (MTHFR) Polimorfizmi

Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene (MTHFR) Polymorphism in Alcohol Use Disorder

Sevim Karakaş Çelik¹, Güneş Çakmak Genç¹, Güliz Şenormancı², Ömer Şenormancı², Ahmet Dursun¹

¹Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi Psikiyatri, Bursa, Türkiye

ÖZET

Amaç; Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir. Alkol kullanım bozukluğu (AKB) olanlarda metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T polimorfizminin plazma homosistein seviyeleri üzerinde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Son çalışmalar homosisteinin dopaminerjik nöronlar üzerinde toksik etkileri olduğunu göstermektedir. MTHFR C677T polimorfizmi ile AKB arasındaki ilişkiyi araştırarak çok sayıda çalışma yapılmakla birlikte elde edilen veriler çelişkilidir. Bildiğimiz kadarıyla, Türk popülasyonunda MTHFR C677T polimorfizmi ile AKB riski arasındaki ilişkiyi araştırılmadığından bu çalışmada Türk popülasyonunda MTHFR C677T polimorfizmi ile AKB arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem; MTHFR C677T polimorfizmi psikiyatri kliniğine AKB nedeni ile yatmış olan 51 hasta ve herhangi bir kronik ve psikiyatrik hastalığı olmayan 81 sağlıklı bireyde TaqMan® 5' nuclease assay yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular; MTHFR C677T polimorfizmi T alel frekansı hasta grubunda % 32.4 olarak bulunurken kontrol grubunda % 32.7 olarak bulunmuştur. Aynı şekilde genotip frekanslarının da her iki grupta da benzer frekanslarda olduğu görülmüş ve genotip ve alel frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunamamıştır.

Sonuçlar; Sonuç olarak, MTHFR C677T polimorfizminin AKB ilerlemesinde etnisiteye bağlı bir faktör olduğu göz önünde bulunarak yaptığımız çalışmamızda Türk Popülasyonunda AKB için MTHFR gen polimorfizminin bir risk faktörü olmadığını tespit ettik.

Anahtar Sözcükler: Alkol Kullanım Bozukluğu, MTHFR, Polimorfizm, Homosistein, Bağımlılık

Geliş Tarihi: 08.07.2020

Kabul Tarihi: 26.01.2021

ABSTRACT

Objective; Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) enzyme is an important enzyme in folate metabolism. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism has an effect on plasma homocysteine levels in patients with alcohol use disorder (AD). Recent studies show that homocysteine has toxic effects on dopaminergic neurons. Although there are many studies investigating the relationship between MTHFR C677T polymorphism and AD, the results are contradictory. To the best of our knowledge, the relationship between MTHFR C677T polymorphism and the risk of AD was not investigated in the Turkish population, so this study aimed to investigate the relationship between MTHFR C677T polymorphism and AD in the Turkish population.

Method; The MTHFR C677T polymorphism was determined using the TaqMan® 5' nuclease assay method in 51 patients who were hospitalized in the psychiatry clinic due to AD and 81 healthy individuals without any chronic and psychiatric diseases.

Results; MTHFR C677T polymorphism T allele frequency was found 32.4% in the patient group and 32.7% in the control group. Genotype frequencies were found to be at similar frequencies in both groups, and no statistically significant difference was found between the groups in terms of genotype and allele frequencies.

Conclusion; In conclusion, considering that MTHFR C677T polymorphism may be an ethnicity factor in the progression of AD, in our study we found that MTHFR gene polymorphism is not a risk factor for AD in the Turkish Population.

Key Words: Alcohol Use Disorder, MTHFR, Polymorphism, Homocysteine, Addiction

Received: 07.08.2020

Accepted: 01.26.2021

ORCID IDs: S.K.Ç.0000-0003-0505-7850, G.Ç.G.0000-0001-7222-0377, G.Ş.0000-0001-8000-0075, Ö.Ş.0000-0002-1407-4911, A.D.0000-0002-7625-837X

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr.Sevim Karakaş Çelik Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye E-posta: sevimkarakas@hotmail.com

©Telif Hakkı 2021 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - Makale metnine <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/> web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2021 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at web site <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/>

doi:<http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2021.44>

GİRİŞ

Alkol kullanım bozukluğu (AKB) davranışsal, psikolojik, farmakolojik, tıbbi ve sosyal boyutları olan kronik bir hastalık olarak kabul edilir (1). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2016 yılında dünya çapında yaklaşık 2.3 milyar AKB hastası vardır (2) ve halk sağlığını içten etkileyen "ödül eksikliği sendromu" olarak kabul edilmektedir (3). AKB, genetik faktörlerin ve gen-çevre etkileşimlerinin önemli bir etkiye sahip olduğu çok faktörlü bir hastalıktır.

AKB etiolojisinde birçok karmaşık nörobiyokimyasal mekanizma rol oynamaktadır. Aslında, etanol serotonin, nikotin, dopamin, opioid, kanabinoidler, γ -aminobütirik asit tip A (GABAA) ve NMDA veya AMPA-alt tip glutamat reseptörlerinin aktivitesini değiştirir. Bununla birlikte, etanol ayrıca folat metabolizması dahil olmak üzere çeşitli metabolik yollarla etkileşime girebilir (4). Bu dolaylı etkileşimler, alkolizmle ilişkili bazı bozuklukları açıklayabilir ve AKB'de rol oynayabilir. Birçok çalışmada AKB hastalarında homosistein düzeyleri ve metabolizması üzerinde durulmuş olup kronik alkolizmin homosisteinle ilişkili metabolik yollardaki bozukluklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

Homosistein (Hcy), metiyonin ve folat döngüsü aracılığıyla metiyoninin demetilasyonundan türetilen bir amino asittir. Homosistein metabolizmasında yer alan enzimler arasında, MTHFR özellikle önemli bir rol oynar (6). MTHFR, homosisteinin metionine metilasyonu için bir ko-sübstrat olan 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolat'a dönüşümünü katalize eder. MTHFR üzerindeki 677. pozisyonundaki C-T transisyonu (alaninin yerine valinin geçmesiyle sonuçlanır), MTHFR'nin termolabil bir formunun sentezlenmesine neden olur. Heterozigotler (CT) ve homozigotlar (TT), yabanıl tipe (CC) göre MTHFR aktivitesinin sırasıyla % 71 ve % 33'üne sahiptir. Böylece, MTHFR polimorfizmleri MTHFR enziminin aktivitesinin azalmasına neden olur ve homosistein seviyelerini etkiler (7). Uzun süreli alkol kullanımı durumunda, hiperhomosisteinemi görüldüğü bildirilmiştir (8). Hiperhomosisteinemi, beyin atrofi dahil olmak üzere alkollü deneklerde görülen semptomlar ve alkolün çekilmesi sırasındaki nöbetlerle ilişkilendirilmiştir (9). Önceki çalışmalar, metilendetrahidrofolat redüktazı (MTHFR C677T) kodlayan genin AKB ile ilişkisini göstermiştir. Bununla birlikte, sonuçlar çelişkili olmuştur (10-15). Bildiğimiz kadarıyla, Türk populasyonunda MTHFR C677T polimorfizmi ile AKB riski arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışma kapsamında Türk populasyonunda MTHFR C677T polimorfizmi ile AKB arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas EAH psikiyatri kliniğinde DSMV kriterlerine göre alkol kullanım bozukluğu tanı ile yatırılmış olan 51 hasta ve herhangi bir kronik ve ruhsal hastalığı olmayan 81 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Bilgilendirme işleminin ardından tüm bireylerin rutin kontrolü için verdikleri kanın 2ml'si kullanılarak periferik kan lökositlerinden Macherey-Nagel (MN) Nucleospin blood® DNA ekstraksiyon kiti (katalog. no. 740.951.250) kullanılarak, üretici firma önerileri doğrultusunda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA'da MTHFR C677T polimorfizmi Dr. Zeydanlı Tip I PCR Sistemiyle (Ankara, Türkiye) TaqMan® 5' nuclease assay yöntemi kullanılarak ABI 7500 (Applied Biosystems, Foster City, Kaliforniya, ABD) cihazında çalışılmıştır. PCR reaksiyonu üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

MTHFR C677T polimorfizmi genotip ve alel frekanslarını AKB hastaları ve kontroller arasında karşılaştırmak için χ^2 testi kullanılmış olup analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) paket programda yapılmıştır.

BULGULAR

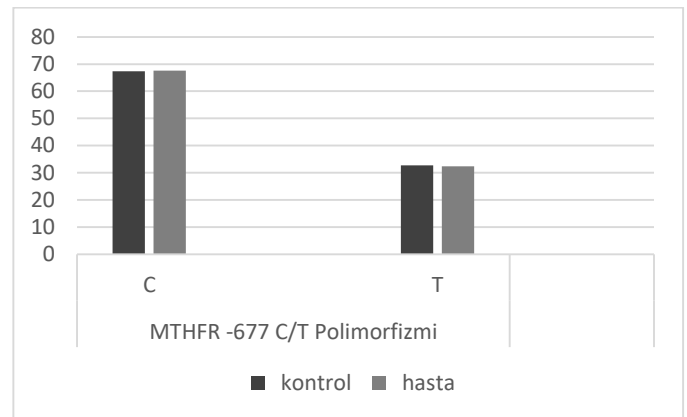
Çalışmaya dahil edilen toplamda 51 alkol bağımlılığı tanılı hastanın 24 (%47,1)'ünün CC genotipinde, 21 (%41,2)'inin CT genotipinde ve 6 (%11,8)'inin de TT genotipinde olduğu saptanmıştır.

Kontrol grubunu oluşturan 81 gönüllünün de genotip frekanslarının benzer dağılım gösterdiği tespit edilmiş olup 40 (%49,4)'ünün CC genotipinde, 29 (%35,8)'unun CT genotipinde ve 12 (%14,8)'inin de TT genotipinde olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Benzer şekilde alel frekansları açısından da gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunamamıştır (Şekil 1).

Tablo 1. MTHFR C677T polimorfizminin genotip dağılımları ve odds oranları

MTHFR C677T Polimorfizmi	Kontrol (N=81) n (%)	Alkol Bağılısı (N=51) n (%)	Odds Oranları (95% Güven aralığı)
CC	40 (%49.4)	24 (%47.1)	1 (referans)
CT	29 (%35.8)	21 (%41.2)	1.207 (0.567-2.570)
TT	12 (%14.8)	6 (%11.8)	0.833 (0.277-2.511)

N: Birey Sayısı



Şekil 1. MTHFR C677T polimorfizminin alel frekansları

TARTIŞMA

Homosistein metabolizmasına odaklanan bağımlılık araştırmaları homosistein metabolizması ve AKB ile ilgili önemli bulgular ortaya koymuştur. Plazma homosistein konsantrasyonunun yükselmesi, alkol yoksunluk nöbetlerinin ortaya çıkması için bir belirleyici olarak kabul edilir ve homosistein bir kardiyovasküler risk faktörü olduğundan alkolle bağlı hastalar arasında miyokard enfarktüsü riskinin artmasına katkıda bulunabilir. Homosistein bir N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör agonisti olarak işlev görür ve eksitotoksik etkileri vardır (16). Ayrıca homosisteinin özellikle dopaminerjik nöronlar üzerinde nörotoksik etkileri olduğu gösterilmiştir (17). Alkolün ödüllendirici etkilerine dopaminerjik sistem aracılık ettiğinden, ödül sisteminin homosistein bağımlı bir bozukluğunun bağımlılık davranışına yol açabileceği ileri sürülmüştür (18). Bunların yanı sıra homosistein metil gruplarının metabolizmasında rol oynar ve DNA metilasyonu gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Bu nedenle homosisteinin önemli bir epigenetik faktör olduğu ileri sürülmüştür (19). Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) homosistein metabolizmasında önemli bir enzimdir ve MTHFR C677T polimorfizminin plazma homosistein seviyeleri üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (20). Bu nedenle son yıllarda MTHFR C677T polimorfizminin AKB üzerine etkisini araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak elde edilen veriler çelişkilidir. Fransa'da yapılan bir çalışmada, MTHFR TT genotipinin daha hafif AKB hastalarında daha yaygın olduğu gösterilmiştir (12). Diğer taraftan, Fransa'da yapılan başka bir çalışmada MTHFR C677T polimorfizminin CC, CT ve TT genotip frekansları AKB hastaları ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında CC genotipi sıklığının AKB hastalarında artmış, TT genotipinin ise azalmış olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada TT genotipli kişilerde alkolizm için odds oranı (risk oranı) 0.42 olarak hesaplanmış olup MTHFR 677TT genotipinin AKB'ye karşı koruyucu bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (21). Bununla birlikte, Shin, S ve ark. ise MTHFR gen polimorfizminin Kore popülasyonunda AKB için risk faktörü olmadığını göstermiştir (13). Ayrıca, Singh, H ve ark. tarafından Hindistan popülasyonunda yapılan çalışmada da MTHFR ile AKB arasında anlamlı bir ilişki edilmemiştir (14).

de la Vega ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise TT genotipindeki AKB hastalarında serum homosistein düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmekle birlikte MTHFR C677T polimorfizmi ile AKB arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (22).

Başka bir çalışmada AKB hasta grubu Lesch tipolojisine göre tip 1 (alerji modeli), tip 2 (anksiyete veya çatışma modeli), tip 3 (antidepresan olarak alkol) ve tip 4 (adaptasyon olarak alkol) olmak üzere dört alt tipe ayrılmış olup bu gruplar ile MTHFR genotiplerini arasındaki ilişki araştırılmıştır. LT4 ve LT3 alt tipleri karşılaştırıldığında, LT4 alt tipi olarak sınıflandırılan hastalarda MTHFR 677 CT polimorfizmi açısından TT genotip sıklığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (23).

Lutz ve ark. tarafından Alman popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise MTHFR C677T polimorfizmi T - alel sıklığının, erkek alkolik hasta grubunda sağlıklı erkek kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmekle birlikte genotip frekansları açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir. Ayrıca bu çalışmada MTHFR C677T polimorfizminin alkol yoksunluğu nöbeti veya günlük alkol tüketimi ile ilişkili olup olmadığı araştırılmış olup T-alelinin AKB ve alkol yoksunluğu nöbeti etiolojisinde etkisi olduğu ancak bu hastalarda günlük alkol alım miktarını etkilemediği ileri sürülmüştür (10).

u nedenle, bu çelişkili veriler MTHFR C677T polimorfizminin AKB'nin ilerlemesinde etnisiteye bağlı bir faktör olabileceğini göstermektedir. Biz de çalışmamızda Türk Populasyonunda AKB hastalarında MTHFR genotiplerinin etkisini araştırdık ancak yaptığımız çalışma sonucunda Türk popülasyonunda AKB ile MTHFR gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını tespit ettik. Bu durum etnik farklılıktan kaynaklanıyor olabileceği gibi MTHFR gen polimorfizminin AKB'ye yakınlıktan çok alkol kullanımına bağlı ortaya çıkan patolojik durumlarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Türk Populasyonunda daha büyük örneklemeler kullanılarak bu hastalarda alkol kullanımı sonucu meydana gelen patolojilerle MTHFR polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırarak çalışmalara ihtiyaç vardır.

AKB psikolojik, psikodinamik, davranışsal ve sosyo-kültürel teorilerle de açıklanmaya çalışılmıştır. Bu teorilerin hepsinin alkol kullanım bozuklukları etiolojisinde farklı oranlarda yeri vardır. Ancak nesilden nesile geçen alkol kullanım bozuklukları genetik faktörlerin önemine dikkat çekmektedir. Genetik faktörlerin anlaşılması daha karmaşık olan çevresel faktörlerin belirlenmesi için de gerekli ilk temel adımdır. Biz de bu çalışmamızda AKB hastalarında serum homosistein düzeylerinin normal popülasyona oranla daha yüksek olmasından yola çıkarak Türk popülasyonunda AKB ile MTHFR gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırdık ancak sonuçlar en azından bu sistem üzerindeki genetik etkilerin bu belirli popülasyonda önemli bir etki yaratmadığını düşündürmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Littrell, Jill. Understanding and treating alcoholism: volume I: an empirically based Clinician's handbook for the treatment of alcoholism: volume ii: biological, psychological, and social aspects of alcohol consumption and Abuse. Vol. 1. Psychology Press, 2014.
2. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018. World Health Organization, 2019.
3. Comings DE, Blum K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. Prog Brain Res. 2000;126:325-341.

4. Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Chandler CJ. Metabolic interactions of alcohol and folate. J Nutr. 2002;132(8 Suppl):2367S-2372S.
5. Bleich S, Hillemacher T. Homocysteine, alcoholism and its molecular networks. Pharmacopsychiatry. 2009;42 Suppl 1:S102-S109.
6. Vijayan M, Chinniah R, Ravi PM, et al. MTHFR (C677T) CT genotype and CT-apoE3/3 genotypic combination predisposes the risk of ischemic stroke. Gene. 2016;591(2):465-470.
7. Misra UK, Kalita J, Srivastava AK, Agarwal S. MTHFR gene polymorphism and its relationship with plasma homocysteine and folate in a North Indian population. Biochem Genet. 2010;48(3-4):229-235.
8. Coppola M, Mondola R. Correlation between plasma homocysteine levels and craving in alcohol dependent stabilized patients. Clin Nutr. 2018;37(3):1061-1065.
9. Bleich S, Degner D, Wiltfang J, et al. Elevated homocysteine levels in alcohol withdrawal. Alcohol Alcohol. 2000;35(4):351-354.
10. Lutz UC, Batra A, Kolb W, Machicao F, Maurer S, Köhne MD. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T-polymorphism and its association with alcohol withdrawal seizure. Alcohol Clin Exp Res. 2006;30(12):1966-1971.
11. Saffroy R, Benyamina A, Pham P, et al. Protective effect against alcohol dependence of the thermolabile variant of MTHFR. Drug Alcohol Depend. 2008;96(1-2):30-36.
12. Benyamina A, Saffroy R, Blecha L, et al. Association between MTHFR 677C-T polymorphism and alcohol dependence according to Lesch and Babor typology. Addict Biol. 2009;14(4):503-505.
13. Shin S, Stewart R, Ferri CP, et al. An investigation of associations between alcohol use disorder and polymorphisms on ALDH2, BDNF, 5-HTTLPR, and MTHFR genes in older Korean men. Int J Geriatr Psychiatry. 2010;25(5):441-448.
14. Singh HS, Salam K, Saraswathy KN. A Study on MTHFR C677T Gene Polymorphism and Alcohol Dependence among Meiteis of Manipur, India. J Biomark. 2014;2014:310241.
15. Lutz UC, Batra A, Wiatr G, et al. Significant impact of MTHFR C677T polymorphism on plasma homovanillic acid (HVA) levels among alcohol-dependent patients. Addict Biol. 2007;12(1):100-105.
16. Lipton SA, Kim WK, Choi YB, et al. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94(11):5923-5928.
17. Lee ES, Chen H, Soliman KF, Charlton CG. Effects of homocysteine on the dopaminergic system and behavior in rodents. Neurotoxicology. 2005;26(3):361-371.
18. Lutz UC. Alterations in homocysteine metabolism among alcohol dependent patients--clinical, pathobiochemical and genetic aspects. Curr Drug Abuse Rev. 2008;1(1):47-55.
19. Friso S, Girelli D, Trabetti E, et al. The MTHFR 1298A>C polymorphism and genomic DNA methylation in human lymphocytes. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005;14(4):938-943.
20. Chango A, Potier De Courcy G, Boisson F, et al. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase common mutations, folate status and plasma homocysteine in healthy French adults of the Supplementation en Vitamines et Mineraux Antioxydants (SU.VI.MAX) cohort. Br J Nutr. 2000;84(6):891-896.
21. Saffroy R, Benyamina A, Pham P, et al. Protective effect against alcohol dependence of the thermolabile variant of MTHFR. Drug Alcohol Depend. 2008;96(1-2):30-36.
22. de la Vega MJ, Santolaria F, González-Reimers E, et al. High prevalence of hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: the importance of the thermolabile form of the enzyme methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Alcohol. 2001;25(2):59-67.
23. Bönsch D, Bayerlein K, Reulbach U, et al. Different allele-distribution of mthfr 677 C -> T and mthfr -393 C -> a in patients classified according to subtypes of Lesch's typology. Alcohol Alcohol. 2006;41(4):364-367.