

# İnsan Metilentetrahidrofolat Redüktaz Enziminin Kristal Yapısı İçin Bir Model

A Model for the Crystal Structure of the Human Methylene-tetrahydrofolate Reductase Enzyme

Müzeyyen İzmirli<sup>1</sup>, Atilla Akdemir<sup>2</sup>, Bülent Gögebakan<sup>1</sup>, Davut Alptekin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Hatay

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Moleküler Farmakoloji AD, İstanbul

<sup>4</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Adana

**Yazışma adresi:** Müzeyyen İzmirli, Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, 31034, Hatay, Türkiye Tel: (+90) 326 221 33 17- 3175, Fax: (+90) 326 221 33 17

e-mail: muzeyyenizmirli@gmail.com

**Geliş tarihi / Received:** 17.03.2014

**Kabul tarihi / Accepted:** 06.11.2014

## Öz

**Amaç:** Ökaryotik metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR) olarak bilinen ve total olarak 656 aminoasitten oluşan bu enzim homodimer yapıdadır. Her ünitesi katalitik ve düzenleyici bölgelerden oluşmaktadır. MTHFR enziminin katalitik olarak aktivite gösterebilmesi için flavin-adenin dinükleotid (FAD)'in MTHFR'ye nonkovalent olarak bağlanması gerekmektedir. İnsan MTHFR enziminin geni kromozom 1p36.3'te lokalizedir. Genin dördüncü ekzonunda yerleşmiş olan *MTHFR* 677 C>T polimorfizmi, proteinin 222. kodonundaki alaninin valine (Ala222Val) dönüşümüne neden olmaktadır. İnsan MTHFR proteini için, proteinin kristal yapısının ortaya koyulması ile ilgili bir çalışma olmaması nedeniyle, bu çalışma ile MTHFR proteininin kristal yapısı hakkında bir model oluşturmayı amaçladık. Ayrıca *MTHFR*677 C>T polimorfizmi neticesinde ortaya çıkan Ala222Val değişikliğinin insan MTHFR enziminin kristal yapısında oluşturduğu değişiklikleri ortaya koymayı hedefledik.

**Metod:** Bu amaçla, moleküler modelleme teknikleri olarak MOE bilgisayar programı (versiyon 2013.0801, Chemical Computing Group Inc., Montreal, Kanada) kullandık.

**Bulgular:** İnsandaki MTHFR enzimi ile FAD arasındaki bağların Tyr50, Gly108, Asp109, Tyr149, Arg107, Ala127, Lys169 Tyr126, His153 ve His165 aminoasitleri üzerinden olduğunu, Tyr126 ve His165 arasındaki çift bağı FAD'ı sıkıştırma özelliği olabileceğini gördük.

**Sonuç:** Sonuç olarak, insan MTHFR enziminin kristal yapısı hakkında bir model ortaya koyuldu ve Ala222Val değişikliğinin FAD bağlanma durumunu etkilemesi yüzünden, enzim aktivitesine etki ettiği tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** 5,10 metilentetrahidrofolat, 5,10 metilentetrahidrofolatredüktaz, Flavin-adenine dinükleotid

## Abstract

**Backgrounds:** The enzyme known as eukaryotic methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and consists of 656 amino acids, has a homodimer structure. Each units of this enzyme consists of catalytic and regulator areas. For the catalytic activity of this enzyme, FAD must be connected with MTHFR by noncovalent bonds. The gene of human MTHFR enzyme is localized at chromosome 1p36.3. A C>T transition at nucleotide position 677 is located in the fourth exon of the MTHFR gene which results the conversion of alanine to valine at codon 222 of the protein. We aimed to form a model about the crystal

structure of MTHFR because of there is no study about the crystal structure of the protein that put forth. In addition, we aimed to put forth the changes in the crystal structure of MTHFR by Ala222Val change as a result of MTHFR 677C>T polymorphism.

**Methods:** To this end, we used MOE computer programme as molecular modeling techniques (version 2013.0801, Chemical Computing Group Inc., Montreal, Canada).

**Results:** We saw that the bonds between MTHFR enzyme in human and FAD are over the amino acids Tyr50, Gly108, Asp109, Tyr149, Arg107, Ala127, Lys169 Tyr126, His153 and His165 and the double bond between Tyr126 and His165 may be because of the compression feature.

**Conclusions:** Consequently, a model has set forth about the crystal structure of MTHFR in human and because of the Ala222val changes affect the status of the FAD binding, to influence the enzyme activity was determined.

**KEYWORDS:** 5,10 methylenetetrahydrofolate, 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase, Flavin-Adenine Dinucleotide

### Giriş

Metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR; EC 1.5.1.20), homosistein yolağı, DNA metilasyonu, folik asit ve nükleotid sentezi metabolizmasında görev yapan çok önemli bir proteindir. Bu enzim, 5,10-metilentetrahidrofolat'ın (5,10-MTHF), 5-metiltetrahidrofolata (5-THF) dönüşümünü irreversible olarak katalizler (1). Yapısal özelliklerine baktığımızda, ökaryotik MTHFR enzimi, her bir alt ünitesi yaklaşık 70 kDa olan iki alt ünitelerden meydana gelen homodimer yapıda bir proteindir. Bu ünitelerden her biri katalitik ve düzenleyici bölgeleri içermekte ve protein total olarak 656 aminoasitten oluşmaktadır (2). MTHFR'nin katalitik olarak aktivite gösterebilmesi için flavin-adenin dinükleotid (FAD)'in MTHFR'ye nonkovalent olarak bağlanması gerekmektedir (1). FAD molekülü kompleks bir yapıya sahip olan büyük bir moleküldür (Şekil 1). Ağırlığı 785.55 gr/mol olan, 9 adet hidrojen bağı donörü, 20 adet hidrojen bağı akseptörü, 13 adet dönebilen kovalent bağ sayısı ve 7 adet kiral merkezi bulunan FAD MTHFR'ye nonkovalent olarak bağlanır ve NADPH'a bağımlı olarak indirgenir (3). Sonuç olarak, 5,10-MTHF'nin 5-THF'e dönüşümü gerçekleşir (1). Bu

güne kadar domuz, maya, *E.coli* ve insandan izole edilen MTHFR enzimlerinin normal olarak kabul edilen sıcaklık aralığında (24-37°C) aktif olduğu gösterilmiştir (4-8).

İnsan MTHFR enzimini kodlayan genin, genetik haritada lokalize olduğu bölge 1p36.3 olarak bildirilmiştir. İnsan MTHFR cDNA'sı ilk kez 1994'te izole edilmiş ve cDNA sekansının yaklaşık 2.2kb büyüklüğünde olduğu ve 11 ekzon içerdiği saptanmıştır (9). Yapılan çalışmalar neticesinde, MTHFR enziminin farklı varyantlarının olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan enzim aktivitesini en çok etkileyenler, 677 C>T, 1298 A>C, 1059 T>C, 1317 T>C, 1793 G>A polimorfizmleridir. Bu varyantlardan en çok çalışılmış olanı ve enzim aktivitesini en fazla etkileyen 677 C>T polimorfizmidir (10). Genin dördüncü ekzonunda yerleşmiş olan *MTHFR* 677 C>T polimorfizmi, proteinin 222. kodonundaki alaninin valine (Ala222Val) dönüşümüne neden olurken yedinci ekzondaki *MTHFR* 1298 A>C polimorfizmi ise 429. kodondaki glutamatın alanine (Glu429Ala) dönüşümüne neden olmaktadır. *E.coli* bakterisi MTHFR enzimi ile yapılan çalışmalar sonrasında Ala222Val değişikliğinin FAD kofaktörünün eksikliğine neden olduğu ve bu durumun alt ünitelerin ayrışması sonucunda ısıya karşı enzimin

hassasiyetinin artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bu aminoasitlerin enzimin katalitik aktivitesinde önemli olduğu saptanmış, ancak bu konu tamamen aydınlığa kavuşturulamamıştır (11-13).

Bu güne kadar insan MTHFR enziminin yapısı ve aktivite durumunun belirlenmesi ile ilgili biyokimyasal çalışmalar yapılmıştır. "PUBMED protein structure" internet sayfasında MTHFR proteini tarandığında, *E.coli* ve *T. thermophilus* haricinde hiçbir organizmada bu proteinin kristal yapısının ortaya konmadığı görülmektedir.

İnsan MTHFR proteini ile ilgili böyle bir çalışmanın olmaması yüzünden, bu çalışma ile MTHFR proteininin kristal yapısı hakkında moleküler modelleme teknikleri ile bilgi edinmeyi amaçladık. Ayrıca *MTHFR* 677 C>T polimorfizmi neticesinde ortaya çıkan Ala222Val değişikliğinin insan MTHFR enziminin kristal yapısında oluşturduğu değişiklikleri ortaya koymayı hedefledik.

### Materyal ve Metod

#### *MTHFR kristal yapısının elde edilmesi*

İnsan MTHFR enziminin üç boyutlu kristal yapısı "RCSB Protein Data Bank" veri bankasında (PDB veri bankası) mevcut değildir. Bu enzime en çok benzerlik gösteren ve PDB veri bankasında mevcut olan protein yapısını elde etmek için "National Center for Biotechnology Information" (NCBI) veri bankasını kullanarak BLAST araması yapıldı (standart arama ayarları). En çok benzerlik gösteren protein yapısı bilgisayara PDB dosyası olarak indirildi.

#### *MTHFR kristal yapısının hazırlanması ve incelenmesi*

Elde edilen MTHFR yapısına, MOE bilgisayar programı (versiyon 2013.0801, Chemical Computing Group Inc., Montreal, Kanada) kullanılarak, öncelikle hidrojen atomları eklendi. Daha sonra ligand ve enzim ile bağ kurmayan tüm

su molekülleri, çözeltili molekülleri, tampon molekülleri ve iyonlar silindi.

#### *MTHFR enzimleri arasında amino asit dizi analizi*

Elde edilen insan MTHFR amino asit dizileri, MOE bilgisayar programı kullanılarak birbirleri ile karşılaştırıldı.

### Bulgular

#### *MTHFR kristal yapısının elde edilmesi*

Yapılan BLAST taraması sonrası insan MTHFR enzimine (NCBI giriş kodu: NP\_005948.3) en çok benzerlik gösteren proteinin *T.thermophilus* HB8 MTHFR enzimi (PDB: 3APT) olduğu ortaya çıkmıştır (amino asit dizisinde %39 benzerlik). Bu protein yapısının yüksek çözünürlüğü (1.85 Å) bulunmaktadır. Bu protein yapısı PDB dosyası olarak indirilmiştir.

#### *T. thermophilus HB8 MTHFR kristal yapısının hazırlanması ve incelenmesi*

*T. thermophilus* HB8 MTHFR enziminin de memeli MTHFR enzimi gibi homodimer olduğu düşünülmektedir ve kristal yapısı da homodimer olarak elde edilmiştir (Şekil 2). Enzimin bir bağlanma bölgesinde (binding pocket) FAD, diğerinde ise asetat iyonu bulunmaktadır. Buna göre FAD'ın MTHFR enzimine bağlanması, şu şekilde gerçekleşmektedir (Şekil 3). FAD molekülünün flavin kısmı MTHFR'nin Tyr50, Gly108, Asp109 ve Tyr149 aminoasitleri ile bağ kurarken molekülün fosfat köprüsü ise MTHFR'nin Arg107, Ala127 ve Lys169 aminoasitleri ile hidrojen bağı kurmaktadır. FAD'ın adenin kısmı ise, Ser156 ile hidrojen bağı ve Tyr126, His153 ve His165 ile hidrofobik bağ kurmaktadır. Özellikle Tyr126 ve His165 ile kurulan hidrofobik bağ önemlidir, çünkü bu iki amino asit adeninin purin halkasını aralarında  $\pi$ - $\pi$  ilişkisi ile sıkıştırmaktadır.

#### *İnsan ve T. thermophilus HB8 MTHFR enzimleri arasında amino asit dizi analizi*

İnsan ve *T. thermophilus* HB8 MTHFR enzimlerinde

mevcut olan FAD bağlanma bölgelerini oluşturan amino asitlerin büyük çoğunluğu aynı fakat bazı farklılıklar da mevcuttur. Bu farklılıklar Tablo 1' de gösterilmiştir.

*T. thermophilus HB8* MTHFR kristal yapısında Tyr50 ve Gly51 birbirine komşudur fakat insan MTHFR enziminde Tyr95 ve Gly99 arasında 3 başka amino asit bulunmaktadır. Dolayısıyla Tyr95 ve Gly99 amino asitlerin bağlanma bölgesindeki pozisyonları *T. thermophilus HB8* MTHFR kristal yapısına göre farklı yerdedir.

*T. thermophilus HB8* MTHFR kristal yapısında Leu174 ve FAD arasında Leu106, Ala147 ve Lys169 bulunmaktadır ve dolayısıyla FAD ve Leu174 arasında herhangi bir temas yoktur. İnsan MTHFR enziminde Leu174 yerine Ala222 mevcuttur ve bu amino asit ile FAD arasında Leu156, Ala195 ve Lys217 bulunduğu görülmektedir (Şekil 4). Büyük olasılıkla Ala222Val mutasyonu nedeniyle bölgesel amino asit ve protein yapısı değişmektedir ve bu değişiklik FAD bağlanma gücünü ve bağlanma dinamiğini değiştirmektedir.

### **Tartışma**

İnsan MTHFR enziminin kristal yapısının daha önceden gösterilmemiş olması nedeni ile *E.coli* ve *T. thermophilus HB8* MTHFR enzimleri insan enzimi için biyokimyasal ve yapısal olarak bir model olarak gösterilmiştir. Bu sebeple, biz de insan MTHFR enziminin kristal yapısının nasıl olabileceğini ve Ala222Val süstitüsyonunun, proteinin yapısında oluşturduğu muhtemel değişikliği göstermeyi amaçladık.

*T. thermophilus HB8* ile yapılan çalışmalar neticesinde proteinin dimer yapıda olduğu ve bu özelliği ile memeli MTHFR'sine benzediği belirtilmiştir. Flavın eksikliğinde bu enzimin konformasyonel yapısının dramatik bir şekilde değiştiği ve bu değişikliğin enzimin dimer olarak paketlenmesini etkileyerek enzimin katalitik

aktivitesini değiştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca Igari ve ark.'larının yaptığı bu çalışmada dimerlerden her birinin FAD ile birleştiği ve S-adenozilmetiyonin ile indüklendiği gösterilmiştir (8).

*E.coli* MTHFR enzimi, 33 kD'luk, 296 aminoasitten oluşan homotetramer yapıdadır. Bu bakteri memeliler için model organizma olması bakımından önemlidir fakat memelilerden de oldukça farklı özelliklere sahiptir. Örneğin, MTHFR enzimi katalitik aktivite olarak, memelilerdeki gibi işlev görür ancak S-Adenozil Metiyonin (SAM) regülatör bölgesi yoktur ve memeli MTHFR enziminde oldukça küçüktür (14). Genetik olarak değerlendirildiklerinde, *E.coli* MTHFR enzimi ile insan MTHFR enziminin N terminal bölgeleri yaklaşık % 25 oranında benzerlik göstermektedir (9). Sheppard ve arkadaşları *E.coli* MTHFR enzim yapısının katalitik bölgesinin N-terminal olduğu ve bu bölgenin de  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere 8 adet fiçı yapının üzerinde bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, Ala177Val polimorfizminin N-terminal bölgede meydana geldiği bildirilmiştir. Bu çalışmada insandaki Ala222Val polimorfizminin *E.coli*'deki karşılığının Ala177Val, *T. thermophilus HB8* karşılığının ise Ala174Val olduğu rapor edilmiştir (3). Bizde bu değişikliğin böyle olduğunu gördük (Tablo1).  $\alpha 5$  ve  $\beta 6$  yapılarının arasındaki sıkı bağlantı alanin aminoasiti tarafından sağlanmaktadır. Ala222Val<sup>Human</sup> (= Ala177Val<sup>E.coli</sup> ve Ala174Val<sup>T.thermophilus</sup>) mutasyonunda, buradaki amino asitin valine dönüşmesi neticesinde,  $\alpha 5$  heliks yapının yanlış yerleşimine sebep olmaktadır. Buda bize FAD'ın bu bölgeye bağlanmasının sorunlu hale getirdiğini düşündürmektedir.

Biz, MTHFR ve FAD'ın etkileştiği bir diğer nokta olarak Tyr126 ve His165 olduğunu gösterdik. Çalışılan organizmalarda bu bölge ile ilgili bir bilgi verilmemiştir. Tyr126 ve His165 arasındaki çift bağ ( $\pi$ - $\pi$ ) FAD molekülünü aralarında sıkıştırmaktadır.

*T. thermophilus HB8* MTHFR enziminde, Glu28'in

Gln değişikliğinin, enzimin fonksiyonunu azalttığı bildirilmiştir. Aynı alışmada Asp109'un, FAD'ın izoalloksazinin N1-C2=O'sunun üzerinde yer aldığı da gösterilmiştir. Asp rezidüsü, folatın bağlanması için önemlidir ve substratın 5-iminium kation formunu stabilize eder (8). Trimmer ve ark. (12) *E.coli*'de Asp rezidüsü değişikliğinin folat bağımlı reaksiyonu azalttığını bildirmişlerdir. *E.coli*'de FAD'ın ribitil zincirinin O4 pozisyonu ile Asp119'un Oe'u arasındaki mesafe, ortam pH'sı 6 olduğunda 3.63-4.60 Å, pH7.3 olduğunda (bu pH'da NADH bağlanır) 2.59-2.66 Å, pH 7.4 olduğunda (bu pH'da CH3-H4 folat bağlanır) 3.98-4.22 Å değişiklikler gösterir (12). *T. thermophilus* MTHFR'sinde Asp rezidüsü ile FAD'ın O4 arasında, pH 8'de 2.58-2.71 Å mesafe mevcuttur. Asp109 pozisyonunda folat bağımlı reaksiyonlarda *T. thermophilus* MTHFR enziminde azalma görülmektedir (8). Bizim yaptığımız çalışmada, insanda bu noktaya karşılık gelen aminoasitin Asp159 olduğu grlmüştir. Fakat oluşan boşluğun ne kadar olduğu hakkında bir ölçüm gerçekleştirilmemiştir. Bu çalışmaların neticesinde, ikiside prokaryatik olan organizmalar için bile oluşan bu bağ farklılıklarının ve mesafe farklılıklarının, insan MTHFR'si içinde geçerli olduğunu göstermektedir.

Diğer taraftan yapılan bazı çalışmalar, insan MTHFR enziminin katalitik ve regülatör olmak üzere iki bölgeden oluştuğunu ortaya koymuştur. Katalitik bölgenin, yapı olarak bakteri MTHFR'sindeki  $\beta 8\alpha 8$  fii yapısına homoloji gösterdiği belirtilmiştir. Bu bölge, SAM'ın bağlandığı bölge olduğu ve reaksiyonun kontrol edilmesinde görev yaptığı tespit edilmiştir. Enzimin SAM bağlanma bölgesindeki konformasyonel değişikliklerin de enzim aktivitesini %10-20 kadar düşmesine neden olduğu bildirilmiştir (8).

Homosisteinin metiyonine dönüşümü, nükleotid

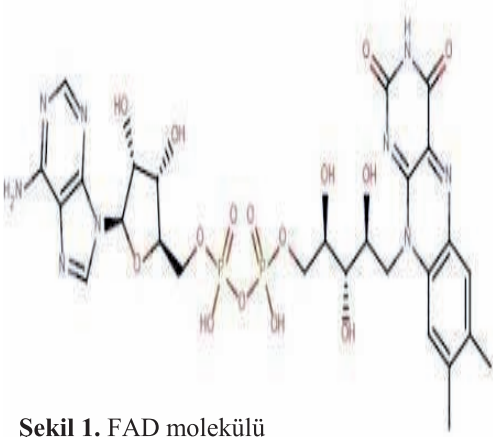
sentezi (DNA ve RNA biyosentezi) ve metilasyon reaksiyonlarının kavşak noktasında bulunan MTHFR enzimi, görev yaptığı yer açısından oldukça önemli bir noktada bulunmaktadır. Enzimin yapısındaki, bağlar arasındaki mesafenin bile enzim aktivitesini değiştirdiği göz önünde bulunduruluğunda, polimorfizmler ve mutasyonlar neticesinde oluşan aminoasit değişikliklerinin (zellikle missense olanlar) enzim aktivitesinde neden olduğu değişikliklerin önemli olduğu, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok patolojinin mekanizmasına nasıl neden olduğu daha da iyi anlaşılacaktır (16-17).

Sonuç olarak, MTHFR enziminin biyokimyasal yapısı ortaya koyulmuş olsa da, proteinin kristal yapısı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu sebeple, bizde insan MTHFR'sinin kristal yapısı hakkında bir model oluşturduk. Fakat, bu çalışmanın biyokimyasal ve genetik taraği eksik kalmıştır. Bu yüzden enzimin kristal yapısındaki değişikliklerin biyokimyasal ve gen ekspresyonu ile olan ilişkisinin de araştırılması gerekmektedir. Yapılacak ilave çalışmalar konunun daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

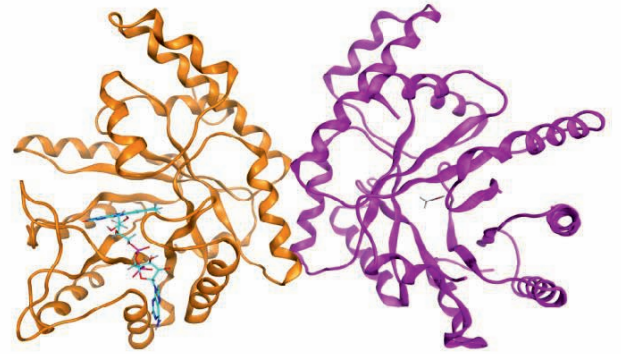
**Tablo 1.** İnsan ve *T. thermophilus* HB8 MTHFR proteinin FAD bağlanma bölgesindeki amino asit karşılıkları.

| <i>T. thermophilus</i> HB8 MTHFR | İnsan MTHFR |
|----------------------------------|-------------|
| Glu18                            | Glu63       |
| Thr49                            | Thr94       |
| Tyr50                            | Tyr95       |
| Gly51                            | Gly99       |
| His77                            | His127      |
| Thr79                            | Thr129      |
| Leu104                           | Met154      |
| Ala105                           | Ala155      |
| Leu106                           | Leu156      |
| Arg107                           | Arg157      |
| Gly108                           | Gly158      |
| Asp109                           | Asp159      |
| Arg125                           | Asn173      |
| Tyr126                           | Tyr174      |
| Ala127                           | Ala175      |
| Ala128                           | Val176      |
| Ala147                           | Ala195      |
| Ala148                           | Gly196      |
| Tyr149                           | Tyr197      |
| His153                           | His201      |
| Glu155                           | Glu203      |
| Ser156                           | Ala204      |
| Asp162                           | Asp210      |
| His165                           | His213      |

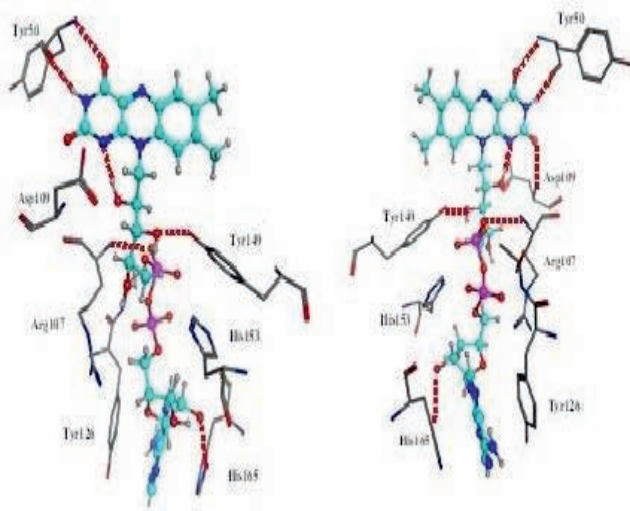
|        |        |
|--------|--------|
| Lys169 | Lys217 |
| Leu174 | Ala222 |
| Ile178 | Ile226 |
| Thr179 | Thr227 |
| Gln180 | Gln228 |
| Leu181 | Leu229 |
| His270 | His319 |
| Tyr272 | Tyr321 |



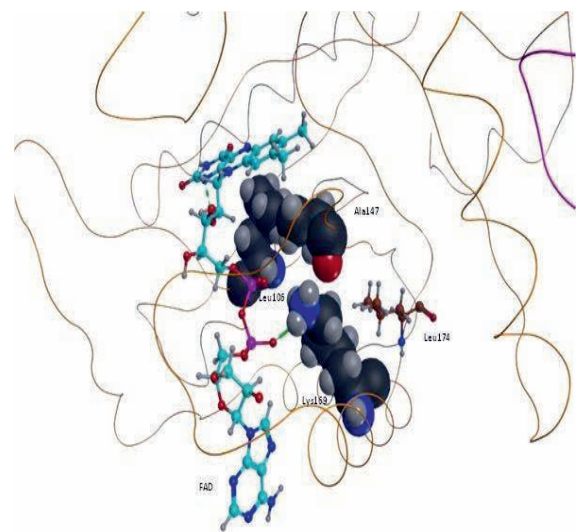
Şekil 1. FAD molekülü



Şekil 2. *T. thermophilus* HB8 MTHFR enziminin dimer yapısı ve FAD'ın bağlanma bölgesinin bulunduğu yer



Şekil 3. FAD'ın *T. thermophilus* HB8 MTHFR enzimine bağlanma şekilleri (önden ve arkadan bakış). Hidrojen bağları kırmızı kesik çizgiler ile gösterilmiştir.



Şekil 4. *T. thermophilus* HB8 MTHFR yapısına bağlanmış FAD ve Leu174 arasında Leu106, Ala147 ve Lys169 bulunmaktadır.

## Kaynaklar

- 1) Disability Prevention and Rehabilitation World Health Organization 1981 [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_668.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_668.pdf). Erişim Tarihi: 03.04.2013.
- 2) World Report on Disability World Health Organization 2011. [www.who.int](http://www.who.int) Erişim Tarihi: 03.04.2013.
- 3) Türkiye Özürlüler Araştırması 2002, Devlet İstatistik Enstitüsü. <http://kutuphane.tuik.gov.tr/pdf/0014899.pdf> Erişim Tarihi: 03.04.2013.
- 4) Sen E, Yurtsever S. Difficulties experienced by families with disabled children. JSPN 2007; 12(4): 238-52.
- 5) Veisson M. Depression symptoms and emotional states in parents of disabled and non-disabled children. Social Behavior and Personality: an International Journal 1999; 27(1): 87-91.
- 6) Al-Eithan MH, Robert AA, Al-Saeed AH. Mood problems of mothers with disabled children in Saudi Arabia. A preliminary prospective study. Saudi Med J 2010; 31(10): 1161-65.
- 7) Singer GHS, Floyd F. Meta-analysis of comparative studies of depression in mothers of children with and without developmental disabilities. American Journal on Mental Retardation 2006; 111(3): 155-9.
- 8) Dereli F, Okur S. Engelli çocuğa sahip olan ailelerin depresyon durumunun belirlenmesi. Yeni Tıp Dergisi 2008; 25: 164-8.
- 9) Uğuz Ş, Toros F, Yazgan İnanç B, Çolakkadıoğlu O. Zihinsel ve/veya bedensel engelli çocukların annelerinin anksiyete, depresyon ve stres düzeylerinin belirlenmesi. Klinik Psikiyatri 2004; 7: 42-47.
- 10) Bahar A, Bahar G, Savaş HA, Parlar S. Engelli çocukların annelerinin depresyon ve anksiyete düzeyleri ile stresle başa çıkma tarzlarının belirlenmesi. Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi 2009; 4(11): 97-112.
- 11) Demir G, Özcan A, Kızılırmak A. Zihinsel engelli çocuğa sahip annelerin depresyon düzeylerinin belirlenmesi. Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi 2010; 13(4): 53-8.
- 12) Küllü Z. Özürlü çocuğa sahip ebeveynlerde depresyon durumunun değerlendirilmesi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 2008.
- 13) Yıldırım Sarı H, Başbakkal Z. Depression among mothers of children and adults with an intellectual disability in Turkey. Int J Nurs Pract 2010; 16(3): 248-53.
- 14) Bumin G, Günel A, Tükel Ş. Anxiety, depression and quality of life in mothers of disabled children. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg 2008; 15(1): 6-11.
- 15) Ergin D, Şen N, Eryılmaz N, Pekuslu S, Kayacı M. Engelli çocuğa sahip ebeveynlerin depresyon düzeyi ve etkileyen faktörlerin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi 2007; 10(1): 41-8.
- 16) Savaşır I, Şahin NH. Beck Depresyon Envanteri (BDE). Bilişsel davranışçı terapilerde değerlendirme: sık kullanılan ölçekler kitabı. Editörler: Işık Savaşır, Nesrin H Şahin, Türk Psikologlar Derneği Yayınları No 9, Özyurt Matbaacılık, Ankara, 1997, 23-38.
- 17) Akgül, A. Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri SPSS Uygulamaları (3. basım). Ankara: Emek Ofset, 2005.
- 18) Yıldırım F, Conk Z. Zihinsel yetersizliği olan çocuğa sahip anne/babaların stresle başa çıkma tarzlarına ve depresyon düzeylerine planlı eğitimin etkisi. C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi 2005; 9(2): 1-10.
- 19) Natan K. Zihinsel engelli çocuğu olan ve zihinsel engelli çocuğu olmayan annelerin depresyon ve kaygı düzeyleri. Maltepe Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2007.
- 20) Şengül S, Baykan H. Zihinsel engelli çocukların annelerinde depresyon, anksiyete ve stresle başa çıkma tutumları. Kocatepe Tıp Dergisi 2013; 14(1): 30-9.
- 21) Ayyıldız T, Şener DK, Kulakçı H, Veren F. Zihinsel engelli çocuğa sahip annelerin stresle baş etme yöntemlerinin değerlendirilmesi. Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi 2012; 11(2): 1-12.