

To cite this article: Demirhan İ, Kurutaş EB. Kahramanmaraş yöresinde farklı yaş gruplarındaki bireylerde antioksidan enzimlerinden süperoksit dismutaz (sod), katalaz (cat) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (g6pd) aktivitelerinin taranması Turk J Clin Lab 2022; 2: 285-289.

## ■ Orjinal Makale

# Kahramanmaraş yöresinde farklı yaş gruplarındaki bireylerde antioksidan enzimlerinden süperoksit dismutaz (sod), katalaz (cat) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (g6pd) aktivitelerinin taranması

## *Screening of antioxidant enzymes superoxide dismutase (sod), catalase (cat) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (g6pd) activities in persons of different age groups in kahramanmaraş region*

İlter DEMİRHAN<sup>1\*</sup> , Ergül BELGE KURUTAŞ<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Harran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Elektronik-Otomasyon Bölümü, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, Şanlıurfa / TÜRKİYE

<sup>2</sup>Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş/ TÜRKİYE

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışma Kahramanmaraş yöresinde ikamet eden sağlıklı bireylerde yaşlarına göre eritrosit metabolizmasında yer alan antioksidan enzimlerin aktivitelerini tespit etmek amacı ile yapılmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Eritrosit metabolizmasında yer alan Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz (G6PD), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) enzimlerinin yokluğunu veya yetersizliğini tespit etmek amacıyla 0-125 yaşları arasında 281 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubuna alınan bireylerin hematolojik verileri normal değerdedir.

**Bulgular:** G6PD ve CAT aktiviteleri Beutler Metodu ile SOD aktivitesi Fridovich Metodu ile saptanmıştır. Üç bireyde G6PD enzim eksikliği (sıfır aktivite) ve yedi bireyde katalaz enzim yetersizliği saptanmıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmada yaşlanma ile G6PD ve CAT aktivitelerinin arttığı, SOD aktivitesinin ise azaldığı ( $p<0,05$ ) ve aynı yaş gruplarında cinsiyete bağlı olarak enzim aktivitelerinin farklılık göstermediği saptanmıştır ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak, yaşlanma ile oksidatif stres arasında pozitif bir korelasyon olduğu kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Yaşlanma; SOD; CAT; G6PD

Sorumlu Yazar\*: İlter DEMİRHAN, Harran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Elektronik-Otomasyon Bölümü, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, Şanlıurfa / TÜRKİYE

E-posta: ilterdemirhan@harran.edu.tr

ORCID: 0000-0003-0054-7893

Gönderim: 13.09.2021 kabul: 18.05.2022

Doi: 10.18663/tjcl.994531

## ABSTRACT

**Aim:** This study was carried out to determine the activities of antioxidant enzymes in erythrocyte metabolism in healthy individuals residing in Kahramanmaraş region according to their age.

**Material and Methods:** In order to detect the absence or insufficiency of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD), Superoxide Dismutase (SOD) and Catalase (CAT) enzymes involved in erythrocyte metabolism, 281 healthy individuals between the ages of 0-125 were included in the study. Hematological data of the individuals included in the study group were normal.

**Results:** G6PD and CAT activities were determined by Beutler Method and SOD activity was determined by Fridovich Method. G6PD enzyme deficiency (zero activity) was found in three individuals and catalase enzyme deficiency was found in seven individuals.

**Conclusion:** In this study; G6PD and CAT activities increased with aging, while SOD activity decreased ( $p < 0.05$ ) and enzyme activities did not differ depending on gender in the same age groups ( $p > 0.05$ ). As a result, it was concluded that there is a positive correlation between aging and oxidative stress.

**Keywords:** Aging; SOD; CAT; G6PD

## Giriş

Yaşlanma canlılarda görülen, tüm fizyolojik faaliyetlerde azalma ya da aksamaya neden olan genel bir süreç olarak tanımlanabilir. Zamanla organ ve sistemlerin yapısal işlevlerinde geri dönüşü olmayan kalıcı değişimler yaşlılıkla birlikte görülebilmektedir [1]. Yaşlanma ile organizma dış uyaranlara karşı gerekli ve yeterli tepkiyi vermez duruma gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yaşlılığın tanımına denk gelen takvim yaşı 65 yaşın başlangıcıdır [2]. DSÖ'ye göre 2010 yılında tahmin edilen 65 yaş ve üzeri nüfus, dünya nüfusunun %8'i olan 524 milyon iken; 2050 yılında bu sayının dünya nüfusunun %16'sı olan 1,5 milyar olması beklenmektedir [3]. Yaşlanmanın biyolojik olarak ifade edilmesinde birçok teori ileri sürülmektedir. Yaşlanmada serbest radikal teorisi bunlardan ilkidir. 1956'da organizmada oksijen kullanılan normal metabolik süreçlerde oluşan serbest oksijen radikallerinin yaşlanmada rolünün olduğu gösterilmiştir [4,5]. Sağlıklı yaşlılıkta Serbest radikaller (SOR) düşük konsantrasyonda olup zarar verici değildir. Yüksek derişimdeki SOR ise ciddi bir patolojik oluşumların temel mekanizmasıdır [6]. ROS bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron içeren, bağımsız varoluş yeteneğine sahip kimyasal tür olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde birçok hastalığın oluşmasında ROS'nin rol oynadığı kabul edilmektedir. Vücutta radikal oluşumu endojen kaynaklı olabileceği gibi çevresel faktörlerin içerisinde bulunduğu eksojen kaynaklı da olabilir. Antioksidan enzimler, hücrede düşük konsantrasyonlarda bulunan ve oksitlenebilir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde azaltan ya da önleyen doğal

ajanlardır [7]. Öyle ki katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri ROS oluşumunu önlemek ya da bastırmak amacıyla hemen hareket ederler. Özellikle süperoksit ( $O_2^-$ ) anyonunun dismutasyonunda, hidrojen peroksit'in ( $H_2O_2$ ) ve peroksitlerin su alkol ve oksijene kadar parçalanmasında rol oynarlar [8]. Etki dereceleri farklı olmak üzere her yaş grubunda SOD ve CAT enzimleri bulunmaktadır. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), vücuttaki tüm hücrelerin sitoplazmasında bulunan bir enzimdir. Reaktif oksijen türlerinden (ROS) kaynaklanan hücre hasarını önlenmesinde hayati bir rol oynayan bir temizlik enzimidir. Eritrositler, oksijen taşınmasındaki rolleri ve hücre proteinleri olgun hücreler olarak değiştirememeleri nedeniyle ROS'a karşı özellikle hassastır [9,10]. G6PD, nikotinamid adenin dinükleotit fosfatı (NADP) indirgenmiş formu olan NADPH'ye dönüştürmek için glukoz-6-fosfat kullanan pentoz fosfat yolunun (PFY) hız sınırlayıcı ilk adımındaki katalizördür. Enzimler canlıların yaşamını sürdürebilmesi için gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonların düzenleyicisi rolündedirler. Glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimi canlılarda çok önemli bir yeri olan PFY metabolik yolunun ilk ve tek kilit enzimi rolündedir. G6PD enzimi insan, hayvan, bitki, mantar, mikroorganizma gibi birçok canlı metabolizmasında bulunmaktadır. İnsan eritrositlerinde bulunan G6PD enziminin görevini yapamaması PFY'nun aksamasına, eritrositlerin hemolize uğramasına neden olur. Bu durum canlının dönüşümsüz zarara uğramasına yol açabilir [11,12].

Bu çalışmada yaşlanma ile G6PD, CAT ve SOD antioksidan enzim aktivitelerinin aynı yaş ve cinsiyete bağlı olarak

değerlendirilmesi ve yaşlanma ile oksidatif stres arasındaki korelasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve yöntemler

### Deney Grupları

Bu araştırma grubuna, hematolojik verileri normal bulunan, 0-125 yaşları arasında 281 sağlıklı birey dahil edildi. Kan örnekleri K.S.Ü. Tıp Fakültesi kan merkezinden temin edilmiştir. Araştırma K.S.Ü Tıp Fakültesi bünyesinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında tamamlandı. Bireyler arasında cinsiyet ayrımı yapılmaksızın yaşlarına göre 5 farklı grup oluşturuldu.

Grup No.1: 0-5 yaş aralığı

Grup No.2: 6-12 yaş aralığı

Grup No.3: 13-18 yaş aralığı

Grup No.4: 19-39 yaş aralığı

Grup No.5: 40 ve yukarı yaş

Biyokimyasal Ölçümler

Kan Numunelerinin Temini ve Hemolizat Hazırlanması

Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere alınan taze insan kanı, +4°C'deki şartlarda laboratuvara getirilerek günlük olarak kullanıldı. Taze kandan eritrositleri ayırmak amacıyla, kan numunesi 10 dakika 5000 rpm'de santrifüj edildi. Serum ve eritrositler birbirinden ayrıldı. Tüplerin üst kısmındaki plazma ve lökosit tabakaları bir damlalık vasıtasıyla alındı. Elde edilen eritrositler hacimlerinin beş katı buzlu saf su ile hemoliz edildi. Daha sonra hücre zarlarını uzaklaştırmak için +4 °C'de 15 000 rpm'de 30 dakika santrifüj yapıldı. Damlalık vasıtasıyla süpernatant alındı [13]. Böylece hemolizat hazırlanmış oldu. Bütün bu işlemler +4 °C'de gerçekleştirildi.

Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz Enziminin Aktivite Tayini

Enzim aktivitesi UV-Vis spektrofotometrede 25 °C'de Beutler metoduna göre yapıldı. Bu metod nikotiamid adenin dinükleotid fosfat'ın (NADP+) indirgenmesinden dolayı oluşan NADPH'in 340 nm'de absorpsiyon vermesi esasına dayanır [14].

### Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

CAT aktivitesi süpernatantta Beutler yöntemi ile belirlenmiştir [14]. CAT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin yıkımını katalizler. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin CAT tarafından yıkılma hızı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden faydalanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

SOD tayini için Fridovich yöntemi kullanıldı [15]. SOD, oksidatif enerji üretimi esnasında açığa çıkan toksik süperoksit radikallerinin moleküler oksijen ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye 54 dismutasyonunu hızlandırır.

Bu metod, ksantin ve XO kullanılarak açığa çıkarılan süperoksit radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorid (piyodonitrotetra zolium viyolet: INT) ile oluşturduğu kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (O.D) okunması temeline dayanır.

### Hemoglobin Tayini

Drabkin çözeltisinde bulunan ferrisiyanür hemoglobindeki +2 değerlikli demiri +3 değere yükseltgeyerek hemoglobini methemoglobine dönüştürmektedir. Bu ise potasyum siyanür ile birleşerek stabil olan siyanomethemoglobini oluşturur. Siyanomethemoglobinin 540 nm dalga boyunda verdiği absorpsiyon ölçülerek hemoglobin (Hb) miktarı saptandı [16].

### İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 programı kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama ± standart sapma olarak verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde grupların arasındaki farkların incelenmesi için Non Parametrik Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde ise MannWhitney U testi kullanıldı. Her iki test içinde p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bu çalışmada 1964 Helsinki Bildirgesi'nde yer alan yönergeler dikkate alınmıştır. 25/02/2020 tarih ve 7 sayılı karar ile Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden gerekli etik kurul izni alınmıştır. Ayrıca çalışmamıza dahil edilen bireylerden imzalamaları karşılığında bilgilendirilmiş onam alındı.

### Bulgular

Araştırmada hematolojik verileri normal bulunan bireyler değerlendirilmiştir. Üç bireyde G6PD enzim eksikliği (sıfır aktivite) ve yedi bireyde katalaz enzim yetersizliği saptanmıştır. Araştırma sonuçlarına bakıldığında, değişik yaş grupları arasında G6PD, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin anlamlı farklılık gösterdiği görülmektedir (p<0.05). G6PD, SOD ve CAT enzim aktiviteleri sağlıklı bireylerde %40 hemotokrite getirilmiş eritrosit hücrelerinde ölçülmüştür. Her örnekten üçer paralel çalışılarak ortalamaları alınmıştır. Bu ölçümlere ait değerler Tablo 1'de verilmiştir. Değerler, G6PD (Ünite / g Hb), SOD (Ünite / g Hb), CAT (Ünite / g Hb) cinsinden ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre; yaşlanma ile G6PD ve CAT aktivitelerinin arttığı, SOD aktivitesinin ise azaldığı (p<0,05) ve aynı yaş gruplarında cinsiyete bağlı olarak enzim aktivitelerinin farklılık göstermediği saptanmıştır (p>0,05).

**Tablo 1 :** Cinsiyete göre G6PD, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin yaşa bağlı olarak değişimi

Enzim	Cinsiyet	0-5 Yaş	6-12 Yaş	13-18 Yaş	19-39 Yaş	40-ve yukarı	Total
G6PD (Ü/g Hb)	Kadın	3,26±2,17* (n:3)	5,44±2,17 (n:12)	7,29±3,37 (n:64)	9,42±4,48 (n:35)	6,89±2,30 (n:47)	7,12±3,49 (n:161)
	Erkek	3,03±0,54* (n:12)	3,77±1,24 (n:8)	5,83±2,91 (n:49)	8,77±4,02 (n:36)	5,93±2,31 (n:15)	6,30±3,52 (n:120)
SOD (Ü/g Hb)	Kadın	2013,1±746,7* (n:2)	822,6±253,1 (n:10)	900,1±176,4 (n:8)	742,2±259,7 (n:24)	798,5±303,2 (n:24)	829,8±346,9 (68)
	Erkek	1867,7±605,4* (n:10)	753,5±179,0 (n:7)	866,8±346,9 (n:4)	785,5±185,6 (n:20)	791,4±256,6 (n:25)	953,2±495,7 (n:66)
CAT (Ü/gHb)	Kadın	109,9±41,0* (n:2)	135,0±64,9 (n:10)	158,7±47,4 (n:8)	143,0±48,1 (n:26)	191,6±71,9 (n:23)	158,9±62,8 (n:69)
	Erkek	117,8±22,7* (n:11)	136,5±42,6 (n:7)	157,4±41,2 (n:4)	146,8±66,2 (n:20)	201,4±71,1 (n:25)	162,0±66,9 (n:67)

\*G6PD, SOD ve CAT enzim aktiviteleri 0-5 yaş grubu ile diğer yaş grupları arasında anlamlı farklılık göstermektedir (p<0,05).

## Tartışma

Reaktif oksijen türleri (ROS), hücrelerin bütün yaşamsal faaliyetlerinden (büyüme, farklılaşma, yaşlanma, ölüm) sorumludur. Günümüzde yaşlılık ve oksidatif stres arasındaki ilişki araştırmacılar tarafından değerlendirilmektedir. ROS'lerinin neden olduğu oksidatif stres biyolojik molekülleri direk etkilediği için yaşlılık ile ilgili temel olgulardan biri olduğu düşünülmektedir. Yaşlılık ile oksidatif stres bağlantılı literatür araştırmaları bulunmaktadır [17,18].

Araştırmada yaşlanma ile birlikte eritrositlerde enzim aktivitesinin farklılık gösterdiği saptanmıştır. Yedi bireyde katalaz enzim yetersizliği görülmüştür. Yaşlanma ile beraber CAT enzim aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç; uzun ömürlü türlerin metabolizmalarının yavaşlamasına karşın antioksidan metabolizmalarının artması şeklinde ifade edilebilir. Ayrıca peroksidatif zararın yaşlılıkla birlikte artması CAT enzim aktivitesinin artışına neden olmaktadır. CAT enzim aktivitesinin artışını gösteren benzer araştırma sonuçları literatürde mevcuttur [19,20]. 176 sağlıklı birey eritrositlerinde yapılan araştırmada yaşlanma ile CAT enzim aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir [21].

Araştırmada aynı yaş grubunda enzim aktivitelerinde farklılık görülmezken SOD enzim seviyelerinde, yaşlanma ile azalma saptanmıştır (p<0,05). SOD enzim aktivitesinin türlere göre ve bulunduğu dokulara göre farklı olduğu araştırma sonuçlarında belirtilmiştir [22]. Tolmasoff ve arkadaşları 14 memeli türünün değişik dokularında SOD enzim aktivitelerinin farklı düzeylerde olduğunu değerlendirmişlerdir [23]. Fareler üzerinde yapılan bir araştırmada SOD enzim aktivitesinin yaşlılıkla birlikte azaldığı gösterilmiştir [24]. Ayrıca insan eritrositlerinde SOD aktivitesinin düşük değerlerde bulunduğu çalışmalar da literatürde kayıtlıdır [25,26]. SOD aktivitesi ile yaşlılık arasında negatif korelasyon olduğu sonucuna varılmaktadır.

Eritrositler normal yaşamlarını devam ettirebilmek için enerjiye ihtiyaç duyarlar. Eritrositlerin yaşamlarını sürdürmeleri için enerji gereksinimlerini karşılamalarına ek olarak, hemoglobin ve hücredeki proteinleri oksidan etkilere korumaları gerekir. Eritrositlerde pentozmonofosfat yolunda bulunan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi hücreyi oksidan hasardan korumak amacıyla görev yapar. Bu enzimin eksikliğinde hemolitik anemi hastalığı meydana gelmekle birlikte ülkemizde görülme sıklığı % 0,5 iken Çukurova bölgesinde bu oran %8,2'dir [27]. Akut hemolitik anemi hastalığında normal koşullarda herhangi bir bulgu saptanmazken oksidatif stres durumlarında hemoliz gerçekleşir. Araştırmamızda üç kişide G6PD enzim eksikliği tespit edilmiş olup yaşlanma ile G6PD aktivitesinin arttığı görülmüştür. Yapılan araştırmalar yeni doğandan yetişkinliğe geçiş döneminde azalan G6PD enzim aktivitesinin; yetişkinlik-yaşlılık döneminde tekrar artışa geçtiğini göstermektedir [28]. Enfeksiyonlar G6PD enzim aktivitesini direk olarak etkileyen unsurlardan biridir. Araştırmaya dahil ettiğimiz bireylerin enfeksiyon taşımaması, G6PD düzeylerinde aktivite artışının sebebi olarak değerlendirilebilir. Öyle ki enfeksiyon olgularında, nötrofil ve makrofaj aktivasyonu gerçekleşir. Bu durum PFY üzerinde glukoz metabolizmasını ve oksijen tüketimini 2-20 kat artırmaktadır. Oksijen tüketimindeki artışla birlikte nötrofillerin ve makrofajların salgıladıkları H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve bunların dokularda birikimi ile eritrositleri hasara uğrattıkları düşünülmektedir [29].

## Sonuç

Oksidatif stres başta kanser olmak üzere kalp, diyabet ve solunum sistemi hastalıkları ile yaşlanma patogenezi ile çok yakından ilişkili olduğu görülmektedir. Hayatın her basamağında kaliteli yaşamak, oksidatif stres unsurlarından kaçınmak beraberinde sağlıklı yaşlanmayı getirecektir. Bunun için düzenli egzersizler

yapılabilir, düzenli beslenip yeterli uyku ile stres ve kimyasal ajanların mutajenik etkilerinden uzak durmak gerekmektedir. Dengeli beslenme ve dışardan alınacak antioksidan takviyeler yaşlanma sürecinin çok daha sağlıklı olmasında etkili olacağı kanısındayız. Düzenli yapılan bu faaliyetler antioksidanların düzeylerinin de normal olmasını sağlayacaktır.

### Maddi destek ve çıkar ilişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur.

### Kaynaklar

1. Hou Y, Dan X, Babbar M, et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 2019; 15: 565-81.
2. Tümerdem Y. Real age. *Turk J Geriatr* 2006; 9: 195-196.
3. WHO; US National Institute on Aging; National Institutes of Health; Global Health and Ageing. Available from: [https://www.who.int/ageing/publications/global\\_health/en/](https://www.who.int/ageing/publications/global_health/en/) 2011.
4. Benz CC, Yau C. Ageing, oxidative stress and cancer: Paradigms in parallax. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 875-9.
5. Karasu Ç. Theories of biological aging: role of oxidative stress. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008; 28 : 1-11.
6. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br Med Bull*, 1993; 49: 481-93.
7. Kurutas EB. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state, *Nutrition journal* 2016;15 :1-22.
8. Ighodaro OM, Akinloye OA. " First-line defense antioxidants—superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPX): essential roles in the entire antioxidant defense grid.," *Alexandria Journal of Medicine* 2018; 54: 287-93.
9. Antwi-Baffour S, Adjei JK, Forson PO, et al. Comorbidity of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Sickle Cell Disease Exert Significant Effect on RBC Indices. *Anemia* 2019;2019:3179173.
10. Yang WC, Tai S, Hsu CL, et al. Reference levels for glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme activity in infants 7-90 days old in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2020; 119 :69-74.
11. Ong KIC, Iwagami M, Araki H, et al. Prevalence of G6PDViangchan variant in endemic malaria areas in Lao PDR: an outcome for malaria eradication by 2030. *Malar J* 2019; 18:75
12. Pes GM, Parodi G, Dore MP. Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz eksikliği ve kardiyovasküler hastalık riski:Eğilim skoru eşleştirilmiş bir çalışma. *Ateroskleroz*. 2019; 282 :148-53.
13. Ninfali P, Orsenigo T, Barociani, Papa S. "Rapid purification of gucose 6-phosphate dehydrogenase from mammal's erythrocytes". *Preparative Biochemistry* 20; 1990: 297-309.
14. Beutler E. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. 2nd ed. New York 1984.
15. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Adv Enzymol* 1974.
16. White WL, Erickson M, Stewens, S.C. Determination of Total Protein and Albümin Chemistry for Clinical Laboratory. 4th. Ed. P. 183 The C. V. Mosby Company, St Louis, Mo.1976.
17. Hatao H. Effects of Acute Exercise on Lung Antioxidant Enzymes in Young and Old Rats. *Mechanisms of Ageing and Development* 2006; 127: 384-90.
18. Yargıçoğlu P, Şahin E, Gümüşlü S, Açar A. The Effect of Sulfur Dioxide Inhalation on Active Learning Antioxidant Status and Lipid Peroxidation During Aging. *Neurotoxicology and Teratology* 2007; 29: 211-8.
19. Bayne AV, Sohal RS. Effects of Superoxide Dismutase\Catalase Mimetics on Life Span and Oxidative Stress Resistance in The Housefly, *Musca Domestica*. *Free Radical Biology & Medicine* 2002; 32: 1229-34.
20. Devı SA, Kıran TR. Regional Responses in Antioxidant System to Exercise Training and Disetary Vitamin E in Aging Rat Brain. *Neurobiology of Aging* 2004; 25: 501-8.
21. İnal ME, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant Enzyme Activities and Malondialdehyde Levels Related to Aging. *Clinica Chimica Acta* 2004; 305: 75-80.
22. Wickens AP. Ageing and the free fadical theory. *Respiration Physiology* 2001; 128: 379391.
23. Tolmasoff JM, Ono T, Cutler RG. Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. *Proceeding of the National Academy of Science* 1980; 77: 2777-81.
24. Jolitha AB, Subramanyam MVV, Devı SA. Modification by Vitamin E and Exercise of Oxidative Stres in Regions of Aging Rat Brain: Studies on Superoxide Dismutase Isoenzymes and Protein Oxidation Status. *Experimental Gerontoloji* 2006;41: 753-763.
25. Li Y, Qin H, Chen Q, Wang J. Neurochemical and Behavioral Effects of The Intrahippocampal Co-Injection of B-Amyloid Protein 1-40 and Ibotenic Acid in Rats. *Life Sciences*, 2005; 76: 1189-1197.
26. Koyu A, Özgüner F, Çalışkan S, Karaca H. Preventive Effect of Vitamin E on Iron-Induced Oxidative Damage in Rabbit. *SAGE Journals* 2005; 21: 239.
27. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. *Blood* 2008; 11: 16-24.
28. Mesner O, Hammerman C, Goldschmidt D, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in male premature and term neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: 555-7.
29. Reglinski J, Hoey J, Simith WE, Sturrock RD. Cellular response to oxidative stress at sulfhydryl group receptor sites on the erythrocyte membrane. *J Biol Chem* 1988; 263: 12360-6.