

## ERZURUM VE ÇEVRESİNDE YAŞAYAN SAĞLAM ŞAHİSLARDA ERİTROSİT GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTE SEVİYELERİ

Kimy. Zeki ARI x

Kimy., Ebübekir BAKAN xx

Dr. M. Münip YEĞİN xxx

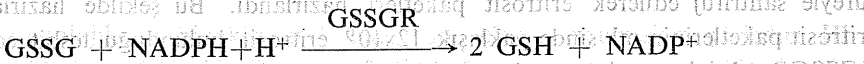
### ÖZET

*Yaşları 5-84 arasında (ortalama 32) olan, 75'i erkek 71'i kadın toplam 146 sağlam şahıstan venöz kan alındı ve eritrosit glutatyon redüktaz aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Konuyla ilgili olarak yerli ve yabancı literatür gözden geçirildi ve sonuçlar literatür bulgularıyla karşılaştırıldı. Enzim aktivitesinin cinsiyete bağlı olmadığı, fakat yaş ilerledikçe seviyelerin de hafif derecede yükseldiği görüldü.*

### GİRİŞ VE AMAÇ

Glutatyon; glutamik asid, sistein ve glisin amino asidlerinden meydana gelmiş bir tripeptid (1,2) olup, redükte ve okside şeklinde iki formu vardır. Redükte glutatyon (GSH), eritrosit içinde bulunan hemoglobinin (1,3) ve katalaz (3) gibi proteinlerin, ayrıca hücre zarındaki (3,4) lipoproteinlerin sülfhidril (-SH) gruplarının koruyucusu olarak önemli rol oynar. Glutatyon, proteinlerin sülfhidril gruplarına nazaran oksitlenmeye daha yatkın olduğundan, normal hücre fonksiyonuna zarar verebilecek disülfid bağlarını redükte halde tutabilmek için kendisi yükseltgenen bir güç kaynağı olarak vazife görür. Çeşitli sebeplerle okside hale geçen glutatyonun görevini yapabilmesi için tekrar redükte formuna çevrilmesi gerekir, Bunu sağlayan enzim Glutatyon Redüktaz (GSSGR) dir.

GSSGR (NADPH: okside glutatyon oksido redüktaz) (E.C.1.6.4.2.); GSSG ile NADPH arasındaki reaksiyonu katalize eder (3,4;5;6):



x) Atatürk Üniversitesi, Diş Hek. Fak. Biyokimya Uzmanı

xx) Atatürk Üniversitesi, Tıp Fak., Biyokimya Uzmanı

xxx) Atatürk Üniversitesi, Tıp Fak. Biyokimya Profesörü ve Ana Bilim Dalı Yöneticisi

GSSGR enziminin genel fonksiyonu, hücre içindeki redükte glutatyonu yüksek bir seviyede tutmaktır. Bunun yanı sıra, hücre bölünme siklusunda ve ve hücre seviyesinde oluşacak stresslere karşı adaptasyonda olduğu gibi ilâve görevleri de vardır (7).

Bu çalışmanın amacı, Erzurum ve çevresinde yaşayan sağlam şahıslarda Eritrosit Glutasyon Redüktaz (EGSSGR) aktivitesinin normal değerlerini tesbit etmek ve bu sayede çeşitli hastalıkların teşhis ve tedavisinde kliniğe yardımcı olmaktadır.

## METERYAL VE METOD :

Çalışmamıza, 5-84 yaşları arasında (ortalama 32) hiç bir klinik şikâyeti ve bulgusu olmayan 75'i erkek, 71'i kadın toplam 146 sağlam şahıs dahil edildi. Vak'alar; çeşitli meslek gruplarına sahip şehir halkı başta olmak üzere Tıp, Diş Hekimliği, Hemşirelik Yüksek Okulu ve ilkokul öğrencileri ile rutin biyokimya laboratuvarında çalışan sağlam personelden seçildi. Ayrıca sağlam şahısların, son bir ay içerisinde ilaç kullanmayan kişilerden seçilmesine dikkat edildi.

Sabah 8<sup>o</sup> - 10<sup>o</sup> saatleri arasında şahıslardan 10 ml. kadar venöz kan alındı. Bu kanın 3 ml. si Ht, Hb, kreatinin tayinleri ve eritrosit sayımı için kapaklı heparinize cam tübe; 4 ml. si GSSGR aktivite tayini için, içinde 1 ml. asit-sitrat dekstroz-A (ACD-A) çözeltisi bulunan kapaklı bir santrifüj tübüne; geriye kalan 3 ml. venöz kan ise NPN tayini için, antikoagulan olarak potasyum oksalat taşıyan cam tübe konuldu. Tübler yavaşça alt-üst edilerek kanların antikoagüle olması sağlandı.

Eritrosit sayımı vizüel metotla (8); hemoglobin, Cyanmet hemoglobin (9); hematokrit, mikrohematokrit (10); NPN, Kowarsky (11); ve kreatinin, kolorimetrik Jaffe (11) metodu ile tayin edildi.

ACD-A çözeltisi üzerine alınan kandan EGSSGR aktivite tayini yapılmak üzere önce eritrosit paketi hazırlandı. Bunun için numuneler 2000 x g de 20 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatant kısmı su trompu ile uzaklaştırıldı. Eritrositler hacimlerinin yaklaşık 5 katı soğutulmuş EDTA'lı serum fizyolojik çözeltisi (12) (8.5 gr. NaCl + 10.0 gr. EDTA. Na<sub>2</sub>/lt.) ile bir defa yıkandı ve 10 dakika süreyle 2000 x g de santrifüj edilerek yıkama çözeltisi atıldı. Yıkama işlemi, soğutulmuş izotonik sodyum klorür (% 0.9 NaCl ) çözeltisi kullanılarak 2 defa daha tekrarlandı. Son yıkamadan sonra numuneler 2000 x g de 25 dakika süreyle santrifüj edilerek eritrosit paketleri hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan eritrosit paketlerinin ml. sinde yaklaşık 12x10<sup>9</sup> eritrosit bulunduğu tesbit edildi. EGSSGR aktivite tayini yapılmaya kadar eritrosit paketleri -20 °C'da muhafaza edildi (13,14,15). Bu numunelerden en geç bir hafta içinde aktivite tayinleri yapıldı. Çalışma gününde 1:30 dilüsyonla eritrosit paketlerinden hemolizat hazırlandı. Hemoliz işlemi distile su ile yapıldı (16). Hemolizin tam olması için numuneler buz -aseton banyosunda donduruldu (14,17) ve yeniden

30 °C'lık su banyosunda çözüldü. Elde edilen hemolizatlar 2000 x g de 15 dakika santrifüj edilerek hücre artıkları çöktürüldü (5). Üstte kalan berrak süpernatant'dan EGSSGR aktivite tayini yapıldı.

EGSSGR aktivitesinin tayininde Bayoumi ve Rosalki metodu (15,17) bazı modifikasyonlar yapılarak uygulandı. Bu metodun prensibi; ortamdaki NADPH'in absorbandsındaki azalma miktarınının 340 nm de spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır (5,15,16,17,18). Enzim aktivitesinin tayininde yapılan işlemler Tablo-I'de özetlenmiştir.

Ölçümler, 37 °C'da ışık yolu 1 cm olan küvetler kullanılarak, Beckman DU-2 Spektrofotometresi ile 340 nm de yapıldı.

Tablo-I: Eritrosit GSSGR Aktivitesi Tayini.

İlave edilen çözeltiler	İlave edilen Mik (ml)		Deney karışımındaki son konsantrasyon
	Kör	Numune	
Potasyum fosfat tamp, (0.1 M, pH 7.4)	2.35	2.00	81.6 mM.
EDTA (80 mM)	—	0.05	1.6 mM.
Hemolizat (1:30 seyreltik)	0.10	0.10	(1:735 seyreltik)
GSSG (50 mM)	—	0.10	2.00 mM.
Redistile su	—	0.10	—
Küvetler 37 °C'da 30 dakika inkübe edildi. Sonra numune küvetine 0.1 ml NADPH çözeltisi ilâve edilirken kronometreye basıldı ve küvet muhtevasi çabucak karıştırıldı.			
NADPH (4 mM)	—	0.10	163.0 µM.
Toplam küvet hacmi	2.45	2.45	—
Karıştırma işlemi biter bitmez küvet alete yerleştirildi. 10 dakika süreyle ve 1'er dakika aralıklarla köre karşı numune küvetindeki absorbands azalmaları takip edilerek kaydedildi.			

Enzim aktiviteleri U/gr Hb, U/10<sup>11</sup> eritrosit, U/ml eritrosit (Ht'e göre) ve U/ml eritrosit (faktöre göre) olmak üzere dört ayrı birimde hesaplandı (5,15,19).

#### BULGULAR:

Hematolojik ve biyokimyasal analiz sonuçları ortalamaları şöyledir: Hb (% gr): 14.49 ± 1.53, Ht (%): 45.15 ± 4.40, Eritrosit sayısı (x10<sup>6</sup> /mm<sup>3</sup>): 4.65 ± 0.53, NPN (% mg): 24.61 ± 6.13, Kreatinin (% mg : 1.40 ± 0.44.

146 sağlam şahıs (0-20), (21-40) ve (41 ≤) olmak üzere üç yaş grubuna bölündü. Yaş gruplarına, cinsiyete ve sağlam şahısların toplamına aid EGSSGR aktivite seviyeleri ile alt ve üst sınırlar Tablo-II'de toplu olarak verilmiştir.

Erkek ve kadın gruplarının enzim aktivite seviyeleri arasında yapılan "t" testinde, enzim aktivitesinin cinsiyete bağlı olmadığı ( $p > 0.05$ ) bulunmuştur.

Yaş gruplarına aid aktivite seviyeleri arasında yapılan "t" testi sonuçlarından şu neticeler elde edilmiştir:

a) (0-20) - (21-40) yaş grupları arasında her dört birim için de istatistikî açıdan önemli fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

b) (21-40) - (41 $\leq$ ) yaş grupları arasında da enzim aktivitesi bakımından bulunan fark, istatistikî yönden önemsizdir ( $p > 0.05$ ).

c) (0-20) - (41 $\leq$ ) yaş grupları arasında yapılan "t" testinde; U/gr Hb ( $p < 0.05$ ), U/10<sup>11</sup> eritrosit ( $p < 0.01$ ), U/ml eritrosit (Ht'e göre) ( $p < 0.01$ ), U/ml eritrosit (faktöre göre) ( $p < 0.01$ ) değerlerinin istatistikî açıdan önemlilik gösterdiği tesbit edildi.

TARTIŞMA :	Hücre başına Mik (m)		Hücre başına Mik (m)
	Kor.	Munna	
GSSGR aktivitesinin eritrosit içi ve serum seviyeleri çeşitli hastalıklarda değişiklikler göstermektedir. Demir eksikliği anemisinde (20), primer gut'da (3,21), viral hepatit ve sirozda (4,22), çeşitli kanser hastalıklarında (22), hipertiroidi'de (23), sistik fibrozis'de (4), çeşitli deri hastalıklarında (24), kalb hastalıklarında (4,22) ve muhtelif böbrek hastalıklarında (4,22,25, 26,27,28,29) GSSGR aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir.			
Nonsferositik hemolitik anemide (4,13,30), bir çok hematolojik hastalıkta (5) ve neonatal sarılıkta (31) enzim aktivitesi normal seviyelere göre düşük bulunmuştur. Ayrıca akraba evliliği yapan bir ailenin bütün çocuklarında GSSGR eksikliği gözlenmiştir (4,32).			

Çeşitli araştırmacılar tarafından sağlam şahıslarda bulunan EGSSGR aktivite seviyeleri arasında farklılıklar mevcuttur. Aktiviteyi gr Hb başına olmak üzere Melissinos ve ark. (28) 8.95, Bonsignore ve ark. (33) 7.2, Beutler (13) 6.29, Paniker ve ark. (34) 6.99, Beutler Laboratuvarı (9) 4.46, Loos ve ark. (32) 2.4-4.8 arasında, Harwey ve ark. (35) 3.40 ve Ramachandran ve ark. (20) 3.07 olarak vermektedirler. Bizim bulduğumuz ortalama değer ise 5.99 U/gr Hb'dir.

Diğer birimler üzerinden verilen değerlerle mukayese yapıldığı zaman şu durum ortaya çıkmaktadır: 10<sup>11</sup> eritrosit başına düşen ünite cinsinden enzim aktivitesini Ferrone ve ark. (25) 7.18, Madec ve ark. (26) 9.2, Schröter (5) 25.7, Yawata ve ark. (27) 30.4, Ramachandran ve ark. (20) 9.26 olarak vermektedirler. Bu birim üzerinden bizim tesbitimiz ise ortalama 14.94 dür. ml eritrosit başına düşen ünite cinsinden enzim aktivitesi Tatt ve ark. (36) tarafından ortalama 2.26; Ramachandran ve ark. (20) tarafından 0.94 olarak verilirken bizim sonucumuz 1.69 dur.

**Tablo II. Erzurum ve Çevresindeki Sağlam Şahıslarda Bulunan EGSSGR Aktivite Seviyeleri ile Alt ve Üst Sınırlar.**

VAK'ALAR	Vak'a sayısı	U/gr Hb	U/10 <sup>11</sup> eritrosit	U/ml eritrosit (Ht'e göre)	U/ml eritrosit (faktöre göre)
0-20	46	5.79 ± 1.10 (3.78-8.93)	14.30 ± 2.67 (10.32-21.96)	1.69 ± 0.29 (1.19-2.34)	1.61 ± 0.28 (1.14-2.24)
Alt:Üst Sınır					
21-40	51	5.93 ± 1.06 (3.72-8.59)	14.60 ± 3.27 (8.35-25.14)	1.77 ± 0.36 (1.03-2.95)	1.69 ± 0.41 (0.10-2.83)
Alt:Üst Sınır					
41 ≤	49	6.25 ± 1.13 (4.73-8.32)	15.95 ± 2.99 (11.82-24.32)	1.89 ± 0.35 (1.48-2.59)	1.80 ± 0.32 (1.42-2.50)
Alt:Üst Sınır					
Erkek	75	5.99 ± 1.08 (3.92-8.59)	15.18 ± 3.27 (9.31-25.14)	1.80 ± 0.35 (1.22-2.95)	1.71 ± 0.32 (1.14-2.83)
Alt:Üst Sınır					
Kadın	71	5.99 ± 1.13 (3.72-8.93)	14.72 ± 2.83 (8.35-24.32)	1.75 ± 0.31 (1.03-2.59)	1.66 ± 0.35 (0.10-2.50)
Alt:Üst Sınır					
Genel Toplam	146	5.99 ± 1.10 (3.72-8.93)	14.94 ± 3.04 (8.35-25.14)	1.73 ± 0.33 (1.03-2.95)	1.69 ± 0.33 (0.10-2.83)
Alt:Üst Sınır					

U/gr Hb aktivite değerleri arasında Melissinos (28), Bonsignore (33) ve Paniker'in (34) bulguları bizim tesbit ettiğimiz değerden hafif derecede yüksektir. Bu araştırmacılar sırasıyla 38, 18 ve 6 kişilik kontrol gruplarında enzim aktivitesini tayin etmişlerdir. Bizim enzim aktivitesi tayin ettiğimiz sağlam şahıs sayısı ise 146 dır. Vak'a sayısı , yapılan çalışmanın güvenilirliği bakımından önem taşır (37). Ayrıca bizim çalışmamız sadece bir kontrol grubu özelliği taşımamakta, aynı zamanda bölgemizdeki norm değerleri tesbit etmeye yöneliktir. Dolayısıyla vak'alarımızı her yaş grubundan (5-84) ve her iki cinsten hemen hemen eşit sayıda (75 Erkek, 71 Kadın) seçtik. Keza bu araştırmacılar çalıştıkları normal vak'alarda beslenme ve ilaç kullanma gibi hususların dikkate alınıp alınmadığını çalışmalarında belirtmemişlerdir. Oysa ki B vitaminleri alınımının enzim aktivitesini artırıcı etkisi vardır (14,31). Bu sebeple biz, sağlam şahısları son 30 gün içinde ilaç almamış kişiler arasından saçmeye dikkat ettik.

Loos (32), Harwey (35) ve Ramachandran'ın (20) ölçtükleri aktivite seviyeleri, bizim bulgularımıza göre düşüktür. Adı geçen araştırmacıların EGSSGR aktivitesi tayin ettikleri vak'a sayısı sırasıyla 25,6 ve 20 dir. Ayrıca Loos (32) ve Harwey (35) enzim aktivitesi tayinini 25 °C da yapmışlardır. Bu sıcaklıkta ise enzim aktivitelerinin farklı olacağı (5) açıktır. Dolayısıyla bu durum, düşük aktivitelerin bir sebebi olabilir.

Beutler (13) ve E. Beutler Laboratuvarı'nın (9) bulduğu enzim aktivite seviyeleri bizim bulgularımıza yakındır.

U/10<sup>11</sup> eritrosit ve U/ml eritrosit birimi ile verilen sonuçlar arasında da fark mevcuttur. Farklı çalışma şartları EGSSGR aktivitesinde görülen bu değişikliklerin önemli bir sebebi olabilir. Esas itibariyle, normal değerler laboratuvarдан laboratuvara değişir ve bu yüzden her laboratuvarın kendi normal değerlerini tesbit etmesi zorunludur (5,38,39).

Enzim aktivitesinin hesaplandığı dört ayrı birimde de erkek ve kadın grupları arasında istatistikî yönden önemli bir fark bulunamamıştır. Yani sağlam şahıslarda EGSSGR aktivitesinin cinsiyet ile önemli bir bağlılığı yoktur.

Manso ve ark. (40) ile West ve ark. (22) serum GSSGR aktivitesinin cinsiyete göre değişmediğini buldular. Seutter ve arkadaşları da muhtelif deri hastalıkları üzerinde yaptıkları çalışmada EGSSGR aktivitesinin cinsiyete bağlı olmadığını tesbit etmişlerdir (24).

Bulgularımızdan EGSSGR aktivitesinin yaş ilerledikçe yükseldiği anlaşılmaktadır. Bununla beraber Manso ve arkadaşları, yaş ile serum GSSGR aktivitesi arasında önemli bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir(40). Bundan başka West ve ark. (22) ile Seutter ve ark. (24) da yaptıkları çalışmada yaş ile enzim aktivitesi arasında önemli bir ilişki bulamamışlardır.

## SÖNÜÇ:

Sağlam şahıslarda Eritrosit Glutasyon Redüktaz aktivitesi ölçülerek cinsiyet ve yaşla ilgisi araştırıldı. Enzim aktivitesinin cinsiyete göre değişiklik göstermediği; fakat ilerleyen yaşla birlikte aktivitelerin de arttığı tesbit edildi.

## S U M M A R Y

### ERYTHROCYTE GLUTATHIONE REDUCTASE ACTIVITY LEVELS IN HEALTHY SUBJECTS LIVING IN ERZURUM AND ITS ENVIRONMENT

In venous blood from 146 healthy individuals (male 75, female 71), aging from 5 to 84 (average 32), erythrocyte glutathione reductase activity was spectrophotometrically determined. Previous investigations in the subject were reviewed and a comparison was carried out between data. In conclusion, the activity levels was found to be independent on the sex, but the older age and relatively the higher activity.

## K A Y N A K L A R

- 1 - BABAN, N., Protein Biokimyası, İstanbul, Nâzım Terzioğlu Matematik Araştırma Enstitüsü Baskı Atölyesi, 1980, s. 25-29.
- 2 - TEKMAN, Ş. ve ÖNER, N., Genel Biokimya, 3. Bas., İstanbul, Fatih Yayınevi Matbaası, 1981, s. 219-225.
- 3 - BHAGAVAN, N.V., Biochemistry, 2. Bas., Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1978, s. 150, 287, 291-296, 523-524.
- 4 - ERDEM, M. ve BOR, N.M., Redükte Glutasyon ve Glutasyon Redüktaz Enziminin Klinik Önemi, Doğa Bilim Dergisi, 4 (1): 24-32, (1980)
- 5 - SCHRÖTER, W., "Erythrocyte Enzmes", CURTIUS, H. Ch. ve ROTH, M. (Derleyenler), Clinical Biochemistry, Principles and Methods, Berlin, Walter de Gruyter Company, 1974, Cilt II, s. 1178-1191.
- 6 - ERDEN, M., İnsan Alyuvar Glutasyon Redüktazı'nın Özellikleri, Doktora Tezi, Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Fak., Ankara, 1977.
- 7 - SCHULZ, G.E., SCHIRMER, R.H., SACHSENHEIMER, W., ve PAI, E.F., The Structure of the Flavoenzyme Glutathione Reductase, Nature, 273, 120, (1978).
- 8 - İMREN, A.H., Klinik Tanıda Laboratuvar, 2. Bas., İstanbul, Mentuş Kitabevi, 1977, s. 64-65.
- 9 - BAUER, J.D., "Hematology", FRANKEL, S., REITMAN, S. ve SONNENWIRTH, A.C. (Derleyenler), Gradwohl's Clinical Laboratory

- Methods and Diagnosis, 7. Bas., Saint Louis , The C.V. Mosby Company, 1970, Cilt I, s. 403, 457-458, 459, 522, 569.
- 10 - BAUER, J.D., ACKERMANN, P.G. ve TORO, G., Bray's Clinical Laboratory Methods, 7. Bas., Saint Louis, The C.V. Mosby Company, 1968, s. 99, 107, 110-113.
- 11 - ARAS, K. ve ERŞEN, G., Klinik Biyokimya, Ankara, Ankara Üniv. Basımevi, 1975, s. 125-126, 521-532, 726.
- 12 - YEH, A.K., TULSIANIA, D.R.P. ve CARUBELLI, R., Neuraminidase Activity in Human Leukocytes, J. Lab. Clin. Med. , 78, 771, (1971)
- 13 - BEUTLER, E., Effect of Flavin Compounds on Glutathione Reductase Activity, In Vivo and In Vitro Studies, J. Clin. Invest., 48, 1957, (1969)
- 14 - BEUTLER, E., Glutathione Reductase, Stimulation in Normal Subjects by Riboflavin Supplementation, Science, 165, 613, (1969).
- 15 - BAYOUMI, R.A. ve ROSALKI, S.B., Evaluation of Methods of Coenzyme Activation of Erythrocyte Enzymes for Detection of Deficiency of Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub>, Clin. Chem., 22 (3): 327, (1976).
- 16 - NICHOLDS, G.E., Assesment of Status of Riboflavin Nutriture by Assay of Erythrocyte Glutathione Reductase Activity, Clin Chem., 20 (5): 624, (1974).
- 17 - CLEMENTS, J.E. ve ANDERSON, B.B., Glutathione Reductase Activity and Pyridoxine (Pyridoxamine) Phosphate Oxidase Activity in the Red Cell, Biochim. Biophys. Acta, 632, 159, (1980).
- 18 - VO-KHACTU, K.P., SIMS, R.L., CLAYBURGH, R.H. ve SANDSTEAD, H.H., Effect of Simultaneous Thiamin and Riboflavin Deficiencies on the Determination of Transketolase and Glutathione Reductase, J. Lab. Clin. Med., 87 (5) : 741, (1976).
- 19 - ÖNDER, E., Erzurum ve Çevresindeki Sağlam Şahıslarda Eritrosit Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz Enziminin Aktivite Seviyeleri, İhtisas Tezi, Atatürk Üniv. Tıp Fak., Erzurum, 1981.
- 20 - RAMACHANDRAN, M. ve IYER, G.Y.N., Erythrocyte Glutathione Reductase in Iron Deficiency Anemia, Clin. Chim. Acta, 52, 225, (1974)
- 21 - LONG, W.K., Glutathione Reductase in Red Blood Cells, Variant Associated with Gout, Science, 155, 712, (1967).



- 22 - WEST, M., BERGER, C., RONY, H. ve ZIMMERMENN, H.J., Serum Enzymes in Diseases; VI. Glutathione Reductase in Sera of Normal Subjects and of Patients with Various Diseases, *J. Lab. Clin. Med.*, 57, 946, (1961).
- 23 - MENENDEZ, C.E., HACKER, P., SONNENFELD, M., McCONNELL, R. ve RIVLIN, R.S. Thyroid Hormone Control of Glutathione Reductase Activity in Rat Erythrocytes and Liver, *Am. J. Physiol.*, 226, 1480, (1974).
- 24 - SEUTTER, E., COLSEN, M.L.J., VAN DE STAK, W.J.B.M. ve SEUTTERBERLAGE, F., Analyses in Blood of dermatological Patients, I. Glutathione and Glutathione Reductase, *Dermatologica*, 151, 193, (1975).
- 25 - FERRONE, S., ZANELLA, A. ve SIRCHIA, G., Erythrocyte Glutathione Reductase Activity in Chronic Renal Disease, *Scand. J. Haemat.*, 7, 409, (1970).
- 26 - MADEC, Y., GUENEL, J., DUBIN, J.C., LE CAM, M. ve BERNARD, S., Etudes sur Les Variations de Sept Activités Enzymatiques et du Taux du Glutathion Réduit Erythrocytaires au Cours des Anémies Renales, *Nouv. Rev. Fr. D'Hemat.*, 6(6): 873, (1966).
- 27 - YAWATA, Y. ve TANAKA, K.R., Regulatory Mechanism of Glutathione Reductase Activity in Human Red Cells, *Blood*, 43 (1): 99, (1974).
- 28 - MELISSINOS, K. G., DELIDOU, A.Z., VARSOU, A.G., BEGIETTI, S.S. ve DRIVAS, G.J., Serum and Erythrocyte Glutathione Reductase Activity in Chronic Renal Failure, *Nephron*, 28, 76, (1981).
- 29 - THEIL, G.B., BRODINE, C.E. ve DOOLAN, P.D., Red Cell Glutathione Content and Stability in Renal Insufficiency, *J. Lab. Clin. Med.*, 58(5): 736, (1961).
- 30 - GLATZLE, D., VUILLEUMIER, J.D., WEBER, F. ve DECKER, K., Glutathione Reductase Test with Whole Blood, A Convenient Procedure for the Assessment of the Riboflavin Status in Humans, *Experientia*, 30, 665, (1974).
- 31 - BIENZLE, U., EFFIONG, C.E., AIMAKU, V.E. ve LUZZATTO, L., Erythrocyte Enzymes in Neonatal Jaundice, *Acta Haemat.*, 55, 10, (1976).
- 32 - LOOS, H., ROOS, D., WEENING, R. ve HOUWERJIZL, J., Familial Deficiency of Glutathione Reductase in Human Blood Cells, *Blood*, 48(1): 53, (1976).

- 33 - BONSIGNORE, A., FORNAINI, G., FANTONI, A., LEONCINI, G. ve SEGNI, P., Relationship between Age and Enzymatic Activities in Human Erythrocytes from Normal and Fava Bean-Sensitive Subjects, *J. Clin. Invest.*, 43(5): 834, (1964).
- 34 - PANIKER, N.V., SRIVASTAVA, S.K. ve BEUTLER, E., Glutathione Metabolism of the Red Cells, Effect of Glutathione Reductase Deficiency on the Stimulation of Hexose Monophosphate Shunt under Oxidative Stress, *Biochim. Biophys. Acta*, 215, 456, (1970).
- 35 - HARWEY, J.W. ve KANEKO, J.J., Mammalian Erythrocyte Glutathione Reductase, Kinetic Constants and Saturation with Cofactor. *Am. J. Vet. Res.*, 36(10): 1511, (1975).
- 36 - TATT, L.K., TAN, I.K. ve SEET, A.M., A New Colorimetric Method for the Determination of NADH/NADPH Dependent Glutathione Reductase in Erythrocytes and in Plasma, *Clin. Chim. Acta*, 58, 101, (1975).
- 37 - KUTSAL, A. ve MULUK, F.Z., Uygulamalı Temel İstatistik, Ankara, Hacettepe Üniv. Basımevi, 1972, s. 4.
- 38 - HOFFMAN, W.S., The Biochemistry of Clinical Medicine, 4. Bas., Chicago, Year Book Medical Publishers, Inc., 1973. s. 1-10, 61, 360-363.
- 39 - FIERECK, E.A., "Appendix", TIETZ, NW. (Derleyen), Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1976, s. 1206-1227.
- 40 - GANSO, C. ve WROBLEWSKI, F., Glutathione Reductase Activity in Blood and Body Fluids, *J. Clin. Invest.*, 37, 214, (1958).