

ERZURUM ve ÇEVRESİNDEKİ SAĞLAM ŞAHISLARDA ERİTROSİT GLUKOZ-6-FOSFAT DEHİDROGENAZ AKTİVİTESİ(x)

Dr. Ekin ÖNDER (xx)
Dr. Mustafa ÜNALDI (xxx)
Dr. Orhan DEĞER (xxxx)

ÖZET

Erzurum ve çevresinde yaşayan 64 erkek, 48 kadın toplam 122 erişkin sağlam şahsın eritrosit glukoz-6- fosfat dehidrogenaz (G6PD) enziminin aktivitesi tayiniyle bölgenin normal değerleri tesbit edildi.

Saflaştırılmış eritrosit paketinde hematokrit tayini ve eritrosit sayımı yapılarak ml eritrosit başına ve 10^{11} eritrosit başına aktivite belirlendi.

Genelde G6PD aktivitesi 1.238 ± 0.18 U/ml eritrosit bulundu. Bu değer kadınlar da 1.223 ± 0.192 U/ml eritrosit, erkeklerde 1.25 ± 0.172 U/ml eritrosit olduğu görüldü.

10^{11} eritrosit başına aktivite değerleri ise toplam vakalarla 12.356 ± 2.022 U olarak tesbit edildi. Bu değer kadınlarda 12.331 ± 2.172 U, erkeklerde 12.375 ± 1.968 U olarak bulundu.

Aktive değerleri üzerinde cinsiyetin etkisi istatistikçe önemli bulunmadı.

G İ R İ Ş

İnsanlarda hayati önemi olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi üzerinde çalışmalar günden güne artmaktadır. Bu güne kadar bu enzimin yüzden fazla varyantı tarif edilmiştir (34). Araştırmalar enzimin aktivitesi, yapısı, gen yapısı ile bunların hemolitik anemi ve kanser başta olmak üzere hastalıklarla ilişkileri üzerinde yoğunlaştırılmış bulunuyor (22).

(x) Bu çalışma Atatürk Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalında yapılmış olup VI. Türk Biyokimya Kongresi (Adana, 23-27 Ekim 1984) nde tebliğ edilmiştir.

(xx) Anadolu Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı, Y. Doç. Dr.

(xxx) Selçuk Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı, Doç. Dr.

(xxxx) Atatürk Üniv. Tıp Fk. Biyokimya Anabilim Dalı, Araş. Gör.

Pentoz fosfat metabolik yolunun ilk ve düzenleyici enzimi olan G6PD enzimi alt birimlerden yapılmış polimer bir moleküldür. Ortamın pH sına, iyonik kuvvete ve protein konsantrasyonuna bağı olarak aktif formda dimer, trimer, tetramer ve hegzamer şekli oluşabilmektedir. Yüksek pH ve yüksek iyonik kuvvet etkisinde en zim monomer şekline dönüşmekte ve aktivitesini kaybetmektedir (13,19,23,38,40,41,48).

Enzimin monomerlerinin molekül ağırlığı 43 bin ile 75 bin arasında değişiklik göstermektedir (10,15,41,42,47). Enzimin dimer, trimer ve tetramer şekilleri ise bunun katları olarak ortaya çıkmaktadır (15,41,42). Enzimin N ucunda tirozin ve alanin amino asitleri bulunmaktadır (9,15).

G6PD enziminin spesifik substratı G6P tır (15,40). Magnezyumun önemli derecede ak.ivatör etki ettiği (15,25,41,42,47) enzimin koenzimi $NADP^+$ dir. Enzim düşük aktivite ile NAD^+ yi de koenzim olarak kullanabilmektedir (41,48). G6PD aktivitesi birinci derecede $NADP^+/NADPH$ oranınca düzenlenir (7,24,26,29,36,49). Ayrıca besinler, hormonal denge ve enzimin genetik yapısı düzenleyici role sahiptirler (10,15,25,41,42).

G6PD enziminin özellikle pentoz fosfat yolunda, eritrosit biyokimyasında ve klinik biyokimyada önemli bir yeri vardır. Pentoz fosfat yolunda teşekkül eden $NADPH$, mitokondri dışında redüktif bir güç oluşturur. Sitoplazmada cereyan eden biyolojik sentezlerin çoğunda indirgeyici gücün kaynağı budur (7,15,22,41).

Türkiye'nin, özellikle Doğu Anadolu'nun normlarını tesbit eden çalışmalar çoğu zaman eksikliğini hissettirmektedir. Deniz seviyesinden oldukça yüksek, iklim şartları ve halkın beslenmesi farklı olan Doğu Anadolu, oldukça özel bir bölgedir. Dolayısıyla kendi normlarına ihtiyaç vardır. İşte bu amaçla Erzurum ve çevresinde yaşayan sağlam şahısların eritrosit G6PD enzim aktivitesinin normal değerlerini tesbit etmek istedik.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Erzurum'da ikamet eden 20-75 yaşları arasında 112 sağlıklı şahsın kan nümuneleri üzerinde yapılmıştır. Bu şahısların 64'ü erkek, 48'i kadındır.

Çalışmaya fiziksel ve laboratuvar bulguları yönünden tamamen normal, özellikle hemolitik hikayesi veya belirtisi olmayan şahıslar alınmıştır.

Hemoglobin, hematokrit tayinleri ve eritrosit sayımı için kan nümunelerinin 2 ml si okzalatlı şişelere kondu. Hiç bekletilmeden bu tayinler yapıldı (2). 4 ml kan nümunesi, içinde 1 ml ACD-A çözeltisi bulunan santrifüj tüplerine alındı (2,21). Bu tüplerde; a) eritrosit paketinin elde edilmesi (39), b) süspansiyon yapılması, c) süspansiyonda hematokrit tayini (5), eritrosit sayımı (17), d) su ile he-

molizat elde edilmesi ve protein tayini (28), e) Digitonin ile hemolizat elde edilmesi ve bundan G6PD aktivitesi (39) ile hemoglobin tayini (33) yapıldı. G6PD aktivitesi Schröter (39)'e göre tayin edildi.

B U L G U L A R

Kanda yapılan hemoglobin, hematokrit ve kan sayımı bulguları Tablo-I'de verilmiştir.

Tablo-I: Kan Bulguları

Cinsiyet	n	Hb % g	Ht %	Eritrosit 10 ⁶ /mm ³
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
E	64	16.61±2.000	49.83±5.184	5.44±0.736
K	48	14.17±1.628	42.92±5.376	4.32±0.097
TOPLAM	112	15.56±2.201	46.87±6.265	4.96±0.899

Eritrosit paketindeki eritrosit sayımı ve hematokrit değerleri Tablo-II'de verilmiştir.

Tablo-II: Eritrosit Paketinde Hematokrit ve Eritrosit Sayımları

Cinsiyet	n	Ht %	Eritrosit 10 ⁶ /mm ³
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
E	64	98.72±4.896	10.12±0.480
K	48	96.50±4.326	9.95±0.372
TOPLAM	112	97.90±4.698	10.04±0.444

Hemolizattaki protein ve hemoglobin değerleri Tablo-III'te verilmiştir.

Tablo-III: Eritrosit Proteinini ile Eritrosit ve Hemolizat Hemoglobini Değerleri

Cinsiyet	n	g protein/100 ml eritrosit	g Hb/ml hemolizat	g Hb/100 ml erit.
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
E	64	34.92±1.080	6.633±0.264	33.15±1.320
K	48	34.15±1.032	6.638±0.242	33.20±1.210
TOPLAM	112	34.59±1.122	6.635±0.254	33.20±1.270

Aynı şahıstan elde edilen numunelerin G6PD aktivitesini dört ayrı birimde tesbit ettik. Bundan sonraki araştırmalarda duruma göre bu birimlerden herhangibirinin tercih edilebileceğini düşünerek, birisi ile yetinmeyip ayrı ayrı hepsini vermeyi uygun bulduk. Dört ayrı birim ile elde edilen sonuçlar Tablo-IV'te verilmiştir.

Tablo-IV: Faktöre göre ml eritrosit başına aktivite, 10^{11} eritrosit başına aktivite, hematokrit değeri ile hesaplanan ml eritrosit başına aktivite ve g Hemoglobin başına aktivite bulguları

		Faktöre göre U/ml eritrosit	U/ 10^{11} eritrosit	Hematokrit değeri ile hesaplanan U/ml eritrosit	U/g Hb
Cinsiyet	n	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
E	64	1.250 ± 0.172	12.375 ± 1.968	1.252 ± 0.186	3.773 ± 0.444
K	48	1.223 ± 0.192	12.331 ± 1.112	1.243 ± 0.175	3.679 ± 0.579
Toplam	112	1.238 ± 0.180	12.356 ± 2.022	1.248 ± 0.162	3.733 ± 0.578

Bütün sonuçların cinsiyet yönünden istatistik analizleri yapılmış, fark önemli bulunamamıştır.

TARTIŞMA

NADPH + H^+ ve pentoz fosfatların üretimi yönünden oldukça önemli bir fonksiyonu olan G6PD, aktivitesinin bir çok hastalıkta değişiklik göstermesi ve genetik defektlerinin önemliliğinden dolayı çok sayıda araştırmalara konu olmuş bir enzimdir.

G6PD aktivitesini ölçme konusunda birçok metod geliştirilmiştir (27). G6PD aktivitesinin tayin edilmesi, bu aktivitede değişmeler gösteren hastalıkların teşhisine yardımcı olabileceği gibi, kalıtsal G6PD eksikliğinin ortaya çıkarılmasını da sağlar. Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinde G6PD nin kalıtsal eksikliği nispeti Say tarafından % 11.4 olarak bildirilmiştir (37).

Bu çalışma G6PD enziminin aktivitesini ölçmede hassas ve özgül bir metod kurmak ve bölgesel norm değerlerini elde edebilmek için yapılmıştır. Bu sayede patolojik bulguların isabetli değerlendirilmesine yardımcı olmak düşünülmüştür.

Bu çalışmada eritrosit içi G6PD aktivitesinin tayininde Schröter (39) metodu modifiye edilerek uygulandı. G6PD aktivitesini tayin eden bütün metodların prensibi aynıdır. Bu prensip G-6P nin oksidasyonu ile teşekkül eden NADPH'nın 340 nm de maksimum absorpsiyon göstermesi esasına dayanır. 340 nm de absorpsiyon artışı NADPH'nın teşekkül miktarına bağlı olduğu için, bu artışın hızı enzim aktivitesi ile orantılıdır (6). Yalnız, G6PD aktivitesinin rol aldığı pentoz fosfat yolunda 2 NADPH kaynağı vardır. Birisi G6PD, diğeri 6PGD (6-Fosfoglukonat dehidrogenaz) dir. Metodların farklılığı her ikisinin ayrılıp G6PD aktivitesinin değerlendirilmesinden kaynaklanmaktadır. Bütün bunlar şöyle sıralanabilir :

a) İkinci reaksiyondan oluşan NADPH ın ihmal edildiği metodlar (6): Bu metodlar yaklaşık % 25 yüksek sonuç verirler (22,42).

b) G6PD ve 6PGD aktivitelerini toptan ve müstakil olarak 6PGD aktivitesini tayin eden metodlar: Her ikisinin farkından G6PD aktivitesi bulunur (8,12,22, 27,42,48). Bu metodlar G6PD eksikliği vakalarında hatalı sonuç vermektedir ve her seferinde iki tayin yapıldığı için çalışma hızını yavaşlatmaktadır.

c) Reaksiyon ortamına fazla miktarda 6PGD enzimi ilave ederek her iki kademeden aynı hızda yürütülmesi ile 1 mol glukozu 2 mol NADPH oluşturulması prensibine dayanan (14,27,32) metodlar vardır. Fazla reaktif harcayan pahalı metodlardır. Tek basamaktan ibaret ve G6PD ye spesifik olması üstün bir tarafıdır.

d) 6PGD enzimini inhibe ederek G6PD aktivitesini tayin eden metodlar: Bunun için ya 2,3-difosfoglisarat (11,14) veya maleinimid (14,39) kullanılmaktadır. Biz geniş bir aralıkta etkili olan ve hata kaynağını küçülten maleinimidi kullanan Schröter (39) in metodunu seçtik. Ölçümde kullandığımız Beckman DU-2 Spektrofotometresi ile analiz için de bu metod uygundur, bir seferde üç analizi birden okuma imkanı vermektedir.

Schröter'in metodunda üç modifikasyon yaptık: 1) EDTA-trietanolamin-NaOH tamponu yerine araştırmacıların çoğunun tercih ettikleri (6,8,11,12,14,32 42,48,49) EDTA-tris tamponunu kullandık. 2) Reaktiflerden ekonomi sağlamak için deney total hacmini 1.5 ml den 1 ml ye küçültük. 3) NADP⁺ konsantrasyonunu 0.5 mM den araştırmacıların çoğunun kullandıkları (12,22,30,31 35, 41,42,49) 0.2 mM e indirmeyi uygun gördük. Bu konsantrasyon optimum aktiviteyi sağlamaktadır.

Araştırmacılar arasında aktivite birimi bakımından ihtilaf vardır. U/ml eritrit, U/10¹¹ eritrosit, U/10¹² eritrosit, U/g Hb., U/ml kan U/100 ml kan gibi birimler kullanılmaktadır. Bu birimler birtakım hesaplarla birbirine çevrilebilir de hata kaynakları artmış olur. En uygun birimin U/g Hb olduğu kanaati yaygındır (1,27). Böyle olmakla beraber bunun da hatası vardır. Çünkü aktivite, hemoglobinden çok eritrosit sayısına bağlıdır (1,27).

Bulunan Hb ve hematokrit değerleri literatürde verilen normal değerlerin üst sınırında bulunmaktadır (3,22). Bölgemizde daha önce yapılan bir çalışmada aynı değerler verilmiştir (44). Bunu deniz seviyesinden yükseklikle izah etmek mümkündür. Bu tayinleri vakalarımızın normal olup olmadığını kesinleştirmek için yaptık. Daha önce fizik muayene ile sağlam kabul edilen şahıslar laboratuvarca da doğrulanmış oldu. Erkeklerde Hb % 12 g, hematokrit % 39, kadınlarda Hb% 12 g, hematokrit % 36 den aşağı bulunduğunda çalışmadan çıkarıldı.

Eritrosit paketinin Hb ve sayım sonuçları Schröter'in bulguları ile paralel bulunmuştur (22,39). Eritrosit içi protein değerleri (20,46) ve Hb değerleri (3,20, 43,46) literatürle uygunluk içindedirler.

G6PD aktivitesine ait değişik birimlerdeki literatür değerleri ile bizim bulduğumuz değerler Tablo-V'de görülmektedir.

Tablo-V: Literatür ve Çalışmamızdaki Eritrosit G-6-PD Değerleri

Araştırmacı	Ülke ve		Vaka		Sıcaklık	U/g Hb	U/10 ¹¹ Erit.	U/10 ¹² Erit.	U/ml Erit.	U/ml Kan
	Cinsiyet	Yaş	Erişkin	Sayı						
Aksu (1)	Erzurum karış.	Erişkin	10	25 °C	4;76±1.16					
Barbert ve ark (4)	Karışık	Erişkin	10	25 °C	5.3±1					
Bauer (6)	Karışık	Erişkin	10	25 °C	4—7					
Hart ve ark. (16)	İtalyan Erkek	(2035)	9	25 °C	5.04					
Hartz ve ark (16)	Mısırlı erkek	(1 -12)	10	25 °C	6.67					
Hartz ve ark. (16)	Mısırlı kadın	(24-37)	6	25 °C	6.20					
Herz ve ark. (18)	Karışık	(0-1)	253	25 °C	11.2±2.3					
Herz ve ark. (18)	Karışık	Erişkin	60	25 °C	7.7±0.8					
Kachar (22)	Karışık	Erişkin		30 °C	3.4—8					
Kachar (22)	Mısırlı erkek	Erişkin		25 °C			235±60			
Kachar (22)	İtalyan erkek	Erişkin		25 °C			175±10			
Bishop (27)	Karışık	Erişkin		30 °C		19.6				
Dern (27)	Karışık	Erişkin		30 °C	6—6.3					
Lowe ve ark. (27)	Karışık	Erişkin		30 °C	4.25±10.8	19.2				1.11
Schröter (39)	Karışık	Erişkin		37 °C	10.7±1.6	30.6±4.5			3.06±0.45	
Turner ve ark (45)	Karışık	Erişkin		25 °C	3.20					
Bizim Çalışmamız	Erzurum Karışık	20<	112	37 °C	3.73±0.56	12.4±2.0	123.6±20.2	1.25±0.16	0.60	

Tabloda görüldüğü gibi, aktivite değerleri arasında farklılık vardır. B u farklılığın metod, deney ortamının sıcaklığı, yaş grubu ve bölgesel değişikliklerden kaynaklandığı düşüncesindeyiz. Schröter (39)'in bulguları oldukça yüksektir ve diğer bulgulara uygunluk göstermektedir. Elde ettiğimiz değerler daha çok literatürdeki düşük değerlere uygunluk göstermektedir. Kachar (22) ve Hartz ve ark. (16) Mısırlı erkeklerde İtalyanlardan daha yüksek aktivite bulmuşlardır. Bu bilgi, farklılığın bölgesel olabileceğini göstermektedir. Bizim bulgularımızın nispeten düşük bulunması muhtemelen Erzurum yöresinin bölgesel farklılıklarından ileri gelmiş olabilir. Bir ikinci ihtimal de, yöre özelliklerine bağladığımız Hb yüksekliği özellikle U/g Hb biriminde düşük aktivite bulgusuna sebep olabilir. Aynı bölgede çalışmış olan Aksu (1)'nin bulguları görünüşte yüksek gibiyse de, kullanılan metodun % 25 kadar fazla aktivite göstermesinden dolayı, hakiki değerleri bizim bulgularımızla aynı sayılır.

Bu çalışmada aktivite değerlerinin cinsler arasındaki farkı istatistikçe önemli bulunmamıştır. Bu da literatür verilerine uymaktadır (27). Ayrıca literatür değerlerinden çoğu cinsiyet ayırımı yapılmadan verilmiştir (1,4,16,22,39,45). Bu da araştırmacıların, cinsiyet farklılığı olmadığını kanaatinde olduklarını bildirmektedir.

THE ERYTHROCYTE GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN NORMAL SUBJECTS IN ERZURUM AND SURROUNDINGS

SUMMARY

Normal values of the enzyme erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase were established by measuring the activity in 112 adult normal subjects (64 men, 48 women) in Erzurum and surroundings.

Activities per ml of erythrocyte and per 10^{11} erythrocytes were determined by hematocrit and erythrocyte counts in purified erythrocytes.

In all cases, the mean activity was found to be 1.238 ± 0.18 U/ml of erythrocyte. This value was 1.223 ± 0.192 U/ml of erythrocytes in women and was 1.25 ± 0.172 U/ml of erythrocytes in men.

The mean activity per 10^{11} erythrocytes was established to be 12.356 ± 2.022 U in all cases. This value was 12.331 ± 2.172 in women and was 12.375 ± 1.968 U in men.

Effect of sex on the activity was found statistically no significance.

KAYNAKLAR

1. Aksu, A.T.: Muhtelif yaş gruplarındaki sağlam şahıslarda eritrosit glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi üzerine bir çalışma. Ata. Ü. Tıp Bülteni, 5 : 1, 1972
2. Aras, K., Erşen, G. Antikoagülanlar. Klinik Biyokimya Ankara, Ankara Ü. Basımevi, s. 125-126, 1975
3. Arthur, C., Guyton, M.D.: Alyuvarlar, anemi ve polisitemi. (Çeviren M. Bilge), Fizyoloji. Ankara, Güven Kitabevi Yay., s. 88-91, 1977.
4. Barbette, S.S., J.D. Versie, C. Lambotte: Modification of neonatal screening test for erythrocyte glucose-6-phosphatase deficiency. Clin. Chim. Acta, 71: 239, 1976.
5. Bauer, J.D., PG Ackermann and G Toro: Bray's Clinical Laboratory Methods. London, C.V. Mosby Co., p. 106, 1968.
6. Bauer, JD: Iron and trace metals. In Frankl, S, S Sonnwirth, AC Reitman, eds. Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Saint, Louis, C.V. Mosby Co., pp. 454-456, 1970.
7. Benziman M and A Mazover: Nicotinamide adenine dinucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-specific glucose-6- phosphate dehydrogenase of acetobacter xylinum and their role in the regulation of the pentose cycle, J. Biol. Chem. , 248: 1603, 1973.
8. Beutler, E.: A Manual of Biochemical Methods. New York, Grune Stratton, p. 62, 1971,
9. Bonsignore A, R Cancedda, A Nicolini, E Domiani and A De Flora: Metabolism of human erythrocyte glucose-6- phosphate dehydrogenase VI. Interconversion of multiple molecular forms. Arch. Biochem. Biophys, 147: 493, 1971.
10. Cantarow A and Schepartz B: Biochemistry. London, W.B. Saunders Co., p. 419, 1968.
11. Catalano, EM GF Johnson and HM Solomon: Measurement of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity with centrifugal analyzer. Clin Chem., 2: 134, 1975.
12. Cohen P and MA Rosemeyer: Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: purification of the enzyme and the influence of ions on its activity. Eur. J. Biochem., 8: 1, 1969.
13. Cohen P and MA Rosemeyer: Subunit interactions of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. Bur. J. Biochem., 8:8, 1969.

14. Deutsh J: Maleinimide as an inhibitor in measurement of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. Clin. Chem., 24: 885, 1978.
15. Gözükara EM: Glukoz-6-P dehidrogenaz enziminin özellikleri, metabolik ve klinik açıdan önemi. Biyokimya Dergisi, 2: 217, 1978.
16. Hartz J, Re Maghrabi, A Namen, M Gabr, J Bowman, P Carson, F Ajmar and K Kamel: Enzyme studies in glucose -6- phosphate dehydrogenase deficiency erythrocytes from egyptians, italians and american negroes. Clin. Chim. Acta, 48: 117, 1973.
17. Hepler OE and JP Simons: Manual of Clinical Laboratory. Illinois, Charles C. Thomas Publ., p. 35, 1977.
18. Herz F, E Kaplan and ES Scheye: Erythrocyts acetylcholin esterase and glucose-6- phosphate dehydrogenase in newborn infants of low birth weight. Clin. Chim. Acta, 48: 147, 1973.
19. Hızı A and G Yağıl: On the mechanism of glucose-6- phosphate dehydrogenase regulation in mouse liver. 2. Purification of the mouse-liver enzyme. Eur. J. Biochem., 45: 201, 1974.
20. Hoffman, WS: The Biochemistry of Clinical Medicine. Chicago, Year Book Medical Publ., p. 497, 1973.
21. İmren, A.H.: Klinik Tanıda Laboratuvar. İstanbul, Menteş Matbaası, s. 720, 1977.
22. Kachar FJ, WD Moss: Enzymes. In Tietz N, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. London, W.B. Saunders Co., pp. 565-575, 666-675, 1976.
23. Kanji MI, ML Toews and WR Carper: Glucose-6- phosphate dehydrogenase. Purification and partial characterization. J. Biol. Chem., 251:2255, 1976.
24. Kuby SA, TJ Wu and RN Roy: Glucose-6- phosphate dehydrogenase from Brewears' Yeast (Zwischenferment) further observations on the ligand-induced macromolecular association phenomenon. Arch. Biochem. Biophys., 165: 153, 1974.
25. Kuş MS: Normal, Senil Kataraktlı ve Diabetik Kataraktlı İnsan Lensi G-6-PDlarının Kısmen Saflaştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniv., 1979.
26. Lohr GW and HD Waller: Glucose-6-phosphate dehydrogenase. In Bergmeyer HU, ed. Methoden der Enzymatischen Analyse. Weinheim, Verlag Chemie, v. I, p. 673, 1974.
27. Lowe ML, AF Stella, BS Mosher and JB Gin: Microfluorometry of glucose-6- phosphate dehydrogenase and 6- phosphogluconat dehydrogenase in red cells. Clin. Chem., 18: 440, 1972.

28. Lowry OR, NU Rosenrough, AL Farr and RJ Randall: Protein measurements with the talin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
29. Luzato L: Regulation of the activity of G6PD bu NADP⁺ and NADPH. *Biochem. Biophys. Acta.* 146: 18, 1967.
30. Malcolm AA and MG Shepherd: Purification ond properties of penicillum phosphate dehydrogenase. *Epchem. J.*, 128: 817, 1972.
31. Nevaloine BH, ON Hyde and HR Levy: Mamary glucose-6- phosphahate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase activity with acentrifugal analyzer. *Clin. Chem.* , 20: 1349, 1974.
33. Oppenheim IA: Textbook for laboratory assistans, Saint Louis, C.V. Mosby Co., pp. 82-83, 1972.
34. Prchal JT, MW Crist, A Mallah, A Vitek, WN Tauwe and JA Carroli: A new glucose-6- phosphate dehydrogenase deficient variant in a patient with Chediak-Hiyashi syndam. *Blood*, 56: 476, 1980.
35. Rattazzi MC: Human G6PD: Isolation and purification from small amounts of blood. *Biochim. Biophys. Acta*, 181: 1, 1969.
36. Rozenszain LA and D Joseph: The isozyme patterns of glucose-6- phosphate dehydrogenase in blood cells, bone marrow and other human tissues. *Bioc-him. Biophys. Acta*, 364: 38, 1974.
37. Say B ve K Tayşı: Tıbbi Genetik Ankara, Hacettepe Üniv. Yay., s. 52-54, 1978.
38. Scaeffe F and RY Stainer: Glucose-6- PD of anabacna sp. kinetic and molecular properties. *Arch. Mikrobiol.*, 116: 9, 1978.
39. Schröter W: Erythrocyte enzymes. In Curtius HC and M Roth, eds. *Principles and Methods in Clincial Biochemistry*. New York, W de Gruyter, p. 1178, 1974.
40. Scott WA: Physical properties of glucose-6- phosphate dehydrogenase from *Neurospora Grassa*. *J. Biol. Chem.* , 246: 6353, 1971.
41. Soysal ST: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz Enziminin İnsan Eritrositlerinden Saflaştırılması ve Kinetik Özelliklerinin Araştırılması. Doçentlik Tezi, Atatürk Üniv., 1980.
42. Soysal ST: Glukoz-6-fosfat dehidrogenazın sığır eritrositlerinden Saflaştırılması ve Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Atatürk Üniv. Tıp Fak., 1978.
43. Titiz İ,S Oktay ve H Aktan: İç Hastalıkları. Ankara, Bilgi Basımevi, s. 517, 1970.

44. Tuncel S: Erzurum ve Çevresinde Sağlam Şahıslarda Serum Magnezyum, Demir, Çinko ve Bakır Değerleri ihtisas Tezi, Atatürk Üniv. Tıp. Fak., 1980.
45. Turner BM, RA Fisher and H Harris: The age related loss of activity of four enzymes in the human erythrocyte. Clin. Chim. Acta, 50: 85, 1974.
46. West ES, Todd WL, HS Mason and JT Bruggen: Textbook of Biochemistry. London, Macmillan Co., p. 554, 1966.
47. White A, P Hadler and EC Samith: Principles of Biochemistry. New Mac Graw-Hill Book Co., pp. 454-455, 1973.
48. Yoshida A: Glucose-6-phosphate dehydrogenase of human erythrocytes.I. Purification and characterization of normal (B⁺) enzyme. J. Biol. Chem. 241: 4966, 1966.
49. Yue RH, EA Noltmann and SA Kuby: Glucose-6- phosphate dehydrogenase from Brewers Yeast (Zwischenferment). II. Studies on the subuni structure structure and on the molecular association phenomenon induced by tryhosp-hopyridine nucleotide. J. Biol. Chem., 244: 1353, 1969.