المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٦، عدد إضافي ٣، ٢٠١٢ (٢١٩-٢٢٣)
وقائع المؤتمر العلمي السادس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

دور العمر في بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية في إناث الجاموس المحلي

خالد احمد السعيدي و فدوى خالد توفيق

فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة ٩٠ حيوان من اناث الجاموس المحلي الموجود في منطقة يارمجة والواقعة في جنوب مدينة الموصل وبواقع ثلاث مجاميع، ضمت المجموعة الاولى (٣٠) جاموسة بعمر(١-١,٥) سنة، المجموعة الثانية (٣٠) جاموسة بعمر (٥-٨) سنة والمجموعة الثالثة (٣٠) جاموسة بعمر (١٥-٢٠) سنة لدراسة تاثير التقدم بالعمر بالمعايير الفسلجية وبعض المعايير الكيموحيوية كمقاييس للكرب التأكسدي. أظهرت النتائج ان كل من كريات الدم الحمر، خضاب الدم، حجم الخلايا المرصوصة ازدادت معنويا في الاعمار المتوسطة بالمقارنة مع باقي مجاميع الدراسة وسجلت ادنى قيمة في مجموعة الاعمار الكبيرة بينما ازدادت الصفيحات الدموية ازدياد تدريجي معنوي بتقدم العمر. ولوحظ ازدياد عدد خلايا الدم البيض معنويا في مجموعة الاعمار المتوسطة بالمقارنة بين مجاميع الدراسة وانخفاضها معنويا في مجموعة الاعمار الكبيرة في حين ظهرت النسبة المئوية لخلايا العدلات والحمضات بأعلى قيمة معنوية في مجموعة الاعمار الكبيرة وادنى قيمة عند مجموعة الاعمار الصغيرة اما الخلايا اللمفية فقد انخفضت بشكل تدريجي معنوي بتقدم العمر بالمقارنة بين المجاميع الثلاث وظهرت الخلايا وحيدة النواة اعلى قيمة معنوية عند مجموعة الاعمار المتوسطة وادنى قيمة عند مجموعة الاعمار الكبيرة والصغيرة بالمقارنة بين مجاميع الدراسة ولم يكن هناك فرق معنوي في خلايا القعدات بين مجاميع الدراسة اما المعايير الكيموحيوية التي تم دراستها فشملت الكلوتاثايون الذي سجل اعلى قيمة معنوية عند مجموعة الاعمار المتوسطة وادنى قيمة عند مجموعة الاعمار الكبيرة بالمقارنة بين مجاميع الدراسة، والمالونداياالديهايد الذي ازداد ازدياد تدريجي معنوي بتقدم العمر وهذا يعزى الى زيادة في الكرب التأكسدي والجذور الحرة التي ترافق التقدم بالعمر يصاحبها قلة في مضادات الاكسدة التي تعتبر خط دفاعي للجسم ضد الجذور الحرة. وقد استنتج من هذه الدراسة ان تقدم العمر اثر بشكل سلبي على مكونات الدم تمثلت بانخفاض كل من كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض كما انخفض الكلوتاثايون وارتفع المالونداياالديهايد كمؤشر للكرب التأكسدي مما يؤكد فرضية الجذور الحرة والكرب التأكسدي ودورهما في تقدم العمر في اناث الجاموس المحلي.

Role of age with some physiological and biochemical parameters in local female buffaloes

Kh.Ah. Al-Saedy and F.Kh. Tawfeek

Department of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Iraq

Abstract

The study included 90 buffalo from Yarimjah in the southern of Mosul city, divided in to three groups, the first group (30) buffalo (1-1.5 years), second group (30) buffalo (5-8) years and the third group (30) buffalo (15-20) years to study the effect of the age progress on some physiological and biochemical parameters as indicator of oxidative stress. The results showed that all of the red blood cells, hemoglobin, packed cell volume increased significantly in the middle ages compared with other groups of the study and the lowest value in the older age group, while platelets increased gradually and significantly with age increase. In addition, white blood cells increases significantly in the middle-aged compared with the study groups, and significantly decreased in older age group while the percentage of eosinophils and neutrophils showed the highest significant value in the older age groups and the lowest value at the small ages , lymphocytes showed a gradual significant decline with increasing age compare with other study groups. monocytes appeared in the highest significant value in the middle ages and the lowest value in the older and small ages groups, there was no significant difference in basophils between the studied groups. On the other hand glutathione appeared with the highest significant value in the middle ages and the lowest value in the older ages, while malondialdehyde increased significantly with gradual age progress, this is due to an increase in free radical production and

oxidative stress that accompany aging process due to antioxidants exhaustion, which is a line of defense for the body against free radicals. It was concluded from this study that with age-progress have bad effects on blood constitutes revealed by reduced in red blood cells, white blood cells counts accompanied with decrease in glutathione levels and increase malondialdehyde and which are indicators of oxidative stress and this confirms and support the hypothesis of free radicals and oxidative stress and their roles in aging.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

الشيخوخة Aging عبارة عن عمليات معقدة جدا تحدث تغيرات فسلجية في الاعضاء ومن ثم تقود الى موت تلك الاعضاء. يرافق عمليات الشيخوخة او التقدم بالعمر تجمع مستمر للطفرات التي تحدث في الـDNA، فقدان في وظيفة البروتينات وتغيير في النظام العام لمضادات الاكسدة حيث تتأثر عدد من الانزيمات من جراء التقدم بالعمر، كل هذه سوية تجعل العضو الهرم اكثر عرضة للأمراض وخصوصا الامراض التنكسية (١).

وضعت عدة نظريات لتفسير الشيخوخة منها:١- التحطم الجيني العشوائي Random genetic damage (٣،٢)، ٢- نظرية التسكر The glycation theory (٤،٢)، ٣- العمليات التطورية المرتبطة بالجهاز المناعي والعصبي الصماوي Developmental processess involving the immune and neuroendocrine system (٥)، ٤- نظرية التقدم بالعمر المبرمجة جينياً The genetically programmed theory of aging (٢)، ٥- نظرية التحطم بالجذور الحرة Free radical damage theory (٦).

وتفترض نظرية التحطم بالجذور الحرة بتفاعل الجذور الحرة مع الجزيئات الحيوية مثل البروتينات والاغشية الدهنية والمسؤولة عن التلف التدريجي الوظيفي المتعلق بالشيخوخة (٦). وبسبب استخدام ذرة الاوكسجين المستقرة من قبل المايتوكوندريا لإنتاج الطاقة فان توالد ونضوح الالكترونات من المايتوكندريا يكون حتمي لابد منه وكذلك عندما يختزل الأوكسجين جزئيا فان الجذور الحرة سوف تتولد ومن ثم تهاجم مكونات الخلية وتكون هذه الجذور اصناف سامة طويلة العمر وبدورها يمكن ان تهاجر الى مواقع بعيدة عن اماكن انتاجها. تكوّن هذه الأصناف السامة والجذور الحرة مجموعة تسمى اصناف الأوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) وأصناف النايتروجين الفعالة Reactive nitrogen species (RNS) التي تمتلك القابلية على تحوير البروتينات، الدهون، الأحماض النووية لتسرع وتطور المظاهر المتعلقة بالشيخوخة.

تهدف الدراسة الحالية الى معرفة المعايير الدموية الفسلجية الطبيعية المرتبطة بالعمر في اناث الجاموس المحلي، ومعرفة مستويات الكلوتاثايون والمالونداياليديهايد الطبيعية وبأعمار مختلفة في اناث الجاموس المحلي، وتوضيح وفهم التأثيرات العمرية على القيم المختبرية لبعض علامات الكرب التأكسدي لاختبار نظرية التحطم بالجذور الحرة كأحد أسباب التقدم البايولوجي بالعمر.

المواد وطرائق العمل

في هذه الدراسة تم جمع عينات الدم من (٩٠) من اناث الجاموس الموجود في منطقة يارمجة والواقعة في جنوب مدينة الموصل وبواقع ثلاث مجاميع، ضمت المجموعة الاولى (٣٠) جاموسة بعمر (١-١,٥) سنة، ضمت المجموعة الثانية (٣٠) جاموسة بعمر (٥-٨) سنة وضمت المجموعة الثالثة (٣٠) جاموسة بعمر (١٥-٢٠).

تم سحب الدم من الوريد الودجي Jugular vein بالنسبة للأعمار الصغيرة والمتوسطة اما مجموعة الاعمار الكبيرة فتم سحب الدم من الوريد الحليبي Milk vein باستخدام سرنجات معقمة (٢٠) مل حيث عقمت المنطقة جيدا قبل سحب الدم ومن ثم قسّم الدم الى قسمين القسم الاول تم وضعه بأنابيب اختبار حاوية على مانع تخثر EDTA لقياس المعايير الدموية والقسم الاخر وضع في انابيب اختبار لا تحتوي على مانع تخثر لفصل المصل ومن ثم إجراء الفحوصات الكيموحيوية.

اجريت الفحوصات الدموية المتضمنة (عدد كريات الدم الحمر وحجم الخلايا المرصوصة وخضاب الدم والعدد الكلي لخلايا الدم البيض) فقد استخدم جهاز استخدام Vet. Hematology coulter والمجهز من Abacus Jounior, Italy اما بالنسبة للعد التفريقي لخلايا الدم البيض فقد تم عمل مسحات دموية وصبغت بصبغة كيمزا وتم حساب النسبة المئوية لخلايا الدم البيض بطريقة الشرفة المدرجة (٧) اما المعايير الكيموحيوية فتم تقدير كل من الكلوتاثايون باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين (٨) والمالونداياليديهايد (٩) كمقاييس للكرب التأكسدي. واجريت الاختبارات في مختبري الفسلجة والمختبر المركزي في كلية الطب البيطري/جامعة الموصل.

استخدم نظام البرنامج الاحصائيSPSS لتحليل نتائج الدراسة حيث تم تقدير المعدل ± الخطأ القياسي وحللت البيانات باستخدام اختبارOne Way Analysis of Variance (ANOVA) وحددت الاختلافات بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود (Duncan multiple, range test) (١٠) وكان الاختلاف المعنوي لجميع الاختبارات عند مستوى احتمالية $P < 0.05$.

النتائج

اظهرت نتائج هذه الدراسة ان هناك فرق معنوي (P<0.05) في المعايير الدموية الفسلجية (عدد كريات الدم الحمر، خضاب الدم، حجم الخلايا المرصوصة) في الجاموس المحلي وبحسب مجاميع الدراسة حيث سجلت اعلى قيم في مجموعة الاعمار المتوسطة تلتها مجموعة الاعمار الصغيرة وظهرت ادنى قيم في مجموعة الاعمار الكبيرة. ومما لوحظ ايضا ارتفاع معنوي في عدد الصفيحات الدموية في مجموعة الاعمار الكبيرة مقارنة بمجموعة الاعمار المتوسطة ومجموعة الاعمار الصغيرة حيث ظهرت ادنى قيمة لها في مجموعة الاعمار الصغيرة وكما موضح في جدول (١).

كما اشارت نتائج الدراسة جدول (٢) فروقات معنوية (P<0.05) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض بين المجاميع الثلاثة حيث ظهر ارتفاع معنوي في عدد خلايا الدم البيض في مجموعة الاعمار المتوسطة مقارنة مع مجموعتي الاعمار الصغيرة والاعمار الكبيرة والتي اظهرت ادنى قيمة. كما لوحظ في هذه الدراسة ارتفاعا معنويا في النسبة المئوية للعدلات والحمضات كلما ازداد التقدم بالعمر وحسب مجاميع الدراسة وعلى العكس من ذلك، فقد لوحظ انخفاضا معنويا (P<0.05) في عدد الخلايا اللمفية مع تقدم العمر وسجل في هذه الدراسة ارتفاعا معنويا في النسبة المئوية للخلايا وحيدة النواة في مجموعة الاعمار المتوسطة مقارنة بمجموعتي الاعمار الصغيرة والكبيرة والتي لم يظهر فرق معنوي (P>0.05) فيما بينها. ولم تظهر فروقا معنوية (P>0.05) في النسبة المئوية للخلايا القعدة بين مجاميع الدراسة.

اما المعايير الكيموحيوية فقد ظهر المستوى الاعلى للكلوتاثايون وبفرق معنوي (P<0.05) في مجموعة الاعمار المتوسطة مقارنة مع مجموعة الاعمار الصغيرة والتي أظهر فيها مستوى الكلوتاثايون زيادة معنوية مقارنة مع مجموعة الاعمار الكبيرة والتي اظهرت اقل مستوى للكلوتاثايون اما فيما يخص مستوى المالونداياالديهايد فلوحظ زيادة معنوية بين المجاميع كلما تقدم العمر حيث لوحظ اقل مستوى في الاعمار الصغيرة تلتها الاعمار المتوسطة وظهر اعلى مستوى له في مجموعة الاعمار الكبيرة وكما موضح في الجدول (٣).

جدول (١) تاثير العمر بالعدد الكلي لكريات الدم الحمر وخضاب الدم وحجم الخلايا المرصوصة وعدد الصفيحات الدموية.

المعايير	الاعمار الصغيرة (١-١,٥ سنة)	الاعمار المتوسطة (٥- ٨ سنة)	الاعمار الكبيرة (١٥- ٢٠ سنة)
العدد الكلي لكريات الدم الحمر(× 10^6 / مايكروليتر)	b ٠,٦٧٦ ± ٨,٨٢	a ٠,٨٢٣ ± ٩,٤١	c ٠,٧٧٦ ± ٧,٨٣
تركيز خضاب الدم(غرام / 100 مليليتر)	b٠,٢١٢ ± ١٢,٧	a ٠,٧٩٨ ± ١٤,٥	c ٠,٢٢١ ± ١٠,٨
حجم الخلايا المرصوصة (%)	b ٠,٩٦٤ ± ٣٧	a ١,١٢١ ± ٤٢	c ٠,٨٢٣ ± ٣٢
عدد الصفيحات الدموية(× 10^3/ مايكروليتر	c ١٤,٥٦٣ ± ٢٥٨	b ٢٢,٨٣٢ ± ٣٩٨	a ٣٢,٧٦٥ ± ٥٣٥

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي، الاحرف المختلفة في الصف الواحد تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05)، عدد الحيوانات في كل مجموعة (٣٠) حيوان.

جدول (٢) تاثير العمر بالعدد الكلي لخلايا الدم البيض والعد التفريقي لخلايا الدم البيض.

المعايير	الاعمار الصغيرة (١-١,٥ سنة)	الاعمار المتوسطة (٥- ٨ سنة)	الاعمار الكبيرة (١٥- ٢٠ سنة)
العدد الكلي لخلايا الدم البيض (× 10^3 مايكروليتر)	b ٣.٢٣٢ ± ٩.٨٥	a ٥.٨٨٧ ± ١٠.٧٢	c ٤.٢١٢ ± ٨.٣١
العدلات (%)	c ٦.٦٢٣ ± ٣٨.٦٥	b ٧.٤١٢ ± ٤٣.٩٨	a ٨.٤٨٧ ± ٤٨.٣٣
الحمضات (%)	c١.٣٣٢ ± ٤.٩٦	b ١.٦٧٦ ± ٥.٨٦	a ١.٥٣٢ ± ٦.٧٩
الخلايا اللمفية(%)	a ٧.٨٢٣ ± ٤٩.٨٢	b ٦.٣٧٣ ± ٤٥.٧٣	c ٥.٧٦٥ ± ٣٨.٧٦
حيدة النواة (%)	b ١.٧٦٢ ± ٢.٨٥	a ١.٢٢٨ ± ٣.٨٢	b١.٣٢٦ ± ٢.٧٢
القعدات (%)	a٠.٠١٢ ± ١.٢١	a ٠.٠١٤ ± ١.٦٢	a٠.٠٠٦ ± ٠.٩١

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي، الاحرف المختلفة في الصف الواحد تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05)، عدد الحيوانات في كل مجموعة (٣٠) حيوان.

جدول (٣) تاثير العمر بمستوى الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد.

المعايير	الاعمار الصغيرة (١-١,٥ سنة)	الاعمار المتوسطة (٥- ٨ سنة)	الاعمار الكبيرة (١٥- ٢٠ سنة)
الكلوتاثايون (ملي مول/لتر)	b ٠,١٣٢ ± ١,٦٢	a ٠,١٨٥ ± ٣,٢٣	c ٠,٠٦٩ ± ٠,٩١
المالونداياالديهايد (مايكرو مول/لتر)	c ٣,٦٣٢ ± ٢٧,٣١	b ٣,٥٢٨ ± ٨٢,٩٢	a ٦,٩٠١ ± ١٢٧,٣٢

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي، الاحرف المختلفة في الصف الواحد تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P<0.05$)، عدد الحيوانات في كل مجموعة (٣٠) حيوان.

المناقشة

تبين من نتائج الدراسة ان التقدم بالعمر ادى الى انخفاض العدد الكلي لكريات الدم الحمر فقد وجد بانه ينخفض مع التقدم بالعمر وقد اتفقت هذه النتائج مع الباحثان (١١) اللذان فسرا هذا بان تقدم العمر يؤدي الى حدوث انخفاض في معدل الترشيح الكبيبي مما يؤدي الى حدوث امراض مزمنة في الجهاز البولي وبالتالي خلل في انتاج هرمون ال erythropoietin باعتباره المسؤول عن تكوين كريات الدم الحمر ومن ثم قلة عدد كريات الدم الحمر.

من ناحية اخرى ظهر لتقدم العمر تأثير على عدد كريات الدم البيض ذات الدور الرئيسي في المناعة حيث لوحظ بتقدم العمر وجود انخفاض في عدد تلك الخلايا وقد اتفقت هذه النتائج مع نتائج (١٣،١٢) والذين بينوا بان الخلل الوظيفي والاضطرابات التي تحدث للجهاز المناعي مع تقدم العمر يعود سببها الى طول فترة استخدام الادوية واللقاحات خلال مراحل العمر والتي تحدث تأثيرات عكسية على الجسم مما يؤدي الى انخفاض قدرة الجهاز المناعي وقلة عدد خلايا الدم البيض. اما (١٥،١٤) فقد فسروا انخفاض العدد الكلي لخلايا الدم البيض مع تقدم العمر على اساس ان الاغشية الخلوية تتكون بطبيعتها من الدهون المفسفرة، الاحماض الدهنية والكوليسترول وهذه المكونات تكون بتماس مباشر مع الجذور الحرة وبتقدم العمر سوف تزداد تلك الجذور مما يؤدي الى تغيير في تركيب ونوعية مكونات الاغشية الخلوية ومن ثم تؤدي الى موت الخلايا وانخفاض عددها.

كما تبين من نتائج الدراسة ان التقدم بالعمر ادى الى انخفاض في مستوى الكلوتاثايون في المصل وقد اتفقت هذه الدراسة مع نتائج الباحث (١٦) من انخفاض مستوى الكلوتاثايون بتقدم العمر بسبب قلة تصنيعه في الخلايا الناتج من قلة في الاحماض الامينية المتكونة في الجسم. كما اتفقت نتائج الدراسة مع كل من (١٨،١٧) من ان التقدم بالعمر يؤدي الى زيادة استهلاك الكلوتاثايون باعتباره مضاد اكسدة يعمل على ازالة السمية من الخلايا وهذه السمية تزداد بتقدم العمر بسبب زيادة بيروكسدة الدهون مما يؤدي الى استهلاك الكلوتاثايون. اما الباحثان (١٩) فقد لاحظا بان التقدم بالعمر ادى الى قلة الكلوتاثايون في الانسجة العصبية بسبب زيادة الاذى الحاصل فيها من قبل اصناف الأوكسجين الفعالة. كما اتفقت النتائج مع كل من (٢١،٢٠) من ان التقدم بالعمر ادى الى زيادة مستوى بيروكسيد الهيدروجين في المايتوكوندريا وبالتالي قلة في مستوى الكلوتاثايون. فضلا عن ذلك لوحظ زيادة مستوى المالونداياالديهايد بتقدم العمر وهذا اتفق مع نتائج الباحثين (٢٣،٢٢) من ان التقدم بالعمر احدث انحدار في مستوى الوظائف الفسلجية ومن ثم الى زيادة مفرطة في انتاج الجذور الحرة التي بدورها تغلبت على مضادات الاكسدة وسببت زيادة في انتاج المالونداياالديهايد (الديهايد ثلاثي الكاربون ذو وزن جزيئي منخفض). كما اتفقت النتائج مع نتائج كل من (٢٥،٢٤) بان المالونداياالديهايد يزداد بسبب هجوم الجذور الحرة على الاحماض الدهنية غير المشبعة للأغشية الحية مما يؤدي الى زيادة بيروكسدة الدهون وتزداد شدة الهجمات مع زيادة الكرب التأكسدي وتقدم العمر ويبدوا انه بتقدم العمر في حيوانات التجربة (الجاموس) ازداد الكرب التأكسدي بسبب زيادة انتاج الجذور الحرة لأسباب مختلفة ومنها استمرار التعرض للعوامل البيئية والملوثات وقد لوحظ هذا واضحا من خلال انخفاض مستوى الكلوتاثايون وزيادة مستوى المالونداياالديهايد.

شكر وتقدير

يتقدم الباحثون بالشكر والتقدير الى عمادة كلية الطب البيطري وفرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية لمساهمتهم الفاعلة في انجاز هذا البحث.

المصادر

1. Ozben T. Oxidative stress and antioxidants in aging. In:OzbenT,ChevionM, editors. Frontiers in neurodegenerative disorder and aging: fundamental aspects, clinical perspectivesand new insights. Amsterdam: IOS press. 2004, p 99–115.
2. knight JA. Laboratory medicine and the aging process. Chicago,IL: American society of clinical pathologists. 1996.
3. Strehler BL.. A critique of theories of biological aging. In: dietz AA,ed. Aging: Its chemistry. Washington, D.C,:American Association of clinical chemistry.1980, 25-45.
4. Resnick NM.. Part 1: Introduction to clinical medicine. Chpter 9. Geriatric Medicine. (1998). Harrisons on-line available at: www.harrisonsonline.com. NewYork:mc graw-hill
5. liew CC. biochemical aspects of aging. In: gornall AG,ed. Applied biochemistry of clinical disorders,2nd ed Philadelphia:Lippincott-raven.1986,:558-565.

metabolism in rat cerebral cortex, as related to oxidative and energy parameters. Mech. Ageing Dev. 1993,70: 65-82.

18. Sastre, J., Rodriguez, J. V., Pallardo, F. V., Gaseo, E., Asensi, M,. Ferrer, J. V., Miquel, J. & Vina, J. Effect of aging on metabolic zonation in rat liver: acinar distribution of CSH metabolism. Mech. Ageing Develop. 1992,62: 181-190.
19. Liu R, Choi J. Age-associated decline in glutamylcysteine synthetase gene expression in rats. Free Rad Biol Med. 2000,28:566–574.
20. Sohal, R. S., Arnold, L. and Orr, W. C. Effect of age on superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides, TBA-reactive material,GSH/GSSG,NADPH/NADP+ and NADH/NAD+ in Drosophila melanogaster. Mech. Ageing Dev. 1990,56, 223–235.
21. Sohal, R. S., Agarwal, A., Agarwal, S. and Orr, W. C. Simultaneous overexpression of copper- and zinc-containing superoxide dismutase and catalase retards age-related oxidative damage and increases metabolic potential in Drosophila melanogaster. J. Biol. Chem. 1995, 270, 15671–15674.
22. Thavanati PKR, Kanala KR, Dios AE, Garza JMC. Age-related correlation between antioxidant enzymes and DNA damage With smoking and body mass index. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2008, 63:360-364.
23. Afanas'ev IB. Free radical mechanism of aging processes under physiological conditions. Biogerontology. 2005, 6(4):283-90..
24. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Barclay LR, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. Biochim Biophys Acta. 1987, 924(3):408–419.
25. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. Am J Physiol Cell Physiol. 2008, 295(4) :C 849 – C 868.

6. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemsitry. J Gerontol. 1956,11:298– 300.
7. Coles, E. H. Veterinary clinical pathology. 4th ed., W. B. Saunders Co, Philadelphia, London, Toronto. 1986.
8. Burtis, C. A. and Ashwood, E. R. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed., W. B. Saunders Co., USA. 1999.
9. Beuge, J. A. and Aust, S. D. Estimation of serum malondialdehyde level. Methods in Enzymology. Academic Press, London.1978, 51: 302.
10. Brunning J.L., Kintz B.L. Computational Handbook of Statistics. 2nded. Scott Foresman and Co., Glenveiw, Illionosis, 1977. U.S.A., P: 75- 80, 102-138.
11. Tong EM, Nissenson AR. Erythropoietin and anemia. Semin Nephrol. 2001, 21:190-203.
12. Targonski PV, Jacobson RM, Poland GA.Immunosenescence: role and measurement in influenza vaccine response among the elderly.Vaccine. 2007, 25: 3066–3069.
13. Mysliwska J, Trzonkowski P, Szmit E, Brydak LB, Machala M, Mysliwski A. Immunomodulating effect of influenza vaccination in the elderly differing in health status. Exp Gerontol. 2004, 39: 1447–1458.
14. Hulbert AJ. On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. J Theor Biol. 2005, 234: 277–288.
15. Stulnig TM, Zeyda M. Immunomodulation by polyunsaturated fatty acids: impact on T-cell signaling. Lipids. 2004, 39: 1171–1175.
16. Ooktens, M., Lyon, I. & Kaplowitz, N. Effect of age on the sinusoidal release of hepatic glutathione from the perfused rat liver. Biochem. Pharmacol.1987,36: 4015-4017.
17. lantomasi, T., Favilli, F., Marraccini, P., Stio, M., TrÃªves, C., Quatrone, A., Capaccioli, S. & Vincenzini, M. T. Age and GSH