

## КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

УДК 577.121; 611-018.5

© Коллектив авторов

### АНТИОКСИДАНТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ СТАРЕНИИ И ДЕМЕНЦИИ

*Е.А. Косенко<sup>1,2</sup>, Л.А. Тихонова<sup>1,2</sup>, А.С. Погосян<sup>3</sup>, Ю.Г. Каминский<sup>1\*</sup>*

<sup>1</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
142290 Пущино, Институтская ул., 3; тел.: +7(496) 773-52-46;  
факс: +7(496) 733-05-53; эл. почта: kaminsky@iteb.ru

<sup>2</sup>Пущинский государственный университет, 142290 Пущино, Проспект Науки, 3

<sup>3</sup>Больница Пущинского научного центра РАН, 142290 Пущино,  
Институтская ул., 1

В патогенезе болезни Альцгеймера (БА) первостепенная роль придаётся возрасту пациента и окислительному стрессу в клетках мозга. Эритроциты рассматриваются как пассивные “клетки-информаторы” и изучены недостаточно. Целью данной работы было выяснить, изменяется ли антиоксидантное состояние эритроцитов при старении и БА. Кровь брали у пациентов с БА и деменцией неальцгеймеровского типа (НА), пожилых здоровых лиц такого же возраста (ПК) и молодых добровольцев (МК). Антиоксидантное состояние эритроцитов оценивали у каждого индивида путём измерения концентраций пероксида водорода ( $H_2O_2$ ), органических гидропероксидов, глутатиона (GSH) и глутатиондисульфида (GSSG), активности супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГЛП), каталазы, глутатионредуктазы (ГЛР), глутатионтрансферазы (ГЛТ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ). Показано, что при старении и деменции усиливается окислительный стресс в эритроцитах, что проявляется в повышении концентраций  $H_2O_2$  и органических гидропероксидов, снижении отношения GSH/GSSG и активности ГЛТ. Сниженная активность ГЛП в эритроцитах может служить новым маркером БА, а изменения других показателей окислительного стресса отражают возрастные нарушения.

**Ключевые слова:** болезнь Альцгеймера, старение, эритроциты, окислительный стресс, антиоксиданты.

---

\* - адресат для переписки

**ВВЕДЕНИЕ.** Болезнь Альцгеймера (БА) наиболее распространена среди людей пожилого возраста. Это нейродегенеративное заболевание прогрессирует очень медленно и клинически проявляется в постепенной потере памяти и умственных способностей. Патогенез болезни не определен, диагностика основана на субъективных и вероятностных признаках, способов лечения не существует. Посмертная диагностика БА базируется на скоплении сенильных бляшек в мозге, главными токсичными компонентами которых признаны амилоидные  $\beta$ -пептиды (А $\beta$ ). В соответствии с амилоидной гипотезой, накопление А $\beta$  в мозге инициирует каскад реакций, который приводит к сложной патологии и клиническим проявлениям болезни [1]. Нерастворимые комплексы фибриллярных А $\beta$  и их растворимые олигомеры стимулируют продукцию активных кислород-содержащих метаболитов (АКМ), указывая на связь между накоплением А $\beta$ , окислительным стрессом и гибелью клеток мозга [2].

Многолетние исследования показали, что при старении аномалии в окислительных процессах наблюдаются как в мозге [3], так и в других тканях и клетках [4]. При БА поражаются тоже не только центральная нервная система, но и периферические ткани [5], в том числе эритроциты [6, 7].

В патогенезе БА первостепенная роль придается возрасту пациента и окислительному стрессу в клетках мозга. Эритроциты рассматриваются как пассивные “клетки-информаторы”, отображающие происходящие в организме биохимические процессы [8]. Однако эритроциты людей пожилого возраста почти не изучены, недостаточно сведений об окислительном стрессе в эритроцитах пациентов с БА, а имеющиеся данные чрезвычайно противоречивы. До сих пор не известны концентрации  $H_2O_2$  и органических гидропероксидов в эритроцитах и их изменения с возрастом индивидов и при БА, немногочисленны и неоднозначны результаты измерения внутриклеточных концентраций GSH и GSSG.

Недавно мы обнаружили, что вызываемый А $\beta$  лизис интактных эритроцитов человека *in vitro* усиливается под действием ингибитора ГЛП, одного из ферментов-антиоксидантов. Это позволяет предполагать, что эритротоксичность А $\beta$  как *in vitro*, так и *in vivo* зависит от состояния антиокислительной защиты клетки [9].

БА принадлежит к целому классу нейродегенеративных болезней, сопровождающихся деменцией. Когнитивные нарушения у пациентов с БА отличают их от больных, страдающих другими разновидностями деменции [10]. БА является также болезнью старения: в 100% случаев возраст больного представляется главным фактором БА [11]. Поэтому мы выполнили сравнительное исследование биохимических свойств антиоксидантной системы в эритроцитах пациентов с БА и НА, контрольных пожилых (группа ПК) и молодых (группа МК) лиц.

Целью данной работы было выяснить, изменяется ли антиоксидантное состояние эритроцитов при старении и БА. Концентрации  $H_2O_2$ , органических гидропероксидов, GSH и GSSG, активность СОД (КФ 1.15.1.1), ГЛП (КФ 1.11.1.9), каталазы (КФ 1.11.1.6), ГЛР (КФ 1.8.1.7), ГЛТ (КФ 2.5.1.18) и Г6ФДГ (КФ 1.1.1.49) определяли в эритроцитах каждого индивида.

**МЕТОДИКА.** Исследование выполнялось совместно в больнице Пущинского научного центра РАН и в Лаборатории метаболического моделирования и биоинформатики Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН.

В исследовании принимали участие 59 мужчин и женщин 25–88 лет, изъявивших своё (или ближайших родственников) согласие в письменной форме. Включение пациентов в исследование базировалось на стабильности индекса массы тела и данных клинического анализа крови. По разным причинам позже были исключены из исследования шестеро ранее привлечённых пациента. Диагноз вероятной БА основывался на критериях Консорциума по разработке диагностических критериев БА [12, 13] и верифицирован Бюро медико-социальной экспертизы в психоневрологическом диспансере г. Серпухова. Здоровые добровольцы двух возрастных контрольных групп отобраны по отсутствию истории хронических болезней, неврологических или психиатрических нарушений или терапии.

Из 53 больных и контрольных лиц были сформированы 4 группы: группа БА – 12 пациентов (7 женщин и 5 мужчин; возраст 66–88 лет, в среднем  $75 \pm 2,6$  года); группа НА – 13 пациентов (9 женщин и 4 мужчины; возраст 66–82 года, в среднем  $76 \pm 2$  года); контрольная группа ПК – 14 человек (10 женщин и 4 мужчины; возраст 66–81 год, в среднем  $77 \pm 3$  года); контрольная группа МК – 14 человек (10 женщин и 4 мужчины; возраст 25–45 лет, в среднем  $33,3 \pm 3,3$  года).

Венозную кровь брали натощак в 8:00–9:00. Лабораторный анализ крови выполняли немедленно (в первые 30 мин) в клиническом центре, а выделение и биохимический анализ эритроцитов – в исследовательском институте и тоже в первые 30 мин.

Антиоксидантное состояние эритроцитов оценивали у каждого из обследуемых лиц путем измерения активности СОД, ГЛП, каталазы, ГЛР, ГЛТ и Г6ФДГ, концентраций GSSG, GSH,  $H_2O_2$  и органических гидропероксидов.

Выделение эритроцитов, приготовление гемолизатов и определение активности СОД, ГЛП, каталазы и ГЛР выполняли методами, описанными ранее [14, 15]. Активность Г6ФДГ определяли спектрофотометрически [16]. Активность ГЛТ измеряли при 340 нм с 1-хлор-2,4-динитробензолом в качестве субстрата, как описано Kozeg с сотр. [17]. За единицу активности фермента принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль комплекса GSH/1-хлор-2,4-динитробензол за 1 мин на 1 мл гемолизата.

Для определения внутриклеточных концентраций метаболитов готовили кислые экстракты эритроцитов. 0,2 мл клеток смешивали с 1 мл холодной ( $-20^\circ\text{C}$ ) смеси 6%  $HClO_4$ /40%  $C_2H_5OH$  и центрифугировали при 10000 g и  $-10^\circ\text{C}$  в течение 1 мин. Супернатант нейтрализовали 30%-ным KOH ( $-20^\circ\text{C}$ ). Осадок удаляли центрифугированием, а прозрачный супернатант использовали для определения концентраций метаболитов.

$H_2O_2$  и органические гидропероксиды определяли методом, описанным Tappel [18]. 0,5 мл экстракта инкубировали при  $25^\circ\text{C}$  в течение 5 мин в 0,5 мл буферного раствора, содержащего 0,12 М трис, pH 7,6, 0,2 мМ ЭДТА и 200 ед/мл каталазы. Затем добавляли 0,2 мМ NADPH, 10 мкл очищенной ГЛП (активность 2,5 мкмоль/мин на 1 мл) и 0,5 мМ GSH. После 10 мин инкубации при  $37^\circ\text{C}$  регистрировали светопоглощение при 340 нм. Затем добавляли 0,5 ед/мл ГЛР, инкубировали 10 мин и регистрировали поглощение при 340 нм. По разности поглощения после первого и второго измерений вычисляли количество окисленного NADPH и внутриклеточную концентрацию органических гидропероксидов в эритроцитах.

Аналогично определяли суммарную концентрацию пероксидов (органических гидропероксидов и  $H_2O_2$ ) при выполнении тех же процедур

## АНТИОКСИДАНТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ СТАРЕНИИ И ДЕМЕНЦИИ

в отсутствие каталазы. По разности между суммарной концентрацией пероксидов и концентрацией органических гидропероксидов вычисляли внутриклеточную концентрацию  $H_2O_2$ .

GSH определяли методом, основанным на неферментативном окислении GSH 5,5'-дитио-бис-2-нитробензоатом (ДТНБ) с образованием окисленного глутатиона (GSSG) и 5-тио-2-нитробензоата (ТНБ) и регистрации поглощения ТНБ при 412 нм. 20 мкл суспензии эритроцитов смешивали с 100 мкл охлажденной 10 мМ HCl для фиксации эндогенного глутатиона. Клеточные мембраны разрушали при помощи 3-кратного цикла замораживания-оттаивания. Пробу центрифугировали при 14000 g и 4°C в течение 5 мин, белки супернатанта осаждали добавлением 50 мкл охлажденной 10% сульфосалициловой кислоты. Осадок удаляли центрифугированием, и прозрачный супернатант использовали для определения суммарной концентрации GSH + GSSG. Анализ выполняли при 30°C в 1 мл среды, содержащей 100 мМ  $Na_2HPO_4$ , pH 7,5, 4,5 мМ  $Na_2EDTA$ , 0,2 мМ NADPH, 0,6 мМ ДТНБ, 0,84 мкмоль/мин ГЛР. Реакцию запускали добавлением 10-20 мкл экстракта эритроцитов. Для расчётов использовали коэффициент поглощения ТНБ, равный  $\epsilon_{412} = 13,6 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

Для определения GSSG к 100 мкл безбелкового супернатанта добавляли 2 мкл 2-винилпиридина (для связывания эндогенного GSH), смесь нейтрализовали 30%-ным  $KHCO_3$ , инкубировали 60 мин при 25°C и центрифугировали. В супернатанте определяли концентрацию GSSG. В кювету спектрофотометра добавляли 925 мкл буферного раствора (100 мМ  $Na_2HPO_4$ , pH 7,4, 4,5 мМ  $Na_2EDTA$ ), 0,6 мМ ДТНБ, 0,2 мМ NADPH. Реакцию запускали добавлением 10 мкл (0,5 мкмоль/мин) ГЛР.

Концентрацию GSH рассчитывали вычитанием измеренной концентрации GSSG из суммарной концентрации GSH + GSSG.

Статистический анализ выполняли с помощью компьютерной программы GraphPad Prism, версия 4.03, для Windows ("GraphPad Software", США). Результаты выражали как среднее значение и стандартная ошибка среднего. Различия между группами анализировали методом ANOVA с последующим t-тестом Стьюдента для определения статистической значимости.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Значения активности СОД, каталазы, ГЛР, ГЛП, ГЛТ и Г6ФДГ в эритроцитах пациентов и контрольных лиц приведены на рисунке 1 и в таблице 1. Поскольку не было половых различий в удельной активности ферментов в эритроцитах, все приведенные здесь и далее данные являются средними значениями для лиц обоих полов, включённых в каждую группу.

Таблица 1. Антиоксидантные ферменты в эритроцитах пациентов и контрольных лиц.

Фермент	МК	ПК	БА	НА
Каталаза, $s^{-1}/\text{мл}$	24,1±0,9	20,7±1,3*	20,0±1,2*	21,4±0,9*
ГЛР, мкмоль/(мин·мл)	2,07±0,17	1,87±0,07	2,0±0,14	2,11±0,14
ГЛТ, мкмоль/(мин·мл)	1,46±0,14	1,16±0,07*	1,05±0,10*	1,02±0,14*
Г6ФДГ, мкмоль/(мин·мл)	3,50±0,14	3,06±0,20	3,60±0,24 <sup>a</sup>	3,74±0,28 <sup>a</sup>

Примечание: \* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,0001$  при сравнении с группой МК, а -  $p < 0,05$  при сравнении с группой ПК.

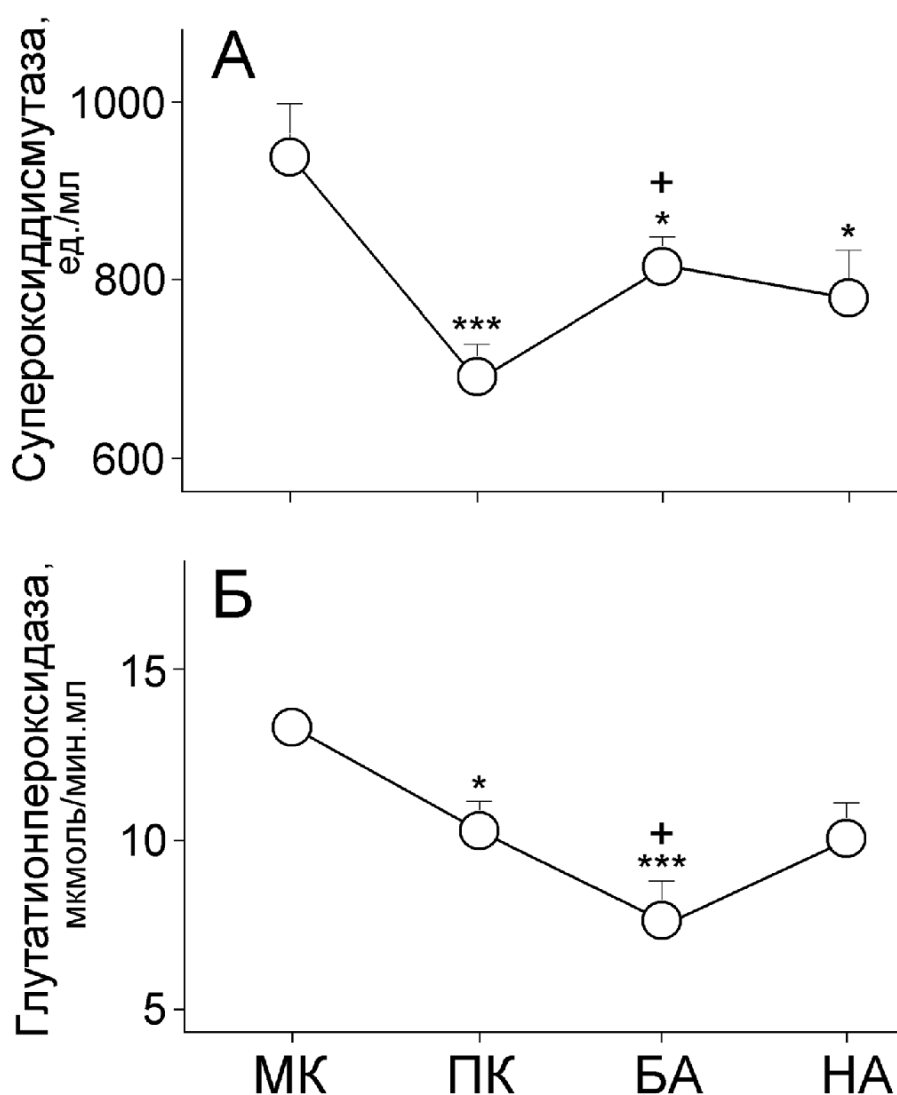


Рисунок 1.

Активность супероксиддисмутазы (А) и глутатионпероксидазы (Б) в эритроцитах молодых (МК) и пожилых (ПК) лиц контрольных групп, пациентов с болезнью Альцгеймера (БА) и неальцгеймеровской деменцией (НА).

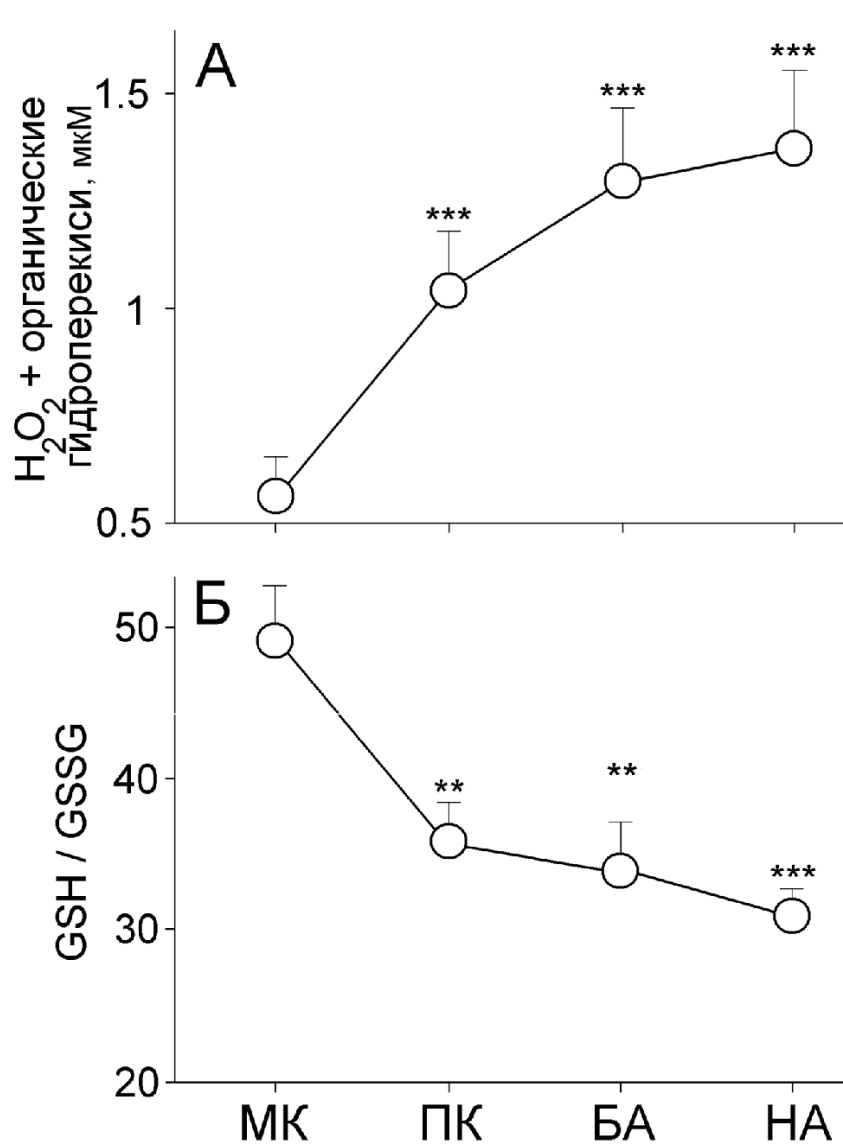
\* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,0001$  при сравнении с группой МК; + $p < 0,05$  при сравнении с группой ПК.

При сравнении с МК лица из группы ПК имеют существенно более низкую активность ферментов-антиоксидантов в эритроцитах, включая СОД (на 26,4%), каталазу (на 13,8%), ГЛП (на 22,5%) и ГЛТ (на 21,3%). Только активность ГЛР и Г6ФДГ в эритроцитах не изменяется в зависимости от возраста испытуемых.

Группы БА и НА не отличаются между собой и от группы ПК по активности каталазы, ГЛР или ГЛТ. Только активность ГЛП, Г6ФДГ и СОД достоверно изменяется у пациентов с БА по сравнению с группой ПК. Активность ГЛП ниже у пациентов с БА, а активность Г6ФДГ выше у пациентов с БА и НА при сравнении с ПК. Напротив, активность СОД достоверно выше у пациентов с БА при сравнении с её активностью в группе ПК, но оба значения не достигают уровня в группе МК и на 13% ниже, чем в этой контрольной группе.

## АНТИОКСИДАНТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ СТАРЕНИИ И ДЕМЕНЦИИ

Окислительный стресс выражается в повышении концентрации АКМ (но не скорости продукции АКМ, как ошибочно принято полагать). Содержание  $H_2O_2$ , органических гидропероксидов, GSH, GSSG и отношение GSH/GSSG в эритроцитах приведены на рисунке 2 и в таблице 2. Внутриклеточная концентрация органических гидропероксидов в эритроцитах группы ПК значительно выше (на 143,6%), чем в группе МК, и далее повышается при БА и НА. Такая динамика коррелирует с возрастным повышением концентрации GSSG, снижением концентрации GSH и отношения GSH/GSSG. Группы МК и ПК не отличаются по содержанию  $H_2O_2$  в эритроцитах, а у пациентов обеих групп (БА и НА) внутриклеточная концентрация  $H_2O_2$  достоверно выше, чем в группе МК.



**Рисунок 2.**

Суммарная концентрация пероксидов ( $H_2O_2$  + органические гидропероксиды) (А) и отношение GSH/GSSG (Б) в эритроцитах контрольных групп молодых (МК) и пожилых (ПК) лиц, пациентов с болезнью Альцгеймера (БА) и неальцгеймеровской деменцией (НА).

\*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,0001$  при сравнении с группой МК.



Таблица 2.  $H_2O_2$ , органические гидропероксиды, GSH и GSSG в эритроцитах пациентов и контрольных лиц.

Показатель	МК	ПК	БА	НА
$H_2O_2$ , мкМ	0,31±0,06	0,41±0,06	0,49±0,06*	0,45±0,04*
Органические гидропероксиды, мкМ	0,26±0,06	0,63±0,12*	0,81±0,16**	0,93±0,2**
GSH, мМ	2,10±0,06	1,85±0,1*	1,82±0,1*	1,79±0,06**
GSSG, мкМ	43,3±1,4	50,3±2,2*	55,7±4,9*	59,2±3,3*** <sup>a</sup>

Примечание: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  при сравнении с группой МК, а -  $p < 0,05$  при сравнении с группой ПК.

Между группами БА, НА и ПК не наблюдалось различий ни по одному из изученных показателей (содержание  $H_2O_2$ , органических гидропероксидов, GSH, GSSG и отношения GSH/GSSG в эритроцитах).

Активность ГЛП очень сильно и отрицательно коррелирует с концентрацией  $H_2O_2$  ( $r = -0,972$ ) и суммой пероксидов ( $r = -0,854$ ), активность ГЛТ и отношение GSH/GSSG – с суммарной концентрацией пероксидов в эритроцитах ( $r = -0,994$  и  $r = -0,990$  соответственно).

Нарушения в антиокислительной системе эритроцитов при старении описаны в литературе, но полученные данные немногочисленны и неоднозначны. Так, активность СОД в эритроцитах пожилых и молодых лиц не отличается [19], либо она ниже [20] или выше [21] активности фермента в эритроцитах молодых добровольцев. В наших исследованиях активность СОД в эритроцитах группы ПК достоверно ниже, чем в группе МК, в соответствии с данными Rybka с сотр. [20]. Противоречивость данных не может быть объяснена без специальных исследований или дополнительных данных, которые не приведены в цитируемых работах, но из этой противоречивости следует, что активность СОД в эритроцитах не может служить маркером старения.

Ещё менее однородны данные литературы в отношении активности СОД, ГЛП и каталазы в эритроцитах пациентов с БА. Наиболее часто наблюдается повышение активности СОД при БА [1, 19, 22], однако в некоторых случаях она не меняется [23] или снижается [24]. Активность ГЛП при БА тоже либо повышается [25], либо снижается [22, 24], либо не меняется [23]. Активность каталазы обычно ниже у пациентов с БА, чем у здоровых индивидуумов [22]. Настолько противоречивые данные побудили нас провести более полное исследование – измерение внутриклеточных концентраций низкомолекулярных оксидантов ( $H_2O_2$ , органических гидропероксидов и GSSG) и антиоксиданта GSH вместе с активностью антиоксидантных ферментов в эритроцитах всех четырёх групп обследуемых лиц.

Мы показали, что активность СОД, каталазы, ГЛП и ГЛТ в эритроцитах достоверно изменяется как при старении, так и при деменции обоих типов. Активность каталазы и ГЛТ одинакова в группах ПК, БА и НА, то есть изменения активности этих ферментов являются возрастными признаками и неспецифичны для деменции. Активность ГЛР не отличается во всех четырёх группах обследуемых лиц, а активность Г6ФДГ снижается только

при старении и восстанавливается до нормы при деменции. Группа БА отличается от группы ПК активностью СОД и ГЛП, в то время как между группами ПК и НА таких отличий нет. Активность ГЛП коррелирует с концентрацией перекисей много более сильно (коэффициент корреляции  $r = -0,854$ ), чем активность СОД ( $r = -0,61$ ). Таким образом, в данной работе выявлено, что пониженная активность ГЛП в эритроцитах (по сравнению с активностью в группе ПК) является маркером БА.

Все низкомолекулярные показатели окислительного стресса в эритроцитах изменяются при старении и деменции в направлении усиления окислительного стресса: повышаются внутриклеточные концентрации  $H_2O_2$ , органических гидропероксидов и GSSG, уменьшаются концентрация GSH и отношение GSH/GSSG. В литературе нет данных о концентрациях  $H_2O_2$  и органических гидропероксидов в эритроцитах пожилых индивидуумов и при БА, и недостаточно сведений о внутриклеточных концентрациях GSSG и GSH. В целом наши результаты подтверждают имеющиеся данные литературы об усилении окислительного стресса в эритроцитах при старении и деменции.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В данной работе впервые показано, что усиление окислительного стресса в эритроцитах при старении и деменции проявляется в повышении концентраций  $H_2O_2$  и органических гидропероксидов, снижении активности ГЛП и отношения GSH/GSSG. Все эти показатели коррелируют между собой. Сниженная активность ГЛП в эритроцитах может служить новым маркером болезни Альцгеймера. Изменения других показателей окислительного стресса неспецифичны для деменции, но отражают возрастные нарушения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Selkoe D.J.* (1991) *Neuron*, **6**, 487-498.
2. *Pratic D.* (2008) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1147**, 70-78.
3. *Liu J., Mori A.* (1999) *Neurochem. Res.*, **24**, 1479-1497.
4. *Mendoza-Núñez V.M., Ruiz-Ramos M., Sánchez-Rodríguez M.A., Retana-Ugalde R., Muñoz-Sánchez J.L.* (2007) *Tohoku J. Exp. Med.*, **213**, 261-268.
5. *Etcheberrigaray R., Ibarreta D.* (2001) *Rev. Neurol.*, **33**, 740-749.
6. *Blass J.P., Hanin I., Barclay L., Kopp U., Reding M.J.* (1985) *J. Am. Geriatr. Soc.*, **33**, 401-405.
7. *Markesbery W.R., Leung P.K., Butterfield D.A.* (1980) *J. Neurol. Sci.*, **45**, 323-330.
8. *Minetti M., Agati L., Malorni W.* (2007) *Cardiovasc Res.*, **75**, 21-28.
9. *Kosenko E.A., Solomadin I.N., Marov N.V., Venediktova N.I., Pogosian A.S., Kaminskii Yu.G.* (2008) *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **34**(5), 586-592.
10. *McKhann G., Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M.* (1984) *Neurology*, **34**, 939-944.
11. *Zhu X., Perry G., Smith M.A.* (2008) *Insights, Progress and Perspectives*, **57**, 191-204.
12. *Khachaturian Z.S.* (1985) *Arch. Neurol.*, **42**, 1097-1105.
13. *Mirra S.S., Heyman A., McKeel D., McKeel D., Sumi S.M., Crain B.J., Brownlee L.M., Vogel F.S., Hughes J.P., van Belle G., Berg L.* (1991) *Neurology*, **41**, 479-486.
14. *Kaminsky Y., Suslikov A., Kosenko E.* (2010) *J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 180-187.
15. *Kosenko E.A., Suslikov A.V., Venediktova N.I., Kaminsky Yu.G.* (2010) *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomed. Chem.*, **4**(4), 395-399.



16. Beutler E. (1986) Red Cell Metabolism. Churchill Livingstone, Edinburgh.
17. Kozar E., Evans S., Barr J., Greenberg R., Soriano I., Bulkowstein M., Petrov I., Chen-Levi Z., Barzilay B., Berkovitch M. (2003) Br. J. Clin. Pharmacol., **55**, 234-240.
18. Tappel A.L. (1978) Methods Enzymol., **52**, 506-513.
19. Kawamoto E.M., Munhoz C.D., Glezer I., Bahia V.S., Caramelli P., Nitrini R., Gorjao R., Curi R., Scavone C., Marcourakis T. (2005) Neurobiol. Aging, **26**, 857-864.
20. Rybka J., Kupczyk D., Kędziora-Kornatowska K., Pawluk H., Czuczejko J., Szewczyk-Golec K., Kozakiewicz M., Antonioli M., Carvalho L.A., Kędziora J. (2011) Redox Rep., **16**, 71-77.
21. Alexandrova M.L., Bochev P.G. (2009) Age (Dordr), **31**, 99-107.
22. Kharrazi H., Vaisi-Raygani A., Rahimi Z., Tavalani H., Aminian M., Pourmotabbed T. (2008) Clin. Biochem., **41**, 932-936.
23. Bourdel-Marchasson I., Delmas-Beauvieux M.C., Peuchant E., Richard-Harston S., Decamps A., Reignier B., Emeriau J.P., Rainfray M. (2001) Age Ageing., **30**, 235-241.
24. Vural H., Demirin H., Kara Y., Eren I., Delibas N. (2010) J. Trace Elem. Med. Biol., **24**, 169-173.
25. Anneren G., Gardner A., Lundin T. (1986) Acta Neurol. Scand., **73**, 586-589.

Поступила: 26. 09. 2011.

#### ANTIOXIDANTS IN ERYTHROCYTES IN AGING AND DEMENTIA

*E.A. Kosenko<sup>1,2</sup>, L.A. Tikhonova<sup>1,2</sup>, A.C. Poghosyan<sup>3</sup>, Y.G. Kaminsky<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya, 3, Pushchino, 142290 Russia; tel.: +7(496) 773-52-46; fax: +7(496) 733-05-53;  
e-mail: kaminsky@iteb.ru

<sup>2</sup>Pushchino State University, Pushchino, 142290 Russia

<sup>3</sup>Hospital at Pushchino Research Center, Pushchino, 142290 Russia

Age of patients and brain oxidative stress may contribute to pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). Erythrocytes (red blood cells, RBC) are considered as passive "reporter cells" for the oxidative status of the whole organism and are not well studied in AD. The aim of this work was to assess whether the antioxidant status of RBC changes in aging and AD. Blood was taken from AD and non-Alzheimer's dementia patients, aged-matched and younger controls. *In vivo* antioxidant status was assessed in each of the study subjects by measuring RBC levels of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, organic hydroperoxides, glutathione (GSH) and glutathione disulfide (GSSG), activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In both aging and dementia, oxidative stress in RBC was shown to increase and to be expressed in elevated concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and organic hydroperoxides, decreased the GSH/GSSG ratio and glutathione S-transferase activity. Decreased glutathione peroxidase activity in RBC may be considered as a new peripheral marker for Alzheimer's disease while alterations of other parameters of oxidative stress reflect age-related events.

**Key words:** Alzheimer's disease, aging, erythrocyte, oxidative stress, antioxidants.