

Demanslı Hastalara Ait Plazma Bakır Düzeltmeleri ve Eritrosit Antioksidan Enzim Aktiviteleri

THE LEVELS OF PLASMA COPPER AND THE ACTIVITIES OF ERYTHROCYTE ANTIOXIDANT ENZYME OF THE DEMENTIA PATIENTS

Ömer ATALAY*, Ertuğrul BOLAYIR**, Sevtap BAKIR*, Atilla ATALAY*

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı*
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı**

ÖZET

Amaç: Demanslı hastalarda plazma bakır seviyeleri ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini incelemek.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 21 Alzheimer tipi demanslı (ATD: 17 erkek ve 4 kadın) ve 9 multi infarkt demanslı (MİD: 5 erkek ve 4 kadın) toplam 30 olguda plazma bakır (Cu) düzeyleri ve eritrosit süperoksit dismutaz (CuZnSOD), glutasyon peroksidaz (GSH - Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri incelendi. Aynı yaş ve cinsiyette, demansı olmayan 33 kişi (21 erkek ve 12 kadın) seçilerek kontrol grubu oluşturuldu.

Bulgular: ATD ve MİD'li hastalar'da bakır düzeyleri ve GSH - Px aktivitelerini kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında aralarında fark bulunamadı ($p>0,05$) CuZnSOD ve katalaz aktiviteleri, kontrol grubuna göre artmış bulundu ($p<0,05$). ATD ve MİD'li olgularda ilgili parametreler yönü ile fark yoktu ($p>0,05$). Plazma Cu düzeyi ile eritrosit CuZnSOD arasında kontrol grubunda aynı yönlü korelasyon ($r=0,15$), hasta grupta ise negatif korelasyon ($r=-0,33$) bulundu, ancak bu korelasyonlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Sonuçlar: Oksidatif hasarın demans gelişiminde rolünün olabileceği ve özellikle yaşlı dönemde antioksidan ilaç kullanımının demans gelişimini azaltabileceği düşünüldü. Ayrıca eritrosit CuZnSOD aktivitesinin ATD'ta değerli tanısal bir kriter olabileceği kamsına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Alzheimer tipi demans, multiinfarkt demans, süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, katalaz, plazma bakır.

SUMMARY

Objective: We have investigated that the levels of plasma copper and the activities of antioxidant enzyme of the dementia patients.

Material and Method: In this study, We have investigated that the levels of plasma copper and erythrocyte superoxide dismutase (CuZnSOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) in thirty patients (8 females, 22 males) with dementia which 21 out of them with dementia of Alzheimer type (DAT) (4 females, 17 males) and 9 out of them with multiinfarct dementia (MD) (4 females, 5 males). Thirty three people (12 females, 21 males) that were not having demential complaints and not using an antioxidant were selected as a control group.

Results: The plasma copper and erythrocyte GSH-Px levels were to be not changed whereas CuZnSOD and CAT levels were increased in both DAT and MD patient groups compared to control ($p>0,05$). In addition to this, increasing levels of CuZnSOD and CAT were found to be statistically significant ($p<0,05$). It has also been found that there were not relation between age and all investigated parameters in both control and patient groups ($p>0,05$). Even though same directed correlation were noticed in control group, while negative directed correlation in patient between plasma copper level and erythrocyte CuZnSOD activity, but these correlations were not statistically significant ($p>0,05$).

Conclusion: We thought that oxidative damage may have a role in the development of dementia and antioxidant drugs may protect to develop of dementia in geriatric group and erythrocyte CuZnSOD activity may have a value as a diagnostic criteria in dementia, too.

Key words: Dementia of Alzheimer type, Multiinfarct dementia, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Catalase, Plasma Copper

Ertuğrul BOLAYIR
Cumhuriyet Üniversitesi
Tıp Fakültesi Nöroloji Bölümü
Tel: 346 2191010 / 2156
Faks: 346 2191284

Alzheimer, 1907 yılında demanslı bir hastanın beyindeki nörofibriller yumakları ve senil plakları tanımlamıştır. Nörotik plakların hastalığın en erken lezyonlarında biri olduğu ve hafif demansta bile bunların yoğunluklarında artış görüldüğü bilinmesine rağmen, 65 yaşın üzerindeki kişilerin çoğunda nöropatolojik incelemelerde bu tür birkaç lezyon bulunabilmesi nedeniyle hangi lezyonların normal yaşlanmayı gösterdiği, hangilerinin klinik demans habercisi oldukları halen tartışma konusudur (1). Serbest oksijen radikallerinin tüm doku ve organları etkileyebilmesine karşılık beyin dokusunda oluşturduğu hasarın daha fazla olduğu bilinmektedir (2).

Antioksidanların nörodejeneratif hastalıklarda ilişkisi düşünülerek demanslı hastaların tanısında antioksidan enzim aktivitelerinin yararlı olup olmayacağı, plazma bakır düzeyi ile yapısında bakır bulunan bir antioksidan enzim olan CuZnSOD aktivitesi arasındaki ve de plazma bakır düzeyleri ile demans arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma WHO kriterlerine (3) göre demans tanısı alan 30 olgu (22 erkek, 8 kadın) üzerinde yapıldı. Kontrol grubu (grup 1) demansı olmayan, alkol ya da madde bağımlılığı bulunmayan, kan transfüzyonu yapılmamış, normal beslenme alışkanlığı olan ve antioksidan ilaçlar kullanmayan ortalama aynı yaşlarda 22 erkek, 11 kadın toplam 33 kişi alındı. Demanslı olguların 21 tanesi (17 erkek, 4 kadın) Alzheimer tipi (grup 2), 9 tanesi (5 erkek, 4 kadın) ise Multiinfarkt demans (grup 3) idi. Kliniğimize başvuran demanslı hasta sayısı sınırlı olup heriki tip demans hastaları çalışmaya dahil edilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarına ait olguların ön kolundan 2-3 ml kan alınarak lityum heparinli polipropilen tüplere aktarıldı. Herais minifuge 2 soğutmalı santrifüjde +4°C, 1500xg'de, 10 dakika santrifüj edilerek plazma örnekleri elde edildi. Bakır çalışmak üzere plazma örnekleri başka polipropilen tüplere aktarıldı. Kalan eritrositler üzerinde yaklaşık iki katı hacimde 154 mM NaCl konuldu ve yavaşça alt üst edildikten sonra santrifüj edildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Her

defasında süpernatant alındı. Eritrositler çalışma gününe kadar derin dondurucuda saklanmak üzere pakletlendi.

Deneyler için kullanılan tüp, balon jöje, beher, mezür gibi cam malzemelerini tepsisi deiyonize su ile yıkanarak %20'lik HNO₃ içerisinde bekletildi. Gereç olarak balon jöje, otomatik pipet, terazi, vortex, pH metre, spektrofotometre, su banyosu, santrifüj, derin dondurucu kullanıldı. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ise ksantin, nitroblue tetrazolium, bovine serum albumin, etilendiamintetraasetik asit, sodyum karbonat, bakır-2 klorür, amonyum sülfat, ksantin oksidaz, süperoksit dismutaz, kloroform, etanol, potasyumferrisiyanür, potasyumsiyaniür, sodyum karbonat, hidrojen peroksit, okside glutatyon, glutatyon reduktaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, cumene hidroperoksit, heparin, nitrik asit idi.

SOD aktivitesi indirek ölçüm yöntemi kullanılarak hesaplandı (4). Sun ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem süperoksit üreticisi olarak ksantin- ksantin oksidaz sisteminin kullanılması ve nitroblue tetrazoliumun reduksiyonunun inhibe edilmesini içermektedir. Bütün numuneler için U/ml cinsinden CuZnSOD aktiviteleri hesaplandı. Eritrositlerde siyanomethemoglobin yöntemi ile hemoglobin tayini yapıldı ve elde edilen bütün sonuçlar U/g.Hb cinsinden ifade edildi (5).

Eritrositlerde CAT aktivitesi, Beers ve Sizer tarafından tanımlanan Hidrojen peroksidin katalaz enzimi ile oksijen ve suya parçalanması, spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda oluşan absorban değişiminin ölçülmesi esasına dayanılarak belirlendi (6). GSH-Px aktivitesi ölçümünde Paglia ve Valentina tarafından tanımlanan birleşik enzimatik yöntem kullanıldı (7). Bu yöntemden önce GSH-Px ortamdaki hidroperoksit varlığında GSH'yi okside glutatyonla dönüştürür. Daha sonra dışarıdan ortama eklenen NADPH ve glutatyon reduktaz ile okside glutatyon tekrar redukte glutatyonla dönüşmekte, böylece GSH derişimi sabit tutulmaktadır. Oluşan kimyasal tepkimede NADPH'ın NADP'ye dönüşmesi esnasında spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda absorbanstaki azalma izlenerek okside

glutasyon oluşum hızı ölçülmüş ve GSH-Px enzim aktivitesi hesaplanmıştır. Plazma bakır düzeyleri, Abe ve Yamashita tarafından tanımlanan kolorimetrik yöntem kullanılarak belirlendi (8). Bu yöntemle göre pH: 4.7'de bakır, seruloplazminden ayrılıp bir 3.5-DiBr-PAESA ile stabil renkli kompleks oluşturmaktadır. Oluşan rengin yoğunluğu bakır miktarı ile orantılıdır.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde iki ortalamaya arasındaki farkın önemlilik testi, Mann-Whitney U testi ve korelasyon analizi kullanıldı.

BULGULAR

Hasta ve kontrol gruplarına ait yaş ortalamaları (grup 1:69.4±8.0, grup 2:72.3±10.1, grup 3:66.7±6.0) karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Yaş ile plazma bakır düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri arasındaki ilişki değeri-

lendirildiğinde hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunamadı ($p>0.05$). Cinsiyet ile plazma bakır düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri arasındaki ilişki de iki grup arasında anlamsızdı ($p>0.05$).

ATD ve MİD tanısı alan hastalara ait verileri karşılaştığımızda aralarında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo I).

Hasta ile kontrol gruplarına ait veriler karşılaştırıldığında bakır düzeyleri ve GSH-Px aktiviteleri yönünden farklılık bulunamadı ($p>0.05$). Ancak hasta grubunda CuZnSOD ve CAT aktivitelerini artmış bulduk ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Plazma bakır düzeyleri ile CuZnSOD aktivitesi arasındaki ilişki, kontrol grubunda iki yönlü korelasyon ($r= 0.33$) vardı. Bu korelasyonlar anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo II).

Tablo I. ATD ve MİD hastalarına ait verilerin karşılaştırması: ATD ve MİD tanısı alan hastaların yaş ve diğer parametreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$)

	Yaş	Bakır (Mg/dl)	Katalaz (U/g.Hb)	GSH- Px (U/g.Hb)	CuZnSOD (U/g.Hb)
Grup 2 (n= 21)	72.3 ± 10.1	98.0 ± 22.6	15.3 ± 3.8	25.6 ± 4.9	6342.5 ± 771.4
Grup 3 (n= 9)	66.7 ± 6.0	97.4 ± 20.1	16.3 ± 3.0	25.1 ± 5.3	6729.6 ± 671.7
	P= 0.117	P= 0.809	P= 0.587	P= 0.821	P= 0.230
	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

Tablo II. Hasta ve kontrol gruplarına ait parametrelerin dağılımı: Hasta ve kontrol gruplarına ait veriler istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında bakır düzeyleri ile GSH-Px aktivitesi yönünden fark olmaz iken hasta grubunda CuZnSOD ve katalaz aktiviteleri artmış idi. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$)

	Yaş	Bakır (Mg/dl)	Katalaz(U/g.Hb)	GSH- Px(U/g.Hb)	CuZnSOD(U/g.Hb)
Grup 1 (n= 33)	69.4 ± 8.0	90.6 ± 17.9	12.7 ± 5.0	27.6 ± 7.1	5949.6 ± 669.9
Grup 2 ve 3 (n= 30)	70.6 ± 9.3	97.8 ± 21.5	15.6 ± 3.6	25.5 ± 4.9	6458.3 ± 753.5
	t= 0.53	t= 1.45	t= 2.66	t= 1.42	t= 2.58
	p > 0.05	p > 0.05	P < 0.05	P > 0.05	P < 0.05

TARTIŞMA

Demans sıklıkla ileri yaşlarda ortaya çıkan ve entellektüel işlevlerin kaybı ile karakterize hastalık olarak bilinir. Demansın etyolojisinin açıkça bilinmemesine karşın serbest radikallerin gelişiminden rol oynayabileceği görüşü yaklaşık son 20 yıldır mevcuttur (2,9). Konuyla ilgili çalışmaların büyük çoğunluğu hastalara ait plazma ya da eritrositler üzerinde yapılmıştır. Artmış oksidatif hasar birçok dokuda olduğu gibi eritrositlerde de değişiklik yapabileceğinden çalışmamızın eritrositlerde yapılması uygun bulundu. Hasta ve kontrol grubunda yaş ile plazma bakır düzeyleri ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri arasında fark bulunmadı. Bolzan ve arkadaşları antioksidan enzim aktivitelerinin yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı ile değişmediğini bildirmişlerdir (10,11). Cebellos- Picot 1 aylıktan 63 yaşına kadar 102 kadın toplam 167 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada yaş ile eritrosit CuZnSOD aktivitesi arasında negatif, GSH- Px arasında pozitif ilişki saptamışlar, cinsiyetler arasında ise fark bulunmadığını rapor etmişlerdir (12). Geumeri ve arkadaşları, 4-94 yaş arası 1836 sağlıklı olgular üzerinde yaptıkları çalışmada benzer sonuca ulaşmışlardır (13).

Plazma bakır düzeyleri eritrosit CuZnSOD, CAT ve GSH- Px aktiviteleri incelendiğinde ATD ile MİD olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır ($p>0.05$). Bu sonuçlar Snaedal ve arkadaşlarının farklı tipte demanslı hastalar üzerinde yaptıkları çalışma ile uyumlu bulunmuştur (14). Plazma bakır düzeyleri ile SOD enzim aktiviteleri arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Okata ve arkadaşları ise çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada bakır eksikliğinin CuZnSOD aktivitesini azalttığını göstermişlerdir (15). Bakır eksikliğini göstermesi açısından eritrosit SOD aktivitesinin plazma bakır düzeyine göre daha anlamlı olduğu ve SOD aktivitesi düşük olgulara bakır süplementasyonu yapılmasının aktiviteyi önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (16). Uauy ve arkadaşları malnütrisyonlu çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmalarda eritrosit CuZnSOD aktivitesini normalden düşük bulmuşlardır (17). Diyetle yeterince bakır alamayan olguların oksidatif stresten daha fazla etkilendikleri bilinmektedir (18). Magolova yaptığı bir

çalışmada bakır ile CuZnSOD arasında bir ilişki göstermemiştir (19).

ATD ve MİD tanısı alan hastalara ait eritrositler üzerinde yaptığımız çalışmada CuZnSOD ve CAT aktivitesinde artış saptadı, ancak GSH- Px aktivitesinde farklılık bulunamadı. Bu sonuçlar Perrin ve arkadaşlarının 25 Alzheimer tipi demansı olan olgular üzerinde yapılan çalışma ile uyumlu bulunmuştur (20). Japonya da yapılan bir çalışmada ise hidroksil radikalleri ve CuZnSOD aktivitelerinin demanslı hastalarda yükselmiş olduğu ve bunun beyin hasarına yol açabileceği kanısına varılmıştır (21). ATD ve MİD hastaları arasında yapılan SOD aktivitesinin belirleyici olabileceği ileri sürülmüştür (22). Konuyla ilgili yapılan çalışmaların bir çoğu araştırmamızı destekler niteliktedir. Ancak literatür taramalarında paradoks çalışmalara da rastladı. Anneran 1986 yılında Alzheimer tanısı almış hastalarda ve Down sendromlularında GSH-Px aktivitesini yüksek bulmuş ve bunun demansın gelişiminde önemli olabileceğini vurgulamıştır (23). Snaedal ve arkadaşları' da demanslı hastalarda SOD aktivitesini düşük bulup ve bu düşüklüğü demans gelişimi ile ilişkilendirmişlerdir (14). Benzer bir çalışma 1997 yılında Ihara tarafından yapılmış olup ATD ve MİD'li hastalarda hidroksil radikallerinin arttığını, buna karşılık SOD aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir (24). Başka bir çalışmada demanslı hastalarda antioksidan enzimlerin kontrol grubu ile farklılık göstermediği rapor edilmiştir (25). ATD ve MİD' li hastalar arasında yapılan başka bir çalışmada SOD aktivitesinin ATD' ta, MİD ve kontrol grubuna göre arttığı gösterilmiş ve buna dayanılarak SOD aktivitesinin marker olabileceği ileri sürülmüştür (22).

Son zamanlarda ATD etyopatogenezi üzerinde yapılan post-mortem çalışmalarda beyin dokusunda artmış lipid peroksidasyonuna rastlanmıştır (26,27). Oksidatif hasarın senil plaklar ve nörofibriller yumakların oluşumunu artırdığı immunohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (28) Marcus, Alzheimer hastalığında lipid peroksidasyonunun ve CuZnSOD aktivitesinin arttığını göstermiştir (29). Serbest oksijen radikalleri ile amyloid beta peptit arasında pozitif ve iki yönlü ilişki vardır. Oksidatif tepkimelerin bu peptidin

oluşumunu artırdığı, bunun ise nöronlarda kalıcı dejenerasyonlara yol açtığı gösterilmiştir (30). Strok geçiren hastaların Alzheimer tipi histolojik patolojiler geçirme riskinin arttığı söylenebilir. Vasküler hasarın dejeneratif süreçleri aktive ettiğine yada hızlandırdığına inanılmaktadır. İskemi ile tetiklenen enflamasyon, mikroglial aktivasyon, glutamat toksisitesi, nöronal hasar hem vasküler hem de Alzheimer tipi demanslar için ortak mekanizmalardır. Sitokin üretimi ve mikroglial hücre profilasyonu ile giden enflamatuvar süreçler her iki hastalıkta bozulur (31,32).

Nöronlarda serbest radikallerle antioksidanlar arasındaki denge serbest radikallerin lehine bozulduğunda lipid, karbonhidrat, protein ve DNA'ya zarar vererek dejenerasyonlara, kalıcı hasara yol açmaktadır. Eritrositlerde antioksidan enzim aktiviteilerinin incelenmesi oluşabilecek irreversible hasarın erken dönemde fark edilmesini sağlayabilir. Yine belirli bir yaştan sonra bu dengeyi korumak nöronal yıkımı azaltmak amacıyla yağda eriyen antioksidanların özellikle yaşlılık döneminde kullanılmasının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte konu ile ilgili daha geniş ve kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

- Bradley T, Hyman. Alzheimer hastalığı için yeni nöropatolojik ölçütler. *Archives of Neurology* 1998;4:2-5.
- Evans PH: Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993;49:577-587.
- World Health organization: International statistical classification of disease and related health problems. 10 th ed, Geneva, WHO,1992.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.
- Tietz NW. Textbook of clinical chemistry, 2 nd edition, Philadelphia, WB Saunders Company, 1986;1533-1534.
- Beers R, Sizer I. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem* 1952;195:133.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peoxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-169.
- Abe A, Yamashita S, Noma A. Sensitive direct colorimetric assay for copper in serum. *Clin Chem* 1989;35:552-554.
- Zenbilci N. Sinir sistemi hastalıkları. 3. Baskı, İstanbul, İ. Ü Basımevi ve Merkezi, 1995; 535-540.
- Bolzan AD, Bianchi MS, Bianchi NO. Superoxide dismutase, catalase and glutathion peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarettes smoking. *Clin Biochem* 1997;30:449-454.
- Saik LA, Hsieh HL, Baricos WH, Shapira E. Enzymatic and immunologic quantitation of erythrocyte superoxide dismutase in adult and neonates at different gestation ages. *Pediatr Res* 1982;16:933-937.
- Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathion related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1992;38:66-70.
- Guemouri L, Artur Y, Herbeth B. Biological variability of superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem* 1991;37:1932-1937.
- Snaedal J, Kristinsson J, Gunnarsdottir S, Olafsdottir-Baldvinsson M, Johannesson T. Copper, ceruloplasmin and superoxide dismutase in patients with Alzheimer's disease: A case control study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1998;9:239-242.
- Okahata S, Nishi H, Hatano S, Kabayashi Y, Usui T. Changes in erythrocyte superoxide dismutase in a patient with copper deficiency. *Eur J Pediatr* 1980;134:121-124.
- Milne DB. Assessment of copper nutritional status. *Clin Chem* 1994;40:1479-1484.
- Uauy R, Castello D, Fiesberg M. Red cell superoxide dismutase activity as an index of human copper nutrition. *J Nutr* 1985;115:1650-1655.
- Nielsen FH, Milne DB. Oxidant stress effect on the clinical and nutritional deficiencies of trace elements. *Int J Toxicol Occupant Environ Health* 1993;2: 9.
- Magalova T, Beno I, Brtkova A, Mekinova D, Volkovakova K, Staruchova M, Tatara M. Levels of Cu, Zn, Se and their relation to levels of ceruloplasmine

- and the activity of antioxidative enzymes. Bratisl Lek Listy 1997;98:8-11.
20. Perrin R, Briancon S, Jeandel C, Arrur Y, Minn A, Penin F, Siest G. Blood activity of Cu/ Zn superoxide dismutase, Glutathione peroxidase and catalase in Alzheimer's disease: a case control study. *Gerontology* 1990; 36:306-313.
 21. Urakami K, Sato K, Okada A, Mura T, Shimomura T, Takenaka T, Wakutani Y, Oshima T, Adachi Y, Takahashi K. Cu, Zn superoxide dismutase in patients with dementia of Alzheimer type. *Acta Neurol Scand* 1995;13:165-168.
 22. De Lusig ES, Serra JA, Kohan S, Canziani GA, Famulari AI, Dominguez RD. Copper- zinc superoxide dismutase activity in red blood cells and in demented patients and in aging. *J Neurol Sci* 1993;115:18-25.
 23. Anneren G, Gardner A, Lundin T. Increased glutathion peroxidase activity in erythrocytes in patients with Alzheimer's disease/senile dementia of Alzheimer's type. *Acta Neurol Scand* 1986;73:586-589.
 24. Ihara Y, Hayabara T, Sasaki K. Free radicals and superoxide dismutase in blood of patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Neurol Sci* 1997;153:76-81.
 25. Sulkava R, Nordberg UR, Erkinjuntti T. Erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase in Alzheimer's disease and other dementias. *Acta Neurol Scand* 1986;73:487-489.
 26. Good PF, Werner P, Hsu A, Olanow CW, Perl DP. Evidence of neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1996;149:21- 28.
 27. Markesbery WR, Carney JM. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 1999;9:133-146.
 28. Jain SK. Evidence for membrane lipid peroxidation during the in vivo aging of human erythrocytes. *Biochem Biophys Acta* 1988;937:205-210.
 29. Marcus DL, Thomas C, Rodriguez C, Simberloff K, Tsai JS, Strafaci JA, Freedman MI. Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 1998;150:40-44.
 30. Behl C. Alzheimer's disease and oxidative stress: implications for novel therapeutic approaches. *Prog Neurobiol* 1999;57:301- 323.
 31. Goodwin JL, Uemura E, Cunnick JE. Microglial release of nitric oxide by the synergistic action of beta-amyloid and IFN- gamma. *Brain Res* 1995;692:307-314.
 32. Kalaria N. Microglia and Alzheimer's disease. *Curr Opin Hematol* 1999; 6:15-24.