

Received: 2005.08.01
Accepted: 2005.10.18
Published: 2005.11.14

Kwas liponowy – charakterystyka i zastosowanie w terapii*

Lipoic acid: Characteristics and therapeutic application

Dominika Malińska, Katarzyna Winiarska

Zakład Regulacji Metabolizmu, Instytut Biochemii, Uniwersytet Warszawski

Streszczenie

Kwas liponowy (LA) oraz jego zredukowana postać - kwas dihydroliponowy (DHLA) występują we wszystkich komórkach prokariotycznych i eukariotycznych. Niegdyś kwas liponowy uważano za jedną z witamin, obecnie wiadomo jednak, że w komórkach ludzkiego organizmu związek ten może być także syntetyzowany *de novo*. Od dawna znana jest rola kwasu liponowego jako koenzymu wieloenzymatycznych kompleksów katalizujących oksydacyjną dekarboksylację α -ketokwasów. Badania prowadzone w ostatnich latach koncentrują się przede wszystkim na poznawaniu antyoksydacyjnych właściwości kwasu liponowego i DHLA. Stwierdzono, że oba te związki działają jako bezpośrednie zmiatacze wolnych rodników, wykazują zdolność do chelatowania jonów metali oraz regeneracji zredukowanych postaci innych drobnocząsteczkowych przeciwutleniaczy, takich jak witaminy C i E. Co więcej, kwas liponowy ma znaczenie regulacyjne w metabolizmie węglowodanów i lipidów. Dzięki łatwości wchłaniania z przewodu pokarmowego oraz zdolności do przekraczania bariery krew-mózg, egzogenny LA może docierać do większości tkanek organizmu. Wyżej wymienione właściwości oraz brak poważnych skutków ubocznych czynią kwas liponowy skutecznym i bezpiecznym terapeutycznym, stosowanym obecnie w neuropatiach cukrzycowych, w zatruciach grzybami i metalami ciężkimi oraz w schorzeniach wątroby. Dalsze badania pozwalają mieć nadzieję, że antyoksydant ten znajdzie również zastosowanie w leczeniu innych schorzeń, m.in. nadciśnienia i chorób autoimmunologicznych.

Słowa kluczowe:

kwas liponowy • antyoksydant • stres oksydacyjny • terapia

Summary

Lipoic acid (LA) and its reduced form dihydrolipoic acid (DHLA) are present in all prokaryotic and eukaryotic cells. Lipoic acid was once considered a vitamin, but now it is commonly accepted that it can be synthesized *de novo* in human cells. LA has long been known as a coenzyme of multienzymatic complexes catalyzing the decarboxylation of α -ketoacids, but the present investigations are focused on its antioxidative properties. Both LA and DHLA have proved to be potent free radicals scavengers and metal chelators. They are also responsible for the regeneration of active forms of other cellular antioxidants, including vitamins C and E. Moreover, lipoic acid is involved in the regulation of carbohydrate and lipid metabolism. LA is easily absorbed from the gastrointestinal tract, is able to cross the blood-brain barrier, and does not exhibit any serious side effects. All these features make lipoic acid a very promising drug. Nowadays, this compound is used in the treatment of diabetic neuropathy, fungi, and metal poisoning, as well as in liver disorders. The application of lipoic acid in treating other diseases, including hypertension and autoimmunological disorders, needs careful evaluation.

Key words:

lipoic acid • antioxidant • oxidative stress • therapy

* Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji (granty 3P05A 04925 oraz BW 1680/62).

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/8435.pdf

Word count: 3805

Tables: 1

Figures: 6

References: 78

Adres autorki: dr Katarzyna Winiarska, Zakład Regulacji Metabolizmu, Instytut Biochemii, Wydział Biologii UW, ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, e-mail: k.winiarska@biol.uw.edu.pl

Wykaz skrótów: **ACP** – białko przenoszące grupy acylowe; **DHLA** – kwas dihydroliponowy; **GSH** – zredukowana postać glutationu; **GSSG** – utleniona postać glutationu; **LA** – kwas liponowy; **ROS** – reaktywne formy tlenu

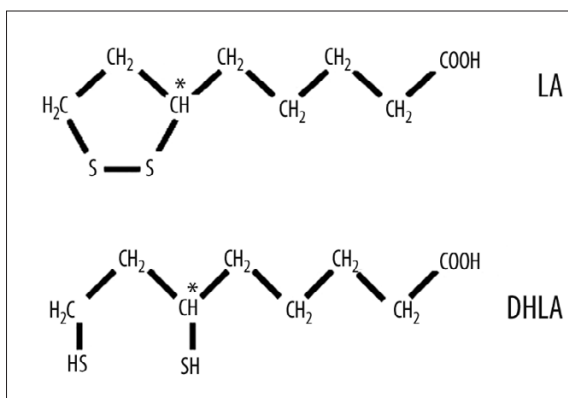
Kwas liponowy (LA; kwas 6,8-ditioooktanowy) to ośmiowęglowy, nasycony kwas tłuszczowy, w którym atomy węgla 6, 7 i 8 wraz z dwoma atomami siarki tworzą pierścień ditiolowy (ryc. 1). Pierścień ten może ulegać redukcji prowadzącej do powstania kwasu dihydroliponowego (DHLA). LA i DHLA występują w postaci dwóch enancjomerów, R i S, w zależności od ułożenia podstawników wokół asymetrycznego atomu węgla znajdującego się w pozycji 6 łańcucha.

Dzięki obecności niepolarnego łańcucha alifatycznego, LA i DHLA dobrze rozpuszczają się w rozpuszczalnikach organicznych, a umiarkowana długość łańcucha oraz obecność grupy karboksylowej czynią te związki rozpuszczalnymi również w wodzie, choć dużo słabiej niż w rozpuszczalnikach niepolarnych.

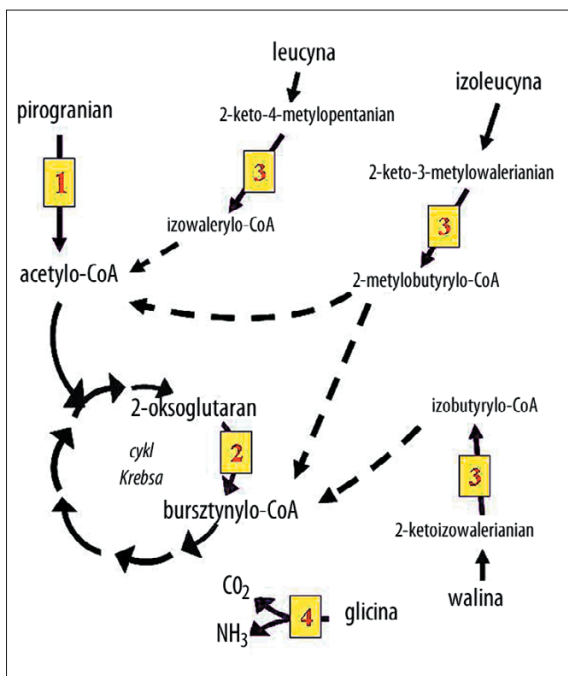
Kwas liponowy jest jednym z koenzymów w wieloenzymatycznych kompleksach dehydrogenaz α -ketokwasów (dehydrogenazy pirogronianowej, dehydrogenazy 2-oksoglutaranowej i dehydrogenazy α -ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach) oraz w kompleksie rozszczepiającym glicynę (ryc. 2).

W kompleksach tych liponian jest związany kowalencyjnie z grupą aminową bocznego łańcucha lizyny [7]. Razem z nim tworzy ruchome ramię, które przenosi pośredni produkt reakcji między centrami aktywnymi enzymów katalizujących poszczególne jej etapy. W kompleksach dehydrogenazy pirogronianowej i dehydrogenazy 2-oksoglutaranowej lipoamid przenosi pozostałą po dekarboksylacji α -ketokwasu grupę acylową na koenzym A (CoA), umożliwiając syntezę odpowiednio acetylo- lub bursztynylo-CoA. Jednocześnie lipoamid pośredniczy w przekazywaniu uzyskiwanej z utleniania substratu energii, która jest wykorzystywana do redukcji NAD^+ . Wskutek związania, a następnie oddania grupy acylowej na CoA, liponian ulega redukcji do DHLA, który pośrednio, przez redukcję FAD, umożliwia wchodzącej w skład kompleksu dehydrogenazy dihydrolipoamidowej odtworzenie $NADH$ z NAD^+ .

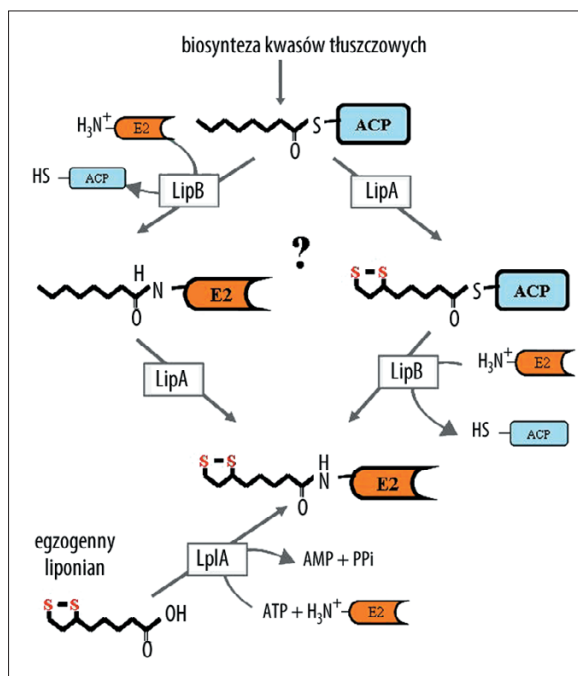
Lipoamid jest również kofaktorem w kompleksie dehydrogenazy α -ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach, biorącej udział w metabolizmie aminokwasów, takich jak walina, leucyna i izoleucyna. Jego rola jest analogiczna do tej, jaką odgrywa podczas oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu i 2-oksoglutaranu, i polega na przenoszeniu na koenzym A grupy acylowej pozostałej po dekarboksylacji α -ketokwasu powstałego z danego aminokwasu [7].



Ryc. 1. Struktura kwasu liponowego (LA) i dihydroliponowego (DHLA). Gwiazdką oznaczono asymetryczny atom węgla



Ryc. 2. Umieszczenie w szlakach metabolicznych kompleksów enzymatycznych, w których kofaktorem jest liponian; 1 – kompleks dehydrogenazy pirogronianowej, 2 – kompleks dehydrogenazy 2-oksoglutaranowej, 3 – kompleks dehydrogenazy α -ketokwasów o rozgałęzionych łańcuchach, 4 – kompleks rozszczepiający glicynę



Ryc. 3. Synteza kwasu liponowego i drogi włączania tego związku do białek enzymatycznych u *E. coli*. ACP – białko przenoszące grupy acylowe, E2 – acetylotransferaza dihydroliponianowa kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej, LipA – syntaza liponianowa, LipB – ligaza LipB, LplA – ligaza LplA, ? – fragment szlaku o niewiadomym przebiegu *in vivo*

Kompleks rozszczepiający glicynę, umiejscowiony w mitochondriach wątroby, katabolizuje glicynę do CO_2 i NH_3 . W kompleksie tym ramię utworzone przez liponian i lizynę przenosi grupę metyloaminową, pozostała po dekarboksylacji glicyny, na tetrahydrofolian (THF). Następnie grupa metylowa jest wiązana przez THF, a cząsteczka amoniaku zostaje uwolniona, co kończy proces degradacji glicyny. W tej reakcji liponian także jest redukowany do dihydroliponianu, a następnie odtwarzany z udziałem dehydrogenazy dihydrolipoamidowej z jednoczesną syntezą NADH [21].

BIOSYNTEZA KWASU LIPONOWEGO

Początkowo kwas liponowy uważany był za witaminę, później jednak okazało się, że może być syntetyzowany zarówno przez rośliny jak i zwierzęta z człowiekiem włącznie [48]. Badania na szczurach, którym podawano znakowane radioaktywnie źródła siarki i węgla, sugerują, że prekursorem łańcucha węglowego liponianu jest kaprylan, podczas gdy atomy siarki pochodzą z cysteiny [19].

Szlak biosyntezy liponianu został dokładnie zbadany u *E. coli* (ryc. 3). Zidentyfikowano enzym katalizujący powstawanie wiązań C-S – syntazę liponianową (lipA) oraz dwie ligazy (lipB i lplA), odpowiedzialne za włączanie liponianu w jego docelowe miejsce w enzymie. *In vitro* lipA jest zdolna do przekształcania kaprylo-ACP w liponylo-ACP. Przypuszczalnie bezpośrednim źródłem siarki wykorzystywanej w tej reakcji jest centrum Fe-S syntazy liponianowej, nie wiadomo jednak, jak odbywa się regeneracja enzymu [37]. Powstały liponylo-ACP jest następnie substratem dla ligazy lipB, która przenosi grupę liponianową

Tabela 1. Zawartość lipolizyny w produktach żywnościowych [35]

Produkt	Zawartość lipolizyny [mg/g suchej masy]
Nerka wołowa	2,6
Serce wołowe	1,5
Wątroba wołowa	0,9
Szpinak	3,2
Brokuły	0,9
Pomidory	0,6
Groszek	0,4
Bruksełka	0,4
Otręby ryżowe	0,2
Żółtko jaja kurzego	0,05

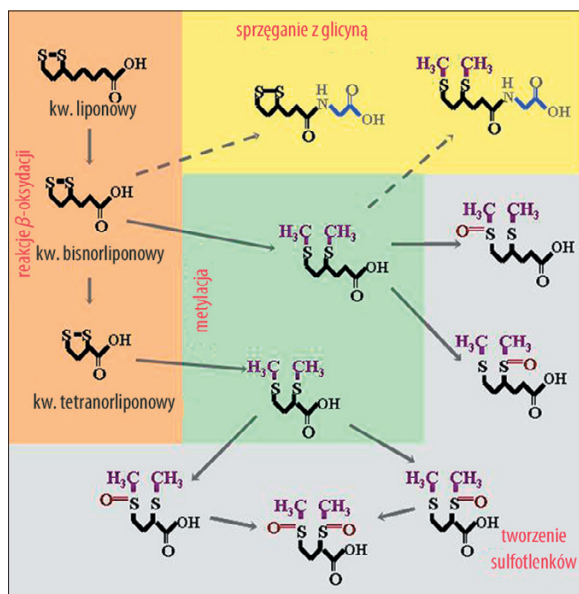
z ACP na docelową lizynę w białku enzymatycznym [40]. Wykazano jednak, że substratem dla syntazy liponianowej może być również podjednostka E2 dehydrogenazy pirogronianowej (acetylotransferaza dihydroliponianowa) z kaprylanem przyłączonym wcześniej w miejscu liponianu [14]. Niewykluczone więc, że synteza liponianu odbywa się już na docelowym białku. Możliwe jest również włączanie egzogenego liponianu w centra aktywne enzymów. U *E. coli* reakcję taką katalizuje ligaza lplA [42].

METABOLIZM KWASU LIPONOWEGO PRZYSWAJANEGO Z POKARMEM

Pokarm jest drugim, oprócz syntezy *de novo*, źródłem liponianu w komórkach ssaka. Najwięcej kwasu liponowego zawierają warzywa: brokuły i szpinak, a także podroby [35]. Z pożywienia LA przyswajany jest przede wszystkim w postaci lipolizyny (tabela 1), która we krwi może być hydrolizowana przez lipoamidazę (średnia aktywność w surowicy człowieka: 1,50 U/l) z uwolnieniem liponianu [25]. Zawartość lipolizyny w pokarmie nie pozwala jednak na uzyskanie skutecznych terapeutycznych stężeń kwasu liponowego we krwi. Przynajmniej tego związku jest natomiast wystarczająco dobra aby je uzyskać przez podawanie syntetycznego LA [8].

W badaniach dotyczących przyswajania kwasu liponowego używano zazwyczaj racematu tego związku. Szczury przyswajają 65–80% podanego im doustnie ^{14}C -LA [53]. U ludzi, ze względu na niemożność zastosowania technik izotopowych, przyswajanie określano na podstawie pomiaru stężenia liponianu we krwi po jego doustnym podaniu, prawdopodobnie więc uzyskane parametry są zaniżone z powodu intensywnego metabolizowania tego związku przez wątrobę. Przynajmniej kwasu liponowego podawanego w postaci wolnej określono u ludzi na 20–40%, w zależności od izomeru i sposobu podawania [8]. Łatwiej przyswajalny jest enancjomer R (38% przy podaniu 200 mg w roztworze wodnym) niż enancjomer S (28% przy analogicznym sposobie podawania).

Średnie szczytowe stężenie kwasu liponowego we krwi człowieka po doustnym podaniu 200 i 600 mg tego związku wy-



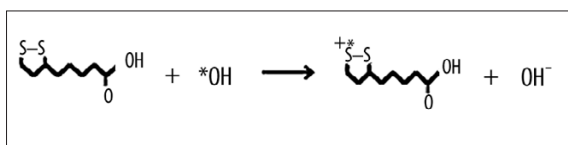
Ryc. 4. Metabolizm kwasu liponowego u ssaków. Linia przerywaną oznaczono niewystępujący u ludzi szlak sprzężenia metabolitów kwasu liponowego z glicyną

niosło odpowiednio 3,1 i 13,8 μM . Półokres eliminacji z krwi dla obydwu dawek określono na około 30 min [72]. Szybkie usuwanie LA z krwiobiegu jest m.in. wynikiem jego intensywnego metabolizowania w wątrobie, przede wszystkim w wyniku β -oksydacji. Zidentyfikowane we krwi metabolity kwasu liponowego to produkty jego β -oksydacji i S-metylacji oraz sulfotlenki powstałe wskutek utlenienia grup metylosulfonowych (ryc. 4) [59]. U różnych gatunków ssaków udział poszczególnych procesów w metabolizmie kwasu liponowego jest różny, obserwuje się więc również różnice w zawartości poszczególnych metabolitów we krwi i w moczu. Głównymi metabolitami kwasu liponowego występującymi we krwi człowieka są kwas 4,6-bismetylotioheksanowy i kwas 2,4-bismetylotiobutanowy [71]. U myszy i szczurów kwas liponowy może być także modyfikowany przez sprzężenie z glicyną, zjawiska tego nie zaobserwowano jednak u ludzi [59].

Większość produktów metabolizmu kwasu liponowego wydalana jest z moczem [59]. U myszy, szczurów i psów przez pierwsze 24 h po podaniu znakowanego radioaktywnie związku (znakowanie przy 7 i 8 węglu) odzyskano w moczu 55–72% radioaktywności, w zależności od gatunku zwierzęcia. W tym samym czasie w kale wydalone zostało 11–17% radioaktywności. W podobnym eksperymencie [53] po 168 h od podania znakowanego LA suma zmierzzonej w moczu radioaktywności odpowiadała 93% przyswojonej dawki.

W pobieraniu liponianu do komórek bierze udział prawdopodobnie ten sam przekaźnik, co w transporcie innych kwasów tłuszczowych o średniej długości łańcucha (np. kaprylanu). Liponian może być również pobierany za pośrednictwem dyfuzji, jednak przy jego fizjologicznych stężeniach proces ten raczej nie odgrywa znaczącej roli [10]. Godnym uwagi jest to, że liponian może przekraczać barierę krew-mózg [49].

W komórkach liponian jest redukowany do dihydroliponianu przez zależną od NADH mitochondrialną dehydrogenazę



Ryc. 5. Zmiananie rodników hydroksylowych przez kwas liponowy

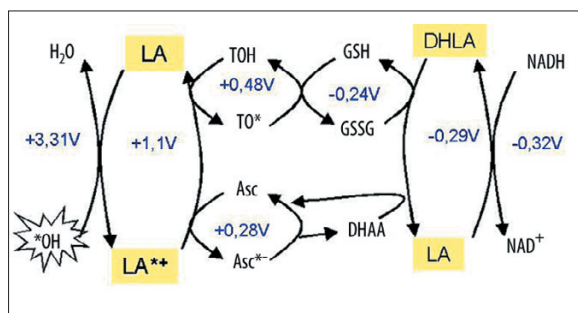
dihydroliponianową oraz przez umiejscowione w cytosolu reduktazy: glutationową oraz tioredoksynową, wykorzystujące wyraźną stereoswoistość w stosunku do kwasu R-liponowego. Enancjomer ten jest przez nią redukowany 18 razy szybciej niż enancjomer S [54]. Z kolei reduktaza glutationowa dwukrotnie szybciej katalizuje redukcję enancjomeru S niż enancjomeru R liponianu. Różnice te okazały się jednak mieć mniejsze znaczenie, niż początkowo uważano, gdyż cząsteczki LA i DHLA mogą się wzajemnie utleniać i redukować niezależnie od konformacji, w jakiej występują [8]. Tak więc, w przypadku szybszej redukcji enzymatycznej jednego z izomerów LA, powstałe cząsteczki DHLA będą uczestniczyć w nieenzymatycznej redukcji drugiego z izomerów.

PRZECIWIUTLENIAJĄCE WŁAŚCIWOŚCI KWASU LIPONOWEGO I DIHYDROLIPONOWEGO

Zmiananie wolnych rodników. Reaktywne formy tlenu (ROS) są wykorzystywane przez organizm do obrony przed patogenami oraz jako cząsteczki sygnałowe. Jednak z powodu ich dużej reaktywności zbyt duże stężenia ROS stanowią poważne zagrożenie dla organizmu. Zarówno kwas liponowy jak i DHLA mogą wchodzić w reakcje z niektórymi wolnymi rodnikami oraz nierodnikowymi ROS, nieszkodliwiając je.

Reakcja LA z wolnym rodnikiem prowadzi najczęściej do powstania kationorodnika kwasu liponowego (ryc. 5), znacznie mniej reaktywnego niż np. rodnik hydroksylowy, ale nadal stanowiącego zagrożenie dla komórek. Kationorodnik kwasu liponowego jest jednak łatwo przetwarzany w LA za pośrednictwem innych przeciwutleniaczy wewnątrzkomórkowych, które z kolei mogą być regenerowane przez DHLA. Taka sekwencja reakcji prowadzi do ostatecznego unieszkodliwienia wolnego rodnika [36].

Liczne badania *in vitro* wykazały, że kwas liponowy jest zdolny do zmiatania rodników hydroksylowych (OH^\bullet), tlenu singletowego ($^1\text{O}_2$), kwasu podchlorawego (HOCl) oraz nadtlenoazotynu (ONOO^-), nie reaguje natomiast z anionorodnikiem ponadtlenkowym ($\text{O}_2^{\bullet-}$) oraz z nadtlenkiem wodoru [50,60,68]. Prawdopodobnie LA może neutralizować także rodniki peroksyłowe (ROO^\bullet), nie ma jednak co do tego pewności. Skutecznym zmiataczem rodników peroksyłowych jest natomiast kwas dihydroliponowy [28]. Neutralizuje on również $\text{O}_2^{\bullet-}$, HOCl , ONOO^- oraz prawdopodobnie OH^\bullet [50,68]. Okazał się jednak nieskuteczny w unieszkodliwianiu singletowych form tlenu oraz – podobnie jak LA – nadtlenku wodoru. Zdolność do zmiatania wolnych rodników mają również niektóre metabolity kwasu liponowego: bisnorliponian i tetranorliponian. Mogą one reagować m.in. z $\text{O}_2^{\bullet-}$ [17], a bisnorDHLA i tetranorDHLA są silniejszymi zmiataczami $\text{O}_2^{\bullet-}$ niż DHLA [68].



Ryc. 6. Interakcje kwasu liponowego (LA) i dihydroliponowego (DHLA) z innymi przeciwutleniaczami. Podano potencjały oksydo-redukcyjne reakcji. Asc – kwas askorbinowy (witamina C), DHAA – kwas dehydroaskorbinowy, TOH – α -tokoferol (witamina E)

Zdolność LA i DHLA do reakcji z ROS jest porównywalna, a czasami nawet silniejsza niż związków, takich jak GSH czy askorbinian. Dokładne wyznaczenie stałych szybkości reakcji jest utrudnione ze względu na możliwe interakcje LA i DHLA z wykorzystanymi w doświadczeniach układami generującymi wolne rodniki (np. z układami zawierającymi jony żelaza) oraz z ich detektorami (np. cytochromem c) [17]. Jednak zastosowanie różnorodnych układów doświadczalnych pozwala wykluczyć wpływ artefaktów i dość dokładnie określić zdolność LA i DHLA do zmiatania ROS.

Chelatowanie jonów metali. Zdolność metali przejściowych do występowania na różnych stopniach utlenienia jest wykorzystywana w wielu komórkowych reakcjach redoks. Jony żelaza, miedzi czy kobaltu związane z enzymami służą jako donory i akceptory elektronów, katalizując przebieg reakcji. Jednak jony metali niezwiązane z białkami mogą stanowić zagrożenie dla komórek, gdyż wchodzą w reakcje utlenienia-redukcji w sposób niekontrolowany, prowadząc m.in. do powstawania bardzo reaktywnego rodnika hydroksylowego. Dlatego też chelatowanie jonów metali może się przyczynić do ograniczenia stresu oksydacyjnego.

Kwas liponowy może wiązać Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} oraz Pb^{2+} [63], podczas gdy wyniki dotyczące jonów żelaza nie są jednoznaczne [16,60]. Prawdopodobnie LA może tworzyć kompleksy z Fe^{2+} , ale nie z Fe^{3+} . Zarówno Fe^{2+} jak i Fe^{3+} są za to chelatowane przez DHLA [26], który wiąże także jony Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} i Hg^{2+} [50]. Z kolei metabolity kwasu liponowego, takie jak kwas tetranorliponowy i bisnorliponowy tworzą kompleksy z Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} i Mn^{2+} , niejednokrotnie stabilniejsze niż kompleksy tych jonów z liponianem [63]. Może być to wynikiem mniejszej odległości między grupą karboksylową a pierścieniem ditiolowym. W kompleksowanie jonów metali z liponianem jest zaangażowana przede wszystkim grupa karboksylowa tego związku, zatem przy krótszym łańcuchu alifatycznym pierścienie mogłyby dodatkowo stabilizować kompleks [63].

Liczne doświadczenia dowodzą, że LA i DHLA zapobiegają następstwom stresu oksydacyjnego wywołanego jonami metali przejściowych. Trudno jest jednak oddzielić skutek ich właściwości chelatujących od np. następstw zmiatania

wolnych rodników. Dane na ten temat są wciąż fragmentaryczne. Wykazano m.in. że liponian zapobiega katalizowanemu przez Cu^{2+} utlenianiu askorbinianu, czemu towarzyszy wzrost zawartości Cu^{2+} w fazie hydrofobowej po ekstrakcji, co sugeruje obecność hydrofobowych kompleksów liponianu z Cu^{2+} [47]. Z kolei w hepatocytach traktowanych Cd^{2+} zarówno DHLA jak i, w mniejszym stopniu, LA zapobiegają uszkodzeniom wywołanym przez ten metal m.in. zmniejszając jego pobieranie do komórek, co może być skutkiem wiązania jonów poza komórką [44].

DHLA wydaje się silniejszym chelatorem niż LA, jednak oddziaływanie jonów metali z DHLA mogą być przyczyną działania prooksydacyjnego. Działanie takie obserwowano w niektórych układach doświadczalnych w obecności jonów Fe^{3+} [60] i Cu^{2+} [57]. Prawdopodobnie jest on wynikiem redukcji związanego jonu przez DHLA. Wydaje się jednak, że *in vivo* przeciwutleniające właściwości DHLA przeważają nad jego działaniem prooksydacyjnym.

Regeneracja przeciwutleniaczy wewnątrzkomórkowych. Zarówno *in vitro* [9,24] jak i *in vivo* [5,45] liponian podnosi stężenia takich przeciwutleniaczy wewnątrzkomórkowych jak GSH, witamina C czy witamina E. Interakcje LA i DHLA z innymi drobnocząsteczkowymi antyoksydantami zilustrowano na ryc. 6.

Potencjał redoks pary LA/DHLA wynosi $-0,29V$, DHLA jest więc zdolny do bezpośredniej redukcji GSSG do GSH (potencjał redoks GSSG/GSH = $-0,24V$) [10]. Może to częściowo tłumaczyć obserwowany pod wpływem liponianu wzrost stężenia GSH w komórkach. Jednak w niektórych liniach komórkowych obserwowany pod wpływem liponianu wzrost stężenia GSH sięgał 50–70% wartości kontrolnych [9], nie mógł więc wynikać jedynie ze wzmoczonej redukcji GSSG, którego stężenie w komórkach jest wielokrotnie niższe niż GSH. Zaproponowano dwa wyjaśnienia tego zjawiska: uwalnianie GSH związanego np. z białkami oraz stymulację syntezy glutationu [8]. Jednocześnie wykazano, że liponian ułatwia pobieranie do komórek cysteiny, której dostępność jest często czynnikiem limitującym tempo syntezy glutationu. LA ulega redukcji do DHLA, który po przedostaniu się do przestrzeni międzykomórkowej uczestniczy w redukcji cystyny do cysteiny. W przeciwieństwie do cystyny, cysteina może być transportowana do komórki przez przENOŚniki aminokwasów obojętnych. W transporcie cystyny do komórek uczestniczą natomiast antyportery cystyna-glutaminian, których aktywność jest hamowana w obecności wysokich stężeń glutaminianu oraz których ekspresja na powierzchni niektórych typów komórek (m.in. limfocytów) jest bardzo niska, co przy obniżonej dostępności cysteiny skutkuje spowolnieniem syntezy glutationu [23]. Za takim mechanizmem działania liponianu przemawia również to, że inhibitory syntezy białek, takie jak cykloheksimid, pozostają bez wpływu na stymulację syntezy glutationu przez LA [24]. Działanie kwasu liponowego wydaje się więc niezależne od poziomu ekspresji białek enzymatycznych, w tym również enzymów syntetyzujących GSH.

Zwiększenie stężenia GSH i stosunku GSH/GSSG pociąga za sobą wzrost efektywności zachodzącej z udziałem GSH regeneracji witamin C i E. Oprócz tego DHLA może bezpośrednio przyczynić do wzrostu stężenia askorbinia-

nu, uczestnicząc w jego nieenzymatycznym odtwarzaniu z dehydroaskorbinianu [8]. Redukcja dehydroaskorbinianu przez DHLA *in vitro* przebiega około 25 razy szybciej niż analogiczna reakcja z udziałem GSH. W warunkach fizjologicznych, przy stężeniach GSH około stukrotnie wyższych niż DHLA [24], GSH pozostaje wprawdzie głównym reduktorem dehydroaskorbinianu, jednak udział DHLA w tym procesie może być znaczący, zwłaszcza w warunkach wzmożonego stresu oksydacyjnego [8].

Oprócz redukcji GSSG i dehydroaskorbinianu, DHLA może również regenerować ubichinol, zarówno z ubichinonu jak i z ubisemichinonu [33]. Wydaje się, że mimo zdolności do przenikania przez błony komórkowe LA i DHLA nie mogą bezpośrednio odtwarzać witaminy E. Obserwowana pod wpływem DHLA wzmożona regeneracja witaminy E jest przede wszystkim skutkiem zwiększenia stężenia GSH i witaminy C, które bezpośrednio uczestniczą w redukcji witaminy E [28].

Wpływ na szlaki sygnałowe zależne od stanu redoks. Niektóre z działań liponianu, takie jak zmniejszanie wytwarzania mediatorów reakcji zapalnej [30] czy obniżanie ekspresji endoteliny 1 [46], wiążą się z jego wpływem na aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Kwas liponowy zapobiega aktywacji NF- κ B wywoływanej zarówno przez czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α) jak i estry forbolu [66]. Wtórnymi przekaźnikami w kaskadzie sygnałowej prowadzącej do aktywacji NF- κ B mogą być wolne rodniki, dlatego wiele przeciwutleniaczy, w tym kwas liponowy, skutecznie przeciwdziałają temu zjawisku [62]. Co ciekawe, LA może hamować, a DHLA stymulować wiązanie się NF- κ B z DNA [67].

WYKORZYSTANIE KWASU LIPONOWEGO W TERAPII

Kwas liponowy jest obecnie stosowany w terapii zatrutych metalami ciężkimi, zatrutych grzybami, marskości wątroby oraz neuropatii cukrzycowej. Okazał się również skuteczny w doświadczeniach na zwierzęcych modelach innych schorzeń i stanów patologicznych, m.in. stwardnienia rozsianego, nadciśnienia, niedokrwienne uszkodzenia mózgu oraz uszkodzeń spowodowanych chemioterapeutykami.

Działanie hipoglikemiczne i antyoksydacyjne w cukrzycy. W kilku różnych zwierzęcych modelach cukrzycy wykazano poprawę kontroli glikemii pod wpływem kwasu liponowego [65,73], a u pacjentów z cukrzycą typu 2 obserwowano wzrost wrażliwości na insulinę po podaniu LA [26]. Hipoglikemiczne działanie LA wiąże się z ograniczeniem prowadzącej do uszkodzeń komórek B akumulacji triacylogliceroli w trzustce [65], zapobieganiem powstawaniu insulinooporności [73] oraz zwiększeniem efektywności insuliny w stymulowaniu pobierania glukozy do komórek mięśniowych, syntezy glikogenu i utleniania glukozy [27]. Przeciwdziałanie powstawaniu insulinooporności przez LA może wynikać ze stymulacji utleniania kwasów tłuszczowych, co zapobiega ich akumulacji prowadzącej do zmniejszenia wrażliwości komórek na insulinę [20].

Liponian może stymulować komórki do pobierania glukozy, co wykazano *in vitro* w adipocytach, komórkach mięśni szkieletowych [32] i kardiomiocytach [56]. Działanie to powiązane z aktywowaniem przez LA szlaków sygna-

lowych insuliny [77]. Jednak w badaniach na mięśniach szkieletowych izolowanych z otyłych szczurów stwierdzono, że insulinoподобne działanie liponianu jest niezależne od aktywacji szlaków sygnałowych insuliny, a wynika ze stymulacji szlaku kinazy aktywowanej przez AMP (AMPK) [34].

Wpływ kwasu liponowego na metabolizm glukozy przejawia się również hamowaniem glukoneogenezy oraz stymulacją glikolizy [48]. Inhibicja glukoneogenezy może być skutkiem obniżania przez kwas liponowy aktywności karboksylazy pirogronianowej, prawdopodobnie wskutek konkurencji LA z biotyną, kofaktorem tego enzymu [78]. Z kolei stymulacja glikolizy przez LA może wynikać ze zwiększenia aktywności dehydrogenazy pirogronianowej [76] lub podwyższenia stosunku $NAD^+/NADH$, przypuszczalnie w wyniku utleniania NADH do NAD^+ podczas redukcji LA do DHLA. Jest to szczególnie ważne w cukrzycy, dla której charakterystyczne jest silne zredukowanie puli nukleotydów nikotynoamidoadeninowych przyczyniające się do obniżenia intensywności glikolizy [48].

W terapii cukrzycy korzystne mogą się okazać również antyoksydacyjne właściwości liponianu, bowiem przyczyną licznych powikłań typowych dla tej choroby jest towarzyszący jej stres oksydacyjny. Przeciwwutleniające właściwości LA wykazano u szczurów z cukrzycą streptozotocynową, u których podawanie kwasu liponowego ograniczało peroksydację lipidów w wątrobie, trzustce [18], mózgu [6] i naczyniach krwionośnych [31]. Podobne działanie obserwowano we krwi pacjentów z cukrzycową neuropatią [1].

Kwas liponowy jest z powodzeniem stosowany w terapii cukrzycowej neuropatii [8], a, jak wykazały badania na zwierzętach, związek ten może być skuteczny również w leczeniu wczesnych stadiów cukrzycy oraz innych powikłań towarzyszących tej chorobie, m.in. nefropatii [39,73]. Poprawę funkcjonowania nerek pod wpływem LA wiąże się przede wszystkim z przeciwutleniającymi właściwościami tego związku [39].

Właściwości immunomodulacyjne. Kwas liponowy, podobnie jak wiele innych przeciwutleniaczy, wykazuje właściwości immunomodulacyjne. Związek ten okazał się skutecznym terapeutycznym w doświadczalnych modelach stwardnienia rozsianego [38,41] i astmy [13] – schorzeń związanych z nadaktywnością układu odpornościowego.

Badania na mysich modelach stwardnienia rozsianego sugerują, że hamowanie przez kwas liponowy demielinacji, odpowiedzialnej za rozwój choroby, wiąże się z obniżeniem napływu limfocytów T i makrofagów do ośrodkowego układu nerwowego, mniejszym wydzielaniem cytokin prozapalnych: interferonu γ (INF- γ) i interleukiny 4 (IL-4) przez limfocyty T oraz hamowaniem aktywności wydzielanych przez leukocyty metaloproteinaz [38,41].

W modelu astmy u myszy traktowanych kwasem liponowym obserwuje się podobne efekty [13]. W porównaniu z myszami nietraktowanymi, obniżeniu ulega u nich liczba komórek odpornościowych oraz zawartość cytokin prozapalnych: interleukiny 4 i 5 (IL-4 i IL-5) w płynie oskrzelowym. Po podaniu myszom LA zmniejsza się procentowy udział eozynofili (których obecność jest charakterystyczna

dla reakcji alergicznych) wśród leukocytów znajdujących się w płynie oskrzelowym oraz spada stężenie swoistych dla alergenu immunoglobulin IgE we krwi. U podłoża immunosupresyjnego działania kwasu liponowego może leżeć zapobieganie aktywacji NF- κ B – czynnika transkrypcyjnego odpowiedzialnego m.in. za proliferację leukocytów i syntezę niektórych cytokin. W tkance płuc izolowanej z myszy z astmą obserwuje się bowiem podwyższoną w porównaniu z tkanką zwierząt zdrowych zdolność wiązania się NF- κ B z DNA, a podawanie kwasu liponowego ogranicza towarzyszący astmie wzrost aktywności tego czynnika transkrypcyjnego.

Zapobieganie uszkodzeniom wywołanym niedokrwieniem. Kwas liponowy przeciwdziała uszkodzeniom związanym z eksperymentalnym niedokrwieniem i reperfużą. Działanie takie wykazano m.in. w nerkach [69], sercu [15], wątrobie [43], siatkówce oka [12] i mózgu [11]. Podawanie szczurom kwasu liponowego przez 7 dni przed wywołaniem ischemii znacznie ogranicza spowodowane niedotlenieniem zmiany histologiczne w mózgu, takie jak obniżenie gęstości neuronów i średnicy perykarionów. Mniejsza jest również aktywność kaspazy 3 w tkance mózgowej zwierząt traktowanych LA, co sugeruje, że działanie antyapoptotyczne może być jednym z możliwych mechanizmów przeciwdziałania uszkodzeniom spowodowanym niedokrwieniem [55]. Z kolei w izolowanych wątrobach szczurzych oraz *in vivo* LA wykazuje wprawdzie wyraźne działanie hepatoprotekcyjne, nie zapobiega jednak wywołanemu niedokrwieniem wzrostowi aktywności kaspazy 3 [43]. Jego działanie powiązано natomiast z aktywacją szlaku kinazy Akt, zaangażowanej w niektóre efekty cytoprotekcyjne. Pod wpływem kwasu liponowego obserwuje się bowiem wzmoczoną fosforylację kinazy Akt, podczas gdy inhibitor kinazy PI-3 aktywującej Akt znosi hepatoprotekcyjne działanie LA. Ponadto kwas liponowy zapobiega spadkowi zawartości ATP i aktywacji prozapalnych czynników transkrypcyjnych NF- κ B i AP-1, co również może się przyczyniać do ograniczenia uszkodzeń wywołanych niedokrwieniem i reperfużą. Z kolei nefroprotekcyjne działanie kwasu liponowego podczas niedokrwienia/reperfuzyj może być wynikiem hamowania nadmiernej syntezy endoteliny 1 pod wpływem podawanego zwierzętom LA [70].

Działania korzystne w terapii nadciśnienia. Badania z zastosowaniem dwóch różnych modeli nadciśnienia (nadciśnienie wywołwane octanem deoksykortykosteronu [69] oraz nadciśnienie powstające spontanicznie u szczurów linii SHR wskutek zaburzeń w gospodarce wapniowej [75]) dowodzą korzystnego dla terapii tego schorzenia działania kwasu liponowego. Oprócz normalizacji ciśnienia krwi, LA zapobiega wywołanym nadciśnieniem patologicznym zmianom naczyń i nerek: przerostowi ścian aorty, tętnic i tętniczek nerkowych, uszkodzeniom kłębuszków nerkowych, białkomoczowi. Przyczyn takiego działania kwasu liponowego upatruje się w zapobieganiu nadmiernemu wytwarzaniu endoteliny 1, białka powodującego obkurczanie naczyń krwionośnych oraz stymulującego proliferację komórek mięśniówki naczyń, którego nadekspresję często obserwuje się w nadciśnieniu [69].

Wpływ na procesy towarzyszące starzeniu. Wraz z wiekiem zmniejsza się skuteczność działania mechanizmów

antyoksydacyjnych, dlatego starsze organizmy są bardziej narażone na konsekwencje stresu oksydacyjnego. W tkankach starych szczurów (wątroba, nerka, mózg, krew) obserwuje się wzmoczoną peroksydację lipidów, obniżenie zawartości witaminy C, E i GSH oraz spadek aktywności reduktazy glutationowej, peroksydazy glutationowej i S-transferazy glutationowej w porównaniu ze zwierzętami młodymi [3,5]. Podawanie kwasu liponowego znacznie podnosi zawartość przeciwutleniaczy enzymatycznych i nieenzymatycznych oraz zmniejsza stopień peroksydacji lipidów u starych zwierząt. Niektóre z tych działań dają się zauważyć również u młodych osobników, jednak w dużo mniejszym stopniu niż u starych.

Wzmoczenie stresu oksydacyjnego u starych osobników może wynikać również z mniej wydajnej syntezy ATP i NADH. U starych zwierząt obserwuje się bowiem mniejszą aktywność enzymów mitochondrialnych, m.in. enzymów cyklu Krebsa i łańcucha oddechowego. LA z kolei podnosi u starych szczurów aktywność, takich enzymów jak: dehydrogenaza izocytrynianowa, kompleks dehydrogenazy α -ketoglutaranowej, dehydrogenaza bursztynianowa, dehydrogenaza NADH i oksydaza cytochromowa [4]. Towarzyszy temu poprawa parametrów związanych z uszkodzeniami oksydacyjnymi, m.in. obniżenie stopnia peroksydacji lipidów. Możliwe więc, że również tą drogą kwas liponowy ogranicza występowanie stresu oksydacyjnego u starych osobników.

Przeciwdziałanie toksyczności metali ciężkich. Kwas liponowy może zapobiegać skutkom zatruc rębcią, arsenem, kadmem, ołowiem i innymi metalami ciężkimi [52]. Wydaje się, że w przypadku poszczególnych metali różne mechanizmy odpowiadają za ochronne działanie LA. Obserwowano np., że pod wpływem kwasu liponowego następuje spowolnienie wchłaniania arsenu z przewodu pokarmowego [74], usuwanie zakumulowanej w nerkach rębci [29] oraz zwiększone wydalanie tego metalu z żółcią [22]. Uszkodzenia tkanki nerwowej towarzyszące podawaniu rębci są ograniczane przez LA dzięki wzrostowi stężenia przeciwutleniaczy wewnątrzkomórkowych oraz obniżeniu stopnia peroksydacji lipidów [2]. U zwierząt traktowanych ołowiem kwas liponowy także zapobiega spadkowi stosunku GSH/GSSG i hamuje peroksydację lipidów, nie wpływając jednocześnie na poziom ołowiu we krwi ani na jego akumulację w tkankach [51].

Ograniczanie ubocznych skutków chemioterapii. U szczurów kwas liponowy skutecznie ogranicza wywołane podawaniem cyklofosfamidu uszkodzenia serca [45] i jąder [61] oraz nefrotoksyczność [64] i ototoksyczność [58] cisplatyny. We wszystkich przytoczonych badaniach podawaniu chemioterapeutyków towarzyszył spadek aktywności enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej, reduktazy glutationowej, peroksydazy glutationowej i S-transferazy glutationowej), obniżenie stężenia przeciwutleniaczy wewnątrzkomórkowych (GSH, witamin C i E) oraz wzrost peroksydacji lipidów w uszkodzonych tkankach. Podawanie LA znacznie ogranicza te zmiany, nierzadko przywracając wyżej wymienione parametry do wartości kontrolnych. W przypadku cisplatyny obserwowano również obniżenie akumulacji platyny w nerkach, co może być odzwierciedleniem chelatujących właściwości kwasu liponowego [64].

UWAGI KOŃCOWE

Stres oksydacyjny jest przyczyną wielu zmian patologicznych towarzyszących m.in. miażdżycy, cukrzycy, reakcji zapalnej czy niedotlenieniu tkanek. Dlatego też skuteczne w leczeniu tych schorzeń okazuje się zastosowanie przeciwutleniaczy. W związku z szerokim zakresem działania antyoksydacyjnego, kwas liponowy wydaje się związkiem niezwykle interesującym z punktu widzenia terapii cukrzycy, chorób autoimmunologicznych i neurodegeneracyjnych oraz uszkodzeń polekowych. Wykorzystanie terapeutyczne mogą znaleźć

także inne właściwości kwasu liponowego, a przede wszystkim zdolność do modulowania metabolizmu glukozy oraz aktywności czynników transkrypcyjnych, takich jak NF- κ B czy AP-1. Nie jest również bez znaczenia to, że związek ten może swobodnie przekraczać barierę krew-mózg i jest dobrze tolerowany przez organizm człowieka.

Podziękowania

Autorki dziękują Pani Profesor dr hab. Jadwidze Bryle za uwagi pomocne w przygotowaniu artykułu.

PIŚMIENICTWO

- [1] Androne L., Gavan N.A., Veresiu I.A., Orasan R.: *In vivo* effect of lipoic acid on lipid peroxidation in patients with diabetic neuropathy. *In Vivo*, 2000; 14: 327–330
- [2] Anuradha B., Varalakshmi P.: Protective role of DL-alpha-lipoic acid against mercury-induced neural lipid peroxidation. *Pharmacol. Res.*, 1999; 39: 67–80
- [3] Arivazhagan P., Panneerselvam C.: Effect of DL-alpha-lipoic acid on neural antioxidants in aged rats. *Pharmacol. Res.*, 2000; 42: 219–222
- [4] Arivazhagan P., Ramanathan K., Panneerselvam C.: Effect of DL-alpha-lipoic acid on mitochondrial enzymes in aged rats. *Chem. Biol. Interact.*, 2001; 138: 189–198
- [5] Arivazhagan P., Ramanathan K., Panneerselvam C.: Effect of DL-alpha-lipoic acid on glutathione metabolic enzymes in aged rats. *Exp. Gerontol.*, 2001; 37: 81–87
- [6] Baydas G., Donder E., Kiliboz M., Sonkaya E., Tuzcu M., Yasar A., Nedzvetskii V.S.: Neuroprotection by alpha-lipoic acid in streptozotocin-induced diabetes. *Biochemistry (Mosc.)*, 2004; 69: 1001–1005
- [7] Berg A., de Kok A.: 2-Oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes. The central role of the lipoyl domain. *Biol. Chem.*, 1997; 378: 617–634
- [8] Biewenga G.P., Haenen G.R., Bast A.: The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen. Pharmacol.*, 1997; 29: 315–331
- [9] Busse E., Zimmer G., Schopohl B., Kornhuber B.: Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione *in vitro* and *in vivo*. *Arzneimittelforschung*, 1992; 42: 829–831
- [10] Bustamante J., Lodge J.K., Marcocci L., Tritschler H.J., Packer L., Rihl B.H.: Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 1998; 24: 1023–1039
- [11] Cao X., Phillis J.W.: The free radical scavenger, alpha-lipoic acid, protects against cerebral ischemia-reperfusion injury in gerbils. *Free Radic. Res.*, 1995; 23: 365–370
- [12] Chidlow G., Schmidt K.G., Wood J.P., Melena J., Osborne N.N.: Alpha-lipoic acid protects the retina against ischemia-reperfusion. *Neuropharmacology*, 2002; 43: 1015–1025
- [13] Cho Y.S., Lee J., Lee T.H., Lee E.Y., Lee K.U., Park J.Y., Moon H.B.: alpha-Lipoic acid inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 114: 429–435
- [14] Cicchillo R.M., Iwig D.F., Jones A.D., Nesbitt N.M., Baleanu-Gogonea C., Souder M.G., Tu L., Booker S.J.: Lipoyl synthase requires two equivalents of S-adenosyl-L-methionine to synthesize one equivalent of lipoic acid. *Biochemistry*, 2004; 43: 6378–6386
- [15] Coombes J.S., Powers S.K., Hamilton K.L., Demirel H.A., Shanely R.A., Zergeroglu M.A., Sen C.K., Packer L., Ji L.L.: Improved cardiac performance after ischemia in aged rats supplemented with vitamin E and alpha-lipoic acid. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2000; 279: R2149–R2155
- [16] Cornaro U., Cariati F., Bonomi F.: Evidences for the formation of complexes of DL-dihydrothioctic acid (reduced lipoic acid) with Ni²⁺, Co²⁺ and Fe³⁺ salts. *Rev. Port. Quim.*, 1985; 27: 273–274
- [17] Dikalov S., Khrantsov V., Zimmer G.: Determination of rate constants of the reactions of thiols with superoxide radical by electron paramagnetic resonance: critical remarks on spectrophotometric approaches. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1996; 326: 207–218
- [18] Dincer Y., Telci A., Kayali R., Yilmaz I.A., Cakatay U., Akcay T.: Effect of alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and anti-oxidant enzyme activities in diabetic rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2002; 29: 281–284
- [19] Dupre S., Spoto G., Matarese R.M., Orlando M., Cavallini D.: Biosynthesis of lipoic acid in the rat: incorporation of 35S- and 14C-labeled precursors. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1980; 202: 361–365
- [20] Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M.: Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.*, 2002; 23: 599–622
- [21] Faure M., Bourguignon J., Neuburger M., MacHerel D., Sieker L., Ober R., Kahn R., Cohen-Addad C., Douce R.: Interaction between the lipamide-containing H-protein and the lipamide dehydrogenase (L-protein) of the glycine decarboxylase multienzyme system 2. Crystal structures of H- and L-proteins. *Eur. J. Biochem.*, 2000; 267: 2890–2898
- [22] Gregus Z., Stein A.F., Varga F., Klaassen C.D.: Effect of lipoic acid on biliary excretion of glutathione and metals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1992; 114: 88–96
- [23] Han D., Handelman G., Marcocci L., Sen C.K., Roy S., Kobuchi H., Tritschler H.J., Flohe L., Packer L.: Lipoic acid increases *de novo* synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization. *Biofactors*, 1997; 6: 321–338
- [24] Han D., Tritschler H.J., Packer L.: Alpha-lipoic acid increases intracellular glutathione in a human T-lymphocyte Jurkat cell line. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995; 207: 258–264
- [25] Hayakawa K., Oizumi J.: Human serum lipoamidase. *Enzyme*, 1988; 40: 30–36
- [26] Jacob S., Ruus P., Hermann R., Tritschler H.J., Maerker E., Renn W., Augustin H.J., Dietze G.J., Rett K.: Oral administration of RAC-alpha-lipoic acid modulates insulin sensitivity in patients with type-2 diabetes mellitus: a placebo-controlled pilot trial. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 27: 309–314
- [27] Jacob S., Streeper R.S., Fogt D.L., Hokama J.Y., Tritschler H.J., Dietze G.J., Henriksen E.J.: The antioxidant alpha-lipoic acid enhances insulin-stimulated glucose metabolism in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes*, 1996; 45: 1024–1029
- [28] Kagan V.E., Shvedova A., Serbinova E., Khan S., Swanson C., Powell R., Packer L.: Dihydroliipoic acid – a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.*, 1992; 44: 1637–1649
- [29] Keith R.L., Setiarahardjo I., Fernando Q., Aposhian H.V., Gandolfi A.J.: Utilization of renal slices to evaluate the efficacy of chelating agents for removing mercury from the kidney. *Toxicology*, 1997; 116: 67–75
- [30] Kierner A.K., Muller C., Vollmar A.M.: Inhibition of LPS-induced nitric oxide and TNF-alpha production by alpha-lipoic acid in rat Kupffer cells and in RAW 264.7 murine macrophages. *Immunol. Cell. Biol.*, 2002; 80: 550–557
- [31] Kocak G., Aktan F., Canbolat O., Ozogul C., Elbeg S., Yildizoglu-Ari N., Karasu C.: Alpha-lipoic acid treatment ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes Nutr. Metab.*, 2000; 13: 308–318
- [32] Konrad D., Somwar R., Sweeney G., Yaworsky K., Hayashi M., Ramlal T., Klip A.: The antihyperglycemic drug alpha-lipoic acid stimulates glucose uptake via both GLUT4 translocation and GLUT4 activation: potential role of p38 mitogen-activated protein kinase in GLUT4 activation. *Diabetes*, 2001; 50: 1464–1471
- [33] Kozlov A.V., Gille L., Staniek K., Nohl H.: Dihydroliipoic acid maintains ubiquinone in the antioxidant active form by two-electron reduction of ubiquinone and one-electron reduction of ubisemiquinone. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1999; 363: 148–154

- [34] Lee W.J., Song K.H., Koh E.H., Won J.C., Kim H.S., Park H.S., Kim M.S., Kim S.W., Lee K.U., Park J.Y.: alpha-Lipoic acid increases insulin sensitivity by activating AMPK in skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 332: 885–891
- [35] Lodge J.K., Youn H.D., Handelman G.J.: Natural sources of lipoic acid: determination of lipoylsine released from protease-digested tissues by high performance liquid chromatography incorporating electrochemical detection. *J. Appl. Nutr.*, 1997; 49: 3–11
- [36] Lu C., Liu Y.: Interactions of lipoic acid radical cations with vitamins C and E analogue and hydroxycinnamic acid derivatives. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2002; 406: 78–84
- [37] Marquet A.: Enzymology of carbon-sulfur bond formation. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2001; 5: 541–549
- [38] Marracci G.H., Jones R.E., McKeon G.P., Bourdette D.N.: Alpha lipoic acid inhibits T cell migration into the spinal cord and suppresses and treats experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.*, 2002; 131: 104–114
- [39] Melhem M.F., Craven P.A., Derubertis F.R.: Effects of dietary supplementation of alpha-lipoic acid on early glomerular injury in diabetes mellitus. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001; 12: 124–133
- [40] Miller J.R., Busby R.W., Jordan S.W., Cheek J., Henshaw T.F., Ashley G.W., Broderick J.B., Cronan J.E. Jr, Marletta M.A.: Escherichia coli LipA is a lipoyl synthase: *in vitro* biosynthesis of lipoylated pyruvate dehydrogenase complex from octanoyl-acyl carrier protein. *Biochemistry*, 2000; 39: 15166–15178
- [41] Morini M., Roccatagliata L., Dell'Eva R., Pedemonte E., Furlan R., Minghelli S., Giunti D., Pfeffer U., Marchese M., Noonan D., Mancardi G., Albini A., Uccelli A.: Alpha-lipoic acid is effective in prevention and treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.*, 2004; 148: 146–153
- [42] Morris T.W., Reed K.E., Cronan J.E. Jr: Lipoic acid metabolism in Escherichia coli: the lplA and lipB genes define redundant pathways for ligation of lipoyl groups to apoprotein. *J. Bacteriol.*, 1995; 177: 1–10
- [43] Muller C., Dunschede F., Koch E., Vollmar A.M., Kiemer A.K.: Alpha-lipoic acid preconditioning reduces ischemia-reperfusion injury of the rat liver via the PI3-kinase/Akt pathway. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2003; 285: G769–G778
- [44] Muller L., Menzel H.: Studies on the efficacy of lipoate and dihydro-lipoate in the alteration of cadmium²⁺ toxicity in isolated hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1990; 1052: 386–391
- [45] Mythili Y., Sudharsan P.T., Selvakumar E., Varalakshmi P.: Protective effect of DL-alpha-lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. *Chem. Biol. Interact.*, 2004; 151: 13–19
- [46] Ohkita M., Takaoka M., Kobayashi Y., Itoh E., Uemachi H., Matsumura Y.: Involvement of proteasome in endothelin-1 production in cultured vascular endothelial cells. *Jpn. J. Pharmacol.*, 2002; 88: 197–205
- [47] Ou P., Tritschler H.J., Wolff S.P.: Thioctic (lipoic) acid: a therapeutic metal-chelating antioxidant? *Biochem. Pharmacol.*, 1995; 50: 123–126
- [48] Packer L., Kraemer K., Rimbach G.: Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 2001; 17: 888–895
- [49] Packer L., Tritschler H.J., Wessel K.: Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic. Biol. Med.*, 1997; 22: 359–378
- [50] Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J.: alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.*, 1995; 19: 227–250
- [51] Pande M., Flora S.J.: Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology*, 2002; 177: 187–196
- [52] Patrick L.: Toxic metals and antioxidants: Part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. *Altern. Med. Rev.*, 2003; 8: 106–128
- [53] Peter G., Borbe H.O.: Absorption of [7,8-¹⁴C]rac-a-lipoic acid from in situ ligated segments of the gastrointestinal tract of the rat. *Arzneimittelforschung*, 1995; 45: 293–299
- [54] Pick U., Haramaki N., Constantinescu A., Handelman G.J., Tritschler H.J., Packer L.: Glutathione reductase and lipoamide dehydrogenase have opposite stereospecificities for alpha-lipoic acid enantiomers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995; 206: 724–730
- [55] Piotrowski P., Wierzbicka K., Smialek M.: Neuronal death in the rat hippocampus in experimental diabetes and cerebral ischaemia treated with antioxidants. *Folia Neuropathol.*, 2001; 39: 147–154
- [56] Ramrath S., Tritschler H.J., Eckel J.: Stimulation of cardiac glucose transport by thioctic acid and insulin. *Horm. Metab. Res.*, 1999; 31: 632–635
- [57] Reed C.J., Douglas K.T.: Single-strand cleavage of DNA by Cu(II) and thiols: a powerful chemical DNA-cleaving system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989; 162: 1111–1117
- [58] Rybak L.P., Husain K., Whitworth C., Somani S.M.: Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system. *Toxicol. Sci.*, 1999; 47: 195–202
- [59] Schupke H., Hempel R., Peter G., Hermann R., Wessel K., Engel J., Kronbach T.: New metabolic pathways of alpha-lipoic acid. *Drug Metab. Dispos.*, 2001; 29: 855–862
- [60] Scott B.C., Aruoma O.I., Evans P.J., O'Neill C., Van der Vliet A., Cross C.E., Tritschler H., Halliwell B.: Lipoic and dihydro-lipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic. Res.*, 1994; 20: 119–133
- [61] Selvakumar E., Prahalathan C., Mythili Y., Varalakshmi P.: Protective effect of DL-alpha-lipoic acid in cyclophosphamide induced oxidative injury in rat testis. *Reprod. Toxicol.*, 2004; 19: 163–167
- [62] Sen C.K., Packer L.: Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J.*, 1996; 10: 709–720
- [63] Sigel H., Priejs B., McCormick D.B., Shih J.C.: Stability and structure of binary and ternary complexes of alpha-lipoate and lipoate derivatives with Mn²⁺, Cu²⁺, and Zn²⁺ in solution. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1978; 187: 208–214
- [64] Somani S.M., Husain K., Whitworth C., Trammell G.L., Malafa M., Rybak L.P.: Dose-dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: antioxidant defense system. *Pharmacol. Toxicol.*, 2000; 86: 234–241
- [65] Song K.H., Lee W.J., Koh J.M., Kim H.S., Youn J.Y., Park H.S., Koh E.H., Kim M.S., Youn J.H., Lee K.U., Park J.Y.: alpha-Lipoic acid prevents diabetes mellitus in diabetes-prone obese rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 326: 197–202
- [66] Suzuki Y.J., Aggarwal B.B., Packer L.: Alpha-lipoic acid is a potent inhibitor of NF-kappa B activation in human T cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992; 189: 1709–1715
- [67] Suzuki Y.J., Mizuno M., Tritschler H.J., Packer L.: Redox regulation of NF-kappa B DNA binding activity by dihydro-lipoate. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1995; 36: 241–246
- [68] Suzuki Y.J., Tsuchiya M., Packer L.: Antioxidant activities of dihydro-lipoic acid and its structural homologues. *Free Radic. Res. Commun.*, 1993; 18: 115–122
- [69] Takaoka M., Kobayashi Y., Yuba M., Ohkita M., Matsumura Y.: Effects of alpha-lipoic acid on deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 2001; 424: 121–129
- [70] Takaoka M., Ohkita M., Kobayashi Y., Yuba M., Matsumura Y.: Protective effect of alpha-lipoic acid against ischaemic acute renal failure in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2002; 29: 189–194
- [71] Teichert J., Hermann R., Ruus P., Preiss R.: Plasma kinetics, metabolism, and urinary excretion of alpha-lipoic acid following oral administration in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.*, 2003; 43: 1257–1267
- [72] Teichert J., Kern J., Tritschler H.J., Ulrich H., Preiss R.: Investigations on the pharmacokinetics of alpha-lipoic acid in healthy volunteers. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 1998; 36: 625–628
- [73] Thirunavukkarasu V., Anitha Nandhini A.T., Anuradha C.V.: Lipoic acid attenuates hypertension and improves insulin sensitivity, kallikrein activity and nitrite levels in high fructose-fed rats. *J. Comp. Physiol. [B]*, 2004; 174: 587–592
- [74] Tsutsumi S., Hattori K., Sato H., Kawaguchi M.: Studies on the arsenic metabolism. Report 18. On effects of various antidotes on the enteral absorption of arsenical. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 1976; 17: 73–82
- [75] Vasdev S., Ford C.A., Parai S., Longereich L., Gadag V.: Dietary alpha-lipoic acid supplementation lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.*, 2000; 18: 567–573
- [76] Walgren J.L., Amani Z., McMillan J.M., Locher M., Buse M.G.: Effect of R(+)-alpha-lipoic acid on pyruvate metabolism and fatty acid oxidation in rat hepatocytes. *Metabolism*, 2004; 53: 165–173
- [77] Yaworsky K., Somwar R., Ramlal T., Tritschler H.J., Klip A.: Engagement of the insulin-sensitive pathway in the stimulation of glucose transport by alpha-lipoic acid in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*, 2000; 43: 294–303
- [78] Zempleni J., Trusty T.A., Mock D.M.: Lipoic acid reduces the activities of biotin-dependent carboxylases in rat liver. *J. Nutr.*, 1997; 127: 1776–1781