

Perspektywy i zagrożenia dla aplikacji dietetycznych w stosowaniu liponianu i dihydroliponianu^{*})

MAŁGORZATA ŁOKOCIEJEWSKA, ARKADIUSZ ORZECZOWSKI

Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Łokociejewska M., Orzechowski A.

Prospects and hazards in dietary applications of lipoate and dihydrolipoate

Summary

Lipoate is a neutral form of lipoic acid called 6,8-dithiooctic acid (1,2-dithiolate-valeric acid). Lipoate possesses antidiabetic, antiatherogenic, cytoprotective and diuretic properties. Regarding the metabolism, it accelerates glucose oxidation, glycogen accretion, and reduces whole blood lipid concentration. Additionally, being a powerful antioxidant (its redox potential equals -0.32 V) lipoic acid prevents oxidation of vitamin C and glutathion (GSH) and also provides protection against the possibility of antioxidant deficiency. Lipoate increases resistance to physical exhaustion and intellectual challenges. It is clear from the current collected literature data that lipoic acid is one of the most potent antioxidants, playing a crucial role in prophylaxis against insulin resistance. This article is a review paper intended to outline molecular mechanisms describing how lipoic acid acts on cells and how it prevents the consequences of oxidative stress-mediated lower sensitivity to insulin. It also deals with the issue of possible practical approaches for increasing the use of lipoate in animal feeding.

Keywords: lipoate, oxidative stress, insulin

Pochodzenie i właściwości liponianu

Liponian jest obojętną w odczynie formą kwasu liponowego o nazwie chemicznej: kwas 6,8-ditiooktanowy (1,2-ditioolano-3-walerianowy). W komórkach, przede wszystkim w mitochondrium, w zależności od przewagi jednej ze stron równowagi prooksydacyjno-antyoxydacyjnej kwas liponowy występuje w formie utlenionej jako kwas liponowy (LA) lub zredukowanej jako kwas dihydroliponowy (DHLA). Po raz pierwszy funkcje kwasu liponowego zostały poznane przy okazji odkrycia tej drobnocząsteczkowej substancji przez Reeda (22). DHLA okazał się kofaktorem transacytlazy dihydroliponowej (transferazy bursztynianowej), redukując substrat, który podlega acylowaniu w przebiegu oksydacyjnej dekarboksylacji alfa-ketokwasów, np. przemianie kwasu pirogronowego do CO₂ i H₂O katalizowanej przez dehydrogenazę pirogronianową (PDH) lub przemianie kwasu α-ketoglutazarowego katalizowanej przez dehydrogenazę α-ketoglutazaru. Obydwa procesy zachodzą w mitochondrium, ale dzięki dwóm funkcyjnym grupom SH DHLA bierze również udział w procesach detoksykacji na drodze redukcji. LA posiada właściwości przeciwuczkrycove, przeciwmiażdżycowe, cytoprotekcyjne i moczopędne. W odniesieniu do przemian pośrednich przyspiesza utlenianie glukozy, zwiększa zapasy glikogenu w wątrobie, obniża stężenie lipidów we krwi. Dodatkowo, dzięki silnym właściwościom przeciwutleniającym

(potencjał redoks równy -0,32 V) kwas liponowy zapobiega utlenianiu witaminy C i glutationu (GSH), a także chroni przed szkodliwymi następstwami deficytu antyoksydantów. Liponian zwiększa także wydolność wysiłkową i psychiczną. Dzięki wymienionym właściwościom LA podwyższa ilość zredukowanego glutationu w erytrocytach i/lub limfocytach. DHLA bierze ponadto udział w redukowaniu cystyny do cysteiny, dzięki czemu jest ona lepiej wykorzystywana przez komórki. Zwiększony poziom cysteiny, głównego substratu w syntezie GSH aktywuje enzym – syntazę gamma-glutamylcysteinową (gamma-glytamylcysteine ligase, GCL) (11). Z doświadczeń *in vitro* przeprowadzonych przez Busse i wsp. (4) wynika, że w komórkach czerniaka LA zwiększa syntezę glutationu o 30-70%, natomiast w tkance płuc myszy o 50%. Ci sami autorzy wykazali, że w badaniach przeprowadzonych na myszach napromienianych śmiertelną dawką promieniowania jonizującego (5-8 Gy) zastosowanie liponianu w dawce dobowej równej 16 mg/kg m.c. spowodowało przeżycie 50% populacji.

Rozróżnia się dwa izomery optyczne kwasu liponowego: R(+)-LA prawoskrętny oraz S(-)-LA czyli lewoskrętny stereoisomer. Dla każdej z izoform istnieją inne enzymy odpowiedzialne za przemianę LA do DHLA. Dla R(+)-LA jest nią mitochondrialna dehydrogenaza NADH zależna od amidu kwasu dihydroliponowego, natomiast w przypadku S(-)-LA jest nią reduktaza NADPH zależna od GSH. W komórkach serca, nerek i mózgu szczurów większą aktywność wykazuje mitochondrialna dehydrogenaza NADH zależna od amidu LA. Natomiast

^{*}) Praca dofinansowana w ramach grantu KBN Nr 3 PO6T 013 25.

w przypadku wątroby aktywność obydwu enzymów jest porównywalna. Z kolei z powodu braku mitochondriów w erytrocytach większą aktywność wykazuje reduktaza NADPH zależna od GSH. LA chroni erytrocyty przed hemolizą i utlenianiem hemoglobiny przy zagrożeniu stresem oksydacyjnym wywołanym doświadczalnie z użyciem AAPH (2,2'-azobis 2 amidynopropan), azo związku powszechnie używanego w doświadczalnictwie do generowania rodnika nadtlenkowego (5). W komórkach kwas liponowy ulega szybkiej przemianie do kwasu dihydroliponowego i w takiej formie może być magazynowany.

Antydiabetogenne właściwości liponianu

Z badań przeprowadzonych w ostatnich latach wynika, że LA jako jeden z najsilniejszych przeciwutleniaczy odgrywa istotną rolę w zapobieganiu skutkom oporności na insulinę. Z badań przeprowadzonych przez Bitar i wsp. (3) na szczurach rasy Goto-Kakizaki (szczury z genetycznie uwarunkowaną cukrzycą typu 2) wynika, że chronicznie podawanie LA w iniekcjach dootrzewnowych w dawce dziennej 100 mg/kg m.c. poprawia metabolizm glukozy, zapobiega utlenianiu białek, w tym białek uczestniczących w torze przekazywania insuliny: kinazy białkowej B (PKB) oraz 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (PI-3K). Dodatkowo u szczurów z wywołaną doświadczalnie cukrzycą podawanie 100 mg/kg m.c. LA na dobę zmniejszyło skutki peroksydacji lipidów w osoczu (28). Z ostatnich badań wynika, że liponian zapobiega ponadto powstawaniu otyłości poprzez tłumienie aktywności podwzgórzowej kinazy zależnej od AMP (AMP-activated protein kinase, AMPK). Zahamowanie aktywności AMPK w neuronach ośrodkowego układu nerwowego (OUN) prowadzi do zmniejszenia pobierania pokarmu, a także do przyspieszenia przemiany ogólnej (14). Zastosowanie LA w dawce dziennej 30 mg/kg m.c. zwiększało o 45% dokomórkowy transport glukozy, a także wpłynęło dodatnio na aktywność toru przekazywania insuliny, zwiększając nawet o 317% przyłączanie do białka dokującego IRS-1 podjednostki regulatorowej p85 należącej do PI-3K u szczurów otyłych i diabetycznych rasy OZR (obese Zucker rats) (24). Z kolei kinaza białkowa C (PKC) powoduje fosforylację receptora insulinowego lub jego substratów, tj. IRS-1 przy domenach serynowych, hamując transdukcję sygnału od receptora (10). LA dzięki właściwościom antyoksydacyjnym wpływa hamująco na aktywność PKC, w szczególności cPKC β II (2). Inkubacja izolowanych mięśni z LA prowadziła do zmniejszenia nawet o 50% syntezy glikogenu, ale, co należy uznać za zaskakujące, przyczyniała się jednocześnie do podwyższenia poziomu reaktywnych form tlenu (RFT). Pomimo podobnych skutków w odniesieniu do homeostazy glukozy, LA wykorzystuje inne mechanizmy molekularne regulacji metabolicznej niż insulina (8). W badaniach na izolowanym mięśniu płaszczkowatym szczura, sześćdziesięciminutowa inkubacja z liponianem w przeciwieństwie do insuliny zwiększyła utlenianie glukozy, natomiast zahamowała syntezę glikogenu. Z kolei w adipocytach linii 3T3-L1 liponian stymulował dokomórkowy transport glukozy, powodując najpierw zwiększenie wewnątrzkomórkowego stężenia RFT. RFT, ha-

mując fosfatazy tyrozynowe, przyczyniły się do autofosforylacji podjednostki beta receptora insulinowego (17). Badania przeprowadzone wcześniej przez Rudich i wsp. (23) wskazują na zupełnie inny mechanizm wspomagającego insulinę działania liponianu w komórkach 3T3-L1. Zastosowanie preinkubacji z liponianem przed wywołaniem stresu oksydacyjnego w komórkach 3T3-L1 umożliwiło insulinie aktywację PKB, a za jej pośrednictwem przyspieszenie translokacji GLUT4. H_2O_2 gromadzący się pod wpływem zastosowanej oksydazy glukozy hamował wcześniej aktywację PKB i aktywność GLUT4.

Analogicznie, z najnowszych badań przeprowadzonych na szczurach z cukrzycą i towarzyszącym jej stresem oksydacyjnym wynika, że liponian swoje działanie antydiabetyczne w odniesieniu do kinaz PI-3K i PKB zawdzięcza przede wszystkim silnemu efektowi przeciwutleniającemu (3). Zastosowanie liponianu przez 10 dni w iniekcjach dootrzewnowych w dawce dobowej 30 mg/kg m.c. radykalnie zredukowało hiperglikemię obecną u szczurów z cukrzycą insulinozależną wywołaną doświadczalnie z użyciem streptozotocyny (13). W mięśniach szkieletowych, np. mięśniu brzuchatym łydki, liponian dodatkowo podwyższył poziom białka transportującego glukozę GLUT-4 i na tej samej drodze zwiększył dokomórkowy transport glukozy w mięśniu płaszczkowatym. Również doświadczenia przeprowadzone na ciężarnych samicach szczurów z indukowaną cukrzycą dowiodły, że codzienny dodatek LA w dawce 30 mg/kg m.c. zmniejszał uszkodzenia płodów oraz poronienia wywołane przez genotoksyczne działanie stresu oksydacyjnego towarzyszącego cukrzycy (31).

Obecnie wiadomo, że oporność na insulinę, a także zaburzenia przemiany pośredniej glukozy i kwasów tłuszczowych prowadzą do formowania się w organizmie endogennych aldehydów (EA). EA, przyłączając się do kanałów wapniowych w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych, powodują zwiększenie wewnątrzcytoplazmatycznego stężenia Ca^{2+} , co prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego krwi. Dodanie kwasu liponowego w dawce dobowej 500 mg/kg m.c. do diety szczurów SFRs (spontaneously hypertensive rats) obniżyło w sposób istotny średnie ciśnienie tętnicze u tych zwierząt, a także zmniejszyło wewnątrzkomórkowe stężenie Ca^{2+} oraz stężenie EA w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych (29). LA chroni także białka przed glikacją i formowaniem się zaawansowanych produktów końcowych glikacji i peroksydacji (advanced glycation end products, AGE), które powstają podczas długotrwałej hiperglikemii (27). Według El Midaoui (9), oporność na insulinę oraz hiperglikemia powodują razem obniżenie stężenia antyoksydantów, w tym aktywności dysmutazy nadtlenkowej (SOD) w mięśniach gładkich naczyń krwionośnych, przyczyniając się w ten sposób do nagromadzenia w komórkach anionorodnika nadtlenkowego ($O_2^{\bullet-}$). Równocześnie dochodzi do obniżenia aktywności konstytutywnej formy syntazy tlenku azotu (eNOS). Upośledzenie wytwarzania tlenku azotu (NO^{\bullet}), który rozszerza naczynia krwionośne, może być przyczyną powstawania nadciśnienia tętniczego. LA zapobiega ponadto powstawaniu $O_2^{\bullet-}$ w mitochondriach kardiomiocytów – procesowi nasilającemu się podczas hiperglikemii (16).

W komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych liponian usprawnia przekształcanie kwasu dehydroaskorbinowego (DHA) do askorbinianu (AA), a także bierze udział w eliminacji rodnika askorbylowego (AR) przez redukcję do AA (12).

Najsukuteczniejsze działanie cytoprotekcyjne na komórki wątroby wykazuje LA zastosowany doustnie w dawce dziennej równej 100 mg/kg m.c. Po zastosowaniu wymienionej dawki LA zaobserwowano podwyższenie stężenia GSH, witamin C i E w osoczu krwi (20). Badania przeprowadzone przez Muller i wsp. (18) dowodzą, że molekularny mechanizm ochronnego działania LA na komórki wątroby po wywołanym doświadczalnie epizodzie niedokrwienia i następczej reperfuzji polega na zwiększeniu aktywności PI-3K i PKB. Pomimo że wzrost aktywności PKB pod wpływem LA nie miał wpływu na odsetek komórek apoptotycznych zaobserwowano wyraźną poprawę mikrostruktury komórek w obrazie histologicznym tego narządu.

Tiazolidinediony są pochodnymi LA i stosowane są głównie jako leki uwrażliwiające tkanki na insulinę w przypadku cukrzycy typu 2. Z badań przeprowadzonych przez Venkatraman i wsp. (30) wynika, że leki syntetyczne opracowane na bazie LA wykazują aktywność ligandów czynników transkrypcyjnych PPAR- α i - γ (peroxisome proliferator-activated receptors). O szczególnych antydiabetogennych właściwościach ligandów PPAR, np. wielonienasyconych kwasach tłuszczowych n-3 i n-6, pisano wcześniej (19). Wydaje się, że przynajmniej część z pożądanych antydiabetogennych właściwości LA i jego pochodnych z grupy tiazolidinedionów wynika z genomowego oddziaływania uaktywnionych przez nie PPAR.

Silny antyoksydant, jakim jest LA, potrafi zapobiegać śmierci komórek wywołanej przez stres oksydacyjny. LA chroni komórki, chelatując jony żelaza, przez co w lizosomach nie zachodzi reakcja Fentona, nie powstaje rodnik hydroksylowy i nie dochodzi do peroksydacji lipidów błony lizosomów, uwolnienia katepsyn i autofagii (21). LA chroni także DNA przed uszkodzeniami wywołanymi przez tlen singletowy (7), chociaż nie stwierdzono różnic w stężeniu 8-oksoguaniny (markera uszkodzeń DNA) kiedy użyto równocześnie donatora tlenu singletowego (NDPO2) i LA. W świetle ostatnich badań, liponian mógłby znaleźć zastosowanie w minimalizowaniu niepożądanych skutków chemioterapii przeciwnowotworowej. W przypadku cyklofosfamidu (CP), leku z grupy cytostatyków jego cytotoksyczność wynika z uszkodzenia przez rodnik nadtlenkowy genomowego DNA. U samców szczurów, u których liponian zastosowano przed użyciem CP nie doszło do peroksydacji lipidów i upośledzenia ochrony antyoksydacyjnej w tkance jąder, pomimo że jest ona szczególnie wrażliwa na genotoksyczne skutki chemioterapii (25).

Hamowanie procesów starzenia przez liponian

W przebiegu starzenia się LA zapobiega powstawaniu i odkładaniu się lipofuscyny w mózgowiu i usprawnia działanie ośrodkowego układu nerwowego. Zwiększa ponadto aktywność enzymu ATP-azy Na^+/K^+ w neuronach, poprawiając pobudliwość komórek (1). U starze-

jących się osobników suplementacja diety kwasem liponowym podwyższa stężenie cysteiny w tkankach, a co za tym idzie, przyczynia się do zwiększenia puli GSH i podwyższenia wskaźnika $\text{GSH} : \text{GSSG}$ – przez co odwróceniu ulega niekorzystna tendencja do zmniejszania się wraz z wiekiem poziomu zredukowanego glutationu w tkankach, takich jak mózg i serce. Liponian za pośrednictwem cysteiny podwyższa aktywność syntazy GCL, enzymu decydującego o poziomie GSH, którego aktywność obniża się z wiekiem. Ponieważ potencjał antyoksydacyjny komórki w zasadniczy sposób zależy od poziomu GSH, a enzymem limitującym podaż GSH jest GCL, postanowiono poznać mechanizm regulacji układu nadzorującego aktywność genu kodującego enzym. Czynnikiem transkrypcyjnym nadzorującym gen jest Nrf2 (nuclear factor erythroid-related factor 2), a jego poziom i aktywność transkrypcyjna wzrastają pod wpływem liponianu.

Powszechnie wiadomo, że procesom starzenia towarzyszy zwiększenie aktywności transkrypcyjnego czynnika jądrowego kappa B (nuclear factor kappa B, NF- κ B), który stymuluje syntezę cytokin prozapalnych i białka adhezyjnego ICAM-1. Nadmierna aktywność NF- κ B powoduje nieswoistą reakcję zapalną o zasięgu ogólnym, a rozwijająca się nadmierna aktywność układu immunologicznego i obronnego indukują wspólnie niepożądane reakcje metaboliczne. Cytokiny prozapalne (IL-1 β , interferon- γ i TNF- α) obecne w nadmiarze wywołują w komórkach stres oksydacyjny, oporność na insulinę, sprzyjają mutagenezie i kancerogenezie. Zastosowanie LA w hodowli komórek MonoMac6 (human monocytic cell line) zmniejszyło poziom ICAM-1 i zredukowało aktywność NF- κ B indukowaną przez TNF- α (15). Liponian oddziaływał na poziomie genomowym, co oznacza, że ten antyoksydant można uznać za skutecznego negatywnego modulatora aktywności transkrypcyjnej NF- κ B. Procesy starzenia charakteryzuje ponadto stopniowa i postępująca dysfunkcja mitochondriów, która manifestuje się niewydajnym wytwarzaniem ATP wynikającym z „przecieku” RFT, przede wszystkim $\text{O}_2^{\cdot-}$, który w warunkach prawidłowych podlegałby pełnej redukcji do H_2O . RFT uszkodzają ważne życiowo molekuly, upośledzając życiowe funkcje komórek, a cały proces ulega przyspieszeniu z powodu pogarszającego się stanu antyoksydacyjnego organizmu. Suplementacja pokarmowa liponianem obniżyła peroksydację lipidów, zmniejszyła stężenie utlenionego glutationu (GSSG), natomiast podniosła poziom GSH, witamin C i E w nerkach i wątrobie starych szczurów. Dodatkowo, co wydaje się szczególnie ważne, w wymienionych narządach wzrosła aktywność enzymów mitochondrialnych. Cytokiny prozapalne przyspieszają efekty starzenia, m.in. powodując nadekspresję indukowalnej syntazy tlenu azotu (iNOS) w tkankach. iNOS katalizuje wytwarzanie NO^{\cdot} w stężeniach toksycznych dla komórek, przyczyniając się do przyspieszenia procesów degeneracji tkanek. I w tym przypadku liponian okazał się skutecznym inhibitorem ekspresji iNOS w makrofagach linii RAW 264.7 (6). Podobnie jak już pisano wcześniej, mechanizm protekcyjnego działania liponianu wynikał z hamowania aktywności czynnika NF- κ B, nie dopuszczając do aktywacji genu inos.

Aplikacje żywieniowe i dietetyczne

Spośród różnych właściwości liponianu i dihydroliponianu na uwagę zasługują hydrofilność i lipofilność łącznie. Oznacza to, że zarówno LA, jak i DHLA rozpuszczają się w wodzie, jak i w tłuszczach. To z kolei ułatwia wykorzystanie LA/DHLA w doświadczeniach, umożliwiając stosowanie parenteralne (iniekcje do otrzewnowe roztworów olejowych), jak i podawanie obydwu substancji z pokarmem. Ten ostatni sposób suplementacji znalazł również praktyczne zastosowanie w formułowaniu i wytwarzaniu komercyjnych pokarmów opóźniających efekty starzenia, a przeznaczonych dla zwierząt towarzyszących. Liponian czeka na kolejne zastosowania w żywieniu i dietetyce, przy czym wydaje się, że szczególnie pożądane byłoby jego użycie jako suplementu w diecie przeznaczonej dla zwierząt chorych na cukrzycę. W tym ostatnim przypadku przeciw cukrzycowe działanie liponianu może wymagać zredukowania dawek insuliny stosowanych w leczeniu zwierząt z cukrzycą insulinozależną (typ I). Pamiętać jednak należy, że nie wiemy jeszcze wszystkiego o możliwych interakcjach liponianu na drodze od podania do wywołania biologicznego efektu. To ostatnie zagadnienie wymaga dodatkowych, starannie przeprowadzonych badań, pamiętać bowiem należy, że w naturalnych warunkach liponian działa lokalnie na terenie mitochondrium i prawdopodobnie efekty genomowe i pozagenomowe mają charakter fenomenu farmakologicznego. To z kolei oznacza, że modulacja aktywności czynników transkrypcyjnych, takich jak PPAR, Nrf2 czy NF- κ B nie zawsze przynieść musi pożądane skutki dla zdrowia. Nie wiadomo na przykład, czy liponian potrafi aktywować PPAR- α i inne niewymienione w pracy czynniki transkrypcyjne, które mają negatywny wpływ na wydolność układów antyoksydacyjnych. Ponadto, w przeciwieństwie do PPAR- γ ligandy PPAR- α obniżają wrażliwość tkanek na insulinę (26). W świetle zebranych informacji taki scenariusz nie wydaje się jednak prawdopodobny, albowiem znakomita większość doniesień potwierdza wysoką skuteczność chemoprotekcyjną i wydajność antyoksydacyjną liponianu. Najbardziej przekonujących danych przemawiających za korzystnym wpływem liponianu na czynność komórek i tkanek dostarczyły badania na zwierzętach, w tym prace dotyczące OUN. Podawanie z pokarmem LA starym szczurom przez 14 dni zwiększyło poziom białek i kwasów nukleinowych oraz potencjał antyoksydacyjny neuronów. Liponian bardzo skutecznie chronił inne antyoksydanty przed utlenieniem i eliminacją, co nabiera szczególnego znaczenia u zwierząt narażonych na skorbut (deficyt witaminy C) lub narażonych na silny stres oksydacyjny (septicemia, cukrzyca, napromienienie, chemioterapia). Liponian bardzo wydajnie przywracał potencjał antyoksydacyjny u szczurów z cukrzycą wywołaną eksperymentalnie i zahamował niemal zupełnie peroksydację lipidów (28). Odniesieć można wrażenie, że w dietoprofilaktyce i leczeniu dietetycznym liponian nie czeka już na swoje odkrycie, chociaż nieliczne są przykłady jego zastosowań. Biorąc pod uwagę rywalizację pomiędzy wytwórcami diet weterynaryjnych można mieć nadzieję, że oczekiwania na ulepszenia składu pokarmu wykorzystujące liponian i/lub jego pochodne nie będzie długie.

Piśmiennictwo

- Arivazhagan P., Panneerselvam C.: Alpha-lipoic acid increases Na⁺K⁺ATPase activity and reduces lipofuscin accumulation in discrete brain regions of aged rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004, 1019, 350-354.
- Asghar M., Lokhandwala M. F.: Antioxidant supplementation normalizes elevated protein kinase C activity in the proximal tubules of old rats. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), 2004, 229, 270-275.
- Bitar M. S., Wahid S., Pilcher C. W., Al-Saleh E., Al-Mulla F.: Alpha-lipoic acid mitigates insulin resistance in Goto-Kakizaki rats. *Horm. Metab. Res.* 2004, 36, 542-549.
- 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.
- Constantinescu A., Tritschler H., Packer L.: Alpha-Lipoic acid protects against hemolysis of human erythrocytes induced by peroxyl radicals. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1994, 33, 669-679.
- Demarco V. G., Scumpia P. O., Bosanquet J. P., Skimming J. W.: Alpha-lipoic acid inhibits endotoxin-stimulated expression of iNOS and nitric oxide independent of the heat shock response in RAW 264.7 cells. *Free Radic. Res.* 2004, 38, 675-682.
- Devasagayam T. P., Subramanian M., Pradhan D. S., Sies H.: Prevention of singlet oxygen-induced DNA damage by lipoate. *Chem. Biol. Interact.* 1993, 86, 79-92.
- Dieter N., Madar Z., Tirosch O.: Alpha-lipoic acid inhibits glycogen synthesis in rat soleus muscle via its oxidative activity and the uncoupling of mitochondria. *J. Nutr.* 2002, 132, 3001-3006.
- El Midaoui A., de Champlain J.: Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension* 2002, 39, 303-307.
- Evans J. L., Goldfine I. D., Maddux B. A., Grodsky G. M.: Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003, 52, 1-8.
- 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.
- Kagan V. E., Shvedova A., Serbinova E., Khan S., Swanson C., Powell R., Packer L.: Dihydrolipoic acid – a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxyl, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.* 1992, 44, 1637-1649.
- Khamaisi M., Potashnik R., Tirosch A., Demshchak E., Rudich A., Tritschler H., Wessel K., Bashan N.: Lipoic acid reduces glycaemia and increases muscle GLUT4 content in streptozotocin-diabetic rats. *Metabolism* 1997, 46, 763-768.
- Kim M. S., Park J. Y., Namkoong C., Jang P. G., Ryu J. W., Song H. S., Yun J. Y., Namgoong I. S., Ha J., Park I. S., Lee I. K., Viollet B., Youn J. H., Lee H. K., Lee K. U.: Anti-obesity effects of alpha-lipoic acid mediated by suppression of hypothalamic AMP-activated protein kinase. *Nat. Med.* 2004, 10, 727-733.
- Lee H. A., Hughes D. A.: Alpha-lipoic acid modulates NF-kappaB activity in human monocytic cells by direct interaction with DNA. *Exp. Gerontol.* 2002, 37, 401-410.
- Midaoui A. E., Elimadi A., Wu L., Haddad P. S., de Champlain J.: Lipoic acid prevents hypertension, hyperglycemia, and the increase in heart mitochondrial superoxide production. *Am. J. Hypert.* 2003, 16, 173-179.
- Moini H., Packer L., Saris N. E.: Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2002, 182, 84-90.
- 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.
- Orzechowski A.: Dietoprofilaktyka jako metoda alternatywna zapobiegania rozwojowi oporności na insulinę. *Med. Wet.* 2003, 59, 767-772.
- Pari L., Murugavel P.: Protective effect of alpha-lipoic acid against chloroquine-induced hepatotoxicity in rats. *J. Appl. Toxicol.* 2004, 24, 21-26.
- Persson H. L., Svensson A. I., Brunk U. T.: Alpha-lipoic acid and alpha-lipoamide prevent oxidant-induced lysosomal rupture and apoptosis. *Redox Rep.* 2001, 6, 327-334.
- Reed L. J.: The chemistry and function of lipoic acid. *Adv. Enzymol.* 1957, 18, 319-347.
- Rudich A., Tirosch A., Potashnik R., Khamaisi M., Bashan N.: Lipoic acid protects against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase B and glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia* 1999, 42, 949-957.
- Saengsrisirawan V., Perez F. R., Sloniger J. A., Maier T., Henriksen E. J.: Interactions of exercise training and alpha-lipoic acid on insulin signaling in skeletal muscle of obese Zucker rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004, 287, E529-E536.
- 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.
- Smith U., Gogg S., Johannsson A., Olausson T., Rotter V., Svalstedt B.: Thiazolidinediones (PPAR γ agonists) but not PPAR α agonists increase IRS-2 gene expression in 3T3-L1 and human adipocytes. *FASEB J.* 2001, 15, 215-220.
- Suzuki Y. J., Tsuchiya M., Packer L.: Lipoate prevents glucose-induced protein modifications. *Free Radic. Res. Commun.* 1992, 17, 211-217.
- Thirunavukkarasu V., Anuradha C. V.: Influence of alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant defense system in blood of insulin-resistant rats. *Diabetes Obes. Metab.* 2004, 6, 200-207.
- Vasdev S., Gill V., Longrich L., Parai S., Gadag V.: Salt-induced hypertension in WKY rats: prevention by alpha-lipoic acid supplementation. *Mol. Cell. Biochem.* 2003, 254, 319-326.
- Venkatraman M. S., Chittiboyina A., Meingassner J., Ho C. I., Varani J., Ellis C. N., Avery M. A., Pershadsingh H. A., Kurtz T. W., Benson S. C.: Alpha-Lipoic acid-based PPAR γ agonists for treating inflammatory skin diseases. *Arch. Dermatol. Res.* 2004, 296, 97-104.
- Wiznitzer A., Ayalon N., Hershkovitz R., Khamaisi M., Reece E. A., Tritschler H., Bashan N.: Lipoic acid prevention of neural tube defects in offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999, 180, 188-193.

Adres autora: dr hab. Arkadiusz Orzechowski, prof. SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: orzechowski@alpha.sggw.waw.pl