

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI
KRÁLOVÉ

Katedra biochemických věd



Biologické účinky kyseliny lipoové

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Hradec Králové 2010

Michaela Poučová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce, PharmDr. Ivě Boušové, Ph.D., za připomínky a veškeré rady, které mi poskytla při psaní mé bakalářské práce.

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. CÍLE PRÁCE.....	2
3. CHEMICKÁ STRUKTURA	3
4. OXIDAČNÍ DEKARBOXYLACE PYRUVÁTU	5
5. ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI A OXIDAČNÍ STRES.....	9
5.1. SCHOPNOST ODSTRAŇOVAT VOLNÉ RADIKÁLY	11
5.2. SCHOPNOST CHELATOVAT KOVY	12
5.3. SCHOPNOST REGENEROVAT ENDOGENNÍ ANTIOXIDANTY	13
5.4. ÚČAST V REPARAČNÍM SYSTÉMU	14
6. PŘÍJEM A METABOLISMUS.....	16
7. TERAPEUTICKÉ POUŽITÍ	18
7.1. DIABETES MELLITUS	18
7.1.1. DIABETICKÁ POLYNEUROPATIE	19
7.1.2. ŠEDÝ ZÁKAL (KATARAKTA).....	20
7.2. NEURODEGENERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ	21
7.2.1. PARKINSONOVA CHOROBA	22
7.2.2. ALZHEIMEROVA CHOROBA	22
7.3. AKTIVACE TRANSKRIPČNÍHO FAKTORU NF- κ B.....	23
7.4. ONEMOCNĚNÍ JATER	23
7.4.1. OTRAVY HOUBAMI	24
7.4.2. ONEMOCNĚNÍ JATER ZPŮSOBENÉ ALKOHOLEM.....	24
7.5. ÚČINKY CIGARETOVÉHO KOUŘE NA PLAZMATICKÉ PROTEINY ...	24
8. DISKUZE A ZÁVĚRY	25
9. SEZNAM LITERATURY	27
10. SEZNAM ZKRATEK	30

1. ÚVOD

Kyselina lipoová byla poprvé izolována v r. 1951 Reedem a jeho spolupracovníky. Tato výzkumná skupina použila jako výchozího materiálu hovězích jater a získanou krystalickou látku vzhledem k jejímu lipofilnímu charakteru nazvala kyselinou α -lipoovou (Šicho 1961).

Kyselina lipoová je látkou, která je nezbytná v celé řadě pochodů v lidském těle. Zúčastňuje se zejména procesů, ve kterých je v lidském těle uvolňována energie a řízena hladina cukrů v krvi. Zde působí proti rychlému nárůstu koncentrace hladiny cukrů a ovlivňuje tak nežádoucí stavy při chronickém onemocnění, jakým je cukrovka (diabetes mellitus). Kromě diabetu je také využívána při terapii dalších nemocí, jako jsou ateroskleróza, neurodegenerativní onemocnění, onemocnění kloubů nebo syndrom získaného selhání imunity (AIDS) (Alfa lipoová kyselina 2008).

Ve velmi malém množství je syntetizovaná v játrech a dalších tkáních, kde hraje důležitou roli při oxidační dekarboxylaci α -ketokyselin. Zde vystupuje jako kofaktor v pyruvátdehydrogenasovém komplexu, který váže acylové skupiny a přenáší je z jedné části komplexu na druhou (Maddux et al. 2001).

Kromě této funkce vykazuje kyselina lipoová velmi silné antioxidační účinky, při kterých jsou účinně zneškodňovány toxické produkty reakcí některých důležitých látek s kyslíkem (Alfa lipoová kyselina 2008). Na rozdíl od jiných antioxidantů, které pracují pouze ve vodném prostředí (např. vitamin C) nebo jen v lipidové fázi (např. vitamin E), je kyselina lipoová rozpustná v tucích i ve vodě. To znamená, že může pracovat po celém těle, kde mimo jiné přispívá k regeneraci jiných antioxidantů a činí je opět aktivními (Alpha-lipoic acid 2009).

V neposlední řadě je kyselina lipoová látkou, která se účastní procesů přeměny rozvětvených aminokyselin (L-valinu, L-isoleucinu a L-leucinu) v lidském těle na energii potřebnou pro svalovou práci. Z tohoto důvodu je potřeba zvýšit její přísun zejména v případech velké fyzické zátěže organismu, jakými jsou těžká práce nebo sportovní výkony (Alfa lipoová kyselina 2008).

2. CÍLE PRÁCE

Cílem mé práce bylo podat přehled o biologických účincích kyseliny lipoové. Práce obsahuje:

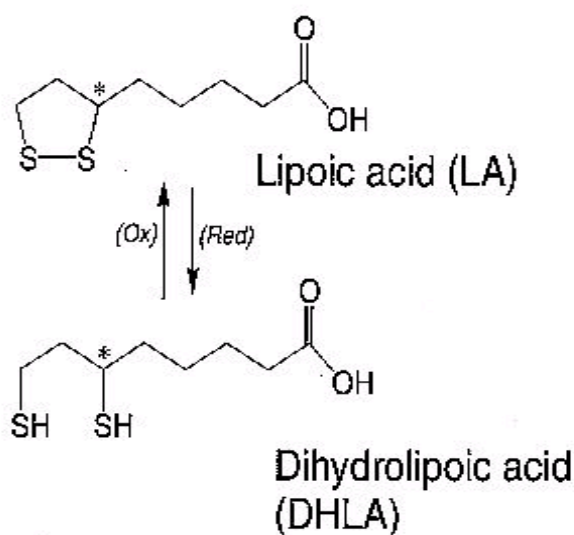
- chemickou strukturu a vlastnosti kyseliny lipoové
- její účast v metabolismu živin
- antioxidační vlastnosti
- příjem a metabolismus
- terapeutické použití

3. CHEMICKÁ STRUKTURA

Kyselina lipoová je sloučenina obsahující disulfidický pentacykl s pětičlenným postranním řetězcem, který je zakončený karboxylovou skupinou (Jindra a kol. 1966).

Chemický název kyseliny lipoové je 1,2-dithiolan-3-pentanová kyselina (Vachálková a kol. 2004). Někdy bývá označována i jinými názvy např.: thioktová, 6,8-thioktová, 1,2-dithiolan-3-pentanová kyselina nebo 1,2-dithiolan-3-valerová kyselina (Packer et al. 1995).

Kyselina lipoová se vyskytuje ve dvou formách – v oxidované a redukované (Obr. 1). Redukovaná forma obsahuje dvě thiolové skupiny, které mohou být oxidovány. Redukovaná forma je známá jako dihydrolipoová kyselina (DHLA), zatímco oxidovaná forma se označuje jako lipoová kyselina (LA) (Higdon 2006).



Obr. 1 Strukturální vzorec kyseliny lipoové a dihydrolipoové (Best 1990-2010)

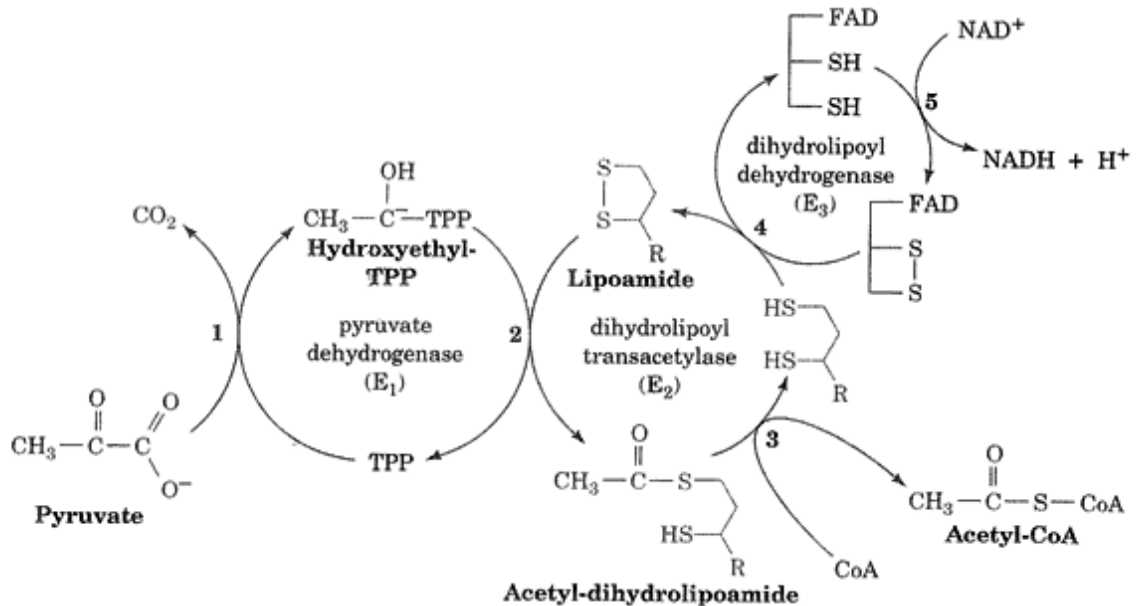
Biologická účinnost této látky je velmi úzce vázána na uvedenou strukturu (Jindra a kol. 1966). Základní podmínkou účinnosti je pětičlenný disulfidový kruh, neboť sloučeniny se šestičlenným nebo vícečlenným kruhem (např. kyselina 5,8-thioktová) jsou neúčinné. Velmi zajímavý je vliv délky alifatického řetězce na biologickou aktivitu této sloučeniny. Již prodloužení řetězce kyseliny o jeden atom uhlíku vede ke vzniku látky s antagonistickým účinkem. Kyselina 8-methyl-6,8-thioktová patří mezi neaktivnější antagonisty kyseliny lipoové.

Přítomnost karboxylové skupiny v molekule kyseliny lipoové je rovněž nutná pro její biologický účinek. Amid kyseliny lipoové má již jen 25% účinnost a alkohol odvozený od kyseliny lipoové, DL-lipol, je neúčinný. Rovněž náhrada karboxylové skupiny skupinou sulfonamidovou způsobí ztrátu aktivity (Šícho 1961).

Biologický účinek kyseliny lipoové je též přísně vázán na konfiguraci asymetrického uhlíku (Šícho 1961). Jsou zde možné dva optické izomery: R-enantiomer a S-enantiomer. Přirozeně se vyskytující kyselina lipoová je R-izomerem, který je endogenně syntetizován a vázán na proteiny. Synteticky připravená kyselina lipoová, známá jako α -lipoová kyselina, je racemickou směsí R a S izomeru (Best 1990-2010). Tato racemická směs má jen poloviční biologickou účinnost ve srovnání s čistým R-izomerem. S-izomer je biologicky inaktivní (Šícho 1961).

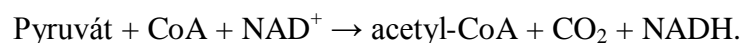
4. OXIDAČNÍ DEKARBOXYLACE PYRUVÁTU

Oxidační dekarboxylace pyruvátu je složitý děj, při kterém je tvořen acetyl-CoA multienzymovým komplexem, který je nazýván pyruvátdehydrogenasový (Obr. 2). Tento komplex je tvořen třemi katalytickými podjednotkami: pyruvátdehydrogenasa (E_1), dihydrolipoyltransacetylasa (E_2) a dihydrolipoyldehydrogenasa (E_3).



Obr. 2 Oxidační dekarboxylace pyruvátu v pyruvátdehydrogenasovém cyklu (Voet et al. 2008)

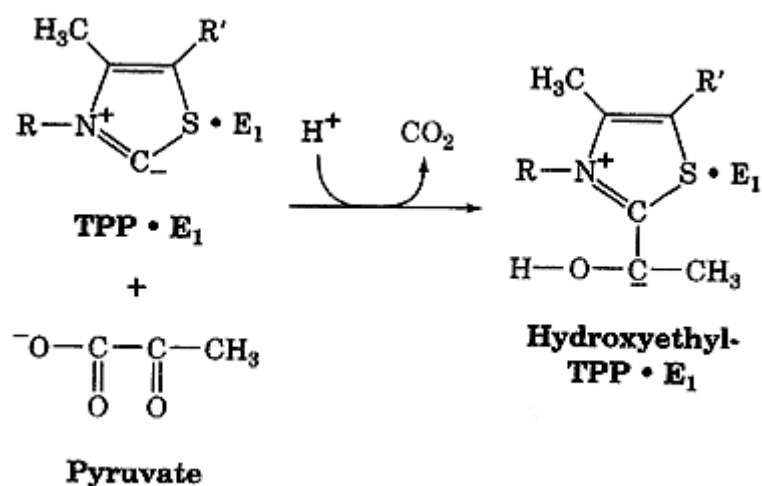
Pyruvátdehydrogenasový komplex katalyzuje pět po sobě následujících reakcí s celkovou stechiometrií:



Průběh reakce vyžaduje účast pěti koenzymů: thiaminpyrofosfátu (TPP), lipoamidu, koenzymu A, FAD a NAD⁺.

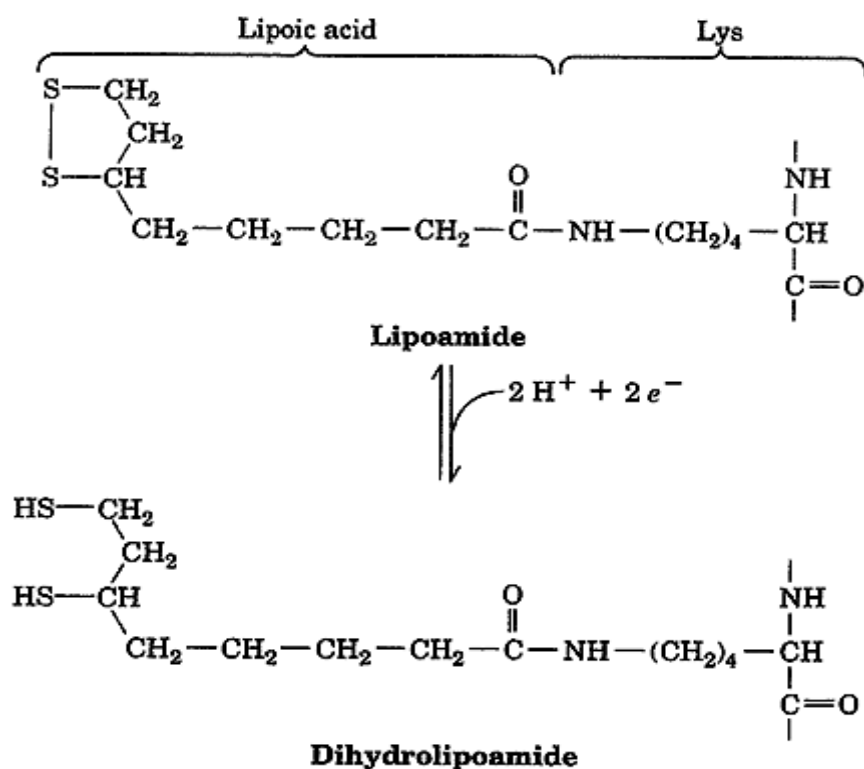
Pořadí reakcí katalyzovaných pyruvátdehydrogenasovým komplexem je následující:

1. Pyruvátdehydrogenasa (E_1 – enzym vyžadující TPP) dekarboxyluje pyruvát za vzniku hydroxyethyl-TPP meziprojektu (Obr. 3).



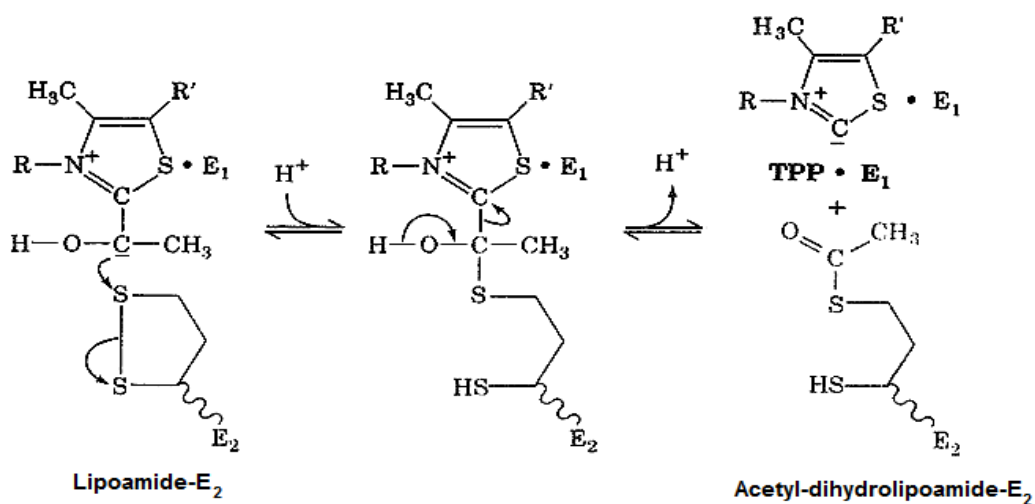
Obr. 3 Dekarboxylace pyruvátu katalyzovaná pyruvátdehydrogenasou (Voet et al. 2008)

2. Hydroxyethylová skupina je přenesena na další enzym, dihydrolipoyltransacetylasi (E_2), která obsahuje lipoamidovou skupinu. Lipoamid se skládá z **lipoové kyseliny**, která je připojena amidovou vazbou k ϵ -aminoskupině lysinu. Reaktivním centrem lipoamidu je cyklický disulfid, který může být reverzibilně redukován na dihydrolipoamid (Obr. 4).



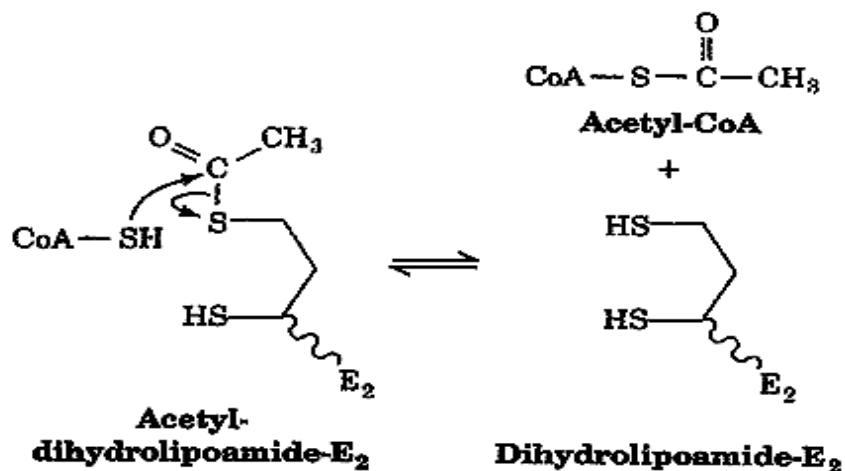
Obr. 4 Vzájemná přeměna lipoamidu a dihydrolipoamidu (Voet et al. 2008)

Na Obr. 5 je znázorněn přenos hydroxyethylové skupiny pocházející původně z pyruvátu na jeden z atomů síry lipoamidu (Voet et al. 2008). Přitom dochází k oxidoredukci: hydroxyethyl se přemění na acetyl a vodíkové atomy se předají disulfidové vazbě lipoové kyseliny, která se tak částečně redukuje (Jindra a kol. 1985).



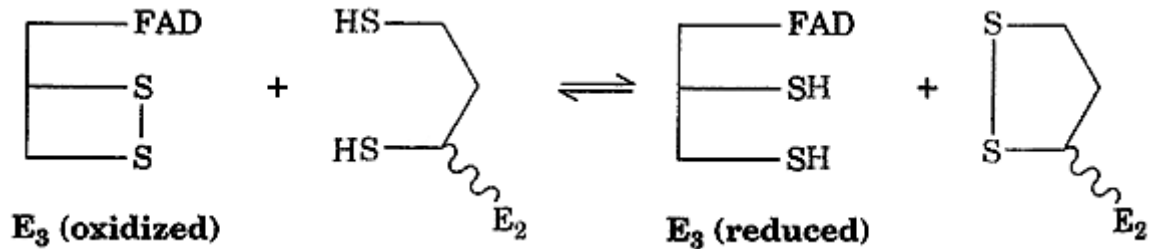
Obr. 5 Přenos hydroxyethylové skupiny na koenzym dihydrolipoyltransacetylasy (Voet et al. 2008)

3. Jak je patrné z Obr. 6, E_2 pak katalyzuje transesterifikační reakci, ve které dochází k připojení CoA na acetyl, čímž vzniká acetyl-CoA a dihydrolipoamid- E_2 (Voet et al. 2008). Kyselina lipoová je tak úplně redukována (Jindra a kol. 1985).



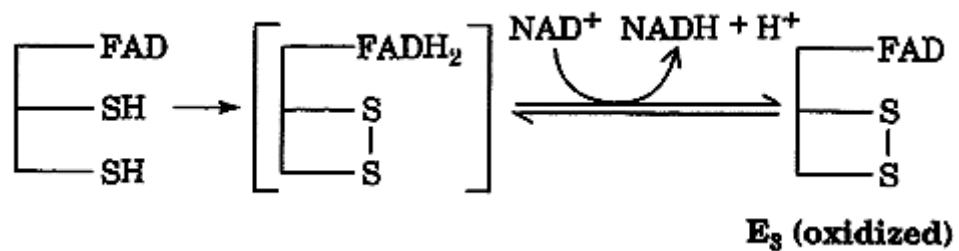
Obr. 6 Uvolnění acetyl-CoA z koenzymu dihydrolipoyltransacetylasy (Voet et al. 2008)

4. Následně dochází k reoxidaci dihydrolipoamidu dihydrolipoyldehydrogenasou (E_3), jejíž oxidovaná forma obsahuje reaktivní disulfidovou skupinu a pevně vázaný FAD (Voet et al. 2008). Průběh reakce je znázorněn na Obr. 7.



Obr. 7 Reoxidace dihydrolipoamidu dihydrolipoyldehydrogenasou (Voet et al. 2008)

5. Redukovaný E_3 je pak reoxidován mechanismem, při kterém dochází k reoxidaci $FADH_2$ pomocí NAD^+ a ten nakonec přenáší redukční ekvivalenty do dýchacího řetězce (odtud oxidační dekarboxylace; Obr. 8) (Voet et al. 2008).

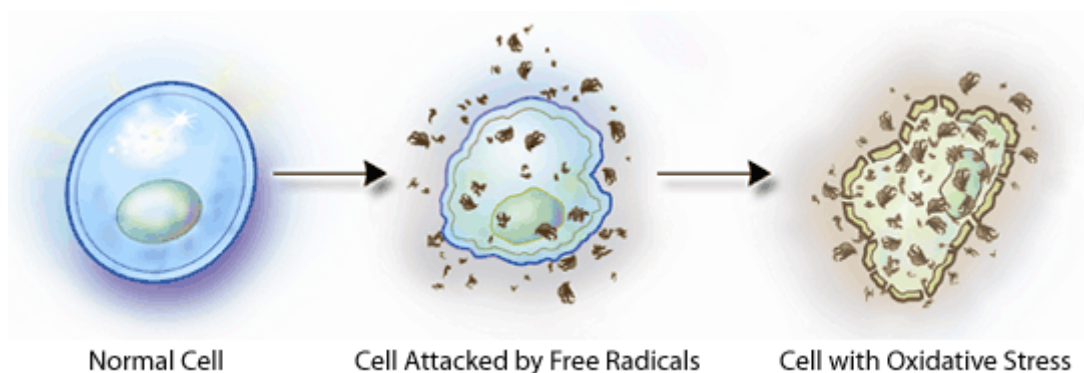


Obr. 8 Reoxidace dihydrolipoyldehydrogenasy pomocí NAD^+ (Voet et al. 2008)

5. ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI A OXIDAČNÍ STRES

Oxidační stres je termín používaný k popisu poškození buněk, tkání či orgánů způsobeného volnými radikály. Lidské tělo je vystavováno volným radikálům exogenního (z vnějšího prostředí) i endogenního původu (z vnitřního prostředí těla). Příkladem volných radikálů exogenního původu jsou smog, cigaretový kouř, ionizující záření, konzumace nadměrného množství alkoholu, a dokonce i sluneční světlo. Ale největší množství volných radikálů, kterým je lidský organismus vystaven, přichází z vnitřního prostředí. Naše buňky potřebují kyslík k výrobě energie, kterou potřebují, aby správně fungovaly. Mitochondrie v buňkách přijímají kyslík, v procesu známém jako mitochondriální dýchání ho spotřebují a následně uvolňují energii. Ale během tohoto procesu jsou rovněž produkovány volné radikály. Oxidační stres nastane, jestliže produkce volných radikálů přesahuje schopnost lidského těla neutralizovat je (Obr. 9). Tato nerovnováha může nastat ze tří důvodů:

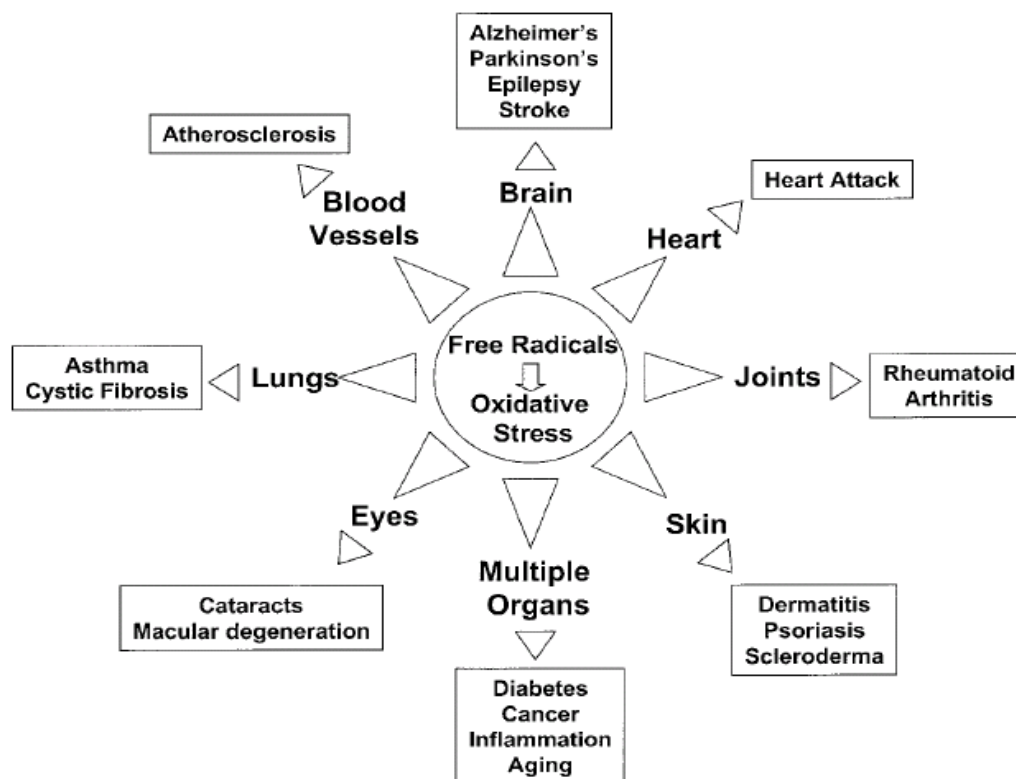
- a) je-li produkce antioxidantů snížena,
- b) vznikají-li volné radikály v přebytku,
- c) třetím důvodem je kombinace obou předchozích jevů (Oxidative stress 2008).



Obr. 9 Volné radikály a oxidační stres (Oxidative stress 2008)

Oxidační stres je spojován s celou řadou patologických stavů včetně diabetu, aterosklerózy, kardiovaskulárních a neurodegenerativních chorob (Obr. 10). Zejména diabetes mellitus je úzce spjat s probíhajícím oxidačním stresem, který by mohl být

důsledkem buď zvýšené produkce volných radikálů, nebo snížené antioxidační obrany organismu.

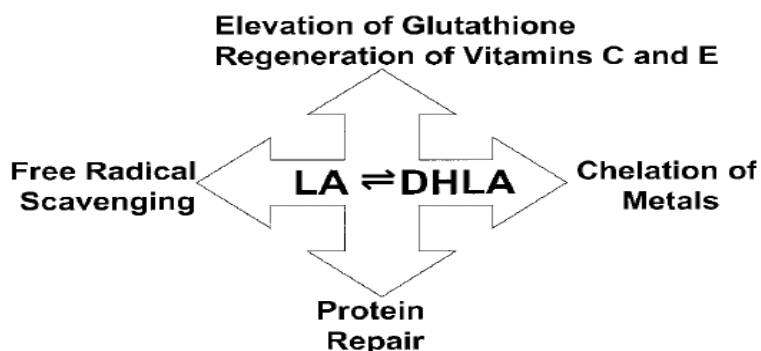


Obr. 10 Spojení mezi volnými radikály, oxidačním stresem a různými patologickými stavy (Evans a Goldfine 2000)

Proti oxidačnímu stresu buňky bojují prostřednictvím antioxidantů. Antioxidant je látka, která blokuje účinek volných radikálů (Halliwell a Gutteridge 2004). Buňka má širokou škálu endogenních antioxidantů, nicméně jejich rozsah účinku závisí na jejich redoxním potenciálu a na schopnosti být oxidován a redukován (Evans 1999). Vzhledem k nízkému redoxnímu potenciálu kyseliny lipoové, se tato sloučenina dobře účastní při reakcích neutralizujících reaktivní kyslíkové radikály, stejně jako při redukci oxidovaných forem dalších antioxidantů (vitamin C a E, glutathion). Tím spíše, že kyselina lipoová je hydrofilní i lipofilní, což je mezi antioxidanty unikátní, je z tohoto důvodu považována za sloučeninu s nejsilnějšími antioxidačními účinky (Bilaska a Wlodek 2005). Při hodnocení antioxidačních vlastností kyseliny lipoové byly pozorovány čtyři účinky (Obr. 11):

1. schopnost odstraňovat reaktivní kyslíkové radikály
2. schopnost chelatovat kovy

3. schopnost regenerovat endogenní antioxidanty (např. vitamin C a E, glutathion)
4. účast v reparačním systému (Biewenga et al. 1997a).



Obr. 11 Čtyři hlavní funkce LA a DHLA související s jejich antioxidační aktivitou (Evans a Goldfine 2000)

5.1. SCHOPNOST ODSTRAŇOVAT VOLNÉ RADIKÁLY

Pro přežívání všech aerobních organismů je molekulární kyslík nepostradatelný. Jeho částečně redukované metabolity (superoxid anion radikál a peroxid vodíku) jsou tvořeny během normálního metabolismu v mitochondriích a peroxisomech a také účinkem některých enzymů, např. cytochromem P-450, lipoxygenasou nebo xanthinoxidasou. Peroxid vodíku, i když je slabším oxidačním činidlem než superoxidový radikál, funguje jako meziprodukt při tvorbě dalších reaktivnějších a toxických produktů, jako je např. kyselina chlorná. Všechny tyto částečně redukované metabolity molekulárního kyslíku, včetně volných radikálů ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$), se označují jako reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species – ROS) díky jejich vyšší relativní reaktivitě ve srovnání s molekulárním kyslíkem (Moini et al. 2002).

Hlavní funkcí ROS je imunitní obrana hostitele, při níž jsou tyto molekuly tvořeny makrofágy a neutrofilny jako toxické látky sloužící k eliminaci mikrobů a dalších tělu cizích molekul (Moini et al. 2002). Nicméně nadměrná produkce ROS, nebo jejich nedostatečná neutralizace antioxidanty, může způsobit poškození proteinů, lipidů a DNA (Evans 1999).

K nejsilnějším antioxidantům patří lipoová a dihydrolipoová kyselina, které se vyznačují schopností přímo odstraňovat ROS a jako redoxní dvojice s nízkým redoxním

potenciálem (-0.32 V) jsou považovány za silné reduktanty (Moini et al. 2002). Pokud je reakce probíhající mezi ROS a antioxidantem rychlejší než reakce mezi ROS a cílovou molekulou, pak je dosaženo jejich antioxidační aktivity. Jako u všech chemických reakcí, i zde je reakční rychlost určována koncentrací antioxidantu a rychlostní konstantou reakce probíhající mezi antioxidantem a molekulou ROS. Antioxidační účinek mimo jiné závisí i na typu oxidačního procesu a druhu cílové molekuly (např. proteiny, lipidy, DNA, buňka nebo orgán) (Biewenga et al. 1997a).

Lipoová kyselina je vysoce účinným antioxidantem vychytávajícím hydroxylový radikál, kyselinu chlornou a singletový kyslík (Packer et al. 1995). Její redukovaná forma DHLA má nicméně ještě lepší antioxidační vlastnosti, díky nimž má schopnost odstraňovat kromě $\bullet\text{OH}$ a HOCl ještě peroxylový a superoxidový radikál. Proto je pravděpodobné, že DHLA hraje hlavní roli při pozorování antioxidační aktivity kyseliny lipoové (Biewenga et al. 1997a).

5.2. SCHOPNOST CHELATOVAT KOVY

Chelatace kovů je vlastnost sloučenin, která může mít za následek buď antioxidační, nebo prooxidační aktivitu. Antioxidační aktivita nastává, pokud vzniká komplex, v němž je kov stericky stíněný a všechna koordinační místa pro kyslík jsou obsazena. Kromě toho je antioxidační aktivity dosaženo, pokud jsou elektrony chelátorem odtaženy z iontu kovu a nemohou tak být přesunuty na kyslík. Naproti tomu prooxidační účinek se projeví, když jsou koordinační místa pro kyslík volná a kov je v redukovaném stavu. Ligand přenáší elektrony na kov a ty jsou následně přeneseny na kyslík (Biewenga et al. 1997a).

Nejdůležitějším přechodným kovem, který zastává významnou úlohu v oxidačním stresu, je železo. Bylo prokázáno, že kyselina lipoová tvoří v polárních, ale bezvodých rozpouštědlech komplexy s Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} , ale komplexy s Fe^{3+} netvoří. DHLA může chelatovat Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} a Fe^{3+} , což má za následek vznik komplexů špatně rozpustných ve vodě. Důkazy svědčí také o tom, že komplexy DHLA s Fe^{3+} jsou stabilnější než s Fe^{2+} (Biewenga et al. 1997a).

LA a DHLA vytvářejí komplexy s kovy prostřednictvím svých karboxylových skupin a atomů síry resp. disulfidových nebo thiolátových skupin (Biewenga et al.

1997b). Komplexy tvořené bisnor- a tetranor-lipoovou kyselinou, což jsou homology kratší o dva a čtyři uhlíky, jsou stabilnější než komplexy s kyselinou lipoovou pravděpodobně díky kratšímu řetězci, který umožňuje dithiolanovému kruhu se také podílet na chelataci kovů (Packer et al. 1995).

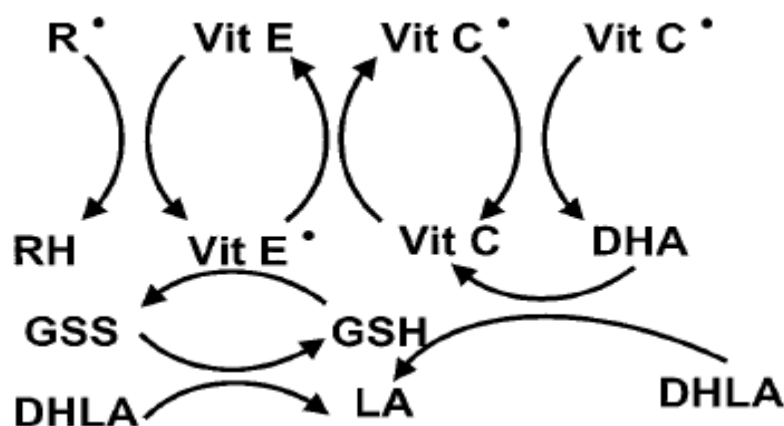
Redukční aktivita iontů kovů, jako jsou volné železo a měď, může způsobit oxidační poškození v reakcích, při kterých vznikají vysoce reaktivní volné radikály (Higdon 2006). Dokonce i malé množství kadmia (Cd^{2+}) může způsobit významnou peroxidaci lipidů v mozku, srdci a varlatech, které se dá předejít působením kyseliny lipoové. LA chelatací železa a mědi v mozku může omezit poškození, které přispívá ke vzniku Alzheimerovy choroby a dalších chronických onemocnění, v nichž může hrát roli oxidační poškození vyvolané kovy (Best 1990-2010).

LA a DHLA mají odlišné antioxidační účinky. DHLA vykazuje navíc prooxidační účinky, které jsou pravděpodobně způsobené její interakcí se železem. Možná nejdůležitější otázkou je, za jakých podmínek působí DHLA jako prooxidant. Existují alespoň dvě možné odpovědi na tuto otázku. Za první může DHLA působit jako reduktant přechodných kovů, zejména železa, a za druhé tato sloučenina regeneruje askorbát, který je známý pro svoji schopnost redukovat železo. DHLA váže Fe^{2+} a Fe^{3+} a může snadno redukovat Fe^{3+} na Fe^{2+} . Tato redukce zvyšuje množství Fe^{2+} a tím podporuje peroxidaci lipidů. Zdá se, že DHLA je také schopná odstraňovat železo ze zásobního proteinu feritinu v železnaté i železité formě, ale není schopná odstraňovat železo z hemu. Prooxidační vlastnosti DHLA nejsou ještě zcela objasněny, ale mohou být vážným znepokojením v biologických systémech (Packer et al. 1995).

5.3. SCHOPNOST REGENEROVAT ENDOGENNÍ ANTIOXIDANTY

Redoxní pár LA a DHLA umožňuje regenerovat ze svých radikálových forem mnohé další antioxidanty včetně vitamínu C, glutathionu a vitamínu E prostřednictvím souboru spojených reakcí. Obr. 13 ukazuje zjednodušený příklad spolupráce LA a DHLA s vitamínem C a glutathionem na regeneraci vitamínu E (Evans a Goldfine 2000), což je hlavní antioxidant, který chrání membrány před lipoperoxidací (Packer et al. 1995). LA po redukcí na DHLA má schopnost přeměnit dehydroaskorbát (DHA) na

askorbát (vitamin C), který je dále schopen regenerovat tokoferolový radikál (vit E[•]) na tokoferol. Kromě toho může DHLA poskytovat redukční ekvivalenty usnadňující přeměnu glutathionu ze své oxidované formy (GSS) na redukovanou formu (GSH), která také přispívá k regeneraci vitamínu E. Redukční ekvivalenty pro přeměnu LA na DHLA jsou poskytovány prostřednictvím NADH nebo NADPH (Evans et al. 2003).



Obr. 12 Regenerace endogenních antioxidantů lipoovou a dihydrolipoovou kyselinou (Evans a Goldfine 2000).

Schopnost LA regenerovat glutathion může mít zvláštní fyziologický význam vzhledem k tomu, že je glutathion hlavním intracelulárním thiolovým antioxidantem (Evans a Goldfine 2000), který hraje také roli při detoxikaci a odstraňování potenciálních karcinogenů a toxinů (Higdon 2006).

DHLA má ve srovnání s GSH nižší redoxní potenciál, stejně jako nižší molekulovou hmotnost (Packer et al. 1995). Studie prokázaly, že po intracelulární redukci LA, je DHLA rychle uvolněna do extracelulárního prostoru, kde umožňuje redukci cystinu na cystein, načež je cystein použit k syntéze glutathionu. Zvýšení dostupnosti intracelulárního cysteinu vyvolané kyselinou lipoovou tedy znamená zvýšení hladiny GSH (Moini et al. 2002).

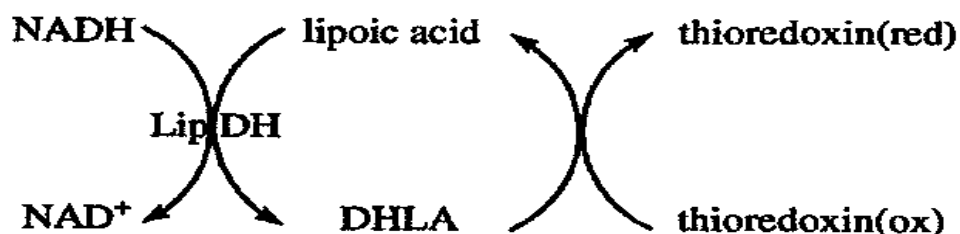
5.4. ÚČAST V REPARAČNÍM SYSTÉMU

Oxidační stres je proces, který může vést k poškození DNA, lipidů a bílkovin. Jednou z metod, jak překonat oxidační poškození, je degradace a obnova poškozených

molekul. Druhá metoda, oprava, může být zvláště důležitá pro proteiny s nízkým koeficientem obratu. Obzvláště náchylné k oxidaci jsou aminokyselinové zbytky proteinů, jako jsou tryptofan, histidin, tyrosin, cystein a methionin.

Zatímco některá oxidační činidla (ozon, superoxidový radikál, hydroxylový radikál) ničí aminokyselinové zbytky náhodně, jiná činidla (H_2O_2 , HOCl, chloraminy a $ONOO^-$) přednostně oxidují odkryté zbytky methioninu. Oxidace některých methioninových zbytků přesto nemusí mít vliv na fyzické a imunochemické vlastnosti a dokonce ani na biologickou aktivitu daného peptidu nebo bílkoviny. Naopak oxidace jiných, specifických zbytků, může okamžitě vést k inaktivaci proteinu. To bylo pozorováno u některých enzymů, hormonů, chemotaktických faktorů a u plasmatických inhibitorů proteinasy.

Vzhledem k tomu, že reakce podílející se na opravě oxidovaných methioninových zbytků vyžadují redukční ekvivalenty, kyselina lipoová může přispět právě jejich dodáním. Toho lze dosáhnout zvýšením množství redukovaného thioredoxinu. Obr. 13 ukazuje, že dihydrolipoamid, analog DHLA, může redukovat thioredoxin následujícím způsobem (Biewenga et al. 1997a):



Obr. 13 Redukce thioredoxinu pomocí DHLA (převzato z Biewenga et al. 1997a)

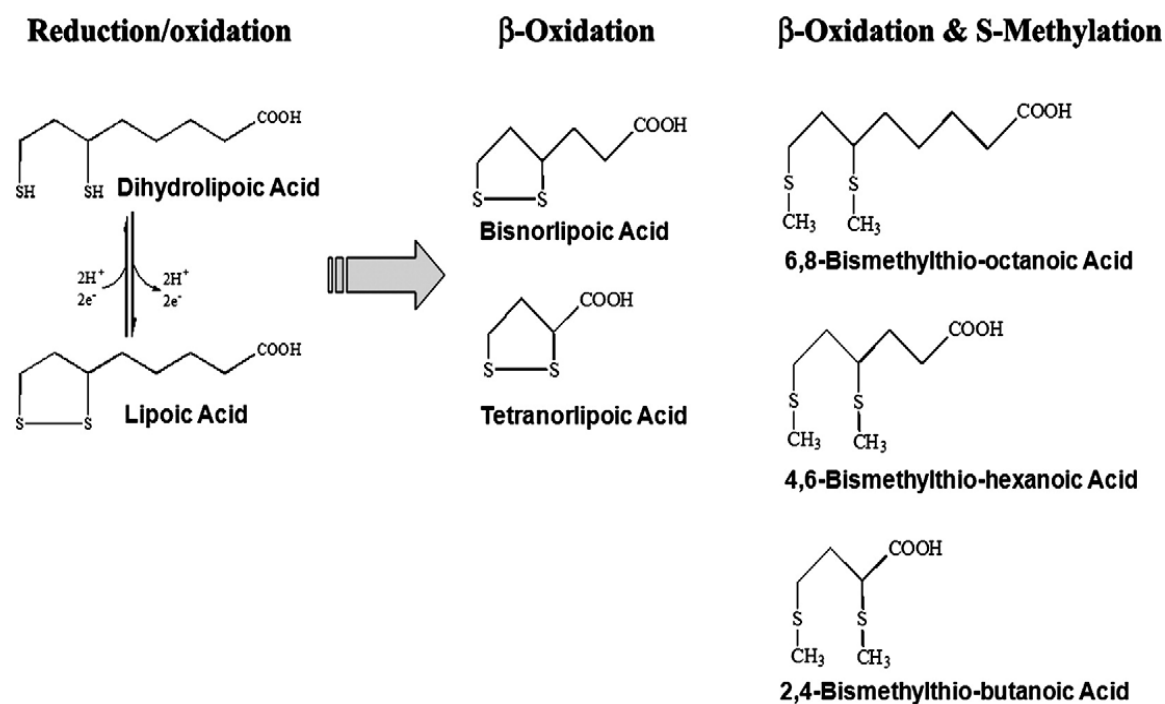
6. PŘÍJEM A METABOLISMUS

LA je syntetizovaná v játrech, kde také probíhá její metabolismus, z osmi uhlíkaté mastné kyseliny (oktanové kyseliny) a cysteinu (zdroj síry). Přírodně se vyskytující R-enantiomer LA je přítomen v potravinách, ve kterých je kovalentně vázán na aminokyselinu lysin ve formě lipoyllysinu, přičemž vysoké koncentrace LA byly nalezeny v živočišných tkáních s rozsáhlou metabolickou aktivitou, jako jsou srdce, játra a ledviny. Mezi nejbohatší rostlinné zdroje LA patří špenát, brokolice a rajčata. LA se snadno vstřebává z potravy (Singh et al. 2008). Mechanismy, kterými se LA z potravinových zdrojů vstřebává přes epitelové buňky, byly prozkoumány za použití CACO-2 buněk. Bylo zjištěno, že LA rychle prochází přes monovrstvu buněk a to procesy závislými na pH (Takaishi et al. 2007). Transport LA je inhibován kyselinou benzoovou a mastnými kyselinami se středně dlouhým řetězcem, což naznačuje, že za střevní absorpci LA je pravděpodobně zodpovědný monokarboxylátový přenašeč. Další *in vitro* studie identifikovaly LA jako substrát pro Na⁺-dependentní multivitaminový přenašeč, který může přispět nejen k její gastrointestinální absorpci, ale může být také zapojen do transportu LA z krevní plazmy do tkání (Shay et al. 2009).

Do oběhu vstupuje jen malé množství LA pocházející z potravin nebo z biosyntézy. Po perorálním podání racemické LA je tato absorbována v poměrně vysokém množství (Biewenga et al. 1997a). Bylo zjištěno, že plazmatická koncentrace R-LA je o 40-50% vyšší než koncentrace S-LA po podání racemické směsi LA, z čehož vyplývá, že R-LA je absorbována lépe než S-LA. Oba izomery jsou nicméně rychle metabolizovány a eliminovány (Singh et al. 2008).

Po vstřebání do tkání je LA předmětem rozsáhlého katabolismu, při kterém hraje důležitou roli mitochondriální β -oxidace. Při té vznikají metabolity jako bisnorlipoát, tetranorlipoát, β -hydroxybisnorlipoát nebo bismethylované merkaptoderiváty těchto sloučenin (Obr. 14). *In vitro* studie ukazují, že je LA v tkáních kromě katabolismu také rychle redukována na DHLA (Shay et al. 2009). Byly identifikovány dva enzymové systémy, které se účastní redukce LA. Prvním z nich je mitochondriální dihydrolipoamiddehydrogenasa, která je schopná redukce LA na DHLA za účasti NADH. Tento enzym vykazuje výraznou preferenci pro přírodní R-enantiomer LA. Druhým enzymem je glutathionreduktasa, která katalyzuje redukci především S-

enantiomeru LA za účasti NADPH (Moini et al. 2002). Vznikající DHLA je, stejně jako LA a všechny její metabolity, rovněž rychle vylučována do moči (Shay et al. 2009).



Obr. 14 Kyselina lipoová, její redukovaná forma DHLA a pět nejběžnějších metabolitů (převzato ze Shay et al. 2009)

7. TERAPEUTICKÉ POUŽITÍ

Podávání α -lipoové kyseliny, jejíž léčebný efekt souvisí s její antioxidační aktivitou (Biewenga et al. 1997a), se ukázalo být účinné v prevenci patologických stavů, jako jsou diabetes mellitus, katarakta, ischemicko-reperfuční poškození, aktivace HIV, neurodegenerativní choroby a radiační poškození (Packer et al. 1995).

7.1. DIABETES MELLITUS

Chronicky zvýšené hladiny glukosy v krvi jsou charakteristickým znakem diabetu mellitu (Higdon 2006). Při diabetu I. typu (insulin-dependentní diabetes mellitus) způsobí autoimunitní destrukce pankreatických β -buněk ztrátu sekrece insulínu, zatímco u diabetu II. typu (noninsulin-dependentní diabetes mellitus) je hlavním problémem rezistence periferních tkání k insulínu (Packer et al. 1995). Antioxidanty včetně LA prokázaly v rámci mnoha studií preventivní účinky u obou typů diabetu (Evans et al. 2003).

Úloha oxidačního stresu při diabetu mellitu není striktně omezena jen na pozdější fáze onemocnění, ale negativně ovlivňuje i jeho počáteční stádium (např. poškození insulinové signalizace). Uvažuje se dokonce o souvislosti oxidačního poškození s etiologií tohoto onemocnění (Evans 1999).

Podstatou insulinové signalizace je navázání insulínu na insulinový receptor (IR), které vyvolá autofosforylaci několika tyrosinových zbytků IR. Aktivace IR stimuluje kaskádu fosforylací proteinů, což má za následek translokaci glukosových transportérů (GLUT-4) na povrch buněčné membrány a následné zvýšené vychytávání glukosy (Konrad 2005). Některé studie uvádějí, že LA způsobí translokaci GLUT-4 přenašeče z cytosolu na povrch plasmatické membrány a tím zesílí účinek insulínu na transport glukosy do buněk. Výsledkem je snížení hladiny krevního cukru a aktivace jeho následného využití buňkami (Packer et al. 1995, Higdon 2006). Bashan se spolupracovníky (1993) zjistili, že R enantiomer LA je účinnější ve stimulaci příjmu glukosy do buněk než S-forma.

Látky indukující oxidační stres vykazují nejen inhibiční účinek v insulinové signální kaskádě, ale mají i schopnost potlačit aktivaci IR a zhoršit insulinem-stimulovaný transport glukosy. Důležité je, že LA je schopna poskytnout organismu ochranu proti

poškozením vyvolaným oxidačním stresem. To znamená, že transport glukosy v buňkách vystavených působení LA a následně podrobených oxidačnímu stresu je mnohem citlivější k insulinu, než je tomu u buněk, které nebyly preinkubovány s kyselinou lipoovou. Mechanismus tohoto protektivního účinku není zatím zcela objasněn, ale předpokládá se, že souvisí se schopností LA obnovovat intracelulární redoxní rovnováhu (Evans 1999).

Existuje také mnoho důkazů, které naznačují, že oxidační stres hraje významnou úlohu v rozvoji diabetických komplikací, včetně polyneuropatie a vzniku katarakty (Evans a Goldfine 2000).

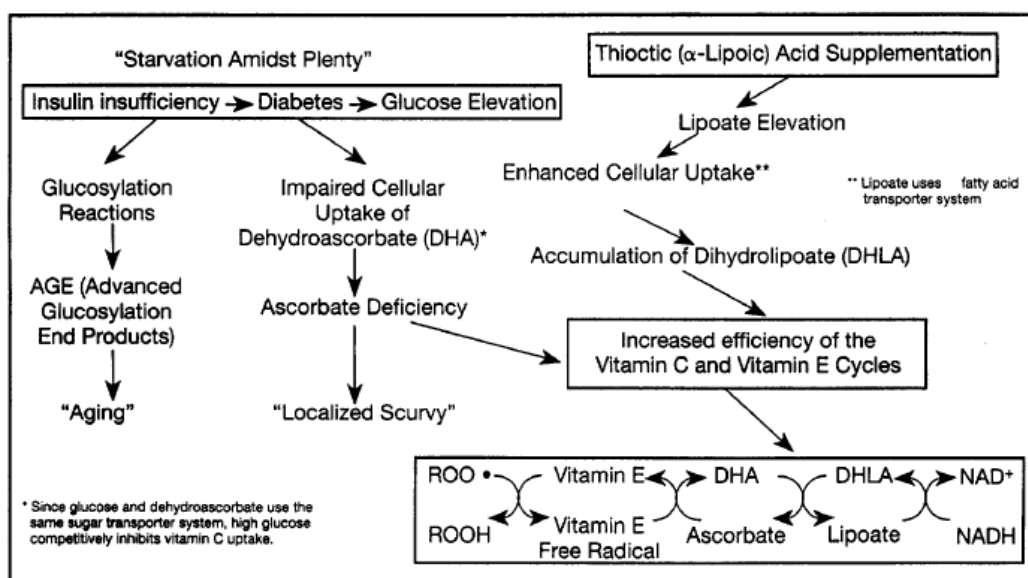
7.1.1. DIABETICKÁ POLYNEUROPATIE

Diabetická polyneuropatie je stav, při kterém je snížen endoneurální průtok krve a parciální tlak kyslíku. Tato endoneurální hypoxie je spojena s nárůstem oxidačního stresu a zpomalením rychlosti vedení nervového vzruchu (Packer et al. 1995). Kyselina α -lipoová může snižovat hladinu glukosy v krvi a svou schopností vychytávat volné radikály pomáhá snížit bolest, pálení, svědění, mravenčení a brnění u pacientů s diabetickou neuropatií (Alpha-lipoic acid 2009).

V minulosti proběhla celá řada klinických studií zaměřených na účinek LA u pacientů s diabetickou neuropatií. Z nich byly poučné zejména studie ALADIN a ORPIL, které byly obě randomizované, placebem kontrolované a dvojitě zaslepené (Singh a Jialal 2008). V prvně zmíněné studii byla pacientům podávána LA intravenózně ve třech různých dávkách (100, 600 a 1200 mg/den) po dobu tří týdnů. U obou vyšších dávek došlo k výraznému zlepšení bolestivosti, znecitlivění a parestesie u pacientů (Ziegler et al. 1995). Během studie ORPIL bylo pacientům perorálně podáváno 1800 mg LA/den ve třech dílčích dávkách po dobu tří týdnů. Na konci studie došlo k významnému zlepšení endoneurálních funkcí u studovaných subjektů (Ruhnu et al. 1999). V současné době jsou v České Republice registrovány dva přípravky obsahující kyselinu α -lipoovou (Thioctacid a Thiogamma) určené k léčbě diabetické polyneuropatie. Oba mají shodnou sílu (600 mg) a vyrábějí se ve formě potahovaných tablet a injekčních roztoků (Mikro-verze AISLP). U pacientů trpících diabetickou polyneuropatií se obvykle kombinuje perorální užívání s infuzním podáním tohoto přípravku (infuze jednou za šest měsíců) (ústní sdělení Dr. Boušová).

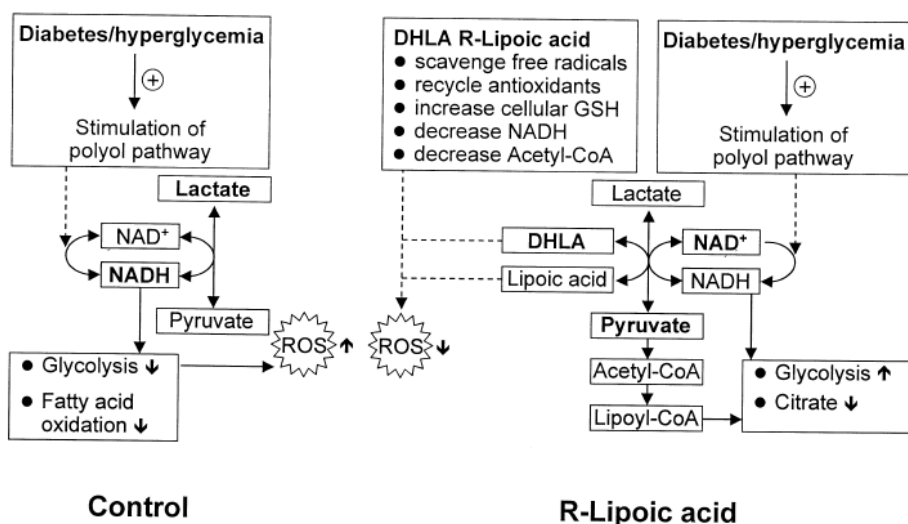
7.1.2. ŠEDÝ ZÁKAL (KATARAKTA)

Další poměrně častou komplikací diabetu je vznik šedého zákalu. Jedním z možných vysvětlení pozitivního účinku LA je to, že tato sloučenina šetří vitamin C, jehož transport do buněk je ovlivněn probíhajícím diabetem. Vitamin C a glukosa jsou v tkáních nezávislých na insulinu transportovány do buněk pomocí stejného přenašeče, takže zvýšené hladiny glukosy v krvi kompetitivně inhibují vstup vitamínu C do těchto buněk, což vede k jeho lokalizovanému intracelulárnímu nedostatku (Obr. 15). Exogenně podávaná LA využívá pro vstup do buněk jiný transportní systém (transportní systém pro mastné kyseliny) a je následně uvnitř buňky přeměněna na dihydrolipoát, který má schopnost recyklovat vitamin C (Packer 1993).



Obr. 15 Schematické znázornění patobiochemické situace při diabetu mellitu a možná náprava pomocí α -lipoové kyseliny (převzato z Packer et al. 1995).

Packer et al. (2001) popisují, že dalšími možnostmi zásahu α -LA do rozvoje katarakty je zvýšení syntézy GSH nebo snížení koncentrace nahromaděného NADH, které souvisí s probíhající polyolovou cestou (Obr. 16), což je nevratná přeměna glukosy na sorbitol katalyzovaná aldosa reduktasou za účasti NADPH. Sorbitol je dále oxidován na fruktosu a při této reakci se spotřebovává NAD⁺. Výsledkem je redukční nerovnováha, protože dochází k hromadění NADH a úbytku NADPH. Nahromaděné NADH je použito k redukci kyseliny lipoové na DHLA. Tím dochází ke zvýšení poměru NAD⁺ ku NADH a tím i ke stimulaci glykolýzy.



Obr. 16 Vliv polyolové cesty na hladinu NADH v buňce při diabetu mellitu. Účast kyseliny lipoové v tomto procesu (převzato z Packer et al. 2001).

7.2. NEURODEGENERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ

Tkáně CNS jsou zvláště citlivé k oxidačnímu poškození kvůli vysoké spotřebě kyslíku a velkému počtu mitochondrií. Mitochondrie produkují během metabolických procesů v nich katalyzovaných jako vedlejší produkt volné radikály, které následně poškozují mitochondriální DNA. Při transkripci pak dochází k syntéze defektních proteinů dýchacího řetězce, které mohou vyvolat vyšší produkci volných radikálů a tím i další poškození mitochondriální DNA. Tento začarovaný kruh může být jednou z příčin vzniku neurodegenerativních onemocnění (Halliwell a Gutteridge 2001).

Poškození mozku způsobené cévní mozkovou příhodou, srdeční zástavou, krvácením nebo poraněním hlavy vzniká následkem náhlé reoxygenace tkáně (reperfúze) po periodě větší či menší hypoxie. Podávání LA pokusným zvířatům s navozeným ischemicko-reperfúzním poškozením (např. s okluzí mozkové tepny) zmírnilo dopady reperfúze. U těchto zvířat byla nalezena nižší hladina ROS v buňkách mozku, menší rozsah poškození a délka jejich přežití byla rozhodně delší, než tomu bylo u kontrolní skupiny (Bilská a Wlodek 2005). Kyselina lipoová může díky svým vlastnostem snadno přecházet přes hematoencefalickou bariéru a je díky svým protektivním účinkům na nervovou tkáň používána k léčbě mozkové mrtvice a dalších poruch způsobených volnými radikály (Alpha-lipoic acid 2009).

Podání LA těhotným během porodu by mohlo být vhodnou prevencí oxidačního poškození mozku novorozence. Porod je téměř vždy spojen se slabší nebo silnější hypoxií, následnou reperfuzí a náhlým oksyličněním novorozence. Vzhledem k cytoprotektivnímu účinku LA při reperfuzi je možné, že podávání této sloučeniny těhotným během porodu může zabránit poměrně vysokým ztrátám neuronů u novorozenců a mohlo by mít příznivý vliv na jejich zdraví a inteligenci (Bilska a Wlodek 2005).

7.2.1. PARKINSONOVA CHOROBA

Potvrzení vzájemných vztahů mezi oxidačním stresem, redoxním stavem buněk a průběhem neurodegenerativních procesů vychází ze studií, které našly sníženou hladinu redukovaného GSH v neuronech substantia nigra u pacientů s Parkinsonovou chorobou. V mozku těchto pacientů byla prokázána zvýšená přeměna dopaminu (DA) na dihydroxyfenylacetát v extrapyramidovém systému katalyzovaná monoaminoxidasou typu B, která měla za následek zvýšenou produkci H_2O_2 , čímž se zvýšila koncentrace neurotoxických hydroxylových radikálů ($\bullet OH$). Peroxid vodíku ovšem nevzniká jen při oxidaci DA, ale též při oxidaci jeho prekurzoru L-DOPA (3,4-dihydroxyfenyl-L-alanin). Proto jsou v současné době intenzivně hledány léky a látky s neuroprotektivním potenciálem. V úvahu jsou brány i antioxidanty a sloučeniny pomáhající udržet vysoké hladiny GSH v buňkách CNS (Bilska a Wlodek 2005).

7.2.2. ALZHEIMEROVA CHOROBA

Alzheimerova choroba je progresivní onemocnění CNS, jehož příznaky zahrnují ztrátu paměti a kognitivních funkcí doprovázené rozpadem osobnosti. Je pravděpodobné, že ROS přispívají k průběhu tohoto onemocnění. Charakteristickým histopatologickým znakem je přítomnost extracelulárních ložisek β -amyloidu (tzv. senilní plaky), který je tvořen z prekurzoru označovaného jako amyloidový prekurzorový protein (β -APP). Za fyziologických podmínek je β -APP proteolyticky rozštěpen α -sekretasou na rozpustný β -amyloid, peptid složený z 39 aminokyselin (βA_{39}). Dojde-li ke štěpení β -APP pomocí γ - a β -sekretas, dochází k tvorbě nestabilních peptidů obsahujících 42 (βA_{42}) a 43 (βA_{43}) aminokyselin. Tyto neurotoxické peptidy

jsou hlavními složkami senilních plaků a jsou zdrojem ROS (Halliwell a Gutteridge 2004).

Předběžné studie u pacientů s diagnostikovanou demencí ukazují, že podání LA zpomaluje průběh onemocnění, což bylo potvrzeno dvěma neuropsychologickými testy. Dělat závěry z těchto studií je předčasné, ale jejich výsledky naznačují možný neuroprotektivní účinek LA na průběh Alzheimerovy choroby (Bilka a Wlodek 2005).

7.3. AKTIVACE TRANSKRIPČNÍHO FAKTORU NF- κ B

K aktivaci transkripčního faktoru NF- κ B (jaderný faktor κ B) může dojít vlivem celé řady patogenních stimulů, jako jsou cytokiny, mitogeny, bakterie, viry, fyzická zátěž, UV a ionizační záření, oxidanty (např. H_2O_2) a různé chemikálie (např. estery forbolu, inhibitory fosfatasy). Po aktivaci tohoto faktoru dochází k jeho vazbě na promotor a aktivaci transkripce celé řady genů, které kódují mimo jiné cytokiny, adhezní molekuly, proteiny akutní fáze a růstové faktory (Sen a Packer 1996). Aktivace NF- κ B má i důležité klinické dopady, protože se podílí například na transkripci genů HIV (HIV-1 obsahuje doménu pro vazbu NF- κ B) a v procesu atherogeneze (modifikovaný LDL aktivuje NF- κ B).

Proběhly pilotní studie, ve kterých byla pacientům s HIV perorálně podávána LA (150 mg/den) a sledoval se vliv jejího podání na antioxidační status a koncentraci produktů peroxidace v krvi. Po ukončení experimentu měla většina pacientů vyšší hladiny vitamínu C a glutathionu a snížené hladiny malondialdehydu a 4-hydroxynonenalu (produkty peroxidace lipidů). Kromě toho došlo u dvou třetin pacientů ke zvýšení počtu pomocných T-lymfocytů a zlepšení poměru pomocných a supresorových T-lymfocytů (Fuchs et al. 1993). Také v buněčných kulturách dokázala LA a DHLA zabránit replikaci HIV a aktivaci NF- κ B (Packer et al. 1995).

7.4. ONEMOCNĚNÍ JATER

α -LA se často používá k léčbě poškození zahrnujících různé patologie jater. Důvodem pro takovouto léčbu je metabolická úloha LA, nikoli její antioxidační vlastnosti. Nejvíce prostudované stavy jsou otravy houbami a cirhóza jater.

7.4.1. OTRAVY HOUBAMI

Použití LA v terapii otrav muchomůrkou je sporné. V literatuře se vyskytuje mnoho kasuistik, které popisují úplné zotavení po otravě muchomůrkou při podávání LA, ale nelze zanedbat, že 10-50% obětí otravy se plně zotavilo i bez jejího užití. V testech na zvířatech se LA projevila jako zcela neúčinná a výše zmíněné případy mohou být tedy jen shodou náhod. Některé výzkumné skupiny doporučují její odstranění z léčebného režimu u otrav houbami (Packer et al. 1995).

7.4.2. ONEMOCNĚNÍ JATER ZPŮSOBENÉ ALKOHOLEM

Některé studie popisují benefiční účinek podávání LA u různých jaterních onemocnění, zejména u cirhózy jater způsobené abusem alkoholu. Nicméně tyto studie trpí jedním nebo více nedostatky: chybí kontrolní skupina, chybí statistická analýza dat nebo byla podávána ještě jiná léčba kromě LA. V placebem kontrolované, dvojitě zaslepené studii, která byla zaměřena na dlouhodobé podávání LA (300 mg/den, 6 měsíců) pacientům s cirhózou jater, neměla LA žádný protektivní účinek na průběh nemoci (Packer et al. 1995).

7.5. ÚČINKY CIGARETOVÉHO KOUŘE NA PLAZMATICKÉ PROTEINY

Cigaretový kouř může být příčinou patologických jevů, jako jsou aterosklerosa, plicní emfyzém nebo rakovina plic. Ačkoli přesný mechanismus působení cigaretového kouře nebyl dosud objasněn, je známo, že obsahuje velké množství volných radikálů (10^{16} volných radikálů/cigareta) (Štípek 2000). Exogenně dodávaná DHLA chrání antioxidanty, thiolové skupiny proteinů a lipidy před oxidací vyvolanou cigaretovým kouřem. DHLA také částečně chrání polymorfonukleární leukocyty proti škodlivému účinku cigaretového kouře. Tento efekt může být způsoben odstraňováním oxidantů z vodné nebo lipidové fáze nebo regenerací vitamínu C, který je působením volných radikálů z cigaretového kouře oxidován na askorbylový radikál. V tomto ohledu by mohla DHLA hrát roli při minimalizaci patologických důsledků kouření (Packer et al. 1995).

8. DISKUZE A ZÁVĚRY

Kyselina lipoová je přirozeně se vyskytující sloučeninou, která je syntetizována v malém množství rostlinami i živočichy, včetně člověka. Může se vyskytovat v redukované nebo oxidované formě, protože ve své molekule obsahuje dvě thiolové skupiny, které se mohou oxidovat. Vzhledem k přítomnosti asymetrického uhlíku rozeznáváme dva optické izomery této sloučeniny, R-LA a S-LA. Potravinové doplňky s kyselinou lipoovou obsahují buď R-enantiomer, nebo racemickou směs R-LA a S-LA v poměru 1:1.

Endogenně syntetizovaná LA je kovalentně vázaná na specifické proteiny, které slouží jako kofaktory několika významných mitochondriálních enzymových komplexů, např. pyruvátdehydrogenasový komplex (Higdon 2006). Ten katalyzuje oxidační dekarboxylaci pyruvátu na acetyl-CoA, což je rozhodující krok v oxidačním metabolismu glukosy. LA tedy hraje zásadní roli při výrobě energie v buňce (Evans 1999). LA tvoří v tomto komplexu lipoamidovou prostetickou skupinu dihydrolipoyltransacetylasy, která přijímá acetylovou skupinu a předává ji na CoA (Evans a Goldfine 2000).

Vzhledem ke své základní roli v buněčném metabolismu jsou mitochondrie také hlavním zdrojem volných radikálů, jejichž nadměrná produkce může vést k poškození proteinů, lipidů nebo DNA (Evans 1999). Díky schopnosti fungovat v membránovém (lipidovém) i vodném prostředí jsou LA a její redukovaná forma DHLA označovány za univerzální antioxidanty, které jsou schopné přímo odstraňovat řadu reaktivní forem kyslíku, chelatovat přechodné kovy a regenerovat jiné antioxidanty (Packer et al. 1995). Díky nízkému redoxnímu potenciálu systému lipoát/dihydrolipoát, který je rozhodující pro silné antioxidační účinky, patří LA k nejúčinnějším antioxidantům. Proto se vyznačuje vysokou reaktivitou vůči volným radikálům a schopností regenerovat vitamin C a E. Kromě toho také zvyšuje tkáňové hladiny GSH (Bilska a Wlodek 2005).

Redoxní reakce patří k základním metabolickým drahám všech buněk. Nicméně posunutí rovnováhy mezi prooxidanty a antioxidanty ve prospěch prooxidantů může vysvětlovat mechanismy, které se podílejí na etiopatogenezi a rozvoji mnoha patologických stavů, jako jsou například nádorová onemocnění, AIDS, neurodegenerativní choroby nebo diabetes mellitus. Tato skutečnost podtrhuje význam antioxidantů v léčbě zmíněných onemocnění. LA je například používána k léčbě

pacientů trpících diabetickou polyneuropatií (Ziegler et al. 1995). Její aplikace u dalších onemocnění se ještě musí otestovat.

9. SEZNAM LITERATURY

Alpha-lipoic acid - University of Maryland Medical Center [online]. c2009 [cit. 2009-11-05]. Dostupné z: <<http://www.umm.edu/altmed/articles/alpha-lipoic-000285.htm>>.

Alfa lipoová kyselina – On-line internetová lékárna Vitalsupport [online]. c2008 [cit. 2009-09-30]. Dostupné z: <<http://www.vitalsupport.cz/lekarna/doplanky-vyzivy/antioxidanty/Alfa-lipoova-kyselina-ALA.html>>.

Bashan N., Burdett E., Guma A., Klip A. (1993) Effect of thioctic acid on glucose transport. In: Gries F.A. a Wessel K. (eds) *The Role of Antioxidants in Diabetes Mellitus*. 1st ed. Verl Gruppe, Düsseldorf, str. 33–55 (převzato z *Packer L. et al. 1995*).

Best B., *Lipoic Acid* [online]. c1990-2010 [cit. 2009-11-05]. Dostupné z: <<http://www.benbest.com/nutrceut/lipoic.html>>.

Biewenga G.P., Haenen G.R.M.M., Bast A. (1997a) The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen. Pharmac.* 29, 315-331.

Biewenga G.P., Haenen G.R.M.M., Bast A. (1997b) An overview of lipoate chemistry. In: Fuchs J., Packer L., Zimmer G. *Lipoic Acid in Health and Disease*. 1st ed. Dekker, New York, str. 1-33.

Bilska A., Wlodek L. (2005) Lipoic acid – the drug of the future? *Pharmacological Reports* 57, 570-577.

Evans J. L. (1999) Lipoic acid for aging and diabetes: The benefits of extending plasma half- life. *Anti-Aging Medical News* 1, 14-30.

Evans J. L., Goldfine I. D. (2000) α -Lipoic acid: A multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* 2, 401-13.

Evans J. L., Maddux B. A., Goldfine I. D. (2003) Antioxidants in diabetic complications and insulin resistance. In: Raz I., Skyler J., Shafrir E. (eds.) *Diabetes: From Research to Diagnosis and Treatment*. 1st ed. Martin Dunitz, London, str. 479-96.

Fuchs J., Schöfer H., Milbradt R., Freisleben H.J., Buhl R., Siems W., Grune T. (1993) Studies on lipoate effects on blood redox state in human immunodeficiency

virus infected patients. *Arzneimittelforschung*. 43, 1359-62 (*převzato z Packer L. et al. 1995*).

Halliwell B., Gutteridge J. (2004) *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Oxford University Press, Oxford, 936 stran.

Higdon J. *Lipoic Acid - Linus Pauling Institute at Oregon State University* [online]. Poslední revize 04.2006 [cit. 2009-11-05]. Dostupné z: <<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/la/index.html>>.

Jindra A., Kovács P., Pšenák M., Šípal Z. (1985) *Biochémia – molekulárnobiologické a farmaceutické aspekty*. 1. vyd. Osveta, Martin, 555 stran.

Jindra A., Šípal Z., Kovács P. (1966) *Učebnice biochemie pro farmaceuty*. 1. vyd. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 527 stran.

Konrad D. (2005) Utilization of the insulin-signaling network in the metabolit actions of alpha-lipoic acid-reduction or oxidation? *Antioxid. Redox Signal*. 7, 1032-1039 (*převzato ze Singh U. a Jialal I. 2008*).

Maddux B.A., See W., Lawrence J.C., Jr., Goldfine A.L., Goldfine I.D., Evans J.L. (2001) Protection Against Oxidative Stress-Induced Insulin Resistance in Rat L6 Muscle Cells by Micromolar Concentrations of α -Lipoic Acid. *Diabetes* 50, 404-10.

Mikro-verze AISLP [databáze]. Praha: RNDr. Bohuslav Škop, 1.1.2010 [cit. 2010-03-16]. Dostupné z: počítačová síť Farmaceutické fakulty UK. Informační systém humánních, homeopatických a veterinárních léčivých přípravků registrovaných v České republice a na Slovensku

Moini H., Packer L., Saris N.-E.L. (2002) Antioxidant and prooxidant activities of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 182, 84-90.

Oxidative stress – Glucotize [online]. c2008 [cit. 2009-10-17]. Dostupné z: <http://www.glucotize.com/ox_stress.html>.

Packer L. (1993) The role of anti-oxidative treatment of diabetes mellitus. *Diabetologia*. 36, 1212-13 (*převzato z Packer L. et al. 1995*).

Packer L., Kraemer K., Rimbach G. (2001) Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*. 17, 888-95.

Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. (1995) Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.* 19, 227-50.

Ruhnau K.J., Meissner H.P., Finn J.R., Reljanovic M., Lobisch M., Schütte K., Nehrdich D., Tritschler H.J., Mehnert H., Ziegler D. (1999) Effects of 3-week

oral treatment with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid) in symptomatic diabetic polyneuropathy. *Diabet. Med.* 16, 1040-43 (*převzato ze Singh U. a Jialal I. 2008*).

Sen C.K., Packer L. (1995) Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J.* 10, 709-20.

Shay K.P., Moreau R.F., Smith E.J., Smith A.R., Hagen T.M. (2009) Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim. Biophys. Acta.* 1790, 1149-60.

Singh U. a Jialal I. (2008) Alpha-lipoic acid supplementation and diabetes. *Nutr. Rev.* 66, 646-57.

Šícho V. (1961) Kyselina 6,8-thioktová. In: Fragner a spolupracovníci. Vitaminy, jejich chemie a biochemie. 1. vyd. ČSAV, Praha. 967-988.

Štípek S. (2000) Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. 1st ed. Grada, Praha, 320 stran.

Takaishi N., Yoshida K., Satsu H., Shimizu M. (2007) Transepithelial transport of alpha-lipoic acid across human intestinal Caco-2 cell monolayers, *J. Agric. Food Chem.* 55, 5253–5259 (*převzato z Shay K.P. et al. 2009*).

Vachálková A., Tóthová D., Horváthová K., Ovesná Z. (2004) A-lipoic acid- the natural antioxidant. In: Blatná J., Horna A., Zima T. Vitamins 2004 – Targeted Nutritional Therapy. 1. vyd. Univerzita Pardubice, str. 120.

Voet D.J., Voet J.G., Pratt Ch.W. (2008) Principles of biochemistry. 3. vyd. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, 1099 stran.

Ziegler D., Hanefeld M., Ruhnau K.J., Meissner H.P., Lobisch M., Schütte K., Gries F.A. (1995) Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia* 38, 1425-33 (*převzato ze Singh U. a Jialal I. 2008*).

10. SEZNAM ZKRATEK

AIDS	syndrom získaného selhání imunity
ALADIN	klinická studie „Alpha lipoic acid in diabetic neuropathy“
β -A ₃₉ (β -A ₄₂ , β -A ₄₃)	β -amyloid složený z 39 (42, 43) aminokyselin
β -APP	amyloidový prekurzorový protein
CNS	centrální nervová soustava
CoA	koenzym A
DA	dopamin
DHA	dehydroaskorbát
DHLA	dihydrolipoová kyselina
FAD	flavinadenindinukleotid
GLUT-4	glukósový transportér typu 4
GSH	redukováná forma glutathionu
GSS	oxidovaná forma glutathionu
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
IR	insulinový receptor
LA	lipoová kyselina
L-DOPA	3,4-dihydroxyfenyl-L-alanin
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NF- κ B	jaderný faktor κ B (transkripční faktor)
O ₂ ^{•-}	superoxidový radikál
•OH	hydroxylový radikál
ONOO ⁻	peroxynitrit
ORPIL	klinická studie „Oral Pilot“
ROS	reaktivní formy kyslíku
TPP	thiaminpyrofosfát