Mgr Anna Bilska-Wilkosz
„Perspektywy farmakologicznego działania kwasu liponowego w aspekcie nowych możliwości jego biologicznej aktywności"

STRESZCZENIE

Kwas liponowy (LA) oraz jego zredukowana postać - kwas dihydroliponowy (DHLA) występują we wszystkich komórkach prokariotycznych i eukariotycznych. W organizmach ssaków układ LA/DHLA jest integralną częścią kompleksu enzymatycznego rozszczepiającego glicynę (GCS) oraz kompleksów wieloenzymatycznych, katalizujących oksydacyjną dekarboksylację α-ketokwasów (pirogronianu, α-ketoglutaranu, α-ketoadypinianu oraz α-ketokwasów rozgałęzionych). Początkowo LA ze względu na swoją rolę w procesach biochemicznych zaklasyfikowany został do grupy witamin B. Obecnie wiadomo, że - podobnie jak w komórkach roślinnych, czy bakteryjnych - jest on syntetyzowany również w organizmach zwierzęcych. Przebiegająca w mitochondriach synteza LA jest procesem wieloetapowym i wymaga udziału dwóch szlaków biochemicznych, to znaczy mitochondrialnego szlaku syntezy kwasów tłuszczowych typu II oraz syntezy centrów żelazowo-siarkowych. Drugim, oprócz syntezy *de novo*, źródłem LA w komórkach ludzi i zwierząt jest pokarm. Ponadto LA stał się obecnie bardzo popularnym składnikiem preparatów multiwitaminowych, suplementów diety, a nawet karmy dla zwierząt domowych. Związek ten jest również obecny w różnego rodzaju kosmetykach przeznaczonych do pielęgnacji skóry: maściach, kremach, balsamach itp. Przede wszystkim jednak LA jest zarejestrowanym, dopuszczonym do obrotu lekiem, dostępnym jedynie na przepisaną przez lekarza receptę. Od kilku lat dożylnie podawany LA klasyfikuje się - w oparciu o procedury EBM (*ang. Evidence-Based Medicine)* - jako lek o udokumentowanym wpływie na mechanizmy patogenetyczne polineuropatii cukrzycowej.

Intensywnie prowadzone badania tak na poziomie podstawowym, jak i klinicznym wskazują, że LA może znaleźć zastosowanie również w leczeniu innych schorzeń, w tym kardiologicznych, neurologicznych. dermatologicznych, a nawet onkologicznych. Jednak mimo dużej ilości doniesień naukowych potwierdzających tak szeroką aktywność farmakologiczną LA mechanizm jego działania ciągle nie jest dobrze poznany. Dlatego celem prezentowanej pracy było poszerzenie wiedzy dotyczącej mechanizmów biologicznego działania LA, pochodzącego ze źródeł egzogennych.

W badaniach *in vivo* wykorzystano samce szczurów rasy Wistar. Do badań został użyty lek o nazwie Thiogamma, który jako substancję farmakologicznie aktywną zawiera racemat LA. W części badań *in vivo* użyty został również lek o nazwie Nitracor, który jako substancję farmakologicznie aktywną zawiera nitroglicerynę (GTN).

Wyniki prezentowane w pracy pt.: *„Inactivation of aldehyde dehydrogenase by nitroglycerin in the presence and absence of lipoic acid and dihydrolipoic acid". Implications for the problem of differential effects of lipoic acid in vitro and in vivo"*, która wchodzi w skład prac stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej (Praca 1), wskazują że u szczurów, które przez 8 dni otrzymywały w iniekcji podskórnej GTN doszło do zahamowania aktywności dehydrogenazy aldehydowej (ALDH) w wątrobie. W grupie szczurów, które przez 8 dni oprócz GTN otrzymywały w iniekcji dootrzewnowej również LA oznaczona aktywność ALDH była na tym samym - niższym w stosunku do kontroli - poziomie, podobnie jak u szczurów które przez 8 dni otrzymywały tylko GTN. Oznacza to, że *in vivo* LA nie miał wpływu na działanie GTN, hamujące aktywność ALDH w wątrobie szczura. Jednocześnie w badaniach *in vitro z* użyciem drożdżowej ALDH zarówno LA, jak DHLA częściowo przywracały zahamowaną przez GTN aktywność enzymu. Tak więc uzyskane wyniki prowadzą do wniosku, że efekty biologicznego działania LA w warunkach *in vitro* mogą różnić się od tych, które obserwujemy w warunkach *in vivo*. Fakt ten został już zauważony przez część badaczy, zajmujących się biologicznymi właściwościami LA. Prezentowana praca jest więc skromnym głosem w toczącej się na ten temat dyskusji.

Wyniki prezentowane w pracy pt.: *„The effect of lipoic acid administration on the urinary excretion of thiocyanate in rats exposed to potassium cyanide"*, która wchodzi w skład prac stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej (Praca 2) wskazują, że u szczurów które dootrzewnowo otrzymały cyjanek potasu i LA poziom wydalonych w ciągu 24h z moczem rodanków był niemal dwukrotnie wyższy w porównaniu do grupy, która otrzymała tylko KCN. Oznacza to, że LA zwiększa szybkość detoksyfikacji KCN u szczurów. Proces przekształcenia toksycznego cyjanku do znacznie mniej toksycznego rodanku jest katalizowany enzymatycznie przez siarkotransferazy i wymaga udziału siarki sulfanowej. Tak więc uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że LA wpływa na wzrost poziomu siarki sulfanowej i/lub aktywności siarkotransferaz w tkankach szczura.

Wyniki przedstawione w pracy pt.: *„Lipoic Acid as a Possible Pharmacological Source of Hydrogen Sulfide/Sulfane Sulfur"*, która wchodzi w skład prac stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej (Praca 3) wskazują, że siarka sulfanowa i H_2S są wytwarzane z LA nieenzymatycznie w obecności światła środowiskowego. Natomiast badania przeprowadzone z udziałem homogenatów szczurzej wątroby i nerki wskazują, że pod wpływem LA i DHLA poziom siarki sulfanowej w tych homogenatach jest niższy, a poziom H_2S wyższy w porównaniu do tkanek kontrolnych, inkubowanych bez LA i DHLA. Oznacza to, że w tych warunkach DHLA pełni rolę reduktora uwalniającego H_2S z endogennej puli -

obecnych w tkankach - związków siarki sulfanowej, sam natomiast jej nie uwalnia. Siarka sulfanowa i H_2S należą do tzw. reaktywnych form siarki (RFS), które powstają w komórkach ssaków w reakcjach desulfuracji cysteiny.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że badanie mechanizmów biologicznej aktywności - pochodzącego ze źródeł zewnętrznych - LA stanowi dla badacza duże wyzwanie. Uzyskane w trakcie realizacji niniejszej rozprawy wyniki potwierdzają tezę, iż jedną z trudności w badaniach mechanizmów farmakologicznej aktywności LA jest to, że efekty działania tego związku w warunkach *in vitro* mogą różnić się różnią się od tych, które obserwuje się w warunkach *in vivo*. Tym niemniej pomimo wielu pytań, na które nie udało się znaleźć odpowiedzi, wyniki prezentowanych tu badań jednoznacznie wskazują, że jednym z mechanizmów biologicznej aktywności LA jest jego udział w metabolicznych przemianach RFS. Jest to teza nowa, do tej pory w niewielkim stopniu podnoszona przez innych autorów. W mojej opinii wielokierunkowe działanie regulatorowe RFS manifestujące się poprzez zmianę aktywności wielu białek enzymatycznych i receptorowych może tłumaczyć skuteczność podawania LA w tak wielu różnych, często odległych stanach patologicznych.