

Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Belgyógyászati Intézet, Anyagcsere Betegségek Tanszék, Debrecen

A PON1 paraoxonáz enzim és az endothelialis diszfunkciót jellemző markerek változása alfa-liponsav-kezelés hatására diabeteses neuropathiában

Sztanek Ferenc dr., Molnár Ágnes, Bányai Dóra oh., Sándor Petra oh., Lőrincz Hajnalka dr., Szentpéteri Anita, Seres Ildikó dr., Balogh Zoltán dr., Paragh György dr.

Összefoglalás

Az oxidatív stressz fontos szerepet játszik a 2-es típusú cukorbetegség microvasculáris szövődményeinek kialakulásában. A diabeteses neuropathia az egyik leggyakrabban felismerhető szövődmény, és a fokozott oxidatív stressz elősegíti a progresszióját. A HDL-hez kötött PON1 paraoxonáz enzim többek között az oxidatív folyamatok csökkentésével fejti ki antioxidáns hatását. Az aszimmetrikus dimetil-arginin (ADMA) endogén NO-szintáz-inhibitorként hasznosítható markernek tűnik az endothelialis diszfunkció jellemzésére. A legújabb irodalmi adatok alapján szoros összefüggés mutatható ki az emelkedett ADMA-szint és az oxidatív stressz mértéke között. Az oxidatív folyamatok megemelik a VCAM-1 és ICAM-1 sejtadhéziós molekulák szintjét. Az alfa-liponsav (ALA) hatékony antioxidáns terápiaként alkalmazható a diabeteses neuropathia kezelésében, elősegíti a sejtszintű antioxidáns védelmet és gyulladáscsökkentő hatása is lehet. Vizsgálatunk során 38 diabeteses neuropathiás betegnél (14 férfi és 24 nő) vizsgáltuk az oxidatív stressz markereként a PON1 paraoxonáz aktivitást, az ADMA-t, a nitrogén-monoxid koncentrációját és a VCAM-1/ICAM-1 szinteket ALA-kezelés megkezdése előtt és napi 600–1200 mg kezelés folyamán a 6. hónapban. A PON1 paraoxonáz aktivitás szignifikánsan magasabb ($p < 0,05$), az ADMA- és az NO-szintek szignifikánsan alacsonyabbak ($p < 0,001$ és $p < 0,01$) voltak diabeteses neuropathiás betegekben hat hónapos ALA-terápia után. A PON1 paraoxonáz aktivitás a responder csoportban volt jelentősen magasabb a non-respondercsoportéhoz képest ($p < 0,001$). Az áramérzet-küszöbérték javulásával szorosan korrelált a magasabb PON1 paraoxonáz aktivitás ($p < 0,05$) és az alacsonyabb ADMA-szint ($p < 0,05$) a responderekben, de nem volt összefüggés a non-responder csoportban. Lineáris korrelációt figyeltünk meg a szérumban a nitrogén-monoxid- és ADMA-koncentrációja között a responder csoportban ($p < 0,05$). A csökkent PON1 paraoxonáz aktivitás, az endothelialis diszfunkció és a fokozott oxidatív stressz növeli a diabeteses neuropathia progresszióját, és az alfa-liponsav-kezelés figyelemreméltó hatást fejthet ki az oxidatív státuszra.

■ **Kulcsszavak:** paraoxonáz, endothelialis diszfunkció, alfa-liponsav, diabeteses neuropathia

Changes of PON1 paraoxonase enzyme activity and markers of endothelial dysfunction after treatment of diabetic neuropathy with alpha-lipoic acid

Summary: Oxidative stress plays a pivotal role in the development of microvascular consequences of type 2 diabetes. Diabetic neuropathy has emerged as one of the most common complications of diabetes mellitus and increased oxidative stress has been related to the progression of diabetic neuropathy. Paraoxonase (PON1), an antioxidant enzyme, may have an important role in decreasing oxidative stress. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, represents a novel risk factor for the development of endothelial dysfunction and several studies have indicated substantial interaction between oxidative stress and increased ADMA levels. Oxidative stress leads to endothelial cell dysfunction and increased expression of adhesion molecules such as VCAM-1 and ICAM-1. Alpha-lipoic acid (ALA) is considered an effective antioxidant in the treatment of diabetic neuropathy, helping to protect cells against oxidative stress and inflammatory damage. To examine the influence of ALA treatment on PON1 paraoxonase activity, ADMA level, nitric monoxide concentration and VCAM-1/ICAM-1 in diabetic neuropathy, 38 patients (14 M/24 F) were selected among the

diabetic neuropathy group and started to treat with daily dosing of 600–1200 mg alpha-lipoic acid for six months. PON1 paraoxonase activities were significantly higher ($p < 0.05$), ADMA levels were significantly lower ($p < 0.001$) and nitrogen-monoxide levels were significantly higher ($p < 0.01$) in patients with diabetic neuropathy after receiving ALA treatment. PON1 paraoxonase activities were increased in responders and decreased in non-responders, and in comparison of two groups, the change in PON1 paraoxonase activity was significantly higher in responders ($p < 0.001$). The improvement of sensory impairment in responder group was significantly correlated with the improving PON1 paraoxonase activity ($p < 0.05$) and decreasing ADMA levels ($p < 0.05$), but not in non-responders. A linear correlation was found between the changes in serum nitrogen monoxide and ADMA levels in responder group ($p < 0.05$). Reduced PON1 paraoxonase activity, endothelial dysfunction and increased oxidative stress may induce the progression of diabetic neuropathy and ALA treatment may have a considerable effect on oxidative status of patients with diabetic microvascular complications.

■ **Keywords:** paraoxonase, endothelial dysfunction, alpha-lipoic acid, diabetic neuropathy

DIABETOLOGIA HUNGARICA 26 (Nº1) 43–53. 2018. március

DOI: 10.24121/dh.2018.4

Rövidítések

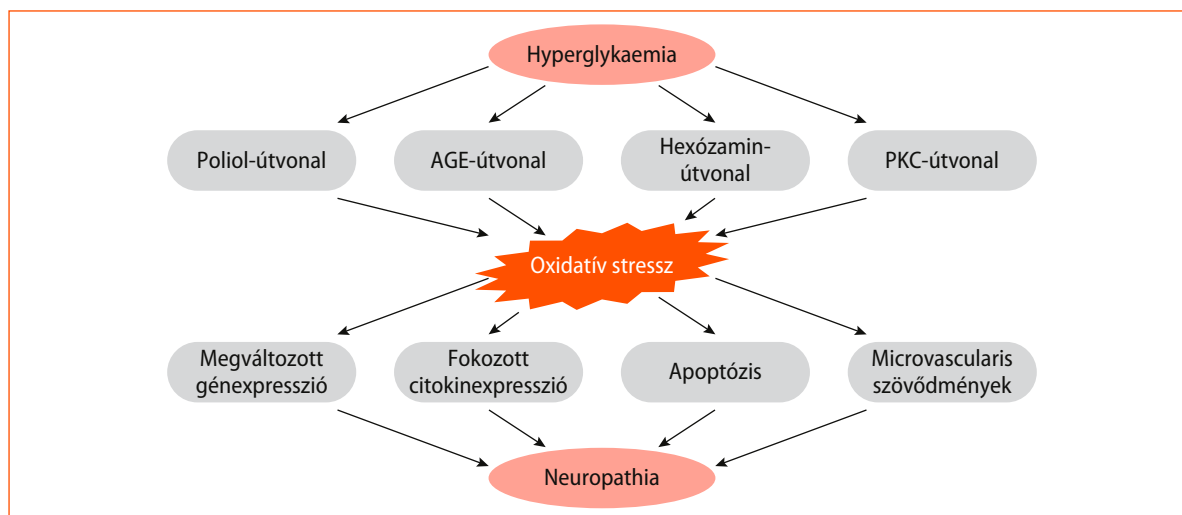
ADMA: aszimmetrikus dimetil-arginin; **AGEs:** előrehaladott glikációs végtermékek; **ALA:** alfa-liponsav; **CPT:** áram-érzet-küszöbérték; **eNOS:** endothelialis nitrogén-monoxid-szintáz; **ICAM-1:** intercelluláris adhéziós molekula-1; **NO:** nitrogén-monoxid; **PKC:** proteinkináz-C; **PON1:** humán paraoxonáz-1 enzim; **ROS:** reaktív oxigéngyökök; **VCAM-1:** vaszkuláris sejtadhéziós molekula-1

A DNP a perifériás és autonóm idegrostok degeneratív károsodását jelenti cukorbetegségben. Leggyakrabban az alsó végtagok disztális idegrostjainak érintettségével, szimmetrikus szenzomotoros formában észlelhető és a típusosan éjszakai nyugalmi fájdalom progressziója a szénhidrátanyagcsere-helyzettel áll szoros kapcsolatban.¹ A DCCT/EDIC vizsgálat eredményei alapján 1-es típusú diabetesben általában a betegség kezdetétől számított 15–20 év múlva legalább 20%-ban kimutathatóak a perifériás idegkárosodás jelei.² A UKPDS eredményei azt mutatták, hogy 2-es típusú cukorbetegségben szenvedők 15%-ában már a diagnózis felállításakor kimutatható a DNP, 10 éves betegségtartam esetén közel 50%-ban okozhat panaszokat.^{3,4} Hazánkban a diabeteses neuropathia centrumok nyújtanak segítséget a szenzoros és az autonóm idegi károsodások diagnosztikájában. A kalibrált hangvillával történő ambuláns szűrővizsgálat a vibrációérzésről (mélyérzésről), ezáltal a vastag mielinizált idegrostok funkciójáról ad felvilágosítást, a felületes érzés és a vékony idegrostok vizsgálatára szolgál a monofilamentum-teszt. A szenzoros funkció vizsgálata NEUROMETER segítségével történhet, ez az eszköz alkalmas a vastag és vékony mielinizált, valamint a nem mielinizált vékony szenzoros rostok vizsgálatára. A kvantitatív eredményt adó módszer

alkalmazása révén lehetőség nyílik a terápiás effektus megbízható értékelésére is.¹

A T2DM-ben az oxidatív stressz kiemelkedő szerepet játszik a hyperglykaemia által indukált microvascularis komplikációk (cardiovascularis betegségek, diabeteses retinopathia, nephropathia és neuropathia) kialakulásában. Az oxidatív stressz fokozódása a prooxidáns és az antioxidáns tényezők közötti egyensúly megbomlását jelenti a szervezetben, a tartósan magas vércukorszint kóros szénhidrátanyagcsere-útvonalak aktiválásával a szabad gyökök fokozott termelődése sejtszintű károsodást okoz, ezáltal szerepet játszik a DNP kialakulásában és progressziójában (1. ábra).⁵

A magas intracelluláris glukózsztint a mitokondriális elektrontranszport működését és fokozott szuperoxidgyök-termelődést indukál. A szabad gyökök fokozott termelődése és az antioxidánsok csökkent szintje az endoneuronális véráramlás károsodásához, következményes hypoxiához és további idegi károsodáshoz vezet. A neuronálisan képződő ROS-ok elősegítik az AGEs termelődését, és a citoskeletális fehérjék glikációja az idegrostok strukturális és funkcionális károsodását okozza.^{6,7} Az oxidatív stressz hatására az idegrostok vérellátásának károsodása mellett kóros metabolikus változások figyelhetők meg. Az aldózreduktáz aktivitás és a nem-enzimatikus glikáció fokozódik, a szuperoxidgyökök mitokondriális termelődésével párhuzamosan a poliol- és hexózamin-útvonalak, az AGEs fokozott



1. ábra. A hyperglykaemia több metabolikus útvonalon fokozhatja az oxidatív stresszt diabeteses neuropathiában

képződése és a PKC út aktivációja igazolható a perifériás idegekben.^{8,9} Az antioxidánsok gátolják a szuperoxidgyökök akumulációját a perifériás idegekben, a vércukorszint normalizálásával együtt a szövődmények progressziója is lassítható. Ezen antioxidáns kapacitásnak a kimerülése esetén számolni kell az oxidatív stressz jelentőségével a szervezetben.¹⁰

A PON1 enzim egy HDL-hez kötődő, kalciumdependens észteráz, amely a szervezetben elsődlegesen a lipidperoxidok hidrolízise által gátolja az LDL oxidációját, ezáltal a lassítja az érlemezés folyamatát, a macrophagok migrációját és aktivációját az artériák falában, vagyis az ún. habos sejtek képződését. Az alacsony PON1 paraoxonáz aktivitás fokozott oxidatív stresszel társul, és ezzel együtt a cardiovascularis morbiditás is megnövekszik.¹¹

A PON1 aktivitása csökken az inzulinrezisztenciával jellemezhető metabolikus szindrómás és magas testtömegindexű betegek esetében is,¹² valamint egy japán populáción elvégzett vizsgálat szerint az alacsony paraoxonáz aktivitás a cardiovascularis események kockázatát is előre jelezheti.¹³ Korábbi tanulmányok összefüggést találtak az oxidált LDL, a csökkent antioxidáns kapacitás és a DNP között, és feltételezték, hogy ennek hátterében részben a diabeteses betegek csökkent PON1 enzimaktivitása állhat.^{14,15} Korábbi tanulmányok összefüggést találtak az oxidált LDL, a csökkent antioxidáns kapacitás és a diabeteses neuropathia között, és feltételezték, hogy a csökkent PON1 aktivitás és a polyneuropathia súlyossága

között kapcsolat lehet diabeteses betegekben.^{16,17} Experimentális vizsgálatban csökkent PON1 aktivitást írtak le az agyi szövet és a nervus ischiadicus szöveti feldolgozásával streptozocin indukálta diabeteses patkánymodellben.¹⁸

A 2-es típusú cukorbetegségben a felgyorsult érlemezés hátterében részben az endothelium diszfunkciója áll, az NO termelési mechanizmusának károsodásával. Normál endothelfunkció esetén humorális (pl. acetilkolin, ADP, bradikinin stb.) és mechanikai ingerek (fokozott áramlás okozta nyírófeszültség) hatására nő az eNOS aktivitása, a termelődő NO a vascularis simaizomba diffundálva a guanilát-cikláz aktiválja, fokozódik a cGMP-szint, majd a proteinkináz-G aktiválódásával az intracelluláris kalciumszint csökken, és vazodilatáció következik be. Emellett az NO számos anyagcsere- és proliferációs folyamatban játszik közvetlen vagy szabályozó szerepet, így a képződésének csökkenése számos micro- és macrovascularis szövődmény kialakulásában fontos tényező.¹⁹ Ezzel a folyamattal összefüggő biokémiai változások megfelelő markerként szolgálhatnak az endothelium diszfunkciójának jellemzésére.

A fehérjék lebontása során fiziológiásan kis mennyiségben termelődő és bizonyos kórállapotok, mint a szívelégtelenség vagy a T2DM esetén felhalmozódó ADMA endogén inhibitora az NO-szintáz enzimnek, ezáltal gátolja a vazodilatációt.

Ezenkívül a magas ADMA-koncentráció elősegíti a thrombocytaaggregációt és a sejtadhéziós molekulák (pl. VCAM-1, ICAM-1 stb.) aktivációját, ezáltal a monocyták adhézióját az endothelium felszínén, valamint fokozódik a szabadgyök-termelődés és az LDL oxidációja, így az érlemezésedés progressziója szoros összefüggésben a cardiovascularis rizikó emelkedésével.^{20,21} Korábbi vizsgálatok inzulinrezisztenciával járó állapotokban, mint elhízásban és T2DM-ben magasabb ADMA-szintet írtak le, amely összefüggést mutatott az endothelialis diszfunkcióval, vagyis az NO mediálta vazodilatáció károsodásával.^{22,23} Több tanulmányban magas ADMA-szinteket írtak le diabeteses neuropathiás betegekben,^{24,25} és a legfrissebb irodalmi adatok alapján az NO-metabolizmus változása a DNP progressziójával is összefüggést mutat.²⁶

A diabeteses neuropathia kezelésében alkalmazott ALA számos mitokondriális enzimszisztémát működését elősegíti és antioxidáns hatása a DNP terápiájában is hatékonyan kihasználható.²⁷ Kémiai szempontból kéntartalmú heterociklusos, ditiolán gyűrűt tartalmazó szerkezete teszi potenciális antioxidáns vegyületté, kelátor molekulaként különböző fémionok (réz-, cink-, vasionok) megkötésével csökkenti a reaktív oxigénradikálok képződését és káros hatását. *In vitro* vizsgálatban az alfa-liponsav kelátor hatása gátolta a rézion indukálta LDL-oxidációt.²⁸ Azonban az alfa-liponsav *in vivo* hatását elsődlegesen indirekt módon, antioxidánsok és antioxidáns enzimek indukciójával éri el, fokozza a glutationszintézist,²⁹ sejtszintű jelátviteli útvonalakat befolyásol, gátolja az NF- κ B aktiválódását, fokozza az NO-szintáz működését, ezáltal fokozza az endoneuronális véráramlást, csökkenti az adhéziós molekulák aktivitását és a GLUT4 transzporter aktiválásával javítja a glukózfelvételt az izmokba és zsírszövetekbe.^{28,30}

Vizsgálatunk során célkitűzésünk volt feltárni a diabeteses perifériás neuropathiás betegek jellemző fokozott oxidatív stresszel összefüggő endotheldiszfunkció és a diabeteses idegi károsodás mértéke között lehetséges kapcsolatot 2-es típusú diabetes mellitusban. Továbbá a humán PON1 enzim paraoxonáz és arilészteráz aktivitásának, az ADMA- és NO-szintek, valamint a szolubilis adhéziós molekulák (VCAM-1, ICAM-1) meghatározása diabeteses neuropathiában, ezen paraméterek összehasonlítása a NEUROMETER-rel meghatározott idegvezetési sebesség változásával alfa-liponsav-kezelés hatására.

Betegek és módszerek

A vizsgálatba 38 frissen vagy öt éven belül felismert és kezelt 2-es típusú cukorbeteg választottunk be, akiknél a diabeteses neuropathia típusos tünetei miatt alfa-liponsav-kezelés is indult. Az átlagéletkor $66,9 \pm 8,7$ év, a BMI $30,76 \pm 3,2$ kg/m² volt. A betegek éhomi vércukorértékei átlagosan 6–8 mmol/l körüliek, másfél órával az étkezés után 7–12 mmol/l körüliek és HbA_{1c}-értékük 6,5–8,4% közötti volt, életmódi kezelés és orális antidiabeticummal optimalizálva, az utóbbi metformin-, sulfanylurea- és DDP-4-gátló monoterápiát vagy kombinált kezelést jelentett. Kizárási kritérium volt az 1-es típusú cukorbetegség, a gestációs és egyéb etiológiájú diabetes mellitus, a tartós hyperglykaemia (éhomi vércukor >10 mmol/l, étkezés után >14 mmol/l, HbA_{1c} >9%), kezelést igénylő hypoglykaemia az elmúlt hónapokban, súlyos szívelégtelenség (NYHA III-IV. stádium), a kórelőzményben ismert ischaemiás szívbetegség, szívizominfarktus, koronária-bypass műtét vagy koronáriastent-implantáció, súlyos mitrális insufficiencia vagy aortastenosis. Kizárási kritérium volt az a betegek, akiknél korábban diabeteses retinopathiát diagnosztizáltak, perzisztens (micro)albuminuria (ACR: 3–30) vagy egyéb okú vesebetegség (GFR <60 ml/perc) állt fenn. Nem szerepelt a vizsgálatunkban súlyos, szövődményes diabeteses neuropathia (alsó végtagi fekély vagy lábamputáció), súlyos alsó végtagi érzékszerv (Fontaine II-III. stádium). Kizárási kritérium volt a dohányzás, a jelentős alkoholfogyasztás, a terhesség vagy szoptatás, a súlyos májelégtelenség, a kezeletlen hyper- vagy hypothyreosis és egyéb endokrin betegségek. Kizárási szempont volt a tartós szteroidterápia, az ismert malignus daganatos betegség és 5 éven belüli onkológiai kezelés, a súlyos, előrehaladott COPD. Nem választottunk be olyan 2-es típusú diabeteses beteget sem, akinél inzulinterápiára volt szükség a szénhidrátháztartás egyensúlyban tartásához. A diabeteses neuropathiát a típusos szenzoros tünetek (a végtagok disztális végén szimmetrikusan, harisnya-kesztyű elrendezésben jelentkező zsibbadás, bizsergés, tűszúrásérzés és fájdalom) és/vagy a fiziológias érzetek (fájdalomérzés, hő- és tapintásérzés, egyensúlyérzés) károsodására utaló panaszok, továbbá vegetatív tünetek (szapora szívverés, ortosztatikus hypotensio okozta gyengeség, izzadás, szédülés stb.) alapján elvégzett kalibrált hangvilla-tesztel, majd a CPT meghatározásával diagnosztizáltuk. A CPT-t Neurometer (Neurotron Inc., Baltimore MD, USA) készülékkel határoztuk meg, a vastag mielinizált rostokat 2000 Hz, a vékony mielinizált rostokat 250 Hz, a vékony mielinizálatlan rostokat 5 Hz frekvencián, az áramerősséget 0–9,99 mA között változtatva vizsgáltuk. A legkifejezettebb változásokat 2000 Hz-en észleltük, így a statisztikai számítások során ezeket az értékeket használtuk fel. A neuropathiás tüneteket és

azoknak a hat hónapos kezelésre bekövetkező változását standardizált DN4 neuropathiás kérdőív segítségével vizsgáltuk. A PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitásokat spektrofotometriás úton vizsgáltuk. A szérumban PON1 enzim paraoxonáz aktivitás mérése antioxidáns aktivitásának a jellemzésére, míg az arilészteráz aktivitás az enzimfehérje mennyiségének kifejezésére alkalmas. A PON1 paraoxonáz aktivitás meghatározásakor szubsztrátként paraoxont alkalmaztunk, és spektrofotometriás módszerrel meghatároztuk a képződő 4-nitrofenol mennyiségét. A PON1 arilészteráz aktivitás meghatározásakor fenilacetátot tartalmazó oldatot használtunk, a szérumban hozzáadását követően végeztük az adszorbanciamérést. Az ADMA, VCAM-1 és ICAM-1 szintjét kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kit segítségével vizsgáltuk. Az NO-koncentrációt Griess-reakcióval mértük. A statisztikai analízisben SAS for Windows 6.12 (SAS Institute Inc, Cary NC 275313, USA) számítógépes programot alkalmaztunk. Kolmogorov-Smirnov-tesztel ellenőriztük a normális eloszlású adatok összehasonlíthatóságát. A folyamatos változóknál nem normális eloszlás esetén a mediánt (és interkvartilis tartományt),

normális eloszlás esetén az átlag \pm szórást tüntettük fel. A normális eloszlást mutató folyamatos adatok kiértékeléséhez paraméteres próbákat (Student-féle t-próba), ugyanazoktól az egyénektől különböző időpontokban vett minták összehasonlítására az adatok nem normális eloszlása esetén ismételt méréses ANOVA-t (Friedman teszt) alkalmaztunk, szignifikánsnak tekintettük a $p < 0,05$ értéket.

Eredmények

Hat hónapos alfa-liponsav-kezelést követően a betegek laboratóriumi paramétereit és antropometriai adatait az 1. táblázat tartalmazza (átlagos érték \pm SD vagy medián). A szérumban a HbA_{1c}, a kreatinin, a CRP értékében, a lipidparaméterekben, valamint a BMI-ben és a haskörfogatban nem találtunk jelentős eltérést. A PON1 paraoxonáz és arilészteráz aktivitásokban, a VCAM-1 és az ICAM-1 szintjében szignifikáns változás nem volt.

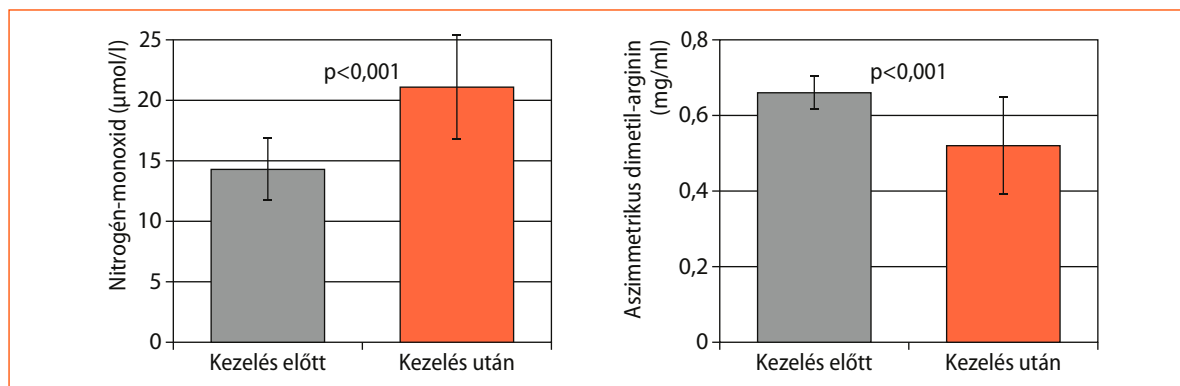
1. táblázat. Az alfa-liponsav-kezelés során észlelt változások a diabeteses neuropathiás betegek laboratóriumi paramétereiben és antropometriai adataiban

	Alfa-liponsav-terápia megkezdése előtt	Alfa-liponsav-terápia 6. hónapja	Szignifikancia
Életkor (év)	66,9 \pm 8,7		
Betegszám (férfi/nő)	38 (14/24)		
BMI (kg/m ²)	30,76 \pm 3,10	30,65 \pm 3,78	ns.
Haskörfogat (cm)	103,86 \pm 12,16	104,02 \pm 12,84	ns.
CRP (mg/l)	2,58 \pm 2,01	3,24 \pm 2,29	ns.
Glukóz (mmol/l)	7,18 \pm 2,36	7,54 \pm 2,81	ns.
Kreatinin (μ mol/l)	77,02 \pm 17,82	77,51 \pm 15,68	ns.
Húgysav (mmol/l)	297,86 \pm 80,28	304,00 \pm 81,81	ns.
Homocisztein (μ mol/l)	12,17 \pm 2,24	11,34 \pm 3,10	ns.
Összkoleszterin (mmol/l)	4,62 \pm 1,14	4,65 \pm 1,07	ns.
HDL-C (mmol/l)	1,34 \pm 0,42	1,41 \pm 0,47	ns.
LDL-C (mmol/l)	2,79 \pm 0,95	2,73 \pm 0,96	ns.
nonHDL (mmol/l)	3,29 \pm 1,05	3,26 \pm 0,99	ns.
ApoA1 (g/l)	1,55 \pm 0,33	1,54 \pm 0,25	ns.
ApoB (g/l)	0,99 \pm 0,27	0,94 \pm 0,28	ns.
HbA _{1c} (%)	6,93 \pm 0,99	6,86 \pm 1,07	ns.
HbA _{1c} -IFCC (mmol/mol)	52,14 \pm 10,84	51,33 \pm 11,73	ns.
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	117,00 (101,98–133,85)	125,85 (101,74–142,02)	ns.
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	134,59 (48,87–165,322)	175,10 (43,38–215,73)	ns.
PON1 sóstimulált aktivitás (U/l)	224,74 (112,99–321,42)	297,25 (107,53–423,94)	ns.
ADMA (mg/ml)	0,66 \pm 0,09	0,52 \pm 0,26	<0,001
Nitrogén-oxid (μ mol/l)	14,29 \pm 5,23	21,09 \pm 8,68	<0,001
VCAM-1 (ng/ml)	940,66 \pm 321,68	914,40 \pm 146,60	ns.
ICAM-1 (ng/ml)	228,63 \pm 78,89	226,84 \pm 54,20	ns.

A folyamatos változóknál nem normális eloszlás esetén a medián és az interkvartilis tartomány, normális eloszlás esetén az átlag \pm SD került feltüntetésre

Az ALA-kezelést követően az ADMA koncentrációja jelentősen csökkent ($0,66 \pm 0,09$ vs. $0,52 \pm 0,26$

mg/ml; $p < 0,001$), az NO szintje megemelkedett ($14,29 \pm 5,23$ vs. $21,09 \pm 8,68 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001$) (2.



2. ábra. A nitrogén-oxid és az ADMA koncentrációjának változása alfa-liponsav-kezelés során diabeteses neuropathiás betegekben

2. táblázat. Az alfa-liponsav-kezelésre responder és non-responder betegek laboratóriumi paramétereit és antropometriai adatait

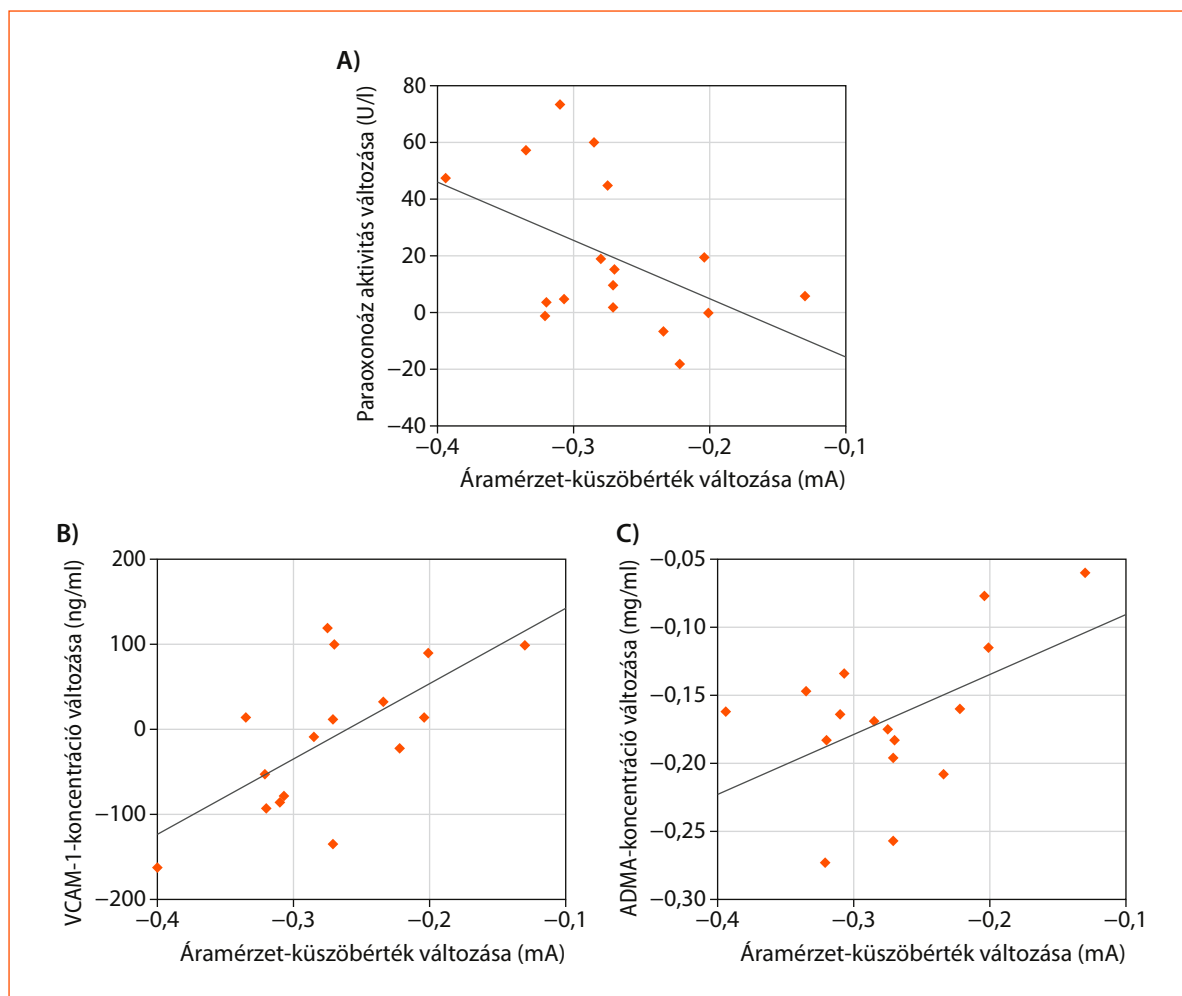
	Alfa-liponsav-terápiára „responder” betegek	Alfa-liponsav-terápiára „non-responder” betegek	Szignifikancia
Életkor (év)	67,11±9,45	67,47±8,09	ns.
Betegszám (férfi/nő)	18 (8/10)	20 (6/14)	ns.
BMI (kg/m ²)	29,96±3,46	31,22±4,02	ns.
Haskőrfogat (cm)	102,82±12,82	105,00±13,09	ns.
CRP (mg/l)	3,86±3,34	2,76±2,14	ns.
Glukóz (mmol/l)	7,74±2,41	7,40±3,13	ns.
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	80,06±15,78	75,52±15,66	ns.
Húgysav (mmol/l)	324,72±69,57	288,32±88,81	ns.
Homocisztein ($\mu\text{mol/l}$)	12,21±2,98	10,21±3,22	ns.
Összkoleszterin (mmol/l)	4,71±1,25	4,61±0,94	ns.
HDL-C (mmol/l)	1,39±0,37	1,42±0,54	ns.
LDL-C (mmol/l)	2,78±1,22	2,70±0,71	ns.
nonHDL (mmol/l)	3,53±1,23	3,19±0,80	ns.
ApoA1 (g/l)	1,50±0,24	1,57±0,26	ns.
ApoB (g/l)	0,97±0,31	0,92±0,26	ns.
HbA _{1c} (%)	6,86±1,33	6,86±1,05	ns.
HbA _{1c} -IFCC (mmol/mol)	51,28±12,25	51,37±11,58	ns.
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	125,90 (101,7–142,0)	112,68 (101,41–125,0)	<0,05
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	173,30 (108,9–215,3)	123,99 (49,78–183,5)	<0,05
PON1 sóstimulált aktivitás (U/l)	293,90 (189,3–371,4)	261,52 (107,53–314,96)	<0,05
ADMA (mg/ml)	0,53±0,12	0,54±0,14	ns.
Nitrogén-oxid ($\mu\text{mol/l}$)	17,31±11,43	14,80±5,31	ns.
VCAM-1 (ng/ml)	940,66±321,68	949,77±317,10	ns.
ICAM-1 (ng/ml)	256,59±97,01	237,59±86,27	ns.

A folyamatos változóknál nem normális eloszlás esetén a medián és az interkvartilis tartomány, normális eloszlás esetén az átlag±SD került feltüntetésre

3. táblázat. A PON1 paraoxonáz és sóstimulált paraoxonáz aktivitás, arilészteráz aktivitás változása és a VCAM-1 szintjei 6 hónapos alfa-liponsav-kezelés hatására diabeteses neuropathiás betegekben

	Alfa-liponsav-terápiára „responder” betegek			Alfa-liponsav-terápiára „non-responder” betegek		
	0. hónap	6. hónap	Szignifikancia	0. hónap	6. hónap	Szignifikancia
PON1 paraoxonáz aktivitás (U/l)	136,80 (115,9–187,9)	173,30 (108,9–215,3)	p<0,05	119,85 (87,3–174,8)	123,99 (49,78–183,5)	ns.
PON1 sóstimulált aktivitás (U/l)	226,70 (143,9–327,9)	293,90 (189,3–371,4)	p<0,05	238,96 (157,7–368,1)	261,52 (107,53–314,96)	ns.
PON1 arilészteráz aktivitás (U/l)	113,70 (101–130,9)	125,90 (101,7–142)	p<0,05	115,23 (103,2–135,7)	112,68 (101,41–125,0)	ns.
VCAM-1 (ng/ml)	991,32±363,17	940,66±321,68	ns.	968,64±273,42	949,77±317,10	ns.

A folyamatos változóknál nem normális eloszlás esetén a mediánt és az interkvartilis tartomány, normális eloszlás esetén az átlag±SD került feltüntetésre.



3. ábra. Korrelációk a NEUROMETER-rel becsült idegvezetés és a PON1 paraoxonáz aktivitás (A), a VCAM-1 (B) és az ADMA (C) koncentrációja között ALA-terápiát követően „responder” diabeteses neuropathiás betegekben

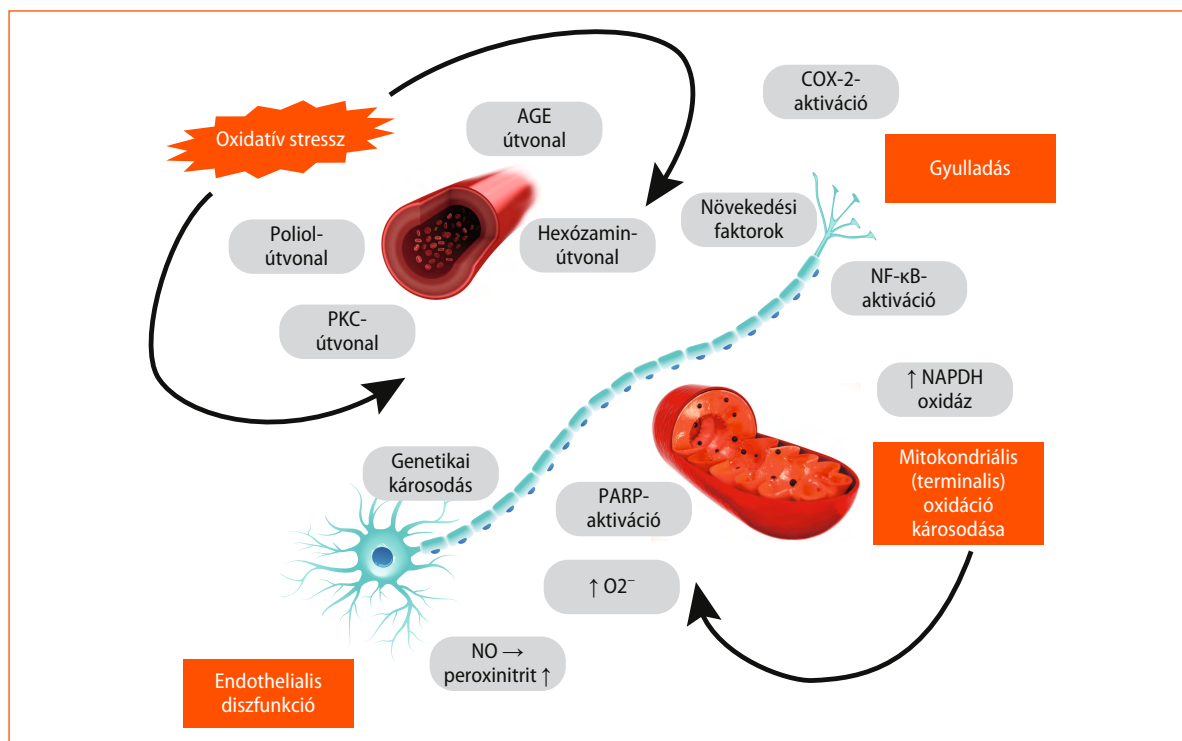
ábra). Betegeinket két csoportra osztottuk aszerint, hogy az ALA-terápiára hogyan reagáltak: a CPT-értékek csökkenése és a neuropathiás panaszok szubjektív enyhülése esetén az ALA-terápiára „responder” csoportot alakítottunk, az érdemi javulást nem mutató betegeinket a „non-responder” csoportba osztottuk. A responder és non-responder neuropathiás betegek laboratóriumi paramétereit és antropometriai adatait az 2. táblázat tartalmazza (átlagos érték \pm SD vagy medián). A responder és non-responder csoportokban érdemi különbség nem volt az alfa-liponsav napi dózisában, mindössze 4, illetve 3 beteg szedett a vizsgálat során huzamosabb ideig (néhány hónapig) napi 1200 mg-ot. A responder betegeknél szignifikánsan magasabb PON1 paraoxonáz (mediánértékek: 173,30 vs. 123,9 U/l; $p<0,05$) és PON1 arilészteráz (mediánértékek: 125,9 vs. 112,7 U/l; $p<0,05$) aktivitásokat találtunk a non-responder csoporthoz képest. Az ADMA, a nitrogén-monoxid, a VCAM-1 és az ICAM-1 szintjében nem volt szignifikáns különbség a két csoport között. A responder betegeknél a 6 hónapos ALA-kezelés hatására mind a PON1 paraoxonáz aktivitás (mediánértékek: 136,8 vs. 173,3 U/l; $p<0,05$), mind a PON1 arilészteráz aktivitás (mediánértékek: 113,7 vs. 125,9 U/l; $p<0,05$) jelentősen javult, viszont a non-responder betegekben nem észleltünk kedvező változást (3. táblázat). A nervus peroneuson mért CPT-változást a vastag mielinizált idegrostokon mért küszöbértékek különbségével jellemeztük, a NEUROMETER-rel észlelt javulás a PON1 paraoxonáz aktivitás kedvező változásával (dCPT vs. dPON1 paraoxonáz, $r=-0,473$; $p=0,05$), a VCAM-1 szintjének (dCPT vs. dVCAM-1, $r=0,649$; $p<0,01$) és az ADMA szintjének (dCPT vs. dADMA, $r=0,503$; $p<0,05$) csökkenésével függött össze (3. ábra).

Megbeszélés

A diabeteses neuropathia progressziója során a magas vércukorszint közvetlen ozmotikus károsító hatása mellett a glikolízis felgyorsulása, különböző alternatív anyagcsere-útvonalak aktiválódása, a csökkent az antioxidáns védelem és a szuperoxid anion megnövekedett termelődése révén a szabad gyökök fokozott képződése, ezáltal az oxidatív stressz fokozódása eredményezi a perifériás szomatoszenzoros idegrostok károsodását. Ezek

a folyamatok és az antioxidánsok csökkent szintje endothelialis diszfunkcióhoz és az endoneuronális véráramlás károsodásához, következményes hypoxiához és további idegi károsodáshoz vezetnek.^{5,31} Ezért a DNP megfelelő oki kezeléséhez a szénhidrát-háztartás rendezése és a szoros anyagcsere-vezetés, valamint az életmód-terápia mellett nagy jelentőséget tulajdonítunk az antioxidáns természetű alfa-liponsav és benfotiamin alkalmazásának.³² Az utóbbi években megjelenő irodalmi adatok alapján az oxidatív stressz kialakulásában részt vevő prooxidáns tényezők és antioxidáns enzimek kölcsönhatásainak jobb megismerése további terápiás lehetőséget hordozhat magában.³³

Eredményeink az antioxidáns tulajdonságú ALA-kezelés kedvező hatását támasztják alá diabeteses neuropathiában. Az oxidatív stressz indukálta krónikus gyulladás, az endothelialis diszfunkció és a károsodott mitokondriális működés központi szerepet játszik a DNP kialakulásában.^{5,10} A DNP progressziójának hátterében a fokozott oxidatív stressz hatására aktiválódó kóros glukózmétabolikus útvonalak és neurotoxikus köztitermékek, a krónikus alacsony fokú gyulladás hatására az NF κ B transzkripció faktor aktiválódása, az neuro-endothelialis diszfunkció (alacsony NO- és magas peroxinitrit-szint) és a mitokondriális energiatermelő folyamatok károsodásának együttes hatása állhat (4. ábra).³⁴ Ezeknek a tényezőknek kedvező befolyásolása csökkentheti az idegi károsodást T2DM-ben. Az ALA fő sejtszintű hatása a mitokondriális bioenergetikai folyamatok optimalizálása és a reaktív oxigéngyökök termelődésének gátlása,³⁵ antioxidáns hatását intracellulárisan a Schwann-sejtek apoptózisának gátlásával is kifejti.³⁶ Az ALA-kezelés antioxidáns hatását a poliol-, proteinkináz-C- és hexózamin-útvonal módosításával, az NF κ B aktiválódásának gátlásával, az NO-szintáz működésének serkentésével, ezáltal az endoneuronális véráramlás fokozásával fejti ki, valamint csökkenti az endothelialis adhéziós molekulák aktivitását.^{27,37} Az ALA-kezelésre jól reagáló, vizsgálatunkban respondernek választott betegeknél a terápiára való egyéni válaszkészségen, a megfelelő compliance-en és az életmódi változtatáson, a fizikai aktivitáson kívül az oxidatív stressz és az antioxidáns kapacitás mértéke állhat a kedvező változások hátterében, azonban ezeknek a faktoroknak a vizsgálatára további randomizált, prospektív klinikai vizsgálatokra lenne szükség.



4. ábra. Az oxidatív stressz fokozódása, krónikus gyulladásos folyamatok és az endothelialis diszfunkció a terminális oxidáció károsodásával és az ATP-képződés zavarával okozza a diabeteses neuropathia progresszióját

Vizsgálatunk során azt találtuk, hogy az ALA-kezelés hatására az ADMA-szint csökkent és az NO-koncentráció emelkedett a 2-es típusú diabeteses neuropathiás betegekben, ennek hátterében az oxidatív stressz mérséklődését és az endothelialis funkció javulását gondoljuk. Korábban több munkacsoport igazolta az ADMA szintjének mérséklődését ALA hatására 2-es típusú cukorbetegségben és hemodializált diabeteses vesebetegekben.^{38,39} A magas ADMA-szint gátolja az eNOS működését, amely a szabadgyök- és peroxinitrit-termelődéssel fokozódását okozza, a peroxinitrit az NF- κ B-aktiváció révén citotoxikus hatást fejt ki.⁴⁰ Endothelialis sejtkultúrán a glikálódott és funkcionálisan károsodott, neurotoxikus AGE-albumin által indukált NF- κ B-aktivációt és sejtmagba történő transzlokációt az ALA-kezelés gátolta, csökkentve a gyulladáshoz vezető citokinek NF- κ B-mediált transzkripcióját és génexpresszióját.⁴¹ Ezek alapján összefüggés sejthető a csökkenő ADMA- és peroxinitritszint, valamint a következményes

NF κ B-indukció és citokintermelődés mérséklődése között. Eredményeink arra utalhatnak, hogy az endotheldiszfunkció és a cardiovascularis rizikó megítélésének hasznosítható markere lehet a fokozott ADMA-termelődés diabeteses neuropathiában is. Egy közelmúltban publikált tanulmány a hyperuricaemia indukálta endotheldiszfunkcióban vizsgálta az ALA hatását patkánymodellel. Eredményeik alapján az ALA adásával csökkent a ROS szintje, fokozódott az endothelialis NO-szintáz aktivitás, nőtt az ATP és a mitokondriális DNS mennyisége a patkányaoorta endothelialis sejteiben.⁴² Több humán vizsgálat az ALA-kezelés kedvező hatására utalt az endothelműködés tekintetében 1-es és 2-es típusú cukorbetegekben,^{43,44} azonban további experimentális és randomizált, placebo-kontrollált vizsgálatok szükségesek az ALA endotheliumra kifejtett hatásának tisztázására DNP-ben.

Egy korábbi tanulmány a PON1 enzim paraoxonáz aktivitásának csökkenését írták le streptozocin indukálta diabeteses patkánymodellben,¹⁸ a humán

vizsgálatok során csökkent paraoxonáz aktivitást írtak le 2-es típusú cukorbetegségben, viszont a diabeteses neuropathia jelenlététől függetlenül találták az enzimaktivitás változását.^{15,45} Vizsgálatunkban a hat hónapos ALA-terápia hatására a paraoxonáz aktivitásban azoknál a betegeknél észleltünk javulást, akiknél a mielinizált vastag szenzoros idegcsomók funkciójára utaló áramérzet-küszöbértékek és a standardizált kérdőívvel vizsgált szubjektív neuropathiás tünetek is javulást mutattak.

Az eredményeink alapján feltételezhető, hogy az oxidatív státusztól függően a DNP-s betegek másféleképpen reagálnak az antioxidáns kezelésre, és ennek jellemzésére a PON1 paraoxonáz aktivitás mérése is alkalmas lehet. További célkitűzésünk megvizsgálni a PON1 enzim aktivitását meghatározó leggyakoribb génpolimorfizmusok (PON1 M55L és Q192R genotípusok) eloszlását a DNP-s betegeinkben és ezt összehasonlítani az ALA-kezelés hatékonyságával. További vizsgálatok szükségesek az oxidatív státuszának jellemzésére különböző biokémiai markerek segítségével (pl. oxidált LDL, TBARS). Azonban elmondható, hogy a fokozott oxidatív stressz és a csökkent PON1 enzim paraoxonáz aktivitás cardiovascularis kockázati tényezőknél tekintendő T2DM-ben, ezek vizsgálatával jól hasznosítható biomarkerekhez juthatunk DNP-ben is.

Összefoglalva, eredményeink az ALA-kezelés kedvező hatását vetik fel az oxidatív károsodással szemben diabeteses neuropathiában. A diabeteses neuropathia jelenléte, a magas ADMA-szint és a csökkent PON1 enzim paraoxonáz aktivitás az oxidatív stressz és az endothelialis diszfunkció vizsgálatára, ezáltal a cardiovascularis kockázat megítélésére alkalmas tényezőknél tekinthetők 2-es típusú cukorbetegségben. További vizsgálatok szükségesek a diabeteses neuropathiás betegek oxidatív státuszának és endothelialis diszfunkciójának jellemzésére különböző egyéb biokémiai markerek segítségével.

Köszönetnyilvánítás

A munka a Magyar Diabetes Társaság 2015. évi, doktori iskolákban diabetológiai témájú kutatásokra kiírt pályázatából történő támogatással készíthetett el. A betegek vizsgálatba való bevonása a ETT TUKEB 21943-4/2017/EKU etikai engedély alapján történt.

Irodalom

1. Kempler P: Clinical presentation and diagnosis of diabetic neuropathy. [A diabeteses neuropathia klinikai képe és diagnosztikája.] *Orv Hetil* 2002; 143(20): 1113-1120.
2. Martin CL, Albers JW, Pop-Busui R, DCCT/EDIC Research Group: Neuropathy and related findings in the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* 2014; 37(1): 31-38. doi:10.2337/dc13-2114
3. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352(9131): 837-853. doi:10.1016/S0140-6736(98)07019-6
4. Ang L, Jaiswal M, Martin C, Pop-Busui R: Glucose control and diabetic neuropathy: lessons from recent large clinical trials. *Curr Diab Rep* 2014; 14(9): 528. doi:10.1007/s11892-014-0528-7
5. Hosseini A, Abdollahi M: Diabetic neuropathy and oxidative stress: therapeutic perspectives. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 168039. doi:10.1155/2013/168039.
6. Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414(6865): 813-820. doi:10.1038/414813a
7. Cameron NE, Eaton SE, Cotter MA, Tesfaye S: Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 2001; 44(11): 1973-1988. doi:10.1007/s001250100001
8. Schmeichel AM, Schmelzer JD, Low PA: Oxidative injury and apoptosis of dorsal root ganglion neurons in chronic experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 2003; 52(1): 165-171. doi:10.2337/diabetes.52.1.165
9. Babizhayev MA, Stokov IA, Nosikov VV, Savelyeva EL, Sitnikov VF, Yegorov YE, et al.: The Role of Oxidative Stress in Diabetic Neuropathy: Generation of Free Radical Species in the Glycation Reaction and Gene Polymorphisms Encoding Antioxidant Enzymes to Genetic Susceptibility to Diabetic Neuropathy in Population of Type I Diabetic Patients. *Cell Biochem Biophys* 2015; 71(3): 1425-1443. doi:10.1007/s12013-014-0365-y
10. Pop-Busui R, Ang L, Holmes C, Gallagher K, Feldman EL: Inflammation as a Therapeutic Target for Diabetic Neuropathies. *Curr Diab Rep* 2016; 16(3): 29. doi:10.1007/s11892-016-0727-5
11. Aviram M: Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic Res* 2000; 33: 85-97.
12. Bajnok L, Seres I, Varga Z, Jeges S, Peti A, Karanyi Z, et al.: Relationship of serum resistin level to traits of metabolic syndrome and serum paraoxonase 1 activity in a population with a broad range of body mass index. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008; 116(10): 592-599. doi:10.1055/s-2008-1065350
13. Ikeda Y, Inoue M, Suehiro T, Arai K, Kumon Y, Hashimoto K: Low human paraoxonase predicts cardiovascular events in Japanese patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2009; 46(3): 239-242. doi:10.1007/s00592-008-0066-3.
14. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, et al.: Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998; 139(2): 341-349. doi:10.1016/S0021-9150(98)00095-1
15. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arai K, et al.: Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998; 47(5): 598-602. doi:10.1016/S0026-0495(98)90246-3
16. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN: Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15(11): 1812-1818. doi:10.1161/01.ATV.15.11.1812

17. Tsuzura S, Ikeda Y, Suehiro T, Ota K, Osaki F, Arii K, et al.: Correlation of plasma oxidized low-density lipoprotein levels to vascular complications and human serum paraoxonase in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2004; 53(3): 297-302. doi:10.1016/j.metabol.2003.10.009
18. Alp H, Varol S, Celik MM, Altas M, Evliyaoglu O, Tokgoz O, et al.: Protective effects of beta glucan and glidazide on brain tissue and sciatic nerve of diabetic rats induced by streptozosin. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012: 230342. doi:10.1155/2012/230342.
19. Li H, Horke S, Förstermann U: Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2014; 237(1): 208-219. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.001.
20. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, et al.: Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001; 88(10): 1201-1203. doi:10.1016/S0002-9149(01)02063-X
21. Boger RH: The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003; 59(4): 824-833. doi:10.1016/S0008-6363(03)00500-5
22. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD: Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97(11): 2601-2610. doi:10.1172/JCI118709
23. Stühlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, et al.: Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002; 287(11): 1420-1426. doi:10.1001/jama.287.11.1420
24. Stojanovic I, Djordjevic G, Pavlovic R, Djordjevic V, Pavlovic D, Cvetkovic T, et al.: The importance of L-arginine metabolism modulation in diabetic patients with distal symmetric polyneuropathy. *J Neurol Sci* 2013; 324(1-2): 40-44. doi:10.1016/j.jns.2012.09.026
25. El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Ezzat OA, Reda AM: Levels of soluble advanced glycation end product-receptors and other soluble serum markers as indicators of diabetic neuropathy in the foot. *J Investig Med* 2011; 59(8): 1233-1238. doi:10.2130/JIM.0b013e318231db64
26. Ganz T, Wainstein J, Gilad S, Limor R, Boaz M, Stern N: Serum asymmetric dimethylarginine and arginine levels predict microvascular and macrovascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2017; 33(2): e2836. doi:10.1002/dmrr.2836
27. Rochette L, Ghibu S, Muresan A, Vergely C: Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Can J Physiol Pharmacol* 2015; 93(12): 1021-1027. doi:10.1139/cjpp-2014-0353
28. Lodge JK, Traber MG, Packer L: Thiol chelation of Cu²⁺ by dihydrolipoic acid prevents human low density lipoprotein peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1998; 25(3): 287-297. doi:10.1016/S0891-5849(98)00048-3
29. Suh JH, Wang H, Liu RM, Liu J, Hagen TM: (R)-alpha-lipoic acid reverses the age-related loss in GSH redox status in post-mitotic tissues: evidence for increased cysteine requirement for GSH synthesis. *Arch Biochem Biophys* 2004; 423(1): 126-135. doi:10.1016/j.abb.2003.12.020
30. Konrad D, Somwar R, Sweeney G, Yaworsky K, Hayashi M, Ramlal T, et al.: 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(6): 1464-1471. doi:10.2337/diabetes.50.6.1464
31. Stirban A: Microvascular dysfunction in the context of diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep* 2014; 14(11): 541. doi:10.1007/s11892-014-0541-x
32. Várkonyi T, Putz Z, Keresztes K, Martos T, Lengyel C, Stirban A, et al.: Current options and perspectives in the treatment of diabetic neuropathy. *Curr Pharm Des* 2013; 19(27): 4981-5007. doi:10.2174/13816128113199990310
33. Sztanek F, Molnár Á, Balogh Z: Az oxidatív stressz szerepe a diabeteses neuropathia kialakulásában. *Orv Hetil* 2016; 157(49): 1939-1946. doi:10.1556/650.2016.30609
34. Albers JW, Pop-Busui R: Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2014; 14(8): 473. doi:10.1007/s11910-014-0473-5
35. Park S, Karunakaran U, Jeoung NH, Jeon JH, Lee IK: Physiological effect and therapeutic application of alpha lipoic acid. *Curr Med Chem* 2014; 21(32): 3636-3645.
36. Sun LQ, Chen YY, Wang X, Li XJ, Xue B, Qu L, et al.: The protective effect of alpha lipoic acid on Schwann cells exposed to constant or intermittent high glucose. *Biochem Pharmacol* 2012; 84(7): 961-973. doi:10.1016/j.bcp.2012.07.005
37. Kishi Y, Schmelzer JD, Yao JK, Zollman PJ, Nickander KK, Tritschler HJ, et al.: Alpha-lipoic acid: effect on glucose uptake, sorbitol pathway, and energy metabolism in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 1999; 48(10): 2045-2051. doi:10.2337/diabetes.48.10.2045
38. Mittermayer F, Pleiner J, Francesconi M, Wolzt M: Treatment with alpha-lipoic acid reduces asymmetric dimethylarginine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Transl Res* 2010; 155(1): 6-9. doi:10.1016/j.trsl.2009.08.004
39. Chang JW, Lee EK, Kim TH, Min WK, Chun S, Lee KU, et al.: Effects of alpha-lipoic acid on the plasma levels of asymmetric dimethylarginine in diabetic end-stage renal disease patients on hemodialysis: a pilot study. *Am J Nephrol* 2007; 27(1): 70-74. doi:10.1159/000099035
40. Sena CM, Pereira AM, Seica R: Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832(12): 2216-2231. doi:10.1016/j.bbdis.2013.08.006
41. Bierhaus A, Chevon S, Chevon M, Hofmann M, Quehenberger P, Illmer T, et al.: Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes* 1997; 46(9): 1481-1490. doi:10.2337/diabetes.46.9.1481
42. Zou H, Wang H, Liu T, Li X, Zhu X, Wang Z: Protective role of alpha-lipoic acid in hyperuricemia-induced endothelial dysfunction. *Exp Ther Med* 2017; 13(6): 3047-3054. doi:10.3892/etm.2017.4345
43. Scaramuzza A, Giani E, Redaelli F, Ungheri S, Macedoni M, Giudici V, et al.: Alpha-Lipoic Acid and Antioxidant Diet Help to Improve Endothelial Dysfunction in Adolescents with Type 1 Diabetes: A Pilot Trial. *J Diabetes Res* 2015; 2015: 474561. doi:10.1155/2015/474561
44. Heinisch BB, Francesconi M, Mittermayer F, Schaller G, Gouya G, Wolzt M, et al.: Alpha-lipoic acid improves vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes: a placebo-controlled randomized trial. *Eur J Clin Invest* 2010; 40(2): 148-154. doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02236.x
45. Uzar E, Tamam Y, Evliyaoglu O, Tuzcu A, Beyaz C, Acar A, et al.: Serum prolidase activity and oxidative status in patients with diabetic neuropathy. *Neurol Sci* 2012; 33(4): 875-880. doi:10.1007/s10072-011-0857-0

Közlésre érkezett: 2017. október 6.

Közlésre elfogadva: 2018. január 18.

A levelezésért felelős szerző:

Dr. Sztanek Ferenc

Debreceni Egyetem Klinikai Központ,
Belgyógyászati Intézet, Anyagcsere Betegségek
Tanszék
4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.
E-mail: sztanek@belklinika.com