

Acido α -lipoico e protezione da stress ossidativo

Alpha lipoic acid and oxidative stress protection

Studies performed in the last three decades suggest that oxidative stress plays an important role in the pathogenesis and progression of many chronic degenerative diseases, and that conversely antioxidant substances are protective. Alpha lipoic acid (ALA) is one of the most powerful antioxidants and has beneficial effects on various diseases known to be sustained by excessive free radicals production. These benefits appear to be related to several biological mechanisms: ALA reduces lipid peroxidation directly, allows other antioxidant substances to regenerate (such as vitamin E, vitamin C and GSH), and ultimately mitigates the renal and hepatic toxicity associated with many drugs. Preliminary trials in recent years have shown its beneficial effects in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's. On this basis, ALA may be an effective agent in decreasing the impact of oxidative stress in ageing and some chronic diseases.

Sergi G, Inelmen EM, Iannella P, et al. Alpha lipoic acid and oxidative stress protection. *Trends Med* 2009; 9(3):117-128.

© 2009 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

Giuseppe Sergi¹, Eminè Meral Inelmen¹, Paride Iannella², Enzo Manzato³

1: Clinica Geriatrica, Università di Padova

2: Pharma Project Group, Saronno (VA)

3: Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Padova

Key words:

reactive oxygen species

ROS

oxygen

free radical

protection

oxidative stress

lipoic acid

ageing

Tutti i processi biologici avvengono in presenza di ossigeno e riduzioni anche temporanee della tensione di O_2 a livello tissutale determinano prima viraggio del metabolismo in senso anaerobio e successivamente morte cellulare per accumulo di prodotti tossici e attivazione dei meccanismi di controllo apoptotico^{1,2}. Adeguate concentrazioni cellulari di O_2 sono quindi necessarie per la produzione di energia derivante dalla combustione dei nutrienti. L'utilizzo di O_2 comporta tuttavia il continuo rilascio nella cellula di prodotti ossidati e chimicamente *instabili*, altamente reattivi, definiti radicali liberi (RL) o specie reattive dell'ossigeno (ROS) se l'elemento instabile è l'ossigeno. Le specie reattive dell'ossigeno, ma anche quelle dell'azoto (es. perossinitrito - $OONO^-$) e del cloro (es. acido ipocoloroso - $HOCl$), devono essere rese

rapidamente *stabili* da sostanze riducenti, pena la loro reazione con qualunque molecola si trovi in prossimità di legame (enzimi, fosfolipidi di membrana, istoni, etc).

Stress ossidativo e patologie croniche

A partire dai primi anni '50 i ROS sono stati associati sia all'invecchiamento fisiologico di molti sistemi sia alla patogenesi di un numero crescente di malattie (tabella 1). Lo stress ossidativo, ovvero l'eccedenza di radicali liberi prodotti rispetto alla capacità neutralizzante dell'organismo, può originare da tre circostanze: 1) esagerata produzione, quale si può avere nel diabete o nelle infezioni croniche; 2) insufficiente capacità di neutralizzazione, per esempio negli stati carenziali da ridotto apporto di antiossidanti (vitamine, coenzimi, etc); 3) da

 **Enzo Manzato**

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche

Università degli Studi

Via Giustiniani, 2

35128 Padova

un mix di entrambe le circostanze, condizione tipica del soggetto anziano³⁻⁵.

Ossidanti endogeni

L'eccesso di radicali liberi prodotti dai processi metabolici e non rimossi provoca effetti devastanti: si pensi alla perossidazione dei fosfolipidi di membrana che determina alterazioni cellulari in tutti i tessuti o all'inattivazione di interi sistemi enzimatici per perossidazione di un solo amminoacido. Fra gli esempi ben documentati di danno cronico da radicali liberi vi è l'aterosclerosi: la perossidazione da parte dei ROS delle lipoproteine a bassa densità (*LDL*) veicolanti il colesterolo, rende queste molecole molto più propense ad attraversare il foglietto endoteliale e raggiungere il sub-endotelio dove, sempre a causa della perossidazione di alcune loro porzioni, rimangono intrappolate ed innescano la formazione della *placca aterosclerotica*⁶⁻⁸.

Ossidanti ambientali

L'eccesso di ROS può originare anche da eccessiva esposizione a sostanze tossiche esterne (fumo di sigaretta, inquinanti alimentari, farmaci) o a radiazioni ionizzanti (esposizione

solare, UVA, terapie radianti). Il fotodanneggiamento cutaneo conseguente allo stress ossidativo da esagerata esposizione alla radiazione ultravioletta (UV) o gli effetti deleteri dei radicali liberi contenuti nel fumo di sigaretta sulla prognosi della bronchite cronica sono esempi tipici di insulto da ROS *esogeni*^{9,10}.

La barriera antiossidante

La capacità di rimuovere i radicali liberi prodotti dall'organismo è affidata ad una complessa serie di sistemi enzimatici (catalasi, superossidodismutasi, etc) con relativi cofattori (selenio, zinco, etc) e ad un insieme di piccole molecole (vitamine, peptidi, etc) che, complessivamente, prende il nome di *barriera antiossidante*. In questo contesto si inserisce l'acido α -lipoico (**ALA**), un antiossidante assai potente (elevato potenziale redox) e versatile (attivo sia in fase idrofila che in fase lipofila).

ALA: un antiossidante ad ampio spettro

L'acido α -lipico è stato isolato nel 1951 da fegato bovino e successivamente caratterizza-

L'equilibrio fra ROS prodotti dal metabolismo ossidativo e ROS neutralizzati dalla riserva antiossidante consente il corretto svolgimento delle attività fisiologiche. L'alterazione cronica di questo equilibrio sottopone organi e tessuti ad esagerato insulto ossidativo, con danni progressivi ed irreversibili.

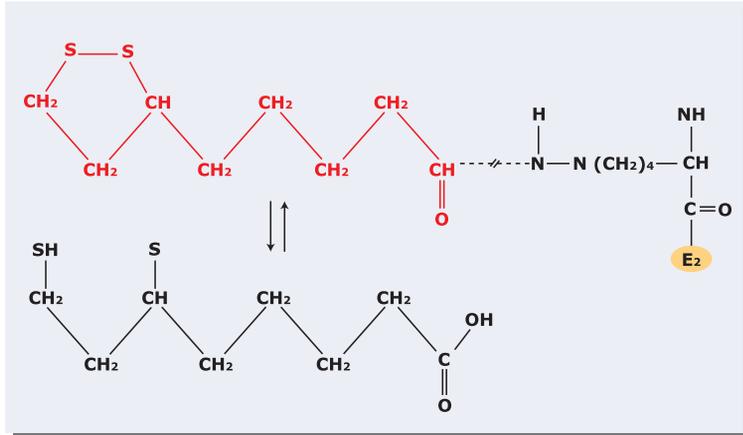
to chimicamente come acido 6-8 di-tio-ottanoico¹¹. La molecola è sintetizzata in tutti i mammiferi e, in condizioni fisiologiche è legata alla subunità E₂ della decarbossilasi mitocondriale, di cui è quindi cofattore (figura 1). Poiché la molecola contiene un carbonio asimmetrico, è presente in due stereoisomeri: l'isomero R (R-ALA) presente in natura e quello S (S-ALA) ottenuto per sintesi. I composti usati per la supplementazione sono quasi sempre racemi di entrambi gli isomeri.

La somministrazione per via orale rende la molecola prontamente disponibile, con concentrazioni plasmatiche che raggiungono valori compresi fra 1.0 ed 1.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ¹². Dopo

Tabella 1. Condizioni per le quali è stato ipotizzato/individuato un ruolo dello stress ossidativo.

Cardiovascolare	Respiratorio	Nervoso	Cute	Osteoarticolare	Altro
Disf. endoteliale	Broncopneumopatia cronica ostruttiva	Alzheimer	Photoaging	Osteoartrosi	Diabete I
Ipertensione	Mucoviscidosi	Parkinson	Melanoma	Artrite infiammatoria	Diabete II
Aterosclerosi		Neuropatie		Collagenopatie	Steatosi epatica Epatite tossica

Figura 1. L'acido α -lipoico (porzione in rosso) coniugato alla subunità E della decarbossilasi. Somministrato come supplemento l'ALA entra rapidamente in equilibrio con la forma ridotta (DHLA) e diffonde sia nella fase idrofila della cellula (citosol) sia nella fase lipofila (membrane).



assorbimento l'ALA è rapidamente ridotto ad acido diidrolipoico (DHLA), con cui entra in equilibrio dinamico ($ALA \rightleftharpoons DHLA$). Indipendentemente dall'azione espressa come cofattore della decarbossilasi mitocondriale, sia ALA che DHLA sono antiossidanti diretti, in grado cioè di neutralizzare vari radicali liberi, inclusi quelli più frequenti e tossici: il radicale superossido (O_2^-), l'idroperossido (H_2O_2) e l'acido ipocloroso ($HOCl$)¹³. La coppia ALA/DHLA possiede tre peculiarità: 1) entrambe le molecole sono dotate di effetti antiossidanti sia *diretti* (effetto scavenger) sia *indiretti* attraverso l'attivazione di sistemi enzimatici complessi (catalasi, decarbossilasi, etc); 2) il sistema ALA/DHLA si intercala in vari punti della barriera antiossidante, permettendo la *rigenerazione* di altri antiossidanti, come il glutatione (GSH), la vitamina E e la vitamina C precedentemente *depauperati*, ripristinandone le scorte (figura 2); 3) la coppia ALA/DHLA è solubi-

le sia in acqua (come la **vitamina C**) sia nei grassi (come la **vitamina E**)¹⁴. Quest'ultima caratteristica comporta vantaggi rilevanti, in quanto con la supplementazione di un'unica molecola si possono ripristinare le scorte di molti componenti della barriera antiossidante e, per questo motivo, *l'acido α -lipoico è stato definito l'antiossidante degli antiossidanti*.

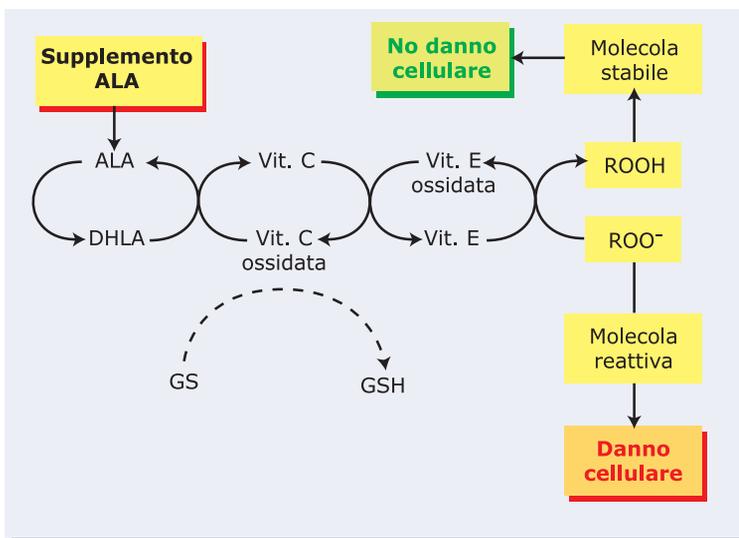
Potenzialità protettive dell'acido α -lipoico

L'ALA è stato oggetto di numerosi studi a partire dalla fine degli anni '50, quando fu introdotto in alcuni Paesi per il trattamento dell'epatite tossica da *Amanita phalloides* (1959) e, subito dopo, nella polineuropatia diabetica (1961)¹⁵. Tuttavia, la molecola è stata testata in numerose condizioni cliniche solo a partire dalla metà degli anni '90. Nei supplementi orali, da sola o in associazione a vitamine ed altri antiossidanti, è indicata in tutte le condizioni in cui sia presente *esaltato stress ossidativo* (anziani, soggetti coinvolti in attività fisica intensa, pazienti con diabete mellito, etc).

Immunostimolazione

Il corretto rapporto fra ROS prodotti e ROS neutralizzati è essenziale per un efficace funzionamento del sistema immunitario, essendo la produzione di radicali liberi necessaria nelle fasi precoci del-

Figura 2. Ruolo dell'acido α -lipoico nel riciclo delle scorte di vitamina E/C e GSH.



la risposta immune ma dannosa nel lungo periodo¹⁶. Macrofagi e linfociti sono particolarmente sensibili alle alterazioni della bilancia ossidanti-antiossidanti e non sorprende che essi contengano concentrazioni più elevate di antiossidanti rispetto ad altri cloni cellulari, o che deficit anche marginali di queste sostanze alterino la risposta immunitaria¹⁷. E' inoltre interessante notare che le scorte di antiossidanti si riducono durante i processi infettivi (figura 3). Deficit di molti antiossidanti si osservano nell'anziano a causa del ridotto apporto dietetico di alcune vitamine e micronutrienti: in uno studio osservazionale su una popolazione anziana è stato rilevato che l'assunzione di vitamina E e Zn era sensibilmente ridotta in oltre il 40% dei soggetti studiati¹⁹. Il deficit di antiossidanti si traduce in una minore "vigilanza immunitaria", caratterizzata da pigra risposta anticorpale e minore produzione di citochine chemiotattiche, con conseguente ridotto reclutamento di neutro-

fili e macrofagi^{20,21}. In questo contesto un ruolo importante è giocato dal ripristino delle scorte di vitamina E e C operato dall'ALA e da alcuni micronutrienti (zinco e selenio)^{22,23}. Molto recentemente è stato osservato che la supplementazione con ALA migliora la risposta cellulomediata in pazienti con infezione da HIV e che tale miglioramento si associa al ripristino delle scorte di GSH²⁴.

Poiché l'acido α -lipoico si comporta come *rigeneratore* delle scorte di altri antiossidanti, i benefici della monosupplementazione con ALA nell'anziano sono in grado di ripristinare l'intera bilancia ossidativa con possibili benefici a vari livelli funzionali: questi effetti sono apparsi particolarmente evidenti nei portatori di broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), una condizione disabilitante e gravata da elevato stress ossidativo^{25,26}. I dati ad oggi disponibili suggeriscono che la supplementazione con antiossidanti potrebbe rivelarsi benefica in tutti i *soggetti anziani*,

L'acido α -lipoico è l'unico antiossidante a diffondere e ad essere ugualmente attivo sia nel citosol sia nelle membrane cellulari, garantendo la neutralizzazione dei radicali liberi in qualunque sito cellulare essi siano prodotti.

in particolare in quelli defedati, con sindromi da malassorbimento, con epatopatie e più in generale con diete povere di vitamine e micronutrienti^{27,28}.

Inoltre, benché i benefici della supplementazione con antiossidanti come misura adiuvante per migliorare la risposta alla vaccinazione antiinfluenzale o ad altre profilassi vaccinali non siano completamente noti, vari studi indicano che un maggior apporto di vitamina A, E e B6 è stato associato ad un miglior tono immunitario dopo alcuni tipi di vaccinazione ed in pazienti anergici²⁹⁻³¹.

Malattie cardiovascolari

L'esagerata produzione di radicali liberi sembra coinvolta nelle fasi precoci della disfunzione endoteliale^{32,33}. Quando l'insulto endoteliale evolve verso una delle possibili manifestazioni cliniche (ipertensione, aterosclerosi etc), le alterazioni metaboliche ad esse associate determinano aumentato stress ossidativo, generando un meccanismo che si autoalimenta³⁴. La riduzione dello stress ossidativo potrebbe quindi risultare utile sia nelle fasi precoci (disfunzione endoteliale) sia nelle fasi avanzate dell'ipertensione e dell'aterosclerosi (danno d'organo). Sono di seguito riportate alcune patologie cardiovascolari nelle quali

Figura 3. Deficit di Vitamina C ed E nel polmone dopo infezione da virus influenzale (Dati da Hennett T et al 1992¹⁸).

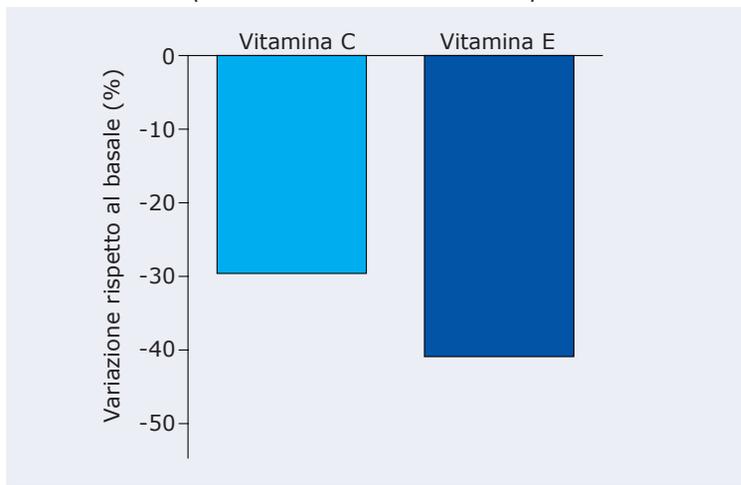
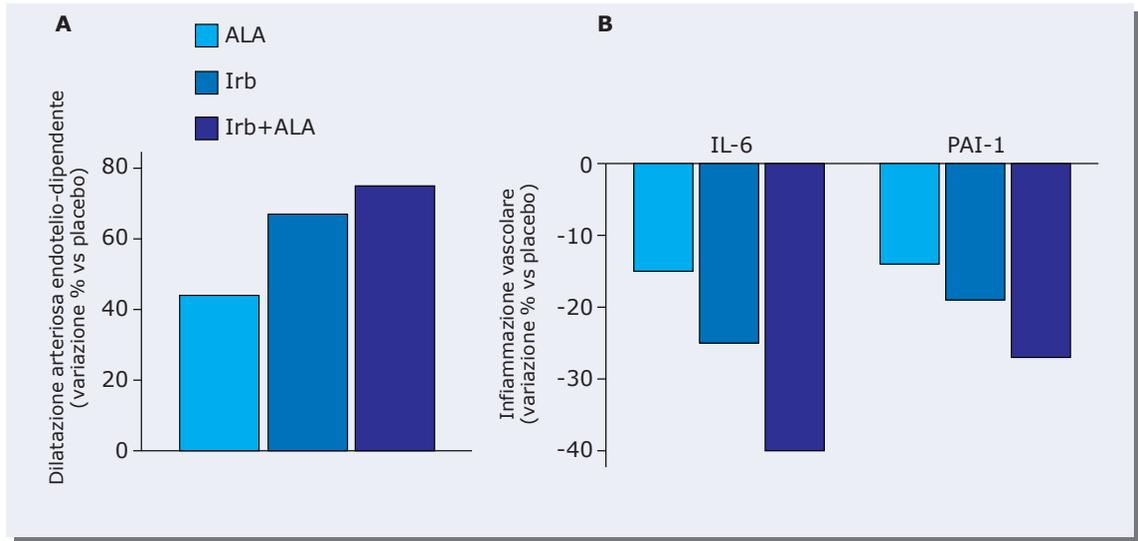


Figura 4. Aumento della compliance dell'arteria brachiale dopo aggiunta di ALA a trattamento con irbesartan (Irb) (pannello A) e riduzione dei marker di flogosi endoteliale (pannello B) in ipertesi con sindrome metabolica. (Dati da Sola S et al 2005³⁹).



la somministrazione di ALA, da solo o con altri antiossidanti si è dimostrata utile.

ALA in associazione a farmaci antiipertensivi

Il ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi e nel danno d'organo da ipertensione è stato oggetto di numerose indagini che hanno evidenziato un'aumentata produzione di ROS e mediatori infiammatori a livello dell'endotelio^{35,36}. Quando l'ipertensione si associa al diabete mellito o alla sindrome metabolica, lo stress ossidativo incrementa ulteriormente^{37,38}. Sulla base di queste osservazioni, nel trial **Irbesartan and Lipoic Acid in ENdothelial Dysfunction (ISLAND)** pazienti ipertesi con sindrome metabolica (obesità e dislipidemia) sono stati randomizzati alla supplementazione con acido α -lipoico (300 mg/die) associato ad irbesartan (150 mg/die) o alle singole molecole per 4 settimane³⁹. Obiettivo dello studio era valutare sia la compliance ela-

stica dell'arteria brachiale, un marker accurato di disfunzione endoteliale, sia la variazione di alcuni mediatori infiammatori. Al termine dello studio i pazienti supplementati con ALA hanno migliorato i parametri oggetto di valutazione in misura sensibilmente maggiore rispetto a quelli in monoterapia con irbesartan (figura 4).

Gli effetti benefici di ALA registrati in questo studio potrebbero essere di rilevante impatto clinico poiché i marker pro-infiammatori qui considerati sono *“direttamente implicati anche nella patogenesi dell'aterosclerosi”*³⁹.

L'impatto benefico della supplementazione con antiossidanti più arginina, un precursore dell'ossido nitrico, è stato recentemente dimostrato in una popolazione di pazienti diabetici con ipertensione arteriosa: dopo 6 mesi nel braccio in supplementazione si è infatti osservata una riduzione sensibile e statisticamente significativa dei valori presso-

ri medi e di alcuni marker di infiammazione subclinica rispetto alla controparte⁴⁰.

ALA in associazione ai nitrati per ridurre la tolleranza

Nei pazienti con cardiopatia ischemica i nitrati sono fra le terapie di elezione, e la disponibilità di formulazioni percutanee (cerotto) ne ha ampliato ulteriormente l'uso. Tuttavia la somministrazione continuativa di nitrati induce fenomeni di tolleranza con progressiva riduzione dell'effetto vasodilatatore; questo mecca-

La capacità dell'acido α -lipoico di intercalarsi in numerosi sistemi enzimatici conferisce alla molecola la peculiarità di rigenerare le riserve della maggior parte degli antiossidanti consumati dai processi ossidativi, facendone l'antiossidante degli antiossidanti.

nismo è legato al deficit dell'aldeide deidrogenasi-2, un complesso enzimatico mitocondriale ALA- e GSH-dipendente, responsabile della sintesi di ossido nitrico (NO) dai nitrati⁴¹. In un recente studio è stato dimostrato che la supplementazione con ALA riduce lo stress ossidativo e ritarda la comparsa di tolleranza alla nitroglicerina⁴².

ALA per rallentare l'aterosclerosi?

L'aterosclerosi è una malattia cronico-degenerativa su base infiammatoria a carico dello spazio intima-media delle arterie elastiche³⁴. In questo contesto i radicali liberi giocano un ruolo cruciale poiché sembrano costituire il *primum movens* del processo di aterogenesi. Semplificando, l'eccesso di ROS locali (endotelio) e circolanti, indotto da molteplici cause (iperalimentazione, sedentarietà, fumo di sigaretta, dieta grassa, etc) aumenta l'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDLox) coniugate al colesterolo che,

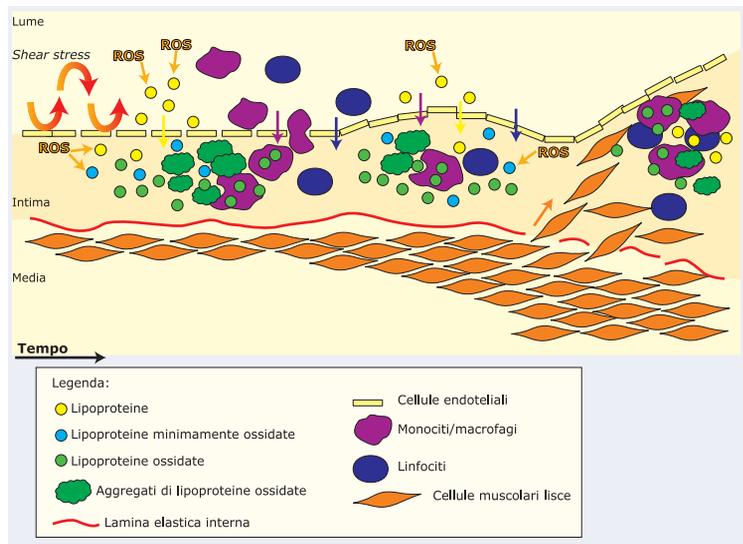
nella forma ossidata entrano più facilmente nello spazio sub-endoteliale e qui sono più tenacemente trattenute^{32,43}. In figura 5 è schematizzato il ruolo di tale flusso anomalo nella formazione della placca aterosclerotica. E' stato anche dimostrato che il flusso di LDLox nel sub-endotelio induce il rilascio da parte della parete arteriosa di mediatori infiammatori (mieloperossidasi, interleukine, metalloproteinasi, etc) e conseguente richiamo di neutrofili e macrofagi, che andranno a costituire il primo nucleo della placca aterosclerotica⁴⁴⁻⁴⁶. La possibilità di neutralizzare la causa scatenante del processo aterogenetico, i radicali liberi, o in alternativa l'evento successivo (il rilascio di citochine infiammatorie) per rallentare l'accrescimento e la rottura della placca, è un'ipotesi allettante formulata da numerosi Autori⁴⁸⁻⁵⁰. L'importanza di tale blocco è stata confermata in studi sperimentali, inclusi alcuni con

ALA che hanno dimostrato la capacità della molecola di inibire la formazione di LDLox ed il loro passaggio attraverso l'endotelio⁵¹. In un recente studio su modelli murini geneticamente modificati e predisposti ad aterosclerosi accelerata, la supplementazione con ALA ha inibito la formazione della placca⁵². Questi risultati sono stati successivamente confermati da altri Autori che, in aggiunta a quanto sopra, hanno anche osservato che l'inibizione della placca da parte dell'acido lipoico avveniva attraverso due distinti meccanismi: 1) neutralizzando la perossidazione delle LDL; 2) riducendo le concentrazioni plasmatiche di LDL-colesterolo⁵³. Questi risultati confermano quelli di uno studio pionieristico italiano che aveva osservato effetti benefici dell'acido α -lipoico sui livelli plasmatici di colesterolo⁵⁴.

Malattia diabetica

Il diabete mellito di tipo 2 (DM-2) può essere considerato il prototipo delle malattie caratterizzate da esasperato stress ossidativo: nei pazienti con DM-2 le concentrazioni di idroperossidi (H_2O_2) nel sangue sono circa doppie rispetto a quelle registrate in condizioni fisiologiche e sono prossime a quelle che si riscontrano in un soggetto sano dopo stress muscolare intenso^{55,56}. L'eccesso di ROS nel diabetico è confermato anche dal dato opposto, cioè dal maggior consumo di *scavenger*, che si concretizza in un deficit tanto maggiore della capacità antiossidante del sangue e di altri fluidi dei diabetici quanto maggiore è lo scompenso glicemico⁵⁷⁻⁵⁹.

Figura 5. Ruolo dei radicali liberi (ROS) nella formazione della placca aterosclerotica. (Adattata da Tanganelli P. 2005⁴⁷).



Supplementi di acido α -lipoico si sono dimostrati in grado di aumentare la sensibilità all'insulina e di ridurre l'ossidazione delle LDL.

Le conseguenze sono disastrose per arterie, rene, retina e nervi periferici. La mortalità cardiovascolare è nel diabetico 3-4 volte maggiore di quella che si registra nella controparte sana, fino a decuplicare nei pazienti con nefropatia diabetica di lunga data^{60,61}. La neuropatia e la retinopatia sono complicanze frequenti e disabilitanti. L'ALA è stato utilizzato nel diabetico con due diversi obiettivi: 1) aumentare la sensibilità all'insulina; 2) migliorare la sintomatologia in corso di polineuropatia^{62,63}.

Sensibilità all'insulina

In uno studio pilota l'ALA somministrato per via endovenosa (1g) aveva dimostrato di aumentare l'ingresso del glu-

cosio nel muscolo di oltre il 50%, con un meccanismo non ben identificato⁶⁴. Questo risultato è stato successivamente confermato da altri studi^{65,66}. La via orale è stata testata per la prima volta nel 1999 in uno studio multicentrico su 74 pazienti con DM-2 randomizzati a ricevere placebo o ALA a tre diversi dosaggi (600, 1200, 1800 mg/die), con un miglioramento ampio e statisticamente significativo nei pazienti supplementati rispetto ai controlli (+27%; $p < 0.01$)⁶⁷.

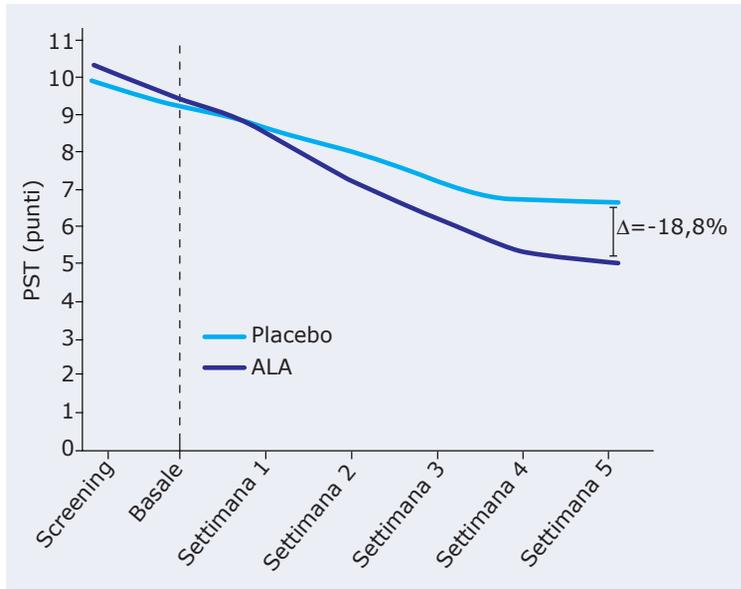
Questi risultati sono stati confermati più recentemente con la supplementazione orale in pazienti obesi con DM-2 trattati con ALA (600 mg bid x 4 settimane): al termine dello studio la sensibilità all'insulina era aumentata del 47.5%, da 3.2 a 5.9 mg/kg/min ($p < 0.01$)⁶⁸. Studi di più ampie dimensioni sarebbero auspicabili in pazienti in trattamento con insulinosensibilizzatori per verificare se l'aggiunta di

ALA permetta un risparmio del farmaco a parità di efficacia clinica.

Polineuropatia

L'efficacia di ALA per via endovenosa nel ridurre parestesia e bruciore nella polineuropatia diabetica distale è stata dimostrata in numerosi studi clinici controllati, i cui benefici complessivi sono stati valutati in una meta-analisi che ha incluso i risultati ottenuti su 716 pazienti trattati con ALA (600 mg/die x 3 settimane) contro 542 allocati a placebo⁶⁹. La riduzione del 17.8% dei sintomi neuropatici ($p < 0.05$ vs placebo) registrata in questa meta-analisi è stata successivamente confermata con la via orale nello studio SYDNEY-2 (SYmptomatic Diabetic NEuropathY), che ha utilizzato tre differenti supplementi orali (600, 800, 1200 mg/die) per 5 settimane⁷⁰. Il dosaggio ottimale è risultato quello di 600 mg/die, con una riduzione della sintomatologia globale di 2 punti su 11 rispetto al placebo (-18.8%) (figura 6).

Figura 6. Riduzione del punteggio sintomatologico totale (PST) dopo 5 settimane di trattamento con ALA 600 mg/die in pazienti con neuropatia diabetica. (Dati da Ziegler D et al. 2006⁷⁰).



Radicali liberi e cute

La pelle è l'organo del corpo umano più direttamente esposto agli insulti esterni e l'integrità di questo "involucro" è essenziale per il mantenimento dell'omeostasi idrosalina. Ma la pelle è anche sede di

L'acido α -lipoico interviene positivamente nei processi di invecchiamento di vari organi e tessuti (sistema nervoso, sistema immunitario, cute, etc), processi influenzati dall'ossidazione cellulare indotta dai radicali liberi in eccesso.

numerose ed intense reazioni ossidoriduttive da cui originano grandi quantità di ROS⁷¹.

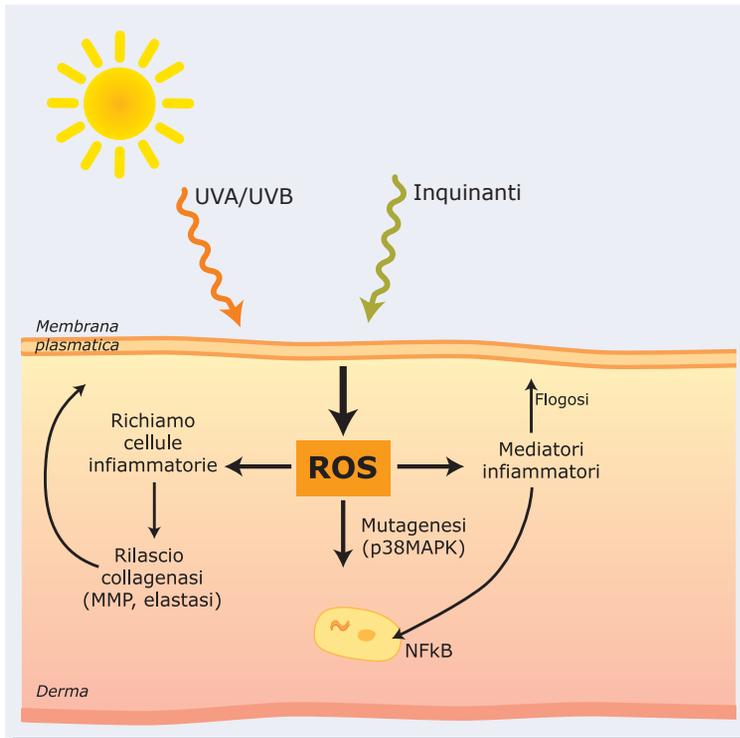
Il danno da esagerata esposizione alla radiazione solare è responsabile sia di accelerato invecchiamento della cute (*photoageing*) sia di neoplasie cutanee^{72,73}. In figura 7 è schematizzato il ruolo dei radicali liberi nei processi neoplastici e di invecchiamento cutaneo. A conferma dell'effetto patogeno di questi meccanismi, numerosi studi hanno indagato il ruolo degli antiossidanti nella prevenzione del *photodamaging*^{74,75}.

Prevenzione del *photodamaging* cutaneo

L'acido α -lipoico è stato uti-

lizzato sia come supplemento orale sia come crema dermatologica al 5% per ridurre lo stress ossidativo ed i rischi associati ad un più rapido invecchiamento cutaneo^{76,77}. Che l'ALA fosse efficace nel contrastare gli effetti delle radiazioni ionizzanti sui tessuti, e che tale effetto potesse dipendere dal ripristino della barriera antiossidante, era stato osservato sin dalla fine degli anni '50⁷⁸. Tali effetti sono stati dimostrati in successivi studi sperimentali: recentemente la molecola ha dimostrato di ridurre lo stress ossidativo in fibroblasti irradiati con dosi di raggi gamma pari a quelle utilizzate in radioterapia, riducendo sensibilmente la generazione di ROS e

Figura 7. Produzione di ROS e danno cutaneo: l'induzione di radicali liberi innesca nel derma una prima reazione infiammatoria, cui segue rilascio di metalloproteinasi (MMP) ed altre collagenasi che danneggiano le strutture di supporto e, successivamente, di mitogeni che attivano alcune fosochinasi (MAPK) ad azione nucleare. Il potenziale oncogeno dei ROS potrebbe essere correlato a quest'ultimo meccanismo.



Il metabolismo epatico e renale dei farmaci è un processo prevalentemente ossidoriduttivo e rilascia importanti quantità di ROS: i benefici della supplementazione con ALA, soprattutto nei pazienti anziani soggetti a politerapie croniche, potrebbero essere rilevanti.

l'attivazione di alcune reduttasi⁷⁹.

Inoltre, questo studio ha dimostrato una relazione diretta fra danno cellulare da radiazioni e sintesi di sostanze infiammatorie, in particolare l'interleukina-1beta (IL-1 β). La molecola è stata utilizzata anche nella formulazione in crema con risultati contrastanti^{77,80}: in uno studio clinico controllato su donne cinquantenni si è registrato un sensibile miglioramento dell'emivolto trattato con ALA rispetto a quello trattato con placebo, con riduzione sensibile della rugosità dopo le prime 5 settimane⁷⁷.

ALA e riduzione della tossicità da farmaci

La tossicità legata al metabolismo epatico e renale dei farmaci è responsabile di una quota rilevante di mancata adesione agli schemi terapeutici. Se per alcuni di questi farmaci esistono piani terapeutici con efficacia simile, per altri (antracicline, ciclosporina, ciclofosfamide, etc) le alternative possono compromettere gravemente i risultati attesi^{81,82}. Un ruolo rilevante nel metabolismo dei farmaci è svolto dal citocromo P450 (CP450), un complesso sistema enzimatico preposto ai processi di biotrasformazione⁸³.

Poiché molti dei processi enzimatici mediati dal CP450 a livello epatico sono di tipo ossidoriduttivo, si è ipotizzato un ruolo rilevante dei radicali liberi nella tossicità da farmaci⁸⁴⁻⁸⁶. I dati di seguito esposti suggeriscono un potenziale effetto benefico della supplementazione con ALA nei pazienti sottoposti a trattamento cronico con farmaci epato- e nefrotossici.

Nefroprotezione da ciclosporina-A

Due studi sperimentali hanno provato che la somministrazione di ALA è in grado di ridurre la tossicità renale da ciclosporina-A e che tale protezione è indotta dal ripristino della riserva antiossidante depleta da elevato metabolismo ossidativo indotto da ciclosporina^{87,88}. Questo immunosoppressore è parte integrante di protocolli collaudati in oncologia, in trapiantologia ed in alcune malattie autoimmuni.

Epatoprotezione da paracetamolo ed adriamicina

La tossicità epatica da sovradosaggio da paracetamolo è ben nota^{89,90}. In un recente studio sperimentale il pre-trattamento con ALA (100 mg/kg) somministrato per via orale ha protetto gli animali da epatite acuta da paracetamolo (2.5 g/kg) prevenendo il depauperamento

delle scorte di GSH⁹¹. Benefici analoghi sono stati ottenuti nell'epatoprotezione da adriamicina, somministrando 24 ore prima una dose di ALA (75 mg/kg)⁹². *Questi dati suggeriscono che i pazienti in trattamento cronico con farmaci epatotossici potrebbero beneficiare della supplementazione con acido α -lipoico.*

Cardioprotezione da ciclofosfamide e doxorubicina

Gli alchilanti e le antracicline sono componenti essenziali di numerosi protocolli chemioterapici. Entrambe le famiglie sono però gravate da effetti cardiotossici severi e dose-limitanti^{93,94}.

Il trattamento con ALA (25 mg/kg/die x 10 gg) in animali che ricevevano ciclofosfamide ha ridotto in misura significativa i principali marker di miocardiolisi e la riduzione della citotossicità è stata confermata dall'esame istologico del muscolo cardiaco⁹⁵.

Risultati simili sono stati ottenuti dal pretrattamento con ALA (100 mg/kg) 5 giorni prima e 2 giorni dopo la somministrazione di doxorubicina intraperitoneale⁹⁶. Anche in questo caso i benefici del pre-trattamento con ALA sono stati confermati da ridotto innalzamento dei marker di citolisi cardiaca (creatinfosfochinasi, lattico-deidrogenasi, etc).

Conclusioni

L'acido α -lipoico costituisce, fra gli antiossidanti attualmente disponibili, la molecola più versatile, essendo attivo sia in fase lipidica (membrane cellulari) sia in fase acquosa (citosol). Questa caratteristica ne fa l'antiossidante ubiquitario per eccellenza, con favorevoli ricadute cliniche: la capacità di ripristinare le scorte sia delle vitamine idrosolubili sia di quelle liposolubili ne fa infatti l'antiossidante degli antiossidanti.

Solo negli ultimi dieci anni l'ALA è stato oggetto di quasi 700 pubblicazioni sperimentali e cliniche, che ne fanno una delle molecole meglio studiate e ne hanno evidenziato l'efficacia e la sicurezza in numerosi contesti clinici. Le linee di ricerca più recenti vertono sugli effetti antinfiammatori della molecola in alcune malattie neurodegenerative, quali il Parkinson e l'Alzheimer, nelle quali sono stati approntati studi pilota. Complessivamente, l'uso di supplementi a base di acido α -lipoico alla dose di 600-1.200 mg/die si dimostra utile in tutte le condizioni caratterizzate da elevato stress ossidativo e, quando aggiunto ad alcuni trattamenti farmacologici, può migliorarne l'efficacia clinica o consentirne il risparmio. **T.M.**

Bibliografia

1. Chandra J, Samali A, Orrenius S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2000; 29:323-333.
2. Lee HC, Wei YH. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging. *Exp Biol Med* 2007; 232:592-606.
3. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 1993; 215:213-219.
4. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002; 18:872-879.
5. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot* 2003; 91:179-194.
6. Stark G. Functional consequences of oxidative membrane damage. *J Membr Biol* 2005; 205:1-16.

7. **Albertini R, Moratti R, De Luca G.** Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. *Curr Mol Med* 2002; 2:579-592.
8. **Kannan S.** Free radical theory of autoimmunity. *Theor Biol Med Model* 2006; 3:22.
9. **Yaar M, Gilchrist BA.** Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol* 2007; 157:874-887.
10. **Thorley AJ, Tetley TD.** Pulmonary epithelium, cigarette smoke, and chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2007; 2:409-428.
11. **Reed LJ, DeBusk BG, Gansalus IC, et al.** Crystalline α -lipoic acid: a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. *Science* 1951; 114:93-94.
12. **Breihaupt-Grogler K, Niebch G, Schneider E, et al.** Dose-proportionally of oral thioctic acid - coincidence of assessment via pooled plasma and individual data. *Eur J Pharm Sci* 1999; 8:57-65.
13. **[No Authors Listed].** Alpha-Lipoic Acid. *Alt Med Rev* 2006; 11:232-237.
14. **Kagan VE, Shvedova A, Serbinova E, et al.** Dihyrolipoic acid - a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem Pharmacol* 1992; 44:1637-1649.
15. **Bock E, Schneeweiss J.** Ein Beitrag zur Therapie der Nueropathia diabetica. *Münchner Med Wochenschrift* 1959; 43:1911-1912.
16. **Webb AL, Villamor E.** Update: effects of antioxidant and non-antioxidant vitamin supplementation on immune function. *Nutr Rev* 2007; 65:181-217.
17. **Meydani SM, Wu D, Santos MS, et al.** Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (Suppl.):1462S-1476S.
18. **Hennett T, Peterhans E, Stocker R.** Alterations in antioxidant defenses in lung and liver of mice infected with influenza A virus. *J Gen Virol* 1992; 73:39-46.
19. **Ryan AS, Craig L, Finn SC.** Nutrient intakes and dietary patterns of older Americans: a national study. *J Gerontol* 1992; 47:M145-M150.
20. **Blumberg JB.** Interactions between vitamin E, free radicals, and immunity during the aging process. *Adv Exp Med Biol* 1994; 366:325-333.
21. **Meydani SN, Han SN, Wu D.** Vitamin E and immune response in the aged: molecular mechanisms and clinical implications. *Immunol Rev* 2005; 205:269-284.
22. **Meydani SN, Beharka AA.** Vitamin E and immune response in the aged. *Bibl Nutr Dieta* 2001; 55:148-158.
23. **Moriguchi S, Muraga M.** Vitamin E and immunity. *Vitam Horm* 2000; 59:305-36.
24. **Jariwalla RJ, Lalezari J, Cenko D, et al.** Restoration of blood total glutathione status and lymphocyte function following α -lipoic acid supplementation in patients with HIV infection. *J Altern Complement Med* 2008; 14:139-146.
25. **Tug T, Karatas F, Terzi SM.** Antioxidant vitamins (A, C and E) and alondialdehyde levels in acute exacerbation and stable periods of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Invest Med* 2004; 27:123-128.
26. **Wu TC, Huang YC, Hsu SY, et al.** Vitamin E and vitamin C supplementation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77:272-279.
27. **Marshall AW, Graul RS, Morgan MY, et al.** Treatment of alcohol-related liver disease with thioctic acid: a six month randomised double-blind trial. *Gut* 1982; 23:1088-1093.
28. **Smith AR, Shenvi SV, Widlansky M, et al.** Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr Med Chem* 2004; 11:1135-1146.
29. **Cheng CH, Chang SJ, Lee BJ, et al.** Vitamin B6 supplementation increases immune responses in critically ill patients. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60:1207-1213.
30. **Ziemiński S, Wartanowicz M, Klos A, et al.** The effect of ascorbic acid and α -tocopherol supplementation on serum proteins and immunoglobulin concentration in the elderly. *Nutr Int* 1986; 2:1-5.
31. **Villamor E, Fawzi WW.** Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:446-464.
32. **Puddu P.** The role of free radicals in coronary atherosclerosis. *G Ital Cardiol* 1998; 28:1200-1206.
33. **Peterson JR, Sharma RV, Davissou RL.** Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2006; 8:232-241.
34. **Ross R.** Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126.
35. **Salles GF, Fiszman R, Cardoso CR.** Relation of left ventricular hypertrophy with systemic inflammation and endothelial damage in resistant hypertension. *Hypertension* 2007; 50:723-728.
36. **Touyz RM, Schiffrin EL.** Reactive oxygen species and hypertension: a complex association. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10:1041-1044.
37. **Li JJ, Chen JL.** Inflammation may be a bridge connecting hypertension and atherosclerosis. *Med Hypotheses* 2005; 64:925-929.
38. **Kojda G, Harrison D.** Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res* 1999; 43:562-571.
39. **Sola S, Mir MQ, Cheema FA, et al.** Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: results of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study. *Circulation* 2005; 111:343-348.

40. **Martina V, Masha A, Ramella Gigliardi V, et al.** Long-term N-acetylcysteine and L-arginine administration reduces endothelial activation and systolic blood pressure in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31:940-944.
41. **Sydow K, Daiber A, Oelze M, et al.** Central role of mitochondrial aldehyde dehydrogenase and reactive oxygen species in nitroglycerine tolerance and cross-tolerance. *J Clin Invest* 2004; 113:482-489.
42. **Dudek M, Bednarski M, Bilaska A, et al.** The role of lipoic acid in prevention of nitroglycerin tolerance. *Eur J Pharmacol* 2008; 591:203-210.
43. **Devaraj S, Jialal I.** Oxidized low density lipoprotein and atherosclerosis. In *J Clin Lab Res* 1996; 26:178-184.
44. **Kameda K, Matsunaga T, Abe N, et al.** Correlation of oxidative stress with activity of matrix metalloproteinase in patients with coronary artery disease. Possible role for left ventricular remodelling. *Eur Heart J* 2003; 24:2180-2185.
45. **Alvarez B, Ruiz C, Chacon P, et al.** Serum values of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 as related to unstable plaque and inflammatory cells in patients with greater than 70% carotid artery stenosis. *J Vasc Surg* 2004; 40:469-475.
46. **Heinecke JW.** Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 1998; 141:1-15.
47. **Tanganelli P, Castagnini M, Epistolato MC.** Struttura della placca aterosclerotica. In: Ardisino D, De Caterina R, Lembo G, et al. *Instabilità di placca ed eventi cardiovascolari*. PPG Edizioni Scientifiche, Saronno, 2005: 1-19.
48. **El Midaoui A, de Champlain J.** Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension* 2002; 39:303-307.
49. **Wollin SD, Jones PJ.** Alpha-lipoic acid and cardiovascular disease. *J Nutr* 2003; 133:3327-3330.
50. **Tardif JC, Rhéaume E.** Lipoic acid supplementation and endothelial function. *Br J Pharmacol* 2008; 153:1587-1588.
51. **Sabharwal AK, May JM.** alpha-Lipoic acid and ascorbate prevent LDL oxidation and oxidant stress in endothelial cells. *Mol Cell Biochem* 2008; 309:125-132.
52. **Zhang WJ, Bird KE, McMillen TS, et al.** Dietary alpha-lipoic acid supplementation inhibits atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient and apolipoprotein E/low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation* 2008; 117:421-428.
53. **Zulkhairi A, Zaiton Z, Jamaluddin M, et al.** Alpha lipoic acid possess dual antioxidant and lipid lowering properties in atherosclerotic-induced New Zealand White rabbit. *Biomed Pharmacother* 2008; 62:716-722.
54. **Angelucci L, Mascitelli-Corriandoli E.** Anticholesterol activity of alpha-lipoic acid. *Nature* 1958; 181:911-912.
55. **Gleisner A, Martinez L, Pino R, et al.** Oxidative stress markers in plasma and urine of prepubertal patients with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2006; 19:995-1000.
56. **Kanabrocki EL, Murray D, Hermida RC, et al.** Circadian variation in oxidative stress markers in healthy and type II diabetic men. *Chronobiol Int* 2002; 19:423-439.
57. **Kaul N, Siveski-Iliskovic N, Hill M, et al.** Probiotic treatment reverses antioxidant and functional deficit in diabetic cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem* 1996; 160-161:283-288.
58. **Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, et al.** Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002; 105:1656-1662.
59. **Ceriello A, Mercuri F, Quagliariello L, et al.** Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia* 2001; 44:834-838.
60. **Romon I, Jouglu E, Balkau B, et al.** The burden of diabetes-related mortality in France in 2002: an analysis using both underlying and multiple causes of death. *Eur J Epidemiol* 2008; 3:327-334.
61. **Villar E, Remontet L, Labeeuw M, et al.** Effect of age, gender, and diabetes on excess death in end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:2125-2134.
62. **Koçak G, Aktan F, Canbolat O, et al.** ADIC Study Group—Antioxidants in Diabetes-Induced Complications. Alpha-lipoic acid treatment ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes Nutr Metab* 2000; 13:308-318.
63. **Packer L, Kraemer K, Rimbach G.** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 2001; 17:888-895.
64. **Jacob S, Henriksen EJ, Schiemann AL, et al.** Enhancement of glucose disposal in patients with type-2 diabetes by alpha-lipoic acid. *Arzneimittelforschung* 1995; 45:872-874.
65. **Jacob S, Henriksen EJ, Tritschelr HJ, et al.** Improvement of insulin-stimulated glucose disposal in type-2 diabetes after repeated parenteral administration in thioctic acid. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996; 104:284-288.
66. **Konrad T, Vicini P, Kusterer K, et al.** Alpha-lipoic acid treatment decreases serum lactate and pyruvate concentrations and improves glucose effectiveness in lean and obese patients with type-2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:280-287.
67. **Jacob S, Ruus P, Hermann R, et al.** Oral administration of RAC-alpha-lipoic acid modulates insulin sensitivity in patients with type-2 diabetes mellitus: a placebo-controlled pilot trial. *Free Radic Biol Med* 1999; 27:309-314.
68. **Kamenova P.** Improvement of

insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus after oral administration of alpha-lipoic acid. *Hormones* 2006; 5:251-258.

69. **Ziegler D, Nowak H, Kempler P, et al.** Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a meta-analysis. *Diabet Med* 2004; 21:114-121.
70. **Ziegler D, Ametov A, Barinova A, et al.** Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes Care* 2006; 29:2365-2370.
71. **Weber SU, Han N, Packer L.** Ozone: an emerging oxidative stressor to skin. *Curr Probl Dermatol* 2001; 29:52-61.
72. **Rünger TM.** Role of UVA in the pathogenesis of melanoma and non-melanoma skin cancer. A short review. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1999; 15:212-216.
73. **Tsourelis-Nikita E, Watson RE.** Photoageing: the darker side of the sun. *Photochem Photobiol Sci* 2006; 5:160-164.
74. **Kaur IP, Kapila M, Agrawal R.** Role of novel delivery systems in developing topical antioxidants as therapeutics to combat photoageing. *Ageing Res Rev* 2007; 6:271-288.
75. **Bickers DR, Athar M.** Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol* 2006; 126:2565-2575.
76. **Podda M, Zollner TM, Grundmann-Kollmann M, et al.** Activity of alpha-lipoic acid in the protection against oxidative stress in skin. *Curr Probl Dermatol* 2001; 29:43-51.
77. **Beitner H.** Randomized, placebo-controlled, double blind study on the clinical efficacy of a cream containing 5% alpha-lipoic acid related to photoageing of facial skin. *Br J Dermatol* 2003; 149:841-849.
78. **Cudkowicz G, Franceschini J.** alpha-Lipoic acid and chemical protection against ionizing radiation. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1959; 122:312-317.
79. **Davis GD, Masilamoni JG, Arul V, et al.** Radioprotective effect of DL- α -lipoic acid on mice skin fibroblasts. *Cell Biol Toxicol*. 2008 Jun 13. [Epub ahead of print].
80. **Lin JY, Lin FH, Burch JA, et al.** Alpha-lipoic acid is ineffective as a topical antioxidant for photoprotection of skin. *J Invest Dermatol* 2004; 123:996-998.
81. **Baillie TA.** Metabolism and toxicity of drugs. Two decades of progress in industrial drug metabolism. *Chem Res Toxicol* 2008; 21:129-137.
82. **Lin J, Sahakian DC, de Morais SM, et al.** The role of absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity in drug discovery. *Curr Top Med Chem* 2003; 3:1125-1154.
83. **Guengerich FP.** Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS J* 2006; 8:E101-E111.
84. **Schultz MJ, Baas MC, van der Sluijs HP, et al.** N-acetylcysteine and other preventive measures for contrast-induced nephropathy in the intensive care unit. *Curr Med Chem* 2006; 13:2565-2570.
85. **Guengerich FP.** Cytochrome P450 oxidations in the generation of reactive electrophiles: epoxidation and related reactions. *Arch Biochem Biophys* 2003; 409:59-71.
86. **Yasui H, Hayashi S, Sakurai H.** Possible involvement of singlet oxygen species as multiple oxidants in p450 catalytic reactions. *Drug Metab Pharmacokinet* 2005; 20:1-13.
87. **Amudha G, Josephine A, Varalakshmi P.** Role of lipoic acid in reducing the oxidative stress induced by cyclosporine A. *Clin Chim Acta* 2006; 372:134-139.
88. **Amudha G, Josephine A, Sudhakar V, et al.** Protective effect of lipoic acid on oxidative and peroxidative damage in cyclosporine A-induced renal toxicity. *Int Immunopharmacol* 2007; 7:1442-1449.
89. **Bond GR, Hite LK.** Population-based incidence and outcome of acetaminophen poisoning by type of ingestion. *Acad Emerg Med* 1999; 6:1115-1120.
90. **Kearns GL.** Acetaminophen poisoning in children: treat early and long enough. *J Pediatr* 2002; 140:495-498.
91. **Abdel-Zaher AO, Abdel-Hady RH, Mahmoud MM.** The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology* 2008; 243:261-270.
92. **Anandakumar PP, Malarkodi SP, Sivaprasad TR, et al.** Antioxidant DL-alpha lipoic acid as an attenuator of adriamycin induced hepatotoxicity in rat model. *Indian J Exp Biol* 2007; 45:1045-1049.
93. **Hequet O, Le QH, Moullet I, et al.** Subclinical late cardiomyopathy after doxorubicin therapy for lymphoma in adults. *J Clin Oncol* 2004; 22:1864-1871.
94. **Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, et al.** Cardiac safety analysis of doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel with or without trastuzumab in the North Central Cancer Treatment Group N9831 adjuvant breast cancer trial. *J Clin Oncol* 2008; 26:1231-1238.
95. **Mythili Y, Sudharsan PT, Varalakshmi P.** Cytoprotective role of DL-alpha-lipoic acid in cyclophosphamide induced myocardial toxicity. *Mol Cell Biochem* 2005; 276 (1-2):39-44.
96. **Al-Majed AA, Gdo AM, Al-Shabanah OA, et al.** Alpha-lipoic acid ameliorates myocardial toxicity induced by doxorubicin. *Pharmacol Res* 2002; 46:499-503.