

Τελικά προϊόντα προχωρημένης μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης (AGEs) και βιολογική τους δράση

Κ. Κουζή-Κολιάκου¹

Ν. Κατοίκη¹

Χ. Μανές²

Περίληψη

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί την κύρια πηγή των προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης (AGEs). Τα προϊόντα AGEs αντιπροσωπεύουν μια ετερογενή ομάδα ουσιών, των οποίων πολλοί μεταβολικοί δρόμοι σχηματισμού δεν είναι γνωστοί, ενώ είναι πιθανό να υπάρχουν και άλλα προϊόντα, τα οποία δεν έχουν μελετηθεί ακόμη. Η νεφρική ανεπάρκεια, το γήρας, η ρευματοειδής αρθρίτις και η νόσος του Alzheimer χαρακτηρίζονται επίσης από εναποθέσεις AGEs και η παρουσία τους αποτελεί ένδειξη μη αναστρέψιμης πορείας των βλαβών για τον οργανισμό. Ο σχηματισμός των προϊόντων AGEs περνά από τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο οδηγεί στη δημιουργία των βάσεων Schiff και είναι αναστρέψιμο. Τα προϊόντα Schiff μετατρέπονται στη συνέχεια σε σταθερότερα, αλλά επίσης αναστρέψιμα προϊόντα Amadori (δεύτερο στάδιο) και τελικά στα σταθερά προϊόντα της προχωρημένης γλυκοζυλίωσης, αναφερόμενα ως AGEs (τρίτο στάδιο). Τα προϊόντα της τελικής γλυκοζυλίωσης, παρά τη μεγάλη ποικιλία και την εκτεταμένη διασπορά τους σε ολόκληρο το σώμα, δρουν κατά τον ίδιο τρόπο, σχηματίζοντας ισχυρούς ενδο- ή διαπρωτεϊνικούς ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ ίδιων ή διαφορετικών πρωτεϊνών, μεταβάλλοντας με αυτό τον τρόπο τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Εκτός των ανωτέρω ενδογενών πηγών δημιουργίας AGEs, αναφέρονται και εξωγενείς πηγές, όπως είναι οι τροφές, ιδιαίτερα εκείνες που η προπαρασκευή τους απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες, και το κάπνισμα. Ο ρυθμός παραγωγής και εναπόθεσης των προϊόντων AGEs σχετίζεται με τη βαρύτητα των επιπλοκών του διαβήτη. Η αμφιβληστροειδοπάθεια, η νευροπάθεια, η νεφροπάθεια και ο καταρράκτης αποτελούν επιπλοκές του διαβήτη σχετιζόμενες με το βαθμό γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών. Τα προϊόντα AGEs επιδρούν στο μεταβολισμό των λιπιδίων και μέσω του δρόμου αυτού ο διαβήτης σχετίζεται με την αγγειακή νόσο. Θεραπευτικές στρατηγικές που στρέφονται κατά του σχηματισμού των AGEs εφαρμόζονται σε κλινικές μελέτες φάσης III με τη χορήγηση αμινογουανιδίνης και πιμαγεδίνης, ουσιών για τις οποίες διαπιστώθηκε ότι προκαλούν βελτίωση των επιπλοκών του διαβήτη.

¹ Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβριολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Α.Π.Θ.

² Β' Παθολογική Κλινική, Διαβητολογικό Κέντρο Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μία συχνή συνήθης νόσος με πολλαπλές επιπλοκές. Η έρευνα τα τελευταία χρόνια στρέφεται προς την ανεύρεση της αιτιοπαθογένειας, την πρόληψη και τη θεραπεία των διαβητικών επιπλοκών. Πρόσφατες μελέτες έχουν κα-

ταδείξει τη μεγάλη σημασία της αυστηρής ρύθμισης των επιπέδων της γλυκόζης στην πρόληψη της διαβητικής μικροαγγειοπάθειας στο διαβήτη τύπου I (DCCT)¹ και τύπου II (UKPDS)². Δε φαίνεται να υπάρχει σαφής σχέση μεταξύ της αυστηρής ρύθμισης του διαβήτη και της μακροαγγειοπάθειας³, ενώ η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης φαίνεται να έχει μεγαλύτερη σημασία στην ελάττωση των διαβητικών μικροαγγειακών επιπλοκών⁴. Πέρα από τους ανωτέρω παράγοντες, η βλαπτική δράση της υπεργλυκαιμίας συνδυάζεται με την παχυσαρκία, το γενετικό υπόστρωμα, το κάπνισμα, τις διαταραχές των λιπιδίων και τις μεταβολές των παραγόντων της πήξης³. Η παρουσία των τελικών προϊόντων της προχωρημένης μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης, τα οποία θα αναφέρονται ως AGEs από τα αρχικά των λέξεων Advanced Glycation End products, συμβαδίζει απόλυτα με την υπεργλυκαιμία και πολλές επιπλοκές του διαβήτη σχετίζονται άμεσα με την παρουσία αυτών των προϊόντων^{5,6}. Τα προϊόντα AGEs ενοχοποιούνται για τη γήρανση, καθώς μεταβάλλουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες δομικών πρωτεϊνών με μεγάλη διάρκεια ζωής, καθιστώντας τις ανελαστικές και λιγότερο ευέλικτες στις αλληλεπιδράσεις τους με το περιβάλλον^{7,8}. Η παρουσία τους και σε άλλα νοσήματα του μεταβολισμού, σε φλεγμονώδεις και εκφυλιστικές νόσους αποτελεί ένδειξη μη αναστρέψιμης πορείας των βλαβών για τον οργανισμό. Η μελέτη των AGEs σήμερα προσδοκείται να προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες για τη θεραπεία και την πρόληψη των επιπλοκών του διαβήτη, αλλά και άλλων νοσημάτων στα οποία εμπλέκονται.

Η μελέτη των AGEs άρχισε στις αρχές του 1900, αλλά την τελευταία εικοσαετία διενεργείται μια περισσότερο συστηματική έρευνα, η οποία αποσκοπεί στην εξαγωγή πρακτικών αποτελεσμάτων, τα οποία θα τύχουν εφαρμογής στη θεραπευτική αντιμετώπιση των επιπλοκών του διαβήτη. Τα AGEs αποτελούν μια ομάδα ετερογενών προϊόντων, των οποίων πολλοί μεταβολικοί δρόμοι σχηματισμού δεν είναι σήμερα γνωστοί, και είναι πιθανόν να υπάρχουν και άλλα προϊόντα τα οποία ακόμη δεν έχουν μελετηθεί⁵. Ανευρίσκονται εκτός από το σακχαρώδη διαβήτη και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, στη νόσο Alzheimer και στο τελικό στάδιο της νεφρικής ανεπάρκειας⁹⁻¹⁵. In vitro μελέτες έδειξαν την παραγωγή AGEs κατά την εξέλιξη χημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν εντός του κυττάρου, λόγω του οξειδωτικού stress που παρατη-

ρείται στην αθηρωμάτωση, στις προϊούσες βλάβες του τοιχώματος των αγγείων σε διαβητικές συνθήκες και στο τελικό στάδιο της νεφρικής νόσου^{13,16}. Ιστοπαθολογικές μελέτες με τη χρήση αντισωμάτων έδειξαν την παρουσία AGEs στις αθηρωματικές πλάκες των στεφανιαίων αγγείων, στο mesangium, στη βασική μεμβράνη του αγγειώδους σπειράματος¹⁷, στην επιδερμίδα¹⁸, στις πλάκες αμυλοειδούς της νόσου του Alzheimer¹⁴, στους αρθρικούς χόνδρους στη ρευματοειδή αρθρίτιδα¹⁵, αλλά και στο ήπαρ, πνεύμονες και καρδιακό μυ¹⁹.

Οι ανωτέρω εναποθέσεις των AGEs προέρχονται από ενδογενείς πηγές. Αναφέρονται και εξωγενείς πηγές AGEs, όπως το κάπνισμα²⁰ και οι τροφές²¹, ιδιαίτερα εκείνες που απαιτούν για την παρασκευή τους υψηλές θερμοκρασίες. Στο ερώτημα ποιά είναι η συμμετοχή των εξωγενούς προέλευσης AGEs στην πρόκληση οργανικής βλάβης, δεν έχει δοθεί ακόμη απάντηση. Δεν είναι επίσης γνωστό εάν τα εξωγενούς προέλευσης AGEs συνανθροίζονται με τα ενδογενούς προέλευσης, εάν παρεμβαίνουν στη σύνθεσή τους και εάν επιταχύνουν ή επιβαρύνουν την εκδήλωση μιας παθολογικής κλινικής εικόνας. Παρά τη μεγάλη ποικιλία τους και την εκτεταμένη διασπορά τους σε ολόκληρο το σώμα, τα AGEs δρουν κατά τον ίδιο τρόπο, σχηματίζοντας ισχυρούς ενδοπρωτεϊνικούς ή διαπρωτεϊνικούς ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ ίδιων ή διαφορετικών πρωτεϊνών, οι οποίες φέρουν προσαρτημένα AGEs στο μόριό τους^{8,22}.

Ένα επί πλέον πρόβλημα, το οποίο αφορά τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό των AGEs, είναι η έλλειψη μιας διεθνώς αποδεκτής μεθόδου η οποία να μετρά την ποσότητα των AGEs. Ταυτόχρονα, απαιτείται καθιέρωση μιας διεθνούς μονάδας μέτρησης και καθορισμός των φυσιολογικών επιπέδων των AGEs. Έτσι κατά καιρούς πολλά εργαστήρια έχουν δημοσιεύσει μετρήσεις, οι οποίες όμως δεν είναι δυνατόν να συγκριθούν μεταξύ τους. Απώτερος σκοπός της μελέτης των AGEs είναι ο σχεδιασμός φαρμακευτικών σκευασμάτων, ικανών να απομακρύνουν τα εν λόγω προϊόντα από τα μόρια των πρωτεϊνών ή να διασπούν τους δεσμούς που αναπτύσσονται, λόγω της παρουσίας τους, μεταξύ των πρωτεϊνών. Ως τέτοιο φάρμακο έχει προταθεί η αμινογουανιδίνη. Πειράματα σε ζώα και εφαρμογή της σε κλινικές μελέτες φάσης III έδειξαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, όσον αφορά τη βελτίωση των επιπλοκών της μικροαγγειοπάθειας του διαβήτη²³⁻²⁶.

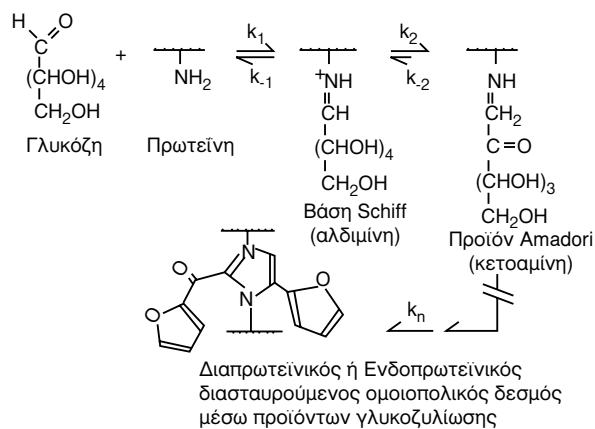
Σχηματισμός και χημική δομή των AGEs

Η μόνιμη σύνδεση των πρωτεϊνών με τα σάκχαρα ονομάζεται γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών και πραγματοποιείται στη φύση με δύο τρόπους: με την ενζυματική και τη μη ενζυματική γλυκοζυλίωση. Η ενζυματική γλυκοζυλίωση αποτελεί μια σημαντική ενδοκυττάρια διεργασία από την οποία περνούν όλες οι νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες κατά τη διέλευσή τους από τη συσκευή Golgi και πριν την έκκρισή τους από το κύτταρο. Με τη βοήθεια της γλυκοσυλικής μεταφοράς, η οποία αποτελεί ένζυμο της συσκευής Golgi, προστίθενται σάκχαρα στην αλληλουχία αμινοξέων, η οποία προήλθε από τη μετάφραση συγκεκριμένου γονιδίου. Η διαδικασία αυτή είναι τελείως απαραίτητη για να συμπληρώσει μια πρωτεΐνη το μόριό της και τα σάκχαρα, τα οποία προστίθενται στο μόριό της, αποτελούν σταθερό τμήμα της και μέρος της ταυτότητάς της²⁷.

Μετά την έξοδό της από το κύτταρο, η πρωτεΐνη κάτω από ορισμένες συνθήκες και χωρίς την παρουσία ενζύμων, συνενώνεται με μόρια αναγωγικών σακχάρων, όπως της γλυκόζης, και υφίσταται τη μη ενζυματική γλυκοζυλίωση. Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται μετά από χρονικό διάστημα αρκετών εβδομάδων και συμβαίνει σε πρωτεΐνες οι οποίες έχουν μακρά ημιπερίοδο ζωής. Η υπεργλυκαιμία αποτελεί την κυριότερη αιτία γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών⁸. Οι πρωτεΐνες του συνδετικού ιστού και της βασικής μεμβράνης, όπως είναι οι διάφοροι τύποι κολλαγόνου και η λαμίνη, αποτελούν κύριους στόχους της γλυκοζυλίωσης, αλλά και η τομπουλίνη, η μυελίνη, το C3 στοιχείο του συμπληρώματος, ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου και το ινωδογόνο, υφίστανται επίσης μη ενζυματική γλυκοζυλίωση^{28,29}. Στην ουραιμία, η οποία συνοδεύεται από υψηλά επίπεδα AGEs, ουσίες με μικρότερη ημιπερίοδο ζωής, όπως είναι τα λιπίδια και τα νουκλεϊνικά οξέα, υφίστανται μη ενζυματική γλυκοζυλίωση.

Όλα τα αναγωγικά σάκχαρα, μεταξύ αυτών και η γλυκόζη, αντιδρούν μη ενζυματικά με ελεύθερες αμινομάδες των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και των νουκλεϊνικών οξέων και μέσω μιας σειράς χημικών αντιδράσεων, με ενδιάμεσα προϊόντα τις βάσεις του Schiff και τα παράγωγα Amadori, σχηματίζουν τα μόρια των AGEs. Η διαδικασία αυτή, γνωστή και ως αντίδραση Maillard, μελετήθηκε τη δεκαετία του 1900, καθώς είχε παρατηρηθεί ότι η θέρμανση των αμινοξέων, παρουσία αναγωγικών σακχάρων, τους προσέδιδε ένα καστανοκίτρινο

Μη ενζυματική γλυκοζυλίωση



Εικ. 1. Χημικές αντιδράσεις μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης (Brownlee 1988).

χρώμα. Χημικές αντιδράσεις μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης φαίνονται στην εικόνα 1.

Η μη ενζυματική γλυκοζυλίωση στα πρώτα στάδια εξαρτάται από τη συγκέντρωση της γλυκόζης και για το λόγο αυτό έχει σχέση με το σακχαρώδη διαβήτη. Αργότερα όμως, με το σχηματισμό σταθερών προϊόντων, εξελίσσεται ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης της γλυκόζης^{31,32}. Η μη ενζυματική γλυκοζυλίωση αναστέλλεται από το ασκορβικό οξύ και ενισχύεται από την παρουσία μετάλλων. Η γλυκόζη προκαλεί χαμηλού και αργού βαθμού γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, ενώ αντίθετα τα ενδοκυττάρια σάκχαρα, όπως η 6-φωσφορική γλυκόζη και η φρουκτόζη, γλυκοσυλιώνουν τις πρωτεΐνες με ταχύτερο ρυθμό¹⁷.

Η μη ενζυματική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών περιλαμβάνει τη μη ενζυματική συνένωση μιας αλδόζης ή κετόζης με μια ελεύθερη αμινομάδα πρωτεΐνης (συνήα την ε-αμινομάδα της λυσίνης) και οδηγεί στο σχηματισμό βάσης του Schiff, η οποία αποτελεί αναστρέψιμο προϊόν. Η βάση του Schiff αναδιαμορφώνεται στο περισσότερο σταθερό προϊόν Amadori και τελικά σε μη αντιστρεπτά, συχνά φθορίζοντα, παράγωγα, τα οποία χαρακτηρίζονται από νέους ομοιοπολικούς διασταυρούμενους δεσμούς με ελεύθερες αμινομάδες της ίδιας ή άλλης πρωτεΐνης και τα οποία ως σύνολο ονομάζονται “τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης” (Advanced Glycation End products ή με σύντμηση AGEs). Τα προϊόντα αυτά είναι θερμοδυναμικά σταθερά και για αυτό το λόγο συσσωρεύονται στα μακρομόρια με χαμηλό ρυθμό ανακύκλωσης και κατά συνέπεια μακρό χρόνο ζωής.

Συχνά η γλυκοζυλίωση συνδυάζεται με οξειδωση των λιπών και τα μόρια που προκύπτουν αποτελούν παράγωγα της γλυκοοξειδωσης. Τα AGEs πεντοσιδίνη και καρβοξυμεθυλολυσίνη αποτελούν δύο γνωστά παράγωγα της γλυκοοξειδωσης^{17,33}. Το φαινόμενο αυτό συχνά παρατηρείται στο σακχαρώδη διαβήτη και στην ουραιμία και θεωρείται υπεύθυνο για τις πρώιμες αγγειακές βλάβες που παρατηρούνται στις ανωτέρω καταστάσεις¹². Η χρήση αντιοξειδωτικών ουσιών προκαλεί ελάττωση των παραγώγων της γλυκοοξειδωσης³⁴, ενώ αντίθετα η οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, παρουσία πρωτεϊνών, αυξάνει το σχηματισμό μορίων καρβοξυμεθυλολυσίνης, ενισχύοντας το ρόλο της οξειδωσης των λιπών στο σχηματισμό παραγώγων AGEs^{35,36}. Έτσι η παρουσία της καρβοξυμεθυλολυσίνης αποτελεί δείκτη οξειδωτικού stress, ο οποίος προέρχεται από αλληλεπιδράσεις σακχάρων και οξειδωμένων λιπαρών οξέων³⁷.

Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη αποτελεί παράγωγο Amadori²⁹, και όχι AGE³⁸, για το λόγο ότι η διαδικασία γλυκοζυλίωσης συμβαίνει σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας για χρονικό διάστημα 6-12 εβδομάδων, ενώ για τη δημιουργία των AGEs απαιτείται μεγαλύτερο διάστημα.

Εξωγενής δημιουργία AGEs

Ο σχηματισμός των AGEs συνήθως είναι ενδογενής, αλλά το κάπνισμα και οι τροφές έχουν αναφερθεί ως εξωγενείς πηγές AGEs^{20,21,39}. Είναι γνωστό ότι το κάπνισμα προκαλεί αγγειακές βλάβες, αλλά δεν είναι γνωστό εάν μέρος αυτών οφείλεται στη δράση των AGEs, τα οποία εισέρχονται στον οργανισμό με το κάπνισμα. Ο μηχανισμός σχηματισμού και οι τύποι των AGEs που προκύπτουν από το κάπνισμα δεν έχουν μέχρι στιγμής διευκρινισθεί. AGEs προερχόμενα από το κάπνισμα έχουν παρατηρηθεί στο τοίχωμα των στεφανιαίων αγγείων και στην κρυσταλλίνη του φακού²⁰. Πειραματικές μελέτες έδειξαν την παρουσία καρβονυλικών ομάδων στον τένοντα μυών στους οποίους χορηγήθηκε νικοτίνη³⁹. Είναι γνωστό επίσης ότι η παρασκευη τροφών σε υψηλή θερμοκρασία οδηγεί στο σχηματισμό προϊόντων Maillard²¹.

Η ποσότητα των εξωγενώς προσλαμβανομένων με τις τροφές AGEs είναι δύσκολο να προσδιοριστεί, καθώς δεν υπάρχουν κατάλληλες μέθοδοι ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού. Ένα πολύ μικρό ποσοστό των προϊόντων AGEs που λαμβάνονται με τις τροφές απορροφάται από το

έντερο και συνεπώς έχει λειτουργική σημασία, καθώς τα AGEs είναι ανθεκτικά στα πεπτικά ένζυμα του γαστρεντερικού σωλήνα και στην υδρόλυση⁴⁰. Στους ουραιμικούς ασθενείς όμως τα εξωγενή προϊόντα AGEs δρουν σαν γλυκοτοξίνες, οι οποίες οδηγούν σε κινητοποίηση των κυτοκινών και πρόκληση αλλοιώσεων του αγγειώδους σπειράματος⁴¹. Δεν είναι γνωστό εάν στο σακχαρώδη διαβήτη τα εξωγενούς προέλευσης AGEs δρουν με τον ίδιο τρόπο.

Σχηματισμός δεσμών μεταξύ των AGEs και των μορίων των πρωτεϊνών

Ενώ αναφέρεται μια πληθώρα AGEs, ο τρόπος που αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες είναι σταθερός. Αποτέλεσμα της γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών είναι η δημιουργία διαπρωτεϊνικών ή ενδοπρωτεϊνικών διασταυρούμενων ομοιοπολικών δεσμών μέσω των AGEs (cross-links), τα οποία αναπτύσσονται επί του μορίου τους. Ο τρόπος σχηματισμού των ομοιοπολικών δεσμών δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένος, αλλά είναι σταθερή η παρουσία του αμινοξέος της λυσίνης στις θέσεις της γλυκοζυλίωσης⁴². Η συμμετοχή της λυσίνης στη μη ενζυματική γλυκοζυλίωση αποδεικνύεται και από το γεγονός της δράσης του βρωμικού θειοζολίου, το οποίο είναι γνωστό ότι διασπά συνδέσεις που σχηματίζονται μεταξύ δύο λυσινών²³. Ενδοπρωτεϊνικοί δεσμοί παρατηρούνται στο μόριο του κολλαγόνου, στη δημιουργία των οποίων συμμετέχει το ένζυμο οξειδάση της λυσίνης και οι οποίοι συμβάλλουν στη σταθεροποίηση του μορίου του. Οι δεσμοί αυτοί όμως δεν έχουν καμία σχέση με τους ομοιοπολικούς δεσμούς που σχηματίζουν τα προϊόντα AGEs στο διαβήτη, μεταξύ πρωτεϊνών που έχουν μεγάλη ημιπερίοδο ζωής.

Οι δεσμοί αυτοί προκαλούν ελάττωση της ελαστικότητας των μορίων και αδυναμία λειτουργίας των πρωτεολυτικών ενζύμων τοπικά, με αποτέλεσμα αδυναμία της αναγέννησης και της επύλωσης των ιστών. Οι μεταβολές αυτές είναι συνήθεις στο γήρας και στο σακχαρώδη διαβήτη^{32,43,44}. Ανοσοϊστοχημική μελέτη αρτηριοσκληρωτικών αορτών έδειξε απόλυτη συσχέτιση της συγκέντρωσης των προϊόντων AGEs και του βαθμού σκλήρυνσης της αορτής⁴⁵. Ανάλογες μελέτες με τη χρήση ειδικών αντισωμάτων έδειξαν αυξημένα επίπεδα της πυρραλίνης και της πεντοσιδίνης σε νεφρούς διαβητικών ασθενών^{31,32,46}.

Ο σχηματισμός ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των πρωτεϊνών της βασικής μεμβράνης, αλλά και με-

ταξύ των πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας, μέσω των προϊόντων AGEs, οδηγεί σε σκλήρυνση του νεφρικού σωματίου, πάχυνση των βασικών μεμβρανών των τριχοειδών αγγείων και προϊούσα αθηροσκλήρωση⁴². Στην αθηροσκλήρωση ωστόσο, υπεισέρχεται και ο παράγων της γλυκοοξειδωσίας των λιπαρών οξέων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας και μακροαγγειοπάθειας^{17,47}.

Ο σχηματισμός AGEs στα μόρια της βασικής μεμβράνης επηρεάζει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους καθώς και τις σχέσεις τους με τα παρακείμενα κύτταρα. Η προχωρημένη γλυκοζυλίωση του κολλαγόνου τύπου IV έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει τη σύνδεση του NC1 με την τριπλή έλικα και το σχηματισμό δικτύου κατά τον πολυμερισμό, με αποτέλεσμα μεταβολή της δομής της βασικής μεμβράνης⁴⁸. Ο σχηματισμός AGEs στα μόρια της λαμινίνης ελαττώνει τον ομοπολυμερισμό της και τη σύνδεσή της με το κολλαγόνο IV και τις πρωτεογλυκάνες της θεϊκής ηπαράνης⁴⁹. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα της αορτής επιδεικνύουν ελαττωμένη ικανότητα προσκόλλησης στα γλυκοζυλιωμένα μόρια της λαμινίνης και του κολλαγόνου τύπου IV. Η τροποποίηση του μορίου της λαμινίνης και του κολλαγόνου τύπου IV, λόγω της σύνδεσής τους με τα AGEs, αναστέλλει λειτουργικά το τμήμα E της λαμινίνης που προέρχεται από πρωτεόλυση με ελαστάση. Το τμήμα αυτό σχετίζεται με την κατά μήκος ανάπτυξη των νεύρων⁵⁰.

Υποδοχείς των προϊόντων AGEs

Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί πολλοί υποδοχείς των AGEs. Μεταξύ αυτών αναφέρονται ο υποδοχέας τύπου I και II των μακροφάγων, ο RAGE, ο υποδοχέας της ολιγοσακχαριδικής τρानσφεράσης-48(AGE-R1), ο υποδοχέας 80K-H της φωσφοπρωτεΐνης(AGE R2) και ο υποδοχέας της γαλεκτίνης-3(AGE-R3). Οι υποδοχείς αυτοί φυσιολογικά εκφράζονται στα μυϊκά κύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα ποδοκύτταρα, τα αστροκύτταρα και τα μικρονευρογλοιακά κύτταρα⁵¹. Η έκφραση μερικών από αυτούς τους υποδοχείς είναι αυξημένη στο σακχαρώδη διαβήτη, όπως συμβαίνει με τον υποδοχέα της γαλεκτίνης-3, ο οποίος μελετήθηκε σε διαβητικά πειραματόζωα⁵². Επίσης, αύξηση της έκφρασης του υποδοχέα RAGE βρέθηκε στο ενδοθήλιο των αγγείων, ιδίως σε αθηρωματικές περιοχές, και στους νεφρούς διαβητικών ασθενών⁵³. Ο υποδοχέας RAGE ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών και έχει μελετηθεί περισσότερο

από τους άλλους. Η παρουσία του συμπλέγματος AGE-RAGE στην κυτταρική μεμβράνη των μακροφάγων και των μικρογλοιακών κυττάρων οδηγεί σε οξειδωτικό stress και ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB μέσω του δρόμου p21^{ras}/MAP κινάσης^{54,55}. Ο μεταγραφικός παράγων NF-κB είναι ευαίσθητος στην παρουσία ελευθέρων ριζών και ρυθμίζει την έκφραση της ενδοθηλίνης1, της VCAM-1 και της θρομβομοδουλίνης¹⁷. Ενοχοποιείται επίσης για την ελάττωση των ενδοκυττάρων αντιοξειδωτικών ουσιών, όπως της γλουταθειόνης, της βιταμίνης C και του NO⁵⁶.

Η σύνδεση των AGEs με τον υποδοχέα RAGE των μακροφάγων οδηγεί σε έναρξη της διαδικασίας ενδοκυττάρου οξειδωτικού stress, το οποίο έχει ιδιαίτερη σημασία σε θέσεις φλεγμονής. Ένδειξη για αυτό αποτελεί ο σχηματισμός στο μόριο των πρωτεϊνών της καρβοξυμεθυλολυσίνης, λόγω της γλυκοοξειδωσίας, η οποία συμβαίνει εντός των μακροφάγων της περιοχής της φλεγμονής, μέσω του συστήματος της μυελοϋπεροξειδάσης⁵⁷. Ο μεταβολικός αυτός δρόμος είναι ανεξάρτητος της υπεργλυκαιμίας και έτσι εξηγείται η παρουσία AGEs στις αθηρωματικές πλάκες αγγείων μη διαβητικών ατόμων και στον αρθρικό χόνδρο στη ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Τα AGEs συμμετέχουν στη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας, αλλά και της χρόνιας αγγειακής δυσλειτουργίας στο διαβήτη, δρώντας σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, τα προϊόντα AGEs συνδέονται με τον υποδοχέα RAGE των μακροφάγων. Στο δεύτερο στάδιο, το σύμπλεγμα υποδοχέα-AGEs ενεργοποιεί τα μακροφάγα και τους μηχανισμούς φλεγμονής, με απώτερο αποτέλεσμα τη συγκέντρωση λιποπρωτεϊνών και τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας, τη χρόνια φλεγμονή και την επίταση της αθηρωμάτωσης⁵⁸.

Δεν έχει προσδιοριστεί ο αριθμός των συνδέτων του υποδοχέα RAGE, αλλά και των άλλων γνωστών υποδοχέων⁵⁹. Για τον υποδοχέα RAGE αναφέρονται τρεις συνδέτες: τα προϊόντα AGEs, η αμφοτερίνη και το πεπτιδίο β του αμυλοειδούς, το οποίο συμμετέχει στην παθογένεια της νόσου του Alzheimer⁶⁰. Η σύνδεση της αμφοτερίνης, πρωτεΐνης η οποία ενισχύει την κατά μήκος αύξηση του νευράξονα, με τον υποδοχέα RAGE, βρέθηκε σε πειραματικές συνθήκες ότι ενισχύει τη μετανάστευση αρχέγονων και καρκινικών κυττάρων⁶¹. Διακοπή της μεταβίβασης του σήματος σύνδεσης αμφοτερίνης-RAGE σε πειραματικές συνθήκες οδηγεί σε αναστολή της ανάπτυξης των όγκων. Φαίνεται ότι ο

τρόπος δράσης του συμπλέγματος AGE-RAGE και αμφοτερίνης-RAGE είναι διαφορετικός.

Βιολογικές δράσεις των AGEs

Πολλές μελέτες αναφέρονται στη σχέση των AGEs με το σακχαρώδη διαβήτη. Η πρώιμη αθηρωμάτωση συνδέεται με το σακχαρώδη διαβήτη και η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και το οξειδωτικό stress συμβάλλουν σε αυτή⁶². Η υπεργλυκαιμία φαίνεται να προκαλεί δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, αλλά με μηχανισμό που δεν είναι γνωστός. Η ελάττωση των αντιοξειδωτικών, η υπόθεση της σορβιτόλης και η μη ενζυματική γλυκοζυλίωση θεωρούνται πιθανοί παράγοντες πρόκλησης δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου^{47,63}. Η υπεργλυκαιμία επιταχύνει τη μη ενζυματική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, αλλά η διεργασία αυτή συμβαίνει και σε φυσιολογικά επίπεδα σακχάρου. Ο ρυθμός παραγωγής των τελικών προϊόντων της μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης σχετίζεται με τη βαρύτητα των επιπλοκών του διαβήτη. Η αμφιβληστροειδοπάθεια, η νευροπάθεια, η νεφροπάθεια και ο καταρράκτης αποτελούν επιπλοκές του διαβήτη σχετιζόμενες με το βαθμό γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών και τη συγκέντρωση των AGEs, αλλά δεν υπάρχουν μελέτες που να καταδεικνύουν με κατηγορηματικό τρόπο αυτή τη συσχέτιση^{30,32,64}. Αντίθετα μάλιστα, υγιείς υπερήλικες μη διαβητικοί έχουν υψηλότερα επίπεδα AGEs από νεαρούς ινσουλινοεξαρτώμενους ασθενείς, οι οποίοι φέρουν επιπλοκές μικροαγγειοπάθειας⁶². Φαίνεται πιθανότερο να ευθύνεται για την ανάπτυξη των επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη μάλλον ο ρυθμός εναπόθεσης των AGEs και όχι η συνολική ποσότητά τους.

Ανεξαρτήτως του τρόπου δράσης των AGEs, αναφέρονται συγκεκριμένοι μεταβολικοί δρόμοι τους οποίους τροποποιούν τα προϊόντα AGEs και ασκούν τη βιολογική τους δράση. Σε γενικές γραμμές, η παρουσία τους προκαλεί υπεροξείδωση των λιπαρών οξέων, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου^{30,53}, κινητοποίηση των κυτοκινών^{30,65}, μεταβολές της αρχιτεκτονικής δομής των πρωτεϊνών⁴⁸⁻⁵⁰ και ενεργοποίηση μηχανισμών διαταραχής της πηκτικότητας του αίματος⁵³. Καλλιέργεια ενδοθηλιακών κυττάρων, παρουσία υψηλών επιπέδων γλυκόζης, προκαλεί αύξηση των AGEs κατά 13.8 φορές και ελάττωση της ικανότητας πολλαπλασιασμού τους⁵³. Η ανωτέρω ελάττωση οφείλεται σε μεταμεταφραστικές μεταβολές του βασικού αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών, λόγω της παρουσίας των AGEs, η οποία και αποτελεί τη σημαντικότερη δράση των

AGEs στα ενδοθηλιακά κύτταρα⁵³. Σχηματισμός AGEs στον εξωκυττάριο χώρο προκαλεί ελάττωση της ελαστικότητας, δυσκαμψία^{32,43,44}, πάχυνση του τοιχώματος των αγγείων, ελάττωση της διαμέτρου του αυλού τους και αδυναμία χάλασής τους, λόγω αδρανοποίησης του συστήματος NO και ενεργοποίησης της παραγωγής ενδοθηλίνης⁶⁶. Ενδοκυττάρια γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών οδηγεί σε ελάττωση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών ουσιών του κυττάρου, ανάπτυξη οξειδωτικού stress και παραγωγή ελευθέρων ριζών⁵⁶. Η ανωτέρω διεργασία οδηγεί σε υπερέκφραση του μορίου προσκόλλησης VCAM-1 των ενδοθηλιακών κυττάρων και επομένως σε αύξηση του ρυθμού προσκόλλησης των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Τα μονοκύτταρα στη συνέχεια διηθούν το αγγειακό τοίχωμα και ελευθερώνουν παράγοντες που οδηγούν στην ανάπτυξη τοιχωματικών αγγειακών βλαβών⁶⁷.

Επίδραση των AGEs σε κυτταρικό και ιστικό επίπεδο

Δράση των AGEs σε κυτταρικό επίπεδο

A. Υπεροξείδωση των λιπών-δυσλειτουργία του ενδοθηλίου

- Πτώση των επιπέδων NO
- Αύξηση της ενδοθηλίνης1
- Αύξηση του αγγειακού τόνου

B. Κινητοποίηση μηχανισμών ανοσίας

- Υπερέκφραση του αγγειακού μορίου προσκόλλησης VCAM-1
- Αύξηση της έκκρισης των κυτοκινών IL-1, TNF-β και IGF-1A
- Αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού
- Εκλεκτική προσέλκυση μονοκυττάρων
- Διέγερση των T-λεμφοκυττάρων και παραγωγή ιντερφερόνης-γ

Δράση των AGEs σε επίπεδο ιστών

- A. Μεταβολές του φορτίου και της διάταξης των μορίων της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα τη θόλωση του φακού. Στον αμφιβληστροειδή παρατηρείται αύξηση της διαπερατότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων, πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος, απόφραξη των τριχοειδών και ισχαιμία. Επίσης διαπιστώνεται υπερπηκτικότητα, αύξηση της σύνθεσης του αυξητικού παράγοντα VEGF, αγγειογένεση και νεοαγγείωση.
- B. Σχηματισμός μη αναστρέψιμων δεσμών μεταξύ των πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας, και

ιδίως του κολλαγόνου, με αποτέλεσμα την πρόωμη γήρανση. Στους νεφρούς παρατηρείται αύξηση του μεσαγγείου και του πάχους της σπειραματικής βασικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα προϊούσα νεφρική ανεπάρκεια.

Γ. Μεταβολές των μηχανισμών πήξης του αίματος. Η παρουσία των AGEs προκαλεί:

- αύξηση του ιστικού παράγοντα
- ελάττωση της θρομβομοδουλίνης
- αύξηση της συσώρευσης των αιμοπεταλίων
- σταθεροποίηση της ινικής και
- γλυκοζυλίωση των υποδοχέων ΙΑ και ΙΒ της κυτταρικής μεμβράνης των αιμοπεταλίων.

Συμμετοχή των AGEs στην πρόκληση της αγγειακής νόσου στο σακχαρώδη διαβήτη

- Ελάττωση του ρυθμού αποδόμησης του κολλαγόνου, λόγω αδυναμίας δράσης της κολλαγενάσης
- Αύξηση της εξωκυττάριας ουσίας, με αποτέλεσμα τη στένωση του αυλού των αγγείων
- Αύξηση του πάχους της βασικής μεμβράνης
- Αύξηση του μεσαγγείου
- Υπερτροφία του σπειράματος, νεφροσκλήρυνση, λευκοματουρία
- Ελάττωση της απέκκρισης συμπλεγμάτων πεπτιδίων-AGEs
- Ελάττωση της ποσότητας της θειικής ηπαράνης στην εξωκυττάρια ουσία
- Αύξηση της διαπερατότητας των ενδοθηλίων
- Αύξηση της παραγωγής κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων (IL-1a, TNF, IGF-IA, PDGF) από ενεργοποιημένα μονοκύτταρα
- Αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών
- Αύξηση του πολλαπλασιασμού των ινοβλαστών
- Διέγερση των T-λεμφοκυττάρων και παραγωγή ιντερφερόνης-γ
- Αύξηση του αριθμού των υποδοχέων RAGE
- Αύξηση του ρυθμού προσκόλλησης των κερυρεσμένων με AGEs ερυθρών αιμοσφαιριών στα ενδοθήλια
- Μειωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων, λόγω μεταβολών του αυξητικού παράγοντα bFGF
- Αύξηση της σύνθεσης από τα ενδοθήλια του αυξητικού παράγοντα VEGF
- Αύξηση της προληπτικής δραστηριότητας, με αύξηση της έκφρασης του ιστικού παράγοντα
- Ελάττωση της αντιπηκτικής δραστηριότητας,

- λόγω παραγωγής θρομβομοδουλίνης
- Αύξηση της παραγωγής των μορίων προσκόλλησης, κυρίως του VCAM 1
 - Αύξηση της παραγωγής του χημειοτακτικού πεπτιδίου JE/MCP-1 από τις λείες μυϊκές ίνες
 - Αύξηση της προσέλευσης και εγκατάστασης μονοκυττάρων στο μέσο χιτώνα των αγγείων
 - Αδυναμία χάλασης του τοιχώματος των αγγείων, λόγω ελάττωσης των επιπέδων NO
 - Αύξηση της αγγειοσύσπασης, λόγω αύξησης της παραγωγής ενδοθηλίνης
 - Ανάπτυξη ενδοκυττάρου οξειδωτικού stress και ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB.

Υπεροξειδωση των λιπών

- Ελάττωση των μηχανισμών αντιοξειδωτικής άμυνας του κυττάρου
- Αύξηση της πρόσληψης από τα μακροφάγα του συμπλέγματος AGE-LDL και συμμετοχή στη δημιουργία του αθηρώματος
- Ενεργοποίηση του συμπληρώματος
- Αύξηση του ρυθμού μεταλλάξεων του DNA
- Άθροιση AGEs στα αγγεία των νεύρων, πάχυνση του τοιχώματός τους, απόφραξη τους και ισχαιμία
- Γλυκοζυλίωση της μυελίνης ουσίας του τοιχώματος των εμμύλων νευρικών ινών και καταστροφή της
- Γλυκοζυλίωση των αυξητικών παραγόντων των νεύρων.

Μεταβολισμός των προϊόντων AGEs

Η αποδόμηση των προϊόντων AGEs γίνεται από τα μακροφάγα των ιστών, μετά τη συνένωση των AGEs με τους ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης των μακροφάγων⁶⁵. Μετά την αποικοδόμηση των μεγαλύτερων γλυκοζυλιωμένων μορίων, τα μικρά διαλυτά πεπτίδια που προκύπτουν αποβάλλονται από τους νεφρούς, εφόσον υπάρχει ένα καλό επίπεδο νεφρικής κάθαρσης. Επί υπάρχουσας νεφρικής ανεπάρκειας, παρατηρείται άθροιση των προϊόντων AGEs, με αποτέλεσμα την επίταση της αγγειοπάθειας⁵³. Τα κύτταρα Kupffer και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών τριχοειδών αγγείων του ήπατος έχουν την ικανότητα της φαγοκυττάρωσης των προϊόντων AGEs και επομένως υπάρχει και ένας δεύτερος δρόμος απομάκρυνσης αυτών των προϊόντων από την κυκλοφορία, ανεξάρτητος από τη νεφρική οδό⁶⁸.

Πειραματικές μελέτες έδειξαν επίσης συμμετοχή της ινσουλίνης στην απομάκρυνση των AGEs, μέσω της οδού της κινάσης της ινοσιτόλης (P13 κινάση). Ο μεταβολικός αυτός δρόμος θεωρείται αγγλειοπροστατευτικός, καθώς αυξάνει την παραγωγή NO στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προκαλεί μετακίνηση γλυκόζης στα λιπώδη και μυϊκά κύτταρα⁶⁸. Η έκφραση υποδοχέων φαγοκυττάρωσης στην κυτταρική μεμβράνη των ηπατικών ενδοθηλιακών κυττάρων θεωρείται ινσουλινοεξαρτώμενη, καθώς ελαττώνεται από αναστολείς της κινάσης P13. Ο τρόπος με τον οποίο δρα η ινσουλίνη είναι εν μέρει άγνωστος, πιθανολογείται όμως ότι συμβαίνει ταχεία και συνεχής ενδοκυττάρια μεταφορά προϊόντων AGEs στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Συγκέντρωση των AGEs στο διαβήτη, το γήρας και τη νεφρική ανεπάρκεια

Συγκεντρώσεις AGEs στα μεταβολικά νοσήματα

Τα προϊόντα AGEs εμφανίζονται πέντε εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του σακχαρώδη διαβήτη σε πειραματόζωα και η ποσότητά τους αυξάνει συστηματικά στο νεφρικό φλοιό, το δέρμα, το φακό και την αορτή⁵⁹. Πειραματικές μελέτες, μετά από εξωγενή χορήγηση προϊόντων AGEs σε ποσότητες ανάλογες με αυτές των διαβητικών, έδειξαν αύξηση των ανιχνεύσιμων επιπέδων AGEs έως και 50% μετά από χορήγηση 5 μηνών. Με ιστολογική εξέταση του νεφρού διαπιστώθηκε αύξηση του όγκου του νεφρικού σωληναρίου και πάχυνση της βασικής μεμβράνης του αγγειώδους σπειράματος⁶⁹. Η ποσότητα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης αντιστοιχεί στο 0.42% της ολικής αιμοσφαιρίνης και αυξάνει στο 0.75% στους διαβητικούς²⁹. Χορήγηση 1200 mg αμινογουανιδίνης ημερησίως σε κλινικές μελέτες φάσης I, έδειξαν ελάττωση των επιπέδων της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης κατά 28% μετά από χορήγηση 28 ημερών σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 και 2, διάρκειας περίπου 20 ετών.

Χρησιμοποιώντας HPLC βρέθηκε ότι η συγκέντρωση των AGEs αυξάνει με την ηλικία, ενώ στους διαβητικούς είναι σχεδόν διπλάσια από τον υπόλοιπο πληθυσμό³¹. Η ποσότητά τους είναι ευθέως ανάλογη με τη βαρύτητα των μικροαγγειακών επιπλοκών. Χρησιμοποιώντας μεθόδους ELISA βρέθηκε ότι παιδιά με διαβήτη τύπου 1 έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις AGEs πριν την ήβη (14.5 ± 2.8 U/ml), συγκρινόμενα με φυσιολογικά παιδιά αντίστοιχης ηλικίας (11.4 ± 2.9 U/ml). Ενήλικες διαβητικοί με μικροαγγειακές επιπλοκές

βρέθηκε ότι έχουν υψηλότερα επίπεδα AGEs (17.9 ± 2.4 U/ml) από αυτά διαβητικών χωρίς επιπλοκές (15.7 ± 2.3 U/ml) και από φυσιολογικούς ενήλικες αντίστοιχης ηλικίας (12.2 ± 1.9 U/ml). Ενήλικες διαβητικοί με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια έχουν επίπεδα AGEs άνω των 20 U/ml. Η μελέτη αυτή αποκτά ιδιαίτερη σημασία διότι αποδεικνύει ότι διαβητικά παιδιά ηλικίας κάτω των 6 ετών έχουν υψηλά επίπεδα AGEs. Η συγκέντρωση των AGEs δε φαίνεται να έχει σχέση με το φύλο, σχετίζεται όμως με την ηλικία και τη διάρκεια του σακχαρώδη διαβήτη. Μετρήσεις των επιπέδων AGEs στον ορό, το δέρμα και το φακό αποδεικνύει γραμμική συσχέτιση με τη διάρκεια του διαβήτη^{13,31, 70, 71}. Τα επίπεδα των AGEs αυξάνουν μέχρι και 100 φορές στους διαβητικούς που βρίσκονται σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας σε σχέση με αυτούς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία⁶⁵. Αντίστοιχες μετρήσεις των επιπέδων της πεντοσιδίνης έδειξαν αύξηση 2.5 φορές στους διαβητικούς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία και άνοδο κατά 23 φορές στο τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας⁷². Στις ανωτέρω μετρήσεις ελήφθη υπόψη η άνοδος των επιπέδων πεντοσιδίνης με την αύξηση της ηλικίας, αλλά και επί φυσιολογικής νεφρικής λειτουργίας⁷². Μετρήσεις των επιπέδων AGEs στο τοίχωμα της αορτής σε διαβητικούς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία και σε διαβητικούς τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας έδειξαν σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με το φυσιολογικό πληθυσμό⁷³. Η συγκέντρωση των AGEs στους διαβητικούς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία ήταν 14.5 U/ml, στους διαβητικούς τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας 21.3 U/ml και στους υγιείς μάρτυρες 3.6 U/ml.

Αν και υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις για αυξημένη συγκέντρωση των AGEs στο διαβήτη, τη νεφρική ανεπάρκεια και τη γήρανση, είναι δύσκολο να γίνουν συγκριτικές μελέτες μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων, επειδή δεν υπάρχει ενιαία μονάδα μέτρησης. Επί πλέον υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός δομικά ετερογενών AGEs, ο οποίος δυσχεραίνει την ταυτοποίηση των προσδιοριζόμενων AGEs με αυτά που προκαλούν τις βιολογικές επιδράσεις επί των ιστών. Οι μέθοδοι που σήμερα χρησιμοποιούνται διεθνώς για τον προσδιορισμό των AGEs είναι η ELISA, η HPLC και η ανοσοϊστοχημεία. Στην ανοσοϊστοχημεία σήμερα χρησιμοποιείται αντίσωμα έναντι των υποδοχέων των AGEs και αντίσωμα έναντι της καρβοξυμεθυλολυσίνης^{74,75}.

Επιπλοκές του διαβήτη στις οποίες εμπλέκονται τα προϊόντα AGEs

Η υπεργλυκαιμία υπεισέρχεται στην εκτεταμένη αγγειακή βλάβη που παρατηρείται στο διαβήτη και η οποία τελικά οδηγεί στις μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπλοκές. Οι ακριβείς μηχανισμοί που οδηγούν σε αυτές δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί. Τρεις μεταβολικοί δρόμοι θεωρούνται ότι μετέχουν στη δημιουργία των επιπλοκών: η ενεργοποίηση των ισομορφών της πρωτεϊνικής κινάσης C, η δραστηριοποίηση του μεταβολικού δρόμου της αναγωγής της αλδόζης και ο σχηματισμός των AGEs. Σημαντική ένδειξη για τη συμμετοχή των ανωτέρω μεταβολικών δρόμων στην πρόκληση των διαβητικών επιπλοκών, αποτελεί η ελάττωση των επιπλοκών σε διαβητικά πειραματόζωα μετά από χορήγηση αναστολέα της πρωτεϊνικής κινάσης C (LY333531)⁷⁶, αναστολέα της αναγωγής της αλδόζης (ponarlestat)⁷⁷ και αναστολέα του υποδοχέα των AGEs στην εξωκυττάρια ουσία (RAGE)⁷⁸. Η υπεργλυκαιμία διεγείρει την παραγωγή ριζών οξυγόνου και οδηγεί σε οξειδωτικό stress. Οξειδωτικές ουσίες, όπως το ανιόν του σουπεροξειδίου, το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα υπεροξειδία των λιπιδίων, δρουν βλαπτικά, προκαλώντας οξειδωση, κερματισμό και δημιουργία cross-links. Ταυτόχρονα, ο σχηματισμός των AGEs αυξάνει την παραγωγή των ελευθέρων ριζών, ενώ ελαττώνει τα επίπεδα NO στα ενδοθηλιακά κύτταρα^{32,79,80}. Καθώς είναι γνωστός ο ρόλος του οξειδίου του αζώτου στην αγγειοχάλαση και την αντιμυϊτική δραστηριότητα έναντι των λείων μυϊκών ινών του τοιχώματος των αγγείων²⁹, η συσσώρευση των AGEs μπορεί να προκαλέσει πάχυνση του τοιχώματος των αγγείων, απώλεια της ελαστικότητάς του, υπέρταση και δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Άλλο στοιχείο υπέρ της συμμετοχής των AGEs στην αγγειακή βλάβη αποτελεί ο σχηματισμός cross-links μεταξύ των δομικών πρωτεϊνών της βασικής μεμβράνης, δηλαδή του κολλαγόνου τύπου IV και της λαμίνης, αλλά και άλλων πρωτεϊνών του υπενδοθηλίου χώρου που έχουν μεγάλη ημιπερίοδο ζωής. Η ανωτέρω διαμόρφωση των πρωτεϊνών προκαλεί διαταραχές στη φυσιολογική ανανέωση των μορίων του εξωκυττάρου χώρου, διέγερση του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών και αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας⁸¹. Η δράση των AGEs στην πρόκληση αγγειοπάθειας περιλαμβάνει επίσης μεταβολές στον πηκτικό μηχανισμό και στην ινωδόλυση,

αυξάνοντας τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων, ελαττώνοντας τη διάρκεια ζωής τους και επηρεάζοντας την αντιθρομβίνη III, τον ιστικό παράγοντα, τη θρομβομοδοουλίνη, αλλά και το σχηματισμό ινικής. Τελικό αποτέλεσμα των ανωτέρω δράσεων είναι η δημιουργία μιας κατάστασης ετοιμότητας για δραστηριοποίηση του πηκτικού μηχανισμού.

Συμμετοχή των AGEs στη δημιουργία της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας

Η αμφιβληστροειδοπάθεια αποτελεί συνήθη επιπλοκή του διαβήτη. Αναφέρεται ότι μετά από 25 χρόνια διαγνωσμένου διαβήτη το 90% των διαβητικών πάσχει από απλή αμφιβληστροειδοπάθεια και το 8-26% των ασθενών από παραγωγική αμφιβληστροειδοπάθεια. Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια χαρακτηρίζεται από μικροανευρύσματα, αιμορραγίες, έμφρακτα και εξιδρώματα. Ειδικότερα παρατηρείται πάχυνση της βασικής μεμβράνης των τριχοειδών αγγείων, αύξηση της διαπερατότητάς τους και απώλεια των περικυττάρων. Η συσσώρευση AGEs στο στάδιο αυτό θεωρείται ότι αυξάνει τη διαπερατότητα των αγγείων και δημιουργεί κατ' αυτό τον τρόπο τα εξιδρώματα⁸². Η πάχυνση του τοιχώματος των αγγείων του αμφιβληστροειδούς και οι μικροθρομβώσεις οδηγούν σε απόφραξη των αγγείων, ισχαιμία και έκκριση αυξητικών παραγόντων, όπως του αγγειογενετικού αυξητικού παράγοντα, με αποτέλεσμα την αγγειογένεση και τη νεοαγγείωση⁸³. Πειραματική ενδοϋαλοειδική χορήγηση του αγγειογενετικού αυξητικού παράγοντα (VEGF) σε φυσιολογικά πειραματόζωα προκαλεί αλλοιώσεις του τύπου της μη παραγωγικής αμφιβληστροειδοπάθειας των διαβητικών, η οποία χαρακτηρίζεται από αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων, οίδημα, αιμορραγίες, μικροανευρύσματα και αγγειακή απόφραξη⁸⁴. Συγκριτική ανοσοϊστοχημική μελέτη των αμφιβληστροειδών διαβητικών με απλή ή παραγωγική αμφιβληστροειδοπάθεια και μη διαβητικών έδειξε συγκέντρωση καρβοξυμεθυλολυσίνης (CML) και αγγειογενετικού αυξητικού παράγοντα στην περιφέρεια των αγγείων των διαβητικών, ενώ στους αμφιβληστροειδείς των μη διαβητικών δεν παρατηρήθηκε συγκέντρωση των ανωτέρω ουσιών⁸⁴. Η συγκέντρωση του VEGF ήταν αυξημένη στις περιπτώσεις της παραγωγικής αμφιβληστροειδοπάθειας, ενώ η συγκέντρωση της καρβοξυμεθυλολυσίνης δεν είχε διαφορά μεταξύ απλής και παραγωγικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Σε άλλη πειραματική ανοσοϊστοχημική μελέτη μελετήθηκε η κα-

τανομή δύο προϊόντων AGEs, της καρβοξυμεθυλολυσίνης (CML), η οποία ως γνωστόν αποτελεί παράγωγο γλυκοξειδωσης, και του AG-1, ενός μη οξειδωτικού παραγώγου του τύπου του μιδαζολίου⁸⁵. Η CML ανιχνεύτηκε και στα διαβητικά και στα φυσιολογικά πειραματόζωα, η παρουσία της όμως ήταν εντονότερη στα νευρικής προέλευσης στοιχεία του αμφιβληστροειδούς των διαβητικών πειραματόζωων. Αντίθετα, το παράγωγο AG1 ανιχνεύτηκε στο αγγειακό τμήμα του αμφιβληστροειδούς μόνο των διαβητικών και όχι των φυσιολογικών πειραματόζωων. Σε προχωρημένα στάδια διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, η παρουσία και των δύο προϊόντων της γλυκοζυλίωσης, της CML και του AG1, ήταν θετική. Οι μεταβολές που παρατηρούνται στα τριχοειδή αγγεία των διαβητικών συμβαδίζουν με τη δράση των AGEs στην ελάττωση των επιπέδων του μονοξειδίου του αζώτου, την ελευθέρωση ριζών οξυγόνου και τις μεταβολές της ελαστικότητας του τοιχώματος των αγγείων, προσδιορίζοντας τη δράση των AGEs στη δομή και λειτουργία της μικροκυκλοφορίας. Περαιτέρω ένδειξη για το ρόλο των AGEs στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια αποτελεί η θεραπευτική χρήση της αμινογουανιδίνης σε διαβητικά πειραματόζωα. Στα πειραματόζωα μετά από χρήση αμινογουανιδίνης παρατηρήθηκε ελάττωση των μικροαγγειακών κυττάρων, του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων και της απώλειας των περικυττάρων²³. Έμμεση απόδειξη της συμμετοχής των AGEs στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια προκύπτει από τη μελέτη της συγκέντρωσής τους στο δέρμα. Έτσι, αύξηση της πεντοσιδίνης και της CML στο κολλαγόνο του δέρματος συμβαδίζει με επιδείνωση της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και νεφροπάθειας, ανεξαρτήτως ηλικίας, φύλου και διάρκειας του διαβήτη³².

Σχηματισμός καταρράκτη

Ο σχηματισμός του καταρράκτη συμβαίνει στους διαβητικούς στην ίδια συχνότητα με τον υπόλοιπο πληθυσμό, αλλά σε μικρότερη ηλικία. Η γλυκοζυλίωση και η εναπόθεση προϊόντων AGEs στην κρυσταλλίνη του φακού, καθώς και η διαταραχή της αντλίας καλίου-νατρίου θεωρούνται δύο σημαντικοί παράγοντες για το σχηματισμό του καταρράκτη. Η γλυκοζυλίωση της κρυσταλλίνης υπεισέρχεται στη δημιουργία του καταρράκτη είτε μέσω οξειδωσης είτε διότι προκαλεί ελάττωση της ATPάσης της αντλίας νατρίου-καλίου, διαταράσσοντας τη συγκέντρωση ιόντων και νερού στο φα-

κό, προκαλώντας ωσμωτικό stress και τελικά σχηματίζοντας καταρράκτη. Χορήγηση πυρροβικού οξέος στα πειραματόζωα προφυλάσσει το φακό από την οξειδωση και τη συσσωμάτωση της κρυσταλλίνης, αναστέλλοντας το σχηματισμό προϊόντων AGEs⁸⁶.

Διαβητική νευροπάθεια

Η επιπλοκή αυτή του διαβήτη είναι συχνή και πολύπλοκη στην αιτιολογία και την εκδήλωσή της. Από την επιπλοκή αυτή προσβάλλεται το κεντρικό, το περιφερικό και το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Όπως και στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, η βαρύτητα της διαβητικής νευροπάθειας εξαρτάται από τη ρύθμιση και τη διάρκεια του διαβήτη. Μία σειρά πολύπλοκων αντιδράσεων συμμετέχει στην πρόκληση της διαβητικής νευροπάθειας, όπως η ενεργοποίηση του μεταβολικού δρόμου των πολυολών, η πρόκληση οξειδωτικού stress και η παραγωγή προϊόντων γλυκοζυλίωσης. Οι ανωτέρω επιδράσεις στα νεύρα προκαλούν ελάττωση του χρόνου αγωγής του ερεθίσματος, ελάττωση της ροής του αίματος στα αγγεία των νεύρων, αξονική εκφύλιση, απομυελίνωση των νευρικών ινών και απόπτωση των νευρικών κυττάρων⁸⁷. Τα προϊόντα AGEs θεωρούνται υπεύθυνα για την πρόκληση των βλαβών στη νόσο του Alzheimer. Όπως και στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, η εναπόθεση προϊόντων AGEs στα τροφικά αγγεία των νεύρων προκαλεί πάχυνση του τοιχώματός τους, η οποία οδηγεί σε στένωση, ισχαιμία και απόφραξή τους, με καταστροφή της μυελίνης ουσίας και κατά τόπους απομυελίνωση⁸⁷. In vitro μελέτες έδειξαν ότι η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών του κυτταρικού σκελετού των νευραξόνων, της τομπουλίνης, της ακτίνης και των νευρικών σωληναρίων οδηγεί σε επιβράδυνση της αξονικής μεταφοράς, νευρική ατροφία και εκφύλιση^{87,88,89}. Επιπρόσθετα, η γλυκοζυλίωση της λαμινίνης, η οποία αποτελεί βασικό στοιχείο της βασικής μεμβράνης των κυττάρων του Schwann, την καθιστά ανενεργή ως προς την ικανότητά της να προκαλεί αναγέννηση των νεύρων^{88,89}. Η γλυκοζυλίωση αυξητικών παραγόντων των νεύρων και της ινικής προκαλεί σημαντική ελάττωση της λειτουργίας τους. Νευροφυσιολογικές μελέτες σε διαβητικά πειραματόζωα έδειξαν ελάττωση της ταχύτητας αγωγής του ερεθίσματος στα περιφερικά νεύρα και ελάττωση της παροχής αίματος. Και οι δύο αυτές καταστάσεις διορθώνονται σε μεγάλο βαθμό με τη χορήγηση αμινογουανιδίνης⁹⁰.

Συγκριτικές ανοσοϊστοχημικές μελέτες σε φυ-

σιολογικά και διαβητικά πειραματόζωα με τη χρήση αντισώματος έναντι της καρβοξυμεθυλολουσίνης (CML) έδειξαν αυξημένα επίπεδα της CML στο περινεύριο, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και περικύτταρα των τροφικών αγγείων, τις αμύελες και εμμύελες νευρικές ίνες των διαβητικών πειραματόζωων. Έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της CML και της απώλειας των εμμύελων νευρικών ινών. Αύξηση της συγκέντρωσης της CML προκαλεί καταστροφή των εμμύελων νευρικών ινών. Η ανωτέρω σχέση μπορεί να εξηγήσει εν μέρει την επίδραση των AGEs στη διαβητική νευροπάθεια. Η καταστροφή των εμμύελων νευρικών ινών πιθανόν οφείλεται σε ενεργοποίηση μηχανισμών οξειδωτικού stress, οι οποίοι ξεκινούν από τη γλυκοζυλίωση του περινευρίου, η οποία στη συνέχεια επιδρά στο εσωτερικό μικροπεριβάλλον των νευρικών ινών και τη μικροκυκλοφορία⁹¹. Η ενεργοποίηση μηχανισμών οξειδωτικού stress έχει επίσης ενοχοποιηθεί για την πλάγια αμινοτροφική σκλήρυνση, νόσο που προκαλεί καταστροφή του κινητικού νευρώνα⁹². Είναι γνωστό ότι η συσσώρευση AGEs σχετίζεται με την πρόκληση οξειδωτικού stress και την ελευθέρωση ριζών οξυγόνου και έτσι μπορεί να εξηγηθεί δευτεροπαθώς η νευροπάθεια στους διαβητικούς. In vitro μελέτες με τη χρήση καλλιεργικών κινητικών νευρώνων του νοτιαίου μυελού, έδειξαν ότι η χορήγηση αμινογουανιδίνης είχε προληπτική δράση στην κυτταρική νέκρωση, πιθανόν λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης, η οποία οδηγεί σε ενδοκυττάρια συγκέντρωση γλουταθειόνης, ενός απαραίτητου ενδοκυττάρου αντιοξειδωτικού. Το αποτέλεσμα αυτό εξηγεί την επιβράδυνση της εμφάνισης της διαβητικής νευροπάθειας στα πειραματόζωα μετά τη χορήγηση της αμινογουανιδίνης⁶⁴.

Διαβητική νεφροπάθεια

Η αύξηση της εξωκυττάριας ουσίας αποτελεί κύριο χαρακτηριστικό της διαβητικής νεφροπάθειας και οδηγεί σε πάχυνση της βασικής μεμβράνης, ρήξη των τριχοειδών του αγγειώδους σπειράματος και νεφροσκλήρυνση⁴⁷. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η υπερτροφία του νεφρικού σωματίου οφείλεται σε υπερέκφραση του κολλαγόνου τύπου IV, της Β1 λαμίνης, του TGFβ και του αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων. Η χορήγηση αμινογουανιδίνης επαναφέρει τα επίπεδα των ανωτέρω μορίων στο φυσιολογικό⁴⁷. Ο TGFβ διεγείρει την παραγωγή της ινωδονεκτίνης, της λαμίνης και των πρωτεογλυκανών και θεωρείται βασικός πα-

ράγων πρόκλησης της διαβητικής νεφροπάθειας⁹³. Τόσο η υπεργλυκαιμία, όσο και τα προϊόντα AGEs, αυξάνουν την παραγωγή του TGFβ. Μελέτες επί διαβητικών επιμύων με τη χρήση ενός αναστολέα της παραγωγής των AGEs, του OPB9195, έδειξαν μείωση της προόδου της διαβητικής νεφροπάθειας, ελαττώνοντας τη σύνθεση του κολλαγόνου τύπου IV και την υπερπαραγωγή του TGFβ και του ενδοθηλιακού αγγειακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Ο VEGF παράγεται από τα ποδοκύτταρα και τα μεσαγγειακά κύτταρα και προκαλεί υπερτροφία του νεφρικού σωματίου και αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του αγγειώδους σπειράματος⁹⁴. Σε in vitro μελέτες, χρησιμοποιώντας κυτταρικές καλλιέργειες μεσαγγειακών κυττάρων, διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη γλυκοσυλιωμένων πρωτεϊνών προκαλούσε έντονο οξειδωτικό stress στα μεσαγγειακά κύτταρα και ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C-β(II)⁸⁰. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η ενεργοποίηση ισομορφών της πρωτεϊνικής κινάσης C-β εμπλέκεται στην παθογένεια των διαβητικών επιπλοκών στα διαβητικά πειραματόζωα και ότι η αναστολή της δράσης της πρωτεϊνικής κινάσης C-β συνοδεύεται από ελάττωση της λευκοματουρίας⁸⁰.

Διάφορα παράγωγα AGEs, όπως η καρβοξυμεθυλολουσίνη, η πυραλλίνη και η πεντοσιδίνη, απομονώθηκαν από το νεφρό διαβητικών ασθενών, οι οποίοι βρισκόνταν σε διάφορα στάδια νεφρικής ανεπάρκειας¹³. Η συγκέντρωση των AGEs αυξάνεται ανάλογα με τη βαρύτητα της διαβητικής νεφροπάθειας. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες σε διαβητικά πειραματόζωα έδειξαν συσσώρευση προϊόντων AGEs στην εξωκυττάρια ουσία του νεφρικού σωματίου, τα οποία αυξάνονταν με την ηλικία και με πολύ ταχύτερο ρυθμό στο διαβήτη^{95,96}. Περαιτέρω στοιχεία για τη σπειραματική βλάβη που προκαλεί η συσσώρευση AGEs προκύπτουν από τη χορήγηση αμινογουανιδίνης σε μελέτες φάσης III, όπου φαίνεται ότι η χορήγηση φαρμάκων που κατευθύνονται εναντίον των προϊόντων AGEs και η καλή ρύθμιση του διαβήτη τύπου 1 επιβραδύνουν τη διαβητική νεφροπάθεια²⁴. Σε άλλη διπλή τυφλή μελέτη, όπου χορηγήθηκε αμινογουανιδίνη σε δόση 150 ή 300mg ημερησίως σε δύο δόσεις ή placebo σε 690 ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 και μέτρια νεφρική ανεπάρκεια, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συνολική απώλεια πρωτεΐνης στα ούρα 24ώρου των υπό θεραπεία διαβητικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα placebo μετά από θεραπεία 36 μηνών. Η ανταπόκριση του νε-

φρού ήταν καλύτερη με τη χορήγηση της χαμηλής δόσης αμινογουανιδίνης²⁴.

Στην πρόκληση της διαβητικής νεφροπάθειας συμμετέχουν η δεοξυγλυκοσόνη και η μεθυλογλυκοξάλη, η άθροιση των οποίων προκαλεί το γνωστό καρβονυλικό stress. Η αυξημένη παρουσία των ενεργών αυτών μορίων οφείλεται είτε σε αύξηση του υποστρώματος είτε σε αδυναμία αδρανοποίησής τους είτε τέλος σε ελάττωση της νεφρικής τους κάθαρσης⁹⁷. Τα ενδιάμεσα αυτά προϊόντα είτε οδηγούν στη δημιουργία μόνιμων AGEs είτε μέσω του καρβονυλικού stress προκαλούν απευθείας βλάβες στο περιβάλλον. Έμμεση απόδειξη της πρόκλησης βλαβών από το καρβονυλικό stress είναι η ενεργοποίηση των οστεοκλαστών⁹⁸, ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών ινών του τοιχώματος των αγγείων και η ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και των μακροφάγων³³. Η ενεργοποίηση των ανωτέρω μηχανισμών προκαλεί απόπτωση, αποδόμηση και ανάπλαση των ιστών. Η συσσώρευση ενεργών καρβονυλίων και η δημιουργία του καρβονυλικού stress έχει προταθεί ως κύρια αιτία της εκφύλισης του νεφρικού σωματίου και της προϋούσας αγγειακής βλάβης που παρατηρείται στους διαβητικούς ασθενείς που βρίσκονται σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας⁹⁹. Τα καρβονυλικά παράγωγα έχουν απομονωθεί από το αίμα ουραιμικών ασθενών και έχουν αξιολογηθεί με φωτομετρικές μεθόδους, με τις οποίες διαπιστώθηκε ότι οι ουραιμικοί ασθενείς έχουν υψηλότερα επίπεδα από αυτά των φυσιολογικών και μάλιστα βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις αυτές μειώνονται μετά από αιμοκάθαρση. Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι η συνεχής περιτοναϊκή διύλιση και η αιμοκάθαρση απομακρύνουν μόνο τα ελεύθερα καρβονυλικά προϊόντα και όχι τα συνδεδεμένα με τις λευκοματίνες και τις υπόλοιπες πρωτεΐνες του οργανισμού. Στο τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας οι συγκεντρώσεις των καρβονυλικών αυξάνουν, ανεξαρτήτως εάν οι ασθενείς είναι διαβητικοί ή όχι, πράγμα το οποίο φανερώνει ότι η υπεργλυκαιμία πιθανόν να μην είναι απαιτούμενος παράγων για τη συσσώρευσή τους¹⁰⁰. Μετά από μεταμόσχευση νεφρού, καθώς αυξάνουν η κάθαρση της κρεατινίνης και η πειραματική διήθηση, τα επίπεδα των AGEs ελαττώνονται σε μεγάλο βαθμό. Είναι πολύ πιθανό, η αύξηση της επιβίωσης και η καλύτερη ποιότητα ζωής των ασθενών μετά τη νεφρική μεταμόσχευση να οφείλεται στην ελάττωση της τοξικότητας των AGEs, ένα μέρος των οποίων αποτελούν τα προϊόντα που προκύπτουν από το καρβονυλικό stress¹⁰⁰.

Συμμετοχή των AGEs στη διαβητική αθηρωματική νόσο

Ο διαβήτης είναι ένας από τους κύριους και ανεξάρτητους προδιαθεσικούς παράγοντες για καρδιαγγειακή νόσο³. Τα προϊόντα AGEs επιδρούν στο μεταβολισμό των λιπιδίων και μέσω αυτού του δρόμου πιθανόν να σχετίζεται ο διαβήτης με την αγγειακή νόσο. Με τη χρήση ELISA και ανοσοϊστοχημείας, βρέθηκαν συγκεντρώσεις AGEs στις λιπώδεις ραβδώσεις των αρτηριών, στις αθηρωματικές πλάκες, στις ενδοκυττάρια λιποσταγόνες των λείων μυϊκών ινών του τοιχώματος των αγγείων και στα μακροφάγα των διαβητικών ασθενών^{70,62}. Επίσης διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των ιστικών συγκεντρώσεων των AGEs και της βαρύτητας των αθηρωματικών βλαβών⁶². Η συγκέντρωση AGEs στην εξωκυττάρια ουσία των αθηρωματικών βλαβών προκαλεί αύξηση της άμορφης θεμέλιας ουσίας της υπενδοθηλιακής στιβάδας και εναπόθεση λιποπρωτεϊνών, οι οποίες δεσμεύουν τις LDL και ελαττώνουν τα επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου^{62,101}. Πειραματική χορήγηση του RAGE, με σκοπό τον ανταγωνισμό της σύνδεσης των προϊόντων AGEs με τον υποδοχέα, έδειξε επιβράδυνση του σχηματισμού αγγειακών βλαβών και ελάττωση της αγγειακής διαπερατότητας. Είναι σημαντικό ότι τα αποτελέσματα αυτά ήταν ανεξάρτητα των μεταβολών των λιπιδίων και της γλυκόζης και πιθανόν άλλοι μηχανισμοί να υπεισέρχονται στη δημιουργία των αγγειακών βλαβών του σακχαρώδη διαβήτη⁵⁷. Άλλες μελέτες αποδεικνύουν συσχέτιση των AGEs με δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, η οποία εκδηλώνεται με αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων, ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού και μετανάστευση μακροφάγων και T-λεμφοκυττάρων στον έσω χιτώνα. Τα ανωτέρω φαινόμενα μαρτυρούν την έναρξη παρατεταμένης φλεγμονώδους απάντησης⁶². Η προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο αποτελεί το πρώτο βήμα της έναρξης της αθηρωμάτωσης και ρυθμίζεται από την έκφραση του μορίου της αγγειακής προσκόλλησης VCAM1¹⁰². Τα προϊόντα AGEs αυξάνουν την έκφραση του VCAM1 μέσω ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NFκB. Πρόσφατη in vitro μελέτη έδειξε ότι το α-λιποϊκό οξύ, ένα φυσικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού, προκαλεί ελάττωση της προκαλούμενης από τα προϊόντα AGEs ενδοθηλιακής υπερέκφρασης του VCAM1 και ως εκ τούτου ελαττώνει τη σύνδεση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο¹⁰².

Οι χαμηλού μοριακού βάρους λιποπρωτεΐνες (LDL) εμφανίζονται είτε ως οξειδωμένες LDL είτε ως γλυκοζυλιωμένες είτε ως γλυκοοξειδωμένες. Η σύνδεση των προϊόντων AGEs με τα λιπίδια ενεργοποιεί το μηχανισμό οξείδωσης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία οξειδωμένων LDL και VLDL^{22,101}. Στο διαβήτη, το μεγαλύτερο τμήμα των LDL είναι γλυκοζυλιωμένο και οξειδωμένο^{3,22,64,65}. Ο υποδοχέας των LDL δεν αναγνωρίζει το τροποποιημένο μόριο LDL, το οποίο συνδέεται με τους υποδοχείς κάθαρσης των μακροφάγων και τους υποδοχείς των AGEs, με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία των πλούσιων σε λίπος αφρωδών κυττάρων και τη συσσώρευσή τους στον έσω χιτώνα. Αυτό αποτελεί την έναρξη του σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας^{103,62}. Με τη μέθοδο ELISA βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης LDL στο αγγειακό τοίχωμα και των τροποποιημένων από τα προϊόντα AGEs LDL στο αίμα διαβητικών ασθενών. Υπό συνθήκες υπεργλυκαιμίας, η γλυκοζυλίωση των HDL μπορεί να μειώσει τη δραστηριότητα της παραοξονάσης, η οποία αποτελεί εστερική υδρόλαση συνδεδεμένη με τις HDL και η οποία είναι πολύ σημαντική στην πρόληψη της οξείδωσης των LDL. Πρόσφατη μελέτη αναφέρει ότι παρατηρείται ελάττωση κατά 65% της δραστηριότητας της παραοξονάσης μετά τη γλυκοζυλίωση των HDL, καθώς και μειωμένη ικανότητα των γλυκοζυλιωμένων HDL και της παραοξονάσης να εμποδίσουν την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο της αορτής¹⁰⁴. Αυτό αποτελεί σημαντικό πρώτο βήμα για την έναρξη της αθηρωματικής βλάβης. Στη μελέτη αυτή σημειώνεται ότι τα επίπεδα γλυκόζης ήταν 25 mmol/l και ίσως δεν ανταποκρίνονται σε φυσιολογικές συνθήκες. Ωστόσο, διαπιστώθηκε 40% ελάττωση της δραστηριότητας της παραοξονάσης σε διαβητικούς τύπου 1 με στεφανιαία νόσο σε σχέση με μη διαβητικούς με στεφανιαία νόσο. Πρόσφατα αναφέρθηκε η γλυκοζυλίωση του Lp(a), ενός ανεξάρτητου προδιαθεσικού παράγοντα για καρδιαγγειακή νόσο, στους διαβητικούς ασθενείς¹⁰⁵. Από in vitro μελέτες φαίνεται ότι η γλυκοζυλίωση του Lp(a) ελαττώνει την ινωδόλυση, αυξάνοντας την έκφραση του PAI-1 και ελαττώνοντας την ελευθέρωση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου. Η θεραπεία με αμινογουανιδίνη αποκαθιστά στο φυσιολογικό αυτές τις αλλαγές.

Θεραπευτική στόχευση κατά των προϊόντων AGEs

Αν και οι περισσότερες θεραπευτικές μέθοδοι στοχεύουν στην ελάττωση ή στην παρεμπόδιση

του σχηματισμού των AGEs, δε θα πρέπει να παραλείπονται και άλλες μορφές θεραπείας, όπως η αλλαγή του τρόπου ζωής και συνεπώς η ελάττωση των εξωγενώς προσλαμβανόμενων AGEs με την τροφή ή τον καπνό²⁸. Ωστόσο, η σημασία του περιορισμού της πρόσληψης εξωγενών AGEs απαιτεί περαιτέρω έρευνα, καθώς δεν είναι γνωστή μετά βεβαιότητας η συμμετοχή των εξωγενών AGEs στην πρόκληση παθολογικών βλαβών.

Μία θεραπευτική προσέγγιση κατά του σχηματισμού των AGEs αποτελεί η ελάττωση του σχηματισμού σταθερών δεσμών μεταξύ των πρωτεϊνών (cross-links). Επί πλέον, ελάττωση της εναπόθεσης AGEs θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη χρήση φαρμάκων που διασπούν τους σταθερούς δεσμούς, οι οποίοι έχουν ήδη σχηματιστεί, ή που ενεργοποιούν μηχανισμούς πρόσληψης και καταβολισμού των AGEs από τα κύτταρα. Άλλες θεραπευτικές στρατηγικές αποσκοπούν είτε στην αναστολή σύνδεσης των AGEs με τους αντίστοιχους υποδοχείς, χρησιμοποιώντας αντισώματα εναντίον των υποδοχέων είτε στην κατάργηση του ενδοκυττάρου συστήματος μεταφοράς του σήματος σύνδεσης με τον υποδοχέα, χρησιμοποιώντας αντιοξειδωτικές ουσίες. Όλες οι ανωτέρω θεραπευτικές προσεγγίσεις είναι ανεπαρκείς, καθώς τα προϊόντα AGEs είναι ετερογενή, παράγονται συγχρόνως μέσω διαφορετικών οδών και βρίσκονται σε διαφορετικά στάδια παραγωγής. Το σημαντικότερο όμως ερώτημα που τίθεται είναι εάν οι in vitro μελέτες, στις οποίες στηρίζεται το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας, αντιστοιχούν στις πραγματικές συνθήκες της ζωής.

Σήμερα, το πλέον υποσχόμενο φάρμακο για την αντιμετώπιση των προκαλούμενων από τα AGEs επιπλοκών αποτελεί η αμινογουανιδίνη. Η χορήγηση αμινογουανιδίνης σε διαβητικά πειραματόζωα οδήγησε σε ελάττωση των διαβητικών επιπλοκών, όπως της αμφιβληστροειδοπάθειας, της νευροπάθειας και της νεφροπάθειας^{23,106}. Τα σημεία στα οποία διαπιστώθηκε βελτίωση ήταν η ελάττωση της νεοαγγείωσης του αμφιβληστροειδούς, η επαναφορά στο φυσιολογικό της ταχύτητας αγωγής του ερεθίσματος στα κινητικά και αισθητικά νεύρα και η ελάττωση της λευκωματουρίας²⁸. Νεότερες πειραματικές μελέτες σε μπαμπούινους μετά από χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης έδειξαν ότι η αμινογουανιδίνη δεν έχει καμία επίδραση στην εξέλιξη της διαβητικής νευροπάθειας⁸⁹. Η μελέτη αυτή όμως πιθανόν να μην ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα, γιατί ο χρόνος παρακολούθησης

των πειραματοζώων ήταν μικρότερος των 5 ετών και η νευροπάθεια ως γνωστόν ανήκει στις μακρόχρονες, απώτερες επιπλοκές του διαβήτη. Διάφορες θεωρίες έχουν διατυπωθεί σχετικά με τον τρόπο δράσης της αμινογουανιδίνης. Η *in vitro* γλυκοζυλίωση των γλυκοπρωτεϊνών της βασικής μεμβράνης προκαλεί μεταβολές του σχήματος του μορίου τους στο χώρο, αλλά και μεταβολές στις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, όπως είναι ο πολυμερισμός. Τα μόρια που υφίστανται τις μεγαλύτερες επιδράσεις είναι η λαμινίνη και το κολλαγόνο τύπου IV. Η προσθήκη αμινογουανιδίνης στο υλικό της γλυκοζυλίωσης προκάλεσε σε μεγάλο βαθμό αποκατάσταση του σχήματος του μορίου των γλυκοπρωτεϊνών, αλλά και της ικανότητας αυτοπολυμερισμού τους⁴⁸⁻⁵⁰. *In vitro*, η αμινογουανιδίνη φαίνεται ότι έχει αντιοξειδωτική δράση, καθώς εξουδετερώνει τις ρίζες OH- και προλαμβάνει το σχηματισμό των cross-links¹⁰⁷. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η αμινογουανιδίνη μειώνει την ολική χοληστερόλη, το κλάσμα της LDL χοληστερόλης και τα τριγλυκερίδια, ανεξάρτητα από τη ρύθμιση των επιπέδων της γλυκόζης²². Επί πλέον, ελαττώνει τη συσσώρευση των εξωγενώς προερχόμενων με την τροφή AGEs. Η χορήγηση αμινογουανιδίνης σε πειραματόζωα, στην τροφή των οποίων σταθερά προστέθηκε λευκωματίνη αυγού συνδεδεμένη με AGE, έδειξε αύξηση της νεφρικής απέκκρισης των AGEs από 26% στο 50% και συγχρόνως η συγκέντρωση AGEs στο ήπαρ και τους νεφρούς περιορίστηκε από 60% έως και 15%. Ο ακριβής

μηχανισμός δράσης της αμινογουανιδίνης δεν είναι γνωστός. Πιθανόν δρα διασπώντας τους σταθερούς δεσμούς μεταξύ των πρωτεϊνών και απελευθερώνοντας AGEs τα οποία στη συνέχεια αποβάλλονται από τους νεφρούς. Ωστόσο, απαιτείται επιβεβαίωση του τρόπου δράσης της αμινογουανιδίνης στον άνθρωπο και επί πλέον διερεύνηση σχετικά με το εάν η αύξηση της απέκκρισης των AGEs συνοδεύεται και από ελάττωση της διαβητικής μικροαγγειοπάθειας. Επίσης, πρέπει να διευκρινιστεί εάν η προσθήκη αντιοξειδωτικών ουσιών στο ημερήσιο διαιτολόγιο προκαλεί ελάττωση των επιπέδων AGEs.

Μια πρόσφατη κλινική μελέτη στη φάση III χρησιμοποιώντας πιμαγεδίνη, έδειξε ευνοϊκή επίδραση στην εξέλιξη της αμφιβληστροειδοπάθειας και της νεφροπάθειας, αλλά και στη συγκέντρωση των λιπιδίων σε ρυθμιζόμενους ασθενείς με διαβήτη τύπου 1²⁵ (Πίν. 1). Η πρόοδος της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας μετά από 12 μήνες παρακολούθησης μειώθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα που έπαιρνε υψηλή δόση του φαρμάκου (300 mg δύο φορές την ημέρα) σε σχέση με την ομάδα που έπαιρνε χαμηλή δόση (150 mg δύο φορές την ημέρα) και την ομάδα ελέγχου. Σημειώνεται ότι, το 95% των ασθενών είχαν προχωρημένου σταδίου διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια²⁴. Ωστόσο, και οι δύο υπό αγωγή ομάδες παρουσίασαν σημαντική πτώση της ολικής και της LDL χοληστερόλης, όχι όμως και της HDL μετά από ετήσια θεραπεία. Οι παρατηρήσεις αυτές ήταν ανεξάρτητες

Πίνακας 1. Αποτελέσματα κλινικής μελέτης φάσης III μετά από χορήγηση πιμαγεδίνης σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1

Δράσεις-αξιολόγηση	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα χαμηλής δόσης, 150 mg 2 φορές ημερησίως	Ομάδα υψηλής δόσης, 300 mg 2 φορές ημερησίως
Πρόοδος της αμφιβληστροειδοπάθειας	16%	11% p=0.112	8% p=0.044
Ελάττωση των λιπιδίων	Σε όλες τις ομάδες κατώτερα επίπεδα ολικής χοληστερόλης 5.92 mmol/l και LDL χοληστερόλης 3.95 mmol/l		
Ολική χοληστερόλη (mmol/l)	0.14	0.56 p<0.001	0.48 p=0.008
LDL χοληστερόλη	0.3	0.59 p=0.012	0.61 p=0.009
Ανεπιθύμητες ενέργειες			
Εμφάνιση συμπτωμάτων γρίπης	5%	11%	13%
Αναμία	33%	50%	40%
Δημιουργία αντιπυρηνικών αντισωμάτων	29%	39%	53%
Δημιουργία αντισώματος έναντι της μυελοϋπεροξειδάσης	22%	31%	55%

από τη ρύθμιση του διαβήτη, καθώς η συγκέντρωση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης κυμαίνονταν στα ίδια επίπεδα και στις τρεις ομάδες. Η χορήγηση του φαρμάκου αυτού συνοδεύτηκε από ορισμένες παρενέργειες. Ένα μικρό ποσοστό ασθενών παρουσίασαν συμπτώματα γρίπης, ενώ οι μισοί ασθενείς ανέπτυξαν αναιμία. Η αναιμία διαπιστώθηκε και στην ομάδα ελέγχου και συνεπώς είναι δύσκολο να αποδοθεί στη θεραπεία με πιμαγεδίνη. Πιθανότατα οφείλεται στην αναιμία χρόνιας νόσου που προκαλείται σε ασθενείς με σοβαρή νεφρική βλάβη. Παρόμοια αιματολογική εικόνα παρατηρήθηκε και σε ασθενείς που έπαιρναν αμινογουανιδίνη¹⁰⁸. Ένας μικρός αριθμός ασθενών ανέπτυξε αντιπυρηνικά αντισώματα, ενώ 3 ασθενείς εμφάνισαν μηνοειδή σπειραματονεφρίτιδα. Οι δύο εξ αυτών ανέπτυξαν τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια. Το συμπέρασμα από τη μελέτη αυτή είναι ότι οι χαμηλές δόσεις πιμαγεδίνης είναι καλά ανεκτές από τους ασθενείς και ότι οι παρενέργειες κυμαίνονται στα επίπεδα της ομάδας ελέγχου. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την παρατήρηση ότι η χορήγηση υψηλών δόσεων πιμαγεδίνης δε βελτιώνει τις θεραπευτικές της επιδόσεις, δικαιολογεί την προτίμηση των ερευνητών στη χορήγηση χαμηλών δόσεων πιμαγεδίνης. Η διενέργεια αιματολογικών και ανοσοβιολογικών εξετάσεων πριν και κατά τη διάρκεια της θεραπείας θεωρείται τελείως απαραίτητη. Επίσης, η μέτρηση της ταχύτητας καθίζησης και της C αντιδρώσας πρωτεΐνης, η γενική εξέταση των ούρων και η καλή φυσική εξέταση δεν πρέπει να παραλείπονται. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται σχετικά με τη χορήγηση του φαρμάκου σε μη καλά ρυθμιζόμενους διαβητικούς, σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 και σε ασθενείς τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας με ή χωρίς την παρουσία διαβήτη.

Η χορήγηση της αμινογουανιδίνης αναστέλλει τη δράση της οξειδάσης της διαμίνης, η οποία καταλύει την απαμίνωση της διαμίνης, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της ισταμίνης, η οποία προκαλεί παρενέργειες από το αγγειακό και το αναπνευστικό σύστημα. Μέχρι σήμερα πάντως δεν έχουν ανακοινωθεί μελέτες που να καταδεικνύουν *in vivo* αύξηση των επιπέδων της ισταμίνης και σχετικές ανεπιθύμητες δράσεις¹⁰⁸.

Πειραματικές μελέτες σε διαβητικά πειραματόζωα στα οποία χορηγείται αμινογουανιδίνη, έδειξαν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης όγκων του παγκρέατος και των νεφρών, αλλά όχι παραγωγή αντισωμάτων. Η αμινογουανιδίνη χημικά προέρ-

χεται από την υδραζίνη, όπως και η υδραλαζίνη, η οποία είναι γνωστό ότι σχετίζεται με την παραγωγή και κυκλοφορία αντιπυρηνικών και αντιϊστονικών αντισωμάτων, αλλά και με κλινικές εκδηλώσεις ερυθματώδους λύκου. Αν και ο μηχανισμός παραγωγής αυτοαντισωμάτων ως αποτέλεσμα της θεραπείας με παράγωγο της υδραλαζίνης δεν είναι γνωστός, πιθανολογείται η υπερέκφραση του αντιγόνου 1, το οποίο σχετίζεται με τη λειτουργία των T-λεμφοκυττάρων και την αυτοανοσία¹¹¹.

Πρόσφατες μελέτες με τη χρήση αναστολέα έναντι του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης II (Losartan) έδειξαν πτώση των επιπέδων AGEs του ορού επίμυων, οι οποίοι είχαν υποστεί υφολική νεφροκτομή και των οποίων η αρτηριακή πίεση κυμαίνονταν σε φυσιολογικά επίπεδα¹¹². Το αποτέλεσμα αυτό ήταν ανεξάρτητο από το ύψος της αρτηριακής πίεσης και πιθανόν οφειλόταν στη βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας μετά τη θεραπεία¹¹².

In vitro μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν αποτελεσματική χρήση και άλλων ουσιών στη μείωση των επιπέδων των AGEs. Οι παράγοντες αυτοί αναφέρονται στον πίνακα 2.

Η βιταμίνη C¹⁰⁶ και η νικαριντίνη¹¹³ δρουν αναστέλλοντας την οξειδωτική δραστηριότητα, το βρωμίδιο της φαινακυλθειαιζόλης διασπά τους σταθερούς δεσμούς (cross-links)¹¹⁴ και η πυριδορίνη¹⁰³ αναστέλλει τη μετατροπή των ενδιάμεσων προϊόντων Amadori σε τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης (AGEs). Άλλοι υπό έρευνα παράγοντες είναι η OPB-9195⁹³, η διαμινοφαιναζίνη (DAP)¹¹⁵, το πυρουβικό⁸⁶ και το μονοκλωνικό A717¹¹⁶ που επηρεάζουν τη συσσώρευση των AGEs, αλλά δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί ο μηχανισμός δράσης τους. Εκτός της αμινογουανιδίνης, όλοι οι άλλοι παράγοντες βρίσκονται ακόμη σε πειραματικό στάδιο.

Νεότερες πειραματικές μελέτες αναφέρονται στη χρήση τεσσάρων ουσιών που πιθανόν δρουν αναστέλλοντας τις βλάβες που προκαλεί η υπεργλυκαιμία. Ειδικότερα, η μελέτη επικεντρώθηκε σε τρεις μεταβολικούς δρόμους, η διαταραχή των οποίων οδηγεί στις διαβητικές επιπλοκές: στο σχηματισμό των προϊόντων AGEs, στο δρόμο της αναγωγής της αλδολάσης και στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης και του μεταγραφικού παράγοντα NFκB¹¹⁷. Σε κυτταρικές καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, μελετώντας τον κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος στα μιτοχόνδρια, βρέθηκε ότι τα μιτοχόνδρια αποτελούν την πηγή της υπερπαραγωγής του ανιόντος του σουπεροξειδίου

Πίνακας 2. Παράγοντες που χρησιμοποιούνται πειραματικά για την ελάττωση των συσσωρευμένων AGEs

Όνομασία του φαρμάκου	Χημικός τύπος	Πιθανός τρόπος δράσης
Αμινογουανιδίνη	Υδροξίνη	Προλαμβάνει το σχηματισμό των cross-links, αναστέλλει το σχηματισμό ελευθέρων ριζών, τη λιπιδική υπεροξειδωση και την απόπτωση.
Βιταμίνη E και C, Νικαρντίνη	Αντιοξειδωτικά	Αναστέλλει την οξειδωτική δράση και το σχηματισμό των AGEs. Ελαττώνει τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια στους επίμυες.
A717	Μονοκλωνικό αντίσωμα	Αναστέλλει τη μετατροπή των προϊόντων Amadori σε μόνιμα AGEs και βελτιώνει τη νεφροπάθεια διαβητικών πειραματοζώων.
Πυριδορίνη	Πυριδοξαμίνη	Αναστολή της μετατροπής των Amadori σε μόνιμα AGEs.
PTB	Σύμπλεγμα θειαζολίου	Καταστρέφει τους διαμοριακούς δεσμούς cross-links, με απομάκρυνση της κετόνης, η οποία σχηματίζει γέφυρες μεταξύ δύο καρβονυλικών ομάδων που βρίσκονται σε μόρια παρακείμενων πρωτεϊνών
OPB-9195	Συνθετικό παράγωγο της θειαζολιδίνης	Ελαττώνει τη συγκέντρωση των AGEs στο αγγειώδες σπείραμα και επιβραδύνει την εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας σε τύπου I διαβητικά πειραματοζώα. Δρα προκαλώντας ελάττωση της έκφρασης του TGF-β και του VEGF.
2,3 DAP (2,3 διαμινοφαιναζίνη)		Ελάττωση των εναποθέσεων AGEs, με αποτέλεσμα τη μείωση της υπερτροφίας των αγγείων του μεσεντερίου.
Losartan	Αναστολέας του υποδοχέα II της αγγειοτενσίνης	Ελάττωση των AGEs του ορού διαβητικών νεφρεκτομηθέντων πειραματοζώων με άγνωστο μηχανισμό, ανεξάρτητο του ύψους της αρτηριακής πίεσης.
Πυρουβικό	A-κετο οξύ	Παρεμβαίνει ανταγωνιστικά στη γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, σχηματίζοντας βάσεις του Schiff μεταξύ ελεύθερων κετοομάδων και αμινοομάδων γειτονικών μορίων πρωτεϊνών

σαν αποτέλεσμα της υπεργλυκαιμίας. Οι τέσσερις αναστολείς που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη αυτή και ο τρόπος δράσης τους είναι οι εξής: η θενουλ-τριφλουροορακετόνη, η οποία αναστέλλει το σύστημα II στην ενδομιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, η γλωροφαινυλδραζόνη, η ασύζευκτη πρωτεΐνη 1 και η μαγγάνιο σουπεροξειδίου δι-σμουτάση, οι οποίες δρουν ελαττώνοντας τον ενδοκυττάριο σχηματισμό AGEs, τη συσώρευση σορβιτόλης και την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης και του μεταγραφικού παράγοντα NFκB. Αν και τα ευρήματα αυτά είναι πολύ πρώιμα, ωστόσο παρέχουν ενδείξεις του κεντρικού ρόλου των μιτοχονδρίων στην παραγωγή του υπεροξειδίου και την πρόκληση των διαβητικών επιπλοκών και επομένως υπογραμμίζουν τη σημασία της ελάττωσης των επιπέδων του υπεροξειδίου και της δράσης της δισμουτάσης στην επιβράδυνση των επιπλοκών του διαβήτη.

Πρόσφατες μελέτες με τη χρήση του φαινυλ-4,5-διμεθυλθαζολικού χλωριδίου (ALT-711) σε διαβητικά πειραματοζώα υπογραμμίζουν τον κυρίαρχο ρόλο των cross-link δεσμών στην παθογένεια των διαβητικών επιπλοκών, αλλά και τη θεραπευτική χρησιμότητα ουσιών που διασπούν

αυτούς τους δεσμούς, όπως του ALT-711. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε ότι το ALT-711 ελάττωσε την αρτηριακή πίεση, τη νεφρική υπερτροφία και την υπερέκφραση του μεταγραφικού αυξητικού παράγοντα TGF-β1, του αυξητικού παράγοντα του συνδετικού ιστού (CTGF) και του κολλαγόνου τύπου IV¹¹⁸, αλλά και διόρθωσε το παθολογικό κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας και την υπερέκφραση του κολλαγόνου τύπου I και τύπου III¹¹⁹. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι το ALT-711 μείωσε τη διαφοροποίηση των νεφρικών επιθηλιακών κυττάρων σε μυοϊνοβλάστες¹²⁰, επιβραδύνοντας την ανάπτυξη διάμεσης σωληναριακής νεφρικής ίνωσης, αλλά και βελτίωσε την ενδοτικότητα του αρτηριακού τμήματος της συστηματικής κυκλοφορίας, αποκαθιστώντας στο φυσιολογικό τη διαταραγμένη ελαστικότητα και διασταλτικότητα της αορτής και της καρωτίδας¹²¹.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση της παρουσίας των AGEs και των επιπλοκών του διαβήτη. In vitro μελέτες έδειξαν ότι η παρουσία των AGEs επηρεάζει την ενδοκυττάρια μεταφορά του σήματος και τη γονιδιακή έκφραση, ενεργοποιώντας μεταγραφικούς παράγοντες. Αναγνωρίστηκε ένας αριθμός υποδοχέων των AGEs

και μελετάται ο βιολογικός τους ρόλος. Επί πλέον, έρευνα απαιτείται για τον προσδιορισμό του ακριβούς μηχανισμού δράσης, αλλά και του είδους των AGEs που συμμετέχουν στη δημιουργία της μικρο- και μακροαγγειοπάθειας του διαβήτη.

Λόγω της καθοριστικής συμβολής των συσσωρευμένων AGEs στη δημιουργία των διαβητικών επιπλοκών, προβάλλει επιτακτική η ανάγκη ανεύρεσης θεραπευτικών παραγόντων, ικανών να ελαττώνουν τις αυξημένες συγκεντρώσεις των AGEs. Τέτοιες ουσίες μελετώνται ήδη με ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Πίν. 2). Η βεβαιότητα της επιτυχούς αντιμετώπισης των επιπλοκών του διαβήτη με αυτά τα φάρμακα, ενισχύει ακόμη περισσότερο την προσπάθεια καθορισμού ενιαίας μονάδας μέτρησης και μεθόδου απομόνωσης, αλλά και αναγνώρισης και ταξινόμησης των AGEs.

Summary

Kouzi-Koliakou K, Katsiki N, Manes Ch. Advanced glycation end products and their biological action. Hellen Diabetol Chron 2004; 2: 118-138.

Diabetes mellitus constitutes the main source of the advanced glycation end products (AGEs). AGEs represent an heterogeneous group of compounds, whose many of the metabolic pathways of formation are not known, while it is possible that other products also exist and have not been studied yet. Renal failure, aging, rheumatoid arthritis and Alzheimer's disease are also characterized by AGEs deposits and their presence is an indication of a non-reversible course of the damages for the organism. The formation of AGEs passes through three stages. The first stage leads to the formation of the Schiff bases and it is reversible. The Schiff products are then converted to the more stable but also reversible Amadori products (second stage) and finally to the stable and irreversible Advanced Glycation End products (third stage). AGEs, despite their great variety and their extensive dispersion in the whole body, act in the same way, forming strong covalent cross-links between proteins, which are thought to be one of the central underlying processes by which they cause damage. This transformation of the proteins leads to alterations of their physicochemical properties. Apart from the above endogenous sources of AGEs, exogenous sources are also mentioned, such as smoking and foods, particularly the ones demanding high temperature for their preparation. The production and deposit rate of AGEs is related to the severity of the diabetic complications. Retinopathy, neuropathy, nephropathy and cataract are diabetic complications related to the degree of protein glycation. AGEs

also have an effect on the lipid metabolism and through this, diabetes is related to vascular disease. Therapeutic strategies against AGEs formation are already in clinical trials of phase III by administration of aminoguanidine and pimgedine, for which it has been discovered that they improve diabetic complications.

Βιβλιογραφία

1. *The DCCT Research Group*. The effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus: the diabetes control and complications trial. *New Eng J Med* 1993; 329: 977-986.
2. *Anonymous*. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with Type II diabetes : (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837-851.
3. *Omar Farouque HM, O'Brien RC, Meredith IT*. Diabetes and coronary heart disease-from prevention to intervention: Part 1. *Aust N Z J Med* 2000; 30: 351-359.
4. *Anonymous*. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes : (UKPDS 38). *BMJ* 1998; 317: 703-711.
5. *John WG, Lamb EJ*. The maillard or browning reaction in diabetes. *Eye* 1993; 7: 230-237.
6. *Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR, Bailie KE, Lyons TJ, McCance DR, Baynes JW*. Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1993; 91(6): 2463-2469.
7. *Baynes J*. The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Experimental Gerontology* 2001; 36(9): 1527-1537.
8. *Brownlee M*. Advanced glycosylation in diabetes and aging. *Ann Rev Med* 1995; 46: 223-234.
9. *Chiarelli F, de Martino M, Mezzetti A, Catino M, Morgese G, Cuccurullo F, Verrotti A*. Advanced glycation end-products in children and adolescents with diabetes mellitus: relation to glycaemic control and early microvascular complications. *J Pediatr* 1999; 134(4): 486-491.
10. *Lee AT, Cerami A*. Role of glycation in aging. *Ann NY Acad Sci* 1992; 663: 63-70.
11. *Bucala R, Cerami A*. Advanced glycation: chemistry, biology and implications for diabetes and aging. *Adv Pharmacol* 1992; 23: 1-3.
12. *Raj DS, Choudhury D, Welbourne TC, Levi M*. AGE: a nephrologist's perspective. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 365-380.
13. *Sugiyama S, Miyata T, Horie K, Iida Y, Tsuyuki M, Tanaka H, Maeda K*. Advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11(Suppl 5): 91-94.
14. *Munch G, Thome J, Foley P, Schinzel R, Riederer P*. AGE's in aging and Alzheimer's disease. *Brain Res Rev* 1997; 23: 134-143.
15. *Takahashi M, Kushida K, Ohishi T, Kawana K, Hoshito H, Uchiyama A, Inoue T*. Quantitative analysis of cross-links pyridinoline and pentosidine in articular cartilage of patients with bone and joint disorders.

- Arthritis Rheum 1994; 37(5): 724-728.
16. *Fishbane S, Bucala R, Pereira BJ, Founds H, Vlassara H.* Reduction of plasma apolipoprotein B by effective removal of circulating glycation derivatives in uraemia. *Kidney Int* 1997; 52(6): 1645-1650.
 17. *Vlassara H, Bucala R, Striker L.* Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biological and chemical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994; 70: 138-151.
 18. *Masaki H, Okano Y, Sakurai H.* Generation of oxygen species from AGE during ultraviolet light A (UVA) irradiation and a possible mechanism for cell damage. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1428: 45-56.
 19. *Sell DR, Monnier VM.* End stage renal disease and diabetes catalyse the formation of a pentose-derived cross-link form aging human collagen. *J Clin Invest* 1999; 85: 380-384.
 20. *Nicholl ID, Bucala R.* AGE and cigarette smoking. *Cell Mol Biol* 1998; 44: 1025-1033.
 21. *O'Brien J, Morrissey PA.* Nutritional and toxicological aspects of the maillard browning reaction in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1989; 28: 211-248.
 22. *Bucala R.* Lipid and lipoprotein modification by AGE's: role in atherosclerosis. *Exp Physiol* 1997; 82: 327-337.
 23. *Ulrich P, Zhang X.* Pharmacological reversal of AGE-mediated protein cross-linking. *Diabetologia* 1997; 40: S147-S159.
 24. *Appel G, Bolton K, Freedman B, et al.* Pimagedine lowers total urinary protein and slows progression of overt diabetic nephropathy in patients with type I diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 153A (Abstract).
 25. *Raskin P, Caltran D, William M, et al.* Pimagedine reduces progression of retinopathy and lowers lipid concentrations in patients with type I diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 179A (Abstract).
 26. *Whittier F, Spinowitz B, Wuerth JP, et al.* Pimagedine safety profile in patients with Type I diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 184A (Abstract).
 27. *Stryer R.* Glycoproteins acquire their core sugars from dolichol donors in the endoplasmic reticulum. *Biochemistry* 4th edition, 1995: 920-926.
 28. *Vlassara H.* AGE's and atherosclerosis. *Ann Med* 1996; 28: 419-426.
 29. *Boel E, Selmer J, Flodgaard HJ, Jensen T.* Diabetic late complications: will aldose reductase inhibitors or inhibitors of advanced glycosylation end-product formation hold promise? *J Diabetes Complications* 1995; 9: 104-129.
 30. *Vlassara H, Bucala R.* Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of AGE receptors. *Diabetes* 1996; 45 (Supp 3): S65-S66.
 31. *Furth A.* Glycated proteins in diabetes. *Br J Biomed Sci* 1997; 54: 192-200.
 32. *McCance DR, Dyer DG, Dunn JA, Bailie KE, Thorpe SR, Baynes JW, Lyons TJ.* Maillard reaction products and their relation to complications in insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91(6): 2470-2478.
 33. *Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Kurakawa K, Baynes JW.* Alteration in non-enzymatic biochemistry in uraemia: origin and significance of "carbonyl stress" in long term uraemic complications. *Kidney Int* 1999; 55: 389-399.
 34. *Fu MX, Wells-knecht KJ, Blackledge JA, Lyons TJ, Thorpe SR, Baynes JW.* Glycation, glyoxidation and cross-linking of collagen by glucose: kinetics, mechanisms and inhibition of late stages of the maillard reaction. *Diabetes* 1994; 43(5): 676-683.
 35. *Ando K, Beppu M, Kikugawa K, Nigai R, Horiuchi S.* Membrane proteins of human erythrocytes are modified by advanced glycation end-products during aging in the circulation. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 123-127.
 36. *Fu MX, Requena JR, Jenkins AJ, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW, Thorpe SR.* The advanced glycation end-product N-(carboxymethyl) lysine, is a product of both lipid peroxidation and glyoxidation reactions. *J Biol Chem* 1996; 271(17): 9982-9986.
 37. *Requena JR, Fu MX, Ahmed MU, Jenkins AJ, Lyons TJ, Thorpe SR.* Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reactions. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11 (Suppl 5): 48-53.
 38. *Kennedy L.* Glycation of immunoglobulins and serum proteins. In: Alberti KGMM, de Fronzo RA, Keen H, Zimmet P (eds) *International Textbook of Diabetes Mellitus*, 2nd edn. John Wiley, Chichester 1992; 985-1007.
 39. *Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, Lee A, Al-Abed Y, Vlassara H, Bucala R, Cerami A.* Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(25): 13915-13920.
 40. *Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buening C, Heitmann K, Vlassara H.* Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(12): 6474-6479.
 41. *Ross R.* The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
 42. *Monnier VM, Glomb M, Elgawish A, Sell DR.* The mechanism of collagen cross-linking in diabetes: a puzzle nearing resolution. *Diabetes* 1996; 45 (Suppl 3): 367-372.
 43. *Sell DR, Monnier VM.* Structure elucidation of senescence cross-link from human extracellular matrix: implication of pentoses in the aging process. *J Biol Chem* 1989; 264: 21597-21602.
 44. *Paul RG, Bailey AJ.* The effect of advanced glycated end-product formation upon cell-matrix interaction. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 653-660.
 45. *Sims TJ, Rasmussen LM, Oxlund H, Bailey AJ.* The role of glycation cross-links in diabetic vascular stiffening. *Diabetologia* 1996; 39: 946-951.
 46. *Miyata S, Monnier VM.* Advanced glycated end-products in diabetic tissues using monoclonal antibody to pyrraline. *J Clin Invest* 1992; 89: 1102-1112.
 47. *Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL.* Advan-

- ced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 97-108.
48. *Tsilibary E, Charonis A, Reger L, Wohlhueter R, Furcht L.* The effect of nonenzymatic glycosylation on the binding of the main noncollagenous NC1 domain to type 10 collagen. *J Biol Chem* 1988; 263(9): 4302-4308.
 49. *Charonis A, Reger L, Dege J, Kouzi-Koliakou K, Furcht L, Wohlhueter R, Tsilibary E.* Laminin alterations after in vitro nonenzymatic glycosylation. *Diabetes* 1989; 39: 807-814.
 50. *Federoff JH, Lawrence D, Brownlee M.* Non-enzymatic glycosylation of laminin and the laminin peptide CI-KVAVS inhibits neurite outgrowth. *Diabetes* 1993; 42(4): 509-513
 51. *Thornalley PJ.* Cell activation by glycated proteins, AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGE. *Cell Mol Biol* 1998; 44: 1013-1023.
 52. *Pugliese G, Pricci F, Leto G, Amadio L, Iacobini C, Romeo G, Lenti L, Sale P, Gradini R, Liu FT, Di Mario U.* The diabetic milieu modulates the advanced glycation end product-receptor complex in the mesangium by inducing or upregulating galectin-3 expression. *Diabetes* 2000; 49(7): 1249-1257.
 53. *Bierhaus A, Hofmann MA, Ziegler R, Nawroth PP.* AGE and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus I. The AGE concept. *Cardiovasc Res* 1998; 37: 586-600.
 54. *Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM.* Activation for the receptor for AGE triggers a p21 ras dependent mitogen activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 17810-17814.
 55. *Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D, Stern D.* Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of AGE's with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 1994; 269(13): 9889-9897.
 56. *Bierhaus A, Chevion S, Chevion M, Hofmann M, Quehenberger P, Illmer T, Luther T, Berenishtein E, Tritschler H, Muller M, Wahl P, Ziegler R, Nawroth PP.* 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.
 57. *Anderson MM, Requena JR, Crowley JR, Thorpe SR, Heinecke JW.* The myeloperoxidase system of human phagocytes generates N-epsilon-(carboxymethyl) lysine in proteins: a mechanism for producing advanced glycation end-products at sites of inflammation. *J Clin Invest* 1999; 104: 103-113.
 58. *Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D.* Activation of receptor for advanced glycation end-products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 84: 489-497
 59. *Baynes JW, Thorpe SR.* Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48: 1-9.
 60. *Huttunen HJ, Fages C, Rauvala H.* Receptor for advanced glycation end-products (RAGE)-mediated neurite outgrowth and activation of NF-kappaB require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signaling pathways. *J Biol Chem* 1999; 274: 19919-19924.
 61. *Fages C, Nolo R, Huttunen HJ, Eskelinen EL, Ravvala H.* Regulation of cell migration by amphoterin. *J Cell Sci* 2000; 113: 611-620.
 62. *Stitt AW, He C, Friedman S, Scher L, Rossi P, Ong L, Founds H, Li YM, Bucala R, Vlassara H.* Elevated AGE-modified Apo B in sera of euglycemic, normolipidemic patients with atherosclerosis: relationship to tissue AGEs. *Mol Med* 1997; 3(9): 617-627.
 63. *King GL, Shida T, Oliver J, Inoguchi T, Bursell SE.* Cellular molecular abnormalities in the vascular endothelium of diabetes mellitus. *Ann Rev Med* 1994; 45: 179-181.
 64. *Brownlee M.* Advanced glycosylation in diabetes and aging. *Ann Rev Med* 1995; 46: 223-234.
 65. *Makita Z, Yunagisawa K, Kawajima S, Bucala R, Vlassara H, Koike T.* The role of advanced glycation end products in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11 (Suppl 5): 31-33.
 66. *Baumgartner-Parzer SM.* Glycaemia and the regulation of endothelial adhesion molecules. *Horm Metab Res* 1997; 29: 636-638.
 67. *Schmidt AM, Yan SD, Brett J.* Regulation of mononuclear phagocyte migration by cell surface binding proteins for advanced glycosylation end-products. *J Clin Invest* 1993; 92: 2155-2168.
 68. *Sano H, Higashi T, Matsumoto K, et al.* Insulin enhances macrophage scavenger receptor mediated endocytic uptake of advanced glycated end products. *J Biol Chem* 1998; 273: 8630-8637.
 69. *Nakayama H, Tanade S, Mitsuhashi , et al.* Characterisation of antibody to advanced glycated end products on protein. *J Immunol Methods* 1991; 140: 119-125.
 70. *Schleicher ED, Wagner E, Nerlich AG.* Increased accumulation of the glyoxidation product N (epsilon)-(carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1997; 99: 457-468.
 71. *Yoshihara K, Nakamura K, Kanai M, Nagayama Y, Takahashi S, Saito N, Nagata M.* Determination of urinary and serum pentosidine and its application to older patients. *Biol Pharm Bull* 1998; 21(10): 1005-1008.
 72. *Takahashi M, Kushida K, Kawana K.* Quantification of the cross link pentosidine inserutas from normal nad uremic subjects. *Clin Chem* 1993; 39: 2162-2165.
 73. *Radoff S, Makita Z, Vlassara H.* Radioreceptor assay for advanced glycation end-products. *Diabetes* 1991; 40: 1731-1738.
 74. *Makita Z, Vlassara H, Cerami A, Bucala R.* Immunochemical detection of advanced glycation end products in vivo. *J Biol Chem* 1992; 267: 5133-5138.
 75. *Mitsuhashi T, Vlassara H, Founds HW, Li YM.* Standardising the immunological measurement of advanced glycation end products using normal human serum. *J Immunol Methods* 1997; 207: 79-88.
 76. *Ishii H, Jirousek MR, Koya D, Takagi C, Xia P, Clermont*

- A, Bursell SE, Kem TS, Ballas LM, Heath WF, Stramm LE, Feener EP, King GL.* Amelioration of vascular dysfunction in diabetic rats by an oral protein kinase C beta inhibitor. *Science* 1996; 272: 728-731.
77. *Sima AA, Prashar A, Zhang WX, Chakrabarti S, Greene DA.* Preventative effect of long term aldose reductase inhibitor (ponalrestat) on nerve conduction and sural nerve structure in the spontaneously diabetic Bio-Breeding rat. *J Clin Invest* 1990; 85: 1410-1420.
78. *Park KL, Ramaw KG, Lee KJ, et al.* Suppression of accelerated diabetic atherosclerosis by the soluble receptor for advanced glycated end-products. *Nat Med* 1998; 4: 1025-1031.
79. *Ceriello A.* Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Nutr Metab* 1999; 12: 42-46.
80. *Scivittaro V, Ganz MB, Weiss MF.* AGE induce oxidative stress and activate protein kinase C-beta (II) in neonatal mesangial cells. *Am J Physiol* 2000; 278: F676-F683.
81. *Dahl-Jorgensen K.* Biochemical markers of diabetic microangiopathy. Past, present and future. *Horm Res* 1998; 50(Suppl 1): 12-16.
82. *Vlassara H, Bucala R, Striker L.* Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biological and chemical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994; 70: 138-151.
83. *Yamagishi S-C, Yonekura H, Yamamoto Y, et al.* Advanced glycated end-product driven angiogenesis in vitro. *J Biol Chem* 1997; 272: 8723-8730.
84. *Murata T, Nagai R, Ishibashi T, Inomoto H, Ikeda K, Horiuchi S.* The relation between accumulation of advanced glycated end-products and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas. *Diabetologia* 1997; 40: 764-769.
85. *Hammes HP, Alt A, Niwa T, Clausen JT, Bretzel RG, Brownlee M, Schleicher ED.* Differential accumulation of advanced glycated end-products in the course of diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1999; 42(6): 728-736.
86. *Zhao W, Devamanoharan PS, Varma SD.* Fructose mediated damage to lens alpha-crystallin: prevention by pyruvate. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1500: 161-168.
87. *Sima AA, Sugimoto K.* Experimental diabetic neuropathy: an update. *Diabetologia* 1999; 42: 773-788.
88. *Vlassara H, Brownlee M, Cerami A.* Non-enzymatic glycosylation of peripheral nerve protein in diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 5190-5192.
89. *Birrell AM, Heffernan SJ, Ansselin AD, McLennan S, Church DK, Gillari AG.* Functional and structural abnormalities in the nerves of Type I diabetic baboons: aminoguanidine does not improve nerve function. *Diabetologia* 2000; 43: 110-116.
90. *Brownlee M.* Negative consequences of glycation. *Metabolism* 2000; 49 (2 Suppl 1): 9-13.
91. *Sugimoto K, Nishizawa Y, Horiuchi S, Yagihashi S.* Localisation in human diabetic peripheral nerve of N epsilon-carboxymethyl-lysine protein adducts, an advanced glycated end-product. *Diabetologia* 1997; 40: 1380-1387.
92. *Shinpo K, Kikuchi S, Sasaki H, Ogata A, Moriwaka F, Tashiro K.* Selective vulnerability of spinal motor neurones to reactive dicarbonyl compounds, intermediate products of glycation, in vitro: implication of inefficient glutathione system in spinal motor neurones. *Brain Res* 2000; 861(1): 151-159.
93. *Tuschida K, Makita Z, Yamagishi S, et al.* Suppression of transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy in rats by a novel advanced glycation end-product inhibitor OPB-9195. *Diabetologia* 1999; 42: 577-588.
94. *Iijima K, Yoshikawa N, Connolly DT, Nakamura H.* Human mesangial cells and peripheral blood mononuclear cells produce vascular permeability factor. *Kidney Int* 1993; 44: 959-966.
95. *Brownlee M, Cerami A, Vlassara H.* Advanced glycated end-products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *New Eng J Med* 1988; 318: 1315-1321.
96. *Bendayan M.* Immunocytochemical detection of AGE's in rat renal tissue as a function of age and diabetes. *Kidney Int* 1998; 54: 438-447.
97. *Wada T, Miyata T, Kurokawa K.* Implication of carbonyl stress in long term uraemic complications. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14 (Suppl 1): 79-81.
98. *Miyata T, Notoya K, Yoshida K, Horie K, Maeda K, Kurokawa K, Taketomi S.* Advanced glycation end-products enhance osteoclast-induced bone resorption in cultured mouse infractionated bone cells and in rats implanted subcutaneously with devitalised bone particles. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(2): 260-270.
99. *Suzuki D, Miyata T, Saotome N, Horie K, Inagi R, Yasuda Y, Uchida K, Izuhara Y, Yagame M, Sakai H, Kurokawa K.* Immunohistochemical evidence for an increased oxidative stress and carbonyl modification in protein in diabetic glomerular lesions. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(4): 822-832.
100. *Miyata T, Ueda Y, Saito A, Kurokawa K.* "Carbonyl stress" and dialysis related amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (Suppl 1): 25-28.
101. *Hoff HF, Whitaker TE, O'Neil J.* Oxidation of LDL leads to particle aggregation and altered macrophage recognition. *J Biol Chem* 1992; 267: 602-609.
102. *Kunt T, Forst T, Wilhelm A, Tritschler H, Pfuetzner A, Harzer O, Engelbach M, Zschaebitz A, Stofft E, Beyer J.* Alpha-lipoic acid reduces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and endothelial adhesion of human monocytes after stimulation with advanced glycated end-products. *Clin Sci (Colch)* 1999; 96(1): 75-82.
103. *Sobal G, Sinzinger H, Menzel EJ.* Binding of long term glycated low density lipoprotein and AGE-albumin by peripheral monocytes and endothelial cells. *J Recept Signal Transduct Res* 1999; 19: 267-281.
104. *Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Kim SM, Wong H, Peters AL.* Glycation impairs high density lipoprotein function. *Diabetologia* 2000; 43(3): 312-320.
105. *Zhang JY, Ren S, Shen GX.* Glycation amplifies lipoprotein (a)-induced alteration in the generation of fibri-

- nolytic regulators from human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2000; 150: 299-308.
106. *Thorpe SR, Baynes JW*. Role of the maillard reaction in diabetes mellitus and diseases of aging. *Drugs Aging* 1996; 9: 69-77.
107. *Giardino I, Fard AK, Hatchell DL, Brownlee M*. Aminoguanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation and oxidant induced apoptosis. *Diabetes* 1998; 47: 1114-1120.
108. *Nilsson BO*. Biological effects of aminoguanidine: an update. *Inflammation Research* 1999; 48: 509-515.
109. *Goodwin DC, Aust SD, Grover TA*. Free radicals produced during the oxidation of hydrazines by hypochlorous acid. *Chem Res Toxicol* 1996; 9: 1333-1339.
110. *Kallenberg CG, Mulder AH, Tervaert JW*. Antineutrophil cytoplasmic antibodies: a still growing class of auto-antibodies in inflammatory disorders. *Am J Med* 1992; 93: 675-682.
111. *Yung R, Chung S, Hemati N, Johnson K, Richardson B*. Mechanism of drug induced lupus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1436-1443.
112. *Sebekova K, Schinzel R, Munch G, Krivosikova Z, Dzurik R, Heidland A*. Advanced glycation end-product concentrations in sub-totally nephrectomised rats: beneficial effects of angiotensin II receptor I antagonist losartan. *Mineral and Electrolyte Metab* 199; 25: 380-383.
113. *Hammes HD, Bortmann A, Engel L, Wulfroth P*. Antioxidant treatment of experimental diabetic retinopathy in rats with nicarnitine. *Diabetologia* 1997; 40: 629-634.
114. *Cooper ME, Thallas V, Forbes J, Scalbert E, Sastra S, Dardy I, Soulis T*. The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycated end-product accumulation. *Diabetologia* 2000; 43(5): 660-664.
115. *Soulis T, Sastra S, Thallas V, Mortensen SB, Wilken M, Clausen JT, Bjerrum OJ, Petersen H, Lau J, Jerums G, Boel E, Cooper ME*. A novel inhibitor of advanced glycated end-product formation inhibits mesenteric vascular hypertrophy in experimental diabetes. *Diabetologia* 1999; 42(4): 472-479.
116. *Cohen MP, Ziyadeh FN*. Role of amadori modified non-enzymatically glycated serum proteins in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 183-190.
117. *Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M*. Normalising mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemia induced damage. *Nature* 2000; 404(6779): 787-790.
118. *Forbes JM, Thallas V, Thomas MC, Founds HW, Burns WC, Jerums G, Cooper ME*. The breakdown of pre-existing advanced glycation end products is associated with reduced renal fibrosis in experimental diabetes. *FASEB J*. 2003; 17(12): 1762-1764.
119. *Liu J, Masarekar MR, Vatner DE, Jyothirmayi GN, Regan TJ, Vatner SF, Meggs LG, Malhotra A*. Glycation end-product cross-link breaker reduces collagen and improves cardiac function in aging diabetic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285(6): 2587-2591.
120. *Oldfield MD, Bach LA, Forbes JM, Nikolic-Paterson D, McRobert A, Thallas V, Atkins RC, Osicka T, Jerums G, Cooper ME*. Advanced glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *J Clin Invest* 2001; 108(12): 1853-1863.
121. *Wolffenbuttel BH, Boulanger CM, Crijns FR, Huijberts MS, Poitevin P, Swennen GN, Vasan S, Egan JJ, Ulrich P, Cerami A, Levy BI*. Breakers of advanced glycation end products restore large artery properties in experimental diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(8): 4630-4634.

Λέξεις κλειδιά:

Τελικά προϊόντα προχωρημένης
μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης
Σακχαρώδης διαβήτης

Key words:

Advanced glycation end products
Diabetes mellitus