

**Τελικά προϊόντα υψηλής μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης
Η βιοχημεία και οι επιπτώσεις τους στον άνθρωπο**

Τα τελικά προϊόντα υψηλής μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης (AGEs) προέρχονται από τη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων από τη γλυκόζη. Τα μακρομόρια που έχουν υποστεί AGEs μετατροπές συσσωματώνονται λόγω των μεταξύ τους αντιδράσεων και δρουν ως ενεργείς παγίδες, δεσμεύοντας πρωτεΐνες του πλάσματος και παρεμβαίνοντας στη φυσιολογική λειτουργία των ιστών. Ειδικούς υποδοχείς AGE έχουν τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα T-λεμφοκύτταρα, οι ινοβλάστες, τα μεσαγγειακά κύτταρα και οι λείες μυϊκές ίνες. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η αλληλεπίδραση υποδοχέα-AGEs ενεργοποιεί έναν καταρράκτην κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων με σκοπό την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών και την επισκευή των ιστών. Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, εξαιτίας της υπεργλυκαιμίας, ο προαναφερόμενος καταρράκτης υπερλειτουργεί και οδηγεί στην υπεργλυκαιμία των ιστών. Τα AGEs στο σακχαρώδη διαβήτη συμβάλλουν στην αιτιοπαθογένεια της αρτηριοσκλήρυνσης, της νεφροπάθειας, της αμφιβληστροειδοπάθειας, της νευροπάθειας, στο σύνδρομο του διαβητικού χεριού και πιθανόν στην εμβρυοπάθεια. Επιπλέον, τα AGEs εμπλέκονται στις νόσους Alzheimer και Parkinson και στη διαδικασία της γήρανσης. Ο σχεδιασμός αναστολέων των AGEs είναι ο κύριος ερευνητικός στόχος αυτή την εποχή, όσον αφορά την αντιμετώπιση των επιπλοκών που σχετίζονται με αυτά. Η αμινογουανιδίνη, ένας αναστολέας της μετατροπής των πρόδρομων γλυκοζυλιωμένων προϊόντων Amadori σε AGEs, βρίσκεται σήμερα στη φάση III κλινικής δοκιμασίας για τη διαβητική νεφροπάθεια. Επιπλέον, συνιστάται η υγιεινή διατροφή, η αποφυγή του καπνίσματος και η λήψη αντιοξειδωτικών, όπως οι βιταμίνες C και E. Με βάση τα παραπάνω, είναι εμφανές ότι η έρευνα γύρω από τα AGEs θα μπορούσε να βοηθήσει στην κατανόηση αλλά και στη θεραπεία των νοσημάτων, στα οποία εμπλέκονται παθογενετικά.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μη ενζυμική γλυκοζυλίωση (glycation) θεωρείται μια από τις πιο συχνές μετα-μεταφραστικές μετατροπές. Σε φυσιολογικές καταστάσεις, αυξημένη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση παρατηρείται κατά τη γήρανση, ενώ σε παθολογικές σχετίζεται με διάφορες νόσους, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης. Οι κυτταρικοί και βιοχημικοί μηχανισμοί που οδηγούν τις μη ενζυμικές γλυκοζυλίώσεις δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστοί. Ωστόσο, η έρευνα γύρω από αυτή τη θεματολογία έχει αποφέρει σημαντική πρό-

οδο την τελευταία δεκαετία. Η συγκεκριμένη αναφορά αποτελεί μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και έχει σκοπό την καλύτερη κατανόηση του εν λόγω θέματος.

2. ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗΣ

Το 1912, ο Maillard περιέγραψε το πρώτο στάδιο του μεταβολικού μονοπατιού των μη ενζυμικών γλυκοζυλίωσης. Σε αυτό το στάδιο, που ονομάζεται αντίδραση Maillard, οι ελεύθερες αμινομάδες των μακρομορίων, όπως πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων, αντι-

**B. Χαβαράνη,
E. Μπόζας**

*Παιδιατρική Κλινική, Τμήμα
Νοσηλευτικής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα*

**Advanced glycated end products.
Biochemistry and implications
in humans**

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αναστολείς AGE
Alzheimer
Σακχαρώδης διαβήτης
Τελικά προϊόντα υψηλής μη ενζυμικής
γλυκοζυλίωσης
Υποδοχείς AGE

*Υποβλήθηκε 7.7.2000
Εγκρίθηκε 12.1.2001*

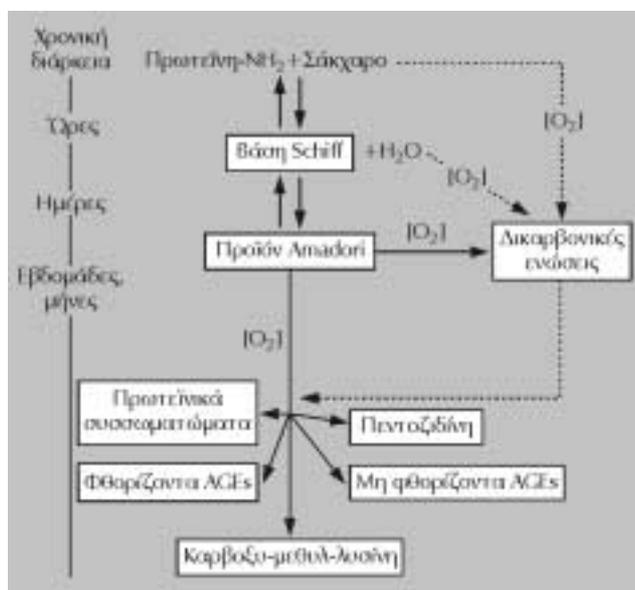
δρούν με τις αλδεϋδομάδες ή κετονομάδες σακχάρων όπως η γλυκόζη.¹ Συγκεκριμένα, για τις πρωτεΐνες (εικ. 1), το αμινοξύ λυσίνη είναι συνήθως εκείνο που αντιδρά με τη γλυκόζη. Η αντίδραση αυτή ονομάζεται γλυκοζυλίωση, είναι μη ενζυμική και μέσα σε χρονικό διάστημα λίγων μόνο ωρών καταλήγει σε πλήρη χημική ισορροπία. Τα προϊόντα αυτού του σταδίου ονομάζονται βάσεις Schiff.²⁻⁵ Επειδή τα τελευταία είναι ασταθή μόρια, υπόκεινται σε διάφορες ενδομοριακές ανακατατάξεις, που διαρκούν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και καταλήγουν σε πιο σταθερά προϊόντα, τα Amadori (εικ. 1).²⁻⁵ Στο τελευταίο στάδιο της αντίδρασης, τα πρόδρομα προϊόντα Amadori, τα οποία χαρακτηρίζονται ως προϊόντα πρώιμης μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης (early glycation products), οδηγούν στα τελικά προϊόντα υψηλής μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης (advanced glycated end products, AGEs).⁶ Τα τελευταία δημιουργούνται μέσα από τη σταδιακή μοριακή επαναδιευθέτηση, αφυδάτωση, συμπύκνωση και οξείδωση των προϊόντων Amadori.⁶ Το στάδιο αυτό είναι μη αντιστρεπτή αντίδραση και έχει μεγάλη χρονική διάρκεια, από μήνες έως και χρόνια. Γι' αυτόν το λόγο, τα μακρομόρια στα οποία παρατηρούνται αυτού του είδους οι μετατροπές είναι εκείνα με μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής, όπως το κολλαγόνο.⁷ Από το σημείο του μεταβολικού μονοπατιού όπου τα προϊόντα Amadori υποβάλλονται στη διαδικασία μετατροπής τους σε AGEs και μετά, οι αντιδράσεις θεωρούνται ανεξάρτητες από τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα.² Τέλος, τα AGEs εκ φύσεως έχουν την ικανότητα να αλλά-

ζουν τις φυσικοχημικές και δομικές ιδιότητες της περιοχής στην οποία δημιουργούνται, αφού οδηγούν στο σχηματισμό πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων λόγω των μεταξύ τους αντιδράσεων.^{7,8} Το φαινόμενο αυτό συμβαίνει, για παράδειγμα, στην εξωκυττάρια ουσία, όπου τα AGEs, δημιουργώντας συσσωματώματα μεταξύ των μορίων κολλαγόνου, οδηγούν στην πάχυνση της βασικής μεμβράνης και στην παγίδευση πρωτεϊνών του πλάσματος, όπως οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL) και οι IgG μέσω ομοιοπολικής σύνδεσης.⁹

Στο σακχαρώδη διαβήτη υπάρχουν πολλοί παράγοντες που συμβάλλουν στην αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών, όπως η αυτοοξειδωση της γλυκόζης και η αλληλεπίδραση των AGEs με τους ειδικούς υποδοχείς τους, για τους οποίους θα αναφερθούμε αναλυτικότερα παρακάτω.¹⁰ Η σχέση των AGEs με τις οξειδωτικές αντιδράσεις είναι άμεση, καθώς η δημιουργία των AGEs προάγεται από οξειδωτικές συνθήκες (παρουσία στοιχείων μετάπτωσης ή ελευθέρων ριζών), ενώ ταυτόχρονα οι γλυκοζυλίωσεις συντελούν στην περαιτέρω παραγωγή ελευθέρων ριζών. Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι οι γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες παράγουν σχεδόν 50 φορές περισσότερες ελεύθερες ρίζες συγκριτικά με τις μη γλυκοζυλιωμένες, ενώ η αλληλεπίδραση των AGEs με τα κύτταρα αυξάνει το οξειδωτικό stress.¹¹ Εξαιτίας των διαδοχικών αντιδράσεων γλυκοζυλίωσης ή και οξείδωσης (συνολικά γλυκοοξειδωση), η ομάδα των AGEs που δημιουργείται από το μεταβολικό μονοπάτι (εικ. 1) είναι ετερογενής. Για παράδειγμα, το AGE καρβοξυ-μεθυλ-λυσίνη (CML) και η πεντοζιδίνη θεωρούνται δείκτες γλυκοοξειδωτικής αντίδρασης.¹²

Η υψηλή γλυκοζυλίωση των λιπών δημιουργείται σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση και με το χρόνο έκθεσης στη γλυκόζη και παρουσιάζει τις ίδιες ιδιότητες απορρόφησης-εκπομπής φθορισμού με τις υψηλά γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες.¹³ Η μετατροπή των λιπών σε AGEs δημιουργείται κατά τη χημική αντίδραση των φωσφολιπιδίων που εμπεριέχουν στο μόριό τους πρωτοταγείς αμίνες με τη γλυκόζη και οι αντιδράσεις αυτές προάγουν την οξειδωτική μετατροπή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που αποτελούν τα λίπη.¹³

Μετατροπές σε AGEs μπορούν να υποστούν και τα μόρια του DNA κατά την αντίδραση της γλυκόζης με την αμινομάδα των νουκλεοτιδίων. Θεωρείται ότι η υψηλή γλυκοζυλίωση του DNA μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό του μακρομορίου, είτε προκαλώντας επιτάχυνση στη δημιουργία μεταλλάξεων και θραύσεων, είτε αδρανοποιώντας τους μηχανισμούς της επισκευής, είτε, τέλος, δημιουργώντας συμπλέγματα του DNA με τις εντόπια ιστόνες.^{14,15} Η γουανίνη είναι η βάση του DNA που κυρίως αντιδρά με τη γλυκόζη. Κατά τη γλυκοζυλίωση



Εικόνα 1. Αναπαράσταση του μεταβολικού μονοπατιού που οδηγεί στα τελικά προϊόντα υψηλής γλυκοζυλίωσης (AGEs). Οι οξειδωτικές αντιδράσεις αναπαρίστανται με το σύμβολο [O₂]. Στο αριστερό μέρος της εικόνας παρουσιάζεται η χρονική διάρκεια του κάθε σταδίου.

της δεοξυ-γουανίνης δημιουργείται το μόριο N₂-καρβοξυ-αιθυλ-δεοξυ-γουανίνη (CEG), το οποίο *in vitro* προκαλεί απουρινικές και απυριμιδινικές θέσεις στο DNA.^{16,17} Μελέτες σε προκαρυωτικούς οργανισμούς δείχνουν τη συμβολή των AGEs στη δημιουργία μεταλλάξεων και στην ενδομετάθεση.^{5,9} Τα AGEs προκαλούν ενδομετάθεση και σε ευκαρυωτικά κύτταρα, όπως έχει αποδειχθεί σε *in vitro* πειράματα, όπου παρατηρήθηκε η ενδομετάθεση της αλληλουχίας *INS-1*, η οποία περιέχει το μεταθετόνιο *Alu*.¹⁸ Ο τρόπος με τον οποίο τα AGEs ενεργοποιούν την ενδομετάθεση δεν είναι ακόμη γνωστός, υποτίθεται όμως ότι η ενδομετάθεση αποτελεί μηχανισμό του κυττάρου για την αφαίρεση των σταυροσυνδέσεων του DNA που δεν μπορούν να επισκευαστούν.¹⁸ Τέλος, σε διαβητικά ποντίκια παρατηρήθηκε επίμονη υπερέκφραση του γονιδίου της ινοσυνδετίνης μετά από αποκατάσταση της ευγλυκαιμίας. Το φαινόμενο αυτό αναφέρεται ως *υπεργλυκαιμική μνήμη* και υποδηλώνει την ύπαρξη ενδοκυτταρικών τροποποιήσεων των γονιδίων, οι οποίες επηρεάζουν τη μεταγραφή.¹⁹

3. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΩΝ AGEs ΚΑΙ ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Μελέτες στις οποίες συγκρίνεται η ταχύτητα δημιουργίας των AGEs σε *in vitro* και σε *in vivo* συνθήκες δείχνουν ότι *in vivo* τα AGEs δημιουργούνται με πιο αργούς ρυθμούς.³ Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στην υπόθεση ότι μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχουν μηχανισμοί που συμβάλλουν στον περιορισμό των AGEs, οι οποίοι, όπως αποδείχθηκε, βασίζονται σε ειδικούς υποδοχείς που αναγνωρίζουν μόνο τις πρωτεΐνες AGEs.^{20,21} Οι υποδοχείς αυτοί εντοπίζονται σε διάφορα κύτταρα, όπως στα μονοκύτταρα/μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά, τα T-λεμφοκύτταρα, τους ινοβλάστες, τα μεσαγγειακά κύτταρα του νεφρού και τις λείες μυϊκές ίνες.²¹ Βιοχημικές αναλύσεις έχουν οδηγήσει στον προσδιορισμό αρκετών από τις πρωτεΐνες που δρουν ως υποδοχείς. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν εντοπιστεί δύο πρωτεΐνες, μοριακού βάρους 35 και 46 kDa. Η 35 kDa πρωτεΐνη έχει μεγάλη ομοιότητα στο αμινο-τελικό άκρο με τη λακτοφερίνη, ενώ η 46 kDa είναι μια νέα πρωτεΐνη και έχει επωνομαστεί RAGE (Receptor of AGE).²¹ Ο RAGE, αφού αναλύθηκε ως προς την αλληλουχία και τη δομή, αξιολογήθηκε ως μέλος της υπερικογένειας των ανοσοσφαιρινών.²² Στα μακροφάγα, μεταξύ άλλων υποδοχέων των AGEs, έχει ανιχνευθεί και η γαλεκτίνη-3, με μοριακό βάρος 32 kDa.²³

Τα μακροφάγα και τα μονοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιοστάση του συνδετικού ιστού και στη φυσιολογική διαδικασία της επαναδιαμόρφωσης αυτού, όπως συμβαίνει έπειτα από τραυματισμό.²⁴ Η διαδικα-

σία αναγνώρισης και αποικοδόμησης των πρωτεϊνών διεκπεραιώνεται μέσω της αλληλεπίδρασης των AGEs με τους ειδικούς υποδοχείς που υπάρχουν πάνω στα μακροφάγα.³ Θεωρείται ότι η ενδοκυττάρωση πρωτεϊνών AGE από τα μακροφάγα ενεργοποιεί έναν καταρράκτη διαδικασιών, στον οποίο μεσολαβητές είναι οι κυτταροκίνες IL-1 (interleukin-1) και TNF-α (Tumor Necrosis Factor).^{22,25,26} Αυτές δρουν στο αρχικό στάδιο του καταρράκτη, ενεργοποιώντας τα κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης να ξεκινήσουν τον πολλαπλασιασμό, τη σύνθεση καινούριων πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας ή και τη σύνθεση εξωκυττάρων πρωτεασών.⁹ Επίσης, έχει βρεθεί ότι οι πρωτεΐνες AGE ενεργοποιούν τα μονοκύτταρα, έτσι ώστε αυτά να εκκρίνουν τον αυξητικό παράγοντα PDGF (Platelet Derived Growth Factor), ο οποίος δρα ως ενδιάμεσος παράγοντας που καθιστά τα μεσεγχυματικής προέλευσης κύτταρα ενεργά για την εκκίνηση της μίωσης. Τελικός μεσολαβητής είναι ο αυξητικός παράγοντας IGF-1 (Immune Growth Factor-1), ο οποίος, μέσω ειδικών κυτταροπλασματικών υποδοχέων, δίνει το σήμα στα κύτταρα να προχωρήσουν στο μιτωτικό κύκλο πέραν της φάσης G1. Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, λόγω της επίμονης υπεργλυκαιμίας συσσωρεύονται σε μεγάλες ποσότητες τα προϊόντα AGEs. Συνεπώς, ο καταρράκτης των γεγονότων, που προαναφέρθηκε, υπερλειτουργεί και οδηγεί στην υπερπαραγωγή των αυξητικών παραγόντων και κατά συνέπεια στην υπερπλασία διαφόρων ιστών. Αυτό συμβαίνει στα ενδοθηλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς, στα κύτταρα του μεσαγγείου και στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Επιπλέον, παρατηρείται αύξηση της εξωκυττάριας ουσίας. Πάντως, σημειώνεται ότι οι πρωτεΐνες AGE, ενώ οδηγούν στην αύξηση παραγωγής των προαναφερόμενων μεσολαβητών, δεν επηρεάζουν την ικανότητα δέσμευσης από τους υποδοχείς τους.²²

Τέλος, κατά την αλληλεπίδραση του υποδοχέα RAGE με τα AGEs προκαλείται ενδοκυττάριο οξειδωτικό stress, το οποίο φαίνεται να μεσολαβεί στη μεταγωγή μηνύματος, στην ενεργοποίηση του παράγοντα μεταγραφής NF-κΒ (Nuclear Factor kappa-B) και συνεπώς στην αύξηση της γονιδιακής έκφρασης, η οποία μπορεί να σχετίζεται με τις επιπλοκές στο διαβήτη.^{27,28} Υποστηρίζεται ότι με τη χορήγηση του αντιοξειδωτικού α-λιποϊκού οξέος ελαττώνεται η ενεργοποίηση του NF-κΒ σε διαβητικά άτομα.^{9,29}

4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ AGEs

Ανάλογα με τις πρωτεΐνες από τις οποίες προέρχονται, τα AGEs διαθέτουν διάφορες φυσικοχημικές ιδιότητες, που τα καθιστούν ξεχωριστά μόρια. Η πλέον προ-

φανής διαφορά πηγάζει από την ικανότητα των γλυκοζυλιωμένων πρωτεϊνών να συσσωματώνονται μεταξύ τους, με αποτέλεσμα τα AGEs να δημιουργούν ετερογενή, σε σχέση με το μοριακό βάρος αλλά και τη σύνθεση, συσσωματώματα. Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό που χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό των AGEs είναι το ότι ορισμένα διαθέτουν την ικανότητα φθορισμού, με ιδιαίτερο μήκος κύματος διέγερσης τα 370 nm και εκπομπής τα 440 nm, που τους προσδίδει κίτρινο-καφέ χρώμα.¹ Παρόλα αυτά, η ανεύρεση αντισωμάτων κατά των AGEs οδήγησε στην ανακάλυψη πως μόνο ένα μικρό ποσοστό των AGEs είναι προσδιορίσιμο με βάση το φθορισμό τους.¹ Η ELISA (Enzyme Linked Immuno-Specific Assay) είναι μια μέθοδος στην οποία, ανάλογα με την περίπτωση, χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά anti-AGE αντισώματα. Η μέθοδος αυτή θεωρείται πιο ευαίσθητη και σε *in vitro* και σε *in vivo* συνθήκες.² Τέλος, υπάρχει και η μέθοδος HbA1c, η οποία μετράει την ποσότητα των ερυθροκυττάρων που εμφανίζουν προϊόντα Amadori στη βαλίνη του N-τελικού άκρου της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης.¹³⁻¹⁵ Τα αποτελέσματα που δίνει, αντιπροσωπεύουν μια αντικειμενική μέτρηση της ολικής έκθεσης του οργανισμού στη γλυκόζη τις προηγούμενες 4-6 εβδομάδες, επειδή αυτός είναι περίπου ο χρόνος ημιζωής των προϊόντων Amadori.¹³⁻¹⁶ Η μέθοδος χρησιμοποιείται ως δείκτης της ρύθμισης της γλυκόζης του αίματος στα άτομα με διαβήτη εδώ και 20 περίπου χρόνια και αποτελεί χρήσιμο κλινικό εργαλείο.^{13,30}

5. AGEs ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

Λόγω της επίμονης υπεργλυκαιμίας, ο σακχαρώδης διαβήτης έχει πολύ σοβαρές, μη αντιστρεπτές μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπτώσεις. Η μεγαλύτερη καταστροφή παρατηρείται σε ιστούς και όργανα που είναι πλούσια σε πρωτεΐνες με μεγάλο χρόνο ημιζωής, όπως το κολλαγόνο, και όπου η είσοδος και ο μεταβολισμός της γλυκόζης δεν ρυθμίζονται από την ινσουλίνη.⁴ Παραδείγματα ιστών που επηρεάζονται από τα AGEs σε άτομα με διαβήτη είναι το ενδοθήλιο των αγγείων, ο νεφρός, τα νευρικά κύτταρα, ο αμφιβληστροειδής χιτώνας και το μυοσκελετικό σύστημα.

5.1. Αρτηριοσκλήρυνση και επιδράσεις στη λειτουργία των αγγείων

Η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας LDL (Low Density Lipoprotein) και το πρόδρομο μόριό της VLDL (Very Low Density Lipoprotein) θεωρούνται σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη αρτηριοσκλήρυνσης σε ασθενείς με διαβήτη.^{13,31} Επιπλέον, η αρτηριο-

σκλήρυνση έχει συσχετιστεί με την αύξηση της συγκέντρωσης της απολιποπρωτεΐνης-B (Apo-B) στο πλάσμα. Οι αντιδράσεις γλυκοζυλίωσης της LDL καθιστούν το μόριο επιρρεπές και σε οξειδωτικές μετατροπές, όμως οι ακριβείς οξειδωτικές συνθήκες που, σε διαβητικά άτομα, επιδρούν στα AGEs δεν είναι πλήρως διευκρινισμένες μέχρι σήμερα.⁵ Επίσης, έχει βρεθεί ότι υπάρχουν μετατροπές AGE και στο αποπρωτεϊνικό και στο λιπιδικό τμήμα της λιποπρωτεΐνης.¹³ Αξίζει να σημειωθεί ότι, κατά τη σύγκριση ατόμων με διαβήτη προς φυσιολογικά, η μετατροπή του λιπιδικού τμήματος σε AGEs είναι τέσσερις φορές αυξημένη, ενώ η μετατροπή του αποπρωτεϊνικού δύο φορές.⁵ Η αύξηση των γλυκοοξειδωτικών μετατροπών της LDL έχουν ως αποτέλεσμα την αναστολή της αναγνώρισης της LDL από τους καθιερωμένους υποδοχείς. Οι γλυκοοξειδωμένες LDL αναγνωρίζονται από μια ξεχωριστή ομάδα υποδοχέων των μονοκυττάρων/μακροφάγων, που χαρακτηριστικά ονομάζονται εκκαθαριστές (scavenger receptors).³² Αυτή η αλληλεπίδραση έχει ως αποτέλεσμα τη μεταμόρφωση των μακροφάγων που βρίσκονται στα αγγειακά τοιχώματα σε αφρώδη κύτταρα, τα οποία, με τη σειρά τους, δημιουργούν λιποειδικές ζώνες, οι οποίες αποτελούν τις αρχικές αλλοιώσεις που χαρακτηρίζουν τις αθηρωματικές πλάκες.³²

Οι Park et al, έχοντας ως σκοπό τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών της διαβητικής αρτηριοσκλήρυνσης, ανέπτυξαν ένα μοντέλο σε ποντίκια που είχαν καταστεί διαβητικά και ανενεργά για το γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης-E, στα οποία διερεύνησαν την πιθανή εμπλοκή του υποδοχέα RAGE στη διαβητική αρτηριοσκλήρυνση.³³ Σύμφωνα με τη μεθοδολογία τους, χορήγησαν στα προαναφερθέντα ποντίκια ένα διαλυτό κομμάτι του υποδοχέα RAGE, το οποίο αναφέρεται ως sRAGE (soluble RAGE). Το μόριο αυτό αντιπροσωπεύει το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα RAGE, στο οποίο προσδένονται τα AGE. Τα αποτελέσματά τους δείχνουν την πλήρη καταστολή της αρτηριοσκλήρυνσης κατά ένα δοσοεξαρτώμενο τρόπο, αποδεικνύοντας έτσι τη συμβολή των RAGE και των AGEs στην ανάπτυξη της αρτηριοσκλήρυνσης.

Μια από τις πιο συνηθισμένες επιπλοκές σε διαβητικά άτομα αφορά στη ροή του αίματος και στη λειτουργία των αγγείων. Εδώ εμπλέκεται η μη ενζυμική γλυκοζυλίωση της αιμοσφαιρίνης και, κατά συνέπεια, η παραγωγή ελευθέρων ριζών (κυρίως ανιόντα υπεροξειδίου), οι οποίες αδρανοποιούν το μονοξείδιο του αζώτου (NO), που δρα ως αγγειοδιασταλτικός παράγοντας.^{12,34} Το τελευταίο αποδείχθηκε μετά από χορήγηση πρωτεϊνών AGE σε φυσιολογικά ζώα, στα οποία προκλήθηκε αγγειοσυσπασση.¹³ Επίσης, το NO έχει αντιπαρα-

σιαστική δράση, οπότε και θεωρείται υπεύθυνο για τη διατήρηση των υπενδοθηλιακών κυττάρων των λείων μυϊκών ινών σε μιτωτική αδράνεια. Με την αδρανοποίηση του NO από τα AGEs επάγεται η υπερπλασία των αγγείων και, κατά συνέπεια, δημιουργείται υπέρταση, η οποία θεωρείται παράγοντας αυξημένου κινδύνου εμφάνισης αρτηριοσκλήρυνσης.^{13,35}

Κατά την αλληλεπίδραση AGE-RAGE αναστέλλεται η παραγωγή ενός αντιθρομβωτικού παράγοντα, της προσταγλανδίνης PGI₂.²⁹ Επιπλέον, προκαλείται υπερέκφραση του γονιδίου του αναστολέα-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) στα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρών αγγείων, ο οποίος αναστέλλει την ινωδολύση και εμπλέκεται στη θρόμβωση.^{36,37} Στο μονοπάτι μεταγωγής μηνύματος φαίνεται να εμπλέκεται και το κυκλικό AMP (c-AMP), το οποίο δρα ως αγωνιστής του αναστολέα PAI-1. Για το λόγο αυτόν, πιθανολογείται η χρησιμότητα του c-AMP στη θεραπευτική αγωγή των αγγειακών επιπλοκών στο διαβήτη.³⁷ Τέλος, η αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών AGE με υποδοχείς κυττάρων του ενδοθηλίου οδηγεί στην αύξηση της διαπερατότητας του τοιχώματος και της έκκρισης του αγγειοσυσταλτικού παράγοντα ενδοθηλίνη-1.^{14,15}

5.2. Διαβητική νεφροπάθεια

Η νεφρική νόσος θεωρείται η πλέον βαριά από τις επιπτώσεις του σακχαρώδους διαβήτη, με μεγάλο βαθμό θνητότητας. Ο νεφρός είναι όργανο άμεσα συνδεδεμένο με τα τελικά προϊόντα υψηλής γλυκοζυλίωσης, εφόσον είναι ο τόπος όπου τα προϊόντα αυτά διασπώνται και αποβάλλονται από τον οργανισμό. Σύμφωνα με τους Makita et al, η σταδιακή έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας είναι ανάλογη με τη συσσώρευση των πρωτεϊνών AGE στον ορό ασθενών με διαβήτη.³⁸ Το σημείο-σταθμός στη δημιουργία της νεφρικής νόσου είναι η σκλήρυνση των σπειραμάτων του νεφρού, διαδικασία στην οποία εμπλέκονται και τα AGEs μέσω της αλληλεπίδρασής τους με ειδικούς υποδοχείς AGE στα μεσαγγειακά κύτταρα.^{22,25,40} Αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης αυτής είναι η ενεργοποίηση των TNF-α, IL-1, IGF-1 και PDGF, οι οποίοι ενεργοποιούν τη σύνθεση των πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας, όπως το κολλαγόνο τύπου IV, και επάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων προκαλώντας νεφρική ίνωση.^{13,22,41} Το φαινόμενο αυτό θεωρείται ειδικό για τα AGEs, επειδή παρατηρήθηκε η καταστολή του κατά τη χορήγηση αμινογουανιδίνης, ενός αναστολέα των AGEs, για τον οποίο αναλυτικότερα θα αναφερθούμε στη συνέχεια.⁴⁰ Τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος των AGEs δεν είναι πλήρως κατανοητά. Το 1999, όμως, οι Huang et al δημοσίευσαν την πρώτη περιγραφή της εμπλοκής του μονοπατιού των κινασών JAK (Janus Kinase) και των πρωτεϊνών STAT (Signal

Transducers and kinase Activators of Transcription) ως δευτερογενών αγγελιοφόρων της μιτωτικής απάντησης των νεφρικών ινοβλαστών κατά την έκθεση σε πρωτεΐνες AGE.⁴¹ Τα αποτελέσματά τους υποδεικνύουν ότι τα AGEs, μέσω της ενεργοποίησης της παραγωγής κυταροκινών και αυξητικών παραγόντων, ενεργοποιούν το μονοπάτι JAK/STAT, το οποίο, στη συνέχεια, διαμεσολαβεί στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.⁴² Υπό φυσιολογικές συνθήκες και το NO συμβάλλει στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των μεσαγγειακών κυττάρων, διατηρώντας τα κύτταρα αδρανή. Τα AGEs συσσωματώματα, όμως, εμποδίζουν το NO στην αντι-πολλαπλασιαστική του δράση, συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στην υπερπλασία του μεσαγγείου.^{13,35,36}

Επίσης, σε καλλιέργειες μεσαγγειακών κυττάρων σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης σε γλυκόζη διαπιστώθηκε χαμηλή απόκριση σε αγγειοσυσταλτικούς παράγοντες. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην αναστολή της σηματοδότησης του διαμεμβρανικού Ca²⁺, που φαίνεται να προκαλείται κατά την αλληλεπίδραση υποδοχέα-πρωτεΐνης AGE.⁴² Ο μηχανισμός αυτός προτείνει μια πιθανή εξήγηση για την υπερδιήθηση και την αύξηση της πίεσης, που οδηγεί στη διαβητική σπειραματοπάθεια.

Τέλος, οι Schalkwijk et al, υποστηρίζοντας τη γενικότερη σημαντική συμβολή των προϊόντων Amadori στην παθοφυσιολογία των μικροαγγειακών επιπλοκών στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου I, απέδειξαν τη σημαντική συσχέτιση της πρόδρομης γλυκοζυλιωμένης πρωτεϊνικής μορφής με τη διαβητική νεφροπάθεια.⁴³

5.3. Διαβητική νευροπάθεια

Η απιοπαθογένεια της διαβητικής νευροπάθειας ακόμη και σήμερα δεν είναι πλήρως κατανοητή, αν και υπάρχουν διάφορες υποθέσεις, όπως οι μικροαγγειακές διαταραχές ή και οι επιπλοκές στο μεταβολισμό των νευρών και των κυττάρων Swann. Μια από τις πιο επίκαιρες σχετικές αναφορές έχει γίνει από τους Birrell et al, που διερεύνησαν τις μεταβολές στους νευρώνες βαβουίνων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I στα πρώτα 5 χρόνια της νόσου και την επίδραση της αμινογουανιδίνης σε αυτούς.⁴⁴ Σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους, η αμινογουανιδίνη δεν οδήγησε στην εξάλειψη της αναμενόμενης μειωμένης αγωγιμότητας των κινητικών νευρώνων, γεγονός που οδήγησε τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι τα AGEs δεν συμβάλλουν σημαντικά στα αρχικά στάδια εμφάνισης της διαβητικής νευροπάθειας. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, πειράματα σε διαβητικά ποτικία δείχνουν ότι η αμινογουανιδίνη οδηγεί στη σημαντική μείωση των διαταραχών του περιφερικού νευρικού συστήματος.^{9,12}

5.4. Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια – καταρράκτης

Οι Hammes et al διερεύνησαν την πιθανότητα της συμβολής των AGEs στη δημιουργία αμφιβληστροειδοπάθειας μέσω της αλληλεπίδρασής τους με τους υποδοχείς RAGE.⁴⁵ Στον αμφιβληστροειδή φυσιολογικών και διαβητικών αρουραίων οι ερευνητές μέτρησαν ορισμένους δείκτες μη ενζυμικών γλυκοζυλίωσεων, όπως π.χ. την AGE-καρβοξυ-μεθυλ-λυσίνη (AGE-CML), και διαπίστωσαν αυξημένη συγκέντρωσή τους στους ιστούς των διαβητικών πειραματοζώων.⁴⁵ Ακόμα, βρέθηκε αυξημένη έκφραση του υποδοχέα RAGE, γεγονός που πιθανολογεί ότι ο τελευταίος αλληλεπιδρά με τον επίτοπο CML και ότι ο μηχανισμός αυτός συμβάλλει στην ανάπτυξη της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας.⁴⁵

Ο φακός του οφθαλμού αποτελείται από επιθηλιακά κύτταρα, που εμπεριέχουν κρυσταλλίνες, οι οποίες είναι πρωτεΐνες μεγάλης ημίσειας ζωής. Κατά τη γήρανση, οι κρυσταλλίνες συσσωρεύουν χρωστικές καφέ χρώματος και μη αναγωγικά συμπλέγματα πρωτεϊνών AGE, εξαιτίας των γλυκοοξειδωτικών μετατροπών, στις οποίες υπόκεινται.⁴⁶ Στους ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη οι αλλαγές αυτές γίνονται με αυξημένη ταχύτητα και ευθύνονται κατά ένα μεγάλο ποσοστό στη δημιουργία του καταρράκτη.¹³

5.5. Ρευματοειδής αρθρίτιδα

Έχουν δημοσιευθεί περιπτώσεις διαβητικών ατόμων με βαριάς μορφής ρευματοειδή αρθρίτιδα και αγγειοπάθεια. Διαπιστώθηκε ότι αυτό οφείλεται στη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση της IgG, πιθανώς στο οξειδωτικό stress, καθώς και στη δημιουργία anti-IgG-AGEs.⁴⁷ Όσον αφορά τα anti-IgG-AGE αντισώματα, θεωρείται ότι η σύνδεση αντισώματος-αντιγόνου οδηγεί στη συσσωρευση IgG-AGEs, επειδή εμποδίζεται η φυσιολογική διαδικασία αποβολής των AGEs.⁴⁸

5.6. Μυοσκελετικές επιπλοκές

Τα AGEs θεωρούνται υπεύθυνα και για πολλές μυοσκελετικές διαταραχές, οι οποίες αποδίδονται στην αυξημένη σταυροσύνδεση των μορίων του κολλαγόνου και αναφέρονται συνολικά ως σύνδρομο του διαβητικού χεριού (diabetic hand syndrome).¹⁴ Χαρακτηριστικά του συνδρόμου είναι η αρθροπάθεια χεριών, η τοπική ισχαιμία και η ίνωση, η οποία αποδίδεται σε μειωμένη ιστική αποκατάσταση και επιταχυνόμενη γήρανση των ιστών.¹⁴

5.7. Διαβητική εμβρυοπάθεια

Όπως αποδείχθηκε σε μελέτες σε διαβητικά ποντίκια, τα AGEs συμβάλλουν στον εμβρυϊκό θάνατο και στην

τερατογένεση, που παρατηρείται κατά την κύηση σε διαβητικές μύτερες.⁴⁹⁻⁵¹ Μελέτες σε διαβητικά ποντίκια έδειξαν ότι η υπεργλυκαιμία δρα στα πρώιμα στάδια της οργανογένεσης, αλλά και σε στάδια πριν από αυτή, ενώ σε διαγονιδιακά ποντίκια βρέθηκε ότι σε διαβητικό περιβάλλον υπάρχει αύξηση της συχνότητας των μεταλλάξεων κατά 2 φορές.^{49,51} Επίσης, η υπεργλυκαιμία διαταράσσει τη γονιδιακή έκφραση που ρυθμίζει την εμβρυονική ανάπτυξη, προκαλώντας την πρώιμη απόπτωση των κυττάρων.^{50,52} Οι ακριβείς μηχανισμοί, όμως, δεν είναι ακόμη γνωστοί. Ένας επιπλέον παράγοντας θεωρείται η υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών κατά το μεταβολισμό της γλυκόζης, που ως γνωστό προκαλούν μεταλλάξεις. Η άποψη αυτή ενισχύεται και από το γεγονός ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών ουσιών ελαττώνει τις μορφογενετικές ανωμαλίες.^{50,52}

6. AGEs ΚΑΙ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΤΩΝ ΝΕΥΡΩΝ

Μια από τις νευρολογικές παθήσεις με τις οποίες σχετίζονται τα AGEs είναι η νόσος Alzheimer. Αναλύσεις των ιστικών μεταβολών στη νόσο Alzheimer δείχνουν εκτεταμένη νέκρωση των νευρικών κυττάρων, ανάπτυξη αμυλοειδών πλακών και νευροϊνιδιακών συμπλεγμάτων.¹ Το βασικό συστατικό της αμυλοειδούς πλάκας είναι το β-αμυλοειδές πεπτιδίο 4 (βA4), ενώ τα νευροϊνιδιακά συμπλέγματα αποτελούνται από την υπερφωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη tau, η οποία σχετίζεται με τους μικροσωληνίσκους.⁵³ Μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η βA4 *in vivo* υφίσταται επιπλέον μετατροπές μετά τη μετάφραση.⁵⁴ Η πιο συχνή από αυτές τις μετατροπές είναι εκείνη των πρωτεϊνών σε AGEs, η οποία προάγει τη δημιουργία συσσωματωμάτων και άμορφων συμπλεγμάτων πρωτεϊνών AGE στις αμυλοειδείς πλάκες και τα νευροϊνίδια.⁵³⁻⁵⁵ Στη νόσο Alzheimer, η εξωκυττάρια εναπόθεση των AGEs παρατηρείται στις αμυλοειδείς πλάκες του φλοιού του εγκέφαλου, στις αρχέγονες πλάκες, στη στεφάνη της κλασικής πλάκας και σε ορισμένα νευρογλοιακά κύτταρα, ενώ ενδοκυττάρια τα AGEs συσσωρεύονται σε ζεύγη ελικοειδών ινών και στα σώματα Hirano στον ιππόκαμπο.⁵⁴ Η δημιουργία των ενδοκυττάριας AGEs επιταχύνεται όταν οι συνθήκες είναι οξειδωτικές, ενώ εξίσου σημαντικό ρόλο παίζει η αλληλεπίδραση των AGEs με τους ειδικούς υποδοχείς RAGE.^{56,57} Αυτή προκαλεί την ενεργοποίηση των μονοπατιών της μεταγωγής σήματος στη μικρογλοία και σε νευρώνες, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ελευθέρων ριζών και την απελευθέρωση κυταροκινών.⁵⁵ Επίσης, το αλληλόμορφο του *apoE* θεωρείται παράγοντας υψηλού κινδύνου στις σποραδικές αλλά και στις οικογενείς περιπτώσεις εμφάνισης της νόσου.¹ Η ισομορφή *apoE₄* προάγει αρχικά τη δημιουρ-

γία AGEs και στη συνέχεια αμυλοειδών πλακών, διότι αφενός δεσμεύεται με το β-αμυλοειδές πεπτιδίο και αφετέρου είναι μόριο πλούσιο σε αργινίνες, που το καθιστούν επιρρεπές σε γλυκοζυλιώσεις.¹

Οι αντιδράσεις γλυκοοξειδωσης φαίνεται ότι συμβάλλουν σημαντικά και στην παθογένεια της νόσου Parkinson. Σύμφωνα με τους Munch et al, τα AGEs αποτελούν τα βασικά δομικά συμπλέγματα που μετατρέπουν τις διαλυτές πρωτεΐνες των νευρικών ινών στα αδιάλυτα σωματίδια Lewy.⁵⁵ Η δημιουργία των AGEs και σε αυτή την περίπτωση αυξάνεται κάτω από οξειδωτικές συνθήκες, κυρίως στην περιοχή της μελαινίας ουσίας και αποτελεί την αιτία νέκρωσης των νευρικών κυττάρων στην εν λόγω περιοχή.

7. AGEs ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ

Η συμβολή των AGEs στην εμφάνιση ορισμένων παθολογικών καταστάσεων που παρατηρούνται με τη γήρανση του οργανισμού είναι ανάλογες εκείνων του διαβήτη που προαναφέρθηκαν, μόνο που κατά τη γήρανση εξελίσσονται με πιο αργούς ρυθμούς.

Μελέτες των Tohgi et al σε εγκεφαλικό φλοιό από νεκροτομές ατόμων τρίτης ηλικίας έδειξαν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ της γήρανσης και της μεθυλίωσης των κυτοσινών του εκκινητή του γονιδίου του υποδοχέα RAGE.⁵⁶ Παρατηρήθηκε ότι οι μεθυλιωμένες κυτοσίνες ελαττώνονται σημαντικά σε συνάρτηση με τη γήρανση. Αυτές οι μειώσεις βρίσκονται στα σημεία προσκόλλησης των παραγόντων μεταγραφής, με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης του γονιδίου του RAGE και τη συνακόλουθη βλαβερή επίδραση του συμπλέγματος AGE-RAGE στον εγκέφαλο.

8. ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΤΩΝ AGEs

8.1. Διατροφή

Το πρώτο στάδιο αγωγής είναι η ρύθμιση και η βελτιστοποίηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα, με σκοπό να αποφευχθούν οι νέες αντιδράσεις γλυκοζυλίωσης στον οργανισμό. Γι' αυτόν το λόγο, η διατροφή των διαβητικών ατόμων θα πρέπει να είναι χαμηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη, αλλά και σε ήδη δημιουργημένες πρωτεΐνες AGE, οι οποίες μπορεί να υπάρχουν στους οργανισμούς από τους οποίους προέρχεται η τροφή.²¹ Επιπλέον, ο εμπλουτισμός της διατροφής με αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως οι βιταμίνες C και E, ή η απευθείας χορήγηση αυτών, μπορεί να λειτουργήσει ως συμπληρωματική αγωγή και να βοηθήσει στον

περιορισμό της συσσώρευσης των AGEs.^{27,57,58} Επίσης, η χορήγηση αντιφλεγμονωδών παραγόντων θα μπορούσε να οδηγήσει στην καταστολή ή ελάττωση των μυμάτων που ενεργοποιούνται από τις κυτταροκίνες.⁵⁷

8.2. Κάπνισμα

Ο καπνός του τσιγάρου έχει αποδειχθεί ότι περιέχει συστατικά με ικανότητες ομοιοπολικής αντίδρασης με πρωτεΐνες του εξωκυττάρου χώρου και του πλάσματος.⁵⁹ Αυτές οι αντιδράσεις και τα προϊόντα τους έχουν πολλές από τις ιδιότητες του μονοπατιού των AGEs. Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα AGEs που προέρχονται από καπνό τσιγάρου συσσωρεύονται στην LDL και σε πρωτεΐνες του ενδοθηλίου και του φακού του ματιού.⁵⁹ Τα στοιχεία αυτά αποκαλύπτουν μια νέα πηγή προέλευσης των προϊόντων Maillard και προσδίδουν μια επιπλέον διάσταση στην παθογένεια της αρτηριοσκλήρυνσης και των λοιπών νόσων που σχετίζονται με το κάπνισμα. Συνεπώς, η αποφυγή του καπνίσματος, ενεργητικού αλλά και παθητικού, θα συμπλήρωνε τη θεραπευτική αγωγή κατά των AGEs.

8.3. Αιμοκάθαρση

Στους διαβητικούς ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια, η αιμοκάθαρση αποτελεί ικανοποιητικό μέσο υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας. Ωστόσο, οι σύγχρονες μέθοδοι αιμοκάθαρσης οδηγούν στην αποβολή μόνο ενός μέρους από τα διάφορα είδη των AGEs. Αυτό οδηγεί στη συσσώρευση των AGEs εκείνων που δεν αποβάλλονται, με αποτέλεσμα τη βλαπτική τους επίδραση στα διάφορα όργανα-στόχους. Συνεπώς, χρειάζεται βελτιστοποίηση των μεθόδων αιμοκάθαρσης. Πάντως, θεωρείται ότι ένας υγιής νεφρός είναι σαφώς καλύτερος από την αιμοκάθαρση, αφού σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση νεφρού η λειτουργία του σπειράματος αποκαθίσταται και τα επίπεδα των AGEs μειώνονται στα φυσιολογικά όρια μέσα σε ένα χρονικό διάστημα λίγων μόνο ημερών.^{60,61}

8.4. Χρήση των πρωτεϊνικών σωματιδίων sRAGE

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αλληλεπίδραση των AGEs με τους υποδοχείς RAGE συμβάλλει στην παθογένεια της διαβητικής αρτηριοσκλήρυνσης, ενώ η χορήγηση του τμήματος sRAGE του υποδοχέα σε διαβητικά και ApoE-ανενεργά ποντίκια οδηγεί στην πλήρη καταστολή της νόσου.³³ Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση ότι τα πρωτεϊνικά σωματίδια sRAGE έχουν ανταγωνιστική δράση με τους υποδοχείς RAGE ως προς τη δέσμευση των AGEs. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της αλληλεπίδρασης AGE-RAGE και του κα-

ταρράκτη των γεγονότων που την ακολουθούν. Πιστεύεται ότι παράγοντες όπως τα πρωτεϊνικά σωματίδια sRAGE θα μπορούσαν να συμπληρώσουν τη θεραπευτική αγωγή της διαβητικής μικροαγγειοπάθειας.³³

8.5. Αναστολείς των AGEs

Η χορήγηση ουσιών που δρουν ως αναστολείς των πρωτεϊνών AGE θεωρείται ως η πλέον αποτελεσματική μέθοδος για την αντιμετώπιση των παθήσεων που σχετίζονται με τα AGEs. Γι' αυτόν το λόγο, ο ερευνητικός τομέας που ασχολείται με το σχεδιασμό αναστολέων της γλυκοζυλίωσης βρίσκεται σε σημαντική άνθιση αυτή την εποχή. Πάντως, υπάρχουν ακόμα πολλά προβλήματα, αφού η γλυκοζυλίωση στην οποία υπόκεινται τα διάφορα μακρομόρια δεν είναι αντίδραση ενός σταδίου, αλλά, όπως έχει προαναφερθεί, ένα ολόκληρο μονοπάτι διαδοχικών αντιδράσεων, που τελικά οδηγεί στα AGEs. Συνεπώς, υπάρχουν πολλοί περιορισμοί σε αυτή την προσπάθεια και ένας από αυτούς είναι το γεγονός ότι, ακόμη και σήμερα, παρά την αλματώδη πρόοδο, είναι ελλιπής η γνώση γύρω από τα ενδιάμεσα μεταβολικά στάδια που οδηγούν στα AGEs.

Αρχική σκέψη για τη δημιουργία αναστολέων ήταν η σχεδίαση μορίων, που θα έχουν δράση πριν από το στάδιο της μετατροπής των προϊόντων Amadori στα μη αντιστρεπτά AGEs και τα πρωτεϊνικά συμπλέγματα που αυτά δημιουργούν. Το 1986 αξιολογήθηκε σε πειραματόζωα η αμινογουανιδίνη και βρέθηκε ότι έχει την ικανότητα αναστολής της δημιουργίας πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων και της βλάβης στους ιστούς.^{62,63}

Σήμερα βρίσκεται στη φάση III κλινικής δοκιμασίας, πριν θεωρηθεί θεραπευτικό προϊόν για τη διαβητική νεφροπάθεια.^{62,63} Είναι μια μικρή, πυρηνόφιλη υδραζίνη, που έχει την ιδιότητα, παγιδεύοντας τις δραστικές καρβονυλικές ομάδες των προϊόντων Amadori, να αναστέλλει την περαιτέρω γλυκοζυλίωση αυτών και τη μετατροπή τους σε AGEs.¹³ Μια πιθανή τοξική δράση της αμινογουανιδίνης είναι ότι οδηγεί σε έλλειψη χρήσιμων για τον οργανισμό ενώσεων, όπως η βιταμίνη B₆.⁴

Η εξέλιξη των μεθόδων προσδιορισμού των προϊόντων ενδιάμεσων σταδίων Amadori οδήγησε στην παρατήρηση ότι η δράση της αμινογουανιδίνης είναι σχεδόν ανύπαρκτη σε πρωτεΐνες που έχουν υπερβεί το στάδιο της μετατροπής Amadori. Λαμβάνοντας υπόψη τη σημασία των προϊόντων Amadori, έχουν ανακαλυφθεί ουσίες που δρουν σε στάδια μετα-Amadori, με πιο ενεργό την πυριδοξίνη (βιταμίνη B₆).⁶² Αυτές οι ουσίες έχουν καταταχθεί ως *Amadorins* και έχουν την ικανότητα να προκαλούν τη διάσπαση των AGEs.^{2,4} Προκαταρκτικές έρευνες έχουν αποφέρει θετικά αποτελέσματα όσον αφορά την αξιολό-

γηση των ανωτέρω ουσιών σε συνθήκες *in vivo*.^{2,4} Συνεπώς, με τις ουσίες αυτές ανοίγεται ένας νέος δρόμος για το σχεδιασμό των AGE-αναστολέων.

Επιπλέον, έχει ανακαλυφθεί μια σειρά ενώσεων, που αναφέρεται ως σειρά LR, οι οποίες αξιολογήθηκαν σε προκαταρκτικά πειράματα ως 40 φορές πιο ικανοί αναστολείς από την αμινογουανιδίνη και 2–3 φορές από την πυριδοξίνη.⁶² Πιθανολογείται ότι αυτή η ομάδα ενώσεων δρα παγιδεύοντας τις δραστικές καρβονυλικές ομάδες των ενδιάμεσων σταδίων και το χαρακτηριστικό τους είναι ότι αποτελούν ουσίες δραστικές σε πολλαπλά στάδια του μονοπατιού των διαδοχικών γλυκοζυλίωσεων. Δρουν, δηλαδή, και σε προ- και σε μετα-Amadori στάδια και μπορούν να καταστέλλουν τις διασταυρούμενες αντιδράσεις των πρωτεϊνών AGEs.

Τέλος, διαπιστώθηκε ότι το πυροσταφυλικό οξύ καταστέλλει τις αντιδράσεις γλυκοοξειδωσης και οδηγεί σε σημαντική μείωση των συσσωματωμάτων κρυσταλλίνης, δρώντας ως ανταγωνιστής της γλυκόζης.⁶⁴

9. ΦΡΟΥΚΤΟΖΥΛΙΩΣΗ

Όπως με τη γλυκόζη, έτσι και με τη φρουκτόζη, η ελεύθερη καρβονυλική ομάδα του μορίου μπορεί να αντιδράσει μη ενζυμικά με τις αμινικές ομάδες των μακρομορίων, με βάση τις ίδιες χημικές αντιδράσεις, όπως και στη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση. Αντίστοιχα, οι αντιδράσεις αυτές αναφέρονται ως φρουκτοζυλίωσεις και οδηγούν στα τελικά προϊόντα υψηλής φρουκτοζυλίωσης.^{65,66} Οι περισσότερες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στη δράση της γλυκόζης, επειδή η τελευταία βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο αίμα. Παρόλα αυτά, η γλυκόζη έχει χαμηλή δραστικότητα, ενώ η φρουκτόζη είναι πιο ενεργός κατά την εκκίνηση της αντίδρασης Maillard.⁶⁵⁻⁶⁷ Σε όργανα όπως οι φακοί του ματιού, οι νεφροί και τα περιφερικά νεύρα, η φρουκτόζη συντίθεται από τη σορβιτόλη.⁵¹ Επίσης, η φρουκτόζη υπάρχει στην αγορά ως υποκατάστατο της γλυκόζης και χορηγείται ειδικά στα άτομα με διαβήτη. Τα παραπάνω, λοιπόν, εμπλέκουν και το μόριο της φρουκτόζης στις επιπλοκές που προαναφέρθηκαν για τα τελικά προϊόντα υψηλής γλυκοζυλίωσης.

10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα τελικά προϊόντα υψηλής γλυκοζυλίωσης είναι ενώσεις με σοβαρές επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Η έρευνα για τα AGEs έχει επικεντρωθεί σε τρεις κατευθύνσεις. Η πρώτη αφορά την κατανόηση του μεταβολικού δρόμου που οδηγεί σε αυτά, με σκοπό να βρεθούν ουσίες που είτε αναστέλλουν τη δημιουργία τους,

είτε καταστρέφουν τα ενδιάμεσα ή και τα τελικά προϊόντα. Η δεύτερη εστιάζει στη διερεύνηση του μηχανισμού μέσω του οποίου τα AGEs προκαλούν τις επιπτώσεις στον οργανισμό, με σκοπό την ανακάλυψη αναστολέων των δράσεών τους. Τέλος, η τρίτη κατεύθυνση έχει ως στόχο την εύρεση αποτελεσματικότερων τρόπων ανίχνευσης των AGEs, με σκοπό να χρησιμοποιηθούν τα AGEs ως δείκτες της αποτελεσματικότητας των καινούριων θερα-

πευτικών μεθοδολογιών, αλλά και της προόδου των διαφόρων επιπτώσεων των νόσων που σχετίζονται με αυτά.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστούμε τον καθηγητή Παιδιατρικής κ. Χρήστο Σπ. Μπαρτσόκα για τις εύστοχες υποδείξεις του κατά τη συγγραφή του κειμένου.

ABSTRACT

Advanced glycated end products. Biochemistry and implications in humans

B. HAVARANI, E. BOZAS

Department of Pediatrics, Faculty of Nursing, University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2001, 18(4):338–348

Advanced glycated end products (AGEs) arise from the non-enzymatic glycosylation of proteins, lipids, and nucleic acids by glucose. The AGE modified macromolecules have the ability to crosslink and to act as traps of plasma proteins, interfering in this way with tissue function. The cells which have receptors for AGEs are monocytes/macrophages, endothelial cells, T-lymphocytes, fibroblasts, mesangial cells and smooth muscle cells. Under normal conditions the interaction of AGEs with their receptors initiates a cascade of cytokines and growth factors involved in protein degradation and tissue repair. In pathological conditions such as diabetes mellitus because of hyperglycemia, this cascade operates in an accelerated mode and leads to tissue hyperplasia. AGEs have been associated with the etiopathogenesis in diabetes mellitus of atherosclerosis, nephropathy, neuropathy, retinopathy, diabetic hand syndrome, and possibly embryopathy. They have also been implicated in Alzheimer's and Parkinson's diseases, and in the process of aging. Designing AGE inhibitors is the main therapeutic target nowadays for the management of AGE associated conditions. Aminoguanidin is a compound which inhibits the conversion of the early glycation Amadori products to AGEs and is currently under phase III clinical trials for diabetic nephropathy. Healthy diet, avoidance of smoking and consumption of anti-oxidants such as vitamins C and E can complement therapy. Further research on AGEs will aid in the understanding and treatment of the conditions associated with their production.

Key words: Advanced glycated end products, AGE inhibitors, AGE receptors, Alzheimer, Diabetes mellitus

Βιβλιογραφία

1. WU JT, MING-CHIEH T, ZHUNG P. Advanced glycation end product (AGE): characterization of the products from the reaction between D-glucose and serum albumin. *J Clin Lab Anal* 1996, 10:21–34
2. BOOTH AA, KHALIHAF RG, TODD P, HUDSON BG. *In vitro* kinetic studies of formation of antigenic advanced glycation end products (AGEs). *J Biol Chem* 1997, 272:5430–5437
3. VLASSARA H, BUCALA R. Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptors. *Diabetes* 1996, 45(Suppl III):S65–S66
4. KHALIHAF RG, BAYNES JW, HUDSON BG. Amadorins: novel post-Amadori inhibitors of advanced glycation reactions. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, 257:251–258
5. BUCALA R, MAKITA Z, KOSCHINSKY T, CERAMI A, VLASSARA H. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:6434–6438
6. BROWNLEE M, VLASSARA H, GERAMI A. Non-enzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984, 101:527–537
7. BROWNLEE M, VLASSARA H, GERAMI A. Non-enzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low density lipoprotein. *Diabetes* 1985, 34:938–941
8. BROWNLEE M, GERAMI A, VLASSARA H. Advanced glycosylation end-products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 1988, 318:1315–1321
9. BROWNLEE M. Negative consequences of glycation. *Metabolism* 2000, 49(Suppl I):9–13
10. BETTERIDGE JD. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000, 49 (Suppl I):3–8
11. DURANY N, MUNCH G, MICHEL T, RIEDERER P. Investigations on oxidative stress and therapeutical implications in dementia. *Eur Arch Psychiatry Neurosci* 1999, 249(Suppl III):68–73

12. FIEDMAN EA. Advanced glycosylation end products and hyperglycemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1999, 22(Suppl II):B65–B71
13. BUCALA R, VLASSARA H. Advanced glycosylation end products in diabetic renal and vascular disease. *Am J Kidney Dis* 1995, 26:875–888
14. STANAWAY SERS, GILL GV. Protein glycosylation in diabetes mellitus: Biochemical and clinical considerations. *Pract Diab Int* 2000, 17:21–25
15. ΒΑΣΙΛΙΚΟΣ ΠΓ. Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις στο σακχαρώδη διαβήτη. Αντιγλυκοζυλιωτική και αντιοξειδωτική αγωγή. Στο: *Διαβήτης 2000*. Αθήνα, 2000, Τόμος Περιλήψεων, σελ. 104
16. SIEDEL W, PISCHETSRIEDER M. DNA-glycation leads to depurination by the loss of N2-carboxymethylguanine *in vitro*. *Cell Mol Biol* 1998, 44:1165–1170
17. ΣΚΑΡΑΓΚΑΣ Γ. Η συμβολή των προχωρημένων προϊόντων γλυκοζυλίωσης στην παθογένεια των διαβητικών επιπλοκών. *Ελλ Διαβητολ Χρον* 1997, 10:53–65
18. BUCALA R, LEE AT, ROURKE L, GERAMI A. Transposition of an Alu-containing element induced by DNA-advanced glycosylation end products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:2666–2670
19. ROY S, SALA R, CAGLIERO E, LORENZI M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: Phenomenon with a memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87:404–408
20. VLASSARA H, BROWNLEE M, GERAMI A. High affinity receptor-mediated uptake and degradation of glucose-modified proteins: a potential mechanism for the removal of senescent macromolecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82:5558–5592
21. THORNALLEY PJ. Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell Mol Biol* 1998, 44:1013–1023
22. PUGLIESE G, PRICCE F, ROMEO G, PUGLIESE F, MENE P, GIANNINI S ET AL. Upregulation of mesangial growth factor and extracellular matrix synthesis by advanced glycation end products via a receptor-mediated mechanism. *Diabetes* 1997, 46:1881–1887
23. PUGLIESE G, PRICCI F, LETO G, AMADIO L, IACOBINI C, ROMEO G ET AL. The diabetic milieu modulates the advanced glycation end product-receptor complex in the mesangium by inducing or upregulating galectin-3 expression. *Diabetes* 2000, 49:1249–1257
24. VLASSARA H, BROWNLEE M, MANOGUE KR, DINARELLO CA, PASAGIAN A. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose modified proteins: role in normal tissue remodelling. *Science* 1988, 246:1546–1548
25. DOI T, VLASSARA H, KIRSTEIN M, YAMADA Y, STRIKER GE, STRIKER LJ. Receptor-specific increase in extracellular matrix production in mouse mesangial cells by advanced glycosylation end products is mediated via platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:2873–2877
26. KIRSTEIN M, ASTON C, HINTZ R, VLASSARA H. Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end product-modified proteins. *J Clin Invest* 1992, 90:439–446
27. NAWROTH PP, BIERGHAUS A, VOGEL GE, HOFMANN MA, ZUMPACH M, WAHL P ET AL. Non-enzymatic glycation and oxidative stress in chronic illnesses and diabetes mellitus. *Med Klin* 1999, 94:29–38
28. BIERGHAUS A, CHEVION S, CHEVION M, HOFMANN MA, QUEHENBERGER P, ILLMER T ET AL. Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappa B is suppressed by alpha-lipoic acid in endothelial cells. *Diabetes* 1997, 46:1481–1490
29. MOHAMED AK, BIERGHAUS A, SCHIEKOFER S, TRITSCHLER H, ZIEGLER R, NAWROTH PP. The role of oxidative stress and NF-kappa B activation in late diabetic complications. *Biofactors* 1999, 10:157–167
30. ΚΑΦΟΥΡΟΥ Α. Η συνωμοσία των επιπλοκών στο διαβήτη. *Νεανικός Διαβήτης-Τα Νέα μας* 1999, 3:11–15
31. RENIER G, DESFAITS AC, SERRI O. Glyclazide decreases low-density lipoprotein oxidation and monocyte adhesion to the endothelium. *Metabolism* 2000, 49(Suppl I):S17–S22
32. BUCALA R. What is the effect of hyperglycaemia on atherogenesis and can it be reversed by aminoguanidine? *Diabetes Res Clin Pract* 1996, 30(Suppl):123–130
33. PARK L, RAMAN KG, LEE KJ, LU Y, FERRAN LJ, WING SC ET AL. Suppression of accelerated diabetic atherosclerosis by the soluble receptor for advanced glycation end products. *Nat Med* 1998, 4:1025–1031
34. VALLEJO S, ANGULO J, PEIRO C, NEVADO J, SANCHEZ-FERRER A, PETIDIER R ET AL. Highly glycated oxyhaemoglobin impairs nitric oxide relaxations in human mesenteric microvessels. *Diabetologia* 2000, 43:83–90
35. VLASSARA H, FUH H, MAKITA Z, KRUNGKRAI S, GERAMI A, BUCALA R. Exogenous advanced glycosylation end products induce complex vascular dysfunction in normal animals: a model for diabetic and aging complications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:12043–12047
36. HOGAN M, CERAMI A, BUCALA R. Advanced glycosylation end products block the antiproliferative effect of nitric oxide: role in the vascular and renal complications of diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992, 90:1110–1105
37. YAMAGISHI S, FUJIMORI H, YONEKURA H, YAMAMOTO Y, YAMAMOTO H. Advanced glycation end products inhibit prostacyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells. *Diabetologia* 1998, 41:1435–1441
38. MAKITA Z, RADOFF S, RAYFIELD EJ, YANG Z, SKOLNIK E, DELANEY E ET AL. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991, 325:836–842
39. ZHANG J, REN S, SHEN GX. Glycation amplifies lipoprotein(a)-induced alterations in the generation of fibrinolytic regulators from human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2000, 150:299–308
40. VLASSARA H, STRIKER LJ, TEICHBERG S, FUH H, LI YM, STEFFES M. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91:11704–11708
41. HUANG JS, GUH JY, HUNG WC, YANG ML, LAI YH, CHEN HC ET AL. Role of the Janus Kinase (JAK)/signal transducers and activators of transcription (STAT) cascade in advanced glycation end-product-induced cellular mitogenesis in NRK-49F cells. *Biochem J* 1999, 342:231–238
42. MENE P, PASCALE C, TETI A, BERNARDINI S, CINOTTI GA, PUGLIESE F. Effects of advanced glycation end products on cytosolic Ca²⁺ signaling of cultured human mesangial cells. *Am Soc Nephrol* 1999, 10:1478–1486
43. SCHALKWIJK CG, LIGTVOET N, TWAALFHOVEN H, JAGER A, BLAAUWGEERS HG, SCHLINGEMANN RO ET AL. Amadori albumin in type 1 diabetic patients: correlation with markers of endothelial function, association with diabetic nephropathy, and localization in retinal capillaries. *Diabetes* 1999, 48:2446–2453
44. BIRRELL AM, HEFFERNAN SJ, ANSSELIN AD, McLENNAN S, CHURGH DK, GILLIN AG ET AL. Functional and structural abnormalities in the

- nerves of type I diabetic baboons: aminoguanidine treatment does not improve nerve function. *Diabetologia* 2000, 43:110–116
45. HAMMES HP, ALT A, NIWA T, CLAUSEN JT, BRETZEL RG, BROWNLEE M ET AL. Differential accumulation of advanced glycation end products in the course of diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1999, 42:728–736
 46. ZHAO W, DEVAMANOHRAN RPS, VARMA SD. Fructose-mediated damage to lens alpha-crystallin: prevention by pyruvate. *Biochim Biophys Acta* 2000, 1500:161–168
 47. LIGIER S, FORTIN PR, NEWKIRK MM. A new antibody in rheumatoid arthritis targeting glycosylated IgG: IgM anti-IgG-AGE. *Br J Rheumatol* 1998, 37:1307–1314
 48. TAI AW, NEWKIRK MM. An autoantibody targeting glycosylated IgG is associated with elevated serum immune complexes in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2000, 120:188–193
 49. LEE AT, PLUMP A, DESIMONE C, GERAMI A, BUCALA R. A role for DNA mutations in diabetes-associated teratogenesis in transgenic embryos. *Diabetes* 1995, 44:20–24
 50. REECE EA, HOMKO CJ, WU YK, WIZNITZER A. The role of free radicals and membrane lipids in diabetes-induced congenital malformations. *J Soc Gynecol Invest* 1998, 5:178–187
 51. DIAMOND MP, HARBERT-MOLEY K, LOGAN J, PELLICER A, LAVY G, VAUGHN WK ET AL. Manifestation of diabetes mellitus on mouse follicular and pre-embryo development: effect of hyperglycaemia per se. *Metabolism* 1990, 39:220–224
 52. REECE EA, HOMKO CJ, WU YK. Multifactorial basis of the syndrome of diabetic embryopathy. *Teratology* 1996, 54:171–182
 53. KO LW, KO EC, NACHARAJU P, LIU WK, CHANG E, KENESSEY A ET AL. An immunohistochemical study on tau glycosylation in paired helical filaments. *Brain Res* 1999, 830:301–313
 54. LOSKE C, NEUMANN A, CUNNINGHAM AM, NICHOL K, SCHINZEL R, RIEDERER P ET AL. Cytotoxicity of advanced glycation end products is mediated by oxidative stress. *J Neural Transm* 1998, 105:1005–1015
 55. MUNCH G, GERLACH M, SIAN J, WONG A, RIEDERER P. Advanced glycation end products in neurodegeneration: more than early markers of oxidative stress? *Ann Neurol* 1988, 44(Suppl):S85–S88
 56. TOHGI H, UTSUGISAWA K, AGANE Y, UKITSU M, GENDA Y. Decrease with age in methylcytosines in the promoter region of receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene in autopsy human cortex. *Brain Res Mol Brain Res* 1999, 65:124–128
 57. DURANY N, MUNCH G, MICHEL T, RIEDERER P. Investigations on oxidative stress and therapeutic implications in dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1999, 249:68–73
 58. CERIELLO A. Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycosylation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Nutr Metab* 1999, 12:42–46
 59. NICHOLL DI, BUCALA R. Advanced glycation end products and cigarette smoking. *Cell Mol Biol* 1998, 44:1025–1033
 60. HENLE T, DEPPISCH R, BECK W, HERGESSELL O, HANSCH GM, RITZ E. Advanced glycosylated end-products (AGE) during haemodialysis treatment: discrepant results with different methodologies reflecting the heterogeneity of AGE compounds. *Nephrol Dial Transplant* 1999, 14:1968–1975
 61. FIORETTO P, KIM Y, MAUER M. Diabetic nephropathy as a model of reversibility of established renal lesions. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998, 7:489–494
 62. RAHBAR S, YERNINI KK, SCOTT S, GONZALES N, LAEZARI I. Novel inhibitors of advanced glycation end products. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, 262:651–656
 63. BROWNLEE M, VLASSARA H, KOONEY T, ULRICH P, GERAMI A. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science* 1986, 232:1629–1632
 64. SAXENA P, SAXENA AK, CUI XL, OBRENOVICH M, GUDIPATY K, MONNIER VM. Transition metal-catalyzed oxidation of ascorbate in human cataract extracts: possible role of advanced glycation end products. *Invest Ophthalmol Vis* 2000, 41:1473–1481
 65. LEVI B, WERMAN MJ. Long-term fructose consumption accelerates glycosylation and several age-related variables in male rats. *J Nutr* 1998, 128:1442–1449
 66. FUTH AJ. Glycosylated proteins in diabetes. *Br J Biomed Sci* 1997, 54:192–200
 67. KANETO H, FUJII J, MYINT T, MIYAZAWA N, ISLAM KN, KAWASAKI Y ET AL. Reducing sugars trigger oxidative modification and apoptosis in pancreatic β -cells by provoking oxidative stress through the glycosylation reaction. *Biochem J* 1996, 320:855–863
- Corresponding author:*
B. Havarani, 55 Fidioidou street, GR-115 27 Gudi, Athens, Greece