

Received: 2012.03.06  
Accepted: 2012.09.06  
Published: 2012.10.29

## Glikacja białek macierzy zewnątrzkomórkowej i jej znaczenie w miażdżycy\*

### Glycation of extracellular matrix proteins and its role in atherosclerosis

Aleksandra Kuzan<sup>1,3</sup>, Agnieszka Chwiłkowska<sup>1</sup>, Magdalena Kobielarz<sup>2,3</sup>,  
Celina Pezowicz<sup>2,3</sup>, Andrzej Gamian<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej

<sup>2</sup> Politechnika Wrocławska, Zakład Inżynierii Biomedycznej i Mechaniki Eksperymentalnej

<sup>3</sup> Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy

<sup>4</sup> Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirsfelda we Wrocławiu

#### Streszczenie

Proces glikacji polega na tworzeniu się produktów zaawansowanej glikacji (AGE) podczas nieenzymatycznej reakcji między cukrami redukującymi a białkami, lipidami lub kwasami nukleinowymi. W pracy omówiono glikację kolagenu i rolę tego procesu w rozwoju chorób naczyniowych. Kolagen jest białkiem macierzy zewnątrzkomórkowej o unikalnej strukturze tworzącej fibryle wytrzymałe na rozciąganie i rozerwanie. Białko to buduje tkankę łączną i jest odpowiedzialne za utrzymywanie integralności naczyń krwionośnych, a także za ich właściwości biomechaniczne. Stwierdzono, że większa zawartość glikowanego kolagenu jest skorelowana z mniejszą sprężystością i większą twardością ścian naczyń krwionośnych, a w konsekwencji szybszym tempem rozwoju zmian miażdżycowych. Z aterogenezą i tworzeniem AGE związanych jest wiele mechanizmów, m.in. generowanie wolnych rodników na skutek interakcji AGE z receptorem, stymulowanie procesu zapalnego, aktywacja leukocytów i trombocytów, ułatwianie wiązania LDL, zmiany w poziomie ekspresji czynników wzrostu, cząsteczek adhezyjnych, MMP i innych białek. Opisywane badania pozwalają na opracowywanie strategii dietetycznych i terapeutycznych mających zapobiegać lub spowolnić rozwój patologicznych procesów związanych z glikacją kolagenu i innych białek w ścianie tętnic. Główne działania w tej dziedzinie polegają na ograniczeniu przyjmowania egzogennych AGE, spożywaniu produktów zawierających rutynę, stosowaniu leków mających zahamować tworzenie się AGE, takich jak pirydoksamina oraz środków mających przełamywać wiązania krzyżowe w białkach, np. ALE-711.

**Słowa kluczowe:** AGE • produkty zaawansowanej glikacji • kolagen • tętnice • miażdżycza

\* Publikacja jest częścią projektu "WroVasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej", współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007–2013.



KAPITAŁ LUDZKI  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



## Summary

Glycation consists in formation of advanced glycation end-products (AGE) during non-enzymatic reaction between reducing sugars and proteins, lipids or nucleic acids. This review is focused mainly on glycation of collagen and its role in acceleration of vascular disease. Collagen is an extracellular matrix protein characterized by unique structure forming fibrils with great anti-tensile and anti-breaking strength. The protein builds the connective tissue and is responsible for biomechanical properties of blood vessels. It is reported that higher content of glycated collagen correlates with lower elasticity and greater toughness of the vessel walls and, as a consequence, a faster rate of atherosclerosis development. Numerous mechanisms connected with AGE formation are involved in atherogenesis, among others: receptor-mediated production of free radicals, triggering an inflammatory process, activation of leukocytes and thrombocytes, facilitation of LDL binding, change in level of growth factors, adhesion molecules, MMP and some other proteins' expression. The coverages allow the development of therapeutic strategies to prevent or slow down the pathological processes connected with glycation of collagen and other proteins in the artery wall. The main strategies are based on limitation of exogenous AGE, consumption of products which contain rutin, treatment with drugs which inhibit AGE formation, such as pyridoxamine, and chemicals which are able to cleave already formed AGE protein-protein crosslinks, such as ALT-711.

**Key words:** AGE • advanced glycation end-products • collagen • arteries • atherosclerosis

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1016359>

**Word count:** 2358

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 30

**Adres autora:** mgr Aleksandra Kuzan, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław; e-mail: [aleksandra.kuzan@gmail.com](mailto:aleksandra.kuzan@gmail.com)

**Wykaz skrótów:** **AGE** – końcowe produkty zaawansowanej glikacji (advanced glycation end-products); **CML** – karboksymetylolizyna (carboxymethyllysine); **EPC** – śródbłonkowe komórki progenitorowe (endothelial progenitor cells); **esRAGE** – endogenne wydzielane receptory dla AGE (endogenous secretory receptor for AGEs); **GM-CSF** – czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte and macrophage colony stimulating factor); **ICAM-1** – międzykomórkowy czynnik adhezji komórek; **LDL** – lipoproteiny o niskiej gęstości (low density lipoproteins); **MCP1** – białko chemotaktyczne monocytów 1 (monocyte chemoattractant protein 1); **M-SCF** – czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (macrophage colony stimulating factor); **NF-κB** – transkrypcyjny czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB); **PAI-1** – inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1 (plazminogen activator inhibitor-1); **RAGE** – receptory produktów zaawansowanej glikacji (receptor for advanced glycation end-products); **RFT** – reaktywne formy tlenu; **SR-A** – receptory zmiatające klasy A (scavenger receptors A); **sRAGE** – skrócone rozpuszczalne RAGE (soluble receptor for advanced glycation end-products); **TGF-β<sub>2</sub>** – transformujący czynnik wzrostowy β<sub>2</sub> (transforming growth factor β<sub>2</sub>); **V-CAM** – cząsteczka adhezji do śródbłonka naczyń (vascular cell adhesion molecule); **VEGF** – śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń krwionośnych (vascular endothelial growth factor).

## WPROWADZENIE

Glikacja jest wieloetapowym, nieenzymatycznym procesem, polegającym na reakcji cukrów redukujących, takich jak glukoza, fruktoza czy glukoza-6-fosforan z grupami aminowymi białek. Zjawisko to, choć w mniejszym stopniu, dotyczy również lipidów i kwasów nukleinowych, wywołując zmiany właściwości makrocząsteczek, a tym samym rozwijając choroby, takie jak powikłania naczyniowe

u diabetyków, oporność insulinowa, choroba Alzheimera, choroby degeneracyjne kości czy procesy degeneracyjne związane z wiekiem [27].

Proces glikacji zachodzi w żywych organizmach bardzo powoli w ciągu wielu tygodni. Jest to spowodowane tym, że tylko mała część glukozy występuje w postaci otwartej, czyli zawierającej wolną grupę aldehydową, która może reagować z grupami aminowymi białek [21]. Dlatego też problem

nieprawidłowego funkcjonowania glikowanych struktur dotyczy głównie białek z długim okresem półtrwania, takich jak kolagen czy inne białka macierzy zewnątrzkomórkowej [26].

Kolagen jest powszechnie występującym białkiem strukturalnym żywych organizmów. Jego sekwencja aminokwasowa charakteryzuje się regularnością występowania motywu glicyna-X-Y, gdzie w miejscu X często obecna jest prolina, a w miejscu Y – hydroksyprolina, co nadaje kolagenowi unikatową konformację pozwalającą na utworzenie niezwykle wytrzymałej, potrójnej helisy. Białko to cechuje duży polimorfizm molekularny; dotąd opisano 29 typów kolagenu [22], z czego 14 zidentyfikowano w ścianach naczyń krwionośnych [8,17]. Najwięcej występuje tam kolagenu typu fibrylarnego (I, III, V) tworzącego włókna, które zapewniają odpowiednie właściwości mechaniczne tkanek. Białko to odgrywa szczególnie ważną rolę w ścianach tętnic, nadając im odpowiednią wytrzymałość i sprężystość. W wyniku zmian w strukturze kolagenu zachodzących pod wpływem glikacji rozwijają się stany patologiczne, takie jak miażdżycza [17].

### PRZEBIEG GLIKACJI

Przebieg glikacji można podzielić na kilka etapów. Najpierw dochodzi do oddziaływania wolnej grupy aminowej, zwłaszcza lizyny lub argininy – białka z grupami karbonylowymi cukrów. W ten sposób powstaje zasada Schiffa, która w kolejnym etapie, przez przegrupowanie Amadoriego, zostaje przekształcona do enaminoilu. Opisane reakcje są odwracalne. Następny etap, polegający na przekształceniu powstałego produktu w ketoaminę, jest nieodwracalny. Zarówno enaminoile, jak i ketoaminy są uważane za tzw. wczesne produkty glikacji. Z nich powstają – w ramach reakcji Maillarda – końcowe produkty zaawansowanej glikacji (AGE – advanced glycation end-product), takie jak: furoilo-furanylo-imidazol (FFI), karboksymetylolizyna (CML), piralina, pentozydyna. AGEs mają zdolność tworzenia wiązań krzyżowych między białkami. Występują one w liczbie jedno połączenie krzyżowe na kilka setek cząsteczek [21].

Formowanie AGE jest katalizowane przez metale przejściowe, np. miedź i cynk, a hamowane przez czynniki redukujące, np. askorbinian. Dwudodatni jon żelaza funkcjonuje w tych reakcjach jako kofaktor [26].

W przypadku cząsteczek kolagenu w tworzeniu zasady Schiffa biorą udział grupy asparaginy, glutaminy lub poliproliny, które reagują z grupą karbonylową cukru (głównie grupą aldehydową glukozy i galaktozy lub ketonową fruktozy) formując następnie produkty Amadoriego, a ostatecznie AGE w reakcjach Maillarda.

### PRZYCZYNY GLIKACJI BIAŁEK

Glikacja jest procesem naturalnym i nie jest możliwa do zablokowania, a jej zwykły poziom nie szkodzi człowiekowi. Jednak w wyniku pewnych czynników dochodzi do intensyfikacji tego procesu. Do przyczyn wzrostu poziomu glikacji białek zalicza się:

- nasilenie działania czynników oksydacyjnych, np. w przebiegu cukrzycy, stanu zapalnego, infekcji;
- obniżenie poziomu czynników antyoksydacyjnych, takich jak witaminy A i E, selen, zredukowany glutation;

- obniżenie poziomu prekursorów detoksyfikujących AGE, np. reduktazy 3-deoksyglukozonu;
- mniejszą wydolność nerek w oczyszczaniu organizmu z prekursorów AGE;
- hiperglikemię, insulinooporność;
- nieprawidłowości w metabolizmie lipidów, np. zredukowana aktywność lipaz [12].

AGE mogą być pochodzenia nie tylko endogennego, ale także egzogenego. Ich źródłem mogą być produkty spożywcze zawierające AGE [24]. Powstają w czasie obróbki cieplnej pożywienia zawierającego cukry i/lub lipidy oraz białka. Szczególnie dużo AGE powstaje w procesach, w których tłuste lub mięsne produkty są poddawane wysokiej temperaturze, np. podczas smażenia [23].

### SPECYFIKA GLIKACJI KOLAGENU

W czasie prawidłowego formowania fibryli kolagenowych niektóre ε-aminowe grupy lizyn i hydroksylizyn w kolagenie są przekształcane przez oksydazę lizynową do grup aldehydowych, które następnie ulegają reakcji wiązania krzyżowego z lizyną lub hydroksylizyną sąsiadującej fibryli kolagenowej. Proces ten jest regulowany samorzutnie przez to, że dostępność lizyn dla oksydazy jest ograniczona sterycznie, w ten sposób fibryle są tworzone z optymalną wytrzymałością i sprężystością. Ta naturalna regulacja jest zaburzona, kiedy glikacja zmienia konformację cząsteczek kolagenu. Przekształcenia te następują w ściśle określonej kolejności. Najpierw dotyczą łańcucha głównego, potem stopniowo łańcuchów bocznych. Na skutek obecności wiązań krzyżowych tworzonych z AGE fibryle są mocniej między sobą usieciowane, a to powoduje, że naczynia krwionośne tracą sprężystość i są bardziej kruche [26].

Reddy i wsp. [19] przeprowadzili doświadczenia mające na celu określenie wpływu glikacji na ilościowe i jakościowe zmiany w kolagenie ściany aorty szczurów z wyindukowaną za pomocą streptozotocyny cukrzycą. Analiza biochemiczna wykazała, że ilość kolagenu całkowitego w ścianie aorty wzrosła o 21%, w tym ilość kolagenu rozpuszczalnego w neutralnych solach wzrosła o 34%, a ilość nierozpuszczalnego kolagenu, o bardzo wysokim stopniu usieciowania między fibrylami, wzrosła aż o 56%. Prawidłowy stopień usieciowania jest niezbędny do stabilizowania fibryli i odpowiada za właściwości mechaniczne tkanki. Zwiększenie usieciowania na skutek glikacji może mieć bardzo niekorzystny wpływ na strukturę i właściwości ścian tętnic, gdyż stają się one bardziej sztywne i twarde, z mniejszą zdolnością do przeciwstawiania się deformacjom. W konsekwencji zwiększa się ich wytrzymałość na ciśnienie krwi, ale stają się bardziej podatne na przerwanie [19]. Potwierdzają to wyniki analizy biomechanicznej, prowadzonej jednocześnie z wyżej opisanym doświadczeniem, które wykazały wzrost maksymalnego naprężenia ścian aort o 22%, wzrost wartości modułu Younga będącego wskaźnikiem sprężystości o 60% i wzrost twardości o 32% u grupy badanej w porównaniu z kontrolną. Ponadto maksymalne napięcie aort u szczurów z cukrzycą było zredukowane o 20%, co wskazuje na utratę sprężystości ścian naczyń [19].

Sugeruje się, że wzrost wytwarzania kolagenu usztywniającego ściany naczyń jest skutkiem nadekspresji czynników wzrostu stymulujących syntezę kolagenu [20],



podwyższenia poziomu receptorów kotwiczących kolagen w naczyniach [3] oraz obniżenia poziomu metaloproteinaz (MMP) regulujących katabolizm kolagenu [13].

#### **MECHANIZMY POWSTAWANIA MIAŻDŻYCY ZWIĄZANE Z GLIKACJĄ W ŚCIANACH TĘTNIC**

Miażdżycza jest przewlekłą chorobą naczyń krwionośnych, prowadzącą do patologicznych zmian w ścianach tętnic, wskutek czego są one bardziej sztywne. Stąd pochodzi nazwa łacińska *arteriosclerosis* oznaczająca stwardnienie tętnic. Etiologia miażdżycy wciąż nie jest do końca poznana.

Stwierdzono, że w blaszkach miażdżycowych aorty następuje akumulacja AGE, co jest związane z utratą sprężystości naczynia, zwłaszcza u osób z nadciśnieniem, niezależnie od wieku, występowania cukrzycy czy chorób nerek [11]. Potwierdzono też, że poziom AGE koreluje ze stopniem zaawansowania chorób naczyń wieńcowych [9].

Związek między glikacją a miażdżycą opiera się na wielu różnorodnych mechanizmach. Na początku utworzone AGE łączą się z receptorami. Najpowszechniejszymi z nich są RAGE – receptory błonowe przenoszące sygnały, esRAGE – endogenne rozpuszczalne RAGE, sRAGE – skrócone rozpuszczalne RAGE oraz AGER-1, galektyna 3 (lektyna), receptory zmiatające, tj. SR-AI, S-AII, CD36, SR-BI i inne [16]. Interakcja między AGE a RAGE powoduje aktywację oksydazy NADPH, a w następstwie wywołuje stres oksydacyjny w różnych typach komórek [16]. Skutkuje to indukcją procesów zapalnych w ścianach tętnic, aktywacją makrofagów i płytek krwi oraz zakrzepicą. Czynniki te odgrywają znaczącą rolę w rozwoju schorzeń naczyniowych [27].

Mechanizm powstawania procesów zapalnych wiąże się z aktywacją czynnika transkrypcyjnego NF-κB (nuclear factor kappa B – czynnik jądrowy kappa B) przez tworzone reaktywne formy tlenu (RFT). NF-κB aktywuje wiele genów prozapalnych, takich jak geny interleukin (IL-1b, IL-2, IL-6, IL-8), interferonu β i γ, białka chemotaktycznego monocytów 1 (MCP1 – monocyte chemoattractant protein 1), czynników pobudzających kolonie: granulocytów-makrofagów (GM-CSF), granulocytów (G-CSF), makrofagów (M-CSF), a także geny czynników wzrostu i różnicowania: VEGF, transformującego czynnika wzrostowego β2 (TGF-β2) oraz cząsteczek adhezyjnych: naczyniowej (VCAM-1) i międzykomórkowej (ICAM-1) [16,25].

Akumulacja AGE jest też związana z ograniczeniem dostępności tlenu azotu, który ma właściwości przeciwzapalne (obkurcza naczynia krwionośne, hamuje agregację płytek krwi, ma właściwości antyproliferacyjne), przez inaktywację tego związku do postaci peroksyazotku przez RFT [14]. Powstałe reaktywne formy azotu przekształcają LDL – lipoproteinę głównie odpowiedzialną za powstawanie miażdżycy, w postać bardzo łatwo przenikającą do ścian naczyń: NO<sub>2</sub>-LDL [18].

Obecność AGE wpływa też na aktywację monocytów, które nadekspresjonują receptor zmiatający CD36. Białko to ma wysokie powinowactwo do AGE, jest głównym receptorem glikowanych lipidów. W ten sposób lipoproteiny intensywniej są pobierane z krwi, formowane są komórki piankowate, a rozwój miażdżycy jest przyspieszony [12].

Generowanie w płytkach krwi przez produkty glikacji RFT skutkuje zwiększeniem wytwarzania prostanoidów, zahamowaniem wytwarzania prostacyklin oraz aktywacją działania inhibitora aktywatora plazminogenu PAI-1. W wyniku tych zmian płytka krwi ulega agregacji, proces rozpuszczania skrzepów jest zahamowany, fibryna jest stabilizowana, a w obrębie zmienionej miażdżycowo tkanki rozbudowywane są zakrzepy [30].

Na skutek zwiększonej ekspresji białka MCP-1 działającego chemotaktycznie oraz immunoglobulinowych białek adhezyjnych ICAM-1 i VCAM-1, do których wiąże się integryny leukocytów, wzmożona zostaje mobilizacja i adhezja tych komórek do ścian naczyń [27]. Po diapedezie monocyty przekształcają się w makrofagi, te uwalniają wiele enzymów, m.in. metaloproteinazy odpowiedzialne za pęknięcie pokrywy i tworzenie zakrzepów, a następnie przekształcają się w komórki piankowate, które budują rdzeń blaszki miażdżycowej [6].

Jak już zasygnalizowano, skutkiem obecności dużej ilości AGE w naczyniach krwionośnych jest degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej. W badaniach *in vitro* na komórkach HUVEC wykazano, że obecność glukozy w stężeniu powyżej 25 mM indukuje w śródbłonku ekspresję kolagenazy 1 (MMP-1; enzym degradujący kolagen typu I, II, III, VII, VIII, X oraz żelatynę – zdenaturowany kolagen) i żelatynazy A (MMP-2; enzym degradujący żelatynę, kolagen typu I, II, III, IV, VII, X) oraz obniża ekspresję stromielizyny 1 (MMP-3; trawi kolagen typu II, IV, IX, X, XI, żelatynę), a w monocytach indukuje ekspresję żelatynazy B (MMP-9; degraduje żelatynę, kolagen IV, V). Bez zmian pozostaje ekspresja inhibitora metaloproteinaz (TIMP-1). Z badań wysunięto wnioski, że wysokie stężenie cukru powoduje zachwianie równowagi MMP/TIMP w komórkach ścian naczyń, zwiększając udział metaloproteinaz, co powoduje, że przeważają procesy degradacyjne macierzy w tkance, a to z kolei wzmacnia rozwój miażdżycy i powoduje, że płytka miażdżycowa jest bardziej niestabilna [4,10].

Nadekspresjonowany na skutek działania NF-κB czynnik VEGF jest mitogenem dla komórek śródbłonka naczyniowego, przez co zwiększona zostaje przepuszczalność naczyniowa [27], a co za tym idzie więcej lipoprotein i leukocytów może wnikać do ściany tętnicy, co przyspiesza rozwój miażdżycy. Ponadto czynnik NF-κB przez oddziaływanie na szlak metaboliczny związany z apoptozą wpływa na obniżenie stosunku Bcl/Bax, a wzrost aktywności kaspazy 3 [27]. Stwierdzono, że w obszarach tętnic zmienionych miażdżycowo apoptozie ulegają szczególnie makrofagi i komórki mięśniowe, a liczba komórek, które ulegają procesowi programowanej śmierci jest tym większa im bardziej zaawansowana jest miażdżycza [1]. Ma to przełożenie na wyniki eksperymentalne – glikowany kolagen wytwarzany w reakcji katalizowanej przez dwudodatni jon żelaza ma właściwości cytotoksyczne i indukuje *in vitro* śmierć HUVEC, pierwotnych ludzkich monocytów i komórek innych linii [26].

Rzeczony rozwój miażdżycy i innych chorób sercowo-naczyniowych może być również związany z dysfunkcją śródbłonka na skutek powstawania zniszczeń w obrębie tej warstwy, które nie zostają naprawione przez krążące śródbłonkowe komórki progenitorowe (endothelial progenitor cells – EPC), jak to się dzieje w prawidłowych warunkach fizjologicznych [7]. Mechanizm działania AGE w tym przypadku polega

m.in. na glikacji adhezyjnego motywu RGD w fibronektynie, co sprawia, że EPC w mniejszym stopniu ulegają adhezji i migracji. Oddziaływanie RAGE może też powodować apoptozę EPC [27].

Dodatkowo AGE wpływają na różnicowanie się z pericytów (komórki przydanki) osteoblastów, co powoduje, że obszar podlegający glikacji może ulegać zwapnieniom [29]. Powstawanie w obrębie blaszki miażdżycowej depozytów wapnia jest charakterystyczne dla zaawansowanych stadiów miażdżycy i jest związane z dużym prawdopodobieństwem wystąpienia zawału serca [5].

#### SPOSOBY HAMOWANIA MIAŻDŻYCY PRZEZ INHIBICJĘ GLIKACJI

W żywych organizmach naturalnie funkcjonują pewne strategie ograniczania destrukcyjnego działania glikowanych białek. Podczas gdy połączenie AGE z RAGE i CD36 skutkuje serią niekorzystnych zmian w nabłonku i śródbłonku naczyniowym, oddziaływanie AGE z innymi receptorami może zniwelować szkodliwe właściwości AGE. Zaobserwowano, że oddziaływanie AGE z receptorem 1 (AGER1) hamuje generowanie RFT zależne od AGE i aktywację NF- $\kappa$ B przynajmniej w niektórych komórkach [2].

Najprostszym sposobem na świadome ograniczanie glikacji białek, a więc i rozwoju miażdżycy jest restrykcyjne podejście w doborze produktów spożywczych tak, aby zawierały możliwie najmniej AGE [27]. Jak wykazały badania na modelu zwierzęcym oraz wśród pacjentach z cukrzycą dieta z niewielką zawartością produktów glikacji powoduje znacznie mniejszą ekspresję cząstek adhezyjnych, mediatorów prozapalnych i innych czynników sprawczych rozwoju miażdżycy, tj. VCAM-1, MCP-1, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , kolagenu typu IV [27].

Powszechnie wiadomo, że w zapobieganiu chorobom naczyniowym korzystne jest spożywanie warzyw, owoców, zielonej herbaty czy wina. Za antymiażdżycowe działanie tych produktów odpowiedzialny jest występujący tam flawonoid – rutyna. Mikroflora jelitowa przetwarza ten związek w metabolity, które hamują działanie AGE. Są to pochodne kwercetyny i fenolu, takie jak kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy (3,4-DHPAA), 3,4-dihydroksytoluen (3,4-DHT), kwas 3-hydroksyfenylooctowy (3-HPAA) i kwas 4-hydroksy-3-metofenylooctowy (kwas homowanioliowy, HVA) [15]. Dowiedziono, że hamują one autooksydację glukozy. Dzieje się tak prawdopodobnie dlatego, że ketochinoinowe intermediały tych metabolitów blokują odpowiednie grupy aminowe kolagenu czyniąc je niedozwolnymi do reakcji z glukozą. Te spośród wyżej wymienionych związków (3,4-DHPAA i 3,4-DHT), które ponadto zawierają sąsiadujące grupy dihydroksylowe, wpływają na zdolność fenoli do hamowania katalizowanych przez jony żelaza i miedzi wytwarzanych wolnych rodników, stąd ich większa efektywność [15].

#### PIŚMIENICTWO

[1] Akishima Y., Akasaka Y., Ishikawa Y., Lijun Z., Kiguchi H., Ito K., Itabe H., Ishii T.: Role of macrophage and smooth muscle cell apoptosis in association with oxidized low-density lipoprotein in the atherosclerotic development. *Mod. Pathol.*, 2005; 18: 365–373

Opracowywane są farmakologiczne strategie celowane na zredukowanie patomechanizmów powodowanych przez AGE. Potencjalnymi czynnikami działającymi w ten sposób są związki należące do następujących grup:

- inhibitory glikacji i glikozylacji, czyli inhibitory tworzenia AGE *de novo*, tj. aminoguanidyna i pirydoksamina – są to związki, które reagują z ketonami i aldehydami, blokując proces tworzenia się AGE; dowiedziono, że podawanie tych leków hamuje rozwój chorób naczyniowych u otyłych szczurów; jest to strategia efektywna, ale wiąże się też z działaniami niepożądanymi, gdyż są one cytotoksyczne [21];
- związki przełamujące wiązania krzyżowe w AGE, m.in. fenylotiazol, DPTC (chlorek 4,5-dimetylo-3-fenilo-acylo-tiazolu), ALT-711 (chlorek 4,5-dimetylo-3-(2-okso-2-fenilo-etylo)-tiazolu) oraz LR-90 (4,40-(2-chloro-fenilo-ureid) – ich działanie polega na tym, że zniszczenie połączeń krzyżowych w kolagenie powoduje zniwelowanie usztywnienia struktury tętnicy [21];
- związki wpływające na obniżenie ekspresji RAGE powstających z udziałem RFT, np. beraprost – analog prostacyklin lub forskolina – aktywator cykazy adenylowej, supresory generowania RFT [28];
- związki chelatujące jony metali – udowodniono, że tworzenie CML z fruktozylizyny w PBS jest hamowane jeśli do układu doda się chelatorów metali [21];
- związki obniżające poziom stresu oksydacyjnego, np. inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę II, blocker receptora angiotensyny II typu 1 [12].

#### PODSUMOWANIE

Panuje przekonanie, że rozwój miażdżycy jest powodowany przez utrzymywanie diety wysokotłuszczowej. Tymczasem coraz więcej przybywa dowodów na to, że dzieje się tak też za sprawą produktów zawierających cukry, mogące być substratami w reakcji nieenzymatycznej glikacji. Drugim substratem często jest kolagen, a skutkiem glikacji tego białka jest usztywnienie jego struktury i w konsekwencji obniżenie sprężystości ściany tętnic. Mechanizmy bezpośrednio odpowiedzialne za wpływ AGE na miażdżycę są różnorodne i polegają m.in. na generowaniu stresu oksydacyjnego, aktywacji makrofagów i płytek krwi, promowaniu tworzenia zakrzepów i obszarów zwapnienia, przyspieszaniu pobierania LDL, degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, stymulowaniu apoptozy makrofagów i komórek mięśniowych oraz uniemożliwianiu naprawy śródbłonka przez EPC. Istnieje już wiele metod leczenia miażdżycy, również oparte na hamowaniu glikacji lub niwelowaniu jej skutków. Miażdżycą pozostaje jednak jednym z głównych problemów medycyny w krajach rozwiniętych, stąd wniosek, że należy zwrócić szczególną uwagę na profilaktykę – w tym wypadku związaną z higieną jedzenia, tak aby maksymalnie opóźnić moment, kiedy trzeba będzie farmakologicznie hamować już zapoczątkowane procesy.

[2] Cai W., He J.C., Zhu L., Lu C., Vlassara H.: Advanced glycation end product (AGE) receptor 1 suppresses cell oxidant stress and activation signaling via EGF receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 13801–13806

[3] Clyman R.I., McDonald K.A., Kramer R.H.: Integrin receptors on aortic smooth muscle cells mediate adhesion to fibronectin, laminin, and collagen. *Circ. Res.*, 1990; 67: 175–186



- [4] Death A.K., Fisher E.J., McGrath K.C., Yue D.K.: High glucose alters matrix metalloproteinase expression in two key vascular cells: potential impact on atherosclerosis in diabetes. *Atherosclerosis*, 2003; 168: 263–269
- [5] Doherty T.M., Asotra K., Fitzpatrick L.A., Qiao J.H., Wilkin D.J., Detrano R.C., Dunstan C.R., Shah P.K., Rajavashisth T.B.: Calcification in atherosclerosis: bone biology and chronic inflammation at the arterial crossroads. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 11201–11206
- [6] Glass C.K., Witztum J.L.: Atherosclerosis: the road ahead. *Cell*, 2001; 104: 503–516
- [7] Hoenig M.R., Bianchi C., Rosenzweig A., Sellke F.W.: Decreased vascular repair and neovascularization with ageing: mechanisms and clinical relevance with an emphasis on hypoxia-inducible factor-1. *Curr. Mol. Med.*, 2008; 8: 754–767
- [8] Jin X., Iwasa S., Okada K., Ooi A., Mitsui K., Mitsumata M.: Shear stress-induced collagen XII expression is associated with atherogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 308: 152–158
- [9] Kiuchi K., Nejima J., Takano T., Ohta M., Hashimoto H.: Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease activity in type 2 diabetic patients. *Heart*, 2001; 85: 87–91
- [10] Lipka D., Boratyński J.: Metaloproteiny MMP. Struktura i funkcja. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 328–336
- [11] McNulty M., Mahmud A., Feely J.: Advanced glycation end-products and arterial stiffness in hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 2007; 20: 242–247
- [12] Meerwaldt R., van der Vaart M.G., van Dam G.M., Tio R.A., Hillebrands J.L., Smit A.J., Zeebregts C.J.: Clinical relevance of advanced glycation endproducts for vascular surgery. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2008; 36: 125–131
- [13] Mondy J.S., Anstadt M.P., Franga D.L., Portik-Dobos V., Hutchinson J., Ergul A.: Decreased vascular matrix metalloproteinase abundance in diabetic patients with symptomatic macroangiopathy. *Ethn. Dis.*, 2002; 12(Suppl.3): 18–22
- [14] Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L.: Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.*, 2007; 87: 315–424
- [15] Pashikanti S., de Alba D.R., Boissonneault G.A., Cervantes-Laurean D.: Rutin metabolites: novel inhibitors of nonoxidative advanced glycation end products. *Free Radic. Biol. Med.*, 2010; 48: 656–663
- [16] Pietkiewicz J., Seweryn E., Bartyś A., Gamian A.: Receptory końcowych produktów zaawansowanej glikacji – znaczenie fizjologiczne i kliniczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 511–523
- [17] Plenz G.A., Deng M.C., Robenek H., Völker W.: Vascular collagens: spotlight on the role of type VIII collagen in atherogenesis. *Atherosclerosis*, 2003; 166: 1–11
- [18] Podrez E.A., Febbraio M., Sheibani N., Schmitt D., Silverstein R.L., Hajjar D.P., Cohen P.A., Frazier W.A., Hoff H.F., Hazen S.L.: Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1095–1108
- [19] Reddy G.K.: AGE-related cross-linking of collagen is associated with aortic wall matrix stiffness in the pathogenesis of drug-induced diabetes in rats. *Microvasc. Res.*, 2004; 68: 132–142
- [20] Rumble J.R., Cooper M.E., Soulis T., Cox A., Wu L., Youssef S., Jasik M., Jerums G., Gilbert R.E.: Vascular hypertrophy in experimental diabetes. Role of advanced glycation end products. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 1016–1027
- [21] Slatter D.A., Avery N.C., Bailey A.J.: Collagen in its fibrillar state is protected from glycation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2008; 40: 2253–2263
- [22] Söderhäll C., Marenholz I., Kerscher T., Rüschemdorf F., Esparza-Gordillo J., Worm M., Gruber C., Mayr G., Albrecht M., Rohde K., Schulz H., Wahn U., Hubner N., Lee Y.A.: Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. *PLoS Biol.*, 2007; 5: e242
- [23] Uribarri J., Cai W., Sandu O., Peppas M., Goldberg T., Vlassara H.: Diet-derived advanced glycation end products are major contributors to the body's AGE pool and induce inflammation in healthy subjects. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2005; 1043: 461–466
- [24] Uribarri J., Woodruff S., Goodman S., Cai W., Chen X., Pyzik R., Yong A., Striker G.E., Vlassara H.: Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2010; 110: 911–916.e12
- [25] Więclawek A., Wydmuch Z., Mazurek U., Besser P., Pacha J.: Czynniki aktywujące NFκB w procesach zapalnych. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2006; 60: 66–70
- [26] Xiao H., Cai G., Liu M.: Fe<sup>2+</sup>-catalyzed non-enzymatic glycosylation alters collagen conformation during AGE-collagen formation *in vitro*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007; 468: 183–192
- [27] Yamagishi S.: Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes. *Exp. Gerontol.*, 2011; 46: 217–224
- [28] Yamagishi S., Amano S., Inagaki Y., Okamoto T., Takeuchi M., Makita Z.: Beraprost sodium, a prostaglandin I<sub>2</sub> analogue, protects against advanced glycation end products-induced injury in cultured retinal pericytes. *Mol. Med.*, 2002; 8: 546–550
- [29] Yamagishi S., Fujimori H., Yonekura H., Tanaka N., Yamamoto H.: Advanced glycation endproducts accelerate calcification in microvascular pericytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 258: 353–357
- [30] Yamagishi S., Fujimori H., Yonekura H., Yamamoto Y., Yamamoto H.: Advanced glycation endproducts inhibit prostacyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells. *Diabetologia*, 1998; 41: 1435–1441

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.