

IMPORTANZA CLINICA DELLA VALUTAZIONE DELL'ACCUMULO DI AGEs (PRODOTTI TERMINALI DELLA GLICOSILAZIONE AVANZATA) NELLA MALATTIA DIABETICA

Traduzione a cura di Cristina Fatone, MD – C.U.R.I.A.M.O. (Centro Universitario Interdipartimentale Attività Motoria), Università di Perugia

Cardiovascular Diabetology



Review

Open Access

The clinical relevance of assessing advanced glycation endproducts accumulation in diabetes

Robbert Meerwaldt*¹, Thera Links², Clark Zeebregts³, Rene Tio⁴, Jan-Luuk Hillebrands⁵ and Andries Smit⁶

Address: ¹Department of Surgery, Isala Clinics, Zwolle, The Netherlands, ²Department of Endocrinology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands, ³Department of Vascular Surgery, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands, ⁴Department of Cardiology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands, ⁵Department of Cell Biology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands and ⁶Department of Vascular Medicine, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands

Email: Robbert Meerwaldt* - r.meerwaldt@isala.nl; Thera Links - t.p.links@int.umcg.nl; Clark Zeebregts - czeebregts@hotmail.com; Rene Tio - r.tio@thorax.umcg.nl; Jan-Luuk Hillebrands - j.l.hillebrands@med.umcg.nl; Andries Smit - a.j.smit@int.umcg.nl

* Corresponding author

Published: 7 October 2008

Received: 12 June 2008

Cardiovascular Diabetology 2008, 7:29 doi:10.1186/1475-2840-7-29

Accepted: 7 October 2008

This article is available from: <http://www.cardiab.com/content/7/1/29>

© 2008 Meerwaldt et al; licensee BioMed Central Ltd.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

La malattia cardiovascolare (CVD o cardiovascular disease) costituisce la maggiore causa di morbilità e mortalità associata al diabete. Numerose evidenze scientifiche dimostrano che i prodotti avanzati della glicazione (AGEs o advanced glycation endproducts) hanno un ruolo cruciale nel processo di aterosclerosi, in particolare nel diabete. L'accumulo di AGE costituisce una misura dello stress metabolico e ossidativo e potrebbe rappresentare la cosiddetta "memoria metabolica".

Inoltre, nella malattia diabetica, un crescente accumulo di AGE sembra essere strettamente correlato allo sviluppo di complicanze cardiovascolari.

Questo articolo focalizza la sua attenzione sulla rilevanza clinica della misurazione dell'accumulo di AGE nei pazienti con diabete, valutando il processo di formazione degli AGE, il loro potere predittivo di complicanze a lungo termine e la possibilità di intervenire contrastando la loro azione.

BACKGROUND

Nella popolazione diabetica il rischio di mortalità da malattia cardiovascolare risulta essere più del doppio di quello riferito alla popolazione generale (1). L'ATP III (Adult Treatment Panel) definisce il diabete come fattore di rischio equivalente alla malattia coronarica. Numerosi fattori metabolici ed emodinamici, cooperano nella malattia diabetica (2). Due importanti studi, il DCCT nel diabete di tipo 1 e l'UKPDS nel diabete di tipo 2, hanno definito una relazione di causalità tra l'iperglicemia cronica e le complicanze del diabete a lungo termine (3,4). Numerose e sempre più forti evidenze, identificano il ruolo degli AGEs come cruciale nel processo di aterosclerosi, in particolare nella malattia diabetica. L'accumulo di AGEs non è solo un indicatore dell'iperglicemia, ma rappresenta il carico metabolico complessivo (iperglicemia e dislipidemia), lo stress ossidativo e il processo infiammatorio (5). L'interazione tra gli AGEs e loro specifici recettori induce reazioni infiammatorie e la disfunzione endoteliale (6). Questo articolo focalizza la sua attenzione sull'importanza clinica della valutazione dell'accumulo di AGE nei pazienti con diabete, descrivendo le evidenze sul ruolo degli AGEs nella patogenesi della CVD e le possibilità di intervento. Infine discuterà l'importanza clinica nel valutare l'accumulo di AGE.

FORMAZIONE DEGLI AGEs

Secondo l'ipotesi originale di Maillard sulla formazione degli AGEs, nei pazienti diabetici la glicazione delle proteine tissutali (indotta dalla reazione di queste con zuccheri esosi ridotti) determina una loro alterazione strutturale e funzionale, precipitando lo sviluppo delle complicanze diabetiche (Figura 1) (7). Il processo di glicazione determina la formazione, reversibile, di prodotti precoci della glicosilazione, detti basi di Schiff e prodotti di Amadori (esempio HbA1c). Nel tempo questi prodotti precoci subiscono lenti e complessi riarrangiamenti che determinano la formazione di prodotti avanzati della glicazione (AGEs). Baynes e i suoi colleghi hanno definito l'importanza di condizioni ossidative e di specie reattive dell'ossigeno (ROS o reactive oxygen species) nella formazione di prodotti glicossidativi che costituiscono la maggiore classe di AGEs, accumulati nei tessuti di pazienti diabetici (5). Numerose evidenze inoltre, mostrano che i prodotti di Maillard, oltre a derivare da intermedi glicosilati, si formano anche a partire da prodotti intermedi derivanti dai lipidi, da cui poi si generano i prodotti avanzati di lipossidazione (ALEs o advanced lipoxidation products) (8). La dislipidemia è un fenomeno comune nelle persone con diabete e i lipidi costituiscono un'importante fonte di alterazioni proteiche. Così, nei pazienti diabetici, AGEs e ALEs possono formarsi simultaneamente nelle placche di aterosclerosi.

Altre vie determinanti la formazione degli AGE sono l'auto-ossidazione del glucosio, per reazione con specie reattive dell'ossigeno, e i composti carbonilici. (9,10). In particolare, il methylglyoxal, un metabolita dicarbonile reattivo del glucosio, sembra essere il principale precursore degli AGE reattivo, nelle cellule endoteliali. Nell'insufficienza renale inoltre, una ridotta clearance degli AGEs sierici può incrementare il loro accumulo tissutale mentre la formazione *de novo* e l'assorbimento di AGEs contenuti negli alimenti e derivati dal fumo, possono aggravare l'accumulo di AGE stesso (11-13).

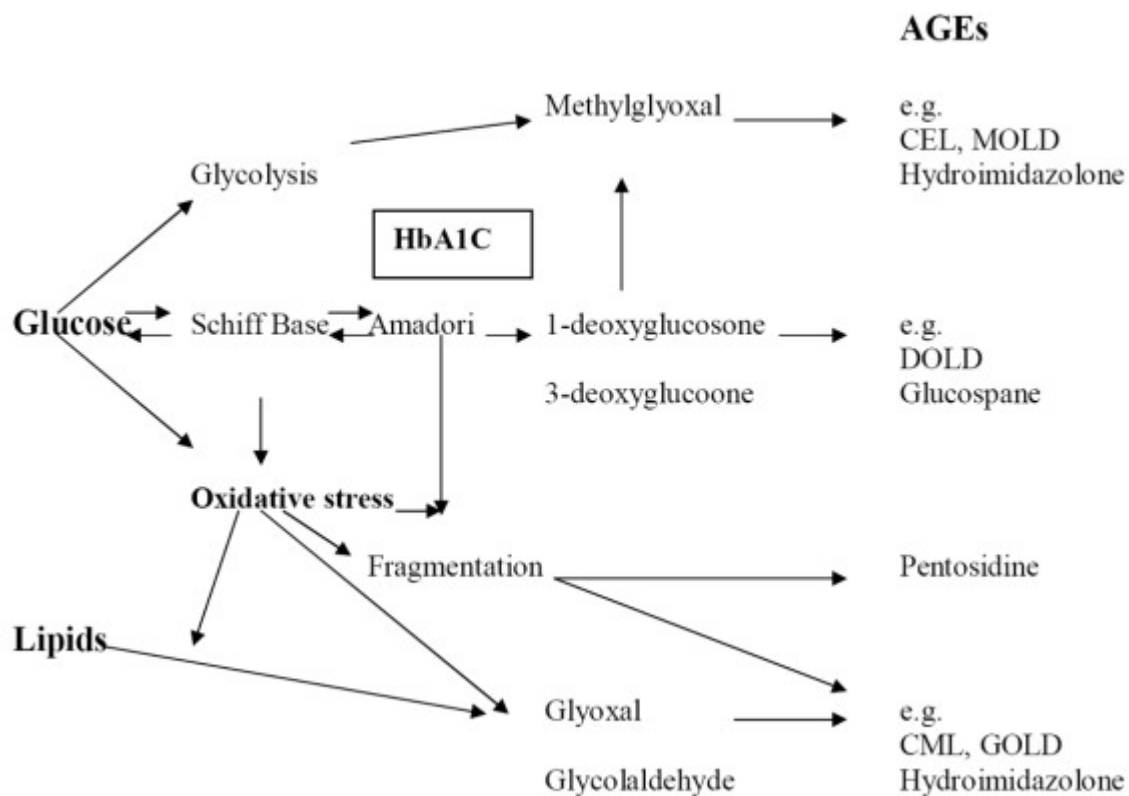


Figure 1
Simplified scheme of the complex Maillard reaction and formation of some advanced glycation endproducts (AGEs) in vivo. CEL = carboxyethyllysine; MOLD = methylglyoxal lysine dimer; DOLD, 3-deoxyglucosone lysine dimer; CML, carboxymethyllysine; GOLD, glyoxal lysine dimer. Redrawn with permission from Monnier VM, Arch Biochem Biophys. 2003;419:1-15.

Figura 1

Schema semplificato del Complesso della Reazione di Maillard e della formazione di alcuni prodotti di glicosilazione avanzata (AGEs) in vivo. CEL: carboxyethyllysine; MOLD: methylglyoxal lysine dimer; DOLD: 3-deoxyglucosone lysine dimer; CML: carboxymethyllysine; GOLD: glyoxal lysine dimer

VALUTAZIONE DELL'ACCUMULO DI AGE

Lo spettro di fluorescenza caratteristico degli AGE a 440 nm dopo eccitazione a 370 nm, è stato classicamente utilizzato per determinare l'accumulo tissutale degli AGE (14). Successivamente, sono stati utilizzati metodi biochimici e immunologici per misurare AGEs fluorescenti (come la pentosidina) e AGEs non fluorescenti (come la carboximethyl-lysina (CML) (15,16); ma la complessità, il costo e la non riproducibilità di queste più recenti metodologie, hanno determinato un loro limitato impiego. Negli ultimi anni, la spettrometria di massa ha facilitato considerevolmente l'uso, e migliorato la riproducibilità, dell'analisi di alcuni AGEs.

Inoltre, il dosaggio urinario e plasmatico degli AGE non necessariamente riflette il loro livello tissutale (17,18). Dopo la formazione, l'accumulo di AGEs dipende dalla vita media delle proteine a cui sono legati. Sulle proteine più longeve, come il collagene dell'epidermide, le proteine del cristallino e delle cartilagini, gli AGE si accumulano per tutta la vita dell'organismo. E le sedi ove si sviluppano le complicanze croniche del diabete sono proprio quelle dove si ritrovano le proteine di lunga vita (esempio membrana basale glomerulare, lente del cristallino). Sembra quindi appropriato preferire la valutazione dell'accumulo tissutale degli AGE all'esame di campioni plasmatici.

Sono state descritte anche tecniche non invasive per analizzare l'accumulo tissutale degli AGE, come l'autofluorescenza del cristallino o della cute. L'autofluorescenza del cristallino (eccitazione a 350-370 nm, emissione a 430-450 nm) è significativamente più alta nelle persone con diabete rispetto ai soggetti di controllo, paragonabili per età, e aumenta significativamente con la progressione della retinopatia diabetica (19). Alcuni anni fa, è stato elaborato uno strumento, il "lettore di AGE", per misurare in maniera non invasiva l'autofluorescenza della pelle. Diversi studi hanno evidenziato che l'autofluorescenza misurata col lettore di AGE, è strettamente correlata all'accumulo di AGE in soggetti sani, nei pazienti diabetici e nei pazienti dializzati (20-22). Anche altri studi hanno mostrato un incremento dell'autofluorescenza, in relazione all'accumulo di AGE e allo screening per diabete mellito di tipo 2 (23).

Table 1: AGEs and the prediction of cardiovascular disease

Author	Year	n	FU (yr)	Tissue	Complication
Simm [34]	2007	75	-	Pericardial	Perioperative cardiac events
Koyama [71]	2007	141	1,5	Serum	Cardiac events (heart failure)
Hartog [38]	2007	102	1,7	Serum	Cardiac events (heart failure)
Kilhovd [37]	2007	386	18	Serum	Cardiac mortality
Maerwaldt [22]	2005	109	3	Skin	Cardiovascular mortality
Maerwaldt [36]	2007	117	5	Skin	Cardiovascular mortality

n = number of patients, FU = follow-up in years, Tissue = tissue in which AGE content was measured.

ACCUMULO DI AGE E CVD

Le persone con diabete hanno un rischio aumentato di morbilità e mortalità cardiovascolare. Sia il DCCT che l'UKPDS hanno dimostrato che l'iperglicemia contribuisce ad aumentare il rischio cardiovascolare (3,4). Gli AGEs giocano un importante ruolo nello sviluppo e nella progressione della malattia cardiovascolare nelle persone con diabete. Nei pazienti con DM tipo 2 e malattia coronarica (CHD o coronary heart disease), i livelli sierici degli AGEs sono aumentati rispetto ai pazienti diabetici senza CHD, e correlano con la gravità della CHD (24). Anche dopo correzione per altri fattori di rischio cardiovascolare, resta l'associazione tra livelli sierici di AGE e CHD. Depositi di AGE sono stati dimostrati nelle placche aterosclerotiche e nelle fibre miocardiche (25,26). Nei pazienti con DM1 inoltre, i livelli sierici di AGE si associano al tempo di rilassamento isovolumetrico del ventricolo sinistro, marker della disfunzione diastolica del ventricolo sinistro (27).

I livelli di AGE sono inoltre correlati ad altre caratteristiche della CVD, come la malattia vascolare dei tronchi carotidei e periferica. Nei pazienti con DM2 e patologia arteriosa occlusiva periferica, i livelli di AGEs sono più alti rispetto ai pazienti non affetti da tale problematica (28). Inoltre, i livelli di AGE si correlano all'indice caviglia-braccio, anche dopo correzione per altri fattori di rischio cardiovascolare. Lo studio EURODIAB ha mostrato una stretta correlazione nel DM1 tra il polso pressorio e i livelli plasmatici di AGE (29).

Il recettore secretorio endogeno degli AGE (esRAGE o endogenous secretory receptor for AGEs) lega gli AGEs, neutralizzando la loro azione. Nei pazienti con DM1, i livelli circolanti degli esRAGE sono inversamente correlati allo spessore della tonaca intima e media dei vasi carotidei (30). Koyama e i suoi collaboratori, hanno evidenziato questa relazione inversa anche nei soggetti con DM2 e in soggetti non diabetici (31).

Nell'uomo, una espressione eccessiva di RAGE, è stata associata a un incremento delle reazioni infiammatorie nella regione vulnerabile della placca aterosclerotica, in campioni di endoarterectomia carotidea (32). E in uno studio di intervento è stato dimostrato che il trattamento con statine prima dell'endoarterectomia carotidea, riduce il processo infiammatorio e l'espressione di RAGE (33).

Gli AGEs sono correlati alle manifestazioni della CVD, ma forniscono anche informazioni di natura prognostica. La Tabella 1 descrive gli studi che hanno osservato una stretta relazione tra i livelli di AGE e lo sviluppo di CVD. Simm e i suoi collaboratori hanno dimostrato che il contenuto di AGE correla con un outcome sfavorevole, come evidenziato da eventi cardiaci avversi, in pazienti sottoposti ad interventi di cardiocirurgia (34). Gli AGEs sono inversamente correlati alla frazione di eiezione ventricolare sinistra, correlano con un tempo di ventilazione prolungato e un prolungato tempo di degenza nell'Unità di Terapia Intensiva. I livelli di AGE possono non solo predire l'outcome operativo, ma anche il tasso di successo degli interventi. Nei pazienti diabetici sottoposti ad interventi di posizionamento di stent cardiaci, un livello elevato di AGEs sierici sembra essere un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di re-stenosi (35).

Durante un follow-up a lungo termine abbiamo osservato che l'autofluorescenza cutanea è un forte predittore di sopravvivenza nei pazienti diabetici (22,36). In donne con diabete tipo 2, durante un periodo di follow-up di 18 mesi, è stato dimostrato che un aumento dei livelli sierici di AGEs predice la mortalità totale, cardiovascolare e coronarica, (37). Il livello di AGE costituisce un forte predittore di sopravvivenza, anche dopo correzione per fattori di confondimento (come la PCR). È stato inoltre dimostrato che i livelli sierici di AGE sono predittori di insufficienza cardiaca e di nuovi eventi cardiaci (38,39).

La figura 2 mostra i meccanismi attraverso i quali gli AGEs possono contribuire allo sviluppo di complicanze a lungo termine. In particolare, gli AGEs promuovono lo sviluppo di CVD nei diabetici attraverso l'induzione di una disfunzione endoteliale, di processi infiammatori e la determinazione di anomalie lipidiche. L'accumulo di AGE può essere correlato alla disfunzione endoteliale e i RAGE endoteliali sono stati proposti come punto chiave di questa interazione. Il legame degli AGEs ai RAGE attiva le cellule endoteliali, determinando un'aumentata espressione di molecole di adesione endoteliali come il VCAM-1 e l'attivazione di fattori di trascrizione come il NF- κ B (40). Molecole di adesione endoteliale e l'NF- κ B inoltre, aumentano l'adesività dei monociti e la permeabilità vascolare, accelerando il processo di aterosclerosi (41). Gli AGEs danno il via ai processi proliferativi infiammazione-mediati e contribuiscono alla diffusione dell'infiammazione nelle patologie macrovascolari (42-44). Attraverso l'interazione con i RAGE, gli AGEs inducono lo stress ossidativo. Gli AGEs promuovono inoltre il processo infiammatorio modificando le LDL, limitandone la clearance e promuovendone l'uptake da parte dei macrofagi (45,46).

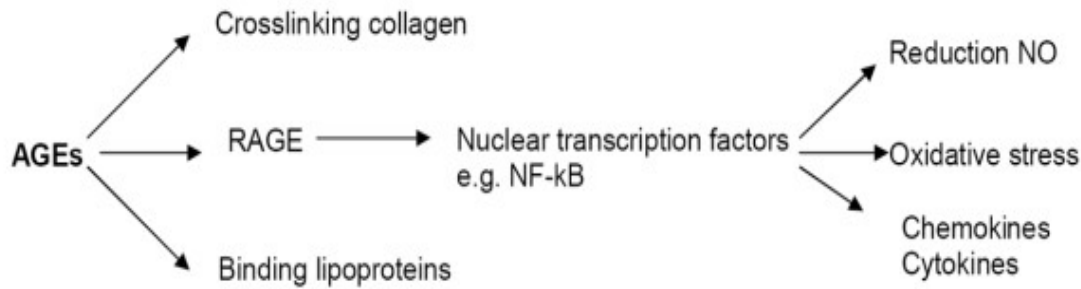


Figure 2
Pathogenetic effects of advanced glycation endproducts (AGEs). By binding and crosslinking extracellular matrix, e.g. collagen, AGEs induces vascular stiffness and increases vascular permeability. The interaction with AGE receptors (e.g. RAGE) induces endothelial dysfunction by reducing nitric oxide (NO), inflammatory reactions, and oxidative stress. Binding to lipoproteins increases the uptake of e.g. low density lipoproteins (LDL) by macrophages, which may lead to the formation of foam cells.

Figura 2

Effetti patogenetici dei prodotti di glicosilazione avanzata (AGEs).

Gli AGEs si fissano e legano la matrice extracellulare (es. collagene) determinando un incremento della rigidità della parete vascolare e un incremento della permeabilità vascolare.

ACCUMULO DI AGE E COMPLICANZE MICROVASCOLARI

Monnier e i suoi colleghi, hanno descritto per primi la relazione esistente tra l'accumulo di AGE nel collagene della cute e la severità di complicanze diabetiche a lungo termine (14). Beisswenger ha dimostrato che l'accumulo di AGE precede e si correla con manifestazioni precoci della malattia renale (47). Genuth è stato il primo a dimostrare che nel DM1 il livello di AGE nel collagene cutaneo (specialmente la carboxymethyllysina) è un forte predittore dello sviluppo e della progressione delle complicanze microvascolari, inclusa la nefropatia (48). E gli effetti degli AGEs cutanei risultano indipendenti dai valori precedenti di HbA1c o da quelli tardivi, durante la progressione di queste complicanze. Noi abbiamo recentemente dimostrato che l'autofluorescenza cutanea, anche dopo correzione per altri fattori di rischio, è un forte e indipendente predittore dello sviluppo di complicanze microvascolari, inclusa la nefropatia, nei pazienti con diabete mellito di tipo 2 (49). Gli AGEs mostrano un valore predittivo dello sviluppo di complicanze microvascolari, che è stato definito superiore rispetto agli altri comuni predittori di rischio, come la durata della malattia diabetica e i livelli di HbA1c. Questi risultati sono applicabili e validi nell'ambito della cura primaria delle persone con diabete mellito di tipo 2, secondo gli standard correnti. Inoltre, i livelli di AGE tissutali si dimostrano superiori ad un singolo valore di HbA1c nel predire la progressione di complicanze diabetiche (59), poiché gli AGE forniscono una misura del danno tissutale risultante dal carico metabolico complessivo, piuttosto che rappresentare fattori di rischio singoli (51). I livelli di AGE nel collagene cutaneo predicono il rischio di progressione futura delle complicanze diabetiche, indipendentemente dall'HbA1c.

Recentemente abbiamo osservato che i livelli di AGE si correlano alla neuropatia periferica e autonoma, ancor prima che la neuropatia si manifesti clinicamente (52). Inoltre l'accumulo cutaneo di AGE è fortemente correlato alla severità delle ulcere neuropatiche dei piedi. La malattia microvascolare può aggravare l'ulcerazione e la disfunzione endoteliale si è dimostrata correlata sia alla neuropatia diabetica che all'ulcerazione dei piedi (53). Inoltre, è stato evidenziato che l'accumulo degli AGE peggiora la funzione endoteliale e i RAGE endoteliali sono stati proposti

come fattori chiave in questa interazione. Il blocco dei RAGE accelera la guarigione della ferita in topi diabetici e sopprime il livello di citochine, come il TNF (54).

Gli AGEs, dopo interazione con i loro recettori (RAGE), determinano disfunzione endoteliale (riducendo la concentrazione dell'ossido nitrico), inducono reazioni infiammatorie e stress ossidativo.

Gli AGEs, legando le lipoproteine, inducono un incremento dell'uptake delle LDL da parte dei macrofagi, con conseguente formazione di cellule schiumose

AGE - TRATTAMENTO

Sono numerosi gli interventi possibili per contrastare la formazione degli AGE e il danno da loro mediato. Il controllo glicemico ottenuto con trattamento intensivo nei pazienti del DCCT, determina un più basso rischio di complicanze microvascolari rispetto ai pazienti trattati convenzionalmente (3). Il più basso rischio è associato a più bassi livelli di AGE, anche dopo correzione per il valore di HbA1c (3,55).

La scoperta di agenti chimici capaci di inibire le reazioni di glicazione potrebbe avere un enorme potenziale terapeutico. Ad esempio, la pyridoxamine, ha la capacità di inibire la formazione degli AGE e dei prodotti di Maillard derivanti dai lipidi, i prodotti avanzati della lipossidazione (ALEs) (56). La pyridoxamine è una delle forme naturali della Vitamina B. Non interagisce direttamente con i prodotti di Amadori, ma interferisce con le reazioni ossidative post-Amadori. Inoltre, "intrappolando" i composti carbonilici reattivi, inibisce i prodotti AGE e ALE. La pyridoxamina ha dimostrato ridurre lo sviluppo di complicanze vascolari e renali nei ratti obesi (57). Sono in corso trials clinici aventi lo scopo di valutare l'efficacia della pyridoxamina nell'inibire la progressione della proteinuria e l'iperlipidemia in pazienti diabetici.

La Benfotiamina è un derivato lipofilo della vitamina B1. Il suo meccanismo d'azione prevede la deviazione dei prodotti intermedi della via glicolitica verso la via di riduzione dei pentosi. La benfotiamina sembra ridurre, nei pazienti con DM2, gli effetti di una dieta ricca di AGE sulla disfunzione endoteliale (58).

Table 2: Clinical relevance of advanced glycation endproducts (AGEs)

Measure of long-term cumulative metabolic stress
AGEs as a mechanism for the "metabolic memory" observed in diabetes
Measure of oxidative stress (e.g. from smoking) and its' interaction with metabolic stress
Shows the resulting protein damage from various cardiovascular risk factors
AGEs are independent predictors of cardiovascular complications and mortality
Perioperative risk (e.g. cardiac events, pulmonary complications) is related to AGEs
AGEs may help in monitoring and tailoring diabetes treatment

Tabella 2

Importanza clinica dei prodotti di glicosilazione avanzata(AGEs)

Misura dello stress metabolico cumulativo a lungo termine

AGEs come meccanismo alla base della "memoria metabolica" descritta nel diabete

Misura dello stress ossidativo (ad esempio dal fumo) e della sua interazione con lo stress metabolico

Dimostrazione del danno proteico complessivo definito da diversi fattori di rischio cardiovascolare

Gli AGEs sono predittori indipendenti delle complicanze e della mortalità cardiovascolari

Il rischio operatorio (ad esempio eventi cardiaci, complicanze polmonari) è correlato agli AGEs

Gli AGEs possono essere d'aiuto nel follow-up e nella gestione terapeutica del paziente diabetico

Un altro approccio terapeutico è incentrato sulla rottura dei legami proteina-proteina preformati degli AGE. Alcuni agenti (detti anche AGE-breakers), sono capaci di scindere questi legami in vitro e sono stati oggetto di trials clinici, dimostrando effetti benefici non necessariamente o esclusivamente legati ai loro effetti demolitivi sui legami degli AGE. Composti come il 4,5-dimethyl-3 phenacylthiazolium, noto anche come ALT-711, è stato ampiamente sperimentato. In studi di fase 2, gli AGE-breakers hanno mostrato la capacità di rompere i legami preformati degli AGE e di migliorare la compliance arteriosa in pazienti anziani (59). Attualmente, sono in corso trials clinici sull'insufficienza cardiaca (es. studio BENEFICIAL).

Oltre agli agenti farmacologici diretti specificamente ai composti AGE, esistono agenti (di più comune utilizzo) capaci di ridurre l'accumulo di AGE. Farmaci antiipertensivi come gli ACE-inibitori e gli ARB (angiotensin receptor blockers), riducono l'accumulo di AGE, in relazione alla severità della nefropatia diabetica (60-62). La metformina è un altro farmaco che ha effetti addizionali sull'accumulo di AGE, riducendo ad esempio lo stress ossidativo (62-65). I composti derivati dalla guanidina bloccano i gruppi dicarbonile; la metformina (composto diamminobiguanide) può ridurre l'accumulo di AGE riducendo i livelli di methylglyoxal (66). Inoltre, la metformina è uno spazzino di ROS (67). Il trattamento con metformina migliora la funzione endoteliale nei pazienti con DM2 e questo effetto è indipendente dalle proprietà ipoglicemicizzanti (68).

In passato, la valutazione clinica dell'inibizione della formazione e dell'azione degli AGE, è stata limitata dalla preoccupazione per la tossicità a lungo termine di alcuni composti. Un importante obiettivo di trials in corso è proprio quello di monitorizzare eventuali effetti collaterali inaspettati. Senza informazioni sulla sicurezza e sull'efficacia clinica di alcuni agenti, i trials clinici non possono che essere focalizzati su pazienti con complicanze croniche, piuttosto che sulla prevenzione primaria in pazienti diabetici.

AGEs E IMPORTANZA CLINICA NEL DIABETE

Le tabelle 2 e 3 riassumono la potenziale rilevanza clinica e le prospettive future della valutazione dell'accumulo di AGE nei pazienti diabetici. Come appena descritto, l'accumulo di AGE è un forte predittore dello sviluppo e della progressione delle complicanze croniche del diabete. Molti studi hanno mostrato che i livelli di AGE si correlano a questi eventi indipendentemente dall'HbA1c e risultano anche predittori delle complicanze. Questo potrebbe essere in parte spiegato dal fatto che l'accumulo tissutale degli AGE riflette lo stress metabolico cumulativo (memoria metabolica) piuttosto che il controllo glicemico a breve termine (come l'HbA1c). L'accumulo di AGE non è solo una misura dello stress metabolico, ma anche dello stress ossidativo e carbonilico. In altre parole, esso esprime il danno delle proteine tissutali, risultante dall'azione di diversi fattori di rischio per la malattia cardiovascolare.

E' importante inoltre sottolineare che sia nelle persone con DMtipo2 che in quelle con IFG (impaired fasting glucose) esiste un simile e aumentato rischio cardiovascolare. Inoltre, la diagnosi di diabete non è definitiva nel corso del tempo (ad esempio un paziente obeso con diabete, se agisce per ridurre considerevolmente il suo peso, può guarire il suo diabete). Se quindi l'equilibrio metabolico complessivo risulta essere un fattore determinante il rischio cardiovascolare più forte dei livelli glicemici momentanei, o della diagnosi di diabete, il ruolo della valutazione dell'accumulo di AGE può assumere un valore indiscutibile.

Misurare i livelli tissutali di AGE può essere utile nel monitorizzare e nel delineare la terapia ottimale del diabete. Molti pazienti già usano per esempio, statine, ACE inibitori, o metformina, farmaci che possono tutti ridurre l'accumulo degli AGE. Trials clinici rivolti a valutare gli effetti di specifici inibitori o "demolitori" di AGE, sono limitati o ancora in corso; mentre i primi studi sono stati ostacolati dagli effetti collaterali degli agenti farmacologici sperimentati (es. sindrome da deficit di vitamina B12) (69).

Resta aperta la questione se gli AGEs costituiscano solo un fattore di rischio per CVD a lungo termine o se siano anche una misura dell'attuale attività della CVD. Se i livelli di AGE contribuiscono a identificare pazienti diabetici con malattia cardiovascolare instabile, diviene evidente l'importanza clinica della loro valutazione. Mancano però studi epidemiologici che esaminano i livelli di AGE come marker di placche vulnerabili. Tuttavia abbiamo recentemente osservato che l'autofluorescenza cutanea è un marker indipendente di infarto acuto del miocardio e può predire i principali eventi cardiaci avversi, un anno dopo l'evento acuto (Murder et al. American Heart Association 2006). Inoltre l'autofluorescenza cutanea è fortemente correlata ai markers di flogosi e allo stress ossidativo.

Table 3: Future clinical perspective of advanced glycation endproducts

Clinical trials with various anti-AGE interventions
Feasibility studies in daily clinical practise:
-metabolic control (e.g. HbA1c vs AGEs)
-tailoring treatment
-risk analysis of interventions (e.g. surgery)
Role of AGEs in subjects with impaired (fasting) glucose tolerance
Identifying the "vulnerable patient" at risk for cardiovascular disease in e.g. primary care

Tabella 3

Prospettiva clinica futura dei prodotti di glicosilazione avanzata(AGEs)

Trials clinici con diversi trattamenti anti-AGEs

Studi di fattibilità nella pratica clinica quotidiana:

controllo metabolico (HbA1c vs AGEs)

definizione ottimale della terapia

analisi del rischio di interventi (ad esempio chirurgia)

Ruolo degli AGEs in soggetti con intolleranza ai carboidrati

Identificare i "pazienti vulnerabili" a rischio di eventi cardiovascolari

Infine è importante valutare criticamente il valore di nuovi fattori di rischio cardiovascolare. Come descritto da Morrow et al. il valore di nuovi fattori di rischio può essere definito sulla base di 3 quesiti: si può misurare il fattore di rischio? aggiunge nuove informazione? e aiuta nel menage dei pazienti?(70). Come definito precedentemente, i livelli di AGE possono essere misurati, ma nella pratica clinica restano alcuni limiti importanti nel loro uso. I livelli degli AGE forniscono sicuramente nuove informazioni sullo sviluppo e sulla progressione della malattia cardiovascolare in pazienti diabetici e non. Attualmente sono in corso studi per valutare se i livelli di AGE possano realmente essere d'aiuto nel menage del paziente.

CONCLUSIONI

Gli AGEs sono implicati nella patogenesi delle complicanze croniche del diabete. Ricerche su animali e in vitro hanno mostrato che gli AGE, interagendo con recettori specifici, alterano proteine extracellulari e attivano la produzione di citochine e di fattori di trascrizione. L'accumulo di AGE correla strettamente con la severità e predice lo sviluppo di complicanze cardiovascolari. Numerosi interventi tesi a contrastare l'accumulo di AGE, prevalentemente sperimentati in contesti pre-clinici, sembrano mostrare effetti benefici sullo sviluppo/progressione di complicanze del diabete. I trials in corso, inclusi gli studi di fattibilità, possono definitivamente determinare l'importanza clinica della valutazione degli AGE nelle persone con diabete.

References

- Bo S, Ciccone G, Gancia R, Rosato R, Grassi G, Morletti F, et al.: Mortality within the first 10 years of the disease in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006, 16:8-12.
- Grundy SM, Cleeman JJ, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, et al.: Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004, 110:227-239.
- The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993, 329:977-986.
- Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998, 352:837-853.
- Baynes JW, Thorpe SR: Glycoxidation and lipoxidation in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 2000, 28:1708-1716.
- Thornalley PJ: Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1998, 44:1013-1023.
- Monnier VM: Nonenzymatic glycosylation, the Maillard reaction and the aging process. *J Gerontol* 1990, 45:B105-B111.
- Thorpe SR, Baynes JW: Maillard reaction products in tissue proteins: new products and new perspectives. *Amino Acids* 2003, 25:275-281.
- Wolf SP, Dean RT: Glucose autooxidation and protein modification. The potential role of 'autooxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J* 1987, 245:243-250.
- Kilhovd BK, Giardino I, Torjesen PA, Birkeland KI, Berg TJ, Thornalley PJ, et al.: Increased serum levels of the specific AGE-compound methylglyoxal-derived hydroimidazolone in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2003, 52:163-167.
- Myata T, Ueda Y, Yoshida A, Sugiyama S, Iida Y, Jadoul M, et al.: Clearance of pentosidine, an advanced glycation end product, by different modalities of renal replacement therapy. *Kidney Int* 1997, 51:880-887.
- Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buening C, et al.: Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94:6474-6479.
- Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Gardano D, Vanpatten S, et al.: Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94:13915-13920.
- Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR: Relation between complications of type 1 diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 1986, 314:403-408.
- Onorato JM, Thorpe SR, Baynes JW: Immunohistochemical and ELISA assays for biomarkers of oxidative stress in aging and disease. *Am N Y Acad Sci* 1998, 854:277-290.
- Taneda S, Monnier VM: ELISA of pentosidine, an advanced glycation end product, in biological specimens. *Clin Chem* 1994, 40:1766-1773.
- Hrick DE, Wu YC, Schulak A, Friedlander MA: Disparate changes in plasma and tissue pentosidine levels after kidney and kidney-pancreas transplantation. *Clin Transplant* 1996, 10:568-573.
- Dorrian CA, Cathcart S, Clausen J, Shapiro D, Dominiczak MH: Factors in human serum interfere with the measurement of advanced glycation endproducts. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1998, 44:1069-1079.
- Kessal L, Sander B, Dalgaard P, Larsen M: Lens fluorescence and metabolic control in type 1 diabetic patients: a 14 year follow up study. *Br J Ophthalmol* 2004, 88:1169-1172.
- Meerwaldt R, Graaff R, Oomen FH, Links TP, Jager JJ, Alderson NL, et al.: Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. *Diabetologia* 2004, 47:1324-1330.
- Meerwaldt R, Links T, Graaff R, Thorpe SR, Baynes JW, Hartog J, et al.: Simple noninvasive measurement of skin autofluorescence. *Am N Y Acad Sci* 2005, 1043:290-298.
- Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff R, Huisman RJ, Links TP, den Hollander NC, et al.: Skin autofluorescence, a measure of cumulative metabolic stress and advanced glycation end products, predicts mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16:3687-3693.
- Myrland JD, Rohrschob M, Way JF, Nguyen CM, Edgar MN: Noninvasive type 2 diabetes screening: superior sensitivity to fasting plasma glucose and A1C. *Diabetes Care* 2007, 30:1120-1124.
- Kiuchi K, Nojima 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.
- Schalkwijk CG, Baidoshvili A, Stehouwer CD, van Hinsbergh VV, Nèssen HW: Increased accumulation of the glycoxidation product Nepsilon-(carboxymethyl)lysine in hearts of diabetic patients: generation and characterization of a monoclonal anti-CML antibody. *Biochim Biophys Acta* 2004, 1636:82-89.
- Salata N, Meng J, Jini S, Takabayashi S: Nonenzymatic glycation and extractability of collagen in human atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 1995, 116:63-75.
- Berg TJ, Snorgaard O, Faber J, Torjesen PA, Hildbrandt P, Møhlsén J, et al.: Serum levels of advanced glycation end products are associated with left ventricular diastolic function in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999, 22:1186-1190.
- Lapolla A, Pirulli F, Sartore G, Ceriello A, Ragazzi E, Raitano R, et al.: Advanced glycation end products and antioxidant status in type 2 diabetic patients with and without peripheral artery disease. *Diabetes Care* 2007, 30:670-676.
- Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD: Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005, 46:232-237.
- Katakami N, Matsuhisa M, Kaneko H, Matsuoka TA, Sakamoto K, Nakatani Y, et al.: Decreased endogenous secretory advanced glycation end product receptor in type 1 diabetic patients: its possible association with diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 2005, 28:2716-2721.
- Koyama H, Shoji T, Yokoyama H, Muroyama K, Mori K, Fukumoto S, et al.: Plasma level of endogenous secretory RAGE is associated with components of the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25:2587-2593.
- Cipollone F, Iazzi A, Fazio M, Zucchelli M, Pini B, Cucurullo C, et al.: The receptor RAGE as a progression factor amplifying arachidonate-dependent inflammatory and proapoptotic response in human atherosclerotic plaques: role of glycemic control. *Circulation* 2003, 108:1070-1077.
- Cucurullo C, Iazzi A, Fazio ML, De Cesare D, Di Francesco A, Muraro R, et al.: Suppression of RAGE as a basis of simvastatin-dependent plaque stabilization in type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26:2716-2723.
- Simm A, Wagner J, Gursinsky T, Nass N, Friedrich I, Schirzöl R, et al.: Advanced glycation endproducts: a biomarker for age as an outcome predictor after cardiac surgery? *Exp Gerontol* 2007, 42:668-675.
- Choi EY, Kwon HM, Ahn CW, Lee GT, Jung B, Hong BK, et al.: Serum levels of advanced glycation end products are associated with in-stent restenosis in diabetic patients. *Yonsei Med J* 2005, 46:78-85.
- Meerwaldt R, Lugters HL, Links TP, Graaff R, Baynes JW, Gans RO, et al.: Skin autofluorescence is a strong predictor of cardiac mortality in diabetes. *Diabetes Care* 2007, 30:107-112.
- Kilhovd BK, Juustila A, Lehto S, Ronnemaa T, Torjesen PA, Hansen KF, et al.: Increased serum levels of advanced glycation endproducts predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study. *Diabetologia* 2007, 50:1409-1417.
- Hartog JW, Voors AA, Schalkwijk CG, Scheijen J, Smilde TD, Damman K, et al.: Clinical and prognostic value of advanced glycation end-products in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2007, 28:2879-2885.
- Koyama Y, Takeishi Y, Arimoto T, Nizaki T, Sheshido T, Takahashi H, et al.: High serum level of pentosidine, an advanced glycation

- and product (AGE), is a risk factor of patients with heart failure. *J Card Fail* 2007, 13:199-206.
40. Kunz T, Forst T, Wilhelm A, Tritschler H, Pfluegner A, Harzer O, et al.: Alpha-lipoic acid reduces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and endothelial adhesion of human monocytes after stimulation with advanced glycation end products. *Clin Sci (Lond)* 1999, 96:75-82.
 41. Libby P, Ridker PM, Maseri A: Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002, 105:1135-1143.
 42. Basta G, Schmidt AM, De Caterina R: Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res* 2004, 63:582-592.
 43. Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, et al.: Inflammatory mediators are induced by dietary glyco-toxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15596-15601.
 44. Yan SF, Ramasamy R, Naka Y, Schmidt AM: Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ Res* 2003, 93:1159-1169.
 45. Cai W, He JC, Zhu L, Peppas M, Lu C, Uribarri J, et al.: High levels of dietary advanced glycation end products transform low-density lipoprotein into a potent redox-sensitive mitogen-activated protein kinase stimulant in diabetic patients. *Circulation* 2004, 110:285-291.
 46. Sobal G, Menzel EJ, Sizinger H: Calcium antagonists as inhibitors of in vitro low density lipoprotein oxidation and glycation. *Biochim Pharmacol* 2001, 61:373-379.
 47. Beiswanger PJ, Makka Z, Curphay TJ, Moore LL, Jean S, Brinck-Johnsen T, et al.: Formation of immunochemical advanced glycosylation end products precedes and correlates with early manifestations of renal and retinal disease in diabetes. *Diabetes* 1995, 44:824-829.
 48. Ganuth S, Sun W, Cleary P, Sell DR, Dahms W, Malone J, et al.: Glycation and carboxymethyllysine levels in skin collagen predict the risk of future 10-year progression of diabetic retinopathy and nephropathy in the diabetes control and complications trial and epidemiology of diabetes interventions and complications participants with type 1 diabetes. *Diabetes* 2005, 54:3103-3111.
 49. Garrits EG, Lutgers HL, Kleefstra N, Graaff R, Groenier KH, Smit AJ, et al.: Skin Autofluorescence: A Tool to Identify Type 2 Diabetic Patients at Risk for Developing Microvascular Complications. *Diabetes Care* 2007.
 50. Wolfenbittel BH, Giordano D, Founds HW, Bucala R: Long-term assessment of glucose control by haemoglobin-AGE measurement. *Lancet* 1996, 347:513-515.
 51. Sell DR, Lapolla A, Odetti P, Fogarty J, Monnier VM: Pentosidine formation in skin correlates with severity of complications in individuals with long-standing IDDM. *Diabetes* 1992, 41:1286-1292.
 52. Maerwaldt R, Links TP, Graaff R, Hoogenberg K, Lefrandt JD, Baynes JW, et al.: Increased accumulation of skin advanced glycation end-products precedes and correlates with clinical manifestation of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 2005, 48:1637-1644.
 53. Vavas A, Akbari CM, Primavera J, Donaghy VM, Zacharouli D, Chrzan JS, et al.: Endothelial dysfunction and the expression of endothelial nitric oxide synthetase in diabetic neuropathy, vascular disease, and foot ulceration. *Diabetes* 1998, 47:457-463.
 54. Goova MT, Li J, Kislinger T, Qu W, Lu Y, Bucciarelli LG, et al.: Blockade of receptor for advanced glycation end-products restores effective wound healing in diabetic mice. *Am J Pathol* 2001, 159:513-525.
 55. Monnier VM, Bautista O, Kenny D, Sell DR, Fogarty J, Dahms W, et al.: Skin collagen glycation, glycooxidation, and crosslinking are lower in subjects with long-term intensive versus conventional therapy of type 1 diabetes: relevance of glycated collagen products versus HbA1c as markers of diabetic complications. DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group. *Diabetes Control and Complications Trial*. *Diabetes* 1999, 48:870-880.
 56. Metz TO, Alderson NL, Thorpe SR, Baynes JW: Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation and lipoxidation reactions: a novel therapy for treatment of diabetic complications. *Arch Biochem Biophys* 2003, 419:41-49.
 57. Alderson NL, Chachich ME, Yousof NN, Beattie RJ, Nachtigal M, Thorpe SR, et al.: The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits lipemia and development of renal and vascular disease in Zucker obese rats. *Kidney Int* 2003, 63:2123-2133.
 58. Stürban A, Negraru M, Stramann B, Gawłowski T, Horstmann T, Getting C, et al.: Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006, 29:2064-2071.
 59. Wolfenbittel BH, Boulanger CM, Crijs RR, Huijberts MS, Poitavin P, Swannan GN, et al.: Breakers of advanced glycation end products restore large artery properties in experimental diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95:4630-4634.
 60. Alderson NL, Chachich ME, Fritz all N, Canning P, Metz TO, Januszewski AS, et al.: Effect of antioxidants and AGE inhibition on chemical modification of proteins and progression of nephropathy in the streptozotocin diabetic rat. *Diabetologia* 2004, 47:1385-1395.
 61. Biwas SK, Lopes De Faria JM, Lopes De Faria JB, Davis BJ, Forbes JM, Thomas MC et al. (2004) Superior renoprotective effects of combination therapy with ACE and AGE inhibition in the diabetic spontaneously hypertensive rat. *Diabetologia* 47:89-97. *Diabetologia* 2004, 47:1471.
 62. Forbes JM, Cooper ME, Thallas V, Burns WC, Thomas MC, Brammar GC, et al.: Reduction of the accumulation of advanced glycation end products by ACE inhibition in experimental diabetic nephropathy. *Diabetes* 2002, 51:3274-3282.
 63. Miyata T, van Ypersele dS: Angiotensin II receptor blockers and angiotensin converting enzyme inhibitors: implication of radical scavenging and transition metal chelation in inhibition of advanced glycation end product formation. *Arch Biochem Biophys* 2003, 419:50-54.
 64. Nangaku M, Miyata T, Sada T, Mizuno M, Inagi R, Ueda Y, et al.: Anti-hypertensive agents inhibit in vivo the formation of advanced glycation end products and improve renal damage in a type 2 diabetic nephropathy rat model. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14:1212-1222.
 65. Beiswanger P, Ruggiero-Lopez D: Metformin inhibition of glycation processes. *Diabetes Metab* 2003, 29:6595-103.
 66. Beiswanger PJ, Howell SK, Touchette AD, Lal S, Swargold BS: Metformin reduces systemic methylglyoxal levels in type 2 diabetes. *Diabetes* 1999, 48:198-202.
 67. Bonnefont-Rousselot D, Raji B, Walrand S, Gardes-Albert M, Jore D, Legrand A, et al.: An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism* 2003, 52:586-589.
 68. De Jager J, Kocay A, Lebert P, Bets D, Wulftele MG, Teerlink T, et al.: Effects of short-term treatment with metformin on markers of endothelial function and inflammatory activity in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J Intern Med* 2005, 257:100-109.
 69. Thornalley PJ: Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem Biophys* 2003, 419:31-40.
 70. Morrow DA, de Lencos JA: Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation* 2007, 115:949-952.
 71. Koyama Y, Takezhi Y, Arimoto T, Nizaki T, Shshido T, Takahashi H, et al.: High serum level of pentosidine, an advanced glycation end product (AGE), is a risk factor of patients with heart failure. *J Card Fail* 2007, 13:199-206.