

Avanserte glykerte endeprodukter og hyperglykemi

Sammendrag

Hyperglykemi fører til økt danning og akkumulering av avanserte glykerte endeprodukter, og mye tyder på at disse molekylene har en viktig rolle i utviklingen av både mikro- og makrovaskulære senkomplikasjoner ved diabetes.

Danning av avanserte glykerte endeprodukter er komplekse reaksjoner som finner sted både ekstra- og intracellulært. Avanserte glykerte endeprodukter binder seg til egne reseptorer og påvirker reguleringen av gener, men har også evnen til å modifisere proteiner, DNA og lipider direkte.

Mengden avanserte glykerte endeprodukter i serum og vev er avhengig av flere faktorer. Først og fremst vil graden av hyperglykemi være bestemmende for nivået i kroppen, men evnen til å bryte ned og skille ut glykeringsprodukter i urinen vil også ha betydning. Den mest effektive måten for å hindre utvikling av senkomplikasjoner ved diabetes på grunn av glykeringsprodukter er streng regulering av blodsukternivåene.

Medikamenter som hemmer avanserte glykerte endeprodukter, kan tenkes å få betydning i forebyggingen av senkomplikasjoner ved diabetes, men det er behov for flere studier for å undersøke dette.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Tone Kristin Omsland

t.k.omsland@medisin.uio.no
 Institutt for allmenn- og samfunnsmedisin
 Universitetet i Oslo
 Postboks 1130 Blindern
 0318 Oslo

Hans-Jacob Bangstad

Endokrinologisk poliklinikk
 Kvinne-barn-divisjonen
 Ullevål universitetssykehus

Tore Julsrud Berg

Medisinsk klinikk
 Aker universitetssykehus

Svein Olav Kolset

Avdeling for ernæringsvitenskap
 Universitetet i Oslo

Pasienter med diabetes utvikler mikrovaskulære senkomplikasjoner som nefropati, retinopati, nevropati samt makrovaskulære forandringer som aterosklerose. Denne artikkelen tar for seg mulige mekanismer for hvordan avanserte glykerte endeprodukter (AGE) kan bidra til utvikling av vaskulære senkomplikasjoner ved diabetes med spesielt fokus på bindevevet i blodåreveggen.

Avanserte glykerte endeprodukter

Avanserte glykerte endeprodukter er en gruppe molekyler som dannes ved at proteiner blir irreversibelt modifisert av sukker og lipider (1). Glykeringen bidrar til at proteiner og vev endrer både struktur og funksjon. Danning av glykeringsproduktene skjer både i sirkulasjonen og i vev hos friske individer hele tiden. Ved ukontrollert diabetes vil høye blodsukternivåer føre til økt danning av sukkermodifiserte molekyler, og akkumuleringen i ulike vev tiltar (2). Prosessen er også aldersrelatert. De vanligste avanserte glykeringsproduktene er karboksymetyllysin, pentosidin og pyrralin. Ramme 1 viser ulike varianter som er karakterisert til nå (3–5).

Ekstracellulær glykering skjer hovedsakelig med utgangspunkt i glukose. Nyere studier viser at avanserte glykeringsprodukter også kan dannes fra intracellulære intermedier som fruktose, glukose-6-fosfat og glyseraldehyd-3-fosfat. Disse dannes mye raskere enn tilsvarende avanserte glykeringsprodukter fra glukose (6). Den raske intracellulære danningen av glykeringsprodukter kan påvirke funksjonen til proteiner, lipider og DNA. In vitro kan avanserte glykeringsprodukter som dannes på DNA, føre til mutasjoner (7).

Ved hyperglykemi vil muligheten for intracellulær danning av avanserte glykerte endeprodukter være størst i celler som har systemer som muliggjør stor transport av glukose inn i cellene, som for eksempel endotelceller (8).

I serum og vev

Nivået av avanserte glykerte endeprodukter er økt i vev hos pasienter med diabetes (9, 10). Karboksymetyllysin er den kvantitativt viktigste avanserte glykeringsproduktet in vivo (11). Sammenliknet med unge, friske individer var mengden karboksymetyllysin i bindevev fra hud økt sju ganger hos eldre pasienter uten diabetes, mens det ble vist en 20 ganger økning hos eldre pasienter med diabetes (9). McCance og medarbeidere fant en økning av glykert kollagen (av typen karboksymetyllysin og pentosidin) i hud fra pasienter med diabetes, og at mengden glykeringsprodukter økte med alvorlighetsgraden av retinopati og nefropati (12).

Serumnivåene av avanserte glykeringsprodukter og karboksymetyllysin er økt hos pasienter med type 1-diabetes. Denne økningen følger utviklingsgraden av nefropati og retinopati (13). Hos pasienter med type 2-diabetes er det også funnet liknende økning i serumnivåene (3, 14).

Til tross for at nivåene av avanserte glykeringsprodukter korrelerer med grad av senkomplikasjoner, brukes de ikke klinisk som markører for komplikasjoner. En av årsakene til dette kan være problemer med kvantitering. Med bedre metoder kan målinger av avanserte glykeringsprodukter vise seg å være til nytte i en klinisk sammenheng (6).

Reseptorer

En rekke reseptorer som binder avanserte glykerte endeprodukter, er beskrevet i litteraturen (ramme 2). Med unntak av reseptorer for avanserte glykerte endeprodukter som er involvert i intracellulær signalover-



Hovedbudskap

- Hyperglykemi fører til økt danning av avanserte glykerte endeprodukter
- Avanserte glykeringsprodukter bidrar til mikro- og makrovaskulære endringer
- Stoffe som hemmer avanserte glykeringsprodukter, hemmer også utviklingen av senkomplikasjoner



Figur 1 Danning av avanserte glykerte endeprodukter

føring, er disse reseptorene trolig involvert i degradering av produktene (15). Makrofager, vaskulære endotelceller og mesangialceller kan også ta opp avanserte glykerte endeprodukter via reseptorer, bryte dem ned og skille ut delvis degraderte produkter (16). I mus er det vist at Kupffer- og endotelceller i leveren tar opp glykeringsprodukter fra sirkulasjonen (17). Delvis degraderte glykeringsprodukter er svært reaktive intermediater som kan bidra til stor skade dersom de ikke blir fjernet fra sirkulasjonen. Nyrene fjerner disse intermediatene. Ved nyresvikt ses en opphopning av både glykeringsprodukter og delvis degraderte glykeringsprodukter i plasma og vev (7). Reseptoren for avanserte glykerte endeprodukter har en molekylvekt på 45 kDa og tilhører superfamilien immunoglobulinliknende reseptorer (3). Denne type reseptorer kan også binde en rekke andre ligander enn avanserte glykeringsprodukter (18).

Danning

Danningen av avanserte glykerte endeprodukter skjer gjennom en kompleks serie av kjemiske reaksjoner og kalles Maillard-reaksjonen eller bruningsreaksjonen. Glykeringen er en spontan reaksjon, avhengig av tid og glukosekonsentrasjon (1). Glyke-

ringen starter med at et reduserende sukker reagerer med aminogrupeer i proteiner og danner Schiff-baser (19) (fig 1). Reduserende sukker kan også reagere med aminogrupeer på nukleinsyrer og lipider. Schiff-basene blir raskt omdannet til mer stabile amadoriprodukter. Amadoriproduktene gjennomgår ulike reaksjoner som dehydrering, oksidering, syklisering og rearrangering og danner til slutt ulike avanserte glykerte endeprodukter.

Hvert enkelt glykeringsprodukt har sin spesielle reaksjonsvei. Danningen av avanserte glykerte endeprodukter er irreversibel, og disse kompliserte prosessene tar opptil flere uker. Glykosylert HbA_{1c}, som er det mest brukte målet på blodsukkerregulering over tid ved diabetes, er et amadoriprodukt som er på vei til å bli et avansert glykeringsprodukt, men reaksjonen har ikke nådd så langt. Det at danningen av amadoriprodukter er delvis reversibel og at levetiden til røde blodlegemer er ca. 120 dager, gjør at HbA_{1c} kan brukes til å vurdere reguleringen av blodsukkeret de siste 2–3 månedene (6).

Oksidativt stress har betydning for danning av avanserte glykeringsprodukter (6). Denne reaksjonsveien kalles ofte glykooksidasjon, fordi danningen innebærer både oksidasjon og glykering (4). Et økt oksidativt stress bidrar til skaping av reaktive karbonylforbindelser som stammer fra autooksidasjon av karbohydrater, proteiner og lipider. Avanserte glykeringsprodukter kan dannes ved hjelp av slike reaktive karbonylforbindelser ved at de reagerer med aminogrupeer på proteiner.

Metylglyoxal er en karbonylforbindelse med høy reaktivitet, og det er funnet høye nivåer i sirkulasjonen. Metylglyoxal kan dannes fra intermediater fra glykolyse, metabolisme av ketonlegemer og fra katabolisme av treonin (6). Økte serumnivåer av et glykeringsprodukt (hydroimidazolone) som stammer fra metylglyoxal er funnet hos pasienter med type 2-diabetes (20). Undersøkelser av humane plasmaproteiner viser signifikant høyere nivåer av avanserte glykeringsprodukter dannet ved oksidasjon hos type 2-diabetikere sammenliknet med friske kontrollpersoner (21).

I matvarer vil nivåene av glykeringsprodukter øke med høye temperaturer og oppvarmingstid. Betydningen av disse eksogene glykeringsproduktene i sirkulasjonen hos friske individer er omdiskutert. Hos pasienter med diabetes eller redusert nyrefunksjon kan nivåene av glykeringsprodukter i kosten tenkes å ha betydning, men det er behov for flere studier for å undersøke denne sammenhengen (4).

Intracellulær signaloverføring

Interaksjoner med reseptor for avanserte glykerte endeprodukter kan endre uttrykk av gener (3). Ved binding av avanserte glykeringsprodukter til reseptor, vil transkripsjonsfaktoren NFκB bli aktivert og regulere uttrykket av proinflammatoriske gener (22, 3). Interaksjon mellom avanserte glykerte endeprodukter og reseptor for avanserte glykerte endeprodukter i endotelceller fører til en oppregulering av reseptoren selv (ramme 2) (23). Det spekuleres i om ligander kan aktivere forskjellige signalveier og at dette skjer avhengig av celletype og differensiering (24).

Påvirker bindevevet

Ved diabetes skjer det systemiske endringer i blodårenes bindevev som fører til endringer i morfologi og egenskaper. Ekstracellulær matriks består av en rekke komponenter som lager et nettverk hvor hver komponent har sin spesielle plass og funksjon (25, 26). Avanserte glykeringsprodukter bidrar til at det blir ubalanse i syntese og degradering av disse langtlivende komponentene (7). Kollagener i bindevev og proteiner i øyets linse er eksempler på proteiner som er spesielt utsatt for å bli modifisert til å bli avanserte glykerte endeprodukter. Glykering av komponenter i ekstracellulær matriks fører til en mindre strukturert organisering av matrikskomponenter, redusert løselighet og omsetning. Endrede interaksjoner mellom ekstracellulær matriks og celler som følge av avansert glykering kan også føre til redusert celleadhesjon (7).

Glykeringsprodukter påvirker sammensetningen av ekstracellulær matriks via reseptor for avanserte glykerte endeprodukter. Interaksjonen påvirker signalsystemer som regulerer mengden matrikskomponenter. I nyrene er transformerende vekstfaktor-β viktig for regulering av ekstracellulær matriksyntese (26). Den er en sterk stimulator av cellevekst og bidrar til store endringer i ekstracellulær matriks. Bindevevsvekstfaktor (connective tissue growth factor, CTGF) er et annet signalmolekyl som er viktig for å mediere effektene av transformerende vekstfaktor-β. Interaksjon mellom avanserte glykeringsprodukter og reseptor for avanserte glykerte endeprodukter bidrar til økt uttrykk av tumornekrosefaktorer (TNF-α, TNF-β), interleukiner, vekstfaktorer og adhesjonsmolekyler (3). Disse prosessene er relevante for både diabetiske senkomplikasjoner, inflammasjon og aterosklerose.

Nefropati

Diabetisk nefropati er en progredierende tilstand som karakteriseres av endringer som fortykket glomerulær og tubulær basalmembran, ekspandert mesangium, glomerulo-

Ramme 1

Karakteriserte avanserte glykerte endeprodukter

- Karboksymetyllysin
- Karboksyetyllysin
- Pentosidin
- Pyrralin
- Imidazolone
- 2-(2-furoyl)-4(5)-furanil-1H-imidazol
- 1-alkyl-2-formyl-3,4-diglykosyl pyrrol
- Glyoxallysindimer
- Metylglyoxallysindimer

Ramme 2

Reseptorer for avanserte glykerte endeprodukter

- Reseptor for avanserte glykerte endeprodukter
- Scavenger-reseptor II (ScRII)
- AGE-R1 (Ost-48)
- AGE-R2 (p-90)
- AGE-R3 (galectin-3/p60/p90)
- CD36

sklerose, hypertrofi og tap av podocytter (27, 28). Den glomerulære basalmembranen er den viktigste delen av den glomerulære barrieren som hindrer passasje av makromolekyler både etter størrelse og ladning. Etter få års diabetesvarighet ses en fortykket basalmembran som er løsere sammensatt og har økt porestørrelse sammenliknet med friske kontrollpersoner (29). Disse endringene bidrar til proteinuri. Ramme 3 viser endringer i nyrenes bindevev ved diabetes.

I en prospektiv studie av 18 pasienter mellom 18 og 30 år med type 1-diabetes og mikroalbuminuri fant man at serumnivåene av avanserte glykeringsprodukter korrelerte med grad av tidlige morfologiske endringer i nyrevev, som blant annet tykkelsen på den glomerulære basalmembranen (30). Studien viste også at økte nivåer av avanserte glykeringsprodukter i serum var signifikant forbundet med økende grad av morfologiske nyreforandringer 2,5 år senere. Karboksymetyllysin og pentosidin er funnet i diabetiske glomeruli ved farging av biopsier, men ikke hos friske kontrollpersoner (31). Det ble også vist en oppregulering av mRNA for reseptor for avanserte glykerte endeprodukter samt en økt immunfarging av reseptor for avanserte glykerte endeprodukter på podocytter i disse biopsiene.

Transformerende vekstfaktor- β er oppregulert i nyrene hos pasienter med diabetisk nefropati (26). Det glomerulære nivået av kollagen type IV, laminin og mRNA for transformerende vekstfaktor- β var økt etter injeksjoner av avanserte glykeringsprodukter i mus (32). I nyreepitelceller er det vist at karboksymetyllysin fører til endringer i proteoglykansyntesen (33). Injeksjon av avanserte glykeringsprodukter i friske, ikke-diabetiske rotter resulterte i økt tykkelse av den glomerulære basalmembranen, mesangial ekspansjon og albuminuri (34, 35).

Glykering og aterosklerose

Ved aterosklerose ses akkumulering av aterosklerotisk plakk på innsiden av arterier og okklusjon av blodstrømmen. Under endotelet er det bindevev, glatte muskelceller, makrofager og T-lymfocytter. Bindevevet er på ingen måte en passiv del av blodåreveggen, men tar del i viktige prosesser som cellemigrasjon, proliferasjon, lipoproteinretensjon og trombose (25). Endret sammensetning av ekstracellulær matriks bidrar til redusert elastisitet i blodåreveggene. Økt glykering av kollagen fører til at LDL og andre plasma-proteiner lettere fanges i åreveggen og bidrar til lesjoner (1). Proteoglykaner i åreveggene har en viktig rolle i forhold til organiseringen av ekstracellulær matriks, permeabilitet, proliferasjon, trombose og lipidmetabolisme. Blodplatederivert vekstfaktor (platelet derived growth factor, PDGF), transformerende vekstfaktor- β , interleukin-1 har vist seg å påvirke proteoglykansyntesen i glatte muskelceller (25). Ramme 4 viser effekter av avanserte glykerte endeprodukter på celler som er involvert i den aterosklerotiske prosessen (3).

Danning av avanserte glykeringsprodukter på sirkulerende plasmaproteiner og lipider kan føre til endringer både i funksjon og levetid. LDL som er modifisert med glykeringsprodukter, vil oksideres lettere in vitro. Samtidig vil oksidert LDL lettere bli modifisert av avanserte glykeringsprodukter (7). LDL-reseptorer binder verken glykert eller oksidert LDL. Disse LDL-molekylene vil da kunne bli tatt opp av scavenger-reseptorer i stedet og bidra til aterosklerotisk plakkdannning i åreveggene. Glykering av HDL fører til økt utskifting og gjør den reverse kolesteroltransporten mindre effektiv (1).

Høye nivåer av karboksymetyllysin er observert i aterosklerotiske plakk og i skumceller (9). En ny norsk studie av Kilhovd og medarbeidere viste at høye serumnivåer av glykeringsprodukter kunne predikere mortalitet av koronar hjertesykdom hos kvinner uten diabetes, men ikke hos menn (36).

Farmakologisk hemming

Flere farmakologiske tilnæringsmåter er testet ut for å hemme effektene av avanserte glykerte endeprodukter. Aminoguanidin hemmer danning av både avanserte glykeringsprodukter og reaktive oksygenintermediater. Aminoguanidin viste tidlig lovende resultater både i celle- og dyremodeller (37). Hos pasienter med type 1-diabetes hemmet aminoguanidin utviklingen av diabetisk nefropati og proteinuri, men pasientene fikk alvorlige bivirkninger (glomerulonefritt, anemi) som førte til at studien måtte avsluttes. Aminoguanidin kan derfor ikke brukes som behandling ved diabetisk nefropati.

In vitro er det vist av angiotensinkonvertasehemmere og angiotensin II-reseptor-1-antagonister reduserer danning av avanserte glykerte endeprodukter ved å hemme danning av oksidative glykeringsprodukter (37). Polyolreaksjonsveien har vist seg å være involvert i danning av glykeringsprodukter, og hemmere av aldose reduktase har hemmet danningen av avanserte glykeringsprodukter i erythrocytter etter to måneder (38).

Amadoriner hemmer omdanning av amadorinprodukter til avanserte glykeringsprodukter. Pyridoksamin er en av tre former for vitamin B₆, og var den første varianten av amadoriner som ble beskrevet. Data fra kliniske studier har vist lite bivirkninger og hemming av kjente avanserte glykeringsprodukter (37). En fase 3-studie hvor man har sett på effekter i forhold til nefropati viser lovende resultater både i forhold til toleranse og effekter på albuminuri (39).

Et stoff (Alt-711) som bryter opp glykeringskappede tverrbindinger («cross-links») reduserte på samme måte som aminoguanidin aterosklerosegraden hos diabetiske og aterosklerotiske mus (40). Dette er trolig mest egnet for pasienter som har massiv deponering av avanserte glykeringsprodukter i vevet, men det er behov for flere studier for å undersøke dette (37).

Tiamin og et fettløselig derivat av dette

Ramme 3

Endringer i matrikskomponenter i den glomerulære basalmembranen og mesangium ved diabetes

Mesangium

- Kollagen I – bare påvist i sene faser av glomerulosklerose
- Kollagen III – bare påvist i sene faser av glomerulosklerose
- Kollagen IV – økt mengde
- Kollagen V – økt mengde
- Fibronektin – økt mengde
- Laminin – økt mengde
- Proteoglykaner – økt mRNA for decorin, biglykan, lumikan, fibromodulin

Den glomerulære basalmembran

- Kollagen IV- økt mengde
- Entaktin – økt mengde
- Laminin – redusert mengde
- Heparansulfatproteoglykaner – redusert mengde

Ramme 4

Effekter av avanserte glykerte endeprodukter på aterosklose

Mononukleære fagocytter

- Induksjon av PDGF, IGF-1, IL-1 og TNF- α
- Induksjon av kjemotakse
- Økt opptak av glykert LDL i makrofager

Glatte muskelceller

- Økt proliferasjon
- Økt produksjon av fibronektin

Endotelceller

- Økt permeabilitet
- Økt intracellulært oksidativt stress
- Induksjon av endotelin-1 og økt vaso-konstriksjon
- Redusert uttrykk av trombomodulin og induksjon av vevsfaktor
- Økt uttrykk av adhesjonsmolekyler

vitaminet (benfotiamin) har i dyreforsøk vist seg å hemme flere av de skadelige effektene av hyperglykemi, inkludert effekter av avanserte glykerte endeprodukter. I en rottemodell med diabetes er det vist at høye doser av tiamin og benfotiamin hemmer utvikling av mikroalbuminuri ved å øke uttrykket av transketolase i glomeruli (41). Benfotiamin er nå i ferd med å bli testet ut på pasienter med diabetisk nefropati.

Til tross for intens forskning på ulike medikamenter som kan bryte ned eller hemme danning av avanserte glykerte endeprodukter, er god blodsukkerkontroll fremdeles den viktigste metoden som finnes for å forebygge skadelige effekter av glykeringsprodukter både intra- og ekstracellulært.

Manuskriptet ble godkjent 7.9. 2005.

Litteratur

1. Ahmed N. Advanced glycation endproducts – role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 67: 3–21.
2. Monnier VM, Bautista O, Kenny D et al. Skin collagen glycation, glycoxidation, 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: 870–80.
3. Basta G, Schmidt AM, De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res* 2004; 63: 582–92.
4. Kalousova M, Zima T, Tesar V et al. Advanced glycation end products in clinical nephrology. *Kidney Blood Press Res* 2004; 27: 18–28.
5. Williams ME. New therapies for advanced glycation end product nephrotoxicity: current challenges. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: S42–7.
6. Lapolla A, Traldi P, Fedele D. Importance of measuring products of non-enzymatic glycation of proteins. *Clin Biochem* 2005; 38: 103–15.
7. Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. *J Intern Med* 2002; 251: 87–101.
8. Brownlee M. Negative consequences of glycation. *Metabolism* 2000; 49: 9–13.
9. Schleicher ED, Wagner E, Nerlich AG. Increased accumulation of the glycoxidation product N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1997; 99: 457–68.
10. Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR et al. Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1993; 91: 2463–9.
11. Reddy S, Bichler J, Wells-Knecht KJ et al. N epsilon-(carboxymethyl)lysine is a dominant advanced glycation end product (AGE) antigen in tissue proteins. *Biochemistry* 1995; 34: 10872–8.
12. McCance DR, Dyer DG, Dunn JA et al. Maillard reaction products and their relation to complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91: 2470–8.
13. Miura J, Yamagishi S, Uchigata Y et al. Serum levels of non-carboxymethyllysine advanced glycation endproducts are correlated to severity of microvascular complications in patients with Type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2003; 17: 16–21.
14. Makita Z, Vlassara H, Cerami A et al. Immunochemical detection of advanced glycosylation end products in vivo. *J Biol Chem* 1992; 267: 5133–8.
15. Singh R, Barden A, Mori T et al. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129–46.
16. Skolnik EY, Yang Z, Makita Z et al. Human and rat mesangial cell receptors for glucose-modified proteins: potential role in kidney tissue remodelling and diabetic nephropathy. *J Exp Med* 1991; 174: 931–9.
17. Svistounov DN, Berg TJ, McCourt PA et al. Lack of recognition of Nepsilon-(carboxymethyl)lysine by the mouse liver reticulo-endothelial system: implications for pathophysiology. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 786–91.
18. Yan SF, Ramasamy R, Naka Y et al. Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ Res* 2003; 93: 1159–69.
19. Raj DS, Choudhury D, Welbourne TC et al. Advanced glycation end products: a nephrologist's perspective. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 365–80.
20. Kilhovd BK, Giardino I, Torjesen PA et al. Increased serum levels of the specific AGE-compound methylglyoxal-derived hydroimidazolone in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2003; 52: 163–7.
21. Sady C, Jiang CL, Chellan P et al. Maillard reactions by alpha-oxoaldehydes: detection of glyoxal-modified proteins. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1481: 255–64.
22. Li JH, Wang W, Huang XR et al. Advanced glycation end products induce tubular epithelial-myofibroblast transition through the RAGE-ERK1/2 MAP kinase signaling pathway. *Am J Pathol* 2004; 164: 1389–97.
23. Tanaka N, Yonekura H, Yamagishi S et al. The receptor for advanced glycation end products is induced by the glycation products themselves and tumor necrosis factor-alpha through nuclear factor-kappa B, and by 17beta-estradiol through Sp-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 25781–90.
24. Bucciarelli LG, Wendt T, Rong L et al. RAGE is a multiligand receptor of the immunoglobulin superfamily: implications for homeostasis and chronic disease. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1117–28.
25. Katsuda S, Kaji T. Atherosclerosis and extracellular matrix. *J Atheroscler Thromb* 2003; 10: 267–74.
26. Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1358–73.
27. Tsilibary EC. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus. *J Pathol* 2003; 200: 537–46.
28. Osterby R, Parving HH, Hommel E et al. Glomerular structure and function in diabetic nephropathy. Early to advanced stages. *Diabetes* 1990; 39: 1057–63.
29. Makino H, Yamasaki Y, Haramoto T et al. Ultrastructural changes of extracellular matrices in diabetic nephropathy revealed by high resolution scanning and immunoelectron microscopy. *Lab Invest* 1993; 68: 45–55.
30. Berg TJ, Bangstad HJ, Torjesen PA et al. Advanced glycation end products in serum predict changes in the kidney morphology of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1997; 46: 661–5.
31. Horie K, Miyata T, Maeda K et al. Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1997; 100: 2995–3004.
32. Yang CW, Vlassara H, Peten EP et al. Advanced glycation end products up-regulate gene expression found in diabetic glomerular disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9436–40.
33. Borrebaek J, Prydz K, Fjeldstad K et al. The AGE product N epsilon-(carboxymethyl)lysine serum albumin is a modulator of proteoglycan expression in polarized cultured kidney epithelial cells. *Diabetologia* 2001; 44: 488–94.
34. Vlassara H, Bucala R, Striker L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994; 70: 138–51.
35. Vlassara H, Fuh H, Makita Z et al. 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: 12043–7.
36. Kilhovd BK, Juutilainen A, Lehto S et al. High serum levels of advanced glycation end products predict increased coronary heart disease mortality in nondiabetic women but not in nondiabetic men: a population-based 18-year follow-up study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 815–20.
37. Williams ME. Clinical studies of advanced glycation end product inhibitors and diabetic kidney disease. *Curr Diab Rep* 2004; 4: 441–6.
38. Schrijvers BF, De Vriese AS, Flyvbjerg A. From hyperglycemia to diabetic kidney disease: the role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. *Endocr Rev* 2004; 25: 971–1010.
39. Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res* 2004; 53: 131–42.
40. Forbes JM, Yee LT, Thallas V et al. Advanced glycation end product interventions reduce diabetes-accelerated atherosclerosis. *Diabetes* 2004; 53: 1813–23.
41. Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N et al. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes* 2003; 52: 2110–20.