

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

**PRODUTOS FINAIS DE GLICAÇÃO AVANÇADA (AGEs) COMO
BIOMARCADORES DE PROCESSOS PATOLÓGICOS**

CURITIBA

2013

JOÃO PAULO LOBO JUNIOR

**PRODUTOS FINAIS DE GLICAÇÃO AVANÇADA (AGEs) COMO
BIOMARCADORES DE PROCESSOS PATOLÓGICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Programa de Pós-Graduação, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Especialista em Análises Clínicas.

Orientadora: Prof^a. MsC. Mauren Isfer Anghebem Oliveira.

CURITIBA

2013

RESUMO

Os produtos de glicação avançada (AGEs) são um grupo heterogêneo de moléculas, formados a partir da reação não enzimática entre açúcares redutores e o grupamento amino de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. A interação de AGEs com receptores celulares ativa processos pró-inflamatórios e pró-coagulantes que resultam em estresse oxidativo e disfunção endotelial. Os AGEs são mediadores do desenvolvimento e progressão de doenças inflamatórias crônicas (artrite reumatoide), doenças neurodegenerativas (Alzheimer), e das complicações micro e macrovasculares do *Diabetes mellitus* como a retinopatia, a nefropatia e o infarto agudo do miocárdio. As características destas moléculas as tornam potenciais biomarcadores para o laboratório clínico em múltiplas patologias. Esta revisão aborda a formação e os mecanismos de ação dos AGEs, bem como os métodos para quantificação e estratégias terapêuticas associadas a estas moléculas e sua função como biomarcador para uso diagnóstico no laboratório clínico.

Palavras-chave: AGEs; Produtos Finais de Glicação Avançada; Complicações vasculares; RAGE, Diabetes mellitus; drogas anti-AGE

SUMMARY

Advanced Glycation End-products (AGEs) are a heterogeneous group of molecules produced from nonenzymatic reaction by reducing sugars and the amino group of the proteins, lipids and nucleic acids. The interaction of AGEs with cellular receptors activates pro-inflammatory and procoagulant processes that result in oxidative stress and endothelial dysfunction. AGEs are mediators of the development and progression of chronic inflammatory diseases (rheumatoid arthritis), neurodegenerative diseases (Alzheimer), and micro and macrovascular complications of Diabetes mellitus such as retinopathy, nephropathy and acute myocardial infarction. The characteristics of these molecules make them potential biomarkers for the clinical laboratory multiple pathologies. This review aims the formation and AGEs action mechanisms, as well the methods for quantification and therapeutics strategies associated with these molecules and their role as biomarkers for the diagnostic use in the clinical laboratory.

Keywords: *AGEs; Advanced Glycation End-Products; RAGE; vascular complications; Diabetes mellitus.*

1 INTRODUÇÃO

As proteínas humanas estão sujeitas às modificações pós traducionais ao longo do tempo e estas modificações podem alterar suas propriedades estruturais e biológicas provocando danos ao organismo. Dentre as reações responsáveis pelas modificações de proteínas, a glicação é a mais frequente e mais importante do ponto de vista biológico (JAISSON; GILLERY, 2010).

Proteínas, lipídios e ácidos nucleicos podem sofrer glicação dando origem aos produtos de glicação avançada, também chamados de AGEs (do inglês, *Advanced Glycation End-Products*). Esta reação acontece progressivamente de maneira fisiológica durante o envelhecimento, mas é intensificada em condições de hiperglicemia e estresse oxidativo (JAISSON; GILLERY, 2010).

A interação de AGEs com receptores celulares, como o RAGE (do inglês *Receptor for Advanced Glycation End-products*), ativa processos pro-inflamatórios e pro-coagulantes que resultam em estresse oxidativo e disfunção endotelial, os quais estão associados às condições patológicas como a hipertensão, o envelhecimento macromolecular, complicações micro e macrovasculares do diabetes como as cardiovasculares, a nefropatia e a retinopatia (SINGH *et al.*, 2001; KOYAMA *et al.*, 2008; YAMAGISHI *et al.*, 2012).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os produtos de glicação avançada (AGEs) como biomarcadores de processos patológicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão bibliográfica sobre a formação dos AGEs, mecanismos de ação e métodos para a detecção destes compostos bem como alternativas terapêuticas associadas aos AGEs.
- Avaliar os AGEs como biomarcadores em processos patológicos como: Diabetes, Alzheimer e doenças inflamatórias.

3 METODOLOGIA

Através de levantamento bibliográfico, mediante consulta às bases de dados Medline PubMed (US. National Library of Medicine National Institutes of Health, USA), SciELO Brazil (Scientific Eletronic Library Online) e BIREME (Biblioteca Regional de Medicina, Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde) foi realizada uma pesquisa de publicações sobre os produtos de glicação avançada sem preferências de ano de publicação, porém, com prioridade para autores e trabalhos de grande impacto científico.

4 PRODUTOS FINAIS DE GLICAÇÃO AVANÇADA

4.1 FORMAÇÃO DOS AGEs

A reação de glicação ou reação de Maillard tem início quando os grupamentos aldeído ou cetona de açúcares redutores reagem com grupamento amino das proteínas, formando uma base instável denominada de base de Schiff. A Figura 1 ilustra as etapas da reação de Maillard com formação de diferentes AGEs. A base de Schiff para se tornar uma estrutura quimicamente mais estável, sofre um rearranjo dando origem a uma estrutura denominada de produtos de Amadori, a hemoglobina glicada e a frutosamina são exemplos destes produtos. Os produtos de Amadori sofrem uma série de reações irreversíveis incluindo fragmentação, ciclização e oxidação, dando origem aos produtos de glicação avançada. Os AGEs também são formados a partir de compostos di carbonílicos reativos como o Glioxal, metilglioxal e 3 deoxiglicosone. (BASTA; SCHMIDT; DE CATERINA, 2004).

“Formação e estrutura dos principais produtos de glicação avançada (AGEs).”

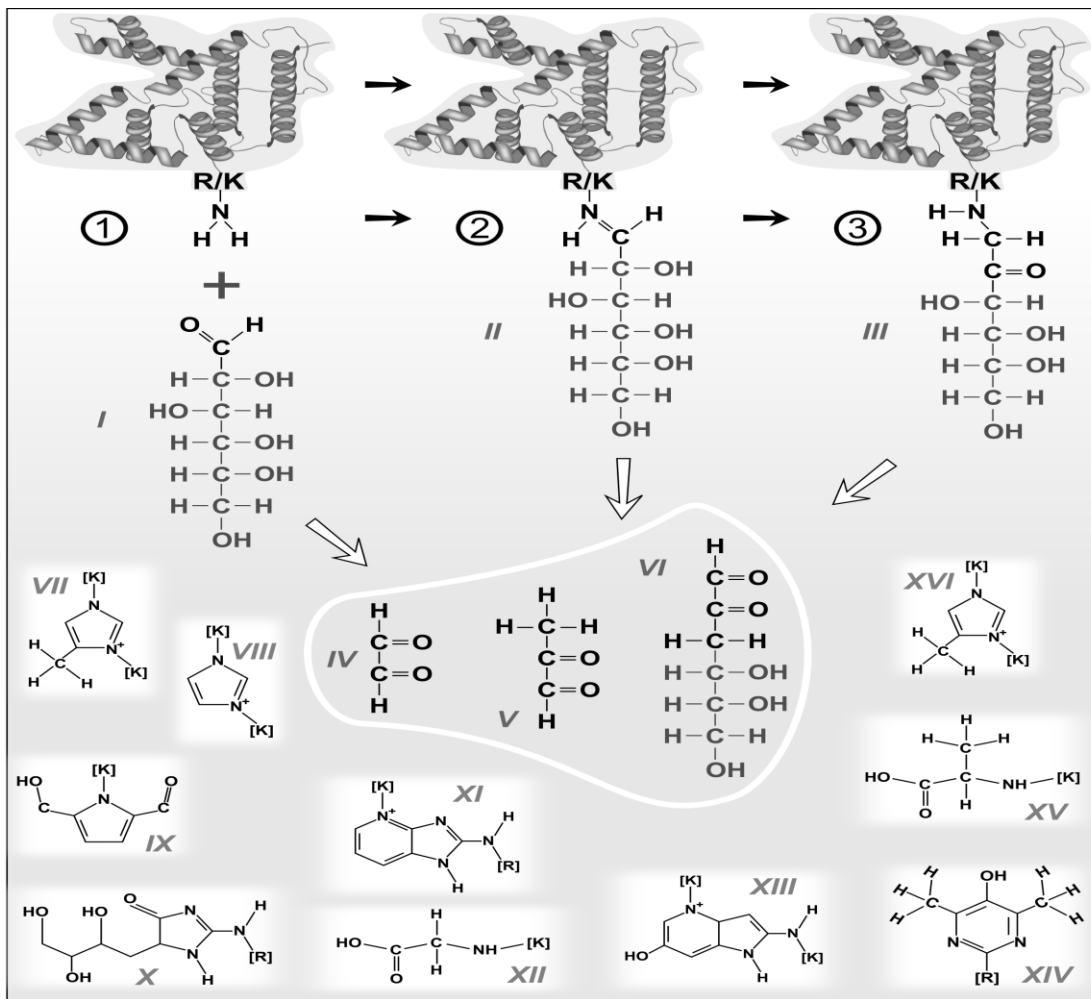


FIGURA 1. Representação esquemática da reação de glicação e formação de produtos de glicação avançados (AGEs). I Ligação do grupamento aldeído da glicose com grupamento amino dos aminoácidos Lisina e Arginina. II Formação da base de Schiff. III produtos de Amadori. Compostos dicarbonílicos reativos como: IV Glioxal. V Metil Glioxal. VI 3-deoxi-glicosone, também sofrem reações dando origem aos AGEs. VII MOLD. VIII GOLD. IX Pirralina. X Imidazolona A XI Pentosidina. XII Carboxi metil lisina. XIII Vesperlisina A. XIV Argpirimidina. XV Carboxi etil lisina. Fonte: o Autor, 2013.

Os AGEs mais conhecidos são derivados da ligação de um carboidrato com resíduos de lisina ou de arginina das proteínas, sendo que alguns podem formar ligações cruzadas (*crosslinks*) entre proteínas (THORPE; BAYNES, 2003).

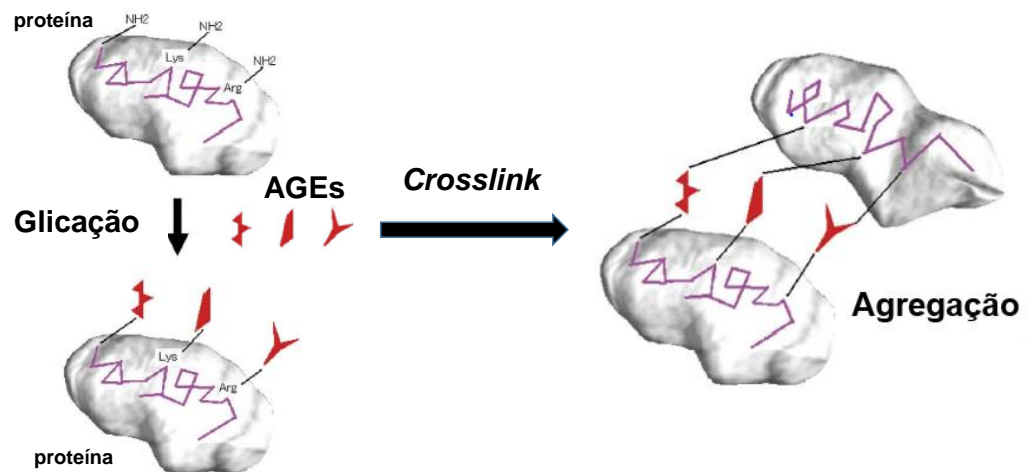


Figura 2. Representação do efeito das reações cruzadas (crosslink) produzidas por algumas espécies de AGEs sobre proteínas

Grupos amino (NH₂) de resíduos de aminoácidos de lisina e arginina de proteínas reagem com produtos de glicação avançada (AGEs). Algumas espécies de AGEs permitem a ligação cruzada entre proteínas, promovendo agregação e alterações em suas funções biológicas Adaptado de (KIKUCHI *et al.*, 2003)

São AGEs os derivados de lisina: N^ε-carboxietil-lisina (CEL), pirralina, dímero de lisina e derivado do glioxal (GOLD), dímero de lisina e derivado do metil glioxal (MOLD), dímero de lisina e derivado da 3-deoxiglucosona (DOLD). A N^ε-carboximetil-lisina (CML) é o AGE melhor caracterizado e aquele que apresenta a maior concentração sérica em humanos, sendo derivado do glioxal. Entre os AGEs derivados de arginina estão: glioxal hidroimidazolona (G-H1), metilglioxal hidroimidazolona (MG-H1) e 3-deoxiglucosona hidroimidazolona (3DG-H1). Outros AGEs como o AFGP (1-alkuil-2-formil-3,4-diglicosil pirrol) e FFI (2-(2-fluoril)-4,5-furanil-1-imidazol) e pentosidina são fluorescentes (DETTORAKI; GIL; SPILLOTIS, 2009; MIYAZAWA *et al.*, 2012).

Os AGEs podem ser formados tanto no meio intra como no meio extracelular (BROWNLEE, 2001). E, além da formação endógena de AGEs, existem fontes exógenas que contribuem para o aumento da sua concentração nos organismos, como a dieta (URIBARRI *et al.*, 2010), o tabaco (CERAMI *et al.*, 1997) e a poluição do ar (GURSINSKY *et al.*, 2006). Dietas ricas em alimentos com elevada quantidade de AGEs, como aqueles de origem animal,

ricos em gorduras e proteínas em comparação com legumes, cereais integrais e leite, que são alimentos ricos em carboidratos, podem contribuir de maneira significativa para um aumento destes compostos no sangue (LIN, R. Y. *et al.*, 2003; CAI *et al.*, 2008) Algumas formas de preparar os alimentos como grelhar, fritar, assar e cozinhar por longo período de tempo, favorecem a formação de AGEs nestes produtos (URIBARRI *et al.*, 2010). A Figura 3. Exemplifica o incremento na concentração de AGEs em alimentos após o processo de cozimento.

Cerca de 10% dos AGEs ingeridos na dieta podem ser absorvidos e um terço do que foi absorvido é eliminado pelos rins na urina (KOSCHINSKY *et al.*, 1997).

| Alimento | Concentração de AGEs (U/g) | | |
|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|--------------|
| | Antes do cozimento | Após cozimento | ↑ |
| Cereal (granola) | 4.740 | 19.340 | 4 X |
| Massas (donut) | 2.590 | 6.820 | 24 X |
| Bolo (Berlin) | 2.220 | 131.000 | 59 X |
| Assado (pele de pato) | 2.350 | 236.180 | 101 X |

Figura 3. Concentração de AGEs antes e após o cozimento de alguns tipos de alimentos.

Produtos de glicação avançada (AGEs) quantificados em Unidades arbitrarias por grama de alimento, mostram expressivo incremento após o cozimento. O calor associado ao processo de cozimento favorece a reação de Maillard para a formação dos AGEs. Adaptado de (KOSCHINSKY *et al.*, 1997)

4.2 RECEPTORES PARA OS AGEs

Vários receptores celulares, que apresentam capacidade de ligação com os AGEs, foram identificados em diferentes linhagens celulares. A Tabela 1 identifica os principais receptores celulares relacionados aos AGEs e sua nomenclatura.

Tabela 1. Receptores celulares para AGEs

| Sigla | Nomenclatura | Características |
|--------|--------------|--|
| RAGE | AGER | Receptor para produtos de glicação avançada |
| AGE-R1 | OST-48 | Oligosacaril transferase-4 |
| AGE-R2 | PRKCSH | Substrato da proteína quinase C |
| AGE-R3 | LGAL31 | Galectina-3 |
| LOX-1 | LOX-1 | Lecitina semelhante a lipoproteína LDL oxidada |
| SR-A | Classe A | Receptores <i>scavenger</i> de macrófagos classe A tipos I e II |
| SR-BI | --- | Receptor que faz a endocitose da LDL acetilada |
| CD-36 | CD-36 | Multiligante (ácidos graxos, colágeno, LDL oxidada entre outros) |

Fonte: O Autor, 2013.

Entre os receptores para AGEs, o receptor para produtos de glicação avançada ou RAGE (receptor for advanced glycation end products) é o mais amplamente estudado. A ligação dos AGEs com o RAGE, promove a ativação de uma série de produtos de transcrição que levam a produção de citocinas inflamatórias, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B) (GOLDIN *et al.*, 2006). A proteína RAGE é um membro da superfamília das imunoglobulinas da superfície celular, cuja expressão é ativada em diversas patologias, da aterosclerose à doença de Alzheimer (SCHIMIDT *et al.*, 1999). A estrutura da proteína RAGE está na Figura 4.

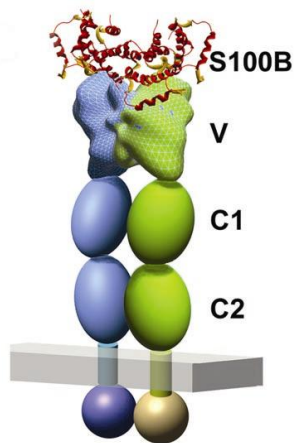


Figura 4. Representação da estrutura do receptor RAGE.

O domínio extracelular do RAGE é formado por um domínio de tipo V (variável) seguido por dois domínios constantes do tipo C (C1 e C2). Um único domínio transmembrana de ancoragem fixa o RAGE na membrana e uma pequena cauda citosólica, altamente carregada, media a interação com as moléculas sinalizadoras de transdução citosólicas. A região variável mostra a interação com a ligante S100B, no mesmo sítio de ligação dos AGEs retirado de (SCHMIDT; STERN, 2000).

O receptor para os produtos finais de glicação avançada (RAGE) humano foi mapeado no cromossomo 6p21.3 (VISSING *et al.*, 1994). O gene está localizado no complexo principal de histocompatibilidade entre as regiões de classe II e de classe III (SUGAYA *et al.*, 1994). Este gene é composto de 1,7 kb e 11 exons, sendo o domínio de imunoglobulina do tipo V codificado pelos segundo e terceiro exons (SUGAYA *et al.*, 1994).

Os receptores RAGE são expressos em diferentes tipos celulares e tecidos como pulmão, fígado, endotélio vascular, monócitos, neurônios e células dendríticas, e (LIN, L.; PARK; LAKATTA, 2009) sua expressão é regulada positivamente pela presença de AGEs como um mecanismo de feedback positivo. Este mecanismo pode contribuir para o desenvolvimento de patologias associadas à inflamação crônica (NEEPER *et al.*, 1992; LIN, L.; PARK; LAKATTA, 2009).

Além do RAGE expresso na superfície das células, várias isoformas tem sido descritas, principalmente a forma solúvel encontrada no plasma, denominada de sRAGE. O sRAGE parece ter maior facilidade em fixar ligantes que o RAGE e desempenhar um papel de antagonista dos AGEs, por competir

com o receptor da membrana celular, evitando assim os efeitos deletérios da sinalização mediada por RAGE (HANFORD *et al.*, 2004; BUCKLEY; EHRHARDT, 2010).

4.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS AGEs

Os AGEs exercem efeitos patológicos através de diferentes mecanismos que podem ser divididos em extracelulares e intracelulares. No meio intracelular os AGEs podem provocar alterações genômicas por meio de ligações com nucleotídeos, histonas e proteínas envolvidas no processo de transcrição gênica (BROWNLEE, 2001).

No meio extracelular os AGEs podem promover uma série de modificações na matriz extracelular modificando a sinalização entre a matriz e a célula. As proteínas, principalmente as de longa vida como o colágeno e a laminina, podem ter suas funções alteradas pelos AGEs através da formação de ligações cruzadas que promoverão uma interação anormal da proteína com outros componentes da matriz. Esta alteração está relacionada com o processo de envelhecimento e rigidez da vasculatura (SCHMIDT *et al.*, 1994).

Ainda, as proteínas plasmáticas modificadas por AGEs se ligam a receptores de AGEs, gerando um aumento na produção de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento, como a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), molécula solúvel de adesão celular vascular-1 (sVCAM-1), molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), NF-kB, e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α). Estas moléculas provavelmente estão envolvidas no desenvolvimento das complicações vasculares diabéticas (BROWNLEE, 2001; HUNG *et al.*, 2010; YAMAGISHI; MATSUI, 2011). Uma síntese das ações da interação AGE-RAGE está representado na Figura 5.

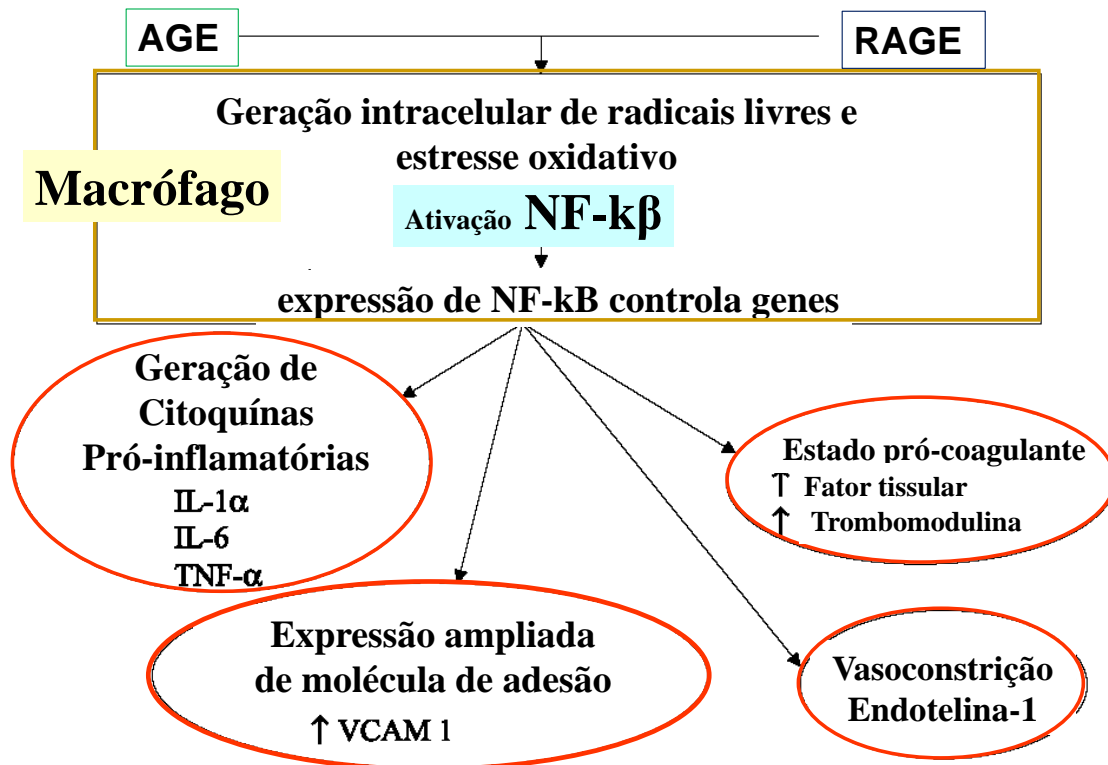


Figura 5. Principais efeitos fisiopatológicos resultantes da interação AGE-RAGE.

Principais efeitos fisiopatológicos resultantes da interação AGE-RAGE. Interação dos AGEs com receptor RAGE gera radicais livres, estresse oxidativo e promove um aumento na expressão de fator NF-KB com consequente aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão e estímulo pró-coagulante e vasoconstritor. Fonte: o Autor.

5 AGES COMO BIOMARCADORES

Os AGEs têm sido associados a várias patologias, dentre elas o Alzheimer (THOME *et al.*, 1996), a artrite reumatoide (MATSUMOTO *et al.*, 2007) e a insuficiência cardíaca (WILLEMSEN *et al.*, 2012), além do diabetes.

A hiperglicemia crônica do *Diabetes mellitus* favorece a formação de AGEs, que se acumulam na maior parte dos sítios alvo das complicações vasculares do diabetes, como os rins, a retina e a placa aterosclerótica. Concentrações elevadas de pentosidina, um AGE fluorescente, têm sido encontradas em pacientes com doença renal (GOH; COOPER, 2008). A excreção renal é a principal via de eliminação dos AGEs, portanto os danos

renais contribuem para o aumento da concentração de AGEs circulantes que, interagindo com o RAGE ativariam processos envolvidos na disfunção endotelial vascular (GOH; COOPER, 2008; KERKENI *et al.*, 2013). A figura 6 resume as ações dos AGEs no diabetes e na doença renal.

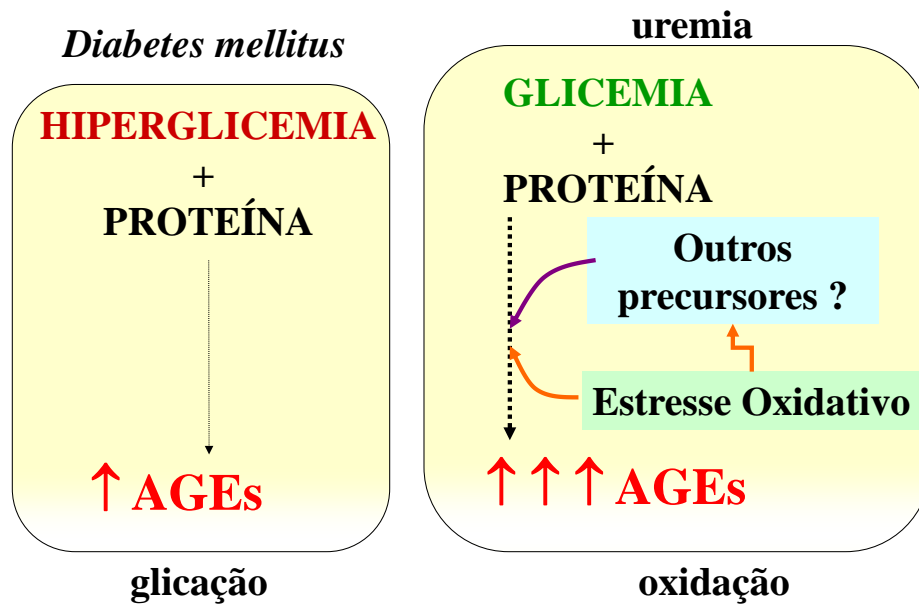


Figura 6. Formação dos AGEs no diabetes e na insuficiência renal.

A hiperglicemia crônica característica do diabetes favorece a glicação de proteínas e a formação dos AGEs. Na insuficiência renal (uremia), a formação elevada de AGEs está associada primariamente ao estresse oxidativo e a outros precursores não caracterizados. Adaptado de (MIYATA *et al.*, 1997).

Concentrações diminuídas de sRAGE (RAGE solúvel) no soro de pacientes com nefropatia diabética foram correlacionadas com aumento da excreção de albumina na urina, sugerindo que sRAGE pode ser um marcador precoce para esta patologia (HUMPERT *et al.*, 2006).

A glicação também está implicada em doenças neurológicas e neurodegenerativas desempenhando, em alguns casos, um papel chave na patogênese destas doenças e, em outros casos, atuando como coadjuvante de alterações degenerativas e acumulação de proteína. O tempo de meia vida longo das proteínas que compõem os emaranhados neurofibrilares no cérebro, sugerem que este tecido pode ser alvo dos AGEs (SATO *et al.*, 2006).

A doença de Alzheimer é caracterizada pelo acúmulo de placas amiloides no cérebro e por uma demência progressiva de seus portadores. O tempo de meia vida dos componentes amiloides estão prolongados na presença de AGEs e sugere-se que este efeito é resultante da capacidade de alguns AGEs promoverem crosslink de proteínas (VITEK *et al.*, 1994). Além disso, existem evidências que a progressão da doença de Alzheimer é induzida pelo grande número de citocinas pró-inflamatórias expressas através da ligação de AGEs, principalmente os derivados de gliceraldeído, com seu receptor RAGE (SATO *et al.*, 2006). Portanto os AGEs derivados de gliceraldeído foram sugeridos como promissores biomarcadores precoces para a doença de Alzheimer (YAMAGISHI *et al.*, 2005).

Os AGEs também estão associados a doenças que envolvem processo inflamatório crônico, como a artrite reumatoide. As concentrações séricas de AGEs estão elevadas em pacientes com esta condição (RODRIGUEZ-GARCIA; REQUENA; RODRIGUEZ-SEGADE, 1998; CHEN, J. R. *et al.*, 1999; DE GROOT *et al.*, 2011). A concentração de AGEs no soro de pacientes com artrite reumatoide foi correlacionada com marcadores inflamatórios, como a proteína C reativa (PCR) e a velocidade de hemossedimentação (VHS), sendo sugerido portanto, como um biomarcador de processo inflamatório (MIYATA *et al.*, 1998) e de atividade da doença (TAKAHASHI *et al.*, 1997). Porém trabalhos recentes mostraram discrepância destes resultados, e a utilização dos AGEs como biomarcadores em doenças inflamatórias continua incerto (VYTASEK; SEDOVA; VILIM, 2010).

5.1 MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE AGEs

A elevada heterogeneidade estrutural dos AGEs é um fator que dificulta o desenvolvimento de um método único para este grupo de moléculas. Alguns AGEs como a carboximetil-lisina (CML) e a pentosidina possuem técnicas bem definidas para as suas quantificações. A cromatografia líquida de alta performance (HPLC) pode ser utilizada para dosar a pentosidina; e a carboximetil-lisina (CML) é comumente medida através da espectrometria de

massas. Ensaio imunoenzimático (ELISA) com anticorpos específicos também são utilizadas para quantificar estes AGEs, em particular a CEL (carboxietil-lisina) e a CML, AGEs de maior concentração no soro (TANEDA; MONNIER, 1994; TEERLINK *et al.*, 2004; SCHEIJEN *et al.*, 2009).

Alguns AGEs emitem fluorescência em comprimentos de onda específicos e podem ser quantificados através desta propriedade. Métodos que utilizam esta fluorescência estão bem caracterizados, porém apresentam baixa especificidade em geral (MAKITA *et al.*, 1992). Recentemente a autofluorescência na pele (AF) vem sendo muito utilizada em pesquisas para quantificar AGEs neste tecido. Já foi demonstrada correlação positiva entre a AF com as concentrações de CML, CEL e pentosidina (MEERWALDT *et al.*, 2004). Esta autofluorescência foi demonstrada ser maior em indivíduos com presença de microalbuminúria, um indicador de lesão renal precoce, e disfunção endotelial em comparação com indivíduos saudáveis (SKRHA *et al.*, 2013). Diferentes estudos mostraram que a AF é maior em pacientes diabéticos em comparação com não diabéticos (GERRITS *et al.*, 2008; GENEVIEVE *et al.*, 2013). Este método tem a vantagem de ser simples, rápido e não invasivo, mas passível de múltiplas interferências. (BOS; DE RANITZ-GREVEN; DE VALK, 2011; DE RANITZ-GREVEN *et al.*, 2012).

Entre as principais dificuldades na quantificação dos AGEs, esta na falta de um padrão rastreável e no estabelecimento de um método de referência que permita ancorar e normalizar as diferentes metodologias disponíveis.

6 ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS ASSOCIADAS AOS AGEs

Um dos primeiros inibidores da formação de AGEs identificados foi a Aminoguanidina (BROWNLEE *et al.*, 1986), e desde então esta substância tem se mostrado eficiente neste contexto em estudos realizados com animais (HAMMES *et al.*, 1994; CARVALHO *et al.*, 2011). A alta toxicidade desta droga é uma das principais barreiras para a sua utilização como opção terapêutica preventiva das patologias mediadas pelos AGEs (THORNALLEY, 2003).

A Piridoxamina é um derivado da vitamina B6 e inibe a formação dos AGEs a partir das proteínas glicadas (GOH; COOPER, 2008). Estudos com animais demonstraram que esta substância inibiu o aumento da creatinina plasmática e da albuminúria em ratos diabéticos, sugerindo a Piridoxamina como promissora no combate à nefropatia diabética (DEGENHARDT *et al.*, 2002). Estudos clínicos preliminares envolvendo pacientes com diabetes tipos 1 e 2 mostraram que a Piridoxamina é eficiente no combate a formação de AGEs porém, resultados adversos referentes a segurança da sua utilização foram observados (WILLIAMS *et al.*, 2007; CHEN, J. L.; FRANCIS, 2012).

O LR-90 mostrou ser um inibidor da formação de AGEs mais potente que a Aminoguanidina e a Piridoxamina. Em um estudo com ratos diabéticos foi observado uma melhora significativa da função renal dos animais tratados com esta substância em comparação com os ratos não tratados, utilizando a proteinúria e a creatinina urinária como marcadores. Além disto, uma diminuição dos AGEs plasmáticos foi verificada. Porém um aumento de tecido adiposo foi observado entre alguns ratos que utilizaram o LR-90 sugerindo que esta substância possa ter algum outro efeito metabólico ainda desconhecido (FIGAROLA *et al.*, 2003).

O ALT-711 ou *Alagebrium* (Alteon Corporation) é uma droga em estudo com capacidade de quebrar as ligações cruzadas já produzidas pelos AGEs em proteínas. Diversos estudos clínicos estão em andamento e tem mostrado efeitos promissores relacionados a doença vascular e ao diabetes e suas complicações (SUSIC *et al.*, 2004; LITTLE *et al.*, 2005; PEPPA *et al.*, 2006).

A Figura 7. Mostra os sítios de ação das principais drogas anti-AGEs em relação às etapas de formação destas moléculas.

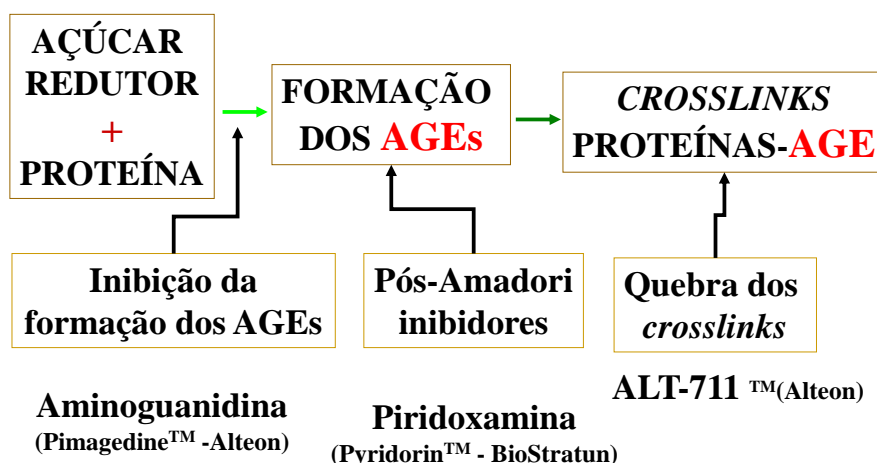


Figura 7. Sítios de ação das drogas anti-AGEs.

As diferentes drogas anti-AGEs atuam inibindo a formação dos AGEs como a aminoguanidina ou desestabilizando as etapas finais do processo como a piridoxamina e seus derivados. O ALT-711 (cloridrato de 4,5-dimetil-3-fenaciltiazolio) tem a propriedade de romper as ligações cruzadas (crosslink) já estabelecidas. Fonte: o Autor.

O peptídeo semelhante ao glucagon, GLP-1 (do inglês *Glucagon-Like Peptide-1*), é um hormônio produzido no intestino que desempenha um papel importante na homeostase da glicose. Recentemente o GLP-1 tem mostrado ser uma molécula com potencial terapêutico no manuseio de pacientes com diabetes tipo 2 por estimular a secreção de insulina e inibir a secreção do glucagon. Além do controle glicêmico o GLP-1 pode proporcionar proteção aos efeitos deletérios ocasionados pelos AGEs através do aumento da defesa antioxidante e do bloqueio do efeito de feedback positivo dos AGEs na expressão do RAGE (PUDDU *et al.*, 2013).

Outras substâncias mostraram-se eficientes no combate à formação e ação dos AGEs por diferentes mecanismos (HAMMES *et al.*, 2003; LI *et al.*, 2005; YAMAGISHI *et al.*, 2007). A inibição das ligações cruzadas entre proteínas (*crosslinks*) proporcionadas pelos AGEs é uma das estratégias para a terapia anti AGEs e algumas substâncias com esta propriedade foram testadas em estudos com animais. O brometo de fenacil tiazolo, PTB (do inglês, *N-Phenacyl Thiazolium Bromide*), diminuiu o acúmulo de AGEs nos tecidos (COOPER *et al.*, 2000). O Alagebrium, também conhecido como ALT-711, se mostrou eficiente na diminuição dos parâmetros morfológicos

característicos da nefropatia diabética, além de diminuir a CML no soro em 41% e aumentar em 138% a excreção urinária de CML (PEPPA *et al.*, 2006). O ALT-946 (*N*-2-Acetamidoethyl hydrozine carboximidamide hydrochloride) foi sugerido como grande potencial terapêutico para a nefropatia diabética (FORBES *et al.*, 2001).

Recentemente foi demonstrado que os AGEs derivados do gliceraldeído, são os principais componentes de um grupo denominado de AGEs tóxicos (TAGEs) e desempenham um papel importante no desenvolvimento das complicações do diabetes, principalmente através da sua interação com receptores RAGE que leva a um aumento de citocinas pró-inflamatórias e promove o estresse oxidativo em vários tipos de células. A inibição da formação de TAGEs e o bloqueio da ligação dos TAGEs com RAGE foram citados como uma nova estratégia terapêutica contra complicações do diabetes (TAKEUCHI; TAKINO; YAMAGISHI, 2010).

Existe um esforço da comunidade científica em buscar alguma alternativa terapêutica para os efeitos maléficos proporcionados pelos AGEs nos seres humanos, a prova disto é a grande variedade de estudos realizados com este objetivo. Apesar da grande maioria destes estudos estarem em fase pré-clínica, a expectativa é de que nos próximos anos antagonistas da formação e/ou ação dos AGEs sejam utilizados na prática clínica em doenças associadas com esses produtos, principalmente o diabetes mellitus (GOH; COOPER, 2008).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os AGEs vem sendo exaustivamente estudados como biomarcadores associados ao desenvolvimento e ou progressão de múltiplos processos patológicos. A ausência de metodologias de referências ou padrões rastreáveis, dificultam a quantificação destas moléculas. No presente os AGEs estão circunscrito a pesquisa. O número de pesquisas que apontam os AGEs como biomarcadores potenciais para o laboratório clínico vem crescendo e se adensando. É previsível que o eventual sucesso de uma terapia anti-AGE em

patologias de alta morbimortalidade e elevado número de afetados como a doença cardiovascular, o diabetes ou a doença renal, colocarão a quantificação dos AGEs no laboratório clínico em novo patamar e perspectiva. A complexidade das reações para a formação dos AGEs e o desconhecimento de todos os mecanismos fisiopatológicos associados a estas moléculas fazem destes compostos um desafio à pesquisa e um alvo de interesse para a identificação de necessários novos biomarcadores para o laboratório clínico.

REFERÊNCIAS

- BASTA, G.; SCHMIDT, A. M.; DE CATERINA, R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. **Cardiovasc Res**. v. 63, n.4, p. 582-92. 2004.
- BOS, D. C.; DE RANITZ-GREVEN, W. L.; DE VALK, H. W. Advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence and diabetes complications: a systematic review. **Diabetes Technol Ther**. v. 13, n.7, p. 773-9. 2011.
- BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**. v. 414, n.6865, p. 813-20. 2001.
- BROWNLEE, M. *et al.* Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. **Science**. v. 232, n.4758, p. 1629-32. 1986.
- BUCKLEY, S. T.; EHRHARDT, C. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the lung. **J Biomed Biotechnol**. v. 2010, p. 917108. 2010.
- CAI, W. *et al.* Oral glycotoxins determine the effects of calorie restriction on oxidant stress, age-related diseases, and lifespan. **Am J Pathol**. v. 173, n.2, p. 327-36. 2008.
- CARVALHO, V. F. *et al.* Inhibition of advanced glycation end products by aminoguanidine restores mast cell numbers and reactivity in alloxan-diabetic rats. **Eur J Pharmacol**. v. 669, n.1-3, p. 143-8. 2011.
- CHEN, J. L.; FRANCIS, J. Pyridoxamine, advanced glycation inhibition, and diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol**. v. 23, n.1, p. 6-8. 2012.
- CHEN, J. R. *et al.* Comparison of the concentrations of pentosidine in the synovial fluid, serum and urine of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. **Rheumatology (Oxford)**. v. 38, n.12, p. 1275-8. 1999.
- COOPER, M. E. *et al.* The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. **Diabetologia**. v. 43, n.5, p. 660-4. 2000.
- DE GROOT, L. *et al.* Advanced glycation endproducts are increased in rheumatoid arthritis patients with controlled disease. **Arthritis Res Ther**. v. 13, n.6, p. R205. 2011.
- DE RANITZ-GREVEN, W. L. *et al.* Advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence, at diagnosis in gestational diabetes mellitus compared with normal pregnancy. **Diabetes Technol Ther**. v. 14, n.1, p. 43-9. 2012.
- DEGENHARDT, T. P. *et al.* Pyridoxamine inhibits early renal disease and dyslipidemia in the streptozotocin-diabetic rat. **Kidney International**. v. 61, n.3, p. 939-50. 2002.
- DETTORAKI, A.; GIL, A. P.; SPILIOTIS, B. E. Association between serum levels of the soluble receptor (sRAGE) for advanced glycation endproducts (AGEs) and their

receptor (RAGE) in peripheral blood mononuclear cells of children with type 1 diabetes mellitus. **J Pediatr Endocrinol Metab.** v. 22, n.10, p. 895-904. 2009.

FIGAROLA, J. L. *et al.* LR-90 a new advanced glycation endproduct inhibitor prevents progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-diabetic rats. **Diabetologia.** v. 46, n.8, p. 1140-52. 2003.

FORBES, J. M. *et al.* Renoprotective effects of a novel inhibitor of advanced glycation. **Diabetologia.** v. 44, n.1, p. 108-14. 2001.

GENEVIEVE, M. *et al.* Skin autofluorescence is associated with past glycaemic control and complications in type 1 diabetes mellitus. **Diabetes & Metabolism.** v. p. 2013.

GERRITS, E. G. *et al.* Skin autofluorescence: a tool to identify type 2 diabetic patients at risk for developing microvascular complications. **Diabetes Care.** v. 31, n.3, p. 517-21. 2008.

GOH, S. Y.; COOPER, M. E. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 93, n.4, p. 1143-52. 2008.

GOLDIN, A. *et al.* Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. **Circulation.** v. 114, n.6, p. 597-605. 2006.

HAMMES, H. P. *et al.* Aminoguanidine inhibits the development of accelerated diabetic retinopathy in the spontaneous hypertensive rat. **Diabetologia.** v. 37, n.1, p. 32-5. 1994.

HAMMES, H. P. *et al.* Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. **Nature Medicine.** v. 9, n.3, p. 294-9. 2003.

HANFORD, L. E. *et al.* Purification and characterization of mouse soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE). **Journal of Biological Chemistry.** v. 279, n.48, p. 50019-24. 2004.

HUMPERT, P. M. *et al.* Plasma sRAGE is independently associated with urinary albumin excretion in type 2 diabetes. **Diabetes Care.** v. 29, n.5, p. 1111-3. 2006.

HUNG, L. F. *et al.* Advanced glycation end products induce T cell apoptosis: Involvement of oxidative stress, caspase and the mitochondrial pathway. **Mech Ageing Dev.** v. 131, n.11-12, p. 682-91. 2010.

JAISSON, S.; GILLERY, P. Evaluation of nonenzymatic posttranslational modification-derived products as biomarkers of molecular aging of proteins. **Clinical Chemistry.** v. 56, n.9, p. 1401-12. 2010.

KERKENI, M. *et al.* Pentosidine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients. **Diab Vasc Dis Res.** v. 10, n.3, p. 239-45. 2013.

KIKUCHI, S. *et al.* Glycation--a sweet tempter for neuronal death. **Brain Res Brain Res Rev.** v. 41, n.2-3, p. 306-23. 2003.

KOSCHINSKY, T. *et al.* Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v. 94, n.12, p. 6474-9. 1997.

KOYAMA, Y. *et al.* Soluble Receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a prognostic factor for heart failure. **J Card Fail.** v. 14, n.2, p. 133-9. 2008.

LI, F. *et al.* Low-dose poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor-containing combination therapies reverse early peripheral diabetic neuropathy. **Diabetes.** v. 54, n.5, p. 1514-22. 2005.

LIN, L.; PARK, S.; LAKATTA, E. G. RAGE signaling in inflammation and arterial aging. **Front Biosci.** v. 14, p. 1403-13. 2009.

LIN, R. Y. *et al.* Dietary glycotoxins promote diabetic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Atherosclerosis.** v. 168, n.2, p. 213-20. 2003.

LITTLE, W. C. *et al.* The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure. **J Card Fail.** v. 11, n.3, p. 191-5. 2005.

MAKITA, Z. *et al.* Immunochemical detection of advanced glycosylation end products in vivo. **Journal of Biological Chemistry.** v. 267, n.8, p. 5133-8. 1992.

MATSUMOTO, T. *et al.* Measurement of advanced glycation endproducts in skin of patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and dialysis-related spondyloarthropathy using non-invasive methods. **Rheumatol Int.** v. 28, n.2, p. 157-60. 2007.

MEERWALDT, R. *et al.* Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. **Diabetologia.** v. 47, n.7, p. 1324-30. 2004.

MIYATA, T. *et al.* Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 244, n.1, p. 45-9. 1998.

MIYATA, T. *et al.* Oxidation conspires with glycation to generate noxious advanced glycation end products in renal failure. **Nephrol Dial Transplant.** v. 12, n.2, p. 255-8. 1997.

MIYAZAWA, T. *et al.* Lipid glycation and protein glycation in diabetes and atherosclerosis. **Amino Acids.** v. 42, n.4, p. 1163-70. 2012.

NEEPER, M. *et al.* Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. **Journal of Biological Chemistry.** v. 267, n.21, p. 14998-5004. 1992.

PEPPA, M. *et al.* Prevention and reversal of diabetic nephropathy in db/db mice treated with alagebrium (ALT-711). **Am J Nephrol.** v. 26, n.5, p. 430-6. 2006.

PUDDU, A. *et al.* An emerging role of glucagon-like peptide-1 in preventing advanced-glycation-end-product-mediated damages in diabetes. **Mediators Inflamm.** v. 2013, p. 591056. 2013.

RODRIGUEZ-GARCIA, J.; REQUENA, J. R.; RODRIGUEZ-SEGADÉ, S. Increased concentrations of serum pentosidine in rheumatoid arthritis. **Clinical Chemistry**. v. 44, n.2, p. 250-5. 1998.

SATO, T. *et al.* Toxic advanced glycation end products (TAGE) theory in Alzheimer's disease. **Am J Alzheimers Dis Other Demen**. v. 21, n.3, p. 197-208. 2006.

SCHEIJEN, J. L. *et al.* Measurement of pentosidine in human plasma protein by a single-column high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**. v. 877, n.7, p. 610-4. 2009.

SCHMIDT, A. M. *et al.* Receptor for advanced glycation end products (AGEs) has a central role in vessel wall interactions and gene activation in response to circulating AGE proteins. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 91, n.19, p. 8807-11. 1994.

SCHMIDT, A. M.; STERN, D. M. RAGE: a new target for the prevention and treatment of the vascular and inflammatory complications of diabetes. **Trends Endocrinol Metab**. v. 11, n.9, p. 368-75. 2000.

SINGH, R. *et al.* Advanced glycation end-products: a review. **Diabetologia**. v. 44, n.2, p. 129-46. 2001.

SKRHA, J., JR. *et al.* Skin autofluorescence relates to soluble receptor for advanced glycation end-products and albuminuria in diabetes mellitus. **J Diabetes Res**. v. 2013, p. 650694. 2013.

SUGAYA, K. *et al.* Three genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a notch homolog, human counterpart of mouse mammary tumor gene int-3. **Genomics**. v. 23, n.2, p. 408-19. 1994.

SUSIC, D. *et al.* Cardiovascular and renal effects of a collagen cross-link breaker (ALT 711) in adult and aged spontaneously hypertensive rats. **Am J Hypertens**. v. 17, n.4, p. 328-33. 2004.

TAKAHASHI, M. *et al.* Relationship between pentosidine levels in serum and urine and activity in rheumatoid arthritis. **Br J Rheumatol**. v. 36, n.6, p. 637-42. 1997.

TAKEUCHI, M.; TAKINO, J.; YAMAGISHI, S. Involvement of the toxic AGEs (TAGE)-RAGE system in the pathogenesis of diabetic vascular complications: a novel therapeutic strategy. **Curr Drug Targets**. v. 11, n.11, p. 1468-82. 2010.

TANEDA, S.; MONNIER, V. M. ELISA of pentosidine, an advanced glycation end product, in biological specimens. **Clinical Chemistry**. v. 40, n.9, p. 1766-73. 1994.

TEERLINK, T. *et al.* Measurement of Nepsilon-(carboxymethyl)lysine and Nepsilon-(carboxyethyl)lysine in human plasma protein by stable-isotope-dilution tandem mass spectrometry. **Clinical Chemistry**. v. 50, n.7, p. 1222-8. 2004.

THOME, J. *et al.* [New hypothesis on etiopathogenesis of Alzheimer syndrome. Advanced glycation end products (AGEs)]. **Nervenarzt**. v. 67, n.11, p. 924-9. 1996.

THORNALLEY, P. J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. **Arch Biochem Biophys**. v. 419, n.1, p. 31-40. 2003.

THORPE, S. R.; BAYNES, J. W. Maillard reaction products in tissue proteins: new products and new perspectives. **Amino Acids**. v. 25, n.3-4, p. 275-81. 2003.

URIBARRI, J. *et al.* Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. **J Am Diet Assoc**. v. 110, n.6, p. 911-16 e12. 2010.

VISSING, H. *et al.* Localization of the human gene for advanced glycosylation end product-specific receptor (AGER) to chromosome 6p21.3. **Genomics**. v. 24, n.3, p. 606-8. 1994.

VITEK, M. P. *et al.* Advanced glycation end products contribute to amyloidosis in Alzheimer disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 91, n.11, p. 4766-70. 1994.

VYTASEK, R.; SEDOVA, L.; VILIM, V. Increased concentration of two different advanced glycation end-products detected by enzyme immunoassays with new monoclonal antibodies in sera of patients with rheumatoid arthritis. **BMC Musculoskelet Disord**. v. 11, p. 83. 2010.

WILLEMSEN, S. *et al.* Advanced glycation end-products, a pathophysiological pathway in the cardiorenal syndrome. **Heart Fail Rev**. v. 17, n.2, p. 221-8. 2012.

WILLIAMS, M. E. *et al.* Effects of pyridoxamine in combined phase 2 studies of patients with type 1 and type 2 diabetes and overt nephropathy. **Am J Nephrol**. v. 27, n.6, p. 605-14. 2007.

YAMAGISHI, S. *et al.* Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes. **Biochim Biophys Acta**. v. 1820, n.5, p. 663-71. 2012.

YAMAGISHI, S.; MATSUI, T. Advanced glycation end products (AGEs), oxidative stress and diabetic retinopathy. **Curr Pharm Biotechnol**. v. 12, n.3, p. 362-8. 2011.

YAMAGISHI, S. *et al.* Serum or cerebrospinal fluid levels of glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs) may be a promising biomarker for early detection of Alzheimer's disease. **Med Hypotheses**. v. 64, n.6, p. 1205-7. 2005.

YAMAGISHI, S. *et al.* Oral administration of AST-120 (Kremezin) is a promising therapeutic strategy for advanced glycation end product (AGE)-related disorders. **Med Hypotheses**. v. 69, n.3, p. 666-8. 2007.