

Produkty pokročilé glykace

Produkty pokročilé glykace (*advanced glycation endproducts, AGEs*) jsou heterogenní skupinou látek, mezi které patří pentosidin, GOLD (glyoxal-lysine dimmer), MOLD (methylglyoxal-lysine dimmer)^[1].

Charakteristická je pro ně **žlutohnědá pigmentace** a fluorescence. Jsou schopny **modifikovat biologické struktury**. Reagují se specifickými receptory, např. **RAGE**. Mají význam v patogenezi pozdních komplikací diabetu mellitu a chronických onemocnění jako chronického renálního selhání, aterosklerózy, neurodegenerativních onemocnění a dalších.

U bílkovin dochází při jejich glykaci a následných změnách ke **změně fyzikálních i chemických vlastností**. Zahrnují např. změnu rozpustnosti, náboje a izoelektrického bodu, zesíťení řetězců (*crosslinking*), zvýšenou rezistenci k tepelné denaturaci a stabilitu vůči snížení pH.

AGEs vznikají jako pokročilé produkty neenzymatické glykace bílkovin. Tento děj je úzce spjatý i s oxidačním stresem a karbonylovým stresem.

Neenzymatická glykace

Při neenzymatické glykaci proteinů reagují **volné aminoskupiny** bílkovin (především postranní skupiny lysinu a argininu, v menší míře i postranní skupiny histidinu) **s karbonylovými skupinami** redukcujících cukrů bez katalytického působení enzymů. Tato reakce byla poprvé popsána Louisem Maillardem, který pozoroval hnědnutí bílkovin při zahřívání s cukry.

Maillardova reakce

Iniciace

Reakce je iniciována neenzymovou kondenzací aldehydové skupiny redukcujícího cukru a aminové skupiny za vzniku aldiminu (Schiffovy báze). Reakce probíhá rychle a k dosažení rovnováhy dochází v průběhu několika hodin. Tato reakce je snadno reverzibilní.

Propagace

Schiffova báze během několika dní podléhá chemickému přesmyku za vzniku stabilnějších struktur, které se označují jako tzv. **Amadoriho produkty**. Tyto struktury mají charakter **ketoaminu**. Amadoriho produkty jsou do určité míry reverzibilní, jejich rovnováha je značně posunuta ve směru jejich tvorby. Ustálený stav nastává během 20–30 dní.

Dalšími reakcemi mohou vznikat karbonylové sloučeniny jako glyoxal, methylglyoxal, deoxyglukoson.

Deoxyglukoson vzniká při vyšším pH, kdy Amadoriho produkty enolizují v pozici mezi druhým a třetím uhlíkem a tím eliminují amin z prvního uhlíku. Tyto sloučeniny jsou **velmi reaktivní** a jsou to vlastní propagátory neenzymatické glykace, které způsobují **nevratné molekulární změny proteinů**.

Vznik produktů pokročilé glykace

V poslední fázi reagují Amadoriho produkty či další sloučeniny s volnými aminoskupinami proteinů s dlouhou životností (kolagen, elastin, myelin). Vznikají produkty pokročilé glykace – **AGE-sloučeniny**. Jejich vznik je prakticky ireverzibilní a AGEs trvale poškozují tkáně, ve kterých se **ukládají**.


Oxidační stres

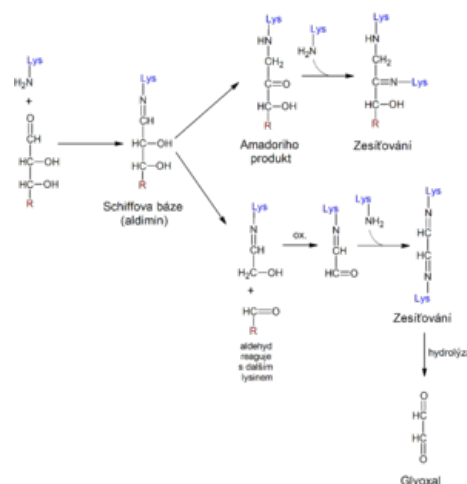
Nerovnováha mezi tvorbou reaktivních forem a antioxidantů, které je z organismu odstraňují. Vzniklá rovnováha je posunuta ve prospěch reaktivních forem.

Mezi reaktivní formy patří hydroxylový radikál, superoxid a sloučeniny vzniklé z Cl , NO_2^- , H_2O_2 , Fe, Cu, dále pak herbicidy, pesticidy a jiné. Tyto látky poškozují biologické struktury – lipidy (lipoperoxidace), proteiny (zesíťení proteinů), cukry (glykosylace) a NK (mutace DNA).

Mohou být z těla odstraněny antioxidanty (vit.C, vit.E, selen, Beta-karoten).

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Základní reaktivní formy kyslíku a dusíku.*

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Antioxidační ochrana lidského těla.*



Hlavní kroky neenzymové glykace a tvorby aldehydů typu glyoxalu.

Karboonylový stres

Zvýšení reaktivních karboonylových sloučenin vede k **postupnému orgánovému poškození**. Může být způsobené jejich zvýšenou tvorbou nebo jejich sníženým odbouráváním (chyba eliminace – aldehyddehydrogenáza) a následným vylučováním.

Karboonylové sloučeniny mají velmi blízký vztah k oxidačnímu stresu, hyperlipidémii a hyperglykémii. Mezi karboonylové sloučeniny patří **glyoxal, glykoaldehyd, hydroxynonenal, methylglyoxal, 2-deoxyglukozon**. Tyto sloučeniny mohou vznikat ze sacharidů, aminokyselin a tuků.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Karboonylový stres.*

RAGE receptor

RAGE je transmembránový protein, který slouží jako receptor pro produkty pokročilé glykace. Řadí se do imunoglobulinové superrodiny. Nejčastěji se vyskytuje na buňkách endotelu (oblasti typicky postižené aterosklerózou), makrofázích a na mikroglíích v mozkové tkáni.

Interakce AGEs-RAGE

Interakce mezi AGEs-RAGE způsobí intracelulární signalizaci. Zároveň vede k oxidačnímu stresu a aktivaci MAP-kináz. Tyto dva mechanismy vedou k aktivaci transkripčních faktorů např. NF-κB (nukleární faktor kappa B). NF-κB ovlivňuje expresi genů důležitých pro imunitu, zánětlivou odpověď, buněčný růst, buněčnou smrt a embryonální vývoj.

Působení RAGE receptoru v organismu

Aktivace NF-κB faktoru stimuluje tvorbu **cytokinů** (IL-1, TN-α, interferon γ) a **růstových faktorů** (IGF-1, PDGF). To má za následek expresi adhezivních molekul, zvýšení buněčné proliferace, zvýšení vaskulární permeability. Dále podněcuje migraci makrofágů, tvorbu endotelinu. Zvyšuje se syntéza kolagenu IV, proteoglykanů a fibronektinu. V místě zánětu podněcuje ve fagocytech tvorbu karboxymethyllysinu (CML).

Negativní působení AGEs v organismu

Komplikace při Diabetes mellitus

Chronické změny u diabetu jsou následkem hyperglykémie, která vede ke zvýšené **glykaci proteinů** a následnému oxidačnímu a karboonylovému stresu. Samotný karboonylový a oxidační stres vede k tvorbě AGEs a ALEs.

Tento mechanismus ovšem není jediný, který vede k orgánovým poškozením při diabetu. Například **samotná hyperglykémie zvyšuje množství AGEs a ALEs** (neenzymatická glykace) – dochází k poruše lipidového metabolismu. Třeba si uvědomit, že vznik komplikací při diabetu není způsoben jedním mechanismem. Jedná se o **komplexní** a do jisté míry kaskádovitý proces, který je značně propojen.

Metabolické změny

Neenzymová glykace – Maillardova reakce.

Dochází k intracelulární hyperglykémii ve tkáních, kde není potřeba inzulin (oční čočka, nervová tkáň, ledviny). Glukóza se metabolizuje na sorbitol a fruktózu, což vyvolá hyperosmolaritu buněk a tím vzniklé **osmotické poškození buňky**. Sorbitol také **poškozuje iontové pumpy**, což vede k neuropatiím a aneurysmatům v sítnici.

Makrovaskulární komplikace

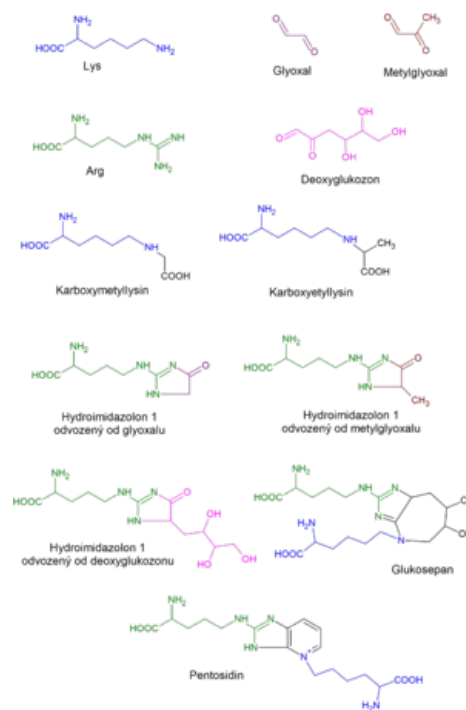
Urychlený rozvoj aterosklerózy, který vede k ICHS, ICHDK.

Mikrovaskulární komplikace

Nefropatie vede k selhávání ledvin. Ukládají se depozita v basální membráně, což vede k jejímu ztlustění a změně náboje. Dále dochází k sekreci růstových faktorů, zvýšení vaskulární permeability, zhuštění a zmnožení mezangiální matrix. Proteiny cévní stěny se modifikují (crosslinking). Dochází ke glykaci a oxidaci LDL částic a kolagenu, což vede k poškození endotelu.

Retinopatie

- Neoproliferativní forma – mikroaneurysmata, drobná krvácení, exsudáty, edém.
- Preoproliferativní forma – avaskulární úseky, plošná krvácení.
- Proliferativní forma – tvorba nových cév, fibróza, krvácení do sklivce.



Vybrané produkty pokročilé glykace a látky, ze kterých vznikají.

Kardiovaskulární komplikace

Modifikace proteinů cévní stěny (crosslinking). Dochází ke zvýšené produkci extracelulární matrix, glykaci a oxidaci LDL částic a také poškození endotelu (glykace kolagenu).





Dalšími komplikacemi jsou poškození artérií (zeslabení cévní stěny, změny cévní propustnosti) a ateroskleróza.

Komplikace dalších systémů

- Nervový systém – Hromadění AGEs v pyramidových buňkách (neuronech) má zřejmě souvislost s Alzheimerovou chorobou, obecně lze říci, že jde o neurodegenerativní onemocnění.
- Dýchací systém – Chronická plicní onemocnění.
- GIT – Jaterní cirhóza.
- Klouby – Revmatoidní artritida.

Terapeutické možnosti redukce tvorby účinku AGEs

Zamezení negativních vlivů AGEs v organismu lze zamezit obecně na 3 úrovních:

1. **Vznik AGEs** – Pečlivá kompenzace diabetu (dieta, snížení hyperglykémie a hyperlipidémie, snížení oxidačního stresu).
2. **Chemická degradace zesíťovaných proteinů.**
3. **Interakce AGEs-RAGE** – Ovlivnění účinku na receptor anti RAGEAb. Zvýšení exprese solubilního receptoru AGE (sRAGE) – inhibitor toxických účinků AGEs. Jeho expresi zvyšují některé inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEI), např. ramipril  či perindopril  ^[2]. Některá antidiabetika blokují signalizaci přes RAGE (pioglitazon  ^[3], empagliflozin  ^[4]).

V dnešní době probíhají neustálé studie na ovlivnění hladiny AGEs a jejich nežádoucích účinků. Do této souvislosti můžeme zařadit látky např. taurin, carnosin, aspirin, pyridoxamin, aminoguanidin, kys. alfa-lipoová.