



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2009/2010

Elisabete Maria Ascensão de Castro
O Papel dos Produtos Finais de Glicosilação
Avançada na Nefropatia Diabética

Abril, 2010

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Elisabete Maria Ascensão de Castro
O Papel dos Produtos Finais de Glicosilação
Avançada na Nefropatia Diabética

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Nefrologia

**Trabalho efectuado sobre a Orientação de:
Professor Doutor Manuel Pestana**

**Elaborado segundo as Normas Editoriais dos
Arquivos de Medicina**

Abril, 2010

FMUP

Nome: ELISABETE RAFA A ASCENÇÃO DE CASTRO

Endereço electrónico: m04011@med.up.pt Telefone ou Telemóvel: 967161530

Número do Bilhete de Identidade: 12786786

Título da Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio:

O PAPEL DOS PRODUTOS FINAIS DE GLICOSILAÇÃO AVANÇADA
NA NEFROPATIA DIABÉTICA

Nome completo do Orientador:

PROF. DR. MANUEL JESUS FALCÃO PESTANA VASCONCELOS

Nome completo do Co-Orientador:

Ano de conclusão: 2010

Designação da área do projecto de opção:

MEDICINA - NEFROLOGIA

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio (*cortar o que não interessar*) apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 14/04/2010

Assinatura: Elisabete Raia Ascensão de Castro

Eu, ELISABETE MARIA ASCENÇÃO DE CASTRO, abaixo assinado, nº mecanográfico 040801011, aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (acto pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 14/04/2010

Assinatura: Elisabete Maria Ascensão de Castro

O PAPEL DOS PRODUTOS FINAIS DE GLICOSILAÇÃO AVANÇADA NA NEFROPATIA DIABÉTICA

Autora: Elisabete Castro

Filiação Institucional: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Correspondência:

Elisabete M^a A. Castro

Rua de Manariz, n^o 486

4510-598, Fânzeres

Telm: 967161530

E-mail: m04011@med.up.pt

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Manuel Pestana de Vasconcelos, pela disponibilidade e dedicação com que encarou este projecto de tese de mestrado e por todas as correcções, sugestões e ajuda prestadas ao longo da sua realização, motivos pelos quais não posso deixar de lhe prestar o meu sincero agradecimento.

Resumo (Português): 265 palavras

Resumo (Inglês): 261 palavras

Texto principal: 4312 palavras

RESUMO

A nefropatia diabética (ND) constitui a principal causa de doença renal crónica, afectando, actualmente, cerca de 15-25% dos diabéticos tipo 1 e 30-40% dos diabéticos tipo 2. Várias décadas de extensa investigação têm tentado elucidar acerca das diversas vias patogénicas implicadas no desenvolvimento da ND.

Os produtos finais de glicosilação avançada (PGAs) constituem um grupo heterogéneo de proteínas, de lípidos e de ácidos nucleicos aos quais os resíduos glucídicos estão covalentemente ligados. A formação dos PGAs está aumentada em situações de hiperglicemia e é também estimulada pelo stress oxidativo. Para além de se poderem ligar de forma não-específica às membranas basais e modificar as suas propriedades, os PGAs são também capazes de induzir respostas celulares específicas ao interagirem com os seus receptores. Os PGAs estão envolvidos nas alterações estruturais das nefropatias crónicas através do seu papel indutor de esclerose glomerular, fibrose intersticial e atrofia tubular. Estes efeitos contribuem assim para a fisiopatologia da generalidade das doenças renais crónicas, mas de forma mais proeminente para a da ND.

Com esta monografia pretende-se fornecer uma visão geral das diferentes vias implicadas na patogénese da ND, enfatizando o papel dos PGAs e revendo a informação relativa às perspectivas terapêuticas que têm vindo a ser exploradas ao longo da última década, que incidiram na actuação ao nível da formação e degradação dos PGAs, bem como na interacção com os seus receptores.

Espera-se que, ao longo dos próximos anos, algumas destas terapêuticas promissoras venham a ser avaliadas em contexto clínico e possam contribuir para a redução da incidência da ND e dos pesados encargos médicos e económicos por ela acarretados.

Palavras-chave: nefropatia diabética; produtos finais de glicosilação avançada; receptor dos produtos finais de glicosilação avançada; tratamento.

ABSTRACT

Diabetic nephropathy is the leading cause of chronic renal disease, affecting at present, about 15-25% of type 1 diabetics and 30-40% of type 2 diabetics. Several decades of extensive research have clarified on the various pathogenic pathways implicated in the development of diabetic nephropathy.

The advanced glycation end products (AGEs) are a heterogeneous group of proteins, lipids and nucleic acids to which glycidyl residues are covalently linked. The formation of AGEs is increased in situations of hyperglycemia and is also stimulated by oxidative stress. It appears that the activation of the renin-angiotensin system may contribute to the formation of AGEs through various mechanisms. Besides being able to connect on a non-specific to basement membranes and modify their properties, the AGEs are also able to induce specific cellular responses to interact with their receptors. AGEs are involved in structural changes of progressive nephropathies inducing glomerulosclerosis, interstitial fibrosis and tubular atrophy. Thus, these effects contribute to the pathophysiology of most chronic renal disease, but more prominently for diabetic nephropathy.

The aim of this thesis is to provide an overview of the different pathways involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy emphasizing the role of AGEs, with particular regard to the therapeutic perspectives that have been explored over the last decade, that focus on the formation and degradation of AGEs, as well as the interaction with their receptors.

It is expected that over the next few years, some of these promising therapies are widely evaluated in clinical context, thereby helping to reduce the incidence of diabetic nephropathy and heavy medical and economic costs it entailed.

Key-words: diabetic nephropathy; glycosylation end products, advanced; advanced glycosylation end-product receptor; therapeutics.

ÍNDICE

Lista de abreviaturas e siglas	5
Introdução	7
Bioquímica dos PGAs	9
Metabolismo dos PGAs	10
Mecanismos de acção dos PGAs	12
Perspectivas terapêuticas	14
Inibidores da formação dos PGAs	15
Quebradores de ligações cruzadas	16
Bloqueadores do RPGA	17
Outros agentes e intervenções	17
Conclusão	20
Bibliografia	21
Tabela e Figuras	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADN – Ácido desoxirribonucleotídeo
- AGEs – *Advanced glycation end products*
- ALT-711 – (3-fenacil-4,5-cloreto de dimetiltiazol)
- ARAs – Antagonistas do receptor da angiotensina II
- BFT – Brometo de N-fenaciltiazol
- CRF – Factor libertador da corticotrofina
- CTGF – Factor de crescimento do tecido conjuntivo
- DAG – Diacilglicerol
- DM – Diabetes mellitus
- DM 1 – Diabetes mellitus tipo 1
- DM 2 – Diabetes mellitus tipo 2
- EGF – Factor de crescimento epidérmico
- ET – Endotelina
- FEEL – *Link domain-containing scavenger receptor*
- GH – Hormona de crescimento
- HbA_{1c} – Hemoglobina glicosilada
- HBPM – Heparina de baixo peso molecular
- IECAs – Inibidores da enzima conversora da angiotensina
- IGF – Factor de crescimento relacionado com a insulina
- IL – Interleucina
- IMC – Índice de massa corporal
- LEGF – *Laminin-type epidermal growth factor-like*
- LOX-1 – *Lectin-like oxidized LDL receptor-1*
- LR-90 – [metileno bis 4,4'-(- 2 clorofenilureído fenoxisobutírico)]
- MAPK – Proteína cinase activada pelo mitogénio
- NADPH – Fosfato do dinucleotídeo de nicotinamida e adenina

ND – Nefropatia diabética

NF- κ B – Factor nuclear- κ B

NO – Óxido nítrico

OPB-9195 – [(6)-2-Isopropilidenhidrazono-4-oxo-tiazolidina-5-ilacetanilido]

PDGF – Factor de crescimento derivado das plaquetas

PGAs – Produtos finais de glicosilação avançada

PKC – Proteína cinase C

PLAs – Produtos finais de lipoxidação avançada

ROS – Espécies reactivas de oxigénio

RPGA – Receptor dos produtos finais de glicosilação avançada

SRAA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona

sRPGA – Forma solúvel do receptor dos produtos finais de glicosilação avançada

TGF- β – Factor de crescimento transformador- β

TNF- α – Factor de necrose tumoral - α

UT – Urotensina

VCAM – Molécula de adesão da célula endotelial

VEGF – Factor de crescimento do endotélio vascular

INTRODUÇÃO

A diabetes mellitus (DM) é uma doença crónica em larga expansão, atingindo, actualmente, proporções de uma epidemia a nível mundial. Estima-se que, actualmente, existam cerca de 240 milhões de diabéticos em todo o mundo e que em 2025 este número aumente para cerca de 380 milhões. Este facto deve-se, essencialmente, à incidência crescente de diabetes mellitus tipo 2 (DM 2), secundária ao envelhecimento, à urbanização, aos maus hábitos alimentares, ao aumento do índice de massa corporal (IMC) e ao estilo de vida sedentário, designadamente nas comunidades ocidentais (1). Em Portugal, a prevalência estimada de DM 2 é de 11,7%, sendo mais frequente nos homens (14,2%) do que nas mulheres (9,5%). Foi também verificado que, a nível nacional, 34,9% da população entre os 20 e os 79 anos tem diabetes ou pré-diabetes, sendo que 43,6% dos afectados desconhece a sua condição (2).

A nefropatia diabética (ND) constitui uma das complicações mais graves da DM sendo a principal causa de doença renal crónica no mundo ocidental. Actualmente, a ND afecta cerca de 15 a 25% dos diabéticos tipo 1 e 30 a 40% dos diabéticos tipo 2 (3).

Ao longo das últimas décadas, têm sido desenvolvidas numerosas investigações numa tentativa de elucidar os mecanismos envolvidos no surgimento e na progressão da ND, verificando-se que esta patologia poderá resultar da interacção entre múltiplos factores, designadamente, genéticos, hemodinâmicos, endócrinos e metabólicos (3) (Figura 1).

Relativamente aos factores genéticos, foram detectados numerosos genes que conferem susceptibilidade para a DM 2, nomeadamente, os envolvidos no equilíbrio electrolítico, na produção e secreção de insulina, no ciclo celular e na diferenciação dos adipócitos (4). Na diabetes mellitus tipo 1 (DM 1), os genes, cujo polimorfismo tem demonstrado estar associado à nefropatia, são, entre outros, os relacionados com o sistema renina-angiotensina, com o metabolismo glucídico e lipídico, com o stress oxidativo, com factores de crescimento e inflamatórios (5).

Os factores hemodinâmicos englobam as elevações da pressão arterial sistémica e intraglomerular, bem como a activação de várias vias de hormonas vasoactivas como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), endotelina (ET), óxido nítrico (NO) e urotensina (UT) (6).

Factores endócrinos estão também relacionados com a patogénese da ND, nomeadamente a hormona de crescimento (GH) e o factor de crescimento relacionado com a insulina (IGF) (3).

A hiperglicemia persistente, consiste num factor crucial no desenvolvimento da ND. Têm sido postulados quatro mecanismos através dos quais a hiperglicemia conduz à lesão tecidual: a activação das vias dos polióis e das hexosaminas, a activação da proteína cínase C (PKC) e a formação dos produtos finais da glicosilação avançada (PGAs) (7-9). Os PGAs constituem um grupo de diversos compostos resultantes da glicosilação não-enzimática de proteínas, lípidos e ácidos nucleicos. Estas reacções iniciais são reversíveis dependendo da concentração dos diversos agentes. No entanto, se houver persistência de elevados níveis de glicose, uma série de reacções subsequentes conduz à formação dos PGAs. Vários compostos como a carboximetilisina e a pentosidina são exemplos de PGAs, bem caracterizados e amplamente estudados. Os PGAs têm a capacidade de formar ligações cruzadas entre proteínas, o que altera a sua estrutura e função, designadamente na matriz extra-celular, na membrana basal e no endotélio. Outra característica importante dos PGAs é a sua capacidade de interacção com uma variedade de receptores da superfície celular, que conduz à sua endocitose e degradação ou à activação celular de eventos pró-oxidantes e pró-inflamatórios (Figura 2). Para além dos produtos formados endogenamente, os PGAs podem também provir de fontes exógenas, como o fumo do tabaco ou o processamento de alimentos (10).

Da interacção entre os diversos mecanismos potencialmente implicados na génese e na progressão da ND, resulta a activação de segundos mensageiros intracelulares como a PKC e a proteína cinase activada pelo mitogénio (MAPK), factores de transcrição intracelulares como o factor nuclear kB (NF-kB) e numerosos factores de crescimento como citocinas pró-escleróticas, factor de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1), factor de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF), factor de crescimento promotor da permeabilidade, factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) (3,6,11). Consequentemente, surgem alterações renais específicas a nível funcional e morfológico. Inicialmente, surge hiperfiltração glomerular, hipertrofia glomerular e renal, aumento da excreção urinária de albumina, espessamento da membrana basal e expansão mesangial com a acumulação de proteínas da matriz extra-celular, como o colagénio,

a fibronectina e a laminina. Numa fase mais avançada da nefropatia surge proteinúria, declínio da função renal com diminuição da depuração de creatinina, glomerulosclerose e fibrose intersticial (3).

Nesta monografia pretende-se rever o papel dos PGAs na patogénese da ND, salientando a sua interacção com outros factores igualmente implicados, incluindo os dados que têm vindo a sugerir um potencial terapêutico da modulação destes agentes. Para o efeito, foram pesquisados artigos científicos na base de dados da Pubmed e da Science Direct. As palavras-chave utilizadas foram “diabetic nephropathy” e “glycosylation end products, advanced”.

BIOQUÍMICA DOS PGAs

Os PGAs constituem uma grande variedade de substâncias formadas a partir de reacções amino-carbonilo, não-enzimáticas, entre açúcares redutores, lípidos oxidados, proteínas ou ácidos nucleicos (12). A via clássica da reacção de Maillard, também denominada glicosilação, inicia-se com a formação de uma base de Schiff instável, formada pela reacção entre um grupo carbonilo de um açúcar reductor, como a glicose, e um grupo amina, proveniente, por exemplo, do aminoácido lisina. Posteriormente, a base de Schiff sofre rearranjos, tornando essa estrutura mais estável - os produtos Amadori - actualmente conhecidos como produtos iniciais da reacção de Maillard. A hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) e a frutossamina são conhecidos exemplos desses produtos. Os produtos de Amadori possuem grupos carbonilo, que reagem com grupos aminas, dando origem aos produtos avançados da reacção de Maillard – PGAs (12,13).

Os mecanismos alternativos de formação de PGAs incluem a chamada via do stress oxidativo, na qual a oxidação de lípidos ou de açúcares gera compostos intermediários altamente reactivos (14). Estes produtos intermediários são conhecidos como compostos dicarbonílicos ou oxaldeídos e são deles exemplo o metilglioxal e o glioxal, formados por glicólise e autooxidação de glicose e que interagem com aminoácidos para formar PGAs (15). Os PGAs formados a partir da oxidação de açúcares ou de lípidos podem também ser denominados, respectivamente, produtos da glicoxidação ou da lipoxidação avançada. Deve salientar-se que, durante a ocorrência de algumas das reacções que levam à formação dos PGAs, formam-se espécies reactivas do oxigénio (ROS) que contribuem, em

simultâneo, para o stress oxidativo e para a ocorrência de danos estruturais e funcionais nas macromoléculas (16,17).

A formação dos PGAs *in vivo* pode, adicionalmente, envolver neutrófilos, monócitos e macrófagos, os quais, após estímulo inflamatório, produzem mieloperoxidase e a enzima NADPH (fosfato do dinucleotídeo de nicotinamida e adenina) oxidase, que induzem a formação de PGAs por intermédio da oxidação de aminoácidos (14).

Devido à complexidade e heterogeneidade das reacções que podem ocorrer, poucos PGAs foram claramente identificados e quantificados em estudos laboratoriais. A carboximetilisina, a pirralina e a pentosidina são exemplos de PGAs bem caracterizados e amplamente estudados (18,19).

METABOLISMO DOS PGAs

O *pool* endógeno de PGAs reflecte basicamente o balanço cinético de dois processos opostos: por um lado, a formação endógena e a absorção dos PGAs exógenos, e por outro, a degradação e a eliminação dos PGAs (20).

A formação de PGAs ocorre lentamente sob condições fisiológicas, e afecta predominantemente moléculas com semi-vida longa, como o colagénio, exercendo, assim, um papel importante no processo de envelhecimento (21). No entanto, sob condições de hiperglicemia ou stress oxidativo, a formação de PGAs aumenta de forma acentuada (16,22). Verifica-se que os diabéticos apresentam concentrações séricas de PGAs significativamente mais elevadas do que os indivíduos não diabéticos (23). A HbA_{1c}, variante de hemoglobina que possui um produto Amadori na sua cadeia β, reflecte a ocorrência de hiperglicemias ao longo dos últimos três meses e, indirectamente, de glicosilação avançada, constituindo, até hoje, o melhor indicador do controlo da diabetes (24). No entanto, verifica-se que, frequentemente, existe discrepância entre um bom controlo glicémico, avaliado através da HbA_{1c} e os níveis cutâneos e circulantes dos PGAs (6). De facto, num estudo efectuado em diabéticos tipo 1, os níveis cutâneos de PGAs foram considerados um melhor predictor de progressão da ND do que a HbA_{1c} (25).

Devido à maior reactividade dos precursores dicarbonílicos derivados da glicose e formados intracelularmente (glioxal, metilglioxal e 3-desoxiglicossone), actualmente, considera-se que o evento primário desencadeador da formação de PGAs intra e extracelulares é a elevada concentração de glicose intracelular (9,26).

A formação dos PGAs é essencialmente endógena, no entanto, esses produtos podem ser introduzidos no organismo através de fontes exógenas, como o fumo do tabaco e os alimentos (27,28). A formação de PGAs nos alimentos é potenciada por métodos de confecção que utilizam altas temperaturas e humidade reduzida, sendo os alimentos ricos em lípidos os principais contribuintes do conteúdo dietético de PGAs (29). Os PGAs provenientes da alimentação, dos quais 50-80% são absorvidos a nível intestinal, são considerados as principais fontes exógenas de PGAs (30). Os restantes são excretados através da urina, em cerca de 48 horas e em indivíduos com função renal normal (14). Há evidências de que os PGAs dietéticos se adicionam ao *pool* de PGAs endógenos, favorecendo o aparecimento e a progressão das diversas complicações da DM (27,31). O fumo do tabaco é também considerado uma importante fonte exógena de PGAs (27). Durante a combustão do tabaco, espécies reactivas de PGAs são volatilizadas, absorvidas pelos pulmões e podem interagir com proteínas séricas (32). Esse acontecimento reflecte-se no facto de as concentrações séricas de PGAs serem significativamente mais elevadas em fumadores do que em não fumadores (33).

O organismo possui mecanismos de defesa contra a acumulação de PGAs. Os sistemas enzimáticos capazes de influenciar o *pool* endógeno de PGAs incluem a oxaldeído reductase e a aldose reductase, eficientes na eliminação de intermediários dicarbonílicos reactivos. Os sistemas enzimáticos glioxilase I e II, a frutosamina-3-cinase e a frutosamina oxidase são também responsáveis pela interrupção de reacções de glicosilação em diferentes estágios (34). No entanto, em situações que condicionem o excesso de PGAs, como na DM, na hiperlipidemia, na insuficiência renal e em indivíduos que consomem alimentos com alto teor em PGAs, esses sistemas podem ser superados (35).

A remoção dos PGAs dos componentes teciduais é realizada através da proteólise extracelular ou pelas células *scavenger*, como os macrófagos, que efectuam a endocitose de PGAs através de receptores e que, após a degradação intracelular, libertam na circulação PGA-peptídeos solúveis e de

baixo peso molecular, que são posteriormente excretados a nível renal, tal como os intermediários altamente reactivos (13). Na presença de insuficiência renal ocorre, assim, a falha da remoção dos PGAs circulantes, contribuindo consideravelmente para as elevadas concentrações de PGAs séricos e teciduais que se verificam nesses doentes (36). Adicionalmente, a lisozima, proteína com reconhecida propriedade antimicrobiana, possui alta afinidade pelos PGAs, constituindo um mecanismo adicional na remoção destes compostos (14).

Associados a esses processos de formação/absorção e degradação/eliminação, os factores genéticos podem influenciar o metabolismo dos PGAs e, conseqüentemente, a predisposição para o desenvolvimento de patologias associadas a estes compostos, como a DM, a aterosclerose, a artrite, a osteoporose e a doença de Alzheimer (15,28). A título de exemplo, o polimorfismo do RPGA, um dos reconhecidos receptores dos PGAs, foi associado a um ligeiro efeito protector quanto ao desenvolvimento de nefropatia em diabéticos tipo 1, sugerindo um importante impacto no efeito da expressão génica sobre o desenvolvimento das complicações vasculares da diabetes (37).

MECANISMOS DE ACCÇÃO DOS PGAs

Os PGAs podem induzir dano celular através de três mecanismos. O primeiro é a modificação de estruturas intracelulares, nomeadamente as envolvidas na transcrição génica. O segundo mecanismo consiste na interacção dos PGAs com proteínas da matriz extracelular, facto que vai alterar a sinalização entre as moléculas da matriz e a célula. O terceiro mecanismo refere-se à modificação de proteínas ou lípidos que podem ligar-se a receptores específicos, conduzindo à produção de citocinas inflamatórias e factores de crescimento que, por sua vez, contribuem para a ND (9,13,26).

Os PGAs formados intracelularmente podem alterar as propriedades celulares fundamentais para a homeostasia vascular, podendo chegar a reduzir 70% da actividade mitogénica do citosol das células endoteliais (38). Adicionalmente, podem ainda ocorrer alterações genómicas após a interacção entre PGAs e nucleotídeos, histonas ou proteínas envolvidas na transcrição do ADN celular (9).

As proteínas de semi-vida longa que constituem a matriz extracelular e as membranas basais vasculares são também susceptíveis à formação e à acumulação dos PGAs. Para além de reduzir a

actividade enzimática, a formação dos PGAs compromete a conformação geométrica das proteínas, causando anomalias estruturais e funcionais permanentes. Há evidências de que a formação de ligações cruzadas entre PGAs e o colágeno tipo I ou elastina conduz ao alargamento da área da matriz extracelular, resultando, assim, no aumento da rigidez vascular (9,38). Quando a composição da matriz extracelular glomerular é afectada, rapidamente surge disfunção e falência orgânicas. A albumina constitui um dos principais alvos dos PGAs. A sua glicosilação induz alterações na conformação tridimensional, podendo daí resultar uma estrutura característica das fibrilas de amilóide. Os depósitos locais condensados de amilóide podem ser resistentes à acção macrofágica, promovendo a inflamação. A inibição da glicosilação da albumina demonstrou melhorar os danos ao nível do glomérulo e da função renal, salientando, assim, o papel central dos PGAs circulantes (39). Os PGAs interferem também nas interacções entre as células e a matriz. Um exemplo dessa interferência consiste na diminuição da adesão das células endoteliais, secundária às alterações causadas pelos PGAs nos domínios de ligações celulares do colágeno tipo IV (26).

Entre os mecanismos através dos quais os PGAs podem contribuir para o desenvolvimento e progressão da ND, é de destacar a interacção desses compostos com receptores presentes na superfície de diversos tipos celulares. Do complexo sistema de reconhecimento dos PGAs, o receptor RPGA é provavelmente a molécula mais bem caracterizada (40,41). O RPGA pertence à superfamília das imunoglobulinas de superfície celular, com o seu gene localizado no cromossoma 6, no complexo principal de histocompatibilidade. As regiões para o NF- κ B e para a interleucina-6 (IL-6) estão localizadas no gene promotor do RPGA, controlando a expressão desse receptor e associando o RPGA às respostas inflamatórias. Sob condições fisiológicas, o RPGA é minimamente expresso nos tecidos e nos vasos. No entanto, a sua expressão está aumentada nos macrófagos, monócitos, células musculares lisas, células endoteliais e astrócitos quando há excesso de PGAs, o que evidencia um processo de feedback positivo (38,40). A interacção PGA-RPGA nas células endoteliais activa a transcrição do NF- κ B, conduzindo ao aumento da expressão de seus genes alvo, como a ET-1, molécula de adesão da célula endotelial-1 (VCAM-1), selectina E, factor tecidual, trombosmodulina, VEGF e de citocinas pró-inflamatórias que incluem a IL-1 α , a IL-6 e o factor de necrose tumoral- α (TNF- α), para além do próprio RPGA. O bloqueio do RPGA, por sua vez, inibe a activação do NF- κ B (38). Verificou-se que

a presença do RPGA é fundamental no comprometimento da resposta angiogénica na DM e que o bloqueio funcional desse receptor é capaz de restaurar a resposta angiogénica suprimida (42). Num outro estudo, a inactivação do gene do RPGA, num modelo animal de ND, resultou na supressão significativa das modificações renais características e evidenciou que o grau da lesão renal era proporcional à carga genética do RPGA (43).

Outros receptores, como o PGA-R1, o PGA-R2 e o PGA-R3, e os receptores *scavenger* de macrófagos classe A tipos I e II, são também capazes de reconhecer e ligar-se aos PGAs, mas não demonstraram qualquer actividade de transdução de sinal após a interacção com os PGAs. Pelo contrário, estes receptores estão associados à eliminação desses compostos. O denominado CD36, receptor *scavenger* da classe B, também reconhece PGAs e está envolvido na depuração desses compostos da circulação, verificando-se que a sua expressão é induzida pelo stress oxidativo (44). Os PGAs também são reconhecidos pelos receptores *scavenger* classe E, factor de crescimento epidérmico (EGF), fasciclina, *lectin-like oxidized LDL receptor-1* (LOX-1), *laminin-type epidermal growth factor-like* (LEGF) e *link domain-containing scavenger receptor-1 e 2* (FEEL-1 e FEEL-2) (38).

A modulação das diferentes actividades exercidas pelos receptores dos PGAs constitui um assunto de grande interesse e tem sido associada a diversos factores, como a concentração da glicose, a concentração de insulina, os PGAs e as ROS. As medidas frequentemente utilizadas em estudos para avaliar a modulação dos receptores dos PGAs centram-se nos parâmetros de activação celular. A caracterização dos receptores dos PGAs, bem como dos seus polimorfismos genéticos, têm sido elucidados e poderão contribuir para o desenvolvimento de novas terapias anti-PGAs (32).

PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS

Uma grande variedade de compostos e estratégias tem vindo a ser estudada *in vitro* e *in vivo*, com o objectivo de avaliar o seu potencial na prevenção e no tratamento da ND (39). Estes fármacos podem ser divididos em diferentes classes, de acordo com o seu mecanismo de acção, nomeadamente os que inibem a formação dos PGAs a diferentes níveis, os que quebram as ligações cruzadas entre

proteínas mediadas pelos PGAs, os que neutralizam os seus efeitos, os que reduzem a expressão do RPGA e os que actuam indirectamente, diminuindo, por exemplo o stress oxidativo (Tabela 1).

É importante referir que, apesar das estratégias de inibição dos PGAs enfatizarem o papel que estes produtos têm no desenvolvimento das complicações da DM, estes tratamentos podem também ser alvo de investigação num contexto diferente, dado que estão também implicados nas patologias secundárias ao processo de envelhecimento.

Inibidores da formação dos PGAs

A aminoguanidina (pimagedina) foi um dos primeiros inibidores dos PGAs a ser estudado e crê-se que actue a nível nuclear, na formação dos intermediários carbonílicos (10). Para além desta acção, acredita-se que a aminoguanidina actue inicialmente como quelante e anti-oxidante (45). Tem sido demonstrado, em estudos animais, que a aminoguanidina previne uma grande variedade de complicações vasculares diabéticas (10) e os ensaios clínicos têm demonstrado uma redução dos PGAs com a aminoguanidina, independentemente da diminuição da HbA_{1c} (46). Em ensaios clínicos com diabéticos tipo 1 e tipo 2, observou-se uma redução da proteinúria e da progressão da retinopatia, apesar de não ter sido demonstrado um benefício estatisticamente significativo na progressão da nefropatia (46). Outros ensaios clínicos têm sido limitados, em resultado de preocupações que surgem relativas à toxicidade desta substância a longo prazo, nomeadamente pela formação de mieloperoxidase e anticorpos anti-neutrófilos, e inclusive, em alguns, de glomerulonefrite (47).

A piridoxamina é um derivado da vitamina B6, que inibe a formação dos PGA e de produtos lipídicos derivados da reacção de Maillard (produtos finais de lipoxidação avançada - PLAs) (48). Há evidência de que este agente possua também efeito anti-oxidante, associado à melhoria da intolerância à glicose e da obesidade em ratos alimentados com dieta com alto teor de gordura (49). Para além disso, a piridoxamina liga-se aos intermediários reactivos, inibindo a formação dos PGAs e PLAs. Estudos realizados em ratazanas obesas demonstram que a piridoxamina impede o desenvolvimento de complicações renais e vasculares (48). Outros trabalhos têm revelado que a piridoxamina impede a elevação dos PGAs a nível renal e no soro, por antagonizar a angiotensina II, prevenindo assim a

hipertrofia renal e reduzindo a retenção de sódio em modelos experimentais (10). Estudos de fase 2 realizados em doentes com DM 1 e DM 2, revelam que a piridoxamina diminui a creatinina plasmática em 48% bem como a excreção urinária de TGF- β , sem alterar a excreção urinária de albumina (50).

O OPB-9195 [(6)-2-Isopropilidenohidrazono-4-oxo-tiazolidina-5-ilacetanilido], um derivado da tiazolidina, tem demonstrado prevenir a progressão da glomerulosclerose e reduzir a excreção urinária de albumina e a expressão renal de TGF- β e VEGF, em modelos animais com DM2 (51).

Em estudos efectuados em ratas com DM, foi verificado que o LR-90 [metileno bis 4,4' – (-2 clorofenilureído fenoxisobutírico)], impede o desenvolvimento de albuminúria e reduz a concentração sérica de creatinina bem como os níveis circulantes de PGAs, não tendo qualquer efeito no controlo glicémico. O LR-90 previne ainda a glomerulosclerose e a deposição de colagénio, em associação com a redução da acumulação glomerular dos PGA (52). Recentemente, demonstrou-se que o LR-90 inibe a expressão do gene S100b induzida pelo RPGA e de outros genes pró-inflamatórios em monócitos humanos (53).

Quebradores de ligações cruzadas

Experiências *in vitro* com o brometo de N-fenaciltiazol (BFT) demonstraram a sua acção como quebrador de ligações cruzadas e como agente capaz de diminuir a acumulação tecidual de PGA sem diminuir a proteinúria. Posteriormente, o ALT-711 (3-fenacil-4,5-cloreto de dimetiltiazol) ou alagébrio, um derivado mais estável do BFT, foi desenvolvido por Alteon e utilizado em estudos com diversos modelos de complicações diabéticas, revelando benefícios ao nível dos órgãos-alvo.

Relativamente à ND, verificou-se que o alagébrio atenua o desenvolvimento de albuminúria em ratas diabéticas, diminui modestamente a pressão arterial e reduz a formação de TGF- β e a deposição de colagénio a nível renal (54). Trabalhos levados a cabo em ratas diabéticas tratadas com alagébrio durante 4 meses, evidenciaram o aumento da solubilidade do colagénio e a redução da expressão dos genes RPGA e PGA-R3 (55). Num outro estudo verificou-se que o alagébrio atenua a aterosclerose em cerca de 30%, um efeito semelhante àquele observado com a aminoguanidina.

Existem numerosos dados que sugerem que o alagébrio possui outros mecanismos de acção para além

do efeito quebrador de ligações cruzadas (56). Um ensaio clínico randomizado, realizado em indivíduos hipertensos, revelou que estes apresentaram uma redução da pressão arterial e da rigidez arterial, após tratamento com alagêbrio (57). Prevê-se que, num futuro próximo, se dê início a estudos centrados no potencial papel renoprotector do alagêbrio (10).

Bloqueadores do RPGA

Uma outra abordagem terapêutica que começa a ser considerada na ND envolve o sRPGA (forma solúvel do RPGA) que bloqueia a ligação dos PGAs ao RPGA. Permanece ainda por elucidar completamente se o sRPGA actua como antagonista inibidor do RPGA dependente das vias de sinalização ou se actua ligando-se aos PGAs e impedindo a sua interacção com os RPGA (58). Estudos efectuados em ratos que não expressam o RPGA sugerem que o sRPGA inibe os fenómenos dependentes do RPGA. Nos próximos anos, crê-se que o sRPGA ou, possivelmente, um antagonista do RPGA não-peptídico, venha a ser aplicado em ensaios clínicos (10).

Outros agentes e intervenções

A benfotiamina, um derivado da vitamina B1, previne a activação das três principais vias que causam dano pela hiperglicemia [via das hexosaminas, formação dos PGAs e a via da PKC-diacilglicerol (DAG)], por aumentar a actividade da transcetolase, uma enzima que limita o ramo não-oxidativo da via da pentose fosfato (59). Em estudos animais, uma alta dose de tiamina e o tratamento com benfotiamina, inibiu o desenvolvimento de microalbuminúria e a hiperfiltração induzida pela diabetes (60). Ensaio clínico recentes demonstram que a benfotiamina previne a disfunção endotelial macro e microvascular bem como o stress oxidativo secundário a uma refeição com alto teor em PGAs (61).

Num trabalho realizado em ratos obesos, com o objectivo de estudar o efeito da urocortina – peptídeo capaz de se ligar e activar os receptores tipo 1 e 2 do factor libertador da corticotrofina (CRF) – na ND, verificou-se que esta reduz a acumulação dos PGAs. Apesar de o mecanismo não estar ainda

bem esclarecido, crê-se que a urocortina participe na eliminação dos PGAs através dos receptores de CRF existentes nas células de Kupffer, contribuindo para a melhoria da ND (62).

Num estudo que avaliou as propriedades anti-PGAs da lisozima, verificou-se que esta acelera o *turnover* celular dos PGAs, neutraliza os sinais pró-inflamatórios e reforça a eliminação renal destes produtos *in vivo* (63).

Num estudo efectuado em ratos, em que foi induzido o aparecimento de ND através da utilização de estreptozotocina, observou-se que a heparina de baixo peso molecular (HBPM) exerce um efeito antagonista no RPGA, verificando-se ainda que, com o tratamento com este anti-coagulante, ocorria uma diminuição da proteína S100 e do TGF- β (43).

O XLF-III, um novo composto aspirina-cumarina, demonstrou reduzir os níveis de PGAs, de TGF- β 1, de CTGF e a albuminúria, em modelos animais com ND, induzida pela estreptozotocina (64).

Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECAs) e os antagonistas da angiotensina II (ARAs), parecem diminuir a formação dos PGAs, em estudos *in vitro* e em modelos animais com DM 1 (65). Para além disso, verifica-se que os IECAs, nomeadamente o perindopril, induzem a expressão de sRPGA, promovendo, assim, um mecanismo adicional de inibição da lesão de órgãos-alvo (10,66).

Uma dieta pobre em PGAs, administrada num ensaio clínico, resultou na diminuição no soro dos níveis de PGAs e de marcadores inflamatórios como a proteína C reactiva (67). Nos últimos anos, estudos realizados em humanos têm demonstrado que uma redução no consumo de PGAs, determinada pelo tempo e temperatura de preparação dos alimentos promove a diminuição dos níveis séricos de PGAs, de mediadores inflamatórios e de lipoproteína de baixa densidade glicosilada ou oxidada em diabéticos e dos níveis circulantes de PGAs em insuficientes renais (68).

Agentes hipoglicemiantes orais como a metformina e a pioglitazona, diminuem a formação dos PGAs pelo facto de reduzirem a hiperglicemia, mas também têm demonstrado inibir, *in vitro* e *in vivo*, a formação dos PGAs, a formação de pontes cruzadas com melhoria da função endotelial, independentemente das propriedades anti-hiperglicémicas que apresenta (69,70).

Para além dos agentes descritos, existem outros em estudo, que têm demonstrado benefícios a diferentes níveis, como por exemplo, na neuropatia diabética, estando a ser analisado o seu potencial terapêutico na ND.

CONCLUSÃO

Os PGAs contribuem de forma clara e relevante para o aparecimento e progressão da ND, representando um alvo promissor de novas intervenções terapêuticas.

Os tratamentos actualmente estabelecidos para a ND envolvem essencialmente a redução da pressão arterial tendo como base o bloqueio do SRAA e incluem os IECAs e os ARAs.

Na última década, diferentes agentes têm vindo a ser testados no contexto dos diferentes mecanismos fisiopatológicos da ND. Novas estratégias terapêuticas que têm vindo a ser analisadas maioritariamente em contexto pré-clínico, demonstraram ser promissoras na redução dos efeitos dos PGAs nesta patologia. Num futuro próximo será fundamental conjugar as investigações sobre as estratégias interventivas que actuam nos diferentes mecanismos patogénicos da ND, no sentido de actuar numa fase ainda precoce do desenvolvimento desta patologia, preconizando assim, a concretização de um dos grandes objectivos, se não o principal, da Medicina: a prevenção.

BIBLIOGRAFIA

1. George L, Bakris ER. Hypertension and Kidney Disease: A Marriage That Should Be Prevented. *Kidney Blood Press Res* 2009;32:67-70.
2. Gardete-Correia L, Boavida JM, Raposo JF, et al. PREVADIAB-Study 2009. Disponível em: URL: <http://www.portaldasaude.gov.pt/NR/rdonlyres/219DAD78-CD13-43CE-9221-42744B24176C/0/EstudoprevalenciaDiabetesemPortugal.pdf>
3. Schrijvers BF, Vriese AS, Flyvbjerg A. From Hyperglycemia to Diabetic Kidney Disease: The Role of Metabolic, Hemodynamic, Intracellular Factors and Growth Factors/Cytokines. *Endocrine Reviews* 2004;25(6):971-1010.
4. Wolfs MGM, Hofker MH, Wijmenga C, van Haften TW. Type 2 Diabetes Mellitus: New Genetic Insights will Lead to New Therapeutics. *Current Genomics* 2009;10:110-118.
5. Conway BR, Maxwell AP. Genetics of Diabetic Nephropathy: Are There Clues to the Understanding of Common Kidney Diseases? *Nephron Clin Pract* 2009;112:c213-c221.
6. Forbes JM, Fukami K, Cooper ME. Diabetic Nephropathy: Where Hemodynamics Meets Metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007;00:1-16.
7. Dronavalli S, Duka I, Bakris GL. The Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism* 2008;4:444-452.
8. Zelmanovitz T, Gerchman F, Balthazar APS, Thomazelli FCS, Matos JD, Canani LH. Diabetic nephropathy. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2009;1:10
9. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications. *Diabetes* 2005;54:1615-1625.
10. Goh S, Cooper ME. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(4):1143-1152.
11. Cooper ME. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2001;44:1957-1972.
12. Monnier VM. Intervention against the Maillard reaction in vivo. *Arch Biochem Biophys* 2003;419(1):1-15

13. Bierhaus A, Hofman MA, Ziegler R, Nauroth PP. AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovasc Res* 1998;37(3):586-600.
14. Huebschmann AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JE. Diabetes and glycoxidation end products. *Diabetes Care* 2006;29(6):1420-32.
15. Smit AJ, Lutgers HL. The clinical relevance of advanced glycation endproducts (AGE) and recent developments in pharmaceuticals to reduce AGE accumulation. *Current Medicinal Chemistry* 2004;11:2767-84.
16. Jay D, Hitomi H, Griendling KK. Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Radic Biol Med* 2006; 40(2):183-92.
17. Hidalgo FJ, Zamora R. Interplay between the maillard reaction and lipid peroxidation in biochemical systems. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1043:284-9.
18. Ahmed N. Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 2005;67(1):3-21.
19. Henle T. AGEs in food: do they play a role in uremia? *Kidney Int Suppl* 2003;63(84):S145-7.
20. Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res* 2004;53(2):131-42.
21. Forbes JM, Soldatos G, Thomas MC. Below the radar: advanced glycation end products that detour “around the side”. Is HbA1c not an accurate enough predictor of long term progression and glycaemic control in diabetes? *Clin Biochem Rev* 2005;26(4):123-34.
22. Lapolla A, Fedele D, Traldi P. Glyco-oxidation in diabetes and related diseases. *Clin Chim Acta* 2005;357(2):236-50.
23. Sharp PS, Rainbow S, Mukherjee S. Serum levels of low molecular weight advanced glycation end products in diabetic subjects. *Diabet Med* 2003;20(7):575-9.
24. Rahbar S. The discovery of glycated hemoglobin: a major event in the study of nonenzymatic chemistry in biological systems. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1043:9-19.
25. Monnier VM, Bautista O, Kenny D, Sell DR, Fogarty J, Dahms W, Cleary PA, Lachin J, Genuth S. 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;48:870-880.
26. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-20.
 27. Peppas M, Uribarri J, Vlassara H. Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: what is new and what works. *Clin Diabetes* 2003;21(4):186-7.
 28. Leslie RD, Beyan H, Sawtell P, Boehm BO, Spector TD, Snieder H. Level of an advanced glycated end product is genetically determined. A study of normal twins. *Diabetes* 2003;52(9):2441-4.
 29. Goldberg T, Cai W, Peppas M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc* 2004;104(8):1287-91.
 30. Forster A, Kuhne Y, Henle T. Studies on absorption and elimination of dietary maillard reaction products. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1043:474-481.
 31. Vlassara H. Advanced glycation in health and disease. Role of the modern environment. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1043: 452-60.
 32. Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. *J Intern Med* 2002;251(2):87-101.
 33. Barbosa JHP, Oliveira SL, Seara LT. O Papel dos Produtos Finais da Glicação Avançada (AGEs) no Desencadeamento das Complicações Vasculares da Diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008;52(6):940-950.
 34. Thornalley PJ. The enzymatic defence against glycation in health, disease and therapeutics: a symposium to examine the concept. *Biochem Soc Trans* 2003;6:1341-2.
 35. Vlassara H, Palace MR. Glycoxidation: the menace of diabetes and aging. *Mt Sinai J Med* 2003;70(4):232-41.
 36. Nakamura S, Tobita K, Tachikawa T, Akamatsu S, Ohno Y, Kan A, et al. Immunohistochemical detection of an AGE, a ligand of macrophage receptor, in peritoneum of CAPD patients. *Kidney Int Suppl* 2003;(84):S152-7.

37. Poirier O, Nicaud V, Vionnet N, Raoux S, Tarnow L, Vlassara H, et al. Polymorphism screening of four genes encoding advanced glycation end-product putative receptors: association study with nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes* 2001;50(5):1214-8.
38. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 2006;114(6):597-605.
39. Bohlander JM, Franke S, Stein G, Wolf G. Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:F645-659.
40. Lin L. RAGE on the toll road? *Cell Mol Immunol* 2006; 3(5):351-8.
41. Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, Watanabe T, Yamamoto H. Roles of the receptor for advanced glycation endproducts in diabetes-induced vascular injury. *J Pharmacol Sci* 2005; 97(3):305-11.
42. Shoji T, Koyama H, Morioka T, Tanaka S, Kizu A, Motoyama K, et al. Receptor for advanced glycation end products is involved in impaired angiogenic response in diabetes. *Diabetes* 2006;55(8):2245-55.
43. Myint KM, Yamamoto Y, Doi T, Kato I, Harashima A, Yonekura H, et al. RAGE control of diabetic nephropathy in a mouse model. Effects of RAGE gene disruption and administration of low-molecular weight heparin. *Diabetes* 2006; 55(9):2510-22.
44. Farhangkhoei H, Khan ZA, Barbin Y, Chakrabarti S. Glucose-induced up-regulation of CD36 mediates oxidative stress and microvascular endothelial cell dysfunction. *Diabetologia* 2005;48:1401-1410.
45. Price DL, Rhett PM, Thorpe SR, Baynes JW. Chelating activity of advanced glycation end-product inhibitors. *J Biol Chem* 2001;276:48967-48972.
46. Bucala R, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in diabetic renal and vascular disease. *Am J Kidney Dis* 1995;26:875-888.
47. Bolton WK, Catran DC, Williams ME, Adler SG, Appel GB, Cartwright K, Foiles PG, Freedman BI, Raskin P, Ratner RE, Spinowitz BS, Whittier FC, Wuerth JP, ACTION I Investigator Group. Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2004;24:32-40.

48. Meerwaldt R, Links T, Zeebregts C, Tio R, Hillebrands L, Smit A. The clinical relevance of assessing advanced glycation endproducts accumulation in diabetes. *Cardiovascular Diabetology* 2008;7:29.
49. Hagiwara S, Gohda T, Tanimoto M, Murakoshi M, Ohara I, Matsumoto M, Horikoshi S, Funabiki K, Tomino Y. Effects of pyridoxamine (K-163) on glucose intolerance and obesity in high-fat diet C57BL/6J mice. *Metabolism* 2009;58(7):934-45.
50. Burney BO, Kalaitzidis RG, Bakris GL. Novel therapies of diabetic nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009;18:107-111.
51. Mizutani K, Ikeda K, Tsuda K, Yamori Y. Inhibitor for advanced glycation end products formation attenuates hypertension and oxidative damage in genetic hypertensive rats. *J Hypertens* 2002;20:1607-1614.
52. Figarola JL, Scott S, Loera S, Tessler C, Chu P, Weiss L, Hardy J, Rahbar S. LR-90 a new advanced glycation endproduct inhibitor prevents progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 2003;46:1140–1152.
53. Figarola JL, Shanmugam N, Natarajan R, Rahbar S. Anti-Inflammatory Effects of the Advanced Glycation End Product Inhibitor LR-90 in Human Monocytes. *Diabetes* 2007;56:647-655.
54. Forbes JM, Soulis T, Thallas V, Panagiotopoulos S, Long DM, Vasan S, Wagle D, Jerums G, Cooper ME. Renoprotective effects of a novel inhibitor of advanced glycation. *Diabetologia* 2001;44:108–114.
55. Candido R, Forbes JM, Thomas MC, Thallas V, Dean RG, Burns WC, Tikellis C, Ritchie RH, Twigg SM, Cooper ME, Burrell LM. A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes-induced myocardial structural changes. *Circ Res* 2003;92:785–792.
56. Thallas-Bonke V, Lindschau C, Rizkalla B, Bach LA, Boner G, Meier M, Haller H, Cooper ME, Forbes JM. Attenuation of extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy by the advanced glycation end product cross-link breaker ALT-711 via a protein kinase C- α -dependent pathway. *Diabetes* 2004;53:2921–2930.

57. Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, Capriotti AR, Scuteri A, deGroof RC, Lakatta EG. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation* 2001;104:1464–1470.
58. Grossin N, Wautier MP, Meas T, Guillausseau PJ, Massin P, Wautier JL. Severity of diabetic microvascular complications is associated with a low soluble RAGE level. *Diabetes and Metabolism* 2008;34:392-395.
59. Hammes HP, Du X, Edelstein D, Taguchi T, Matsumura T, Ju Q, Lin J, Bierhaus A, Nawroth P, Hannak D, Neumaier M, Bergfeld R, Giardino I, Brownlee M. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med* 2003;9:294–299.
60. Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, Battah S, Thornalley PJ. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes* 2003;52:2110–2120.
61. Stirban A, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Gotting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, Tschoepe D. 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.
62. Li X, Hu J, Zhang R, Sun X, Zhang Q, Guan X, Chen J, Zhu Q, Li S. Urocortin ameliorates diabetic nephropathy in obese *db/db* mice. *British Journal of Pharmacology* 2008;154:1025-1034.
63. Zheng F, Cai W, Mitsuhashi T, Vlassara H. Lysozyme enhances renal excretion of advanced glycation endproducts in vivo and suppresses adverse AGE-mediated cellular effects in vitro: a potential AGE sequestration therapy for diabetic nephropathy? *Molecular Medicine* 2001;7(11):737-747.
64. Li H, Zheng X, Wang H, Zhang Y, Xin H, Chen X. XLF-III-43, a novel coumarin-aspirin compound, prevents diabetic nephropathy in rats via inhibiting advanced glycation end products. *European Journal of Pharmacology* 2010;627:340-347.
65. Miyata T, Kurokawa K. A detective story for biomedical footprints towards new therapeutic interventions in diabetic nephropathy. *Internal Medicine* 2003;42:1165-1171.

66. Forbes J, Thorpe S, Thallas-Bonke V, Pete J, Thomas M, Deemer E, Bassal S, El-Osta A, Long M, Panagiotopoulos S, Jerums G, Osicka T, Cooper M. Modulation of soluble receptor for advanced glycation end products by angiotensin-converting enzyme-1 inhibition in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2363-2372.
67. Lin RY, Choudhury RP, Cai W, Lu M, Fallon JT, Fisher EA, Vlassara H. Dietary glycotoxins promote diabetic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 2003;168:213–220.
68. Barbosa J, Oliveira S, Seara L. Dietetics advanced glycation end-products and chronic complications of diabetes. *Rev Nutr* 2009;22(1):113-124.
69. Rahbar S, Natarajan R, Yerneni K, Scott S, Gonzales N, Nadler JL. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. *Clin Chim Acta* 2000;301:65–77.
70. Beisswenger P, Ruggiero-Lopez D. Metformin inhibition of glycation processes. *Diabetes and Metabolism* 2003;29:6S95-6S103.
71. Miyata T, Ueda Y, Asahi K, Izuhara Y, et al. Mechanism of the inhibitory effect of OPB-9195 [(6)-2-Isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-ylacetanilide] on advanced glycation end product and advanced lipoxidation end product formation. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1719-1725.
72. Figarola JL, Scott S, Loera S, Tessler C, Chu P, Weiss L, Hardy J, Rahbar S. LR-90 a new advanced glycation endproduct inhibitor prevents progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 2003;46:1140–1152.
73. Figarola J, Loera S, Weng Y, et al. LR-90 prevents dyslipidaemia and diabetic nephropathy in the Zucker diabetic fatty rat. *Diabetologia* 2008;51:882-891.
74. Cocchietto M, Zorzia B, Candido R, et al. Orally administered microencapsulated lysozyme downregulates serum AGE and reduces the severity of early-stage diabetic nephropathy. *Diabetes and Metabolism* 2008;34:587-594.
75. Myint K, Yamamoto Y, Doi Y, et al. RAGE control of diabetic nephropathy in a mouse model- Effects of RAGE gene disruption and administration of low-molecular weight heparin. *Diabetes* 2006;55:2510-2522.

76. Forbes JM, Thomas MC, Thorpe SR, Alderson NL, Cooper ME. The effects of valsartan on the accumulation of circulating and renal advanced glycation end products in experimental diabetes. *Kidney Int* 2004;66(92):S105-S107.
77. Sebekova K, Schinzel R, Munch G, Krivosikova Z, Dzurik R, Heidland A. Advanced glycation end-product levels in subtotaly nephrectomized rats. Beneficial effects of angiotensin II receptor 1 antagonist losartan. *Miner Electrolyte Metab* 1999;25:380-383.
78. Cumbie B, Hermayer K. Current concepts in targeted therapies for the pathophysiology of diabetic microvascular complications. *Vascular Health and Risk Management* 2007;3(6):823-832.
79. Liu X, Luo D, Zheng M, Hao Y, Hou L, Zhang S. Effect of pioglitazone on insulin resistance in fructose-drinking rats correlates with AGE/RAGE inhibition and block of NADPH oxidase and NF kappa B activation. *European Journal of Pharmacology* 2010;629:153-158.
80. Ritz E. Albuminuria and vascular damage – the vicious twins. *N Eng J Med* 2003;348(23):2349-2352.

Tabela 1 - **Perpectivas terapêuticas da nefropatia diabética via PGAs**

Classe	Composto (referência)	Efeitos em estudos animais	Efeitos em ensaios clínicos	Efeitos adversos
Inibidores da formação dos PGAs	Aminoguanidina (6,10,39,45)	↓Expansão mesangial, ↓citocinas pró-fibróticas, ↓colagénio tipo IV, ↓albuminúria, anti-oxidante	↓ Albuminúria	Glomerulonefrite, ↓vitamina B6, ↓iNOS
	Piridoxamina (10,39,49)	↓ Hiperlipidemia, ↓albuminúria, ↓formação de pontes cruzadas, ↓peso corporal, anti-oxidante	↓Creatinina plasmática, ↓TGF-β	
	OPB-9195 (71)	↓PLA; inibe progressão da glomerulosclerose, ↓albuminúria, ↓TGF-β, ↓VEGF		↓Vitamina B6
	LR-90 (72,73)	↓ RPGA, ↓citocinas pró-inflamatórias (MCP-1, IFN-γ, COX-2), ↓NOX-2, ↓NF-κB, ↓hiperlipidemia, ↓albuminúria, ↓glomerulosclerose, anti-oxidante		Ganho ponderal
Quebradores de ligações cruzadas	BFT (39)	↓Acumulação tecidual de PGAs		
	Alagêbrio (ALT-711) (39)	↓Albuminúria, ↓fibrose renal, ↓PA, ↓TGF-β, ↓colagénio, ↓expressão genes RPGA e PGA-R3, ↓aterosclerose	↓Rigidez arterial, ↓PA	

Classe	Composto (referência)	Efeitos em estudos animais	Efeitos em ensaios clínicos	Efeitos adversos
Bloqueadores do RPGA	sRPGA (58)	↓Aterosclerose, ↓inflamação vascular	↓MCP-1, ↓TGF-β, ↓espessura vascular	
Outras terapêuticas	Benfotiamina (10,60,61)	Previne a formação dos PGAs; previne o desenvolvimento de microalbuminúria	Prevenção da disfunção endotelial, ↓stress oxidativo	
	Urocortina (62)	↓Acumulação PGAs, ↑eliminação renal de PGAs via receptor CRF nas células Kupffer, ↓stress oxidativo, expansão e proliferação glomerular, ↓TGF-β1, ↓CTGF, ↓peso corporal, ↓apetite		
	Lisozima (39,63,74)	↓Acumulação de PGAs, ↑excreção renal de PGAs, ↑endocitose e degradação dos PGAs pelos macrófagos, ↓TGF-β, ↓IGF-1, ↓PDGF, ↓colagénio tipo IV, ↓MMP-9, ↓RPGA, prevenção do desenvolvimento de microalbuminúria e de hipertrofia glomerular		
	HBPM (43,75)	Antagonista RPGA; ↓expressão de: ICAM-1, VCAM, E-selectina, proteína S100, TGF-β; ↓translocação de NF-κB; ↓espécies reactivas de oxigénio		

Classe	Composto (referência)	Efeitos em estudos animais	Efeitos em ensaios clínicos	Efeitos adversos
Outras terapêuticas	XLF-III (64)	↓Albuminúria, ↓expansão mesangial, ↓glomerulosclerose, ↓TGF-β, ↓CTGF, ↓fibronectina, ↓colagénio tipo IV		
	IECAs e ARAs (66,76,77,78)	↓Acumulação plasmática e renal de PGAs, ↓stress oxidativo	↑sRPGA	
	Dieta pobre em PGA (67,68)		↓PGAs, ↓PCR, ↓citocinas inflamatórias, ↓lipoxidação	
	Hipoglicemiantes orais (69,70,79)	↓PGAs, ↓ligações cruzadas, ↓disfunção endotelial Pioglitazona: ↓PGAs, ↓NOX-2, ↓NF-κB, ↓TNF-α, ↓IL-1β, inibe a NADPH oxidase		

PGAs (produtos finais de glicosilação avançada); iNOS (sintetase induzível do óxido nítrico); TGF-β (factor de crescimento transformador-β); OPB-9195 [(6)-2-Isopropilidenohidrazono-4-oxo-tiazolidina-5-ilacetanilido]; PLA (produtos finais de lipoxidação avançada); TGF-β (factor de crescimento transformador-β); VEGF (factor de crescimento vascular endotelial); RPGA (receptor dos produtos de glicosilação avançada); HBPM (heparina de baixo peso molecular); MCP-1 (proteína quimiotática dos monócitos-1); IFN-γ (interferão-γ); COX-2 (ciclooxigenase-2); NOX-2 (NADPH oxidase-2); NF-κB (factor nuclear-κB); BFT (brometo de N-fenaciltiazol); ALT-711 (3-fenacil-4,5-cloreto de dimetiltiazol); PA (pressão arterial); RPGA (receptor dos produtos finais de glicosilação avançada); sRPGA (forma solúvel do receptor dos produtos finais de glicosilação avançada); CRF (factor libertador da corticotrofina); CTGF (factor de crescimento do tecido conjuntivo); IGF-1 (factor de crescimento semelhante à insulina); PDGF (factor de crescimento derivado das plaquetas), MMP-9 (metaloproteinase da matriz-9); ICAM (molécula de adesão intercelular); VCAM (molécula de adesão da célula endotelial); PCR (proteína C reactiva); TNF-α (factor de necrose tumoral-α); IL-1β (interleucina-1β); NADPH (fosfato do dinucleotídeo de nicotinamida e adenina).

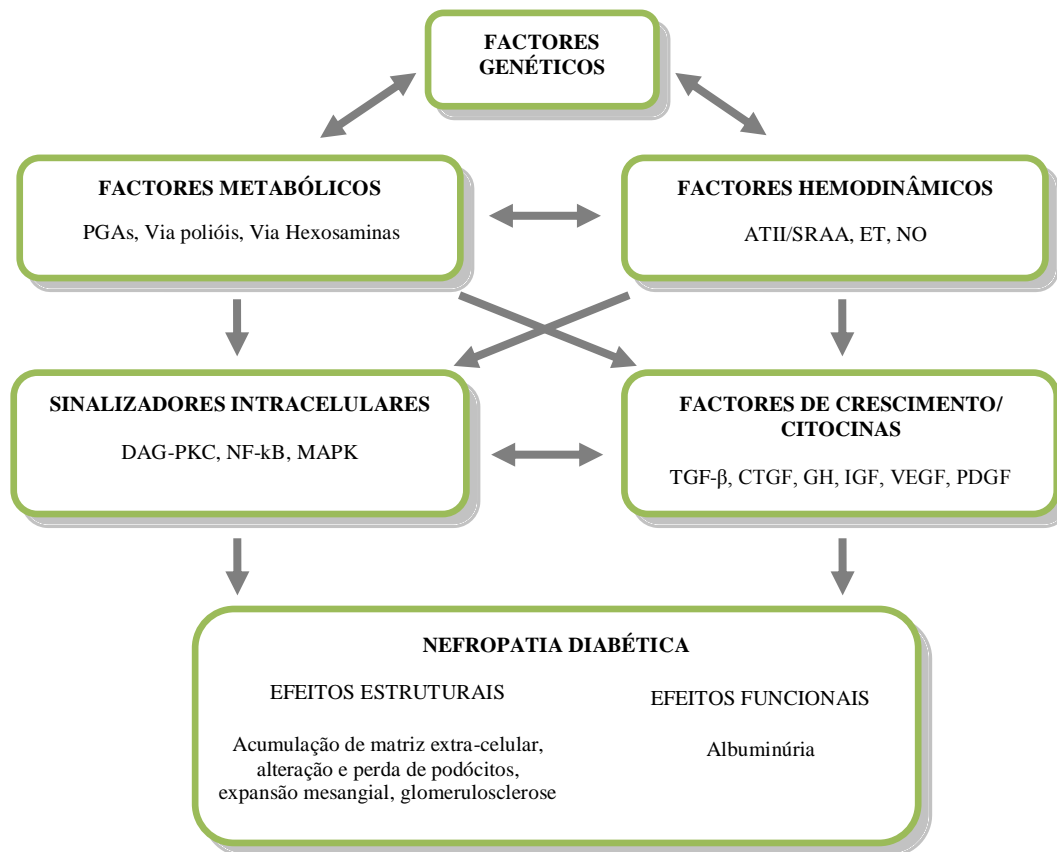


Figura 1: Ilustração esquemática das interações entre os fatores genéticos, metabólicos, hemodinâmicos, intracelulares e de crescimento/citocinas, na patogênese da nefropatia diabética. PGAs (produtos finais de glicosilação avançada); ATII/SRAA (angiotensina II/sistema renina-angiotensina-aldosterona); ET (endotelina); NO (óxido nítrico); DAG-PKC (diacilglicerol – proteína cinase C); NF-κB (factor nuclear κB); MAPK (proteína cinase activada pelo mitogénio); TGF-β (factor de crescimento transformador-β); CTGF (factor de crescimento do tecido conjuntivo); GH (hormona de crescimento); IGF (factor de crescimento semelhante à insulina); VEGF (factor de crescimento do endotélio vascular); PDGF (factor de crescimento derivado das plaquetas).

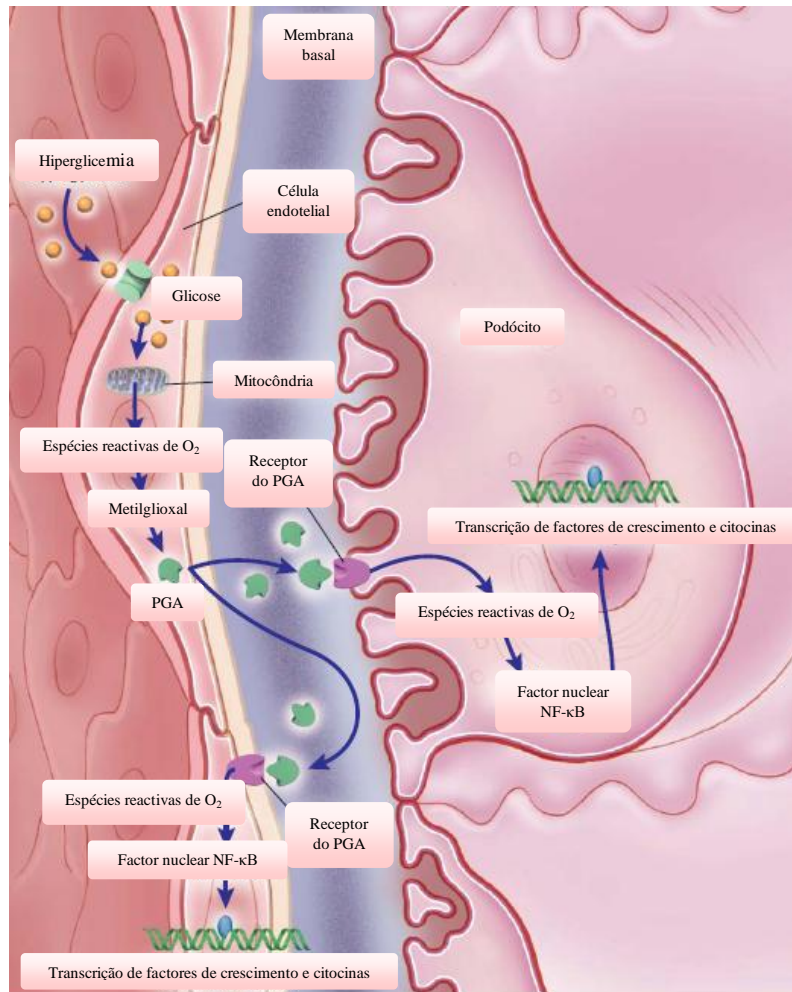


Figura 2: Mecanismos através dos quais a produção intracelular de precusores dos produtos finais de glicosilação avançada (PGAs) produz dano nas células endoteliais. Alterações covalentes das proteínas intracelulares pelos precusores dicarbonílicos alteram de forma grave as funções celulares. A modificação das proteínas da matriz extra-celular conduz a alterações na interação com outras proteínas da matriz e com integrinas. Modificação das proteínas plasmáticas pelos precusores dos PGAs origina ligandos que se ligam aos receptores dos PGAs, induzindo alterações na expressão gênica nas células endoteliais, no mesângio e nos macrófagos. Adaptado de (80), com autorização do autor.