

RECEPTORY WIĄŻĄCE PÓŹNE PRODUKTY GLIKACJI

RECEPTORS FOR ADVANCED GLYCOSYLATION ENDPRODUCTS

Krystyna STALIŃSKA

Instytut Biologii Molekularnej Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

Streszczenie: Późne produkty glikacji – AGE – powstają na skutek nieenzymatycznej glikozylacji białek (reakcja Maillarda). AGE modyfikują funkcje komórek przez oddziaływanie ze specyficznymi receptorami powierzchniowymi: RAGE – receptor wiążący późne produkty glikacji, MSR – receptor *scavenger* oraz AGE-R1-R2-R3 – receptor złożony obecny w śródbłonku. Interakcja AGE/RAGE wywołuje w komórce stres oksydacyjny i aktywację czynnika jądrowego NFκB w drodze RAS/MAPK. Poza AGE, innymi ligandami dla RAGE są amfoteryna i amyloid-β. MSR jest receptorem odpowiedzialnym za fagocytozę i degradację AGE oraz za zjawiska adhezji makrofagów. AGE jest czynnikiem prozapalnym związanym z rozwojem wielu schorzeń, m.in. arteriosklerozy i nefropatii.
(*Postępy Biologii Komórki 2001; Supl. 16: 35–42*)

Słowa kluczowe: późne produkty glikacji, AGE, RAGE, receptor *scavenger*, glikacja

Summary: Advanced glycation end products (AGE) are formed as a result of nonenzymatic glycosylation of proteins, known as Maillard reaction. They modify cell function by interaction with three specific cell surface receptors: RAGE – receptor for advanced glycosylation endproducts, MSR – scavenger receptor, and AGE-R1-R2-R3 – complex receptor in endothelium. The interaction of AGE-RAGE is responsible for oxidative stress and activation of nuclear factor NFκB through Ras/MAPK pathway. Amphoterin and amyloid-β are the other ligands for RAGE. The MSR receptor mediates phagocytosis and degradation of AGE, and macrophage adhesion. As a proinflammatory factor, AGE is associated with development of many diseases, like atherosclerosis or nephropathy.
(*Advances in Cell Biology 2001; Suppl. 16: 35–42*)

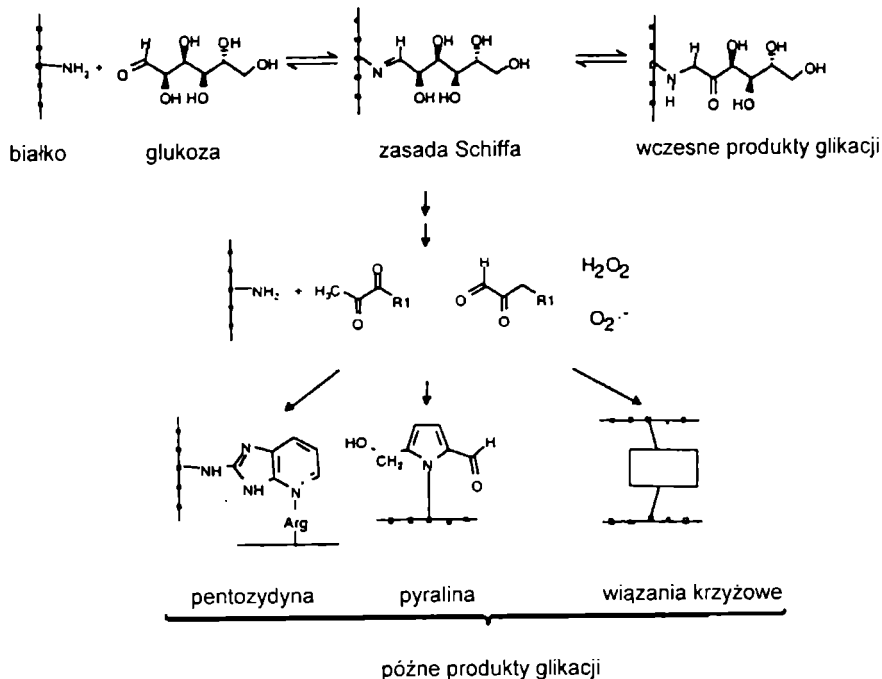
Key words: advanced glycation endproducts, AGE, RAGE, scavenger receptor, glycation

Wykaz stosowanych skrótów: AGE – późne produkty glikacji, EGF – epidermalny czynnik wzrostu, FGF – czynnik wzrostu fibroblastów, GM-CSF – czynnik stymulujący kolonie granulocytarno-makro-

fagowe, **ICAM** – cząstka adhezji międzykomórkowej, **IL** – interleukina, **LDL** – lipoproteiny o niskiej gęstości, **MAPK** – kinazy białkowe aktywowane przez mitogen, **MSR** – makrofagowy receptor *scavenger*, **NF-κB** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κB, **PDGF** – płytkopodobny czynnik wzrostu, **PI3K** – kinaza-3 fosfatydyloinozytolu, **PKC** – kinaza białkowa C, **RAGE** – receptor dla późnych produktów glikacji, **TNF** – czynnik martwicy nowotworu, **VCAM** – cząstka adhezji komórkowej naczyń.

WSTĘP

Glikacja jest jedną z potranslacyjnych modyfikacji białek. Jest to nieenzymatyczny proces zachodzący pomiędzy karbonyłowymi grupami cukrów redukujących a nukleofilowymi grupami białka. Produkt reakcji, zasada Schiffa, przechodzi w formę bardziej stabilnej ketoiminy (przegrupowanie Amadori), a następnie ulega dalszym, powolnym przemianom, takim jak: przegrupowanie wiązań, dehydratacja i oksydacja. Powstałe produkty reagują ponownie z wolnymi grupami aminowymi białka tworząc związki o cechach chromoforów, a utworzone wiązania krzyżowe wewnątrz- i międzycząsteczkowe powodują agregację białek. Podstawowymi epitopami tych późnych produktów glikacji (*Advanced Glycation Endproducts* – AGE) są n-epsylon-karboksymetylolizyna, pyralina i pentozydyna [9, 34].



AGE

RYSUNEK 1. Schemat przedstawiający etapy formowania późnych produktów glikacji (AGE), reakcja Maillarda

Z uwagi na fakt, że reakcja Maillarda jest procesem powolnym (rzędu dni), glikacji podlegają białka o długim okresie półtrwania, przede wszystkim białka macierzy zewnątrzkomórkowej (kolagen, laminina, krystalina oka), ale także białka i lipoproteiny osocza [2, 15]. Zwolniony obrót białek oraz podniesiony poziom cukru przyspieszają proces glikacji. Takie warunki pojawiają się w cukrzycy, w procesach starzenia oraz podczas długotrwałej dializy nerkowej. Przyjmuje się, że glikacja przyczynia się do rozwoju wielu schorzeń m.in. arteriosklerozy, nefropatii czy choroby Alzheimera [16, 35, 37].

Glikacja wpływa zarówno na strukturę białek, jak i na funkcje komórek w odpowiedzi na wiązanie AGE. Praca omawia receptory wiążące glikowane białka. Spośród wielu białek opisanych jako wiążące późne produkty glikacji tylko niektóre spełniają warunki definiujące receptor:

1. **RAGE** – receptor wiążący późne produkty glikacji, obecny w błonie bardzo wielu typów komórek,
2. **MSR** – receptor *scavenger* (zmiatacz), typowy dla fagocytów,
3. **AGE-R1/R2/R3** – receptor złożony, charakterystyczny dla śródbłonna.

RAGE

RAGE (*Receptor for Advanced Glycosylation Endproducts*) należy do nadrodziny cząstek immunoglobulinopodobnych i wykazuje dużą homologię do czynnika adhezji komórek nerwowych (NCAM). Posiada domenę V i dwie domeny C odpowiedzialne za rozpoznanie komórka-komórka i komórka-podłoże, jak również miejsce wiążące antygen [18]. Receptor ten wiąże z dużą swoistością wszystkie dotychczas poznane naturalne i syntetyczne glikowane białka, a liczba receptorów w błonie komórkowej zależy od stężenia i czasu ekspozycji na ligand. Wykazano, że TNF- α , 17 β -estradiol oraz ligand -AGE, mogą uczestniczyć w regulacji ekspresji receptora RAGE [10].

Związanie AGE z receptorem RAGE prowadzi do indukcji stresu oksydacyjnego w komórce [8, 11]. Uruchomiony zostaje szlak przekazu sygnału, w którym uczestniczą m.in. małe białka G z rodziny Ras oraz kinazy – MAP [6, 11]. Szlak Ras/MAPK aktywuje czynnik jądrowy NF κ B, będący ważnym elementem regulacji odpowiedzi zapalnej. Aktywację czynnika AP-1, innego białka jądrowego związanego z odpowiedzią zapalną, stwierdzono w komórkach tubularnych kanalika nerkowego [28]. W rejonie promotorowym wielu genów, których ekspresja jest modulowana przez AGE, znajdują się miejsca wiązania zarówno NF κ B, jak i AP-1. Również w rejonie regulatorowym genu *RAGE* wykazano istnienie dwóch miejsc wiązania NF κ B, co może świadczyć o autoregulacji ekspresji receptora [13].

Jednym z efektów wywołanych związaniem AGE z RAGE jest proliferacja m.in. fibroblastów, komórek mesangialnych nerki czy mięśni gładkich naczyń. Huang i wsp. [5] wykazali, że w przekazie sygnału uczestniczy kinaza Janusa JAK-2 oraz czynniki jądrowe STAT-1 i STAT-3. Szlak JAK/STAT aktywuje ekspresję

receptora epidermalnego czynnika wzrostu, głównego czynnika związanego z proliferacją komórek [5, 8, 33].

INNE LIGANDY RAGE

Silną ekspresję RAGE stwierdzono w mózgu w okresie pre- i wczesnym postnatalnym i dlatego uważa się, że glikowane białka nie mogą być głównym ligandem tego receptora. Wczesnym ligandem RAGE jest amfoteryna, polipeptyd wzmagający syntezę czynnika wzrostu komórek nerwowych (NGF). Amfoteryna warunkuje prawidłowy rozwój mózgu w okresie płodowym. W badaniach *in vitro* ustalono, że kompleks RAGE-amfoteryna aktywuje szlak Cdc42/Rac związany z reorganizacją cytoszkieletu aktynowego i wydłużaniem neurytów [6].

W okresie postnatalnym amfoteryna traci znaczenie jako ligand receptora RAGE, jednak niektóre nowotwory są zdolne do syntezy tego polipeptydu. Zaobserwowano, że zablokowanie wiązania amfoteryny do RAGE prowadzi do zahamowania w komórkach nowotworowych szlaków przekazu sygnału zaangażowanych w aktywację wzrostu oraz zdolność tworzenia przerzutów [32].

W mózgu chorych na chorobę Alzheimera wykazano wzmożoną ekspresję RAGE. Receptor ten wiąże amyloid β – składnik złogów amyloidowych. *In vitro* ustalono, że wiązanie amyloidu β z receptorem RAGE w neuronach wywołuje długotrwały stres oksydacyjny prowadzący do apoptozy komórek [35].

Glikacja amyloidu β zwiększa tempo tworzenia zagregowanych form tego peptydu przez tworzenie wiązań krzyżowych, co dowodzi znaczenia nieenzymatycznej glikozylacji w etiologii choroby Alzheimera [17].

MAKROFAGOWY RECEPTOR TYPU *SCAVENGER* (MSR)

Receptor *scavenger* należy do rodziny makrofagowych receptorów zmiataczy typu 1 klasy A. Cechą wyróżniającą ten receptor spośród pozostałych receptorów zmiataczy jest obecność homotrimeru kolagenopodobnych włókien w układzie helisy oraz domeny wiążącej bogatej w cysteinę [22]. Receptor ten jest charakterystyczny dla fagocytów, ale jego obecność stwierdzono również w błonie komórek śródbłonna i mięśni gładkich [7, 14, 19]. MSR wiąże zarówno glikowane białka, jak i modyfikowane (acetylowane, utlenione) lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL) i uczestniczy w ich internalizacji i degradacji [1, 31].

Podczas różnicowania monocytów w makrofagi liczba receptorów rośnie zgodnie z kierunkiem różnicowania i jest regulowana przez GM-CSF. Fagocyty tkankowe charakteryzują się najsilniejszą ekspresją MSR, a regulacja ekspresji tego receptora związana jest z aktywacją czynnika AP-1 [1, 26, 29].

Przyłączenie AGE do receptora *scavenger* uruchamia proces fagocytozy powiązany z aktywacją kinaz tyrozynowych Src/Syk, aktywacją enzymów związanych

z metabolizmem lipidów błonowych oraz poprzez PI3K z aktywacją kinazy białkowej C. Wzrastające stężenie AGE obniża indeks fagocytny makrofagów. Podwyższony poziom glikowanych białek u chorych z cukrzycą może mieć więc związek ze spadkiem odporności u tych chorych. Insulina odwraca hamujący efekt AGE przez aktywację PI3K [26]. Suzuki i wsp. [31] ustalili, że MSR odpowiada nie tylko za usuwanie AGE czy modyfikowanych LDL, ale też jego obecność w błonie komórkowej jest niezbędna do adhezji monocytów/makrofagów. Jednocześnie wykazano, że adhezja do glikowanych powierzchni (kolagen typ IV-AGE), jak i indukowana rozpuszczalnym AGE obniża zdolność do fagocytozy acetylowanych-LDL [7, 23, 31].

RECEPTOR ZŁOŻONY DLA AGE

Oprócz receptorów RAGE i MSR znaleziono szereg innych białek wiążących AGE, lecz ich funkcja nie została dotychczas wyjaśniona [18, 32, 36]. Dwa spośród nich, opisane jako p60 i p90, znaleziono w wielu typach komórek, ale tylko w śródbłonku wykazano, że tworzą one razem z białkiem o masie 32 kDa receptor złożony AGE-R1/R2/R3 [30]. Podjednostka receptora AGE-R1 (p60) jest białkiem homologicznym do OST-48 – składnika kompleksu ryboforyny związanego z przeniesieniem oligosacharydów wielomannozowych na akceptor asparaginowy w retikulum endoplazmatycznym [27]. Ze względu na tę homologię postuluje się zaangażowanie p60 w transkomórkowym przejściu AGE do głębszych warstw naczyń. AGE-R2 opisane wcześniej jako p90 może ulegać fosforylacji w obecności AGE i przypuszczalnie uczestniczy w przekazie sygnału. AGE-R3 (Gal-3) jest galaktyną typu P. W obrębie kompleksu receptora jest podjednostką wiążącą AGE. Białko to nie posiada domeny transbłonowej, natomiast w kompleksie wiąże się z AGE-R2. W odróżnieniu od p60 i p90, które są białkami stale obecnymi w błonie, Gal-3 jest białkiem indukowalnym, a jego ilość zależy od stężenia AGE. Prawdopodobnie wiązanie AGE przez Gal-3 jest warunkiem formowania się kompleksu receptora.

Receptor złożony AGE-R1-R2-R3 jest dobrze scharakteryzowany w komórkach śródbłonka ludzkiej żyły pępowinowej (HUVEC) oraz w śródbłonku ludzkiej aorty, jakkolwiek przekaz sygnału wywołany związaniem AGE z tym receptorem nie jest jeszcze poznany.

Skutki oddziaływania AGE-receptora

Istotne zmiany wywołane procesem glikacji białek obserwowane są m.in. w układzie naczyniowym, nerkach i mózgu. W tych bowiem tkankach stwierdzono silną kumulację AGE, szczególnie w obrębie macierzy zewnątrzkomórkowej, a wytworzone wiązania krzyżowe usztywniają struktury i zmniejszają ich elastyczność

[2, 15, 16]. Jednocześnie AGE działają chemotaktycznie, co powoduje migrację monocytów/makrofagów do miejsc nagromadzenia się AGE i lokalne uwolnienie mediatorów zapalnych. Modulacja funkcji makrofagów w odpowiedzi na interakcję z glikowanymi białkami wiąże się nie tylko z ich migracją i adhezją, ale także ze wzmożoną ekspresją genów cytokin prozapalnych IL-1, IL-6, TNF- α [10, 19, 31].

W śródbłonku, związanie AGE z receptorami prowadzi, poprzez aktywację czynnika jądowego NF κ B do modulacji ekspresji wielu genów, w tym genów: cytokin prozapalnych – TNF α , IL-6 [10, 19]; cząstek adhezji ICAM-1, VCAM-1 [14]; wielu enzymów: m.in. syntazy tlenu azotu, oksygenazy hemowej typu 1, katalazy [3, 9, 37]. Aktywacja wymienionych czynników jest związana bezpośrednio lub pośrednio z patologicznymi zmianami prowadzącymi do arteriosklerozy.

Zważywszy na fakt kumulacji AGE w głębszych warstwach ścian naczyń i obecności w endotelium wszystkich trzech typów receptorów dla AGE, można sądzić, że tkanka ta może być w sposób istotny narażona na patologiczne zmiany wywołane przez glikację białek.

Jak opisano wcześniej, związanie AGE z receptorem RAGE prowadzi do proliferacji komórek, w tym fibroblastów, komórek mesangialnych czy komórek mięśni gładkich naczyń. Może to mieć związek z obserwowanym przerostem ścian kanalików nerkowych oraz zwężeniem światła naczyń. Takie zmiany obserwuje się u chorych z cukrzycą i po długotrwałej dializie nerkowej. Równocześnie, w wyniku oddziaływania AGE/RAGE, stwierdza się wzmożoną syntezę kolagenowych i niekolagenowych białek macierzy, co może wzmagać efekty związane z nadmierną proliferacją komórek [20, 33]. AGE indukuje syntezę enzymów degradujących białka macierzy, m.in. metaloproteinaz oraz powoduje spadek aktywności ich inhibitorów [3, 9, 37]. Późne produkty reakcji Maillarda działają zatem jak czynniki prozapalne, można więc sądzić, że mają istotny udział w destrukcyjnych przemianach macierzy.

LITERATURA

- [1] ARAKI N, HIGASHI T, MORI T, SHIBAYAMA R, KAWABE Y, KODAMA T, HORIUCHI S. Macrophage scavenger mediates the endocytic uptake of advanced glycation endproducts of the Maillard reaction. *Eur J Biochem* 1995; **230**: 405–415.
- [2] BRANCCACCIO D, GALLIENI M, NIWA T, BRAIDOTTI P, COGGI G. Ultrastructural localization of advanced glycation endproducts and beta2-microglobulin in dialysis amyloidosis. *J Nephrol* 2000; **13**: 129–136.
- [3] COOPER M, THALLAS V, FORBES J, SCALBERT E, SASTRA S, DARBY I, SOULIS T. The cross-link breaker, n-phenacyl thiazolinum bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. *Diabetologia* 2000; **43**: 660–664.
- [4] HOFMANN M, DRURY S, FU C, QU W, TAGUCHI A, LU Y, AVILA C, NAWROTH P, SLATTERY T, BEACH D, McCLARY J, NAGASHIMA M, SCHMIDT AM. RAGE mediates

- a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *J Biol Chem* 1997; **272**: 17810–17814.
- [5] HUANG J, GUH J, HUNG W, YANG M, LAI YH, CHEN HC. Role of the Janus kinase (JAK)/signal transducers and activators of transcription(STAT) cascade in advanced glycation endproducts-induced cellular mitogenesis. *Biochem J* 1999; **342**: 231–238.
- [6] HUTTUMAN H, FAGES C, RAUVALA H. Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE)-mediated neurite outgrowth and activation of NF- κ B require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signalling pathway. *J Biol Chem* 1999; **274**: 19919–19924.
- [7] IVANOV G, KYURKCHIEV S. Effect of advanced glycation and products on the activity of integrins expressed on U937. *Hum Immunol* 1998; **59**: 325–330.
- [8] IWASHIMA Y, ETO M, HORIUCHI S, SANO H. Advanced glycation end product-induced peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene expression in the cultured mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **264**: 441–448.
- [9] KISLINGER T, FU C, HUBER B, QU W, TAGUCHI A, YAN S, HOFMANN M, STERN D, SCHMIDT AM. N-epsilon-carboxymethyl-lysine adducts of proteins are ligands for receptor for AGE that activate cell signaling pathways and gene expression. *J Biol Chem* 1999; **274**: 31740–31749.
- [10] LALLA E, LAMSTER IB, FEIT M, HUANG L, SPESSOT A, QU W, KISLINGER T, LU Y, SCHMIDT AM. Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest* 2000; **105**: 1117–1124.
- [11] LANDER H, TAURAS J, OGIESTE J, HORI O, MOSS R, SCHMIDT AM. Activation of the receptor for AGE triggers a p21ras-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *Nature* 2000; **404**: 787–790.
- [12] LEWIS A, MANNING A. New targets for anti-inflammatory drugs. *Curr Opin in Chem Biol* 1999; **3**: 483–494.
- [13] LI J, SCHMIDT AM. Characterisation and functional analysis of the promotor of RAGE the receptor for advanced glycation end products. 1997; **272**: 16498–14505.
- [14] MCCOURT H, SMEDSRD B, MELKKO J. Characterisation of hyaluronian receptor on rat sinusoidal liver endothelial cells and its functional relationship to scavenger receptors. *Hepatology* 1999; **30**: 1276–1286.
- [15] MIYATA T, ISHIGURO N, YASUDA Y, ITO T, NANGAKU M, IWATA H, KUROKAWA K. 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* 1998; **244**: 45–49.
- [16] MOE SM, SINGH GK, BAILAY AM. Beta2-microglobulin induces MMP-1 but not TIMP-1 expression in human synovial fibroblasts. *Kidney Int* 2000; **57**: 2023–2034.
- [17] MÜNCH G, MAYER S, MICHAELIS J, HIPKISS A, RIEDERE P, MÜLLER R. Influence of advance glycation endproducts and AGE-inhibitors on nucleation-dependent polymerisation of β -amyloid peptide. *Biochem Biophys Acta* 1997; **1360**: 17–29.
- [18] NEEPER M, SCHMIDT AN, BRETT J, YAN SD, WANG F, PAN YE, ELLISON K, STERN D, SHAW A. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 1992; **267**: 14998–15004.
- [19] NEUMAN A, SHINZEL R, PALM D, RIEDERER P, MÜNCH G. High molecular weight hyaluronic acid inhibits advanced glycation endproducts-induced NF- κ B activation and cytokine expresion. *FEBS Lett* 1999; **453**: 283–287.
- [20] OWEN W, HOU F, STUART R, KAY J, BOYCE J, CHERTOW GM, SCHMIDT AM. 2-microglobulin modified with advanced glycation endproducts modulates collagen synthesis by human fibroblasts. *Kidney Int* 1998; **53**: 1365–1373.
- [21] QU W, TAGUCHI A. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell* 1999; **97**: 889–901.

- [22] RESNICK D, CHATTERTON J, SHWARTZ K, SLAYTER H, KRIEGER M. Structure of class A macrophage scavenger receptor. *J Biol Chem* 1996; **271**: 26924–26930.
- [23] RENIER G, DESFAITS AC, SERRI O. Gliclazide decreases low density lipoprotein oxidation and monocyte adhesion to the endothelium. *Metabolism* 2000; **49**: 17–22.
- [24] RITTIE L, BERTON A, MONBOISSE J, HORNEBECK W, GILLERY P. Decrease contraction of glycated collagen lattices coincides with impaired matrix metalloproteinase production. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **264**: 488–492.
- [25] RHOATS R. Signal transduction pathways that regulate eukaryotic protein synthesis. *J Biol Chem* 1999; **274**: 30337–30340.
- [26] SANO H, HIGASHI T, MATSUMOTO K, MELKKO J, JINNOUCHI Y, IKEDA K, EBINA Y, MAKINO H, HORIUCHI S. Insulin enhances macrophage scavenger receptor-mediated endocytic uptake of AGE. *J Biol Chem* 1998; **273**: 8630–8637.
- [27] SILBERSTEIN S, KELLEHER D, GILMORE R. The 48-kDa subunit of the mammalian oligosaccharyltransferase complex is homologous to the essential yeast protein WBPI. *J Biol Chem* 1992; **267**: 23658–23664.
- [28] SIMM A, MÜNCH G, SEIF F, SCHENK O, HEIDLAND A, RICHTER H, VANVAKAS S, SCHINZEL R. Advanced glycation endproducts stimulate the MAP-kinase pathway in tubulus cell line LLC-PK. *FEBS Lett* 1998; **410**: 481–484.
- [29] SMEDSORD B, MELKKO J, ARAKI N, SANO H, HORIUCHI S. Advanced glycation end products are eliminated by scavenger-receptor-mediated endocytosis in hepatic sinusoidal Kupffer and endothelial cells. *Biochem J* 1997; **322**: 567–573.
- [30] STITT A, HE C, VLASSARA H. Characterization of the advanced glycation endproduct receptor complex in human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **265**: 549–556.
- [31] SUZUKI H, KURIHARA Y, TAKEYA M, KOMADA N, KATAOKA M, SUZUKI T, GORDON S, KODAMA T. A role for macrophage scavenger receptors in arteriosclerosis and susceptibility to inflammation. *Nature* 1997; **386**: 292–296.
- [32] TAGUCHI A, BLOOD D, TORO G, CANET A, LEE D, QU W, TANJI N, LU Y, LALLA E, FU C, HOFMANN MA, KISLINGER T, INGHAM M, LU A, TANAKA H, HORI O, OGAWA S, STERN DM, SCHMIDT AM. Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature* 2000; **405**: 354–360.
- [33] TSUJI H, IEHARA N, MASAGI T, IMURA M, OHKAWA J, HIDENORI A, ISHII K, KITA T, DOI T. Ribozyme targeting of receptor for advanced glycation endproducts in mouse mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; **245**: 583–588.
- [34] VASAN S, ZHANG X, KAPURNIOTU A, BERNHAGEN J, TEICHBERG S, BASGEN J, WAGLE D, SHIH D. An agent cleaving glucose-derived protein crosslinks *in vitro* and *in vivo*. *Nature* 1996; **382**: 275–278.
- [35] YAN S, CHEN X, FU J, CHEN M, ZHU H, ROHER A, SLATTERY T, ZHAO L, NAGASHIMA M, MORSER J, MIGHELI T, NAWROTH P, SCHMIDT AM. RAGE and amyloid- β peptide neurotoxicity in Alzheimers disease. *Nature* 1996; **382**: 685–691.
- [36] YAN S, SCHMIDT A, ANDERSOM M, ZHANG J, BRETT J, ZOU YS, PINSKY D, STERN D. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 1994; **269**: 9889–9894.
- [37] ZHANG J, REN S, SHEN GX. Glycation amplifies lipoprotein(a)-induced alterations in the generation of fibrinolytic regulators from humans vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2000; **150**: 299–308.