

M.A. Ihnat¹, J.E. Thorpe¹, A. Ceriello²

¹Department of Cell Biology, University of Oklahoma Health Sciences Center, Oklahoma City, OK, Stany Zjednoczone

²Warwick Medical School, University of Warwick, Wielka Brytania

Hipoteza „pamięci metabolicznej” — nowe wyzwanie w cukrzycy

Hypothesis: the “metabolic memory”, the new challenge of diabetes

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetic Medicine* 2007; 24: 582–586

STRESZCZENIE

W dużych randomizowanych badaniach wykazano, że intensywne wyrównywanie glikemii od samego początku po rozpoznaniu cukrzycy zmniejsza ryzyko rozwoju powikłań cukrzycy zarówno mikro-, jak i makroangiopatii. Jednak wyniki badań epidemiologicznych i dane prospektywne wskazują, że wpływ kontroli metabolicznej we wczesnej fazie na efekty kliniczne jest długofalowy. To zjawisko określono ostatnio jako „pamięć metaboliczną”. Do potencjalnych mechanizmów propagacji tej „pamięci” należą nieenzymatyczna glikacja białek i lipidów komórkowych oraz nadmiar reaktywnego tlenu i azotu w komórce, w szczególności powstający na poziomie glikowanych białek mitochondriów, które prawdopodobnie współdziałają w celu utrzymania procesów sygnałowania w komórce. Sformułowanie teorii „pamięci metabolicznej” wskazuje na konieczność wczesnego intensywnego leczenia cukrzycy, którego celem jest normalizacja glikemii, oraz włączania do terapii substancji redukujących reaktywne związki w komórkach oraz zmniejszających glikację, aby zminimalizować odległe powikłania tej choroby.

Adres do korespondencji: Professor Antonio Ceriello
Warwick Medical School, Clinical Science Research Institute
Clinical Science Building, University Hospital — Walsgrave Campus
Clifford Bridge Road, Coventry CV2 2DX, UK
e-mail: antonio.ceriello@warwick.ac.uk
Diabetologia Praktyczna 2007, tom 8, 7, 289–294
Copyright © by *Diabetes UK*
Tłumaczenie: dr Anna Korzon-Burakowska
Wydanie polskie: VM Group, Grupa Via Medica

Słowa kluczowe: powikłania cukrzycy, pamięć metaboliczna, mitochondria, nieenzymatyczna glikacja, stres oksydacyjny

ABSTRACT

Large randomized studies have established that early intensive glycaemic control reduces the risk of diabetic complications, both micro- and macrovascular. However, epidemiological and prospective data support a long-term influence of early metabolic control on clinical outcomes. This phenomenon has recently been defined as ‘metabolic memory.’ Potential mechanisms for propagating this ‘memory’ are the non-enzymatic glycation of cellular proteins and lipids, and an excess of cellular reactive oxygen and nitrogen species, in particular originated at the level of glycated-mitochondrial proteins, perhaps acting in concert with one another to maintain stress signalling. Furthermore, the emergence of this ‘metabolic memory’ suggests the need for very early aggressive treatment aiming to ‘normalize’ glycaemic control and the addition of agents which reduce cellular reactive species and glycation in order to minimize long-term diabetic complications.

Key words: diabetic complications, metabolic memory, mitochondria, nonenzymatic glycation, oxidative stress

Wstęp

Cukrzyca stanowi narastający i poważny problem zdrowia publicznego. Prowadzi ona do skrócenia czasu przeżycia oraz zwiększenia chorobowości wskutek rozwijających się powikłań. Czynnikiem odgrywającym zasadniczą rolę w cukrzycy jest hiperglikemia, którą można kontrolować poprzez podawanie insuliny lub leków powodujących: wzrost jej wydzielania, zmniejszenie uwalniania glukozy z wątroby, nasilenie zużycia glukozy w mięśniach szkieletowych i tkance tłuszczowej, opóźnienie absorpcji glukozy z pożywienia i (ostatnio) działanie poprzez układ inkretyn [1]. Postępy dotyczące możliwości leczenia oraz nowoczesne metody monitoringu i lepsze markery kontroli glikemii spowodowały skuteczniejsze jej wyrównanie. Mimo to u większości chorych na cukrzycę dochodzi do rozwoju powikłań naczyniowych.

W badaniu *Diabetes Complications and Control Trial* (DCCT) chorzy na cukrzycę typu 1 byli albo leczeni konwencjonalnie, albo też stosowano u nich intensywną terapię w celu normalizacji wartości glikemii. Ponieważ w grupie leczonej intensywnie u pacjentów, u których osiągnięto ściśle wyrównanie glikemii, progresja powikłań z grupy mikroangiopatii uległa znacznej redukcji, badanie zakończono po średnio 6,5 roku obserwacji, a intensywną terapię zastosowano u wszystkich badanych [2]. W badaniu *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (EDIC), stanowiącym kontynuację DCCT, u pacjentów, którzy byli początkowo leczeni konwencjonalnie w badaniu DCCT, w porównaniu z osobami intensywnie leczonymi od samego początku, częstość występowania powikłań była wyższa nawet wiele lat po zmianie terapii na intensywną [3, 4]. Ponadto najnowsze dane z badania EDIC również wskazują na to, że kontrola glikemii we wczesnym okresie po rozpoznaniu cukrzycy może wpływać na występowanie makroangiopatii, a zjawisko to może być bardziej wyraźne w dłuższym okresie obserwacji [5, 6].

Dane z badania *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) mogą potwierdzać te obserwacje. Zwłaszcza u pacjentów z niższą glikemią w chwili rozpoznania cukrzycy obserwowano mniej powikłań naczyniowych i przebieg kliniczny był u nich bardziej pomyślny w porównaniu z osobami z wyższymi stężeniami glukozy na czczo na początku choroby, mimo podobnego tempa wzrostu glikemii [7], co sugeruje, że dobre wyrównanie metaboliczne od samego początku trwale i korzystnie wpływa również w cukrzycy typu 2.

Powyższe obserwacje potwierdzają hipotezę, że stan metaboliczny na początku choroby zostaje za-

pamiętany, a autorzy badań DCCT i EDIC określili to zjawisko mianem „pamięci metabolicznej” [6].

Dane eksperymentalne potwierdzające hipotezę „pamięci metabolicznej” i jej możliwy związek ze stresem oksydacyjnym

Wiele lat temu wstępne dane sugerowały możliwość istnienia zjawiska „pamięci hiperglikemii” dla nadprodukcji fibronektyny i kolagenu w komórkach śródbłonna, która utrzymuje się nawet po normalizacji glikemii [8]. Po zastosowaniu tego samego schematu — 14 dni inkubacji w wysokim stężeniu, a następnie 7 dni w prawidłowym stężeniu glukozy — na podstawie wstępnych danych stwierdzono, że nadprodukcja wolnych rodników przez komórki śródbłonna utrzymuje się po normalizacji stężenia glukozy, a zjawisku temu towarzyszy wydłużenie indukcji kinazy białkowej C- β (PKC- β , *protein kinase C- β*), NAD(P)H oksydazy, białka Bax, kolagenu i fibronektyny, oprócz 3-nitrotyrozyny (3-NY) [9]. Obserwacja ta sugeruje, że zjawisko stresu oksydacyjnego może uczestniczyć w efekcie „pamięci metabolicznej”.

Wpływ przywrócenia dobrej kontroli glikemii na wywołany hiperglikemią stres oksydacyjny opisano już wcześniej w siatkówce szczurów, u których utrzymywano złe wyrównanie glikemii zanim wprowadzono dobrą kontrolę metaboliczną [10]. U szczurów z cukrzycą po 2–6 miesiącach złego wyrównania glikemii ($HbA_{1c} > 11,0\%$) nastąpił okres dobrego wyrównania ($HbA_{1c} < 5,5\%$). Przywrócenie dobrego wyrównania glikemii po 2 miesiącach złej kontroli spowodowało obniżenie podwyższonego stężenia nadtlenków lipidów oraz tlenku azotu (NO, *nitric oxide*) w siatkówce o około 50%, ale nie wykazano żadnego wpływu na tworzenie nitrotyrozyny. Jednak obniżenie hiperglikemii po 6 miesiącach złego wyrównania nie wpływało na poziom stresu oksydacyjnego siatkówki oraz NO. U tych samych szczurów ekspresja syntazy tlenku azotu oraz stężenia nitrotyrozyny były podwyższone o ponad 80% w porównaniu z normalnymi szczurami lub z osobnikami, u których utrzymywano dobre wyrównanie glikemii podczas trwania badania [10]. W podobnej próbie aktywność kaspazy-3 u szczurów z cukrzycą, ze złym wyrównaniem glikemii w okresie 13 miesięcy wynosiła 175% wartości obserwowanej u zdrowych zwierząt [11]. Wprowadzenie dobrego wyrównania glikemii po 2 miesiącach złej kontroli spowodowało częściową normalizację wywołanej hiperglikemią aktywacji kaspazy-3 (do 140% wartości prawidłowej), podczas gdy normalizacja glikemii po 6 miesiącach hiperglikemii nie miała istotnego wpływu na aktyw-

ność kaspazy-3. W tym samym badaniu aktywność jądrowego czynnika kappa-B (NF- κ B, *nuclear factor-kappa B*) była 2,5-krotnie wyższa u szczurów ze źle wyrównaną cukrzycą w porównaniu z normalnymi osobnikami. Wprowadzenie dobrego wyrównania metabolicznego po 2 miesiącach hiperglikemii spowodowało częściowe zmniejszenie tego wzrostu, ale normalizacja glikemii po 6 miesiącach złego wyrównania nie wpłynęła na aktywność NF- κ B. Wprowadzenie dobrego wyrównania glikemii wkrótce po rozpoznaniu cukrzycy u szczurów zapobiega aktywacji siatkówkowej kaspazy-3 i NF- κ B [11].

Podobne obserwacje poczyniono w przypadku nerek. U szczurów z cukrzycą utrzymywano dobre wyrównanie glikemii ($HbA_{1c} = 5,0\%$) zaraz po wywołaniu hiperglikemii lub 6 miesięcy później. Szczury te uśmiercono 13 miesięcy po wywołaniu u nich cukrzycy [12]. W przypadku szczurów, u których dobre wyrównanie glikemii wprowadzono zaraz po wywołaniu u nich cukrzycy, poziom stresu oksydacyjnego [mierzonego stężeniem nadtlenków lipidów (LPOs, *lipid peroxides*), 8-hydroxy-2'-deoxyguanozyny (8-OHdG) i zredukowanego glutationu (GSH) oraz stężenie NO w moczu i korze nerkowej nie różniły się od poziomów obserwowanych u zdrowych szczurów z grupy kontrolnej, ale gdy wprowadzenie dobrego wyrównania cukrzycy opóźniono do 6 miesięcy po wywołaniu cukrzycy, poziom stresu oksydacyjnego oraz stężenia NO w moczu i korze nerkowej nie zmieniły się [12].

Powyższe dane sugerują, że wywołany hiperglikemią stres oksydacyjny oraz podwyższone stężenie NO, jak również aktywacja apoptozy i NF- κ B mogą ulec normalizacji, jeżeli dobre wyrównanie metaboliczne zostanie wprowadzone bardzo wcześnie, ale osiągnięcie normalizacji jest trudniejsze, jeśli złe wyrównanie glikemii utrzymuje się przez dłuższy czas. Obserwacje te sugerują utrzymywanie się zmian wywołanych hiperglikemią w narządach, nawet po jej normalizacji.

Podstawy molekularne zjawiska „pamięci metabolicznej” — prawdopodobny związek między stresem oksydacyjnym a nieenzymatyczną glikacją

Rola stresu oksydacyjnego w rozwoju powikłań cukrzycy

- Brownlee i wsp. wykazali ostatnio występowanie nadmiaru reaktywnego jonu nadtlenkowego ($\bullet O_2$) w mitochondriach komórek śródbłonna, w odpowiedzi na hiperglikemii w sytuacji wystę-

powania powikłań cukrzycy [13]. Powyższa obserwacja łączy się z 4 kluczowymi szlakami mogącymi wiązać się z rozwojem tych powikłań [szlak polyolu, podwyższone stężenie zaawansowanych produktów glikacji (AGE, *advanced glycation end-product*), aktywacja kinazy białkowej C oraz zwiększenie aktywności szlaku heksozaminowego] w jedną hipotezę wpływu hiperglikemii na rozwój powikłań cukrzycy [13, 14]. Zagadnienie to opisali Brownlee [15] i Ceriello [16].

Jednak jeśli nadmiar reaktywnych związków odgrywa zasadniczą rolę zależnych od hiperglikemii powikłań cukrzycy, czy ten nadmiar może tłumaczyć utrzymywanie się ryzyka rozwoju powikłań, nawet wówczas, gdy hiperglikemia ulegnie zmniejszeniu lub normalizacji?

Glikacja białek mitochondriów, stres oksydacyjny i „pamięć metaboliczna”

Wyniki wspomnianych powyżej badań [9, 12] sugerują, że długotrwała hiperglikemia powoduje wzrost stresu oksydacyjnego, podczas gdy jego hamowanie, jak wykazano we wstępnych badaniach, odwraca to działanie [9]. Sugeruje się, że zjawisko nadprodukcji jonu nadtlenkowego w mitochondriach ($\bullet O_2$), w warunkach hiperglikemii łączy ze sobą wszystkie hipotezy dotyczące rozwoju powikłań cukrzycy [15]. Dlatego można wnioskować, że mitochondria również odgrywają ważną rolę w zjawisku „pamięci metabolicznej”. Uważa się, że przewlekła hiperglikemia zmienia funkcję mitochondriów poprzez glikację białek mitochondrialnych [17]. Stężenia metylglioksala (MGO, *methylglyoxal*), wysoko reaktywnego produktu glikolizy, u chorych na cukrzycę są podwyższone [18]. Metylglioksal łatwo wchodzi w reakcję z arginina, lizyna i grupami sulfhydrylowymi białek [19], oprócz kwasów nukleinowych [20], powodując tworzenie AGE zarówno w komórkach docelowych, jak i w surowicy [12]. Metylglioksal hamująco wpływa na proces oddychania w mitochondriach, a modyfikacje wywołane przez MGO dotyczą specyficznych białek mitochondriów [22]. Jest to ważne ze względu na wyniki ostatnich badań, w których po raz pierwszy opisano bezpośredni związek między tworzeniem wewnątrzkomórkowych AGE na białkach mitochondriów, zredukowaniem funkcji mitochondriów i nadmiernym powstawaniem reaktywnych związków [23]. Dlatego białka łańcucha oddechowego mitochondriów, które uległy glikacji, mogą mieć tendencję do zwiększonego wytwarzania $\bullet O_2$, niezależnie od hiperglikemii.

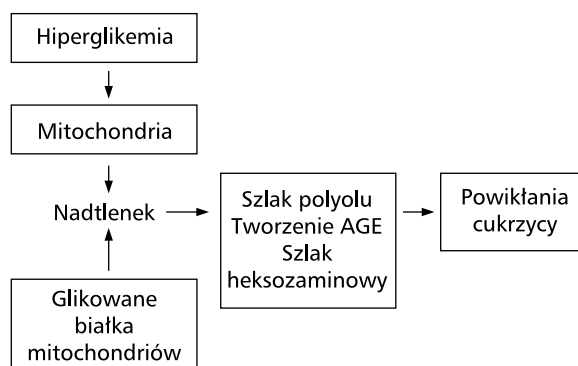
Tworzenie AGE jest procesem długotrwałym. W badaniu DCCT proces ten oceniono u 215 pacjen-

tów, u których wykonano biopsję skóry rok po zakończeniu badania [24]. W porównaniu z terapią konwencjonalną leczenie intensywne wiązało się z istotnie niższymi stężeniami AGE. Występowanie retinopatii, neuropatii i neuropatii [24] wiązało się w sposób znamieny ze stężeniami AGE, a podwyższone stężenie AGE w skórze miało istotny związek z powikłaniami z grupy mikroangiopatii [25] w badaniu EDIC. Zaawansowane produkty glikacji mogą również tłumaczyć wzrost częstości powikłań sercowo-naczyniowych w badaniu EDIC [6], ponieważ AGE korelują z występowaniem schorzeń układu sercowo-naczyniowego u kobiet, nawet bez cukrzycy [26].

Naprawdę istotne znaczenie ma fakt, że podatność białek, a zwłaszcza kolagenu, na glikację jest niezależna od faktycznej wartości glikemii [25]. Sugerowano, że glikacja kolagenu zewnątrzkomórkowego może stanowić marker glikacji wewnątrzkomórkowej i może być predykatorem uszkodzenia narządów [25]. Podczas gdy hemoglobina glikowana może podlegać częściowej enzymatycznej deglikacji [27], nie stwierdzono takiej reakcji w przypadku AGE wbudowanych w kolagen. Dlatego wydaje się, że zjawisko tworzenia AGE kolagenu jest nieodwracalne.

Glikacja białek mitochondriów może przyczynić się do wyjaśnienia zjawiska „pamięci metabolicznej”. Glikowane mitochondria, produkujące w nadmiernych ilościach wolne rodniki, niezależnie od stężenia glukozy, mogą prowadzić do katastrofalnego cyklu uszkodzenia mitochondrialnego DNA (mt DNA), jak również do pogorszenia czynności mitochondriów i dalszego wytwarzania rodników tlenowych oraz uszkodzenia komórki [28], podtrzymując w ten sposób aktywację szlaków zaangażowanych w patogenezie powikłań cukrzycy. Ponadto białka mitochondriów ulegają uszkodzeniu lub modyfikacji potranslacyjnej w wyniku zmiany stanu *redox* komórki [28]. Może to również dotyczyć białek importowanych zarówno do błony zewnętrznej, wewnętrznej mitochondriów, jak i do macierzy za pomocą specjalnego mechanizmu transportującego [28]. Wreszcie stres oksydacyjny może zmieniać ekspresję białek mitochondriów [29, 30] oraz ich obrót [31], co może prowadzić do utrwalenia zjawiska.

Innymi słowy, można postawić hipotezę, że w przypadku zjawiska „pamięci metabolicznej” kaskada zdarzeń jest taka sama jak zaproponowana przez Brownlee [15] — źródłem $\cdot O_2$ pozostaje nadal mitochondrium, ale dodatkowo produkcja związków reaktywnych jest niezależna od obecności hi-



Rycina 1. Wewnątrzkomórkowa hiperglikemia wywołuje nadprodukcję nadtlenu na poziomie mitochondrium. Nadmierna produkcja nadtlenu jest pierwszym i najważniejszym zjawiskiem aktywacji wszystkich innych szlaków uczestniczących w patogenezie powikłań cukrzycy, takich jak szlak polyolu, wzmożone tworzenie AGE, aktywacja kinazy białkowej C i NF- κ B i wzrost aktywności szlaku heksosaminowego. Białka mitochondriów ulegają glikacji w okresie hiperglikemii, co powoduje wzrost produkcji anionu nadtlenkowego w mitochondriach. W tym przypadku, nawet jeśli dojdzie do obniżenia lub normalizacji glikemii, glikowane mitochondria nadal produkują anion nadtlenkowy, aktywując w ten sposób te same szlaki zaangażowane w patogenezie powikłań cukrzycy. Powyższa hipoteza może tłumaczyć zjawisko „pamięci metabolicznej”

perglikemii i zależy od poziomu glikacji białek mitochondriów. Tę hipotezę przedstawiono na rycinie 1.

Implikacje terapeutyczne i perspektywy

Udowodniono, że hiperglikemia już we wczesnym okresie pozostawia ślady i wpływa na rozwój powikłań w przyszłości, co ma istotne implikacje terapeutyczne; konieczne wydaje się rozpoczęcie intensywnego leczenia hiperglikemii już od pierwszych chwil po rozpoznaniu cukrzycy. Jednak chociaż taka koncepcja znajduje zrozumienie i akceptację w cukrzycy typu 1, w przypadku cukrzycy typu 2 pojawiają się pewne wątpliwości, ponieważ może to oznaczać konieczność leczenia insuliną już we wczesnym etapie choroby. Ponadto ściśle wyrównywanie glikemii może wiązać się z obniżaniem glikemii poposiłkowej [32, 33], nie tylko dlatego, że ma ona istotny wpływ na stężenie HbA_{1c} zarówno w cukrzycy typu 1, jak i typu 2 [34, 35], ale również dlatego, że hiperglikemii poposiłkowej towarzyszy tworzenie związków reaktywnych [36] i AGE — nie tylko w surowicy [37], lecz także wewnątrzkomórkowo [38].

Inną możliwą strategią jest redukcja tworzenia AGE i generacji stresu oksydacyjnego równolegle z normalizacją glikemii. Stworzono już wiele związków blokujących tworzenie AGE. Wykazano, że metformina i pioglitazon zapobiegają powstawaniu AGE

[39]. Inhibitory konwertazy angiotensyny i preparaty blokujące receptor AT-1 są lekami hipotensyjnymi, ale również zmniejszają tworzenie AGE [40]. Interesujący jest fakt, że leki te mają także działanie antyoksydacyjne [16] i, przynajmniej jeśli chodzi o preparaty blokujące AT-1, są dowody na ich specyficzne działanie zapobiegające wywołanemu hiperlikemią stresowi oksydacyjnemu [41]. Wreszcie statyny mogą potencjalnie korzystnie wpływać na redukcję związków reaktywnych [41]. Zatem można przypuszczać, że w przyszłości terapia będzie obejmowała leki działające na tworzenie AGE [42], w połączeniu ze związkami działającymi specyficznie na tworzenie reaktywnych związków w mitochondriach [43].

Wnioski

Pojawiały się nowe dane sugerujące, że hiperlikemia może już we wczesnym okresie pozostawiać ślady w komórkach układu naczyniowego i narządów docelowych, przyczyniając się do rozwoju powikłań cukrzycy w przyszłości. Ponadto można sądzić, że ta „pamięć” może się pojawiać, nawet jeśli uda się osiągnąć dobre wyrównanie glikemii. To zjawisko nazwano „pamięcią metaboliczną” [6]. Powyższe dane nasuwają wiele pytań dotyczących leczenia cukrzycy. Istnienie „pamięci metabolicznej” sugeruje przede wszystkim, że od pierwszych chwil po rozpoznaniu cukrzycy należy zastosować intensywne leczenie hiperlikemii.

Konflikt interesów

Nie zadeklarowano.

PIŚMIENICTWO

1. Drugs for diabetes. W: Abramowicz M. (red.). Treatment guidelines from the medical letter 2005; 57–62.
2. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 977–986.
3. Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Effect of intensive therapy on the microvascular complications of type 1 diabetes mellitus. *J. Am. Med. Assoc.* 2002; 287: 2563–2569.
4. Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *J. Am. Med. Assoc.* 2003; 290: 2159–2167.
5. Nathan D.M., Lachin J., Cleary P. i wsp. Diabetes Control and Complications Trial, Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 2294–2303.
6. Nathan D.M., Cleary P.A., Backlund J.Y. i wsp. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 2643–2653.
7. Colagiuri S., Cull C.A., Holman R.R., UKPDS Group. Are lower fasting plasma glucose levels at diagnosis of type 2 diabetes associated with improved outcomes? UK Prospective Diabetes Study 61. *Diabetes Care* 2002; 25: 1410–1417.
8. Roy S., Sala R., Cagliero E., Lorenzi M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 404–408.
9. Ceriello A., Ilnat M., Ross K. i wsp. Evidence for a cellular 'memory' of hyperglycemic stress. *Diabetes* 2005; 54: 218A.
10. Kowluru R.A. Effect of reinstatement of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrate stress in diabetic rats. *Diabetes* 2003; 52: 818–823.
11. Kowluru R.A. Re-institution of good metabolic control in diabetic rats and activation of caspase-3 and nuclear transcriptional factor (NF- κ B) in the retina. *Acta Diabetol.* 2004; 41: 194–199.
12. Kowluru R.A., Abbas S.N., Odenbach S. Reversal of hyperglycemia and diabetic nephropathy: effect of reinstatement of good metabolic control on oxidative stress in the kidney of diabetic rats. *J. Diabetes Complications* 2004; 18: 282–288.
13. Nishikawa T., Du Edelstein D.X.-L., Yamagishi S. i wsp. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–790.
14. Du X.L., Edelstein D., Rossetti L. i wsp. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the exosome pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 97: 12222–12226.
15. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813–820.
16. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a 'causal' antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003; 26: 1589–1596.
17. Kang Y., Edwards L.G., Thornalley P.J. Effect of methylglyoxal on human leukaemia 60 cell growth: modification of DNA G1 growth arrest and induction of apoptosis. *Leuk. Res.* 1996; 20: 397–405.
18. Beisswenger P.J., Howell S.K., Nelson R.G., Mauer M., Szwegold B.S. Alpha-oxoaldehyde metabolism and diabetic complications. *Biochem. Soc. Trans.* 2003; 31: 1358–1363.
19. Lo T.W., Westwood M.E., McLellan A.C., Selwood T., Thornalley P.J. Binding and modification of proteins by methylglyoxal under physiological conditions. A kinetic and mechanistic study with N α -acetylarginine, N α -acetylcysteine, and N α -acetyllysine, and bovine serum albumin. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 32299–32305.
20. Papoulis A., al-Abed Y., Bucala R. Identification of N2-(1-carboxyethyl) guanine (CEG) as a guanine advanced glycosylation end product. *Biochemistry* 1995; 34: 648–655.
21. Thornalley P.J., Battah S., Ahmed N. i wsp. Quantitative screening of advanced glycation end products in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry. *Biochem. J.* 2003; 375: 581–592.
22. Rosca M.G., Monnier V.M., Szwedla L.I., Weiss M.F. Alterations in renal mitochondrial respiration in response to the reactive oxoaldehyde methylglyoxal. *Am. J. Physiol.* 2002; 283: F52–F59.
23. Rosca M.G., Mustata T.G., Kinter M.T. i wsp. Glycation of mitochondrial proteins from diabetic rat kidney is associated with excess superoxide formation. *Am. J. Physiol.* 2005; 289: F420–F430.

24. Monnier V.M., Bautista O., Kenny D. i wsp. 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 HbA_{1c} as markers of diabetic complications. DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group. *Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes* 1999; 48: 870–880.
25. Genuth S., Sun W., Cleary P. i wsp. DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group. Glycation and carboxymethyllysine levels in skin collagen predict the risk of future 10-year progression of diabetic retinopathy and nephropathy in the diabetes control and complications trial and epidemiology of diabetes interventions and complications participants with type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 3103–3111.
26. Kilhovd B.K., Juutilainen A., Lehto S. i wsp. High serum levels of advanced glycation end products predict increased coronary heart disease mortality in non-diabetic women but not in non-diabetic men: a population-based 18-year follow-up study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 815–820.
27. Wu X., Monnier V.M. Enzymatic deglycation of proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 2003; 419: 16–24.
28. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. Mitochondrial ROS-induced ROS release. An update and review. *Biochim. Biophys. Acta* 2006; 1757: 509–517.
29. Reznick R.M., Shulman G.I. The role of AMP-activated protein kinase in mitochondrial biogenesis. *J. Physiol.* 2006; 574: 33–39.
30. Gibson B.W. The human mitochondrial proteome: oxidative stress, protein modifications and oxidative phosphorylation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005; 37: 927–934.
31. Elfering S.L., Haynes V.L., Traaseth N.J., Ettl A., Giulivi C. Aspects, mechanism, and biological relevance of mitochondrial protein nitration sustained by mitochondrial nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol.* 2004; 286: H22–H29.
32. Ceriello A., Hanefeld M., Leiter L. i wsp. Postprandial glucose regulation and diabetic complications. *Arch. Intern. Med.* 2004; 164: 2090–2095.
33. Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? *Diabetes* 2005; 54: 1–7.
34. Rohlfing C.L., Wiedmeyer H.M., Little R.R., England J.D., Tennill A., Goldstein D.E. Defining the relationship between plasma glucose and HbA_{1c}: analysis of glucose profiles and HbA_{1c} in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2002; 25: 275–278.
35. Monnier L., Lapinski H., Colette C. Contributions of fasting and postprandial plasma glucose increments to the overall diurnal hyperglycemia of type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2003; 26: 881–885.
36. Ceriello A., Quagliaro L., Piconi L. i wsp. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes* 2004; 53: 701–710.
37. Ahmed N., Babaei-Jadidi R., Howell S.K., Thornalley P.J., Beisswenger P.J. Glycated and oxidized protein degradation products are indicators of fasting and postprandial hyperglycemia in diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 2465–2471.
38. Schiekofe S., Andrassy M., Chen J. i wsp. Acute hyperglycemia causes intracellular formation of CML and activation of ras, p42/44 MAPK, and nuclear factor κ B in PBMcs. *Diabetes* 2003; 52: 621–633.
39. Rahbar S., Natarajan R., Yerneni K., Scott S., Gonzales N., Nadler J.L. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. *Clin. Chim. Acta* 2000; 301: 65–77.
40. Miyata T., van Ypersele dS., Ueda Y. i wsp. Angiotensin II receptor antagonists and angiotensin-converting enzyme inhibitors lower in vitro the formation of advanced glycation end products: biochemical mechanisms. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 2478–2487.
41. Ceriello A., Assaloni R., Da Ros R. i wsp. Effect of atorvastatin and irbesartan, alone and in combination, on postprandial endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic patients. *Circulation* 2005; 111: 2518–2524.
42. Lapolla A., Traldi P., Fedele D. Importance of measuring products of non-enzymatic glycation of proteins. *Clin. Biochem.* 2005; 38: 103–115.
43. Sheu S.S., Nauduri D., Anders M.W. Targeting antioxidants to mitochondria: a new therapeutic direction. *Biochim. Biophys. Acta* 2006; 1762: 256–265.