

Glycation des protéines et dysfonction endothéliale

par Nicolas Grossin & Jean-Luc Wautier

Laboratoire de Biologie Vasculaire et Cellulaire, Institut National Transfusion Sanguine, Paris.

Courriel : jlwautier@ints.fr

Reçu le 14 février 2007

RÉSUMÉ

Les produits de glycation avancée ou AGE font partie d'une famille de molécules hétérogènes, retrouvées en excès au cours du diabète, de l'insuffisance rénale et du vieillissement. Les lésions vasculaires sont corrélées avec leur accumulation, comme au cours de la rétinopathie ou la glomérulosclérose. La glycation des protéines des matrices extracellulaires est corrélée avec la sévérité des angiopathies diabétiques. L'activation du récepteur aux AGE (RAGE) est impliquée dans leurs effets délétères. La cellule endothéliale exprime alors un phénotype pro-inflam-

matoire associé à l'expression de molécules d'adhésion, de cytokines, de facteurs chimioattractants ou encore de facteur tissulaire. Les effets délétères de l'interaction AGE-RAGE font intervenir la production d'espèces réactives de l'oxygène *via* notamment la NADPH oxydase. Les agents inhibiteurs de la formation d'AGE, qui augmentent leur dégradation ou qui neutralisent leur activité, représentent une perspective thérapeutique pour protéger des atteintes vasculaires chez les diabétiques.

SUMMARY Protein glycation and endothelium dysfunction

Advanced glycation end-products (AGE) are a group of heterogeneous molecules found in higher levels during diabetes, end stage renal failure and aging. Vascular alteration is correlated with their accumulation as during retinopathy or glomerulosclerosis. Glycation of extracellular matrix proteins is associated with diabetic angiopathy. AGE stimulate endothelial cell *via* the interaction with the receptor

RAGE, leading to an inflammatory state with increased adhesion molecule expression, chemoattractant factor and tissue factor production. RAGE activation by AGE triggers reactive oxygen species production by NADPH oxidase. Agents that inhibit AGE formation, stimulate their degradation or neutralize their binding to RAGE represent new approaches to limit the deleterious activities of AGE.

INTRODUCTION

La glycosylation non enzymatique ou glycation des protéines est un procédé complexe comportant une cascade de réactions aboutissant à une classe de molécules hétérogènes appelées produits de glycation avancée ou *Advanced Glycation End-product* (AGE). Décrite pour la première fois en 1912 par le chimiste Louis-Camille Maillard et nommée réaction de brunissement des sucres, la glycation est un processus intimement lié à la pathogénèse du diabète, de l'insuffisance rénale et du vieillissement (Schleicher *et al.*, 1997). Les protéines glyquées préparées *in vitro* se sont révélées être toxiques, immunogènes et capables d'induire une activation cellulaire.

LA RÉACTION DE MAILLARD

La réaction de Maillard débute par la réaction du groupement carbonyle (aldéhyde ou cétone) d'un sucre aboutissant à la formation réversible d'une base de Schiff à

la suite de la liaison à la fonction amine libre d'un résidu lysine ou arginine des protéines ou apolipoprotéines (Fig. 1A). Les bases de Schiff peuvent subir des réarrangements d'Amadori intramoléculaires pour former des fructosamines. La modification des fructosamines (déshydratation et condensation) donne naissance, de manière irréversible, aux AGE, de couleur jaune-brun et parfois fluorescents. Des ponts intra et intermoléculaires sont également formés. *In vivo*, la quantité de fonctions amines modifiées sur une protéine est dépendante de la réactivité spécifique des groupements amines, et est déterminée par le microenvironnement, le temps de demi-vie de la protéine et la glycémie.

Les AGE sont également formés par la réaction directe des protéines avec des α -oxoaldéhydes tels que le glyoxal, le méthylglyoxal, le 3-déoxyglucosone (3DG) ou le 3,4-déhydroxyglucoson-3-ène, et d'autres dérivés saccharidiques (Fig. 1B) (Brownlee *et al.*, 1996). Les α -oxoaldéhydes sont formés soit au cours de la glycolyse, soit par auto-oxydation du glucose, et peuvent également être nommés produits de dégradation du glucose (GDP pour

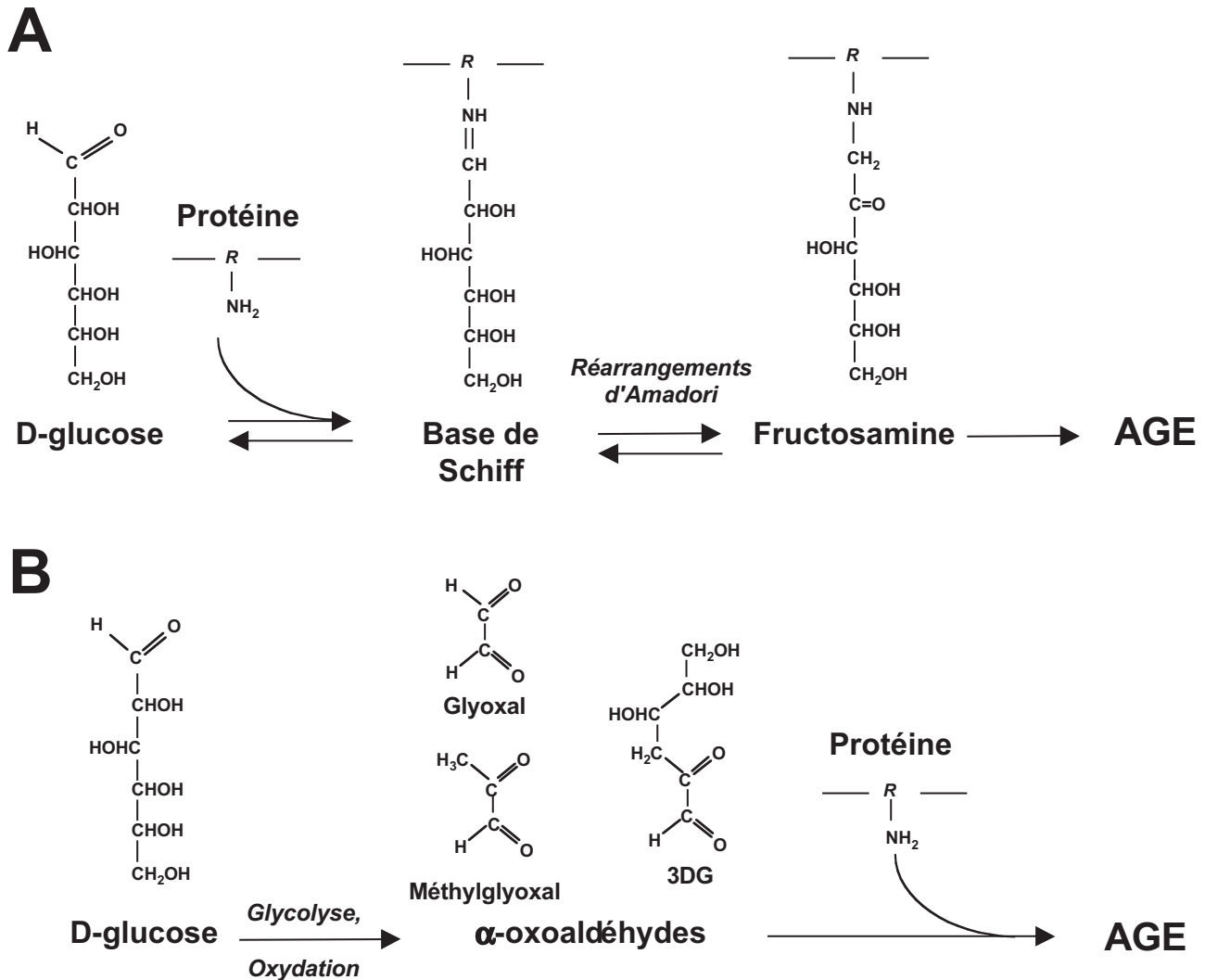


FIG. 1. – Formation des AGE. Réaction de Maillard (A). Réaction des α -oxoaldéhydes (B).

Glucose Degradation Products). Les réactions oxydatives sont augmentées au cours du stress oxydant généré par les dysfonctions de la chaîne respiratoire mitochondriale et par l'activation de la NADPH-oxydase (Schmidt *et al.*, 1994 ; Brownlee, 2001). La toxicité de ces composés a été démontrée *in vivo* et *in vitro* sur de nombreux types cellulaires et organes. Le méthylglyoxal est particulièrement actif sur la cellule endothéliale.

La N ϵ -(carboxyméthyl)lysine (CML) et la N ϵ -(carboxyéthyl)lysine (CEL) sont des AGE dérivés de la lysine (Fig. 2A). Le méthylglyoxal génère des AGE essentiellement sur les résidus arginines pour former de l'argpyrimidine, du 5-hydro-5-méthyl imidazolone et du tétrahydropyrimidine (Fig. 2B). Certains AGE forment des ponts intra ou intermoléculaires (cross-link). C'est le cas de la pentosidine et des sels de bis(lysyl)imidazolium tels que le MOLD (methylglyoxal-derived lysine dimer), le GOLD (glyoxal-derived lysine dimer) et le DOLD (3-

deoxyglucosone lysine dimer) qui dénaturent les protéines et confèrent une résistance à la protéolyse (Fig. 2C). Les AGE formés sur des sites critiques d'enzymes ou de protéines induisent l'inactivation de l'enzyme (Wautier *et al.*, 2001a)

LES PROTÉINES CIBLÉES PAR LA GLYCATION

Les molécules les plus touchées par la glycation sont les molécules directement en contact avec le glucose sanguin ou à longue durée de vie, telles que l'hémoglobine, les lipoprotéines ou les protéines de la matrice extracellulaire. La glycation des protéines du plasma, présentes dans la membrane du globule rouge, ou dans les cellules, peut être déterminée par spectrométrie de masse et chromatographie en phase liquide (Brownlee, 2000).

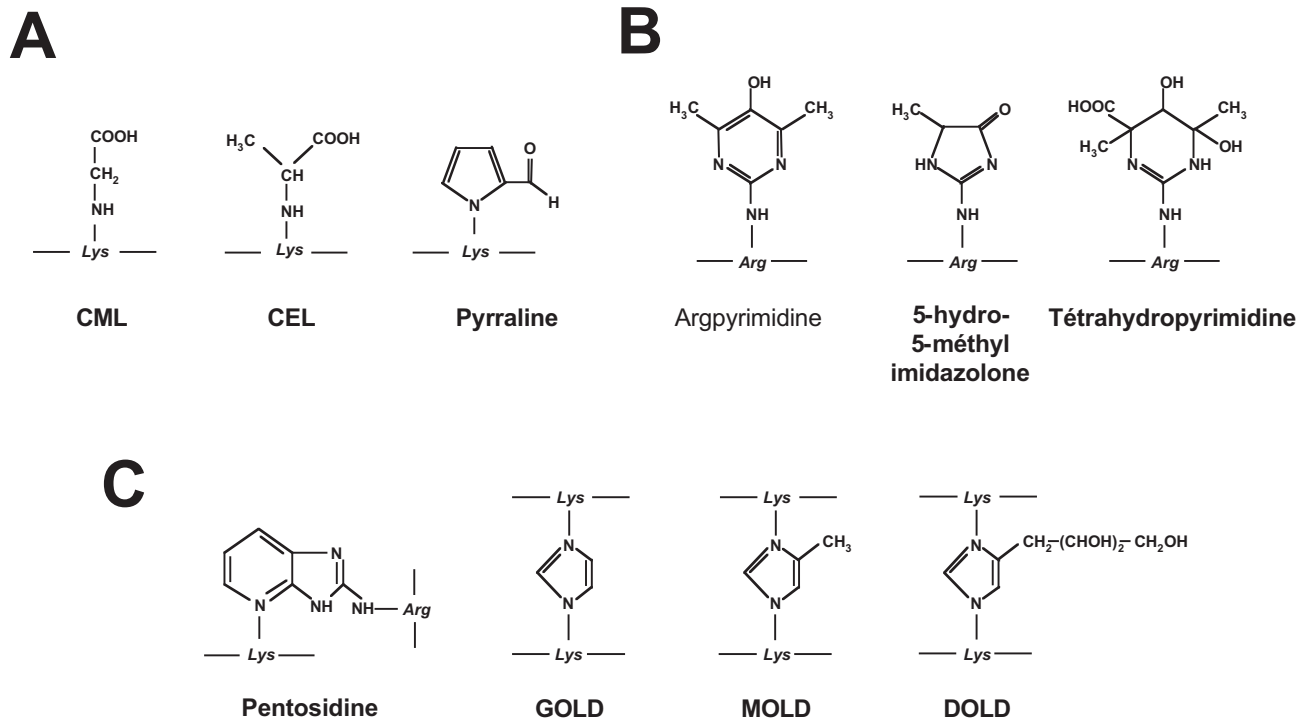


Fig. 2. – Structure des principaux AGE. AGE dérivés de la lysine (A), de l'arginine (B) et ponts intra ou inter-moléculaires (C).

Protéines circulantes

L'importance de la réaction de Maillard *in vivo* a été prise en compte au cours des années 1970 avec l'étude de l'hémoglobine glyquée HbA1c, une forme minoritaire de l'hémoglobine humaine dont le taux est augmenté chez les patients diabétiques. Le dosage de l'hémoglobine HbA1c est utilisé pour le suivi du diabétique sur le long terme et donne une indication fiable sur l'équilibre glycémique pour une période d'approximativement un mois. La glycation de l'ApoB est augmentée chez les diabétiques. Ceci aurait pour conséquence leur reconnaissance par des anticorps et leur captation par les macrophages évoluant ainsi en cellules spumeuses athérogènes.

Les globules rouges sont également touchés par la glycation. Les AGE formés à la membrane des globules rouges sont liés à une diminution de la souplesse membranaire et de leur déformabilité. L'adhésion des globules rouges à l'endothélium est également augmentée dans les microvaisseaux par l'intermédiaire du récepteur aux AGE et est responsable d'événements ischémiques chez le diabétique (Wautier *et al.*, 1994; Wautier *et al.*, 2006). Les catécholamines et les cytokines potentialisent l'effet délétère de la liaison des AGE à l'endothélium *in vitro* (Wautier *et al.*, 2006).

Protéines intracellulaires

Les taux d'AGE sont plus élevés dans le compartiment intracellulaire que dans le plasma. Le taux de CML circulante est d'approximativement 21 $\mu\text{mol/mol}$ de lysine,

alors qu'il atteint 68 à 233 $\mu\text{mol/mol}$ de lysine dans le cytosol. Le MOLD est présent dans le plasma (0,8 $\mu\text{mol/mol}$ de lysine) et dans le globule rouge (5,3 $\mu\text{mol/mol}$ de lysine) (Frye *et al.*, 1998). La teneur en AGE peut augmenter rapidement; il a été montré dans la cellule endothéliale une augmentation d'un facteur 13,8 du taux d'AGE en une semaine. L'inhibition de la formation d'AGE dérivés du méthylglyoxal permet de prévenir l'endocytose macromoléculaire induite dans la cellule endothéliale par l'hyperglycémie (Brownlee *et al.*, 1996). *In vitro* l'incubation de cellules endothéliales avec du glucose génère essentiellement du méthylglyoxal puis de l'argpyridine. Cependant la Hsp27 (heat shock protein 27), une protéine chaperonne anti-apoptotique, représente la majeure partie des protéines glyquées dans la cellule endothéliale (Sakamoto *et al.*, 2002; Schalkwijk *et al.*, 2006). De même, le méthylglyoxal génère la forme glyquée de la Hsp27 dans les cellules mésangiales glomérulaires (Padival *et al.*, 2003). La glycation de cette protéine en position Arg-188 (seule arginine modifiée) stimule l'activité anti-apoptotique de la Hsp27 qui se traduit par une inactivation des caspases 3 et 9 et du relargage de cytochrome c (Sakamoto *et al.*, 2002; Oya-Ito *et al.*, 2006). La Hsp27 pourrait représenter un leurre contre la glycation et protéger la cellule endothéliale de la toxicité de l'hyperglycémie.

Glycation des matrices

Le collagène IV et la laminine sont des composants majeurs des lames basales. Les protéines des matrices

sont particulièrement visées par la glycation, en raison de leur durée de vie très longue. Les AGE s'accumulent au niveau des lames basales vasculaires modifiant leur élasticité et leurs propriétés de filtration. La glycation du collagène IV, de la laminine ou de la vitronectine, altère leur polymérisation, désorganisant la structure tridimensionnelle des matrices. Les protéines des matrices glyquées sont également plus résistantes aux matrices métalloprotéinases (MMP) ce qui augmente d'autant plus leur durée de vie et leur accumulation. La glycation du collagène induit l'agrégation dans les microvaisseaux de l'albumine, des immunoglobulines et des lipoprotéines (Brownlee *et al.*, 1985). Ces événements occlusifs peuvent être à l'origine de la rétinopathie diabétique en synergie avec l'adhésion accrue des globules rouges. L'adhésion des cellules endothéliales à la lame basale vasculaire est affectée par la glycation du collagène IV et de la laminine (Haitoglou *et al.*, 1992). Les AGE formés dans les matrices pourraient également être à l'origine d'une inhibition de la synthèse de NO par les cellules endothéliales.

LES DÉFENSES CONTRE LA GLYCATION

Les glyoxalases

Le méthylglyoxal, produit au cours de la glycolyse, est formé au cours de l'élimination non-enzymatique des phosphates présents sur les produits intermédiaires de la glycolyse tels que le dihydroxyacétone phosphate et le glyceraldéhyde 3-phosphate. La glyoxalase I fait partie du système glyoxalase présent dans le cytosol. Elle participe activement à la détoxification des α -oxoaldéhydes, et principalement du méthylglyoxal. La glyoxalase I lie le méthylglyoxal au glutathion pour former du S-D-lactoylglutathion, qui est transformé en glutathion et en D-lactate par la glyoxalase II. L'incubation en présence de glucose (30 mM) de cellules endothéliales GM7373 transfectées, et dont l'expression de la glyoxalase I est accrue, n'a pas augmenté la formation d'AGE, alors que le taux d'AGE a augmenté d'un facteur 13,6 dans des cellules non transfectées (Shinohara *et al.*, 1998), ceci démontrant qu'un système enzymatique contre la glycation pourrait représenter une approche afin de limiter les conséquences délétères des AGE.

La fructosamine-3-kinase

Les fructosamines, de bas poids moléculaire comme le fructoselysine, ou de haut poids moléculaire liés à des protéines, sont la cible de la fructosamine-3-kinase (FN3K) et de sa protéine associée *FN3K-related protein* (FN3KRP) qui phosphorylent les fructosamines intracellulaires, diminuant leur stabilité et permettant ainsi la libération de la fonction amine libre initialement glyquée (Delpierre *et al.*, 2000). La FN3K a été découverte chez de nombreux mammifères mais elle est particulièrement active dans les cellules dont le turn-over est lent voire nul, et donc très exposées à la glycation. Ce sys-

tème de « déglycation » est notamment présent dans les érythrocytes où il limite l'accumulation d'hémoglobine glyquée (Delpierre *et al.*, 2002; Collard *et al.*, 2004). Des souris non-diabétiques invalidées pour la FN3K voient leur taux d'hémoglobine glyquée augmenter d'un facteur 2 à 5, et de fructoselysine d'un facteur 10 dans l'érythrocyte (Veiga da-Cunha *et al.*, 2006). Son expression constitutive n'est pas régulée par des signaux environnementaux tels que l'hyperglycémie, l'insuline ou l'interleukine-1 β (IL-1 β) (Conner *et al.*, 2004).

RÉCEPTEURS AUX AGE

Les AGE exercent également leurs effets délétères *via* leur interaction avec des récepteurs membranaires. Les récepteurs AGE-R1 (p60 homologue du complexe oligosaccharyl-transférase ou OST 48), AGE-R2 (p90 protéine kinase) et AGE-R3 (galectine-3, Mac2), ont été identifiés comme récepteurs aux AGE.

Le récepteur aux AGE (RAGE) est le mieux caractérisé. Le RAGE est composé de 332 acides aminés et fait partie de la superfamille des immunoglobulines. Le RAGE est un récepteur multiligand très conservé avec 80 % d'homologie entre le RAGE humain, bovin et murin (Renard *et al.*, 1999). La CML est un ligand de forte affinité pour le RAGE avec une constante de dissociation de 50 à 200 nM (Schmidt *et al.*, 1992). Le gène du RAGE est localisé sur le chromosome 6, en locus 6p21.3, dans la région du complexe majeur d'histocompatibilité. Il possède un domaine extracellulaire comportant un domaine variable et deux domaines constants, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire. Le RAGE existe sous trois formes dont une seule, celle qui comporte les trois domaines et nommé *Full length*, active la transduction du signal après liaison d'un ligand. Les deux autres formes sont le RAGE soluble qui ne possède pas le domaine transmembranaire et intracellulaire (Yonekura *et al.*, 2003), et le DN-RAGE (*dominant negative RAGE*) tronqué dans son domaine intracellulaire N-terminal. Le RAGE soluble est retrouvé dans le plasma et son rôle pourrait être cytoprotecteur puisqu'en se liant aux AGE, il neutralise leurs effets. Les thiazolidinediones réduisent l'expression du RAGE endothélial et l'activation cellulaire (Marx *et al.*, 2004). *In vitro* le RAGE soluble recombinant est utilisé pour bloquer l'activation du RAGE par les AGE et son utilisation chez la souris a montré un bénéfice notamment dans l'athérogénèse (Wendt *et al.*, 2006). Une faible concentration en RAGE soluble est associée à une comorbidité induite par les maladies coronariennes (Falcone *et al.*, 2005), l'hypertension (Geroldi *et al.*, 2005), le diabète de type 1 et de type 2 (Katakami *et al.*, 2005; Sakurai *et al.*, 2006) ou le syndrome métabolique (Koyama *et al.*, 2005). La concentration plasmatique de RAGE soluble est inversement proportionnelle à la sévérité de l'athérosclérose et du syndrome métabolique, même dans une population non-diabétique (Koyama *et al.*, 2005). Chez des patients insuffisants rénaux chroniques un faible taux de RAGE

soluble circulant est associé à une augmentation de la mortalité due à des pathologies cardiovasculaires (Koyama *et al.*, 2007). Ainsi, le RAGE soluble peut représenter un facteur de protection contre les pathologies cardiovasculaires. Son utilisation chez les sujets diabétiques pourrait également limiter le développement des altérations vasculaires.

Les voies métaboliques activées par le RAGE sont nombreuses et varient selon le type cellulaire. L'interaction AGE-RAGE fait notamment intervenir la NADPH-oxydase, la p21ras, les MAPKinases (p38, p42/p44, JNK), les rhoGTPases, la PI3Kinase et les voies JAK/STAT, aboutissant à l'activation du NFκB et de CREB (Li *et al.*, 1997; Yan *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2004). L'activation du RAGE par les AGE initie la production d'espèces réactives de l'oxygène. L'incubation de cellules endothéliales avec des AGE tels que la CML ou avec des globules rouges de diabétiques stimule la formation de peroxyde d'hydrogène qui n'est pas réduite par les inhibiteurs de la formation de monoxyde d'azote (NO). Les macrophages de souris sauvages expriment davantage de facteur tissulaire en présence d'AGE. A l'inverse, les souris déficientes en gp91 phox n'expriment pas plus de facteur tissulaire après incubation avec des AGE (Wautier *et al.*, 2001b).

L'augmentation de la perméabilité vasculaire est caractéristique des angiopathies diabétiques. Des cellules endothéliales incubées en présence de globules rouges de patients diabétiques démontrent une perméabilité aux macromolécules augmentée comparativement à des globules rouges de sujets non diabétiques. La diminution de la fonction de barrière des cellules endothéliales a été totalement rétablie par des anticorps anti-RAGE. De plus, chez des rats traités avec du RAGE soluble l'hyperperméabilité a été diminuée dans les intestins et la peau et à 90 % bloquée dans le rein (Wautier *et al.*, 1996; Renard *et al.*, 1999). L'inhibition des AGE et de l'hyperperméabilité endothéliale diabétique par des anti-oxydants suggèrent un rôle central du stress oxydant généré par l'interaction AGE-RAGE dans le développement des

anomalies de perméabilité (Wautier *et al.*, 1996; Bonnardel-Phu *et al.*, 1999; Renard *et al.*, 1999). Les espèces réactives de l'oxygène peuvent également augmenter la perméabilité en piégeant le NO pour former du peroxy-nitrite. Des taux sériques élevés d'AGE sont corrélés avec la présence de complications microvasculaires (rétinopathie et néphropathie), toutes deux associées à une hyperperméabilité (Wautier *et al.*, 2003).

AGE ET COMPLICATIONS VASCULAIRES

La dysfonction endothéliale est un terme général qui implique une diminution de la production de monoxyde d'azote (NO), un déséquilibre endothélial de la vasomotricité et un stress oxydant. La dysfonction endothéliale ressort comme étant un processus clé dans la physiopathologie de diverses anomalies cardiovasculaires comprenant l'athérosclérose, l'hypertension, le diabète, l'insuffisance rénale et le vieillissement (Brownlee *et al.*, 1988; Szmítko *et al.*, 2003). Le NO assure, en plus de son effet vasodilatateur, une protection contre les lésions vasculaires, l'inflammation et l'adhésion leucocytaire. Lorsque les cellules endothéliales accèdent à un état pro-inflammatoire, l'augmentation de l'expression des sélectines, de VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) ou des cadhérines stimule l'adhésion des monocytes (Montgomery *et al.*, 1991; Vlassara *et al.*, 1995). Les cellules endothéliales deviennent pro-thrombotiques et produisent du facteur tissulaire (Fig. 3) (Bevilacqua *et al.*, 1984).

Les deux complications microvasculaires majeures du diabète sont la rétinopathie et la néphropathie. Dans les deux cas un faisceau d'évidences suggère un effet délétère des AGE, soit par une action directe sur les cellules endothéliales, soit par un mécanisme impliquant d'autres types cellulaires ou les protéines des matrices à proximité de l'endothélium (Chappey *et al.*, 1997). Le taux de CML circulant est corrélé avec les atteintes microvasculaires rétinienues et glomérulaires (Wautier *et al.*, 2003).

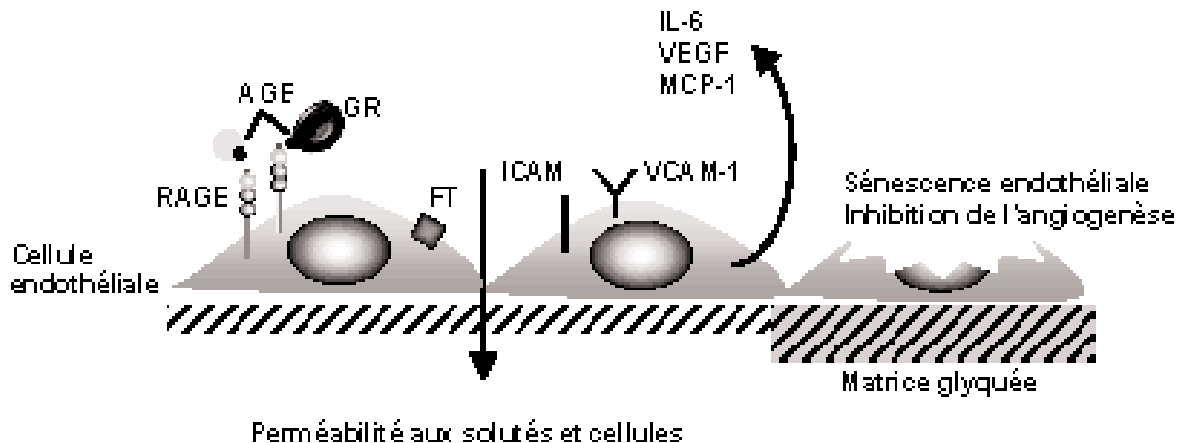


FIG. 3. – AGE et dysfonction endothéliale.

FT, facteur tissulaire; GR, globule rouge; ICAM, *intercellular cell adhesion molecule*; IL-6, *interleukine-6*; MCP-1, *monocyte chemoattractic protein-1*; VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*; VEGF, *vascular endothelial growth factor*.

Rétinopathie

Les premières études sur les complications oculaires liées à la glycation ont mis en évidence les effets délétères des AGE dans la pathogénèse de la cataracte diabétique dans le cristallin du porc (Vidal *et al.*, 1988). L'un des changements les plus précoces observé au niveau des capillaires de la rétine est la perte sélective des péricytes pariétaux, un processus lié aux effets des AGE. Les AGE induisent l'apoptose et déclenchent un stress oxydant dans les péricytes bovins (Denis *et al.*, 2002; Moore *et al.*, 2003; Nakamura *et al.*, 2003). L'hypoxie, générée par des occlusions microvasculaires, est un inducteur puissant de la sécrétion de vascular endothelial growth factor (VEGF) par les cellules endothéliales et épithéliales. Ce processus peut être prévenu par des anticorps anti-RAGE (Yonekura *et al.*, 2003). La pyridoxamine, un inhibiteur de la formation d'AGE et des produits finaux d'oxydation des lipides, protège contre les atteintes vasculaires induites par le diabète dans la rétine (Stitt *et al.*, 2002). La benfotiamine, un dérivé monophosphate de la thiamine, inhibe les voies de signalisation activées par l'hyperglycémie telle que la voie du NFκB et prévient la rétinopathie diabétique expérimentale (Hammes *et al.*, 2003). Il a été montré que le beraprost sodium, un analogue de la prostaglandine I₂, protège les péricytes rétinien de la toxicité des AGE à travers ses propriétés antioxydantes et diminue l'hyperperméabilité chez le rat diabétique (Zoukourian *et al.*, 1996; Yamagishi *et al.*, 2002).

Néphropathie

La glomérulosclérose observée chez la souris diabétique est associée à un dépôt d'AGE dans le mésangium et à des lésions sclérotiques (Makita *et al.*, 1991). Les taux de CML (circulant ou lié au collagène) sont augmentés chez les patients diabétiques et insuffisants rénaux (Weiss *et al.*, 2000; Karachalias *et al.*, 2003). La surexpression du RAGE chez la souris accélère le développement de la glomérulosclérose (Yamamoto *et al.*, 2001). Le blocage pharmacologique du RAGE chez des souris db/db, ou invalidés pour le gène du RAGE, aboutit à une diminution de l'albuminurie, de l'atteinte mésangiale et de la glomérulosclérose (Wendt *et al.*, 2003). Les AGE-free adducts proviennent de la protéolyse des protéines endogènes glyquées et également de l'alimentation. Ils sont retrouvés dans de nombreux liquides biologiques dont le plasma et l'urine (Agalou *et al.*, 2005). La baisse de la clairance entraîne l'accumulation de ces composés. Parmi les patients insuffisants rénaux chroniques terminaux, les AGE-free adducts plasmatiques sont augmentés d'un facteur 18 chez les patients en dialyse péritonéale et d'un facteur 40 en hémodialyse. Le taux d'AGE-free adducts augmente dans le péritoine parallèlement à la durée de la stase des solutions de dialyse péritonéale, jusqu'à atteindre des niveaux supérieurs aux taux plasmatiques, suggérant la glycation *in situ* des protéines péritonéales, et non une diffusion du plasma vers le péritoine (Thornalley, 2006). Dans le cas particulier

de la dialyse péritonéale, le glucose présent en fortes concentrations dans les liquides de dialyse génère des taux élevés de GDP, principalement du 3-déoxyglucose (3DG). Ainsi, le glucose et les GDP sont à l'origine de la glycation *in situ* et de dépôts d'AGE dans le péritoine. Les cellules mésothéliales, première ligne cellulaire en contact direct avec les liquides de dialyse, sont activées par les AGE *via* leur interaction avec le RAGE mésothélial, aboutissant à un état pro-inflammatoire, avec une surexpression de VCAM-1 et une adhésion leucocytaire augmentée et un état proangiogénique dû une production accrue de VEGF (Boulanger *et al.*, 2002; Boulanger *et al.*, 2007). Les GDP présents dans les liquides de DP inhibent l'activité des glyoxalases des cellules mésothéliales par une déplétion du glutathion intracellulaire (Korybalska *et al.*, 2006).

PROLIFÉRATION ENDOTHÉLIALE, ANGIOGÈNE ET VIEILLISSEMENT VASCULAIRE : LES IMPACTS DE LA GLYCATIION

L'angiogénèse et les fonctions endothéliales sont altérées chez des modèles animaux de diabète et le développement d'un réseau vasculaire collatéral est inhibé chez les patients diabétiques. Plusieurs facteurs ont été proposés afin d'expliquer les anomalies de la néoangiogénèse au cours du diabète. L'effet chimiotactique du fibroblast growth factor 2 (FGF2) pour la cellule endothéliale est inhibé et le FGF2 glyqué présente des propriétés angiogéniques moindres que le FGF2 non glyqué (Facchiano *et al.*, 2002). La glycation du *basic* FGF (bFGF) par les sucres intracellulaires réduit sa forte affinité pour l'héparine et son activité mitotique (Facchiano *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent que l'inhibition de la néoangiogénèse observée chez le diabétique pourrait être expliquée par la glycation des facteurs angiogéniques. L'inhibition de la prolifération des cellules endothéliales peut être induite par des concentrations élevées en ribose, qui génère des *cross-links* et de l'apoptose (Talaszi *et al.*, 2002).

La culture de cellules endothéliales sur des matrices glyquées a pour conséquence une diminution de l'angiogénèse, en partie due à l'expression précoce de *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1) accompagnée d'une diminution de la prolifération cellulaire (Chen *et al.*, 2001). La modification du collagène IV par le méthylglyoxal génère des résidus hydroimidazolones au niveau des arginines contenues dans les sites de liaison aux intégrines RGD et GFOGER, ce qui cause le détachement des cellules endothéliales et l'inhibition de l'angiogénèse (Dobler *et al.*, 2006). Cette mort prématurée a été également décrite dans l'aorte de rat diabétique Zucker, suggérant que la mort endothéliale pourrait contribuer à l'angiopathie diabétique (Chen *et al.*, 2002).

La néoangiogénèse nécessite la dégradation des matrices extra-cellulaires pour permettre la migration endothéliale. La glycation des protéines des matrices les protège de la protéolyse par les MMP. Ainsi, la glycation des matrices au cours du diabète limite la formation d'un

réseau vasculaire collatéral notamment après une ischémie. De plus l'angiogénèse est altérée par le glucose et les AGE circulants tels que la CML-albumine. Cependant des messages entre différents types cellulaires peuvent aboutir à une augmentation de l'angiogénèse. C'est le cas par exemple de la dialyse péritonéale au cours de laquelle les AGE altèrent la vascularisation mais parallèlement activent les cellules mésothéliales via le RAGE produisant ainsi une quantité accrue de VEGF qui *in fine* stimule la formation de vaisseaux dans le péritoine (Boulanger *et al.*, 2007). De plus, les AGE augmentent l'expression des récepteurs au VEGF rendant les cellules endothéliales plus sensibles à l'action du VEGF (Pala *et al.*, 2005; Boulanger *et al.*, 2007).

PERSPECTIVES THÉRAPEUTIQUES

Il est possible d'inhiber la formation d'AGE grâce à l'administration de molécules comme l'aminoguanidine, le pyridoxamine ou l'OPB-9195 (2-iso-propylidenedihydrodrazono-4-oxo-thiazodilin-5-ylacétanidide) (Kass *et al.*, 2001). L'administration de ces traitements réduit la sclérose aortique liée à l'âge, protège des lésions tubulointerstitielles dans la néphropathie diabétique chez le rat et de la rétinopathie diabétique induite chez le chien (Miyata *et al.*, 2000; Kelly *et al.*, 2001). L'administration d'aminoguanidine à des rats diabétiques conserve la dynamique vasculaire en limitant la glycation du collagène (Chang *et al.*, 2006) et permet également le maintien de la microcirculation dans le péritoine chez des rats mis en dialyse péritonéale (Zareie *et al.*, 2005). L'inhibition de l'angiogénèse post-ischémique a été levée à la suite de l'injection d'aminoguanidine à des souris (Tamarat *et al.*, 2003). Cependant les essais cliniques ont été interrompus en raison d'effets indésirables constatés chez les patients. La metformine favorise la dégradation du méthylglyoxal (Beisswenger *et al.*, 1999) et appliquée sur l'ulcère de la patte du rat diabétique favorise la cicatrisation (Marcoux, 2005). Une autre méthode pour réduire la toxicité des AGE consiste à bloquer l'activation du RAGE en utilisant du RAGE recombinant soluble. L'administration de RAGE soluble à des souris ApoE^{-/-}, diabétiques ou non, réduit les lésions athérosclérotiques (Wendt *et al.*, 2006). En limitant l'apparition d'un stress oxydant chez le rat diabétique, le RAGE soluble conserve les fonctions endothéliales en terme de perméabilité. Malgré les résultats encourageants obtenus chez l'animal avec le RAGE soluble, aucune étude clinique n'a été à ce jour tentée chez l'homme.

CONCLUSION

L'impact négatif de l'hyperglycémie sur l'endothélium est largement illustré dans la littérature. Les flux de glucose dans les cellules endothéliales à travers les transporteurs du glucose saturent la chaîne respiratoire mitochondriale qui libère des anions superoxydes et

génère un stress oxydant. Malgré des mécanismes enzymatiques contre la glycation probablement dépassés au cours du diabète, les AGE restent responsables de nombreuses pathologies vasculaires. En conclusion, la diminution des AGE est un objectif que l'on peut probablement atteindre dans la pratique clinique, mais est-elle compatible avec l'homéostasie? Vieillir harmonieusement pourrait être le résultat d'un bon équilibre entre les effets délétères et la possibilité de se défendre contre AGE.

BIBLIOGRAPHIE

- Agalou S., Ahmed N., Babaei-Jadidi R., Dawnay A. & Thornalley P. J., Profound mishandling of protein glycation degradation products in uremia and dialysis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005, 16, 1471-1485.
- Beisswenger P. J., Howell S. K., Touchette A. D., Lal S. & Szwergold B. S., Metformin reduces systemic methylglyoxal levels in type 2 diabetes. *Diabetes*, 1999, 48, 198-202.
- Bevilacqua M. P., Pober J. S., Majeau G. R., Cotran R. S. & Gimbrone M. A. Jr, Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J. Exp. Med.*, 1984, 160, 618-623.
- Bonnardel-Phu E., Wautier J. L., Schmidt A. M., Avila C. & Vicaud E., Acute modulation of albumin microvascular leakage by advanced glycation end products in microcirculation of diabetic rats *in vivo*. *Diabetes*, 1999, 48, 2052-2058.
- Boulanger E., Grossin N., Wautier M. P., Taamma R. & Wautier J. L., Mesothelial RAGE activation by AGEs enhances VEGF release and potentiates capillary tube formation. *Kidney Int.*, 2007, 71, 126-133.
- Boulanger E., Wautier M. P., Wautier J. L., Boval B., Panis Y., Wernert N., Danze P. M. & Dequiedt P., AGEs bind to mesothelial cells via RAGE and stimulate VCAM-1 expression. *Kidney Int.*, 2002, 61, 148-156.
- Brownlee M., Negative consequences of glycation. *Metabolism*, 2000, 49, 9-13.
- Brownlee M., Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001, 414, 813-820.
- Brownlee M., Cerami A. & Vlassara H., Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.*, 1988, 318 (20), 1315-1321.
- Brownlee M. & Michael M. D., Advanced glycation end products in diabetic complications. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes*, 1996, 3, 291-297.
- Brownlee M., Vlassara H. & Cerami A., Nonenzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low-density lipoprotein. *Diabetes*, 1985, 34, 938-941.
- Chang K. C., Tseng C. D., Wu M. S., Liang J. T., Tsai M. S., Cho Y. L. & Tseng Y. Z., Aminoguanidine prevents arterial stiffening in a new rat model of type 2 diabetes. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2006, 36, 528-535.
- Chaphey O., Dosquet C., Wautier M. P. & Wautier J. L., Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1997, 27, 97-108.
- Chen J., Brodsky S., Li H., Hampel D. J., Miyata T., Weinstein T., Gafter U., Norman J. T., Fine L. G. & Goligorsky M. S., Delayed branching of endothelial capillary-like cords in glycosylated collagen I is mediated by early induction of PAI-1. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2001, 281, F71-F80.
- Chen J., Brodsky S. V., Goligorsky D. M., Hampel D. J., Li H., Gross S. S. & Goligorsky M. S., Glycated collagen I induces premature senescence-like phenotypic changes in endothelial cells. *Circ. Res.*, 2002, 90, 1290-1298.

- Collard F., Wiame E., Bergans N., Fortpied J., Vertommen D., Vanstapel F., Delpierre G. & Van Schaftingen E., Fructosamine 3-kinase-related protein and deglycation in human erythrocytes. *Biochem. J.* 2004, 382, 137-143.
- Conner J. R., Beisswenger P. J. & Szvergold B. S., The expression of the genes for fructosamine-3-kinase and fructosamine-3-kinase-related protein appears to be constitutive and unaffected by environmental signals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, 323, 932-936.
- Delpierre G., Collard F., Fortpied J. & Van Schaftingen E., Fructosamine 3-kinase is involved in an intracellular deglycation pathway in human erythrocytes. *Biochem. J.* 2002, 365, 801-808.
- Delpierre G., Rider M. H., Collard F., Stroobant V., Vanstapel F., Santos H. & Van Schaftingen E., Identification, cloning, and heterologous expression of a mammalian fructosamine-3-kinase. *Diabetes*, 2000, 49, 1627-1634.
- Denis U., Lecomte M., Paget C., Ruggiero D., Wiernsperger N. & Lagarde M., Advanced glycation end-products induce apoptosis of bovine retinal pericytes in culture: involvement of diacylglycerol/ceramide production and oxidative stress induction. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, 33, 236-247.
- Dobler D., Ahmed N., Song L., Eboigbodin K. E. & Thornalley P. J., Increased dicarbonyl metabolism in endothelial cells in hyperglycemia induces anoikis and impairs angiogenesis by RGD and GFOGER motif modification. *Diabetes*, 2006, 55, 1961-1969.
- Facchiano F., Lentini A., Fogliano V., Mancarella S., Rossi C., Facchiano A. & Capogrossi M. C., Sugar-induced modification of fibroblast growth factor 2 reduces its angiogenic activity *in vivo*. *Am. J. Pathol.*, 2002, 161, 531-541.
- Falcone C., Emanuele E., D'Angelo A., Buzzi M. P., Belvito C., Cuccia M. & Geroldi D., Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products and coronary artery disease in nondiabetic men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25, 1032-1037.
- Frye E. B., Degenhardt T. P., Thorpe S. R. & Baynes J. W., Role of the Maillard reaction in aging of tissue proteins. Advanced glycation end product-dependent increase in imidazolium cross-links in human lens proteins. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 18714-18719.
- Geroldi D., Falcone C., Emanuele E., D'Angelo A., Calcagnino M., Buzzi M. P., Scioli G. A. & Fogari R., Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end-products in patients with essential hypertension. *J. Hypertens.*, 2005, 23, 1725-1729.
- Haitoglou C. S., Tsilibary E. C., Brownlee M. & Charonis A. S., Altered cellular interactions between endothelial cells and nonenzymatically glycosylated laminin/type IV collagen. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 12404-12407.
- Hammes H. P., 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.
- Karachalias N., Babaei-Jadidi R., Ahmed N. & Thornalley P. J., Accumulation of fructosyl-lysine and advanced glycation end products in the kidney, retina and peripheral nerve of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem. Soc. Trans.*, 2003, 31, 1423-1425.
- Kass D. A., Shapiro E. P., Kawaguchi M., Capriotti A. R., Scuteri A., deGroof R. C. & Lakatta E. G., Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation*, 2001, 104, 1464-1470.
- Katakami N., Matsuhisa M., Kaneto H., Matsuoka T. A., Sakamoto K., Nakatani Y., Ohtoshi K., Hayaishi-Okano R., Kosugi K., Hori M. & Yamasaki Y., Decreased endogenous secretory advanced glycation end product receptor in type 1 diabetic patients: its possible association with diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 2005, 28, 2716-2721.
- Kelly D. J., Gilbert R. E., Cox A. J., Soulis T., Jerums G. & Cooper M. E., Aminoguanidine ameliorates overexpression of prosclerotic growth factors and collagen deposition in experimental diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001, 12, 2098-2107.
- Korybalska K., Wisniewska-Elnur J., Trominska J., Jorres A., Breborowicz A. & Witowski J., The role of the glyoxalase pathway in reducing mesothelial toxicity of glucose degradation products. *Perit. Dial. Int.*, 2006, 26, 259-265.
- Koyama H., Shoji T., Fukumoto S., Shinohara K., Shoji T., Emoto M., Mori K., Tahara H., Ishimura E., Kakiya R., Tabata T., Yamamoto H. & Nishizawa Y., Low circulating endogenous secretory receptor for AGEs predicts cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2007, 27, 147-153.
- Koyama H., Shoji T., Yokoyama H., Motoyama K., Mori K., Fukumoto S., Emoto M., Shoji T., Tamei H., Matsuki H., Sakurai S., Yamamoto Y., Yonekura H., Watanabe T., Yamamoto H. & Nishizawa Y., Plasma level of endogenous secretory RAGE is associated with components of the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25, 2587-2593.
- Li J. & Schmidt A. M., Characterization and functional analysis of the promoter of RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 16498-16506.
- Li J. H., Wang W., Huang X. R., Oldfield M., Schmidt A. M., Cooper M. E. & Lan H. Y., Advanced glycation end products induce tubular epithelial-myofibroblast transition through the RAGE-ERK1/2 MAP kinase signaling pathway. *Am. J. Pathol.*, 2004, 164, 1389-1397.
- Makita Z., Radoff S., Rayfield E. J., Yang Z., Skolnik E., Delaney V., Friedman E. A., Cerami A. & Vlassara H., Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.*, 1991, 325, 836-842.
- Marcoux E., Diabète : le rôle du méthylglyoxal mis à jour. Rencontre avec Pierre Potier. *L'actualité Clinique*, 2005, 290-291, 10-12.
- Marx N., Walcher D., Ivanova N., Rautzenberg K., Jung A., Friedl R., Hombach V., de Caterina R., Basta G., Wautier M. P. & Wautiers J. L., Thiazolidinediones reduce endothelial expression of receptors for advanced glycation end products. *Diabetes*, 2004, 53, 2662-2668.
- Miyata T., Ueda Y., Asahi K., Izuohara Y., Inagi R., Saito A., Van Ypersele De Strihou C. & Kurokawa K., Mechanism of the inhibitory effect of OPB-9195 [(⁺)-2-isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-yl] cetanilide on advanced glycation end product and advanced lipoxidation end product formation. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2000, 11, 1719-1725.
- Montgomery K. F., Osborn L., Hession C., Tizard R., Goff D., Vassallo C., Tarr P. I., Bomsztyk K., Lobb R., Harlan J. M. & Pohlman T. H., Activation of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) gene transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 6523-6527.
- Moore T. C., Moore J. E., Kaji Y., Frizzell N., Usui T., Poulaki V., Campbell I. L., Stitt A. W., Gardiner T. A., Archer D. B. & Adams A. P., The role of advanced glycation end products in retinal microvascular leukostasis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2003, 44, 4457-4464.
- Nakamura N., Hasegawa G., Obayashi H., Yamazaki M., Ogata M., Nakano K., Yoshikawa T., Watanabe A., Kinoshita S., Fujinami A., Ohta M., Imamura Y. & Ikeda T., Increased concentration of pentosidine, an advanced glycation end product, and interleukin-6 in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2003, 61, 93-101.
- Oya-Ito T., Liu B. F. & Nagaraj R. H., Effect of methylglyoxal modification and phosphorylation on the chaperone and anti-

- apoptotic properties of heat shock protein 27. *J. Cell. Biochem.*, 2006, 99, 279-291.
- Padival A. K., Crabb J. W. & Nagaraj R. H., Methylglyoxal modifies heat shock protein 27 in glomerular mesangial cells. *FEBS Lett.*, 2003, 551, 113-118.
- Pala L., Cresci B., Manuelli C., Maggi E., Yamaguchi Y. F., Capupugi P., Rotella C. M. & Giannini S., Vascular endothelial growth factor receptor-2 and low affinity VEGF binding sites on human glomerular endothelial cells: biological effects and advanced glycosylation end products modulation. *Microvasc. Res.*, 2005, 70, 179-188.
- Renard C., Chappey O., Wautier M. P., Nagashima M., Morser J., Scherrmann J. M. & Wautier J. L., The human and rat recombinant receptors for advanced glycation end products have a high degree of homology but different pharmacokinetic properties in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, 290, 1458-1466.
- Sakamoto H., Mashima T., Yamamoto K. & Tsuruo T., Modulation of heat-shock protein 27 (Hsp27) anti-apoptotic activity by methylglyoxal modification. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 45770-45775.
- Sakurai S., Yamamoto Y., Tamei H., Matsuki H., Obata K., Hui L., Miura J., Osawa M., Uchigata Y., Iwamoto Y., Watanabe T., Yonekura H. & Yamamoto H., Development of an ELISA for eRAGE and its application to type 1 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2006, 73, 158-165.
- Schalkwijk C. G., van Bezu J., van der Schors R. C., Uchida K., Stehouwer C. D. & van Hinsbergh V. W., Heat-shock protein 27 is a major methylglyoxal-modified protein in endothelial cells. *FEBS Lett.*, 2006, 580, 1565-1570.
- Schleicher E. D., Wagner E. & Nerlich A. G., Increased accumulation of the glycoxidation product N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. *Clin. Invest.*, 1997, 99, 457-468.
- Schmidt A. M., Hori O., Brett J., Yan S. D., Wautier J. L. & Stern D., Cellular receptors for advanced glycation end products. Implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler. Thromb.*, 1994, 14, 1521-1528.
- Schmidt A. M., Vianna M., Gerlach M., Brett J., Ryan J., Kao J., Esposito C., Hegarty H., Hurley W., Clauss M., Wang F., Pan Y. C., Chang T. C. & Stern D., Isolation and characterization of two binding proteins for advanced glycosylation end products from bovine lung which are present on the endothelial cell surface. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 14987-14997.
- Shinohara M., Thornalley P. J., Giardino I., Beisswenger P., Thorpe S. R., Onorato J. & Brownlee M., Overexpression of glyoxalase-I in bovine endothelial cells inhibits intracellular advanced glycation endproduct formation and prevents hyperglycemia-induced increases in macromolecular endocytosis. *J. Clin. Invest.*, 1998, 101, 1142-1147.
- Stitt A., Gardiner T. A., Alderson N. L., Canning P., Frizzell N., Duffy N., Boyle C., Januszewski A. S., Chachich M., Baynes J. W. & Thorpe S. R., The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits development of retinopathy in experimental diabetes. *Diabetes*, 2002, 51, 2826-2832.
- Szmitko P. E., Wang C. H., Weisel R. D., de Almeida J. R., Anderson T. J. & Verma S., New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation*, 2003, 108, 1917-1923.
- Talasz H., Wasserer S. & Puschendorf B., Nonenzymatic glycation of histones *in vitro* and *in vivo*. *J. Cell. Biochem.*, 2002, 85, 24-34.
- Tamarat R., Silvestre J. S., Huijberts M., Benessiano J., Ebrahimiyan T. G., Duriez M., Wautier M. P., Wautier J. L. & Levy B. I., Blockade of advanced glycation end-product formation restores ischemia-induced angiogenesis in diabetic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 8555-8560.
- Thornalley P. J., Advanced glycation end products in renal failure. *J. Ren. Nutr.*, 2006, 16, 178-184.
- Veiga da-Cunha M., Jacquemin P., Delpierre G., Godfraind C., Theate I., Vertommen D., Clotman F., Lemaigre F., Devuyt O. & Van Schaftingen E., Increased protein glycation in fructosamine 3-kinase-deficient mice. *Biochem. J.*, 2006, 399, 257-264.
- Vidal P. & Cabezas-Cerrato J., The stable products of the non-enzymatic glycation of pig crystallins: new findings related to the pathogenesis of diabetic cataracts. *Diabetes Res.*, 1988, 8, 183-187.
- Vlassara H., Li Y. M., Imani F., Wojciechowicz D., Yang Z., Liu F. T. & Cerami A., Identification of galectin-3 as a high-affinity binding protein for advanced glycation end products (AGE): a new member of the AGE-receptor complex. *Mol. Med.*, 1995, 1, 634-646.
- Wautier J. L. & Guillausseau P. J., Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab.*, 2001, 27, 535-542. (a)
- Wautier J. L., Wautier M. P., Schmidt A. M., Anderson G. M., Hori O., Zoukourian C., Capron L., Chappey O., Yan S. D., Brett J., Guillausseau P. J. & Stern D., Advanced glycation end products (AGEs) on the surface of diabetic erythrocytes bind to the vessel wall via a specific receptor inducing oxidant stress in the vasculature: a link between surface-associated AGEs and diabetic complications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 7742-7746.
- Wautier J. L., Zoukourian C., Chappey O., Wautier M. P., Guillausseau P. J., Cao R., Hori O., Stern D. & Schmidt A. M., Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy. Soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. *J. Clin. Invest.*, 1996, 97, 238-243.
- Wautier M. P., Chappey O., Corda S., Stern D. M., Schmidt A. M. & Wautier J. L., Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001, 280, E685-E694.
- Wautier M. P., Khodabandehlou T., Le Devehat C. & Wautier J. L., Modulation of RAGE expression influences the adhesion of red blood cells from diabetic patients. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2006, 35, 379-386.
- Wautier M. P., Massin P., Guillausseau P. J., Huijberts M., Levy B., Boulanger E., Laloi-Michelin M. & Wautier J. L., N(carboxymethyl)lysine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab.*, 2003, 29, 44-52.
- Weiss M. F., Erhard P., Kader-Attia F. A., Wu Y. C., Deoreo P. B., Araki A., Glomb M. A. & Monnier V. M., Mechanisms for the formation of glycoxidation products in end-stage renal disease. *Kidney Int.*, 2000, 57, 2571-2585.
- Wendt T. M., Harja E., Bucciarelli L., Qu W., Lu Y., Rong L. L., Jenkins D. G., Stein G., Schmidt A. M. & Yan S. F., RAGE modulates vascular inflammation and atherosclerosis in a murine model of type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 2006, 185, 70-77.
- Wendt T. M., Tanji N., Guo J., Kislinger T. R., Qu W., Lu Y., Bucciarelli L. G., Rong L. L., Moser B., Markowitz G. S., Stein G., Bierhaus A., Liliensiek B., Arnold B., Nawroth P. P., Stern D. M., D'Agati V. D. & Schmidt A. M., RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Am. J. Pathol.*, 2003, 162, 1123-1137.
- Yamagishi S., Amano S., Inagaki Y., Okamoto T., Takeuchi M. & Makita Z., Beraprost sodium, a prostaglandin I2 analogue, protects against advanced glycation end products-induced injury in cultured retinal pericytes. *Mol. Med.*, 2002, 8, 546-550.
- Yamamoto Y., Kato I., Doi T., Yonekura H., Ohashi S., Takeuchi M., Watanabe T., Yamagishi S., Sakurai S., Takasawa S.,

- Okamoto H. & Yamamoto H., Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. *J. Clin. Invest.*, 2001, 108, 261-268.
- Yan S. F., Ramasamy R., Naka Y. & S. A. M., Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ. Res.*, 2003, 93, 1159-1169.
- Yonekura H., Yamamoto Y., Sakurai S., Petrova R. G., Abedin M. J., Li H., Yasui K., Takeuchi M., Makita Z., Takasawa S., Okamoto H., Watanabe T. & Yamamoto H., Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem. J.*, 2003, 370, 1097-1109.
- Zareie M., Tangelder G. J., ter Wee P. M., Hekking L. H., van Lambalgen A. A., Keuning E. D., Schadee-Eestermans I. L., Schalkwijk C. G., Beelen R. H. & van den Born J., Beneficial effects of aminoguanidine on peritoneal microcirculation and tissue remodelling in a rat model of PD. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2005, 20, 2783-2792.
- Zoukourian C., Wautier M. P., Chappey O., Dosquet C., Rohban T., Schmidt A. M., Stern D. & Wautier J. L., Endothelial cell dysfunction secondary to the adhesion of diabetic erythrocytes. Modulation by iloprost. *Int. Angiol.*, 1996, 15, 195-200.
-