

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Metody oznaczania pentozydyny – produktu zaawansowanej glikacji białek

AGNIESZKA NOGAJCZYK¹, MAGDALENA SZUMSKA¹, BARTŁOMIEJ KUMASZKA²,
KRYSTYNA TYRPIEŃ-GOLDER¹

¹KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII, WYDZIAŁ LEKARSKI Z ODDZIAŁEM LEKARSKO-DENTYSTYCZNYM
W ZABRZU, ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH

²SZPITAL POWIATOWY IM. PRAŁATA J. GŁOWATZKIEGO W STRZELCACH OPOLSKICH

Słowa kluczowe: pentozydyna, wysokosprawna chromatografia cieczowa, techniki immunoenzymatyczne

STRESZCZENIE

Glikacja to wieloetapowy proces, który zachodzi spontanicznie bez udziału enzymów i prowadzi do powstawania AGEs (Advanced Glycation End-products), czyli zaawansowanych (końcowych) produktów glikacji. Proces ten zachodzi w żywych organizmach, a także w żywności pod wpływem obróbki cieplnej oraz długotrwałego i nieprawidłowego jej przechowywania. W zdrowym organizmie większość AGE jest metabolizowana i ulega wydalaniu. Z czasem jednak pewne ilości tych związków odkładają się w tkankach powodując rozwój przewlekłych schorzeń.

Jednym z końcowych produktów glikacji jest pentozydyna. Powstaje ona w wyniku reakcji lizyny i/lub argininy z cukrem redukującym.

Celem pracy było zebranie informacji na temat pentozydyny oraz przedstawienie przeglądu stosowanych dotychczas i najnowszych metod jej oznaczeń w próbkach biologicznych.

W piśmiennictwie można znaleźć informacje na temat ilościowego oznaczania pentozydyny za pomocą: testu immunoenzymatycznego ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) i wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC z różnymi detektorami. Jednak zdania autorów co do wyboru najlepszej metody są podzielone. Pentozydyna oznaczana jest głównie we krwi, moczu, ślinie, kościach, skórze i chrząstce stawowej. Odgrywa ona ważną rolę w etiopatogenezie wielu jednostek chorobowych (cukrzyca, uszkodzenia nerek, reumatoidalne zapalenie stawów, zwyrodnienia stawów, astma). Stężenia pentozydyny we krwi osób zdrowych, oznaczone technikami immunochemicznymi lub chromatograficznymi i opisane w dostępnym piśmiennictwie, mieszczą się, w zależności od metody analizy, w zakresie od 0,21 pmola do 1,4 pmola w przeliczeniu na mg białka, natomiast w przypadku wymienionych jednostek chorobowych osiągają wartości nawet do 27,3 pmol/mg białka.

Methods of determination of pentosidine – the advanced glycation end-product of proteins

Keywords: pentosidine, high performance liquid chromatography, immunoenzymatic techniques

ABSTRACT

Glycation is a multi-step process that occurs spontaneously without the presence of enzyme, leading to the formation of AGEs – Advanced Glycation End-products. Glycation occurs in living organisms as well as in the food under the influence of heat treatment and long-term storage. In a healthy body the majority of AGE is metabolized and excreted. With time, some amounts of these compounds accumulate in tissues resulting in the development of many chronic diseases.

One of AGEs is pentosidine. It is formed by reaction of lysine and arginine with reducing sugar.

The aim of the study was to collect information on pentosidine and to present a review of already applied and the latest methods of its determinations in biological samples.

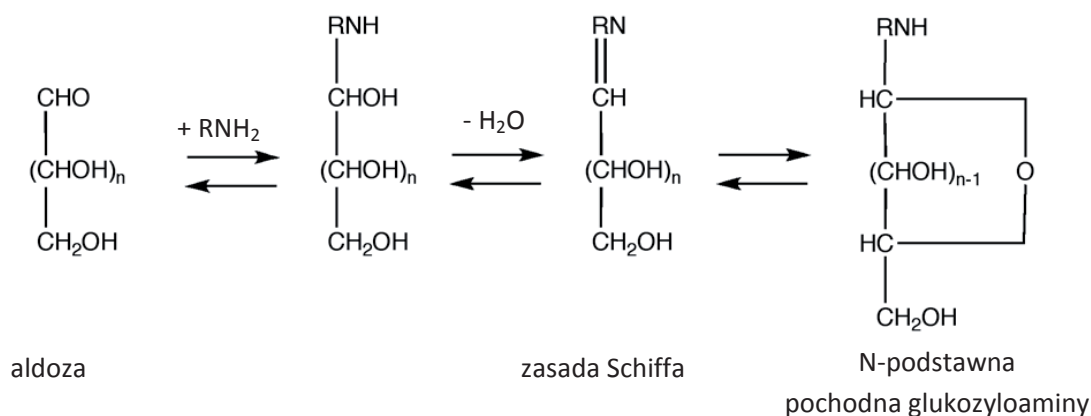
Studies described in literature provide information on the quantification of pentosidine by: immunoassay (ELISA), high performance liquid chromatography (HPLC) mostly coupled with various detectors. However, the opinions of researchers are divided regarding choosing the best method of pentosidine analysis. Pentosidine has been so far determined in the blood, urine, saliva, bone, skin tissue, articular cartilage. It plays an important role in the etiopathogenesis of many diseases (diabetes, kidney damage, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, asthma). The concentrations of pentosidine in the blood of healthy individuals, described in the literature range from 0.21 pmol to 1.4 pmol/mg protein and in the case of patients suffering from the disease mentioned above it can reach the concentration up to 27.3 pmol/mg protein.

1. GLIKACJA BIAŁEK – ETAPY I NASTĘPSTWA

Terminem glikacja zwykło się określać reakcje nieenzymatycznego przyłączenia cukrów do białek, co pozwoliło na odróżnienie tego procesu od glikozylacji enzymatycznej. Istotą tej reakcji jest wytworzenie kowalencyjnego wiązania pomiędzy grupą karbonylową lub hemiacetalową cukrów redukujących, a wolną grupą aminową białek, aminokwasów, peptydów, fosfolipidów lub kwasów nukleinowych [1]. Glikacja zachodzi spontanicznie w żywych organizmach, a także w żywności pod wpływem obróbki cieplnej oraz dłu-

gotrwałego jej przechowywania. Reakcja między cukrami a aminokwasami została po raz pierwszy opisana w 1912 roku przez Louisa Maillarda (Rys. 1) [2].

Proces glikacji jest procesem wieloetapowym, a jego szybkość zależy między innymi od stężenia substratów i czasu ich reakcji. W pierwszym etapie następuje odwracalna reakcja grupy karbonylowej cukru z pierwszorzędową grupą aminową, następnie w wyniku eliminacji wody powstaje zasada Schiffa (aldimina). Proces ten osiąga stan równowagi w ciągu kilku godzin. Powstały związek ulega przegrupowaniu Amadori tworząc



Rysunek 1 Podstawowe równanie reakcji Maillarda [2]

1-amino-1-deoksyketozę (PPA – produkt przegrupowania Amadori). Może on przybierać konformację cykliczną piranozy lub furanozy. Reakcja ta osiąga stan równowagi po około 28 dniach. W wyniku opisanych przemian powstają tzw. wczesne produkty glikacji. Jeżeli w reakcji biorą udział białka o długim okresie półtrwania, to następują kolejne przemiany chemiczne, takie jak oksydacja, dehydratacja, fragmentacja i kondensacja z innymi grupami aminowymi, mogące trwać kilka miesięcy, a nawet lat [3].

Reakcja Maillarda może zachodzić również w obecności tlenu. Następują wtedy przemiany PPA, w wyniku których powstają związki 1- i 3-deoksydikarbonylowe. W trakcie tych przemian zachodzą reakcje dehydratacji, utleniania i liczne transformacje prowadzące do uwalniania reaktywnych form tlenu (RFT), rodników organicznych oraz związków dikarbonylowych, takich jak glioksal, metyloglioksal, 3-deoksyglukozon [1]. Powstałe związki są silnie reaktywne, dlatego wchodzą w reakcje z grupami aminowymi białek, tworząc końcowe produkty zaawansowanej glikacji – AGEs. Związki te mogą łączyć się między sobą i z niektórymi białkami tworząc z nimi wiązania krzyżowe, zaburzając tym samym czynności większości komórek i tkanek ustroju [4].

Końcowe produkty glikacji mogą kumulować się w narządach i tkankach, co w konsekwencji prowadzi do poważnych schorzeń, takich jak np. choroba zwyrodnieniowa stawów, osteoporoza czy choroby neurodegeneracyjne [6-10].

Niektóre białka ulegające glikacji mogą tracić swoje pierwotne funkcje. W przypadku albuminy zostaje zmniejszona jej zdolność do transportu bilirubiny i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Białko błony erytrocytów traci swoje właściwości sprężyste i ich możliwości do odkształcania w naczyniach włosowatych. Glikowana katepsyna B zmniejsza swą aktywność, co prowadzi do zaburzeń w przekształcaniu proinsuliny w insulinę. W wyniku kondensacji antytrombiny III z cukrami redukującymi następuje przewaga procesów krzepnięcia nad procesami fibrylizacji. Ponadto glikacja hamuje aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, co przyczynia się do powstawania stresu oksydacyjnego. W wyniku procesu glikacji kolagenu dochodzi do sieciowania struktury tkanki i tworzenia wiązań krzyżowych, przez co zwiększa się sztywność włókien kolagenowych, a obniża ich rozpuszczalność i podatność na trawienie enzymatyczne oraz jego regenerację. Kwasy nu-

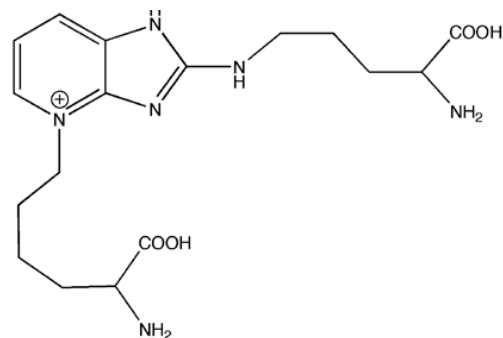
kleinowe, które charakteryzują się długim okresem półtrwania, również mogą ulegać glikacji, co w rezultacie prowadzi do zmian w materiale genetycznym [8].

Celem pracy było zebranie informacji na temat pentozydyny jako związku będącego jednym z produktów zaawansowanej glikacji, oraz przedstawienie przeglądu stosowanych dotychczas i najnowszych metod jej oznaczeń w próbkach biologicznych.

2. PENTOZYDYNA – JEDEN Z PRODUKTÓW AGES ZAAWANSOWANEJ FAZY REAKCJI MAILLARDA

Jednym z końcowych produktów zaawansowanej glikacji jest pentozydyna. Powstaje ona w wyniku reakcji pomiędzy lizyną, arginina i cukrem redukującym. Poza pentozami substratem może być też glukoza [8]. Po raz pierwszy pentozydyna została opisana w 1989 roku przez Sella i Monniera, którzy wyizolowali ją z opon mózgowo-rdzeniowych [5]. Związek ten został zidentyfikowany również w termicznie przetwarzanej żywności, m.in. w prażonej kawie, produktach piekarniczych i mleczarskich [2, 11].

Stężenie pentozydyny w tkankach zwiększa się liniowo wraz z wiekiem. Jej poziom zależy od przemiany kolagenu – duże stężenie obserwuje się w tkankach charakteryzujących się bardzo wolnymi przemianami kolagenu (np. tchawicy), natomiast mniejsze w tkankach o szybszych przemianach kolagenu (np. oponie twardej, aorticie, rdzeniu nerki, skórze) [8]. W organizmie ludzkim przeważa związana forma pentozydyny, wytwarzana przez argininę sieciowaną lizyną w obecności pochodnych karbonylowych. Wolna pentozydyna, której masa cząsteczkowa wynosi 379 (wzór sumaryczny $C_{17}H_{27}N_6O_4$), zbudowana jest z pierścienia imidazolowo-pirydynowego z bocznymi łańcuchami lizyny i argininy (Rys. 2); powstaje w wyniku hydrolizy białka [5].



Rysunek 2 Struktura wolnej pentozydyny [5]

Sell i Monnier [12] stwierdzili, że absorbancja promieni UV przez pentozydynamę następuje przy długości fali 320 nm i zależy od pH. Maksymalną absorbancję obserwuje się przy pH 12, a minimalną przy pH 2. Molowy współczynnik absorpcji pentozydynamy syntetycznej i natywnej, rozpuszczonej w 0,1 M HCl, wynosi odpowiednio: 4195 i 4522 AU [$\text{dm}^3 \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$]. Związek ten wykazuje maksimum fluorescencji przy długości fali wzbudzenia (λ_{ex}) 335 nm i emisji (λ_{em}) 385 nm. Intensywność fluorescencji zależna jest również od pH: maksymalną obserwuje się przy pH = 2, a minimalną przy pH = 9 [12].

3. METODY OZNACZANIA STĘŻEŃ PENTOZYDYN

Z uwagi na fakt, że pentozydynam jest stabilna w warunkach kwasowej hydrolizy białka oraz ze względu na jej właściwości fluorescencyjne, możliwe jest jej oznaczanie przy bardzo niskim stężeniu. Dlatego też związek ten może być jednym z biomarkerów końcowych produktów glikacji AGEs [17]. Z piśmiennictwa wiadomo, że ilościowe oznaczanie pentozydynamy może być przeprowadzane za pomocą: testu immunoenzymatycznego ELISA [6, 13-16] oraz techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z różnymi detektorami [5, 18-21, 27, 28, 30-31, 37], w tym z tandemowym spektrometrem mas MS/MS (tandem mass spectrometric detection) [33, 34, 36].

Scheijen i wsp. [17] uważają, że zastosowanie surowic odpornościowych do testów immunologicznych związanych z oznaczaniem AGEs jest wątpliwe. Według autorów powtarzalność i czułość tych metod nie są optymalne, ponieważ specyficzność przeciwciał często jest trudna do zdefiniowania, a także z powodu ograniczeń przestrzennych, gdyż nie wszystkie epitopy AGEs w białku mogą wchodzić w interakcje z przeciwciałami [17]. Obecnie istnieje możliwość zakupu komercyjnych testów immunoenzymatycznych do oznaczania pentozydynamy [14, 15]. Według wspomnianych autorów [17] dokładne oznaczenie ilościowe pentozydynamy można uzyskać za pomocą złożonych systemów chromatograficznych [5, 30]. Metoda ta została opracowana m.in. przez Słowik-Zylka i wsp. [5], u których układ chromatograficzny składał się z kolumny Vydac 218TP54 250 × 4,6 mm (5 μm wielkość cząstek) i przedkolumny Vydac 218GCC 20 × 4,6 mm. Zastosowanie chroma-

tografii jonowymiennej przez Saito i wsp. [36] znacznie wydłużyło czas analizy i charakteryzowało się małą powtarzalnością czasów retencji.

Do oznaczania pentozydynamy stosowano również technikę chromatografii par jonowych IP-HPLC [28, 26]. Metodę tę wykorzystali Spacek i wsp. [28] stosując szklaną kolumnę kompaktową CGC Separon SGX C18 (Producent: Tessek Ltd., Praga, Republika Czeska), 150 x 3 mm² (cząstki o średnicy 7 μm). Z kolei w metodzie zaproponowanej przez Florid i wsp. [38] dodatkowo, przed analizą HPLC (rozdzielanie na kolumnie Spherisorb ODS2, 5 mm, 15 x 0,4 cm (Waters, Milford, MA, USA), oczyszczono badane próbki stosując ekstrakcję do fazy stałej (SPE) [38]. Scheijen i wsp. [17] wskazali na trzy główne wady wymienionych wyżej metod: długi czas analizy, skomplikowane przygotowanie próbek oraz zastosowanie drogiego sprzętu LC-MS/MS. W związku z tym autorzy ei opracowali szybką (około 30-minutową), prostą i czułą metodę RP-HPLC z użyciem kolumny Allsphere ODS-2 (150 mm × 4,6 mm, 3 μm), uzyskując czyste chromatogramy i stabilny czas retencji.

Słowik-Zylka i wsp. [5] zwrócili uwagę, że pentozydynamę zawartą w osoczu najczęściej oznacza się za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Jest to najczęściej procedura jednoetapowa w odwróconym układzie faz z wykorzystaniem chromatografii par jonowych (IP-RP-HPLC) (ion-pair reversed-phase high performance chromatography) z oktadecylosilanowymi (C18, ODS) kolumnami, takimi jak Supelcosil LC-318 (Supelco), Vydac 218 TP [22], TSK-GEL ODS-80T (Tosoh) [7, 38], Wakosil-II 5C18AR (Wako) [23] czy też Hi-Pore RP-318 (Bio-Rad) [26]. Jednak według Słowik-Zylka i wsp. [5] jednoetapowa analiza wykazuje niską specyficzność i podatność na artefakty powstałe w wyniku kwaśnej hydrolizy, które mogą interferować z pentozydynamą [5]. Aby rozwiązać ten problem, niektórzy autorzy zastosowali kolumny z Sephadexem C-25 [24] lub celulozą CF-11 [23] w celu oczyszczenia próbki przed separacją na kolumnie C18. Drugi etap separacji na wymienniaczu kationowym SP-5PW (Waters) [19] jest bardziej użyteczny, ale znacznie wydłuża całkowity czas analizy. Słowik-Zylka i wsp. opracowali czułą i specyficzną metodę oznaczania całkowitej pentozydynamy w osoczu, przy pomocy dwóch układów chromatograficznych z użyciem tej samej kolumny C18 – Vydac 218TP54, gdzie w skład pierwszej fazy ruchomej wchodził kwas trifluorooctowy, natomiast drugi eluent zawierał kwas hepta-

fluorobutanowy, przy całkowitym czasie rejestracji chromatogramu wynoszącym 30 min. Pentozydynam oznaczano przy zastosowaniu detektora fluorescencyjnego pracującego przy długości fali wzbudzenia 330 nm i emisji 373 nm, a maksimum absorpcji obserwowano przy długości fali 325 nm [5].

Pentozydynam w moczu oznaczana jest najczęściej techniką HPLC, a badana próbka nie wymaga hydrolizy, ponieważ związek ten występuje w formie wolnej. Vos i wsp. [32] analizowali pentozydynam w moczu pacjentów w końcowym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów. Próbkę po rozcieńczeniu (1:1 w 0,025% H_2SO_4) o objętości 50 μ l były rozdzielane w kolumnie Whatman partisil 10 SCX (250 \times 4,6 mm). Pentozydynam eluowano w liniowym gradiencie za pomocą roztworów 0,025% H_2SO_4 i 100 mM $Al_2(SO_4)_3$ w 0,025% H_2SO_4 . Temperaturę kolumny utrzymywano na poziomie 60°C. Pentozydynam analizowano przy użyciu fluorymetru Jasdo FP-1520 przy długości fali 328 nm (ex), 378 nm (em) [32].

Sanaka i wsp. [6] stwierdzili, że oznaczanie pentozydynam metodą HPLC jest czasochłonne i wymaga skomplikowanej procedury wstępnej obróbki próbki, jak również drogiej aparatury. Z tego względu wskazali na konieczność rozwoju prostej i szybkiej metody immunoenzymatycznej ELISA. Izuhara i wsp. [16] wykorzystali tę technikę do oznaczenia stężenia pentozydynam w osoczu chorych na cukrzycę (wartość średnia oznaczanego biomarkera wyniosła 0,18 nmol/ml osocza) oraz pacjentów hemodializowanych (1,52 nmol/ml), jak również w grupie kontrolnej (0,16 nmol/ml). Dla porównania wykonano oznaczenia techniką RP-HPLC, przy użyciu kolumny C18 (Waters, Tokyo, Japan). Otrzymano te same wartości średnie dla obu grup chorych, natomiast w grupie kontrolnej wynik był nieco niższy – o 0,02 nmol/ml.

Najnowsze doniesienia naukowe wskazują na możliwość wykorzystania zestawów ELISA do oznaczania stężenia pentozydynam w materiale biologicznym. Kerkeni i wsp. [14] stosowali tę technikę do badania stężeń pentozydynam u pacjentów z cukrzycą typu 2. Mikro płytki były wstępnie pokrywane przeciwciałem specyficznym dla ludzkiej pentozydynam. Po dodaniu próbki, inkubacji i etapie płukania, płytki inkubowano z peroksydazą chrzanową (horseradish, HRP), następnie stosowano jako substrat 3,3',5,5'-tetrametylobenzydynam (TMB) i odczytywano absorbcję przy odpowiedniej długości [14].

4. STĘŻENIA PENTOZYDYNAM W PŁYNACH USTROJOWYCH I TKANKACH LUDZKICH

Pentozydynam oznaczana jest głównie we krwi [17, 18, 25, 29], rzadziej w moczu [25, 28, 32, 33, 37], ślinie [15], kościach, skórze i chrząstce stawowej [28, 34]. Oznacza się ją między innymi u chorych na: cukrzycę [14], w chorobie zwyrodnieniowej stawów [25, 28, 32], u pacjentów z niewydolnością nerek, dializowanych i po przeszczepie nerek [13, 14, 17, 18, 33, 36, 37], w retinopatii cukrzycowej [14, 16, 29] oraz u chorych na astmę [15]. Związek ten można oznaczyć zarówno w postaci wolnej, jak i związanej z białkiem. Stężenia pentozydynam we krwi osób zdrowych opisane w piśmiennictwie są rozbieżne i wynoszą od 0,21 pmol do 1,4 pmol/mg białka [5, 17, 19, 29, 38] dla całkowitej pentozydynam i dla wolnej pentozydynam od 0,25 ng/ml do 3,3 ng/ml [14, 15] lub odpowiednio od 0,79 pmol/ml do 151 pmol/ml [13, 16, 33, 36]. Różnice te mogą wynikać z rodzaju zastosowanej metody oznaczania pentozydynam oraz doboru grup kontrolnych. Według różnych autorów stężenie pentozydynam w moczu u osób zdrowych wynosi średnio 14 pmol/ml [33]; 5,2 nmol/mmol kreatyniny [37]; lub 6,2 nmol/mmol kreatyniny [28]. Takahashi i wsp. oznaczyli stężenie pentozydynam w moczu chorych na cukrzycę, które wynosiło odpowiednio 8,7 nmol/mmol kreatyniny, osteoporozę – 7,9 nmol/mmol kreatyniny oraz pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek – 36,1 nmol/mmol kreatyniny [37].

Scheijen i wsp. [17] oznaczyli stężenie pentozydynam związanej z białkiem w osoczu w grupie chorych w końcowym stadium niewydolności nerek. W tej grupie badanych średnie stężenie pentozydynam wynosiło 3,05 pmol/mg białka, natomiast w grupie kontrolnej 0,21 pmol/mg białka. Inni autorzy – Floridi i wsp. [38] – również prowadzili podobne badania w grupie pacjentów hemodializowanych. W tym przypadku średnie stężenie badanego biomarkera wynosiło 27,3 pmol/mg białka (w grupie kontrolnej 1,4 pmol/mg). Natomiast Slowik-Zylka i wsp. [18] monitorowali stężenie pentozydynam w osoczu chorych po przeszczepie nerki, gdzie zaobserwowano spadek ilości oznaczanego związku (od 27,7 do 6,48 pmol/mg białka w 60. dniu po przeszczepie; w grupie kontrolnej średnie stężenie pentozydynam wynosiło 1,27 pmol/mg). Równocześnie autorzy oznaczali stężenie wolnej pentozydynam obserwując obniżenie stężenia z 22,1 do 1,39 pmol/ml (w grupie kontrol-

nej 0,79 pmol/ml). Salman i wsp. [29] prowadzili badania w grupie chorych na cukrzycę oznaczając całkowitą pentozydynamę we krwi (średnie stężenie 6,9 pmol/mg białka; kontrola 0,9 pmol/mg). Kerkeni i wsp. [14] oznaczyli stężenie pentozydyny w surowicy krwi pacjentów z nefropatią cukrzycową i retinopatią cukrzycową otrzymując odpowiednio średnie wartości 287,58 i 337,79 pg/ml (kontrola 246,03 pg/ml). Autorzy cytowanego badania stwierdzili, że oznaczanie stężenia pentozydyny może być biomarkerem monitorowania przebiegu mikroangiopatii u chorych na cukrzycę typu 2.

Mitsuru Saito i wsp. [35] oznaczyli stężenie pentozydyny w chrząstce stawowej, skórze oraz trzonie kości udowej otrzymując odpowiednio wyniki 0,002; 0,001 oraz 0,01 mol/mol kolagenu. Natomiast Kanazawa i wsp. [15] zauważyli, że stężenie pentozydyny w płwocinie indukowanej było wyraźnie wyższe u pacjentów z astmą (średnie stężenie 23,9 ng/ml) niż w grupie kontrolnej (3,3 ng/ml). Autorzy ci obserwowali również wyższe stężenia pentozydyny u osób starszych niż młodszych oraz u palących niż u niepalących (młodzi niepalący – 1,9 ng/ml, niepalący w podeszłym wieku – 9,6 ng/ml, młodzi palący – 5,3 ng/ml).

5. PODSUMOWANIE

Problem wyboru metody oznaczania pentozydyny jest omawiany od wielu lat. Zastosowanie określonej techniki analitycznej jest uzależnione od wielu czynników, takich jak: rodzaj materiału do analizy, sposób przygotowania próbki, koszty analizy oraz czas potrzebny na jej wykonanie. Dążenie do minimalizacji objętości próbki oraz zmniejszenia użycia toksycznych rozpuszczalników, a także obniżenia kosztów i skrócenia czasu przeprowadzania analizy, musi być związane z wysoką specyficnością oznaczania pentozydyny w materiale biologicznym. Metody chromatograficzne dominują w tym względzie nad immunochemicznymi, szczególnie gdy wykorzystują coraz bardziej powszechne tandemowe spektrometry mas.

Opracowanie jednej wystandaryzowanej i zwalidowanej procedury oznaczania pentozydyny dla danego materiału biologicznego i danej jednostki chorobowej mogłoby stanowić podstawę do stworzenia bazy wiarygodnych wartości stężeń granicznych (referencyjnych). Przyszłościowe wykorzystanie pentozydyny jako czułego i specyficznego biomarkera narażenia na związki zaawansowanej fazy reakcji Maillarda (z grupy AGEs) ciąga za sobą konieczność opracowania takich danych bazujących na ujednoczonej procedurze analitycznej.

LITERATURA

- [1] Warwas M., Piwowar A., Kopiec G., Zaawansowane produkty glikacji (AGE) w organizmie – powstawanie, losy, interakcja z receptorami i jej następstwa, *Farm. Pol.*, 66, 2010, 8, 585-590.
- [2] Michalska A., Zieliński H., Produkty reakcji Maillarda w żywności, *ŻNTJ*, 2, 2007, 51, 5-16.
- [3] Jabłońska-Trypuć A., Czerpak R., Rola nieenzymatycznej glikozylacji białek w procesach starzenia organizmu i patogenezie chorób wieku podeszłego, *Post. Biol. Komórki*, 34, 2007, 4, 683-693.
- [4] Schlaffke J., Ocena zawartości zaawansowanych produktów glikacji białek w skórze metodą autofluorescencji u chorych na cukrzycę typu 1, *Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych*, Poznań 2013.
- [5] Slowik-Zylka D., Safranow K., Dziedziejko V., Bukowska H., Ciechanowski K., Chlubek D., A sensitive and specific HPLC method for the determination of total pentosidine concentration in plasma, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 61, 2004, 313-329.
- [6] Sanaka T., Funaki T., Tanaka T., Hoshi S., Niwayama J., Taitoh T., Nishimura H., Higuchi C., Plasma pentosidine levels measured by a newly developed method using ELISA in patients with chronic renal failure, *Nephron*, 91, 2002, 64-73.
- [7] Hashimoto H., Arai K., Chikuda M., Obara Y., Relationship between pentosidine and pyridinoline levels in human diabetic cataract lenses, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 47, 2010, 233-237.
- [8] Śliwińska A., Łysiak-Szydłowska W., Metody oznaczania końcowych produktów glikacji białek – AGEs, *Diagn. Lab.*, 41, 2005, 85-94.

- [9] Goldin A., Beckman J. A., Schmidt A. M., Creager M. A., Advanced glycation end products sparking the development of diabetic vascular injury, *Circulation*, 114, 2006, 597-605.
- [10] Takeuchi M., Takino J., Yamagishi S., Involvement of the toxic AGEs (TAGE)-RAGE system in the pathogenesis of diabetic vascular complications: a novel therapeutic strategy, *Curr. Drug Targets*, 11, 2010, 11, 1468-1482.
- [11] Poulsen M. W., Hedegaard R. V., Andersen J. M., de Courten B., Bügel S., Nielsen J., Skibsted L. H., Dragsted L. O., Advanced glycation end products in food and their effects on health, *Food Chem. Toxicol.*, 60, 2013, 10-37.
- [12] Sell D., Monnier V., Structure elucidation of a senescent crosslink from human extracellular matrix, *J. Biol. Chem.*, 264, 1989, 21597-21602.
- [13] Taneda S., Monnier V. M., ELISA of pentosidine, an advanced glycation end product, in biological specimens, *Clin. Chem.*, 40, 1994, 1766-1773.
- [14] Kerkeni M., Saïdi A., Bouzidi H., Letaief A., Yahia S. B., Hammami M., Pentosidine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients, *Diabetes Vasc. Dis. Res.*, 10, 2012, 3, 239-245.
- [15] Kanazawa H., Kyoh S., Tochino Y., Asai K., Hirata K., Potential role of pentosidine on susceptibility to small airway closure in elderly and smoking asthma, *Resp. Med.* 108, 2014, 709-715.
- [16] Izuhara Y., Miyata T., Ueda Y., Suzuki D., Asahi K., Inagi R., Sakai H., Kurokawa K., Sensitive and specific ELISA for plasma pentosidine, *Nephrol. Dial. Transpl.*, 14, 1999, 576-580.
- [17] Scheijen J. L. J. M., van de Waarenburg M. P. H., Stehouwer C. D. A., Schalkwijk C. G., Measurement of pentosidine in human plasma protein by a single-column high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection, *J. Chromatogr. B*, 877, 2009, 610-614.
- [18] Slowik-Zylka D., Safranow K., Dziedziejko V., Ciechanowski K., Chlubek D., Association of plasma pentosidine concentrations with renal function in kidney graft recipients, *Clin. Transplant.*, 24, 2010, 839-847.
- [19] Odetti P., Fogarty J., Sell D., Monnier V., Chromatographic quantitation of plasma and erythrocyte pentosidine in diabetic and uremic subjects, *Diabetes*, 41, 1992, 153-159.
- [20] Viguet-Carrin S., Gineyts E., Bertholon C., Delmas P. D., Simple and sensitive method for quantification of fluorescent enzymatic mature and senescent crosslinks of collagen in bone hydrolysate using single-column high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. B*, 877, 2009, 1-7.
- [21] Mikulíková K., Eckhardt A., Kuneš J., Zicha J., Mikšík I., Advanced glycation end-product pentosidine accumulates in various tissues of rats with high fructose intake, *Physiol. Res.*, 57, 2008, 89-94.
- [22] Grandhee K., Monnier V. M., Mechanism of formation of the Maillard protein cross-link pentosidine, *J. Biol. Chem.*, 266, 1991, 11649-11653.
- [23] Yoshihara K., Nakamura K., Kanai M., Nagayama Y., Takahashi S., Saito N., et al., Determination of urinary and serum pentosidine and its application to elder patients, *Biol. Pharm. Bull.*, 21, 1998, 1005-1008.
- [24] Takahashi M., Kushida K., Kawana K., Ishihara C., Deneda M., Inoue T., Horiuchi K., Quantification of the cross-link pentosidine in serum from normal and uremic subjects, *Clin. Chem.*, 39, 1993, 10, 2162-2165.
- [25] Braun M., Hulejová H., Gatterová J., Filková M., Pavelková A., Sléglová O., Kaspríková N., Vencovsky J., Pavelka K., Senolt L., Pentosidine, an advanced glycation end-product, may reflect clinical and morphological features of hand osteoarthritis, *TORJ*, 6, 2012, 64-69.
- [26] Dyer D., Blackledge J. A., Thorpe S., Baynes J., Formation of pentosidine during nonenzymatic browning of proteins by glucose, *J. Biol. Chem.*, 266, 1991, 11654-11660.
- [27] Ahmed N., Argirov O. K., Minhas H. S., Cordeiro C. A. A., Thornalley P. J., Assay of advanced glycation endproducts (AGEs): surveying AGEs by chromatographic assay with derivatization by 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamate and application to N_ε-carboxymethyl-lysine and N_ε-(1-carboxyethyl)lysine-modified albumin, *Biochem. J.*, 364, 2002, 1-14.
- [28] Spacek P., Adam M., Pentosidine in osteoarthritis: HPLC determination in body fluids and in tissues, *Rheumatol. Int.*, 26, 2006, 923-927.

- [29] Salman A. G., Mansour D. E. A. A., Swelem A. A., Al-Zawahary W. M. A., Radwan A. A., Pentosidine – a new biochemical marker in diabetic retinopathy, *Ophthalmic Res.*, 42, 2009, 96-98.
- [30] Wilker S. C., Chellan P., Arnold B. M., Nagaraj R. H., Chromatographic quantification of argpyrimidine, a methylglyoxal-derived product in tissue proteins: comparison with pentosidine, *Anal. Biochem.*, 290, 2001, 353-358.
- [31] Chen J. R., Takahashi M., Kushida K., Suzuki M., Suzuki K., Horiuchi K., and Nagano A., Direct detection of crosslinks of collagen and elastin in the hydrolysates of human yellow ligament using single column high performance liquid chromatography, *Anal. Biochem.*, 278, 2000, 99-105.
- [32] Vos P. A. J. M., Mastbergen S. C., Huisman A. M., de Boer T. N., DeGroot J., Polak A. A., Lafeber F. P. J. G., In end stage osteoarthritis, cartilage tissue pentosidine levels are inversely related to parameters of cartilage damage, *Osteoarthr. Cartil.*, 20, 2012, 233-240.
- [33] Thornalley P. J., Battah S., Ahmed N., Karachalias N., Agalou S., Babaei-Jadidi R., Dawnay A., Quantitative screening of advanced glycation endproducts in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry, *Biochem. J.*, 375, 2003, 581-592.
- [34] Babaei-Jadidi R., Karachalias N., Ahmed N., Battah S., Thornalley P. J., Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine, *Diabetes*, 52, 2003, 2110-2120.
- [35] Saito M., Marumo K., Fujii K., Ishioka N., Single-column high-performance liquid chromatographic – fluorescence detection of immature, mature, and senescent cross-links of collagen, *Anal. Biochem.*, 253, 1997, 26-32.
- [36] Agalou S., Ahmed N., Dawnay A., Thornalley P. J., Removal of advanced glycation end products in clinical renal failure by peritoneal dialysis and haemodialysis, *Biochem. Soc. T.*, 31, 2003, 6, 1394-1396.
- [37] Takahashi M., Hoshino H., Kushida K., Kawana K., Inoue T., Direct quantification of pentosidine in urine and serum by HPLC with column switching, *Clin. Chem.*, 42, 1996, 1439-1444.
- [38] Floridi A., Trizza V., Paolotti P., Lucarelli C., Analytical strategy for the assessment of the protein glycation status in uremic patients by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 846, 1999, 65-71.