

FISIOPATOLOGIA

I PRODOTTI DELLA GLICAZIONE AVANZATA (AGEs) COME PROMOTORI DI INSULINO RESISTENZA

Advanced Glycation End Products (AGEs) as drivers of insulin resistance

**SHARON ANGELINI¹, FABIOLA CASTALDO¹, RICCARDO SPAGGIARI¹,
JUANA MARIA SANZ², DOMENICO SERGI¹, ANGELINA PASSARO¹**

¹Department of Translational Medicine, University of Ferrara, Italy;

²Department of Chemical, Pharmaceutical and Agricultural Sciences, University of Ferrara, Italy

SUMMARY

Advanced Glycation End-products (AGEs) are a heterogeneous group of molecules, which arise from the non-enzymatic reaction between a reducing sugar and the free amino groups of proteins, lipids and nucleic acids. Although, AGEs can be formed endogenously, particularly in response to hyperglycaemia, they can also be consumed through the diet and absorbed in the gastrointestinal tract. Indeed, AGEs are produced via the Maillard reaction during food processing or cooking, particularly as a consequence of the exposure of foods rich in sugars, proteins and lipids to dry heat. Thus, these glycotoxins are typically abundant in the highly processed foods, which characterize the Western diet and may represent one of the mediators through which this dietary pattern exerts its detrimental effects on cardiometabolic health. In keeping with this, the consumption of AGEs has been associated with the development on insulin resistance in clinical trials and confirmed in cell models in which exposure to AGEs hampered insulin signaling. From a mechanistic perspective, the effects of AGEs on insulin resistance may rely on the activation of pro-inflammatory pathways and the induction of oxidative stress, with the activation of these mechanisms being triggered by the interaction between AGEs and their cognate receptor: the receptor for AGEs (RAGE). In spite of AGEs being associated with insulin resistance and being able to activate pathways known to hamper insulin signaling, their role in promoting insulin resistance remains controversial. In light of this, further studies are warranted in order to address the discrepancies between different studies on this topic. Nevertheless, despite these gaps in the literature, limiting the intake of AGEs, by lowering the consumption of highly processed foods, may still represent a promising nutritional strategy to improve insulin sensitivity and cardiometabolic health.

Key words: AGEs, insulin resistance, diet, highly processed foods.

Indirizzi per la corrispondenza

Domenico Sergi: domenico.sergi@unife.it
Angelina Passaro: angelina.passaro@unife.it

Qualità della dieta e salute metabolica

La qualità della dieta, determinata sia dall'introito calorico in relazione ai fabbisogni che dalla qualità dei nutrienti introdotti, gioca un ruolo fondamentale nel promuovere l'obesità e le comorbidità ad essa associate. In particolare, gli acidi grassi saturi a catena lunga (Long Chain Saturated Fatty Acids, LCSFA) e zuccheri raffinati abbondanti in alimenti altamente processati e tipici della Dieta Occidentale (Western Diet, WD), rappresentano i principali attori in grado di promuovere l'obesità e ledere la salute metabolica (1). A ulteriore supporto di ciò, questi nutrienti sono stati dimostrati essere in grado di compromettere il sistema neuroendocrino responsabile della regolazione dell'omeostasi energetica localizzato a livello ipotalamico (2) anche se questi aspetti sono stati prevalentemente investigati su modelli animali (3). Ciò nonostante, la dieta non rappresenta l'unica discriminante alla base dello sviluppo dell'obesità e del deterioramento della salute cardiometabolica. Infatti, anche l'inattività fisica contribuisce al bilancio energetico positivo a lungo termine che, a sua volta, rappresenta la base patogenetica dell'obesità (4).

L'obesità non va semplicemente considerata come un mero eccesso ponderale, ma l'eccessiva deposizione energetica sotto forma di trigliceridi a livello del tessuto adiposo, soprattutto a livello viscerale, costituisce un nesso patogenetico chiave tra l'obesità e le sue comorbidità incluso il diabete mellito di tipo 2 (Type 2 Diabetes, T2D) (5), le malattie cardiovascolari (6), la malattia epatica steatotica associata a disfunzione metabolica (Metabolic dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease, MASLD) (7), alcune tipologie di cancro (8) e, come emerso da recenti evidenze scientifiche, anche patologie neurodegenerative (9). Uno tra i principali fattori che sottende allo sviluppo delle comorbidità dell'obesità è l'insulino resistenza (10). L'insulino resistenza è definita come una ridotta capacità dei tessuti di rispondere agli effetti

metabolici di questo ormone e rappresenta la base patogenetica del T2D e della sindrome metabolica (11). Alla luce di ciò, l'insulino resistenza è un fattore cardine nel modulare il rischio cardiovascolare.

Come già accennato, il consumo di alimenti altamente processati e con elevata densità energetica, insieme all'inattività fisica non solo sono alla base della patogenesi dell'obesità, ma rappresentano anche gli elementi principali in grado di alterare la sensibilità insulinica e la salute cardiometabolica. A tal proposito, mentre la WD espleta effetti deleteri sulla salute cardiometabolica, la Dieta Mediterranea (Mediterranean Diet, MD) è stata ampiamente descritta per i suoi effetti positivi nel contrastare lo sviluppo delle patologie metaboliche e cardiovascolari. La MD prevede il consumo di alimenti di origine vegetale e di produzione locale, olio d'oliva come principale fonte di grassi, carboidrati complessi non raffinati e un ridotto consumo di carne rossa e processata sostituita da proteine vegetali e prodotti ittici. L'aderenza alla MD fornisce, inoltre, una combinazione di nutraceutici, come polifenoli e acidi grassi omega-3, che hanno dimostrato di avere proprietà benefiche sulla salute metabolica (12), in particolare mimano alcuni degli effetti della restrizione calorica con conseguente miglioramento della biogenesi mitocondriale e della loro capacità e riduzione dell'infiammazione cronica di basso grado (13). Al contrario, la WD è caratterizzata da un consumo eccessivo di cibi altamente processati, zuccheri raffinati (14) e LCSFA (15), che molti studi descrivono come i principali promotori di disfunzione del tessuto adiposo, infiammazione cronica di basso grado e resistenza insulinica. Mentre l'effetto di questi nutrienti sulla salute metabolica è stato ampiamente definito, gli alimenti altamente processati e tipici della WD contengono altre molecole in grado di espletare effetti deleteri sulla salute cardiometabolica. Tra questi vi è un gruppo di composti noto come prodotti finali della glicazione avanzata (Advanced Glyca-

tion End-products, AGEs), di cui la WD è ricca. Nonostante gli AGEs non forniscano di per sé energia, numerose evidenze sottolineano la loro implicazione nella modulazione dei pathway molecolari connessi ad infiammazione ed insulino resistenza (16), pertanto essi rappresentano un ulteriore tassello che lega la WD al deterioramento della salute cardiometabolica.

I composti della glicazione avanzata (AGEs)

Gli AGEs sono un gruppo di composti eterogenei che includono addotti proteici, lipidici e del DNA, e che sono stati implicati nella patogenesi di numerose patologie croniche, tra cui il T2D, le malattie cardiovascolari, renali e neurodegenerative, così come nella patogenesi dell'obesità (17). Gli AGEs sono stati descritti per la prima volta all'inizio del diciottesimo secolo come un gruppo di composti ottenuti attraverso una reazione di imbrunimento non enzimatico, nota anche come reazione di Maillard. La reazione di Maillard è una reazione a più stadi che coinvolge zuccheri riducenti (con un gruppo carbossilico incline all'ossidazione) e il gruppo amminico libero di proteine, lipidi e basi azotate del DNA. Gli AGEs, tuttavia, possono essere prodotti anche endogenamente attraverso una reazione spontanea che ha luogo in risposta ad iperglicemia cronica. La formazione endogena di AGEs consiste nella glicazione di proteine soprattutto strutturali con una lunga emivita come il collagene, la vitronectina e la laminina; pertanto, questo processo può essere descritto sia come il risultato che la causa dei processi di invecchiamento (18). Inoltre, un'elevata formazione endogena di AGEs può portare al cross-linking (18, 19) delle proteine della matrice extracellulare, le quali sono promotrici della senescenza cellulare e sono associate ad una ridotta longevità (20). Alla luce di ciò, la compromissione del controllo glicemico protratta nel tempo induce un aumento della sinte-

si endogena di prodotti della glicazione avanzata come l'emoglobina glicata (HbA1c), usata come marker per la diagnosi di diabete (21). Il pool endogeno di AGEs è implementato da quelli introdotti con la dieta anche alla luce del fatto che questi ultimi possono essere assorbiti nel tratto gastrointestinale. Infatti, gli alimenti ricchi in zuccheri, proteine e grassi, tipici della WD, sono particolarmente inclini a subire la reazione di Maillard durante la lavorazione industriale o la cottura, soprattutto nel caso dell'utilizzo di calore secco con temperature superiori ai 140° C. Alla luce di ciò e data la capacità degli AGEs di indurre infiammazione e aumentare la produzione di specie reattive dell'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS), essi rappresentano ulteriori mediatori attraverso i quali la WD promuove il deterioramento della salute cardiometabolica promuovendo, in particolar modo, resistenza insulinica (22).

Formazione degli AGEs

Come già accennato, gli AGEs sono prodotti attraverso una reazione di imbrunimento non enzimatico o reazione di Maillard, che può essere riassunta in tre fasi secondo la classificazione di Hodge (23):

1. Formazione di basi di Schiff (o prodotti di glicazione precoce): la condensazione tra il gruppo carbossilico e il gruppo amminico libero di proteine o lipidi o gli acidi nucleici porta alla formazione di basi di Schiff. Questa reazione è rapida e reversibile.
2. Riarrangiamento di Amadori (o Prodotti di glicazione intermedi): la base di Schiff subisce un riarrangiamento di Amadori, un processo reversibile, che porta alla formazione di molecole più stabili note come composti di Amadori. L'HbA1c è un esempio di sintesi endogena di composti di Amadori.
3. Riarrangiamento dei composti di Amadori (o prodotti finali della glicazione avanzata): i composti di Amadori subiscono ulteriori modifiche, attraverso vie ossidative o non ossidative, per produrre prodotti finali della glica-

zione avanzata come la N ϵ -(carbossimetil) lisina (Carbossi Metil Lisina, CML), la N ϵ -(carbossietil) lisina (CEL), la pentosidina, la pirallina, il GOLD (dimeri di glicosil-lisina), DOLD (dimeri di lisina 3-deossiglucosone), pentosidina e glucosopane (22).

Anche se glucosio e fruttosio, così come altri zuccheri riducenti, svolgono un ruolo fondamentale nella formazione degli AGEs, gli stessi hanno scarse proprietà glicanti se confrontati con i dicarbonili, come il metilgliosale (24). I dicarbonili, anche chiamati α -ossaldeidi, sono un gruppo di composti, che includono molecole come il metilgliosale, il glicosale e il 3-deossiglucosone ottenuti attraverso la reazione di Maillard per degradazione del glucosio o delle basi di Schiff nella glicazione precoce o dai composti di Amadori come la fruttosammina (25).

A livello endogeno, i composti dicarbonilici possono anche essere prodotti attraverso vie alternative, come ad esempio la degradazione del glucosio o la via dei polioli, una pathway particolarmente attiva nel caso dell'iperglicemia cronica tipica del diabete, la quale contribuisce indirettamente alla formazione degli AGEs. Durante l'iperglicemia, infatti, vi è un aumento del livello di glucosio intracellulare che viene convogliato verso la via dei polioli. Il primo step di questa via consiste nella conversione del glucosio in sorbitolo, mediata dall'enzima aldoso-reduttasi. Il sorbitolo viene poi convertito in fruttosio dalla sorbitolo-deidrogenasi, la quale necessita dalla presenza del cofattore NAD⁺ per la sua attività. Pertanto, un'eccessiva attivazione della via dei polioli comporta la deplezione di NAD⁺, con conseguente inibizione dell'enzima glicolitico gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi. Una diminuzione dell'attività di quest'ultimo porta ad un rallentamento della glicolisi, con conseguente accumulo dei suoi intermedi come fruttosio e trioso fosfato, i quali danno origine a molecole altamente reattive, tra cui fruttosio-3-fosfato e derivati dicarbonilici, glicosale, metilgliosale e 3-de-

ossiglucosone, che interagiscono con proteine intracellulari ed extracellulari per formare AGEs (26, 27). Alle pathway endogene che contribuiscono alla formazione di AGEs si aggiunge la perossidazione lipidica. Infatti, i prodotti della perossidazione degli acidi grassi polinsaturi, come il malondialdeide e il metilgliosale, contengono carbonili che possono reagire con i gruppi amminici delle proteine per formare gli AGEs.

I composti carbonilici sono quindi ottenuti costantemente durante il metabolismo cellulare ma sono efficacemente detossificati. Nonostante ciò, quando la loro produzione supera i meccanismi di detossificazione, i prodotti dicarbonilici si accumulano contribuendo alla formazione degli stessi AGEs ottenuti dalla reazione di Maillard, come N ϵ -carbossimetil lisina (CML), N ϵ -(carbossietil) lisina (CEL), pentosidina, pirallina, GOLD (dimeri di lisina glicosil), DOLD (dimeri di lisina 3-deossiglucosone), pentosidina e glucosopane.

Gli AGEs nella dieta

Come già descritto, gli AGEs non sono formati esclusivamente da reazioni non enzimatiche endogene, ma possono anche essere introdotti con la dieta. Gli alimenti possono naturalmente contenere AGEs, come nel caso degli alimenti di origine animale, i quali possono di per sé contenere proteine glicate, o gli stessi possono essere formati durante la cottura in maniera strettamente dipendente dalla composizione nutrizionale degli alimenti. A tal proposito il contenuto di CML, un composto di glicazione tipicamente utilizzato come marcatore di AGEs, è maggiore negli alimenti ricchi di grassi e seguiti dagli alimenti appartenenti al gruppo della carne (*Tabella 1*).

Inoltre, è importante considerare che, sebbene gli alimenti ad alto tenore lipidico contengano quantitativi più elevati di AGEs, la carne e i suoi derivati, soprattutto se sottoposti a processi industriali come nel caso degli insaccati o a cottura con alte temperature (es: griglia) e vi-

sto il loro eccessivo consumo, contribuiscono in maggior misura all'introito giornaliero di AGEs (28).

Come già accennato, a parte le caratteristiche nutrizionali degli alimenti, anche i metodi di cottura ne influenzano il contenuto di AGEs.

In particolare, sia la temperatura durante il processo di cottura che il grado di umidità intrinseco dell'alimento o del metodo di cottura rappresentano dei fattori determinanti che influenzano la produzione di AGEs. Nello specifico, la classifica dei metodi di cottura in rela-

Tabella I - Contenuto di AGEs in diversi alimenti espresso come chilounità (kU) di CML per 100 g di alimento (30).

Alimento	AGEs kU/100g	Alimento	AGEs kU/100g
Pizza	6825,0	Fagioli	190,6
Pollo, tacchino, Coniglio (con pelle cotti al forno)	7248,3	Zucchine, cetrioli, melanzane	116,0
Salame, mortadella, salsicce, cotechino	5132,5	Uova cotte in padella con olio d'oliva per 12 minuti	337,0
Manzo, vitello, maiale (cottura con temperature elevate, es: griglia)	3843,8	Cereali tipo Granola	326,7
Ravioli, tortellini	2728,0	Cereali da colazione al naturale	278,7
Parmigiano (sui primi piatti)	16900,0	Barretta industriale al cioccolato	263,0
Nutella	7517,0	Vino	22,0
Prosciutto, bresaola	2349,0	Pan Bauletto integrale	120,0
Frutta secca oleosa	6597,3	Pomodori, peperoni	23,0
Pesce fresco, in salamoia o in scatola	1911,4	Pan Bauletto bianco	75,5
Formaggio, ricotta	4555,1	Anguria, melone	20,0
Burro	26480,0	Mais	19,5
Gnocchi	1304,5	Fagioli di soia	18,0
Patatine, pretzels	1770,3	Gelato	150,0
Pasta	178,5	Latte	5,7
Olio d'oliva	10970,0	Mele, pere	13,0
Cioccolato	1638,5	Barrette di frutta	18,3
Margarina	9415,0	Carote	10,0
Maionese	9400,0	Banana	9,0
Caramelle	1300,0	Yoghurt, kefir	3,5
Biscotti industriali	1297,9	Semolino, couscous	3,6
Torte, dolciumi	1253,6	Riso	8,8
Panna	2167,0	Bevande gassate tipo Coca Cola	3,4
Crackers, Gallette di riso	1005,0	Estratti di frutta fresca	2,8
Olio di semi	5926,7	Birra	1,2
Cavolfiore, broccoli	226,0	Succo di frutta, 100%	0,0
Frutta essiccata	752,5	Miele	7,0
Patatine fritte	694,0	Bevande energetiche tipo Redbull	0,4
		Arance, mandarini	0,3
		Superalcolici	0,1

zione alla produzione di AGEs può essere esemplificata come segue: rosolatura al forno > frittura > alla griglia > arrosto > bollitura (29). Inoltre, anche il pH influenza la formazione di AGEs. In particolare, un pH acido riduce la formazione di AGEs, infatti la marinatura della carne con succo di limone limita notevolmente la formazione di AGE durante la cottura (30). Al contrario, un pH alcalino promuove la reazione di Maillard poiché induce la deprotonazione del gruppo amminico rendendolo, quindi, più reattivo (31). La reazione di Maillard influisce anche su diverse caratteristiche degli alimenti, incluse le proprietà organolettiche, il colore, la funzionalità delle proteine, così come la biodisponibilità degli aminoacidi (32), in particolare la lisina. Inoltre, gli alimenti altamente processati subiscono diverse trasformazioni industriali che implicano l'utilizzo di catalizzatori metallici o alte temperature di lavorazione che, in associazione con la composizione nutrizionale dell'alimento stesso, creano le condizioni ideali per la formazione degli AGEs.

Disponibilità biologica degli AGEs e recettori per gli AGEs

Gli AGEs contenuti all'interno degli alimenti, una volta ingeriti vengono assorbiti nel tratto gastrointestinale e possono raggiungere la circolazione sistemica. Gli AGEs che raggiungono il tratto gastrointestinale possono essere in forma libera o legata a proteine (*Figura 1*); questi ultimi sono caratterizzati da un peso molecolare maggiore di 5 kDa.

La CML libera, ad esempio, viene assorbita nell'intestino attraverso lo stesso trasportatore utilizzato dai dipeptidi, il trasportatore PepT-1, ed è stata rilevata nel plasma (33), nell'urina (34) e nei tessuti (35, 36). La CML, inoltre, rappresenta l'AGE più abbondante nel plasma; tuttavia, a livello plasmatico possono essere presenti anche altre molecole a basso peso molecolare come CEL e pentosidina. Gli AGEs legati alle proteine, invece, vengono assorbiti in misura minore perché la glicazione delle proteine riduce la capacità degli enzimi proteolitici di attaccare e digerire le proteine stesse (37).

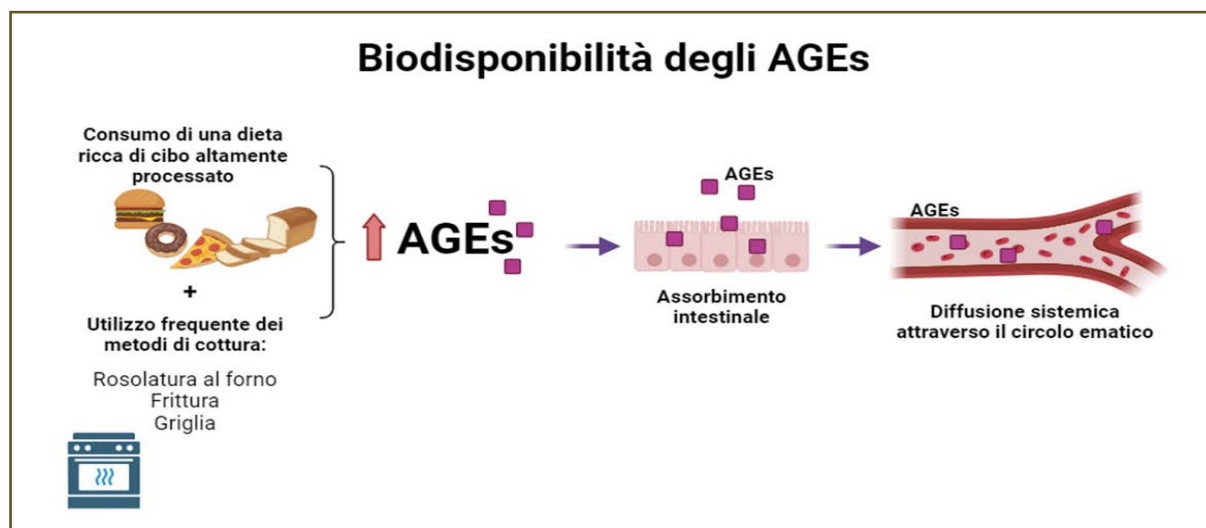


Figura 1 - Biodisponibilità degli AGEs. Il consumo di una dieta ricca di alimenti altamente processati e l'utilizzo di metodi di cottura che impiegano temperature elevate (>200°C) come rosolatura, frittura e alla griglia influiscono positivamente sull'introito di AGEs. Gli AGEs vengono assorbiti a livello intestinale e distribuiti in tutti i tessuti attraverso la circolazione sanguigna. AGEs, Prodotti finali della glicazione avanzata. Figura realizzata con BioRender.com.

L'assorbimento degli AGEs a livello intestinale può anche essere valutato quantificando la loro escrezione a livello fecale, sebbene questo metodo di quantificazione potrebbe fornire una sottostima del quantitativo di AGEs a causa della possibile degradazione di questi ultimi ad opera della flora batterica intestinale (38). Infatti, alcuni studi hanno mostrato come il microbiota intestinale sia in grado di utilizzare a scopo energetico alcune molecole ottenute dalla reazione di Maillard, sebbene sembri che questa capacità possa essere dipendente dalla complessità molecolare dell'AGE preso in considerazione (39). In particolare, i composti di glicazione ottenuti attraverso cicli di esposizione al calore umido e di breve durata sembrano essere maggiormente pronti alla degradazione da parte della flora intestinale, piuttosto che molecole più complesse ottenute attraverso l'impiego di cicli di cottura degli alimenti con calore secco e temperature elevate (40).

Recettore per gli AGEs

Gli AGEs espletano i loro effetti biologici mediante il legame con i loro recettori, per i quali sono state descritte diverse isoforme. Gli AGEs possono dunque legarsi a recettori la cui attivazione si traduce nell'attivazione di diverse pathways intracellulari oppure a isoforme che ne riducono la biodisponibilità o, che una volta attivate, innescano dei meccanismi di detossificazione degli AGEs stessi. Il principale recettore per gli AGEs è il RAGE (Receptor for AGEs) che appartiene alla super famiglia di recettori di riconoscimento di pattern immunoglobulinici e di cui esistono 3 diverse isoforme (41):

- RAGE di membrana (mRAGE): questo recettore è legato alla membrana plasmatica di diverse cellule come gli adipociti (42), le cellule immunitarie, le cellule endoteliali, le cellule muscolari lisce (43) e le cellule β pancreatiche (44). È composto da una regione extracellulare idrofila, un segmento transmembrana e un dominio intracellulare.
- RAGE solubile (sRAGE): questa isoforma è

prodotta tramite splicing alternativo del trascritto del gene *AGER* (6p21.32) e manca del dominio transmembrana.

- RAGE ottenuto per scissione dell'ectodominio (esRAGE): questa forma solubile è ottenuta per clivaggio dell'ectodominio dell'mRAGE mediato dall'attività di una metalloproteasi.

Tutte e tre le isoforme legano indistintamente gli AGEs, tuttavia, il legame degli AGEs alle forme solubili non è in grado di attivare la trasduzione del segnale intracellulare, il quale è, invece, una prerogativa dell'mRAGE e culmina con l'attivazione di pathway pro-infiammatori (45, 46) e che promuovono lo stress ossidativo (47, 48). In particolare, il legame degli AGEs al recettore RAGE porta all'attivazione di numerosi pathways che sono alla base dei processi infiammatori. Questi composti, infatti, sono in grado di stimolare l'attivazione del fattore di trascrizione nucleare kappa-B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B), la proteina chinasi p38, la chinasi terminale c-Jun (c-Jun N-terminal kinase, JNK) ed altri numerosi intermedi molecolari che insieme promuovono l'attivazione di risposte pro-infiammatorie e la produzione di citochine proinfiammatorie (49). Inoltre, l'attivazione del recettore RAGE contribuisce allo stress ossidativo in quanto promuove la produzione di specie reattive dell'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS) le quali, non solo inducono la formazione di nuove proteine glicate, ma al contempo stabiliscono un loop a feedback positivo che modula positivamente l'espressione di NF- κ B e nuovi mRAGE, alimentando così l'infiammazione (48).

Al contrario di mRAGE, la forma solubile di RAGE agisce come una trappola per gli AGEs circolanti impedendo così il loro legame con mRAGE.

Nonostante il RAGE rappresenti il recettore principale per gli AGEs, gli stessi possono legarsi ad altri recettori presenti sulla superficie cellulare, come il cluster di differenziazione 36

(CD36), i recettori dei macrofagi scavenger I e II (SRI e SRII), e i recettori degli advanced glycation end products (AGER1, AGER2 e AGER3) (50). Questi recettori sono implicati nell'omeostasi degli AGEs, infatti ne mediano l'endocitosi e la degradazione (51).

Il recettore AGER1 è espresso sulla superficie di quasi tutte le cellule e tessuti e la sua espressione e traduzione aumenta in presenza di AGEs. Questo meccanismo di controllo consente di mantenere gli AGEs a concentrazioni sotto la soglia di tossicità (51), prevenendo così lo stress ossidativo (52, 53) e l'attivazione della pathway pro-infiammatoria mediata da NF- κ B. Infatti, il recettore AGER1 promuove l'attivazione della deacetilasi sirtuina-1 (SIRT1) la quale è in grado di deacetilare e sopprimere NF- κ B (30, 54). Tuttavia, quando la concentrazione di AGEs aumenta in maniera incontrollata ed è prolungata nel tempo, la modulazione positiva del recettore AGER1 da parte degli AGEs viene compromessa, con conseguente aumento dei livelli di AGEs, down-regolazione della SIRT1 e aumento di infiammazione e stress-ossidativo, entrambi deleteri per la sensibilità insulinica (55).

Infine, gli AGEs possono legarsi anche a dei recettori omologhi del RAGE, come le molecole di adesione espresse sulla superficie di leucociti attivati (ALCAM o CD116), anch'essi in grado di attivare vie pro-infiammatorie (17).

Detossificazione degli AGEs

Data la tossicità degli AGEs, l'evoluzione ha consentito lo sviluppo di numerosi pathway molecolari per ridurre i loro livelli e quelli dei loro precursori dicarbonilici. I principali enzimi implicati nella detossificazione degli AGEs sono due: il primo enzima è la Gliossalasi, di cui ne esistono due isoforme, GLO1 e 2, entrambe ubiquitarie e principalmente implicate nella detossificazione del MG. L'attività di questo enzima è aumentata in condizioni come il diabete ed ha lo scopo di ridurre la quantità di prodotti glicati. Tuttavia, questo sistema può essere compromesso in presenza di un'eccessiva pro-

duzione di dicarbonili (56). L'attività di GLO1 ha effetti positivi sulla salute metabolica, infatti studi *in vitro* hanno dimostrato come una sua up-regolazione previene lo stress ossidativo indotto dall'iperglicemia, mentre una sua inibizione porta ad un aumento della sintesi di proteine glicate (57). Il secondo enzima implicato nei meccanismi di detossificazione degli AGEs è la DJ-1 deglicasasi (GLO3). Questa proteina rimuove il gruppo carbonilico dalle proteine glicate e dagli amminoacidi rilasciando prodotti de-glicati più lattato o glicolato (58).

Entrambi gli enzimi prevengono la formazione di AGEs tramite la riduzione dei composti dicarbonilici. Tuttavia, anche gli AGEs già formati possono essere degradati; ad esempio, una volta assorbiti dalla cellula tramite endocitosi mediata dal recettore, gli AGEs possono essere degradati dal sistema endo-lisosomiale, oppure possono essere decomposti contemporaneamente alla degradazione proteasoma-dipendente delle proteine glicate.

AGEs e insulino resistenza

Vi sono numerose evidenze scientifiche che sottolineano una relazione inversa tra livelli di AGEs e salute cardiometabolica. In particolare, gli AGEs sono stati implicati nella patogenesi dell'insulino-resistenza, del diabete mellito di tipo 2 (T2D).

A supporto della relazione tra AGEs e sensibilità insulinica, i livelli sierici di AGEs sono positivamente associati alla resistenza insulinica, misurata tramite HOMA-IR. A tal proposito, uno studio clinico crossover, randomizzato, in doppio cieco condotto su soggetti sovrappeso ha dimostrato che il passaggio da una dieta ricca in AGEs ad una dieta a basso contenuto di AGEs, pur mantenendo lo stesso apporto calorico e di macronutrienti, risulta in una riduzione dei livelli circolanti ed urinari di AGEs e in una della sensibilità insulinica misurata tramite clamp euglicemico iperinsulinemico (60). Anche in un gruppo di donne sovrappeso, il con-

sumo di una dieta povera di AGEs è stato associato in una riduzione degli AGEs escreti attraverso le urine, una riduzione dell'insulinemia a digiuno e ad contestuale miglioramento della sensibilità insulinica (61). Tuttavia, sebbene vi siano numerose evidenze a supporto della tossicità dell'eccesso di AGEs introdotti con la dieta, alcuni studi non hanno rilevato alcuna relazione tra introito di AGEs e insulino resistenza (62, 63).

La relazione tra gli AGEs e l'insulino-resistenza può essere spiegata dall'attivazione, da parte degli AGEs, di diversi meccanismi molecolari che alterano la via di trasduzione del segnale insulinico. Questi meccanismi comprendono la down-regolazione di AGER1 e SIRT1 (Sirtuin 1) in risposta all'esposizione prolungata ad alte concentrazioni degli stessi AGEs, l'attivazione di pathways pro-infiammatori come la

via della NF- κ B e l'eccessiva produzione di ROS (64) (Figura 2). A supporto della capacità degli AGEs di attivare questi meccanismi, uno studio condotto su una coorte di pazienti con T2D ha mostrato come una riduzione nell'assunzione di AGEs sia in grado di riportare a livelli fisiologici l'espressione di SIRT1 e AGER1 risultando in un miglioramento della sensibilità all'insulina (65). Infatti, l'attivazione di SIRT1 è associata ad un miglioramento della sensibilità insulinica attraverso dei meccanismi che comprendono la riduzione dell'infiammazione, il miglioramento del metabolismo ossidativo e biogenesi mitocondriale e la riduzione della produzione di ROS (64).

Un altro meccanismo attraverso il quale gli AGEs possono interferire con la sensibilità insulinica è l'attivazione della proteina chinasi-C (Protein kinase C alpha, PKC α) mediata da mRAGE

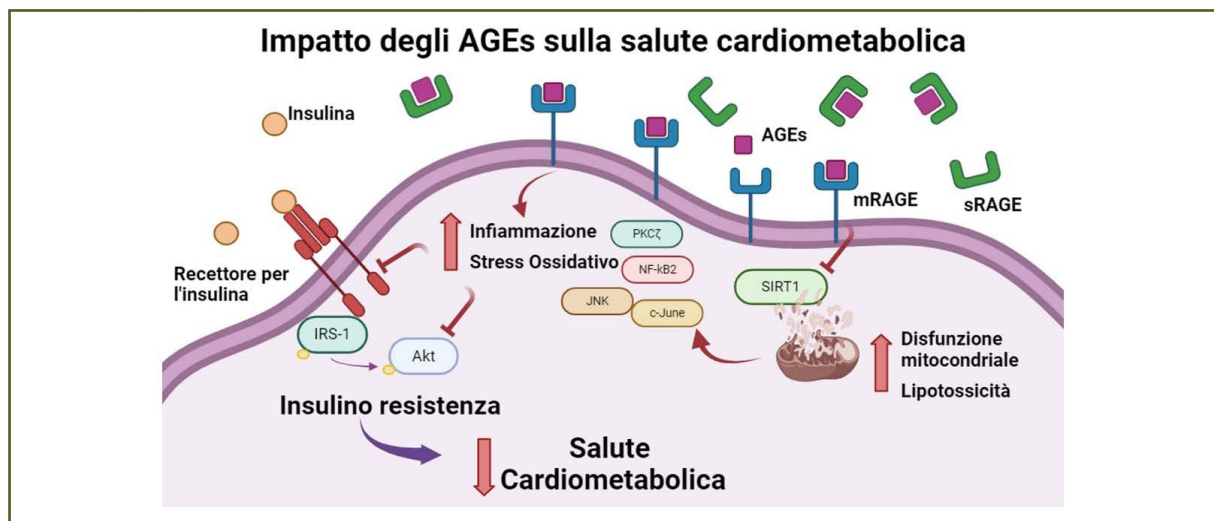


Figura 2 - Impatto degli AGEs sulla salute cardiometabolica. Gli AGEs interagiscono con il loro recettore cellulare mRAGE. La forma solubile del recettore per gli AGEs, sRAGE, può fungere da trappola per gli AGEs extracellulari contrastando gli effetti deleteri dovuti al legame con il recettore di membrana. L'interazione tra AGEs e mRAGE attraverso il quale attivano pathways pro-infiammatorie che sottostanno all'attivazione di NF- κ B, PKC ζ , JNK e c-Jun. Inoltre, l'attivazione del recettore mRAGE inibisce l'attività di SIRT1 che risulta in un danno a carico del metabolismo mitocondriale con conseguente aumento nella produzione di ROS e accumulo di specie lipotossiche che, insieme all'infiammazione, alterano la trasduzione del segnale insulinico e determinano lo sviluppo di insulino resistenza, uno dei fattori chiave nel deterioramento della salute cardiometabolica. AGEs, Prodotti finali della glicazione avanzata; mRAGE, recettore di membrana per gli AGEs; sRAGE, recettore solubile per gli AGEs; NF- κ B, fattore nucleare kappa beta; PKC ζ , proteina chinasi-C zeta; JNK, chinasi c-Jun N-terminale; SIRT1, sirtuina-1; Akt, proteina chinasi-B; IRS, substrato del recettore per l'insulina. Figura realizzata con BioRender.com.

(66) (Figura 2). L'attivazione di PKC α , a sua volta, risulta nell'aumento della fosforilazione di insulin receptor substrate 1 (IRS1) sul residuo di serina 636 con conseguente inibizione della via di trasduzione del segnale insulinico (67).

Come già descritto, gli AGEs a seguito della loro interazione con mRAGE, sono in grado di attivare la via pro-infiammatoria di NF κ B. Questa via prevede l'attivazione della chinasi IKK β la quale svolge un ruolo chiave nell'alterazione della trasduzione del segnale insulinico. IKK β , infatti, inibisce l'attività dell'IRS1 attraverso la fosforilazione su residui di serina alternativi che ne bloccano la funzione. Inoltre, sempre in considerazione del nesso tra AGEs, infiammazione cronica di basso grado e insulino resistenza, sembra che gli AGEs siano in grado di aumentare i livelli circolanti di TNF α (68), come dimostrato dalla capacità dell'emoglobina glicata di indurre la secrezione di TNF α da parte di una linea cellulare di monociti (THP-1) (69). Diversi studi hanno riportato che questa citochina interferisce con il pathway insulinico nei monociti, negli epatociti e negli adipociti, provocando un'inibizione dell'attività tirosin chinasi del recettore dell'insulina e promuovendo l'inibizione del suo substrato, IRS a causa della sua fosforilazione su residui di serina con conseguente inibizione della trasduzione del segnale dell'insulina (70). Inoltre, il TNF α stimola la sintesi di ceramidi grazie all'interazione con il suo recettore p55 che promuove l'attivazione di una sfingomielinasi neutra. Quest'ultima idrolizza la sfingomielina in ceramide e colina, le quali compromettono la sensibilità insulinica attraverso la modulazione negativa di alcune tappe fondamentali per la trasduzione del segnale come: la fosforilazione della proteina chinasi-B (Akt/PKB) su specifici residui di treonina e serina a parte promuoverne la desfosforilazione mediata dalla proteina fosfatasi 2° e la fosforilazione inibitoria di IRS (Figura 2).

Gli AGEs possono compromettere la sensibilità insulinica anche indipendentemente dalla

loro capacità di compromettere la trasduzione del segnale di questo ormone a livello intracellulare. Infatti, i processi di glicazione interessano anche l'insulina alterandone la funzione biologica. Nonostante l'insulina abbia una emivita molto breve, è stato dimostrato sia *in vivo* (71) che *in vitro* (72, 73), che i composti dicarbonilici possono legarsi ai suoi gruppi amminici più reattivi. In questo contesto, la glicazione più comune coinvolge il residuo di Phe1 in posizione N-terminale della catena B dell'insulina, portando alla formazione di pirezinoni N-terminali (77). Studi *in vivo*, sia in modelli murini (75) che sull'uomo, in cui l'insulina glicata rappresentava circa il 9% dell'insulina totale nei pazienti con T2D, hanno dimostrato la capacità dei fenomeni di glicazione di ridurre l'attività biologica dell'insulina (76). Questo effetto è stato osservato anche *in vitro* in miotubi in cui il trattamento con insulina glicata ha ridotto l'assorbimento ed il catabolismo del glucosio così come la sintesi del glicogeno (75). La glicazione dell'insulina può avvenire anche su residui di arginina, riducendone la capacità di promuovere l'uptake del glucosio da parte di adipociti 3T3-L1 e cellule muscolari L8 (77). Inoltre, l'insulina glicata perde la capacità di inibire la secrezione dell'insulina stessa, promuovendone perciò l'ipersecrezione e iperinsulinemia sistemica.

Gli AGEs sembrano essere implicati anche nella patogenesi dell'obesità che rappresenta un ulteriore nesso tra AGEs introdotti con la dieta e insulino resistenza. A supporto di ciò, uno studio di follow-up quinquennale ha mostrato che gli AGEs introdotti con la dieta sono associati all'aumento di peso negli adulti (78). Uno dei potenziali meccanismi attraverso i quali gli AGEs contribuiscono alla patogenesi dell'obesità è legato alla loro capacità di compromettere il controllo dell'omeostasi energetica a livello ipotalamico. A tal proposito, sebbene in modelli murini, gli AGEs prodotti dai neuroni ipotalamici in risposta a una dieta ricca in lipidi e zuccheri attivano delle risposte

infiammatorie, tra cui la microglia, a livello ipotalamico che si traduce in un aumento della massa grassa e una riduzione della tolleranza al glucosio. A supporto del ruolo metabolicamente deleterio degli AGEs a livello ipotalamico, la delezione di RAGE in questi animali risultava in un miglioramento degli effetti dismetabolici dovuti a una dieta iperlipidica e ricca in zuccheri (79). Pertanto, l'accumulo di AGEs a livello ipotalamico, almeno in modelli animali, rappresenta uno dei potenziali meccanismi attraverso cui gli AGEs compromettono l'omeostasi energetica, promuovendo l'obesità e tutte le comorbidità associate, tra cui insulino resistenza e T2D.

A parte mRAGE, anche la forma solubile del recettore RAGE è associata alla patogenesi di insulino resistenza, sebbene con effetti diametralmente opposti al RAGE di membrana. In particolare, mentre il quest'ultimo è stato ampiamente associato allo sviluppo di insulino resistenza, la forma di RAGE solubile sembra espletare effetti protettivi nei confronti dello sviluppo della resistenza all'insulina, in quanto è in grado di legare ed intrappolare gli AGEs circolanti, prevenendo il legame con mRAGE e l'attivazione di tutte le pathway deleterie descritte finora. Inoltre, vi sono evidenze che suggeriscono che sRAGE possa essere influenzato positivamente dai livelli di acido oleico, suggerendo che la produzione della forma solubile del recettore possa essere modulata anche da fattori esogeni, come la dieta. Pertanto, sRAGE potrebbe rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico per la salute metabolica compromessa (80).

Infine, è interessante sottolineare recenti evidenze che mostrano come l'effetto mediato dall'interazione tra AGEs e i suoi recettori sembri essere dipendente dal sesso biologico. Infatti, in uno studio condotto su modelli murini knock-out (KO) per mRAGE, il consumo di una dieta iperlipidica e ricca in zuccheri semplici ha sorprendentemente indotto un miglioramento della tolleranza al glucosio e della sensibilità in-

sulinica soltanto nei topi femmina. Questi miglioramenti nell'omeostasi del glucosio, infatti, sarebbero da ricondurre a cambiamenti fondamentali, soprattutto a carico del tessuto adiposo, dovuti alla mancanza dell'mRAGE. In particolare, la mancanza del recettore di membrana per gli AGEs nei topi femmina è stata associata ad un aumento dei macrofagi polarizzati in senso M2 i quali esplicano un'attività antinfiammatoria, un aumento dell'espressione dei geni per proteine antiossidanti, tra cui la superossido dismutasi (SOD), la catalasi (CAT) e la glutathione perossidasi (GPX1), e da un contestuale aumento nel browning del tessuto adiposo sottocutaneo (42). Per quanto riguarda sRAGE, nelle donne esso è stato inversamente associato a due fattori chiave nel contesto di insulino resistenza, ovvero la circonferenza vita e all'indice di massa corporea. Questa osservazione suggerisce che i soggetti sovrappeso, in particolare le donne, potrebbero avere livelli di sRAGE più bassi rispetto ai soggetti normo peso, proponendo così che bassi livelli plasmatici di sRAGE possano essere connessi ad un aumento del rischio cardiometabolico (81). L'influenza del sesso sugli effetti metabolici mediati dall'interazione AGE-RAGE può essere spiegata dal fatto che questi ultimi sono, a vari livelli, guidati dagli ormoni sessuali. Ad esempio, gli estrogeni possono stimolare l'espressione del recettore RAGE, ma, al contempo, sono controllati da una via di segnalazione dipendente da RAGE (71), oltre che dal recettore per gli estrogeni-alfa (RE α) (72).

Conclusioni

Il ruolo degli AGEs come attori nella patogenesi dell'insulino resistenza è sempre più riconosciuto, grazie alle crescenti evidenze che sottolineano la loro attività nel promuovere l'attivazione di risposte proinfiammatorie che rappresentano uno dei nessi patogenetici tra l'obesità e le sue complicanze. Nonostante questo, le evidenze circa la capacità degli AGEs di pro-

muovere insulino resistenza sono ancora contrastanti. Pertanto, è necessario condurre nuovi studi per poter comprendere l'entità e le ragioni di queste discrepanze. Per concludere, sebbene vi siano ancora dei gap di conoscenza da colmare, gli AGEs potrebbero giocare il ruolo di nuovi fattori da considerare per spiegare

gli effetti deleteri di una dieta sbilanciata e ricca di cibo altamente processato, come la Western Diet (WD). In particolare, la riduzione dell'introito di AGEs provenienti dalla dieta potrebbe rappresentare un nuovo strumento nutrizionale per migliorare la salute cardiometabolica.

RIASSUNTO

I prodotti della glicazione avanzata (Advanced Glycation End-products, AGEs) sono un gruppo eterogeneo di molecole formate dalla reazione non enzimatica tra uno zucchero riducente e il gruppo amminico libero di proteine, lipidi e acidi nucleici. Sebbene gli AGEs possano essere formati a livello endogeno, in particolare in risposta all'iperglicemia, queste molecole possono anche essere introdotte con la dieta e assorbite nel tratto gastrointestinale. Infatti, gli AGEs si formano tramite la reazione di Maillard durante la lavorazione industriale o la cottura dei cibi, in particolare a causa dell'esposizione a calore secco di alimenti ricchi in zuccheri, proteine e lipidi. Alla luce di ciò, gli alimenti altamente processati, tipici della dieta occidentale, rappresentano un'importante fonte di AGEs e potrebbero rappresentare uno dei mediatori attraverso i quali questo regime dietetico espleta i suoi effetti deleteri sulla salute cardiometabolica. A tal proposito, il consumo di una dieta ricca in AGEs è stato associato allo sviluppo di insulino resistenza in trial clinici e confermato su modello cellulari nei quali l'esposizione a AGEs risultava nell'inibizione della trasduzione del segnale insulinico. Per quanto riguarda i meccanismi alla base della relazione tra AGEs e insulino resistenza, questi includono l'attivazione di risposte infiammatorie e l'induzione dello stress ossidativo, entrambe conseguenze dell'interazione tra AGEs e il loro recettore: il recettore per gli AGEs (RAGE). Nonostante la relazione positiva tra AGEs e insulino resistenza e la loro capacità di attivare pathways in grado di alterare la trasduzione del segnale insulinico, le evidenze scientifiche circa l'associazione tra AGEs e ridotta sensibilità all'insulina sono ancora contrastanti. Pertanto, sono necessari ulteriori studi per far luce sulle ragioni delle discrepanze presenti in letteratura relative alla relazione tra AGEs e insulino resistenza. Nonostante ciò, limitare il consumo di AGEs, riducendo il consumo di alimenti altamente processati, potrebbe rappresentare una promettente strategia nutrizionale per migliorare la sensibilità insulinica e la salute cardiometabolica.

Parole chiave: AGEs, insulino resistenza, alimentazione, cibo altamente processato.

Bibliografia

1. Bray GA, Popkin BM. Dietary Sugar and Body Weight: Have We Reached a Crisis in the Epidemic of Obesity and Diabetes? *Diabetes Care*. 2014; 37: 950-956.
2. Blouet C, Schwartz GJ. Hypothalamic nutrient sensing in the control of energy homeostasis. *Behav. Brain Res.* 2010; 209: 1-12.
3. Sergi D, Williams LM. Potential relationship between dietary long-chain saturated fatty acids and hypothalamic dysfunction in obesity. *Nutr. Rev.* 2020; 78: 261-277.
4. Schwartz MW, et al. Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr. Rev.* 2017; 38: 267-296.
5. Ruze R, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. *Front. Endocrinol.* 2023; 14: 1161521.
6. Powell-Wiley TM, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2021; 143.
7. Ding Y, et al. Clinical Classification of Obesity and Implications for Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease and Treatment. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 2023; Volume 16: 3303-3329.
8. Pati S, Irfan W, Jameel A, Ahmed S, Shahid RK. Obesity and Cancer: A Current Overview of Epidemiology, Pathogenesis, Outcomes, and Management. *Cancers*. 2023; 15: 485.
9. Kueck P, Morris J, Stanford J. Current Perspectives: Obesity and Neurodegeneration - Links and Risks. *Degener. Neurol. Neuromuscul. Dis.* 2024; Volume 13: 111-129.
10. Vinuesa A, et al. Inflammation and Insulin Resistance as Risk Factors and Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease. *Front. Neurosci.* 2021; 15: 653651.

11. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin. Biochem. Rev.* 2005; 26: 19-39.
12. Méndez L, Medina I. Polyphenols and Fish Oils for Improving Metabolic Health: A Revision of the Recent Evidence for Their Combined Nutraceutical Effects. *Mol. Basel Switz.* 2021; 26: 2438.
13. Timmers S, et al. Calorie Restriction-like Effects of 30 Days of Resveratrol Supplementation on Energy Metabolism and Metabolic Profile in Obese Humans. *Cell Metab.* 2011; 14: 612-622.
14. Garcia, K., Ferreira, G., Reis, F. & Viana, S. Impact of Dietary Sugars on Gut Microbiota and Metabolic Health. *Diabetology.* 2022; 3: 549-560.
15. Cascio G, Schiera G, Di Liegro I. Dietary Fatty Acids in Metabolic Syndrome, Diabetes and Cardiovascular Diseases. *Curr. Diabetes Rev.* 2012; 8: 2-17.
16. Unoki H, Yamagishi S. Advanced Glycation End Products and Insulin Resistance. *Curr. Pharm. Des.* 2008; 14: 987-989.
17. Sergi D, Boulestin H, Campbell FM, Williams LM. The Role of Dietary Advanced Glycation End Products in Metabolic Dysfunction. *Mol. Nutr. Food Res.* 2021; 65: e1900934.
18. Hammes HP, et al. Modification of vitronectin by advanced glycation alters functional properties in vitro and in the diabetic retina. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 1996; 75: 325-338.
19. Schmidt AM, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 1395-1403.
20. Sell DR, et al. Longevity and the genetic determination of collagen glycoxidation kinetics in mammalian senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996; 93: 485-490.
21. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated Report of a WHO Consultation. (World Health Organization, Geneva, 2011).
22. Sergi D, Boulestin H, Campbell FM, Williams LM. The Role of Dietary Advanced Glycation End Products in Metabolic Dysfunction. *Mol. Nutr. Food Res.* 2021; 65: e1900934.
23. Hodge JE. Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* 1953; 1: 928-943.
24. Thornalley PJ. Dicarbonyl intermediates in the maillard reaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005; 1043: 111-117.
25. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia.* 2001; 44: 129-146.
26. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Korean Physiol. Soc. Korean Soc. Pharmacol.* 2014; 18: 1-14.
27. Henning C, Liehr K, Girndt M, Ulrich C, Glomb MA. Extending the spectrum of α -dicarbonyl compounds in vivo. *J. Biol. Chem.* 2014; 289: 28676-28688.
28. Goldberg T, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 2004; 104: 1287-1291.
29. Goldberg T, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 2004; 104: 1287-1291.
30. Uribarri J, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J. Am. Diet. Assoc.* 2010; 110: 911-916.e12.
31. Nowotny K, Schröter D, Schreiner M, Grune T. Dietary advanced glycation end products and their relevance for human health. *Ageing Res. Rev.* 2018; 47: 55-66.
32. Lund MN, Ray CA. Control of Maillard Reactions in Foods: Strategies and Chemical Mechanisms. *J. Agric. Food Chem.* 2017; 65: 4537-4552.
33. Teerlink T, Barto R, Ten Brink HJ, Schalkwijk CG. Measurement of Nepsilon-(carboxymethyl)lysine and Nepsilon-(carboxyethyl)lysine in human plasma protein by stable-isotope-dilution tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 2004; 50: 1222-1228.
34. Delgado-Andrade C, Tessier FJ, Niquet-Leridon C, Seiquer I, Pilar Navarro M. Study of the urinary and faecal excretion of Nepsilon-carboxymethyllysine in young human volunteers. *Amino Acids.* 2012; 43: 595-602.
35. Tessier F, Obrenovich M, Monnier VM. Structure and mechanism of formation of human lens fluorophore LM-1. Relationship to vesperlysine A and the advanced Maillard reaction in aging, diabetes, and cataractogenesis. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 20796-20804.
36. Baidoshvili A, et al. N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine depositions in intramyocardial blood vessels in human and rat acute myocardial infarction: a predictor or reflection of infarction? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 2497-2503.
37. Tessier FJ, et al. Quantitative assessment of organ distribution of dietary protein-bound 13 C-labeled Nepsilon-carboxymethyllysine after a chronic oral exposure in mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 2016; 60: 2446-2456.
38. Somoza V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49: 663-672.
39. Somoza V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: an update. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49: 663-672.
40. Sharma C, Kaur A, Thind SS, Singh B, Raina S. Advanced glycation End-products (AGEs): an emerging concern for processed food industries. *J. Food Sci. Technol.* 2015; 52: 7561-7576.
41. Lee EJ, Park J. H. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE), Its Ligands, and Soluble RAGE: Potential Biomarkers for Diagnosis and Therapeutic Targets for Human Renal Diseases. *Genomics Inform.* 2013; 11: 224-229.

42. Du Z, et al. RAGE displays sex-specific differences in obesity-induced adipose tissue insulin resistance. *Biol. Sex Differ.* 2022; 13: 65.
43. Riehl A, Németh J, Angel P, Hess J. The receptor RAGE: Bridging inflammation and cancer. *Cell Commun. Signal. CCS.* 2009; 7: 12.
44. Zhu Y, et al. Inhibition of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) protects pancreatic β -cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 404: 159-165.
45. Maillard-Lefebvre H, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 2009; 48: 1190-1196.
46. Yamagishi S, et al. Positive association between serum levels of advanced glycation end products and the soluble form of receptor for advanced glycation end products in nondiabetic subjects. *Metabolism.* 2006; 55: 1227-1231.
47. Tóbon-Velasco JC, Cuevas E, Torres-Ramos MA. Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF- κ B pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2014; 13: 1615-1626.
48. Guimarães ELM, Empsen C, Geerts A, van Grunsven, LA. Advanced glycation end products induce production of reactive oxygen species via the activation of NADPH oxidase in murine hepatic stellate cells. *J. Hepatol.* 2010; 52: 389-397.
49. Grimm S, et al. Advanced-glycation-end-product-induced formation of immunoproteasomes: involvement of RAGE and Jak2/STAT1. *Biochem. J.* 2012; 448: 127-139.
50. Pinkas A, Aschner M. Advanced Glycation End-Products and Their Receptors: Related Pathologies, Recent Therapeutic Strategies, and a Potential Model for Future Neurodegeneration Studies. *Chem. Res. Toxicol.* 2016; 29: 707-714.
51. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomolecules.* 2015; 5: 194-222.
52. Cai W, et al. AGER1 regulates endothelial cell NADPH oxidase-dependent oxidant stress via PKC- δ : implications for vascular disease. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 2010; 298: C624-C634.
53. Torreggiani M, et al. Advanced Glycation End Product Receptor-1 Transgenic Mice Are Resistant to Inflammation, Oxidative Stress, and Post-Injury Intimal Hyperplasia. *Am. J. Pathol.* 2009; 175: 1722-1732.
54. Cai W, et al. Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012; 109: 15888-15893.
55. Cai W, et al. Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2012; 109: 15888-15893.
56. Rabbani N, Thornalley PJ. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015; 458: 221-226.
57. Giacco F, et al. Knockdown of Glyoxalase 1 Mimics Diabetic Nephropathy in Nondiabetic Mice. *Diabetes.* 2014; 63: 291-299.
58. Richarme G, et al. Parkinsonism-associated Protein DJ-1/Park7 Is a Major Protein Deglycase That Repairs Methylglyoxal- and Glyoxal-glycated Cysteine, Arginine, and Lysine Residues. *J. Biol. Chem.* 2015; 290: 1885-1897.
59. Ott C, et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol.* 2014; 2: 411-429.
60. De Courten B, et al. Diet low in advanced glycation end products increases insulin sensitivity in healthy overweight individuals: a double-blind, randomized, crossover trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2016; 103: 1426-1433.
61. Mark AB, et al. Consumption of a diet low in advanced glycation end products for 4 weeks improves insulin sensitivity in overweight women. *Diabetes Care.* 2014; 37: 88-95.
62. Linkens AMA, et al. Habitual intake of advanced glycation endproducts is not associated with worse insulin sensitivity, worse beta cell function, or presence of prediabetes or type 2 diabetes: The Maastricht Study. *Clin. Nutr.* 2023; 42: 1491-1500.
63. Lam JCM, Tan KCB, Lai AYK, Lam DCL, Ip MSM. Increased serum levels of advanced glycation end-products is associated with severity of sleep disordered breathing but not insulin sensitivity in non-diabetic men with obstructive sleep apnoea. *Sleep Med.* 2012; 13: 15-20.
64. Liang F, Kume S, Koya D. SIRT1 and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2009; 5: 367-373.
65. Uribarri J, et al. Restriction of Advanced Glycation End Products Improves Insulin Resistance in Human Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34: 1610-1616.
66. Miele C, et al. Human glycated albumin affects glucose metabolism in L6 skeletal muscle cells by impairing insulin-induced insulin receptor substrate (IRS) signaling through a protein kinase C α -mediated mechanism. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 47376-47387.
67. Miele C, et al. Human Glycated Albumin Affects Glucose Metabolism in L6 Skeletal Muscle Cells by Impairing Insulin-induced Insulin Receptor Substrate (IRS) Signaling through a Protein Kinase C α -mediated Mechanism. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 47376-47387.
68. Zawada A, et al. Accumulation of Advanced Glycation End-Products in the Body and Dietary Habits. *Nutrients* 2022; 14: 3982.
69. Chrysanthou M, Miro Estruch I, Rietjens IMCM, Wichers HJ, Hoppenbrouwers T. *In Vitro* Methodolo-

- gies to Study the Role of Advanced Glycation End Products (AGEs) in Neurodegeneration. *Nutrients* 2022; 14: 363.
70. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994; 91: 4854-4858.
 71. Hunter SJ, et al. Demonstration of Glycated Insulin in Human Diabetic Plasma and Decreased Biological Activity Assessed by Euglycemic-Hyperinsulinemic Clamp Technique in Humans. *Diabetes*. 2003; 52: 492-498.
 72. Abdel-Wahab YHA, et al. Glycation of Insulin in the Islets of Langerhans of Normal and Diabetic Animals. *Diabetes*. 1996; 45: 1489-1496.
 73. O'Harte FPM, Højrup P, Barnett CR, Flatt PR. Identification of the site of glycation of human insulin. *Peptides*. 1996; 17: 1323-1330.
 74. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*. 2015; 5: 194-222.
 75. Boyd AC, et al. Impaired ability of glycated insulin to regulate plasma glucose and stimulate glucose transport and metabolism in mouse abdominal muscle. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* 2000; 1523: 128-134.
 76. Hunter SJ, et al. Demonstration of glycated insulin in human diabetic plasma and decreased biological activity assessed by euglycemic-hyperinsulinemic clamp technique in humans. *Diabetes*. 2003; 52: 492-498.
 77. Jia X, et al. Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal. *FASEB J.* 2006; 20: 1555-1557.
 78. Cordova R, et al. Dietary intake of advanced glycation end products (AGEs) and changes in body weight in European adults. *Eur. J. Nutr.* 2020; 59: 2893-2904.
 79. Gao Y, et al. Dietary sugars, not lipids, drive hypothalamic inflammation. *Mol. Metab.* 2017; 6: 897-908.
 80. Deo P, Dhillon VS, Thomas P, Fenech M. Oleic Acid Status Positively Correlates with the Soluble Receptor for Advanced Glycation End-Products (sRAGE) in Healthy Adults Who Are Homozygous for G Allele of RAGE G82S Polymorphism. *Cells*. 2023; 12: 1662.
 81. Norata GD, et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end products is inversely associated with body mass index and waist/hip ratio in the general population. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2009; 19: 129-134.
 82. Mukherjee TK, Reynolds PR, Hoidal JR. Differential effect of estrogen receptor alpha and beta agonists on the receptor for advanced glycation end product expression in human microvascular endothelial cells. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell. Res.* 2005; 1745: 300-309.
 83. Mukhopadhyay S, Mukherjee TK. Bridging advanced glycation end product, receptor for advanced glycation end product and nitric oxide with hormonal replacement/estrogen therapy in healthy versus diabetic postmenopausal women: A perspective. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* 2005; 1745: 145-155.