

ROLE PROTEINU CD36 JAKO VÝZNAMNÉHO RIZIKOVÉHO FAKTORU KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ

KATEŘINA KONTROVÁ, JARMILA ZÍDKOVÁ,
PETRA PALEČKOVÁ a JIŘÍ SAJDOK

*Ústav Biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, Praha 6
katerina.kontrova@vscht.cz*

Došlo 22.7.05, přijato 6.10.05.

Klíčová slova: membránový receptor, apoptóza, transport
mastných kyselin, insulinová rezistence, hypertenze, meta-
bolický syndrom

Obsah

1. Syndrom metabolické hypertenze
 - 1.1. Insulinová rezistence
 - 1.2. Esenciální hypertenze
 - 1.3. Asociace insulinové rezistence a hypertenze
2. Protein CD36
 - 2.1. Struktura
 - 2.2. Funkce a patofyziologie
 - 2.2.1. Rozpoznávání apoptických buněk
 - 2.2.2. Ateroskleróza
 - 2.2.3. Receptor pro trombospondin-1
 - 2.2.4. Transport mastných kyselin přes cytoplas-
matickou membránu
3. Závěr

1. Syndrom metabolické hypertenze

Statistické údaje Světové zdravotnické organizace řadí Českou republiku na jedno z předních míst v úmrtnosti na choroby srdce a cév, v roce 1995 byla úmrtnost mužů na čtvrtém a žen na osmém místě z 38 sledovaných zemí. Za jeden z hlavních rizikových faktorů mozkové mrtvice, infarktu myokardu a selhání ledvin je považován vysoký krevní tlak, který se tak významně podílí na zvýšené nemocnosti a úmrtnosti našeho obyvatelstva. V letech 1988 a 1992 byla v České republice uskutečněna populační vyšetření nejzávažnějších rizikových faktorů onemocnění srdce a cév a bylo zjištěno, že v průběhu těchto čtyř let se významně zvýšily průměrné hodnoty diastolického krevního tlaku¹.

Již několik let je známo, že se některá onemocnění podporující vznik závažných kardiovaskulárních chorob mohou u pacientů vyskytovat společně. Tento jev byl na-

zván jako „Syndrom metabolické hypertenze“ neboli „Syndrom X“. Jedná se o soubor poruch metabolismu sacharidů a lipidů zahrnující insulinovou rezistenci, dyslipidémii (zvýšení hladiny triglyceridů a snížení hladiny HDL cholesterolu v plazmě), esenciální hypertenzi (vysoký krevní tlak nevzniklý následkem jiné choroby), obezitu a některé další faktory, z nichž ani u jednoho není přesně známa jeho genetická podstata (Schéma 1).

1.1. Insulinová rezistence

Rezistence k insulinem stimulovanému transportu glukosy do tkání je běžný fenomén v patogenezi několika významných onemocnění zejména aterosklerózy a jejich komplikací. Insulinová rezistence je ovlivněna faktory genetickými, faktory prostředí a životosprávou každého jedince². V důsledku toho je zvýšená jak koncentrace glukosy v krvi, tak hladina insulinu (snaha o kompenzaci). Hyperinsulinémie negativně zasahuje do metabolických procesů a má zřejmě aterogenní účinky. K insulinové rezistenci přispívají rovněž nedostatek pohybu, kouření, psychický stres aj. Skutečnost, že velký počet pacientů s diabetem mellitus je rezistentní k insulinu, byla poprvé prokázána před 60 lety, kdy byli pacienti s cukrovkou rozděleni na insulin vnímavé a nevnímavé. Dnes se pro tyto dva typy diabetu používají termíny na insulinu závislý (IDDM; insulin dependent diabetes mellitus) a na insulinu nezávislý diabetes mellitus (NIDDM; non-insulin dependent diabetes mellitus). Insulinová rezistence se vyskytuje u pacientů s NIDDM, u pacientů s porušenou tolerancí ke glukose (IGT; impaired glucose tolerance) a u přibližně 25 % neobézních jedinců s normální tolerancí ke glukose³. Do dnešní doby bylo popsáno více než 50 mutací genu kódujícího insulinový receptor. Tyto mutace jsou velmi vzácné, dobře popsané a byly rozděleny do pěti typů podle etiologie⁴.

1.2. Esenciální hypertenze

Zvýšený krevní tlak se u lidí vyskytuje velmi často a může být způsoben mnoha poruchami. Je také příčinou celé řady vážných onemocnění jako jsou hypertrofie srdečního svalu, ateroskleróza, infarkt myokardu, trombózy mozkových cév nebo selhání ledvin⁶. V mnoha případech je u pacientů se zvýšeným krevním tlakem příčina hypertenze neznámá. Taková hypertenze se pak nazývá hypertenzí esenciální nebo primární.

Proměnlivost krevního tlaku je podmíněna řadou faktorů prostředí, demografickými faktory (ekonomickými podmínkami a celkovým způsobem života) a do značné míry i geneticky. Genetické studie ukázaly, že normální úroveň krevního tlaku je podmíněna mnoha geny malého účinku. Podobně je podmíněna i esenciální hypertenze. Relativně vzácně se u člověka vyskytují formy hypertenze podmíněné mutací jednoho genu velkého účinku, tzv. mo-

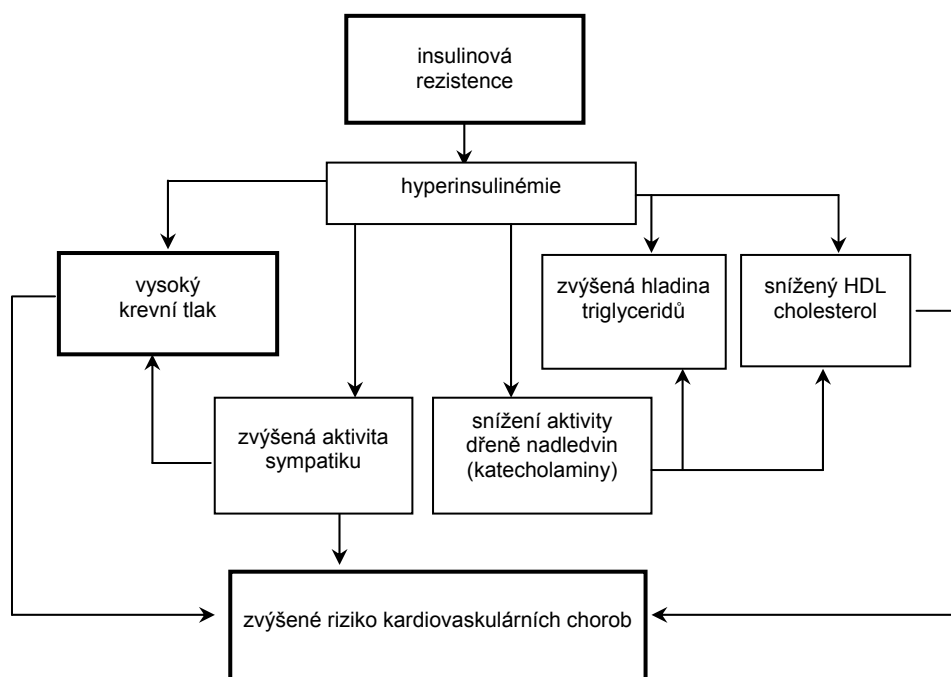


Schéma 1. Vztah mezi insulinovou rezistencí, vysokým krevním tlakem a zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob⁵; sympatický nervový systém a dřeň nadledvin (adrenalin, noradrenalin) jsou pojítkem mezi hypertenzí a kardiovaskulárními chorobami

nogenně. U takovéto monogenní formy hypertenze mají všichni postižení jedinci výše zmíněnou mutaci a existuje tak dobře definovaný vztah mezi abnormálním genem a hypertenzí. Pro většinu nemocí (včetně esenciální hypertenze) však není takovýto vztah mezi genotypem a fenotypem zřejmý. Protože neexistuje přímý vztah mezi specifickými alelami a krevním tlakem, byla navržena hypotéza, že esenciální hypertenze je podmíněna spíše predisponujícími geny, které riziko vzniku hypertenze pouze zvyšují. Odhalení takových predisponujících genů je ovšem velmi obtížné. Studium zvířecích modelů pro esenciální hypertenzi prokázalo, že ne veškerá variabilita v krevním tlaku populace pokusných zvířat je podmíněna společnými efekty mnoha genů malého účinku, ale že se uplatňují i efekty významnějších genů¹. To je povzbudivé, protože zřetelné fenotypové projevy genů jsou základní podmínkou pro jejich odhalení. Předpokládá se, že způsob, jakým genová výbava pokusných zvířat ovlivňuje krevní tlak, by mohl být srovnatelný i u lidí.

1.3. Asociace insulinové rezistence a hypertenze

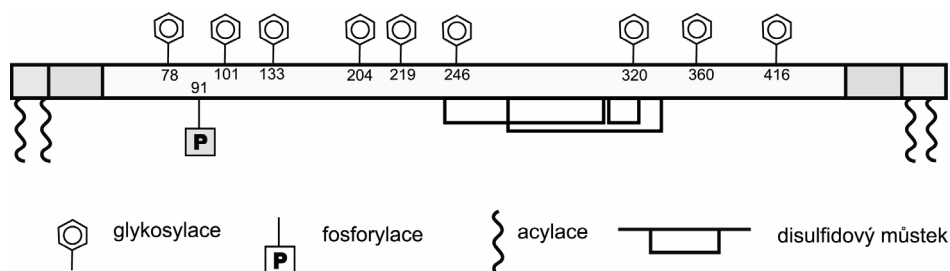
Vztah insulinu a hypertenze se začíná v epidemiologických studiích objevovat od poloviny 80. let. Asociace mezi insulinovou rezistencí a hypertenzí je jasně zřetelná u hypertenzních jedinců s obezitou, ale je prokazatelná i u jedinců neobézních. Přestože je insulin znám jako přímý vazodilatátor, byl také prokázán jeho efekt na stimulaci sympatického nervového systému. Rovněž účinek insulinu na reabsorpci sodíku v ledvinových tubulech

může přímo ovlivňovat hodnotu krevního tlaku. V současné době není přesná úloha insulinu v patogenezi hypertenze jasná a chybí definitivní důkaz objasňující působení insulinu při iniciaci či udržování esenciální hypertenze⁷. Důkazy získané z epidemiologických studií u lidí a z hybridologických analýz na pokusných zvířatech potvrzují významnou roli genetických faktorů při incidenci těchto kardiovaskulárních rizikových faktorů^{8–11}.

Společný výskyt insulinové rezistence a hypertenze u lidí i zvířecích laboratorních modelů podporuje teorii, že geny regulující funkci insulinu mohou rovněž ovlivňovat krevní tlak a naopak.

Inbrední kmen laboratorního potkana SHR (Spontaneously Hypertensive Rat) představuje výhodný model pro studium genetické determinace metabolických poruch zejména pro výskyt příznaků typických pro lidský metabolický „Syndrom X“ jako jsou poruchy účinku insulinu na metabolismus glukosy, snížená účinnost catecholaminů na lipolýzu v adipocytech, dyslipidémie a zvýšený krevní tlak.

Z vazebných analýz rekombinantních inbredních kmenů odvozených z kmene SHR a normotenzního kmene BN (Brown Norway) vyplývá, že se geny zodpovědné za zmíněné metabolické poruchy vždy nacházejí v téže oblasti 4. chromosomu. Tato hypotéza byla následně potvrzena výzkumem kongenního kmene SHR-4, který vznikl přenesením odpovídajícího úseku chromosomu 4 z kmene BN na genetické pozadí kmene SHR. Takto vzniklý kongenní kmen SHR-4 má ve srovnání s rodičovským kmenem SHR nižší krevní tlak, sníženou insulinovou rezistenci

Schéma 2. Předpokládaná struktura²¹ proteinu CD36 laboratorního potkana

a nižší hladiny sérových triglyceridů a volných mastných kyselin.

Díky tomu, že se kmeny SHR a SHR-4 liší pouze v jediném úseku 4. chromosomu, rozdíl mezi nimi poskytl důkaz pro přítomnost genu zodpovědného za poruchy metabolismu tuků a sacharidů¹².

K identifikaci předpokládaného genu na 4. chromosomu nakonec přispěly cDNA biočipy, které umožnily porovnat expresi genů v tukové tkáni obou kmenů (spontánně hypertenzního i kongenního). Pozornost vzbudil gen kódující protein CD36, který vykazoval významně snížený (o více než 90 %) hybridizační signál ve srovnání s normotenzním kmenem BN nebo kongenním kmenem SHR-4.

Z výsledků vyplývá, že gen CD36 je jedním z genů velkého účinku podmiňujících poruchy sacharidového a lipidového metabolismu. Četné studie u lidí i u zvířat naznačily, že změny v metabolismu mastných kyselin a lipidů mohou přispět k patogenezi insulinové rezistence a hypertenze^{13–15}. Další studie také prokázaly, že nenasytené mastné kyseliny mohou ovlivňovat transport glukosy, oxidaci glukosy v Krebsově cyklu a syntézu kolagenu. I když jsou mutace způsobující úplnou deficienci proteinu CD36 u lidí poměrně vzácné, je zjištěno, že poruchy v expresi proteinu CD36 bývají spojeny s diabetem mellitus II. typu, vysokým krevním tlakem a abnormalitami v příjmu mastných kyselin srdečním svalu a adipocyty¹⁶.

2. Protein CD36

2.1. Struktura

CD36 je integrální membránový glykoprotein řady savčích buněk, poprvé byl identifikován před více než čtvrt stoletím jako membránový glykoprotein krevních destiček. Kromě pojmenování CD36 se můžeme setkat s řadou dalších názvů, většinou odvozených od funkce nebo lokalizace tohoto proteinu. Na povrchu krevních destiček je protein CD36 nazýván jako glykoprotein IV nebo IIIb (gpIV/IIIb), pro protein CD36 na povrchu buněk s aktivním metabolismem dlouhořetězcových mastných kyselin (enterocyty střevní stěny, myocyty srdečního svalu, adipocyty tukové tkáně) se také používá název translokasa mastných kyselin (Fatty Acid Translocase – FAT).

CD36 patří do skupiny scavenger receptorů třídy B typu I (SR-BI) společně s lysozomálním integrálním membránovým proteinem II (LIMP-II).

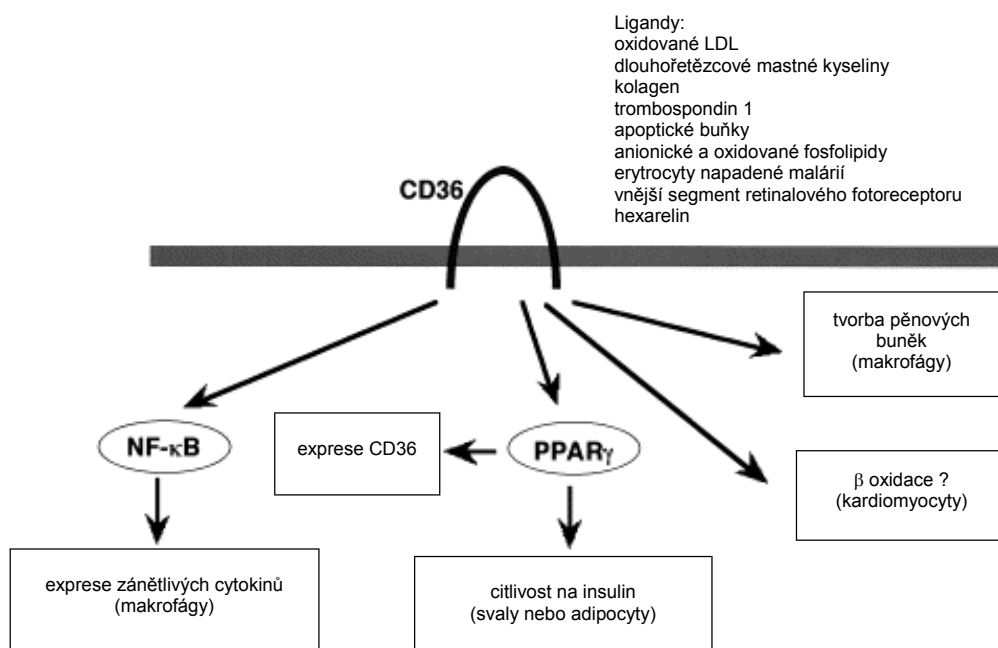
Nukleová sekvence cDNA kóduje protein o 471 aminokyselinách a molekulové hmotnosti 53 kDa (cit.¹⁷). Tento protein však prochází řadou rozličných posttranslačních modifikací v Golgiho aparátu a tak se molekulová hmotnost zralého proteinu na povrchu buněk blíží až 88 kDa. Některé posttranslační modifikace, zejména glykosylace, jsou tkáňově specifické, a proto se molekulová hmotnost glykoproteinu může pohybovat v rozmezí 78–92 kDa. Vysoká glykosylace N-vazbou pravděpodobně chrání proteiny této rodiny před degradací v prostředí bohatém na proteasy, jako je lysozym, okolí zánětu nebo poškozené tkáně.

Prevážná část proteinu je orientována extracelulárně s výjimkou dvou krátkých cytoplasmatických úseků, které jsou pravděpodobně palmitoylovány. O C-terminální cytoplasmatické doméně je známo, že indukuje intracelulární signální dráhy¹⁸. Poblíž C-konce se nachází oblast hydrofobních aminokyselin, o které se předpokládá, že koresponduje s transmembránovou doménou. Druhá transmembránová doména je na N-konci a tvoří ji pravděpodobně neodštěpený signální peptid, u něhož ve zralém proteinu chybí jen iniciační methionin. Z dostupných dat a studií vyplývá, že by protein mohl mít prostorové uspořádání, v němž by vykazoval ještě další extracelulární doménu¹⁹, kde hydrofobní oblast zahrnující aminokyselinové zbytky 184–204 může přijít do kontaktu s membránou či vytvořit hydrofobní kapsu²⁰. CD36 má jedno potenciální fosforylační místo na Thr91. Fosforylační stav ovlivňuje vzájemnou vazebnou afinitu CD36 k trombospondinu-1 (TSP-1) a kolagenu²¹.

Struktura proteinu včetně posttranslačních modifikací je shrnuta ve Schématu 2.

2.2. Funkce a patofyziologie

CD36 je integrální membránový protein, který má velké množství ligandů (obr. 1). Mezi jeho ligandy řadíme dlouhořetězcové mastné kyseliny (LCFA), TSP-1, modifikované LDL (lipoproteiny o nízké hustotě), vnější segment sítnicového fotoreceptoru, erytrocyty infikované *Plasmodium falciparum* způsobujícím malárii, srpkovité erytrocyty, anionické a oxidované fosfolipidy, apoptické buňky



Obr. 1. **Struktura a úlohy CD36 na buněčné úrovni**; mezi četné ligandy patří oxidované lipoproteiny o nízké hustotě (oxLDL), dlouhořetězcové mastné kyseliny (LCFA), apoptické buňky. CD36 váže kolagen a trombospondin, zprostředkovává nitro-buněčnou signalizaci přes peroxisomální proliferaci aktivovaný receptor γ (PPAR γ) a nukleární faktor kappa B (NF- κ B) pro řízení genové exprese²³

a kolagen I a IV (cit.^{22,23}). Ve spolupráci s dalšími proteiny ovlivňuje CD36 rozličné buněčné funkce²². Vyskytuje se na povrchu různých typů buněk, především adipocytech, krevních destičkách, myocytech, monocitech, makrofázích, hematopoetických buňkách, megakaryocytech, buňkách endotelu a hladké svaloviny^{22,23}.

2.2.1. Rozpoznání apoptických buněk

Expresí proteinu CD36 na povrchu buněk imunitního systému, zejména monocytů, zde slouží k rozpoznávání apoptických buněk. Apoptóza je programovaná buněčná smrt, sebezničující proces, během kterého jsou eliminovány poškozené, oslabené a stárnoucí, pro organismus již neprospěšné buňky. Účinná fagocytóza apoptických neutrofilů a monocytů je klíčový proces imunitní odpovědi na zánětlivý stav²⁴.

Molekuly schopné identifikovat apoptické buňky jsou obecně označovány jako scavenger receptory (z angl. scavenger – odklízet, zametat). Jedná se o integrální membránové glykoproteiny, které zprostředkovávají vazbu a následnou likvidaci apoptických buněk. Existují dvě základní skupiny scavenger receptorů (SR) : SR-A a SR-B. Toto rozdělení je založeno na homologii molekulové sekvence a podobnosti struktury proteinů. Scavenger receptory vykazují širokou ligandovou specifitu. Patří mezi molekuly imunitního systému, které jsou schopné rozeznávat společné strukturní motivy na povrchu mikrobiálních a apoptických buněk.

Protein CD36 patří do skupiny scavenger receptorů třídy B typu I (SR-BI), společně s lysozomálním integrál-

ním membránovým proteinem II (LIMP-II). Z inhibičních testů pomocí monoklonálních protilátek plyne, že oblast molekuly 154–182 je přímo zapojena do rozpoznávání a následné fagocytózy apoptických buněk²⁵.

Mezi jedny z hlavních induktorů iniciace apoptózy a exprese scavenger receptorů patří oxidačně modifikované lipoproteiny o nízké hustotě (oxLDL) a estery mastných kyselin a cholesterolu.

Regulace genové exprese proteinu CD36 probíhá přes aktivaci jaderného receptoru PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ). Působí jako transkripční regulátor genů, které kódují proteiny zapojené v adipogenezi a metabolismu lipidů²⁶. PPAR γ se vyskytuje v preadipocytech, kde stimuluje diferenciaci tukové tkáně a také působí jako faktor indukující diferenciaci monocytů na makrofágy. Ligandy PPAR γ zvyšují expresi CD36. Patří mezi ně oxidované a nenasycené mastné kyseliny, přičemž s rostoucím číslem nenasycenosti roste i afinita receptoru k těmto ligandům, lipidy odvozené od oxLDL, 9- a 13-hydroxyoktadekandienové kyseliny (9-;13-HODE), prostaglandin J2 (PGJ2) a antidiabetická léčiva thiazolidinonové skupiny užívaná k léčbě diabetu II. typu²⁶. Na indukci makrofágového CD36 interleukinem-4 (IL-4) se podílí aktivace intracelulární lipoxygenasy a produkce PGJ2, jakožto ligandu PPAR γ (cit.²⁷). Snížení exprese CD36 působením TGF- β (transformujícího růstového faktoru β) je spojeno s fosforylací a inaktivací PPAR γ . Vztah mezi expresí CD36 a PPAR γ , jakož i schopnost CD36 podílet se v makrofázích na internalizaci potenciálních

lipidových ligandů pro PPAR γ , vedly ke stanovení proaterogenní dráhy v cévních stěnách. Role proteinu CD36 jako scavenger receptoru v patogenezi aterosklerózy je zatím ne zcela jasná a v mnoha ohledech i rozporuplná. V raných stádiích aterogeneze, které jsou charakteristické proliferací a nahromaděním buněk v subendoteliu, může být zvýšená indukce apoptózy prospěšná. Na druhé straně však může apoptóza buněk výrazně zhoršit projevy nemoci v pozdních fázích, kdy destabilizace fibrotrombotických plaků často vede ke vzniku trombů a infarktu myokardu.

2.2.2. Ateroskleróza

Jedná se o onemocnění tepen („kornatění“), při němž se v jejich stěnách ukládají tukové látky ve formě tzv. ateromu a druhotně vápník. Takto poškozená tepna ztrácí pružnost a dochází k jejímu postupnému zužování až uzávěru (obliteraci) s následnou ischemií příslušné části organismu. K rizikovým faktorům vzniku aterosklerózy patří zejména vysoká hladina krevních tuků (zvláště cholesterolu), hypertenze, kouření, obezita, diabetes, zvýšená hladina homocysteinu v krvi, stres a nedostatek pohybu²⁸.

Makrofágy a modifikované LDL částice mohou být zachyceny cévní stěnou následkem proaterogenního poranění²⁹. Při zánětu dochází k produkci reaktivních kyslíkových a dusíkatých metabolitů, díky nimž vznikají na LDL epitopy rozpoznávané CD36. To vede k internalizaci modifikovaných LDL, produkci intracelulárních ligandů PPAR γ , translokaci aktivního PPAR γ transkripčního aktivního komplexu do jádra a zvýšení transkripce PPAR γ cílových genů (mezi které patří i sám PPAR γ a CD36). Zvýšená exprese CD36 na buněčném povrchu podporuje další příjem modifikovaných LDL a tím možnou tvorbu pěnových buněk, které se hromadí v subendoteliálním prostoru cévních stěn. Vznikají tukové pláty, rané formy aterosklerotických plaků.

Bylo zjištěno, že v aterosklerotických lezích je lokalizováno větší množství myeloperoxidasy. Myeloperoxidasou produkované reaktivní dusíkaté látky vedou k přeměně LDL na aterogenní formu. To je spojeno s obohacením LDL o nitrotyrosin. U aterosklerotických jedinců je patrně několikanásobné zvýšení množství nitrotyrosinu v porovnání se zdravými jedinci. Proaterogenní forma LDL koresponduje s nitrací proteinů, peroxidací lipidů a změnou lipoproteinů na vysoce absorbovanou formu. Vystavení makrofágů NO₂-LDL výrazně podporuje syntézu esterů cholesterolu, intracelulární akumulaci cholesterolu a jeho esterů, spolu s tvorbou pěnových buněk. Schopnost modifikovaných forem LDL podpořit ukládání buněčných esterů cholesterolu je považována za index aterogenního potenciálu lipoproteinů³⁰.

Sporně přispívá CD36 na makrofázích k rané fázi patogeneze aterosklerózy díky endocytóze oxidovaných lipoproteinů s nízkou hustotou (oxLDL)³¹. Deficit CD36 má za následek nižší příjem oxLDL, sníženou tvorbu pěnových buněk a díky tomu méně závažné aterosklerotické léze. Thiazolidineany (účinné složky antidiabetik, které jsou ligandem PPAR γ) snižují frekvenci výskytu a závažnost aterosklerózy³². Protože zánět je ve vývoji atero-

sklerózy rozhodující, mohla by inhibice zánětu během rozvoje lezí pomoci k utlumení progresu onemocnění²⁶.

CD36 má důležitý podíl také na vzniku ischemické poruchy a vývoji srdeční hypertrofie a diabetické kardiomyopatie. V ischemickém srdci se hromadí triacylglyceroly (TAG), jelikož zásoba mastných kyselin (MK) je zvýšená a jejich oxidace snížena. Dodáním mastných kyselin s krátkými a středně dlouhými řetězci, které k transportu nepotřebují CD36, se předejde ischemickým potížím a oxidace MK může probíhat normálně. Publikovaná data poukazují na spojitost mezi porušeným příjmem MK srdeční tkání a onemocněním tohoto životně důležitého orgánu³³.

Nadbytečná zásoba TAG v srdeční svalovině koreluje s apoptózou, fibrózou a dysfunkcí kontraktibility. To naznačuje, že porušení regulace metabolismu triglyceridů může přispívat k srdečním onemocněním³³.

2.2.3. Receptor pro trombospondin-1

Trombospondin-1 (TSP-1) je trimerní glykoprotein extracelulární matrix. Účastní se buněčné odpovědi na růstové faktory, cytokiny a poranění. Reguluje buněčnou proliferaci, migraci a apoptózu během nejrozličnějších fyziologických i patologických stavů, zahrnujících aktivaci a sekreci krevních destiček, hojení poraněné tkáně, zánětlivé procesy, angiogenezi, tvorbu trombů a neoplasii (metastáze nádorových buněk).

Jako receptor pro TSP-1 funguje protein CD36 na povrchu kapilárních endoteliálních buněk, krevních destiček, monocytů, leukocytů a erytroidních prekurzorů, kde je exprimován během pozdní fáze diferenciace v kostní dřeni. Důsledkem vazby TSP-1 na receptor CD36 je adheze trombocytů na monocyty a nádorové buňky, aktivace krevních destiček a také rozpoznání a fagocytóza buněk makrofágy³⁴. Interakce TSP-1 s proteinem CD36 na povrchu trombocytů má značný vliv na stabilizaci agregovaných destiček a na vzniku ireverzibilního makromolekulárního komplexu zahrnujícího protein CD36, TSP-1, fibrinogen a glykoproteiny IIb – IIIa³⁵.

Vedle TSP-1 slouží CD36 také jako receptor pro kolagen typu I a IV. Substrátová specifita proteinu CD36 pro TSP-1 nebo kolagen je řízena posttranslační fosforylací a defosforylací Thr91. Sekvence poblíž této oblasti vykazuje afinitu k protein kinase c, která tuto reakci katalyzuje. Na povrchu neaktivních krevních destiček blokuje fosforylace Thr91 vazbu na TSP-1 a umožňuje tak pouze vazbu na kolagen. Vazebná doména pro TSP-1 je spojena se silně konzervativní sekvencí vyskytující se i u jiných vazebných proteinů¹⁹.

Trombospondin-1 je přirozeně se vyskytující inhibitor angiogeneze, který zapříčiní, že endoteliální buňky neodpovídají široké paletě inductorů. Neporušená molekula TSP-1 se váže nejméně na dvanáct různých receptorů. Inhibice angiogeneze trombospondinem-1 je zprostředkována pomocí CD36. CD36 blokuje rozličné stimulační signální kaskády spouštěné různými induktory angiogeneze³⁶. Byla navržena dráha, kterou TSP-1/CD36 uplatňují antiangiogenní odpověď. Po zapojení ligandu indukuje

proangiogenní receptor proliferaci, migraci a tvorbu vlásečnic z endoteliálních buněk. Tato odpověď je inhibována v přítomnosti TSP-1, který interaguje se specifickým motivem svého receptoru. Inhibice vede k apoptóze endoteliálních buněk vlásečnic²².

TSP-1 a od něj odvozené fragmenty patří mezi potenciální endogenní inhibitory vývoje nádorových onemocnění krevních a lymfatických cév³⁷. V přítomnosti TSP-1 byla zjištěna apoptóza většího množství endoteliálních buněk na okrajích tumorů. TSP-1 svými inhibičními účinky limituje hustotu cévního systému v normálních tkáních a redukuje nádorové bujení³⁸.

Signalizace pomocí CD36 může vést k programované buněčné smrti i u dalších typů buněk. Tato zjištění by mohla vést k vývoji účinného terapeutického prostředku pro léčbu nádorů, diabetické retinopatie a dalších nemocí, jejichž součástí je angiogeneze.

2.2.4. Transport mastných kyselin přes cytoplasmatickou membránu

Ve tkáních s aktivním metabolismem, jako jsou tenké střevo, srdeční, kosterní a tuková tkáň, jsou mastné kyseliny důležitým energetickým substrátem. Mastné kyseliny v krevním oběhu a v intersticiální tekutině se vyskytují ve vazbě na albumin. Odtud jsou pak přijímány buňkami a transportovány do mitochondrií, kde následně podléhají oxidaci³⁹.

Ve vazbě a transportu mastných kyselin a ostatních lipidických látek přes cytoplasmatickou membránu se významně podílí také protein CD36, zde označovaný jako FAT (fatty acid translocase). Přestože se dříve zdálo, že přechod mastných kyselin a sterolů přes membránu probíhá procesem prosté difuze, z mnoha výzkumů vyplývá, že jde o přestup mechanismem usnadněné difuze za pomoci bílkovinných přenašečů. Významnou roli v tomto procesu zaujímá protein CD36/FAT. Tento protein funguje jako receptor pro široké rozmezí hydrofobních molekul, které se mohou i velmi lišit svou chemickou strukturou. Umožňuje reverzibilní vazbu mastných kyselin, včetně dlouhořetězcových, také volného i esterifikovaného cholesterolu a anionických fosfolipidů (fosfatidylserin, fosfatidylinositol, fosfatidylcholin). Tato vazba se liší od kovalentní palmitoylace v intracelulárních částech receptoru. CD36/FAT zprostředkovává obousměrný přechod lipidů mezi cytoplasmatickou membránou a vazebným proteinem (albuminem, apolipoproteiny a lipoproteiny s vysokou i nízkou hustotou (HDL – high density lipoprotein, LDL – low density lipoprotein)⁴⁰.

Vazebná doména se vyskytuje v extracelulárním úseku proteinu 127–279. Vysoce hydrofobní úsek α -helixu v oblasti 139–154 pravděpodobně usnadňuje přístup lipidů k vazebné doméně. Z kinetických měření je jisté, že za fyziologických koncentrací mastných kyselin je protein CD36 schopen efektivní kompetice s albuminem o jejich vazbu.

Ne zcela objasněn ovšem zůstává přesný mechanismus přenosu. Není jasné, zda mastné kyseliny po vazbě na CD36/FAT jsou dopraveny přímo k FA-acyl-CoA synteta-

se na vnitřní straně cytoplasmatické membrány nebo jsou pouze předány jiným membránovým proteinům fungujícím jako přenašeče mastných kyselin⁴¹.

Selektivní příjem steroidních látek je důležitý zejména u steroidogenní tkáně, jakou jsou např. nadledvinky⁴². Protein CD36/FAT je klíčový pro metabolismus lipidů a celkovou homeostázi.

3. Závěr

Výzvou do budoucnosti je porozumět mechanismu, kterým jsou ovlivňovány různorodé funkce CD36 a navrhnout strategii terapie přidružených onemocnění jako aterosklerózy, diabetu, kardiomyopatie, obezity, slepoty, srpkovité anémie a malárie²².

Zdá se, že krátkořetězcové mastné kyseliny mohou být prospěšné, pokud je hyperinsulinémie a insulinová rezistence zapříčiněna poruchou příjmu mastných kyselin a mohly by též přispět k léčbě hypertrofické kardiomyopatie⁴³. Včasná diagnóza dědičné hypertrofické kardiomyopatie by umožnila dokonalejší léčbu a vedla by k lepší prognóze tohoto onemocnění. Identifikace CD36, jako inhibičního signálního receptoru pro TSP-1, by mohla vést k vývoji nových farmak inhibujících patologickou neovaskularizaci³⁷.

Díky rozvoji genetických technologií a *in vivo* studiím získáváme stále další informace o mechanismech, kterými CD36 předává buněčné signály. Věříme, že to umožní vývoj specifických léčiv s přímým dopadem na patřičnou patologickou funkci CD36 (cit.⁴⁴).

Porozumění mechanismu inhibice a snížení exprese CD36 je důležité z hlediska stanovení tohoto glykoproteinu jako potenciálního terapeutického cíle pro léčbu aterosklerózy²⁶.

Tato publikace vznikla za finanční podpory grantu GA ČR 301/03/0751 a projektu MŠMT 6046137305.

LITERATURA

1. Pravenec M.: *Vesmír* 74, 485 (1995).
2. Hajri T., Han X. X., Bonen A., Abumrad N. A.: *J. Clin. Invest.* 109, 1381 (2002).
3. Reaven G. M.: *Diabetes* 37, 1495 (1988).
4. Taylor S. I., Cama A., Accili D., Barbetti F., Quon M. J., de la Luz Sierra M., Suzuki Y., Koller E., Levy-Toledano R., Wertheimer E.: *Endocr. Rev.* 13, 566 (1992).
5. Reaven G. M., Lithell H., Landsberg L.: *N. Engl. J. Med.* 334, 374 (1996).
6. Koike G., Jacob H.J.: *Hypertension, Principles of Molecular Medicine*, str. 145. Humana Press, New Jersey 1997.
7. Landsberg L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208, 315 (1995).
8. Ferrari P., Weidmann P., Shaw S., Giachino D., Rei-

- sen W.: *Am. J. Med.* 91, 589 (1991).
9. Grunfeld B., Balzaret H., Romo H., Gimenez M., Gutman R.: *Hypertension* 23, 112 (1994).
 10. Facchini F., Chen Y. D., Clinkingbeard C., Jeppesen J., Reaven G. M.: *Am. J. Hypertens* 5, 694 (1992).
 11. Beatty O. L., Harper R., Sheridan B., Atkinson A. B., Bell P. M.: *Br. Med. J.* 307, 92 (1993).
 12. Ganten D.: *Hypertension* 9, (suppl 1) 1 (1987).
 13. Ferrannini E., Buzzigoli G., Bonadoda R., Giorico M. A., Oleggini M., Graziadei L., Pedrinelli R., Brandi L., Bevilacqua S.: *N. Engl. J. Med.* 317, 350 (1987).
 14. Denker P. S., Pollock V. E.: *Arch. Intern. Med.* 153, 1649 (1992).
 15. Salonen J. T., Lakka H. M., Valkonen V. P., Everson S. A., Kaplan G.: *Diabetes* 47, 270 (1998).
 16. Hwang E. H., Taki J., Yasue S., Fujimoto M., Taniguchi M., Matsunari I., Nakajima K., Shiobara S., Ikeda T., Tonami N.: *J. Nucl. Med.* 39, 1681 (1998).
 17. Oquendo P., Hundt E., Lawler J., Seed B.: *Cell* 58, 95 (1989).
 18. Malaud E., Hourton D., Giroux L. M., Ninio E., Buckland R., McGregor L. J.: *Biochem. J.* 364, 507 (2002).
 19. Tandon N. N., Lipsky R. H., Burgess W. H., Jamieson G. A.: *J. Biol. Chem.* 264, 7570 (1989).
 20. Serghides L., Smith T. G., Patel S. N., Kain K. C.: *Trends Parasitology* 19, 461 (2003).
 21. Asch A. S., Liu I., Briccetti F. M., Barnwell J. W., Kwakye-Berko F., Dokun A., Goldberger J., Pernambuco M.: *Science* 262, 1436 (1993).
 22. Febbraio M., Hajjar D. P., Silverstein R. L.: *J. Clin. Invest.* 105, 1049 (2001).
 23. Hirano K., Kuwasako T., Nakagawa-Toyama Y., Janabi M., Yamashita S., Matsuzawa Y.: *Trends Cardiovasc. Med.* 13, 136 (2003).
 24. Yanai H., Chiba H., Morimoto M.: *Am. J. Med. Genet.* 93, 299 (2000).
 25. Van Neuenhoven F. A., Verstijnen C. P. H. J., Abumrad N. A., Willemsen P. H. M., Van Eys G. J. J. M., Van Der Vusse G. J., Glatz J. F. C.: *Biochem. Biophysic. Res. Commun.* 207, 747 (1995).
 26. Nicholson A. C.: *Trends Cardiovasc. Med.* 14, 8 (2004).
 27. Huang J. T., Welch J. S., Ricote M., Binder C. J., Willson T. M., Kelly C.: *Nature* 400, 378 (1999).
 28. <http://www.maxdorf.cz/maxdorf/ls.html>, staženo 7.dubna 2004.
 29. Steinberg D.: Lewis A. Conner Memorial Lecture. *Circulation* 95, 1062 (1997).
 30. Podrez E. A., Schmitt D., Hoff H. F., Hazen S. L.: *J. Clin. Invest.* 103, 1547 (1999).
 31. Bodart V., Febbraio M., Demers A., McNicoll N., Pohanková P., Perreault A., Sejlitz T.: *Circ. Res.* 90, 844 (2002).
 32. Aitman T. J.: *Lancet* 357, 651 (2001).
 33. Lewin T. M., Coleman R. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 1634, 63 (2003).
 34. Allesio M., De Monte L., Sciral A., Gruarin P., Tandon N. N., Sitia R.: *J. Biol. Chem.* 271, 1770 (1996).
 35. Febbraio M., Hajjar D. P., Silverstein R. L.: *J. Clin. Invest.* 108, 785 (2001).
 36. Dawson D. W., Pearce S. F., Zhong R., Silverstein R. L., Frazier W. A., Bouck N. P.: *J. Cell Biol.* 138, 707 (1997).
 37. Good D. J., Polverini P. J., Rastinejad F., LeBeau M. M., Lemons R. S., Frazier W. A., Bouck N. P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 6624 (1990).
 38. Jiménez B., Volpert O. V., Crawford S. E., Febbraio M., Silverstein R. L., Bouck N.: *Nat. Med.* 6, 41 (2000).
 39. Febbraio M., Abumrad N. A., Hajjar D. P., Sharma K., Cheng W., Frieda S., Pierce A., Silverstein R. L.: *J. Biol. Chem.* 274, 19055 (1992).
 40. Vallvé J.-C., Uliaque K., Girona J., Cabré A., Ribalta J., Heras M., Masana L.: *Atherosclerosis* 164, 45 (2002).
 41. Mannel D. N., Grau G. E.: *Mol. Pathol.* 50, 175 (1997).
 42. Gotoda T., Iizuka Y., Yamada N.: *Curr. Atherosclerosis Rep.* 2, 453 (2002).
 43. Hajri T., Ibrahimi A., Coburn C. T., Knapp F. F. Jr, Kurtz T., Pravenec M., Abumrad N. A.: *J. Biol. Chem.* 276, 23.661 (2001).
 44. Silverstein R. L., Febbraio M.: *Curr. Opin. Lipidol* 11, 483 (2000).

K. Kontrová, J. Zídková, P. Palečková, and J. Sajdok (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Role of Protein CD36 as a Significant Risk Factor of Cardiovascular Diseases**

The human essential hypertension syndrom (syndrom X) together with hyperlipidemia and insulin resistance involves a cluster of metabolic disorders whose molecular basis is largely unknown. The most widely studied animal model of hypertension is the spontaneously hypertensive rat (SHR). To identify the chromosome region contributing to this clustering of cardiovascular risk factors in the SHR, quantitative trait loci (QTL) associated with insulin resistance, glucose intolerance and dyslipidemia were searched for by using a recombinant inbred strain. SHR displays many features of human metabolic disease syndroms, thus SHR can be used as a model of mutation in CD36 and study of its protein. Protein CD36 is known as a receptor for thrombospondin-1 and collagen. It also functions as a signal transduction molecule and main glycoprotein of adipocytes and muscle cells. It binds long-chain fatty acids and functions in their membrane transport. CD36 in monocytes and macrophages serves as receptor for oxidized LDL (scavenger receptor). CD36 seems to be one of potential targets in atherosclerosis and insulin resistance treatment.