

Received: 2005.09.01
Accepted: 2006.02.07
Published: 2006.03.03

Receptor CD36 – występowanie, regulacja ekspresji oraz rola w patogenezie miażdżycy. Część I

Scavenger receptor CD36: its expression, regulation, and role in the pathogenesis of atherosclerosis. Part I

Justyna Kuliczowska-Płaksej¹, Grażyna Bednarek-Tupikowska¹, Rafał Płaksej², Alicja Filus¹

¹ Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra i Klinika Kardiologii Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Miażdżycą jest postępującym procesem chorobowym, u podstawy którego leżą dysfunkcja śródbłonna i przewlekły stan zapalny. Podstawową rolę w patogenezie miażdżycy odgrywają monocyty i makrofagi oraz cząsteczki zmodyfikowanych lipoprotein w tym utlenionych LDL (oxLDL). W ścianie naczynia monocyty ulegają przekształceniu w makrofagi, które gromadzą oxLDL, tworząc komórki piankowate. OxLDL zwiększają ich aktywność, stymulują replikację makrofagów i ich migrację do blaszki miażdżycowej, działają toksycznie, powodują wzrost ekspresji metaloproteinaz. Przyłączanie oxLDL przez makrofagi odbywa się z udziałem różnorodnych receptorów w tym receptorów typu scavenger – „zmiatających”. Jednym z nich jest receptor CD36. Jest on błonową glikoproteiną ulegającą ekspresji na powierzchni wielu komórek, takich jak m.in. komórki śródbłonna, adipocyty, komórki mięśni szkieletowych i gładkich, kardiomiocyty, płytki krwi, monocyty i makrofagi. Ligandami receptora CD36 są m.in. oxLDL, długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, kolagen, trombospondyna I, komórki apoptotyczne, ujemnie naładowane fosfolipidy, erytrocyty zainfekowane zarodźcami malarii. Receptory CD36 są zaangażowane w procesy wrodzonej odporności, usuwanie martwych komórek, wychwytywanie zakażonych zarodźcami malarii erytrocytów, transport długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, a także pośredniczą w działaniu trombospondyny i kolagenu. Wyniki ostatnich prac wskazują na ważną rolę tego receptora w procesie miażdżycowym. Badania na modelu zwierzęcym wykazały, że brak ekspresji CD36 może hamować rozwój miażdżycy. Zwiększoną ekspresję CD36 wykazano także w obrębie płytek miażdżycowych i uszkodzonej tkanki naczyniowej. Rozbieżne dane na temat wpływu leków przeciwmiażdżycowych na ekspresję tego receptora potwierdzają konieczność dalszych badań nad udziałem tej cząsteczki w rozwoju miażdżycy.

Słowa kluczowe:

receptor zmiatający CD36 • miażdżycy • oxLDL • statyny

Summary

Atherosclerosis is a progressive pathological process based on endothelial dysfunction and chronic inflammation. Monocytes, macrophages, and modified lipoproteins, especially oxidized LDLs (oxLDLs), play a fundamental role in the pathogenesis of atherosclerosis. Monocytes evolve into macrophages in the vascular wall and then accumulate oxLDLs, forming foam cells. OxLDLs are toxic and activate foam cells, stimulate the replication of macrophages and their migration into atherosclerotic plaque, and increase the expression of metaloproteinases. Macrophages bind oxLDLs through many types of receptors, among them scavenger receptors. One of these is CD36,

a membrane glycoprotein expressed by endothelial cells, adipocytes, smooth and skeletal muscle cells, cardiomyocytes, platelets, monocytes, and macrophages. CD36 recognizes and binds many ligands, such as oxLDLs, long-chain fatty acids, collagen, thrombospondin 1, apoptotic cells, anionic phospholipids, and *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. CD36 is involved in many processes, e.g. inner immune system responses, removal of apoptotic cells and *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes, and the transport of long-chain fatty acids, and it also mediates collagen and thrombospondin action. Recent reports indicate that CD36 may play a role in the development of atherosclerosis. An animal model revealed that lack of CD36 expression restrains atherosclerosis. Increased expression of CD36 was shown in atherosclerotic plaque and damaged vascular tissue. Contradictory data about the effects of antiatherosclerotic drugs on CD36 expression indicate the necessity for further investigation of the role of CD36 in the development of atherosclerosis.

Key words: scavenger receptor CD36 • atherosclerosis • oxLDL • statins

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/8791.pdf

Word count: 5065

Tables: –

Figures: –

References: 73

Adres autorki: dr hab. n.med. Grażyna Bednarek-Tupikowska Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM we Wrocławiu, ul Pasteura 4, Wrocław; e-mail: tupikowska@epf.pl

WSTĘP

W świetle aktualnych wyników badań, miażdżycą jest postępującym procesem chorobowym, u podstawy którego leżą dysfunkcja śródbłonna i przewlekły stan zapalny. Podstawową rolę w patogenezie miażdżycy odgrywiają komórki układu immunologicznego, w tym monocyty i makrofagi, które na powierzchni błony komórkowej zawierają tzw. receptory „zmiatające” – receptory typu scavenger. Jednym z nich jest receptor CD36. Aby poznać jego znaczenie w patogenezie miażdżycy konieczne jest omówienie zasadniczych zjawisk jakie zachodzą w procesie tworzenia blaszki miażdżycowej.

UDZIAŁ UTLENIONYCH LIPOPROTEIN MAŁEJ GĘSTOŚCI W PATOGENIEZIE MIAŻDŻYCY

Miażdżycą jest przewlekłym procesem zapalnym umiejscowionym w ścianach tętnic, o złożonym i zróżnicowanym charakterze. Składają się na niego odpowiedź immunologiczna z udziałem wrodzonych i nabytych, komórkowych i humoralnych, a także swoistych i nieswoistych mechanizmów obronnych. U podstawy leży uszkodzenie śródbłonna naczyń, do którego dochodzi w wyniku działania wielu czynników, m.in. mechanicznych, toksycznych i infekcyjnych. W stanach dyslipidemii i hiperlipidemii, w tym szczególnie podwyższonego stężenia cząsteczek lipoprotein o małej gęstości (LDL – low density lipoprotein) w surowicy krwi dochodzi do ich gromadzenia w ścianach tętnic i powstawania tzw. fatty streaks, obecnie uznawanych za jeden z najwcześniejszych objawów procesu miażdżycowego [54]. Tłuszcze zawarte w LDL w wyniku stresu oksydacyjnego i działania wolnych rodników ulegają chemicznej modyfikacji – utlenianiu, a także glikozylacji. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe utleniają się do nadtlenników lipidów. Powstają silnie aterogenne cząstecz-

ki utlenionych LDL (oxidized LDL, oxLDL). Uszkodzenie komórek śródbłonna (EC – endothelial cells), m.in. w wyniku gromadzenia zmodyfikowanych LDL, zapoczątkowuje kaskadę reakcji zapalnej. Następuje przyciąganie i aktywacja komórek układu immunologicznego (monocyty, granulocyty, limfocyty T) oraz płytek krwi i komórek mięśni gładkich ściany naczyń tętniczych (SMC – smooth muscle cells) oraz ich gromadzenie w uszkodzonym obszarze.

W pierwszej kolejności dochodzi do zwiększenia ekspresji molekuł adhezyjnych na uszkodzonych komórkach śródbłonna, zwłaszcza ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) i VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1). W ten sposób zapoczątkowane jest przyciąganie monocytów i limfocytów do błony wewnętrznej ściany naczyniowej. Zmodyfikowane LDL mogą zwiększać ekspresję genów chemoatraktantów M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) i MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), w wyniku czego również nasila się migracja monocytów. W ścianie naczynia monocyty ulegają przekształceniu w makrofagi, które gromadzą oxLDL i ulegają przeładowaniu tłuszczami. W ten sposób dochodzi do powstania komórek piankowatych (foam cells) – najważniejszych w procesie powstawania blaszek miażdżycowych. Zmodyfikowane LDL zwiększają następnie aktywność powstałych komórek piankowatych, a także mogą powodować rozszerzenie się procesu zapalnego poprzez stymulację replikacji makrofagów i migrację kolejnych monocytów do blaszki miażdżycowej. OxLDL działają też toksycznie, powodują wzrost ekspresji metaloproteinaz i hamują ekspresję enzymu syntazy tlenu azotu, odpowiedzialnego za syntezę tlenu azotu. Uwolnione przez makrofagi mediatory zapalne – interleukina 1 β (IL-1 β), czynnik martwicy nowotworów – TNF- α (tumor necrosis factor α) i M-CSF nasilają wiązanie LDL do śródbłonna i mięśniówki naczynia. Rozwój miażdżycy jest zatem procesem stale wzmac-

nianym, a jego zasadniczym substratem i regulatorem są cząstki oxLDL [34,35,54].

Przylączenie zmodyfikowanych cząsteczek LDL przez makrofagi, poprzedzające ich fagocytozę odbywa się z udziałem różnorodnych receptorów znajdujących się na jądrowych komórkach fagocytujących, w tym receptorów typu scavenger. Receptory te (SR – scavenger receptor) są grupą białek wiążących chemicznie lub oksydacyjnie zmodyfikowane lipoproteiny, polianiony i komórki ulegające apoptozie [20,49,51,59]. Istnieje co najmniej 6 klas SR (od A do F). SR-AI i SR-AII wiążą acetylowane i utlenione LDL, polianiony i martwe komórki. W skład receptorów klasy B wchodzi receptor CD36 i BI. CD36 jest receptorem fagocytującym i wiąże m.in. acetylowane i utlenione LDL, fosfatydyloserynę i komórki apoptotyczne. SR-BI jest receptorem lipoprotein o dużej gęstości HDL (high density lipoprotein). Receptor SR-CI wiąże acetylowane LDL i polianiony. Receptor klasy D – CD68 (makrosialina) wychwytyuje oxLDL, receptory klasy E – SR LOX-1 wiążą oxLDL i polianiony, zaś receptory klasy F wychwytyują oxLDL, acetylowane LDL i polianiony. Receptory zmiatające odgrywają ważną rolę w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych, w tym w miażdżycy, adhezji komórkowej oraz wrodzonej nieswoistej reakcji odpornościowej skierowanej przeciw fragmentom błony komórkowej mikroorganizmów [55,71].

Na podstawie dotychczasowych badań stwierdzono, że niektóre z receptorów SR w szczególny sposób są zaangażowane w tworzenie komórek piankowatych. Należą do nich receptory: SR-A, CD36, CD68, LOX-1 (lectin – like oxLDL receptor), SREC (scavenger receptor expressed by endothelial cells), SR-PSOX (scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein) [39]. W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono badaniu znaczenia receptorów zmiatających w patogenezie miażdżycy. Wyniki prac Febbraio i wsp. podkreślają znaczenie receptora CD36 w aterogenezie [19,21].

BUDOWA RECEPTORA CD36 I JEGO LIGANDY

Receptor CD36 po raz pierwszy wyizolowano w 1973 r. jako białko odporne na proteazy, któremu nadano nazwę glikoproteina płytkowa IV (GPIV). Stwierdzono także, że identyczna proteina znajduje się w błonie komórek nabłonkowych sutka. W 1990 r. wykazano, że białko to jest identyczne z receptorem CD36 – antygenem różnicowania się leukocytów [24,25].

Receptor CD 36 jest błonową glikoproteiną o ciężarze cząsteczkowym 88 kDa, mającą długą pętlę zewnątrzkomórkową między dwiema domenami przezbłonowymi. Jest obecny na powierzchni wielu komórek, takich jak komórki śródbłonna, adipocyty, komórki mięśni szkieletowych, kardiomiocyty, komórki dendrytyczne, nabłonka barwnikowego siatkówki, komórki gruczołu sutkowego, jelita, mięśni gładkich, komórki hematopoetyczne prekursorzy szeregu czerwono krwinkowego, płytki krwi oraz monocyty i makrofagi [20,24,49,51]. Ligandami receptora CD36 są utlenione cząstki LDL, długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCFA – long chain fatty acids), kolagen, trombospondyna I (TSP-1), komórki apoptotyczne, ujemnie naładowane fosfolipidy, utlenione fosfolipidy, erytrocyty zainfekowa-

ne zarodźcami malarii, heksarelina, zewnętrzny segment nabłonka barwnikowego siatkówki. Receptory CD36 są zaangażowane w procesy wrodzonej odporności, usuwanie martwych komórek, wychwytywanie zakażonych zarodźcami malarii erytrocytów, transport długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Pośredniczą także w działaniu trombospondyny i kolagenu, m.in. w procesie hamowania angiogenezy nowotworowej [2,20,59].

Zasadniczy udział CD36 w wychwytywaniu oxLDL wykazano jednoznacznie w badaniach na zmodyfikowanych genetycznie myszach z brakiem ekspresji białka CD36 [53]. Makrofagi tych zwierząt w znacząco mniejszym stopniu wiązały i wychwytywały oxLDL w porównaniu do makrofagów „dzikich”, niemodyfikowanych genetycznie myszy. Kunjathoor i wsp. przebadali trzy populacje makrofagów mysich, pozbawione odpowiednio receptora CD36, SR-A lub jednocześnie obu receptorów [39]. Wykazano, że obydwa typy receptorów odpowiadają za 70–90% wychwyty i degradacji utlenionych i acetylowanych LDL oraz za akumulację estrów cholesterolu w makrofagach. Głównym receptorem zaangażowanym w wychwytywanie oxLDL był receptor CD36, natomiast acetylowane LDL były wychwytywane bardziej przez SR-A. Podobne wyniki uzyskano w pracy poddającej ocenie makrofagi osób z wrodzonym niedoborem receptora CD36, tj. z fenotypem NAK α Makrofagi izolowane od tych osób wiązały o 40% mniej oxLDL, a także gromadziły o 40% mniej estrów cholesterolu w porównaniu do makrofagów zdrowych osób [18,37]. Pozwala to wysunąć wniosek, że inne receptory typu scavenger poza CD36 mają stosunkowo niewielki udział w wychwytywaniu zmodyfikowanych lipoprotein przez komórkę i nie zastępują braku receptora CD36. Rola receptora CD36 w wychwytywaniu i degradacji tych lipoprotein dodatkowo podkreśla wynik doświadczenia, w którym do komórek wprowadzono wektor z receptorem CD36. Powodowało to czterokrotny wzrost wiązania, internalizacji i degradacji oxLDL w porównaniu z komórkami, do których wprowadzono sam wektor [51]. W badaniu tym wykazano także, że przeciwciała anti-CD36 blokowały w ponad 50% wiązanie oxLDL. W innym badaniu stwierdzono, iż receptor CD36 może także w niewielkim stopniu wiązać HDL, który przede wszystkim wiąże się z receptorem SR-BI [12].

BUDOWA LIGANDÓW RECEPTORA CD36

Receptor CD36 rozpoznaje oxLDL głównie poprzez jej składnik lipidowy [56]. Pozbawienie cząstki oxLDL składnika lipidowego powoduje zahamowanie jej wychwytywania przez receptor SR-A. SR-A rozpoznaje oxLDL poprzez utlenioną apoproteinę wchodzącą w jej skład [51,56]. Rigotti i wsp. w doświadczeniu z użyciem liposomów zawierających ujemnie naładowane cząsteczki fosfolipidów wykazali, że CD36 wiąże także fosfatydyloserynę i fosfatydyloinozitol [64]. Boullier i wsp. stwierdzili, że rozpoznawanie oxLDL następuje właśnie poprzez ujemnie naładowane fosfolipidy, które wchodzi w skład utlenionych cząstek LDL. W ich doświadczeniu receptor CD36 wiązał się zarówno z częścią lipidową cząstki oxLDL, a także z wyizolowaną apoproteiną [5]. We wcześniejszym doświadczeniu tych badaczy mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko utlenionym fosfolipidom reagowały zarówno z apoproteiną

jak i z częścią lipidową [5]. Wyniki te świadczą o tym, że podczas procesu utleniania lipoprotein powstają utlenione fosfolipidy związane zarówno z fragmentem lipidowym, jak i z częścią białkową, które nie podlegają odczepieniu podczas procesu ekstrakcji. Przeciwciała blokowały wychwytywanie oxLDL w 90%, co przemawia za ważną rolę jaką spełniają utlenione fosfolipidy w wiązaniu oxLDL przez CD36 [5]. Wydaje się także, że miejsce ich wiązania jest strukturalnie odmienne od miejsca wiązania pozostałych ligandów. Podrez i wsp. [60,61] dokładniej scharakteryzowali klasę utlenionych fosfolipidów pochodnych fosfatydylocholin, które stanowią ligandy o dużym powinowactwie do receptora CD36 i pośredniczą w rozpoznawaniu oxLDL przez ten receptor. Do klasy tej należą cztery główne analogi pochodne utlenionej postaci 1-palmitoilo,2-arachidonylo-fosfatydylocholin oraz cztery analogi pochodzące z utlenionej postaci 1-palmitoilo,2-linolenilo-fosfatydylocholin. Charakterystyczną strukturą, której obecność jest konieczna do wiązania utlenionych pochodnych fosfatydylocholin z receptorem CD36 o dużym powinowactwie jest grupa sn-2 acylowa zawierająca γ -hydroksy(okso)- α,β -nienasycony C-koniec (w skrócie oxPC_{CD36}). Struktura ta tworzy się podczas utleniania cząsteczek LDL wieloma różnymi sposobami, do których należy m.in. utlenianie wywołane działaniem zawartej w makrofagach mieloperoksydazy. Udowodniono, że miejsce wiązania tej struktury jest przestrzennie i funkcjonalnie odmienne od miejsc wiązania pozostałych ligandów [60,61]. W badaniu tym użyto jednowarstwowych liposomów zawierających oxPC_{CD36}, LDL i neutralne lipidy. Były one wiązane i wychwytywane przez makrofagi, przyczyniając się do gromadzenia cholesterolu i jego estrów przez te komórki. Stwierdzono nasiloną ekspresję oxPC_{CD36} w odcinkach naczyń uszkodzonych przez proces miażdżycowy [61].

RECEPTOR CD36 I MIAŻDŻYCA

Przełomowym odkryciem, które zwróciło uwagę badaczy na rolę receptora CD36 w patogenezie miażdżycy było stwierdzenie przez Febbraio i wsp. w 2000 r. [21], że brak receptora CD36 hamuje rozwój miażdżycy. Poddano badaniu ścianę aorty pobraną od myszy z brakiem genów apolipoproteiny E oraz od myszy z brakiem genów apolipoproteiny E i jednocześnie receptora CD36 (myszy DKO – double knockout mice). Stwierdzono, że myszy DKO żywione pokarmem o dużej zawartości tłuszczów nasyconych miały prawie 77% mniej zmian miażdżycowych w aorcie w porównaniu do myszy z brakiem genu jedynie apolipoproteiny E. Myszy DKO miały również o 45% mniej zmian miażdżycowych podczas żywienia dietą o prawidłowym składzie. Otrzewnowe makrofagi tych zwierząt w warunkach *in vitro* wykazywały mniejsze o 50% gromadzenie lipidów i tworzenie komórek piankowatych, mimo że myszy DKO mają zwiększone stężenie cholesterolu IDL (intermediate density lipoprotein) i LDL oraz większą masę ciała w porównaniu do myszy apo E-null, a więc mają więcej czynników sprzyjających miażdżycy. Mimo takiego nagromadzenia niekorzystnych rokowniczo czynników ryzyka, częstość miażdżycy była u tych zwierząt mniejsza. Badanie to potwierdza hipotezę, że receptor CD36 jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za wychwytywanie aterogennych lipidów, takich jak oxLDL i przyczynia się do nasilenia zmian miażdżycowych w ścianie tętnic.

Dalsze badania Febbraio i wsp. opublikowane w 2004 r. potwierdziły duże znaczenie ekspresji CD36 na makrofagach w rozwoju miażdżycy [19]. Autorzy wyhodowali dwie populacje myszy – jedne mające receptory CD36 w makrofagach i drugie pozbawione tych receptorów. Tylko myszy bez ekspresji receptora CD 36 były odporne na rozwój miażdżycy i miały o 88% mniejszy obszar uszkodzeń miażdżycowych. Wprowadzenie makrofagów zawierających receptor CD36 do krwi tych myszy powodowało ponad dwukrotne zwiększenie obszaru uszkodzeń miażdżycowych. Wykluczenie wpływ innych czynników na rozwój miażdżycy u tych zwierząt, gdyż nie było różnic w stężeniu, takich czynników jak lipidy i glukoza we krwi. Stwierdzono, że blaszki miażdżycowe zwierząt należących do obu grup miały taką samą zawartość makrofagów. Autorzy dowodzą, że utrata ekspresji receptora CD 36 w makrofagach stanowi czynnik chroniący przed rozwojem miażdżycy [19]. Potwierdzają to także wyniki cytowanej już pracy Kunjathoor i wsp., którzy wykazali, że makrofagi pochodzące od myszy pozbawionych CD36 nie gromadziły estrów cholesterolu, a także nie tworzyły komórek piankowatych podczas inkubacji z oxLDL *in vitro* [39].

Większość badań nad rolą receptora CD36 w patogenezie miażdżycy przeprowadzono u zwierząt. Mało jest danych na temat znaczenia tego receptora w procesie aterogenezy u ludzi. Wyniki jednego z badań przeprowadzonego na zmienionych miażdżycowo odcinkach ludzkich tętnic wykazały, że makrofagi z obfitą ekspresją receptora CD36 na powierzchni błony komórkowej stanowią ilościowo istotny składnik blaszki miażdżycowej [48]. W pracy tej poddano ocenie ścianę aorty piersiowej uzyskanej w czasie autopsji 5 godzin po śmierci u 22 pacjentów [48]. Stwierdzono, że w odcinkach zmienionych miażdżycowo istnieje silna immunoreaktywność receptora CD36, szczególnie w głębszych warstwach płytek miażdżycowych bogatych w duże piankowate makrofagi. Makrofagi znajdowały się także na powierzchni płytek i wokół nich, jednak były one nieco mniejsze i wykazywały słabsze barwienie na obecność receptora CD36. W zdrowych odcinkach tętnic ekspresja receptora CD36 w makrofagach była bardzo mała lub wręcz nieobecna. Badanie to wykazało, że komórki piankowate zawierające receptor CD36 znajdują się głównie w jądrze płytki miażdżycowej.

Hipoteza o głównym znaczeniu ekspresji receptora CD 36 w makrofagach w patogenezie miażdżycy została potwierdzona przez Dressmana i wsp., którzy w badaniach u ludzi oceniali związek między stosowaniem leków przeciwko zakażeniu wirusem HIV a rozwojem miażdżycy. Wcześniej przeprowadzone badanie Swiss Cohort udowodniło, że inhibitory proteazy HIV wywołują dyslipidemię głównie hipertrójglicerydemię i w mniejszym stopniu hipercholesterolemię [57]. Tabib i wsp. zaobserwowali przyspieszoną miażdżycę, w tym miażdżycę naczyń wieńcowych u młodych ludzi zakażonych wirusem HIV, leczonych lekami należącymi do grupy inhibitorów proteazy HIV [68]. Przyczyną przyspieszonej miażdżycy u leczonych chorych zakażonych HIV była zapewne polekowa dyslipidemia. Dressman i wsp. pierwsi zbadali wpływ leków – inhibitorów proteazy HIV na ekspresję CD36 i akumulację estrów cholesterolu przez makrofagi *in vitro* i *in vivo* [15]. Wykazali oni, że leki te zwiększają ekspresję receptora CD36 na powierzchni makrofagów, nasilają groma-

dzenie przez nie estrów cholesterolu i tworzenie blaszek miażdżycowych. Zastosowanie przeciwciał anti-CD36 hamowało akumulację tych tłuszczowców. Niewielkie dawki leków, niewywołujące jeszcze dyslipidemii, powodowały znaczący wzrost ekspresji receptora CD36, z czym wiązało się nasilone gromadzenie cholesterolu w makrofagach i zwiększenie obszaru uszkodzeń miażdżycowych. Podobne rezultaty uzyskano po zastosowaniu niewielkich dawek tych leków u myszy apoE-null i DKO (double knockout: apoE and CD36-null). Myszy pozbawione jedynie genu apoE wykazywały obecność blaszek miażdżycowych, natomiast u myszy pozbawionych dodatkowo receptora CD36 nie stwierdzono uszkodzeń miażdżycowych [15]. Wyniki tych badań pozwalają na wyciągnięcie wniosku, że indukowany inhibitorami proteazy HIV wzrost ekspresji CD36 na powierzchni makrofagów predysponuje do rozwoju miażdżycy niezależnie od występowania dyslipidemii. Potwierdza to wcześniejsze obserwacje, że receptor CD36 jest głównym elementem w procesie inicjowania i nasilania miażdżycy, niezależnie od występowania innych czynników ryzyka, w tym dyslipidemii.

Prace innych badaczy potwierdzają powyższe stwierdzenia. Carlquis i wsp. wykazali, że przewlekłe zakażenie cytomegalowirusem (CMV) wpływa na ekspresję receptora CD36 na powierzchni makrofagów [7]. Wiadomo, że przewlekła infekcja CMV przyczynia się do przyspieszenia procesu miażdżycowego, co wykazano w badaniach doświadczalnych u zwierząt [32], a także w obrębie tętnic wieńcowych przeszczepionego serca [23]. Stwierdzono, że zakażenie CMV jest czynnikiem ryzyka restenozы naczyń wieńcowych po aterektomii, a także bierze udział w rozwoju miażdżycy w tętnicy szyjnej [52]. Carlquist i wsp. wykazali, że CMV aktywuje kinazę MAP (p38) powodując tym samym zwiększenie ekspresji mRNA CD36 oraz białka CD36 na powierzchni makrofagów. Może to tłumaczyć nasilone tworzenie blaszek miażdżycowych związane z przewlekłą wirusową infekcją CMV i stanowi kolejny dowód potwierdzający znaczącą rolę receptora CD36 w rozwoju miażdżycy.

REGULACJA EKSPRESJI CD36

W warunkach fizjologicznych makrofagi są chronione przed nagromadzeniem w nich cholesterolu za pośrednictwem ujemnego sprzężenia zwrotnego. Nagromadzenie cholesterolu w komórkach zmniejsza liczbę powierzchniowych receptorów LDL, hamując transport cholesterolu do makrofaga.

OxLDL pobudzają ekspresję receptorów CD36 w mechanizmie dodatniego sprzężenia zwrotnego. Han i wsp. w badaniach nad ekspresją receptorów scavenger w mysich makrofagach wykazali, że ekspozycja tych komórek na duże stężenie oxLDL powoduje znaczące, tj. 4–8-krotne zwiększenie ekspresji tych receptorów [26]. W obecności aktywnymycyny D nie następował wzrost ekspresji mRNA CD36 w obecności oxLDL, co przemawia za tym, że indukcja ekspresji zachodzi na poziomie transkrypcji [26]. W kolejnej pracy nad regulacją ekspresji CD36 użyto β -cyklodekstryn, które są cyklicznymi oligosacharydami, umożliwiającymi wprowadzenie cholesterolu do komórki, a także usunięcie go. Wykazano, że niedobór cholesterolu w komórce hamuje ekspresję mRNA receptora CD36,

co potwierdzono zmniejszonym wiązaniem oxLDL przez makrofagi. Przeładowanie komórki cholesterolom powodowało natomiast znaczne zwiększenie ekspresji CD36. Potwierdzono to zwiększonym wychwytem oxLDL przez makrofagi. Jednocześnie do nasilonej ekspresji mRNA CD36 rosła ekspresja białka CD36 na powierzchni błony komórkowej [28]. Obserwacja ta potwierdza istnienie pętli dodatniego sprzężenia zwrotnego, która przyczynia się do nasilenia akumulacji oxLDL w miarę wzrostu ich stężenia. Badania molekularne wykazały, że gen receptora LDL zawiera fragment regulatorowy na C-końcu, który powoduje zahamowanie transkrypcji w przypadku zwiększonego stężenia cholesterolu w komórce. Gen receptora CD36 jest pozbawiony takiego fragmentu [28].

Ekspresja receptora CD36 jest hamowana przez lipopolisacharyd (LPS), INF- γ i TGF- β [27,46,73].

W innych doświadczeniach wykazano, że oxLDL mogą wpływać na ekspresję receptora CD36 przez aktywację czynnika transkrypcyjnego, jakim jest PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptor γ) [45,69].

RECEPTOR CD36 I REGULACJA AKTYWNOŚCI PPAR γ

PPAR γ jest regulatorem transkrypcji genów kodujących białka biorące udział w adipogenezie i metabolizmie lipidów. Ligandy PPAR γ , takie jak metabolit prostaglandyny D2: 15-deoksy $\Delta^{12,14}$ -prostaglandyna J2 i grupa leków przeciwcukrzycowych – tiazolidynodiony (TZD) zwiększają ekspresję receptora CD36. Wykazano, że składnikami cząsteczki oxLDL, odpowiedzialnymi za aktywację PPAR γ są dwa utlenione metabolity kwasu linolenowego – kwas 9-hydroksyoktadekadienowy (9-HODE) oraz 13-hydroksyoktadekadienowy (13-HODE). Jest to kolejny dowód na to, że ekspresja CD36 w makrofagach i tworzenie komórek piankowatych może ulegać wzmocnieniu w cyklu, w którym oxLDL same nasilają swój wychwyty przez zawarte w nich związki chemiczne rozpoznawane przez PPAR γ . Wewnątrz komórki ligandy i aktywatory PPAR γ , jakim są 9-HODE i 13-HODE nasilają aktywność PPAR γ i zwiększają ekspresję receptora CD36. Kolejnymi aktywatorami ekspresji CD36 są GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), M-CSF i IL-4 (interleukin-4), co wykazano w hodowli monocytów dojrzewających do makrofagów [36,73]. Nasilenie ekspresji przez te czynniki zachodzi również na poziomie PPAR γ [33]. IL-4 działała zarówno poprzez PPAR γ jak i nasilenie działania 12/15 lipooksygenazy. Indukcja tej ostatniej powodowała zwiększone wytwarzanie 13-HODE oraz 15-HETE (kwas 15-hydroksoeikozatetraenowy), które są z kolei transkrypcyjnymi aktywatorami PPAR γ . W makrofagach z brakiem 12/15 lipooksygenazy działanie IL-4 było znacznie zmniejszone [33]. Przebadano także makrofagi z brakiem PPAR γ [44]. Wykazano, że obecność PPAR γ jest konieczna do podstawowej regulacji ekspresji receptora CD36. Przy braku PPAR γ ekspresja CD36 była słabo wykrywalna, a agonisci PPAR γ nie powodowali jej zwiększenia. Wychwyty i degradacja oxLDL była mniejsza o 50% w porównaniu do makrofagów z PPAR γ [8].

Wpływ cholesterolu z komórki powoduje zmniejszenie ekspresji receptora CD36 [28]. Nie wiadomo jednak poprzez jaki mechanizm to się odbywa. Biorąc pod uwagę rolę

jaką spełnia PPAR γ w regulacji ekspresji CD36, wysunięto hipotezę, że usunięcie cholesterolu z komórki zmienia sygnalizację przez PPAR γ . Kolejnym czynnikiem zmieniającym aktywność transkrypcyjną PPAR γ jest fosforylacja, poprzez którą działa wiele substancji. Należą do nich czynniki wzrostowe, takie jak EGF (epidermal growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor), które powodują fosforylację PPAR γ poprzez kinazę MAP (mitogen-activated protein kinase) i zmniejszają tym samym aktywność transkrypcyjną PPAR γ [6]. Fosforylacja znacząco hamuje aktywność transkrypcyjną PPAR γ [1]. Powoduje to fosforylację seryny 82 na PPAR γ przez kinazę MAP. Mutacja w miejscu seryny 82 chroni PPAR γ przed fosforylacją i wywołanym przez czynniki wzrostowe zahamowaniem aktywności transkrypcyjnej. Udowodniono, że w ten sposób działa TGF- β , który zmniejsza ekspresję receptora CD36 poprzez fosforylację kinazy MAP, następnie fosforylację PPAR γ i zmniejszoną transkrypcję CD36 [27].

WPLYW HDL NA EKSPRESJĘ RECEPTORA CD36

Korzystne działanie cholesterolu HDL w chorobach sercowo-naczyniowych zależy od jego roli w odwrotnym transporcie cholesterolu i hamowaniu utleniania LDL [16]. Stwierdzono również, że HDL w wyższych stężeniach we krwi zmniejsza ekspresję receptora CD36. Mechanizmy, dzięki którym następuje zmniejszenie ekspresji receptora CD36 przez HDL nie zostały jeszcze ostatecznie poznane. Cholesterol HDL powodował zwiększenie ekspresji mRNA PPAR γ i białka PPAR γ , ale także zwiększał jego fosforylację [29]. A zatem mimo indukcji PPAR γ , fosforylacja PPAR γ zmniejszając aktywność transkrypcyjną tego czynnika, hamowała ekspresję CD36. Aby określić w jaki sposób HDL powoduje fosforylację PPAR, zbadano wpływ HDL na aktywność kinazy MAP. Cholesterol HDL stymulował aktywność kinazy MAP, a hamowanie ekspresji CD36 było blokowane przez dodanie inhibitorów tej kinazy. Wysłunięto przypuszczenie, że cholesterol HDL aktywuje kinazę MAP, powodując fosforylację PPAR γ i zmniejszając tym samym ekspresję receptora CD36, nasila wpływ cholesterolu z komórki. Hipotezę tę potwierdzono w badaniu, w którym po inkubacji makrofagów z cyklodekstryną oceniano p42/p44 kinazę MAP oraz PPAR γ i wykazano, że ulegały one fosforylacji. HDL aktywuje kinazę MAP także w hodowli ludzkich fibroblastów i komórkach mięśni gładkich [72].

WPLYW TIAZOLIDYNODIONÓW NA EKSPRESJĘ RECEPTORA CD36

W ostatnich latach podjęto badania nad wpływem niektórych leków na ekspresję receptora CD36. Szczególną uwagę poświęcono lekom przeciwcukrzycowym i hipolipemizującym. Tiazolidynodiony (TZD) to leki przeciwcukrzycowe, które stosowane są u chorych z cukrzycą typu 2, szczególnie przebiegającą z insulinopornością. Wykazano, że leki te oprócz zasadniczego działania hipoglikemizującego hamują tworzenie komórek piankowatych i przeciwdziałają miażdżycy. Mechanizm przeciwmiażdżycowego działania TZD nie został ostatecznie poznany. Badania nad wpływem TZD na ekspresję CD36 wykazały, że leki te wręcz zwiększają ekspresję tego receptora, co jak wiadomo sprzyja tworzeniu blaszek miażdżycowych. TZD nasilają aktywność PPAR γ i przez to zwiększają ekspresję receptorów CD36 [6,8,69]. Tontonoz i wsp. opisali, że makrofagi poddane działaniu jednego z TZD – troglitazonu oraz prepa-

ratowi LG268, który jest agonistą RXR (retinoid X receptor, czynnik niezbędny do działania PPAR γ), wykazywały zwiększone wiązanie i wychwyty oxLDL [69]. Dane o pobudzającym wpływie TZD na ekspresję receptora CD36 nie są jednoznaczne, gdyż nie zostały potwierdzone w pracach innych badaczy [8,43]. Rozbieżność tę tłumaczono użyciem różnych linii komórkowych oraz różnym czasem trwania inkubacji z agonistami PPAR γ . Część badań wykazała, że TZD nie zmieniają sumarycznego wychwyty cholesterolu przez makrofagi, co tłumaczono kompensacyjnym, hamującym wpływem leku na drugi receptor odpowiadający za wychwyty cholesterolu – SR-A [43,63].

Dalsze badania nad wpływem TZD na rozwój miażdżycy potwierdziły ich przeciwmiażdżycowe działanie. Li i wsp. wykazali, że inna pochodna TZD – rosiglitazon i inny agonista PPAR γ -GW7845 hamowały rozwój miażdżycy i zmniejszały rozmiar blaszek miażdżycowych u samców myszy pozbawionych receptora LDL, mimo zwiększonej ekspresji receptora CD36 w ścianie tętnicy. Nie obserwowano tego u samic myszy pozbawionych receptora LDL [40]. Inne zespoły badawcze wykazały, że troglitazon znacząco zmniejszał tworzenie płytek miażdżycowych u myszy pozbawionych genu apolipoproteiny E, u których stosowano dietę wysokotłuszczową lub wysokofruktozową, pomimo zwiększonej ekspresji receptora CD36 w ścianie aorty [9,11]. Istnieje kilka mechanizmów, które mogłyby tłumaczyć przeciwmiażdżycowe działanie TZD. PPAR γ i TZD hamują aktywację makrofagów i zmniejszają aktywność czynników transkrypcyjnych, takich jak AP-1, STAT (signal transducers and activators of transcription), NF- κ B (nuclear factor κ B) [63]. Dodatkowo agoniści PPAR γ w tym TZD, hamują uwalnianie przez makrofagi cytokin prozapalnych, m.in. TNF- α , IL-1 β , IL-6 [63,67,69]. Jako że proces zapalny jest jednym z głównych etapów w rozwoju miażdżycy, hamowanie tej fazy ma istotne znaczenie przeciwmiażdżycowe. Co więcej, agoniści PPAR γ mogą aktywować w makrofagach ekspresję ABCA1, który jest czynnikiem kontrolującym wyrzut cholesterolu z komórki za pomocą apolipoproteiny A1. Działania te są z kolei związane z pobudzeniem ekspresji jądrowego receptora aktywowanego oksysterolem, który indukuje transkrypcję ABCA1 – LXR α (liver-x-receptor alpha). Można zatem stwierdzić, że agoniści PPAR γ pobudzają wyrzut cholesterolu z komórki za pomocą apolipoproteiny A1. Efekt działania TZD wyrażający się nasileniem ekspresji CD36 i zwiększeniem wychwyty oxLDL jest zatem równoważony przez aktywację LXR α i ABCA1 i wyrzut cholesterolu z komórki [10]. Wykazano, że TZD mają znaczące działanie przeciwmiażdżycowe także w wyniku innych mechanizmów. Obniżają podwyższone ciśnienie tętnicze krwi, wpływają korzystnie na dyslipidemię, hamują utlenianie LDL, zmniejszają grubość ściany tętnic [11,43]. W podsumowaniu można stwierdzić, że dotychczasowe wyniki badań wskazują na znaczące przeciwmiażdżycowe działanie TZD, które odbywa się za pośrednictwem wielu złożonych mechanizmów, których działanie antyaterogenne przewyższa niekorzystny wpływ tych leków zwiększający ekspresję receptora CD36 w makrofagach.

WPLYW STATYN NA EKSPRESJĘ RECEPTORA CD36

Statyny to grupa leków, które w ostatnich latach znalazły bardzo szerokie zastosowanie w profilaktyce i leczeniu

miażdżycy oraz jej powikłań. Zasadniczy mechanizm ich działania został poznany. Hamują wytwarzanie cholesterolu w wątrobie, a ponadto mają właściwości plejotropowe w tym szczególnie przeciwzapalne i przeciwzakrzepowe, co sprzyja poprawie funkcji śródbłonna naczyń. Wyniki prac z ostatnich lat wskazują również, że statyny hamują ekspresję receptorów typu scavenger, w tym też ekspresję receptorów CD36 w makrofagach [22,31,58]. Wykazano, że pitawastatyna zmniejszała ekspresję mRNA CD36 w mysich makrofagach [31,58], co było związane ze zmniejszeniem stężenia białka CD36 na powierzchni błony komórkowej. Lek ten hamował także wzrost ekspresji CD36, wychwyt i wiązanie oxLDL, powodowane samym oxLDL i agonistami PPAR γ . Nie miał natomiast wpływu na okres półtrwania CD36, a to dodatkowo potwierdza, że zmniejszał on transkrypcję mRNA CD36. Stwierdzono, że zmniejsza on także stężenie mRNA PPAR γ . Zaobserwowano również zwiększoną aktywność kinazy p44/42 MAP, która katalizuje fosforylację PPAR γ i tym samym zwiększa stosunek fosforylowanego PPAR γ do PPAR γ [30]. Fosforylowana postać PPAR γ jest związkiem hamującym transkrypcję tego czynnika, co w konsekwencji zmniejsza ekspresję receptora CD36. W badaniach *in vitro* wykazano, że także inne statyny, takie jak fluwastatyna, simwastatyna i lowastatyna zmniejszają ekspresję receptora CD36 w monocytach. Wpływają one także na ekspresję i funkcję innych receptorów, takich jak LOX-1 (jeden z receptorów dla oxLDL) i SR-AII w monocytach. Zbadano również wpływ statyn na zależną od receptorów degradację natywnych LDL, acetylowanych LDL i oxLDL w makrofagach ludzkich podczas ich dojrzewania w hodowli. Wykazano, że statyny zmniejszały ekspresję mRNA CD36, gdy dodano je do hodowli, a także następowało zmniejszenie wychwyty i degradacji oxLDL [31].

Fuhrman i wsp. oceniali ekspresję genów i aktywność receptorów zmiatających w różnicujących się monocytach w grupach osób zdrowych i chorych z hipercholesterolemią przed i po leczeniu atorwastatyną [22]. Wykazali, że makrofagi osób z hipercholesterolemią leczonych atorwastatyną miały znacznie zmniejszoną ekspresję receptora CD36 w porównaniu do makrofagów osób z grupy kontrolnej. Miesięczne leczenie atorwastatyną chorych z hipercholesterolemią hamowało zwiększającą się podczas dojrzewania monocytów wychwyt oxLDL, co było związane ze zmniejszeniem ekspresji genów CD36, SRAI i II. U nieleczonych chorych z hiperlipidemią wychwyt oxLDL przez monocyty zwiększał się około 7 razy podczas różnicowania się tych komórek w czasie 7 dni wraz ze wzrostem ekspresji receptora CD36 i genów SRAI i II. Atorwastatyna znacząco zmniejszała nasilenie ekspresji genów, powodując tylko dwukrotne zwiększenie wychwyty oxLDL podczas różnicowania się komórek. W kolejnym badaniu oceniającym wpływ statyn na ekspresję receptorów typu scavenger, Puccetti i wsp. poddali ocenie trombocyty u 48 chorych z hipercholesterolemią, otrzymujących atorwastatynę [62]. Wykazali, że lek zmniejszał ekspresję receptora CD36 i LOX-1 i tym samym hamował aktywację płytek, co następowało wcześniej – jeszcze przed ujawnieniem się wpływu leku na stężenie LDL. Wyniki tych badań wskazują, że statyny oprócz hamowania syntezy cholesterolu w wątrobie hamują także ekspresję receptora CD36 w makrofagach i płytkach krwi.

Dane o hamującym wpływie statyn na ekspresję receptora CD36 nie są wciąż jednoznaczne, gdyż nie zostały po-

twierdzone przez innych badaczy [66]. Wykazano, że leczenie prawastatyną nie wpływało na wychwyt oxLDL przez ludzkie makrofagi pochodzące od chorych z hipercholesterolemią [38]. W innej pracy u szczurów z wrodzoną otyłością trzewną, insulinoopornością, hiperinsulinemią, cukrzycą typu 2, nadciśnieniem tętniczym i hipertrójglicerydemią stwierdzono nawet wzrost ekspresji receptora CD36 po leczeniu ceriawastatyną [47]. Wyniki tej pracy nasuwają konieczność przeprowadzenia badań nad zasadnością i skutecznością stosowania statyn u ludzi z zespołem metabolicznym.

Badacze, którzy wykazali wzrost ekspresji receptora CD36 tłumaczyli, że silne przeciwmiażdżycowe działanie tych leków odbywa się głównie poprzez działanie hipolipemizujące, a także przez działanie plejotropowe [3,4,70]. Wykazano też, że statyny zwiększają ekspresję śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (NOS) w hodowli ludzkich komórek śródbłonna poprawiając jego funkcję [22,47]. Statyny nasilają także transkrypcję ABCA1 w komórkach monocytoidalnych i hepatocytach, co nasila wyrzut cholesterolu z komórki do apolipoproteiny AI i HDL.

Niejednoznaczność wyników badań nad wpływem statyn na ekspresję receptora CD 36 wskazuje na konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku.

Oprócz prac nad wpływem statyn na ekspresję receptora CD 36, zbadano także wpływ niacyny – jednego z najstarszych leków hipolipemizujących na ekspresję tego receptora. Wykazano, że niacyna zwiększa ekspresję receptora CD36, a ponadto stymuluje wytwarzanie prostaglandyny D2 – głównego produktu komórek monocytoidalnych. Jej głównym metabolitem jest 15-deoksy $\Delta^{12,14}$ -prostaglandyna J2 – jeden z silniejszych agonistów PPAR γ . Niacyna stymuluje transkrypcję PPAR γ , translokację do jądra i zwiększa całkowitą zawartość PPAR γ w komórkach monocytoidalnych, zwiększając ekspresję CD36 [65].

RECEPTOR CD36 I BIAŁKO AMYLOIDOWE – UDZIAŁ W PROCESIE MIAŻDŻYCOWYM

Niedawno wykazano, że receptor CD36 – poza wiązaniem opisanych wcześniej ligandów – wychwytyuje także β -amyloid [42,43]. Zgodnie z obecną wiedzą, o czym już wyżej wspomniano, jednym z pierwszych procesów aterogenezy jest utlenianie lipoprotein w ścianie naczynia tętniczego, co stymuluje napływ monocytów, które wychwytyują cząsteczki toksycznych lipidów poprzez receptory zmiatające, w tym CD36. Do dziś nie rozstrzygnięto jednak, co jest pierwszym czynnikiem, który powoduje napływ komórek zapalnych do ściany naczyniowej: czy jest to lipid czy białko. Wiadomo jednak, że poprzez wiązanie β -amyloidu receptor CD36 może inicjować prozapalną kaskadę sygnalizacyjną, która reguluje napływ komórek zapalnych oraz aktywację i wydzielanie zapalnych mediatorów. Pierwsze doniesienia o roli receptora CD36 w wiązaniu białka amyloidowego pochodzą z badań nad chorobą Alzheimera [13]. W chorobie tej dochodzi do nadmiernego odkładania się β -amyloidu w mózgu i ścianie naczyń krwionośnych, co wywołuje przewlekły proces zapalny, przyczyniając się do neurotoksyczności i śmierci komórek. Związanie się β -amyloidu z receptorem CD36 powoduje wytwarzanie i uwolnienie cytokin i chemokin związanych z odpowie-

dział zapalną, takich jak IL-1 β , TNF- α , MCP-1, MIP-1 α i β oraz MIP-2. Te same cytokiny zidentyfikowano w ludzkich i mysich blaszkach miażdżycowych. Powstała hipoteza, że blaszka miażdżycowa może zawierać włókienka amyloidu, które odpowiadają za inicjację prozapalnej kaskady przez związanie z receptorem CD36 w makrofagach gromadzących się w ścianie naczynia [42]. Jednym z białek – źródeł amyloidu jest apolipoproteina C II (apoC II) – składnik VLDL i HDL, kofaktor lipazy lipoproteinowej. Jest to 79-aminokwasowe białko tworzące włókienka amyloidu w warunkach beztlenowych i układające się w strukturę β -karkti. Nie tylko apoCII może tworzyć takie struktury, ale także inne apolipoproteiny, takie jak apoAI, apoAII, apoAIV, apoE. Ostatnio wykazano, że receptory jądrowe LXR α i LXR β (które są aktywowane przez oksysterole zawarte w przeładowanych cholesterolem komórkach piankowatych) indukują ekspresję genów apoE, apoCI, apoCIV, apoCII. Zwiększenie ekspresji genów LXR w komórkach piankowatych może powodować zwiększenie sekrecji tych apolipoprotein w ścianie naczynia i powodować tworzenie włókien amyloidu. Wykazano, że włókienka apoCII wiążą się z receptorem CD36 i inicjują kaskadę podobną do tej wywołanej przez β -amyloid. Ta kaskada poprzez CD36 powoduje sekwencyjną aktywację kinazy Src Lyn i p44/42 MAPK. „Dzikie” makrofagi po ekspozycji na włókienka apoCII wykazują ekspresję markerów aktywowanych makrofagów – włączając wytwarzanie reaktywnego tlenu i ekspresję genów TNF- α . Nie stwierdzono takiej reakcji w przypadku makrofagów pozbawionych receptora CD36. W ludzkich tętnicach wieńcowych apoCII wykryto w obszarach, które barwiły się na obecność amyloidu i markery makrofagów. Może to wskazywać na potencjalny mechanizm, poprzez który interakcja receptora CD36 z włókiemkami amyloidu może sprzyjać procesowi zapalnemu w miażdżycy. Włókna amyloidu z apoAI również były wykryte w płytkach miażdżycowych, stwierdzono je m.in. w 16–59% blaszek w aorcie. Inne białka

również są zdolne do tworzenia amyloidu, np. β -amylina i α 1-antytrypsyna i one również były wykrywane w ludzkich blaszkach miażdżycowych [17,42]. Powyższe doniesienia na temat interakcji receptora CD36 z włókiemkami amyloidu i znaczenia tego procesu w aterogenezie wymagają dalszych badań.

PODSUMOWANIE

Powikłania miażdżycy, takie jak choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze, udar niedokrwienny mózgu, to najczęstsze przyczyny śmierci w społeczeństwach rozwiniętych. Badania ostatnich lat, szczególnie z zakresu genetyki i biologii molekularnej przyczyniły się do poznania niektórych mechanizmów odpowiedzialnych za powstanie i rozwój miażdżycy, choć nadal wiele procesów nie zostało ostatecznie wyjaśnionych, w tym zjawiska, które zapoczątkowują proces tworzenia blaszki miażdżycowej. Poznanie ich umożliwiłoby ustalenie optymalnych metod zapobiegania i leczenia miażdżycy. Wyniki badań nad rolą receptora CD36 w procesie miażdżycowym wskazują na ważny udział tej cząstki w patogenezie miażdżycy. Prace eksperymentalne na modelach zwierzęcych wykazały, że brak receptora CD36 na powierzchni monocytów może hamować rozwój miażdżycy. Badania te zwróciły uwagę na niedocenianą wcześniej rolę tego receptora w procesie aterogenezy i zapoczątkowały wiele innych doświadczeń, w tym badania u ludzi. Wykazano, że receptor CD36 jest obecny w płytkach miażdżycowych i uszkodzonej tkance naczyniowej. Poznano już niektóre mechanizmy molekularne odpowiedzialne za regulację ekspresji tych receptorów. Konieczne są jednak dalsze prace nad udziałem receptora CD36 w patogenezie miażdżycy, a szczególnie te dotyczące wpływu leków, które hamując ekspresję tego receptora będą wykazywały działanie hamujące aterogenezę. Wyniki tych badań mogą mieć w przyszłości podstawowe znaczenie w zapobieganiu i leczeniu miażdżycy.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adams M., Reginato J., Shao D., Lazar M., Chatterjee V.K.: Transcriptional activation by peroxisome proliferator-activated receptor γ is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated kinase site. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 5128–5132
- [2] Armstrong L.C., Bornstein P.: Thrombospondins 1 and 2 function as inhibitors of angiogenesis. *Matrix Biol.*, 2003; 22: 63–71
- [3] Bellosta S., Ferri N., Bernini F.: Non-lipids-related effects of statins. *Ann. Med.*, 2000; 32: 164–176
- [4] Blumenthal R.S.: Statins: effective antiatherosclerotic therapy. *Am. Heart J.*, 2000; 139: 577–583
- [5] Boullier A., Gillotte K.L., Horkko S., Green S.R., Friedman P., Dennis E.A., Witztum J.L., Steinberg D., Quehenberger O.: The binding of oxidized low density lipoprotein to mouse CD36 is mediated in part by oxidized phospholipids that are associated with both the lipid and protein moieties of the lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 9163–9169
- [6] Camp H.S., Tafuri S.R.: Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ activity by mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 10811–10816
- [7] Carlquist J.F., Muhlestein J.B., Horne B.D., Hart N.I., Lim T., Habashi J., Anderson J.G., Anderson J.L.: Cytomegalovirus stimulated mRNA accumulation and cell surface expression of the oxidized LDL scavenger receptor, CD36. *Atherosclerosis*, 2004; 177: 53–59
- [8] Chawla A., Barak Y., Nagy L., Liao D., Tontonoz P., Evans R.M.: PPAR- γ dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nat. Med.*, 2001; 7: 48–52
- [9] Chen Z., Ishibashi S., Perrey S., Osuga J., Gotoda T., Kitamine T., Tamura Y., Okazaki H., Yahagi N., Iizuka Y., Shionoiri F., Ohashi K., Harada K., Shimano H., Nagai R., Yamada N.: Troglitazone inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice: pleiotropic effects on CD36 expression and HDL. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 372–377
- [10] Chinetti G., Lestavel S., Bocher V., Remaley A.T., Neve B., Torra I.P., Teissier E., Minnich A., Jaye M., Duverger N., Brewer H.B., Fruchart J.C., Clavey V., Staels B.: PPAR- α and PPAR- γ activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat. Med.*, 2001; 7: 53–58
- [11] Collins A.R., Meehan W.P., Kintscher U., Jackson S., Wakino S., Noh G., Palinski W., Hsueh W.A., Law R.E.: Troglitazone inhibits formation of early atherosclerotic lesions in diabetic and nondiabetic low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 365–371
- [12] Connelly M.A., Klein S., Azhar S., Abumrad N., Williams D.L.: Comparison of class B scavenger receptors, CD36 and scavenger receptor BI (SR-BI), shows that both receptors mediate high density lipoprotein-cholesteryl ester selective uptake but SR-BI exhibits a unique enhancement of cholesteryl ester uptake. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 41–47
- [13] Coraci I.S., Husemann J., Berman J.W., Hulette C., Dufour J.H., Campanella G.K., Luster A.D., Silverstein S.C., El Khoury J.B.: CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to β -amyloid fibrils. *Am. J. Pathol.*, 2002; 160: 101–112

- [14] de Winther M.P.J., Hofker M.H.: Scavenging new insights into atherogenesis. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1039–1041
- [15] Dressman J., Kincer J., Matveev S.V., Guo L., Greenberg R.N., Guerin T., Meade D., Li X.A., Zhu W., Uittenbogaard A., Wilson M.E., Smart E.J.: HIV protease inhibitors promote atherosclerotic lesion formation independent of dyslipidemia by increasing CD36-dependent cholesterol ester accumulation in macrophages. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 389–397
- [16] Durrington P.N., Mackness B., Mackness M.I.: Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 473–480
- [17] El Khoury J.B., Moore K.J., Means T.K., Leung J., Terada K., Toft M., Freeman M.W., Luster A.D.: CD36 mediates the innate host response to β -amyloid. *J. Exp. Med.*, 2003; 197: 1657–1666
- [18] Febbraio M., Abumrad N.A., Hajjar D.P., Sharma K., Cheng W., Pearce S.F.A., Silverstein R.L.: A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 19055–19062
- [19] Febbraio M., Guy E., Silverstein R.L.: Stem cell transplantation reveals that absence of macrophage CD36 is protective against atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 2333–2338
- [20] Febbraio M., Hajjar D.P., Silverstein R.: CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 785–791
- [21] Febbraio M., Podrez E.A., Smith J.D., Hajjar D., Hazen S.L., Hoff H.F., Sharma K., Silverstein R.L.: Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1049–1056
- [22] Fuhrman B., Koren L., Volkova N., Keidar S., Hayek T., Aviram M.: Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes. *Atherosclerosis*, 2002; 164: 179–185
- [23] Grattan M.T., Moreno-Cabral C.E., Stames V.A., Oyer P.E., Stinson E.B., Shumway N.E.: Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. *JAMA*, 1989; 261: 3561–3566
- [24] Greenwalt D.E., Lipsky R.H., Ockenhouse C.F., Ikeda H., Tandon N.N., Jamieson G.A.: Membrane glycoprotein CD36: a review of its roles in adherence, signal transduction, and transfusion medicine. *Blood*, 1992; 80: 1105–1115
- [25] Greenwalt D.E., Watt K.W., So O.Y., Jiwani N.: PAS IV, an integral membrane protein of mammary epithelial cells, is related to platelet and endothelial cell CD36 (GPIV). *Biochemistry*, 1990; 29: 7054–7059
- [26] Han J., Hajjar D.P., Febbraio M., Nicholson A.C.: Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 21654–21659
- [27] Han J., Hajjar D.P., Taurus J.M., Feng J., Gotto A.M., Nicholson A.C.: Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and TGF- β 2 decrease expression of CD36, the type B scavenger, through mitogen-activated protein kinase phosphorylation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 1241–1246
- [28] Han J., Hajjar D.P., Taurus J.M., Nicholson A.C.: Cellular cholesterol regulates expression of the macrophage type B scavenger receptor, CD36. *J. Lipid Res.*, 1999; 40: 830–838
- [29] Han J., Hajjar D.P., Zhou X., Gotto A.M.Jr., Nicholson A.C.: Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ -mediated gene expression. A new mechanism of action for high density lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 23582–23586
- [30] Han J., Zhou X., Yokoyama T., Hajjar D.P., Gotto A.M., Nicholson A.C.: Pitavastatin downregulates expression of the macrophage type B scavenger receptor, CD36. *Circulation*, 2004; 17: 790–796
- [31] Hrboticky N., Drande G., Hapfelmeier G., Lorenz R., Weber P.C.: Lovastatin decreases the receptor-mediated degradation of acetylated and oxidized LDLs in human blood monocytes during the early stage of differentiation into macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 1267–1275
- [32] Hsieh E., Zhou Y.F., Paigen B., Johnson T.M., Burnett M.S., Epstein S.E.: Cytomegalovirus infection increases development of atherosclerosis in Apolipoprotein-E knockout mice. *Atherosclerosis*, 2001; 156: 23–28
- [33] Huang J.T., Welch J.S., Ricote M., Binder C.J., Willson T.M., Kelly C., Witztum J.L., Funk C.D., Conrad D., Glass C.K.: Interleukin-4-dependent production of PPAR- γ ligands in macrophages by 12/15-lipoxygenase. *Nature*, 1999; 400: 378–382
- [34] Huang Y., Jaffa A., Koskinen S., Takei A., Lopes-Virella M.F.: Oxidized LDL-containing immune complexes induce Fc gamma receptor I-mediated mitogen-activated protein kinase activation in THP-1 macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 1600–1607
- [35] Huang Y., Mironova M., Lopes-Virella M.F.: Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 2640–2647
- [36] Huh H-Y., Pearce S.F.A., Yesner L.M., Schindler J.L., Silverstein R.L.: Regulated expression of CD36 during monocyte-to-macrophage differentiation: potential role of CD36 in foam cell formation. *Blood*, 1996; 87: 2020–2028
- [37] Kashiwagi H., Tomiyama Y., Kosugi Y., Shiraga M., Lipsky R., Kanayama Y., Kurata Y., Matsuzawa Y.: Identification of the molecular defects in a subject with type I CD36 deficiency. *Blood*, 1994; 83: 3545–3552
- [38] Keidar S., Aviram M., Maor I., Oiknine J., Brook J.G.: Pravastatin inhibits cellular cholesterol synthesis and increases low density receptor activity in macrophages: *in vitro* and *in vivo* studies. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1994; 38: 513–519
- [39] Kunjathoor V.V., Febbraio M., Podrez E.A., Moore K.J., Andersson L., Koehn S., Rhee J.S., Silverstein R., Hoff H.F., Freeman M.W.: Scavenger receptors class A-III and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 49982–49988
- [40] Li A.C., Brown K.K., Silvestre M.J., Willson T.M., Palinski W., Glass C.K.: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J. Clin. Invest.*, 2000; 106: 523–531
- [41] Mazzone T.: Scavenger receptors in atherosclerosis. New answers, new questions. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 2506–2508
- [42] Medeiros L.A., Khan T., El Khoury J.B., Pham C.L.L., Hatters D.M., Howlett G.J., Lopez R., O'Brien K.D., Moore K.J.: Fibrillar amyloid protein present in atheroma activates CD36 signal transduction. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 10643–10648
- [43] Moore K.J., El Khoury J., Medeiros L.A., Terada K., Geula C., Luster A.D., Freeman M.W.: A CD36-initiated signaling cascade mediates inflammatory effects of β -amyloid. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 47373–47379
- [44] Moore K.J., Rosen E.D., Fitzgerald M.L., Randow F., Andersson L.P., Altshuler D., Milstone D.S., Mortensen R.M., Spiegelman B.M., Freeman M.W.: The role of PPAR- β in macrophage differentiation and cholesterol uptake. *Nat. Med.*, 2001; 7: 41–47
- [45] Nagy L., Tontonoz P., Alvarez J.G., Chen H., Evans R.M.: Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR β . *Cell*, 1998; 93: 229–240
- [46] Nakagawa T., Nozaki S., Nishida M., Yakub J.M., Tomiyama Y., Nakata A., Matsumoto K., Funahashi T., Kameda-Takemura K., Kurata Y., Yamashita S., Matsuzawa Y.: Oxidized LDL increases and interferon- γ decreases expression of CD36 in human monocyte-derived macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 1350–1357
- [47] Nakamura T., Saito Y., Ohyama Y., Uchiyama T., Sumino H., Kurabayashi M.: Effect of cerivastatin on endothelial dysfunction and aortic CD36 expression in diabetic hyperlipidemic rats. *Hypertens. Res.*, 2004; 27: 589–598
- [48] Nakata A., Nakagawa Y., Nishida M., Nozaki S., Miyagawa J., Nakagawa T., Tamura R., Matsumoto K., Kameda-Takemura K., Yamashita S., Matsuzawa Y.: CD36, a novel receptor for oxidized low-density lipoproteins, is highly expressed on lipid-laden macrophages in human atherosclerotic aorta. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 1333–1339
- [49] Nicholson A.C.: Expression of CD36 in macrophages and atherosclerosis. the role of lipid regulation of PPAR γ signaling. *Trends Cardiovasc. Med.*, 2004; 14: 8–12
- [50] Nicholson A.C., Frieda S., Pearce A., Silverstein R.L.: Oxidized LDL binds to CD36 on human monocyte-derived macrophages and transfected cell lines. Evidence implicating the lipid moiety of the lipoprotein as the binding site. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995; 15: 269–275
- [51] Nicholson A.C., Hajjar D.P.: CD36, oxidized LDL and PPAR γ : pathological interactions in macrophages and atherosclerosis. *Vasc. Pharmacol.*, 2004; 41: 139–146
- [52] Nieto F.J., Adam E., Sorlie P., Farzdegan H., Melnick J.L., Comstock G.W., Szklo M.: Cohort study of cytomegalovirus infection as a risk factor for carotid intimal-media thickening, a measure of subclinical atherosclerosis. *Circulation*, 1996; 94: 922–927

- [53] Nozaki S., Kashiwagi H., Yamashita S., Nakagawa T., Kostner B., Tomiyama Y., Nakata A., Ishigami M., Miyagawa J., Kameda-Takemura K., Kurata Y., Matsuzawa Y.: Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 1859–1865
- [54] Osterud B., Bjorklid E.: Role of monocytes in atherogenesis. *Physiol. Rev.*, 2003; 83: 1069–1112
- [55] Paraskevas F.: Clusters of differentiation. W: *Wintrobe's Clinical Hematology* t.I red.: Greer J.P., Foerster J., Lukens J.N., Rodgers G.M., Paraskevas F., Glader B. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia USA 2004; 27–98
- [56] Parthasarathy S., Fong L.G., Otero D., Steinberg D.: Recognition of solubilized apoproteins from delipidated, oxidized low density lipoprotein (LDL) by the acetyl-LDL receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1987; 84: 537–540
- [57] Periard D., Telenti A., Sudure P., Cheseaux J.J., Halfon P., Reymond M.J., Marcovina S.M., Glauser M.P., Nicod P., Darioli R., Mooser V.: Atherogenic dyslipidemia in HIV-infected individuals treated with protease inhibitors. The Swiss HIV Cohort Study. *Circulation*, 1999; 100: 700–705
- [58] Pietsch A., Erl W., Lorenz R.L.: Lovastatin reduces expression of the combined adhesion and scavenger receptor CD36 in human monocyte cells. *Biochem. Pharmacol.*, 1996; 52: 433–439
- [59] Platt N., da Silva R.P., Gordon S.: Recognizing death: the phagocytosis of apoptotic cells. *Trends Cell Biol.*, 1998; 8: 365–372
- [60] Podrez E.A., Poliakov E., Shen Z., Zhang R., Deng Y., Sun M., Finton P.J., Shan L., Febbraio M., Hajjar D.P., Silverstein R.L., Hoff H.F., Salomon R.G., Hazen S.L.: A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 38517–38523
- [61] Podrez E.A., Poliakov E., Shen Z., Zhang R., Deng Y., Sun M., Finton P.J., Shan L., Gugin B., Fox P.L., Hoff H.F., Salomon R.G., Hazen S.L.: Identification of a novel family of oxidized phospholipids that serve as ligands for the macrophage scavenger receptor CD36. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 38503–38516
- [62] Puccetti L., Sawamura T., Pasqui A.L., Pastorelli M., Auteri A., Bruni F.: Atorvastatin reduces platelet-oxidized-LDL receptor expression in hypercholesterolaemic patients. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2005; 35: 47–51
- [63] Ricote M., Li A.C., Willson T.M. Kelly C.J., Glass C.K.: The peroxisome proliferator-activated receptor- γ is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, 1998; 391: 79–82
- [64] Rigotti A., Acton S., Krieger M.: The class B scavenger receptors SR-BI and CD36 are receptors for anionic phospholipids. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 16221–16224
- [65] Rubic T., Trottmann M., Lorenz R.L.: Stimulation of CD36 and the key effector of reverse cholesterol transport ATP-binding cassette A1 in monocyte cells by niacin. *Biochem. Pharmacol.*, 2004; 67: 411–419
- [66] Ruiz-Velasco N., Dominguez A., Vega M.A.: Statins upregulate CD36 expression in human monocytes, an effect strengthened when combined with PPAR- γ ligands. Putative contribution of Rho GTPases in statins-induced CD36 expression. *Biochem. Pharmacol.*, 2004; 67: 303–313
- [67] Spiegelman B.M.: PPAR- γ in monocytes: less pain, any gain? *Cell*, 1998; 93: 153–155
- [68] Tabib A., Leroux C., Mornex J.F., Loire R.: Accelerated coronary atherosclerosis and arteriosclerosis in young human-immunodeficiency – virus-positive patients. *Coron. Artery. Dis.*, 2000; 11: 41–46
- [69] Tontonoz P., Nagy L., Alvarez J.G., Thomazy V.A., Evans R.M.: PPAR γ promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell*, 1998; 93: 241–252
- [70] Vaughan C.J., Gotto A.M.Jr., Basson C.T.: The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 35: 1–10
- [71] Weinberg J.B.: Mononuclear phagocyte antigens and receptors. W: *Wintrobe's Clinical Hematology* t.I red.: Greer J.P., Foerster J., Lukens J.N., Rodgers G.M., Paraskevas F., Glader B. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia USA, 2004; 349–386
- [72] Xue J.C., Schwarz E.J., Chawla A., Lazar M.A.: Distinct stages in adipogenesis revealed by retinoid inhibition of differentiation after induction of PPAR γ . *Mol. Cell. Biol.*, 1996; 16: 1567–1575
- [73] Yesner L.M., Huh H.Y., Pearce S.F., Silverstein R.L.: Regulation of monocyte CD36 and thrombospondin-1 expression by soluble mediators. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1996; 16: 1019–1025