



# Ekspresja receptora CD36 w monocytach krwi obwodowej u kobiet z otyłością brzuszną

Receptor CD36 expression on peripheral blood monocytes in women with visceral obesity

Justyna Kulczkowska-Plaksej, Grażyna Bednarek-Tupikowska, Alicja Filus

Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, Wrocław

## Streszczenie

**Wstęp:** Receptor zmiatający CD36 bierze udział w tworzeniu komórek piankowatych i powstawaniu blaszki miażdżycowej. Wiadomo, że otyłość brzuszna jest znaczącym czynnikiem ryzyka przyspieszonej miażdżycy. W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych na temat wpływu otyłości androidalnej na ekspresję receptora CD36 u otyłych kobiet.

Celem pracy była ocena wpływu otyłości androidalnej na ekspresję receptora CD36 w monocytach krwi obwodowej u kobiet w porównaniu z ekspresją tego receptora w grupie osób z należną masą ciała.

**Materiał i metody:** U 30 kobiet w wieku 25–45 lat (śr. 34,03 ± 11,14) z otyłością brzuszną zbadano ekspresję receptora CD36 w monocytach krwi obwodowej (za pomocą cytometrii przepływowej) i porównano z ekspresją u 15 zdrowych ochotniczek z należną masą ciała w wieku 25–45 lat (śr. 31,93 ± 2,43). U kobiet przeprowadzono badanie lekarskie z pomiarem parametrów antropometrycznych: masy ciała, obwodu talii, bioder i obliczono wskaźnik masy ciała (BMI), wskaźnik talia-biodra (WHR). Oznaczono stężenie glukozy i insuliny podczas standardowego testu doustnego obciążenia glukozą (OGTT). Obliczono wskaźniki wrażliwości na insulinę — HOMA, FIRI i QUICKI.

**Wyniki:** Ekspresja receptora CD36 u otyłych kobiet była z namiennie niższa (śr. 62,99 ± 18,07) niż u nieotyłych (śr. 82,5 ± 22,93). Nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji między ekspresją receptora CD36 a masą ciała, BMI, obwodem talii i WHR oraz badanymi parametrami insulinooporności i insulino-wrażliwości.

**Wnioski:** Otyłe kobiety mają znacząco niższą ekspresję receptora CD36 w monocytach krwi obwodowej niż kobiety z należną masą ciała. Nie ma związku między obniżoną ekspresją CD36 a BMI, obwodem talii, WHR i wskaźnikami insulinooporności. (*Endokrynol Pol* 2008; 59 (6): 483–489)

**Słowa kluczowe:** receptor zmiatający CD36, miażdżycy, otyłość brzuszna u kobiet

## Abstract

**Introduction:** Receptor CD36 is involved in foam cells formation and in atherogenesis. Visceral obesity is important risk factor of accelerated atherosclerosis. There are no data about the role of CD36 in pathogenesis of atherosclerosis in women with visceral obesity.

The aim of the study was to assess the impact of visceral obesity on CD36 expression on peripheral blood monocytes.

**Material and methods:** CD36 expression was evaluated (by flow cytometry) in study population consisted of 30 women aged 25–45 years (mean 34.03 ± 11.14) with visceral obesity. Control group consisted of 15 nonobese women aged 25–45 years (mean 31.93 ± 2.43). Physical examination was performed with body mass, BMI, waist and hip circumferences, waist to hip ratio evaluation. Oral glucose tolerance test was performed with estimation of glucose and insulin concentrations.

**Results:** Body mass, BMI, WHR, waist and hip circumferences were significantly higher in obese than in nonobese women. Glucose and insulin concentrations in 0', 30' 60' of OGTT as well as HOMA and FIRI values were significantly higher in obese than in nonobese women. Expression of CD36 on monocytes was significantly lower in obese women (mean 62.99 ± 18.07) than in controls (mean 82.5 ± 22.93). There were not significant correlations between CD36 expression and BMI, WHR and IR indexes.

**Conclusions:** Expression of scavenger receptor CD36 on monocytes in obese women is significantly lower than in lean individuals. This observation needs further investigations. (*Pol J Endocrinol* 2008; 59 (6): 483–489)

**Key words:** scavenger receptor CD36, atherosclerosis, visceral obesity

## Wstęp

Receptor CD36 jest błonowym receptorem „zmiatającym” (*scavenger*), występuje na powierzchni komórek śródbłonna naczyniowego, adipocytów, miocytów, kar-

diomiocytów, płytek krwi, monocytów i makrofagów [1–3]. Bierze udział w wychwycie utlenionych cząsteczek LDL (*oxyLDL*), tworzeniu komórek piankowatych, stanowiących podstawowy składnik blaszek miażdżycowych [1, 2]. Receptor ten pełni też inne funkcje bio-

 Dr med. Justyna Kulczkowska-Plaksej, Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, e-mail: [kulczk@interia.pl](mailto:kulczk@interia.pl)

logiczne: w procesach odporności, usuwaniu martwych komórek, w wychwycie zakażonych zarodźcami malarii erytrocytów, transporcie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [2].

Receptor ten bierze udział w patogenezie miażdżycy [4–7]. W badaniach eksperymentalnych u myszy stwierdzono, że brak receptora CD36 hamuje rozwój miażdżycy [4, 5, 8]. W innych doniesieniach nie potwierdzono jednoznacznie tych obserwacji [9]. Dane w piśmiennictwie na temat roli receptora CD36 w aterogenezie u ludzi są rozbieżne. Wykazano nasiloną ekspresję CD36 na powierzchni makrofagów wchodzących w skład blaszek miażdżycowych w zmienionej miażdżycowo ścianie tętnicy piersiowej [6]. Z kolei wyniki innych badań nie wskazują na istnienie bezpośredniego związku między zwiększoną ekspresją receptora CD36 a większym nasileniem miażdżycy [9–15].

Wiadomo, że otyłość brzuszna stanowi znaczący czynnik ryzyka przyspieszonej miażdżycy. Nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej brzusznej działa aterogennie przez wiele mechanizmów, szczególnie wywołując insulinooporność z wtórną hiperinsulinemią i aterogenną dyslipidemię, poprzez nasilony proces subklinicznego zapalenia, działanie prozakrzepowe i zwiększoną produkcję wolnych rodników [16]. Otyłość brzuszna nasila proces zapalny towarzyszący miażdżycy poprzez wzrost stężenia cytokin prozapalnych [16], a także wzmożoną syntezę proaterogennych adipocytokin, takich jak leptyna i rezystyna oraz obniża stężenie ateroprotekcyjnej cytokiny — adiponektyny [16].

Nie ma jednoznacznych danych oceniających, czy otyłość wpływa także na ekspresję receptora CD36. Dlatego celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu otyłości na ekspresję receptora CD36 u otyłych kobiet w porównaniu z ekspresją tego receptora w grupie kobiet z należną masą ciała.

## Material i metody

Grupę badaną (A) stanowiło 30 kobiet w wieku 25–45 lat, które były diagnozowane w Klinice Endokrynologii,

Diabetologii i Leczenia Izotopami we Wrocławiu z powodu otyłości trzewnej. Grupę kontrolną (K) stanowiło 15 zdrowych ochotniczek z należną masą ciała. Charakterystykę kliniczną badanych grup przedstawiono w tabeli I. W ostatnich 6 miesiącach badane nie stosowały specjalnej diety, nie przyjmowały żadnych leków, nie paliły tytoniu, alkohol spożywały okazjnie w niewielkich ilościach. Kryterium wyłączenia z badania stanowiło stwierdzenie jakichkolwiek schorzeń lub przyjmowanie leków, w tym środków antykoncepcyjnych.

Oceniono masę ciała, wzrost, obwód talii (W) na wysokości pępka, obwód bioder (H) na wysokości krętarzy większych, a także zbadano ciśnienie tętnicze (skurczowe — SBP [systolic blood pressure], rozkurczowe — DBP [diastolic blood pressure]), które mierzono 3-krotnie i wyliczono średnią.

Krew do oznaczeń stężenia glukozy i insuliny pobierano z żyły łokciowej, w warunkach spoczynkowych, między godziną 8.30 a 10.00, na czczo, co najmniej 12 godzin od ostatniego posiłku.

Kobiety zostały poinformowane ustnie i pisemnie o celu i metodzie badań i wyraziły zgodę na nie, podpisując „Formularz świadomej zgody na badania” zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Stężenie glukozy we krwi oznaczano metodą enzymatyczną przy użyciu zestawów firmy Dade Behring Marburg GmbH, Niemcy. Zakres prawidłowych stężeń wynosił 65–105 mg/dl.

Stężenie insuliny we krwi oznaczano metodą chemifluorescencyjną przy użyciu aparatu Immulite 2000 firmy DPC, Los Angeles, Stany Zjednoczone. Wartości prawidłowe na czczo wynosiły 6–25  $\mu$ j.m./ml.

Na podstawie wartości stężenia glukozy na czczo ( $G_0$ ) i insuliny na czczo ( $I_0$ ) obliczano wartość wskaźników insulinooporności: HOMA [17] i FIRI [18] oraz insulinooporności QUICKI [19].

### Metoda oznaczenia gęstości receptora CD36

Metoda badania gęstości receptora CD36 na powierzchni monocytów krwi obwodowej została opisana przez

Tabela I. Charakterystyka kliniczna grupy kobiet otyłych (A) i grupy kontrolnej (K)

Table I. Clinical characteristics of obese women (A) and control (K) groups

Grupa	Wiek (lata)	Masa ciała [kg]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	W [cm]	H [cm]	WHR	SBP [mm Hg]	DBP [mm Hg]	
A n = 30	x	34,03	92,29 <sup>a</sup>	33,54 <sup>a</sup>	99,86 <sup>a</sup>	109,31 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	118,81	74,67
	SD	± 11,14	± 18,49	± 1,49	± 11,93	± 11,55	± 0,08	± 11,42	± 8,11
K n = 15	x	31,93	58,5 <sup>a</sup>	21,14 <sup>a</sup>	67,93 <sup>a</sup>	89,27 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	114,32	78,34
	SD	± 2,43	± 3,79	± 0,61	± 2,60	± 2,12	± 0,02	± 7,29	± 5,23

x — średnia, SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; BMI (body mass index) — indeks masy ciała; W — obwód talii; H — obwód bioder; WHR (waist-hip ratio) — wskaźnik talia-biodro; SBP (systolic blood pressure) — skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP (diastolic blood pressure) — rozkurczowe ciśnienie tętnicze; różnice istotne statystycznie między grupami (p < 0,05); a — A i K

Griffina i wsp. [20]. Do badania wykorzystano przeciwciała firmy Becton Dickinson Pharmingen, Oxford, Wielka Brytania. Przeciwciała mysie anti-CD14 oznakowane fikoerytryną oraz anti-CD45 oznakowane izotiocyanianem fluoresceiny służyły do identyfikacji monocytów w próbkach krwi obwodowej. Do oznaczenia gęstości CD36 służyło przeciwciała mysie anti-CD36 oznakowane izotiocyanianem fluoresceiny. Jako kontroli izotypowej użyto przeciwciał mysich IgG<sub>2zk</sub> oznakowanych fikoerytryną oraz IgM<sub>k</sub> oznakowanych izotiocyanianem fluoresceiny. W wyniku miareczkowania ustalono najmniejszą optymalną dawkę przeciwciała, która wynosiła 5  $\mu$ l, którą następnie stosowano we wszystkich testach.

Inkubowano 50  $\mu$ l pełnej krwi obwodowej z 5  $\mu$ l przeciwciał (anti-CD45; anti-CD36 + anti-CD14; anti-CD14 + IgM<sub>k</sub>; IgM<sub>k</sub> + IgG<sub>2zk</sub>) w temperaturze pokojowej, w ciemności, przez 20 minut. Następnie hemolizowano erytrocyty przy użyciu płynu o składzie: 8,29 g NH<sub>4</sub>Cl, 0,037 g EDTA, 1 g KHCO<sub>3</sub> (na litr) przez 3 minuty, w temperaturze pokojowej. Materiał wirowano z prędkością 2500 obrotów/minutę przez 3 minuty w temperaturze 4°C. Próbkę płukano przy użyciu PBS bez jonów Ca<sup>2+</sup> i Mg<sup>2+</sup> z 0,1-procentowym roztworem NaN<sub>3</sub> i 1-procentową surowicą bydlęcą i poddawano ponownemu wirowaniu. Po odwirowaniu osad komórkowy zawieszano w 1,5 ml PBS. Pomiarów gęstości CD36 na powierzchni monocytów dokonywano przy użyciu cytometru przepływowego firmy Partec, Münster, Niemcy (wyposażonego w laser argonowy 488 nm). Dla każdej próbki analizowano 40 000 komórek przy maksymalnej prędkości przepływu 400 komórek na sekundę. Kalibrację instrumentu kontrolowano przed każdą serią pomiarów za pomocą Calibration Beads 3  $\mu$ m, Partec, Münster, Niemcy. Zaznaczano populację monocytów w barwieniu przy użyciu przeciwciał anti-CD14 w histogramie CD14 vs. SSC. Komórki z zaznaczonego obszaru analizowano pod kątem intensywności zielonej fluorescencji receptora CD36 na jednoparametrowym histogramie poprzez pomiar średniego kanału fluorescencji.

### Metody statystyczne

Przy opisie zmiennych obliczono: wartość minimalną, maksymalną, średnią i odchylenie standardowe. Do oceny rozkładu zmiennych zastosowano test Kolmogorowa-Smirnowa. Zmienne o rozkładzie normalnym opracowano przy użyciu statystyki *t*-Studenta. Zmienne o rozkładzie innym niż normalny opracowano za pomocą testu Kruskala-Wallisa, przy porównaniu niezależnych grup. Istotność statystyczną określono przy poziomie  $p < 0,05$ . Wyniki znajdujące się na granicy istotności statystycznej ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,1$ ) również były brane pod uwagę.

## Wyniki

### Charakterystyka kliniczna grup

Charakterystykę kliniczną badanych grup przedstawiono w tabeli I. Grupy kobiet zakwalifikowanych do badań nie różniły się pod względem wieku. Masa ciała, wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*), obwód talii i bioder oraz wskaźnik talia-biodra (WHR, *waist-hip ratio*) w grupie A były istotnie wyższe statystycznie niż w grupie K. Wartości SBP i DBP w poszczególnych grupach nie różniły się istotnie między sobą.

### Ekspresja receptora CD36

Ekspresję receptora CD36 na powierzchni monocytów krwi obwodowej w badanych grupach kobiet przedstawiono w tabeli II. Ekspresja receptora CD36 w grupie A była znacznie niższa niż w grupie K. Nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji między ekspresją receptora CD36 a badanymi wykładnikami otyłości (BMI, obwodem talii, bioder i WHR).

### Parametry gospodarki węglowodanowej

Stężenia glukozy i insuliny na czczo przedstawiono w tabeli III. Stężenie glukozy na czczo było wyższe u otyłych kobiet niż w grupie K. Stężenia insuliny na czczo w grupie A i w grupie K nie różniły się między sobą.

### Wskaźniki insulinooporności i insulinowrażliwości

Wartość wskaźników insulinooporności (HOMA i FIRI) oraz insulinowrażliwości (QUICKI) przedstawiono w tabeli III. Wartości wskaźników HOMA oraz FIRI wykazywały podobne tendencje — były znacząco wyższe w grupie A niż w grupie K. Nie było istotnej różnicy w wielkości wskaźnika QUICKI między grupą A i grupą K.

Nie było znaczących statystycznie korelacji między ekspresją receptora CD36 a stężeniem insuliny, gluko-

Tabela II. Ekspresja receptora CD36 na powierzchni monocytów krwi obwodowej w grupie kobiet otyłych (A) i w grupie kontrolnej (K)

Table II. Expression of CD36 receptor on the surface of peripheral blood monocytes in obese women (A) and in controls (K)

Grupa	Ekspresja receptora CD36
A n = 30	62,99 <sup>a</sup>
x	± 18,07
SD	
K n = 15	82,5 <sup>a</sup>
x	± 22,93
SD	

x — średnia, SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; różnice istotne statystycznie między grupami ( $p < 0,005$ ); a — A i K

**Tabela III.** Stężenie glukozy i insuliny na czczo oraz wartość wskaźników insulinooporności (HOMA, FIRI) i insulino-wrażliwości (QUICKI) w grupie kobiet otyłych (A) i w grupie kontrolnej (K)**Table III.** Fasting glucose and insulin levels and values of insulin resistance (HOMA, FIRI) and insulin sensitivity (Quicki) indices in obese women (A) and in controls (K)

Grupa	Stężenie glukozy na czczo [mg/dl]	Stężenie insuliny na czczo [ $\mu$ j.m./ml]	HOMA	FIRI	QUICKI
A n = 30 x SD	88,62 <sup>a</sup> ± 10,69	8,66 ± 2,91	1,92 <sup>a</sup> ± 0,72	1,73 <sup>a</sup> ± 0,65	0,352 ± 0,024
K n = 15 x SD	79,13 <sup>a</sup> ± 7,55	7,75 ± 1,69	1,51 <sup>a</sup> ± 0,33	1,36 <sup>a</sup> ± 0,28	0,361 ± 0,016

x — średnia, SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; różnice istotne statystycznie między grupami ( $p < 0,05$ ); a — A i K

zy, wartościami HOMA, FIRI i QUICKI zarówno w grupie otyłych kobiet, jak i w grupie kontrolnej.

## Dyskusja

Otyłość trzewna stanowi czynnik ryzyka rozwoju miażdżycy i cukrzycy typu 2. Z tym typem otyłości wiąże się występowanie insulinooporności, aterogennej dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego, które składają się na zespół metaboliczny i są czynnikami przyspieszającymi rozwój miażdżycy [16]. U osób z otyłością brzuszną wzrasta ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca [21], udaru i ogólnej śmiertelności [22].

Mechanizm aterogennego działania otyłości brzusznej nie został ostatecznie ustalony i pozostaje wciąż przedmiotem badań. Jednym z czynników biorących udział w tworzeniu blaszki miażdżycowej są receptory zmiatające CD36 znajdujące się na powierzchni monocytów, biorące udział w wychwytywaniu silnie aterogennych cząstek *oxy*LDL i tworzeniu komórek piankowatych. Wciąż nie wiadomo ostatecznie, jakie czynniki wpływają na ekspresję tego receptora, czy można regulować ten proces i tym samym hamować tworzenie blaszek miażdżycowych. Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy otyłość brzuszna, która jest znaczącym czynnikiem ryzyka przyspieszonej miażdżycy, wpływa na ekspresję tego receptora. Zbadano, czy masa ciała i typ otyłości wiążą się z ekspresją receptora CD36. Było to przesłanką do podjęcia badań ekspresji tego receptora w grupie młodych, zdrowych kobiet z otyłością brzuszną. Proces miażdżycowy zaczyna się wcześnie i ma charakter ciągły, dlatego już u osób w młodym wieku warto zidentyfikować czynniki ryzyka, aby wcześniej można było podjąć działania profilaktyczne. W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych o wpływie otyłości na ekspresję receptora CD36 u kobiet.

Wyniki prezentowanej pracy wykazały, że ekspresja tego receptora w grupie otyłych kobiet była znacząco niższa niż u tych z należną masą ciała. Nie stwierdzono znaczącej statystycznie korelacji między eks-

presją CD36 a masą ciała i BMI. Zatem można sądzić, że otyłość jest jednym z wielu czynników wpływających na ekspresję receptora CD36, jednak nie tylko masa ciała wpływa na nią i być może dlatego nie wykazano statystycznie znamiennej korelacji między ekspresją receptora a masą ciała i BMI. Zbadano także, czy typ otyłości, czyli dystrybucja tkanki tłuszczowej wyrażona wielkością wskaźnika WHR i wielkością obwodu talii może modyfikować ekspresję receptora CD36. Nie obserwowano istotnej korelacji między tymi wskaźnikami a ekspresją CD36, co pozwala wysunąć wnioski, że rodzaj otyłości nie ma znaczącego wpływu na ekspresję receptora.

W badanych grupach oceniono stężenie glukozy, insuliny na czczo i wyliczono wartości wskaźników insulinooporności — HOMA i FIRI oraz insulino-wrażliwości — QUICKI. Wszystkie te parametry w grupie otyłych kobiet były wyższe niż stwierdzone u tych z należną masą ciała, co wskazuje na istnienie u nich zmniejszonej wrażliwości na insulinę. Nie jest to nasiloną insulinooporność, jaką rozpoznaje się przy wartościach HOMA powyżej 2,5, jednak można stwierdzić, że badane otyłe kobiety charakteryzowały się pewnym stopniem insulinooporności w porównaniu ze zdrowymi kobietami z grupy kontrolnej. Pięć pacjentek z grupy badanej charakteryzowało się niewielką insulinoopornością wyrażoną wartością HOMA równą 2,5.

Aby zbadać, czy parametry gospodarki węglowodanowej, a także towarzysząca otyłości trzewnej hiperinsulinemia wpływają na ekspresję badanego receptora zmiatającego autorzy ocenili, czy istnieją korelacje między ekspresją CD36 a stężeniem insuliny, glukozy oraz wartościami badanych wskaźników insulinooporności i insulino-wrażliwości.

Nie stwierdzono znaczących statystycznie korelacji między ekspresją tego receptora a stężeniem glukozy i insuliny oraz wartościami wskaźników HOMA, FIRI i QUICKI. Również w grupie kobiet z należną masą ciała nie było korelacji między badanymi parametrami. Pozwala to na wysunięcie wniosku, że stężenie insuliny

i glukozy nie ma zasadniczego wpływu na ekspresję receptora CD36 w monocytach krwi obwodowej. Wydaje się jednak, że mała liczba pacjentek z insulinoopornością stwierdzoną na podstawie wartości HOMA równej 2,5 (5 osób) nie pozwala na wysunięcie jednoznacznego wniosku na temat wpływu insulinooporności na ekspresję CD36 w tej pracy. W tym celu konieczne jest zbadanie ekspresji receptora CD36 w większej liczbie osób z potwierdzoną insulinoopornością.

Uzyskany przez autorów niniejszej pracy wynik wskazujący na niższą gęstość receptora CD36 na powierzchni monocytów u otyłych kobiet jest zaskakujący w kontekście udowodnionych danych o miażdżycorodnym działaniu otyłości brzusznej i udziale receptora CD36 w procesie tworzenia blaszki miażdżycowej. Wytłumaczenie tego wyniku jest trudne. Zarówno obecne w piśmiennictwie dane dotyczące nasilenia ekspresji receptora CD36 u ludzi, jak i wyniki badań eksperymentalnych u zwierząt z indukowaną miażdżycą w kontekście roli tego receptora w aterogenezie są niejednoznaczne i niekiedy sprzeczne.

Część autorów wykazała, że niska ekspresja receptora CD36 w makrofagach jest czynnikiem zapobiegającym rozwojowi miażdżycy. Febbraio i wsp. [4] w badaniach u myszy pozbawionych receptora CD36 (myszy CD36<sup>-/-</sup>) wykazali zahamowanie rozwoju uszkodzeń miażdżycowych w ścianie naczyń krwionośnych. Wprowadzenie do krwi tych zwierząt makrofagów zawierających CD36 powodowało rozwój miażdżycy [8]. Makrofagi pochodzące od myszy CD36<sup>-/-</sup> nie gromadziły estrów cholesterolu i nie tworzyły komórek piankowatych podczas inkubacji z *oxy*LDL *in vitro* [7, 8]. Powyższe dane wskazują, że utrata ekspresji receptora CD36 w makrofagach może stanowić czynnik chroniący przed rozwojem miażdżycy.

Podobne wyniki uzyskano także u ludzi. W obrębie blaszki miażdżycowej stwierdzono obecność makrofagów z wysoką ekspresją CD36. W zdrowych, niezmiennych odcinkach tętnic ekspresja CD36 w makrofagach była bardzo niska lub wręcz nieobecna, co przemawia za proaterogennym działaniem CD36 u ludzi [6].

W piśmiennictwie są obecne także całkowicie odmienne dane. Moore i wsp. [9] w badaniach przeprowadzonych u myszy CD36<sup>-/-</sup> wykazali, że mimo zmniejszonego gromadzenia estrów cholesterolu przez makrofagi tych zwierząt, myszy te nadal miały dużą ilość komórek piankowatych w obrębie błony wewnętrznej aorty, a zdolność makrofagów do wychwytu zmodyfikowanych cząsteczek LDL nie była zredukowana. Nie stwierdzono również znaczących różnic w wielkości obszarów miażdżycy w aorcie w porównaniu z myszami dzikimi [9].

Wyniki kolejnych prac przeprowadzonych u zwierząt z genetycznie uwarunkowanym niedoborem CD36

przemawiają za tym, że receptor ten może również odgrywać rolę przeciwmiażdżycową i chronić przed wystąpieniem zaburzeń metabolicznych. Szczury z genetycznie uwarunkowanym brakiem receptora CD36 na powierzchni adipocytów charakteryzowały się nadciśnieniem tętniczym, insulinoopornością, otyłością centralną i dyslipidemią [10]. Jednak mutacji genu receptora CD36 nie stwierdzono we wszystkich liniach tych szczurów, co świadczy o tym, że wrodzony niedobór receptora CD36 nie jest jedynym elementem odpowiedzialnym za wystąpienie tych zaburzeń [10, 11, 23]. Podobnie u myszy CD36<sup>-/-</sup> stwierdzono zaburzenia metaboliczne, czyli podwyższone stężenie triglicerydów i niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych, insulinooporność i nietolerancję glukozy [4, 24, 25]. Po wprowadzeniu do komórek tych zwierząt białka receptorowego CD36 zmniejszały się insulinooporność i dyslipidemia, co pozwala stwierdzić, że genetycznie uwarunkowany niedobór receptora CD36 może sprzyjać insulinooporności i dyslipidemii [23].

Zależność między niedoborem CD36 a parametrami gospodarki lipidowej i węglowodanowej wykazano także w badaniu nad zmodyfikowanymi genetycznie myszami charakteryzującymi się insulinoopornością w obrębie mięśni szkieletowych, wątroby i tkanki tłuszczowej [26]. Po skrzyżowaniu tych zwierząt z myszami z podwyższoną ekspresją CD36 w mięśniach, powstały osobniki, u których wystąpiła poprawa insulino-wrażliwości w tkankach, niższe też były stężenia glukozy i insuliny we krwi [26].

Badania nad wrodzonym niedoborem receptora CD36 — choć mniej liczne — były przeprowadzone także z udziałem ludzi. Uzyskane wyniki potwierdzają obserwacje pochodzące z badań nad zwierzętami, że genetycznie uwarunkowany niedobór receptora CD36 może mieć działanie proaterogenne. Wykazano związek między niedoborem receptora CD36 a częstszym występowaniem insulinooporności i cukrzycy typu 2, a także innych składowych zespołu metabolicznego [12, 13, 27]. Stwierdzono także, że w grupie pacjentów z chorobą niedokrwienną serca 3-krotnie częściej niż w grupie kontrolnej występowała obniżona ekspresja CD36 [27]. Dane na temat związku między ekspresją CD36 a występowaniem zaburzeń metabolicznych u ludzi są wciąż niejednoznaczne, inni autorzy uzyskali przeciwne wyniki [28, 29]. Yanai i wsp. [28] w badaniu przeprowadzonym u 4 osób z niedoborem receptora CD36 nie stwierdzili zaburzeń tolerancji glukozy i hiperlipidemii. Podobnie Furuhashi i wsp. nie wykazali, aby defekt tego receptora znacząco wiązał się z występowaniem insulinooporności czy cukrzycy [29]. Badania dotyczące niedoboru receptora CD36 u ludzi przeprowadzono z udziałem bardzo małych grup, w związku z tym dane te mają ograniczoną wartość.

Niektórzy badacze zasugerowali, że być może rozbieżność wyników badań nad związkiem CD36 z zaburzeniami metabolicznymi i udziałem w procesie miażdżycowym wiąże się z obecnością polimorfizmu genu receptora CD36. W badaniach genetycznych wykazano zależność między polimorfizmem promotora genu *CD36* a zaburzeniami gospodarki węglowodanowej i wartością BMI [14]. Związek ten był bardziej znaczący u osób z wyższym BMI ( $> 27 \text{ kg/m}^2$ ), a także w grupie kobiet. Wysłunięto hipotezę, że określony typ polimorfizmu promotora genu *CD36*, a tym samym związane z nim zmiany struktury i ilości białka receptora CD36 przyczyniają się do zaburzeń metabolizmu glukozy i tłuszczów. Lepretre i wsp. [15] wykazali obecność rzadkiej mutacji genu *CD36* typu *non-sense* powodującej nieprawidłową aktywność białka CD36, którą powiązano z częstszym występowaniem zaburzeń insulinowrażliwości i cukrzycy typu 2.

W badaniu przeprowadzonym u mężczyzn pochodzących z Włoch stwierdzono 5 genotypów CD36, które były związane z podwyższonym stężeniem wolnych kwasów tłuszczowych we krwi, ale nie ze stężeniem glukozy [30]. Z badania tego wykluczono osoby ze stężeniem glukozy co najmniej  $7 \text{ mmol/l}$ , co mogło zamaskować prawdziwy wpływ genotypu CD36 na występowanie cukrzycy.

Przytoczone dane mogą wskazywać na istotny związek określonych polimorfizmów genu *CD36* i/lub niedoboru CD36 z częstszym występowaniem zaburzeń metabolicznych i otyłości. Być może jedną z przyczyn stwierdzonej niższej ekspresji receptora CD36 w badanej przez autorów niniejszej pracy grupie otyłych kobiet jest obecność w polskiej populacji określonego polimorfizmu genu receptora CD36, związanego ze zmianą ilości wytwarzanego receptora i występowaniem otyłości. Nie można także wykluczyć, że potencjalny związek czynnika genetycznego z ekspresją receptora CD36 może dotyczyć płci żeńskiej, podobnie jak miało to miejsce w pracy Corpeleijn i wsp. [14]. Wydaje się, że potrzebne są dalsze badania, a szczególnie badania genetyczne nad polimorfizmem genu receptora CD36. Ponadto wskazane byłoby przeprowadzenie badań ekspresji receptora nie w monocytach krwi obwodowej, a w makrofach ściany naczyń. Makrofagi znajdujące się w obrębie ściany naczyńia włączone są w sieć zależności, mających miejsce w procesie aterogenezy, w związku z czym rezultatów badań dotyczących makrofagów krwi nie można odnosić bezpośrednio do badań nad monocytami i odwrotnie.

## Wnioski

Podsumowując, można stwierdzić, że młode, zdrowe, ale otyłe kobiety charakteryzują się obniżoną ekspresją receptora CD36 w monocytach krwi, która nie zależy od stopnia i typu otyłości ani parametrów gospodarki węglowodanowej. Wyniki te są zaskakujące, ale niezwykle interesujące i jako takie wymagają dalszych badań.

## Piśmiennictwo

- Han J, Hajjar DP, Febbraio M i wsp. 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.
- Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein R. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest* 2001; 108: 785–791.
- Nicholson AC. Expression of CD36 in macrophages and atherosclerosis. The role of lipid regulation of PPAR $\gamma$  signaling. *Trends Cardiovasc Med* 2004; 14: 8–12.
- Febbraio M, Abumrad NA, Hajjar DP i wsp. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism. *J Biol Chem* 1999; 274: 19055–19062.
- Febbraio M, Podrez EA, Smith JD i wsp. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest* 2000; 105: 1049–1056.
- Nakata A, Nakagawa Y, Nishida M i wsp. CD36, a novel receptor for oxidized lowdensity lipoproteins, is highly expressed on lipid-laden macrophages in human atherosclerotic aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1333–1339.
- Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S i wsp. Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36 — deficient subjects. *J Clin Invest* 1995; 96: 1859–1865.
- Febbraio M, Guy E, Silverstein RL. Stem cell transplantation reveals that absence of macrophage CD36 is protective against atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2333–2338.
- Moore KJ, Kunjathoor VV, Koehn SL. Loss of receptor-mediated lipid uptake via scavenger receptors A or CD36 pathways does not ameliorate atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *J Clin Invest* 2005; 115: 2192–2201.
- Aitman TJ, Glazier AM, Wallace CA i wsp. Identification of CD36 (fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nat Genet* 1999; 21: 76–83.
- Aitman TJ. CD36, insulin resistance, and coronary heart disease. *Lancet* 2001; 357: 651–652.
- Hughes RI, Aitman TJ. Genetics of the metabolic syndrome and implications for therapy. *International Congress Series* 2004; 1262: 224–229.
- Miyaoka K, Kuwasako T, Hirano K i wsp. CD36 deficiency associated with insulin resistance. *Lancet* 2001; 357: 686–687.
- Corpeleijn E, van der Kellen CJH, Knijshoop M i wsp. Direct association of a promoter polymorphism in the CD36/FAT fatty acid transporter gene with type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Diabetes Med* 2006; 23: 907–911.
- Lepretre F, Vasseur F, Vaxillaire M i wsp. A CD36 nonsense mutation associated with insulin resistance and familial type 2 diabetes. *Human Mutat* 2004; 24: 104.
- Sowers JR. Obesity as a cardiovascular risk factor. *Am J Med* 2003; 115 (supl. 8A): 37S–41S.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS i wsp. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 42: 678–687.
- Duncan MH, Singh BM, Wise PH i wsp. A simple measure of insulin resistance. *Lancet* 1995; 346: 120–121.
- Katz A, Nambi SS, Mather K i wsp. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2402–2410.
- Griffin E, Re A, Hamel N i wsp. A link between diabetes and atherosclerosis: glucose regulates expression of CD36 at the level of translation. *Nat Med* 2001; 7: 840–846.

21. Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ i wsp. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1990; 322: 882–889.
22. Jouven X, Desnos M, Guerot C i wsp. Predicting sudden death in the population: the Paris Prospective Study. *Circulation* 1999; 99: 1978–1983.
23. Pravenec M, Landa V, Zidek VA i wsp. Transgenic rescue of defective CD36 ameliorates insulin resistance in spontaneously hypertensive rats. *Nat Genet* 2001; 27: 156–158.
24. Coburn CT, Knapp FFJ, Febbraio M i wsp. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J Biol Chem* 2000; 275: 32523–32529.
25. Hajri T, Han XX, Bonen A i wsp. Defective fatty acid uptake modulates insulin responsiveness and metabolic responses to diet in CD36-null mice. *J Clin Invest* 2002; 109: 1381–1389.
26. Heran-Milhavet L, Haluzik M, Yakar S i wsp. Muscle-specific overexpression of CD36 reverses the insulin resistance and diabetes of MKR mice. *Endocrinology* 2004; 145: 4667–4676.
27. Yamashita S, Hirano K, Kuwasako T i wsp. Physiological and pathological roles of a multi-ligand receptor CD36 in atherogenesis; insights from CD36-deficient patients. *Mol Cell Biochem* 2007; 299: 19–22.
28. Yanai H, Chiba H, Morimoto M i wsp. Type I CD36 deficiency in humans is not associated with insulin resistance syndrome. *Thromb Haemost* 2000; 83: 786.
29. Furuhashi M, Ura N, Nakata T i wsp. Insulin sensitivity and lipid metabolism in human CD36 deficiency. *Diabetes Care* 2003; 26: 471–474.
30. Ma X, Bacci S, Mlynarski W i wsp. A common haplotype at the CD36 locus is associated with high free fatty acid levels and increased cardiovascular risk in Caucasians. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 2197–2205.