

Received: 2008.02.19
Accepted: 2008.07.22
Published: 2008.08.25

Udział białek transportujących (FAT/CD36, FABPpm, FATP) w metabolizmie lipidów w mięśniach szkieletowych

The role of fatty-acid transport proteins (FAT/CD36, FABPpm, FATP) in lipid metabolism in skeletal muscles

Ewa Harasim, Agnieszka Kalinowska, Tomasz Stępek, Adrian Chabowski

Zakład Fizjologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

Mięśnie szkieletowe, stanowią tkankę, która jest w istotny sposób zaangażowana w ogólnoustrojową homeostazę substratów energetycznych, m.in. glukozy i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (LCFA). Dzięki hydrofobowej naturze LCFA mogą przechodzić do wnętrza komórek mięśniowych za pośrednictwem dyfuzji prostej zgodnie z gradientem stężeń. Wykazano jednak, że w miocytach mięśni szkieletowych dokomórkowy transport LCFA zachodzi także z udziałem białkowych przenośników. Dotąd zidentyfikowano trzy rodzaje białek wspomagających transport długołańcuchowych kwasów tłuszczowych: translokazę kwasów tłuszczowych (FAT/CD36 – fatty acid translocase), białko wiążące kwasy tłuszczowe (FABPpm – plasma membrane associated fatty acid binding protein) oraz białka transportujące kwasy tłuszczowe (FATP1-6 – fatty acid transport protein). W dotychczas przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że zarówno całkowita ekspresja, jak i translokacja transporterów długołańcuchowych kwasów tłuszczowych jest procesem podlegającym regulacji. Wykazano, że wysiłek fizyczny powoduje nie tylko zwiększenie utleniania długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, ale również warunkuje wzrost ekspresji białkowych transporterów (FAT/CD36 i FABPpm). Stwierdzono również, że wzrost aktywności skurczowej mięśni szkieletowych powoduje przemieszczanie się białek transportujących z puli wewnątrzkomórkowej do błony komórkowej, co w konsekwencji powoduje nasilenie przez-błonowego transportu dokomórkowego LCFA.

Słowa kluczowe:

mięśnie szkieletowe • długołańcuchowe kwasy tłuszczowe • FAT/CD36 • FABPpm • FATP1 • wysiłek fizyczny

Summary

Skeletal muscles display an essential role in the regulation of whole-body energy homeostasis. Because of their hydrophobic nature, long-chain fatty acids (LCFAs) can enter cells via passive diffusion along the concentration gradient across the sarcolemma. However, it was also shown recently that protein-mediated transport of LCFAs occurs in skeletal muscles. So far, three groups of long-chain fatty-acid transport proteins have been identified that facilitate LCFA transport: fatty-acid translocase (FAT/CD36), plasma membrane-associated fatty-acid binding protein (FABPpm), and fatty-acid transport proteins (FATP) 1-6. Several studies revealed that both the expression and the translocation of FA transporters is process that can be highly regulated. Recent studies had shown that exercise training increases not only the oxidation of long-chain fatty acids, but also the expression of protein transporters. It was also shown that contractile activity of skeletal muscles is able to induce the translocation of protein transporters (FAT/CD36)

from the intracellular compartment to the sarcolemma with a subsequent increase in LCFA transmembrane transport.

Key words: skeletal muscle • long-chain fatty acids • FAT/CD36 • FABPm • FATP1 • exercise training

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=868193>

Word count: 3606

Tables: –

Figures: 1

References: 80

Adres autorki: dr hab. Adrian Chabowski, Zakład Fizjologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2c, 15-222 Białystok; e-mail: adrian@amb.edu.pl

1. ROLA DŁUGOŁAŃCUCHOWYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W MIĘŚNIACH SZKIELETOWYCH

1.1 Metabolizm i energetyka mięśni szkieletowych

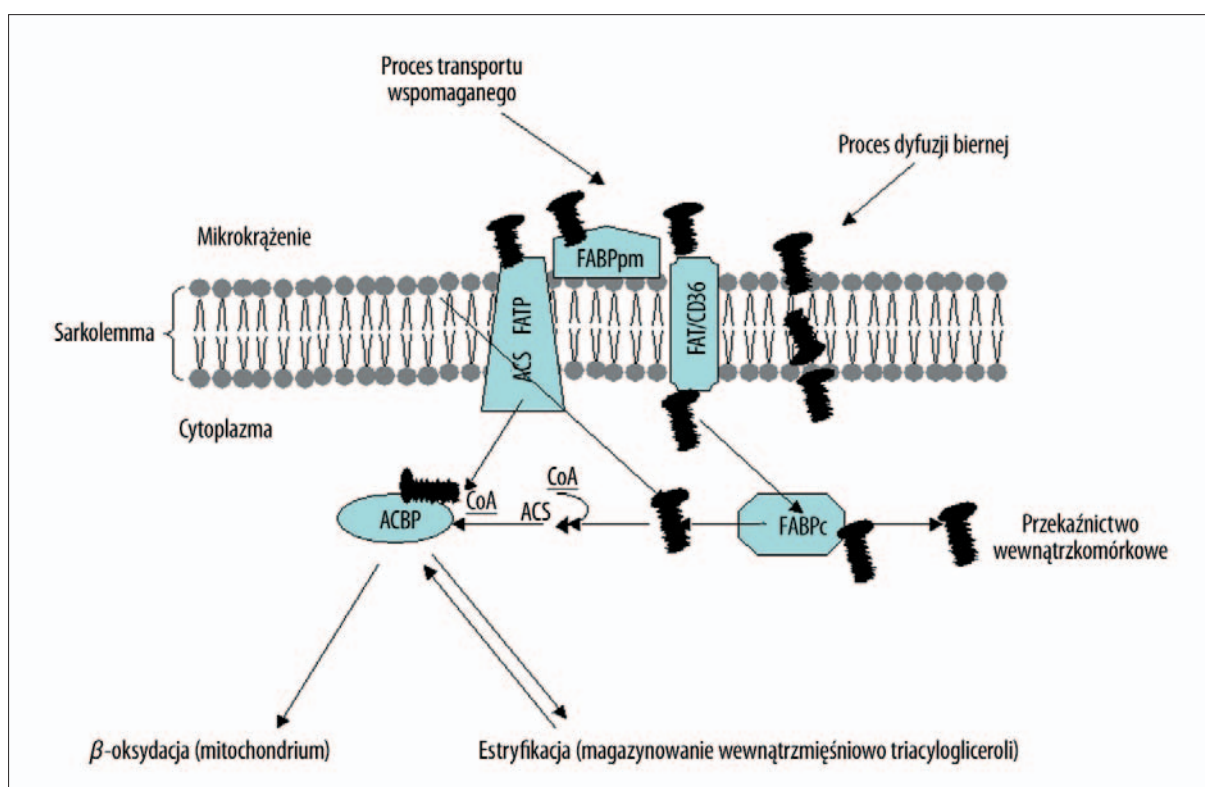
Mięśnie szkieletowe są tkanką istotnie zaangażowaną w proces utylizacji podstawowych substratów energetycznych: glukozy i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Proces aktywności skurczowej miocytów wymaga ciąglego dostarczania energii w postaci adenozynotrifosforanu (ATP), którego zasoby w mięśniach szkieletowych są niskie (około 25 mM/kg suchej tkanki mięśniowej). Takie ilości wewnątrzmięśniowego ATP zapewniają energię do wykonania jedynie kilku skurczy. W celu utrzymania odpowiedniego stężenia ATP na względnie stałym poziomie wewnątrz miocytu musi zachodzić nieustanna synteza tego nukleotydu. Początkowo, szczególnie podczas wysiłków krótkotrwałych i intensywnych, w mięśniach szkieletowych resynteza adenozynotrifosforanu zachodzi w wyniku enzymatycznego przeniesienia na ADP bogatoenergetycznej grupy fosforanowej pochodzącej z zasobów fosfokreatyny wewnątrzmięśniowej. Należy jednak podkreślić, że resynteza ATP zachodzi głównie w wyniku procesu glikolizy tlenowej. Głównym źródłem glukozy w pracujących miocytach jest glukoza pochodząca z rozkładu glikogenu wewnątrzmięśniowego, ale wykorzystywana jest również glukoza krwiopochodna. W miarę przedłużania się wysiłku fizycznego znaczna część resyntetyzowanego ATP uzyskiwana jest w wyniku przemian tlenowych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (LCFA – long chain fatty acid), dostarczanych z krwią, bądź pochodzących z hydrolyzy triacylogliceroli wewnątrzmięśniowych. W niewielkim stopniu ATP może być resyntetyzowane z aminokwasów oraz w reakcji katalizowanej poprzez kinazę adenylanową (miokinazę). Należy zaznaczyć, że gdy zapewniona jest w kurczących się miocytach odpowiednia dostawa tlenu, przemiany tlenowe, czyli procesy fosforylacji oksydacyjnej, glukozy oraz LCFA są źródłem przeważającej ilości energii. W wyniku zachodzącej glikolizy tlenowej, z jednego mola glukozy powstaje około 38 moli ATP, zaś podczas utleniania jednej cząsteczki kwasu palmitynowego (główny przedstawiciel wolnych kwasów tłuszczowych) powstaje aż 129 moli ATP. Dla porównania, w wyniku procesów beztlenowych (glikoliza beztlenowa) zachodzących z wytworzeniem kwasu mlekowego powstają jedynie dwie cząsteczki ATP. Rodzaj czynności skurczowej, czas jej trwa-


nia oraz maksymalna siła rozwijana podczas wykonywanej pracy mięśniowej ma ogromny wpływ na grupę wykorzystywanych substratów energetycznych [52].

1.2. Wykorzystanie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych

Mięśnie szkieletowe nie mogą syntetyzować *de novo* długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, a w trakcie długotrwałego wysiłku fizycznego rozkład triacylogliceroli wewnątrzmięśniowych nie zapewnia wystarczającej ich ilości. Głównym źródłem LCFA jest zatem krew [66]. W trakcie wysiłku fizycznego miocyt zużywa prawie 90% wolnych kwasów tłuszczowych pochodzących z osocza krwi, a tylko w 10% źródłem energii są zmagazynowane wewnątrzmięśniowo triacyloglicerole [26]. Do wnętrza miocytu, LCFA dostają się za pośrednictwem dyfuzji biernej, bądź też w procesie transportu zachodzącego z udziałem białkowych przenośników (patrz rozdział „Drogi transportu LCFA do komórek mięśniowych”). Po przejściu błony komórkowej, w cytoplazmie miocytów część długołańcuchowych kwasów tłuszczowych jest wiązana przez FABPc (białko wiążące kwasy tłuszczowe) i przenoszona w okolice mitochondriów, gdzie są uwalniane i łączą się z koenzymem A, z udziałem syntetazy acylo-CoA. Pozostała część długołańcuchowych kwasów tłuszczowych podlega procesom estryfikacji głównie do puli triacylogliceroli (ryc. 1). Po wejściu do miocytów niewielka ilość długołańcuchowych kwasów tłuszczowych nie jest wiązana z FABPc i podlega bezpośredniej aktywacji przez połączenie się z koenzymem A (CoA), a powstały acylo-CoA łączy się z białkiem wiążącym acylo-CoA (ACBP – acyl CoA binding protein) i jest transportowany w tej postaci do błony mitochondrialnej. Acylo-CoA łączy się następnie z karnityną za pomocą enzymu błony zewnętrznej mitochondrium, palmitoilotransferazy karnitynowej I (CPT I – carnitine palmitoyltransferase I). Powstała acylokarnityna jest przenoszona do wnętrza mitochondrium, gdzie kolejny enzym palmitoilotransferaza karnitynowa II (CPT II – carnitine palmitoyltransferase II) powoduje ponowne powstanie acylo-CoA oraz wolnej karnityny. W kolejnych etapach acylo-CoA podlega procesowi oksydacyjnej dekarboksylacji z wytworzeniem acetylo-CoA, który włączany jest do cyklu Krebsa (cykl kwasu cytrynowego) [52].

Powszechnie wiadomo, że nasilenie czynności skurczowej mięśni szkieletowych powoduje zwiększenie zapotrzebo-



Ryc. 1. Schemat przedstawiający transport i metabolizm długocząsteczkowych kwasów tłuszczowych w miocytach mięśni szkieletowych; FAT/CD36 – translokaza kwasów tłuszczowych, FABPpm – białko wiążące kwasy tłuszczowe, FATP – białko transportujące kwasy tłuszczowe, FABPc – cytoplazmatyczne białko wiążące kwasy tłuszczowe, ACS – syntetaza acylo-CoA, ACBP – białko wiążące acylo-CoA, CoA – koenzym A,  długocząsteczkowe kwasy tłuszczowe

wania energetycznego, co również zwiększa dokomórkowy transport i nasilenie utleniania LCFA [25]. Zarówno badania *in vivo*, jak i *in vitro* wykazały, że czynność skurczowa jest główną przyczyną zwiększonego dokomórkowego transportu LCFA [26,32]. Należy zaznaczyć, że długocząsteczkowe kwasy tłuszczowe w kurczących się miocytach są poddawane głównie procesom utleniania, a nie procesom estryfikacji do triacylogliceroli. Natomiast procesy estryfikacji wolnych kwasów tłuszczowych dominują przede wszystkim podczas spoczynku i w przerwach między np. treningami [23,25]. Oprócz znaczenia czysto energetycznego, należy podkreślić, że wolne kwasy tłuszczowe w wielu tkankach, w tym także w mięśniach szkieletowych, uczestniczą w innych istotnych procesach komórkowych, m.in. w syntezie błony komórkowej, posttranslacyjnej modyfikacji białek, a także w modulacji przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych [3,23,31,62,68].

2. DROGI TRANSPORTU LCFA DO KOMÓREK MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

2.1. Dokomórkowy transport LCFA

Długocząsteczkowe kwasy tłuszczowe są transportowane w osoczu głównie w połączeniu z albuminami. Z mikrokrążenia LCFA, aby dostać się do wnętrza miocytów mięśni szkieletowych, muszą pokonać wiele barier biologicznych. Wiadomo, że LCFA – ze względu na hydrofobową naturę – mogą przechodzić przez błonę komórkową

na zasadzie dyfuzji prostej (tzw. mechanizm flip-flop), zgodnie z gradientem stężeń. Ten rodzaj transportu biernego LCFA doświadczalnie wykazano głównie w oparciu o sztuczne modele błon komórkowych pozbawionych wyspecjalizowanych cząsteczek białkowych, wspomagających wychwytywanie kwasów tłuszczowych [35,51] (ryc. 1). Dalsze badania wykazały, że na proces transportu dokomórkowego LCFA składają się trzy główne etapy: adsorpcja długocząsteczkowych kwasów tłuszczowych do błony komórkowej, przejście ich przez błonę oraz uwolnienie LCFA po stronie wewnętrznej błony [36]. Na początku lat 80 ub.w. Abumrad i wsp. [2] stwierdzili, że dokomórkowe przechodzenie LCFA jest procesem podlegającym wysyceniu, co świadczyło, że w transport LCFA są zaangażowane białkowe przENOŚniki. W kolejnych badaniach *in vitro* wykazano, że zarówno obniżenie temperatury inkubacji, jak i dodanie do buforu inkubacyjnego związków blokujących białka błonowe hamuje transport przez błonę LCFA. W modelach *in vivo* stwierdzono natomiast, że mimo stale wysokiego gradientu stężeń długocząsteczkowych kwasów tłuszczowych w poprzek błony komórkowej, dochodzi do zmiany wielkości transportu LCFA, co jest kolejnym argumentem potwierdzającym obecność białek wspomagających transport przez błonę kwasów tłuszczowych [36,37]. Kolejne badania potwierdziły, że transport LCFA do komórki zachodzi z udziałem białkowych przENOŚników, m.in. do adipocytów, enterocytów, hepatocytów, nefronów, kardiomiocytów serca oraz komórek mięśni szkieletowych [14].

Istotnych dowodów potwierdzających udział białkowych transporterów w dokomórkowym transporcie LCFA, dostarczyły badania przeprowadzone na myszach niemających jednego z białkowych przenośników (FAT/CD36 knock out), bądź też wykazujących jego nadekspresję (FAT/CD36 over expression). Brak białka błonowego FAT/CD36 powodował wzrost stężenia długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (LCFA), triacylogliceroli oraz cholesterolu w surowicy krwi tych zwierząt [28]. Natomiast zwierzęta, które odznaczały się zwiększoną ekspresją w mięśniach szkieletowych białka FAT/CD36 miały zmniejszone stężenia w surowicy krwi LCFA, triacylogliceroli i cholesterolu [47]. Wykazano, że u myszy z nadekspresją translokazy kwasów tłuszczowych (FAT/CD36) w mięśniach szkieletowych (soleus) dochodzi do wzmoczonego utleniania wolnych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza w odpowiedzi na wzrost czynności skurczowej. Stwierdzono również, że u zwierząt z nadekspresją FAT/CD36 [47], oprócz wzrostu oksydacji LCFA, dochodzi do wzmoczonego wychwytu LCFA do wnętrza miocytów. Natomiast u zwierząt z brakiem genu FAT/CD36 [19, 28] dokomórkowy transport długołańcuchowych kwasów tłuszczowych ulegał redukcji w mięśniu sercowym (50–80%), mięśniach szkieletowych (40–75%) i w tkance tłuszczowej (60–70%). Powyższe badania wykazały istotną rolę białkowych transporterów w przenoszeniu LCFA do wnętrza komórek. Jednocześnie stwierdzono, że zawartość białkowych transporterów (FAT/CD36, FABPpm, FATP) długołańcuchowych kwasów tłuszczowych jest szczególnie duża w tkankach o dużym metabolizmie i utlenianiu LCFA, czyli w mięśniach szkieletowych, sercu oraz tkance tłuszczowej [1].

2.2 Translokaza kwasów tłuszczowych (FAT/CD36)

Wyniki wielu prac z ostatnich lat potwierdzają istnienie trzech grup białkowych transporterów ułatwiających przez-błonowy transport wolnych kwasów tłuszczowych [13,14]. Zgodnie z obecną wiedzą, do białek transportujących zaliczono: translokazę kwasów tłuszczowych (FAT/CD36 – fatty acid translocase), białko wiążące kwasy tłuszczowe (FABPpm – plasma membrane associated fatty acid binding protein) oraz białka transportujące kwasy tłuszczowe (FATP1-6 – fatty acid transport protein). Należy jednak zaznaczyć, że dokładny mechanizm działania, zwłaszcza sposób przechodzenia LCFA w poprzek błony komórkowej z udziałem poszczególnych transporterów nie jest jeszcze do końca poznany.

FAT/CD36, czyli translokaza kwasów tłuszczowych należy do białek błonowych, jak dotąd najlepiej poznanych. Odkryta jako 88 kDa białko transbłonowe występujące w błonie komórkowej adipocytów. Następnie okazało się, że przewidywana masa cząsteczkowa FAT/CD36 wynosi 53 kDa, natomiast oznaczana wartość około 88 kDa, jest prawdopodobnie skutkiem glikozylacji tego białka [1]. Wykazano także, że białko FAT/CD36 jest w 85% homologiczne z ludzką glikoproteiną IV (CD36) i jest obecne na wielu rodzajach komórek, m.in. płytkach krwi, komórkach hematopoetycznych, monocytach/makrofagach, adipocytach, komórkach śródbłona naczyń, miocytach, kardiomiocytach, komórkach dendrytycznych, komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki oraz gruczołu sutkowego, a także enterocytach [1,27,29,33,34,63,64,67,74]. W jednym z pierwszych doświadczeń wykazano, że FAT/CD36

łączy się swoiście z estrami długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SSO – sulfo-N-bursztynioloimidulooleinian) i to swoiste związanie FAT/CD36 z SSO spowodowało znaczny spadek transportu LCFA do wnętrza adipocytów [39,40]. Kolejne badania wykazały, że modyfikacja genetyczna i wprowadzenie genu białka FAT/CD36 do genomu fibroblastów, które w prawidłowych warunkach wykazują brak ekspresji FAT/CD36, spowodowało wzrost zawartości FAT/CD36 w błonie fibroblastów i skutkowało wzrostem wychwytu LCFA do wnętrza tych komórek. Istotnym było także stwierdzenie, że wielkość transportu dokomórkowego LCFA była wprost proporcjonalna do wielkości ekspresji translokazy kwasów tłuszczowych [48].

Kolejne badania prowadzone na izolowanych kompartmentach komórkowych, uzyskanych w wyniku przeprowadzonego procesu frakcjonowania komórek mięśni szkieletowych wykazały, że cząsteczki FAT/CD36 są obecne zarówno w błonie komórkowej, jak i w puli pęcherzyków cytoplazmatycznych. Stwierdzono następnie, że podczas czynności skurczowej, trwającej około 30 min, dochodzi do przemieszczania wewnątrzkomórkowych cząsteczek FAT/CD36 do powierzchni błony komórkowej. Translokacji FAT/CD36 towarzyszyło jednocześnie zwiększenie dokomórkowego transportu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Podobne badania – wykazujące wzrost zawartości plazmatycznego FAT/CD36 – prowadzono także u ludzi, u których wykazano, że wysiłek fizyczny jest silnym bodźcem powodującym przemieszczanie się puli transportera FAT/CD36 do błony komórkowej mięśni szkieletowych [12,56,57]. Opisany mechanizm translokacji FAT/CD36 z puli pęcherzyków do błony komórkowej jest analogiczny w stosunku do wcześniej odkrytego przemieszczania się transportera glukozy GLUT-4 [16].

Zbadano także wpływ insuliny na możliwość translokacji białka FAT/CD36. Stwierdzono, że insulina, wskutek aktywacji sygnałów wewnątrzkomórkowych związanych z kaskadą fosfatydylo-inozytolo-3 kinazy (PI3K – phosphoinositide-3 kinase), powoduje przemieszczanie FAT/CD36 z wnętrza komórki do powierzchni błony komórkowej, co warunkuje wzrost transportu dokomórkowego LCFA [38,56,57]. Podobnie jak w przypadku stymulacji elektrycznej mięśni szkieletowych, insulina zwiększała ekspresję białka CD36 w sarkoplazmie, ale oprócz zwiększonego transportu LCFA do wnętrza komórki powodowała wzrost estryfikacji LCFA i jednocześnie spadek ich utleniania w procesie β -oksydacji [56]. Stwierdzono również, że aktywacja innych sygnałów wewnątrzkomórkowych ma znaczenie w regulacji ekspresji FAT/CD36. Farmakologiczne (AICAR – 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside) nasilenie aktywności kaskady kinazy zależnych od AMP (AMPK – AMP activated protein kinase) powoduje translokację białka FAT/CD36 do błony komórkowej i wzmoczenie transportu przezbłonowego LCFA [59]. Wyniki kolejnych badań wskazują, że także aktywacja ERK 1/2 (ERK – extra-cellular signal-regulated kinase 1/2), która zachodzi podczas skurczy mięśni szkieletowych, podobnie jak aktywacja AMPK może powodować indukcję przemieszczania się białka FAT/CD36 z wnętrza komórek do powierzchni błony komórkowej [76].

Obecność translokazy kwasów tłuszczowych wykazano w błonie mitochondriów, zarówno w tkance mięśni szkie-

letowych zwierząt [16], jak i ludzi [8,44]. Następnie stwierdzono, że wzrostowi mitochondrialnej ekspresji FAT/CD36, stymulowanej przez trening fizyczny (około 7 dni), towarzyszy jednoczesny wzrost β -oksydacji LCFA. W kolejnych badaniach zaobserwowano przemieszczenie się translokazy kwasów tłuszczowych do puli mitochondrialnej, a także jednoczesny wzrost utleniania LCFA w mitochondrium [16,44]. Stwierdzono również, że funkcjonalne zablokowanie translokazy kwasów tłuszczowych, przez zastosowanie SSO (sulfo-N-bursztynioimidyooleinian – swoisty inhibitor FAT/CD36) w wyizolowanych mitochondriach mięśni szkieletowych, powodowało prawie całkowite zahamowanie (do 90%) procesu β -oksydacji długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, przy czym poziom utleniania krótkołańcuchowych kwasów pozostawał bez zmian [8,16,44]. Tym niemniej, rola jaką pełni FAT/CD36 w błonie mitochondriów nie jest do końca poznana, prawdopodobnie białko to współdziała z palmitoilotransferazą karnitynową I (CPT-I) w regulacji transportu LCFA do matrix mitochondrialnej [10], gdyż stwierdzono, że FAT/CD36 jest fizycznie połączone z CPT-I w błonie zewnętrznej mitochondriów. Translokaza kwasów tłuszczowych, wspólnie z CPT-I, jest prawdopodobnie odpowiedzialna za tempo utleniania (β -oksydacji) LCFA w mitochondriach mięśni szkieletowych [8]. Potwierdzeniem tych obserwacji były badania przeprowadzone u ludzi, u których stwierdzono, że aktywność skurczowa mięśni szkieletowych powoduje przemieszczanie białka FAT/CD36 do błony mitochondrialnej oraz nasila aktywność CPT-I, co warunkuje przyspieszenie procesu utleniania LCFA [69].

2.3 Białko wiążące kwasy tłuszczowe (FABPpm)

FABPpm jest kolejnym białkiem zaangażowanym w transport LCFA do komórek mięśni szkieletowych. Masa cząsteczkowa tego białka wynosi około 40 kDa. Po raz pierwszy FABPpm zidentyfikowano na powierzchni hepatocytów [72]. Białko to zostało także wykryte w hodowanych miocytach mięśni szkieletowych, przez zastosowanie swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko FABPpm. Użycie swoistych przeciwciał w tych hodowlach spowodowało znaczny spadek dokomórkowego transportu LCFA [21,71,72]. Należy podkreślić, że FABPpm [73] jest białkiem błonowym umiejscowionym prawdopodobnie na powierzchni zewnętrznej błony komórkowej, podczas gdy FAT/CD36 [1], jak i FATP [68] stanowią integralne składniki błon komórkowych (ryc. 1). W kolejnych badaniach stwierdzono obecność białka FABPpm w większości tkanek metabolicznie aktywnych [6,7,14,77,78], oraz wykazano, że sekwencja aminokwasowa transportera białkowego FABPpm jest identyczna z sekwencją mitochondrialnej aminotransferazy asparaginianowej (mAspAT) [73].

Dowodów na udział białka FABPpm w przezbłonowym transporcie LCFA dostarczyły badania przeprowadzane na fibroblastach linii 3T3-L1 [49] i miocytach mięśni szkieletowych [18] zawierających cytoplazmatyczne DNA mitochondrialnej aminotransferazy asparaginianowej (mAspAT jest homologiczna z FABPpm). Wykazano, że nadekspresja genu mAspAT/FABPpm, w wymienionych liniach komórkowych, prowadzi do wzrostu ekspresji FABPpm na powierzchni fibroblastów i miocytów oraz następczego zwiększenia dokomórkowego napływu LCFA [18,49]. Wyniki prac z ostatnich lat stwierdzają, że aktyw-

ność skurczowa mięśni szkieletowych indukuje nie tylko translokację FAT/CD36, ale także FABPpm z puli wewnątrzkomórkowej do błony komórkowej miocytu [38]. Nie określono jednakże jednoznacznie procentowego udziału białka FABPpm w transporcie LCFA w porównaniu z innymi transporterami. Nie stwierdzono także czy białka transportujące kwasy tłuszczowe (FAT/CD36 i FABPpm) indywidualnie uczestniczą w transporcie LCFA, czy też tworzą wspólny system transportujący.

Jak już wcześniej wspomniano przenośnik białkowy – FABPpm – ma identyczną sekwencję aminokwasową, jak mitochondrialna mAspAT, stąd jego obecność w mitochondriach [17]. Istotne wydaje się więc pytanie, czy białko wiążące kwasy tłuszczowe jest także zaangażowane w transport LCFA do mitochondrium i dalsze przemiany tlenowe (proces β -oksydacji) tych związków. Holloway i wsp. [45] zbadali wpływ FABPpm/mAspAT na zmiany mitochondrialnego transportu i procesu β -oksydacji długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. W przeciwieństwie do FAT/CD36, elektryczna stymulacja mięśni szkieletowych nie powodowała zmian w mitochondrialnej zawartości transportera białkowego FABPpm/mAspAT [16,45]. Podobne wyniki uzyskano podczas badań u ludzi poddanych 2-godzinnemu treningowi fizycznemu. Stwierdzono brak zmian w ilości białka FABPpm/mAspAT, z jednoczesnym wzrostem zawartości FAT/CD36 o ponad 33%, w wyizolowanych mitochondriach z mięśni szkieletowych [45], co sugeruje brak zaangażowania białka FABPpm w transport LCFA w poprzek błony mitochondrialnej.

2.4 Białka transportujące kwasy tłuszczowe (FATP)

Kolejnymi białkowymi transporterami LCFA jest rodzina białek transportujących kwasy tłuszczowe (FATP). Stwierdzono, że białka transportujące kwasy tłuszczowe występują w 6 izoformach (FATP1-6), których ekspresja jest swoista tkankowo [43,68]. Z tej grupy transporterów jako pierwsze wykryto białko FATP1 (Schaffer i Lodish) w błonie komórkowej adipocytów [68]. Należy ono do integralnych białek błonowych i składa się z 646 aminokwasów, o łącznej masie cząsteczkowej 63 kDa. U myszy i szczurów ekspresja FATP1 jest szczególnie wysoka w tkance tłuszczowej, mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym [43,68], zaś u ludzi występuje głównie w tkance tłuszczowej i mięśniach szkieletowych [9,14]. Pozostałe transportery białkowe z tej grupy wykazują zróżnicowaną ekspresję, FATP2 występuje głównie w wątrobie i nerkach [42], natomiast umiejscowienie i rola FATP3 są jak dotąd bardzo słabo poznane [22]. FATP4 występuje w mięśniach szkieletowych i tkance tłuszczowej ludzi oraz jest jedynym białkowym transporterem kwasów tłuszczowych umiejscowionym w jelicie cienkim [14,70]. Z kolei FATP5 jest obecny przede wszystkim w wątrobie [24], a FATP6 wykazuje największą ekspresję w mięśniu sercowym [30]. Badania przeprowadzane na drożdżach przez DiRusso i wsp. [22] wykazały, że transport LCFA zachodzący z udziałem poszczególnych izoform FATP zachodzi z różną efektywnością. Wykazano, że FATP1, 2 oraz 4 zwiększają wielkość dokomórkowego transportu LCFA odpowiednio 8,2-, 4,5- i 13,1-krotnie. Pozostałe przenośniki białkowe z tej grupy, FATP3 i FATP5, powodują jedynie 2-krotne zwiększenie transportu LCFA. Natomiast zmiana ekspresji FATP6 nie wpływała na wielkość transportu długołańcuchowych kwa-

sów tłuszczowych [22]. Wydaje się, że dotychczas najlepiej określono funkcję FATP1. Wykazano bowiem, że początkowa sekwencja mysiego genu białka transportującego kwasy tłuszczowe (FATP1) jest homologiczna z poligenową rodziną enzymu syntetazy acylo-CoA. Stwierdzono także, że białko FATP1 ma wewnętrzną aktywność syntetazy długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [20,22], co wskazuje na zaangażowanie FATP1 nie tylko w dokomórkowy transport LCFA, ale także na udział w przekształcaniu cząsteczek długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w acylo-CoA już w cytoplazmie. Wykazano, że do prawidłowego funkcjonowania, FATP1 wymaga nakładu energii w postaci ATP, które jest niezbędne do wzmożenia aktywności syntetazy długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [20].

2.5. Stopień ekspresji białkowych transporterów FAT/CD36, FABPpm i FATP1 w zależności od rodzaju włókien mięśniowych

W mięśniach szkieletowych zwierząt doświadczalnych (szczury i myszy) badania potwierdziły obecność zarówno mRNA, jak i białkowych produktów (FAT/CD36, FABPpm, FATP1) [13]. Wykazano także obecność wyżej wymienionych transporterów (na poziomie translacyjnym, jak i post-translacyjnym) w tkance mięśniowej u ludzi [14]. W mięśniach szkieletowych ludzi można wyróżnić różne typy włókien mięśniowych zależnie od dominujących procesów utylizacji substratów energetycznych. Wyodrębniono trzy zasadnicze grupy włókien mięśniowych:

- włókna SO (slow-twitch oxidative) – wolno kurczące się, odporne na zmęczenie, tlenowe (tzw. włókna czerwone),
- włókna FOG (fast-twitch oxidative-glycolytic) – szybko kurczące się, odporne na zmęczenie, tlenowo-glikolityczne (tzw. włókna mieszane),
- włókna FG (fast-twitch glycolytic) – szybko kurczące się, podatne na zmęczenie, glikolityczne (tzw. włókna białe).

Stwierdzono, że ekspresja białkowych przekaźników zależy od aktywności metabolicznej poszczególnych rodzajów włókien mięśni szkieletowych. Mięśnie szkieletowe z przeważającą liczbą włókien tlenowych odznaczają się dużym stopniem utleniania LCFA oraz dużą zawartością białkowych transporterów długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (włókna czerwone > włókna białe) [13]. Kolejne badania wykazały także, że ilość mRNA FATP1, FAT/CD36 oraz FABPpm była prawie 5-krotnie wyższa w czerwonych (przewaga włókien typu SO) aniżeli w białych włóknach mięśni szkieletowych [13]. Należy podkreślić, iż zgodnie z nasileniem ekspresji białkowych transporterów (FAT/CD36, FABPpm i FATP-1) dokomórkowy transport kwasów tłuszczowych jest także znacznie większy w czerwonych, aniżeli w białych włóknach mięśni szkieletowych [13].

2.6. Regulacja transportu LCFA na poziomie transkrypcyjnym

W pojedynczych miocytach mięśni szkieletowych metabolizm lipidów na poziomie transkrypcyjnym jest regulowany głównie poprzez ligandozależne receptory jądrowe proliferatorów peroksysomów (PPAR – peroxisome proli-

erator-activated receptors). PPAR po raz pierwszy zostały zidentyfikowane przez Issemanna i Greena [50] w wątrobie myszy. Dotychczas potwierdzono istnienie trzech typów receptorów jądrowych PPAR, a mianowicie α , δ (zwany inaczej β bądź NUC-1) oraz γ , które są kodowane przez oddzielne geny. Poszczególne typy PPAR wykazują (podobnie jak białkowe transportery kwasów tłuszczowych) zróżnicowaną ekspresję w zależności od rodzaju tkanki. Wątroba, serce czy nerki to narządy z intensywnym metabolizmem kwasów tłuszczowych, ale również z najbardziej zaznaczoną ekspresją PPAR α [60]. Zasadniczą rolą tego receptora jest regulacja transkrypcji genów związanych zarówno z mitochondrialnym, jak i peroksysomalnym procesem β -oksydacji kwasów tłuszczowych [55]. Obie izoformy PPAR γ ($\gamma 1$ i $\gamma 2$) w największym stopniu zaangażowane są w proces różnicowania się preadipocytów do adipocytów w tkance tłuszczowej [4]. Z kolei ostatni z receptorów PPAR β/δ (NUC-1) pojawia się we wszystkich rodzajach tkanek [15].

Badano wpływ aktywacji receptorów PPAR na metabolizm LCFA w mięśniach szkieletowych. Benton i wsp. [5] wykazali, że w mięśniach szkieletowych zarówno aktywacja PPAR α , jak i PPAR γ nie powodują zmian w ekspresji białka FAT/CD36. Stwierdzono natomiast, że aktywacja PPAR γ powoduje wybiórcze nasilenie ekspresji transportera FABPpm. Wykazano także, że wzmożony dokomórkowy transport LCFA spowodowany zwiększoną aktywnością skurczową nie jest wynikiem aktywacji PPAR α i/lub PPAR γ [5]. Trwają badania określające rolę kolejnego receptora PPAR, PPAR β/δ w regulacji procesu β -oksydacji kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych. Dotychczas wykazano, że swoiści agonisci PPAR β/δ powodują wzrost ekspresji genów kodujących, takie białka jak FAT/CD36 oraz CPT-1, co pośrednio sugeruje wpływ aktywacji PPAR β/δ na dokomórkowy transport LCFA i ich wewnątrzmięśniowy metabolizm [46,61].

3. WPŁYW WYSIŁKU FIZYCZNEGO NA EKSPRESJĘ TRANSPORTERÓW BIAŁKOWYCH (FAT/CD36, FABPpm, FATP1) I TRANSPORT LCFA

Podstawowe mechanizmy regulujące transport LCFA do komórek mięśni szkieletowych, to zmiany ekspresji białek transportujących i/lub zmiany ich wewnątrzkomórkowego umiejscowienia. Z przeprowadzonych w ostatnich latach badań wynika, że najbardziej zaangażowane w transport LCFA do miocytów są białka błonowe: FAT/CD36 [1] oraz FABPpm [72,78,80]. Najmniej prac istnieje na temat roli FATP-1 w transporcie i metabolizmie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Dotychczas wykazano związek między wielkością ekspresji FATP1, a stopniem estryfikacji LCFA i wewnątrzmięśniową zawartością triacylogliceroli. Stwierdzono, że cząsteczki wolnych kwasów tłuszczowych, które przeniesiono do miocytów mięśni szkieletowych przy współudziale FATP1, były głównie poddawane syntezie do triacylogliceroli [41]. Stwierdzono także, że myszy poddane 3-tygodniowej diecie bogatotłuszczowej oraz pozbawione FATP1 odznaczały się znaczną redukcją zawartości triacylogliceroli oraz diacylogliceroli w mięśniu czworogłowym uda w porównaniu z dzikimi myszami zawierającymi to białko [53]. Znacznie więcej doniesień opisuje zmiany ekspresji pozostałych dwóch białkowych transporterów (FAT/CD36 i FABPpm), zachodzących pod wpływem wysiłku fizycz-

nego. Turcotte i wsp. [79] oceniali zarówno transport, jak i wielkość utleniania kwasu palmitynowego w wyizolowanych mięśniach, a także zawartość FABPpm w błonach komórkowych dwóch rodzajów włókien mięśniowych (tj. włóknach białych oraz czerwonych). W badaniach tych wykazano, że długotrwały trening powodował znaczny wzrost wychwytu LCFA z osocza do miocytów mięśni szkieletowych i zwiększenie utleniania wolnych kwasów tłuszczowych, głównie w grupie mięśni czerwonych. Stwierdzono również istotny statystycznie wzrost ilości białka wiążącego kwasy tłuszczowe, ale jedynie w włóknach czerwonych mięśni szkieletowych. Wykazano również, że długotrwały trening fizyczny powoduje zwiększenie ilości FABPpm [65,75,79] oraz wzrost szybkości utleniania długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [79]. Otrzymane wyniki jednoznacznie wskazują na istotną rolę FABPpm w regulacji metabolizmu LCFA w mięśniach szkieletowych podanych długotrwałemu wysiłkowi fizycznemu.

Stwierdzono także, że podczas czynności skurczowej mięśni szkieletowych (wysiłek fizyczny trwający 5–7 dni) dochodzi do znacznego wzrostu ekspresji białka FAT/CD36, jak i jego błonowej zawartości, któremu towarzyszy wzrost transportu LCFA do miocytów, głównie w mięśniach o przewadze metabolizmu tlenowego (włóknach czerwonych) [14]. Przeprowadzono także doświadczenia z zastosowaniem swoistego inhibitora (SSO) blokującego zawarte w błonie komórkowej białko FAT/CD36. Podanie SSO powodowało zahamowanie przyrostu wychwytu kwasu palmitynowego indukowanego aktywnością skurczową mięśni szkieletowych [11,47].

Przeprowadzono także badania odnerwionych mięśni szkieletowych (7-dniowe odnerwienie), w których wykazano znaczną redukcję przezbłonowego transportu LCFA

do miocytów [54]. Nie zaobserwowano zmian w mięśniowej ekspresji białka FAT/CD36, ale wydaje się, że spadek wychwytu LCFA był spowodowany stałym przemieszczaniem się FAT/CD36 z błony komórkowej do przedziałów wewnątrzkomórkowych [54]. Należy podkreślić, iż w przeprowadzonych badaniach zmiany w dokomórkowym transporcie LCFA zarówno podczas przewlekłej stymulacji, jak i podczas odnerwienia mięśni szkieletowych odzwierciedlały bardziej błonową zawartość FAT/CD36, niż całkowitą ekspresję tegoż transportera [54]. Z powyższych badań wynika, że stymulacja skurczów mięśniowych prowadzi głównie do zmian w błonowej zawartości przENOśnikÓw białkowych (FAT/CD36, FABPpm) i jednoczesnych zmian w transporcie LCFA.

4. PODSUMOWANIE

Mięśnie szkieletowe stanowią ważną metabolicznie tkankę w organizmie, ze względu na udział w utrzymaniu homeostazy zarówno gospodarki węglowodanowej, jak i lipidowej. Z obecnego stanu wiedzy wynika, że dokomórkowy transport wolnych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych zachodzi ze współudziałem białkowych przENOśnikÓw, tj. FAT/CD36, FABPpm oraz FATP1. Ważne znaczenie wydają się mieć zarówno zmiany ekspresji całkowitej, jak i błonowej puli transporterów białkowych (FAT/CD36, FABPpm). Stwierdzono, że wysiłek fizyczny powoduje nie tylko szybki wzrost utleniania długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, ale również nasila ekspresję białkowych transporterów oraz indukuje przemieszczanie się tych przENOśnikÓw do błony komórkowej z puli cytoplazmatycznej. Wykazano również obecność białkowych przENOśnikÓw (FAT/CD36, FABPpm) w mitochondriach, co wydaje się także istotnie wpływać na szybkość procesu utleniania długołańcuchowych kwasów tłuszczowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abumrad N.A., El-Maghrabi M.R., Amri E.Z., Lopez E., Grimaldi P.A.: Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long chain-fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. Homology with human CD36. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 17665–17668
- [2] Abumrad N.A., Perkins R.C., Park J.H., Park C.R.: Mechanism of long chain fatty acid permeation in the isolated adipocyte. *J. Biol. Chem.*, 1981; 256: 9183–9191
- [3] Amri E.Z., Bonino F., Ailhaud G., Abumrad N.A., Grimaldi P.A.: Cloning of a protein that mediates transcriptional effects of fatty acids in preadipocytes. Homology to peroxisome proliferators-activated receptors. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 2367–2371
- [4] Auwerx J.: PPAR γ , the ultimate thrifty gene. *Diabetologia*, 1999; 42: 1033–1049
- [5] Benton C.R., Koonen D.P., Calles-Escandon J., Tandon N.N., Glatz J.F., Luiken J.J., Heikkilä J.J., Bonen A.: Differential effects of muscle contraction and PPAR agonists on the expression of fatty acid transporters in rat skeletal muscle. *J. Physiol.*, 2006; 573: 199–210
- [6] Berk P.D., Bradbury M., Zhou S.L., Stump D., Han N.I.: Characterization of membrane transport processes: lessons from the study of BSP, bilirubin, and fatty acid uptake. *Semin. Liver Dis.*, 1996; 16: 107–120
- [7] Berk P.D., Zhou S.L., Kiang C.L., Stump D., Bradbury M., Isola L.M.: Uptake of long chain fatty acids is selectively up-regulated in adipocytes of Zucker rats with genetic obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 8830–8835
- [8] Bezair V., Bruce C.R., Heigenhauser G.J., Tandon N.N., Glatz J.F., Luiken J.J., Bonen A., Spriet L.L.: Identification of fatty acid translocase on human skeletal muscle mitochondrial membranes: essential role in fatty acid oxidation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006; 290: E509–E515
- [9] Binnert C., Koistinen H.A., Martin G., Andreelli F., Ebeling P., Koivisto V.A., Laville M., Auwerx J., Vidal H.: Fatty acid transport protein-1 mRNA expression in skeletal muscle and in adipose tissue in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 279: E1072–E1079
- [10] Bonen A., Campbell SE, Benton CR., Chabowski A., Coort S.L., Han X.X., Koonen D.P., Glatz J.F., Luiken J.J.: Regulation of fatty acid transport by fatty acid translocase/CD36. *Proc. Nutr. Soc.*, 2004; 63: 245–249
- [11] Bonen A., Chabowski A., Luiken J.J., Glatz J.F.: Is membrane transport of FFA mediated by lipid, protein, or both? Mechanisms and regulation of protein-mediated cellular fatty acid uptake: molecular, biochemical, and physiological evidence. *Physiology (Bethesda)*, 2007; 22: 15–29
- [12] Bonen A., Luiken J.J., Arumugam Y., Glatz J.F., Tandon N.N.: Acute regulation of fatty acid uptake involves the cellular redistribution of fatty acid translocase. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 14501–14508
- [13] Bonen A., Luiken J.J., Liu S., Dyck D.J., Kiens B., Kristiansen S., Turcotte L.P., Van Der Vusse G.J., Glatz J.F.: Palmitate transport and fatty acid transporters in red and white muscles. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1998; 275: E471–E478
- [14] Bonen A., Miskovic D., Kiens B.: Fatty acid transporters (FABPpm, FAT, FATP) in human muscle. *Can. J. Appl. Physiol.*, 1999; 24: 515–523
- [15] Braissant O., Fougelle F., Scotto C., Dauca M., Wahli W.: Differential expression of peroxisome proliferators-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat. *Endocrinology*, 1996; 137: 354–366

- [16] Campbell S.E., Tandon N.N., Woldegiorgis G., Luiken J.J., Glatz J.F., Bonen A.: A novel function for fatty acid translocase (FAT)/CD36: involvement in long chain fatty acid transfer into the mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 36235–36241
- [17] Cechetto J.D., Sadacharan S.K., Berk P.D., Gupta R.S.: Immunogold localization of mitochondrial aspartate aminotransferase in mitochondria and on the cell surface in normal rat tissues. *Histol. Histopathol.*, 2002; 17: 353–364
- [18] Clarke D.C., Miskovic D., Han X.X., Calles-Escandon J., Glatz J.F., Luiken J.J., Heikkilä J.J., Bonen A.: Overexpression of membrane-associated fatty acid binding protein (FABPpm) *in vivo* increases fatty acid sarcolemmal transport and metabolism. *Physiol. Genomics.*, 2004; 17: 31–37
- [19] Coburn C.T., Knapp F.F., Febbraio M., Beets A.L., Silverstein R.L., Abumrad N.A.: 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
- [20] Coe N.R., Smith A.J., Frohnert B.I., Watkins P.A., Bernlohr D.A.: The fatty acid transport protein (FATP1) is a very long chain acyl-CoA synthetase. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 36300–36304
- [21] Diede H.E., Rodilla-Sala E., Gunawan J., Manns M., Stremmel W.: Identification and characterization of a monoclonal antibody to the membrane fatty acid binding protein. *Biochim. Biophys. Acta*, 1992; 1125: 13–20
- [22] DiRusso C.C., Li H., Darwis D., Watkins P.A., Berger J., Black P.N.: Comparative biochemical studies of the murine fatty acid transport proteins (FATP) expressed in yeast. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 16829–16837
- [23] Distel R.J., Robinson G.S., Spiegelman B.M.: Fatty acid regulation of gene expression. Transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 5937–5941
- [24] Doege H., Stahl A.: Protein-mediated fatty acid uptake: novel insights from *in vivo* models. *Physiology (Bethesda)*, 2006; 21: 259–268
- [25] Dyck D.J., Bonen A.: Muscle contraction increases palmitate esterification and oxidation and triacylglycerol oxidation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1998; 275: E888–E896
- [26] Dyck D.J., Peters S.J., Glatz J.F., Górski J., Keizer H., Kiens B., Liu S., Richter E.A., Spriet L.L., Van Der Vusse G.J., Bonen A.: Functional differences in lipid metabolism in resting skeletal muscles of various fiber types. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1997; 272: E340–E351
- [27] Endemann G., Stanton L.W., Madden K.S., Bryant C.M., White R.T., Protter A.A.: CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 11811–11816
- [28] Febbraio M., Abumrad N.A., Hajjar D.P., Sharma K., Cheng W., Frieda S., Pearce S.F., 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
- [29] Febbraio M., Hajjar D.P., Silverstein R.L.: CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 785–791
- [30] Gimeno R.E., Ortegon A.M., Patel S., Punreddy S., Ge P., Sun Y., Lodish H.F., Stahl A.: Characterization of a heart-specific fatty acid transport protein. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 16039–16044
- [31] Glatz J.F., Borchers T., Spener F., Van Der Vusse G.J.: Fatty acids in cell signalling: modulation by lipid binding proteins. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 1995; 52: 121–127
- [32] Górski J., Bonen A.: Palmitate incorporation into lipid pools of contracting red and white muscle. *Mol. Cell. Biochem.*, 1997; 166: 73–83
- [33] 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
- [34] Greenwalt D.E., Mather I.H.: Characterization of an apically derived epithelial membrane glycoprotein from bovine milk, which is expressed in capillary endothelia in diverse tissues. *J. Cell. Biol.*, 1985; 100: 397–408
- [35] Hamilton J.A.: Fatty acid transport: difficult or easy? *J. Lipid Res.*, 1998; 39: 467–481
- [36] Hamilton J.A., Guo W., Kamp F.: Mechanisms of cellular uptake of long-chain fatty acids: Do we need cellular proteins? *Mol. Cell. Biochem.*, 2002; 239: 17–23
- [37] Hamilton J.A., Kamp F.: How are free fatty acids transported in membranes? Is it by proteins or by free diffusion through the lipids? *Diabetes*, 1999; 48: 2255–2269
- [38] Han X.X., Chabowski A., Tandon N.N., Calles-Escandon J., Glatz J.F., Luiken J.J., Bonen A.: Metabolic challenges reveal impaired fatty acid metabolism and translocation of FAT/CD36 but not FABPpm in obese Zucker rat muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2007; 293: E566–E575
- [39] Harmon C.M., Abumrad N.A.: Binding of sulfosuccinimidyl fatty acids to adipocyte membrane proteins: isolation and amino-terminal sequence of an 88-kD protein implicated in transport of long-chain fatty acids. *J. Membr. Biol.*, 1993; 133: 43–49
- [40] Harmon C.M., Luce P., Abumrad N.A.: Labelling of an 88 kDa adipocyte membrane protein by sulpho-N-succinimidyl long-chain fatty acids: inhibition of fatty acid transport. *Biochem. Soc. Trans.*, 1992; 20: 811–813
- [41] Hatch G.M., Smith A.J., Xu F.Y., Hall A.M., Bernlohr D.A.: FATP1 channels exogenous FA into 1,2,3-triacyl-sn-glycerol and down-regulates sphingomyelin and cholesterol metabolism in growing 293 cells. *J. Lipid Res.*, 2002; 43: 1380–1389
- [42] Heinzer A.K., Watkins P.A., Lu J.F., Kemp S., Moser A.B., Li Y.Y., Mihalik S., Powers J.M., Smith K.D.: A very long-chain acyl-CoA synthetase-deficient mouse and its relevance to X-linked adrenoleukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.*, 2003; 12: 1145–1154
- [43] Hirsch D., Stahl A., Lodish H.F.: A family of fatty acid transporters conserved from mycobacterium to man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 8625–8629
- [44] Holloway G.P., Bezaire V., Heigenhauser G.J., Tandon N.N., Glatz J.F., Luiken J.J., Bonen A., Spriet L.L.: Mitochondrial long chain fatty acid oxidation, fatty acid translocase/CD36 content and carnitine palmitoyltransferase 1 activity in human skeletal muscle during aerobic exercise. *J. Physiol.*, 2006; 571: 201–210
- [45] Holloway G.P., Lally J., Nickerson J.G., Alkhateeb H., Snook L.A., Heigenhauser G.J., Calles-Escandon J., Glatz J.F., Luiken J.J., Spriet L.L., Bonen A.: Fatty acid binding protein facilitates sarcolemmal fatty acid transport but not mitochondrial oxidation in rat and human skeletal muscle. *J. Physiol.*, 2007; 582: 393–405
- [46] Holst D., Luquet S., Nogueira V., Kristiansen K., Leverve X., Grimaldi P.A.: Nutritional regulation and role of peroxisome proliferator-activated receptor δ in fatty acid catabolism in skeletal muscle. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003; 1633: 43–50
- [47] Ibrahimi A., Bonen A., Blinn W.D., Hajri T., Li X., Zhong K., Cameron R., Abumrad N.A.: Muscle-specific overexpression of FAT/CD36 enhances fatty acid oxidation by contacting muscles, reduces plasma triglycerides and fatty acids, and increases plasma glucose and insulin. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 26761–26766
- [48] Ibrahimi A., Sfeir Z., Magharaie H., Amri E.Z., Grimaldi P., Abumrad N.A.: Expression of the CD36 homolog (FAT) in fibroblast cells: effects on fatty acid transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 2646–2651
- [49] Isola L.M., Zhou S.L., Kiang C.L., Stump D.D., Bradbury M.W., Berk P.D.: 3T3 fibroblasts transfected with a cDNA for mitochondrial aspartate aminotransferase express plasma membrane fatty acid binding protein and saturable fatty acid uptake. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 9866–9870
- [50] Issemann I., Green S.: Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 1990; 347: 645–650
- [51] Kamp F., Hamilton J.A., Westerhoff H.V.: Movement of fatty acids, fatty acid analogues, and bile acids across phospholipid bilayers. *Biochemistry*, 1993; 32: 11074–11086
- [52] Kiens B.: Skeletal muscle lipid metabolism in exercise and insulin resistance. *Physiol. Rev.*, 2006; 86: 205–243
- [53] Kim J.K., Gimeno R.E., Higashimori T., Kim H.J., Choi H., Punreddy S., Mozell R.L., Tan G., Stricker-Krongrad A., Hirsch D.J., Fillmore J.J., Liu Z.X., Cline G., Stahl A., Lodish H.F., Shulman G.I.: Inactivation of fatty acid transport protein 1 prevents fat-induced insulin resistance in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.*, 2004; 113: 756–763
- [54] Koonen D.P., Benton C.R., Arumugam Y., Tandon N.N., Calles-Escandon J., Glatz J.F., Luiken J.J., Bonen A.: Different mechanisms can alter fatty acid transport when muscle contractile activity is chronically altered. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004; 286: E1042–E1049
- [55] Latruffe N., Vamecq J.: Peroxisome proliferators and peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) as regulators of lipid metabolism. *Biochimie*, 1997; 79: 81–94
- [56] Luiken J.J., Dyck D.J., Han X.X., Tandon N.N., Arumugam Y., Glatz J.F., Bonen A.: Insulin induces the translocation of the fatty acid transporter FAT/CD36 to the plasma membrane. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2002; 282: E491–E495

- [57] Luiken J.J., Koonen D.P., Willems J., Zorzano A., Fischer Y., Van Der Vusse G.J., Bonen A., Glatz J.F.: Insulin stimulates long-chain fatty acid utilization by rat cardiac myocytes through cellular redistribution of FAT/CD36. *Diabetes*, 2002; 51: 3113–3119
- [58] Luiken J.J., Turcotte L.P., Bonen A.: Protein-mediated palmitate uptake and expression of fatty acid transport proteins in heart giant vesicles. *J. Lipid. Res.*, 1999; 40: 1007–1016
- [59] Marotta M., Ferrer-Martnez A., Parnau J., Turini M., Macé K., Gomez FoiX A.M.: Fiber type- and fatty acid composition-dependent effects of high-fat diets on rat muscle triacylglyceride and fatty acid transporter protein-1 content. *Metabolism*, 2004; 53: 1032–1036
- [60] Mukherjee R., Jow L., Croston G.E., Paterniti J.R.Jr: Identification, characterization, and tissue distribution of human peroxisome-activated receptor (PPAR) isoforms PPAR γ 2 versus PPAR γ 1 and activation with retinoid X receptor agonists and antagonists. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 8071–8076
- [61] Muoio D.M., MacLean P.S., Lang D.B., Li S., Houmard J.A., Way J.M., Winegar D.A., Corton J.C., Dohm G.L., Kraus W.E.: Fatty acid homeostasis and induction of lipid regulatory genes in skeletal muscles of peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) α knockout mice. Evidence for compensatory regulation by PPAR α . *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 26089–26097
- [62] Newsholme E.A., Calder P., Yaqoob P.: The regulatory, informational, and immunomodulatory roles of fat fuels. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993; 57: 738S–751S
- [63] 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
- [64] Nicholson A.C., Hajjar D.P.: CD36, oxidized LDL and PPAR γ : pathological interactions in macrophages and atherosclerosis. *Vascul. Pharmacol.*, 2004; 41: 139–146
- [65] Roepstorff C., Vistisen B., Roepstorff K., Kiens B.: Regulation of plasma long-chain fatty acid oxidation in relation to uptake in human skeletal muscle during exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004; 287: E696–E705
- [66] Romijn J.A., Coyle E.F., Sidossis L.S., Gastaldelli A., Horowitz J.F., Endert E., Wolfe R.R.: Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1993; 265: E380–E391
- [67] Ryeom S.W., Sparrow J.R., Silverstein R.L.: CD36 participates in the phagocytosis of rod outer segments by retinal pigment epithelium. *J. Cell Sci.*, 1996; 109: 387–395
- [68] Schaffer J.E., Lodish H.F.: Expression cloning and characterization of a novel adipocyte long chain fatty acid transport protein. *Cell*, 1994; 79: 427–436
- [69] Schenk S., Horowitz J.F.: Coimmunoprecipitation of FAT/CD36 and CPT I in skeletal muscle increases proportionally with fat oxidation after endurance exercise training. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006; 291: E254–E260
- [70] Stahl A., Hirsch D.J., Gimeno R.E., Punreddy S., Ge P., Watson N., Patel S., Kotler M., Raimondi A., Tartaglia L.A., Lodish H.F.: Identification of the major intestinal fatty acid transport protein. *Mol. Cell.*, 1999; 4: 299–308
- [71] Stremmel W., Strohmeyer G., Berk P.D.: Hepatocellular uptake of oleate is energy dependent, sodium linked, and inhibited by an antibody to a hepatocyte plasma membrane fatty acid binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 3584–3588
- [72] Stremmel W., Strohmeyer G., Borchard F., Kochwa S., Berk P.D.: Isolation and partial characterization of a fatty acid binding protein in rat liver plasma membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985; 82: 4–8
- [73] Stump D.D., Zhou S.L., Berk P.D.: Comparison of plasma membrane FABP and mitochondrial isoform of aspartate aminotransferase from rat liver. *Am. J. Physiol.*, 1993; 265: G894–G902
- [74] Swerlick R.A., Lee K.H., Wick T.M., Lawley T.J.: Human dermal microvascular endothelial but not human umbilical vein endothelial cells express CD36 *in vivo* and *in vitro*. *J. Immunol.*, 1992; 148: 78–83
- [75] Tunstall R.J., Mehan K.A., Wadley G.D., Collier G.R., Bonen A., Hargreaves M., Cameron-Smith D.: Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2002; 283: E66–E72
- [76] Turcotte L.P., Raney M.A., Todd M.K.: ERK 1/2 inhibition prevents contraction-induced increase in plasma membrane FAT/CD36 content and FA uptake in rodent muscle. *Acta Physiol. Scand.*, 2005; 184: 131–139
- [77] Turcotte L.P., Srivastava A.K., Chiasson J.L.: Fasting increases plasma membrane fatty acid binding (FABPpm) in red skeletal muscle. *Mol. Cell. Biochem.*, 1997; 166: 153–158
- [78] Turcotte L.P., Swenberger J.R., Tucker M.Z., Yee A.J., Trump G., Luiken J.J., Bonen A.: Muscle palmitate uptake and binding are saturable and inhibited by antibodies to FABPpm. *Mol. Cell. Biochem.*, 2000; 210: 53–63
- [79] Turcotte L.P., Swenberger J.R., Tucker M.Z., Yee A.J.: Training-induced elevation in FABP(PM) is associated with increased palmitate use in contracting muscle. *J. Appl. Physiol.*, 1999; 87: 285–293
- [80] Van der Vusse G.J., Glatz J.F., Van Nieuwenhoven F.A., Reneman R.S., Bassingthwaite J.B.: Transport of long-chain fatty acids across the muscular endothelium. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1998; 441: 181–191