

Received: 28.02.2017
Accepted: 03.10.2017
Published: 31.12.2017

Błony biologiczne. Molekularne terapie błon*

Cell membranes. Molecular lipid therapy

Anna Walczewska, Barbara Dziedzic, Dawid Stulczewski, Emilia Zgórzyńska

Zakład Interakcji Międzykomórkowych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Lipidy błonowe dzięki zróżnicowanej budowie cząsteczek, ładunkowi elektrycznemu i indywidualnym cechom biorą udział w bardzo wielu procesach cytofizjologicznych. Coraz dokładniejsze poznanie struktury błon biologicznych oraz zmian ich właściwości w przebiegu różnych chorób zapoczątkowało rozwój terapii skierowanych na modyfikację błon. Strategie terapeutyczne mogą dotyczyć bezpośredniej ingerencji w skład lipidów błonowych, który determinuje czynność białek transbłonowych oraz modyfikuje organizację mikrodomen błonowych. Mogą też dotyczyć zmian aktywności enzymów związanych z błonami lub modulowania ekspresji genów enzymów mających wpływ na skład lipidów. Terapie błonowe polegają na zastosowaniu jako leków cząsteczek zaprojektowanych specjalnie w celu zmiany składu lipidów lub reorganizacji mikrodomen w błonach, aby przez zmianę interakcji lipid-białko modyfikować przekazywanie sygnałów w komórkach. Tego typu interwencje farmakologiczne mogą odwrócić patologiczne zmiany składu lipidów, profilu powstających enzymatycznie i nieenzymatycznie pochodnych lipidowych oraz modyfikować szlaki sygnałowe w komórkach. W artykule przedstawiono wyniki badań, które uzupełniają model struktury błon biologicznych przedstawiony przez Singera-Nicolsona oraz cele terapeutyczne związane z regulacją składu i organizacji lipidów w błonach.

Słowa kluczowe:

organizacja fazowa lipidów • glicerofosfolipidy • sfingolipidy • tratwy • terapie błon • białko G • PKC • HSPs

Summary

Membrane lipids, due to diverse molecular structures, electric charge and different functional characteristic, have a profound role in multiple cytophysiological processes. A better understanding of the membrane structure and changes of its function in a wide range of diseases gave rise to a new approach termed membrane lipid therapy and directed to modifying the membranes. The strategies directed to membrane involve a direct regulation of membrane lipid composition that causes a change of the transmembrane protein function and modifies the organization of membrane microdomains, or regulation of enzyme activity and gene expression to alter membrane lipid composition. Membrane therapy assumes the use of new molecules specifically designed to modify lipid composition and function of abnormal signaling proteins. Therefore, modifications of the lipid composition and organization of membrane microdomains become pharmacological targets to reverse pathological changes in the profile of enzymatically and non-enzymatically generated lipid derivatives or to modify signaling pathways in the cell. The present monography is an update of the canonical membrane model by Singer-Nicolson and describes the therapeutic targets related to the regulation of the composition and organization of the lipids in the plasma membrane.

Keywords:

lipid phases • glycerophospholipids • sphingolipids • lipid rafts • membrane therapy • G protein • PKC • HSPs

*Praca finansowana z grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/0-079-04/503-01-001.

GLCID:	01.3001.0010.7749
DOI:	10.5604/01.3001.0010.7749
Word count:	7544
Tables:	—
Figures:	3
References:	109

Adres autorki: dr hab. prof. Anna Walczewska, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Interakcji Międzykomórkowych, 92-215 Łódź, Mazowiecka 6/8; e-mail: anna.walczewska@umed.lodz.pl

Wykaz skrótów: **ABC** – białko zawierające kasetę wiążącą ATP (ATP-binding cassette protein); **AFM** – mikroskopia sił atomowych (atomic force microscopy); **APC** – alkilofosfocholina; **BAR (N-BAR, F-BAR, I-BAR)** – domeny deformujące białek (Bin-Amphiphysin-Rsv); **CXCR4** – receptor 4 chemokin o motywie C-X-C; **cPLA₂** – cytosolowa fosfolipaza A₂ zależna od Ca²⁺; **DAG** – diacyloglicerol; **DHA** – kwas dokozahexaenowy; **DSC** – skaningowa kolorymetria różnicowa (differential scanning calorimetry); **ENTH** – domena homologiczna do N-końca epsyny (epsin N-terminal homology domain); **EPA** – kwas eikozapentaenowy; **FAS** – syntaza kwasów tłuszczowych; **FCS** – spektroskopia korelacji fluorescencji (fluorescence correlation spectroscopy); **FERM** – region N-końcowy (four-point one, ezrin, radixin, moesin) białek ERM (ezryna, radyksyna, moezyna) łączących aktyne, merlinę (neurofibromina-2) oraz białko 4.1 z błoną; **FRET** – transfer energii rezonansu fluorescencji (fluorescence resonance energy transfer); **GM3** – gangliozyd 3; **GPI** – kotwica glikofosfatydyloinozytolowa; **GPCR** – receptory serpentynowe połączone z białkiem G (G protein coupled receptors); **GTPaza** – guanazylo-5'-trifosfataza; **HSF-1** – czynnik 1 szoku cieplnego (heat shock factor); **HSPs** – białka szoku cieplnego (heat shock proteins); **Ld** – płynna faza lipidów nieuporządkowana (liquid disordered); **Lo** – płynna faza lipidów uporządkowana (liquid ordered); **LPC** – lizofosfatydylocholina; **MAPKs** – kinazy aktywowane miogেনem; **PALM** – mikroskopia lokalizacji fotoaktywacyjnej (photo-activated localization microscopy); **PC** – fosfatydylocholina; **PDZ** – domena białek, której nazwa pochodzi z połączenia nazw białek – postsynaptic density protein (PSD95), Disks large homolog (Dlg1) oraz Zonula Occludens proteins (ZO) – okludyny, znajdujące się w połączeniach zamykających (typu tight junctions); **PE** – fosfatydyloetanolamina; **PI** – fosfatydyloinozytol; **PH** – domena homologiczna do plekstryny (pleckstrin homology domain); **PKC** – kinaza białkowa C; **PS** – fosfatydyloseryna; **PTB** – domena wiążąca fosforylowaną tyrozinę (phosphotyrosine-binding domain); **PUFA** – wielonienasycone kwasy tłuszczowe; **PX** – domena homologiczna do domeny Phox (Phox homology domain); **siRNA** – krótki interferujący RNA; **SM** – sfingomielina; **SMS** – syntaza sfingomieliny; **SPR** – powierzchniowy rezonans plazmonowy (surface plasmon resonance); **STED** – mikroskopia fluorescencyjna wysokiej zdolności rozdzielczej (stimulated emission depletion); **TMEM16** – białko błonowe o aktywności skramblazy (transmembrane member 16); **XKR** – białko z rodziny XK, kodowane przez gen XK.

WPROWADZENIE

Błony komórkowe i błony organelli wewnątrzkomórkowych, są aktywnymi uczestnikami szlaków sygnalizacyjnych oraz procesów syntezy i transportu w komórkach. Błony biologiczne komórek eukariotycznych są tworzone przez regularnie ułożone fosfolipidy z cholesterolem, w których znajdują się w różnej ilości i w różny sposób umiejscowione białka. Mimo że ogólny schemat budowy błon zaproponowany przez Singera i Nicolsona w 1972 r. [79] jest nadal aktualny, to dzisiejsza wiedza o strukturze i dynamicznych zmianach błon jest znacznie większa. Lipidomika wykazała w komórkach istnienie tysięcy rodzajów glicerofosfolipidów, sfingolipidów, pochodnych kwasów tłuszczowych oraz steroli [108]. Zaawansowane techniki mikroskopowe zmodyfikowały pierwotne założenia struktury błony, zgodnie z którymi lipidy zajmują większą powierzchnię niż białka w błonach komórkowych. Technikami mrożenia i łama-

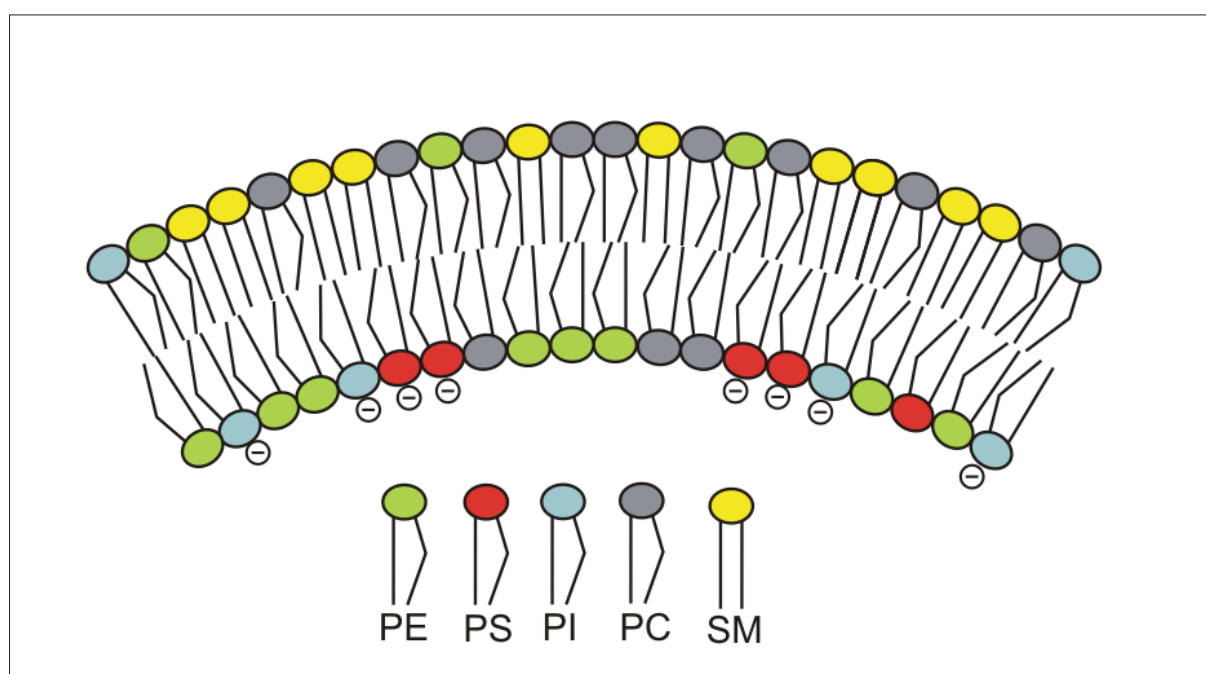
nia w wysokiej próżni (freeze-fracture, freeze-etching) wykazano, że dwuwarstwa lipidowa błon jest tak gęsto wypełniona białkami transbłonowymi, że większość lipidów pozostaje w bezpośredniej interakcji z białkami, a dominujące w błonie są oddziaływania białko-białko, a nie lipid-białko [28]. Takie interakcje są potwierdzone dla sygnalizacji za pośrednictwem białka G [35] oraz dla kompleksów łańcucha oddechowego [5]. Ponadto, tradycyjny podział białek błonowych wyróżniał w sposób statyczny białka połączone z błonami oraz białka cytosolowe. Obecnie wiadomo, że białka w komórkach mogą przebywać w cytosolu oraz czasowo być połączone z błoną komórkową, np. rodzina kinaz Raf. Rekrutacja białek z cytosolu do błony może się opierać na słabych niekowalencyjnych siłach, takich jak oddziaływania elektrostatyczne i polarne oraz na silniejszych, kowalencyjnych połączeniach lipidów i białek. Fosfatydyloetanolamina (PE) i fosfatydylocholina (PC) znajdujące się głównie w zewnętrznej monowarstwie mają charak-

ter dipola. Natomiast fosfatydyloseryna (PS), kwas fosfatydowy, fosfatydyloinozytol (PI), a zwłaszcza fosforany fosfatydyloinozytolu ($\text{PI}(3,4,5)\text{P}_3$, $\text{PI}(4,5)\text{P}_2$), dominujące w cytosolowej monowarstwie błon komórkowych, mają ujemny ładunek elektryczny (ryc. 1). Białka w zależności od struktury tworzą elektrostatyczne połączenie ich regionu polikationowego z ujemnie naładowanymi fosfolipidami. Dzięki tym połączeniom dochodzi do aktywacji wielu kaskad sygnałowych, m.in. do aktywacji kinazy serynowo-treoninowej Akt wpływającej na metabolizm glukozy oraz proliferację i przeżycie komórki [3]. Przykładem kowalencyjnych połączeń lipid-białko są modyfikacje błon przez białka bakteryjne i roślinne [73] oraz działanie fosfolipaz i innych enzymów metabolizmu lipidów, które modyfikują lipidy błonowe [23]. Dzięki nowym technikom mikroskopii elektronowej i spektrometrii lepiej poznano organizację lipidów: fazową, warstwową (lamellar) i niewarstwową (non-lamellar) oraz tworzenie mikrodomen (rafts).

FAZOWA ORGANIZACJA LIPIDÓW I JEJ ZNACZENIE

Od początku badań biofizycznych błon wiadomo, że fosfolipidy mogą występować w różnych fazach, które należy rozumieć jako „stan skupienia”, analogicznie do różnych faz termodynamicznych wody. Zastosowanie różnicowej kolorymetrii skaningowej (DSC), rentgenoskopii i spektroskopii NMR umożliwiło wykazanie istnienia polimorfizmu fazowego (mezoform) wyrażonego siłą wiązania między cząsteczkami lipidów i sposobem ich ułożenia względem siebie. Lipidy błon komórkowych najczęściej występują w fazie płynno-krystalicznej, którą charakteryzuje płynność cieczy (liquid-like fluidity) i organizacja cząsteczek, taka jak ciała stałego (crystal-

-like). W jednorodnej mieszaninie lipidów ich organizacja zależy od budowy oraz od czynników fizycznych i chemicznych, takich jak temperatura, pH i siła jonowa roztworów wodnych. W zależności od składu fosfolipidy w dwuwarstwie mogą tworzyć kilka mezoform. Począwszy od fazy żelowej (gel phase), w której lipidy są ułożone ciasno, równoległe do siebie, w związku z czym siły van der Waalsa znacznie redukują ruchliwość lipidów, do fazy płynnej (liquid phase) w wyższej temperaturze. W fazie płynnej lipidy nie tworzą regularnej sieci, są ułożone luźniej, dzięki czemu wykazują większą mobilność [38,78]. Temperatura przejścia fazowego (T_m) dla danego składu lipidów wyznacza punkt zmiany fazowej lipidów w dwuwarstwie [47]. W warunkach homeostazy jonowej i stałej temperatury 37°C fosfolipidy występują w fazie płynnej. Jednak pod wpływem zmian składu fosfolipidów oraz długości i liczby podwójnych wiązań zestryfikowanych acyli kwasów tłuszczowych, lipidy w błonach przejściowo zmieniają swoje uporządkowanie. Dlatego często wyróżnia się fazę płynną nieuporządkowaną (liquid disordered, L_d), gdzie upakowanie lipidów jest najluźniejsze, a dyfuzja boczna i rotacja lipidów są częste oraz fazę płynną uporządkowaną (liquid ordered, L_o), w której boczna dyfuzja lipidów jest zachowana, ale rotacja wokół długiej osi łańcucha alkilowego znacznie ograniczona [44]. Tak dzieje się przy dużej zawartości cholesterolu w błonie, który działając jak „parasol”, rozpycha cząsteczki fosfolipidów, a jednocześnie „usztynia” fazę płynną lipidów [51]. Taka organizacja lipidów jest sugerowana dla mikrodomen nazywanych tratwami lipidowymi [78]. Różnice w organizacji lipidów w fazie L_o i L_d przedstawiono na ryc. 2. Klasyczny model błony Singera-Nicolsona zakładał istnienie jedynie dwuwarstwy lipidowej. Jednak dane teoretyczne i doświadczalne



Ryc. 1. Asymetryczne rozmieszczenie fosfolipidów w zewnętrznej i cytosolowej monowarstwie błony komórkowej

wskazują, że przejściowo w błonach muszą się tworzyć struktury niewarstwowe. Taka organizacja lipidów w błonie jest proponowana podczas łączenia się błon w jedną strukturę (fusion) oraz podczas rozszczepiania struktury np. mitochondriów czy tworzenia pęcherzyków transportowych (fission) [78].

KSZTAŁT CZĄSTECZEK LIPIDÓW I KRZYWIZNY BŁON

Model błony Singera-Nicolsona nie opisywał również istotnych wygięć w zaprezentowanej skali błony. Dzisiaj wiadomo, że błony w komórkach są zazwyczaj pofałdowane, a krzywizny błon dynamicznie ulegają zmianom, tak jak to się dzieje podczas „pączkowania” pęcherzyków z błon ER i aparatu Golgiego, egzocytozy i endocytozy. Ważnym czynnikiem pofałdowania błony jest geometryczny kształt cząsteczek fosfolipidów. Wyznacza go stosunek objętości całej cząsteczki (V) do przekroju poprzecznego polarnej głowy fosfolipidy (A) pomnożony przez wysokość cząsteczki (L), o której decyduje długość zesteryfikowanych reszt kwasów tłuszczowych. Gdy $V/A \times L$ wynosi ~ 1 , cząsteczki przybierają kształt walca i agregują w postaci płaskiej dwuwarstwy. Taki kształt wykazują cząsteczki PC, PS oraz sfingomieliny (SM). Jeśli lipid ma dużą polarną głowę jak fosfatydyloinozytole (np. PI3, PI2) i wąsko ułożone acyle kwasów tłuszczowych ($V/A \times L < 1$), to kształtem przypomina odwrócony stożek, i w jednorodnej mieszaninie agreguje w postaci miceli, w której „głowy” fosfolipidów znajdują się na zewnątrz. Krzywiznę, jaką tworzy monowarstwa takich lipidów, określa się jako krzywizna dodatnia. Natomiast, jeśli polarna część cząsteczki zajmuje małą przestrzeń ($V/A \times L > 1$) jak w przypadku fosfoetanolaminy oraz kwasu lizofosfatydylowego, to cząsteczka ma kształt stożka i w mieszaninie lipidów agreguje w struktury heksagonalne, zwrócone częścią hydrofobową na zewnątrz tworząc krzywiznę ujemną [9,59]. Błony biologiczne są zbudowane jednak z heterogennych fosfolipidów, których oddziaływania lipid-lipid balansują między ich hydrofobowością a siłą odpychającą polarne części cząsteczek, zapewniając optymalne upakowanie cząsteczek lipidów z użyciem najmniejszej energii i jednocześnie możliwość dynamicznych zmian w odpowiedzi na różnego rodzaju sygnały fizjologiczne. W procesie tworzenia nowych lub modyfikacji istniejących w komórce struktur nie wystarczy tylko zmiana składu lipidów w błonie. W tych procesach uczestniczą aktywnie wiele białek, które dzięki swym domenom w różny sposób łączą się z lipidami i albo pośrednio dzięki oddziaływaniom z sąsiednimi białkami transbłonowymi, lub bezpośrednio wyginają błonę po połączeniu z fosfolipidami. Sposoby łączenia białek z lipidami sklasyfikowano w cztery grupy [84]:

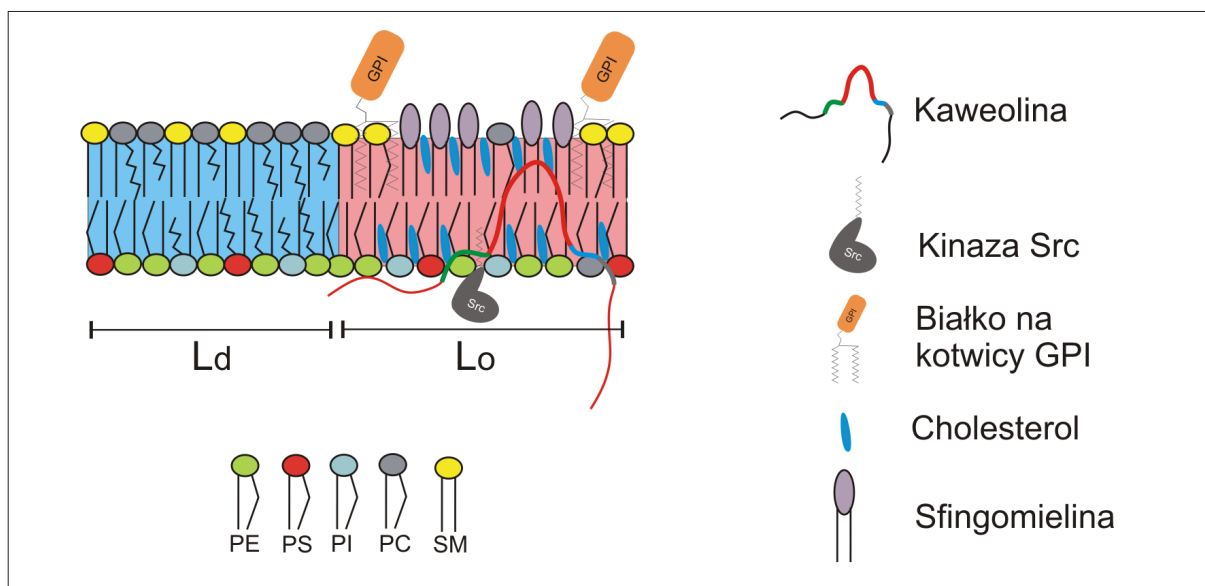
- proste połączenia elektrostatyczne lipid-białko bez rozpoznawania specjalistycznych domen,
- wiązanie przez domeny rozpoznające lipidy takie jak PH, PX, czy ENTH,
- wiązanie białko-lipid przez domeny wiążące lipidy połączone z deformacją spowodowaną wprowadzeniem

- hydrofobowej części tego białka między lipidy,
- połączenie ujemnie naładowanych fosfolipidów błon z domenami białek BAR deformujących błony.

Nadrodzinę białek BAR (Bin-Amphiphysin-Rsv) tworzą białka kształtem przypominające banan, które po połączeniu elektrostatycznym z błoną przez ich dodatnio naładowane pętle monomerów, dzięki ściśle kontrolowanej oligomeryzacji zaginają powierzchnię błony, z którą się łączą. Białka te oprócz domeny BAR mogą zawierać dodatkowe sekwencje. Może to być amfipatyczna α -helisa (N-BAR) występująca sama lub z innymi domenami, np. PH lub PX. Białka posiadające tę domenę uwypuklają błony w stronę cytosolu [70]. Białka z domenami F-BAR, często również w kombinacji z domenami SH3, SH2, czy z kinazą tyrozynową tworzą dimeryczne, dodatnio naładowane moduły, które łączą się elektrostatycznie z fosfolipidami, ale tworzą mniejsze krzywizny niż domeny BAR/N-BAR. Białka z domenami N-BAR (endofilina, amfifizyna) oraz z domenami F-BAR (syndapina) współdziałają w zaginaniu błony podczas endocytozy zależnej od klatryn [41,48]. Trzeci typ domen I-BAR zagina błony w przeciwnym kierunku niż N-BAR i F-BAR tworząc pączki na błonie (budding) [32].

TWORZENIE TRATW I DYNAMICZNA REORGANIZACJA MIKRODOMEN

W modelu Singera-Nicolsona nie zakładano heterogenicznej organizacji błon w postaci dynamicznie reorganizowanych mikrodomen. Długo podawano w wątpliwość istnienie i znaczenie tratw lipidowych (lipid rafts) w żywych komórkach, dopóki wykorzystywano do ich badań biochemiczne metody izolowania w silnych detergentach [77]. Zaawansowane techniki mikroskopowe (AFM, STED, PALM) i spektroskopowe (SPR, FCS, FRET) oraz lipidomika dostarczyły wiele szczegółów dotyczących składu i reorganizacji obszarów błony o rozmiarach nie większych niż 200 nm w czasie milisekund. Jako tratwy określa się domeny błon o ściśle upakowanych lipidach w fazie L_o w stosunku do otaczających, luźniej ułożonych lipidów w fazie L_d . Taką organizację lipidów w błonach determinują długie nasycone łańcuchy acyli kwasów tłuszczowych sfingolipidów oraz duża zawartość cholesterolu. Jednak organizacja fazowa lipidów sama nie decyduje o organizacji nanomilimetrowych domen błon w żywych komórkach. Nieodłącznym elementem mikrodomen tratw jest obecność białek na kotwicy GPI, kaweolin, palmitylowanych i mirystynowanych białek, np. flotyllin, a od strony cytosolowej kinaz tyrozynowych z rodziny Src m.in. Lck, Fyn i Lyn [13] (ryc. 2). Lingwood i Simons [55] uważają, że funkcjonalna heterogeniczność błon zależy od fizycznych właściwości lipidów oraz od interakcji białek transbłonowych z lipidami tworzącymi tratwy. Jednak przebieg rearanżacji obszarów tratw i nietratw, łączenie się tratw w większe platformy w wyniku interakcji lipid-białko oraz białko-białko, endocytoza zależna od kaweolin są nadal szeroko dyskutowane na podstawie wyników uzyskanych różnymi technikami badawczymi [55]. Pierwotna koncepcja, że tratwy służą kompartmentalizacji sygnałów przekazy-



Ryc. 2. Organizacja lipidów w fazie płynnej uporządkowanej (Lo) i w fazie płynnej nieuporządkowanej (Ld)

wanych do komórki uległa rozszerzeniu. Oddziaływania białek transmembranowych między sobą mogą zmieniać konformacje tych białek dzięki rearanzacji mikrodomen i bezpośrednio modyfikować działanie szlaków sygnalizacyjnych [78]. Mikrodomeny lipidowo-białkowe występują także w wielu organellach komórkowych. Odgrywają tam ważną rolę m.in. w regulacji syntezy *de novo* cząsteczek w ER oraz w ich sortowaniu w kompleksie Golgiego (trans-Golgi-network) [105].

Mając poszerzoną wiedzę na temat budowy błon biologicznych i skutków zmian ich składu stało się jasne, że błony mogą być ważnym celem terapeutycznym w wielu najgroźniejszych chorobach. Wśród farmakologicznych strategii skierowanych na modyfikację błon można wyróżnić:

- bezpośrednie wiązanie cząsteczek leku do błony modyfikujące interakcje jednego lub więcej białek z lipidami;
- modyfikowanie aktywności enzymów zmieniające skład lipidów w błonie;
- regulowanie ekspresji genów lipogenezy, katabolizmu i transportu lipidów lub prenylacji białek;
- modyfikowanie składu traw lipidowych;
- modyfikowanie białek błonowych zmieniające interakcje lipid-białko oraz białko-białko.

MODYFIKOWANIE DZIAŁANIA TRIMERU BIAŁKA G

Zaprogramowany genetycznie i podlegający homeostazie skład błon w poszczególnych rodzajach komórek może być modyfikowany dietą oraz stosowaniem nutraceutyków lub farmaceutyków. Zmiana składu lipidów pociąga za sobą zmiany działania dużych wielodomenowych białek transbłonowych oraz białek sygnałowych związanych z błonami np. małych białek regulujących wiązanie GDP. Największą i najbardziej

zróżnicowaną nadrodziną białek regulującą ogromną liczbę procesów fizjologicznych są receptory związane z kompleksem białka G (GPCR). Receptory te przekształcają na wewnątrzkomórkowe sygnały biochemiczne tak odmienne ligandy jak fotony, jony Ca^{2+} , aminokwasy, nukleotydy, peptydy, białka oraz tysiące drobnocząsteczkowych związków chemicznych tworzących zapachy [102]. Po związaniu ligandu przez GPCR następuje aktywacja heterotrimeru $\text{G}\alpha\beta\gamma$, co umożliwia wymianę GDP na GTP w podjednostce $\text{G}\alpha$ i jej oddysocjowanie od dimeru $\text{G}\beta\gamma$. Ten mechanizm wzmacnia oraz dywersyfikuje sygnał jednego liganda na różne białka efektorowe w komórce. Wymiana GDP/GTP oraz hydroliza GTP jest regulowana przez cytoplazmatyczne białka regulacyjne, które ułatwiają lub utrudniają wiązanie GTP i jego hydrolizę w zależności od izoformy $\text{G}\alpha$. Są to: białka GEFs (guanine nucleotide exchange factors) przyspieszające wymianę GDP na GTP i aktywujące $\text{G}\alpha$; białka GDI (guanine nucleotide dissociation inhibitor) współdziałające głównie z $\text{G}\alpha_{i/o}$, które stabilizują $\text{G}\alpha$ w nieaktywnej postaci związanej z GDP oraz białka GAPs o aktywności GTPazy, które są antagonistami GEFs, przyspieszają hydrolizę GTP, co powoduje zakończenie sygnalizacji przez $\text{G}\alpha$ i ułatwia reasocjację $\text{G}\alpha$ z $\text{G}\beta\gamma$ [25]. W procesie aktywacji i dysocjacji $\text{G}\alpha$ od dimeru $\text{G}\beta\gamma$ oraz ich ponownego łączenia odgrywają rolę nie tylko białka regulacyjne, ale także interakcje między podjednostkami białka G i lipidami błony. Docelową lokalizacją białka w błonie oraz interakcje z innymi białkami sygnałowymi reguluje mirystylacja i palmitylacja podjednostki $\text{G}\alpha$ [63] oraz prenylacja C-końca podjednostki $\text{G}\gamma$ [101]. W związku z tym modyfikacje łańcucha lipidowego wiążącego docelowe białko z błoną jest istotnym czynnikiem regulacji szlaków sygnałowych w komórkach.

Badania z użyciem modelowych liposomów i oczyszczonych białek G wykazały, że podjednostki białka G

mają różne powinowactwo do mikrodomen błonowych. Dimer G $\beta\gamma$ i trimer G $\alpha\beta\gamma$ mają większe powinowactwo do mikrodomen błony o luźnej budowie niewarstwowej [29,99], gdyż podjednostka G γ z dużą grupą prenylową, trudno inkorporuje się w miejscach błony o silnych oddziaływaniach między lipidami. Ponadto, PE obecna w cytosolowej monowarstwie błony oraz serpentynowe receptory GPCR wspólnie indukują powstanie układu heksagonalnego lipidów, który ułatwia interakcję z podjednostką G γ . Podjednostka G α przeciwnie, preferuje mikrodomeny Lo o silniejszych interakcjach lipid-lipid, bogatych w sfingomielinę i cholesterol, takie jakie występują w tratwach lipidowych [99] i gdzie ma łatwiejszy dostęp do białek efektorowych związanych z tratwami. Udział organizacji błony w sygnalizacji białka G może potwierdzać badanie, w którym wykazano, że zwiększona ilość jednonasyconego kwasu oleinowego w fosfolipidach błony zwiększa efektywność sygnału białka G po aktywacji receptora adrenergicznego α_2 bardziej niż jego naturalny ligand [107]. Również zwiększenie zawartości DHA w błonach spowodowało wzrost aktywności cykazy adenylanowej połączony ze zmniejszeniem ilości G α_s w tratwach [109]. Te przykłady wskazują, że zmiana składu fosfolipidów i organizacji mikrodomen powoduje zmiany szlaków sygnalizacyjnych przenoszonych przez podjednostki białka G. Wykorzystano to do tworzenia syntetycznych lipopeptydów (pepducins), które składają się z lipidu, takiego jak palmitinian, mirystynian lub kwas litocholowy połączony z peptydem, który łączy się z jedną cytoplazmatyczną pętlą receptora GPCR. Lipid ułatwia przechodzenie peptydu przez błonę i jego zakotwiczenie w błonie, a peptyd umożliwia allosteryczną modulację określonego szlaku sygnalizacyjnego. W zależności od budowy lipopeptydy mogą działać jako agoniści, antagoniści lub modulatory aktywności receptorów GPCR. Technologia ta, opisana po raz pierwszy przez Covica i wsp. [21], umożliwiła powstanie wielu różnorodnych lipopeptydów, które mogą modylować aktywność receptorów sprzężonych z białkami G, takich jak receptory aktywowane przez proteazy (protease-activated receptors) typu 1, 2 i 4, receptory chemokin z grupy CXC, receptor sfingozyno-1-fosforanu typu 3, receptor melanokortyny 4, podjednostka G $\alpha_{q/11/13}$, receptor wanilinowy 1 oraz receptor $\alpha_1\text{Ib}\beta_3$ integryny [17,31]. Jednym z opracowanych lipopeptydów jest ATI-2341 połączony z kwasem palmitynowym, który po wejściu do komórki modyfikuje pierwszą wewnątrzkomórkową pętlę receptora chemokin CXCR4 i aktywuje jego szlak sygnalizacyjny [86]. Terapia skierowana na zmianę składu lipidów błonowych może dotyczyć także błony mitochondriów. Zaobserwowano, że zastosowanie kardiolipiny wzbogaconej w wielonienasycone kwasy tłuszczowe przywraca prawidłową strukturę błony i aktywność kanałów Ca $^{2+}$ w mitochondriach [82].

MODYFIKOWANIE DZIAŁANIA KINAZY BIAŁKOWEJ C

Innym wewnątrzkomórkowym szlakiem sygnalizacyjnym związanym z translokacją do błony komórkowej i zależnym od składu lipidów w błonie jest

aktywacja kinazy białkowej C (PKC). Diacylglicerol (DAG) powstający z udziałem fosfolipazy C reorganizuje lipidy w błonach, ponieważ zmienia ustawienia hydrofilowych głów fosfolipidów, zwiększa odległości między nimi oraz hydrofilność błony [37]. W miejscu, gdzie powstaje DAG, fosfolipidy mają tendencję do tworzenia struktury heksagonalnej, rozdzielając obszary z dużą zawartością DAG od obszarów ubogich w DAG [38]. W cząsteczce PKC dwie domeny C1 umiejscowione na N-końcu uczestniczą w interakcji z DAG, a domena C2 bierze udział w wiązaniu jonów Ca $^{2+}$, PS oraz innych ujemnie naładowanych fosfolipidów błony [20,94]. Tak więc, skład fosfolipidów i rodzaj acyli kwasów tłuszczowych w fosfolipidach decyduje o umiejscowieniu PKC w błonie i determinuje, które docelowe białko zostanie ufosforylowane przez PKC. Na przykład kwas arachidonowy uwolniony przez cytosolową fosfolipazę A $_2$ (cPLA $_2$) może działać synergistycznie z DAG aktywując PKC i kierować określone izoformy PKC do mikrodomen w błonie pośrednicząc w modulowaniu szlaku sygnałowego wykorzystującego jony Ca $^{2+}$ [66]. Jednak precyzyjne określenie mechanizmu aktywacji PKC utrudnia to, że wiele białek zawiera różnorodne motywy, takie jak domeny PH, PX, ENTH, PDZ, PTB, FERM [4,11], które wiążą fosforany fosfoinozytolu. Białka te po połączeniu z błoną na skutek interakcji białko-białko ingerują w konformację PKC i zmieniają jej powinowactwo do fosfolipidów w błonie [84].

MODYFIKOWANIE EKSPRESJI I DZIAŁANIA BIAŁEK SZOKU CIEPLNEGO

Możliwa jest też zmiana czynności komórek w wyniku ingerencji w molekularną maszynę chaperonów szoku cieplnego (HSPs). Białka HSP biorą udział w wielu procesach naprawy struktury białek i są niezbędne do uzyskania prawidłowej budowy przestrzennej niektórych nowo syntetyzowanych białek [40,43]. Ponadto, HSPs są ważnymi mediatorami sygnalizacji międzykomórkowej [12]. Wykazano, że aktywowany w stresie chaperon HSP70 jest zasocjowany z tratwami błonowymi [10,100] i ulega nadekspresji w liniach ludzkich komórek nowotworowych [74]. Białko HSP70 uwolnione z komórki jest skutecznym aktywatorem immunologicznej odpowiedzi przeciwzapalnej, ale może również stymulować cytokiny prozapalne w monocytach [2]. Inny chaperon HSP60, w komórkach ssaków jest umiejscowiony w 80-85% w matriksie mitochondriów [67]. W uszkodzonych kardiomiocytach HSP60 przemieszcza się z mitochondriów do błony komórkowej [54], a jego translokacja nasila odpowiedź prozapalną m.in. przez zwiększenie uwalniania TNF- α . Zawartość HSPs w komórce zmienia się na skutek podwyższonej temperatury i innych czynników stresowych, a także w komórkach zmienionych nowotworowo oraz w cukrzycy. Ze względu na łączenie się HSPs ze swoistymi lipidami lub mikrodomenami tratw nawet niewielkie zmiany struktury błony i jej organizacji mogą zmieniać ekspresję genów *hsp* [95,97] oraz translokację białek HSP w obrębie komórki lub zwiększać egzocytozę HSP [83].

MODYFIKOWANIE AKTYWNOŚCI ENZYMÓW ODPOWIEDZIALNYCH ZA SKŁAD LIPIDÓW W BŁONIE

Skład lipidów w błonach może być modyfikowany nie tylko dietą, ale także przez zmianę aktywności enzymów syntetyzujących lub katabolizujących lipidy błonowe. Zawartość SM w tratwach zależy od aktywności syntazy sfingomieliny (SMS), która katalizuje odwracalne przekształcenie PC oraz ceramidu w SM i DAG. Niekorzystną małą zawartość SM w błonach można przywrócić przez zwiększenie aktywności SMS [6].

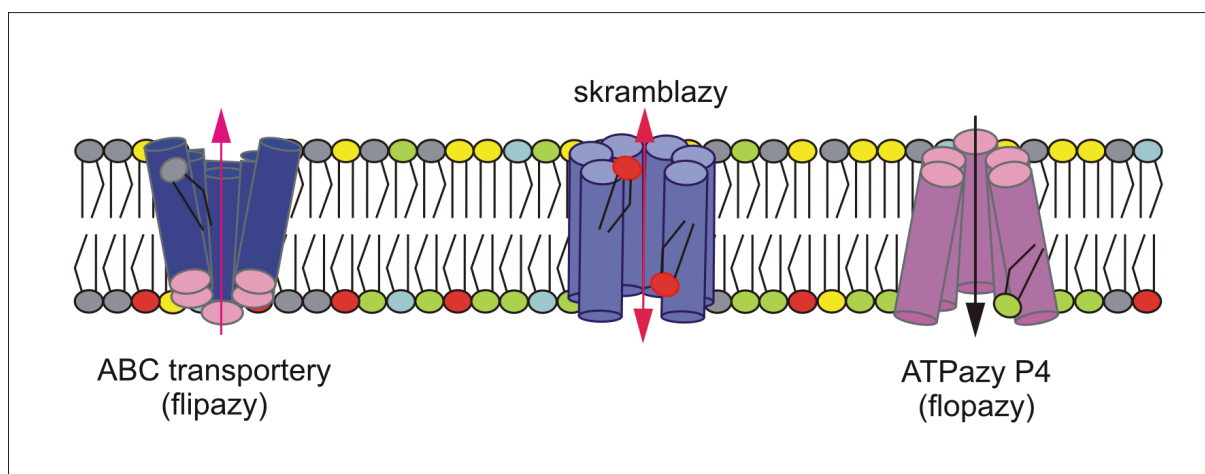
Istotną rolę w modyfikowaniu metabolizmu komórek odgrywa również profil gangliozydów w błonie, który zależy od aktywności syntazy gangliozydów [64]. Udokumentowano zależność między ekspresją gangliozydu GM3 a proliferacją komórek prawidłowych [81] oraz nowotworowych [49] w odpowiedzi na nabłonkowy czynnik wzrostu. Obecność i rodzaj gangliozydu w tratwach lipidowych jest istotna również dla prawidłowego działania receptora insulinowego, gdyż wzrost ilości GM3 w tratwach wywołuje insulinooporność u myszy, natomiast jego niedobór utrzymuje wrażliwość komórek na insulinę, mimo stosowania diety sprzyjającej cukrzycy [106]. Działanie insuliny w adipocytach i w komórkach mięśniowych jest związane z kaweolami. Wysłunięto hipotezę, że reorganizacja kaweoli wynikająca ze zwiększonej ilości glikozydu GM3 powoduje dysocjację kompleksów receptora insuliny i kaweoliny, hamuje szlaki sygnałowe zależne od insuliny i powoduje insulinooporność [8,18].

MODYFIKACJA EKSPRESJI GENÓW WPŁYWAJĄCYCH NA SKŁAD LIPIDÓW W BŁONIE

Skład lipidów błonowych może być także regulowany zmianami aktywności i/lub ekspresji transporterów odpowiedzialnych za rozmieszczenie fosfolipidów w dwuwarstwie lipidowej przyczyniając się do zmian interakcji lipid-białko i modyfikowania kaskad sygnałowych w komórkach. Asymetryczne rozmieszczenie

lipidów jest utrzymywane dzięki ATPazom typu P4 oraz transporterom ABC (ryc. 2). ATPazy typu P4, nazywane flipazami, aktywnie przenoszą lipidy z zewnętrznej do cytosolowej monowarstwy błony. Natomiast transportery ABC, czyli flopazy transportują lipidy w kierunku przeciwnym, z cytosolowej do zewnętrznej monowarstwy błony [19]. Trzecia klasa transporterów, obecna tylko w komórkach eukariotycznych, to skramblazy, które przenoszą biernie fosfolipidy w obu kierunkach. Ich zwiększona aktywność znosi asymetrię rozmieszczenia lipidów ustaloną przez transportery zależne od ATP [7]. Schemat działania transporterów w błonach komórkowych przedstawia ryc. 3.

Wyniki badań klinicznych wskazują na patologie związane z nieprawidłową ekspresją lub aktywnością białek transportujących fosfolipidy. Nadekspresja glikoproteiny P jest związana ze zmienioną zawartością cholesterolu, SM, glikocerebrozydu i innych glikosfingolipidów w błonie komórek raka jajnika [93]. Natomiast następstwem funkcjonalnej mutacji genu *ABCB4*, który koduje glikoproteinę 3, jest postępująca rodzinna cholestaza wewnątrzwątrobową [24], ponieważ białko to odpowiada za eksport PC z cytosolowej do zewnętrznej monowarstwy lipidów w błonie [92]. Knock-out genu *ABCA1* u myszy spowodował znaczące obniżenie zawartości PS w błonie erytrocytów [1]. Natomiast w mózgu transgenicznym myszy z wyciszonym genem *ABCA2* obserwowano obniżone stężenie PE i PS [72], a w ciałkach blaszkowatych pneumocytów typu II u myszy z wyciszonym genem *ABCA3* zmniejszenie zawartości PC [15]. U noworodków z mutacją genu *ABCA3* występują niedobory surfaktantu [75]. Wyniki wskazują, że białko *ABCA4* jest swoistym transporterem umożliwiającym usuwanie potencjalnie toksycznych pochodnych retinoidowych w fotoreceptorach [69], a mutacja genu *ABCA4* może być przyczyną degeneracji plamki żółtej w przebiegu choroby Stargarda. Przyczyną wielu zmian patologicznych są również wady funkcjonowania skramblaz. Mutacja genu *TMEM16* odpowiada za wrodzoną skazę krwotoczną w zespole Scotta [103]. Skramblazy z rodziny



Ryc. 3. Schemat działania transporterów uczestniczących w utrzymaniu asymetrycznego rozmieszczenia fosfolipidów w dwuwarstwie lipidowej błony komórkowej

białek XKR mają sekwencję umożliwiającą identyfikację kaspazy 3 i 7. Aktywacja XKR8 przez kaspazy przenosi PS do zewnętrznej monowarstwy podczas apoptozy [85]. W związku z wieloma patogennymi zmianami pojawiającymi się w wyniku dysfunkcji działania i ekspresji białek transportujących lipidy również ingerencja genetyczna w tę grupę transporterów fosfolipidów stanowi cel terapeutyczny.

ZASTOSOWANIE TERAPII BŁON W MEDYCYNIE

Wszystkie działania, które modyfikują struktury błon, a więc zmieniają skład lipidów, aktywność enzymów czy ekspresję genów są wykorzystywane jako molekularne cele do opracowywania nowych związków mogących mieć zastosowanie w terapii najgroźniejszych współczesnych chorób. Większość badań potwierdza zmiany zawartości poszczególnych klas lipidów w komórkach nowotworowych w porównaniu z komórkami zdrowymi. Przykładowo, w błonie komórek plazmatycznych pacjentów ze szpiczakiem mnogim stwierdzono trzykrotnie niższy stosunek cholesterolu do plazmalogenów w porównaniu do leukocytów osób zdrowych [89]. Natomiast w linii komórek raka stercza i piersi wykazano większą zawartość cholesterolu w porównaniu do komórek zdrowych [33,71]. Jednak różnice zawartości cholesterolu są trudne do ustalenia i zależą od wielu czynników, w tym od rodzaju komórek nowotworowych. W błonach komórek nowotworowych stwierdza się także zaburzenia proporcji PE do SM [80] oraz zwiększenie ilości gangliozydów [64]. Prawidłowa zawartość SM w błonie decyduje o wyborze określonego szlaku sygnałowego. Może to dotyczyć m.in. zależnej od DAG aktywacji PKC, która w komórkach nowotworowych redukuje ilość cykliny D oraz zależnych od niej kinaz 4 i 6 [57] lub zmniejsza aktywność szlaku kinaz MAPK, co przyczynia się do zmiany stanu komórki nowotworowej z proliferacyjnego na spoczynkowy [60,87]. Analiza bazy danych REMBRANT, która zbiera kompleksowe dane genetyczne, proteomiki, radiologii, patologii i badań klinicznych w nowotworach mózgu wykazała, że dwukrotne zmniejszenie ekspresji SMS 1 statystycznie istotnie zmniejsza przeżywalność pacjentów z glejakiem wielopostaciowym [57].

Istotne znaczenie w interakcji lipidy-białka ma mobilność lipidów, która zależy w dużym stopniu od zawartości cholesterolu i SM w obrębie mikrodomen tratw. Od wczesnych lat 80 ub.w. antracykliny są szeroko stosowane jako leki przeciwnowotworowe. Antybiotyki te działają cytostatycznie i cytotoksycznie modyfikując strukturę DNA, jednak oddziałują również na strukturę błon lipidowych. Kompleks doksorubicyny z agarozą nie wnika do komórek nowotworowych, a jednak powoduje ich śmierć, ponieważ modyfikuje strukturę błony tych komórek [88]. W badaniach na sztucznych błonach wykazano, że daunorubicyna wiążąc się z fosfolipidami, ogranicza obszar mikrodomen o heksagonalnej (niewarstwowej) organizacji lipidów, co wpływa na interakcje lipidy-białka i modyfikuje sygnalizację kompleksu białka G oraz na procesy transportu pęcherzykowego [30]. Lek Mineraval (kwas

2-hydroksyoleinowy) redukuje uporządkowanie lipidów w błonie, stymuluje aktywność SMS oraz zwiększa zawartość SM w błonie komórek raka płuc, białaczki oraz glejaka mózgu, ale nie w komórkach prawidłowych [56,60]. Barceló-Coblijn i wsp. [6] wykazali, że w wyniku normalizacji zawartości lipidów i podwyższenia stosunku SM:PE następuje inaktywacja szlaku kinaz MAPK i zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych. Zmiany organizacji fazowej lipidów w błonach uzyskuje się także przez stosowanie pochodnych PUFAs. Na modelowych błonach lipidowych wykazano, że zwiększenie zawartości kwasów 2-hydroksy-oleinowego, 2-hydroksy-arachidonowego i 2-hydroksy-dokozaheksaenowego spowodowało obniżenie stosunku faz Lo/Ld prawie o 10% i reorganizację mikrodomen lipidowych [45].

Inną grupą cząsteczek działających na błonę o silnych właściwościach przeciwnowotworowych są pochodne powstałe z kowalencyjnego połączenia PUFA z anestetykiem propofolem (2,6-diizopropylfenol) [58]. Sidiqi i wsp. [76] wykazali, że połączenie propofolu z DHA i EPA ograniczyło migrację i adhezję komórek linii raka piersi oraz zwiększyło o 40% ich apoptozę. W terapii raka piersi mogą też być skuteczne inhibitory syntazy kwasów tłuszczowych (FAS). Antygen-519, czyli FAS jest uznanym markerem złośliwości nowotworu [61] i od wielu lat wiadomo, że hiperaktywność FAS prognozuje mniejszą przeżywalność pacjentek z rakiem piersi [52]. W związku z tym są podejmowane próby zastosowania inhibitorów FAS lub siRNA FAS jako leków przeciwnowotworowych. Wśród obecnie badanych związków znajdują się m.in. C75 - inhibitor FAS [14,53], galusan epigallokatetechiny [26] oraz Orlistat [62].

W naprawie komórek zmienionych nowotworowo o zaburzonych relacjach lipidów i ich interakcjach z białkami błonowymi ważną rolę odgrywa zwiększenie obszarów błony o większej ruchliwości lipidów (fazy Ld). Jednym ze sposobów osłabienia sił wiązania lipid-lipid jest zwiększenie zawartości PUFA w błonie diety lub ich dostarczanie w postaci farmaceutyków, ale także konstruowanie sztucznych cząsteczek, które rozluźniają wiązania między lipidami. Do takich cząsteczek można zaliczyć pochodne lizofosfatydylocholiny (LPC). Pierwsze zaprojektowane analogi LPC to alkilolizofosfolipidy: edelfozyna (1-O-oktadecylo-2-O-metylo-sn-glicero-3-fosfocholina; ET-18-OCH₃) [27] oraz ilmofozyna [34,42], które wykazują silne działanie przeciwnowotworowe. Jednak z powodu zaburzeń czynności przewodu pokarmowego u pacjentów, związki te nie znalazły powszechnego zastosowania klinicznego [65]. Kolejna generacja modyfikowanych fosfolipidów to alkilofosfocholiny (APC), w których usunięto szkielet glicerolu [27]. W tej grupie pochodnych fosfolipidowych powstały miltefozyna oraz peryfozyna testowana klinicznie w wielu typach nowotworów [22,42,98]. Dwie inne pochodne APC to erucylofosfocholina i jej analog Eufrozyna mające 22-węglowe łańcuchy z jednym wiązaniem podwójnym [46]. Van der Luit i wsp. [91] stwierdzili, że SM jest niezbędna do wiązania APC w tratwach,

a spośród alkilofosfocholin edelfozyna najsilniej hamuje syntezę fosfolipidów i indukuje apoptozę komórek białaczki. Działanie pochodnych APC najprawdopodobniej opiera się na hamowaniu biosyntezy PC w ER przez blokowanie cytydylotransferazy choline. W wyniku zmian ilościowych lipidów, a przede wszystkim zwiększenia ilości ceramidu w błonie, następują: zaburzenie homeostazy Ca^{2+} , stres w komórce, aktywacja apoptozy oraz hamowanie szlaków sygnalizacji proliferacyjnej Ras/Raf/MAPK/ERK oraz PI3K/Akt [90].

W chorobach neurodegeneracyjnych stwierdza się znaczące obniżenie zawartości plazmalogenów w mózgu, które prawdopodobnie odpowiada za demielinizację i ubytek neuronów [39]. Dlatego poszukuje się analogów, które uzupełniałyby ich zawartość w błonie. Należą do nich zgłoszone do opatentowania prekursorzy plazmalogenu, pochodne 1-alkilo-, 2-acylo-glicerolu [50]. Badania właściwości jednej z tych pochodnych (PPI-1011), która w pozycji sn-1 glicerolu zawiera kwas palmitynowy, w pozycji sn-2 DHA, a sn-3 kwas liponowy wykazały, że zachowuje on bioaktywność po podaniu drogą pokarmową i efektywnie zwiększa zawartość DHA w PE oraz w plazmalogenie etanolaminy mózgu królika [104].

Do utrzymania homeostazy w komórkach duże znaczenie ma prawidłowa regulacja ekspresji i działania chaperonów HSP. Komórki nowotworowe charakteryzuje najczęściej zwiększona obecność HSPs, a w starszym wieku, w cukrzycy oraz w chorobach neurodegeneracyjnych odwrotnie, zawartość HSPs jest niska [98]. Nietoksyczne pochodne hydroksyloaminy nasilają ekspresję HSPs i wykazują korzystne działanie w wielu stanach patologicznych [96]. Przyspieszają np. gojenie ran w cukrzycy, opóźniają rozpoczęcie zaniku motoneuronów w stwardnieniu zanikowym bocznym (ALS) oraz zwiększają wrażliwość komórek na insulinę w genetycznej i indukowanej dietą otyłości [16]. Jedną z pochod-

nych hydroksyloaminy jest BGP-15, inhibitor polimerazy poli(ADP-rybozy). Gombos i wsp. [36] wykazali, że BGP-15 zapobiega strukturalnej dezintegracji traw lipidowych pod wpływem wzrostu temperatury, jaki występuje w gorączce, remodeluje obszary bogate w cholesterol w komórkach jajnika, zaś w linii komórek nerkowych indukuje ekspresję HSP przez hamowanie acetylacji HSF-1 (heat shock factor-1). Zapewnia to przedłużony czas trwania połączenia tego czynnika transkrypcyjnego z sekwencją DNA występującą w obszarze promotorów genów *Hsp* i zwiększa transkrypcję HSPs.

PODSUMOWANIE

Dekady badań nad błonami i rozwój nowoczesnych technik badawczych, które umożliwiają wniknięcie w nanometrowe zmiany struktury błon, znacząco rozszerzyły wiedzę o jej budowie i dynamicznej reorganizacji. Dzięki temu stały się możliwe terapie skierowane na przywrócenie zaburzonych relacji ilościowych lipidów oraz ich organizacji w błonach komórek patologicznych lub starzejących. Strategie terapeutyczne mogą dotyczyć bezpośredniej ingerencji w skład lipidów błonowych, który determinuje czynność białek transbłonowych oraz modyfikuje organizację mikrodomen błonowych, mogą też dotyczyć zmian aktywności enzymów związanych z błonami lub modulowania ekspresji genów enzymów mających wpływ na skład lipidów. Uzyskane modyfikacje błony pociągają za sobą zmianę interakcji lipid-białko oraz białko-białko, w rezultacie interweniuje w konkretne szlaki sygnalizacyjne w komórkach. Wiele wskazuje, że są to ważne cele strategiczne w zwalczaniu chorób nowotworowych i neurodegeneracyjnych.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują Lesławowi Miśkiewiczowi i Adamowi Stępniewi za wykonanie rysunków.

PIŚMIENICTWO

- [1] Alder-Baerens N., Müller P., Pohl A., Korte T., Hamon Y., Chimini G., Pomorski T., Herrmann A.: Headgroup-specific exposure of phospholipids in ABCA1-expressing cells. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 26321-26329
- [2] Asea A., Kraeft S.K., Kurt-Jones E.A., Stevenson M.A., Chen L.B., Finberg R.W., Koo G.C., Calderwood S.K.: HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat. Med.*, 2000; 6: 435-442
- [3] Balla T.: Phosphoinositides: tiny lipids with giant impact on cell regulation. *Physiol. Rev.*, 2013; 93: 1019-1137
- [4] Balla T.: Inositol-lipid binding motifs: signal integrators through protein-lipid and protein-protein interactions. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 2093-2104
- [5] Baradaran R., Berrisford J.M., Minhas G.S., Sazanov L.A.: Crystal structure of the entire respiratory complex I. *Nature*, 2013; 494: 443-448
- [6] Barceló-Coblijn G., Martin M.L., de Almeida R.F., Noguera-Salvà M.A., Marcilla-Etxenike A., Guardiola-Serrano F., Lüth A., Kleuser B., Halver J.E., Escrivá P.V.: Sphingomyelin and sphingomyelin synthase (SMS) in the malignant transformation of glioma cells and in 2-hydroxyoleic acid therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 19569-19574
- [7] Bevers E.M., Williamson P.L.: Phospholipid scramblase: an update. *FEBS Lett.*, 2010; 584: 2724-2730
- [8] Bickel P.E.: Lipid rafts and insulin signaling. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2002; 282: E1-E10
- [9] Bigay J., Antonny B.: Curvature, lipid packing, and electrostatics of membrane organelles: defining cellular territories in determining specificity. *Dev. Cell*, 2012; 23: 886-895
- [10] Broquet A.H., Thomas G., Masliah J., Trugnan G., Bachelet M.: Expression of the molecular chaperone Hsp70 in detergent-resistant microdomains correlates with its membrane delivery and release. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 21601-21606
- [11] Burd C.G., Emr S.D.: Phosphatidylinositol(3)-phosphate signaling mediated by specific binding to RING FYVE domains. *Mol. Cell*, 1998; 2: 157-162

- [12] Calderwood S.K., Mambula S.S., Gray P.J., Theriault J.R.: Extracellular heat shock proteins in cell signaling. *FEBS Lett.*, 2007; 581: 3689-36894
- [13] Chatterjee S., Mayor S.: The GPI-anchor and protein sorting. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2001; 58: 1969-1987
- [14] Cheng X., Li L., Uttamchandani M., Yao S.Q.: In situ proteome profiling of C75, a covalent bioactive compound with potential anticancer activities. *Org. Lett.*, 2014; 16: 1414-1417
- [15] Cheong N., Zhang H., Madesh M., Zhao M., Yu K., Dodia C., Fisher A.B., Savani R., Shuman H.: ABCA3 is critical for lamellar body biogenesis *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 23811-23817
- [16] Chung J., Nguyen A.K., Henstridge D.C., Holmes A.G., Chan M.H., Mesa J.L., Lancaster G.I., Southgate R.J., Bruce C.R., Duffy S.J., Horvath I., Mestrlil R., Watt M.J., Hooper P.L., Kingwell B.A. i wsp.: HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 1739-1744
- [17] Cisowski J., O'Callaghan K., Kuliopulos A., Yang J., Nguyen N., Deng Q., Yang E., Fogel M., Tressel S., Foley C., Agarwal A., Hunt S.W. 3rd., McMurry T., Brinckerhoff L., Covic L.: Targeting protease-activated receptor-1 with cell-penetrating peptides in lung cancer. *Am. J. Pathol.*, 2011; 179: 513-523
- [18] Cohen A.W., Combs T.P., Scherer P.E., Lisanti M.P.: Role of caveolin and caveolae in insulin signaling and diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003; 285: E1151-E1160
- [19] Coleman J.A., Quazi F., Molday R.S.: Mammalian P4-ATPases and ABC transporters and their role in phospholipid transport. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1831: 555-574
- [20] Corbalán-García S., Gómez-Fernández J.C.: Protein kinase C regulatory domains: the art of decoding many different signals in membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006; 1761: 633-654
- [21] Covic L., Gresser A.L., Talavera J., Swift S., Kuliopulos A.: Activation and inhibition of G protein-coupled receptors by cell-penetrating membrane-tethered peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 643-648
- [22] Crul M., Rosing H., de Klerk G.J., Dubbelman R., Traiser M., Reichert S., Knebel N.G., Schellens J.H., Beijnen J.H., ten Bokkel Huinink W.W.: Phase I and pharmacological study of daily oral administration of perifosine (D-21266) in patients with advanced solid tumours. *Eur. J. Cancer*, 2002; 38: 1615-1621
- [23] De Tullio L., Fanani M.L., Maggio B.: Surface mixing of products and substrate of PLA₂ in enzyme-free mixed monolayers reproduces enzyme-driven structural topography. *Bioch. Biophys. Acta*, 2013; 1828: 2056-2063
- [24] de Vree J.M., Jacquemin E., Sturm E., Cresteil D., Bosma P.J., Aten J., Deleuze J.F., Desrochers M., Burdelski M., Bernard O., Oude Elferink R.P., Hadchouel M.: Mutations in the MDR3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 282-287
- [25] de Vries L., Zheng B., Fischer T., Elenko E., Farquhar M.G.: The regulator of G protein signaling family. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2000; 40: 235-271
- [26] Donejko M., Niczyporuk M., Galicka E., Przyłipiak A.: Anti-cancer properties epigallocatechin-gallate contained in green tea. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 26-34
- [27] Eibl H., Hilgard P., Unger C. (red.): Alkylphosphocholines: New Drugs in Cancer Therapy. Progress in experimental tumor research. Karger, Basel 1992
- [28] Engelman D.M.: Membranes are more mosaic than fluid. *Nature*, 2005; 438: 578-580
- [29] Escibá P.V., Ozaita A., Ribas C., Miralles A., Fodor E., Farkas T., García-Sevilla J.A.: Role of lipid polymorphism in G protein-membrane interactions: Nonlamellar-prone phospholipids and peripheral protein binding to membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 11375-11380
- [30] Escibá P.V., Sastre M., García-Sevilla J.A.: Disruption of cellular signaling pathways by daunomycin through destabilization of nonlamellar membrane structures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 7595-7599
- [31] Escibá P.V., Wedegaertner P.B., Goñi F.M., Vögler O.: Lipid-protein interactions in GPCR-associated signaling. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1768: 836-852
- [32] Faini M., Beck R., Wieland F.T., Briggs J.A.: Vesicle coats: structure, function, and general principles of assembly. *Trends Cell Biol.*, 2013; 23: 279-288
- [33] Freeman M.R., Solomon K.R.: Cholesterol and prostate cancer. *J. Cell. Biochem.*, 2004; 91: 54-69
- [34] Gajate C., Mollinedo F.: Edelfosine and perifosine induce selective apoptosis in multiple myeloma by recruitment of death receptors and downstream signaling molecules into lipid rafts. *Blood*, 2007; 109: 711-719
- [35] Golebiewska U., Scarlata S.: The effect of membrane domains on the G protein-phospholipase C β signaling pathway. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2010; 45: 97-105
- [36] Gombos I., Crul T., Piotto S., Güngör B., Török Z., Balogh G., Péter M., Slotte J.P., Campana F., Pilbat A.M., Hunya A., Tóth N., Literati-Nagy Z., Vigh L. Jr., Glatz A. i wsp.: Membrane-lipid therapy in operation: the HSP co-inducer BGP-15 activates stress signal transduction pathways by remodeling plasma membrane rafts. *PLoS One*, 2011; 6: e28818
- [37] Goñi F.M.: The basic structure and dynamics of cell membranes: an update of the Singer-Nicolson model. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014; 1838: 1467-1476
- [38] Goñi F.M., Alonso A.: Structure and functional properties of diacylglycerols in membranes. *Prog. Lipid Res.*, 1999; 38: 1-48
- [39] Han X., Holtzman D.M., McKeel D.W. Jr.: Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *J. Neurochem.*, 2001; 77: 1168-1180
- [40] Hartl F.U.: Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 1996; 381: 571-579
- [41] Henne W.M., Boucrot E., Meinecke M., Evergren E., Vallis Y., Mittal R., McMahon H.T.: FCHO proteins are nucleators of clathrin-mediated endocytosis. *Science*, 2010; 328: 1281-1284
- [42] Herrmann D.B., Pahlke W., Opitz H.G., Bicker U.: In vivo anti-tumor activity of ilmofosine. *Cancer Treat. Rev.*, 1990; 17: 247-252
- [43] Hightower L.E.: Heat shock, stress proteins, chaperones, and proteotoxicity. *Cell*, 1991; 66: 191-197
- [44] Hjort Ipsen J., Karlström G., Mourtisen O.G., Wennerström H., Zuckermann M.J.: Phase equilibria in the phosphatidylcholine-cholesterol system. *Biochim. Biophys. Acta*, 1987; 905: 162-172
- [45] Ibarguren M., López D.J., Encinar J.A., González-Ros J.M., Buquets X., Escibá P.V.: Partitioning of liquid-ordered/liquid-disordered membrane microdomains induced by the fluidifying effect of 2-hydroxylated fatty acid derivatives. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1828: 2553-2563
- [46] Jendrossek V., Erdlenbruch B., Hunold A., Kugler W., Eibl H., Lakomek M.: Erucylphosphocholine, a novel antineoplastic ether lipid, blocks growth and induces apoptosis in brain tumor cell lines *in vitro*. *Int. J. Oncol.*, 1999; 14: 15-22
- [47] Jones J.W., Lue L., Saiani A., Tiddy G.J.: Density, DSC, X-ray and NMR measurements through the gel and lamellar phase transitions of 1-myristoyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (MSPC) and 1-stearoyl-2-myristoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (SMPC): observation of slow relaxation processes and mechanisms of phase transitions. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012; 14: 5452-5469
- [48] Kamioka Y., Fukuhara S., Sawa H., Nagashima K., Masuda M., Matsuda M., Mochizuki N.: A novel dynamin-associating molecule,

- formin-binding protein 17, induces tubular membrane invaginations and participates in endocytosis. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 40091-40099
- [49] Kawashima N., Yoon S.J., Itoh K., Nakayama K.: Tyrosine kinase activity of epidermal growth factor receptor is regulated by GM3 binding through carbohydrate to carbohydrate interactions. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 6147-6155
- [50] Khan M.A., Wood P.L., Goodenowe D., Mankidy R., Ahiahonu P.: Plasmalogen compounds, pharmaceutical compositions containing the same and methods for treating diseases of the aging. Zgłoszenie patentowe PCT/CA2009/001853, 2009
- [51] Krause M.R., Regen S.L.: The structural role of cholesterol in cell membranes: from condensed bilayers to lipid rafts. *Acc. Chem. Res.*, 2014; 47: 3512-3521
- [52] Kuhajda F.P., Jenner K., Wood F.D., Hennigar R.A., Jacobs L.B., Dick J.D., Pasternack G.R.: Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 6379-6383
- [53] Kuhajda F.P., Pizer E.S., Li J.N., Mani N.S., Frehywot G.L., Townsend C.A.: Synthesis and antitumor activity of an inhibitor of fatty acid synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 3450-3454
- [54] Lin L., Kim S.C., Wang Y., Gupta S., Davis B., Simon S.I., Torre-Amione G., Knowlton A.A.: HSP60 in heart failure: abnormal distribution and role in cardiac myocyte apoptosis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2007; 293: 2238-2247
- [55] Lingwood D., Simons K.: Lipid rafts as a membrane-organizing principle. *Science*, 2010; 327: 46-50
- [56] Llado V., Gutierrez A., Martínez J., Casas J., Terés S., Higuera M., Galmés A., Saus C., Besalduch J., Busquets X., Escribá P.V.: Minerval induces apoptosis in Jurkat and other cancer cells. *J. Cell Mol. Med.*, 2010; 14: 659-670
- [57] Lladó V., López D.J., Ibaguren M., Alonso M., Soriano J.B., Escribá P.V., Busquets X.: Regulation of the cancer cell membrane lipid composition by NaChOleate: effects on cell signaling and therapeutic relevance in glioma. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014; 1838: 1619-1627
- [58] Mammoto T., Mukai M., Mammoto A., Yamanaka Y., Hayashi Y., Mashimo T., Kishi Y., Nakamura H.: Intravenous anesthetic, propofol inhibits invasion of cancer cells. *Cancer Lett.*, 2002; 184: 165-170
- [59] Marsh D.: Intrinsic curvature in normal and inverted lipid structures and in membranes. *Biophys. J.*, 1996; 70: 2248-2255
- [60] Martínez J., Vögler O., Casas J., Barceló F., Alemany R., Prades J., Nagy T., Baamonde C., Kasprzyk P.G., Terés S., Saus C., Escribá P.V.: Membrane structure modulation, protein kinase C α activation, and anticancer activity of minerval. *Mol. Pharmacol.*, 2005; 67: 531-540
- [61] Menendez J.A., Ropero S., Mehmi I., Atlas E., Colomer R., Lupu R.: Overexpression and hyperactivity of breast cancer-associated fatty acid synthase (oncogenic antigen-519) is insensitive to normal arachidonic fatty acid-induced suppression in lipogenic tissues but it is selectively inhibited by tumoricidal α -linolenic and γ -linolenic fatty acids: a novel mechanism by which dietary fat can alter mammary tumorigenesis. *Int. J. Oncol.*, 2004; 24: 1369-1383
- [62] Menendez J.A., Vellon L., Lupu R.: Antitumoral actions of the anti-obesity drug orlistat (XenicalTM) in breast cancer cells: blockade of cell cycle progression, promotion of apoptotic cell death and PEA3-mediated transcriptional repression of Her2/neu (erbB-2) oncogene. *Ann. Oncol.*, 2005; 16: 1253-1267
- [63] Moffett S., Brown D.A., Linder M.E.: Lipid-dependent targeting of G proteins into rafts. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 2191-2198
- [64] Mrówczyńska L., Mrówczyński W.: Physiological and pathological roles of gangliosides. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 938-949
- [65] Oberle C., Massing U., Krug H.F.: On the mechanism of alkylphosphocholine (APC)-induced apoptosis in tumour cells. *Biol. Chem.*, 2005; 386: 237-245
- [66] O'Flaherty J.T., Chadwell B.A., Kearns M.W., Sergeant S., Daniel L.W.: Protein kinases C translocation responses to low concentrations of arachidonic acid. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 24743-24750
- [67] Pfister G., Stroh C.M., Perschinka H., Kind M., Knoflach M., Hinterdorfer P., Wick G.: Detection of HSP60 on the membrane surface of stressed human endothelial cells by atomic force and confocal microscopy. *J. Cell. Sci.*, 2005; 118: 1587-1594
- [68] Poccia D., Larijani B.: Phosphatidylinositol metabolism and membrane fusion. *Biochem. J.*, 2009; 418: 233-246
- [69] Quazi F., Lenevich S., Molday R.S.: ABCA4 is an N-retinylidene-phosphatidylethanolamine and phosphatidylethanolamine importer. *Nat. Commun.*, 2012; 3: 925
- [70] Rao Y., Haucke V.: Membrane shaping by the Bin/amphiphysin/Rvs (BAR) domain protein superfamily. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011; 68: 3983-3993
- [71] Riedl S., Zweytick D., Lohner K.: Membrane-active host defense peptides - challenges and perspectives for the development of novel anticancer drugs. *Chem. Phys. Lipids*, 2011; 164: 766-781
- [72] Sakai H., Tanaka Y., Tanaka M., Ban N., Yamada K., Matsumura Y., Watanabe D., Sasaki M., Kita T., Inagaki N.: ABCA2 deficiency results in abnormal sphingolipid metabolism in mouse brain. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 19692-19699
- [73] Sánchez-Magraner L., Cortajarena A.L., Goñi F.M., Ostolaza H.: Insertion of Escherichia coli α -hemolysin is independent from membrane lysis. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 5461-5467
- [74] Shin B.K., Wang H., Yim A.M., Le Naour F., Brichory F., Jang J.H., Zhao R., Puravs E., Tra J., Michael C.W., Miské D.E., Hanash S.M.: Global profiling of the cell surface proteome of cancer cells uncovers an abundance of proteins with chaperone function. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 7607-7616
- [75] Shulenin S., Nogee L.M., Annilo T., Wert S.E., Whitsett J.A., Dean M.: ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 2004; 350: 1296-1303
- [76] Siddiqui R.A., Zerouga M., Wu M., Castillo A., Harvey K., Zaloga G.P., Stillwell W.: Anticancer properties of propofol-docosahexaenoate and propofol-eicosapentaenoate on breast cancer cells. *Breast Cancer Res.*, 2005; 7: 645-654
- [77] Simons K., Ehehalt R.: Cholesterol, lipid rafts, and disease. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 597-603
- [78] Simons K., Sampaio J.L.: Membrane organization and lipid rafts. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2011; 3: a004697
- [79] Singer S.J., Nicolson G.L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 1972; 175: 720-731
- [80] Slagel D.E., Dittmer J.C., Wilson C.B.: Lipid composition of human glial tumour and adjacent brain. *J. Neurochem.*, 1967; 14: 789-798
- [81] Sottocornola E., Misasi R., Mattei V., Ciarlo L., Gradini R., Garofalo T., Berra B., Colombo I., Sorice M.: Role of gangliosides in the association of ErbB2 with lipid rafts in mammary epithelial HC11 cells. *FEBS J.*, 2006; 273: 1821-1830
- [82] Sparagna G.C., Lesnefsky E.J.: Cardiolipin remodeling in the heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2009; 53: 290-301
- [83] Stoorvogel W., Kleijmeer M.J., Geuze H.J., Raposo G.: The biogenesis and functions of exosomes. *Traffic*, 2002; 3: 321-330
- [84] Suetsugu S., Kurisu S., Takenawa T.: Dynamic shaping of cellular membranes by phospholipids and membrane-deforming proteins. *Physiol. Rev.*, 2014; 94: 1219-1248
- [85] Suzuki J., Denning D.P., Imanishi E., Horvitz H.R., Nagata S.: Xk-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. *Science*, 2013; 341: 403-406
- [86] Tchernychev B., Ren Y., Sachdev P., Janz J.M., Haggis L., O'Shea A., McBride E., Looby R., Deng Q., McMurry T., Kazmi M.A., Sakmar

- T.P., Hunt S. 3rd, Carlson K.E.: Discovery of a CXCR4 agonist pepducin that mobilizes bone marrow hematopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 22255-22259
- [87] Terés S., Lladó V., Higuera M., Barceló-Coblijn G., Martin M.L., Noguera-Salvà M.A., Marcilla-Etxenike A., García-Verdugo J.M., Soriano-Navarro M., Saus C., Gómez-Pinedo U., Busquets X., Escibá P.V.: 2-Hydroxyoleate, a nontoxic membrane binding anticancer drug, induces glioma cell differentiation and autophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 8489-8494
- [88] Triton T.R., Yee G.: The anticancer agent adriamycin can be actively cytotoxic without entering cells. *Science*, 1982; 217: 248-250
- [89] Tsuchiya H., Nagayama M., Tanaka T., Furusawa M., Kashimata M., Takeuchi H.: Membrane-rigidifying effects of anti-cancer dietary factors. *Biofactors*, 2002; 16: 45-56
- [90] van Blitterswijk W.J., Verheij M.: Anticancer alkylphospholipids: mechanisms of action, cellular sensitivity and resistance, and clinical prospects. *Curr. Pharm. Des.*, 2008; 14: 2061-2074
- [91] van der Luit A.H., Vink S.R., Klarenbeek J.B., Perrissoud D., Solary E., Verheij M., van Blitterswijk W.J.: A new class of anticancer alkylphospholipids uses lipid rafts as membrane gateways to induce apoptosis in lymphoma cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2007; 6: 2337-2345
- [92] van Helvoort A., Smith A.J., Sprong H., Fritzsche I., Schinkel A.H., Borst P., van Meer G.: MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine. *Cell*, 1996; 87: 507-517
- [93] Veldman R.J., Klappe K., Hinrichs J., Hummel I., van der Schaaf G., Sietsma H., Kok J.W.: Altered sphingolipid metabolism in multi-drug-resistant ovarian cancer cells is due to uncoupling of glycolipid biosynthesis in the Golgi apparatus. *FASEB J.*, 2002; 16: 1111-1113
- [94] Verdaguer N., Corbalán-García S., Ochoa W.F., Fita I., Gómez-Fernández J.C.: Ca^{2+} bridges the C2 membrane-binding domain of protein kinase $\text{C}\alpha$ directly to phosphatidylserine. *EMBO J.*, 1999; 18: 6329-6338
- [95] Vigh L., Escibá P.V., Sonnleitner A., Sonnleitner M., Piotto S., Maresca B., Horváth I., Harwood J.L.: The significance of lipid composition for membrane activity: new concepts and ways of assessing function. *Prog. Lipid Res.*, 2005; 44: 303-344
- [96] Vigh L., Literáti P.N., Horváth I., Török Z., Balogh G., Glatz A., Kovács E., Boros I., Ferdinándy P., Farkas B., Jaszlits L., Jednákovits A., Korányi L., Maresca B.: Bimoclomol: a nontoxic, hydroxylamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effects. *Nat. Med.*, 1997; 3: 1150-1154
- [97] Vigh L., Maresca B., Harwood J.L.: Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes? *Trends Biochem. Sci.*, 1998; 23: 369-374
- [98] Vink S.R., Schellens J.H., van Blitterswijk W.J., Verheij M.: Tumor and normal tissue pharmacokinetics of perifosine, an oral anti-cancer alkylphospholipid. *Invest. New Drugs*, 2005; 23: 279-286
- [99] Vögler O., Casas J., Capó D., Nagy T., Borchert G., Martorell G., Escibá P.V.: The $\text{G}\beta\gamma$ dimer drives the interaction of heterotrimeric Gi proteins with nonlamellar membrane structures. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 36540-36545
- [100] Wang R., Kovalchin J.T., Muhlenkamp P., Chandawarkar R.Y.: Exogenous heat shock protein 70 binds macrophage lipid raft microdomain and stimulates phagocytosis, processing, and MHC-II presentation of antigens. *Blood*, 2006; 107: 1636-1642
- [101] Wedegaertner P.B., Wilson P.T., Bourne H.R.: Lipid modifications of trimeric G proteins. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 503-506
- [102] Wettschureck N., Offermanns S.: Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol. Rev.*, 2005; 85: 1159-1204
- [103] Williamson P., Bevers E.M., Smeets E.F., Comfurius P., Schlegel R.A., Zwaal R.F.: Continuous analysis of the mechanism of activated transbilayer lipid movement in platelets. *Biochemistry*, 1995; 34: 10448-10455
- [104] Wood P.L., Smith T., Lane N., Khan M.A., Ehrmantraut G., Go-odenowe D.B.: Oral bioavailability of the ether lipid plasmalogen precursor, PPI-1011, in the rabbit: a new therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Lipids Health Dis.*, 2011; 10: 227
- [105] Xie X.S., Tsai S.J., Stone D.K.: Lipid requirements for reconstitution of the proton-translocating complex of clathrin-coated vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 8913-8917
- [106] Yamashita T., Hashiramoto A., Haluzik M., Mizukami H., Beck S., Norton A., Kono M., Tsuji S., Daniotti J.L., Werth N., Sandhoff R., Sandhoff K., Proia R.L.: Enhanced insulin sensitivity in mice lacking ganglioside GM3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 100: 3445-3449
- [107] Yang Q., Alemany R., Casas J., Kitajka K., Lanier S.M., Escibá P.V.: Influence of the membrane lipid structure on signal processing via G protein-coupled receptors. *Mol. Pharmacol.*, 2005; 68: 210-217
- [108] Yetukuri L., Ekroos K., Vidal-Puig A., Oresic M.: Informatics and computational strategies for the study of lipids. *Mol. Biosyst.*, 2008; 4: 121-127
- [109] Zhu Z., Tan Z., Li Y., Luo H., Hu X., Tang M., Hescheler J., Mu Y., Zhang L.: Docosahexaenoic acid alters $\text{G}\alpha$ localization in lipid raft and potentiates adenylate cyclase. *Nutrition*, 2015; 31: 1025-1030

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.