

REVISIÓN

ESFINGOLÍPIDOS SENCILLOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA, Y SUS PROPIEDADES FÍSICAS EN MEMBRANAS BIOLÓGICAS

BIOLOGICALLY ACTIVE SIMPLE SPHINGOLIPIDS AND THEIR PHYSICAL PROPERTIES IN BIOMEMBRANES

Félix M. Goñi Urceley

Departamento de Bioquímica, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)

Palabras clave:Esfingolípidos;
Ceramidas;
Membranas biológicas;
Esfingolipidosis;
Niemann-Pick.**Keywords:**Sphingolipids;
Ceramides;
Biological membranes;
Sphingolipidosis;
Niemann-Pick.**Resumen**

En las últimas décadas los esfingolípidos de las membranas celulares han atraído un interés renovado por sus notables efectos biológicos, en concreto por su capacidad para actuar en procesos de señalización celular implicados en diversas cascadas metabólicas. Los esfingolípidos presentan afinidades especiales hacia otros lípidos y en algunos casos pueden inducir segregación lateral de fases y heterogeneidades en la membrana. Por ello las interacciones lípido-lípido que involucran a esfingolípidos, particularmente a las ceramidas, han adquirido especial relevancia. Este trabajo se centra en los estudios más recientes, de nuestro laboratorio y de otros, mostrando cómo esfingolípidos sencillos biológicamente activos pueden modular las propiedades físicas de las membranas a través de interacciones lípido-lípido, tanto entre ellos como con otros lípidos como el colesterol.

Abstract

Sphingolipids in biological membranes have attracted a renewed interest in the last decades because of their remarkable biological effects, namely their capacity to act as metabolic signals in a variety of regulatory cascades. Sphingolipids exhibit special affinities towards other lipids, and in some cases they can induce lateral phase segregation and membrane heterogeneities. Thus lipid-lipid interactions involving bioactive sphingolipids, such as ceramides, have become increasingly relevant. This review focuses on the recent studies in the field, and how simple bioactive sphingolipids can modulate the biophysical properties of membranes through lipid-lipid interactions, either between them or with other lipids such as common phospholipids or cholesterol.

INTRODUCCIÓN

Los esfingolípidos de las membranas celulares han estado en el centro de atención de la biofísica durante las últimas décadas por sus notables efectos biológicos en diversos procesos celulares. A pesar de haber sido descubiertos hace más de un siglo, a finales del siglo XIX, por J.L.W. Thudichum (1), fueron considerados como lípidos estructurales que durante mucho tiempo no atrajeron particular interés. En 1972, Pascher y colaboradores describieron la primera estructura 3D de un esfingolípidio (2). Sin embargo, no fue hasta los años 80 cuando se descubrió el efecto biológicamente activo de distintos esfingolípidos, completando la descripción de diferentes rutas metabólicas (3), descubriendo enfermedades relacionadas con los esfingolípidos (4) y, más importante, definiendo su función como moléculas de señalización celular (5-7). Más recientemente, se ha abierto un nuevo campo de investigación en lo referente a sus propiedades biofísicas en las membranas (8-10).

Los esfingolípidos son una amplia familia de lípidos que se caracterizan por ser derivados de la esfingosina, (2S, 3R, 4E)-2-amino-octadec-4-en-1,3-diol en la nomenclatura sistemática actual, y que según otra nomenclatura más antigua, aunque muy extendida, tendría una configuración D-eritro-trans (Figura 1). Se conocen también diversos análogos de esfingosina en la naturaleza, tales como la fitoesfingosina o la dihidroesfingosina. Todos ellos se denominan colectivamente como esfingoides. Pueden describirse a su vez varias subfamilias de esfingolípidos depen-

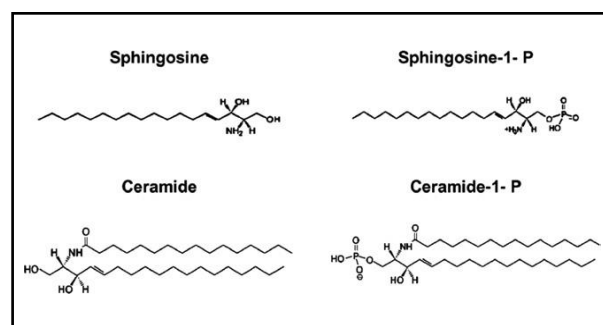


Fig 1. Estructuras moleculares de esfingolípidos sencillos con sus nombres en inglés [10].

Autor para la correspondencia

Félix M. Goñi Urceley

Real Academia Nacional de Medicina de España

C/ Arrieta, 12 · 28013 Madrid

Tlf.: +34 91 159 47 34 | E-Mail: redaccion@analesranm.es

endo de qué componentes estén unidos a la esfingosina de base. Por ejemplo, si hay una cadena acílica (proveniente de un ácido graso) unida a la esfingosina a través de un enlace amida, tendríamos una ceramida. Si a su vez se le añade también un grupo fosfolina al hidroxilo C1 de la ceramida, tendríamos una esfingomielina. Los grados de variabilidad aumentan considerablemente si tenemos en cuenta que la cadena acílica puede estar o no insaturada (una o más veces) y que puede tener longitud variable (de 2 a 28 átomos de carbono). Además, existe la posibilidad de que la cabeza polar unida al hidroxilo C1 tenga mayor complejidad, como es el caso de los cerebrósidos y gangliósidos que exhiben glúcidos o cadenas de glúcidos, que en ocasiones contienen también ácido siálico. Más recientemente, en la última década ha habido estudios que han explorado diversas posibilidades de modificación de la cadena de esfingosina, lo que ha llevado a definir nuevas subfamilias como los dihidroesfingolípidos (11) y los desoxiesfingolípidos (12), cada uno de los cuales con sus propiedades y efectos distintos. De estas subfamilias se describen nuevos miembros cada año y solo unos pocos de ellos han sido aún caracterizados.

ESFINGOSINA

El efecto biológico de la esfingosina fue descrito primeramente por Hannun y cols. (5), quienes indicaron que el más sencillo de los esfingolípidos era capaz de inhibir la proteína quinasa C en plaquetas humanas. Los parámetros moleculares (área molecular, potencial de superficie, presión de colapso y contribución del momento dipolar) de la esfingosina fueron medidos por (13) en monocapas en la interfase aire/agua. La esfingosina tiene un comportamiento tensioactivo anfifílico (14). En la configuración protonada, a pH 6,0, la esfingosina exhibe una transición termotrópica ordenado-desordenado a 30 °C. Esta transición cambia a 39 °C a pH 10 (15). El pK_a de la esfingosina se ha descrito en un rango desde 8,9 – 9,1 (15) hasta 6,6 (16), quizá dependiendo de la concentración o del entorno lipídico. Además, Sasaki y cols. (16) indican que hay una transición estructural en la red de puentes de hidrógeno de la esfingosina que pasan de ser intra- a ser inter-moleculares. Esta transición es dependiente de pH ya que aparece en el rango de 6,7 a 9,9. Suponiendo una naturaleza parcialmente catiónica a pH neutro, la esfingosina ha sido utilizada para preparar liposomas cargados positivamente, que pudieran interactuar con diversas macromoléculas, incluyendo DNA y varias enzimas (17). La carga neta positiva es algo inusual en un lípido (Tabla 1) y podría ser biológicamente relevante a la hora de interactuar con fosfolípidos negativamente cargados en las membranas, ya que hay procesos como la fusión sensible al pH (18) o la formación de pares iónicos de lípidos catiónicos y aniónicos que parecen ser importantes en procesos celulares (19). En este mismo contexto, puede ser también relevante la interacción electrostática entre la esfingosina y lípidos con carga neta negativa, que pueden ser especialmente abundantes en algunas membranas, como la fosfatidilserina en la monocapa interna de la membrana plasmática.

Esfingolípido	Propiedad	Referencia
Esfingosina	Carga neta positiva a pH fisiológico	[15, 16]
	Aumenta la permeabilidad celular	[14, 20, 23, 24]
	Rigidifica las cadenas acílicas de las bicapas	[14, 23]
	Facilita formación de fases cúbicas	[24]
Esfingosina-1-P	Soluble en agua (c.m.c. 12 μ M)	[27]
	Estabiliza la estructura lamelar lipídica	[27]
Ceramidas	Aumentan el orden de cadena lipídica	[28-30]
	Segregan lateralmente en dominios rígidos	[29,31-33,42, 63]
	Aumenta permeabilidad de membrana	[34-39]
	Induce el flip-flop lipídico	[35, 40 41]
	Facilita formación de fases hexagonales H_{II}	[30, 32]
	Aumenta el volumen libre en bicapas	[43, 44]
Ceramida-1-P	Forma bicapas por sí misma	[45]
	pK_a sensible a la composición lipídica	[45]

Tabla 1. Propiedades biofísicas principales de esfingolípidos sencillos

Una propiedad interesante de la esfingosina es su capacidad para permeabilizar membranas para solutos pequeños (Tabla 1). Esto fue demostrado por Siskind y cols. (20) utilizando métodos electrofisiológicos, y también por Contreras y cols. (14), midiendo el flujo de solutos acuosos inducido por esfingosina en liposomas y membranas de 'fantasmas' (membranas de eritrocito reconstruidas). Estos últimos autores interpretaron el efecto como un resultado de las propiedades rigidificantes de la esfingosina, anteriormente descritas (15, 21). Este fenómeno estabilizaría los dominios gel en membranas, aumentando sus temperaturas de transición y la cooperatividad de las mismas. Por tanto, la coexistencia de dominios gel y fases fluidas en membranas plasmáticas sería la causante de la permeabilización.

Estudios centrados en el uso de vesículas unilamelares gigantes (GUVs) han revelado que la esfingosina da lugar a diferentes patrones de formación de dominios en función de los lípidos presentes (22). En una matriz de glicerofosfolípidos, la esfingosina segrega en dominios de tipo gel, de acuerdo con Contreras y cols. (14), mientras que la presencia de colesterol aumenta la miscibilidad y disuelve esos dominios en función de la concentración de colesterol presente (22). Dos manuscritos más recientes han arrojado más luz sobre el fenómeno de permeabilización inducida por esfingosina. Zupancic y cols. (23) encontraron, gracias a técnicas de fluorescencia, que la esfingosina facilitaba la formación de fases gel, ya que rigidificaba las bicapas formadas por fosfatidilcolina o mezclas de fosfolípidos y colesterol (Chol). Estos autores también encontraron que en liposomas preparados para mimetizar el entorno ácido liposomal, se necesitaron concentraciones de esfingosina más altas (o temperaturas más bajas) para formar las fases gel (23). La otra contribución, de nuestro laboratorio (24), indica que la interacción de la esfingosina con fosfolípidos con carga neta negativa (por ejemplo bicapas que contengan ácido fosfatídico acompaña-

do de lípidos zwitteriónicos y colesterol) genera una liberación de contenidos liposomales más rápida que las neutras, y por lo tanto esa interacción induce una permeabilización más rápida. Además, experimentos de ^{31}P -NMR y de dispersión de rayos X demostraron la capacidad de la esfingosina para facilitar la formación de intermediarios de fases no-lamelares (cúbicas) en membranas cargadas negativamente. En resumen, la esfingosina parece inducir la permeabilización a través de un mecanismo que difiere según la carga eléctrica neta de los lípidos que la acompañan en la membrana, y que es más eficiente si dicha carga es negativa.

La enfermedad de Niemann-Pick tipo C1 está causada por un almacenamiento aberrante de esfingosina en lisosomas y endosomas tardíos, con una homeostasis alterada de los niveles de calcio (25). Estas membranas tienen una cantidad alta de lípidos cargados negativamente, especialmente fosfatidilinositol-3,5-bisfosfato y ácido lisobisfosfatídico (26). Los datos de Jiménez-Rojo y cols. (24) aportan un posible mecanismo patogénico para la desregulación del calcio inducida por esfingosina en esta enfermedad.

CERAMIDAS

Las ceramidas como señalizadores metabólicos

Estructuralmente, las ceramidas (Cer) están compuestas por una cadena de ácido graso, de longitud, insaturación e hidroxilación variable, unida mediante un enlace amida al grupo amino en C2 de la esfingosina. La cadena acílica de la Cer puede variar desde 2 a 28 carbonos, pero las más habituales en mamíferos están entre C16 y C24. Estos ácidos grasos son normalmente saturados o monoinsaturados, y en ocasiones pueden contener un grupo hidroxilo en la posición C2 (ácido graso α -hidroxilo) o en el carbono terminal (ω -hidroxilo).

La modulación del metabolismo de esfingolípidos es una estrategia prometedora para la terapia contra el cáncer, entre otras enfermedades (46, 47). En ocasiones estas terapias incluyen ceramidas de cadena corta tales como Cer C6 (48), ya que son más solubles en entornos acuosos e incluso la Cer C2 está siendo estudiada por ese motivo (49). Estudios más recientes sugieren que Cer y otros esfingolípidos también pueden tener un papel en los procesos de mitosis celular (50) y en el glaucoma (51). Por tanto, puede considerarse a los esfingolípidos (especialmente Cer) y sus compuestos derivados como una familia de reguladores de efectos metabólicos complejos y aún insuficientemente estudiados.

Las ceramidas han atraído mucha atención por su papel biológicamente activo anteriormente citado, que incluye procesos tan diversos como apoptosis, parada del ciclo celular, senescencia, diferenciación, mediación de la respuesta inmune y detención del crecimiento (52-54). De hecho, se conoce desde hace décadas su papel como mediadores del metabolismo de esfingolípidos, además de ser componentes minoritarios de las

membranas. Sin embargo, sus potentes efectos en la señalización celular se descubrieron en los años 80 (5-7,55). Además, los niveles de Cer en los mamíferos son bajos y están confinados mayoritariamente a las membranas ya que las ceramidas tienen un elevado carácter hidrofóbico que las hace insolubles, y ello explica su abundancia en el *stratum corneum*, la barrera que impide la evaporación del agua a través de la piel (56).

Ceramidas: propiedades biofísicas

Resultados obtenidos por varios laboratorios sugieren que algunos de los efectos biológicos de Cer están mediados por sus peculiares propiedades biofísicas, aunque esto aún no ha sido confirmado totalmente. De hecho, en los últimos 15 años, los estudios en sistemas modelo han facilitado muchos datos en lo referente al comportamiento de Cer en membranas, especialmente para Cer de cadena larga y saturada. Entre otros efectos, cantidades muy bajas de Cer (2-3% molar) son suficientes para generar la segregación lateral de una fase gel enriquecida en Cer, en presencia de un amplio exceso de fosfolípidos de membrana (57), mientras que concentraciones de Cer superiores al 33% molar causan inestabilidad en las vesículas, que no llegan a formarse (58). Para mantener a la Cer lejos del contacto con el agua en la interfase membranal, las moléculas de Cer tienden a ocupar los espacios de la región de cadenas acílicas, lo que aumenta el empaquetamiento intermolecular y reduce la movilidad molecular.

La separación de Cer en dominios fue descrita primero por Huang y cols. (29), que estudiaron la estructura de bicapas compuestas por $[\text{U-}^2\text{H}]\text{DPPC}$ y ceramida de cerebro bovino utilizando la espectroscopia ^2H -NMR. Estos autores observaron que la adición de Cer inducía separación de fase lateral de las bicapas en regiones gel y líquido-cristalinas (fluidas), con la Cer situada preferentemente en la fase gel. Otros estudios de ^2H -NMR llevados a cabo por Leung y cols. (59), combinados con datos calorimétricos, aportaron una descripción completa de la miscibilidad e inmiscibilidad de las mezclas esfingomielina/ceramida a lo largo de un amplio rango de temperaturas y composiciones. El uso de un fosfolípido asociado a pireno, una sonda fluorescente que es sensible a la movilidad lateral y a la concentración local de fluoróforo en la membrana, permitió a Holopainen y cols. (28) detectar microdominios enriquecidos en Cer en membranas de fosfatidilcolina fluidas (Tabla 1). La formación de dominios mediada por Cer también fue descrita por una combinación de calorimetría diferencial de barrido y espectroscopia infrarroja, utilizando ceramidas naturales (de cerebro y huevo) y algunos lípidos sintéticos (32). La calorimetría se utilizó para detectar las transiciones gel-fluido. Los dominios, cuando se forman, se 'funden' a su respectiva temperatura de transición gel-fluido (T_m), por lo que se pueden detectar fácilmente. Chiantia y cols. (60) utilizaron una combinación de microscopía de fuerza atómica, espectroscopia de correlación de fluorescencia y fluorescencia confocal para observar dominios de tipo gel enriquecidos en ceramida en bicapas soportadas de esfingomielina/DOPC/colesterol/ceramida en estado líquido-ordenado. Estudios de monocapas han revelado

aspectos interesantes de la formación de dominios en films monomoleculares de fosfolípidos. Estudios de epifluorescencia de monocapas de esfingomielina permitieron seguir en tiempo real la formación de dominios mediante la acción de una esfingomielinasa añadida a la subfase acuosa. Con ello demostraron que la formación de Cer inicialmente altera la topografía de superficie induciendo separación de fase de dominios en fases líquido-condensadas (enriquecidas en Cer) y líquido-expandidas (enriquecidas en esfingomielina) (33). La fase enriquecida en Cer crece a ritmo constante según avanza la reacción de hidrólisis hasta el 'punto de percolación', cuando los dominios condensados se juntan en uno continuo que contiene la fase expandida. En este punto, la velocidad de reacción se detiene rápidamente, indicando que la organización supramolecular en dominios tiene gran influencia en la actividad enzimática a nivel molecular local. También es significativa la observación (33) de que la topografía de superficie derivada de una reacción de esfingomielinasa es diferente a la obtenida mediante la mezcla previa de esfingomielina y ceramida en la misma proporción, lo que indica que los resultados también dependen del modo de generar la superficie. Los dominios de Cer en vesículas, en lugar de en monocapas, fueron descritos por Sot y cols. (31), utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopía de fluorescencia. Los resultados de DSC indicaron para esfingomielina de huevo una transición estrecha centrada en 39 °C. La ceramida de huevo, incluso a proporciones bajas (5% mol) tuvo el efecto de ensanchar la transición y desplazarla hacia temperaturas más altas. Más importante, las endotermas de las muestras con Cer tenían un perfil claramente asimétrico, indicando la formación de dominios esfingomielina/ceramida de alto punto de fusión.

Además, se observaron GUVs utilizando microscopía de fluorescencia y la sonda fluorescente 1,1'-dioctadecil-3,3,3'-tetrametilindocarbocianina perclorato (DiIC₁₈) que se ubica preferentemente en las fases más fluidas de un entorno de membrana heterogéneo. Las vesículas de esfingomielina, sin Cer, mostraban una fluorescencia uniforme, mientras que aquellas que contenían Cer mostraban áreas oscuras, que correspondían a dominios rígidos enriquecidos en Cer. El aumento paulatino de la concentración de Cer causó un aumento equiparable de las áreas oscuras, que perdieron su forma circular. El fenómeno de la separación de fase de Cer a dominios laterales en un entorno de fosfolípidos ha sido revisado en detalle (61).

La presencia y estabilidad de estos dominios enriquecidos en Cer afecta al orden de los otros lípidos presentes en la membrana, dado que los dominios están enriquecidos en Cer pero también incluyen proporciones variables de los demás lípidos presentes en el sistema. Este efecto causa permeabilización de la membrana y liberación del contenido vesicular (37, 62). Los mecanismos de este efecto no son conocidos del todo, y mientras que se ha sugerido la existencia de canales/poros de Cer a través de los dominios (62), la formación espontánea de poros en el dominio enriquecido en Cer debería superar una

gran barrera de energía entrópica para que las moléculas se reorganizasen en un poro toroidal. Por tanto se ha propuesto una hipótesis alternativa según la cual el flujo de solutos ocurriría debido a defectos estructurales (29, 32), causados por los dominios enriquecidos en Cer en la interfase entre el dominio y la fase continua. El distinto grado de empaquetamiento molecular de ambas fases y la diferencia de grosor (63) causarían un emparejamiento ineficiente en la frontera de la interfase (10). La tendencia de las Cer a formar fases no-lamelares podría ser un factor adicional en la desestabilización de la bicapa, facilitando así la liberación de contenido vesicular (32). Montes y cols. (37) encontraron que la formación de ceramida en vesículas unilamelares grandes (LUVs), que contenían dextranos funcionalizados con fluoresceína, causaba la liberación de dextranos de masa molecular ~20 kDa, mayor que la del citocromo c (cuya salida desde la mitocondria es un paso relevante para la cascada de señalización de muerte celular). Los autores compararon la liberación de contenidos de la ceramida generada mediante esfingomielinasa con la liberación causada por ceramida externamente añadida, y comprobaron que la generación mediante esfingomielinasa producía una liberación más rápida y efectiva (37).

Además del flujo de solutos anteriormente citado, las Cer de cadena larga también presentan otros tres efectos importantes: (i) aumentan la tendencia de las bicapas a adoptar una curvatura negativa (como la de una fase hexagonal invertida) (32, 64), (ii) promueven el movimiento de lípidos de un lado a otro de la bicapa (flip-flop) (40) y (iii) aumentan los espacios de volumen libre en las bicapas (espacios vacantes no ocupados por ninguna molécula) (43, 44). Estas propiedades biofísicas características podrían estar relacionadas con el modo con el que Cer induce la muerte celular (65) y podrían ser de ayuda para adquirir una correcta comprensión del proceso. El caso del flip-flop lipídico es de especial interés ya que la pérdida de la asimetría de bicapa es una de las características de los procesos de muerte celular. Por otra parte, Cer de cadena corta se mezclan mucho mejor con los fosfolípidos, promueven una curvatura positiva y su efecto sobre la permeabilidad de bicapa o el flip-flop son muy bajos o inexistentes (30).

Notas finales: Papel biológico de los esfingolípidos y biofísica de membranas

Uno de los aspectos más complejos de la investigación en esfingolípidos es el establecer una correlación directa y precisa entre sus efectos biológicos (señalización celular) y sus efectos biofísicos en las membranas celulares. Este es un gran problema en este momento ya que no sólo habría que contar con las interacciones lípido-lípido sino también con las interacciones lípido-proteína. Afortunadamente, estas últimas están adquiriendo cada vez más atención y siendo objeto de más estudios, y algunas proteínas parecen ser capaces de seleccionar esfingolípidos muy específicos, ignorando otros parecidos (66). Esto abre una prometedora y novedosa área de investigación.

Procesos como la muerte celular programada han sido profundamente estudiados y han dado lugar a numerosas publicaciones, sin embargo a pesar de ello aún existen puntos oscuros en la materia, especialmente el cómo los lípidos y/o las proteínas interactúan durante el proceso (67-69). Otro punto oscuro es el referido a los mecanismos implicados. Por ejemplo, el papel de los dominios enriquecidos en ceramida en la muerte celular sigue sin esclarecerse, ni cómo éstos interactúan con las proteínas para regular el proceso. Estos problemas vienen causados probablemente por el amplio número de componentes que existen en la cascada de señalización y en la maquinaria de la muerte celular y por tanto hay muchas dificultades técnicas para identificar los efectos de cada molécula por sí misma. Para solucionar ese problema se espera que nuevas técnicas instrumentales, así como los avances de la lipidómica puedan ser de ayuda para identificar la función propia de cada componente.

En conclusión, los últimos avances en el campo de la biofísica indican que las interacciones lípido-lípido pueden ser muy relevantes para la comprensión de las funciones biológicas de las membranas celulares. Estos avances biofísicos se han producido en sistemas modelo en la última década en el contexto de la señalización celular dirigida por esfingolípidos. Los estudios futuros inmediatos en esta materia estudiarán modelos más complejos, más cercanos a las membranas celulares reales, o llegarán a incluir experimentos *in vivo*, y contribuirán al desarrollo de modelos en los que la relación entre estructura (coexistencia de fases lipídicas) y función (tráfico de membrana y señalización celular) quede totalmente clarificada.

AGRADECIMIENTOS

Los trabajos del laboratorio del autor fueron financiados en parte por la Unión Europea, el Gobierno de España y el Gobierno Vasco. El autor agradece su apoyo y comprensión a los colaboradores de muchos años, principalmente Alicia Alonso y Jesús Sot.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thudichum JLW. A treatise on the chemical constitution of the brain: based throughout upon original researches. London: Baillière, Tindall, and Cox; 1884.
2. Dahlen B, Pascher I. Molecular arrangements in sphingolipids. Crystal structure of N-tetracosanoylphosphatidylcholine. *Acta Crystall B-Stru.* 1972; 28(8): 2396-2404.
3. Wiegandt H. *Glycolipids*, vol 10. Amsterdam: Elsevier Publishing Company; 1985.
4. Hannun YA, Loomis CR, Merrill, AH(jr.), Bell RM. Sphingosine inhibition of protein kinase C activity and of phorbol dibutyrate binding in vitro and in human platelets. *J Biol Chem.* 1986; 261(27): 12604-12609.
5. Kolesnick RN. 1,2-Diacylglycerols but not phorbol esters stimulate sphingomyelin hydrolysis in GH3 pituitary cells. *J Biol Chem.* 1987; 262(35): 16759-16762.
6. Maggio B, Fanani ML, Rosetti CM, Wilke N. Biophysics of sphingolipids II. Glycosphingolipids: an assortment of multiple structural information transducers at the membrane surface. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1758(12): 1922-1944.
7. Goñi FM, Sot J, Alonso A. Biophysical properties of sphingosine, ceramides and other simple sphingolipids. *Biochem Soc T.* 2014; 42(5): 1401-1408.
8. Fabrias G, Munoz-Olaya J, Cingolani F et al. Dihydroceramide desaturase and dihydrosphingolipids: debutant players in the sphingolipid arena. *Prog Lipid Res.* 2012; 51(2): 82-94.
9. Jiménez-Rojo N, Sot J, Busto JV et al. Biophysical properties of novel 1-deoxy-(dihydro)ceramides occurring in mammalian cells. *Biophys J.* 2014; 107(12): 2850-2859.
10. Contreras FX, Sot J, Alonso A, Goñi FM. Sphingosine increases the permeability of model and cell membranes. *Biophys J.* 2006; 90(11): 4085-4092.
11. López-García F, Micol V, Villalain J, Gómez-Fernández, JC. Interaction of sphingosine and stearylamine with phosphatidylserine as studied by DSC and NMR. *Biochim Biophys Acta.* 1993; 1153(1): 1-8.
12. Kinnunen PK, Rytomaa M, Koiv A, Lehtonen J, Mustonen P, Aro A. Sphingosine-mediated membrane association of DNA and its reversal by phosphatidic acid. *Chem Phys Lipids.* 1993; 66(1-2): 75-85.
13. López-García F, Villalain J, Gómez-Fernández JC. A phase behavior study of mixtures of sphingosine with zwitterionic phospholipids. *BBA-Biomembranes.* 1994; 1194(2): 281-288.
14. Georgieva R, Koumanov K, Momchilova A, Tessier C, Staneva G. Effect of sphingosine on domain morphology in giant vesicles. *J Colloid Interf Sci.* 2010; 350(2): 502-510.
15. Zupancic E, Carreira AC, De Almeida RF, Silva LC. Biophysical implications of sphingosine accumulation in membrane properties at neutral and acidic pH. *J Biol Chem B.* 2014; 118(18): 4858-4866.
16. Jiménez-Rojo N, Viguera AR, Collado, MI et al. Sphingosine induces the aggregation of imine-containing peroxidized vesicles. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1838(8): 2071-2077.
17. Lloyd-Evans E, Morgan A, He X et al. Niemann-Pick disease type C1 is a sphingosine storage disease that causes deregulation of lysosomal calcium. *Nat Med.* 2008; 14(11): 1247-1255.
18. García-Pacios M, Collado MI, Busto JV et al. Sphingosine-1-phosphate as an amphipathic metabolite: its properties in aqueous and membrane environments. *Biophys J.* 2009; 97(5): 1398-1407.
19. Huang H-W, Goldberg EM, Zidovetzki R. Ceramide Induces Structural Defects into Phosphatidylcholine Bilayers and Activates

- Phospholipase A₂. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 220(3): 834-838.
20. Silva L, De Almeida RF, Fedorov A, Matos AP, Prieto M. Ceramide-platform formation and-induced biophysical changes in a fluid phospholipid membrane. *Mol Membr Biol*. 2006; 23(2): 137-148.
 21. Sot J, Bagatolli LA, Goñi FM, Alonso A. Detergent-resistant, ceramide-enriched domains in sphingomyelin/ceramide bilayers. *Biophys J*. 2006; 90(3): 903-914.
 22. Veiga MP, Arrondo JLR, Goñi FM, Alonso A. Ceramides in phospholipid membranes: effects on bilayer stability and transition to nonlamellar phases. *Biophys J*. 1999; 76 (1): 342-350.
 23. Fanani ML, Härtel S, Oliveira RG, Maggio B. Bidirectional control of sphingomyelinase activity and surface topography in lipid monolayers. *Biophys J*. 2002; 83(6): 3416-3424.
 24. López-Montero I, Rodríguez N, Cribier S, Pohl A, Vélez M, Devaux PF. Rapid transbilayer movement of ceramides in phospholipid vesicles and in human erythrocytes. *J Biol Chem*. 2005; 280(27): 25811-25819.
 25. Ruiz-Arguello MB, Basañez G, Goñi FM, Alonso A. Different effects of enzyme-generated ceramides and diacylglycerols in phospholipid membrane fusion and leakage. *J Biol Chem*. 1996; 271(43): 26616-26621.
 26. Montes LR, Ruiz-Arguello MB, Goñi FM, Alonso A. Membrane restructuring via ceramide results in enhanced solute efflux. *J Biol Chem*. 2002; 277(14): 11788-11794.
 27. Montes L-R, Ibarguren M, Goñi FM, Stonehouse M, Vasil ML, Alonso A. Leakage-free membrane fusion induced by the hydrolytic activity of PlcHR 2, a novel phospholipase C/sphingomyelinase from *Pseudomonas aeruginosa*. *BBA-Biomembranes*. 2007; 1768(10): 2365-2372.
 28. Bai J, Pagano RE. Measurement of spontaneous transfer and transbilayer movement of BODIPY-labeled lipids in lipid vesicles. *Biochemistry-US*. 1997; 36(29): 8840-8848.
 29. Contreras FX, Villar AV, Alonso A, Kolesnick RN, Goñi FM. Sphingomyelinase activity causes transbilayer lipid translocation in model and cell membranes. *J Biol Chem*. 2003; 278(39): 37169-37174.
 30. Contreras FX, Basañez G, Alonso A, Herrmann A, Goñi FM. Asymmetric addition of ceramides but not dihydroceramides promotes transbilayer (flip-flop) lipid motion in membranes. *Biophys J*. 2005; 88(1): 348-359.
 31. Sot J, Ibarguren M, Busto JV, Montes L, Goñi FM, Alonso A. Cholesterol displacement by ceramide in sphingomyelin-containing liquid-ordered domains, and generation of gel regions in giant lipidic vesicles. *FEBS Lett*. 2008; 582(21): 3230-3236.
 32. García-Arribas AB, Axpe E, Mujika JI et al. Cholesterol-Ceramide Interactions in Phospholipid and Sphingolipid Bilayers As Observed by Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy and Molecular Dynamics Simulations. *Langmuir*. 2016; 32: 5434-5444.
 33. Axpe E, García-Arribas AB, Mujika JI et al. Ceramide increases free volume voids in DPPC membranes. *RSC Adv*. 2015; 5(55): 44282-44290.
 34. Morad SA, Cabot MC. Ceramide-orchestrated signalling in cancer cells. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13(1): 51-65.
 35. Flowers M, Fabriás G, Delgado A, Casas J, Abad JL, Cabot MC. C6-ceramide and targeted inhibition of acid ceramidase induce synergistic decreases in breast cancer cell growth. *Breast Cancer Res Tr*. 2012; 133(2): 447-458.
 36. HannunYA, Obeid LM. The Ceramide-centric universe of lipid-mediated cell regulation: stress encounters of the lipid kind. *J Biol Chem*. 2002; 277(29): 25847-25850.
 37. Kolesnick, RN, Goñi FM, Alonso A. Compartmentalization of ceramide signaling: physical foundations and biological effects. *J Cell Physiol*. 2000; 184(3): 285-300.
 38. Okazaki T, Bell RM, Hannun YA. Sphingomyelin turnover induced by vitamin D3 in HL-60 cells. Role in cell differentiation. *J Biol Chem*. 1989; 264(32): 19076-19080.
 39. Carrer DC, Maggio B. Phase behavior and molecular interactions in mixtures of ceramide with dipalmitoylphosphatidylcholine. *J Lipid Res*. 1999; 40(11): 1978-1989.
 40. Busto JV, Fanani ML, De Tullio L et al. Coexistence of immiscible mixtures of palmitoylsphingomyelin and palmitoylceramide in monolayers and bilayers. *Biophys J*. 2009; 97(10): 2717-2726.
 41. Leung SS, Busto JV, Keyvanloo A, Goñi FM, Thewalt J. Insights into sphingolipid miscibility: separate observation of sphingomyelin and ceramide N-acyl chain melting. *Biophys J*. 2012; 103(12): 2465-2474.
 42. Chiantia S, Kahya N, Ries J, Schwille P. Effects of ceramide on liquid-ordered domains investigated by simultaneous AFM and FCS. *Biophys J*. 2006; 90(12): 4500-4508.
 43. Goñi FM, Alonso A. Effects of ceramide and other simple sphingolipids on membrane lateral structure. *BBA-Biomembranes*. 2009; 1788(1): 169-177.
 44. Siskind LJ, Kolesnick RN, Colombini M. Ceramide channels increase the permeability of the mitochondrial outer membrane to small proteins. *J Biol Chem*. 2002; 277(30): 26796-26803.
 45. García-Arribas AB, Busto JV, Alonso A, Goñi FM. Atomic force microscopy characterization of palmitoylceramide and cholesterol effects on phospholipid bilayers: a topographic and nanomechanical study. *Langmuir*. 2015; 31(10): 3135-3145.
 46. López-Montero I, Catapano ER, Espinosa G, Arriaga LR, Langevin D, Monroy F. Shear and compression rheology of Langmuir monolayers of natural ceramides: solid character and plasticity. *Langmuir*. 2013; 29(22): 6634-6644.
 47. Cremesti AE, Goñi FM, Kolesnick R. Role of sphingomyelinase and ceramide in modulating rafts: do biophysical properties determine biologic outcome? *FEBS Lett*. 2002; 531(1): 47-53.

48. Contreras F-X, Ernst AM, Haberkant P et al. Molecular recognition of a single sphingolipid species by a protein's transmembrane domain. *Nature*. 2012; 481(7382): 525-529.
49. Lee H, Rotolo JA, Mesicek J et al. Mitochondrial ceramide-rich macrodomains functionalize Bax upon irradiation. *Plos One*. 2011; 6(6): 19783

Si desea citar nuestro artículo:

Goñi-Urcelay FM. Esfingolípidos sencillos con actividad biológica, y sus propiedades físicas en membranas biológicas. *ANALES RANM [Internet]. Real Academia Nacional de Medicina de España; 2018 Sep 3; 135(01):65–71.*
DOI: <http://dx.doi.org/10.32440/ar.2018.135.01.rev11>
