

Received: 2015.10.03
Accepted: 2016.02.17
Published: 2016.05.09

Sulfatydy i ich rola biologiczna*

The biological role of sulfatides

Jarosław Suchański¹, Maciej Ugorski^{1,2}

¹Zakład Biochemii, Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

²Laboratorium Glikobiologii i Oddziaływań Międzykomórkowych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Sulfatydy (inaczej 3-O-siarczanowane galaktozyloceramidy/galaktocerebrozydy, SM₄) to estry kwasu siarkowego z galaktozyloceramidami (GalCer). Są syntetyzowane przez różne typy komórek, ale najwięcej ich występuje w osłonkach mielinowych oligodendrocytów ośrodkowego układu nerwowego i w komórkach Schwanna obwodowego układu nerwowego. Jako niezbędny składnik mieliny warunkują jej prawidłową strukturę i funkcję, o czym świadczą myszy z nokautem genu *CST* kodującego sulfotransferazę galaktozyloceramidu, a więc niezdolne do syntezy tego glikosfingolipidu. W większych ilościach sulfatydy są również obecne w ludzkiej nerce, błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy, komórkach wysepek Langerhansa trzustki człowieka, szczura, myszy, świni i mały, a także w błonach komórek krwi, takich jak erytrocyty i płytki krwi oraz granulocyty. Sulfatydy są swoiście wiązane przez wiele białek pełniących w organizmach zwierzęcych zupełnie odmienne funkcje, m.in. lamininę, trombospondynę, czynnik von Hillebranda, galektynę-4, wątrobowy czynnik wzrostu. Jednak znaczenie biologiczne tych interakcji w większości przypadków pozostaje ciągle niewyjaśnione. Wyjątkiem są oddziaływania sulfatydów z selektynami P i L. Wiązanie sulfatydów przez selektynę P stabilizuje wczesną homotypową adhezję płytek krwi z udziałem glikoproteiny GPIIb/IIIa i fibrynogenu, umożliwiając w ten sposób tworzenie przez nie dużych, trwałych agregatów. Sulfatydy mają zdolność wiązania chemokin, a także odgrywają rolę w regulacji ekspresji cytokin wytwarzanych przez ludzkie limfocyty i monocyty. Zaburzenia w metabolizmie sulfatydów mogą odgrywać ważną rolę w etiopatogenezie kilku ważnych chorób. W artykule opisano zmiany w ich składzie, które towarzyszą schorzeniom neurologicznym, takim jak metachromatyczna leukodystrofia, choroba Parkinsona i Alzheimera, a także różnym nowotworom, m.in. raku okrężnicy, nerki i jajnika. Omówiono ich udział w progresji nowotworowej, zwłaszcza w procesie tworzenia przerzutów oraz rolę jaką odgrywają w patogenezie cukrzycy, a także jako antygeny i autoantygeny wywołującego humoralną odpowiedź odpornościową np. w stwardnieniu rozsianym. Zwrócono również uwagę na udział sulfatydów w komórkowej odpowiedzi immunologicznej z udziałem limfocytów NKT w stwardnieniu rozsianym, zespole poreperfuzyjnym w ostrej niewydolności nerek i wątrobowym zespole poreperfuzyjnym. Sulfatydy wydają się odgrywać istotną rolę również w patogenezie chorób zakaźnych, na co wskazuje ich funkcja jako receptorów bakterii i wirusów.

Słowa kluczowe:

sulfatydy • mielina • układ nerwowy • selektyna P • receptor dla chemokin • choroby neurologiczne • progresja nowotworu • patogeneza cukrzycy • odpowiedź immunologiczna • receptory dla bakterii i wirusów

Summary

Sulfatides (3-O-sulfogalactosylceramides, sulfated galactocerebroside, SM₄) are esters of sulfuric acid with galactosylceramides. These acidic glycosphingolipids, present at the external leaflet of the plasma membrane, are synthesized by a variety of mammalian cells. They are especially abundant in the myelin sheath of oligodendrocytes in the central nervous sys-

*Publikacja współfinansowana ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego KNOW na lata 2014-2018 dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologii.

tem and Schwann cells in the peripheral nervous system. Studies using cerebroside galactosyltransferase-deficient mice revealed that sulfatides are responsible for proper structure and functioning of myelin. Large amounts of sulfatides are also found in the kidney, gastrointestinal tract, islets of Langerhans, and membranes of erythrocytes, thrombocytes and granulocytes. They are ligands for numerous proteins, but in most cases the biological role of such interactions is poorly understood. A notable exception is their binding by P- and L-selectins. Platelet sulfatides are major ligands for P-selectin, and this interaction is critical for the formation of stable platelet aggregates. Sulfatides also bind to chemokines, and seem to play a role in regulation of cytokine expression in human lymphocytes and monocytes. Aberrant metabolism of sulfatides, could cause several important human diseases. In this article, we describe the changes in sulfatide expression associated with such nervous disorders as metachromatic leukodystrophy (MLD), Parkinson's disease and Alzheimer's disease, and several types of cancer, e.g. colon cancer, kidney cancer, and ovarian cancer. We also discuss the involvement of sulfatides in cancer progression, diabetes and autoimmune and immune disorders such as multiple sclerosis. This acidic glycosphingolipids seem to play an important role in pathogenesis of infectious diseases, serving as receptors for binding various bacteria and viruses.

Key words: sulfatide • myelin • nervous system • selectin P • chemokine receptor • neurological diseases • tumor progression • pathogenesis of diabetes • immune response • receptors for bacteria and viruses

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1201720>

Word count: 6937
Tables: –
Figures: 2
References: 150

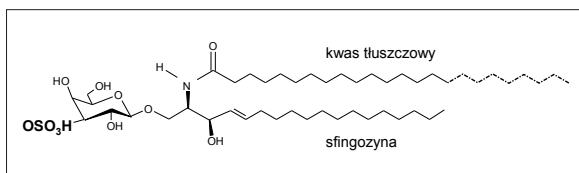
Adres autora: prof. dr hab. Maciej Ugorski, Laboratorium Glikobiologii i Oddziaływań Międzykomórkowych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, 53-114 Wrocław, ul. Weigla 12; e-mail: ugorski@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **Akt** – serynowo-treoninowa kinaza białkowa; **APC** – komórki prezentujące antygen; **apoE** – apoproteina E; **ASA** – arylosulfataza A; **ATP** – adenozyνο-5'-trifosforan; **Cer** – ceramid; **CSP** – białko okołosporozoitowe; **CST** – sulfotransferaza 3'-fosfoadenozyνο-5'-fosfosiarczan:cerebrozyd; **Dab2** – białko adaptorowe (Disabled-2); **DG** – dystoglikan; **EAE** – eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia; **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor); **ER** – siateczka śródplazmatyczna; **FAK** – kinaza ogniskowo-adhezyjna (focal adhesion kinase); **GalCer** – galaktozyloceramid; **GLTP** – białko przenoszące glikolipidy; **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor); **HIV** – ludzki wirus niedoboru odporności (human immunodeficiency virus); **HMG1** – amfoteryna; **IAV** – wirus grypy A (influenza A virus); **LDL** – lipoproteina o niskiej gęstości; **LPS** – lipopolisacharyd; **MAL** – białko mieliny i limfocytów (myelin and lymphocyte protein); **MLD** – metachromatyczna leukodystrofia (metachromatic leukodystrophy); **MOG** – mielinowe białko oligodendrocytów; **NF-κB** – kompleks białkowy działający jako czynnik transkrypcyjny; **NKT** – limfocyty NKT (Natural Killer T-cells); **PAPS** – 3'-fosfoadenozyνο-5'-fosfosiarczan; **pDCs** – plazmocytoidalne komórki dendrytyczne; **PGC-1α** – koaktywator 1-α receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α); **PLP** – białko proteolipidu mieliny; **Sap-B** – saponyna B; **sLe^x** – sjalo-Lewis^x; **SM₄** – sulfatydy; **SNP** – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism); **TCR** – receptor limfocytów T; **TNF-α** – czynnik martwicy guza-α (tumor necrosis factor-α); **TPA** – tkankowy aktywator plazminogenu (tissue plasminogen activator); **UDP** – urydyno-5'-difosforan; **UGT8** – galaktozylotransferaza UDP-galaktoza:ceramid; **VACV** – wirus krowianki (Vaccinia virus).



BUDOWA CHEMICZNA SULFATYDÓW

Sulfatydy (inaczej 3-O-siarczanowane galaktozyloceramidy/galaktozocerebrozydy, SM₄) są estrami kwasu siarkowego z galaktozyloceramidami (GalCer), przyłączonego do atomu węgla C₃ galaktozy (ryc. 1). Ta reszta cukrowa jest przyłączona wiązaniem β-glikozydowym do pierwszorzędowej grupy hydroksylowej N-acylowanej D-erythro-sfingozyny, czyli ceramidu. Kwasy tłuszczowe przyłączone do sfingozyny mogą znacząco różnić się od siebie długością (C16-C26). W sulfatydach wchodzących w skład mieliny w znacznych ilościach występuje kwas nerwonowy (C24:1). W szarej korze mózgowej występują natomiast sulfatydy, w skład których wchodzi w dużych ilościach kwas stearynowy (C18:0). Sulfatydy mogą występować również w postaci hydroksylowanej, gdy dochodzi do utworzenia grupy –OH przy węglu α2 kwasu tłuszczowego z udziałem hydroksylazy-2 kwasów tłuszczowych (fatty acid 2-hydroxylase) [1].

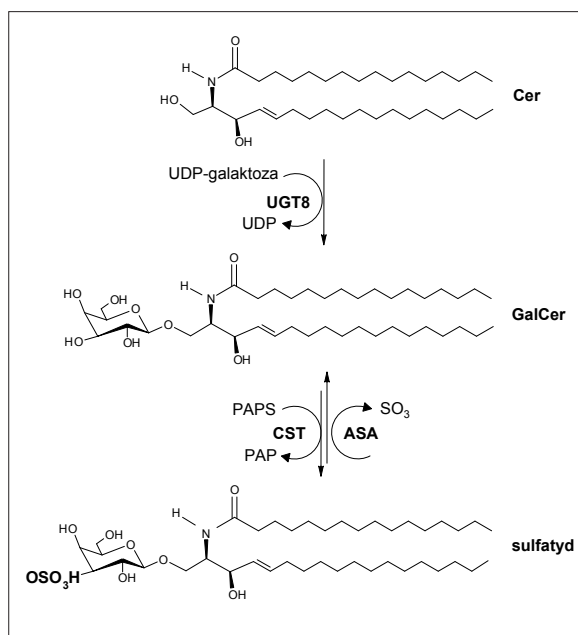


Ryc. 1. Schemat budowy sulfatydy

METABOLIZM SULFATYDÓW

Synteza sulfatydów rozpoczyna się w siateczce śródplazmatycznej (ER), gdzie na jej błonach, od strony światła siateczki, odbywa się przyłączanie reszty galaktozy do ceramidu albo 2-hydroksyceramidu. Reakcja jest katalizowana przez galaktozylotransferazę UDP-galaktoza:ceramid (galaktozylotransferaza ceramidowa, UGT8, CGT, EC 2.4.1.45) [98] (ryc. 2). Wysokie stężenia UDP-galaktozy, pełniącej w tej reakcji rolę donora, są utrzymywane w świetle ER przez transporter UDP-galaktozy, który jest zatrzymywany w błonach ER przez swoiste oddziaływanie z UGT8 [132]. Galaktozyloceramid jest następnie transportowany do aparatu Golgiego (diktiosomu), gdzie inny enzym, sulfotransferaza 3'-fosfoadenozyno-5'-fosfosiarczan:cerebrozyd (sulfotransferaza galaktozyloceramidu, CST, EC 2.8.2.11) [53] przenosi resztę kwasu siarkowego z 3'-fosfoadenozyno-5'-fosfosiarczanu (PAPS) na atom węgla C3 galaktozy. Reakcja zachodzi w części diktiosomu określanego mianem *trans*-Golgi [30], skąd sulfatydy jest transportowany na powierzchnię błony plazmatycznej, a także błon innych kompartmentów komórkowych, np. lizosomów i pęcherzyków wydzielniczych [32].

W rozkładzie sulfatydów udział bierze natomiast, umiejscowiona w lizosomach, arylosulfataza A (ASA, EC 3.1.6.8), która w wyniku hydrolizy odszczepia od niego grupę siarczanową, co prowadzi do odtworzenia galaktozyloceramidu (ryc. 2). Reakcja katalizowana przez ASA wymaga uprzedniego uwolnienia cząsteczek sulfatydy z błon, w czym bierze udział białkowy aktywator sfingolipidów



Ryc. 2. Synteza i rozkład sulfatydy. Cer – ceramid; UGT8 - galaktozylotransferaza; UDP-galaktoza:ceramid; GalCer – galaktozyloceramid; CST - sulfotransferaza 3'-fosfoadenozyno-5'-fosfosiarczan:galaktozyloceramid; PAPS - 3'-fosfoadenozyno-5'-fosfosiarczan; PAP - 3'-fosfoadenozyno-5'-fosforan; ASA - arylosulfataza A

-sapozyzna B (białko Sap-B, sphingolipid activator protein) [83]. Niedawno zasugerowano, że w endosomach komórek neuroblastomy dochodzi do bezpośredniego uwolnienia ceramidu z sulfatydy, bez uprzedniego usunięcia grupy siarczanowej [148].

W wewnątrzkomórkowym transporcie sulfatydów, np. z cytosolowej strony błony plazmatycznej lub siateczki śródplazmatycznej, bierze udział cytosolowe białko przenoszące glikolipidy (GLTP, glycolipid transfer protein) [94]. Białko to pełni również rolę czujnika „mierzącego” stężenie glikolipidów w komórce.

Zaburzenia w metabolizmie sulfatydów, powodujące albo ich brak, albo nadmierną akumulację, są związane z etiopatologią kilku ważnych chorób.

WYSTĘPOWANIE SULFATYDÓW

Sulfatydy są syntetyzowane przez różne typy komórek, ale najwięcej jest ich w osłonkach mielinowych oligodendrocytów ośrodkowego układu nerwowego i komórek Schwanna obwodowego układu nerwowego, gdzie stanowią 4-7% wszystkich lipidów [64]. Znajdowane są również w innych komórkach gleju, takich jak astrocyty, gdzie są wytwarzane w niewielkich ilościach, a także neuronach [62], dokąd trafiają głównie w wyniku endocytozy. W większych ilościach są również obecne w ludzkiej nerce [125], błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy [102], komórkach wysp Langerhansa trzustki człowieka, szczura, myszy, świni i małpy [16], a także w błonach komórek krwi, takich jak erytrocyty i płytki krwi [114] oraz gra-

nulocyty [4]. Należy zaznaczyć, że zawartość sulfatydów w tych samych komórkach lub tkankach może być bardzo różna, zależnie od gatunku zwierząt [64]. Podwyższone stężenie sulfatydów, a także podwyższoną ekspresję sulfotransferazy stwierdzono w kilku typach nowotworów (zob.: „Rola sulfatydów w progresji nowotworu”).

SULFATYDY A UKŁAD NERWOWY

Sulfatydy są niezbędnym składnikiem osłonki mielinowej, warunkującym jej prawidłową strukturę i funkcję, o czym świadczą myszy z nokautem genu *CST*, a więc niezdolne do syntezy tego glikosfingolipidu. U takich zwierząt, które po urodzeniu nie wykazują jakichkolwiek zaburzeń neurologicznych, w wieku 6 tygodni dochodzi do niedowładu tylnych kończyn, czemu towarzyszą nasilające się drżenia mięśniowe i progresywna niezdolność ruchów (ataksja) [52]. Wprawdzie brak sulfatydu nie powoduje drastycznych zmian w strukturze mielin, ani nie zakłóca procesów związanych z jej tworzeniem w ośrodkowym układzie nerwowym, ale uniemożliwia zachowanie u dorosłych myszy w pełni prawidłowej osłonki mielinowej [52,92]. Nieobecność sulfatydu prowadzi do zaburzeń w strukturze połączeń przywęzłowych zarówno w ośrodkowym jak i obwodowym układzie nerwowym, co zakłóca prawidłowe oddziaływania aksonów z komórkami gleju [56]. Powszechny jest również wyciek aksonalny. U dorosłych myszy z nokautem genu *CST* osłonki mielinowe stają się coraz cieńsze, a o postępującym uszkodzeniu mielin świadczą jej wakuolizacja oraz znacząco zredukowana średnica aksonu [52,92]. U takich zwierząt stwierdza się zmienioną długość węzłów, nieprawidłowe umiejscowienie skupisk kanałów K^+ pojawiających się głównie w przyszłych obszarach okołowęzłowych, a także rozproszony rozkład białek Caspr wiążących kontaktynę wzdłuż obszarów międzywęzłowych. I co najważniejsze, znaczący spadek skupisk kanałów Na^+ i K^+ , postępujący z wiekiem [63]. Należy zaznaczyć, że w czasie rozwoju embrionalnego, a także u młodych zwierząt pojawiają się skupiska kanałów Na^+ , a także ich liczba są prawidłowe. Dowodzi to, że sulfatydy odgrywa istotną rolę w utrzymaniu właściwej liczby kanałów jonowych i ich właściwej lokalizacji, przy czym jego obecność nie jest konieczna podczas początkowej fazy tworzenia skupisk kanałów Na^+ . Pozostaje pytanie o molekularne mechanizmy w wyniku, których sulfatydy odgrywają tak istotną rolę w utrzymaniu właściwej struktury mielin. Według Coetzee i wsp. [19] mają one uczestniczyć w łączeniu poszczególnych blaszek osłonki mielinowej przez wiązanie jonów wapnia i oddziaływanie z cząsteczkami galaktozyloceramidu umiejscowionymi na sąsiedniej blaszce.

Białko MAL (myelin and lymphocyte protein) jest składnikiem mielin wytwarzanej przez oligodendrocyty i komórki Schwanna, występuje również na apikalnej powierzchni cytolemmy komórek nabłonka kanalików dystalnych nerki oraz części gruczołowej żołądka [31]. Będąc proteolipidem jest ściśle związane z glikosfingolipidami, w tym sulfatydami. Takie białkowo-glikosfingolipidowe mikrodomeny zawierające sulfatydy mogą mieć

znaczący wpływ na właściwości mielin i apikalnych błon komórek nabłonkowych, ich nieprzepuszczalność dla małych cząsteczek i zdolność do fałdowania.

Sulfatydy nie tylko odpowiadają za właściwą strukturę i z tym związane funkcje osłonki mielinowej, ale w przypadku ośrodkowego układu nerwowego biorą czynny udział w procesach związanych z różnicowaniem oligodendrocytów oraz regulacją wzrostu aksonów neuronów. W oparciu o wyniki badań prowadzonych *in vitro*, w których wykorzystano hodowle oligodendrocytów izolowanych z mózgow nowo narodzonych myszy i szczurów, zaproponowano, że sulfatydy pełnią rolę negatywnego regulatora procesu różnicowania tych komórek, działając jako czujniki i przekaźniki informacji pochodzącej z otoczenia [7]. Na przykład sulfatydy pełnią rolę ligandów tenascyny-R (glikoproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej), przyczyniając się autokrynnie do zwiększonej ekspresji białek mielin: TN-R, MBP, MAG i PLP i syntezy galaktozyloceramidu w tych komórkach [111]. Badania *in vitro* zostały w pełni potwierdzone obserwacjami poczynionymi u myszy z nokautem genu *CST*, a więc brakiem sulfatydu, u których stwierdzono wzrost liczby oligodendrocytów w przodomózgowiu, rdzeniu przedłużonym, mózdzku i rdzeniu kręgowym. Komórki takie charakteryzowały się zwiększonym potencjałem proliferacyjnym i większą opornością na apoptozę [130]. Sulfatydy, będąc składnikami mielin, pełni również rolę inhibitora w przypadku rozrostu aksonów w ośrodkowym układzie nerwowym [143].

W obwodowym układzie nerwowym, sulfatydy, pełniąc rolę ligandów lamininy (zob.: „Białka wiążące sulfatydy”), zapoczątkowują proces powstawania błon podstawnych [89]. Jak wykazano w przypadku komórek Schwanna, oddziaływanie izoformy Lm-1 z sulfatydem obecnym na ich powierzchni umożliwiają polimeryzację lamininy, co powoduje wbudowywanie w tworzącą się błonę podstawną kolejnych składników w postaci cząsteczek nidogenu-1 i koleganu typu IV. Polimeryzacja lamininy, zapoczątkowana związaniem cząsteczek sulfatydu, aktywuje również w komórkach Schwanna wewnątrzkomórkowe szlaki przekazu sygnału przez wiązanie przez nią dystroglikanu (DG) i integryn $\beta 1$. To prowadzi do fosforylacji, odpowiednio, białek c-Src i Fyn (szlak Src/Fyn), związanych z opornością komórek na apoptozę i kinazy FAK. Laminina sprzyja również oddziaływaniom dystroglikanu z cytoszkieletem komórki przez rekrutację jednego z białek cytoszkieletu - utrofiny.

SULFATYDY W CHOROBYCH NEUROLOGICZNYCH

Ze względu na znaczenie sulfatydu w utrzymaniu właściwej struktury i funkcji mielin i jego roli w biologii komórek ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego (zob. „Sulfatydy a układ nerwowy”) można oczekiwać, że nieprawidłowości w jego metabolizmie będą wywoływać różnego rodzaju zaburzenia neurologiczne. Klasycznym tego przykładem jest metachromatyczna leukodystrofia (MLD, metachromatic leukodystrophy), choroba cha-



rakteryzująca się progresywną utratą mieliny, związana z akumulacją sulfatydów w lizosomach, przede wszystkim oligodendrocytów i komórek Schwanna, ale również makrofagów, astrocytów i neuronów, spowodowana brakiem arylosulfatazy A i bardzo rzadko saposyny B [141]. U chorych z MLD obserwuje się niezborność ruchów, niedowład wszystkich kończyn, początkowo wiotki, później spastyczny, utrata zdolności widzenia, napady padaczkowe i inne objawy neurologiczne.

U pacjentów z chorobą Parkinsona, w komórkach kory płatów czołowych mózgu, oprócz zmian w składzie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych polegających na znaczącym obniżeniu zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, głównie kwasu dokozaheksaenowego i arachidonowego i zastępowaniu ich kwasem palmitynowym i stearynowym, obserwuje się zmiany w klasach lipidów tworzących tratwy lipidowe w porównaniu z mózgiem osób zdrowych [28]. U takich chorych obserwowano wzrost ilości fosfatydyloseryny i fosfatydyloinozytolu, przy znacznym obniżeniu ilości galaktozyloceramidu i sulfatydu oraz plazminogenu.

Zmiany w ilościach sulfatydów obserwuje się również w chorobie Alzheimerera [27]. W mózgu pacjentów z tym neurodegeneracyjnym schorzeniem, już na bardzo wczesnym etapie choroby, stwierdzono znaczący spadek ilości sulfatydu i to głównie w substancji szarej, gdzie może dochodzić do 90%, w porównaniu z mózgiem osób zdrowych [43]. Za zmiany w ilościach sulfatydu w ośrodkowym układzie nerwowym mają odpowiadać zaburzenia w metabolizmie lipoprotein zawierających apoproteinę E (apoE), które występują w płynie mózgowo-rdzeniowym i są głównym nośnikiem sulfatydu [43,44]. W modelu tym cząsteczki lipoprotein zawierające apoE, uwalniane przez astrocyty, zostają obładowane cząsteczkami sulfatydu, którego źródłem jest mielina. Następnie są pobierane za pośrednictwem endocytozy przez neurony zawierające receptory z rodziny receptorów LDL wiążące te lipoproteiny, gdzie dochodzi do degradacji sulfatydów. Obładowane sulfatydem lipoproteiny trafiają także, wraz z płynem mózgowo-rdzeniowym, do obwodowego układu nerwowego. Zgodnie z tą hipotezą, wysoki poziom ekspresji apoE i białek receptorowych obniża ilość sulfatydów w mózgu osób z chorobą Alzheimerera. Za jej słuszością przemawiają badania, w których wykazano, że w mózgu [44] i zwojach nerwowych [18] myszy z nokautem genu apoE dochodzi do akumulacji sulfatydu, a w mózgu transgenicznych myszy, nadekspresja receptora LDL obniża ilość sulfatydu w substancji białej w porównaniu z ich przodkami typu dzikiego [43]. Dowodem na to jest również wyższa ekspresja apoE i receptora dla LDL u pacjentów z chorobą Alzheimerera w porównaniu z osobami zdrowymi [47,87].

Niedawne badania, w których wykorzystano myszy z nokautem genu białka PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α), wykazały istnienie jeszcze jednej możliwości, która powoduje obniżenie ilości sulfatydu w korze mózgu tych zwierząt [72]. Ponieważ u myszy PGC-1 α ^{-/-}, które wykazują wiele obja-

wów obserwowanych u myszy transgenicznych będących modelem choroby Huntingtona, obserwuje się znaczące obniżenie ekspresji, wchodzącego w skład mieliny, białka MAL (myelin and lymphocyte protein) zaangażowanego w transport sulfatydu, zaproponowano, że szlak sygnałowy obejmujący białka PGC-1 α i MAL jest odpowiedzialny za zmniejszone ilości sulfatydu w mózgu tych zwierząt.

Warto jeszcze wspomnieć, że wzrost ilości sulfatydów w błonach plazmatycznych neuronów transgenicznych myszy z nadekspresją UGT8 i sulfotransferazy powoduje u nich ogromną wrażliwość na bodźce słuchowe, co objawia się napadami drgawek, mogącymi doprowadzić do śmierci [139].

Znacznie szerzej rolę sulfatydów w fizjologii i patologii układu nerwowego opisuje Matthias Eckhardt [27], do którego odsyłamy zainteresowanego czytelnika.

BIAŁKA WIĄŻĄCE SULFATYDY

Badania sięgające lat 80 ub.w. wykazały, że sulfatydy wiązane są swoiście przez wiele białek pełniących w organizmach zwierzęcych zupełnie odmienne funkcje. Znaczenie biologiczne tych interakcji w większości przypadków pozostaje ciągle niewyjaśnione. Wyjątkiem są oddziaływania sulfatydów z selektykami P i L, którym poświęcono rozdział: „Rola sulfatydów jako ligandów dla selektyk P i L”.

Do białek wiążących się swoiście i z dużym powinowactwem do sulfatydów immobilizowanych na plastikowych powierzchniach albo płytkach do chromatografii cienkowarstwowej należy laminina [115]. Do oczyszczonych sulfatydów wiążą się z udziałem lamininy – pełniącej rolę czynnika sieciującego, komórki kilku ustalonych *in vitro* linii komórkowych [116]. Innym białkiem wiążącym sulfatydy, związanym z adhezją komórkową i wchodzącym w skład macierzy zewnątrzkomórkowej, jest trombospondyna [114]. Ponieważ sulfatydy występują w większych ilościach na powierzchni niektórych typów komórek, w tym komórek nowotworowych (zob.: „Występowanie i synteza sulfatydów w komórkach nowotworowych”), można domniemywać, że oddziaływanie z lamininą i/lub trombospondyną będzie odgrywało istotną rolę w ich adhezji, odpowiednio, do błon podstawnych i macierzy zewnątrzkomórkowej. A to sugeruje, że oddziaływania sulfatydu z lamininą mogą być ważne w procesie przerzutowania [79,116]. Innym białkiem, oprócz trombospondyny, wytwarzanym przez płytki krwi jest amfoteryna (HMG1), która po uwolnieniu z cytoplazmy, wiąże się do sulfatydów i fosfatydyloseryny obecnych na powierzchni trombocytów [121]. Z siarczanowymi glikolipidami, w tym sulfatydami, oddziałuje również płytkowy czynnik von Willebranda, występujący przede wszystkim w formie oligomerów [117]. Stąd zaproponowano, że te interakcje mogą odgrywać istotną rolę w adhezji i agregacji płytek krwi. Innymi dwoma białkami, które swoiście wiążą się do sulfatydu jest antystatyna, białko o działaniu przeciwzakrzepowym i properdyna, która w przypadku alternatyw-

nej drogi aktywacji dopełniacza stabilizuje konwertazę C3 [50,51]. Porównanie sekwencji aminokwasowych powyższych białek wykazało, że trombospondyna, czynnik von Willebranda, properdyna i antystatyna mają wspólną, wysoce homologiczną sekwencję: Cys-Ser-Val-Thr-Cys-Gly-X-Gly-XXX-Arg-X-Arg, mogącą stanowić domenę wiążącą siarczanowane glikokoniugaty [50,113]. Jeszcze jednym białkiem, które swoiście oddziałuje z sulfatydami jest midkina, biorąca udział w procesach związanych z powstawaniem i regeneracją tkanek [86]. Stąd postulowana rola tych oddziaływań w regulacji procesów adhezyjnych leżących u ich podłoża.

Innym białkiem wiążącym się do sulfatydu jest galektyna-4 [59], należąca do rodziny lektyn zwierzęcych wiążących łańcuchy cukrowe zakończone resztą galaktozy przyłączonej do przedostatniego cukru wiązaniem β 1,3/4-glikozydowym, która występuje na powierzchni nabłonkowych komórek błony śluzowej jamy ustnej, przełyku, jelita cienkiego i okrężnicy. Należy dodać, że wiąże się również do innych siarczanowanych glikosfingolipidów, jak SM3, SB2, czy SM2a [59]. Zaproponowano, że ekspresja galektyny-4 w układzie pokarmowym ssaków ma znaczenie ochronne, polegające na blokowaniu wiązania do nabłonka jelitowego niektórych bakterii i wirusów, dla których receptorami są sulfatydy.

Do sulfatydów i innych siarczanowych glikolipidów, zarówno oczyszczonych jak obecnych na powierzchni komórek, wiąże się wątrobowy czynnik wzrostu (HGF) [80]. HGF, wytwarzany przez różne typy komórek mezenchymalnych, promuje wzrost i różnicowanie komórek nabłonkowych, odgrywając bardzo istotną rolę w procesie embriogenezy, a u osobników dorosłych w regeneracji tkanek i gojeniu ran. Sugeruje się, że siarczanowe glikolipidy obecne na powierzchni komórek, pełnią rolę receptorów o niskim powinowactwie, których obecność jest konieczna w wiązaniu HGF do właściwych receptorów o wysokim powinowactwie, będąc jednocześnie rodzajem rezerwuaru dla wątrobowego czynnika wzrostu, ponieważ wiązanie sulfatydów ma chronić cząsteczki HGF przed przedwczesną degradacją.

ROLA SULFATYDÓW JAKO LIGANDÓW DLA SELEKTYN P I L

Rola w hemostazie i krzepnięciu krwi

Ilości sulfatydów pełniących rolę liganda selektyny P ekspresjonowanej przez sąsiednie trombocyty, wzrastają na powierzchni płytek krwi po ich aktywacji [97]. Oddziaływania między sulfatydem a selektyną P stabilizują wczesną homotypową adhezję płytek krwi z udziałem glikoproteiny GPIIb/IIIa i fibrynogenu, umożliwiając w ten sposób tworzenie przez nie dużych, trwałych agregatów. Wykorzystując sulfatydy w postaci micelli, albo jako składnik liposomów, wykazano, że proagregacyjne działanie sulfatydów polega na zwiększeniu stopnia aktywacji płytek krwi, prowadzącego do pojawienia się na ich powierzchni większej liczby cząsteczek selektyny P i w konsekwencji ich wzmożonej agregacji [96]. Zapro-

ponowano, że za dodatkową aktywację płytek krwi odpowiadają zarówno sulfatydy obecne na płytkach krwi, jak i sulfatydy złączane z powierzchni innych komórek, np. granulocytów [4]. Należy podkreślić, że sulfatydy wpływają na poziom ekspresji selektyny P tylko w uprzednio aktywowanych płytkach krwi, a więc nie wpływają na jej obecność w nieaktywowanych trombocytach. Sulfatydy przyczyniają się nie tylko do wzmożonej agregacji płytek krwi, ale również sprzyjają tworzeniu heterotypowych agregatów przez płytki krwi i leukocyty, w których powstawaniu ze strony leukocytów bierze prawdopodobnie udział selektyna L [96].

W przeciwieństwie do selektyny P, biorącej udział w agregacji płytek krwi, białkiem hamującym ich agregację jest Dab2 (Disabled-2), przechowywane w ziarnistościach α i transportowane na powierzchnię aktywowanych trombocytów, które konkuruje z fibrynogenu o wiązanie z płytkową integryną $\alpha_{IIb}\beta_3$ [58]. Drahos i wsp. [25] wykazali, że część białka Dab2 wiąże się swoiście do płytkowych sulfatydów, co powoduje, że na powierzchni płytek krwi występują obok siebie dwie pule tego białka, jedna związana z receptorem integrynowym $\alpha_{IIb}\beta_3$, blokująca ich agregację z udziałem fibrynogenu, druga z sulfatydami, też hamująca agregację przez blokowanie ich oddziaływań z selektyną P. Związanie białka Dab2 przez sulfatydy zapobiega jego trawieniu przez trombinę, pozostawiając aktywne białko na powierzchni płytek krwi, co dodatkowo sprzyja ich obniżonej agregacji. Białko Dab2 jest nie tylko obecne w ziarnistościach α , ale również jego część znajduje się w cytoplazmie. W tym drugim przedziale komórkowym, po fosforylacji reszty treoniny w pozycji 24, cząsteczki Dab2 oddziałują z domeną cytoplazmatyczną podjednostki β_3 integryn hamując ich dimeryzację z podjednostką α , co również hamuje agregację płytek krwi [57]. Niedawne badania wykazały, że Dab2 nie tylko blokuje oddziaływania między sulfatydami a selektyną P, ale hamuje także ekspresję selektyny P przez płytki krwi, wskazując na jego złożoną, wielopoziomową i regulacyjną rolę w tworzeniu homo- i heterotypowych agregatów przez trombocyty [142].

Nowsze badania wskazują, że powierzchniowy sulfatydy bierze również udział w wiązaniu do płytek krwi, takich białek jak czynnik von Willebranda, trombospondyna-1 i laminina. Sugeruje to, że może odpowiadać, przynajmniej częściowo, za adhezję płytek krwi do wiążących te białka komórek śródbłonka, a także brać udział w stabilizowaniu tworzonych przez płytki agregatów i powstawaniu zakrzepu w warunkach *in vitro* [39]. Potwierdzają to badania, w których wykazano, że rozpuszczalny sulfatydy hamuje agregację płytek krwi z udziałem czynnika von Willebranda w warunkach przepływu krwi [10].

Rola w reakcjach zapalnych

Selektyny E, P i L pełnią ważną rolę w migracji, adhezji i właściwym umiejscowieniu leukocytów. Wiele badań wskazuje na ich główną rolę w początkowej fazie procesów zapalnych. Oddziaływania międzykomórkowe



z udziałem selektyn są konieczne do zachowania właściwej homeostazy naczyniowej, ale selektyny mogą brać udział w wywoływaniu stanów zapalnych prowadzących do ciężkiego uszkodzenia tkanek i powstawania zakrzepów [140]. Każda z selektyn wiąże złożone, obdarzone ładunkiem ujemnym struktury cukrowe, przede wszystkim tetrasacharydy sjalo-Le^a i sjalo-Le^x, których obecność stwierdza się na powierzchni leukocytów, trombocytów, komórek śródbłonna, a także komórkach nowotworowych. Do struktur cukrowych wiązanych przez selektynę P i selektynę L należą również sulfatydy [2,4, 61,134,136].

W przypadku leukocytów, sulfatydom pełniącym rolę ligandów selektyny P przypisuje się inną rolę niż antygenowi sjalo-Le^x. Zaproponowano, że sulfatydy wytwarzane przez granulocyty, nie tyle pełnią rolę powierzchniowych ligandów wiążących selektynę P obecną na komórkach śródbłonna, co rozpuszczalnego czynnika blokującego adhezję do komórek śródbłonna, na co wskazuje złuszczenie znacznych ilości sulfatydu z ich powierzchni [4]. Blokowanie oddziaływań między selektyną P, a właściwymi cukrowymi ligandami (np. antygenem sjalo-Le^x) obecnymi na powierzchni granulocytów miałyby ułatwiać ich migrację przez ściany naczyń krwionośnych, do miejsc objętych stanem zapalnym. Natomiast wykorzystując modele zwierzęce wykazano, że dożylnie podawanie sulfatydu może hamować powstawanie ostrego stanu zapalnego w płucach szczurów, wywołanego toksyną z jadu kobry. Wynikiem tego jest zmniejszona akumulacja neutrofilów w płucach, spowodowana najprawdopodobniej blokowaniem przez sulfatydy ich adhezji do komórek ekspresjonujących selektynę P [100,101]. Hipotezę tę potwierdzają badania wykazujące, że wiązanie selektyny P w postaci białka fuzyjnego z ludzkimi IgG1 do ludzkich neutrofilów jest hamowane *in vitro* przez sulfatydy [101,136].

W badaniach nad selektyną L wykazano również, że wstrzyknięty domięśniowo sulfatydy hamuje wywołane u szczurów zapalenie wątroby, spowodowane podaniem chloroformu [68]. Przeciwwapalne działanie sulfatydu polega na blokowaniu wiązania selektyny L ekspresjonowanej przez limfocyty, do naturalnych ligandów obecnych na komórkach śródbłonna. Podobnie, wykorzystując model obstrukcji moczowodu w celu wywołania śródmiąższowego zapalenia nerek u szczurów, wykazano, że dożylnie podanie sulfatydu hamuje infiltrację przez monocyty miąższu nerki. Taki sulfatydy blokuje bowiem oddziaływanie między selektyną L obecną na ich powierzchni, a sulfatydem ekspresjonowanym przez komórki miąższu nerki i naczynia okołokanalikowe [103,129]. Zaproponowano również, że sulfatydy obecny na powierzchni komórek nerki i wiązany przez selektynę L, odgrywa bezpośrednią rolę w powstawaniu ostrego stanu zapalnego nerek, co prowadzi do ostrego uszkodzenia kanalików nerkowych.

Sulfatydy dodany do hodowli limfocytów B, aktywowanych zarówno lektyną ze szkarłatki amerykańskiej jak i gronkowcem *Staphylococcus aureus* i IL-2, hamował ich proliferację i syntezę przeciwciał [84]. W oparciu o te wyniki, zaproponowano, że w hamowanie tych procesów jest za-

angażowana selektyna L ekspresjonowana przez limfocyty B, wiążąca cząsteczki sulfatydu obecne na tych samych lub sąsiednich komórkach. Należy dodać, że w tych warunkach sulfatydy nie hamował proliferacji limfocytów T. Nie wiadomo jednak, w jaki sposób na poziomie molekularnym, oddziaływanie między sulfatydem a selektyną L miałyby prowadzić do obserwowanych skutków biologicznych.

W przeciwieństwie do limfocytów B, sulfatydy przez interakcję z selektyną L powodował aktywację ludzkich neutrofilów i monocytów, co wyrażało się wzrostem stężenia wolnego wapnia w cytosolu i zwiększoną ekspresją mRNA czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α) i interleukiny-8, a także ich zwiększoną sekrecją przez te komórki [20,88]. Oprócz zmian w stężeniu wolnego wapnia, inkubacja limfocytów B i T CD4⁺ z sulfatydem powodowała aktywację innych szlaków sygnałowych, obejmujących PI3K i kinazy tyrozynowe, zarówno przez jego oddziaływanie z selektyną L, jak i innymi receptorami wiążącymi sulfatydy [26]. Wykazano także, że aktywacja neutrofilów z udziałem sulfatydu i selektyny L odbywa się przez aktywację czynnika NF- κ B [137].

Sulfatydy nie tylko wiążą chemokiny (zob.: „Sulfatydy jako receptory dla chemokin i cząsteczki regulujące ekspresję cytokin”), ale pełnią również funkcję regulatorową, zwiększając ekspresję receptora CXCR4 na powierzchni różnych subpopulacji leukocytów, przyczyniając się albo do uwalniania cząsteczek receptora z ziarnistości wewnątrzkomórkowych albo hamując ich internalizację spowodowaną wiązaniem chemokiny CXCL12 [22,26]. Dodany z zewnątrz sulfatydy podwyższa w najwyższym stopniu powierzchniową ekspresję receptora CXCR4 na ludzkich i mysich limfocytach B i T CD4⁺CD25⁺, a także ludzkich monocytach i neutrofilach oraz mysich limfocytach CD8⁺, co prowadzi do aktywacji integryn i zwiększonej adhezji i migracji komórek. Wykorzystując mysz z nokautem genu selektyny L, wykazano, że w przypadku limfocytów T CD4⁺, za zmiany w poziomie ekspresji receptora chemokiny CXCL12, odpowiada wyłącznie wiązanie sulfatydu przez selektynę L, a to aktywuje kilka szlaków sygnałowych obejmujących kinazy tyrozynowe, w tym białek z rodziny Src. Natomiast, jeżeli chodzi o limfocyty B i T CD8⁺, to w przypadku nieobecności selektyny L, ich aktywacja za pomocą sulfatydu odbywa się prawdopodobnie z udziałem innego receptora [23,24].

Wiele badań wskazuje na czynnik TNF- α , jako jedną z głównych cząsteczek efektorowych we wstrząsie endotoksycznym. Na przykład, podanie dootrzewnowe myszom LPS *E. coli* powodujące dużą śmiertelność, czemu towarzyszy wysokie niedociśnienie i leukopenia, co jest związane ze wzrostem stężenia TNF- α [48]. U takich zwierząt podanie dożylnie, 30 min wcześniej, sulfatydu, łagodziło objawy wstrząsu (mniejsza śmiertelność, niższe niedociśnienie) w połączeniu ze spadkiem stężenia TNF- α . Wyniki znajdują potwierdzenie w badaniach *in vitro*, w których wykazano, że wcześniejsza inkubacja ludzkich monocytarnych komórek THP-1 z sulfatydem

obniża wytwarzanie TNF- α w odpowiedzi na LPS. Bazując na tych wynikach, autorzy proponują, że sulfatydy, będąc ligandem selektywnych P i L, blokuje oddziaływania adhezyjne między leukocytami, śródbłonkiem i płytkami krwi, które leżą u podstaw wstrząsu wywołanego przez LPS i zapobiega wzmocnionemu wytwarzaniu TNF- α przez leukocyty. Niestety, hipotezie brak jeszcze bezpośrednich dowodów doświadczalnych.

SULFATYDY JAKO RECEPTORY CHEMOKIN I CZĄSTECZKI REGULUJĄCE EKSPRESJĘ CYTOKIN

Sulfatydy i inne siarczanowane glikolipidy (SM3, SM2a, SB2 i SB1a), w przeciwieństwie do gangliozydów, neutralnych glikolipidów i fosfolipidów, są wiązane przez wiele chemokin, takich jak MCP-1/CCL2, IL-8/CXCL8, SDF-1 α /CXCL12, MIP-1 α /CCL3 i MIP-1 β /CCL4 [126]. Ponieważ siarczanowane glikolipidy wchodziły w skład tratw lipidowych, a receptory chemokin są częścią tych swoistych mikrodomen występujących w błonie komórkowej, postuluje się, że mogą modulować przekazywanie sygnałów z udziałem chemokin.

Sulfatydy nie tylko wiążą chemokiny, ale również mogą regulować ekspresję cytokin w ludzkich limfocytach i monocytach [11]. Inkubacja tych komórek, uprzednio aktywowanych fitohemaglutyniną z sulfatydem, powodowała spadek wytwarzania IL-6. Natomiast w komórkach aktywowanych LPS, sulfatydy obniżały sekrecję IL-1 β i IL-10. Późniejsze badania wykazały, że wynik działania sulfatydy zależy od rodzaju kwasu tłuszczowego wchodzącego w skład cząsteczki. Sulfatydem najsilniej hamującym wytwarzanie przez ludzkie leukocyty, takich cytokin jak IL-1b, TNF- α , MIP-1a i IL-8, okazał się sulfatydy zawierający kwas palmitynowy, obecny w dużych ilościach w komórkach wysp Langerhansa trzustki [120]. W mózgu, sulfatydy pochodzący z mieliny stymulował wytwarzanie cytokin przez rezydujące tam „immunologicznie kompetentne” komórki [67].

SULFATYDY JAKO ANTYPYGENY I ICH UDZIAŁ W ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

Sulfatydy są związkami immunogennymi i pełnią rolę antypygenów zdolnych do wywołania odpowiedzi odpornościowej zarówno typu humoralnego jak i komórkowego. Duże stężenie przeciwciał klasy IgG skierowanych przeciwko sulfatydom stwierdzono w surowicy osób w stanach przedcukrzycowych (nietolerancji glukozy) oraz pacjentów z cukrzycą typu 1 [17], kardiomiopatią rozstrzeniową oraz chorobą Chagasa po zakażeniu *Trypanosoma cruzi* [5]. U pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, a także u myszy z wywołanym eksperymentalnie autoimmunizacyjnym zapaleniem mózgu i opon mózgowych (EAE, experimental autoimmune encephalomyelitis), będącym modelem zwierzęcym stwardnienia rozsianego, obserwuje się podwyższone stężenie przeciwciał skierowanych przeciwko sulfatydom w płynie mózgowo-rdzeniowym [60,71]. Immunizacja myszy za pomocą sulfatydu i peptydów pochodzących z białka proteolipidu (PLP) lub

mielinowego białka oligodendrocytów (MOG), albo podanie zwierzętom przeciwciał antysulfatydy potęgowało objawy kliniczne, co wskazuje, że odpowiedź humoralna na własne antypygeny lipidowe może mieć znaczenie w patogenezie chorób demielinizacyjnych o podłożu autoimmunizacyjnym, jakkolwiek brak na to bezpośrednich dowodów.

U pacjentów zakażonych wirusem HIV-1, szczególnie tych, u których dochodzi do demencji, powszechnie obserwuje się degenerację mieliny, co może doprowadzić do uwalniania fragmentów zawierających w składzie sulfatydy, albo samego sulfatydu, co może indukować swoistą odpowiedź humoralną skierowaną przeciwko temu glikolipidowi. Zgodnie z tym, u jednej trzeciej pacjentów zakażonych tym wirusem, w płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdza się zwiększone stężenie sulfatydu [37], a u pacjentów z AIDS z objawami ze strony obwodowego układu nerwowego, w płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdzano obecność przeciwciał skierowanych przeciwko sulfatydom [21]. Te ostatnie obserwacje nie znalazły jednak potwierdzenia w badaniach Gisslena i wsp. [38], którzy nie obserwowali obecności takich przeciwciał w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów zakażonych wirusem HIV-1, natomiast stwierdzali je tylko w surowicy tych chorych, co ich zdaniem wskazuje, że uszkodzenia mieliny towarzyszące zakażeniom wirusem HIV-1 nie są wywołane przez przeciwciała antysulfatydy.

Lipidy, w tym glikosfingolipidy, są zdolne do wywołania komórkowej odpowiedzi immunologicznej w wyniku ich prezentacji swoistym limfocytom T, które ze względu na ekspresję zarówno typowych markerów limfocytów T, jak również antypygenów właściwych komórkom NK, otrzymały nazwę limfocytów NKT (Natural Killer T-cells). Część z nich, nosząca nazwę komórek NKT typu I lub czasami „niezmiennych” komórek NKT (iNKT), charakteryzuje się bardzo ograniczonym repertuarem receptorów TCR. Natomiast komórki NKT typu II, nazywane też „non-iNKT”, wykazują obecność znacznie większej liczby różnych receptorów TCR. Antypygeny lipidowe są rozpoznawane przez receptory TCR komórek NKT, tylko po ich uprzednim związaniu przez grupę białek o wspólnej nazwie CD1, obecnych na komórkach prezentujących antypygen (APC), takich jak komórki dendrytyczne, makrofagi i subpopulacje limfocytów B [124]. U ludzi występują w kilku izoformach, z których CD1d reprezentuje tzw. grupę II cząsteczek CD1, natomiast CD1a, CD1b, CD1c i CD1e – grupę I, u zwierząt stwierdzono obecność jedynie cząsteczki CD1d. Ponieważ jeden rodzaj antypygeny CD1 może oddziaływać z różnymi glikosfingolipidami, wskazywało to na udział ceramidu, a nie części cukrowej, w tym wiązaniu. Hipotezę potwierdzono badaniami krystalograficznymi, w których wykazano, że cząsteczki CD1a, CD1b i CD1d mają głębokie hydrofobowe kieszenie wiążące długie węglowodorowe łańcuchy kwasu tłuszczowego i/lub sfingozyny, z których wystają hydrofilowe fragmenty cząsteczki w postaci reszt cukrowych [82,147]. Każde z białek CD1 ma właściwą dla siebie szczelinę wiążącą antypygeny i swoje szlaki transportu wewnątrzkomórkowego, a także swoistą tkankowo ekspresję oraz prezentuje antypygeny



limfocytom T o określonym repertuarze receptorów TCR [124]. U ludzi sulfatydy są wiązane przez cząsteczki CD1a, CD1b, CD1c i CD1d [82,128,147], a u myszy wyłącznie przez białko CD1d [65,149]. Połączony z cząsteczką CD1 sulfatydy, pochodzący z mieliny, jest rozpoznawany i wiązany przez subpopulację limfocytów T reprezentujących limfocyty NKT, obecnych zarówno u osób zdrowych, jak i chorych na stwardnienie rozsiane, u których występują w większej liczbie [127]. W przypadku myszy, taki sulfatydy jest wiązany przez znaczną część komórek NKT typu II, których liczba wzrasta w ośrodkowym układzie nerwowym u zwierząt z eksperymentalnym autoimmunizacyjnym zapaleniem mózgu i opon mózgowych (EAE), a ich aktywacja przez wolny sulfatydy chroni myszy przed rozwojem EAE [65]. Najnowsze badania wykazały, że ochronne działanie sulfatydy wiąże się z aktywacją swoistych komórek NKT typu II, co obniża liczbę i osłabia funkcję efektorowych limfocytów Th1 i Th17 rozpoznających i skierowanych przeciwko białkom mieliny, umiejscowionych zarówno w tkance limfatycznej, jak i ośrodkowym układzie nerwowym [93]. Ponadto, podanie sulfatydy powoduje inaktywację komórek NKT typu I i komórek dendrytycznych umiejscowionych poza ośrodkowym układem nerwowym, jak również komórek mikrogleju. Ponieważ EAE u myszy jest modelem stwardnienia rozsianego u ludzi, można domniemywać, że i w przypadku tej choroby, sulfatydy jako składnik mieliny i komórki NK typu II mogą odgrywać istotną rolę w jej patogenezie [42]. Wykazano, że aktywacja komórek NKT typu II przez wolny sulfatydy chroni myszy również przed zapaleniem wątroby wywołanym podaniem konkanawaliny A [41]. W tym przypadku, aktywacja przez sulfatydy komórek NKT typu II prowadzi do preferencyjnej aktywacji plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych (pDCs), co rekrutuje do wątroby komórki NKT klasy I, w którym uczestniczą IL-12 i MIP-2. Ściąganiu tych komórek towarzyszy brak reaktywności na antygeny (anergia), co zapobiega rozwojowi procesu zapalnego w wątrobie. Protekcyjną rolę komórek NKT klasy II skierowanych przeciwko sulfatydom obserwuje się również w zespole poreperfuzyjnym w ostrej niewydolności nerek [145] i wątrobowego zespołu poreperfuzyjnego [3]. W obu przypadkach, aktywacja za pomocą sulfatydy komórek NKT klasy II ma działanie protekcyjne i zapobiega ich rozwojowi.

Wykorzystując mysie hybrydomy komórek NKT wykazano, że naturalnymi izoformami sulfatydów optymalnie aktywującymi komórki NKT typu II są sulfatydy, w skład których wchodzi kwas nerwonowy (24:1) lub lignocerynowy (24:0), będące głównymi składnikami mieliny i błon plazmatycznych komórek β wysepek trzustkowych [9].

ROLA SULFATYDÓW W PROGRESJI NOWOTWORU

Występowanie i synteza sulfatydów w komórkach nowotworowych

Jedną ze zmian w glikozylacji komórkowych glikokoniuatów towarzyszących transformacji nowotworowej i progresji nowotworu jest nasiloną syntezę sulfatydów.

Podwyższone ilości sulfatydów obserwuje się w gruczolakoraku okrężnicy [131], raku nerki [123], a także rakach jajnika: gruczolakoraku torbielowatym śluzowym [73] i brodawkowatym surowiczym [90], a także raku wątrobowokomórkowym [49]. Zróznicowaną ekspresję sulfatydów stwierdza się w raku płuc, gdzie znacznie wyższe ilości stwierdzono w gruczolakorakach w porównaniu z rakiem płaskonabłonkowym i drobnokomórkowym [146]. W gruczolakoraku żołądka w jednych badaniach stwierdzono podwyższone ilości sulfatydów [46], w drugich obserwowano zmniejszenie ich ilości w porównaniu z tkanką prawidłową [105]. Obecność sulfatydy wykryto również w komórkach H3630 i H3396 raka gruczołu piersiowego [4] i liniach komórkowych raka nerki [54,78]. Jest on czynnikiem prognostycznym przerzutów do węzłów chłonnych w raku okrężnicy [99] i jego poziom wzrasta wraz z progresją raka jajnika [91].

Wzrost ilości siarczanowanych glikolipidów, w tym sulfatydów, obserwowany w komórkach i tkankach raka nerki w porównaniu z tkanką prawidłową, jest spowodowany zwiększoną ekspresją i aktywnością sulfotransferazy galaktozyloceramidowej, przy niezmienionej aktywności arylosulfatazy A [54,123], podobnie jak to się dzieje w gruczolakoraku płuc [36]. Również wysoki poziom aktywności tego enzymu znaleziono w surowicy pacjentów z rakiem nerki i rakiem wątrobowokomórkowym w porównaniu z osobami zdrowymi [34,35]. Jednak, w przeciwieństwie do raka nerki, w przypadku raka wątrobowokomórkowego, wysoki poziom aktywności sulfotransferazy w surowicy pacjentów nie korelował z poziomem aktywności tego enzymu w tkance nowotworowej, który był podobny jak w tkance prawidłowej [69]. Natomiast w raku żołądka, poziom ekspresji CST był różny dla poszczególnych przypadków, zarówno u osób chorych jak i zdrowych [81].

Wykorzystując komórki SMKT-R3 ludzkiego raka nerki wykazano, że wzrost aktywności sulfotransferazy jest spowodowany działaniem TNF- α , zarówno parakrynnie jak i autokrynnie, które zapoczątkowuje w pierwszym przypadku wiązanie sekrecyjnego TNF- α przez swoisty receptor błonowy, natomiast w drugim bezpośredni kontakt między komórkami (contact-dependent signalling, juxtacrine signalling) z udziałem błonowej postaci TNF- α [74]. Ta sama grupa autorów wykazała, że poza TNF- α , aktywność sulfotransferazy w komórkach raka nerki wzrasta po dodaniu do pożywki EGF [75] lub HGF [76]. Wydaje się, że w regulacji aktywności sulfotransferazy są zaangażowane kinazy białkowe, zarówno treoninowo-serynowe, czego przykładem jest kinaza białek C [77], jak i tyrozynowe, łącznie z receptorem EGF [6], na co wskazują badania z użyciem swoistych inhibitorów kinaz. Wzrost aktywności sulfotransferazy z udziałem EGF wymaga szlaku sygnałowego, którego składnikiem jest białko Ras [144]. Jednocześnie ze wzrostem aktywności sulfotransferazy pod wpływem EGF, w komórkach SMKT-R3 obserwowano wzrost poziomu ekspresji mRNA dla tego enzymu, ale zjawiska tego nie obserwowano w innych sześciu liniach komórkowych raka nerki [54]. Natomiast we wszystkich siedmiu badanych liniach komórkowych obserwowano

spadek ekspresji mRNA i spadek aktywności enzymatycznej, gdy komórki traktowano albo TPA, albo genisteiną, czyli inhibitorami, odpowiednio kinazy białek C i kinaz tyrozynowych.

Rola sulfatydów w progresji nowotworowej

Mimo wielu badań, w których wykazano, że różnym nowotworom, a zwłaszcza gruczolakorakom, towarzyszy nasilona synteza i akumulacja sulfatydów w porównaniu z tkanką prawidłową, niewiele wiadomo na temat ich roli zarówno w powstawaniu nowotworu, jak i jego progresji, łącznie z powstawaniem przerzutów. Ten ostatni proces, noszący nazwę kaskady przerzutowania, mimo intensywnych badań, w dalszym ciągu jest daleki od ostatecznego poznania. Jednym z jego koniecznych etapów jest wnikanie komórek nowotworowych do krwiobiegu, podczas którego zdecydowana ich większość ulega śmierci, czy to w wyniku działania układu odpornościowego, czy mechanicznych uszkodzeń spowodowanych różnymi czynnikami związanymi z przepływem krwi w naczyniach. Ostatecznie tylko nieliczne komórki zasiedlają narządy docelowe dając początek przerzutom. Jednym z mechanizmów chroniących te komórki zarówno przed rozpoznaniem przez układ odpornościowy, jak i działaniem czynników hemodynamicznych jest agregacja będąca wynikiem adhezji homotypowej między samymi komórkami nowotworowymi i/lub adhezji heterotypowej między komórkami nowotworowymi a morfotycznymi składnikami krwi, takimi jak płytki krwi i leukocyty [95]. Agregacja ma zwiększać szansę powstawania przerzutów również przez ułatwioną adhezję skupisk komórek nowotworowych do śródbłonna naczyniowego [95]. Wiele faktów eksperymentalnych wskazuje na szczególną rolę płytek krwi w tych procesach [55,95]. Trombocyty wchodzące w skład agregatów mają sprzyjać przerzutowaniu przez stabilizację oddziaływań między komórkami nowotworowymi a śródbłonkiem, a także zwiększać adhezję komórek nowotworowych do macierzy zewnątrzkomórkowej. Wytwarzane przez nie czynniki zwiększają potencjał proliferacyjny komórek nowotworowych i ułatwiają im opuszczenie koryta naczyniowego przez zwiększoną retrakcję komórek śródbłonna. Jak to już omówiono wcześniej, w tworzeniu agregatów przez płytki krwi istotną rolę odgrywają sulfatydy pełniące rolę ligandów ekspresjonowanej przez trombocyty selektyny P. W podobny sposób jak w przypadku trombocytów, sulfatydy umożliwiają tworzenie mieszanych agregatów między płytkami krwi i leukocytami z ekspresją selektyny P, co sugeruje, że podobne mechanizmy mogą pozwalać komórkom nowotworowym z ekspresją sulfatydów na tworzenie agregatów z aktywowanymi komórkami śródbłonna z ekspresją selektyny P [96]. Na bezpośredni udział w tworzeniu przerzutów przez selektynę P obecna na powierzchni płytek krwi i sulfatyd obecny na komórkach nowotworowych wskazują badania Garci i wsp. [33]. Autorzy ci wykazali, że w adhezji *in vitro* aktywowanych płytek krwi ekspresjonujących selektynę P do komórek MC-38 mysiego raka okrężnicy udział bierze wyłącznie wytwarzany przez te

ostatnie sulfatydy. Oddziaływania z płytkami krwi obserwowano również *in vivo*, bowiem kiedy komórki MC38 przeszczepiano myszom, już po 30 min od dożylnego podania komórek nowotworowych, obserwowano w płucach ich agregaty tworzone wspólnie z płytkami krwi. Na swoisty udział sulfatydu w tworzeniu kolonii przez komórki raka okrężnicy wskazują eksperymenty kontrolne, w których wykazano, że komórki MC38 traktowane arylosulfatazą w celu usunięcia grup siarczanowych, tracą zdolność tworzenia eksperymentalnych przerzutów.

Na potencjalny udział sulfatydu w progresji nowotworu i tworzeniu przerzutów wskazują badania, w których wykazano, że to siarczanowane glikolipidy, w tym sulfatydy, są odpowiedzialne za wiązanie komórek raka nerki do lamininy, a ich opłaszczenie dodatkowymi cząsteczkami sulfatydu zwiększało haptotaksję w odpowiedzi na kontakt z lamininą [79]. W ostatnich badaniach, w których komórki mysiego czerniaka B16F10 analizowano pod kątem ich adhezji do fibronektyny oraz właściwości migracyjnych i inwazyjnych w nieobecności i obecności syntetycznego sulfatydu, stwierdzono, że dodanie tego glikolipidu do hodowli w znaczący sposób hamuje te aktywności w porównaniu z glukozyloceramidem [107]. Działania hamujące są najprawdopodobniej związane z obniżoną w tych komórkach ekspresją integrzyn $\alpha 5$ i $\beta 1$, wywołaną obecnością w pożywce hodowlanej sulfatydu, który hamuje wewnątrzkomórkowy szlak przekazu sygnału obejmujący FAK, Akt i Erk. Należy jednak pamiętać, że w obu przypadkach, badania ograniczone były do eksperymentów *in vitro*, a więc ich znaczenie w poznaniu roli sulfatydów w procesie przerzutowania jest raczej ograniczone.

Sulfatydy obecne na komórkach nowotworowych mogą mieć swój udział w progresji nowotworu nie tylko jako ligandy cząsteczek adhezyjnych, wpływając na właściwości adhezyjne komórek nowotworowych, ale także jako cząsteczki modulujące odpowiedź przeciwnowotworową układu odpornościowego. Wykorzystując model mysiej, wykazano, że obładowanie powierzchni apoptotycznych komórek raka okrężnicy i nerki cząsteczkami sulfatydu powoduje ich wzmożoną fagocytozę przez makrofagi zarówno w warunkach *in vivo* jak i *in vitro* [112]. Obecność sulfatydu zwiększa również w znaczący sposób wytwarzanie przez makrofagi TGF- $\beta 1$ i IL-6 oraz ekspresję selektyny P.

ROLA SULFATYDÓW W PATOGENIEZIE CUKRZYCY

Cukrzyca typu 1, będąca insulinozależną postacią cukrzycy, jest chorobą autoimmunizacyjną, która charakteryzuje się stopniową destrukcją wytwarzających insulinę komórek β wysp Langerhansa. Biorąc pod uwagę to, że komórki β wysp trzustkowych wytwarzają znaczne ilości sulfatydu [16] oraz to, że w surowicy pacjentów z cukrzycą typu 1 stwierdza się wysoki poziom przeciwciał skierowanych przeciwko sulfatydowi [17], zaproponowano, że sulfatyd może odgrywać istotną rolę w patogenezie tego schorzenia, ale brak jest jeszcze dowodów, które wskazywałyby na bezpośredni udział sulfatydu w proce-



sach związanych z autoimmunologicznym podłożem tej choroby. Natomiast w innych badaniach stwierdzono, że sulfatydy izolowane z wysp Langerhansa myszy ob/ob i db/db, reprezentujących zwierzęce modele cukrzycy typu 2, czyli postaci cukrzycy charakteryzującej się insulinoopornością tkanek oraz ich zdrowych przodków, różnią się składem kwasów tłuszczowych od sulfatydów z wysp Langerhansa pochodzących od zdrowych szczurów szczepu Lewis, myszy BALB/c i ludzi [8]. W przypadku tych pierwszych, brak było przeważającej izoformy sulfatydu mającej w składzie kwas palmitynowy, obecnej w komórkach β zdrowych szczurów szczepu Lewis, myszy BALB/c i ludzi. W oparciu o te wyniki autorzy sugerują, że brak tej izoformy sulfatydu może predysponować do zachorowania na cukrzycę typu 2, co może mieć związek z tym, że izoforma sulfatydu z kwasem palmitynowym w znacznie większym stopniu przedłuża trwałość kryształów insuliny w porównaniu z innymi izoformami (patrz niżej). Na możliwy udział sulfatydu w patogenezie cukrzycy typu 2 wskazują również badania kliniczne, w których wykazano, że

- jego poziom w surowicy chorych obu płci jest znacząco niższy w porównaniu z osobami zdrowymi [14],
- heterozygotyczność (T/C) w polimorfizmie pojedynczego nukleotydu (SNP) rs2267161 występującym w genie *CST* kodującym sulfotransferazę galaktozyloceramidu zwiększa ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2, podczas gdy kobiety o genotypie C/C wykazują niższą insulinooporność [118].

Ponieważ patogeneza cukrzycy, bez względu na jej postać, jest bezpośrednio związana z główną funkcją komórek β , jaką jest wytwarzanie insuliny, powstaje pytanie o molekularne mechanizmy łączące obecność sulfatydu z syntezą i sekrecją tego hormonu. O tym, że sulfatydy może być powiązany funkcjonalnie z insuliną świadczą ich kolokalizacja w organellach komórek β podczas ich wewnątrzkomórkowego transportu [32], poczynając od miejsca syntezy w siateczce śródplazmatycznej, poprzez wędrówkę w pęcherzykach sekrecyjnych do regionu *trans* aparatu Golgiego. Gdy w pęcherzykach dojdzie do przekształcenia proinsuliny w insulinę, ulegają fuzji z błoną komórkową, a to wywołuje sekrecję insuliny. Należy jednak pamiętać, że zwykle dotyczy to tylko części tych ziarnistości, z których większość pozostaje w cytoplazmie albo łączy się z lizosomami, gdzie dochodzi z jednej strony do całkowitej degradacji insuliny [40], z drugiej do częściowego rozkładu sulfatydów. Produkty rozkładu sulfatydów są następnie wykorzystywane w aparacie Golgiego do ponownej ich syntezy. Inne badania już bezpośrednio wykazały, że sulfatydy, wytwarzany przez komórki β wysp Langerhansa trzustki, odgrywa istotną rolę w powstaniu, a następnie sekrecji aktywnej biologicznie insuliny [106]. W tym kontekście ważna jest obserwacja, że sulfatydy zwiększa, zależną od jonów Ca^{2+} , egzocytozę pęcherzyków komórkowych zawierających insulinę [15]. Będąc wiązany przez proinsulinę, ułatwia właściwe jej fałdowanie, pełniąc rolę molekularnego szaperonu dla tego białka, a następnie zapewnia właściwą stabilność kryszta-

łów utworzonych przez heksamery dojrzałej insuliny przy wartościach pH podobnych do tych, które panują w ziarnistościach komórek β . Sulfatydy odpowiada także za przekształcenie nieaktywnych heksamerów insuliny w biologicznie aktywne monomery przy neutralnych wartościach pH, które panują na powierzchni komórek. Ma również właściwości cząsteczki regulatorowej, kontrolując, zależną od glukozy, sekrecję insuliny. Obniża bowiem wydzielanie insuliny przez aktywację błonowego kanału potasowego bramkowanego ATP, w czym udział bierze dominująca w trzustce izoforma sulfatydu, w skład której wchodzi kwas palmitynowy [13]. Wykazano, że dodany do pożywki sulfatydy chroni przed apoptozą komórki wytwarzające insulinę, poddane działaniu IL-1 β , interferonu- γ lub TNF- α , co wiąże się z zahamowaniem ekspresji indukowanej syntazy tlenku azotu (iNOS) [119]. Może mieć to znaczenie protekcyjne podczas rozwoju cukrzycy, ponieważ apoptoza komórek β indukowana cytokinami jest istotnym czynnikiem w patogenezie zarówno cukrzycy typu 1 jak i 2.

SULFATYDY JAKO RECEPTORY BAKTERII, PIERWOTNIAKÓW I WIRUSÓW

Sulfatydy jako receptory bakterii i pierwotniaków

Adhezja bakterii do komórek gospodarza jest ważnym etapem w procesach związanych z zasiedlaniem określonych niszy ekologicznych przez komensale, jak i etiologii wielu schorzeń wywoływanych przez mikroorganizmy chorobotwórcze. Proces nabiera szczególnego znaczenia w przypadku drobnoustrojów kolonizujących błony śluzowe i tkanki obmywane płynami ustrojowymi, gdzie zdolności adhezyjne zapobiegają ich mechanicznemu usunięciu, ułatwiając przetrwanie i w konsekwencji namnażanie. W adhezji bakterii do komórek gospodarza udział biorą białka adhezyny, oddziałujące z komplementarnymi do nich receptorami/ligandami obecnymi na powierzchni komórek eukariotycznych, z których wiele to łańcuchy cukrowe glikoprotein i glikosfingolipidów. Takim receptorem, reprezentującym glikosfingolipidy, jest sulfatydy, do którego wiąże się *Mycoplasma pneumoniae* [85], wywołująca atypowe zapalenia płuc głównie u małych dzieci, a także *Mycoplasma hominis* [104], często izolowana z męskiego i żeńskiego układu płciowego. Sulfatydy jest także receptorem pałeczki krztuśca (*Bordetella pertussis*) [12] i *Helicobacter pylori* [70]. Sulfatydy są również receptorami patogenów z rodzaju *Haemophilus*, takich jak *H. influenzae* [45] i *H. ducreyi* [109] wywołujących zakażenia układu oddechowego/zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i wrzód weneryczny. W obu przypadkach za wiązanie sulfatydu odpowiadają białka stresu komórkowego. Wykazano, że kliniczne szczepy *H. influenzae* wiążą się do sulfatydu dopiero wtedy, kiedy poddane zostaną krótkotrwałemu szokowi cieplnemu [45], co jest związane z pojawianiem się na powierzchni tak traktowanych bakterii białka szoku cieplnego Hsp70 pełniącego rolę receptora swoiście wiążącego ten glikolipid. Natomiast u *H. ducreyi*, takim receptorem wiążącym swoiście sulfatydy jest inne białko szoku cieplnego o masie cząsteczkowej 58,5 kDa, obecne na powierzchni bakterii i będące homologiem białka GroEL [109]. Wykazano, że sulfatydy jest swoiście

wiązany przez enterotoksynę b [122], adhezynę FasG fimbrii 987P [150] i powierzchniowy antygen 6 (CS6) wytwarzane przez enterotoksyczną *E. coli* [66].

Podsumowując, należy pamiętać, że mimo wielu omówionych wyżej prac wskazujących na sulfatydy jako receptor umożliwiający adhezję różnych gatunków bakterii do komórek gospodarza, a więc czynnik sprzyjający zakażeniom, brak jest bezpośrednich dowodów potwierdzających jego istotną rolę w infekcjach bakteryjnych, np. badań z wykorzystaniem modeli zwierzęcych. Jedynie w przypadku białka CS6 *E. coli* wykazano, że mutanty niewytwarzające tego czynnika, nie wiążą się do nabłonka jelit królika w przeciwieństwie do szczepu wyjściowego [66]. A jest to niezwykle istotne, ponieważ w większości przypadków, sulfatydy, nie jest jedynym, ale jednym z kilku receptorów reprezentujących glikosfingolipidy, z których każdy potencjalnie może pełnić podobną funkcję.

Oprócz bakterii również sporozycy malarii (plazmodium) mogą się wiązać do sulfatydów, na co wskazują oddziaływania białek okołosporozycytowych (circumsporozoite proteins, CSP), obecnych na ich powierzchni, z różnymi siarczanowymi glikosfingolipidami, w tym sulfatydem [108].

Sulfatydy jako receptory wirusów

Sulfatydy, poza bakteriami i pierwotniakami, pełnią również rolę receptorów niektórych wirusów. Przykładem jest wirus

grypy A (IAV), którego izolaty pochodzące od ludzi i zwierząt wiążą się, jak to wykazano w testach *in vitro*, z tymi frakcjami glikolipidów, w skład których wchodzi sulfatydy [133], który dodany do hodowli hamuje infekcję psich komórek nerki MADIN-Darby wirusem A/Memphis/1/71 (H3N2). Jak to wykazały badania przeprowadzone na modelach komórkowych, zarówno z zahamowaną syntezą sulfatydu, jak i jego nadekspresją, obecność tego glikolipidu bardzo zwiększa potencjał replikacyjny wirusa IAV [135]. Jego rola ma polegać na tym, że pełniąc rolę receptora wirusowej hemaglutyniny, indukuje w połączeniu z tą glikoproteiną translokację nowo powstałych cząstek wirusowego kompleksu rybonukleoproteinowego (utworzonego przez nukleoproteinę, polimerazę PB1, PB2 i PA oraz genomowe RNA) z jądra do cytoplazmy, co warunkuje efektywną replikację wirusa.

Sulfatydy, podobnie jak ich prekursor galaktozyloceramid, są alternatywnymi receptorami wirusa HIV-1 w przypadku komórek ośrodkowego układu nerwowego i nabłonka układu pokarmowego, które nie mają antygeny CD4 [138]. Ale w odróżnieniu od galaktozyloceramidu hamują infekcje komórek tym wirusem, zapobiegając fuzji wirusa z błoną cytoplazmatyczną komórki gospodarza [29].

Ostatnio wykazano, że i wirus krowianki (VACV) wiąże się swoiście do sulfatydu obecnego na powierzchni komórek podatnych na zakażenie tym wirusem, a białkami wirusa odpowiedzialnymi za wiązanie sulfatydu są białko A27 i L5 [110].

PIŚMIENICTWO

[1] Alderson N.L., Rembisa B.M., Walla M.D., Bielawska A, Bielawski J, Hama H.: The human *FA2H* gene encodes a fatty acid 2-hydroxylase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 48562-48568

[2] Alon R., Feizi T., Yuen C.T., Fuhlbrigge R.C., Springer T.A.: Glycolipid ligands for selectins support leukocyte tethering and rolling under physiologic flow conditions. *J. Immunol.*, 1995; 154: 5356-5366

[3] Arrenberg P., Maricic I., Kumar V.: Sulfatide-mediated activation of type II natural killer T cells prevents hepatic ischemic reperfusion injury in mice. *Gastroenterology*, 2011; 140: 646-655

[4] Aruffo A., Kolanus W., Walz G., Fredman P., Seed B.: CD62/P-selectin recognition of myeloid and tumor cell sulfatides. *Cell*, 1991; 67: 35-44

[5] Avila J.L., Rojas M., Carrasco H.: Elevated levels of antibodies against sulphatide are present in all chronic chagasic and dilated cardiomyopathy sera. *Clin. Exp. Immunol.*, 1993; 92: 460-465

[6] Balbaa M., Honke K., Makita A.: Regulation of glycolipid sulfo-transferase by tyrosine kinases in human renal cancer cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996; 1299: 141-145

[7] Bansal R., Winkler S., Bheddah S.: Negative regulation of oligodendrocyte differentiation by galactosphingolipids. *J. Neurosci.*, 1999; 19: 7913-7924

[8] Blomqvist M., Osterby T., Mansson J.E., Horn T., Buschard K., Fredman P.: Selective lack of the C16:0 fatty acid isoform of sulfatide in pancreas of type II diabetic animal models. *APMIS*, 2003; 111: 867-877

[9] Blomqvist M., Rhost S., Teneberg S., Löfbom L., Osterby T., Brigl M., Mansson J.E., Cardell S.L.: Multiple tissue-specific isoforms of

sulfatide activate CD1d-restricted type II NKT cells. *Eur. J. Immunol.*, 2009; 39: 1726-1735

[10] Borthakur G., Cruz M.A., Dong J.F., McIntire L., Li F., Lopez J.A., Thiagarajan P.: Sulfatides inhibit platelet adhesion to von Willebrand factor in flowing blood. *J. Thromb. Haemost.*, 2003; 1: 1288-1295

[11] Bovin L.F., Fredman P., Mansson J.E., Buschard K., Bendtzen K.: In vitro production of cytokines is influenced by sulfatide and its precursor galactosylceramide. *FEBS Lett.*, 1999; 455: 339-343

[12] Brennan M.J., Hannah J.H., Leininger E.: Adhesion of *Bordetella pertussis* to sulfatides and to the GalNAc β 4Gal sequence found in glycosphingolipids. *J. Biol. Chem.*, 1991; 266: 18827-18831

[13] Buschard K., Blomqvist M., Mansson J.E., Fredman P., Juhl K., Gromada J.: C16:0 sulfatide inhibits insulin secretion in rat β -cells by reducing the sensitivity of K_{ATP} channels to ATP inhibition. *Diabetes*, 2006; 55: 2826-2834

[14] Buschard K., Fredman P., Bog-Hansen E., Blomqvist M., Hedner J., Rastam L., Lindblad U.: Low serum concentration of sulfatide and presence of sulfated lactosylceramid are associated with type 2 diabetes. *Diabetes Med.*, 2005; 22: 1190-1198

[15] Buschard K., Hoy M., Bokvist K., Olsen H.L., Madsbad S., Fredman P., Gromada J.: Sulfatide controls insulin secretion by modulation of ATP-sensitive K^+ -channel activity and Ca^{2+} -dependent exocytosis in rat pancreatic β -cells. *Diabetes*, 2002; 51: 2514-2521

[16] Buschard K., Josefsen K., Hansen S.V., Horn T., Marshall M.O., Persson H., Mansson J.-E., Fredman P.: Sulfatide in islets of Langerhans and in organs affected in diabetic late complications: a study in human and animal tissue. *Diabetologia*, 1994; 37: 1000-1006



- [17] Buschard K., Josefsen K., Horn T., Fredman P.: Sulphatide and sulphate antibodies in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*, 1993; 342: 840
- [18] Cheng H., Jiang X., Han X.: Alterations in lipid homeostasis of mouse dorsal root ganglia induced by apolipoprotein E deficiency: a shotgun lipidomics study. *J. Neurochem.*, 2007; 101: 57-76
- [19] Coetzee T., Suzuki K., Popko B.: New perspectives on the function of myelin galactolipids. *Trends Neurosci.*, 1998; 21: 126-130
- [20] Constantin G., Laudanna C., Baron P., Berton G.: Sulfatides trigger cytokine gene expression and secretion in human monocytes. *FEBS Lett.*, 1994; 350: 66-70
- [21] de Gasperi R., Angel M., Sosa G., Patarca R., Battistini S., Lamoreux M.R., Raghavan S., Kowall N.W., Smith K.H., Fletcher M.A., Kolodny E.H.: Intrathecal synthesis of anti-sulfatide IgG is associated with peripheral nerve disease in acquired immunodeficiency syndrome. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1996; 12: 205-211
- [22] Ding Z., Issekutz T.B., Downey G.P., Waddell T.K.: L-selectin stimulation enhances functional expression of surface CXCR4 in lymphocytes: implications for cellular activation during adhesion and migration. *Blood*, 2003; 101: 4245-4252
- [23] Ding Z., Kawashima H., Miyasaka M.: Sulfatide binding and activation of leukocytes through an L-selectin-independent pathway. *J. Leukoc. Biol.*, 2000; 68: 65-72
- [24] Ding Z., Kawashima H., Suzuki Y., Suzuki T., Ward P.A., Miyasaka M.: A sulfatide receptor distinct from L-selectin is involved in lymphocyte activation. *FEBS Lett.*, 1997; 418: 310-314
- [25] Drahos K.E., Welsh J.D., Finkielstein C.V., Capelluto D.G.: Sulfatides partition disabled-2 in response to platelet activation. *PLoS One*, 2009; 4:e8007
- [26] Duchesneau P., Gallagher E., Walcheck B., Waddell T.K.: Up-regulation of leukocyte CXCR4 expression by sulfatide: an L-selectin-dependent pathway on CD4⁺ T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 2949-2960
- [27] Eckhardt M.: The role and metabolism of sulfatide in the nervous system. *Mol. Neurobiol.*, 2008; 37: 93-103
- [28] Fabelo N., Martín V., Santpere G., Marín R., Torrent L., Ferrer I., Díaz M.: Severe alterations in lipid composition of frontal cortex lipid rafts from Parkinson's disease and incidental Parkinson's disease. *Mol. Med.*, 2011; 17: 1107-18
- [29] Fantini J., Hammache D., Delezay O., Pieroni G., Tamalet C., Yahi N.: Sulfatide inhibits HIV-1 entry into CD4⁺/CXCR4⁺ cells. *Virology*, 1998; 246: 211-220
- [30] Farrer R.G., Warden M.P., Quarles R.H.: Effects of Brefeldin A on galactosphingolipid synthesis in an immortalized Schwann cell line: evidence for different intracellular locations of galactosylceramide sulfotransferase and ceramide galactosyltransferase activities. *J. Neurochem.*, 1995; 65: 1865-1873
- [31] Frank M., van der Haar M.E., Schaeren-Wiemers N., Schwab M.E.: rMAL is a glycosphingolipid-associated protein of myelin and apical membranes of epithelial cells in kidney and stomach. *J. Neurosci.*, 1998; 18: 4901-4913
- [32] Fredman P., Mansson J.E., Rynmark B.M., Josefsen K., Ekblond A., Halldner L., Osterbye T., Horn T., Buschard K.: The glycosphingolipid sulfatide in the islets of Langerhans in rat pancreas is processed through recycling: possible involvement in insulin trafficking. *Glycobiology*, 2000; 10: 39-50
- [33] Garcia J., Callewaert N., Borsig L.: P-selectin mediates metastatic progression through binding to sulfatides on tumor cells. *Glycobiology*, 2007; 17: 185-196
- [34] Gasa S., Casl M.T., Jin T., Kamio K., Uehara Y., Miyazaki T., Makita A.: Elevated serum level of glycolipid sulfotransferase in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.*, 1991; 59: 19-24
- [35] Gasa S., Casl M.T., Makita A., Sakakibara N., Koyanagi T., Tsuta T.: Presence and characterization of glycolipid sulfotransferase in human cancer serum. *Eur. J. Biochem.*, 1990; 189: 301-306
- [36] Gasa S., Makita A., Hiramama M., Kawabata M.: Cerebroside sulfotransferase activity in human lung tissues. An elevated level in lung adenocarcinoma. *J. Biochem.*, 1979; 86: 265-267
- [37] Gisslen M., Fredman P., Norkrans G., Hagberg L.: Elevated cerebrospinal fluid sulfatide concentrations as a sign of increased metabolic turnover of myelin in HIV type 1 infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1996; 12: 149-155
- [38] Gisslen M., Lekman A., Fredman P.: High levels in serum, but no signs of intrathecal synthesis of anti-sulfatide antibodies in HIV-1 infected individuals with or without central nervous system complications. *J. Neuroimmunol.*, 1999; 94: 153-156
- [39] Guchhait P., Shrimpton C.N., Honke K., Rumbaut R.E., Lopez J.A., Thiagarajan P.: Effect of an anti-sulfatide single-chain antibody probe on platelet function. *Thromb. Haemost.*, 2008; 99: 552-557
- [40] Halban P.A., Wollheim C.B.: Intracellular degradation of insulin stores by rat pancreatic islets in vitro. An alternative pathway for homeostasis of pancreatic insulin content. *J. Biol. Chem.*, 1980; 255: 6003-6006
- [41] Halder R.C., Aguilera C., Maricic I., Kumar V.: Type II NKT cell-mediated anergy induction in type I NKT cells prevents inflammatory liver disease. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 2302-2312
- [42] Halder R.C., Jahng A., Maricic I., Kumar V.: Mini review: immune response to myelin-derived sulfatide and CNS-demyelination. *Neurochem. Res.*, 2007; 32: 257-262
- [43] Han X.: Potential mechanisms contributing to sulfatide depletion at the earliest clinically recognizable stage of Alzheimer's disease: a tale of shotgun lipidomics. *J. Neurochem.*, 2007; 103, Suppl. 1: 171-179
- [44] Han X., Cheng H., Fryer J.D., Fagan A.M., Holtzman D.M.: Novel role for apolipoprotein E in the central nervous system. Modulation of sulfatide content. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 8043-8051
- [45] Hartmann E., Lingwood C.A., Reidl J.: Heat-inducible surface stress protein (Hsp70) mediates sulfatide recognition of the respiratory pathogen *Haemophilus influenzae*. *Infect. Immun.*, 2001; 69: 3438-3441
- [46] Hattori H., Uemura K., Taketomi T.: Glycolipids of gastric cancer. The presence of blood group A-active glycolipids in cancer tissues from blood group O patients. *Biochim. Biophys. Acta*, 1981; 666: 361-369
- [47] Herz J.: The LDL receptor gene family: (un)expected signal transducers in the brain. *Neuron*, 2001; 29: 571-581
- [48] Higashi H., Suzuki Y., Mukaida N., Takahashi N., Miyamoto D., Matsushima K.: Intervention in endotoxin shock by sulfatide (³⁵S₃-GalCer) with a concomitant reduction in tumor necrosis factor α production. *Infect. Immun.*, 1997; 65: 1223-1227
- [49] Hiraiwa N., Fukuda Y., Imura H., Tadano-Aritomi K., Nagai K., Ishizuka I., Kannagi R.: Accumulation of highly acidic sulfated glycosphingolipids in human hepatocellular carcinoma defined by a series of monoclonal antibodies. *Cancer Res.*, 1990; 50: 2917-2928
- [50] Holt G.D., Krivan H.C., Gasic G.J., Ginsburg V.: Antistasin, an inhibitor of coagulation and metastasis, binds to sulfatide [Gal(3-SO₃) β -1-Cer] and has a sequence homology with other proteins that bind sulfated glycoconjugates. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 12138-12140
- [51] Holt G.D., Pangburn M.K., Ginsburg V.: Properdin binds to sulfatide [Gal(3-SO₃) β -1-Cer] and has a sequence homology with other proteins that bind sulfated glycoconjugates. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 2852-2855
- [52] Honke K., Hirahara Y., Dupree J., Suzuki K., Popko B., Fukushima K., Fukushima J., Nagasawa T., Yoshida N., Wada Y., Taniguchi N.: Pa-

ranodal junction formation and spermatogenesis require sulfoglycolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 4227-4232

[53] Honke K., Tsuda M., Hirahara Y., Ishii A., Makita A., Wada Y.: Molecular cloning and expression of cDNA encoding human 3'-phosphoadenylylsulfate:galactosylceramide 3'-sulfotransferase. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 4864-4868

[54] Honke K., Tsuda M., Hirahara Y., Miyao N., Tsukamoto T., Satoh M., Wada Y.: Cancer-associated expression of glycolipid sulfotransferase gene in human renal cell carcinoma cells. *Cancer Res.*, 1998; 58: 3800-3805

[55] Honn K.V., Tang D.G., Crissman J.D.: Platelets and cancer metastasis: a causal relationship? *Cancer Metastasis Rev.*, 1992; 11: 325-351

[56] Hoshi T., Suzuki A., Hayashi S., Tohyama K., Hayashi A., Yamaguchi Y., Takeuchi K., Baba H.: Nodal protrusions, increased Schmidt-Lanterman incisures, and paranodal disorganization are characteristic features of sulfatide-deficient peripheral nerves. *Glia*, 2007; 55: 584-594

[57] Huang C.L., Cheng J.C., Liao C.H., Stern A., Hsieh J.T., Wang C.H., Hsu H.L., Tseng C.P.: Disabled-2 is a negative regulator of integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ -mediated fibrinogen adhesion and cell signaling. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 42279-42289

[58] Huang C.L., Cheng J.C., Stern A., Hsieh J.T., Liao C.H., Tseng C.P.: Disabled-2 is a novel α_{IIb} -integrin-binding protein that negatively regulates platelet-fibrinogen interactions and platelet aggregation. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 4420-4430

[59] Ideo H., Seko A., Yamashita K.: Galectin-4 binds to sulfated glycosphingolipids and carcinoembryonic antigen in patches on the cell surface of human colon adenocarcinoma cells. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 4730-4737

[60] Ilyas A.A., Chen Z.W., Cook S.D.: Antibodies to sulfatide in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2003; 139: 76-80

[61] Imai Y., True D.D., Singer M.S., Rosen S.D.: Direct demonstration of the lectin activity of gp90^{MEL}, a lymphocyte homing receptor. *J. Cell Biol.*, 1990; 111: 1125-1232

[62] Isaac G., Pernber Z., Gieselmann V., Hansson E., Bergquist J., Månsson J.E.: Sulfatide with short fatty acid dominates in astrocytes and neurons. *FEBS J.*, 2006; 273: 1782-1790

[63] Ishibashi T., Dupree J.L., Ikenaka K., Hirahara Y., Honke K., Peles E., Popko B., Suzuki K., Nishino H., Baba H.: A myelin galactolipid, sulfatide, is essential for maintenance of ion channels on myelinated axon but not essential for initial cluster formation. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 6507-6514

[64] Ishizuka I.: Chemistry and functional distribution of sulfoglycolipids. *Prog. Lipid Res.*, 1997; 36: 245-319

[65] Jahng A., Maricic I., Aguilera C., Cardell S., Halder R.C., Kumar V.: Prevention of autoimmunity by targeting a distinct, noninvariant CD1d-reactive T cell population reactive to sulfatide. *J. Exp. Med.*, 2004; 199: 947-957

[66] Jansson L., Tobias J., Jarefjall C., Lebens M., Svennerholm A.M., Teneberg S.: Sulfatide recognition by colonization factor antigen CS6 from enterotoxigenic *Escherichia coli*. *PLoS One*, 2009; 4: e4487

[67] Jeon S.B., Yoon H.J., Park S.H., Kim I.H., Park E.J.: Sulfatide, a major lipid component of myelin sheath, activates inflammatory responses as an endogenous stimulator in brain-resident immune cells. *J. Immunol.*, 2008; 181: 8077-8087

[68] Kajihara J., Guoji Y., Kato K., Suzuki Y.: Sulfatide, a specific sugar ligand for L-selectin, blocks CCL₄-induced liver inflammation in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1995; 59: 155-157

[69] Kamio K., Jin T., Gasa S., Ohhira M., Honke K., Kasai N., Makita A.: Inconsistent expression of glycolipid sulfotransferase activity between hepatoma and serum. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1992; 168: 29-35

[70] Kamisago S., Iwamori M., Tai T., Mitamura K., Yazaki Y., Sugano K.: Role of sulfatides in adhesion of *Helicobacter pylori* to gastric cancer cells. *Infect. Immun.*, 1996; 64:624-628

[71] Kanter J.L., Narayana S., Ho P.P., Catz I., Warren K.G., Sobel R.A., Steinman L., Robinson W.H.: Lipid microarrays identify key mediators of autoimmune brain inflammation. *Nat. Med.*, 2006; 12: 138-143

[72] Kiebish M.A., Young D.M., Lehman J.J., Han X.: Chronic caloric restriction attenuates a loss of sulfatide content in PGC-1 α mouse cortex: a potential lipidomic role of PGC-1 α in neurodegeneration. *J. Lipid Res.*, 2012; 53: 273-281

[73] Kiguchi K., Takamatsu K., Tanaka J., Nozawa S., Iwamori M., Nagai Y.: Glycosphingolipids of various human ovarian tumors: a significantly high expression of I³SO₃GalCer and Lewis antigen in mucinous cystadenocarcinoma. *Cancer Res.*, 1992; 52: 416-421

[74] Kobayashi T., Honke K., Gasa S., Imai S., Tanaka J., Miyazaki T., Makita A.: Regulation of activity levels of glycolipid sulfotransferases by transforming growth factor α in renal cell carcinoma cells. *Cancer Res.*, 1993; 53: 5638-5642

[75] Kobayashi T., Honke K., Gasa S., Kato N., Miyazaki T., Makita A.: Epidermal growth factor elevates the activity levels of glycolipid sulfotransferases in renal-cell-carcinoma cells. *Int. J. Cancer*, 1993; 55: 448-452

[76] Kobayashi T., Honke K., Gasa S., Miyazaki T., Tajima H., Matsumoto K., Nakamura T., Makita A.: Hepatocyte growth factor elevates the activity levels of glycolipid sulfotransferases in renal cell carcinoma cells. *Eur. J. Biochem.*, 1994; 219: 407-413

[77] Kobayashi T., Honke K., Gasa S., Sugiura M., Miyazaki T., Ishizuka I., Makita A.: Involvement of protein kinase C in the regulation of glycolipid sulfotransferase activity levels in renal cell carcinoma cells. *Cancer Res.*, 1993; 53: 2484-2489

[78] Kobayashi T., Honke K., Kamio K., Sakakibara N., Gasa S., Miyao N., Tsukamoto T., Ishizuka I., Miyazaki T., Makita A.: Sulfolipids and glycolipid sulfotransferase activities in human renal cell carcinoma cells. *Br. J. Cancer*, 1993; 67: 76-80

[79] Kobayashi T., Honke K., Kuramitsu Y., Hosokawa M., Miyazaki T., Murata J., Saiki I., Ishizuka I., Makita A.: Cell-surface sulfoglycolipids are involved in the attachment of renal-cancer cells to laminin. *Int. J. Cancer*, 1994; 56: 281-285

[80] Kobayashi T., Honke K., Miyazaki T., Matsumoto K., Nakamura T., Ishizuka I., Makita A.: Hepatocyte growth factor specifically binds to sulfoglycolipids. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 9817-9821

[81] Kobayashi T., Honke K., Tsunematsu I., Kagaya H., Nishikawa S., Hokari K., Kato M., Takeda H., Sugiyama T., Higuchi A., Asaka M.: Detection of cerebroside sulfotransferase mRNA in human gastric mucosa and adenocarcinoma. *Cancer Lett.*, 1999; 138: 45-51

[82] Koch M., Stronge V.S., Shepherd D., Gadola S.D., Mathew B., Ritter G., Fersht A.R., Besra G.S., Schmidt R.R., Jones E.Y., Cerundolo V.: The crystal structure of human CD1d with and without α -galactosylceramide. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 819-826

[83] Kolter T., Sandhoff K.: Principles of lysosomal membrane digestion: stimulation of sphingolipids degradation by sphingolipid activator proteins and anionic lysosomal lipids. *Ann. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2005; 21: 81-103

[84] Konno A., Nunogami K., Wada T., Yachie A., Suzuki Y., Takahashi N., Suzuki T., Miyamoto D., Kiso M., Hasegawa A., Miyawaki T.: Inhibitory action of sulfatide, a putative ligand for L-selectin, on B cell proliferation and Ig production. *Int. Immunol.*, 1996; 8: 1905-1913

[85] Krivan H.C., Olson L.D., Barile M.F., Ginsburg V., Roberts D.D.: Adhesion of *Mycoplasma pneumoniae* to sulfated glycolipids and inhibition by dextran sulfate. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 9283-9288

[86] Kurosawa N., Kadomatsu K., Ikematsu S., Sakuma S., Kimura T., Muramatsu T.: Midkine binds specifically to sulfatide. The role of sulfatide in cell attachment to midkine-coated surfaces. *Eur. J. Bio-*



chem., 2000; 267: 344-351

[87] LaFerla F.M., Troncoso J.C., Strickland D.K., Kawas C.H., Jay G.: Neuronal cell death in Alzheimer's disease correlates with apoE uptake and intracellular A β stabilization. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 310-320

[88] Laudanna C., Constantin G., Baron P., Scarpini E., Scarlato G., Cabrini G., Dechecchi C., Rossi F., Cassatella M.A., Berton G.: Sulfatides trigger increase of cytosolic free calcium and enhanced expression of tumor necrosis factor- α and interleukin-8 mRNA in human neutrophils. Evidence for a role of L-selectin as a signaling molecule. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 4021-4026

[89] Li S., Liquri P., McKee K.K., Harrison D., Patel R., Lee S., Yurchenco P.D.: Laminin-sulfatide binding initiates basement membrane assembly and enables receptor signaling in Schwann cells and fibroblasts. *J. Cell Biol.*, 2005; 169: 179-189

[90] Liu Y., Chen Y., Momin A., Shaner R., Wang E., Bowen N.J., Matyunina L.V., Walker L.D., McDonald J.F., Sullards M.C., Merrill A.H. Jr.: Elevation of sulfatides in ovarian cancer: an integrated transcriptomic and lipidomic analysis including tissue-imaging mass spectrometry. *Molec. Cancer*, 2010; 9: 186

[91] Makhlof A.M., Fathalla M.M., Zakhary M.A., Makarem M.H.: Sulfatides in ovarian tumors: clinicopathological correlates. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2004; 14: 89-93

[92] Marcus J., Honigbaum S., Shroff S., Honke K., Rosenbluth J., Dupree J.L.: Sulfatide is essential for the maintenance of CNS myelin and axon structure. *Glia*, 2006; 53: 372-381

[93] Maricic I., Halder R., Bischof F., Kumar V.: Dendritic cells and anergic type I NKT cells play a crucial role in sulfatide-mediated immune regulation in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2014; 193: 1035-1046

[94] Mattjus P.: Glycolipid transfer proteins and membrane interaction. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1788: 267-272

[95] Mehta P.: Potential role of platelets in the pathogenesis of tumor metastasis. *Blood*, 1984; 63: 55-63

[96] Merten M., Beythien C., Gutensohn K., Kuhn P., Meinertz T., Thiagarajan P.: Sulfatides activate platelets through P-selectin and enhance platelet and platelet-leukocyte aggregation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 258-263

[97] Merten M., Thiagarajan P.: Role of sulfatides in platelet aggregation. *Circulation*, 2001; 104: 2955-2960

[98] Morell P., Radin N.S.: Synthesis of cerebroside by brain from uridine diphosphate galactose and ceramide containing hydroxy fatty acid. *Biochemistry*, 1969; 8: 506-512

[99] Morichika H., Hamanaka Y., Tai T., Ishizuka I.: Sulfatides as a predictive factor of lymph node metastasis in patients with colorectal adenocarcinoma. *Cancer*, 1996; 78: 43-47

[100] Mulligan M.S., Miyasaka M., Suzuki Y., Kawashima H., Iizuka M., Hasegawa A., Kiso M., Warner R.L., Ward P.A., Suzuki T. i wsp.: Anti-inflammatory effects of sulfatides in selectin-dependent acute lung injury. *Int. Immunol.*, 1995; 7: 1107-1113

[101] Mulligan M.S., Warner R.L., Lowe J.B., Smith P.L., Suzuki Y., Miyasaka M., Yamaguchi S., Ohta Y., Tsukada Y., Kiso M., Hasegawa A., Ward P.A.: *In vitro* and *in vivo* selectin-blocking activities of sulfated lipids and sulfated sialyl compounds. *Int. Immunol.*, 1998; 10: 569-575

[102] Natomi H., Saitoh T., Sugano K., Iwamori M., Fukayama M., Nagai Y.: Systematic analysis of glycosphingolipids in the human gastrointestinal tract: enrichment of sulfatides with hydroxylated longer-chain fatty acids in the gastric and duodenal mucosa. *Lipids*, 1993; 28: 737-742

[103] Ogawa D., Shikata K., Honke K., Sato S., Matsuda M., Nagase R., Tone A., Okada S., Usui H., Wada J., Miyasaka M., Kawashima H., Suzuki Y., Suzuki T., Taniguchi N., Hirahara Y., Tadano-Aritomi K., Ishizuka

I., Tedder T.F., Makino H.: Cerebroside sulfotransferase deficiency ameliorates L-selectin-dependent monocyte infiltration in the kidney after ureteral obstruction. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 2085-2090

[104] Olson L.D., Gilbert A.A.: Characteristics of *Mycoplasma hominis* adhesion. *J. Bacteriol.*, 1993; 175: 3224-3227

[105] Osawa H., Sugano K., Igari T., Tai T., Iwamori M., Kawakami M.: Immunohistochemical study of sulfatide expression in gastric carcinoma: alteration of sulfatide expression. *J. Clin. Gastroenterol.*, 1997; 25: S135-S140

[106] Osterbye T., Jorgensen K.H., Fredman P., Tranum-Jensen J., Kaas A., Brange J., Whittingham J.L., Buschard K.: Sulfatide promotes the folding of proinsulin, preserves insulin crystals, and mediates its monomerization. *Glycobiology*, 2001; 11: 473-479

[107] Ozawa H., Sonoda Y., Kato S., Suzuki E., Matsuoka R., Kanaya T., Kiuchi F., Hada N., Kasahara T.: Sulfatides inhibit adhesion, migration, and invasion of murine melanoma B16F10 cell line *in vitro*. *Biol. Pharm. Bull.*, 2012; 35: 2054-2058

[108] Pancake S.J., Holt G.D., Mellouk S., Hoffman S.L.: Malaria sporozoites and circumsporozoite proteins bind specifically to sulfated glycoconjugates. *J. Cell Biol.*, 1992; 117: 1351-1357

[109] Pantzar M., Teneberg S., Lagergard T.: Binding of *Haemophilus ducreyi* to carbohydrate receptors is mediated by the 58.5-kDa GroEL heat shock protein. *Microbes Infect.*, 2006; 8: 2452-2458

[110] Perino J., Foo C.H., Spohner D., Cohen G.H., Eisenberg R.J., Cranice J.M., Favier A.L.: Role of sulfatide in vaccinia virus infection. *Biol. Cell*, 2011; 103: 319-331

[111] Pesheva P., Gloor S., Schachner M., Probstmeier R.: Tenascin-R is an intrinsic autocrine factor for oligodendrocyte differentiation and promotes cell adhesion by a sulfatide-mediated mechanism. *J. Neurosci.*, 1997; 17: 4642-4651

[112] Popovic Z.V., Sandhoff R., Sijmonsma T.P., Kaden S., Jennemann R., Kiss E., Tone E., Autschbach F., Platt N., Malle E., Grone H.J.: Sulfated glycosphingolipid as mediator of phagocytosis: SM4s enhance apoptotic cell clearance and modulates macrophage activity. *J. Immunol.*, 2007; 179: 6770-6782

[113] Roberts D.D., Ginsburg V.: Sulfated glycolipids and cell adhesion. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1988; 267:405-415

[114] Roberts D.D., Haverstick D.M., Dixit V.M., Frazier W.A., Santoro S.A., Ginsburg V.: The platelet glycoprotein thrombospondin binds specifically to sulfated glycolipids. *J. Biol. Chem.*, 1985; 260: 9405-9411

[115] Roberts D.D., Rao C.N. Magnani J.L., Spitalnik S.L., Liotta L.A., Ginsburg V.: Laminin binds specifically to sulfated glycolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985; 82: 1306-1310

[116] Roberts D.D., Wewer U.M., Liotta L.A., Ginsburg V.: Laminin-dependent and laminin-independent adhesion of human melanoma cells to sulfatides. *Cancer Res.*, 1988; 48: 3367-3373

[117] Roberts D.D., Williams S.B., Gralnick H.R., Ginsburg V.: von Willebrand factor binds specifically to sulfated glycolipids. *J. Biol. Chem.*, 1986; 261: 3306-3309

[118] Roeske-Nielsen A., Buschard K., Manson J.E., Rastam L., Lindblad U.: A variation in the cerebroside sulfotransferase gene is linked to exercise-modified insulin resistance and to type 2 diabetes. *Exp. Diabetes Res.*, 2009; 2009: 429593

[119] Roeske-Nielsen A., Dalgaard L.T., Mansson J.E., Buschard K.: The glycolipid sulfatide protects insulin-producing cells against cytokine-induced apoptosis, a possible role in diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2010; 26: 631-638

[120] Roeske-Nielsen A., Fredman P., Mansson J.E., Bendtzen K., Buschard K.: β -galactosylceramide increases and sulfatide decreases cytokine and chemokine production in whole blood cells. *Immunol. Lett.*, 2004; 91: 205-211

- [121] Rouhiainen A., Imai S., Rauvala H., Parkkinen J.: Occurrence of amphoterin (HMG1) as an endogenous protein of human platelets that is exported to the cell surface upon platelet activation. *Thromb. Haemost.*, 2000; 84: 1087-1094
- [122] Rousset E., Harel J., Dubreuil J.D.: Sulfatide from the pig jejunum brush border epithelial cell surface is involved in binding of *Escherichia coli* enterotoxin b. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 5650-5658
- [123] Sakakibara N., Gasa S., Kamio K., Makita A., Koyanagi T.: Association of elevated sulfatides and sulfotransferase activities with human renal cell carcinoma. *Cancer Res.*, 1989; 49: 335-339
- [124] Salio M., Silk J.D., Jones E.Y., Cerundolo V.: Biology of CD1- and MR1-restricted T cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2014; 32: 323-366
- [125] Samuelsson B.E.: Regional distribution of glycosylceramide-sulfates in human kidney. *Lipids*, 1982; 17: 160-165
- [126] Sandhoff R., Grieshaber H., Djafarzadeh R., Sijmonsma T.P., Proudfoot A.E., Handel T.M., Wiegandt H., Nelson P.J., Grone H.J.: Chemokines bind to sulfatides as revealed by surface plasmon resonance. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1687: 52-63
- [127] Shamshiev A., Donda A., Carena I., Mori L., Kappos L., De Libero G.: Self glycolipids as T-cell autoantigens. *Eur. J. Immunol.*, 1999; 29: 1667-1675
- [128] Shamshiev A., Gober H.J., Donda A., Mazorra Z., Mori L., De Libero G.: Presentation of the same glycolipid by different CD1 molecules. *J. Exp. Med.*, 2002; 195: 1013-1021
- [129] Shikata K., Suzuki Y., Wada J., Hirata K., Matsuda M., Kawashima H., Suzuki T., Iizuka M., Makino H., Miyasaka M.: L-selectin and its ligands mediate infiltration of mononuclear cells into kidney interstitium after ureteric obstruction. *J. Pathol.*, 1999; 188: 93-99
- [130] Shroff S.M., Pomicter A.D., Chow W.N., Fox M.A., Colello R.J., Henderson S.C., Dupree J.L.: Adult CST-null mice maintain an increased number of oligodendrocytes. *J. Neurosci. Res.*, 2009; 87: 3403-3414
- [131] Siddiqui B., Whitehead J.S., Kim Y.S.: Glycosphingolipids in human colonic adenocarcinoma. *J. Biol. Chem.*, 1978; 253: 2168-2175
- [132] Sprong H., Degroote S., Nilsson T., Kawakita M., Ishida N., van der Sluijs P., van Meer G.: Association of the Golgi UDP-galactose transporter with UDP-galactose:ceramide galactosyltransferase allows UDP-galactose import in the endoplasmic reticulum. *Mol. Biol. Cell*, 2003; 14: 3482-3493
- [133] Suzuki T., Sometani A., Yamazaki Y., Horiie G., Mizutani Y., Masuda H., Yamada M., Tahara H., Xu G., Miyamoto D., Oku N., Okada S., Kiso M., Hasegawa A., Ito T., Kawaoka Y., Suzuki Y.: Sulphatide binds to human and animal influenza A viruses, and inhibits the viral infection. *Biochem. J.*, 1996; 318: 389-393
- [134] Suzuki Y., Toda Y., Tamatani T., Watanabe T., Suzuki T., Nakao T., Murase K., Kiso M., Hasegawa A., Tadano-Aritomi K., Ishizuka I., Miyasaka M.: Sulfated glycolipids are ligands for a lymphocyte homing receptor, L-selectin (LECAM-1), binding epitope in sulfated sugar chain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993; 190: 426-434
- [135] Takahashi T., Murakami K., Nagakura M., Kishita H., Watanabe S., Honke K., Ogura K., Tai T., Kawasaki K., Miyamoto D., Hidar K.I., Guo C.T., Suzuki Y., Suzuki T.: Sulfatide is required for efficient replication of influenza A virus. *J. Virol.*, 2008; 82: 5940-5950
- [136] Todderud G., Alford J., Millsap K.A., Aruffo A., Trampusch K.M.: PMN binding to P-selectin is inhibited by sulfatide. *J. Leukoc. Biol.*, 1992; 52: 85-88
- [137] Turutin D.V., Kubareva E.A., Pushkareva M.A., Ullrich V., Sud'ina G.F.: Activation of NF- κ B transcription factor in human neutrophils by sulphatides and L-selectin cross-linking. *FEBS Lett.*, 2003; 536: 241-245
- [138] van den Berg L.H., Sadiq S.A., Lederman S., Latov N.: The gp120 glycoprotein of HIV-1 binds to sulfatide and to the myelin associated glycoprotein. *J. Neurosci. Res.*, 1992; 33: 513-518
- [139] van Zyl R., Gieselmann V., Eckhardt M.: Elevated sulfatide levels in neurons cause lethal audiogenic seizures in mice. *J. Neurochem.*, 2010; 112: 282-295
- [140] Vestweber D., Blanks J.E.: Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol. Rev.*, 1999; 79: 181-213
- [141] Von Figura K., Gieselmann V., Jaeken J.: Metachromatic leukodystrophy. W: The metabolic and molecular bases of inherited disease (Scriver C.R., Beaudet A.L., Valle D., Sly W.S., et al., eds.), New York: McGraw-Hill., 2001; 3695-3724
- [142] Welsh J.D., Charonko J.J., Salmanzadeh A., Drahos K.E., Shafiee H., Stremmler M.A., Davalos R.V., Capelluto D.G., Vlachos P.P., Finkielstein C.V.: Disabled-2 modulates homotypic and heterotypic platelet interactions by binding to sulfatides. *Br. J. Haematol.*, 2011; 154: 122-133
- [143] Winzeler A.M., Mandemakers W.J., Sun M.Z., Stafford M., Phillips C.T., Barres B.A.: The lipid sulfatide is a novel myelin-associated inhibitor of CNS axon outgrowth. *J. Neurosci.*, 2011; 31: 6481-6492
- [144] Yabunaka N., Honke K., Ishii A., Ogiso Y., Kuzumaki N., Agishi Y., Makita A.: Involvement of Ras in the expression of glycolipid sulfotransferase in human renal cancer cells. *Int. J. Cancer*, 1997; 71: 620-623
- [145] Yang S.H., Lee J.P., Jang H.R., Cha R.H., Han S.S., Jeon U.S., Kim D.K., Song J., Lee D.S., Kim Y.S.: Sulfatide-reactive natural killer T cells abrogate ischemia-reperfusion injury. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2011; 22: 1305-1314
- [146] Yoda Y., Gasa S., Makita A., Fujioka Y., Kikuchi Y., Hashimoto M.: Glycolipids in human lung carcinoma of histologically different types. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1979; 63: 1153-1160
- [147] Zajonc D.M., Elsliger M.A., Teyton L., Wilson I.A.: Crystal structure of CD1a in complex with a sulfatide self antigen at a resolution of 2.15 Å. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 808-815
- [148] Zeng Y., Cheng H., Jiang X., Han X.: Endosomes and lysosomes play distinct roles in sulfatide-induced neuroblastoma apoptosis: potential mechanisms contributing to abnormal sulfatide metabolism in related neuronal diseases. *Biochem. J.*, 2008; 410: 81-92
- [149] Zeng Z.H., Castano A.R., Segelke B.W., Stura E.A., Petersom P.A., Wilson I.A.: Crystal structure of mouse CD1: an MHC-like fold with a large hydrophobic binding groove. *Science*, 1997; 277: 339-345
- [150] Zhu G., Chen H., Choi B.K., Del Piero F., Schifferli D.M.: Histone H1 proteins act as receptors for the 987P fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 23057-23065

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

