

# Señalización mediada por lípidos en inmunidad innata e inflamación

Jesús Balsinde Rodríguez

*IBGM, Valladolid*

**14 May 2024**

Delegación CSIC de Castilla y León

## Area de especialización

Los lípidos desempeñan papeles fundamentales en la regulación de la señalización celular y los desequilibrios en su metabolismo causan una gran cantidad de enfermedades, entre las que se incluyen la diabetes tipo 2, Alzheimer, artritis y aterosclerosis. Teniendo esto en cuenta, debería ser evidente que uno de los primeros pasos que debemos tomar para desarrollar estrategias de tratamiento y curación de estas enfermedades es identificar los lípidos involucrados y determinar qué es lo que hacen específicamente.

Muchos lípidos implicados en señalización celular son generados por fosfolipasas como la fosfolipasa A<sub>2</sub>, que produce lisofosfolípidos y ácidos grasos libres como el ácido araquidónico. Además, muchas de las enzimas implicados en las vías de biosíntesis de novo de los lípidos también están implicados en señalización. Si bien los intereses científicos de nuestro laboratorio consideran la caracterización más completa posible de los papeles desempeñados tanto por las vías de biosíntesis como las de remodelación en los mecanismos de señalización celular, nuestra investigación actual se está centrando principalmente en los enzimas involucrados en el mantenimiento de los niveles y composición de los diferentes ácidos grasos presentes en las membranas biológicas, es decir, fosfolipasas y aciltransferasas. Cada vez resulta más evidente que la composición de fosfolípidos de las membranas biológicas es muy dinámica y que las células probablemente mantienen muchas funciones biológicas con composiciones de lípidos distintas pero de alguna manera equivalentes, en lugar de con una única composición predeterminada. Llevando este concepto un poco más allá, podría especularse con la posibilidad de que, cuando las diferentes clases y subclases de lípidos interactúan para formar una membrana biológica, no todas las concentraciones de cada especie son posibles o están permitidas (o requeridas). ¿Pudiéramos pues considerar algo parecido a estados cuánticos lipídicos? Fascinante concepto, desde luego. Cualquiera que sea el caso, nuestro laboratorio se combinan una gran variedad de técnicas químicas, bioquímicas, farmacológicas y de biología celular molecular para estudiar el metabolismo y la señalización de lípidos en fisiología y la fisiopatología. Dentro de este contexto, nuestros objetivos actuales pueden resumirse en cinco puntos, que se describen a continuación.

### (1) Regulación celular de la fosfolipasa A<sub>2</sub>

Las fosfolipasas A<sub>2</sub> catalizan una reacción clave en señalización celular, tal es la liberación

de ácido araquidónico y otros ácidos grasos poliinsaturados de la posición sn-2 de los glicerofosfolípidos celulares. Los productos de la acción de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, ácidos grasos libres y lisofosfolípidos, pueden actuar como moléculas señalizadoras por sí mismos y también sirven como precursores para la síntesis de otras sustancias bioactivas.

## (2) Mecanismos de señalización implicados en la biosíntesis de eicosanoides por células del sistema inmune

Los eicosanoides son una amplia familia de mediadores bioactivos que derivan de la oxigenación enzimática del ácido araquidónico. Los eicosanoides son biológicamente importantes porque median los cuatro signos cardinales de la inflamación, a saber, calor, rubor, tumor y dolor. Controlar la formación de eicosanoides ha demostrado ser una estrategia muy beneficiosa para el tratamiento de enfermedades inflamatorias agudas y crónicas.

## (3) Metabolismo de los ácidos grasos de membrana

La distribución de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares está estrechamente regulada por un conjunto de reacciones de incorporación, remodelación y liberación. Estas reacciones aseguran la distribución adecuada de los ácidos grasos dentro de los diversos reservorios celulares. Esta compartimentación celular es importante no solo para la homeostasis de la membrana sino también para la ejecución de respuestas celulares específicas durante la activación fisiológica y fisiopatológica. Nuestro trabajo actual presta especial atención a las interacciones entre los ácidos grasos  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6, debido a su importancia como precursores de un gran número de sustancias bioactivas.

## (4) Biosíntesis y degradación de gotas lipídicas durante la activación celular

Las gotas lipídicas son estructuras citoplásmicas dinámicas que, entre otras muchas acciones, pueden funcionar como plataformas de anclaje de un gran número de enzimas implicadas en señalización lipídica. En este objetivo estamos interesados en la caracterización de la regulación de la biosíntesis de gotas lipídicas por varios miembros de la familia de enzimas fosfolipasa A<sub>2</sub>, así como la participación diferencial de diversas vías metabólicas de lípidos en la formación de gotas lipídicas reguladas por señales bajo condiciones proinflamatorias.

## (5) Lipidómica y metabolipidómica; identificación y cuantificación de los lipidomas celulares por espectrometría de masas

El desarrollo de técnicas de espectrometría de masas para la detección y análisis de lípidos a escala global nos brinda una oportunidad única para caracterizar en detalle los cambios que ocurren en el metabolismo de lípidos como consecuencia de la activación celular. Uno de los principales objetivos de nuestra investigación en esta área es determinar el origen e identidad de las especies moleculares individuales de fosfolípidos que se producen bajo diferentes condiciones, como un primer paso para abordar sus papeles biológicos en las células.

## Proyectos realizados

**TÍTULO:** Metabolismo y regulación de los plasmalógenos en inmunidad innata e inflamación. Papel de la lipina-2.

**REFERENCIA:** PID2022-140764OB-I00

**ENTIDAD FINANCIADORA:** Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades

**DURACIÓN:** 2023-2026

**PRESUPUESTO:** 487.500 € (más contrato predoctoral FPI asociado)

**DESCRIPCION:** La lipina-2 es una fosfatasa de ácido fosfatídico dependiente de  $Mg^{2+}$  que participa en la ruta de novo de la biosíntesis de fosfolípidos. Esta enzima está ocupando en los últimos tiempos un lugar central en investigación inflamatoria debido a su participación en la regulación del ensamblaje del inflammasoma NLRP3, es decir, la plataforma multicomponente que media el procesamiento de la interleuquina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) en respuesta a agentes infecciosos y factores de estrés celular. En experimentos preliminares, hemos notado que los niveles de una clase de fosfolípidos relativamente menor, los plasmalógenos de etanolamina, están elevados en las mitocondrias de las células deficientes en lipina-2 en comparación con las células normales. Estas elevaciones son específicas de las mitocondrias, ya que no se observan cuando se utilizan homogeneizados de células enteras para los análisis lipídomicos. Por lo tanto, parece claro que existe algo único en los plasmalógenos de etanolamina de las mitocondrias que lo vincula directamente con las funciones reguladoras de la lipina-2. Desentrañar este “algo”, es decir, los mecanismos y acciones moleculares que involucran a los plasmalógenos de etanolamina y su relación con las respuestas mediadas por la lipina-2, constituye el objetivo principal de la presente propuesta. Los plasmalógenos han recibido en general poca atención en comparación con muchas otras clases de lípidos a lo largo de los años. Sin embargo, esto está cambiando recientemente debido a la posible asociación del metabolismo de los plasmalógenos con varios trastornos metabólicos y degenerativos, así como con el envejecimiento. Es muy importante tener en cuenta que el enlace éter vinílico que es característico de esta clase de fosfolípidos es un excelente eliminador de oxidantes. Esto podría proporcionar una base molecular para explicar los niveles elevados de plasmalógenos mitocondriales en las células deficientes en lipina-2, ya que el aumento de la producción de oxidantes en estas condiciones podría desencadenar una elevación de plasmalógenos como mecanismo de respuesta para contrarrestar el daño oxidativo. La presente propuesta de investigación se articula en torno a tres objetivos específicos, todos ellos explorando territorios completamente desconocidos, que proporcionarán información clave para comprender cómo la lipina-2, al modular el metabolismo de los plasmalógenos, actúa como un freno que reduce los efectos deletéreos de los factores de estrés que activan el inflammasoma. Dichos objetivos se formulan de la siguiente manera: (i) establecer los principios reguladores de la biosíntesis y degradación de plasmalógenos en macrófagos; (ii) definir el impacto del metabolismo de los plasmalógenos en la activación proinflamatoria de los macrófagos; y (iii) evaluar el papel de los

plasmalógenos en modelos animales de enfermedades donde la activación del inflamasoma es clave.

**TÍTULO:** Regulación de la actividad del inflamasoma por lípidos anti-inflamatorios.

**REFERENCIA:** CSI141P20

**ENTIDAD FINANCIADORA:** Junta de Castilla y León, Consejería de Educación

**DURACIÓN:** 2021-2023

**PRESUPUESTO:** 264.000 €

**DESCRIPCION:** El inflamasoma es un complejo multiproteico intracelular encargado de producir interleuquina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y participar en la destrucción de microorganismos patógenos. Puede ser activado tanto por moléculas procedentes de estos microorganismos como por moléculas endógenas generadas por el organismo frente a situaciones de peligro o de daño. Debido a estas diferentes formas de activación, el inflamasoma, además de formar parte de la maquinaria celular de eliminación de patógenos, también provoca el agravamiento de enfermedades no infecciosas tales como la diabetes tipo 2, la artritis reumatoide o la aterosclerosis. Por ello, es importante conocer los mecanismos que inhiben la activación del inflamasoma, ya que dicho conocimiento podría ayudarnos en el desarrollo de tratamientos para la cura de las enfermedades mencionadas anteriormente. Recientemente se ha descrito que los ácidos grasos omega-3 pueden inhibir la activación del inflamasoma, si bien los mecanismos moleculares implicados no han sido bien definidos. Experimentos preliminares realizados en nuestro laboratorio sugieren que la incorporación de estos ácidos grasos en los lípidos celulares constituye un paso necesario para ejercer su efecto protector en la generación de IL-1 $\beta$ . También se ha observado que una enzima del metabolismo lipídico conocida como lipina-2 ejerce un efecto inhibitorio sobre la activación del inflamasoma. De hecho, mutaciones en esta enzima producen en humanos una enfermedad autoinflamatoria (Síndrome de Majeed) cuyos síntomas son aliviados por terapia anti IL-1 $\beta$ . Esta enzima posee actividad ácido fosfatídico fosfatasa y podría, por tanto, participar en la generación de posibles lípidos inhibidores del inflamasoma. Basados en estos antecedentes, el objetivo central del presente proyecto es identificar las especies lipídicas que contienen ácidos grasos omega-3 esterificados y que inhiben el inflamasoma, y determinar si la lipina-2 participa en la generación de estas moléculas. Los objetivos específicos del proyecto se dividen en cuatro: (i) definir mediante aproximaciones lipídicas por espectrometría de masas el total de lípidos presentes en células fagocíticas humanas que tienen en su composición un ácido graso omega-3; (ii) generar por síntesis orgánica derivados estables de los lípidos más representativos del apartado anterior y desarrollar protocolos para su introducción en las células; (iii) estudiar los posibles mecanismos por los que estos lípidos inhiben la activación del inflamasoma, por ejemplo, efectos sobre las rutas de transducción de señal; (iv) definir nuevas rutas antiinflamatorias gobernadas por la lipina-2 y su participación en la generación de los lípidos inhibidores antes descritos, tanto en células humanas en cultivo como en modelos animales de enfermedad. Con todo ello se pretenden definir nuevas estrategias para

inhibir el inflammasoma en células humanas, así como desvelar posibles mecanismos por los que la falta de actividad de la lipina-2 genera una enfermedad autoinflamatoria.

**TÍTULO:** Nuevos fosfolípidos implicados en la activación metabólica de macrófagos por ácidos grasos saturados.

**REFERENCIA:** PID2019-105989RB-I00

**ENTIDAD FINANCIADORA:** Ministerio de Ciencia e Innovación

**DURACIÓN:** 2020-2023

**PRESUPUESTO:** 316.600 € (más contrato predoctoral FPI asociado)

**DESCRIPCION:** La inflamación crónica de bajo grado que es característica de la obesidad, está directamente relacionada con el desarrollo de una serie de enfermedades frecuentemente diagnosticadas a individuos obesos, tales como la diabetes de tipo 2, enfermedad cardiovascular y algunos tipos de cáncer. En obesidad, los adipocitos estresados liberan altas cantidades de ácidos grasos saturados, debido a una lipólisis desregulada. Los macrófagos presentes en el tejido se activan por la sobrecarga de ácidos grasos, produciendo citoquinas proinflamatorias, lo que resulta en un estado de inflamación crónica de bajo grado. Existe en la actualidad el acuerdo de que los inflamasomas, es decir, máquinas multiproteicas intracelulares que generan interleucina-1 $\beta$  madura, desempeñan un papel fundamental en la aparición de las enfermedades asociadas a la obesidad, como diabetes de tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, los mecanismos moleculares que controlan la activación del inflammasoma en un contexto de inflamación metabólica no se conocen aún con el suficiente detalle. En trabajos previos de nuestro grupo, hemos descrito que una enzima clave del metabolismo lipídico, la ácido fosfatídico fosfatasa lipina-2, restringe la activación clásica del inflammasoma NLRP3 en macrófagos. En experimentos preliminares hemos observado que la lipina-2 también restringe la activación del inflammasoma en un entorno de inflamación metabólica durante la sobrecarga de ácidos grasos, lo que sugiere que esta enzima puede funcionar como un freno celular para reducir los efectos nocivos de estreses celulares que, como la sobrecarga de ácidos grasos saturados, activan vías proinflamatorias en macrófagos. Por tanto, las estrategias destinadas a mejorar los efectos nocivos de la inflamación se beneficiarían en gran medida de un conocimiento más profundo de los entresijos moleculares subyacentes a los procesos de regulación celular mediados por lipina-2 en las células del sistema inmune innato. La presente propuesta de investigación se articula en torno a cuatro objetivos específicos, todos ellos explorando un territorio completamente desconocido, que pueden proporcionar información de gran interés para entender cómo el metabolismo desregulado de los lípidos y la aparición de nuevas especies de lípidos en las células estresadas activa las rutas proinflamatorias convergentes en el inflammasoma NLRP3 en macrófagos, y el papel antagónico desempeñado por la lipina-2. Estos objetivos se formulan de la siguiente manera: (i) analizar por espectrometría de masas los lípidos que cambian como consecuencia de la activación inflamatoria metabólica de macrófagos; (ii) identificar y caracterizar las vías enzimáticas implicadas en la generación de esos lípidos y

evaluar su impacto en la activación del inflamasoma; (iii) sintetizar lípidos potencialmente interesantes como herramienta para revelar su impacto en la producción de interleuquina-1 $\beta$ ; (iv) evaluar la implicación de especies moleculares específicas de los lípidos identificadas en objetivos anteriores en modelos animales de activación del inflamasoma y obesidad.

## References

1. Gil-de-Gómez, L., Astudillo, A. M., Guijas, C., Magriotti, V., Kokotos, G., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2014) Cytosolic group IVA and calcium-independent group VIA phospholipase A<sub>2</sub>s act on distinct phospholipid pools in zymosan-stimulated mouse peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 192: 752–762.
2. Castaño, C., Larequi, E., Belza, I., Astudillo, A. M., Martínez-Ansó, E., Balsinde, J., Argemi, J., Aragón, T., Moreno-Aliaga, M. J., Muntane, J., Prieto, J. & Bustos, M. (2014) Cardiotrophin-1 eliminates hepatic steatosis in obese mice by mechanisms involving AMPK activation. *J. Hepatol.* 60: 1017–1025.
3. Leiguez, E., Giannotti, K. C., Moreira, V., Matsubara, M. H., Gutiérrez, J. M., Lomonte, B., Rodríguez, J. P., Balsinde, J. & Teixeira, C. (2014) Critical role of TLR2 and MyD88 for functional response of macrophages to a group IIA secreted phospholipase A<sub>2</sub> from snake venom. *PLoS One* 9: e93741.
4. Fucho, R., Martínez, L., Baulies, A., Tarrats, N., Fernández, A., Ribas, V., Astudillo, A. M., Balsinde, J., García-Roves, P., Elena, M., Bergheim, I., Lotersztajn, S., Trautwein, C., Appelqvist, H., Paton, A. W., Paton, J. C., Czaja, M. J., Kaplowitz, N., Fernández-Checa, J. C. & García-Ruiz, C. (2014) Acid sphingomyelinase regulates autophagy and lysosomal membrane permeabilization and its inhibition prevents early stage nonalcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* 61: 1126–1134.
5. Meana, C., Peña, L., Lordén, G., Esquinas, E., Guijas, C., Valdearcos, M., Balsinde, J. & Balboa, M. A. (2014) Lipin-1 integrates lipid synthesis with proinflammatory responses during TLR activation in macrophages. *J. Immunol.* 193: 4614–4622.
6. Guijas, C., Rodríguez, J. P., Rubio, J. M., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2014) Phospholipase A<sub>2</sub> regulation of lipid droplet formation. *Biochim. Biophys. Acta* 1841: 1661–1671.
7. Rubio, J. M., Rodríguez, J. P., Gil-de-Gómez, L., Guijas, C., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2015) Group V secreted phospholipase A<sub>2</sub> is upregulated by interleukin-4 in human macrophages and mediates phagocytosis via hydrolysis of ethanolamine phospholipids. *J. Immunol.* 194: 3327–3339.
8. Pardo, V., González-Rodríguez, A., Guijas, C., Balsinde, J. & Valverde, A. M. (2015) Opposite cross-talk by oleate and palmitate on insulin signaling in hepatocytes through macrophage activation. *J. Biol. Chem.* 290: 11663–11677.
9. Santos-Nogueira, E., López-Serrano, C., Hernández, J., Lago, N., Astudillo, A. M., Balsinde, J., Estivill-Torrús, G., de Fonseca, F. R., Chun, J. & López-Vales, R. (2015) Activation of lysophosphatidic acid receptor type 1 (LPA1) contributes to pathophysiology of spinal cord injury. *J. Neurosci.* 35: 10224–10235.
10. Guijas, C., Meana, C., Astudillo, A. M., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2016) Foamy monocytes are enriched in cis-7-hexadecenoic fatty acid (16:1n-9), a possible biomarker for early detection of cardiovascular disease. *Cell Chem. Biol.* 23: 689–699.
11. Sala-Vila, A., Navarro-Lérida, I., Sánchez-Alvarez, M., Bosch, M., Calvo, C., López, J. A., Calvo, E., Ferguson, C., Giacomello, M., Serafini, A., Scorrano, L., Enríquez, J., Balsinde, J., Parton, R., Vázquez, J., Pol, A. & del Pozo, M. A. (2016) Interplay between hepatic mitochondria-associated membranes, lipid metabolism and caveolin-1 in mice. *Sci. Rep.* 6: 27351.

12. Peña, L., Meana, C., Astudillo, A. M., Lordén, G., Valdearcos, M., Sato, H., Murakami, M., Balsinde, J. & Balboa, M. A. (2016) Critical role for cytosolic group IVA phospholipase A<sub>2</sub> in early adipocyte differentiation and obesity. *Biochim. Biophys Acta* 1861: 1083–1095.
13. Lordén, G., Sanjuán-García, I., de Pablo, N., Meana, C., Alvarez-Miguel, I., Pérez-García, M. T., Pelegrín, P., Balsinde, J. & Balboa, M. A. (2017) Lipin-2 regulates NLRP3 inflammasome by affecting P2X<sub>7</sub> receptor activation. *J. Exp. Med.* 214: 511–528.
14. Gil-de-Gómez, L., Astudillo, A. M., Lebrero, P., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2017) Essential role for ethanolamine plasmalogen hydrolysis in bacterial lipopolysaccharide priming of macrophages for enhanced arachidonic acid release. *Front. Immunol.* 8: 1251.
15. Astudillo, A. M., Meana, C., Guijas, C., Pereira, L., Lebrero, R., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2018) Occurrence and biological activity of palmitoleic acid isomers in phagocytic cells. *J. Lipid Res.* 59: 237–249.
16. Rubio, J. M., Astudillo, A. M., Casas, J., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2018) Regulation of phagocytosis in macrophages by membrane ethanolamine plasmalogens. *Front. Immunol.* 9: 1723.
17. Meana, C., Rostán, G. G., Peña, L., Lordén, G., Cubero, A., Orduña, A., Györfy, B., Balsinde, J. & Balboa, M. A. (2018) The phosphatidic acid phosphatase lipin-1 facilitates inflammation-driven colon carcinogenesis. *JCI Insight* 3: e97506.
18. Vázquez, P., Hernández-Sánchez, C., Escalona-Garrido, C., Pereira, L., Contreras, C., López, M., Balsinde, J., de Pablo, F. & Valverde, A. M. (2018) Increased FGF21 in brown adipose tissue of tyrosine hydroxylase heterozygous mice: implications for cold adaptation. *J. Lipid Res.* 59: 2308–2320.
19. Astudillo, A. M., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2019) Selectivity of phospholipid hydrolysis by phospholipase A<sub>2</sub> enzymes in activated cells leading to polyunsaturated fatty acid mobilization. *Biochim. Biophys. Acta* 1864: 772–783.
20. Rodríguez, J. P., Guijas, C., Astudillo, A. M., Rubio, J. M., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2019) Sequestration of 9-hydroxystearic acid in FAHFA (fatty acid esters of hydroxy fatty acids) as a protective mechanism for colon carcinoma cells to avoid apoptotic cell death. *Cancers* 11: 524.
21. Balboa, M. A., de Pablo, N., Meana, C. & Balsinde, J. (2019) The role of lipins in innate immunity and inflammation. *Biochim. Biophys. Acta* 1864: 1328–1337.
22. Lebrero, P., Astudillo, A. M., Rubio, J. M., Fernández-Caballero, L., Kokotos, G., Balboa, M. A. & Balsinde, J. (2019) Cellular plasmalogen content does not influence arachidonic acid levels or distribution in macrophages: a role for cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>γ in phospholipid remodeling. *Cells* 8: 799.
23. Guijas, C., Bermúdez, M.A., Meana, C., Astudillo, A.M., Pereira, L., Fernández-Caballero, L., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2019) Neutral lipids are not a source of arachidonic acid for lipid mediator signaling in human foamy monocytes. *Cells* 8: 941.
24. Gutiérrez-Herrero, S., Fernández-Infante, C., Hernández-Cano, L., Ortiz-Rivero, S., Guijas, C., Martín-Granado, V., González-Porras, J.R., Balsinde, J., Porras, A. & Guerrero, C. (2020) C3G contributes to platelet activation and aggregation by regulating major signaling pathways. *Signal Transduct. Target. Ther.* 5: 29.
25. Monge, P., Garrido, A., Rubio, J.M., Magriotti, V., Kokotos, G., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2020) The contribution of cytosolic group IVA and calcium-independent group VIA phospholipase A<sub>2</sub>s to adrenergic acid mobilization in murine macrophages. *Biomolecules* 10: 542.
26. Rodríguez, J.P., Leiguez, E., Guijas, C., Lomonte, B., Gutiérrez, J.M., Teixeira, C., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2020) A lipidomic perspective of the action of group IIA secreted phospholipase A<sub>2</sub> on human monocytes: lipid droplet biogenesis and activation of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>α. *Biomolecules* 10: 891.

27. Gil-de-Gómez, L., Monge, P., Rodríguez, J.P., Astudillo, A.M., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2020) Phospholipid arachidonic acid remodeling during phagocytosis in mouse peritoneal macrophages. *Biomedicines* 8: 274.
28. Albacete, L.A., Navarro-Lérida, I., López, J.A., Martín-Padura, I., Astudillo, A.M., Ferrarini, A., Van-der-Heyden, M., Balsinde, J., Orend, G., Vázquez, J. & del Pozo, M.A. (2020) Extracellular matrix deposition is driven by caveolin1-dependent regulation of exosomal biogenesis and cargo sorting. *J. Cell Biol.* 219: e202006178.
29. Astudillo, A.M., Meana, C., Bermúdez, M.A., Pérez-Encabo, A., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2020) Release of anti-inflammatory palmitoleic acid and its positional isomers by mouse peritoneal macrophages. *Biomedicines* 8: 480.
30. Astudillo, A.M., Rodríguez, J.P., Guijas, C., Rubio, J.M., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2021) Choline glycerophospholipid-derived prostaglandins attenuate TNF $\alpha$  gene expression in macrophages via a cPLA $_2\alpha$ /COX-1 pathway. *Cells* 10: 447.
31. Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2021) Phospholipases: from structure to biological function. *Biomolecules* 11: 428.
32. Melana, J.P., Mignolli, F., Stoyanoff, T., Aguirre, M.V., Balboa, M.A., Balsinde, J. & Rodríguez, J.P. (2021) The hypoxic microenvironment induces stearyl-CoA desaturase-1 overexpression and lipidomic profile changes in clear cell renal cell carcinoma. *Cancers* 13: 2962.
33. Casas, J., Meana, C., López-López, J.R., Balsinde, J. & Balboa, M.A. (2021) Lipin-1-derived diacylglycerol activates intracellular TRPC3 which is critical for inflammatory signaling. *Cell. Mol. Life Sci.* 78: 8243–8260.
34. Bermúdez, M.A., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2021) Lipid droplets, phospholipase A $_2$ , arachidonic acid, and atherosclerosis. *Biomedicines* 9: 1891.
35. Casas, J., Balsinde, J. & Balboa, M.A. (2022) Phosphorylation of cPLA $_2\alpha$  at Ser505 is necessary for its translocation to PtdInsP $_2$ -enriched membranes. *Molecules* 27: 2347.
36. Barahona, I., Rada, P., Calero-Pérez, S., Grillo-Risco, R., Pereira, L., Soler-Vázquez, M.C., Laiglesia, L.M., Moreno-Aliaga, M.J., Herrero, L., Serra, D., García-Monzón, C., González-Rodríguez, A., Balsinde, J., García-García, F., Valdecantos, M.P. & Valverde, A.M. (2022) Ptpn1 deletion protects oval cells against lipoapoptosis by favoring lipid droplet formation and dynamics. *Cell Death Differ.* 29: 2362–2380.
37. Bermúdez, M.A., Pereira, L., Fraile, C., Valerio, L., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2022) Roles of palmitoleic acid and its positional isomers, hypogeic and sapienic acids, in inflammation, metabolic diseases and cancer. *Cells* 11: 2146.
38. Albert, M., Vázquez, J., Falcón-Pérez, J.M., Balboa, M.A., Liesa, M., Balsinde, J. & Guerra, S. (2022) ISG15 as a novel regulator of lipid metabolism and implications for its antiviral activity. *Microbiol. Spectr.* 10: e03893-22.
39. Bermúdez, M.A., Rubio, J.M., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2022) Differential mobilization of the phospholipid and triacylglycerol pools of arachidonic acid in murine macrophages. *Biomolecules* 12: 1851.
40. Astudillo, A.M., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2023) Compartmentalized regulation of lipid signaling in oxidative stress and inflammation: plasmalogens, oxidized lipids and ferroptosis as new paradigms of bioactive lipid research. *Prog. Lipid Res.* 89: 101207.
41. García-Martínez, I., Alén, R., Pereira, L., Povo-Retana, A., Astudillo, A.M., Hitos, A.B., Gómez-Hurtado, I., López-Collazo, E., Boscá, L., Francés, R., Lizasoain, I., Moro, M.A., Balsinde, J., Izquierdo, M. & Valverde, A.M. (2023) Saturated fatty acid-enriched small extracellular vesicles mediate a crosstalk inducing liver inflammation and hepatocyte insulin resistance. *JHEP Rep.* 5: 100756.



42. Zhang, M., Barroso, E., Ruart, M., Peña, L., Peyman, M., Aguilar-Recarte, D., Montori-Grau, M., Rada, P., Cugat, C., Montironi, C., Zarei, M., Jurado-Aguilar, J., Camins, A., Balsinde, J., Valverde, A.M., Wahli, W., Palomer, X., & Vázquez-Carrera, M. (2023) Elafibranor upregulates the EMT-inducer S100A4 via PPAR $\beta/\delta$ . *Biomed. Pharmacother.* 167: 115623.
43. Barroso, E., Díaz, M., Reguera, C., Peyman, M., Balsinde, J., Jurado, J., Zhang, M., Rostami, A., Palomer, X., Ibáñez, L. & Vázquez-Carrera, M. (2023) CHOP upregulation and dysregulation of the mature form of the SNAT2 amino acid transporter in the placentas from small for gestational age newborns. *Cell. Commun. Signal.* 21: 326.
44. de Pablo, N., Meana, C., Martínez-García, J., Martínez-Vicente, P., Albert, M., Guerra, S., Angulo, A., Balsinde, J. & Balboa, M.A. (2023) Lipin-2 regulates the antiviral and anti-inflammatory responses to interferon. *EMBO Rep.* 24: e57238.
45. Monge, P., Astudillo, A.M., Pereira, L., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2023) Dynamics of docosahexaenoic acid utilization by mouse peritoneal macrophages. *Biomolecules* 13: 1635.