

УДК 576.3

ХОЛЕСТЕРИН КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН И РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ: НОВОЕ И ХОРОШО ЗАБЫТОЕ СТАРОЕ

© 2024 г. А. Я. Дунина-Барковская^{а, *}

^аИнститут биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия

*e-mail: dunina.aya@gmail.com

Поступила в редакцию 03.06.2024

После доработки 25.06.2024

Принята к печати 26.06.2024

Мембраны живых клеток, или биологические мембраны, — это уникальные молекулярные системы, в которых функционирование всех молекул взаимосвязано и скоординировано, и нарушение этой координации может быть фатально для клетки. Одним из примеров такой координации и взаимной регуляции является функционирование мембранных белков, активность которых зависит от их взаимодействия с мембранными липидами. Данный обзор суммирует факты о значении холестерина компонента клеточных мембран для нормального функционирования мембранных белков и клетки в целом. Этот липидный компонент обеспечивает тонкую регуляцию разнообразных клеточных функций и дает ключ к пониманию изменения активности ряда белков в различных физиологических и патологических условиях. В обзоре приводятся примеры холестерин-зависимых мембранных белков и клеточных процессов, а также рассматривается их роль при некоторых патологиях. Понимание механизмов холестерин-белковых взаимодействий может быть полезно для разработки лекарственных средств, влияющих на эти взаимодействия.

Ключевые слова: холестерин, клеточная мембрана, холестерин-зависимые белки, холестерин-связывающие мотивы

DOI: 10.31857/S0233475524050082, **EDN:** cbiqob

ВВЕДЕНИЕ

Значительный прогресс в геномной инженерии и биоинформатике в последние десятилетия продвинул биологическую науку в понимании молекулярной основы хранения, передачи и эволюции генетической информации, содержащейся в нуклеиновых кислотах. Эти знания, несомненно, очень важны, однако они не являются достаточными для понимания механизмов существования, функционирования и дифференцировки живых клеток, имеющих в пределах одного многоклеточного организма один и тот же геном. Работа белков — исполнителей генетических инструкций — зависит от их взаимодействия с другими молекулами, которые обеспечивают функционирование живой клетки, включая регуляцию активности белков. К таким молекулам, в частности, относятся мембранные липиды.

Биологические мембраны, которым посвящен наш журнал, окружают каждую живую клетку — как прокариотическую, так и эукариотическую — и одновременно обеспечивают диффузионный барьер

и регуляцию входящих и выходящих потоков молекул через клеточную границу. Клеточные мембраны также играют решающую роль в модуляции межклеточных коммуникаций и участвуют в огромном количестве сложных клеточных процессов, таких как пролиферация, дифференциация, секреция, миграция, внутриклеточная сигнализация, эндо- и фагоцитоз и др. Биологические мембраны представляют собой гетерогенные, асимметричные бислои, состоящие в основном из липидов, разнообразие и организация которых играют важнейшую роль в поддержании структурной целостности, клеточного гомеостаза и функциональной активности клеток, и изменения в составе мембранных липидов сопровождаются изменениями активности сигнальных путей и регуляторных каскадов [1–5].

Основным компонентом (около 50% в молярном отношении) окружающих клетку плазматических мембран являются фосфолипиды, представляющие собой сложные эфиры многоатомных спиртов и высших жирных кислот. Важными

фосфолипидами являются фосфатидилхолин, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерин, сфингомиелин и кардиолипин. Следующими за фосфолипидами по распространенности являются терпенопроизводные липоидов, стерины. В плазматической мембране позвоночных животных это холестерин, содержание которого составляет около 40%. Согласно классикам мембранологии Максфилду и ван Мееру [1], по своему значению холестерин является «центральный липидом клеток млекопитающих». Хотя в этом обзоре речь пойдет в основном о клеточных мембранах позвоночных, следует отметить, что в клетках беспозвоночных, растений и микроорганизмов также содержится либо холестерин, либо родственные ему стерины, например brassinosteroids, эргостерин, β -ситостерин, стигмастерин, гопаноиды [6–12]. Насекомые, хотя и не способны синтезировать стерины, без них не могут обойтись. Например, для дрозофил лишняя стерина диета смертельна, для выживания достаточно стерина, содержащихся в дрожжах; мутация гена, нарушающего холестериновый гомеостаз, снижает эффективность ольфакторного обучения (olfactory learning) у мутантных мушек w¹¹¹⁸ [13]. Более того, многие патогенные микроорганизмы используют в своем жизненном цикле холестерин клетки-хозяина, что может быть одним из основных факторов патогенеза и клинических проявлений болезни ([14]; см. ниже).

Широко распространенное представление о холестерине как о «плохом» веществе, закупоривающем артерии и вызывающем сердечные заболевания, является ошибочным и несправедливым по отношению к этой во многом незаменимой молекуле. Для млекопитающих холестерин не только является жизненно важным компонентом клеточных мембран, без которого клетка не может функционировать, но и предшественником всех стероидных гормонов, желчных кислот и оксистеролов, которые сами по себе являются важными регуляторными молекулами во многих метаболических путях [15]. Борьбе с «высоким уровнем холестерина» обычно придается большое значение, в то время как разрушительные последствия дефицита холестерина, возникающего при различных метаболических, инфекционных и возраст-зависимых заболеваниях, могут быть недооценены. Активность многих белков зависит от холестерина, и нарушения в холестериновом гомеостазе на клеточном уровне и на уровне всего организма может быть важным фактором в патогенезе многих заболеваний, связанных с вирусными и бактериальными инфекциями, а также диабета II типа, сердечно-сосудистых нарушений,

нейродегенеративных и возрастных заболеваний [14, 16]. Показательным примером в связи с этим являются работы, в которых было продемонстрировано, что при старении в синаптической фракции гиппокампальных нейронов у мышей происходит постепенная потеря холестерина, а также снижение синаптической пластичности, связанной с активацией глутаматных рецепторов [16, 17]. Доставка холестерина и повышение его содержания в мембране устраняло эти нарушения, а удаление холестерина из нейронов гиппокампа взрослых мышей имитировало нарушения, наблюдаемые у старых животных. Как предполагают авторы, изменения в липидном составе мембран нейронов в процессе старения могут являться причиной связанных с возрастом патологий мозга [16, 17].

Многие обширные обзоры посвящены холестерин-зависимым белкам и клеточным процессам (см., например, [18–24]). В данном обзоре роль «холестеринового» компонента клеточных мембран в функционировании клетки иллюстрируется на примерах некоторых холестерин-зависимых мембранных белков и соответствующих холестерин-зависимых клеточных процессов. Рассматривается участие холестерина и холестерин-зависимых процессов в патогенезе некоторых инфекционных и неинфекционных заболеваний; обсуждаются холестерин-связывающие мотивы в белках как возможный механизм белок-липидных взаимодействий. Главный вывод заключается в том, что без понимания механизмов холестерин-белковых взаимодействий и анализа роли холестерина в патогенезе некоторых заболеваний человека вряд ли возможно успешное лечение этих заболеваний. Эффективным направлением борьбы с холестерин-зависимыми патологиями может оказаться разработка новых лекарств, мишенью которых является белок-холестериновый интерфейс.

ХОЛЕСТЕРИН КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

Холестерин в фосфолипидном бислое

Мембраны представляют собой асимметричные липидные бислои: в наружном листке плазматической мембраны преобладают незаряженные (цивиттер-ионные) фосфолипиды — фосфатидилхолин и сфингомиелин с небольшим количеством нейтральных и анионных гликофосфолипидов, а внутренний монослой сильно заряжен отрицательно из-за присутствия фосфатидилсерина, фосфатидной кислоты, фосфатидилинозита и его фосфорилированных производных. Как уже отмечалось, в эукариотических клетках второй по распространенности после фосфолипидов группой

липидов являются стеринны; у млекопитающих и большинства позвоночных это холестерин [1, 2, 4, 5, 20, 23–26]. Молекула холестерина содержит жесткую часть, состоящую из одного пятичленного и трех шестичленных колец, конформационно гибкую 8-углеродную цепь в положении С-17 и гидроксильную группу в положении 3β. Эта гидроксильная группа преимущественно располагается вблизи поверхности раздела липид–вода, а остальная часть молекулы холестерина находится между гидрофобными цепями липидов (рис. 1); хотя расположение молекул холестерина в плоскости

между монослоями липидного бислоя также возможно [25, 26].

Внутри фосфолипидного бислоя распределение холестерина между липидными монослоями разнообразно и часто асимметрично, что может объясняться разным сродством холестерина к разным фосфолипидам. Наиболее сильное взаимодействие стерина происходит со сфинголипидами (гликосфинголипидами и сфингомиелинами). Связи холестерина со сфингомиелином и фосфатидилхолином, обогащенными насыщенными цепями, способствуют его накоплению в наружном

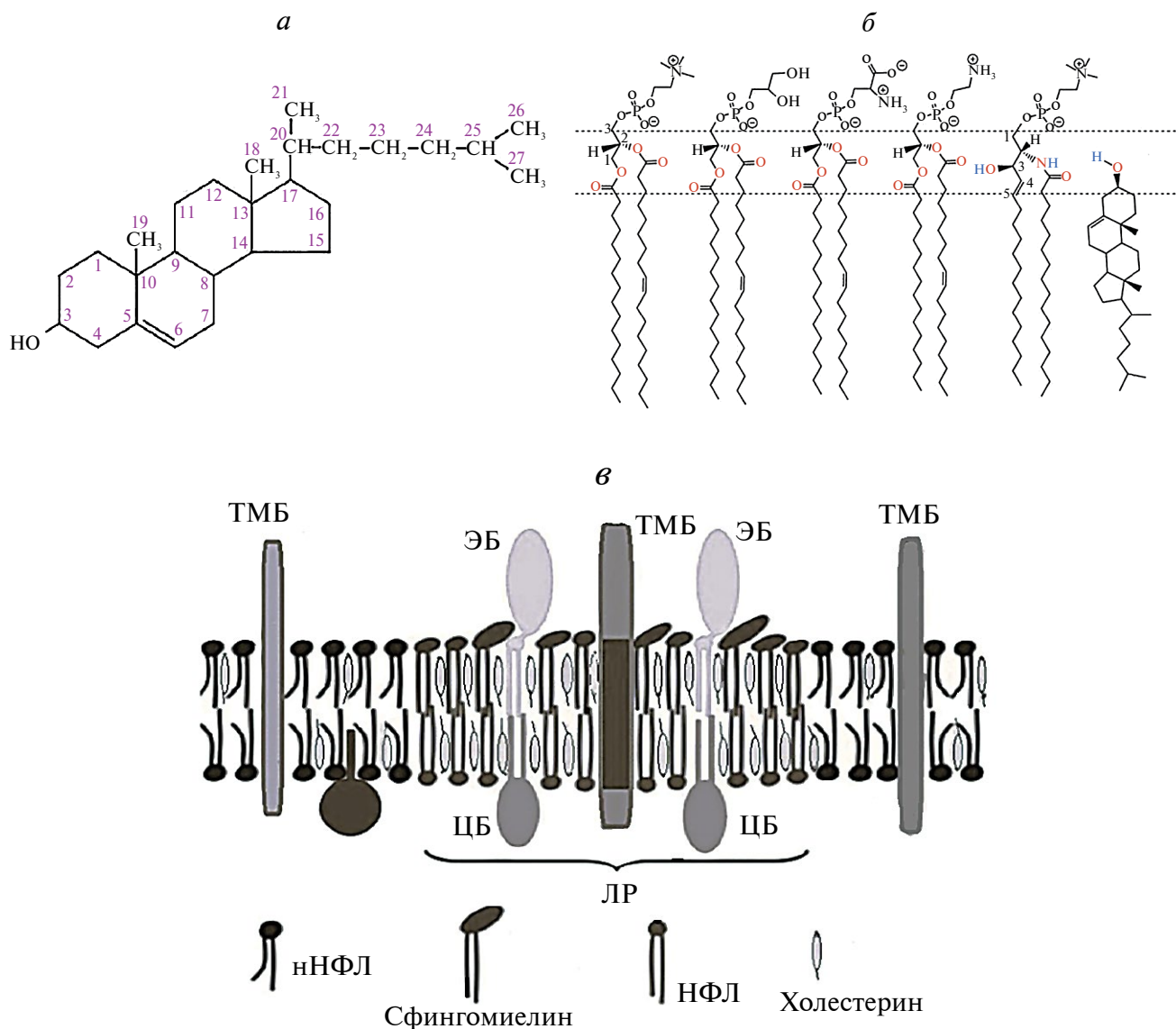


Рис. 1. Молекула холестерина (а) (PubChem CID5997) и его предполагаемое расположение в монослое мембранных фосфолипидов (б) и в бислойной липидной мембране, представляющей основу клеточной мембраны (в). На упрощенной схеме мембраны (в) липидный бислой содержит глицерофосфолипиды с ненасыщенными и насыщенными жирнокислотными остатками (нНФЛ и НФЛ соответственно), сфинголипиды и холестерин. В бислое встроены ассоциированные с мембраной цитоплазматические (ЦБ) и экстраклеточные (ЭБ) белки, а также трансмембранные белки (ТМБ). Бислой содержит липидные рафты (ЛР) — микродомены, обогащенные сфингомиелином и холестерином.

монослой. С другой стороны, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин могут обуславливать накопление холестерина во внутреннем (цитоплазматическом) липидном монослое. В целом, распределение холестерина зависит от фосфолипидов с анионными группами и насыщенными цепями. На это распределение и его стабильность также существенно влияют ненасыщенные жирные кислоты, повышенное содержание которых в биомембранах увеличивает вероятность перехода холестерина из одного монослоя в другой (флип-флоп) [4]. Согласно теоретическим расчетам, примерно 40% молекул холестерина плазматической мембраны находится в наружном монослое и 60% — во внутреннем [25–27].

Холестерин играет важную роль в определении физических свойств клеточных мембран млекопитающих [1–3, 5, 18, 19, 21, 23, 24, 28–31]. Заполняя промежутки между фосфолипидами в бислое мембраны, холестерин оказывает значительное влияние на такие параметры мембраны, как толщина, жесткость, термочувствительность (температура фазового перехода), и в значительной степени определяет ее латеральную организацию. Одним из параметров, используемых для оценки жесткости мембран, является соотношение фосфолипид/холестерин. Распределение липидов в монослой неравномерно: липиды организованы в рафты — микродомены, богатые холестерином и сфингомиелином [3, 32–36]. Размеры, стабильность и распределение рафтов, как и в случае трансбислойного распределения холестерина, регулируются другими компонентами мембраны, в частности ненасыщенными жирными кислотами, имеющими меньшее сродство к холестерину по сравнению с их насыщенными аналогами [4, 35, 36]. О многочисленных функциях рафтов, в которых кластеризуются определенные мембранные белки, написано много работ [3, 32–36]. Эти микродомены ограничивают латеральную подвижность мембраны и активно участвуют в различных клеточных событиях. Рафты играют сложную роль в транспортировке холестерина для поддержания клеточного гомеостаза, а также являются компонентами рецепторных и сигнальных систем клеток [15, 32, 33, 37].

Холестерин внутриклеточных мембран: распределение и источники

Эукариотические клетки, помимо наружной — плазматической мембраны (ПМ), имеют внутриклеточные мембраны в различных клеточных органеллах (эндоплазматический ретикулум (ЭР), эндо- и фагосомы, лизосомы, митохондрии, ядро и др.), где биомембраны обеспечивают согласованность

различных функций внутри клетки и органелл, контролируют перемещение макро- и микромолекул, а также создают поверхности, на которых происходят важные биологические события. Распределение холестерина внутри клеток между разными клеточными мембранами очень неравномерно. Как уже отмечалось, содержание холестерина в плазматической мембране составляет 30–50% от общего количества липидов, и это самая высокая концентрация холестерина по сравнению с другими клеточными мембранами. ЭР беден холестерином и содержит менее 1% от общего количества холестерина в клетке (3–6% от общего количества липидов мембраны ЭР) [38–41]. Мембранные пути, сообщающиеся с ПМ, такие как сеть транс-Гольджи, и рециркулирующие эндосомальные компартменты, содержат промежуточные количества холестерина. В направлении к цис-Гольджи и ядру содержание холестерина еще снижается, хотя и в ядерной оболочке имеются «рафтовые» липиды сфингомиелин и холестерин, а также микродомены, обогащенные этими липидами [42–46]. Следует, кстати, отметить, что липиды ядра и сигнальные функции ядерных липидов, в частности холестерина, привлекают все большее внимание, поскольку исследования свидетельствуют о том, что холестерин и другие липиды, входящие в состав ядерной оболочки и хроматина, являются активными участниками внутриядерных процессов и играют активную роль в осуществлении и регуляции процессов деления и дифференцировки клеток и при апоптозе [42].

Низкое содержание холестерина во внутриклеточных мембранах делает их очень чувствительными к изменениям уровня холестерина. Благодаря поддержанию очень низкого исходного уровня холестерина в ЭР, даже небольшие изменения уровня холестерина в ПМ приводят к значительному (на порядок) скачку содержания холестерина в ЭР [26, 39]. Хотя в биосинтезе большинства классов мембранных липидов (включая холестерин, глицерофосфолипиды и сфинголипиды), кроме ЭР, участвуют митохондрии и аппарат Гольджи, большинство ферментов синтеза холестерина, а также основная часть молекулярного механизма, регулирующего его клеточный гомеостаз (система sterol regulatory element binding protein/SREBP cleavage activating protein, SREBP/SCAP), находится именно в мембране ЭР [4, 47–53]. Оттуда холестерин быстро переносится в другие клеточные мембраны.

Холестерин не только синтезируется в ЭР, но также поступает дополнительно из внеклеточной среды, где холестерин транспортируется в виде липопротеиновых частиц — липопротеидов низкой плотности (ЛПНП). ЛПНП связываются

с рецепторами ЛПНП на поверхности ПМ и попадают внутрь клетки путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. Затем ЛПНП доставляются в лизосомы, где холестерин высвобождается из ЛПНП и транспортируется в ПМ. После обогащения ПМ холестерином он экспортируется в ЭР. Когда содержание холестерина в ЭР превышает ~5% от общей массы липидов ЭР, синтез холестерина и продукция рецепторов ЛПНП в ЭР подавляется (down-regulated). Кроме того, избыток холестерина в ЭР этерифицируется до эфиров холестерина для хранения в жировых каплях. Такая строгая регуляция гомеостаза холестерина существенна для нормальной жизнеспособности и роста клеток [53].

Межмембранный перенос холестерина

Механизмы межмембранного переноса холестерина (например, между ЭР и ПМ или между органеллами) еще недостаточно изучены. Холестерин в клетке редко транспортируется в одиночку и обычно сочетается с транспортом и метаболизмом других липидов, в частности фосфоинозитидов, фосфатидилсерина и сфинголипидов. В обзоре Ikonen и Zhou [38] описаны основные пути транспорта холестерина и основные точки их пересечения. Помимо экзо- и эндоцитозных механизмов, для переноса холестерина используются белки-переносчики липидов, гидрофобные полости которых защищают липид от воды и могут катализировать перенос липидов между органеллами. В работах [54–56] показано, что для транспорта холестерина из ПМ в ЭР у млекопитающих требуется анионный фосфолипид фосфатидилсерин, а также ЭР- и ПМ-связанные белки Aster. В процессах переноса холестерина участвуют внутриклеточные мембранные контакты (membrane contact sites, MCS) – области, где расстояние между мембранами составляет порядка 10 нм [57, 58]. Молекулярное устройство и роль таких контактов в клеточных процессах и метаболических перестройках клеток вызывает большой интерес и становится важной темой клеточной биологии. Хотя это сравнительно молодая область исследований, уже понятно, что MCS участвуют в переносе липидов и липидной сигнализации, а также играют важную роль в кальциевой сигнализации и в адаптации клеток к стрессу. Новые инструменты для визуализации и изучения MCS показали, что MCS повсеместно распространены и функционируют в качестве сигнальных, метаболических и логистических центров, координирующих работу органелл как в нормальных физиологических, так и в стрессовых условиях (см. обзор [57]). Межмембранный перенос холестерина,

осуществляемый при участии MCS, по-видимому, является одним из существенных факторов этой координации.

Оперативные пулы холестерина

В зависимости от мобильности и доступности различным молекулярным зондам, различают три оперативных пула холестерина плазматических мембран [25, 33, 59]. Самым высокомобильным является пул холестерина («активный холестерин»), распознаваемый доменом D4 перфринголизина O (PFO) и антролизина O (ALOD4); он составляет примерно 10 моль% липидов ПМ и становится недоступным, когда холестерина в ПМ становится меньше 30 моль%; этот пул быстро перемещается в ЭР, где сигнал об избытке холестерина воспринимается механизмом SREBP2 [60, 61]. Второй пул холестерина, распознаваемый остеолизином A (OlyA) [62, 63], входит в состав комплексов сфингомиelin/холестерин. Этот пул составляет около 15 моль% липидов ПМ и формирует основу рафтов. Остальная часть холестерина (около 15 моль% липидов ПМ) секвестрируется другими мембранными факторами, является критической для жизнеспособности клеток; в настоящее время для этого пула холестерина зондов нет. Такое разделение холестерина на пулы обусловлено его сродством к фосфолипидам и другим компонентам мембраны.

В целом, распределение и поддержание физиологического уровня холестерина в клетках обеспечивается с помощью многообразных механизмов, что указывает на то, что для клетки это жизненно важная задача. Холестерин необходим клеткам животных, и его недостаток или избыток разрушителен для клеток. Поэтому для поддержания оптимального количества этого стерина развились сложные молекулярные механизмы, контролирующие и регулирующие уровень холестерина и других родственных стероидов, таких как оксистерины или промежуточные продукты синтеза холестерина, и реагирующие на изменение их уровня с помощью различных регуляторных механизмов обратной связи. Эта регуляция включает как прямое связывание стероидов компонентами гомеостатической системы, расположенной в ЭР, так и косвенные эффекты, вызванные холестерин-зависимыми изменениями физических свойств мембран [64].

ХОЛЕСТЕРИН-ЗАВИСИМЫЕ МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ И КЛЕТОЧНЫЕ ПРОЦЕССЫ

В липидную мембрану клетки встроено множество различных мембранных белков, занимающих

до 30% площади мембраны, и эти мембранные компоненты постоянно взаимодействуют друг с другом: липиды влияют на встроенные белки, а белки влияют на распределение и поведение липидов [18, 19, 21–24]. Каждый встроенный в мембрану белок уникальным образом модулирует локальное липидное окружение, увеличивая или уменьшая количество определенных липидных компонентов, что создает градиенты толщины и кривизны. С другой стороны, липиды не просто служат матрицей, в которую встраиваются белки, но могут активно участвовать в регуляции активности белков, их перемещении и локализации. Белки могут либо специфически связывать липиды, когда можно выделить четкий сайт связывания для данного липида, либо неспецифически, когда липиды выступают в качестве среды, а физические свойства, такие как толщина, текучесть или кривизна, регулируют функцию белка.

Давно известно, что функционирование мембранных белков зависит от состава липидной мембраны в микроокружении этих белков. Такая липидная регуляция расширяет функциональный диапазон активности данного белка, которая существенно зависит от липидного состава мембраны [65–73]. Например, активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы модулируется незтерифицированными жирными кислотами и лизофосфолипидами [66], на функционирование рецептора инсулина влияют диацилглицерины [67], а мембранные фосфоинозитиды регулируют многие ионные каналы [65]. Как пишет В. Hille в своем обзоре [65], такая липидная регуляция обеспечивает соответствующую активность канала и электрическую возбудимость в зависимости от липидного состава мембраны, окружающей канал-формирующий белок (the channel-forming protein). Такой механизм регуляции безусловно относится не только к ионным каналам, но и к другим белкам, а также и к другим липидам.

Холестерин-зависимые мембранные белки образуют отдельную большую группу липид-зависимых белков. К мембранным белкам, функции которых регулируются холестерином, относятся многие ионные каналы [72–75], в том числе каналы щелевых контактов, обеспечивающих межклеточную коммуникацию [76–79]. Мембранные рецепторы, участвующие в трансдукции гормональных сигналов и нейротрансмиссии, также регулируются холестерином, например, пуриnergические P2X-рецепторы [80, 81], ГАМК-рецепторы [82, 83], рецепторы, сопряженные с G-белками, включая бета2-адренергические и серотониновые рецепторы [84–88], а также ацетилхолиновые рецепторы [89–91], NMDA-рецепторы [92], глициновые рецепторы [93]. Среди холестерин-зависимых

рецепторов также имеются фагоцитозные рецепторы FcγRIIA41 [94], рецептор CD36 (scavenger receptor) [95–97], а также рецептор ЛПНП, отвечающий за транспорт холестерина и регуляцию уровня холестерина в крови [51]. Это далеко не полный список холестерин-зависимых мембранных белков (см. обзоры [1, 2, 14, 18, 85, 98]).

Клеточные процессы, в которых участвуют такие белки, также являются холестерин-зависимыми. Среди таких процессов — клеточная адгезия [99] и локомоция [100], эндоцитоз [101, 102] и многие другие. Холестином регулируется синаптогенез — формирование синаптических микровезикул из плазматической мембраны: ограниченное снижение содержания холестерина в мембранах, слабо влияющее на общую эндоцитозную активность, блокирует биогенез синаптических микровезикул [103]. Частичное удаление холестерина из мембран макрофагов снижает их фагоцитозную активность [104–107]. Для холестерин-зависимых процессов характерна колоколообразная дозо-зависимость [106, 107]. Это означает, что холестерин-зависимые белки (а значит, и соответствующие процессы) требуют оптимальной концентрации холестерина для нормального функционирования, и поэтому вредным и разрушительным может быть как избыток, так и недостаток холестерина. Далее будет приведено несколько примеров холестерин-зависимых мембранных белков и связанных с ними процессов.

Холестерин-зависимые ионные каналы

Ионные каналы играют важнейшую роль в функционировании клеток, обеспечивая трансмембранный транспорт ионов и его регуляцию в ответ на химические или механические стимулы. Представители всех основных семейств ионных каналов регулируются изменением уровня мембранного холестерина; многие каналы локализованы в богатых холестерином мембранных микродоменах (рафтах) [72]. Описаны разные эффекты холестерина. Активность некоторых типов каналов (K^+ -каналов входящего выпрямления (inwardly-rectifying K^+ channels), потенциал-зависимых K^+ -каналов, Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов, потенциал-зависимых Na^+ -каналов, Ca^{2+} -каналов N-типа и некоторых анионных каналов) подавляется при повышении содержания холестерина в мембране. Напротив, у таких каналов, как эпителиальные амилорид-чувствительные Na^+ - и TRP- (transient receptor potential) каналы, а также у некоторых типов потенциал-зависимых K^+ -каналов снижение содержания холестерина вызывает угнетение активности. Также показано, что холестерин изменяет кинетические свойства и вольт-амперные

характеристики некоторых потенциал-зависимых каналов. Поддержание определенного уровня холестерина в мембране необходимо не только для прямого воздействия на каналобразующий белок (путем специфических взаимодействий между холестерином и белком канала или изменения физических свойств мембранного бислоя), но и для обеспечения связи ионных каналов с сигнальными каскадами, в частности, за счет белок-белковых взаимодействий в рафтах.

Депо-управляемые Ca^{2+} -каналы

Одним из интригующих примеров холестерин-зависимых мембранных белков является депо-управляемый Ca^{2+} -канал (store-operated Ca^{2+} channel, SOC-канал), или Ca^{2+} -канал, активируемый высвобождением Ca^{2+} (Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel, CRAC-канал). SOC-/CRAC-каналы — один из основных путей входа Ca^{2+} в клетку и важнейший участник в процессах кальциевой сигнализации [108]. Вход Ca^{2+} через эти каналы вносит существенный вклад в Ca^{2+} -сигналы, инициированные агонистами различных клеточных рецепторов. Активность SOC-CRAC-каналов преимущественно обеспечивается двумя трансмембранными белками — STIM1 и Orai1. STIM1 функционирует в мембране ЭР и является молекулярным сенсором Ca^{2+} в люминальной части ЭР. Orai1 — это канальный белок, формирующий Ca^{2+} -селективную пору SOC-канала и расположенный в плазматической мембране. Истощение запасов Ca^{2+} в ЭР (Ca^{2+} -депо) вызывает олигомеризацию белков STIM1, что приводит к изменению конформации их цитоплазматического домена и связыванию с каналами Orai1 в местах контакта ЭР и ПМ. Последнее приводит к активации каналов Orai1, входу внеклеточного Ca^{2+} и локальному увеличению уровня Ca^{2+} в цитозоле, что стимулирует активность Ca^{2+} -насоса в ЭР, и к восстановлению содержания Ca^{2+} в Ca^{2+} -депо.

Хотя STIM1 и Orai1 являются необходимыми и достаточными элементами для функционирования SOC-каналов, их эффективная активация и деактивация регулируется различными липидами и липид- и/или ЭР-/ПМ-зависимыми вспомогательными белками. В ряде работ было показано, что холестерин модулирует функцию как STIM1, так и Orai1 и что удаление холестерина из мембран уменьшает депо-зависимый вход кальция (store-operated calcium entry, SOCE) [109–112]. Такая зависимость STIM1 и/или Orai1 от холестерина может проявляться при некоторых патологиях: высказывается предположение о взаимосвязи между гипохолестеринемией и усиленной дегрануляцией

тучных клеток [108, 111]. Действительно, у пациентов, страдающих гипохолестеринемией, как правило, усиливается аллергическая реакция, что согласуется с данными о том, что истощение запасов холестерина в тучных клетках усиливает депо-управляемые токи Ca^{2+} и дегрануляцию [111].

В ходе исследований механизмов холестерин-зависимости CRAC-каналов было показано [112], что кальциевый сенсор в ЭР (STIM1) имеет холестерин-связывающую последовательность $\text{L/V-X}_{(1-5)}\text{-Y-X}_{(1-5)}\text{-R/K}$ (где X — любая аминокислота), расположенную внутри области SOAR (STIM1 Orai activating region, Orai-активирующая область STIM1), а также показана холестерин-зависимость STIM1 и SOAR и изменение взаимодействия SOAR с Orai при истощении холестерина. Холестерин-связывающая последовательность была предложена в работе Li и Papadopoulos в 1998 году [113]; эта последовательность, сначала названная авторами «холестерин-распознающая/взаимодействующая аминокислотная консенсусная последовательность» (cholesterol recognition/interaction amino acid consensus sequence, CRAC), в форме аббревиатуры оказавшаяся «тезкой» CRAC-каналов, в дальнейшем была обнаружена во многих холестерин-зависимых белках [14, 18, 19, 106, 113–117]. И хотя это не исключает возможности других вариантов холестерин-связывающих мотивов, в ряде случаев присутствие такого мотива в белке указывает на высокую вероятность его взаимодействия с холестерином.

Как было показано в [112], влияние холестерина на SOC-/CRAC-каналы опосредуется холестерин-связывающим мотивом $\text{L/V-X}_{(1-5)}\text{-Y-X}_{(1-5)}\text{-R/K}$ в С-конце белка STIM1. Мутация в этом мотиве связывания (I364A), расположенная в SOAR, приводила к усилению токов Orai1, сопоставимому с эффектом удаления холестерина, как в полноразмерном STIM1, так и в С-концевом фрагменте STIM1. Моделирование с помощью метода молекулярной динамики подтвердило, что холестерин влияет на сопряжение SOAR с мембраной. В целом, эти результаты свидетельствуют о том, что холестерин-связывающий домен в Orai1 и STIM1 опосредует взаимодействия этих белков с холестерином [112].

Холестерин-зависимость кальциевой сигнализации представляется естественной хотя бы потому, что в ней участвуют ионные каналы, встроенные в мембрану. Интригующим является вопрос: влияет ли (и если да, то как?) кальциевая сигнализация на процессы синтеза, внутриклеточного транспорта и клеточного гомеостаза холестерина? Вряд ли случайно сосуществование этих двух жизненно важных систем на мембранах ЭР.

Ионные каналы наружных волосковых клеток слухового органа

Другим интересным примером холестерин-зависимого процесса, опосредуемого холестерин-зависимыми ионными каналами, может служить процесс механоэлектрического сопряжения в наружных волосковых клетках органа Корти мыши и ушной улитки цыплят [118, 119]. Основными ионными каналами, которые участвуют в процессе трансформации механического сигнала в электрический на ранних стадиях обработки звука, являются кальций-зависимые калиевые каналы высокой проводимости ("big potassium" channels, BK), которые открываются в зависимости от напряжения и концентрации кальция, а также потенциал-управляемые кальциевые каналы (VGCC), которые отвечают за кальций-зависимый экзоцитоз и синаптическую передачу в слуховом нерве. Авторы обнаружили, что снижение содержания холестерина влияет на механоэлектрическое сопряжение у наружных волосковых клеток и калиевые токи. В опытах с использованием метил-бета-циклодекстрина (m β CD) [120, 121], извлекающего холестерин из клеточной мембраны, было показано, что снижение содержания холестерина в наружных волосковых клетках уменьшает пиковый стабильный кальций-чувствительный калиевый ток BK-типа на 50%. В то же время обработка m β CD увеличивала пиковый входящий кальциевый ток (на ~30%), что исключает подавление экспрессии или функции кальциевых каналов как причину снижения кальций-чувствительного калиевого тока. В работе также показано, что BK экспрессируются в обогащенных холестерином микродоменах. Авторы заключают, что холестерин является ключевой детерминантой в физиологии слуха и что эффекты холестерина могут быть обусловлены как прямым его воздействием на биофизические свойства каналов, так и локализацией каналов в рафтах. Холестерин-зависимые изменения в кальциевых и кальций-зависимых калиевых каналах могут изменить форму рецепторного потенциала, постоянную времени мембраны и временную обработку сигнала и в целом изменить функциональную настройку клеток.

Следует отметить, что в BK-каналах также показано присутствие холестерин-связывающих мотивов. В работе Singh и др. [122] исследовали структурные основы холестерин-зависимой регуляции (угнетения) Ca²⁺-зависимых калиевых каналов высокой проводимости (BK) с помощью комбинации методов молекулярной динамики, точечных мутаций в белке Cbv1 и электрофизиологии (регистрация активности одиночных каналов,

встроенных в искусственные бислойные липидные мембраны разного состава). Исследования показали, что эффект холестерина опосредуется цитоплазматическим C-концевым доменом белка Cbv1, содержащим семь CRAC-мотивов. С помощью метода молекулярной динамики выявлены взаимодействия между холестерином и ионным каналом. На основании результатов сделан вывод, что чувствительность канала к холестерину определяется мотивом CRAC4, ближе всех расположенным к мембране; однако удаление других CRAC-мотивов или замены мотивообразующих аминокислот также (кумулятивно) угнетает чувствительность к холестерину, что указывает на участие нескольких CRAC-мотивов во взаимодействиях BK-каналов с холестерином.

Холестерин-зависимость родопсина

И еще один пример участия холестерина в важнейшем биологическом процессе — фоторецепция и холестерин-зависимое поведение родопсина в мембранах зрительных палочек сетчатки [123–128]. Наружный сегмент палочки сетчатки (rod outer segment, ROS) содержит стопку мембранных дисков, физически отделенных от плазмалеммы. Именно в мембране диска локализован фотопигмент родопсин [129] и другие элементы каскада фототрансдукции. Мембрана диска содержит существенно меньше холестерина по сравнению с плазматической (не дисковой) мембраной палочки (соответственно, 8 моль% в дисках и 28 моль% в ПМ), причем в мембранах дисков существует свой градиент содержания холестерина: вновь образованные («молодые») мембраны дисков содержат в несколько раз больше холестерина, чем ранее образованные («старые») диски на апикальном конце ROS. Как показывают исследования, содержание холестерина в мембранах оказывает существенное влияние на состояние и активность родопсина: высокое содержание холестерина в мембране препятствует участию родопсина в каскаде зрительной трансдукции, но увеличивает стабильность родопсина [126–128]. В работе Niu и др. [126] уровень холестерина в мембранах дисков наружного сегмента палочек меняли с помощью метил-бета-циклодекстрина. Уменьшение количества холестерина в мембране диска приводило к тому, что большая доля фотоактивированного родопсина переходила в конформацию метародопсина II (MII), стимулирующую G-белки, в то время как обогащение холестерином снижало степень образования MII. Термическая стабильность родопсина увеличивалась с увеличением содержания холестерина в мембранах дисков. Таким образом, распределение и эффекты

холестерина обеспечивают условия, при которых зрелые (апикальные) мембраны дисков запускают каскад зрительных сигналов более эффективно, чем вновь образованные базальные диски с более высоким содержанием холестерина. Препятствуя активации родопсина в базальных дисках, холестерин в то же время оказывает протекторное действие, стабилизируя белок и препятствуя его денатурации [126–128]. Для эффективной и надежной фоторецепции мембрана диска должна иметь оптимальное содержание холестерина — не слишком высокое, чтобы не ограничивать активацию рецептора, но и не слишком низкое, чтобы обеспечить стабильность фоторецепции. Помимо неспецифического влияния на состояние липидного окружения родопсина, холестерин может и напрямую взаимодействовать с родопсином. Это создает дополнительные способы тонкой настройки активности мембранного белка без модуляции его синтеза, оборота или модификации.

ГОМЕОСТАЗ КЛЕТОЧНОГО ХОЛЕСТЕРИНА И БОЛЕЗНИ

Поскольку от холестерина зависит нормальное функционирование клеток, то нарушение гомеостаза холестерина приводит к различным патологиям. Здесь будут приведены примеры инфекционных и неинфекционных заболеваний, в патогенезе которых выявлено участие холестерина.

Инфекционные заболевания и холестерин

Известно, что многие бактериальные, вирусные и другие патогены используют холестерин и холестерин-зависимые процессы для инфицирования клеток, и это отражается на патогенезе, симптоматике и лечении соответствующих болезней (см. обзоры [14, 130, 131]). Вопросы, касающиеся важности холестерина в мембране клетки-хозяина на разных этапах жизненного цикла вируса, а также влияния вирусов на клеточные липиды и, в частности, на холестерин, рассматривались во многих работах [132–138]. Например, взаимодействия некоторых оболочечных вирусов с клеткой во время проникновения, сборки, почкования и выхода из клетки зависят от наличия холестерина и липидных рафтов в мембранах клеток-хозяев. Это было показано для вирусов иммунодефицита (HIV), гриппа, герпеса, гепатита С (HCV), ротавирусов, вируса желтой лихорадки, вируса Зика, вируса Денге, вируса Западного Нила и многих других (см. обзор [131]). Взаимодействие вируса с клеткой приводит к значительным изменениям в липидном составе клеточных мембран. Например, в случае

вируса гриппа формирование оболочки новых вирусных частиц происходит из плазматической мембраны инфицированной клетки, причем вирусная оболочка избирательно приобретает «рафтовые» липиды, холестерин и сфинголипиды. Это может сопровождаться значительными потерями этих липидов в мембране клетки-хозяина и привести к дисфункции и гибели инфицированной клетки. Эксперименты с пептидами вирусного происхождения, содержащими холестерин-связывающие мотивы, показали, что при определенной концентрации такие пептиды токсичны для клеток [106, 107]. Если считать (на основании экспериментов *in vitro* на клетках MDCK [139]), что один вирус может произвести в одной инфицированной клетке порядка 10^4 новых вирусных частиц диаметром 100 нм, то суммарная площадь оболочек этих частиц будет 3×10^8 нм², что составляет примерно 25% площади мембраны сферической клетки диаметром 20 мкм (12×10^8 нм²). Поскольку вирусная оболочка обогащена холестерином, то для мембраны инфицированной клетки такая потеря означает существенное изменение липидного состава и соответствующие нарушения функционирования холестерин-зависимых белков. Это подтверждается наблюдениями Frensing и др. [139]: после массивной продукции вирусных частиц клетки MDCK теряли адгезионные контакты, и жизнеспособность клеток снижалась.

В случае коронавируса SARS-CoV-2 формирование вирусной оболочки (также обогащенной холестерином) происходит не из плазматических мембран, как в случае вируса гриппа, а из мембран ЭР, где содержание холестерина существенно ниже, чем в плазматической мембране. Это может быть одним из факторов, объясняющих тяжелое течение болезни при Covid-19, поскольку количество холестерина, удаляемого из мембран ЭР вновь образовавшимися вирусами, может превышать компенсаторные ресурсы клетки [131]. При недостаточном поступлении холестерина в клетки неизбежна дерегуляция холестерин-зависимых процессов, что может привести к массовой гибели клеток; это проявляется в клиническом течении заболевания и плохом прогнозе. В связи с этим следует отметить, что у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, было зарегистрировано значительное снижение (в несколько раз) уровня общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [140, 141]. Такое снижение уровня холестерина ЛПНП у пациентов с Covid-19 может отражать усиленное привлечение циркулирующего холестерина клетками, чтобы компенсировать его потерю, связанную с размножением вируса. Возможно, клинический прогноз

зависит от своевременной и успешной доставки холестерина, необходимого для восстановления клеточных мембран. Поэтому для пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 или другими оболочечными вирусами, извлекающими холестерин из клеточных мембран, холестеринопонижающая терапия (например, статины) может быть нецелесообразной [140, 141]. В условиях пониженного уровня холестерина в клеточных мембранах любая инфекция оболочечным вирусом, поглощающим холестерин, может оказаться губительной, так как дальнейшее снижение уровня холестерина в клеточной мембране во время отпочковывания вируса может привести к повреждению клетки.

Для минимизации вероятности инфицирования клеток вирусом и последствий его массового размножения могут оказаться полезными такие подходы, как поиск и разработка агентов, которые бы селективно предотвращали взаимодействие вирусного белка с клеточным холестерином на уровне белок-липидных взаимодействий [14, 130, 131]. Показательным примером в этом отношении может быть антивирусный эффект пептида C5A, содержащего аминокислотные остатки 3–20 амфипатического α -спирального N-концевого домена белка вируса гепатита A NS5A [142, 143]. Интересно, что активный пептид C5A (SWLRDIWDWICEVLSDFK) явно содержит два варианта холестерин-связывающего мотива (RDIWDWI и/или RDIWDWICEV; шрифтом выделены мотивообразующие аминокислоты), хотя в работе Cheng и др. [143] тема холестерин-связывающих мотивов не затрагивается. Возможно, антивирусный эффект пептида C5A обусловлен тем, что благодаря наличию холестерин-связывающего мотива этот пептид конкурирует с вирусным белком за связывание холестерина клеточной мембраны и тем самым препятствует формированию оболочки вирусной частицы.

Помимо вирусных инфекций, с гомеостазом холестерина в клетке хозяина также связаны различные бактериальные инфекции. Например, грамотрицательная бактерия *Helicobacter pylori*, вызывающая хронический гастрит, не синтезирует холестерин самостоятельно, а извлекает его из плазматических мембран эпителиальных клеток желудка, что приводит к их разрушению и может быть важным компонентом патогенеза [144–146]. Микотические заболевания также часто связаны с изменениями в гомеостазе холестерина, поскольку патогенные грибы используют холестерин клеток хозяина [147, 148].

Еще одним классическим примером инфекции, связанной с истощением холестерина в клетках хозяина, является туберкулез. *Mycobacterium*

tuberculosis проникает в клетку путем фагоцитоза и остается в фагосоме, используя холестерин клетки в качестве источника углерода и перестраивая холестеринновый гомеостаз для своих нужд [149–153]. При хронической инфекции *M. tuberculosis* продолжает разрушать клетки, по крайней мере частично, из-за истощения запасов холестерина. Как и при вирусных инфекциях, своевременная и достаточная доставка холестерина необходима для поддержания целостности мембраны клетки-хозяина. Следует напомнить, что до появления антибиотиков туберкулез лечили главным образом с помощью диеты с высоким содержанием жиров и стерина.

Малярийный плазмодий, вызывающий малярию, также является холестерин-зависимым организмом, серьезно нарушающим холестеринновый гомеостаз в организме хозяина [154, 155]. Для инвазии и роста *Plasmodium falciparum* необходим холестерин из рафтов плазматической мембраны эритроцитов. *P. falciparum* не способен синтезировать de novo жирные кислоты и холестерин и получает их из инфицированных клеток. Метаболическая активность паразита приводит к изменению количества жирных кислот и холестерина в плазматической мембране эритроцитов и снижению соотношения холестерин/фосфолипиды, что приводит к изменениям проницаемости и хрупкости эритроцитов.

Как и в случае противовирусных препаратов, поиск антибактериальных, антимикотических и антималярийных лекарств, предотвращающих взаимодействие патогена с холестерином инфицированной клетки, может оказаться продуктивным и полезным. Помимо холестерин-связывающих пептидов, могут оказаться полезными другие вещества — такие, как например кверцетин, витамин Д, сапонин глицирризин и др., способные действовать на уровне холестерин-белкового интерфейса и обладающие антимикробной активностью [14, 131, 156, 157].

Холестерин и неинфекционные заболевания

Холестериновый компонент обнаруживается также во многих неинфекционных заболеваниях, таких как сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания [158], многие из которых связаны с возрастом, например болезни Альцгеймера [159, 160], Хантингтона [161] и Паркинсона [162], боковой амиотрофический склероз [163], диабет 2 типа [164] и многие другие. Эта тема заслуживает отдельного обзора и упоминается здесь лишь для того, чтобы проиллюстрировать повсеместную и многогранную роль холестерина в осуществлении нормальных клеточных функций. Роль холестерина при этих заболеваниях необязательно связана

с повышением содержания «плохого» ЛПНП-холестерина в крови хотя бы потому, что метаболизм холестерина в мозге — самом богатом холестерином органе млекопитающих — независим от других тканей благодаря наличию гематоэнцефалического барьера [165], а также потому, что «высокий» ЛПНП-холестерин не означает, что в мембранах клеток содержание холестерина выше оптимального. Хотя препараты, снижающие уровень холестерина в крови, рассматривались в качестве потенциальных средств для профилактики болезни Альцгеймера (БА), экспериментальные и расчетные исследования позволили предположить защитную роль холестерина в отношении формирования фибрилл A β 161, поскольку было показано, что холестерин препятствует выходу A β из мембранной среды в раствор [166, 167]. Кроме того, одной из основных особенностей БА является нарушение функционирования холинергической системы, а ацетилхолиновые рецепторы являются холестерин- и рафтозависимыми [89–91, 168, 169], поэтому истощение запасов холестерина может нарушать функционирование холинергической системы. Значение холестерина и рафтов также было показано при болезни Хантингтона, характеризующейся нейродегенерацией стриатума и коры головного мозга. Исследования постсинаптических мембран показали, что маркер болезни белок хантингтин (htt) связывается с липидными доменами [170].

Значительные изменения в метаболизме холестерина были описаны при боковом амиотрофическом склерозе [163]. Особый интерес в этом контексте представляют эксперименты Fukui и др. [164], которые показали, что у клеток нейронального происхождения истощение холестерина, имитирующее снижение клеточного холестерина при диабете, приводит к нарушению сигнализации инсулина/IGF-1 и нейротрофинов (neurotrophin) и вызывает дефекты в передаче сигналов и функционировании клеток. Авторы пришли к выводу, что снижение уровня холестерина в мозге, подобное тому, что наблюдается в мозге диабетика, может способствовать развитию осложнений диабета, связанных с ЦНС, включая повышенный риск развития нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера.

Следует напомнить, что постоянное истощение холестерина, вызванное микробными инфекциями, также может стать причиной неврологических проблем (часто наблюдаемых после ковида) и запустить процессы нейродегенерации. Показательным примером нейродегенерации, связанной с дефицитом холестерина, может быть болезнь Нимана–Пика [171, 172], при которой нарушена доставка холестерина к мембранам клеток. Этот дефект связан с инактивирующими мутациями

в трансмембранном белке-транспортере холестерина NPC1, который расположен на лизосомальной мембране и экспортирует холестерин, высвобождающийся из ЛПНП, в акцепторные компартменты (эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, плазматическая мембрана). В клетках, лишенных функционального NPC1, холестерин накапливается в лизосомах и не транспортируется в эти компартменты, что приводит к дефициту холестерина в мембранах клетки и нарушению всех холестерин-зависимых функций клеток.

В целом, можно сказать, что в здоровом мозге содержание холестерина поддерживается на относительно постоянном уровне при строгой регуляции его синтеза, транспорта и оборота, а нейродегенеративные заболевания возникают при нарушении баланса между этими процессами и отклонении от оптимума содержания холестерина в клеточных мембранах. Простое угнетение синтеза холестерина с помощью статинов не всегда приводит к желаемым результатам, но часто сопровождается нежелательными явлениями (миастения, миотоническая дистрофия, когнитивные нарушения и др.) [165], и для решения этих проблем необходимы дальнейшие исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, холестерин является одним из важнейших липидов, входящих в состав клеточных мембран и участвующих в жизненно важных клеточных процессах, включая модуляцию экспрессии генов, передачу сигналов, коммуникацию между клетками и многое другое. Содержание холестерина в мембранах строго контролируется и поддерживается на оптимальном уровне. Нарушения метаболизма, логистики и гомеостаза холестерина, при которых его содержание отклоняется от этого оптимума, могут вызвать дисфункцию холестерин-зависимых и рафт-зависимых белков и стать причиной различных патологических процессов, в том числе нейродегенеративных. Холестериновый компонент присутствует также во многих инфекционных заболеваниях, и при некоторых из них снижение уровня холестерина ниже оптимального физиологического уровня может быть губительным для клеток и являться значимым фактором патогенеза, ухудшающим прогноз. В этом кроется сложность, и ее необходимо учитывать, чтобы борьба за снижение уровня «плохого холестерина» не обернулась ухудшением состояния. Одним из механизмов взаимодействия белка с холестерином является холестерин-связывающие аминокислотные мотивы, которые обнаружены во многих холестерин-зависимых белках. Пептиды,

содержащие такие мотивы, могут оказаться полезными терапевтическими средствами, действующими на уровне интерфейса холестерин–белок. Развитие технологий, позволяющих исследовать механизмы белок-холестериновых взаимодействий и при необходимости проводить физиологическую коррекцию этих взаимодействий, будет способствовать разработке новых средств для лечения заболеваний, в патогенезе которых участвуют холестерин-зависимые процессы.

Источники финансирования: отсутствуют.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Maxfield F.R., van Meer G. 2010. Cholesterol, the central lipid of mammalian cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* **22** (4), 422–429. doi 10.1016/j.ceb.2010.05.004
- Song Y., Kenworthy A.K., Sanders C.R. 2014. Cholesterol as a co-solvent and a ligand for membrane proteins. *Protein Science.* **23**, 1–22. doi 10.1002/pro.2385
- Simons K., Ikonen E. 1997. Functional rafts in cell membranes. *Nature.* **387**, 569–572.
- Ali O., Szabó A. 2023. Review of eukaryote cellular membrane lipid composition, with special attention to the fatty acids. *Int. J. Mol. Sci.* **24** (21), 15693. doi 10.3390/ijms242115693
- van Meer G., Voelker D.R., Feigenson G.W. 2008. Membrane lipids: Where they are and how they behave. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**, 112–124.
- Huang Z., London E. 2016. Cholesterol lipids and cholesterol-containing lipid rafts in bacteria. *Chem. Phys. Lipids.* **199**, 11–16.
- Guzmán-Flores J.E., Steinemann-Hernández L., González de la Vara L.E., Gavilanes-Ruiz M., Romeo T., Alvarez A.F., Georgellis D. 2019. Proteomic analysis of *Escherichia coli* detergent-resistant membranes (DRM). *PLoS One*, **14**, e0223794.
- Rohmer M., Bouvier-Nave P., Ourisson G. 1984. Distribution of hopanoid triterpenes in prokaryotes. *Microbiology.* **130**, 1137–1150.
- Sáenz J.P., Grosser D., Bradley A.S., Lagny T.J., Lavrynenko O., Broda M., Simons K. 2015. Hopanoids as functional analogues of cholesterol in bacterial membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **112**, 11971–11976.
- Bi Y., Guo P., Liu L., Chen L., Zhang W. 2023. Elucidation of sterol biosynthesis pathway and its co-regulation with fatty acid biosynthesis in the oleaginous marine protist *Schizochytrium* sp. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **11**, 1188461. doi 10.3389/fbioe.2023.1188461
- Planas-Riverola A., Gupta A., Betegón-Putze I., Bosch N., Ibañez M., Caño-Delgado A.I. 2019. Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development.* **146** (5), dev151894. doi 10.1242/dev.151894
- Manghwar H., Hussain A., Ali Q., Liu F. 2022. Brassinosteroids (BRs) role in plant development and coping with different stresses. *Int. J. Mol. Sci.* **23** (3), 1012. doi 10.3390/ijms23031012
- Myers J.L., Porter M., Narwold N., Bhat K., Daulwalder B., Roman G. 2021. Mutants of the white ABCG transporter in *Drosophila melanogaster* have deficient olfactory learning and cholesterol homeostasis. *Int. J. Mol. Sci.* **22** (23), 12967. doi 10.3390/ijms222312967
- Dunina-Barkovskaya A. 2022. Cholesterol-dependent cellular processes and peptides containing cholesterol-binding motifs: Possible implications for medicine. *Med. Res. Arch.* **11** (1). <https://doi.org/10.18103/mra.v11i1.3532>
- Weber L.W., Boll M., Stampfl A. 2004. Maintaining cholesterol homeostasis: Sterol regulatory element-binding proteins. *World J. Gastroenterol.* **10** (21), 3081–3087. doi 10.3748/wjg.v10.i21.3081
- Martín M.G., Pfrieger F., Dotti C.G. 2014. Cholesterol in brain disease: Sometimes determinant and frequently implicated. *EMBO Rep.* **15** (10), 1036–1053. doi 10.15252/embr.201439225
- Martín-Segura A., Ahmed T., Casadomé-Perales Á., Palomares-Perez I., Palomer E., Kerstens A., Munck S., Balschun D., Dotti C.G. 2019. Age-associated cholesterol reduction triggers brain insulin resistance by facilitating ligand-independent receptor activation and pathway desensitization. *Aging Cell.* **18** (3), e12932. doi 10.1111/acer.12932
- Corradi V., Mendez-Villuendas E., Ingólfsson H.I., Gu R.-X., Siuda I., Melo M.N., Moussatova A., DeGagné L.J., Sejdiu B.I., Singh G., Wassenaar T.A., Delgado Magner K., Marrink S.J., Tieleman D.P. 2018. Lipid–protein interactions are unique fingerprints for membrane proteins. *ACS Cent. Sci.* **4** (6), 709–717. doi 10.1021/acscentsci.8b00143
- Grouleff J., Irudayam S.J., Skeby K.K., Schiøtt B. 2015. The influence of cholesterol on membrane protein structure, function, and dynamics studied by molecular dynamics simulations. *Biochim. Biophys. Acta – Biomembranes.* **1848** (9), 1783–1795. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.03.029>
- Mukherjee S., Zha X., Tabas I., Maxfield F.R. 1998. Cholesterol distribution in living cells: Fluorescence imaging using dehydroergosterol as a fluorescent cholesterol analog. *Biophys. J.* **75**, 1915–1925. doi 10.1016/S0006-3495(98)77632-5

21. Nyholm T.K. 2015. Lipid-protein interplay and lateral organization in biomembranes. *Chem. Phys. Lipids*. **189**, 48–55.
22. Nyholm T.K., Ozdirekcan S., Killian J.A. 2007. How protein transmembrane segments sense the lipid environment. *Biochemistry*. **46**, 1457–1465.
23. Coskun U., Simons K. 2011. Cell membranes: The lipid perspective. *Structure*. **19** (11), 1543–1548. doi 10.1016/j.str.2011.10.010
24. Sezgin E., Levental I., Mayor S., Eggeling C. 2017. The mystery of membrane organization: Composition, regulation, and roles of lipid rafts. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **18**, 361–374.
25. Steck T.L., Ali Tabei S.M., Lange Y. 2024. Estimating the cholesterol affinity of integral membrane proteins from experimental data. *Biochemistry*, **63** (1), 19–26. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.3c00567>.
26. Steck T.L., Lange Y. 2018. Transverse distribution of plasma membrane bilayer cholesterol: Picking sides. *Traffic*. **19** (10), 750–760. doi 10.1111/tra.12586
27. Maekawa M., Fairn G.D. 2015. Complementary probes reveal that phosphatidylserine is required for the proper transbilayer distribution of cholesterol. *J. Cell Sci.* **128** (7), 1422–1433.
28. Ridsdale A., Denis M., Gougeon P.Y., Ngsee J.K., Presley J.F., Zha X. 2006. Cholesterol is required for efficient endoplasmic reticulum-to-Golgi transport of secretory membrane proteins. *Mol. Biol. Cell.* **17** (4), 1593–1605. doi 10.1091/mbc.e05-02-0100
29. Muller M.P., Jiang T., Sun C., Lihan M., Pant S., Mahinthichaichan P., Trifan A., Tajkhorshid E. 2019. Characterization of lipid-protein interactions and lipid-mediated modulation of membrane protein function through molecular simulation. *Chem. Rev.* **19**, 6086–6161. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00608>
30. Enkavi G., Javanainen M., Kulig W., Róg T., Vattulainen I. 2019. Multiscale simulations of biological membranes: The challenge to understand biological phenomena in a living substance. *Chem Rev.* **119**, 5607–5774. doi 10.1021/acs.chemrev.8b00538refs
31. Bogdanov M., Dowhan W. 2021. Functional roles of lipids in biological membranes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Eds. Ridgway N.D., McLeod R.S. 7th Edition. Elsevier, p. 1–51. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824048-9.00020-1>
32. Pike L.J. 2003. Lipid rafts: Bringing order to chaos. *J. Lipid Res.* **44** (4), 655–667. doi 10.1194/jlr.R200021-JLR200
33. Helms J.B., Zurzolo C. 2004. Lipids as targeting signals: Lipid rafts and intracellular trafficking. *Traffic*. **5** (4), 247–254. doi 10.1111/j.1600-0854.2004.0181.x
34. Pralle A., Keller P., Florin E.L., Simons K., Hörber J.K. 2000. Sphingolipid-cholesterol rafts diffuse as small entities in the plasma membrane of mammalian cells. *J. Cell Biol.* **148** (5), 997–1008. doi 10.1083/jcb.148.5.997
35. Schumann J., Leichtle A., Thiery J., Fuhrmann H. 2011. Fatty acid and peptide profiles in plasma membrane and membrane rafts of PUFA supplemented RAW264.7 macrophages. *PLoS One*. **6** (8), e24066. doi 10.1371/journal.pone.0024066
36. Stillwell W. 2006. The role of polyunsaturated lipids in membrane raft function. *Scand. J. Food Nutr.* **50**, 107–113. doi 10.1080/17482970601066165
37. Brown M.S., Goldstein J.L. 1986. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. **232**, 34–47.
38. Ikonen E., Zhou X. 2021. Cholesterol transport between cellular membranes: A balancing act between interconnected lipid fluxes. *Dev. Cell*. **56** (10), 1430–1436. doi 10.1016/j.devcel.2021.04.025
39. Ikonen E., 2018. Mechanisms of cellular cholesterol compartmentalization: Recent insights. *Curr. Opin. Cell Biol.* **53**, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2018.06.002>
40. Steck T.L., Tabei S.M.A., Lange Y. 2021. A basic model for cell cholesterol homeostasis. *Traffic*. **22** (12), 471–481. doi 10.1111/tra.12816
41. Mesmin B., Maxfield F.R. 2009. Intracellular sterol dynamics. *Biochim. Biophys. Acta*. **1791** (7), 636–645. doi 10.1016/j.bbalip.2009.03.002
42. Albi E., Viola Magni M.P. 2004. The role of intranuclear lipids. *Biol Cell*. **96** (8), 657–667. doi 10.1016/j.biolcel.2004.05.004
43. Silva I.T.G., Fernandes V., Souza C., Treptow W., Santos G.M. 2017. Biophysical studies of cholesterol effects on chromatin[S]. *J. Lipid Res.* **58** (5), 934–940. <https://doi.org/10.1194/jlr.M074997>
44. Rossi G., Magni M.V., Albi E. 2007. Sphingomyelin-cholesterol and double stranded RNA relationship in the intranuclear complex. *Arch. Biochem. Biophys.* **459** (1), 27–32. doi 10.1016/j.abb.2006.11.020
45. Cascianelli G., Villani M., Tosti M., Marini F., Bartoccini E., Magni M.V., Albi E. 2008. Lipid microdomains in cell nucleus. *Mol. Biol. Cell.* **19** (12), 5289–5295. doi 10.1091/mbc.e08-05-0517
46. Martelli A.M., Falà F., Faenza I., Billi A.M., Cappelletti A., Manzoli L., Cocco L. 2004. Metabolism and signaling activities of nuclear lipids. *Cell Mol. Life Sci.* **61** (10), 1143–1156. doi 10.1007/s00018-004-3414-7
47. Brown M.S., Goldstein J.L. 1990. Atherosclerosis. Scavenging for receptors. *Nature*. **343** (6258), 508–509. doi 10.1038/343508a0
48. Smith J.R., Osborne T.F., Goldstein J.L., Brown M.S. 1990. Identification of nucleotides responsible for enhancer activity of sterol regulatory element in low density lipoprotein receptor gene. *J. Biol. Chem.* **265** (4), 2306–2610.
49. Hua X., Yokoyama C., Wu J., Briggs M.R., Brown M.S., Goldstein J.L., Wang X. 1993. SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol

- regulatory element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **90**, 11603–11607.
50. Shimomura I., Bashmakov Y., Shimano H., Horton J.D., Goldstein J.L., Brown M.S. 1997. Cholesterol feeding reduces nuclear forms of sterol regulatory element binding proteins in hamster liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **94** (23), 12354–12359. doi 10.1073/pnas.94.23.12354
51. Goldstein J.L., Brown M.S. 2009. The LDL receptor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **29** (4), 431–438. doi 10.1161/ATVBAHA.108.179564
52. Briggs M.R., Yokoyama C., Wang X., Brown M.S., Goldstein J.L. 1993. Nuclear protein that binds sterol regulatory element of low-density lipoprotein receptor promoter. I. Identification of the low-density delineation of its target nucleotide sequence. *J. Biol. Chem.* **268** (19), 14490–14496.
53. Vance J.E. 2022. Cellular itinerary of LDL cholesterol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **119** (6), e2122584119. doi 10.1073/pnas.2122584119
54. Trinh M.N., Brown M.S., Goldstein J.L., Han J., Vale G., McDonald J.G., Seemann J., Mendell J.T., Lu F. 2020. Last step in the path of LDL cholesterol from lysosome to plasma membrane to ER is governed by phosphatidylserine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **117** (31), 18521–18529. doi 10.1073/pnas.2010682117
55. Ercan B., Naito T., Koh D.H.Z., Dharmawan D., Saheki Y. 2021. Molecular basis of accessible plasma membrane cholesterol recognition by the GRAM domain of GRAMD1b. *EMBO J.* **40** (6), e106524. doi 10.15252/embj.2020106524
56. Sandhu J., Li S., Fairall L., Pfisterer S.G., Gurnett J.E., Xiao X., Weston T.A., Vashi D., Ferrari A., Orozco J.L., Hartman C.L., Strugatsky D., Lee S.D., He C., Hong C., Jiang H., Bentolila L.A., Gatta A.T., Levine T.P., Ferng A., Lee R., Ford D.A., Young S.G., Ikonen E., Schwabe J.W.R., Tontonoz P. 2018. Aster proteins facilitate nonvesicular plasma membrane to ER cholesterol transport in mammalian cells. *Cell*. **175** (2), 514–529, e20. doi 10.1016/j.cell.2018.08.033
57. Prin W.A., Toulmay A., Balla T. 2020. The functional universe of membrane contact sites. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **21** (1), 7–24. doi 10.1038/s41580-019-0180-9
58. Bohnert M. 2020. Tether me, tether me not---dynamic organelle contact sites in metabolic rewiring. *Dev. Cell*. **54** (2), 212–225. doi 10.1016/j.devcel.2020.06.026
59. Steck T.L., Lange Y. 2010. Cell cholesterol homeostasis: Mediation by active cholesterol. *Trends Cell Biol.* **20** (11), 680–687. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.08.007>
60. Das A., Brown M.S., Anderson D.D., Goldstein J.L., Radhakrishnan A. 2014. Three pools of plasma membrane cholesterol and their relation to cholesterol homeostasis. *Elife*. **3**, e02882. doi 10.7554/eLife.02882
61. Infante R.E., Radhakrishnan A. 2017. Continuous transport of a small fraction of plasma membrane cholesterol to endoplasmic reticulum regulates total cellular cholesterol. *Elife*. **6**, e25466. doi 10.7554/eLife.25466
62. Endapally S., Frias D., Grzemska M., Gay A., Tomchick D.R., Radhakrishnan A. 2019. Molecular discrimination between two conformations of sphingomyelin in plasma membranes. *Cell*. **176** (5), 1040–1053.e17. doi 10.1016/j.cell.2018.12.042
63. Makino A., Abe M., Ishitsuka R., Murate M., Kishimoto T., Sakai S., Hullin-Matsuda F., Shimada Y., Inaba T., Miyatake H., Tanaka H., Kurahashi A., Pack C.G., Kasai R.S., Kubo S., Schieber N.L., Dohmae N., Tochio N., Hagiwara K., Sasaki Y., Aida Y., Fujimori F., Kigawa T., Nishibori K., Parton R.G., Kusumi A., Sako Y., Anderluh G., Yamashita M., Kobayashi T., Greimel P., Kobayashi T. 2017. A novel sphingomyelin/cholesterol domain-specific probe reveals the dynamics of the membrane domains during virus release and in Niemann–Pick type C. *FASEB J.* **31** (4), 1301–1322. doi 10.1096/fj.201500075R
64. Howe V., Sharpe L.J., Alexopoulos S.J., Kunze S.V., Chua N.K., Li D., Brown A.J. 2016. Cholesterol homeostasis: How do cells sense sterol excess? *Chem. Phys. Lipids*. **199**, 170–178.
65. Hille B., Dickson E.J., Kruse M., Vivas O., Suh B.-Ch. 2015. Phosphoinositides regulate ion channels. *Biochim Biophys Acta – Mol. Cell Biol. Lipids*. **1851** (6), 844–856. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014>
66. Kelly R.A., O'Hara D.S., Mitch W.E., Smith T.W. 1986. Identification of NaK-ATPase inhibitors in human plasma as nonesterified fatty acids and lysophospholipids. *J. Biol. Chem.* **261** (25), 11704–11711.
67. Erion D.M., Shulman G.I. 2010. Diacylglycerol mediated insulin resistance. *Nat. Med.* **16** (4), 400–402. doi 10.1038/nm0410-400
68. Claret M., Garay R., Giraud F. 1978. The effect of membrane cholesterol on the sodium pump in red blood cells. *J. Physiol.* **274**, 247–263. doi 10.1113/jphysiol.1978.sp012145
69. Yoda S., Yoda A. 1987. Phosphorylated intermediates of Na,K-ATPase proteoliposomes controlled by bilayer cholesterol. Interaction with cardiac steroid. *J. Biol. Chem.* **262** (1), 103–109.
70. Hossain K.R., Clarke R.J. 2019. General and specific interactions of the phospholipid bilayer with P-type ATPases. *Biophys Rev.* **11** (3), 353–364. doi 10.1007/s12551-019-00533-2
71. Garcia A., Lev B., Hossain K.R., Gorman A., Diaz D., Pham T.H.N., Cornelius F., Allen T.W., Clarke R.J. 2019. Cholesterol depletion inhibits Na⁺,K⁺-ATPase activity in a near-native membrane environment. *J. Biol. Chem.* **294** (15), 5956–5969. doi 10.1074/jbc.RA118.006223
72. Levitan I., Fang Y., Rosenhouse-Dantsker A., Romanenko V. 2010. Cholesterol and ion channels. *Subcell. Biochem.* **51**, 509–549. doi 10.1007/978-90-481-8622-8_19

73. Thompson M.J., Baenziger J.E. 2020. Ion channels as lipid sensors: From structures to mechanisms. *Nat. Chem. Biol.* **16** (12), 1331–1342. doi 10.1038/s41589-020-00693-3
74. Bukiya A.N., Durdagi S., Noskov S., Rosenhouse-Dantsker A. 2017. Cholesterol up-regulates neuronal G protein-gated inwardly rectifying potassium (GIRK) channel activity in the hippocampus. *J. Biol. Chem.* **292** (15), 6135–6147. doi 10.1074/jbc.M116.753350
75. Poveda J.A., Giudici A.M., Renart M.L., Molina M.L., Montoya E., Fernández-Carvajal A., Fernández-Ballster G., Encinar J.A., González-Ros J.M. 2014. Lipid modulation of ion channels through specific binding sites. *Biochim. Biophys. Acta.* **1838** (6), 1560–1567. doi 10.1016/j.bbamem.2013.10.023
76. Zwijssen R.M., Oudenhoven I.M., de Haan L.H. 1992. Effects of cholesterol and oxysterols on gap junctional communication between human smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.* **28** (2–3), 115–120. doi 10.1016/0926-6917(92)90020-d
77. Verrecchia F., Sarrouilhe D., Hervé J.C. 2001. Nongenomic steroid action: Inhibiting effects on cell-to-cell communication between rat ventricular myocytes. *Exp. Clin. Cardiol.* **6** (3), 124–131.
78. Dunina-Barkovskaya A.Y. 2005. Are gap junctions lipid–protein rafts? *Biologicheskie Membrany* (Rus.). **22** (1), 27–33.
79. Cibelli A., Scemes E., Spray D.C. 2022. Activity and stability of Panx1 channels in astrocytes and neuroblastoma cells are enhanced by cholesterol depletion. *Cells.* **11**, 3219. <https://doi.org/10.3390/cells11203219>
80. Coddou C., Yan Z., Obsil T., Huidobro-Toro J.P., Stojilkovic S.S. 2011. Activation and regulation of purinergic P2X receptor channels. *Pharmacol. Rev.* **63** (3), 641–683. doi 10.1124/pr.110.003129.5
81. Murrell-Lagnado R.D. 2017. Regulation of P2X purinergic receptor signaling by cholesterol. *Curr. Top. Membr.* **80**, 211–232. doi 10.1016/bs.ctm.2017.05.004
82. Bennett P.J., Simmonds M.A. 1996. The influence of membrane cholesterol on the GABAA receptor. *Br. J. Pharmacol.* **117** (1), 87–92. doi 10.1111/j.1476-5381.1996.tb15158.x
83. Hénin J., Salari R., Murlidaran S., Brannigan G. 2014. A predicted binding site for cholesterol on the GABAA receptor. *Biophys. J.* **106** (9), 1938–1949. doi 10.1016/j.bpj.2014.03.024
84. Cherezov V., Rosenbaum D.M., Hanson M.A., Rasmussen S.G., Thian F.S., Kobilka T.S., Choi H.J., Kuhn P., Weis W.I., Kobilka B.K., Stevens R.C. 2007. High resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science.* **318** (5854), 1258–1265. doi 10.1126/science.1150577
85. Kiriakidi S., Kolocouris A., Liapakis G., Ikram S., Durdagi S., Mavromoustakos T. 2019. Effects of cholesterol on GPCR function: Insights from computational and experimental studies. In: *Direct mechanisms in cholesterol modulation of protein function, advances in experimental medicine and biology*. Eds. Rosenhouse-Dantsker A., Bukiya A.N. Springer Nature Switzerland AG, p. 1135. https://doi.org/10.1007/978-3-030-14265-0_5
86. Genheden G., Essex J.W., Lee A.G. 2017. G protein coupled receptor interactions with cholesterol deep in the membrane. *Biochim. Biophys. Acta.* **1859**, 268–281.
87. Saxena R., Chattopadhyay A. 2012. Membrane cholesterol stabilizes the human serotonin(1A) receptor. *Biochim. Biophys. Acta.* **1818** (12), 2936–2942. doi 10.1016/j.bbamem.2012.07.032
88. Sarkar P., Mozumder S., Bej A., Mukherjee S., Sengupta J., Chattopadhyay A. 2020. Structure, dynamics and lipid interactions of serotonin receptors: Excitements and challenges. *Biophys. Rev.* **13** (1), 101–122. doi 10.1007/s12551-020-00772-8
89. Santiago J., Guzmán G.R., Rojas L.V., Martí R., Asmar-Rovira G.A., Santana L.F., McNamee M., Lalsalde-Dominicci J.A. 2001. Probing the effects of membrane cholesterol in the *Torpedo californica* acetylcholine receptor and the novel lipid-exposed mutation alpha C418W in *Xenopus* oocytes. *J. Biol. Chem.* **276**, 46523–46532. doi 10.1074/jbc.M104563200
90. Vallés A.S., Barrantes F.J. 2021. Dysregulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor cholesterol crosstalk in autism spectrum disorder. *Front. Mol. Neurosci.* **14**, 744597. doi 10.3389/fnmol.2021.744597
91. Borroni V., Baier C.J., Lang T., Bonini I., White M.M., Garbus I., Barrantes F.J. 2007. Cholesterol depletion activates rapid internalization of submicron-sized acetylcholine receptor domains at the cell membrane. *Mol. Membr. Biol.* **24** (1), 1–15. doi 10.1080/09687860600903387
92. Antonini A., Caioli S., Saba L., Vindigni G., Biocca S., Canu N., Zona C. 2018. Membrane cholesterol depletion in cortical neurons highlights altered NMDA receptor functionality in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis Dis.* **1864** (2), 509–519. doi 10.1016/j.bbadis.2017.11.008
93. Yao L., Wells M., Wu X., Xu Y., Zhang L., Xiong W. 2020. Membrane cholesterol dependence of cannabinoid modulation of glycine receptor. *FASEB J.* **34** (8), 10920–10930. doi 10.1096/fj.201903093R
94. Kwiatkowska K., Frey J., Sobota A. 2003. Phosphorylation of FcγRIIA is required for the receptor-induced actin rearrangement and capping: The role of membrane rafts. *J. Cell Sci.* **116**, 989–998.
95. Febbraio M., Hajjar D.P., Silverstein R.L. 2001. CD36: A class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J. Clin. Invest.* **108**, 785–791. doi 10.1172/JCI200114006
96. Han J., Hajjar D.P., Tauras J.M., Nicholson A.C. 1999. Cellular cholesterol regulates expression of the

- macrophage type B scavenger receptor, CD36. *J. Lipid Res.* **40**, 830–838.
97. McGilvray I.D., Serghides L., Kapus A., Rotstein O.D., Kain K.C. 2000. Nonopsonic monocyte/macrophage phagocytosis of *Plasmodium falciparum*-parasitized erythrocytes: A role for CD36 in malarial clearance. *Blood*. **96**, 3231–3240.
 98. Grouleff J., Irudayam S.J., Skeby K.K., Schiøtt B. 2015. The influence of cholesterol on membrane protein structure, function, and dynamics studied by molecular dynamics simulations. *Biochim. Biophys. Acta — Biomembranes*. **1848** (9), 1783–1795. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.03.029>
 99. Oh H., Mohler E.R. III, Tian A., Baumgart T., Diamond S.L. 2009. Membrane cholesterol is a biomechanical regulator of neutrophil adhesion. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **29**, 1290–1297.
 100. Sitrin R.G., Sassanella T.M., Landers J.J., Petty H.R. 2010. Migrating human neutrophils exhibit dynamic spatiotemporal variation in membrane lipid organization. *Amer. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **43**, 498–506.
 101. Lajoie P., Nabi I.R. 2007. Regulation of raft dependent endocytosis. *J. Cell Mol. Med.* **11** (4), 644–653.
 102. Cho Y.Y., Kwon O.H., Chung S. 2020. Preferred endocytosis of amyloid precursor protein from cholesterol-enriched lipid raft microdomains. *Molecules*. **25** (23), 5490. doi 10.3390/molecules25235490
 103. Thiele C., Hannah M.J., Fahrenholz F., Huttner W.B. 2000. Cholesterol binds to synaptophysin and is required for biogenesis of synaptic vesicles. *Nat. Cell Biol.* **2**, 42–49. doi 10.1038/71366
 104. Bryan A.M., Farnoud A.M., Mor V., Del Poeta M. 2014. Macrophage cholesterol depletion and its effect on the phagocytosis of *Cryptococcus neoformans*. *J. Vis. Exp.* **94**, 52432. doi 10.3791/52432
 105. Baranova I.N., Kurlander R., Bocharov A.V., Vishnyakova T.G., Chen Z., Remaley A.T., Csako G., Patterson A.P., Eggerman T.L. 2008. Role of human CD36 in bacterial recognition, phagocytosis, and pathogen-induced JNK-mediated signaling. *J. Immunol.* **181**, 7147–7156.
 106. Дунина-Барковская А.Я., Вишнякова Х.С., Баратова Л.А., Радюхин В.А. 2019. Модуляция холестерина-зависимой активности макрофагов IC-21 пептидом, содержащим два CRAC-мотива из белка M1 вируса гриппа. *Биол. мембраны*. **36** (4), 271–280.
 107. Дунина-Барковская А.Я., Вишнякова Х.С. 2020. Модуляция холестерина-зависимой активности макрофагов IC-21 CRAC-содержащими пептидами с заменами мотивообразующих аминокислот. *Биол. мембраны*. **37** (5), 381–395.
 108. Maltan L., Andova A.M., Derler I. 2022. The role of lipids in CRAC channel function. *Biomolecules*. **12** (3), 352. doi 10.3390/biom12030352
 109. Derler I., Jardin I., Stathopoulos P.B., Muik M., Fahrner M., Zayats V., Pandey S.K., Poteser M., Lackner B., Absolonova M., Schindl R., Groschner K., Ettrich R., Ikura M., Romanin C. 2016. Cholesterol modulates Orai1 channel function. *Sci. Signal.* **9**, ra10. doi 10.1126/scisignal.aad7808
 110. Bohórquez-Hernández A., Gratton E., Pacheco J., Asanov A., Vaca L. 2017. Cholesterol modulates the cellular localization of Orai1 channels and its disposition among membrane domains. *Biochim. Biophys. Acta*. **1862**, 1481–1490. doi 10.1016/j.bbalip.2017.09.005
 111. Kovarova M., Wassif C., Odom S., Liao K., Porter F.D., Rivera J. 2006. Cholesterol deficiency in a mouse model of Smith–Lemli–Opitz syndrome reveals increased mast cell responsiveness. *J. Exp. Med.* **203**, 1161–1171. doi 10.1084/jem.20051701
 112. Pacheco J., Dominguez L., Hernandez A.B., Asanov A., Vaca L. 2016. A cholesterol-binding domain in STIM1 modulates STIM1–Orai1 physical and functional interactions. *Sci. Rep.* **6**, 29634. doi 10.1038/srep29634
 113. Li H., Papadopoulos V. 1998. Peripheral-type benzodiazepine receptor function in cholesterol transport. Identification of a putative cholesterol recognition/interaction amino acid sequence and consensus pattern. *Endocrinology*. **139**, 4991–4997. doi 10.1016/s0039-128x(96)00154-7
 114. Jamin N., Neumann J.M., Ostuni M.A., Vu T.K., Yao Z.X., Murail S., Robert J.C., Giatzakis C., Papadopoulos V., Lacapère J.J. 2005. Characterization of the cholesterol recognition amino acid consensus sequence of the peripheral-type benzodiazepine receptor. *Mol. Endocrinol.* **19** (3), 588–594. doi 10.1210/me.2004-0308
 115. Fantini J., Barrantes F.J. 2013. How cholesterol interacts with membrane proteins: An exploration of cholesterol-binding sites including CRAC, CARC, and tilted domains. *Front. Physiol.* **4**, 31. doi 10.3389/fphys.2013.00031
 116. Listowski M.A., Leluk J., Kraszewski S., Sikorski A.F. 2015. Cholesterol interaction with the MAGUK protein family member, MPP1, via CRAC and CRAC like motifs: An in silico docking analysis. *PLoS One*. **10** (7), e0133141. doi 10.1371/journal.Pone.0133141
 117. Fantini J., Epand R.M., Barrantes F.J. 2019. Cholesterol recognition motifs in membrane proteins. In: *Direct mechanisms in cholesterol modulation of protein function*. Eds. Rosenhouse-Dantsker A., Bukiya A. Series Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer. **1135**, 3–25. doi 10.1007/978-3-030-14265-0_1
 118. Rajagopalan L., Greeson J.N., Xia A., Liu H., Sturm A., Raphael R.M., Davidson A.L., Oghalai J.S., Pereira F.A., Brownell W.E. 2007. Tuning of the outer hair cell motor by membrane cholesterol. *J. Biol. Chem.* **282** (50), 36659–36670. doi 10.1074/jbc.M705078200
 119. Purcell E.K., Liu L., Thomas P.V., Duncan R.K. 2011. Cholesterol influences voltage-gated calcium channels

- and BK-type potassium channels in auditory hair cells. *PLoS One*. **6** (10), e26289. doi 10.1371/journal.pone.0026289
120. Zidovetzki R., Levitan I. 2007. Use of cyclodextrins to manipulate plasma membrane cholesterol content: Evidence, misconceptions and control strategies. *Biochim. Biophys. Acta*. **1768**, 1311–1324. doi 10.1016/j.bbamem.2007.03.026
 121. Kurkov S.V., Loftsson T. 2013. Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* **453** (1), 167–180. doi 10.1016/j.ijpharm.2012.06.055
 122. Singh A.K., McMillan J., Bukiya A.N., Burton B., Parrill A.L., Dopico A.M. 2012. Multiple cholesterol recognition/interaction amino acid consensus (CRAC) motifs in cytosolic C tail of Slo1 subunit determine cholesterol sensitivity of Ca^{2+} - and voltage-gated K^+ (BK) channels. *J. Biol. Chem.* **287** (24), 20509–20521. doi 10.1074/jbc.M112.356261
 123. Albert A.D., Boesze-Battaglia K. 2005. The role of cholesterol in rod outer segment membranes. *Prog. Lipid Res.* **44** (2–3), 99–124. doi 10.1016/j.plipres.2005.02.001
 124. Boesze-Battaglia K., Fliesler S.J., Albert A.D. 1990. Relationship of cholesterol content to spatial distribution and age of disc membranes in retinal rod outer segments. *J. Biol. Chem.* **265**, 18867–18870.
 125. Andrews L.D., Cohen A.I. 1979. Freeze-fracture evidence for the presence of cholesterol in particle-free patches of basal disks and the plasma membrane of retinal rod outer segments of mice and frogs. *J. Cell Biol.* **81**, 215–228.
 126. Niu S.L., Mitchell D.C., Litman B.J. 2002. Manipulation of cholesterol levels in rod disk membranes by methyl-beta-cyclodextrin: Effects on receptor activation. *J. Biol. Chem.* **277**, 20139–20145. doi 10.1074/jbc.M200594200
 127. Park P.S. 2021. Supramolecular organization of rhodopsin in rod photoreceptor cell membranes. *Pflügers Arch.* **473** (9), 1361–1376. doi 10.1007/s00424-021-02522-5
 128. Albert A.D., Boesze-Battaglia K., Paw Z., Watts A., Epand R.M. 1996. Effect of cholesterol on rhodopsin stability in disk membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. **1297** (1), 77–82. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(96\)00102-1](https://doi.org/10.1016/0167-4838(96)00102-1)
 129. Островский М.А. 2024. Проект “Родопсин”. *Биол. мембраны*. **41** (3).
 130. Dunina-Barkovskaya A. 2023. Influenza virus and cholesterol: Touch points and potential consequences for the host cell. *Med. Res. Arch.* **11** (9). <https://doi.org/10.18103/mra.v11i9.4399>
 131. Dunina-Barkovskaya A. 2021. Cholesterol recognition motifs (CRAC) in the S protein of coronavirus: A possible target for antiviral therapy? In: *Management of Dyslipidemia*. Ed. Aronow W.S. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.95977>
 132. Nayak D.P., Hui E.K.-W., Barman S. 2004. Assembly and budding of influenza virus. *Virus. Res.* **106**, 147–165. doi 10.1016/j.virusres.2004.08.012
 133. Chazal N., Gerlier D. 2003. Virus entry, assembly, budding, and membrane rafts. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **67** (2), 226–237. doi 10.1128/mmbr.67.2.226-237.2003
 134. Jones J.E., Le Sage V., Lakdawala S.S. 2020. Viral and host heterogeneity and their effects on the viral life cycle. *Nat. Rev. Microbiol.* **6**, 1–11. doi 10.1038/s41579-020-00449-9
 135. Navaratnarajah C.K., Warriar R., Kuhn R.J. 2008. Assembly of viruses: Enveloped particles. *Encyclopedia of Virology*, 193–200. doi 10.1016/B978-012374410-4.00667-1
 136. Zhang J., Pekosz A., Lamb R.A. 2000. Influenza virus assembly and lipid raft microdomains: A role for the cytoplasmic tails of the spike glycoproteins. *J. Virol.* **74**, 4634–4644. doi 10.1128/jvi.74.10.4634-4644.2000
 137. Rawat S.S., Viard M., Gallo S.A., Rein A., Blumenthal R., Puri A. 2003. Modulation of entry of enveloped viruses by cholesterol and sphingolipids (Review). *Mol. Membr. Biol.* **20** (3), 243–254. doi 10.1080/0968768031000104944
 138. Nayak D.P., Hui E.K. 2004. The role of lipid microdomains in virus biology. *Subcell. Biochem.* **37**, 443–491. doi 10.1007/978-1-4757-5806-1_14
 139. Frensing T., Kupke S.Y., Bachmann M., Fritzsche S., Gallo-Ramirez L.E., Reichl U. 2016. Influenza virus intracellular replication dynamics, release kinetics, and particle morphology during propagation in MDCK cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100** (16), 7181–7192. doi 10.1007/s00253-016-7542-4
 140. Radenkovic D., Chawla S., Pirro M., Sahebkar A., Banach M. 2020. Cholesterol in relation to COVID-19: Should we care about it? *J. Clin. Med.* **9**, 1909. doi 10.3390/jcm9061909
 141. Hu X., Chen D., Wu L., He G., Ye W. 2020. Declined serum high density lipoprotein cholesterol is associated with the severity of COVID-19 infection. *Clin. Chim. Acta*. **510**, 105–110. doi 10.1016/j.cca.2020.07.015
 142. Hanson J.M., Gettel D.L., Tabaei S.R., Jackman J., Kim M.C., Sasaki D.Y., Groves J.T., Liedberg B., Cho N.-J., Parikh A.N. 2016. Cholesterol-enriched domain formation induced by viral encoded, membrane-active amphipathic peptide. *Biophys. J.* **110**, 176–187. doi 10.1016/j.bpj.2015.11.032
 143. Cheng G., Montero A., Gastaminza P., Whitten-Bauer C., Wieland S.F., Isogawa M., Fredericksen B., Selvarajah S., Gallay P.A., Ghadiri M.R., Chisari F.V. 2008. A virocidal amphipathic α -helical peptide that inhibits hepatitis C virus infection in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**, 3088–3093. doi 10.1073/pnas.0712380105
 144. Hildebrandt E., Mcgee D.J. 2009. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide modification, Lewis antigen expression, and gastric colonization are

- cholesterol-dependent. *BMC Microbiol.* **9**, 258. doi 10.1186/1471-2180-9-258
145. Morey P., Pfannkuch L., Pang E., Boccellato F., Sigal M., Imai-Matsushima A., Dyer V., Koch M., Mollenkopf H.J., Schlaermann P., Meyer T.F. 2018. *Helicobacter pylori* depletes cholesterol in gastric glands to prevent interferon gamma signaling and escape the inflammatory response. *Gastroenterology*. **154**, 1391–1404. doi 10.1053/j.gastro.2017.12.008
146. Baj J., Forma A., Sitarz M., Portincasa P., Garruti G., Krasowska D., Maciejewski R. 2020. *Helicobacter pylori* virulence factors mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. *Cells*. **10** (1), 27. doi 10.3390/cells10010027
147. Rella A., Farnoud A.M., Del Poeta M. 2016. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. *Prog Lipid Res.* **61**, 63–72. doi 10.1016/j.plipres.2015.11.003
148. Joffrion T.M., Cushion M.T. 2010. Sterol biosynthesis and sterol uptake in the fungal pathogen *Pneumocystis carinii*. *FEMS Microbiol Lett.* **311** (1), 1–9. doi 10.1111/j.1574-6968.2010.02007.x
149. Griffin J.E., Pandey A.K., Gilmore S.A., Mizrahi V., McKinney J.D., Bertozzi C.R., Sasseti C.M. 2012. Cholesterol catabolism by *Mycobacterium tuberculosis* requires transcriptional and metabolic adaptations. *Chem. Biol.* **19** (2), 218–227. doi 10.1016/j.chembiol.2011.12.016
150. Bonds A.C., Sampson N.S. 2018. More than cholesterol catabolism: Regulatory vulnerabilities in *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **44**, 39–46. doi 10.1016/j.cbpa.2018.05.012
151. Ouellet H., Johnston J.B., de Montellano P.R. 2011. Cholesterol catabolism as a therapeutic target in *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol.* **19** (11), 530–539. doi 10.1016/j.tim.2011.07.009
152. Maguire P.A., Sherman I.W. 1990. Phospholipid composition, cholesterol content and cholesterol exchange in *Plasmodium falciparum*-infected red cells. *Mol. Biochem. Parasitol.* **38**, 105–112. doi 10.1016/0166-6851(90)90210-d
153. Ahiya A.I., Bhatnagar S., Morrissey J.M., Beck J.R., Vaidya A.B. 2022. Dramatic consequences of reducing erythrocyte membrane cholesterol on *Plasmodium falciparum*. *Microbiol Spectr.* **10** (1), e0015822. doi 10.1128/spectrum.00158-22
154. Maier A.G., van Ooij C. 2022. The role of cholesterol in invasion and growth of malaria parasites. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **12**, 984049. doi 10.3389/fcimb.2022.984049
155. Samuel B.U., Mohandas N., Harrison T., McManus H., Rosse W., Reid M., Haldar K. 2001. The role of cholesterol and glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins of erythrocyte rafts in regulating raft protein content and malarial infection. *J. Biol. Chem.* **276**, 29319–29329. <https://doi.org/10.1074/jbc.M101268200>
156. Glinsky G.V. 2020. Tripartite combination of candidate pandemic mitigation agents: Vitamin D, quercetin, and estradiol manifest properties of medicinal agents for targeted mitigation of the COVID-19 pandemic defined by genomics guided tracing of SARS-CoV-2 targets in human cells. *Biomedicines*. **8** (5), 129. doi 10.3390/biomedicines8050129
157. Cinatl J., Morgenstern B., Bauer G., Chandra P., Rabenau H., Doerr H.W. 2003. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *Lancet*. **361**, 2045–2046. doi 10.1016/s0140-6736(03)13615-x
158. Gao Y., Ye S., Tang Y., Tong W., Sun S. 2023. Brain cholesterol homeostasis and its association with neurodegenerative diseases. *Neurochem Int.* **171**, 105635. doi 10.1016/j.neuint.2023.105635
159. Auld D.S., Kornecook T.J., Bastianetto S., Quirion R. 2002. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: Relations to beta amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Prog. Neurobiol.* **68**, 209–245.
160. Schliebs R., Arendt T. 2006. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *J. Neural. Transm. (Vienna Austria)*. **113**, 1625–1644. doi 10.1007/s00702-006-0579-2
161. Valencia A., Reeves P.B., Sapp E., Li X., Alexander J., Kegel K.B., Chase K., Aronin N., DiFiglia M. 2010. Mutant huntingtin and glycogen synthase kinase 3-beta accumulate in neuronal lipid rafts of a presymptomatic knock-in mouse model of Huntington's disease. *J. Neurosci. Res.* **88**, 179–190.
162. Jin U., Park S.J., Park S.M. 2019. Cholesterol metabolism in the brain and its association with Parkinson's disease. *Exp. Neurobiol.* **28** (5), 554–567. doi 10.5607/en.2019.28.5.554
163. Hartmann H., Ho W.Y., Chang J.C., Ling S.C. 2022. Cholesterol dyshomeostasis in amyotrophic lateral sclerosis: Cause, consequence, or epiphenomenon? *FEBS J.* **289** (24), 7688–7709. doi 10.1111/febs.16175
164. Fukui K., Ferris H.A., Kahn C.R. 2015. Effect of cholesterol reduction on receptor signaling in neurons. *J. Biol. Chem.* **290** (44), 26383–26392. doi 10.1074/jbc.M115.664367
165. Andronie-Cioară F.L., Jurcău A., Jurcău M.C., Nistor-Cseppentő D.C., Simion A. 2022. Cholesterol management in neurology: Time for revised strategies? *J. Pers. Med.* **12**, 1981. <https://doi.org/10.3390/jpm12121981>
166. Shobab L.A., Hsiung G.Y.R., Feldman H.H. 2005. Cholesterol in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* **4** (12), 841–852. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70248-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70248-9)
167. Ji S.R., Wu Y., Sui S.F. 2002. Cholesterol is an important factor affecting the membrane insertion of beta-amyloid peptide (Aβ1–40), which may potentially inhibit the fibril formation. *J. Biol. Chem.* **277** (8), 6273–6279. doi 10.1074/jbc.M104146200

168. Vallés A.S., Barrantes F.J. 2021. Dysregulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor cholesterol crosstalk in autism spectrum disorder. *Front. Mol. Neurosci.* **14**, 744597. doi 10.3389/fnmol.2021.744597
169. Borroni V., Baier C.J., Lang T., Bonini I., White M.M., Garbus I., Barrantes F.J. 2007. Cholesterol depletion activates rapid internalization of sub-micronized acetylcholine receptor domains at the cell membrane. *Mol. Membr. Biol.* **24** (1), 1–15. doi 10.1080/09687860600903387
170. Valencia A., Reeves P.B., Sapp E., Li X., Alexander J., Kegel K.B., Chase K., Aronin N., DiFiglia M. 2010. Mutant huntingtin and glycogen synthase kinase 3-beta accumulate in neuronal lipid rafts of a presymptomatic knock-in mouse model of Huntington's disease. *J. Neurosci. Res.* **88**, 179–190.
171. Vanier M.T. 2010. Niemann–Pick disease type C. *Orphanet J. Rare Dis.* **5**, 16. doi 10.1186/1750-1172-5-16
172. Matsuo M., Togawa M., Hirabaru K., Mochinaga S., Narita A., Adachi M., Egashira M., Irie T., Ohno K. 2013. Effects of cyclodextrin in two patients with Niemann–Pick Type C disease. *Mol. Genet. Metab.* **108** (1), 76–81. doi 10.1016/j.ymgme.2012.11.005

Cell Membrane Cholesterol and Regulation of Cellular Processes: New and the Same Old Thing

© 2024 г. А. У. Дунина-Барковская^{1, *}

¹*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997 Russia*

**e-mail: dunina.aya@gmail.com*

Membranes of living cells, or biological membranes, are unique molecular systems in which the functioning of all molecules is interdependent and coordinated, and disruption of this coordination can be fatal for the cell. One example of such coordination and mutual regulation is the functioning of membrane proteins, whose activity depends on their interaction with membrane lipids. This review summarizes the facts about the importance of the cholesterol component of cell membranes for the normal functioning of membrane proteins and the whole cell. This lipid component provides fine regulation of a variety of cellular functions and provides clues to understanding changes in the activity of a number of proteins under various physiologic and pathologic conditions. This review provides examples of cholesterol-dependent membrane proteins and cellular processes and discusses their role in several pathologies. Understanding the mechanisms of cholesterol-protein interactions represents a significant resource for the development of drugs that affect the cholesterol-protein interface.

Keywords: cholesterol, cell membrane, cholesterol-dependent proteins, cholesterol recognizing/interaction amino-acid consensus (CRAC), cholesterol-binding motifs