

УДК 577.352.335:612.017.11/2]578.834.1"SARS-CoV-2"

DOI: 10.36604/1998-5029-2023-89-146-158

РОЛЬ ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В ИММУННОЙ СИСТЕМЕ И ИНФИЦИРОВАНИИ КЛЕТОК SARS-CoV-2

Е.М.Устинов, И.А.Андриевская, К.С.Лязгиян

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии
и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Гликофинголипиды – соединения, состоящие из гидрофильных сахарных структур и гидрофобных церамидов. Эти молекулы образуют липидные рафты или микродомены в мембране клеток совместно с холестерином, сфингомиелином, гликозилфосфатидилинозитолом и молекулами, что определяет их свойства. **Цель.** Систематизация данных о структуре липидных рафтов, их участии в функционировании иммунокомпетентных клеток и развитии иммунного ответа, механизмах вирусной инвазии SARS-CoV-2. **Материалы и методы.** С этих позиций проанализированы литературные источники за 1981-2023 годы. Поиск литературы проводился в информационных системах PubMed и Google Scholar. **Результаты.** Имеются отдельные работы, в которых отражена роль липидных рафтов как посредников сигнальной трансдукции при развитии врожденного и адаптивного иммунного ответа. В других работах описывается их значение во взаимодействии патоген-хозяин и избегания иммунного контроля. В последнее время появились исследования по влиянию липидных микродоменов клеточной мембраны на вирусную инвазию, в том числе вызванную SARS-CoV-2. **Заключение.** Настоящий обзор вносит существенный вклад в понимание роли липидных рафтов в функционировании иммунной системы и вирусной инвазии, что определяет перспективы дальнейших исследований и возможности их использования как терапевтических мишеней в создании иммуномодулирующих лекарственных препаратов.

Ключевые слова: липидные рафты, гликофинголипиды, врожденный и адаптивный иммунитет, SARS-CoV-2.

THE ROLE OF LIPID RAFTS IN THE IMMUNE SYSTEM AND SARS-CoV-2 CELL INVASION

E.M.Ustinov, I.A.Andrievskaya, K.S.Lyazgiyan

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000,
Russian Federation

SUMMARY. Introduction. Glycosphingolipids are compounds composed of hydrophilic sugar structures and hydrophobic ceramides. These molecules form lipid rafts or microdomains in the cell membrane together with cholesterol, sphingomyelin, glycosylphosphatidylinositol and molecules, which determines their properties. **Aim.** To systematize data on the structure of lipid rafts, their involvement in the functioning of immunocompetent cells and the development of the immune response, and the mechanisms of SARS-CoV-2 viral invasion. **Materials and methods.** From these positions, literary sources for 1981-2023 are analyzed. Literature search was carried out in information systems: PubMed and Google Scholar. **Results.** There are separate works that reflect the role of lipid rafts as mediators of signal transduction in the development of innate and adaptive immune responses. Other studies describe their importance in pathogen-host interaction and avoidance of immune control. Recently, studies have appeared on the effect of lipid microdomains of the cell membrane on viral invasion, including that caused by SARS-CoV-2. **Conclusion.** This review makes a significant contribution to

Контактная информация

Егор Михайлович Устинов, лаборант-исследователь, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: eustinov.asma@gmail.com

Correspondence should be addressed to

Egor M. Ustinov, Research Laboratory Assistant, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: eustinov.asma@gmail.com

Для цитирования:

Устинов Е.М., Андриевская И.А., Лязгиян К.С. Роль липидных рафтов в иммунной системе и инфицировании клеток SARS-CoV-2 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2023. Вып.89. С.146–158. DOI: 10.36604/1998-5029-2023-89-146-158

For citation:

Ustinov E.M., Andrievskaya I.A., Lyazgiyan K.S. The role of lipid rafts in the immune system and SARS-CoV-2 cell invasion. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2023; (89):146–158 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2023-89-146-158

understanding the role of lipid rafts in the functioning of the immune system and viral invasion, which determines the prospects for further research and the possibility of their use as therapeutic targets in the development of immunomodulatory drugs.

Keywords: lipid rafts, glycosphingolipids, innate and adaptive immunity, SARS-CoV-2.

Гликофинголипиды (ГСЛ) представляют собой соединения, состоящие из гидрофильных сахарных структур и гидрофобных церамидов [1]. Церамиды, являющиеся гидрофобной частью ГСЛ, взаимодействуют с системами стерол-кольцо холестерина через силы Ван-дер-Ваальса и водородные связи [2]. Кроме того, цис-взаимодействия между сахарными фрагментами ГСЛ облегчают их координацию с другими компонентами клеточной мембраны. Эти коммуникации приводят к образованию липидных рафтов, также известных как микродомены клеточной мембраны, которые содержат холестерин, ГСЛ, сфингомиелин, гликозилфосфатидилинозитол и заякоренные в мембране молекулы [3].

Обогащенные ГСЛ липидные рафты играют важную роль в функционировании врожденной и адаптивной иммунной систем. Врожденная и адаптивная иммунные системы выполняют функцию поддержания устойчивости организма к инфекционным патогенам, но они функционально отличаются друг от друга [4].

Врожденные иммунные реакции являются начальным этапом защиты организма от инфекционных патогенов, таких как вирусы, бактерии и грибы. Исследования показали, что многие вирусы, бактерии и бактериальные токсины связываются с углеводными компонентами ГСЛ на поверхности клеток-хозяев [5]. Также выявлено, что некоторые гликолипиды являются компонентами функциональных рецепторов микроорганизмов и бактериальных токсинов. Например, лактозилцерамид (LacCer), который является нейтральным ГСЛ, образует обогащенные липидные рафты с LacCer на поверхности нейтрофилов человека и играет важную роль во врожденных иммунных реакциях на бактериальные патогены. Эти результаты показывают, что ГСЛ могут служить прямыми и функциональными рецепторами для патогенных лигандов [6].

Помимо своей роли в качестве функциональных рецепторов, ГСЛ могут контактировать с другими рецепторами через цис-взаимодействия. Например, липидные рафты, образованные ганглиозидом GM3 (сигнализирующим ГСЛ), связаны с рецептором инсулина в адипоцитах [7]. GM1 вступает во взаимосвязь с белком TrkA и регулирует его функцию. Также было обнаружено, что GM1 взаимодействует с рецептором серотонина-1A, связанным с G-белком, через специфический сфинголипид-связывающий домен, что указывает на роль GM1 в нейродегенеративных заболеваниях. Врожденный иммунный ответ на фагоцитоз неопсонизированных микроорганизмов, таких как микобактерии, в нейтрофилах человека регулируется совместным действием интегрина $\alpha\text{M}\beta\text{2}$

(CD11b/CD18) и обогащенных липидных рафтов с LacCer при участии киназы Lyn (тирозин-протеинкиназа Lyn) семейства Src (Src-семейство киназ). Эти наблюдения указывают на то, что обогащенные ГСЛ липидные рафты регулируют функции рецепторов и влияют на разнообразные физиологические процессы [8].

Показана их роль в адаптивном иммунитете. Гликофинголипиды являются основными эндогенными лигандами NK-клеток, через посредство которых может изменяться цитотоксическая функция последних [9]. Также отмечено участие ГЛС в развитии аутоиммунных заболеваний [9].

Дальнейшие исследования роли обогащенных ГСЛ липидных рафтов в иммунной системе позволят глубже понять их функциональные свойства и влияние на развитие инфекционных и аутоиммунных заболеваний.

Роль гликофинголипид-обогащенных липидных рафтов во врожденном иммунитете

Обогащенные ГСЛ липидные рафты на мембранах иммунных клеток выступают в роли функциональных рецепторов распознавания образов (PRR) при инфицировании патогенами. LacCer и ганглиозиды идентифицируют специфические для патогенов углеводные структуры. Эти ГСЛ опосредуют множество физиологических реакций, включая хемотаксис, фагоцитоз, продукцию цитокинов, апоптоз и аутофагию. Активация врожденного иммунного ответа осуществляется путем взаимодействия патоген-ассоциированных молекул (PAMP) с паттерн распознающими рецепторами (PRR), экспрессируемыми на клетках врожденного иммунитета. PRR классифицируются на основе их функций. Toll-подобные рецепторы являются примерами PRR, которые дифференцируют различные PAMP и активируют воспалительные реакции через сигнальные каскады [10].

Помимо гликопротеинов мембраны клетки, ГСЛ, такие как LacCer и GM1, присутствующие в липидных рафтах, также могут связываться и распознавать PAMP. LacCer, например, способен вступать в связь с PAMP микробных и грибных клеток, включая бета-глюкан кандиды растворимых клеточных оболочек (CSBG) и микобактериальный липоарабиноманнан (LAM). Липидные плоты, обогащенные LacCer, также играют роль в активации дендритных клеток человека пневмоцистными бета-глюканами и высвобождении ИЛ-23 [11].

CSBG стимулирует миграцию нейтрофилов человека, и этот процесс может быть подавлен ингибиторами PP1 (4-amino-5-(4-methylphenyl)-7-(t-butyl)pyrazolo[3,4-d]-

pyrimidine) киназ семейства Src или липосомами, содержащими LacCer. Однако капсульный полисахарид *Streptococcus suis*, наоборот, ингибирует LacCer опосредованный макрофагальный фагоцитоз [12].

Недавние исследования показали, что манноз-капированный LAM (ManLAM) от *Mycobacterium tuberculosis* и фосфо-миоинозитол LAM (PILAM) от *Mycobacterium smegmatis* активируют фагоцитоз через интегрин $\alpha M\beta 2$ и фосфорилирование Lyn-киназы у нейтрофилов человека [13].

Эти данные подтверждают, что обогащенные LacCer липидные рафты действуют не только как сигнализирующие PRR, вызывающие воспалительные реакции, но и как фагоцитарные PRR, которые индуцируют и поддерживают фагоцитоз микроорганизмов.

Передача сигналов с помощью гликосфинголипид-обогащенных липидных рафтов

На клеточных мембранах существуют различные кластеры или домены, состоящие из белков, жиров и углеводов. Липидные рафты являются одним из типов мембранных доменов. Они образуются благодаря особенностям физико-химических свойств ГСЛ и латеральных взаимодействий между компонентами мембраны. Липидные рафты представляют собой области мембраны с более высокой концентрацией ГСЛ и других связанных с ними молекул, таких как пальмитоилированные белки [14]. Оказалось, что некоторые белки не могут свободно перемещаться по всей мембране, а ограничены внутри липидных рафтов. Это ограничение может быть связано с их аффинностью к ГСЛ или другим компонентам липидных рафтов. Некоторые из этих белков включают киназы семейства Src и малые G-белки [15].

Обогащенные ГСЛ липидные рафты имеют важное значение для передачи сигналов в клетке. Исследования, связанные с организацией и функциями обогащенных ГСЛ липидных рафтов, часто включают изучение одного из типов – LacCer. LacCer избирательно экспрессируется в плазме и на мембранах нейтрофилов человека и часто формирует липидные рафты вместе с другими молекулами [13].

На плазматических мембранах цепь жирных кислот C24 LacCer напрямую взаимодействует с Lyn и Gai. Это взаимодействие между лигандом и кластерами LacCer обеспечивает передачу сигналов от внешней среды к внутренней части клетки. Интересно, что исследования с использованием иммуоэлектронной микроскопии показали, что только одна четверть обогащенных LacCer липидных рафтов связана с Lyn на клеточных мембранах. Это указывает на присутствие различных типов липидных рафтов, обогащенных LacCer, на отдельных мембранах [16].

На мембранах фагосом нейтрофилов присутствуют два различных липидных рафта, обогащенных LacCer, а именно Lyn-связанные и Hck-связанные LacCer-обо-

гащенные липидные рафты. Только Hck-ассоциированные обогащенные LacCer липидные рафты способны участвовать в образовании фаголизосом. Интересно, что Hck отсутствует в обогащенных LacCer липидных рафтах покоящихся нейтрофилов.

Таким образом, функции, опосредованные LacCer во время фагоцитоза, требуют реорганизации обогащенных LacCer липидных рафтов и их ассоциации с соответствующими молекулами в процессе созревания фагосом. LacCer должен собираться с соответствующими молекулами для формирования различных типов липидных рафтов, каждый из которых может выражать разные молекулярные паттерны и выполнять различные функции на одной и той же мембране [13].

Вопрос о том, может ли LacCer в липидных рафтах обеспечивать передачу сигнала, остается неясным. При индукции линии клеток HL-60 (острого миелоидного лейкоза человека) диметилсульфоксидом для их дифференцировки в клетки нейтрофильного происхождения, полученные клетки D-HL-60 проявляют активность в генерации супероксида, но не способны фагоцитировать микроорганизмы в неопсонизированных условиях. На плазматических мембранах клеток D-HL-60 LacCer состоит в основном из C16:0-LacCer с небольшим количеством C24-LacCer. В отличие от этого, на плазматических мембранах нейтрофилов человека основными молекулярными видами LacCer являются C24:0-, C24:1- и C16:0-LacCer. Взаимодействия между жирнокислотными цепями C24 LacCer и пальмитиновыми цепями Lyn и Gai, вероятно, играют важную роль в формировании LacCer-обогащенных липидных рафтов, которые передают сигналы снаружи внутрь [16].

Интегрин $\alpha M\beta 2$ участвует в иммунологических функциях нейтрофилов и макрофагов, таких как адгезия, миграция, хемотаксис и фагоцитоз опсонизированных и неопсонизированных микроорганизмов [17]. У данного интегрин отсутствует каталитический мотив, отвечающий за передачу сигналов внутри клетки. Вместо этого киназы семейства Src играют роль в передаче сигналов, связанных с функциями, индуцированными интегрином $\alpha M\beta 2$ [18]. Интегрин $\alpha M\beta 2$ инициирует врожденный иммунный ответ путем взаимодействия с несколькими лигандами. Субъединица αM может связываться не только с C3bi, но и с некоторыми видами РАР, включая β -глюкан и ЛПС [19]. На плазматических мембранах покоящихся нейтрофилов интегрин $\alpha M\beta 2$ и LacCer-обогащенные липидные рафты находятся близко друг к другу, но не совмещены. После связывания лиганда с субъединицей αM , интегрин $\alpha M\beta 2$ перемещается к LacCer-обогащенным липидным рафтам, связанным с Lyn. Эксперименты по подавлению генов показали, что активация не опсонизированными микроорганизмами, опосредованная интегрином $\alpha M\beta 2$, зависит от LacCer-обогащенных липидных рафтов, связанных с Lyn, в нейтрофилах человека [13]. Эти данные свидетельствуют о том, что LacCer-обогащен-

ные липидные рафты, связанные с Lyn, действуют как платформы передачи сигналов для молекул, лишенных сигнальных мотивов, таких как интегрин $\alpha\text{M}\beta 2$.

Опосредованное гликофинголипидами липидных рафтов уклонение от иммунного ответа внутриклеточных патогенов

Опсонизированные микроорганизмы, покрытые опсонинами, такими как компоненты комплемента C3b и иммуноглобулин G (IgG), эффективно поглощаются фагоцитами. Внутриклеточные патогены, включая *Listeria*, *Salmonella* и *Mycobacteria*, активно взаимодействуют с липидными рафтами и белковыми PRR на плазматических мембранах хозяина. Выделяются патогенные микобактерии, которые использовали липидные рафты и PRR для проникновения в фагоциты даже без опсонизации. Эти внутриклеточные патогены обладают способностью выживать внутри клеток, манипулируя различными сигнальными путями. После поглощения фагоцитами внутриклеточные патогены могут ингибировать слияние лизосом с фагосомами, содержащими микроорганизмы, либо избегать слияния с фагоцитарными везикулами и достигать цитозоля. Лизосомы, содержащие пищеварительные ферменты, успешно сливаются с опсонизированными фагосомами, содержащими *Mycobacterium tuberculosis*, но не с фагосомами, содержащими неопсонизированные бактерии [20, 21].

Нейтрофилы фагоцитируют микобактерии у человека через Lyn-ассоциированные липидные рафты, обогащенные LacCer, и интегрин $\alpha\text{M}\beta 2$. Однако судьба фагоцитированных бактерий различается в зависимости от их патогенности. Фагоцитоз непатогенных микобактерий нейтрофилами приводит к слиянию лизосом с фагосомами, содержащими бактерии. В отличие от этого, патогенные микобактерии, поглощенные нейтрофилами, предотвращают слияние лизосом с фагосомами, что позволяет им выживать внутри нейтрофилов [22, 23].

На мембранах гранул нейтрофилов имеется высокая концентрация липидных рафтов, обогащенных LacCer. Эти липидные рафты также присутствуют на мембранах фагосом, содержащих бактерии. Киназа Hck, принадлежащая к семейству Src, играет важную роль в слиянии лизосом с фагосомами. Hck взаимодействует с липидными рафтами, обогащенными LacCer, на мембране фагосом, содержащих непатогенную микобактерию *Mycobacterium gordonae*, но не взаимодействует с фагосомами, содержащими патогенные *Mycobacterium avium* [13].

Молекулярные связи между Hck и обогащенными LacCer липидными рафтами также наблюдаются на фагосомах, содержащих непатогенные PILAM-производные *Mycobacterium smegmatis*, но не наблюдаются у патогенных ManLAM-производных от *Mycobacterium tuberculosis*. Поэтому считается, что маннозный кэп-мотив Man-LAM мешает образованию ассоциаций Hck

с обогащенными LacCer липидными рафтами на фагосомных мембранах. Таким образом, ManLAM, полученные от патогенных микобактерий, могут влиять на реорганизацию обогащенных LacCer липидных рафтов на мембране фагосомы, нарушая ассоциацию Hck с доменами LacCer. Это приводит к усилению способности микобактерий избегать уничтожения нейтрофилами [13, 21].

Роль гликофинголипид-обогащенных липидных рафтов в специфическом иммунитете

Т-клетки играют незаменимую роль в клеточно-опосредованном иммунитете и проходят дифференциацию в различные субпопуляции в тимусе. Активация Т-клеток через Т-клеточные антигенные рецепторы (TCR) требует вовлечения как мембранных молекул, включая стимулирующие рецепторы, так и внутриклеточных молекул, участвующих в передаче сигнала в липидные рафты. Т-клетки дифференцируются в хелперные Т-клетки (CD4^+), которые характеризуются экспрессией CD4 на своей клеточной поверхности, и цитотоксические Т-клетки (CD8^+), которые имеют CD8 на своей клеточной мембране. CD4^+ и CD8^+ Т-клетки выполняют различные иммунологические функции и имеют сходные механизмы передачи сигналов, опосредованных TCR, через определенные внутриклеточные пути. Клетки CD4^+ и CD8^+ также экспрессируют разные типы ганглиозидов на различных уровнях. В данном разделе мы рассмотрим специфические функции ганглиозидов, связанных с гликановой структурой, которые участвуют в активации CD4^+ и CD8^+ Т-клеток [24].

Роль гликофинголипид-обогащенных липидных рафтов в развитии Т-клеток

Клетки-предшественники, происходящие из костного мозга, созревают в тимусе, превращаясь в обычные Т-клетки. В тимусе развивающиеся Т-клетки, известные как тимоциты, могут быть условно разделены на четыре подгруппы в зависимости от экспрессии специфических поверхностных маркеров CD4 и CD8: DN ($\text{CD4}^-\text{CD8}^-$), DP ($\text{CD4}^+\text{CD8}^+$), CD4SP ($\text{CD4}^+\text{CD8}^-$) и CD8SP ($\text{CD4}^-\text{CD8}^+$). Подгруппа DN считается наименее зрелой, может быть дополнительно разделена на четыре подстадии, от DN1 до DN4. Важной для развития тимоцитов является стадия DN3. На этой стадии гены цепи TCR β проходят продуктивную перестройку, что приводит к экспрессии пред-TCR, стимулирующего выживание клеток, их пролиферацию и экспрессию как CD4, так и CD8 корецепторов [25].

В отличие от передачи сигналов TCR в зрелых Т-клетках, передача сигналов пред-TCR в клетках DN3 не требует распознавания главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) и антигена на антигенпрезентирующих клетках. Скорее, пред-TCR может автономно передавать сигналы, опираясь на способность рТ α ком-

понента пред-TCR спонтанно образовывать олигомеры [26]. Пред-TCR может быть пальмитоилирован и частично обогащен липидными рафтами. Окрашивание с использованием CTx, с последующей сортировкой клеток с помощью флуоресцентно-активированной клеточной сортировки, показало, что экспрессия ганглиозидов выше в подгруппе DN, чем в DP и SP популяциях, причем наиболее высокая экспрессия ганглиозидов наблюдается на стадиях DN3-DN4 по сравнению с другими популяциями тимоцитов. Было показано, что ганглиозиды, реагирующие на CTx (GM1 и расширенный-GM1b), совместно локализуются с участками пред-TCR на поверхности клеток DN. Эти данные свидетельствуют о возможности того, что ганглиозиды, реагирующие на CTx, могут способствовать кластеризации пред-TCR в липидных рафтах, обогащенных ганглиозидами [27].

Фосфорилирование киназы ZAP-70 после активации пред-TCR может быть отменено с помощью обработки метил- β -циклодекстрина (M β CD), которая широко используется для диссоциации липидных рафтов. Направленное пальмитоилирование молекулы калнексина, связанной с CD3 ζ , сигнальным компонентом комплекса пред-TCR, в липидных рафтах клеток DN, в которых отсутствует рекомбиназа Rag, приводит к дальнейшему развитию клеток DN [28]. Однако мутированные формы пред-TCR, лишенные предполагаемых сайтов пальмитоилирования или всех внутриклеточных доменов, обладают нормальной сигнальной активностью пред-TCR. Необходимы дальнейшие исследования для лучшего понимания физиологических функций ганглиозидов в передаче сигналов пред-TCR и развитии клеток DN [25].

Передача сигналов пред-TCR связана с выживанием и пролиферацией клеток, а также с экспрессией корецепторов CD4 и CD8. Полученные клетки называются DP-тимocyтами. После перестройки TCR клетки DP экспрессируют зрелые TCR и подвергаются положительной и отрицательной селекции, чтобы стать зрелыми клетками CD4 и CD8 SP, соответственно. Поскольку клетки DP имеют меньше липидных рафтов, содержащих ГСЛ и сфингомиелин, чем тимocyты любой другой стадии развития, профили и функции липидных рафтов в клетках DP остаются неясными. Опосредованная TCR активация, такая как рекрутирование сигнальных молекул в иммунологические синапсы при позитивной селекции клеток DP, не связана с накоплением CTx-реагирующих ганглиозидов [29].

Клетки DN4 у мышей без TCR демонстрировали больший ответ Ca²⁺, чем клетки DP, при стимуляции антителом против TCR. Вынужденная экспрессия на эпителии тимуса CD80, костимулирующей молекулы, взаимодействующей с CD28 на тимocyтах, вызывает накопление GM1 в месте контакта между тимocyтами и эпителием тимуса, а также снижение позитивного отбора и усиление апоптозного негативного отбора [30]. Эти результаты предполагают, что клетки DP имеют

более высокий сигнальный порог для активации TCR и, следовательно, требуют более сильной стимуляции, чем клетки DN, поскольку структура и динамика липидных рафтов на клетках DP ограничены сниженной доступностью ганглиозидов и сфингомиелина.

Хотя направленное разрушение гена синтазы GlcCer (GlcCerS) в тимocyтах ранней стадии DN приводило к почти полному исчезновению ГСЛ, полученных из GlcCer, обычное развитие Т-клеток не затрагивалось. Вероятно, это было вызвано способностью следовых количеств ГСЛ образовывать специфические микродомены и индуцировать опосредованную TCR передачу сигнала. В качестве альтернативы это могло быть связано с наличием микродомена сфингомиелина, необходимого для опосредованного TCR развития DN-тимocyтов, поскольку активация анти-CD3-антителом индуцировала накопление сфингомиелина в микродомене, содержащем TCR [31].

Роль гликосфинголипид-обогащенных липидных рафтов в активации Т-клеток через Т-клеточный рецептор (TCR)

Антигенпрезентирующие клетки, несущие комплексы ГКГС-пептид, представляют пептидные антигены для TCR на Т-клетках, вызывая активацию Т-клеток. CD4 и CD8 молекулы на Т-клетках связываются с неполиморфными областями ГКГС и облегчают передачу сигналов. Во время активации TCR вместе с CD4 или CD8 на клеточной мембране и их внутриклеточные сигнальные белки должны быть перемещены в специфическую область клеточной мембраны, называемую липидными рафтами. Липидные рафты состоят из сфингомиелина и холестерина в качестве основных липидных компонентов рафтов и ГСЛ или ганглиозидов в качестве второстепенных, но значимых компонентов. Холестерин взаимодействует с углеводородными цепями сфинголипидов, скрепляет рафты как «клей» и играет критическую роль в поддержании текучести мембран [32].

Важные аспекты экспрессии ганглиозидов Т-клеток можно наблюдать у мышей с нокаутом синтазы GM3 (GM3S^{-/-}) и с нокаутом синтазы GM2/GD2 (GM2/GD2S^{-/-}). GM3S переносит сialовую кислоту на остаток галактозы LacCer для создания GM3, простейшей молекулы ганглиозидов «А-серии». GM2/GD2S переносит N-ацетилгалактозамин (GalNAc) в LacCer, GM3 или GD3 и экспрессирует GA2, GM3 и GD2. У мышей дикого типа (WT) экспрессия GM1a А-серии CD4⁺ Т-клеток выше, чем CD8⁺ Т-клеток. Напротив, экспрессия GM1b О-серии, GalNAc-GM1b и расширенного GM1b выше в CD8⁺ Т-клетках, чем в CD4⁺ Т-клетках. TCR-индуцированная пролиферация и продукция цитокинов были сильно нарушены в CD4⁺ Т-клетках GM3S^{-/-} мышей, и эти дефекты могут быть устранены предварительной обработкой клеток GM3 и GM1a, но не В-серии, ганглиозидами. Тяжелое нарушение

TCR-зависимой пролиферации и продукции цитокинов также можно наблюдать в Т-клетках мышей GM2/GD2S^{-/-}, и эти дефекты также устранялись предварительной обработкой клеток ганглиозидами О-серии или их предшественниками GSL, GM1b и GA1, но не с ганглиозидами А- или В-серии. Эти наблюдения указывают на то, что субпопуляции CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток имеют специфические домены рафтов, состоящие из разных видов ганглиозидов, и это различие лежит в основе различной функции стимуляции TCR этих двух субпопуляций. Предлагается интересная возможность, поскольку CD4 может взаимодействовать со структурой гликана, общей для GM3 и GM1a, Siaβ2-3Galβ1-4Glc, а CD8 – со структурой GM1b и GA1, Galβ1-3GalNAcβ1-4Galβ1-4Glc [33].

Другой возможностью является участие керамидных структур этих ганглиозидов. Анализ жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии показал, что GM1a и b, GD1, GalNAc-GM1b и удлинённый GM1b несут керамиды, состоящие из d18:1-16:0, -18:0, -20:0, -22:0, -24:1 и -24:0. Керамидные структуры этих ганглиозидов не так сильно различались между CD4⁺ и CD8⁺ клетками, за исключением более высокого содержания d18:1-22:0-носителей ганглиозидов в CD8⁺ клетках. Критична ли эта разница для предпочтения ганглиозидов CD4 и CD8? Эти возможности необходимо рассмотреть, и для этого незаменимым подходом станет дальнейшее развитие визуализирующей масс-спектрометрии, способной охватить значения m/z этих ганглиозидов с гораздо более высокой чувствительностью. CD4 и CD8 локализуются на липидных рафтах путем пальмитоилирования, процесса, во время которого ацильные цепи присоединяются к белкам, но локализация рафтов определяется не только этим процессом [34, 35].

Чтобы обеспечить перемещение CD4 и CD8 в специфические и правильные места на мембране, эти молекулы, вероятно, должны взаимодействовать с рафтами, несущими специфические ганглиозиды. Принимая во внимание эти вопросы, специфические роли отдельных ганглиозидов в регуляции мембранного микроокружения еще предстоит определить, как критически важный молекулярный механизм для поддержания мембранных функций.

Роль GM1 в передаче сигналов В-клеточного рецептора (BCR)

Важность В-клеточных антигенных рецепторов (BCR) для клональной селекции и дифференциации В-клеток в плазматические клетки неоспорима. Зрелые В-клетки экспрессируют не только IgM-тип BCR, но и IgD-тип BCR. Их антигенсвязывающие сайты идентичны, но различаются изоформы связанных с мембраной тяжелых цепей. Исследования показывают, что мембранные липидные рафты, богатые ганглиозидом GM1, играют роль в передаче сигналов BCR и связанных с ними иммунных функций В-лимфоцитов [36].

В покоящихся В-клетках IgM-BCR не находится в непосредственной близости к обогащенным GM1 липидным рафтам, в то время как IgD-BCR располагается рядом с этими липидными доменами. Стимуляция BCR приводит к перемещению IgM-BCR в обогащенные GM1 липидные рафты, в процессе, зависимом от кавеолина-1, тогда как IgD-BCR исключается из этих липидных доменов. Это приводит к формированию кластеров IgM и IgD BCR. Механизмы, которыми организуются нанокластеры IgM и IgD в обогащенных GM1 липидных рафтах и их влияние на передачу сигналов BCR, до сих пор остаются неизвестными [37].

Роль липидных рафтов в вирусной инвазии на примере SARS-CoV-2

Липидные рафты играют важную роль в жизненном цикле вируса, поскольку они участвуют в процессах слияния оболочек, эндоцитоза, почкования и высвобождения вирионов [38]. У вирусов с оболочкой, таких как SARS-CoV-2, фактически есть два основных механизма внутренней интеграции: слияние и эндоцитоз [39]. В первом случае шипы вирусных гликопротеинов взаимодействуют с поверхностными клеточными рецепторами, обеспечивая связь между вирусами и клеточными мембранами [40]. После этого шага вирусы получают прямой доступ к клетке-хозяину, хотя успешная инфекция также зависит от pH внеклеточной среды, жесткости мембраны и плотности рецепторов, корецепторов и вирусных гликопротеинов.

Во втором случае вирусы интегрируются в везикулы плазматической мембраны, которые сливаются с эндосомами. Липидные рафты являются необходимыми для компартментализации рецепторов плазматической мембраны, а также для инвагинации везикул, содержащих вирусы [41].

Что касается SARS-CoV-2, исследования показали, что спайковый белок связывается с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента (ACE2) на клеточной поверхности для проникновения вирусной частицы, а также использует трансмембранную протеазу серин 2 (TMPRSS2) для активации белка [42]. Шипиковый белок SARS-CoV-2 также может быть активирован фурином, ферментом из семейства субтилизин-подобных протеиназ-конвертаз. Исследования показали, что расщепление шипикового белка, осуществляемое TMPRSS2, является важным шагом для проникновения SARS-CoV-2 в клетку-хозяина [43].

Таким образом, SARS-CoV-2 попадет в эндосомы через внутриклеточный транспорт, которые в конечном итоге сливаются со зрелыми лизосомами посредством pH-зависимого механизма. Этот процесс имеет решающее значение для высвобождения генома вирусной РНК в цитоплазму клетки-хозяина. Хотя исследования *in vitro* показали, что ACE2 совместно локализуется с тяжелой цепью клатрина в неплотных доменах [44], а клатрин-опосредованный эндоцитоз является наиболее распространенным механизмом проникновения коро-

навирусов. Существует значительное количество данных, свидетельствующих о том, что ACE2 и TMPRSS2 находятся в липидных рафтах [41]. Это может объяснять предпочтение SARS-CoV-2 к транспорту, опосредованному кавеолами, при внедрении в целевые клетки. Транспорт, осуществляемый через кавеолы, был описан для многих вирусов, включая *Simian virus 40 (SV40)*, который прямо связывается с ГСЛ [45].

Несколько исследований *in vitro* также показали, что коронавирусы могут заражать клетки с помощью эндоцитоза, опосредованного кавеолами [46]. В этом случае липидные рафты играют важную роль, особенно на ранних стадиях вирусной инфекции. Интересно, что биоинформатические модели продемонстрировали, что белки SARS-CoV, включая шипиковый белок, содержат как минимум 8 предполагаемых мотивов, способных взаимодействовать с кавеолином-1 [47]. Было также обнаружено, что замена ACE2 в среде без липидных рафтов после истощения холестерина в клетках Vero E6 снижает инфекционность псевдотипированного SARS-CoV на 90% [48].

В отличие от клатриновых везикул, которые теряют клатриновую оболочку, кавеосомы сохраняют содержимое кавеолина (и, следовательно, свою идентичность) при слиянии с эндосомами, и это свойство, вероятно, играет важную роль в сортировке вирусов. Кроме того, небольшая GTP-аза Rab5, связанная с плазматической мембраной и ранними эндосомами, может определять судьбу лиганда в эндосомах как при клатриновом, так и при кавеолярном транспорте. Интересно, что эндоцитоз, опосредованный клатрином и кавеолами, представляет собой два активно взаимодействующих механизма, которые могут влиять друг на друга [49].

Кроме того, доклинические данные подтверждают тесную связь между содержанием мембранного холестерина, экспрессией АТФ-связывающего кассетного транспортера A1 (ABCA1) и предрасположенностью к вирусным инфекциям. Например, активация ABCA1, которая зависит от потери холестерина и дезорганизации липидных рафтов, связана со снижением инфекционности вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Сверхэкспрессия ABCA1, кажется, препятствует распознаванию и представлению ВИЧ дендритными клетками чувствительным Т-клеткам, тем самым снижая трансинфекцию. Другие эксперименты с ВИЧ показали, что рафты также могут играть важную роль в формировании вирусологических синапсов, восстановления вириона и сборке белков Env и Gag. Однако роль ABCA1 в инфекции SARS-CoV-2 остается неизвестной. [50]

Используя клетки Vero E6, H.Wang et al. [51] показали, что разрушение плотного и неплотного холестерина с помощью метил- β -циклодекстрина (M β CD) дозозависимо ингибирует инфекционность псевдови-

руса SARS-CoV, в то время как использование флиппина или нистатина, которые более специфично препятствуют образованию кавеол, не оказывает эффекта. Авторы также не наблюдали колокализацию между вирусом и caveolin-1 в анализе двойного иммунного окрашивания, что привело к гипотезе о том, что проникновение псевдовirusа SARS-CoV может происходить по маршруту, связанному с холестерином, независимо от образования кавеол [51].

Помимо холестерина, динамин также может играть важную роль в классическом эндоцитозе, опосредованном кавеолами эндоцитозе или других неканонических путях эндоцитоза, которые были предложены в качестве альтернативных механизмов проникновения вируса. Таким образом, препараты, нацеленные на динамин, могут нарушать механизм интернализации вируса как по классическим, так и по неклассическим путям [44].

Таким образом, проникновение SARS-CoV-2 в клетки-мишени характеризуется одновременным использованием различных путей, включая пути, опосредованные кавеолами и клатрином, а также другие неканонические виды транспорта. Липидный состав, особенно содержание холестерина в плазматической мембране, и ключевые белки, такие как динамин, играют первостепенную роль в регуляции этих механизмов, поэтому они представляют потенциальные фармакологические цели.

Заключение

Настоящее исследование вносит существенный вклад в понимание роли липидных рафтов в свойствах и функции иммунных клеток, а также раскрытие механизмов вирусной инвазии. Статья обобщает данные, предоставляет основные факты и выводы, а также продвигает гипотезы, которые могут быть использованы для дальнейших фундаментальных и клинических исследований. Заслуживает особого внимания возможность использования липидных рафтов как терапевтических мишеней в снижении инфекционности SARS-CoV-2.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение №23-25-00049 от 12.01.2023 г.).

Funding Sources

The study was supported by the Russian Science Foundation (Agreement No.23-25-00049 dated 12.01.2023).

ЛИТЕРАТУРА

1. Hakomori S. Glycosphingolipids in cellular interaction, differentiation, and oncogenesis // *Annu. Rev. Biochem.* 1981. Vol.50, Iss.1. P.733–764. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.50.070181.003505>
2. Kusumi A., Fujiwara T.K., Tsunoyama T.A., Kasai R.S., Liu A., Hirosawa K.M., Kinoshita M., Matsumori N., Komura N., Ando H., Suzuki K.G. Defining raft domains in the plasma membrane // *Traffic*. 2019. Vol.21, Iss.1. P.106–137. <https://doi.org/10.1111/tra.12718>
3. Murate M., Abe M., Kasahara K., Iwabuchi K., Umeda M., Kobayashi T. Transbilayer lipid distribution in Nano Scale // *J. Cell. Sci.* 2015. Vol.128, Iss.8. P.1627–1638. <https://doi.org/10.1242/jcs.163105>
4. Iwabuchi K., Nakayama H., Oizumi A., Suga Y., Ogawa H., Takamori K. Role of ceramide from glycosphingolipids and its metabolites in immunological and inflammatory responses in humans // *Mediators Inflamm.* 2015. Vol.2015. Article number: 120748. <https://doi.org/10.1155/2015/120748>
5. Schengrund C-L. “Multivalent” Saccharides: Development of new approaches for inhibiting the effects of glycosphingolipid-binding pathogens // *Biochem. Pharmacol.* 2003. Vol.65, Iss.5. P.699–707. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)01553-8](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)01553-8)
6. Yates A., Rampersaud A. Sphingolipids as receptor modulators: An overview // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1998. Vol.845, Iss.1. P.57–71. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09662.x>
7. Kabayama K., Sato T., Saito K., Loberto N., Prinetti A., Sonnino S., Kinjo M., Igarashi Y., Inokuchi J. Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2007. Vol.104, Iss.34. P.13678–13683. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703650104>
8. Prasanna X., Jafurulla M.D., Sengupta D., Chattopadhyay A. The ganglioside GM1 interacts with the serotonin 1A receptor via the sphingolipid binding domain // *Biochim. Biophys. Acta*. 2016. Vol.1858, Iss.11. P.2818–2826. <https://doi.org/10.1016/j.bbame.2016.08.009>
9. Kumar A., Suryadevara N., Hill T.M., Bezbradica J.S., Van Kaer L., Joyce S. Natural killer T cells: An Ecological Evolutionary Developmental Biology Perspective // *Front. Immunol.* 2017. Vol.8. Article number: 1858. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01858>
10. Blander J.M., Medzhitov R. Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors // *Science*. 2004. Vol.304, Iss.5673. P.1014–1018. <https://doi.org/10.1126/science.1096158>
11. Duan Z., He Y., Wang J., Chen X., Chen Q., Li M. Candida auris induces phagocytosis, reactive oxygen species production and inflammation through TLR2, TLR4 and dectin-1 dependent signaling in macrophages // *Research Square*. 2023. Preprint (version 1). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2765520/v1>
12. Houde M., Gottschalk M., Gagnon F., Van Calsteren M-R., Segura M. Streptococcus suis capsular polysaccharide inhibits phagocytosis through destabilization of lipid microdomains and prevents lactosylceramide-dependent recognition // *Infect. Immun.* 2012. Vol.80, Iss.2. P.506–517. <https://doi.org/10.1128/IAI.05734-11>
13. Nakayama H., Kurihara H., Morita Y.S., Kinoshita T., Mauri L., Prinetti A., Sonnino S., Yokoyama N., Ogawa H., Takamori K., Iwabuchi K. Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of Mycobacteria by human neutrophils // *Sci. Signal.* 2016. Vol.9, Iss.449. Article number: ra101. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaf1585>
14. Hakomori S. Structure, organization, and function of glycosphingolipids in membrane // *Curr. Opin. Hematol.* 2003. Vol.10, Iss.1. P.16–24. <https://doi.org/10.1097/00062752-200301000-00004>
15. Álvarez R., López D.J., Casas J., Lladó V., Higuera M., Nagy T., Barceló M., Busquets X., Escribá P.V. G protein–membrane interactions I: GAI1 myristoyl and palmitoyl modifications in protein–lipid interactions and its implications in membrane microdomain localization // *Biochim. Biophys. Acta*. 2015. Vol.1851, Iss.11. P.1511–1520. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.08.001>
16. Chiricozzi E., Ciampa M.G., Brasile G., Compostella F., Prinetti A., Nakayama H., Ekyalongo R.C., Iwabuchi K., Sonnino S., Mauri L. Direct interaction, instrumental for signaling processes, between Laccase and Lyn in the lipid rafts of neutrophil-like cells // *J. Lipid Res.* 2015. Vol.56, Iss.1. P.129–141. <https://doi.org/10.1194/jlr.M055319>
17. Arnaout M. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18 // *Blood*. 1990. Vol.75, Iss.5. P.1037–1050. PMID: 1968349.
18. Piccardoni P., Manarini S., Federico L., Bagoly Z., Pecce R., Martelli N., Piccoli A., Totani L., Cerletti C., Evangelista V. SRC-dependent outside-in signalling is a key step in the process of autoregulation of beta2 integrins in polymorphonuclear cells // *Biochem. J.* 2004. Vol.380(Pt1). P.57–65. <https://doi.org/10.1042/BJ20040151>
19. Vetvicka V., Thornton B.P., Ross G.D. Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11B/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of IC3B-opsonized target cells // *J. Clin. Invest.* 1996. Vol.98, Iss.1. P.50–61. <https://doi.org/10.1172/JCI118777>
20. Kulkarni R., Wiemer E.A., Chang W. Role of lipid rafts in pathogen-host interaction – A Mini Review // *Front. Immunol.* 2022. Vol. 12, Article number: 815020. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.815020>

21. Kotzé L.A., Young C., Leukes V.N., John V., Fang Z., Walzl G., Lutz M.B., du Plessis N. Mycobacterium tuberculosis and myeloid-derived suppressor cells: Insights into caveolin rich lipid rafts // *EBioMedicine*. 2020. Vol. 53, Article number: 102670. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102670>
22. Iwabuchi K., Nakayama H., Hanafusa K. Lactosylceramide-enriched microdomains mediate human neutrophil immunological functions via carbohydrate-carbohydrate interaction // *Glycoconj. J.* 2022. Vol.39, Iss.2. P.239–246. <https://doi.org/10.1007/s10719-022-10060-0>
23. Hanafusa K., Hotta T., Iwabuchi K. Glycolipids: Linchpins in the organization and function of membrane microdomains // *Front. Cell. Dev. Biol.* 2020; Vol.8. Article number: 589799. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.589799>
24. Thomas S., Preda-Pais A., Casares S., Brumeanu T. Analysis of lipid rafts in T cells // *Mol. Immunol.* 2004. Vol.41, Iss.4. P. 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.03.022>
25. Hosokawa H., Rothenberg E.V. Cytokines, transcription factors, and the initiation of T-cell development // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2018. Vol.10, Iss.5. Article number: a028621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028621>
26. Yamasaki S., Saito T. Molecular basis for pre-tcr-mediated autonomous signaling // *Trends Immunol.* 2007. Vol.28, Iss.1. P.39–43. <https://doi.org/10.1016/j.it.2006.11.006>
27. Saint-Ruf C., Panigada M., Azogui O., Debey P., von Boehmer H., Grassi F. Different initiation of pre-TCR and $\gamma\delta$ TCR signalling // *Nature*. 2000. Vol.406, Iss.6795. P.524–527. <https://doi.org/10.1038/35020093>
28. Ferrera D., Panigada M., Porcellini S., Grassi F. Recombinase-deficient T cell development by selective accumulation of CD3 into lipid rafts // *Eur. J. Immunol.* 2008. Vol.38, Iss.4. P.1148–1156. <https://doi.org/10.1002/eji.200737917>
29. Fu G., Yu M., Chen Y., Zheng Y., Zhu W., Newman D.K., Wang D., Wen R. Phospholipase $CG1$ is required for pre-TCR signal transduction and pre-T cell development // *Eur. J. Immunol.* 2018. Vol.47, Iss.1. P.74–83. <https://doi.org/10.1002/eji.201646522>
30. Bovolenta E.R., García-Cuesta E.M., Horndler L., Ponomarenko J., Schamel W.W., Mellado M., Castro M., Abia D., van Santen H.M. A set point in the selection of the $\alpha\beta$ TCR T cell repertoire imposed by pre-TCR signaling strength // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2022. Vol.119, Iss.22. Article number: e2201907119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2201907119>
31. Popovic Z.V., Rabionet M., Jennemann R., Kronic D., Sandhoff R., Gröne H-J., Porubsky S. Glucosylceramide synthase is involved in development of invariant natural killer T cells // *Front. Immunol.* 2017. Vol.8. Article number: 848. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00848>
32. Петров А.М., Зефирова А.Л. Холестерин и липидные плотники биологических мембран. Роль в секреции, рецепции и функционировании ионных каналов // *Успехи физиологических наук*. 2013. Т.44, №1. С.17–38. EDN: QCCYEL.
33. Inokuchi J., Nagafuku M., Ohno I., Suzuki A. Distinct selectivity of gangliosides required for CD4⁺ T and CD8⁺ T cell activation // *Biochim. Biophys. Acta*. 2015. Vol.1851, Iss.1. P.98–106. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.07.013>
34. Imanishi T., Saito T. T cell co-stimulation and functional modulation by innate signals // *Trends Immunol.* 2020. Vol.41, Iss.3. P.200–212. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.01.003>
35. Chapoval A.I., Chapoval S.P., Shcherbakova N.S., Shcherbakov D.N. Immune checkpoints of the B7 family. part 2. representatives of the B7 family B7-H3, B7-H4, B7-H5, B7-H6, B7-H7, and ILDR2 and their receptors // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2019. Vol.45, Iss.5. P.321–334. <https://doi.org/10.1134/S1068162019050091>
36. Kläsener K., Maity P.C., Hobeika E., Yang J., Reth M. B cell activation involves nanoscale receptor reorganizations and inside-out signaling by Syk // *eLife*. 2014. Vol.3. Article number: e02069. <https://doi.org/10.7554/eLife.02069>
37. Minguet S., Kläsener K., Schaffer A-M., Fiala G.J., Osteso-Ibáñez T, Raute K., Navarro-Lérida I., Hartl F.A., Seidl M., Reth M., Del Pozo M.A. Caveolin-1-dependent nanoscale organization of the BCR regulates B cell tolerance // *Nat. Immunol.* 2018. Vol.18, Iss.10. P.1150–1159. <https://doi.org/10.1038/ni.3813>
38. Palacios-Rápalo S.N., De Jesús-González L.A., Cordero-Rivera C.D., Farfan-Morales C.N., Osuna-Ramos J.F., Martínez-Mier G., Quistián-Galván J., Muñoz-Pérez A., Bernal-Dolores V., del Ángel R.M., Reyes-Ruiz J.M. Cholesterol-rich lipid rafts as platforms for SARS-COV-2 entry // *Front. Immunol.* 2021. Vol.12. Article number: 796855. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.796855>
39. Llorente García I., Marsh M. A biophysical perspective on receptor-mediated virus entry with a focus on HIV // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.* 2020. Vol.1862, Iss.6. Article number: 183158. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183158>
40. Wang Y., Grunewald M., Perlman S. Coronaviruses: An updated overview of their replication and pathogenesis // *Methods Mol. Biol.* 2020. Vol.2203. P.1–29. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0900-2_1
41. Sviridov D., Miller Y.I., Ballout R.A., Remaley A.T., Bukrinsky M. Targeting lipid rafts – a potential therapy for COVID-19 // *Front. Immunol.* 2020. Vol.11. Article number: 574508. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.574508>
42. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N-H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-COV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor // *Cell*. 2020. Vol.181, Iss.2. P.271–280. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>

43. Ballout R.A., Sviridov D., Bukrinsky M.I., Remaley A.T. The lysosome: A potential juncture between SARS-CoV-2 infectivity and niemann-pick disease type C, with therapeutic implications // *FASEB J.* 2020. Vol.34, Iss.6. P.7253–7264. <https://doi.org/10.1096/fj.202000654R>
44. Owczarek K., Szczepanski A., Milewska A., Baster Z., Rajfur Z., Sarna M., Pyrc K. Early events during human coronavirus OC43 entry to the cell // *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8. Article number: 7124. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25640-0>
45. Ewers H., Helenius A. Lipid-mediated endocytosis // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011. Vol.3, Iss.8. Article number: a004721. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004721>
46. Guo H., Huang M., Yuan Q., Wei Y., Gao Y., Mao L., Gu L., Tan Y.W., Zhong Y., Liu D., Sun S. The important role of lipid raft-mediated attachment in the infection of cultured cells by coronavirus infectious bronchitis virus Beaudette strain // *PLoS One.* 2017. Vol.12, Iss.1. Article number: e0170123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170123>
47. Faisal H.M.N., Katti K.S., Katti D.R. Binding of SARS-COV-2 (COVID-19) and SARS-COV to human ACE2: Identifying binding sites and consequences on ACE2 stiffness // *Chem. Phys.* 2021. Vol.551. Article number: 111353. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2021.111353>
48. Lu Y., Liu D.X., Tam J.P. Lipid rafts are involved in SARS-COV entry into Vero E6 cells // *Biophys. Res. Commun.* 2008. Vol.369, Iss.2. P.344–349. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.02.023>
49. Chaudhary N., Gomez G.A., Howes M.T., Lo H.P., McMahon K-A., Rae J.A., Schieber N.L., Hill M.M., Gaus K., Yap A.S., Parton R.G. Endocytic crosstalk: Cavins, caveolins, and caveolae regulate clathrin-independent endocytosis // *PLoS Biol.* 2014. Vol.12, Iss.4. Article number: e1001832. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001832>
50. Jolly C., Sattentau Q.J. Human immunodeficiency virus type 1 virological synapse formation in T cells requires lipid raft integrity // *J. Virol.* 2005. Vol.79, Iss.18. P.12088–12094. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.18.12088-12094.2005>
51. Wang H., Yang P., Liu K., Guo F., Zhang Y., Zhang G., Jiang C. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway // *Cell Res.* 2008. Vol.18, Iss.2. P.290–301. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.15>

REFERENCES

1. Hakomori S. Glycosphingolipids in cellular interaction, differentiation, and oncogenesis. *Annu. Rev. Biochem.* 1981; 50(1):733–764. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.50.070181.003505>
2. Kusumi A., Fujiwara T.K., Tsunoyama T.A., Kasai R.S., Liu A., Hirosawa K.M., Kinoshita M., Matsumori N., Komura N., Ando H., Suzuki K.G. Defining raft domains in the plasma membrane. *Traffic* 2019; 21(1):106–137. <https://doi.org/10.1111/tra.12718>
3. Murate M., Abe M., Kasahara K., Iwabuchi K., Umeda M., Kobayashi T. Transbilayer lipid distribution in Nano Scale. *J. Cell. Sci.* 2015; 128(8):1627–1638. <https://doi.org/10.1242/jcs.163105>
4. Iwabuchi K., Nakayama H., Oizumi A., Suga Y., Ogawa H., Takamori K. Role of ceramide from glycosphingolipids and its metabolites in immunological and inflammatory responses in humans. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015:120748. <https://doi.org/10.1155/2015/120748>
5. Schengrund C-L. “Multivalent” Saccharides: Development of new approaches for inhibiting the effects of glycosphingolipid-binding pathogens. *Biochem. Pharmacol.* 2003; 65(5):699–707. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)01553-8](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)01553-8)
6. Yates A., Rampersaud A. Sphingolipids as receptor modulators: An overview. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1998; 845(1):57–71. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09662.x>
7. Kabayama K., Sato T., Saito K., Loberto N., Prinetti A., Sonnino S., Kinjo M., Igarashi Y., Inokuchi J. Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2007; 104(34):13678–13683. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703650104>
8. Prasanna X., Jafurulla M.D., Sengupta D., Chattopadhyay A. The ganglioside GM1 interacts with the serotonin 1A receptor via the sphingolipid binding domain. *Biochim. Biophys. Acta* 2016; 1858(11):2818–2826. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.08.009>
9. Kumar A., Suryadevara N., Hill T.M., Bezbradica J.S., Van Kaer L., Joyce S. Natural killer T cells: An Ecological Evolutionary Developmental Biology Perspective. *Front. Immunol.* 2017; 8:1858. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01858>
10. Blander J.M., Medzhitov R. Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors. *Science* 2004; 304(5673):1014–1018. <https://doi.org/10.1126/science.1096158>
11. Duan Z., He Y., Wang J., Chen X., Chen Q., Li M. Candida auris induces phagocytosis, reactive oxygen species production and inflammation through TLR2, TLR4 and dectin-1 dependent signaling in macrophages. *Research Square* 2023; preprint (version 1). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2765520/v1>
12. Houde M., Gottschalk M., Gagnon F., Van Calsteren M-R., Segura M. Streptococcus suis capsular polysaccharide inhibits phagocytosis through destabilization of lipid microdomains and prevents lactosylceramide-dependent recognition.

Infect. Immun. 2012; 80(2):506–517. <https://doi.org/10.1128/IAI.05734-11>

13. Nakayama H., Kurihara H., Morita Y.S., Kinoshita T., Mauri L., Prinetti A., Sonnino S., Yokoyama N., Ogawa H., Takamori K., Iwabuchi K. Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of Mycobacteria by human neutrophils. *Sci. Signal.* 2016; 9(449):ra101. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaf1585>

14. Hakomori S. Structure, organization, and function of glycosphingolipids in membrane. *Curr. Opin. Hematol.* 2003; 10(1):16–24. <https://doi.org/10.1097/00062752-200301000-00004>

15. Álvarez R., López D.J., Casas J., Lladó V., Higuera M., Nagy T., Barceló M., Busquets X., Escribá P.V. G protein–membrane interactions I: Gαi1 myristoyl and palmitoyl modifications in protein–lipid interactions and its implications in membrane microdomain localization. *Biochim. Biophys. Acta* 2015; 1851(11):1511–1520. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.08.001>

16. Chiricozzi E., Ciampa M.G., Brasile G., Compstell F., Prinetti A., Nakayama H., Ekyalongo R.C., Iwabuchi K., Sonnino S., Mauri L. Direct interaction, instrumental for signaling processes, between LacCer and Lyn in the lipid rafts of neutrophil-like cells. *J. Lipid Res.* 2015; 56(1):129–141. <https://doi.org/10.1194/jlr.M055319>

17. Arnaout M. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. *Blood* 1990; 75(5):1037–1050. PMID: 1968349.

18. Piccardoni P., Manarini S., Federico L., Bagoly Z., Pecce R., Martelli N., Piccoli A., Totani L., Cerletti C and Evangelista V. SRC-dependent outside-in signalling is a key step in the process of autoregulation of beta2 integrins in polymorphonuclear cells. *Biochem. J.* 2004; 380(Pt1):57–65. <https://doi.org/10.1042/BJ20040151>

19. Vetvicka V., Thornton B.P., Ross G.D. Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11B/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of IC3B-opsonized target cells. *J. Clin. Invest.* 1996; 98(1):50–61. <https://doi.org/10.1172/JCI118777>

20. Kulkarni R., Wiemer E.A., Chang W. Role of lipid rafts in pathogen-host interaction – A Mini Review. *Front. Immunol.* 2022; 12:815020. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.815020>

21. Kotzé L.A., Young C., Leukes V.N., John V., Fang Z., Walzl G., Lutz M.B., du Plessis N. Mycobacterium tuberculosis and myeloid-derived suppressor cells: Insights into caveolin rich lipid rafts. *EBioMedicine* 2020; 53:102670. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102670>

22. Iwabuchi K., Nakayama H., Hanafusa K. Lactosylceramide-enriched microdomains mediate human neutrophil immunological functions via carbohydrate-carbohydrate interaction. *Glycoconj. J.* 2022; 39(2):239–46. <https://doi.org/10.1007/s10719-022-10060-0>

23. Hanafusa K., Hotta T., Iwabuchi K. Glycolipids: Linchpins in the organization and function of membrane microdomains. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8:589799. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.589799>

24. Thomas S., Preda-Pais A., Casares S., Brumeanu T. Analysis of lipid rafts in T cells. *Mol. Immunol.* 2004; 41(4):399–409. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.03.022>

25. Hosokawa H., Rothenberg E.V. Cytokines, transcription factors, and the initiation of T-cell development. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2018; 10(5):a028621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028621>

26. Yamasaki S., Saito T. Molecular basis for pre-tcr-mediated autonomous signaling. *Trends Immunol.* 2007; 28(1):39–43. <https://doi.org/10.1016/j.it.2006.11.006>

27. Saint-Ruf C., Panigada M., Azogui O., Debey P., von Boehmer H., Grassi F. Different initiation of pre-TCR and γδTCR signalling. *Nature* 2000; 406(6795):524–527. <https://doi.org/10.1038/35020093>

28. Ferrera D., Panigada M., Porcellini S., Grassi F. Recombinase-deficient T cell development by selective accumulation of CD3 into lipid rafts. *Eur. J. Immunol.* 2008; 38(4):1148–1156. <https://doi.org/10.1002/eji.200737917>

29. Fu G., Yu M., Chen Y., Zheng Y., Zhu W., Newman D.K., Wang D., Wen R. Phospholipase Cγ1 is required for pre-TCR signal transduction and pre-T cell development. *Eur. J. Immunol.* 2018; 47(1):74–83. <https://doi.org/10.1002/eji.201646522>

30. Bovolenta E.R., García-Cuesta E.M., Horndler L., Ponomarenko J., Schamel W.W., Mellado M., Castro M., Abia D., van Santen H.M. A set point in the selection of the αβ T cell repertoire imposed by pre-TCR signaling strength. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2022; 119(22):e2201907119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2201907119>

31. Popovic Z.V., Rabionet M., Jennemann R., Krunić D., Sandhoff R., Gröne H.-J., Porubsky S. Glucosylceramide synthase is involved in development of invariant natural killer T cells. *Front. Immunol.* 2017; 8:848. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00848>

32. Petrov A.M., Zefirov A.L. [Cholesterol and lipid rafts in the biological membranes. Role in the release, reception and ion channel functions]. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk* 2013; 44(1):17–38 (in Russian).

33. Inokuchi J., Nagafuku M., Ohno I., Suzuki A. Distinct selectivity of gangliosides required for CD4+ T and CD8+ T cell activation. *Biochim. Biophys. Acta* 2015; 1851(1):98–106. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.07.013>

34. Imanishi T., Saito T. T cell co-stimulation and functional modulation by innate signals. *Trends Immunol.* 2020; 41(3):200–212. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.01.003>

35. Chapoval A.I., Chapoval S.P., Shcherbakova N.S., Shcherbakov D.N. Immune checkpoints of the B7 family. part

2. representatives of the B7 family B7-H3, B7-H4, B7-H5, B7-H6, B7-H7, and ILDR2 and their receptors. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2019; 45(5):321–334. <https://doi.org/10.1134/S1068162019050091>
36. Kläsener K., Maity P.C., Hobeika E., Yang J., Reth M. B cell activation involves nanoscale receptor reorganizations and inside-out signaling by Syk. *eLife* 2014; 3:e02069. <https://doi.org/10.7554/eLife.02069>
37. Minguet S., Kläsener K., Schaffer A.-M., Fiala G.J., Osteso-Ibáñez T., Raute K., Navarro-Lérida I., Hartl F.A., Seidl M., Reth M., Del Pozo M.A. Caveolin-1-dependent nanoscale organization of the BCR regulates B cell tolerance. *Nat. Immunol.* 2018; 18(10):1150–1159. <https://doi.org/10.1038/ni.3813>
38. Palacios-Rápalo S.N., De Jesús-González L.A., Cordero-Rivera C.D., Farfan-Morales C.N., Osuna-Ramos J.F., Martínez-Mier G., Quistián-Galván J., Muñoz-Pérez A., Bernal-Dolores V., del Ángel R.M., Reyes-Ruiz J.M. Cholesterol-rich lipid rafts as platforms for SARS-COV-2 entry. *Front. Immunol.* 2021; 12:796855. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.796855>
39. Llorente García I., Marsh M. A biophysical perspective on receptor-mediated virus entry with a focus on HIV. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2020; 1862(6):183158. <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2019.183158>
40. Wang Y., Grunewald M., Perlman S. Coronaviruses: An updated overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* 2020; 2203:1–29. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0900-2_1
41. Sviridov D., Miller Y.I., Ballout R.A., Remaley A.T., Bukrinsky M. Targeting lipid rafts – a potential therapy for COVID-19. *Front. Immunol.* 2020; 11:574508. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.574508>
42. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.-H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-COV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181(2):271–280. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
43. Ballout R.A., Sviridov D., Bukrinsky M.I., Remaley A.T. The lysosome: A potential juncture between SARS-CoV-2 infectivity and niemann-pick disease type C, with therapeutic implications. *FASEB J.* 2020; 34(6):7253–7264. <https://doi.org/10.1096/fj.202000654R>
44. Owczarek K., Szczepanski A., Milewska A., Baster Z., Rajfur Z., Sarna M., Pyrc K. Early events during human coronavirus OC43 entry to the cell. *Sci. Rep.* 2018; 8:7124. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25640-0>
45. Ewers H., Helenius A. Lipid-mediated endocytosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011; 3(8):a004721. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004721>
46. Guo H., Huang M., Yuan Q., Wei Y., Gao Y., Mao L., Gu L., Tan Y.W., Zhong Y., Liu D., Sun S. The important role of lipid raft-mediated attachment in the infection of cultured cells by coronavirus infectious bronchitis virus Beaudette strain. *PLoS One* 2017; 12(1):e0170123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170123>
47. Faisal H.M.N., Katti K.S., Katti D.R. Binding of SARS-COV-2 (COVID-19) and SARS-COV to human ACE2: Identifying binding sites and consequences on ACE2 stiffness. *Chem. Phys.* 2021; 551:111353. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2021.111353>
48. Lu Y., Liu D.X., Tam J.P. Lipid rafts are involved in SARS-COV entry into Vero E6 cells. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 2008; 369(2):344–349. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.02.023>
49. Chaudhary N., Gomez G.A., Howes M.T., Lo H.P., McMahon K.-A., Rae J.A., Schieber N.L., Hill M.M., Gaus K., Yap A.S., Parton R.G. Endocytic crosstalk: Cavins, caveolins, and caveolae regulate clathrin-independent endocytosis. *PLoS Biol.* 2014; 12(4):e1001832. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001832>
50. Jolly C., Sattentau Q.J. Human immunodeficiency virus type 1 virological synapse formation in T cells requires lipid raft integrity. *J. Virol.* 2005; 79(18):12088–12094. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.18.12088-12094.2005>
51. Wang H., Yang P., Liu K., Guo F., Zhang Y., Zhang G., Jiang C. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Res.* 2008; 18(2):290–301. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.15>

Информация об авторах:

Егор Михайлович Устинов, лаборант-исследователь, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; e-mail: eustinov.asma@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6235-8732>

Author information:

Egor M. Ustinov, Research Laboratory Assistant, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: eustinov.asma@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6235-8732>

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Irina A. Andrievskaya, PhD, DSc (Biol.), Professor of RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Карен Саргисович Лязгиан, аспирант, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; e-mail: lyazgiyankaren@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8329-3237>

Karen S. Lyazgiyan, PhD student, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: lyazgiyankaren@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8329-3237>

Поступила 15.06.2023
Принята к печати 30.06.2023

Received June 15, 2023
Accepted June 30, 2023