Рис. 1. Схема каталитического цикла цитохрома P450 [6]

Fig. 1. Scheme of the catalytic cycle of cytochrome P-450 [6]

«язык клетки» [3]. CYP является терминальной оксидазой в монооксигеназной ферментной системе, окисляет разнообразные соединения и принимает участие в выведении лекарственных средств из организма [4]. Каталитический цикл цитохрома P450 можно разделить на две части: активацию кислорода и окисление субстрата (рис. 1).

Стадии активации кислорода предшествует связывание субстрата в активном центре (A), что вызывает переход иона железа гемовой группы из низкоспинового состояния с шестикоординированным железом (так называемая ферриформа) в высокоспиновое состояние с пятикоординированным железом и последующее присоединение электрона с образованием феррифермы (B), которая способна связывать молекулу кислорода (C). Одноэлектронное восстановление кислородного аддукта (D), последнего интермедиата в цикле, приводит в дальнейшем к высвобождению молекулы воды. Каталитический цикл заканчивается диссоциацией продукта и регенерацией исходной феррифермы цитохрома P450 (E, F). Окисленный цитохром P450 в мембранах эндоплазматического ретикулума существует в виде смеси двух форм: низкоспиновой и высокоспиновой [5].

Одним из особенных свойств цитохрома P450 является его способность образовывать комплекс с окисью углерода, характеризующейся в спектре поглощения полосой Соре при 450 нм, а не в области 420 нм, как у других гемопротеинов. Кроме того, примечательно, что при взаимодействии цитохрома P450 микросомальной гидроксилирующей системы с разными субстратами наблюдаются два типа спектральных изменений: разностные спектры поглощения с максимумом в области 385–390 нм и минимумом при 420 нм (субстраты первого типа) и разностные спектры поглощения с максимумом при 425–435 нм и минимумом в области 390–400 нм (субстраты второго типа).

Полагают, что субстраты первого типа связываются в гидрофобной части белка, воздействуют на окружение гема, превращая железо из низкоспинового в высокоспиновое состояние [5]. Во втором случае изменения вызываются заменой лиганда в шестом координационном положении гемового железа азотом субстратов второго типа. Лиганды второго типа вызывают увеличение содержания низкоспиновой формы гемопротеина [5].

Белок- и липид-белковые взаимодействия играют ключевую роль в функционировании биологической мембраны. Известно, что разрушение фосфолипидного матрикса, в том числе под дей-

ствием фосфолипаз, приводит к инактивации ряда мембранносвязанных ферментов, в частности цитохрома Р450 [7]. Поскольку одна из основных функций $ФЛА_2$ в организме связана с высвобождением из фосфолипидов арахидоновой кислоты, в превращении которой в биологически важные метаболиты (эпоксиэйкозатриеновые и гидроксиэйкозатетраеновые кислоты) инициирующую роль играет монооксигеназная функция CYP (RH (субстрат) + O_2 + НАДФН + H^+ → ROH (продукт) + H_2O + $НАДФ^+$), установление сопряжения фосфолиполиза с монооксигеназным катализом представляет особый интерес.

Роль фосфолипазы A_2 в клеточной гибели. Суперсемейство $ФЛА_2$, которое в настоящее время наиболее исследовано, включает набор вне- и внутриклеточных ферментов 16 таксономических групп [8–11]. Внеклеточные (секреторные) $ФЛА_2$ ($сФЛА_2$) имеют низкие молекулярные массы (13–18 кДа), при функционировании требуют миллимолярных концентраций кальция для каталитической активности и не проявляют значительной избирательности по отщепляемым жирным кислотам *in vitro*. В клетках млекопитающих существует до шести различных групп с $ФЛА_2$: группы IB, IIA, IIC – F, III, V, X и XII [8, 11]. Внутриклеточные $ФЛА_2$ на основании необходимости Ca^{2+} для проявления активности подразделяются на $цФЛА_2$ (цитозольную кальций-зависимую, группа IV) и $иФЛА_2$ (цитозольную кальций-независимую, группа VI). $цФЛА_2$ требует Ca^{2+} в микромолярной концентрации для транслокации через мембрану, но не для катализа, предпочтительнее фосфолипидов, содержащих арахидоновую кислоту (АК), и имеет высокую молекулярную массу (> 60 кДа). $иФЛА_2$ не проявляет субстратной специфичности к АК-содержащим фосфолипидам, не требует Ca^{2+} для активности и имеет высокую молекулярную массу (около 85 кДа) [9]. Существует также класс $ФЛА_2$, называемых ацетилгидролазами фактора активации тромбоцитов (ФАТ), их основным субстратом является ФАТ, из которого они высвобождают ацетильную группу, присутствующую в положении *sn*-2.

Гидролитическая реакция, катализируемая $ФЛА_2$, – это основной путь, через который АК высвобождается из фосфолипидов (рис. 2) [12].

Активация $ФЛА_2$ приводит к разрушению мембранных фосфолипидов и накоплению ненасыщенных свободных жирных кислот и лизофосфолипидов. Лизофосфолипиды могут нарушать гомеостаз мембран за счет увеличения их текучести и проницаемости [13]. Арахидоновая кислота может напрямую влиять на ионные каналы [14, 15], увеличивать время открытия поры перехода в процессе обеспечения проницаемости митохондрий [16] и активировать внеклеточную регулируемую внешними сигналами киназу 1 и 2 (ERK1/2), c-Jun N-терминальную киназу (JNK) и p38 MAPKs [17]. Однако большинство биологических эффектов арахидоновой кислоты обусловлено ее метаболизмом, главным образом с участием трех различных групп ферментов: циклооксигеназ, липоксигеназ и цитохромов Р450.

Метаболизм АК после отщепления $ФЛА_2$ при гидролизе фосфолипидов происходит под действием циклооксигеназ (ЦОГ-1, молекулярной массы 67 кДа и ЦОГ-2, молекулярной массы 72 кДа) и приводит к образованию простагландинов, простациклина и тромбоксанов, играющих важную роль во многих физиологических и патофизиологических процессах, таких как расширение и сужение сосудов, воспаление, тромбоз, овуляция, митогенез, функция почек и т. д. [18].

Метаболизм свободной арахидоновой кислоты с помощью 5-липоксигеназы приводит к образованию лейкотриенов, которые играют важную роль в качестве медиаторов различных воспалительных и аллергических реакций (рис. 2). В отличие от простагландинов, лейкотриены производятся преимущественно воспалительными клетками, такими как полиморфно-ядерные лейкоциты, макрофаги и тучные клетки [18].

$ФЛА_2$ играют важную роль в гибели клеток, которая происходит через некроз или апоптоз. Несколько обзоров посвящены специфической роли фосфолипазы A_2 в гибели клеток [19–21]. При некрозе происходит набухание клеток и органелл, истощение АТФ, наблюдается повышенная проницаемость плазматической мембраны с высвобождением макромолекул. Во время некроза активность $ФЛА_2$ увеличивается, вызывая ускоренный гидролиз мембранных фосфолипидов, что в свою очередь увеличивает проницаемость плазматической мембраны и лизис клеток [20]. Апоптоз характеризуется фрагментированными ядрами с конденсированным хроматином, сморщенной цитоплазмой внутри почти неповрежденной плазматической мембраны и активацией

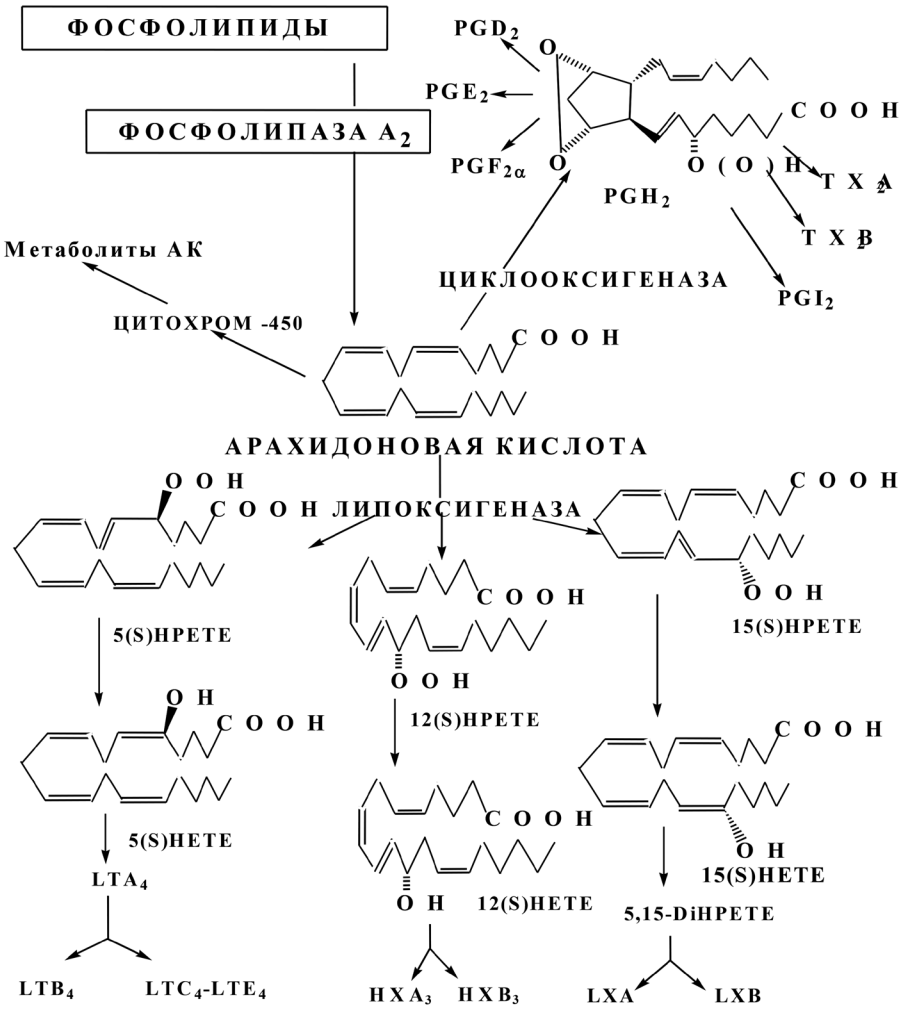


Рис. 2. Схема метаболизма АК

Fig. 2. Scheme of AA metabolism

каспазы без истощения АТФ [22]. Роль $ФЛА_2$ в апоптозе зависит от стимула и типа клетки. Например, $цФЛА_2$ необходима для TNF-альфа-индуцированного апоптоза в некоторых типах клеток [21]. Напротив, $цФЛА_2$ не требуется для Fas-индуцированного апоптоза и в этом случае $цФЛА_2$ расщепляется каспазой 3 [23].

Метаболизм арахидоновой кислоты цитохромом Р450. В результате основных путей метаболизма арахидоновой кислоты, катализируемых цитохромом Р450, образуются метаболиты, которые подразделяются на две группы: 1) эпоксиэйкозатриеновые кислоты (EET; включая 5,6-EET, 8,9-EET, 11,12-EET и 14,15-EET), образованные CYP-эпоксигеназами, в первую очередь изоформами CYP2C и CYP2J у людей; 2) гидроксиэйкозатетраеновые кислоты (HETE; в основном 20-HETE и 19-HETE), производные арахидоновой кислоты, которые гидроксилируются на N-конце или рядом с ним CYP – N-оксидазами, в первую очередь CYP4A и CYP4F у человека (рис. 2) [24].

Липооксигеназоподобные продукты АК (аллиловые спирты, содержащие цис-транс-конъюгированную диенольную функциональность), как правило, являются второстепенными продуктами метаболизма АК под действием цитохрома Р450 [25]. Кроме того, при автоокислении АК активными формами кислорода (АФК), производенными с участием цитохрома Р450, образуются гидропероксиды липидов в качестве первичных продуктов окисления (рис. 3) [26, 27]. Образование АФК может значительно варьировать в зависимости от Р450, отсутствия или присутствия субстрата, природы субстрата и действия цитохрома b5 [28]. Анализ четырех цитохромов Р450 человека показал, что их относительные способности генерировать АФК были CYP3A4 > CYP1A1 > CYP1A2 = CYP2B6 [29].

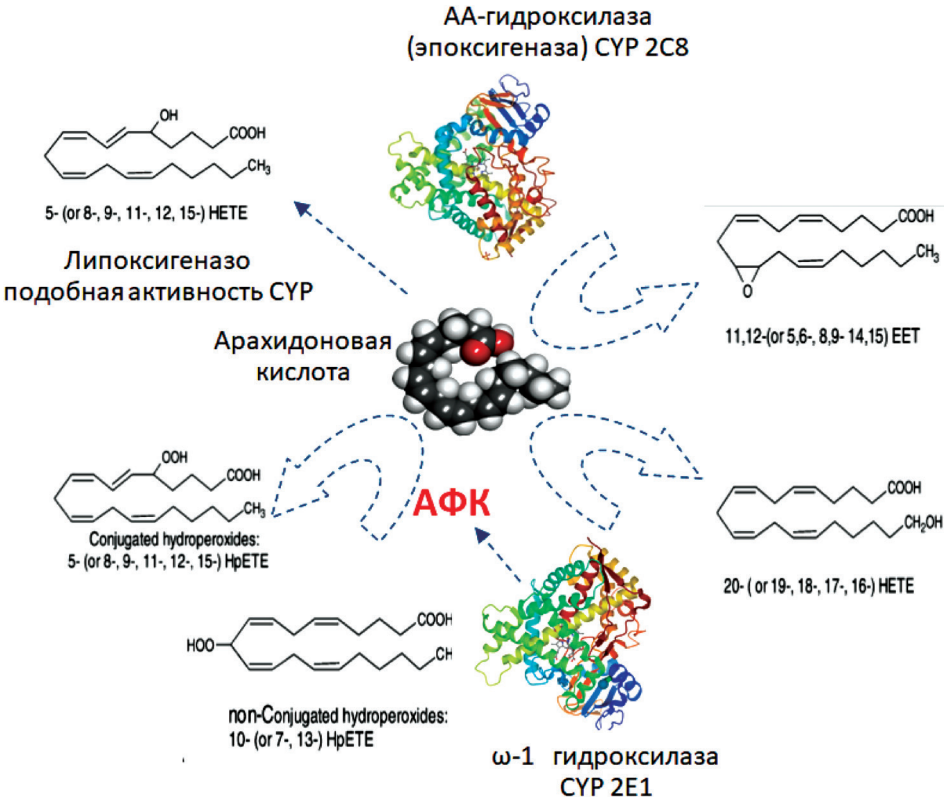


Рис. 3. Схема путей метаболизма арахидоновой кислоты (АК) с участием цитохрома Р450 и производимых цитохромом Р450 активных форм кислорода (АФК), включая продукты действия АК-эпоксигеназы (PDB, код 1PQ2) и АК-ω-1 гидроксилазы (PDB, код 3T3Z), липооксигеназоподобной активности CYP, а также продукты первичного свободнорадикального окисления. Арахидоновая кислота сокращенно обозначается ETE (эйкозатетраеновая кислота) и, следовательно, HETE – гидроксиэйкозатетраеновая, HpETE – гидропероксиэйкозатетраеновая, EET – эпоксиэйкозатетраеновая кислота

Fig. 3. Scheme of the metabolic pathways of arachidonic acid (AA) with the participation of cytochrome P450 and cytochrome P450-produced reactive oxygen species (ROS), including the products of action of AA-epoxygenase (PDB, code 1PQ2) and AK-ω-1 hydroxylase (PDB, code 3T3Z), lipoxygenase-like activity of CYP, as well as products of primary free radical oxidation. Arachidonic acid is abbreviated as ETE (eicosatetraenoic acid) and therefore HETE stands for hydroxyeicosatetraenoic acid, HpETE stands for hydroperoxyeicosatetraenoic acid and EET stands for epoxyeicosatetraenoic acid

Активность цитохрома Р450 представляет собой значительный источник метаболитов, производных арахидоновой кислоты, и реактивно способных веществ, которые оказывают значительное влияние на клеточную функцию. Было продемонстрировано, что EET гиперполяризует и расслабляет гладкомышечные клетки сосудов за счет активации кальций-чувствительных калиевых каналов. Напротив, 20-HETE является сосудосуживающим средством, вызывающим блокаду этих каналов [30].

В дополнение к этим эффектам на мембранный потенциал и тонус сосудов произведенные Р450 метаболиты АК могут активировать внутриклеточные системы вторичных мессенджеров, которые участвуют в регуляции воспаления, миграции клеток, апоптоза и агрегации тромбоцитов [25, 31]. EET активируют сигнальные пути тирозинкиназы, ERK1/2, p38 MAP и PI3 киназы в эндотелиальных и эпителиальных клетках [31]. Гидропероксиды липидов могут оказывать негативное действие из-за нарушения структуры и функции мембраны и в результате участия в окислительно-восстановительных реакциях, таких как катализируемое железом перекисное окисление цепи, опосредованное свободными радикалами [32].

Цитохром Р450 и цитотоксическое действие, опосредованное ФЛА$_2$ и АК. Очищенный CYP2E1, изоформа цитохрома Р450, индуцируемая в печени при диабете, голодании и употреблении алкоголя, превращает АК в основном в гидроксилированные метаболиты N-1 и N-2 (19- и 18-гидроксиэйкозатетраеновая кислота, 78 %, и EET, 18 %) [33]. CYP2E1 является важным

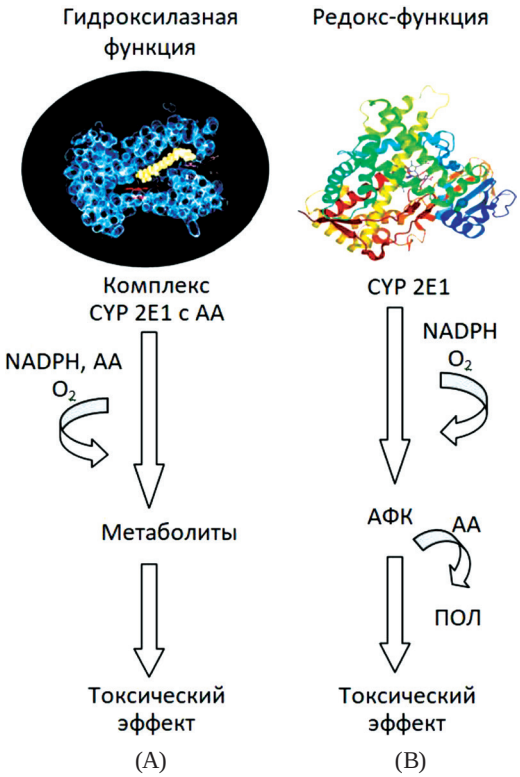


Рис. 4. Возможная роль CYP2E1 [3] как промотора токсичности арахидоновой кислоты. (A) CYP2E1 человека (PDB, код 3T3Z) может напрямую окислять арахидоновую кислоту до реакционноспособных метаболитов, которые вызывают цитотоксический эффект. (B) Активные формы кислорода, генерируемые CYP2E1, могут реагировать с арахидоновой кислотой до осуществления токсичности через перекисное окисление липидов

Fig. 4. Possible role of CYP2E1 [3] as a promoter of arachidonic acid toxicity. (A) Human CYP2E1 (PDB, code 3T3Z) can directly oxidize arachidonic acid to reactive metabolites that cause cytotoxic effects. (B) Reactive oxygen species generated by CYP2E1 can react with arachidonic acid prior to lipid peroxidation toxicity

источником микросомальных АФК, которые могут участвовать в неферментативном окислении АК (рис. 4). Микросомы, выделенные из животных, предварительно обработанные индукторами CYP2E1 или CYP2B4 [34] или CYP2B4 [35], демонстрируют намного большую скорость окисления NADPH или анилина соответственно, чем микросомы неиндуцированных животных [34, 35]. Повышенная оксидазная активность приводит к росту продукции АФК и это проявляется в увеличении скорости перекисного окисления липидов (ПОЛ) микросомами или липосомами, обогащенными CYP2E1 [34, 36]. Антитела против CYP2E1 частично ингибируют продукцию пероксида микросомами и в то же время почти полностью ингибируя НАДФН-зависимое ПОЛ [34, 35].

Клетки HepG2, экспрессирующие CYP2E1, в отсутствие ингибиторов этой изоформы CYP показали увеличение внутриклеточной продукции активных форм кислорода на 40–50 %, что было оценено по окислению диацетата дихлорфлуоресцеина в интактных клетках [37] и увеличению ПОЛ по сравнению с контролем [38]. АК индуцировала зависящую от концентрации и времени цитотоксичность в клетках HepG2, экспрессирующих CYP2E1, тогда как в контрольных клетках HepG2 была обнаружена значительно меньшая токсичность или ее отсутствие. Токсичность была связана с повышенным перекисным окислением клеточных липидов, а экзогенное воздействие антиоксидантов подавляло как ПОЛ, так и токсичность [39]. Инкубация клеток, экспрессирующих CYP2E1, с АК показала особенности, характерные для апоптоза, такие как лэддеринг ДНК [39] и повышенную активность цитохрома С и каспазы 3 [40], а также увеличивала раннее поглощение трипанового синего, что указывает на изменение проницаемости плазматической мембраны, как признака некроза [41].

Воздействие АК в присутствии Fe на клетки, сверхэкспрессирующие CYP2E1, вызывает ранние повреждения митохондрий (т. е. до начала гибели клеток), которые предотвращаются антиоксидантами, указывая на связь окислительного стресса с деградацией митохондрий [42]. Тот факт,

что сверхэкспрессия митохондриальной каталазы защищает клетки с избыточной экспрессией CYP2E1 от АК-зависимой токсичности, предполагает, что митохондрии являются важной мишенью для CYP2E1-зависимого окислительного стресса [40].

Ряд исследований показал, что АФК в клеточных системах могут активировать $ФЛА_2$, измеряемую как повышенное высвобождение радиоактивной АК в предварительно меченых клетках [43, 44]. Эти результаты предполагают, что высвобождение накопленного кальция с помощью комплекса (АК + Fe) в клетках, экспрессирующих CYP2E1, индуцированное ПОЛ, может первоначально активировать $ФЛА_2$, что имеет решающее значение для последующего увеличения притока внеклеточного Ca^{2+}. Установлено *in vivo*, что сочетание повышенной активности $ФЛА_2$, внутриклеточного кальция и окислительного стресса вызывает повреждение митохондрий (рис. 5).

Активация $ФЛА_2$, связанная с окислительным стрессом, в этих моделях была предложена как критический фактор цитотоксичности [3]. Активация $ФЛА_2$ *in vitro* по отношению к УФ-окисленным фосфолипидам наблюдалась независимо от их структурной организации (мицеллы с детергентом или липосомы) и от специфичности фермента ($ФЛА_2$ яда змеи – к нейтральным липидам, $ФЛА_2$ панкреаса – к «кислым» липидам) [45, 46].

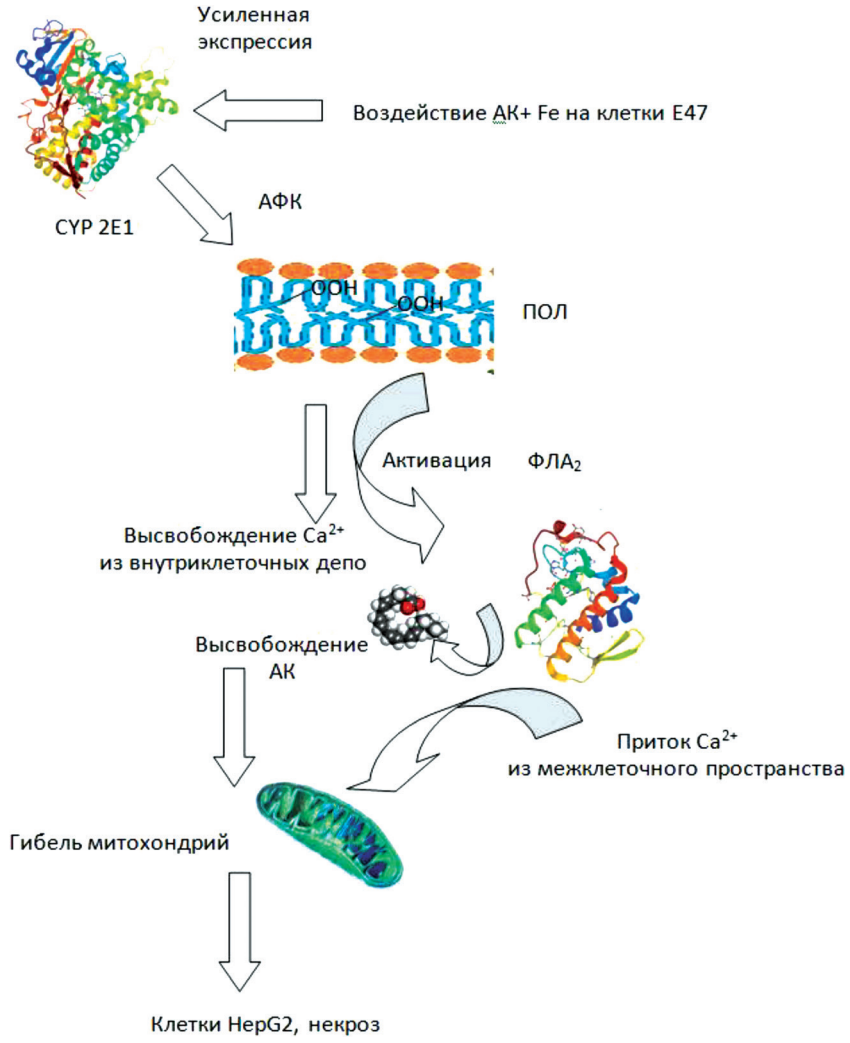


Рис. 5. Предлагаемый механизм [3] зависимой от перекисного окисления липидов активации $ФЛА_2$ (PDB, код 3U8D – участвует в метаболизме АК), высвобождение АК и апоптоз клеток HepG2, усиленно экспрессирующих CYP2E1 (клетки E47) (PDB, код 3LC4, показан в комплексе с производным жирной кислоты – омега-имидазоил-додекановой кислотой)

Fig. 5. The proposed mechanism [3] of lipid peroxidation-dependent activation of PLA_2 (PDB, code 3U8D – participates in AA metabolism), release of AA and apoptosis of HepG2 cells, strongly expressing CYP2E1 (E47 cells) (PDB, code 3LC4, shown in the complex with a fatty acid derivative – omega-imidazoyl-dodecanoic acid)

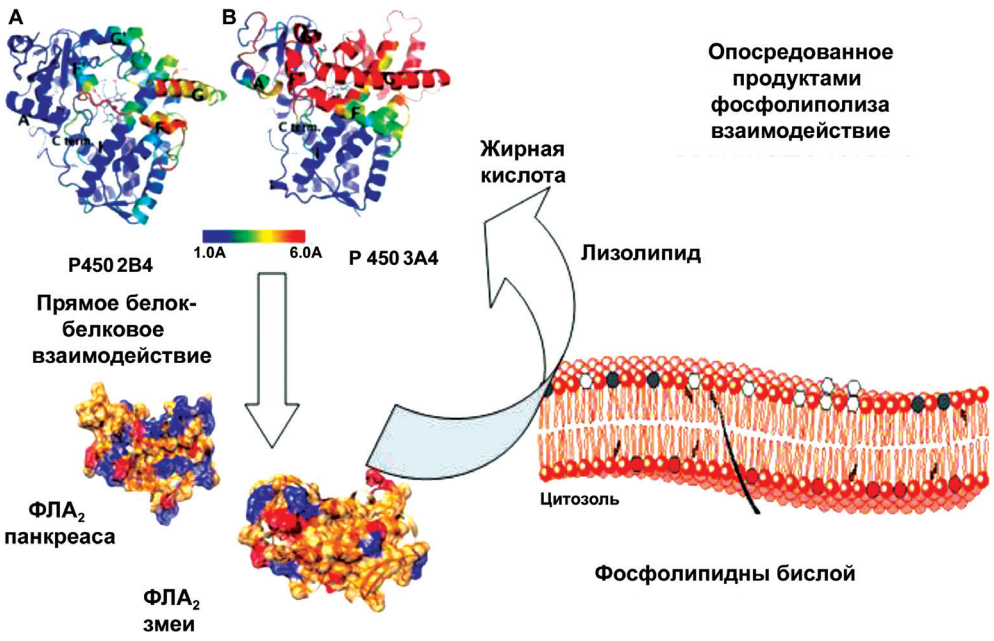


Рис. 6. Предполагаемые механизмы взаимодействия $ФЛА_2$ и CYP. Структуры белков взяты из Базы данных белков (PDB): $ФЛА_2$ панкреаса свиньи, код 4g5i, яда кобры – Imh7; CYP2B4 – 1SUO, CYP3A4 – 1TQN

Fig. 6. Proposed mechanisms of interaction between PLA_2 and CYP. Protein structures are taken from the Protein Database (PDB): PLA2 of the porcine pancreas, code 4g5i, cobra venom – Imh7; CYP2B4 – 1SUO, CYP3A4 – 1TQN

Сопряжение увеличения активности $ФЛА_2$ и усиленного функционирования изоформ цитохрома Р450 на фоне повышения ПОЛ при окислительном стрессе являются критическими патогенными явлениями при алкогольном поражении печени ($iФЛА_2$ и CYP2C9), поздней кожной порфирии ($цФЛА_2$ и Р450-зависимый метаболизм АК), повреждения миокарда после ишемии ($iФЛА_2$ и CYP2C9) и инсульте головного мозга ($сФЛА_2$ и CYP2C11), а также других болезнях, угрожающих здоровью человека [3], в том числе при инфицировании SARS-CoV-2 [47].

Таким образом, активность цитохрома Р450 усугубляет $ФЛА_2$- и АК-зависимое повреждение в основном за счет продукции АФК, которые способствуют перекисному окислению липидов или продукции метаболитов, изменяющих гомеостаз Ca^{2+}. Напротив, в других ситуациях действие продуктов превращения АК цитохромом Р450 является защитным в основном за счет снижения уровней неэтерифицированных АК и продукции метаболитов, которые активируют антиапоптотические пути, связанные с действием PI3 /AKT и p42 /p44 MAPK киназ. Например, кардиомиоцит-специфическая сверхэкспрессия CYP2J2 у трансгенных мышей обеспечивает защиту от ишемии [3].

Сопоставление схем участия $ФЛА_2$ в цитохром Р450-зависимом метаболизме арахидоновой кислоты (рис. 2) и с учетом того, что метаболиты арахидоновой кислоты (12-HETE и 15-HETE) являются ингибиторами $ФЛА_2$, указывает на возможность существования прямой и опосредованной взаимосвязи между функционированием $ФЛА_2$ и CYP [48] (рис. 6).

Опосредованный структурой фосфолипидного матрикса механизм взаимодействия CYP и $ФЛА_2$. В ответ на введение ксенобиотиков в печени животных активируется биосинтез ряда изоэнзимов CYP, специфичных к индуктору. Так, у кроликов, индуцированных фенобарбиталом (ФБ), образуется изофермент цитохрома Р450, известный как форма CYP2B4, который представляет собой интегральный мембранный белок, состоящий из восьми полипептидных цепей, полностью пронизывающих липидный бислой [5]. Поскольку при введении фенобарбитала экспериментальным животным в микросомах печени обнаружено наряду с индукцией CYP2B4 увеличение активности $ФЛА_2$ [35], а влияние каких-либо эффекторов на активность цитохрома Р450 *in vitro* в полной ферментной системе сложно оценивать из-за ее мультикомпонентности и трудностей интерпретации полученных результатов, изучена взаимосвязь фосфолиполиза с монооксигеназным катализом в модельных системах.

Так, биохимическое моделирование процесса липолиза с использованием протеолипосом с включением CYP2B4 показало увеличение гидролиза липидной фракции до 85–90 и 50–55 % в случае ФХ- и ФГ-содержащих протеолипосом по сравнению с 25–30 и 18–20 % соответственно в контрольных липосомах [49]. Сравнение хода гидролиза фосфолипидов в протеолипосомах показывает, что в присутствии цитохрома Р450 также возрастает скорость ферментативного расщепления фосфатидилглицерина (ФГ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ) и фосфатидилинозита (ФИ) [50]. Включение цитохрома Р450 в липосомы из ФХ и ФГ приводит к появлению двух фосфолипидных пулов, отличающихся своей организацией во временной шкале диффузионно-контролируемого процесса эксимиризации пирена. В протеолипосомах, содержащих интегральный белок цитохром Р450, в состав прибелкового слоя фосфолипидов входит около 85 молекул ФХ и 650 молекул ФГ на одну молекулу цитохрома Р450 [49]. Поэтому для объяснения высокой степени гидролиза ФХ $ФЛА_2$, достигающей 85–90 % в случае мольного соотношения липид/цитохром Р450 200:1, представляется целесообразным допустить возможность быстрого обмена продуктов реакции гидролиза с основной массой липидов.

В процессе гидролиза ФХ в составе протеолипосом с включением CYP3A4 также наблюдалась активация панкреатической $ФЛА_2$ с максимумом при молярном соотношении CYP/ФХ в промежутке 1:500–1:1000 [51].

С другой стороны, в результате обработки $ФЛА_2$ микросом печени крыс как после введения животным фенобарбитала (ФБ-животные), так и без него в течение 30 мин происходит значительное снижение активности цитохрома Р450 (до 60 % от исходной) в модельной системе при реакции окисления анилина гидропереоксидом кумола [48]. Вместе с тем в отсутствие БСА в начальный период времени (до 5 мин) наблюдаемая разность в активности цитохрома Р450 ФБ- и контрольных животных в 3,5–4,0 раза выше и проявляется во всем временном интервале фосфолипазной реакции. Это косвенное доказательство того, что продукты липолиза мембран под действием $ФЛА_2$, которые специфически связываются БСА, могут существенно влиять на активность изоформы цитохрома Р450, окисляющей анилин [48].

Действительно, максимальный активирующий эффект от присутствия обоих продуктов реакции проявляется при соотношении липид/цитохрома Р450, равном 10, а ингибирование наблюдается при соотношении, равном 50. Лизолецитин увеличивает вдвое активность цитохрома Р450 при соотношении лизолецитин/ЦР450, равном 30. При соотношении большем, чем 100 происходит угнетение активности цитохрома Р450 [48].

Следовательно, при введении ФБ в организм $ФЛА_2$ играют существенную роль в активации гидроксилирующей системы в микросомах печени. Действие фосфолипаз приводит к образованию лизолецитина, который в начальный период времени оказывает активирующее воздействие на активность цитохрома Р450. Кроме того, накопление лизофосфолипидов и жирных кислот модифицирует физическое состояние липидного матрикса микросомальной мембраны, что в свою очередь сказывается на активности мембранносвязанной монооксигсназной системы. Усиление окисления субстратов цитохромом Р450 также может обеспечиваться за счет синергизма непосредственно белок-белкового взаимодействия с $ФЛА_2$.

Белок-белковое взаимодействие цитохромов Р450 и фосфолипаз A_2 *in vitro*. Имеются данные о проникновении секреторных $ФЛА_2$, к которым относятся изоферменты поджелудочной железы и яда кобры, в кровяное русло при патологиях или воздействии яда змей [52], что предполагает *in vivo* возможность непосредственного контакта со встроенными в мембрану цитохромами Р450 и дальнейшего взаимного влияния на их функционирование.

Функциональная активность цитохрома Р450, как и $ФЛА_{2,}$ связана с поверхностью раздела фаз липид–вода. Проведено сравнительное исследование с использованием КД-спектроскопии (в диапазоне 190–250 нм) белок-белкового взаимодействия двух $ФЛА_2$ – яда змеи (активна в виде димера) и поджелудочной железы свиньи (активна в виде мономера), обладающих разными по степени гидрофобности специфическими участками для распознавания поверхности раздела липид–вода, необходимыми при связывании с субстратом или соответственно с CYP 2B4 и CYP 3A4. Обнаружены разнонаправленные эффекты в изменении спектров КД смеси $ФЛА_2$ яда змеи/CYP2B4 (соотношение 1:4 моль/моль) и смеси $ФЛА_2$ поджелудочной железы свиньи/CYP3A4 человека (соотно-

шение 1:20 моль/моль) в сравнении со спектрами КД индивидуальных белков соответственно, что свидетельствует о прямом белок-белковом взаимодействии $ФЛА_2$ и CYP. При этом результирующий спектр КД в первом случае характеризуется увеличением в 2,5 раза значений молярной эллиптичности смеси белков по отношению к молярной эллиптичности цитохрома P450, а во втором – существенным уменьшением этого показателя, что отражает значительные изменения в конформации этих биополимеров при взаимодействии. Полагают, что для модуляции конформационных изменений вторичной структуры в процессе белок-белкового взаимодействия цитохрома P450 и $ФЛА_2$ более важны гидрофобные контакты, чем электростатические [53].

Установлено, что белок-белковое взаимодействие между панкреатической $ФЛА_2$ и CYP3A4 приводит к повышению каталитической активности $ФЛА_2$ по отношению к ФХ в составе липосом более чем в 1,4 раза. Показано смещение в коротковолновую область максимума поглощения в электронных спектрах CYP3A4 в отсутствие и присутствии $ФЛА_2$, что доказывает связывание $ФЛА_2$ с CYP3A4 и предполагает, что $ФЛА_2$ может выступать инициатором перехода гемопротеида в высокоспиновое состояние подобно природным донорам электронов.

Дальнейшее изучение каталитической активности CYP2B4 и CYP3A4 по отношению к субстратам разного типа в присутствии $ФЛА_2$ различной специфичности позволят выяснить более детальный механизм взаимодействия этих биополимеров между собой и их роль в монооксигеназном катализе.

Заключение. Реакция $ФЛА_2$ является основным путем высвобождения АК из фосфолипидов. АК метаболизируется цитохромом P450 в основном до EET и 19- и 20-HETE. В результате реакции, катализируемой цитохромом P450, происходит утечка супероксида и перекиси водорода, которые могут образовывать сильные окислители, воздействующие на ненасыщенные связи арахидоновой кислоты в составе липидной фазы с образованием гидропероксидов липидов (цитотоксическое действие). Каждый из P450-зависимых метаболитов АК имеет мощное влияние на клеточную деятельность. Таким образом, влияние P450 на $ФЛА_2$- и АК-зависимую токсичность является сложным. В случае несильно связанных изоформ P450, таких как CYP2E1 и CYP2C9, экспрессия этих изоформ может усиливать окислительный стресс и перекисное окисление липидов в присутствии АК и быть пагубным из-за активации $ФЛА_2$. Это может происходить в результате прямого перекисного окисления липидов, активации p38 MAPK, нарушения гомеостаза Ca^{2+} и / или митохондриальной недостаточности. Напротив, в случае наиболее крепко связанных изоформ, таких как изоформы CYP2J или бактериальные мутантные изоформы этой эпоксигеназы, метаболизм АК в метаболиты, активирующие антиапоптотические пути, такие как киназа PI3 / AKT и p42 / p44 MAPK, могут опосредовать P450-зависимые защитные эффекты.

Анализ представленных выше данных позволяет выдвинуть следующие возможные механизмы сопряжения фосфолиполиза $ФЛА_2$ с монооксигеназным катализом:

а) опосредованное взаимодействие через фосфолипидный матрикс (изменение конформации фосфолипидов, их гидропероксидирование под действием АФК; увеличение скорости «флип-флопа»; повышение доступности субстрата и образование продуктов фосфолипазного гидролиза);

б) взаимное изменение активности ферментов непосредственно за счет синергизма прямого белок-белкового взаимодействия CYP с $цФЛА_2$ и с $ФЛА_2$ (при патологии). Очевидно, что эти процессы при опосредованном механизме могут контролироваться степенью организации фосфолипидов в прибелковом слое, что может быть одной из форм регуляции активности $ФЛА_2$ на уровне модификации поверхности раздела липид–вода. Преимущественная реализация того или иного механизма зависит от индивидуальных особенностей взаимодействующих белков.

Список использованных источников

1. Брокерхоф, Х. Липолитические ферменты / Х. Брокерхоф, Р. Дженсен; пер. с англ. – М.: Мир,1978. – 396 с.

2. Литвинко, Н. М. Эндогенные фосфолипазы $А_2$. Структура и функция / Н. М. Литвинко, М. А. Кисель. – Минск: Навука і тэхніка, 1991. – 270 с.

3. Caro, A. A. Role of cytochrome P450 in phospholipase A_2- and arachidonic acidmediated cytotoxicity / A. A. Caro, A. I. Cederbaum // Free Radical Biology & Medicine. – 2006. – Vol. 40, no. 3. – P. 364–375. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.10.044

4. Lewis D. F. V. Guide to Cytochromes P450: Structure and Function / D. F. V. Lewis. – Second Edition. – London: CRC Press, 2001. – 189 p. https://doi.org/10.1201/9780367800956

5. Cytochrome P-450 / eds. K. Ruckpaul, H. Rein. – Berlin: Akademie–Verlag, 1984. – 405 p.

6. Hrycay, E. G. Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Reaction Mechanisms of Cytochrome P450 Enzymes / E. G. Hrycay, S. M. Bandiera // Adv. Exp. Med. and Biol. – Springer, Cham, 2015. – Vol. 851. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16009-2_1

7. Eling, B. T. E. A role for phospholipids in the binding and metabolism of drugs by hepatic microsomes. Use of the fluorescent hydrophobic probe 1-anilinonaphthalene-8-sulphonate / B. T. E. Eling, R. P. Diaugustine // Biochem. J. – 1971. – Vol. 123, N 4. – P. 539–549. https://doi.org/10.1042/bj1230539

8. Mouchlis, V. D. Phospholipase A_2 catalysis and lipid mediator lipidomics / V. D. Mouchlis, E. A. Dennis // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2018. – Vol. 1864, N. 6. – P. 766–771. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.010

9. Kita, Y. Cytosolic phospholipase A_2 and lysophospholipid acyltransferases / Y. Kita, H. Shindou, T. Shimizu // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2018. – Vol. 1864, N. 6. – P. 838-845. https://doi.org/10.1016 bbalip.2018.08.006

10. Kono, N. Platelet-activating factor acetylhydrolases: An overview and update / N. Kono, H. Arai // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2018. – Vol. 1864, N. 6. – P. 922-931. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.07.006

11. Group IID, IIE, IIF and III secreted phospholipase A_2s / M. Murakami [et al.] // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2018. – Vol. 1864, N. 6. – P. 803-818. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.014

12. Balsinde, J. Phospholipase A_2 regulation of arachidonic acid mobilization / J. Balsinde, M. V. Winstead, E. A. Dennis // FEBS Lett. – 2002. – Vol. 531, N 1. – P. 2–6. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)03413-0

13. Group specific assays that distinguish between the two major types of mammalian phospholipase A_2 / H. C. Yang [et al.] // Anal. Biochem. – 1999. – Vol. 269, N 2. – P. 278– 288. https://doi.org/10.1006/abio.1999.4053

14. Arachidonic acid inhibits activity of cloned renal K+ channel, ROMK1. / C. M. Macica [et al.] // Am. J. Physiol. – 1996. – Vol. 271, N 3. – P. F588–F594. https://doi.org/10.1152/ajprenal.1996.271.3.f588

15. Arachidonic acid activation of a new family of K+ channels in cultured rat neuronal cells / D. Kim [et al.] // J. Physiol. – 1995. – Vol. 484, N 3. – P. 643–660. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020693

16. Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition: implications for tumor necrosis factor-a apoptotic signaling / L. Scorrano [et al.] // J. Biol. Chem. – 2001.– Vol. 276, N 15. – P. 12035–12040. https://doi.org/10.1074/jbc.m010603200

17. Arachidonic acid directly activates members of the mitogen-activated protein kinase superfamily in rabbit proximal tubule cells / L. D. Alexander [et al.] // Kidney Int. – 2001. – Vol. 59, N 6. – P. 2039–2053. https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.0590062039.x

18. Funk, C. D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology / C. D. Funk // Science. – 2001. – Vol. 294, N. 5548 – P. 1871–1875. https://doi.org/10.1126/science.294.5548.1871

19. Chakraborti, S. Phospholipase A_2 isoforms: a perspective / S. Chakraborti // Cell. Signalling. – 2003. – Vol. 15. – P. 637–665. https://doi.org/10.1016/s0898-6568(02)00144-4

20. Cummings, B. S. Phospholipase A_{2s} in cell injury and death / B. S. Cummings, J. Mchowat, R. G. Schnellmann // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2000. – Vol. 294. – P. 793–799.

21. Taketo, M. Phospholipase A_2 and apoptosis / M. Taketo, M. Sonoshita // Biochim. Biophys. Acta. – 2002. – Vol. 1585. – P. 72–76. https://doi.org/10.1016/s1388-1981(02)00326-8

22. Ono, K. Susceptibility of lysosomes to rupture is a determinant for plasma membrane disruption in tumor necrosis factor alpha-induced cell death / K. Ono, S. O. Kim, J. Han // Mol. Cell. Biol . – 2003. – Vol. 23, N 2. – P. 665–676. https://doi.org/10.1128/mcb.23.2.665-676.2003

23. Fas-induced arachidonic acid release is mediated by Ca^{2+}- independent phospholipase A_2 but not cytosolic phospholipase A_2, which undergoes proteolytic inactivation / G. Atsumi [et al.] // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273, N 22. – P. 13870–13877. https://doi.org/10.1074/jbc.273.22.13870

24. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function / A. A. Spector [et al.] // Prog. Lipid Res. – 2004. – Vol. 43, N 1. – P. 55–90. https://doi.org/10.1016/s0163-7827(03)00049-3

25. Capdevila, J. H. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation: molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase / J. H. Capdevila, J. R. Falck, R. C. Harris // J. Lipid Res. – 2000. – Vol. 41, N 2. – P. 163–181. https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)32049-6

26. Yin, H. New insights regarding the autoxidation of polyunsaturated fatty acids / H. Yin, N. A. Porter // Antioxid. Redox Signaling. – 2005. – Vol. 7, no. 1-2. – P. 170–184. https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.170

27. Pratt, D. A. Theoretical calculations of carbon–oxygen bond dissociation enthalpies of peroxyl radicals formed in the autoxidation of lipids / D. A. Pratt, J. H. Mills, N. A. Porter // J. Am. Chem. Soc. – 2003. – Vol. 125, N 19. – P. 580–591. https://doi.org/10.1021/ja034182j

28. Zangar, R. C. Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450 / R. C. Zangar, D. R. Davydov, S. Verma // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2004. – Vol. 199, N 3. – P. 316–331. https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.01.018

29. Puntarulo, S. Production of reactive oxygen species by microsomes enriched in specific human cytochrome P450 enzymes / S. Puntarulo, A. I. Cederbaum // Free Radical Biol. Med. – 1998. – Vol. 24, N. 7-8. – P. 1324–1330. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(97)00463-2

30. Sacerdoti, D. Role of cytochrome P450-dependent arachidonic acid metabolites in liver physiology and pathophysiology / D. Sacerdoti, A. Gatta, J. C. McGiff // Prostaglandins Other Lipid Mediat. – 2003. – Vol. 72, N 1-2. – P. 51–71. https://doi.org/10.1016/s1098-8823(03)00077-7

31. Potente, M. 11,12-Epoxyeicosatrienoic acid-induced inhibition of FOXO factors promotes endothelial proliferation by down-regulating p27KIP1 / M. Potente, B. Fisslthaler, R. Busse, I. Fleming // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278, N 32. – P. 29619–29625. https://doi.org/10.1074/jbc.m305385200

32. Girotti, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems / A. W. Girotti // J. Lipid Res. – 1998. – Vol. 39, N 8. – P. 1529–1542. https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)32182-9

33. Formation of 19(S)-, 19(R)-, and 18(R)-hydroxyeicosatetraenoic acids by alcohol-inducible cytochrome P450 2E1 / R. M. Laethem [et al.] // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268, N 17. – P. 12912–12918. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)31472-8

34. Ekstrom, G. Rat liver microsomal NADPH supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanolinducible cytochrome P450 (P-450IIE1) / G. Ekstrom, M. Ingelman-Sundberg // Biochem. Pharmacol. – 1989. – Vol. 38, N 8. – P. 1313–1319. https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90338-9

35. Литвинко, Н. М. Влияние фенобарбитала на активность эндогенной растворимой фосфолипазы А в печени. Взаимосвязь с микросомальной гидроксилирующей системой / Н. М. Литвинко, М. А. Кисель // Хим.-фарм. журн. – 1995. – Т. 29, № 6. – С. 19–22.

36. Krikun, G. Effect of chronic ethanol consumption on microsomal lipid peroxidation: role of iron and comparison between controls / G. Krikun, A. I. Cederbaum // FEBS Lett. – 1986. – Vol. 208, N 2. – P. 292–296. https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)81035-3

37. Mari, M. CYP2E1 overexpression in HepG2 cells induces glutathione synthesis by transcriptional activation of glutamylcysteine synthetase / M. Mari, A. I. Cederbaum // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275, N 20. – P. 15563–15571. https://doi.org/10.1074/jbc.m907022199

38. Chen, Q. Cytotoxicity and apoptosis produced by cytochrome P450 2E1 in HepG2 cells / Q. Chen, A. I. Cederbaum // Mol. Pharmacol. – 1998. – Vol. 53, no. 4. – P. 638–648. https://doi.org/10.1124/mol.53.4.638

39. Chen, Q. Cytotoxicity and apoptosis produced by arachidonic acid in HepG2 cells overexpressing human cytochrome P4502E1 / Q. Chen, M. Galleano, A. I. Cederbaum // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272, no. 3. – P. 14532–14541. https://doi.org/10.1074/jbc.272.23.14532

40. Wu, D. Cyclosporine A protects against arachidonic acid toxicity in rat hepatocytes: role of CYP2E1 and mitochondria / D. Wu, A. I. Cederbaum // Hepatology. – 2002. – Vol. 35, N 6. – P. 1420–1430. https://doi.org/10.1053/jhep.2002.33639

41. Wu, D. Sodium salicylate increases CYP2E1 levels and enhances arachidonic acid toxicity in HepG2 cells and cultured rat hepatocytes / D. Wu, A. I. Cederbaum // Mol. Pharmacol. – 2001. – Vol. 59, N 4. – P. 795– 805. https://doi.org/10.1124/mol.59.4.795

42. Perez, M. J. Spin trapping agents (TEMPOL and POBN) protect HepG2 cells overexpressing CYP2E1 against arachidonic acid toxicity / M. J. Perez, A. I. Cederbaum // Free Radic. Biol. Med. – 2001. – Vol. 30, no. 7. – P. 734–746. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00461-0

43. Martinez, J. Role of Ca^{2+}-independent phospholipase A_2 on arachidonic acid release induced by reactive oxygen species / J. Martinez, J. J. Moreno // Arch. Biochem. Biophys. – 2001. – Vol. 392, N 2. – P. 257–262. https://doi.org/10.1006/abbi.2001.2439

44. Rao, G. N. Hydrogen peroxide activation of cytosolic phospholipase A_2 in vascular smooth muscle cells / G. N. Rao, M. S. Runge, R. W. Alexander // Biochim. Biophys. Acta. – 1995. – Vol. 1265, N 1. – P. 67–72. https://doi.org/10.1016/0167-4889(95)91997-z

45. Litvinko, N. M. The interaction of phospholipase A_2 with oxidized phospholipids at the lipid-water surface with different structural organization / N. M. Litvinko, L. A. Skorostetskaya, D. O. Gerlovsky // Chem. Phys. Lipids. – 2018. – Vol. 211. – P. 44–51. https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip

46. Литвинко, Н. М. Гидролиз УФ-индуцированного перекисно-окисленного фосфатидилхолина фосфолипазами разной субстратной специфичности / Н. М. Литвинко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер.хім. навук. – 2021. – Т. 57, № 2. – С. 195–205. https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-2-195-205

47. Potential benefits and risks of omega-3 fatty acids supplementation to patients with COVID-19 / M. M Rogero [et al.] // Free Radical Biol. Med. – 2020. – Vol. 156. – P. 190–199. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.005

48. Литвинко, Н. М. Активность фосфолипаз A_2 и С при биохимическом моделировании / Н. М. Литвинко. – Минск: Технопринт, 2003. – 350 с.

49. The comparative study of the phospholipase A_2 -catalyzed hydrolysis of phosphatidylcholine and phosphatidylglycerol in the presence of cytochrome P-450 / N. M. Litvinko [et al.] // Synth. Natural Products Biotechnol. – 1985. – Sophia. – Vol. 4. – P. 158–162.

50. Роль цитохрома Р450 в активации гидролиза фосфатидилхолина фосфолипазой A_2 / А. А. Ахрем [и др.] // Докл. Акад. наук СССР. – 1986. – Т. 286, № 2. – С. 458–461.

51. Герловский, Д. О. Исследование действия цитохрома Р450 3А4 человека на фосфолиполиз в модельной системе / Д. О. Герловский, Н. М. Литвинко, А. В. Янцевич // Химия, структура и функция биомолекул: тез. докл. IV Междунар. конф., Минск, 17–19 октяб. 2012 г. – Минск, 2012. – С. 197.

52. Tappia, P. S. Phospholipases in Health and Disease / P. S. Tappia, N. S. Dhalla. – New York: Springer, 2014. – 410 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0464-8

53. Особенности взаимодействия цитохрома Р450 и фосфолипаз A_2 разной специфичности, обнаруживаемые КД-спектроскопией / Н. М. Литвинко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 6. – С. 64–71.

References

1. Brokerhof H**.,** Jensen R. *Lipolytic enzymes.* Academic Press, 1974. 330 p. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-134550-1.X5001-1

2. Litvinko N. M., Kisel'M. A. *Endogenous phospholipases A_2. Structure and function*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1991. 290 p. (in Russian).

3. Caro A. A., Cederbaum A. I. Role of cytochrome P450 in phospholipase A_2- and arachidonic acidmediated cytotoxicity. *Free Radical Biology & Medicine*, 2006, vol. 40, no. 3, pp. 364–375. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.10.044

4. Lewis D. F. V. *Guide to Cytochromes P450: Structure and Function.* Second Edition. London, CRC Press, 2001. 189 p. https://doi.org/10.1201/9780367800956

5. Ruckpaul K., Rein H. (ed.) *Cytochrome P-450.* Berlin, Akademie–Verlag, 1984. 405 p.

6. Hrycay E. G., Bandiera S. M. Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Reaction Mechanisms of Cytochrome P450 Enzymes. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Springer, Cham, 2015, vol. 851. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16009-2_1

7. Eling B. T. E., Diaugustine R. P. A role for phospholipids in the binding and metabolism of drugs by hepatic microsomes. Use of the fluorescent hydrophobic probe 1-anilinonaphthalene-8-sulphonate. *Biochemical Journal*, 1971, vol. 123, no. 4, pp. 539–549. https://doi.org/10.1042/bj1230539

8. Mouchlis V. D., Dennis E. A. Phospholipase A_2 catalysis and lipid mediator lipidomics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids,* 2018, vol. 1864, no. 6, pp. 766–771. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.010

9. Kita Y., Shindou H., Shimizu T. Cytosolic phospholipase A_2 and lysophospholipid acyltransferases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids,* 2018, vol. 1864, no. 6, pp. 838–845. https://doi.org/10.1016 bbalip.2018.08.006

10. Kono N., Arai H. Platelet-activating factor acetylhydrolases: An overview and update. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids,* 2018, vol. 1864, no. 6, pp. 922–931. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.07.006

11. Murakami M., Miki Y., Sato H., Murase R., Taketomi Y., Yamamoto K. Group IID, IIE, IIF and III secreted phospholipase A_2s. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2018, vol. 1864, no. 6, pp. 803–818. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.014

12. Balsinde J., Winstead M. V., Dennis E. A., Balsinde J. Phospholipase A_2 regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Letters*, 2002, vol. 531, no. 1, pp. 2–6. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)03413-0

13. Yang H. C., Mosior M., Johnson C. A., Chen Y., Dennis E. A. Group specific assays that distinguish between the two major types of mammalian phospholipase A_2. *Analytical Biochemistry*, 1999, vol. 269, no. 2, pp. 278–288. https://doi.org/10.1006/abio.1999.4053

14. Macica C. M., Yang Y., Hebert S. C., Wang W. H. Arachidonic acid inhibits activity of cloned renal K^+ channel, ROMK1. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 1996, vol. 271, no. 3, pp. F588– F594. https://doi.org/10.1152/ajprenal.1996.271.3.f588

15. Kim D., Sladek C. D., Aguado-Velasco C., Mathiasen J. R. Arachidonic acid activation of a new family of K^+ channels in cultured rat neuronal cells. *The Journal of Physiology*, 1995, vol. 484, no. 3, pp. 643–660. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020693

16. Scorrano L., Penzo D., Petronilli V., Pagano F., Bernardi P. Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition: implications for tumor necrosis factor-a apoptotic signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, vol. 276, no. 15, pp.12035–12040. https://doi.org/10.1074/jbc.m010603200

17. Alexander, L. D., Cui X. L., Falck J. R., Douglas J. G., Alexander L. D. Arachidonic acid directly activates members of the mitogen-activated protein kinase superfamily in rabbit proximal tubule cells. *Kidney International*, 2001, vol. 59, no. 6, pp. 2039–2053. https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.0590062039.x

18. Funk C. D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science,* 2001, vol. 294, no. 5548, pp. 1871–1875. https://doi.org/10.1126/science.294.5548.1871

19. Chakraborti S. Phospholipase A_2 isoforms: a perspective. *Cellular Signalling*, 2003, vol. 15, pp. 637–665. https://doi.org/10.1016/s0898-6568(02)00144-4

20. Cummings B. S., Mchowat J., Schnellmann R. G. Phospholipase A_{2s} in cell injury and death. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, vol. 294, pp. 793–799.

21. Taketo M., Sonoshita M. Phospholipase A_2 and apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2002, vol. 1585, no. 2-3, pp. 72–76. https://doi.org/10.1016/s1388-1981(02)00326-8

22. Ono K., Kim S. O., HanJ. Susceptibility of lysosomes to rupture is a determinant for plasma membrane disruption in tumor necrosis factor alpha-induced cell death. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, vol. 23, no. 2, pp. 665–676. https://doi.org/10.1128/mcb.23.2.665-676.2003

23. Atsumi G., Tajima M., Hadano A., Nakatani Y., Murakami M., Kudo I. Fas-induced arachidonic acid release is mediated by Ca^{2+}- independent phospholipase A_2 but not cytosolic phospholipase A_2, which undergoes proteolytic inactivation. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, vol. 273, no. 22, pp. 13870–13877. https://doi.org/10.1074/jbc.273.22.13870

24. Spector A. A., Fang X., Snyder G. D., Weintraub N. L. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function. *Progress in Lipid Research*, 2004, vol. 43, no. 1, pp. 55–90. https://doi.org/10.1016/s0163-7827(03)00049-3

25. Capdevila J. H., Falck J. R., Harris R. C. Cytochrome P450 and arachidonic acid bioactivation: molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *Journal of Lipid Research*, 2000, vol. 41, no. 2, pp. 163–181. https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)32049-6

26. Yin H., Porter N. A. New insights regarding the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2005, vol. 7, no. 1-2, pp. 170–184. https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.170

27. Pratt D. A., Mills J. H., Porter N. A. Theoretical calculations of carbon– oxygen bond dissociation enthalpies of peroxyl radicals formed in the autoxidation of lipids. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, vol. 125, no. 19, pp. 5801–5810. https://doi.org/10.1021/ja034182j

28. Zangar R. C., Davydov D. R., Verma S. Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2004, vol. 199, no. 3, pp. 316–331. https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.01.018

29. Puntarulo S., Cederbaum A. I. Production of reactive oxygen species by microsomes enriched in specific human cytochrome P450 enzymes. *Free Radical Biology and Medicine*, 1998, vol. 24, no. 7-8, pp. 1324–1330. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(97)00463-2

30. Sacerdoti D., Gatta A., McGiff J. C. Role of cytochrome P450-dependent arachidonic acid metabolites in liver physiology and pathophysiology. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2003, vol. 72, no. 1-2, pp. 51–71. https://doi.org/10.1016/s1098-8823(03)00077-7

31. Potente M., Fisslthaler B., Busse R., Fleming I. 11,12-Epoxyeicosatrienoic acid-induced inhibition of FOXO factors promotes endothelial proliferation by down-regulating p27KIP1. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, vol. 278, no. 32, pp. 29619–29625. https://doi.org/10.1074/jbc.m305385200

32. Girotti A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 1998, vol. 39, no. 8, pp. 1529–1542. https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)32182-9

33. Laethem R. M., Balazy M., Falck J. R., Laethem C. L., Koop D. R. Formation of 19(S)-, 19(R)-, and 18(R)-hydroxyeicosatetraenoic acids by alcohol-inducible cytochrome P450 2E1. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, vol. 268, no. 17, pp. 12912–12918. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)31472-8

34. Ekstrom G., Ingelman-Sundberg M. Rat liver microsomal NADPH supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanolinducible cytochrome P450 (P-450IIE1). *Biochemical Pharmacology*, 1989, vol. 38, no. 8, pp. 1313–1319. https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90338-9

35. Kisel' M. A., Litvinko N. M. Phenobarbital influence on the activity of endogenous soluble phospholipase A in the liver. Interrelation with the microsomal hydroxylated system. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* [Pharmaceutical Chemistry Journal], 1995, no. 6, pp. 19–22 (in Russian).

36. Krikun G., Cederbaum A. I. Effect of chronic ethanol consumption on microsomal lipid peroxidation: role of iron and comparison between controls. *FEBS Letters*, 1986, vol. 208, no. 2, pp. 292–296. https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)81035-3

37. Mari M., Cederbaum A. I. CYP2E1 overexpression in HepG2 cells induces glutathione synthesis by transcriptional activation of glutamylcysteine synthetase. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, vol. 275, no. 20, pp. 15563–15571. https://doi.org/10.1074/jbc.m907022199

38. Chen Q., Cederbaum A. I. Cytotoxicity and apoptosis produced by cytochrome P450 2E1 in HepG2 cells. *Molecular Pharmacology*, 1998, vol. 53, no. 4, pp. 638–648. https://doi.org/10.1124/mol.53.4.638

39. Chen Q., Galleano M., Cederbaum A. I. Cytotoxicity and apoptosis produced by arachidonic acid in HepG2 cells overexpressing human cytochrome P4502E1. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, no. 23, pp. 14532–14541. https://doi.org/10.1074/jbc.272.23.14532

40. Wu D., Cederbaum A. I. Cyclosporine A protects against arachidonic acid toxicity in rat hepatocytes: role of CYP2E1 and mitochondria. *Hepatology*, 2002, vol. 35, no. 6, pp. 1420–1430. https://doi.org/10.1053/jhep.2002.33639

41. Wu D., Cederbaum A. I. Sodium salicylate increases CYP2E1 levels and enhances arachidonic acid toxicity in HepG2 cells and cultured rat hepatocytes. *Molecular Pharmacology*, 2001, vol. 59, no. 4, pp. 795–805. https://doi.org/10.1124/mol.59.4.795

42. Perez M. J., Cederbaum A. I. Spin trapping agents (TEMPOL and POBN) protect HepG2 cells overexpressing CYP2E1 against arachidonic acid toxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, vol. 30, no. 7, pp. 734–746. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00461-0

43. Martinez J., Moreno J. J. Role of Ca^{2+}-independent phospholipase A_2 on arachidonic acid release induced by reactive oxygen species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2001, vol. 392, no. 2, pp. 257–262. https://doi.org/10.1006/abbi.2001.2439

44. Rao G. N., Runge M. S., Alexander R. W. Hydrogen peroxide activation of cytosolic phospholipase A_2 in vascular smooth muscle cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1995, vol. 1265, no. 1, pp. 67–72. https://doi.org/10.1016/0167-4889(95)91997-z

45. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O. The interaction of phospholipase A_2 with oxidized phospholipids at the lipid-water surface with different structural organization. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2018, vol. 211, pp. 44–51. https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip

46. Litvinko N. M. Hydrolysis of UV-induced peroxidized phosphatidylcholine initiated by phospholipases of different substrate specificities. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series,* 2021, vol. 57, no. 2, pp. 195–205 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-2-195-205

47. Rogero M. M., Leão M. C., Santana T. M., de M.B. Pimentel M. V., Carlini G. C.G., da Silveira T. F.F., Gonçalves R. C., Castro I. A. Potential benefits and risks of omega-3 fatty acids supplementation to patients with COVID-19. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, vol. 156, pp. 190–199. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.005

48. Litvinko N. M. *Activity of phospholipase A_2 and C during the biochemical modeling.* Minsk, Technoprint Publ., 2003. 350 p. (in Russian)

49. Litvinko N. M. [et al.] The comparative study of the phospholipase A_2 -catalyzed hydrolysis of phosphatidylcholine and phosphatidylglycerol in the presence of cytochrome P-450. *Synthesis of Natural Products Biotechnology.* Sophia, 1985, vol. 4, pp. 158–162.

50. Akhrem A. A. [et al.] The role of cytochrome P450 in the activation of phosphatidylcholine hydrolysis by phospholipase A_2. *Doklady Akademii nauk SSSR* [Reports of the USSR Academy of Sciences], 1986, vol. 286, no. 2, pp. 458–461 (in Russian).

51. Gerlovskii D. O., Litvinko N. M., Yantsevich A. V. Study of the Action of Human P-450 3A4 Cytochrome on Phospholipases in the Model System. *Khimiia, struktura i funktsiia biomolekul: IV mezhdunarodnaia nauchnaia konferentsiia, posviashchennaia 100-letiiu so dnia rozhdeniia akademika A. A. Akhrema. Sbornik materialov* [Chemistry, Structure and Function of Biomolecules: the IVth International Scientific Conference Dedicated to the 100th Anniversary of Academician A. A. Akhrem: Collected Materials]. Minsk, 2012, pp. 197 (in Russian).

52. Tappia P. S., Dhalla N. S. *Phospholipases in Health and Disease*. NewYork: Springer, 2014. 410 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0464-8

53. Litvinko N. M., Antonchik G. N., Glushakova T. G., Gerlovsky D. O. Features of the protein-protein interaction of cytochrome P450 and PLA_2 of different nature revealed using circular dichroism spectroscopy. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 6, pp. 64–71 (in Russian).

Информация об авторе

Литвинко Наталья Михайловна – д-р хим. наук, доцент, зав. лаб. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: al_h@mail.ru

Information about the autor

Natalia M. Litvinko – D. Sc. (Chemistry), Associate Professor, Head of the laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Science of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: al_h@mail.ru