

**АГЛЯДЫ**  
**REVIEWS**

УДК 577.152.33+577.152.16  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-488-501>

Поступила в редакцию 15.08.2021  
Received 15.08.2021

**Н. М. Литвинко**

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

**СОПРЯЖЕНИЕ ФОСФОЛИПОЛИЗА И МОНООКСИГЕНАЗНОГО КАТАЛИЗА**

**Аннотация.** Представлен обзор основных экспериментальных результатов в области исследования взаимодействия *in vivo* и *in vitro* ферментных систем, ответственных за метаболизм арахидоновой кислоты. Обсуждаются возможные взаимосвязи на пути ее высвобождения из фосфолипидов (фосфолипазы  $A_2$ ) до превращения (цитохромы P450) в важнейшие внутриклеточные мессенджеры передачи внешнего сигнала на внутренний «язык клетки».

**Ключевые слова:** фосфолипазы  $A_2$ , цитохромы P450, монооксигеназы, гидролиз фосфолипидов

**Для цитирования.** Литвинко, Н. М. Сопряжение фосфолиполиза и монооксигеназного катализа / Н. М. Литвинко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2021. – Т. 57, № 4. – С. 488–501. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-488-501>

**N. M. Litvinko**

*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**INTERCONNECTION OF PHOSPHOLIPOLYSIS AND MONOOXYGENASE CATALYSIS**

**Abstract.** A review of the main experimental results in the field of studying the interaction *in vivo* and *in vitro* of enzyme systems responsible for the metabolism of arachidonic acid is presented. Metabolic events from its release from phospholipids (phospholipase  $A_2$ ) to its transformation (cytochromes P450) into the most important intracellular messengers of external signal transmission to the internal “language of the cell” are discussed.

**Keywords:** phospholipases  $A_2$ , cytochromes P450, monooxygenases, hydrolysis of phospholipids

**For citation.** Litvinko N. M. Interconnection of phospholipolysis and monooxygenase catalysis. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2021, vol. 57, no. 4, pp. 488–501 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-488-501>

**Введение.** Фосфолиполиз – один из ключевых процессов метаболизма при обновлении фосфолипидов в организме, происходит под действием гидролитических ферментов семейства фосфолипаз. Они классифицируются в зависимости от расщепляемой связи в молекуле фосфоглицеридов:  $A_1$  (ФЛА<sub>1</sub>, КФ 3.1.1.4) и  $A_2$  (ФЛА<sub>2</sub>, КФ 3.1.1.4) – сложноэфирные связи в положениях 1 и 2 глицеринового скелета, В (лизофосфолипаза, КФ 3.1.1.5) – сложноэфирные связи, сохранившиеся после действия ФЛА<sub>1</sub> или ФЛА<sub>2</sub>, С (ФЛС, КФ 3.1.4.3) и D (ФЛД, КФ 3.1.4.4) – фосфоэфирные связи в фосфорилированном остатке аминок спирта [1, 2]. В результате монооксигеназного катализа, осуществляемого ферментами семейства цитохрома P450 (КФ 1.14.14.1, СYP), обеспечивается превращение *in vivo* широкого спектра соединений как эндогенного, так и экзогенного происхождения, в том числе стероидов, простагландинов, лейкотриенов, витаминов группы D, жирных кислот, эйкозаноидов и других липидных метаболитов, а также ретиноидов, цитокинов, проканцерогенов, антиоксидантов, пестицидов, анестетиков и др. [2, 3]. СYP является мембранносвязанным белком подобно рецепторам G-белка и тирозин киназы, через взаимодействие с которыми опосредуется участие фосфолипаз в функционировании передачи внешнего сигнала на внутренний

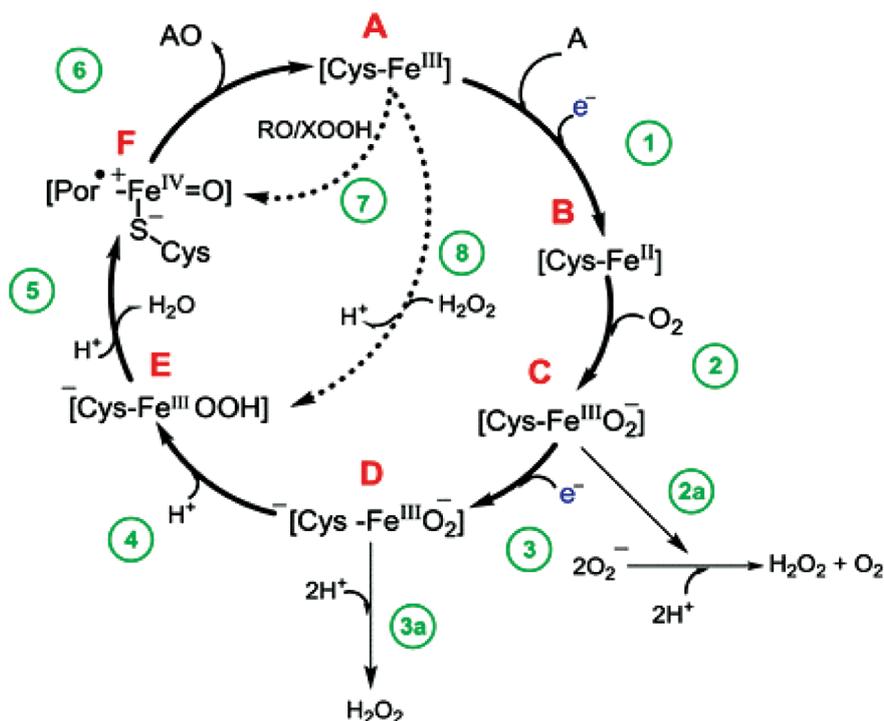


Рис. 1. Схема каталитического цикла цитохрома P450 [6]

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

«язык клетки» [3]. СYP 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 ферриформы (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 ферриформы 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 Soret 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 мембраносвязанных ферментов, в частности цитохрома P450 [7]. Поскольку одна из основных функций ФЛА<sub>2</sub> в организме связана с высвобождением из фосфолипидов арахидоновой кислоты, в превращении которой в биологически важные метаболиты (эпоксидэйкозатриеновые и гидроксидэйкозатетраеновые кислоты) иницирующую роль играет монооксигеназная функция СУР (RH (субстрат) + O<sub>2</sub> + НАДФН + H<sup>+</sup> → ROH (продукт) + H<sub>2</sub>O + НАДФ<sup>+</sup>), установление сопряжения фосфолиполиза с монооксигенажным катализом представляет особый интерес.

**Роль фосфолипазы A<sub>2</sub> в клеточной гибели.** Суперсемейство ФЛА<sub>2</sub>, которое в настоящее время наиболее исследовано, включает набор вне- и внутриклеточных ферментов 16 таксономических групп [8–11]. Внеклеточные (секреторные) ФЛА<sub>2</sub> (сФЛА<sub>2</sub>) 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<sub>2</sub>: группы IB, ПА, ПС – F, III, V, X и XII [8, 11]. Внутриклеточные ФЛА<sub>2</sub> на основании необходимости Ca<sup>2+</sup> для проявления активности подразделяются на цФЛА<sub>2</sub> (цитозольную кальций-зависимую, группа IV) и iФЛА<sub>2</sub> (цитозольную кальций-независимую, группа VI). цФЛА<sub>2</sub> требует Ca<sup>2+</sup> в микромолярной концентрации для транслокации через мембрану, но не для катализа, предпочтительнее фосфолипидов, содержащих арахидоновую кислоту (АК), и имеет высокую молекулярную массу (> 60 кДа). iФЛА<sub>2</sub> не проявляет субстратной специфичности к АК-содержащим фосфолипидам, не требует Ca<sup>2+</sup> для активности и имеет высокую молекулярную массу (около 85 кДа) [9]. Существует также класс ФЛА<sub>2</sub>, 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<sub>2</sub>, – это основной путь, через который АК высвобождается из фосфолипидов (рис. 2) [12].

Активация ФЛА<sub>2</sub> 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 регулирующую 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 P450.

Метаболизм АК после отщепления ФЛА<sub>2</sub> 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, простаглицлина 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<sub>2</sub> играют важную роль в гибели клеток, которая происходит через некроз или апоптоз. Несколько обзоров посвящены специфической роли фосфолипазы A<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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

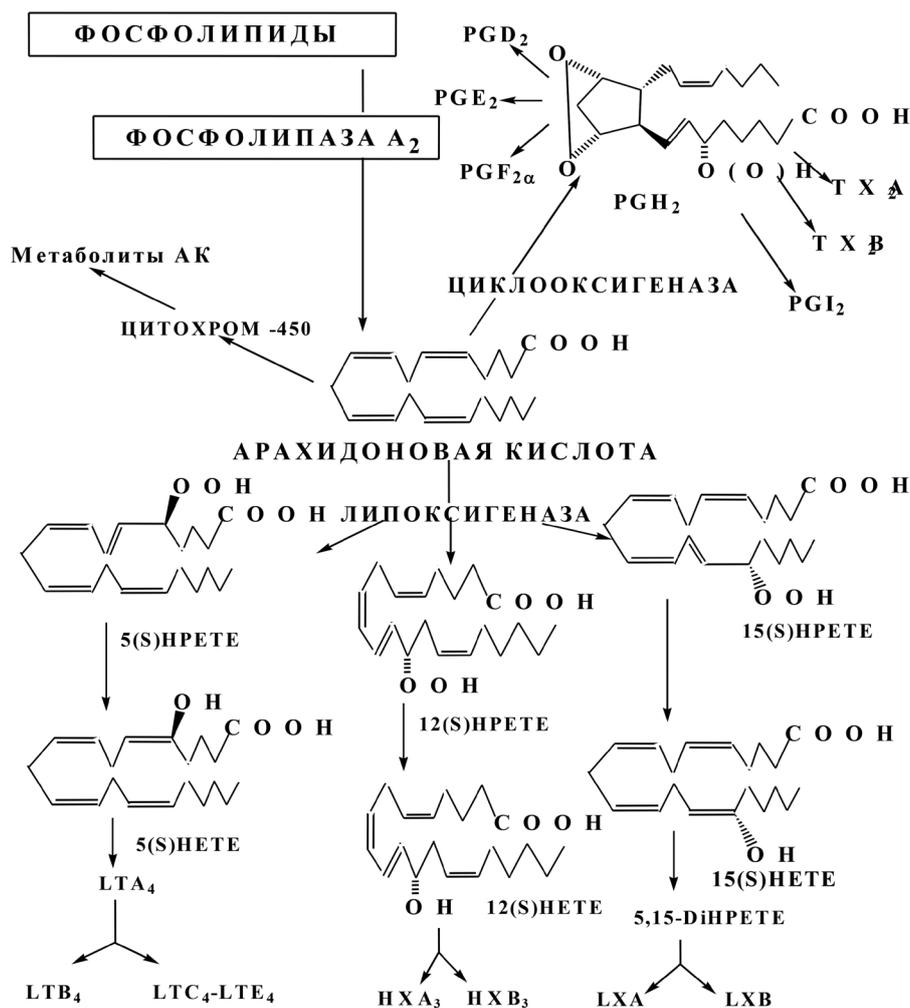


Рис. 2. Схема метаболизма АК

Fig. 2. Scheme of AA metabolism

каспазы без истощения АТФ [22]. Роль ФЛА<sub>2</sub> в апоптозе зависит от стимула и типа клетки. Например, цФЛА<sub>2</sub> необходима для TNF-альфа-индуцированного апоптоза в некоторых типах клеток [21]. Напротив, цФЛА<sub>2</sub> не требуется для Fas-индуцированного апоптоза и в этом случае цФЛА<sub>2</sub> расщепляется каспазой 3 [23].

**Метаболизм арахидоновой кислоты цитохромом P450.** В результате основных путей метаболизма арахидоновой кислоты, катализируемых цитохромом P450, 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) гидроксиейкозатетраеновые 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 P450 [25]. Кроме того, при автоокислении АК активными формами кислорода (АФК), произведенными с участием цитохрома P450, образуются гидропероксиды липидов в качестве первичных продуктов окисления (рис. 3) [26, 27]. Образование АФК может значительно варьировать в зависимости от P450, отсутствия или присутствия субстрата, природы субстрата и действия цитохрома b5 [28]. Анализ четырех цитохромов P450 человека показал, что их относительные способности генерировать АФК были CYP3A4 > CYP1A1 > CYP1A2 = CYP2B6 [29].

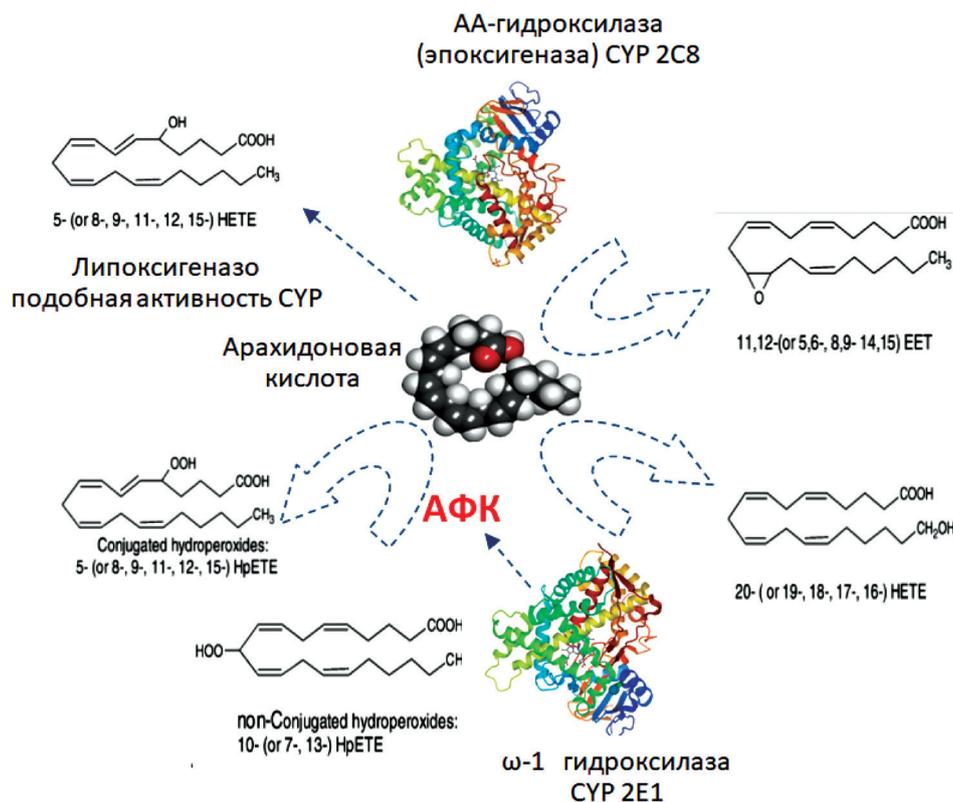


Рис. 3. Схема путей метаболизма арахидоновой кислоты (АК) с участием цитохрома P450 и производимых цитохромом P450 активных форм кислорода (АФК), включая продукты действия АК-эпоксигеназы (PDB, код 1PQ2) и АК- $\omega$ -1 гидроксилазы (PDB, код 3T3Z), липоксигеназоподобной активности CYP, а также продукты первичного свободно-радикального окисления. Арахидоновая кислота сокращенно обозначается ETE (эйкозатетраеновая кислота) и, следовательно, HETE – гидроксиейкозатетраеновая, HpETE – гидропероксиейкозатетраеновая, EET – эпоксиейкозатетраеновая 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- $\omega$ -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 P450 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 ослабляет 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 P450 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 P450 и цитотоксическое действие, опосредованное ФЛА<sub>2</sub> и АК.** Очищенный CYP2E1, изоформа цитохрома P450, индуцируемая в печени при диабете, голодании и употреблении алкоголя, превращает АК в основном в гидроксильированные метаболиты N-1 и N-2 (19- и 18-гидроksиейкозатетраеновая кислота, 78 %, и EET, 18 %) [33]. CYP2E1 является важным

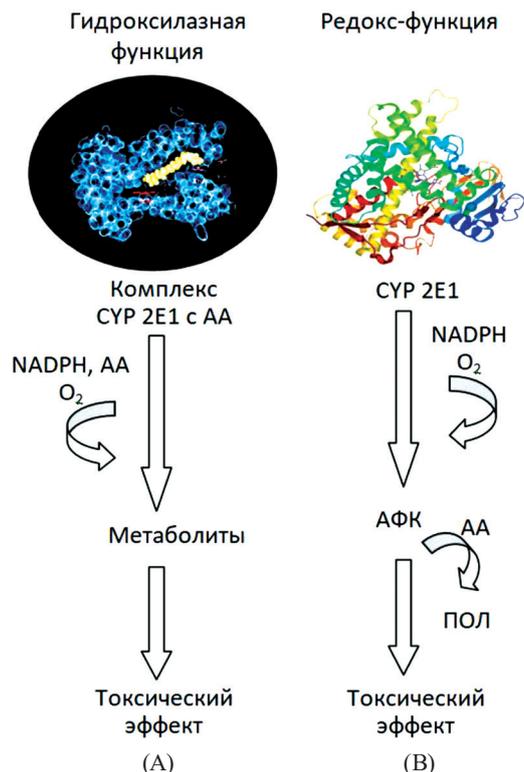


Рис. 4. Возможная роль CYP2E1 [3] как promotora токсичности арахидоновой кислоты. (А) CYP2E1 человека (PDB, код 3T3Z) может напрямую окислять арахидоновую кислоту до реакционноспособных метаболитов, которые вызывают цитотоксический эффект. (В) Активные формы кислорода, генерируемые CYP2E1, могут реагировать 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<sub>2</sub>, 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<sub>2</sub>, что имеет решающее значение для последующего увеличения притока внеклеточного Ca<sup>2+</sup>. Установлено *in vivo*, что сочетание повышенной активности ФЛА<sub>2</sub>, внутриклеточного кальция и окислительного стресса вызывает повреждение митохондрий (рис. 5).

Активация ФЛА<sub>2</sub>, связанная с окислительным стрессом, в этих моделях была предложена как критический фактор цитотоксичности [3]. Активация ФЛА<sub>2</sub> *in vitro* по отношению к УФ-окисленным фосфолипидам наблюдалась независимо от их структурной организации (мицеллы с детергентом или липосомы) и от специфичности фермента (ФЛА<sub>2</sub> яда змеи – к нейтральным липидам, ФЛА<sub>2</sub> панкреаса – к «кислым» липидам) [45, 46].

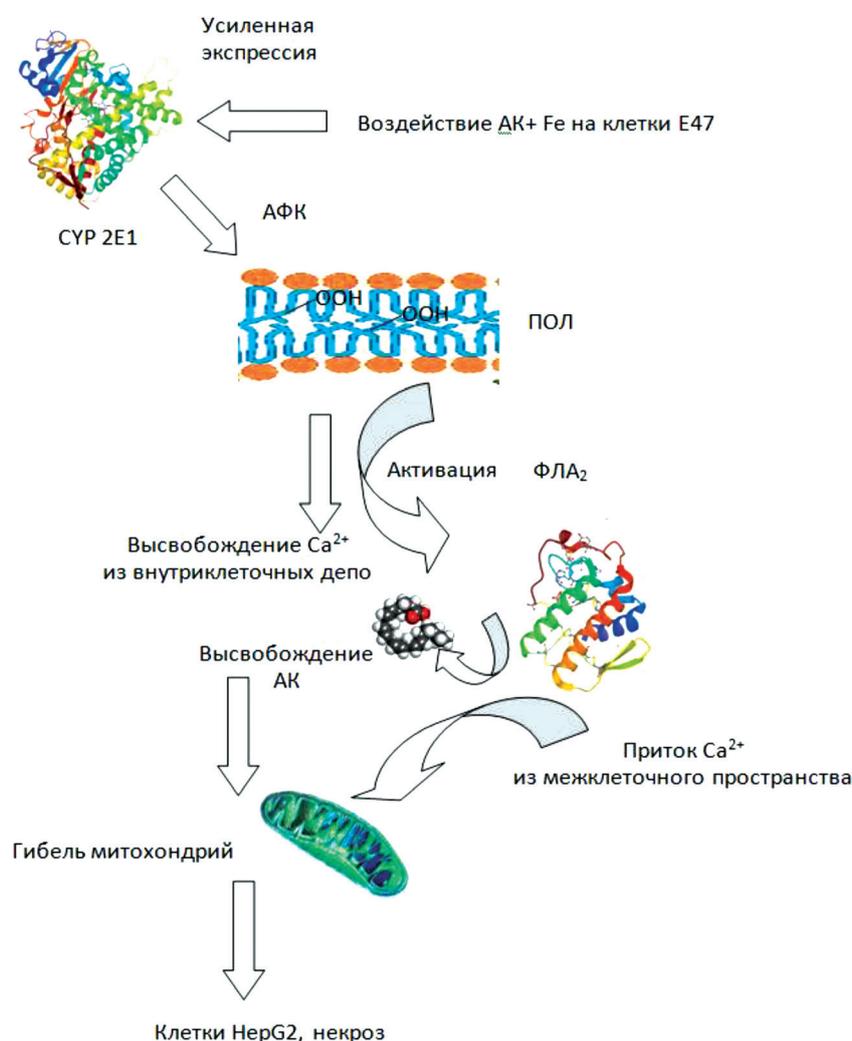


Рис. 5. Предлагаемый механизм [3] зависимой от перекисного окисления липидов активации ФЛА<sub>2</sub> (PDB, код 3U8D – участвует в метаболизме АК), высвобождение АК и апоптоз клеток HepG2, усиленно экспрессирующих CYP2E1 (клетки E47) (PDB, код 3LC4, показан в комплексе с производным жирной кислоты – омега-имидазоил-додекановой кислотой)

Fig. 5. The proposed mechanism [3] of lipid peroxidation-dependent activation of PLA<sub>2</sub> (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-imidazolyl-dodecanoic acid)

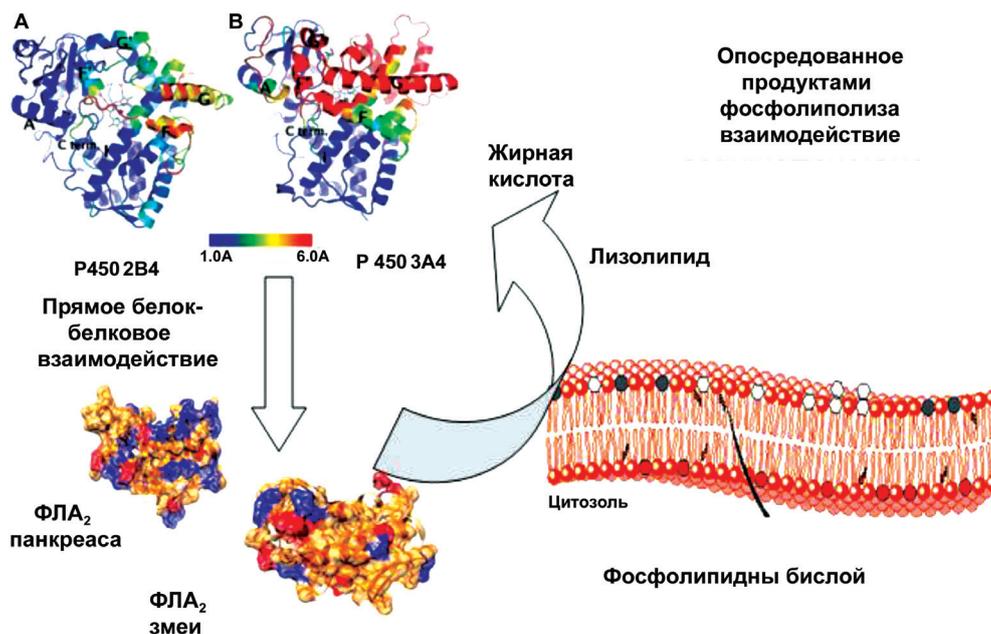


Рис. 6. Предполагаемые механизмы взаимодействия ФЛА<sub>2</sub> и СYP. Структуры белков взяты из Базы данных белков (PDB): ФЛА<sub>2</sub> панкреаса свиньи, код 4g5i, яда кобры – Imh7; CYP2B4 – 1SUO, CYP3A4 – 1TQN

Fig. 6. Proposed mechanisms of interaction between PLA<sub>2</sub> and CYP. Protein structures are taken from the Protein Database (PDB): PLA<sub>2</sub> of the porcine pancreas, code 4g5i, cobra venom – Imh7; CYP2B4 – 1SUO, CYP3A4 – 1TQN

Сопряжение увеличения активности ФЛА<sub>2</sub> и усиленного функционирования изоформ цитохрома Р450 на фоне повышения ПОЛ при окислительном стрессе являются критическими патогенными явлениями при алкогольном поражении печени (iФЛА<sub>2</sub> и СYP2C9), поздней кожной порфирии (цФЛА<sub>2</sub> и Р450-зависимый метаболизм АК), повреждения миокарда после ишемии (iФЛА<sub>2</sub> и СYP2C9) и инсульте головного мозга (сФЛА<sub>2</sub> и СYP2C11), а также других болезнях, угрожающих здоровью человека [3], в том числе при инфицировании SARS-CoV-2 [47].

Таким образом, активность цитохрома Р450 усугубляет ФЛА<sub>2</sub>- и АК-зависимое повреждение в основном за счет продукции АФК, которые способствуют перекисному окислению липидов или продукции метаболитов, изменяющих гомеостаз Ca<sup>2+</sup>. 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 /АКТ и p42 /p44 MAPK киназ. Например, кардиомиоцит-специфическая сверхэкспрессия СYP2J2 у трансгенных мышей обеспечивает защиту от ишемии [3].

Сопоставление схем участия ФЛА<sub>2</sub> в цитохром Р450-зависимом метаболизме арахидоновой кислоты (рис. 2) и с учетом того, что метаболиты арахидоновой кислоты (12-НЕТЕ и 15-НЕТЕ) являются ингибиторами ФЛА<sub>2</sub>, указывает на возможность существования прямой и опосредованной взаимосвязи между функционированием ФЛА<sub>2</sub> и СYP [48] (рис. 6).

**Опосредованный структурой фосфолипидного матрикса механизм взаимодействия СYP и ФЛА<sub>2</sub>.** В ответ на введение ксенобиотиков в печени животных активируется биосинтез ряда изоэнзимов СYP, специфичных к индуктору. Так, у кроликов, индуцированных фенобарбиталом (ФБ), образуется изофермент цитохрома Р450, известный как форма СYP2B4, 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 СYP2B4 увеличение активности ФЛА<sub>2</sub> [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 СУР2В4 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 эксимеризации пирена. В протеолипосомах, содержащих интегральный белок цитохром Р450, в состав приобертываемого 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<sub>2</sub>, 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 СУР3А4 также наблюдалась активация панкреатической ФЛА<sub>2</sub> с максимумом при молярном соотношении СУР/ФХ в промежуток 1:500–1:1000 [51].

С другой стороны, в результате обработки ФЛА<sub>2</sub> 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 гидропероксидом 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<sub>2</sub>, 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<sub>2</sub> играют существенную роль в активации гидроксимирующей 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 мембранно-связанной монооксигеназной системы. Усиление окисления субстратов цитохромом Р450 также может обеспечиваться за счет синергизма непосредственно белок-белкового взаимодействия с ФЛА<sub>2</sub>.

**Белок-белковое взаимодействие цитохромов Р450 и фосфолипаз А<sub>2</sub> *in vitro*.** Имеются данные о проникновении секреторных ФЛА<sub>2</sub>, 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<sub>2</sub>, связана с поверхностью раздела фаз липид–вода. Проведено сравнительное исследование с использованием КД-спектроскопии (в диапазоне 190–250 нм) белок-белкового взаимодействия двух ФЛА<sub>2</sub> – 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 СУР 2В4 и СУР 3А4. Обнаружены разнонаправленные эффекты в изменении спектров КД смеси ФЛА<sub>2</sub> яда змеи/СУР2В4 (соотношение 1:4 моль/моль) и смеси ФЛА<sub>2</sub> поджелудочной железы свиньи/СУР3А4 человека (соотно-

шение 1:20 моль/моль) в сравнении со спектрами КД индивидуальных белков соответственно, что свидетельствует о прямом белок-белковом взаимодействии ФЛА<sub>2</sub> и СYP. 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<sub>2</sub> более важны гидрофобные контакты, чем электростатические [53].

Установлено, что белок-белковое взаимодействие между панкреатической ФЛА<sub>2</sub> и СYP3A4 приводит к повышению каталитической активности ФЛА<sub>2</sub> по отношению к ФХ в составе липосом более чем в 1,4 раза. Показано смещение в коротковолновую область максимума поглощения в электронных спектрах СYP3A4 в отсутствие и присутствии ФЛА<sub>2</sub>, что доказывает связывание ФЛА<sub>2</sub> с СYP3A4 и предполагает, что ФЛА<sub>2</sub> может выступать инициатором перехода гемопротеида в высокоспиновое состояние подобно природным донорам электронов.

Дальнейшее изучение каталитической активности СYP2B4 и СYP3A4 по отношению к субстратам разного типа в присутствии ФЛА<sub>2</sub> различной специфичности позволят выяснить более детальный механизм взаимодействия этих биополимеров между собой и их роль в монооксигеназном катализе.

**Заключение.** Реакция ФЛА<sub>2</sub> является основным путем высвобождения АК из фосфолипидов. АК метаболизируется цитохромом P450 в основном до ЕЕТ и 19- и 20-НЕТЕ. 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<sub>2</sub>- и АК-зависимую токсичность является сложным. В случае несильно связанных изоформ P450, таких как СYP2E1 и СYP2C9, экспрессия этих изоформ может усиливать окислительный стресс и перекисное окисление липидов в присутствии АК и быть пагубным из-за активации ФЛА<sub>2</sub>. Это может происходить в результате прямого перекисного окисления липидов, активации р38 МАРК, нарушения гомеостаза Ca<sup>2+</sup> и / или митохондриальной недостаточности. Напротив, в случае наиболее крепко связанных изоформ, таких как изоформы СYP2J или бактериальные мутантные изоформы этой эпоксигеназы, метаболизм АК в метаболиты, активирующие антиапоптотические пути, такие как киназа PI3 / АКТ и р42 / р44 МАРК, могут опосредовать P450-зависимые защитные эффекты.

Анализ представленных выше данных позволяет выдвинуть следующие возможные механизмы сопряжения фосфолиполиза ФЛА<sub>2</sub> с монооксигеназным катализом:

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

б) взаимное изменение активности ферментов непосредственно за счет синергизма прямого белок-белкового взаимодействия СYP с цФЛА<sub>2</sub> и с ФЛА<sub>2</sub> (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<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>. 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<sub>2</sub>- and arachidonic acid mediated cytotoxicity / A. A. Caro, A. I. Cederaum // 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](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<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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/j.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<sub>2s</sub> / 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<sub>2</sub> 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](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<sub>2</sub> / 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<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> 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- $\alpha$  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<sub>2</sub> isoforms: a perspective / S. Chakraborti // *Cell. Signalling.* – 2003. – Vol. 15. – P. 637–665. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(02\)00144-4](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(02)00144-4)
20. Cummings, B. S. Phospholipase A<sub>2s</sub> 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<sub>2</sub> 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](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<sup>2+</sup>- independent phospholipase A<sub>2</sub> but not cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>, 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](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](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 peroxy 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](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](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](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](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-450III<sub>E1</sub>) / 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](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 гидроксидирующей 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](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](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00461-0)
43. Martinez, J. Role of Ca<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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](https://doi.org/10.1016/0167-4889(95)91997-z)
45. Litvinko, N. M. The interaction of phospholipase A<sub>2</sub> 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 // *Вест. 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 А<sub>2</sub> и С при биохимическом моделировании / Н. М. Литвинко. – Минск: Технопринт, 2003. – 350 с.
49. The comparative study of the phospholipase A<sub>2</sub>-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 А<sub>2</sub> / 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. Янецвич // *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 А<sub>2</sub> разной специфичности, обнаруживаемые КД-спектроскопией / Н. М. Литвинко [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларусі.* – 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<sub>2</sub>. 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<sub>2</sub>- and arachidonic acid-mediated 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. Нрыцаў Е. Г., Бандьера С. М. 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](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<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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/j.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<sub>2</sub>s. *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<sub>2</sub> 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](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<sub>2</sub>. *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<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> 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- $\alpha$  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<sub>2</sub> isoforms: a perspective. *Cellular Signalling*, 2003, vol. 15, pp. 637–665. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(02\)00144-4](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(02)00144-4)
20. Cummings B. S., Mchowat J., Schnellmann R. G. Phospholipase A<sub>2</sub>s in cell injury and death. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, vol. 294, pp. 793–799.
21. Taketo M., Sonoshita M. Phospholipase A<sub>2</sub> 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](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(02)00326-8)
22. Ono K., Kim S. O., Han J. 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<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub> but not cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>, 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](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](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 peroxy 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](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](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](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](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 ethanol-inducible cytochrome P450 (P-450IIE1). *Biochemical Pharmacology*, 1989, vol. 38, no. 8, pp. 1313–1319. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(89\)90338-9](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](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](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00461-0)
43. Martinez J., Moreno J. J. Role of Ca<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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](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<sub>2</sub> 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.2018.04.001>
46. Litvinko N. M. Hydrolysis of UV-induced peroxidized phosphatidylcholine initiated by phospholipases of different substrate specificities. *Vestsi Natsyonal'noi 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<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>-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<sub>2</sub>. *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. *Khimiya, struktura i funktsiya biomolekul: IV mezhdunarodnaia nauchnaia konferentsiya, posviashchennaya 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 100<sup>th</sup> 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<sub>2</sub> 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