

МЕМБРАНОСВЯЗАННЫЙ ЦИТОХРОМ b₅ И МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ (РЕАКЦИИ НЕ СВЯЗАННЫЕ С УЧАСТИЕМ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P-450)

В.В. Кржечковская, А.А. Кубатиев, Ю.И. Наумов

НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН

Цитохром b₅ является мембраносвязанным гемопротеином и участвует в разнообразных биохимических окислительно-восстановительных реакциях в качестве переносчика электронов. В обзоре дана краткая характеристика фермента и представлены данные о его роли в качестве редокс-партнера в реакциях десатурации жирных кислот, их элонгации, синтеза холестерина, а также плазмалогенов и церамида.

Ключевые слова - цитохром b₅, липиды, жирные кислоты метаболизм, десатураза, элонгация, холестерин, плазмалоген, церамид.

The cytochrome b₅ is membrane-bound hemoproteinom participates in various oxidation-reduction reactions in quality electron transport. In the review the brief characteristic of enzyme is given and the data on a role cytochrome b₅ are submitted as the redox-partner in reactions fatty acids desaturation, them elongation, cholesterol synthesis, and also plazmalogene and seramide.

Keywords - cytochrome b₅, lipid, fatty acids, metabolism, desaturation, elongation, cholesterol, plazmalogen, seramid.

В последние годы все большее количество исследователей обращают внимание на биологическую роль и функциональные особенности цитохрома b₅. В течение многих лет ферменту отводилась как бы вспомогательная роль в различных окислительно-восстановительных реакциях, в том числе в реакциях десатурации жирных кислот, а также гидроксилазных и других реакциях, катализируемых изоформами цитохрома P-450. В настоящее время известные изоформы цитохрома b₅ можно разделить на две группы – растворимые и мембраносвязанные.

К растворимым формам цитохрома b₅ относятся ферменты, локализованные в цитозоле различных клеток и выполняющие разные функции. Так эритроцитарная форма такого энзима необходима для восстановления метгемоглобина, а цитозольный цитохром b₅ клеток печени и других тканей является незаменимым компонентом в цикле синтеза метионина из гомоцистеина. Авторы считают, что генетический полиморфизм может приводить к нарушению функциональной активности цитохрома b₅ и, как следствие, к повышению риска возникновения сердечно-сосудистой патологии у человека [12].

В группе мембраносвязанных изоформ цитохрома b₅ выделяют митохондриальную и

микросомальную, которые связаны с соответствующими органеллами клетки в различных органах и тканях. Следует подчеркнуть, что апопротеины цитохрома b₅, локализованного в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме, кодируются двумя различными генами. Отмечается, что митохондриальная изоформа цитохрома b₅ обладает более отрицательным редокс-потенциалом, молекула более стабильна (химическая и термическая денатурация), а связь апопротеина с гемом значительно прочнее. В молекуле цитохрома b₅ выявлено два гидрофобных участка. Первый гидрофобный участок трехмерной структуры митохондриального гемопропротеина формируют остатки аланина-18, изолейцина-32, лейцина-36 и лейцина-47, а второго – изолейцин-25, фенилаланин-58, лейцин-71 и гем. С использованием мутантных форм молекулы показано, что оба гидрофобных участка имеют важное значение в поддержании стабильности. В случае их отсутствия или замены в них аминокислотных остатков снижается взаимодействие апопротеина с гемом. Первостепенное значение в поддержании стабильности апопротеина, локализованного в митохондриях, имеет остаток лейцин-71, который участвует в образовании гидрофобных связей с остатками изолейцина-25 и фенилаланина-58 [7, 15, 24,

46]. Отмечено, что замена лишь одного остатка аминокислоты в С-концевой части молекулы цитохрома b_5 приводит к ее перемещению либо из митохондрий в эндоплазматический ретикулум, либо наоборот [32, 43].

Цитохром b_5 является гемопротеином, гемовая группа которого представлена гемом b. Фермент (микросомальная изоформа) участвует в разнообразных биохимических окислительно-восстановительных реакциях в качестве переносчика электронов с редокс-потенциалом гемопротеина 20 мВ. В растворенном виде цитохром b_5 представлен двумя изомерами (А и В), которые отличаются плоскостью вращения гема вокруг оси, а их соотношение в микросомах печени кроликов составляет 5:1 (А/В). Стабильность изомера А определяется наличием в положении 70 остатка лейцина, а в положении 71 – серина. В состав молекулы фермента входят одна или две гемовые группы, нековалентно связанные с ней. Соединение гемовой группы с апопротеином осуществляется при участии двух остатков молекул гистидина в положениях 62 и 85 (рис. 1) [1, 7, 9, 16, 17, 74]. Также большое значение в формировании молекулы цитохрома b_5 имеет остаток тирозина в положении 74. Он играет важную роль вместе с остатками фенилаланина-35 и гистидина-39 в формировании ван-дер Ваальсовых взаимодействий между апопротеином и гемом. Отмечается значительная дестабилизация молекулы фермента при замене остатка тирозина-74 на лизин (мутант

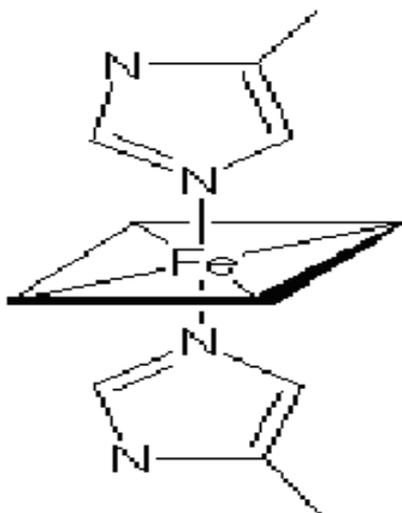


Рис. 1. Схематичная структура взаимодействия остатков молекул гистидина с гемовой группой цитохрома b_5

Тир74Лиз), что проявляется в ускорении (в 6 раз) спонтанной диссоциации гема [69].

Молекула цитохрома b_5 состоит из двух доменов – гидрофильного и гидрофобного. Гидрофильный участок фермента ($t-b_5$) образован аминокислотными остатками с 1-88 и содержит гем, входящий в состав активного центра. Гидрофобный домен цитохрома b_5 ($mb-b_5$) образован остатками аминокислот С-конца белковой молекулы (остатки аминокислот 89-133). Основной функцией этой части молекулы является связь с мембраной. С помощью компьютерного моделирования показано, что С-концевой участок молекулы цитохрома b_5 образует петлю и пронизывает липидную мембрану насквозь [1]. Наибольшая гидрофобность $mb-b_5$ наблюдается в средней части петли – погруженной в мембрану (рис. 2). В эксперименте показано, что в том случае, если в качестве С-концевой аминокислоты остается пролин-115 (Pro115 Stop mutant), то есть молекула цитохрома b_5 становится на 18 остатков аминокислот короче, то нарушается ее взаимодействие с мембраной и около 63% энзима переходит в цитозоль. Высказывается мнение, что С-концевая часть фермента играет важную роль при встраивании молекулы в мембрану и при расположении (стационарное положение – static retention signal) в липидном бислое, обеспечивающем функциональную активность энзима [10, 29, 70]. Несмотря на то, что в настоящее время трехмерная структура молекулы полноразмерного (full length) цитохрома b_5 ($fl-b_5$) полностью не установлена, подобная модель дает представление о функциональных особенностях фермента.

Часть молекулы ряда ферментов (L-лактат дегидрогеназы, нитрат редуктазы, сульфит оксидазы, стероилКоА десатуразы) представлена фрагментом сходным по структуре с цитохромом b_5 . По этому признаку энзимы объединяются в суперсемейство вместе с различными изоформами цитохрома b_5 [16, 49].

В настоящем сообщении обобщены сведения о роли цитохрома b_5 в метаболизме липидов в реакциях, в которых не участвуют изоформы системы цитохрома P-450. Наиболее важными ферментативными реакциями, с участием цитохрома b_5 являются – реакции десатурации жирных кислот, удлинения углеводородной цепи



Рис. 2. Схематическое изображение расположения молекулы цитохрома b_5 в мембране.

жирных кислот, синтеза холестерина, плазмалогенов и церамида.

1. Реакции десатурации жирных кислот

Цитохром b_5 принимает активное участие в реакциях десатурации (образование двойных связей) в молекуле жирных кислот (схема 1). Гемопротейн является промежуточным звеном в передаче электронов от редуктазы, содержащей в качестве простетической группы никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) или никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФ), к десатуразам – микросомальным ферментам, в состав которых входит негеминовый атом железа, чувствительных к цианидам. Этот процесс осуществляется только в аэробных условиях. Субстратами и продуктами реакций, катализируемых десатуразами, являются ацильные производные коэнзима А (КоА).

В настоящее время считается, что цитохром b_5 является одним из ключевых ферментов синтеза полиненасыщенных жирных кислот в клетках различных живых организмов от бактерий до млекопитающих. Помимо того, что все реакции образования двойных связей в молекулах жирных кислот протекают в присутствии цитохрома b_5 , показано, что N-терминальный домен молекулы десатураз ортоголичен микросомальному цитохрому b_5 [50,56].

Важно отметить, что в организме млекопитающих процесс образования двойных связей в положении Δ^9 выражен в значительно меньшей степени, чем в положениях Δ^5 и Δ^6 . В связи с этим линолевая (18:2; ω -6) и α -линоленовая (18:3; ω -3) кислоты считаются незаменимыми и должны присутствовать в рационах животных и человека. Известно, что в норме аффинность Δ^5 - и Δ^6 -десатураз выше к полиненасыщенным жир-

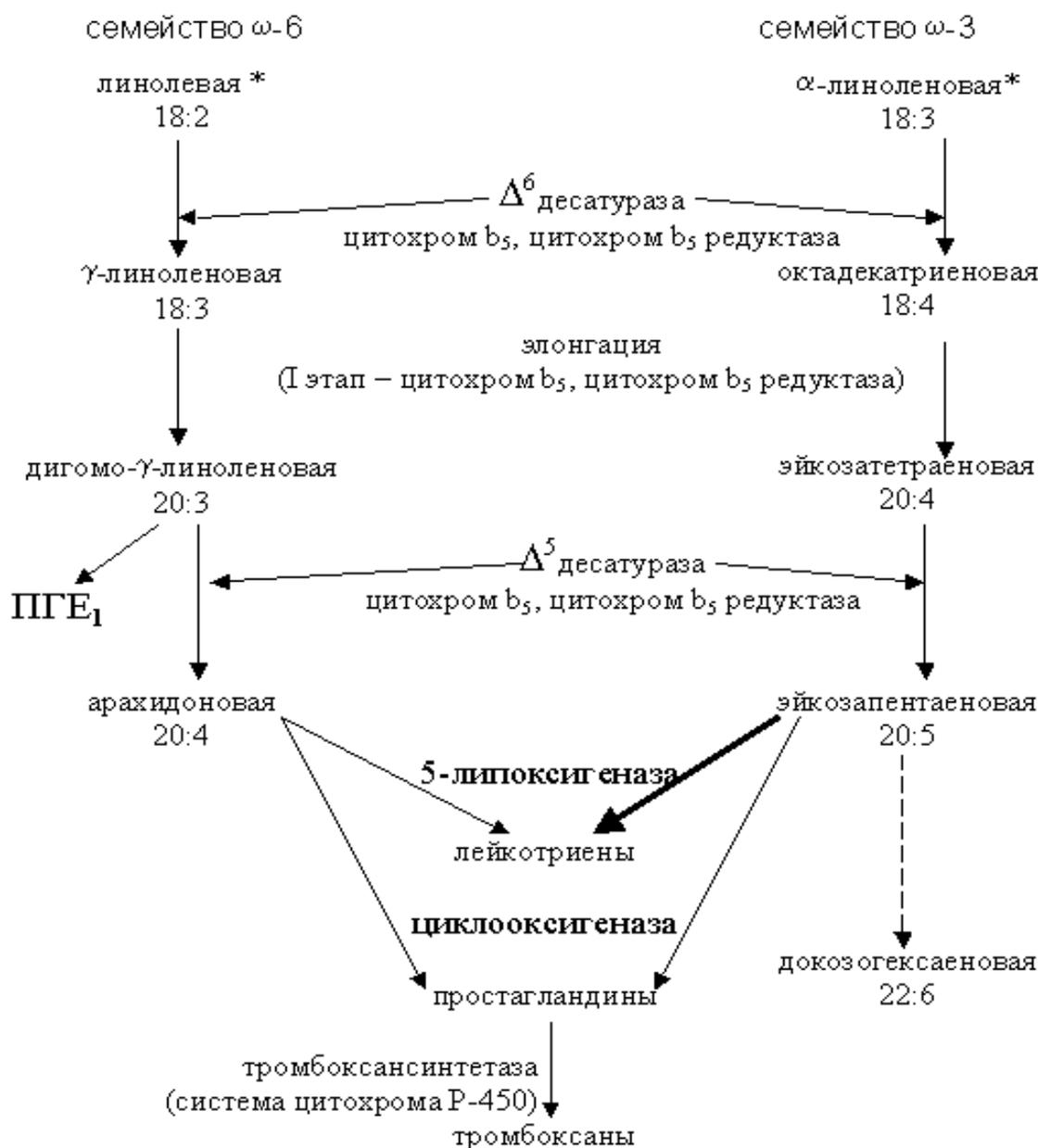
ным кислотам (ПНЖК) семейства ω -3, по сравнению с жирными кислотами семейства ω -6. Однако при патологических состояниях, например при шизофрении, степень сродства ферментов к субстратам может изменяться [30].

Трудно переоценить роль ненасыщенных и, особенно, полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в организме. Во-первых, ПНЖК являются структурными элементами всех мембран, в том числе митохондриальных и микросомальных, и в значительной степени определяют их текучесть. Данный параметр характеристики состояния мембран имеет большое значение, так как с ним связана активность ферментов, расположенных в субклеточных структурах. Во-вторых, полиненасыщенные жирные кислоты являются предшественниками многих биологически активных соединений. Например, в результате метаболизма арахидоновой кислоты (20:4; ω -6) образуются простагландины, лейкотриены и тромбоксаны, играющие роль медиаторов воспалительной и аллергической реакций и участвующие в регуляции функциональной активности многих клеток. Также метаболитами ПНЖК, образующимися в значительном количестве различными изоформами цитохрома P-450, являются гидрокси- (HETE_s) и эпокси- (EET_s) производные, обладающие высокой и разнообразной активностью [2, 3].

Реакции синтеза ПНЖК у млекопитающих представлены в виде процесса образования двойных связей в положениях между 9 и 10 (Δ^9 десатураза) 6 и 7 (Δ^6 десатураза) и 5 и 6 (Δ^5 десатураза) атомами углерода жирных кислот.

Δ^9 Десатураза (стероилКоА десатураза) катализирует реакции образования двойных свя-

ПОЛИЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ



* - незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты,
ПГЕ₁ – простагландин E₁

зей в молекулах жирных кислот между 9 и 10 углеродными атомами. Strittmater с соавторами впервые выделили Δ^9 десатуразу (М.м. 53000 Da) из микросом печени крыс и охарактеризовали как фермент, содержащий негеминовое железо [19]. Молекула белка содержит 62% неполярных остатков аминокислот. Показано, что аминокислотный состав Δ^9 десатуразы микросом печени крыс на 36% идентичен и на 60% аналогичен ферменту, выделенному из *Saccharomyces cer-*

visiae. Фермент взаимодействует с цитохромом b_5 , который получен из этих дрожжей, и проявляет специфическую активность в его присутствии [18, 66]. При исследовании генной структуры ДНК крыс показано, что существует два региона, имеющих отношение к кодированию первичной структуры Δ^9 десатуразы [54].

Десатуразная активность фермента изучена в реконструированной системе, которая содержит цитохром b_5 , цитохром b_5 редуктазу и вос-

становленный НАДФ. Доказано, что основным субстратом Δ^9 десатуразы является стеарилКоА (активная форма стеариновой кислоты, 18:0). В результате реакции, катализируемой Δ^9 десатуразой, происходит образование олеиновой кислоты (18:1). Отмечается, что при использовании мутантной формы цитохрома b_5 - Pro115 Stop mutant, метаболизм стеарилКоА не изменяется и также образуется олеиновая кислота [70]. Следовательно, в данном случае либо недостаточно важна для протекания реакции связь цитохрома b_5 с мембраной, либо фермента, инкорпорированного в мембрану, достаточно для проявления каталитической активности десатуразы.

Под влиянием различных экзогенных и эндогенных факторов наблюдаются изменения активности Δ^9 десатуразы и, как следствие, изменение липидного состава микросомальной мембраны. Введение дегидроэпиандростендиона и фиброевой кислоты приводит к повышению активности стериолКоА десатуразы. Одновременно достоверно повышается содержание олеиновой кислоты (18:1) в липидах печени и отношения олеиновой кислоты (18:1) к дигомо- γ -линоленовой кислоте ($\Delta 9$; 20:3, ω -6). Причем при применении дегидроэпиандростендиона увеличение олеиновой кислоты (18:1) отмечается в основном во фракции фосфатидилхолина (во 2-ом положении), а под воздействием фиброевой кислоты – как во фракции фосфатидилхолина, так и во фракции фосфатидилэтаноламина [31, 35, 36]. Также увеличивают активность Δ^9 десатуразы и широко применяемые гиполлипидемические (антисклеротические) лекарственные средства – производные фиброевой кислоты (фенофибрат, безафибрат, гемфиброзил). В этом случае активация фермента коррелирует с эффектом пролиферации пероксисом [6]. Введение крысам дексаметазона в дозе 1 мг/кг через 12 часов значительно повышает активность Δ^9 десатуразы (метаболизм пальмитиновой кислоты, 16:0) в микросомах печени. Эффект индукции фермента связан с рецепторным механизмом действия этого гормонального средства [52]. Введение в рацион крыс повышенного содержания сахарозы (дисахарид) приводит к активации Δ^9 десатуразы [14]. Выявлено парадоксальное увеличение активности фермен-

та на фоне дефицита солей цинка в рационе животных [8].

При кормлении крыс рационом, не содержащим липидов с добавлением солей кадмия, или хроническое введение этанола приводит к снижению активности Δ^9 десатуразы на 90% и 80%, соответственно. На этом фоне отмечается уменьшение отношения олеиновой кислоты (18:1) к дигомо- γ -линоленовой кислоте (20:3, ω -6) в основном во фракции фосфатидилхолина (введение солей кадмия). Кроме этого, при применении этанола наблюдается повышение содержания цитохрома b_5 и активности цитохром b_5 редуктазы. Авторы считают, что угнетение образования олеиновой кислоты (18:1) происходит за счет снижения содержания Δ^9 десатуразы (терминального компонента десатуразной системы) [40, 41, 68]. Уменьшение активности стериолКоА десатуразы в 4 раза также выявляется при введении в рацион крыс гризеофульвина (спиросоединение, противогрибковое средства), при дефиците ионов железа в рационе и в клетках гепатомы (4% от контрольных значений), а также в митохондриях печени гипофизэктомированных крыс [5, 14, 72, 75]. В опухолевых клетках печени также отмечается значительное снижение содержания цитохрома b_5 [75]. При кормлении крыс рационом с высоким содержанием жирных кислот семейства ω -3 (эйкозопентаеновая, 20:5 и докозопентаеновая, 22:6), которые содержатся в масле американской сельди (рыбий жир), или колумбиновой кислоты (стереоизомер линолевой кислоты 5-trans-9cis-12-cis-18:3) отмечается снижение активности Δ^9 десатуразы [5, 64]. На фоне высокого количества жирных кислот семейства ω -3 в рационе увеличивается содержание в мембране эндоплазматического ретикула эйкозопентаеновой (20:5, ω -3) и докозопентаеновой (22:6, ω -3) кислот с одновременным уменьшением количества жирных кислот семейства ω -6 [64]. Таким образом, под влиянием перечисленных воздействий, снижающих активность Δ^9 десатуразы, увеличение содержания цитохрома b_5 отмечается только при резком снижении активности фермента, что, по мнению авторов, имеет адаптивный характер [68]. Представленные результаты показывают, что функциональная актив-

ность Δ^9 десатуразы проявляется только в присутствии цитохрома b_5 .

Δ^6 Десатураза катализирует реакцию образования двойной связи между 6 и 7 углеродными атомами жирных кислот с длиной цепи равной 18 атомам углерода, среди которых наибольшее значение имеют α -линоленовая (18:3, ω -3) и линолевая (18:2, ω -6) кислоты (схема 1). В результате реакции образуются октадекатриеновая (18:4, ω -3) и γ -линоленовая (18:3, ω -6) кислоты, соответственно. Дальнейший метаболизм линолевой (18:2, ω -6) кислота приводит к образованию арахидоновой кислоты (20:4, ω -6) и данная реакция, наряду с реакцией катализируемой Δ^5 десатуразой, является скоростью лимитирующей в ее синтезе [11].

Δ^6 Десатураза, выделенная из печени крыс, является полипептидом с молекулярной массой 66000 Da, содержащим 49% остатков неполярных аминокислот и негемовое железо.

Выявлено, что Δ^6 десатураза, выделенная из печени крыс, является мембраносвязанным ферментом, локализованным в микросомах. Молекула Δ^6 десатураза состоит из двух мембраносвязанных доменов и участка аналогичного цитохрому b_5 , который описан у десатураз, выделенных из растений и других организмов [13]. Для проявления специфической активности N-концевой участок фермента должен быть представлен типичным HPGG участком цитохрома b_5 , который содержит остаток гистидина [27].

В реконструированной системе, содержащей Δ^6 десатуразу + цитохром b_5 + НАДН цитохром b_5 редуктазу (или НАДФН цитохром P-450 редуктазу) + линолеилКоА, происходит образование γ -линоленовой (18:3, ω -6) кислоты при значении константы Михаэлиса-Ментон (K_m) – 47 микроМ, максимальной скорости реакции (V_{max}) – 83 нмоль/мин/мг белка (Δ^6 десатураза). Оптимальное значение pH для течения реакции составляет 7,0. Значительное ингибирование реакции при добавлении в систему антител к цитохрому b_5 свидетельствует о том, что гемопротеин является незаменимой составляющей десатуразной системы. Также снижение десатуразной активности отмечается при введении в среду соединений, обладающих хелатной активно-

стью по отношению к иону железа, цианидов и т.д. [57].

В составе мембран клеток головного мозга и сетчатки выявлено значительное количество арахидоновой (20:4, ω -6) и докозогексаеновой (22:6, ω -3) кислот, предшественниками которых являются линолевая (18:2, ω -6) и α -линоленовая (18:3, ω -3) кислоты, соответственно. С использованием Northern анализа показано высокое содержание мРНК Δ^6 десатуразы в головном мозге, которое превосходит данный показатель в других органах, в том числе в печени, легких, сердце и скелетных мышцах. При анализе аминокислотного состава фермента, выделенного из головного мозга человека и мышей, выявлено, что пептиды обоих видов состоят из 444 остатков аминокислот и на 87% гомологичны [13].

В доступной литературе практически нет сведений о воздействиях, приводящих к индукции Δ^6 десатуразы. Исключением является сообщение о повышении активности фермента в присутствии солей кадмия [41]. Ингибирование активности Δ^6 десатуразы происходит под влиянием разнообразных соединений – фумонизина В1, галовой кислоты, куркумина [23, 33, 34]. При применении фумонизина В1 наблюдаются выраженные изменения состава микросомальной мембраны – увеличение содержания фосфолипидов, олеиновой (18:1, n-9) и линолевой (18:2, ω -6) кислот, соотношения дигомо- γ -линоленовой (20:3, ω -6) к арахидоновой (20:4, ω -6) кислоте и уменьшение количества длинноцепочечных жирных кислот. Введение дексаметазона приводит к снижению скорости метаболизма линолевой (18:2, ω -6) кислоты в γ -линоленовую (18:3, ω -6), что свидетельствует об ингибировании каталитической активности Δ^6 десатуразы. Механизм действия препарата связан с его взаимодействием с рецептором и передачей сигнала при участии специфического белка [51]. Введение в рацион животных масла американской сельди или trans-изомеров ПНЖК, а также дефицит ионов цинка вызывает уменьшение активности фермента [8, 42, 64].

Δ^5 Десатураза катализирует образование двойной связи между 5 и 6 углеродными атомами в молекулах жирных кислот с длиной цепи 20 атомов углерода. Субстратами фермента являются дигомо- γ -линоленовая (20:3; ω -6) и эй-

козотетраеновая (20:4; ω -3) кислоты (схема 1). В результате реакции образуются соответственно арахидоновая (20:4 ω -6) и эйкозопентаеновая (20:5; ω -3) кислоты, соответственно [45]. По сравнению с другими ферментами данной группы Δ^5 десатураза является наименее изученным энзимом. Отмечается, что реакции десатурации при участии Δ^5 десатуразы протекают в присутствии цитохрома b_5 , восстановленного НАД и кислорода [11].

Повышение активности Δ^5 десатуразы наблюдается при введении крысам, содержащимся на безжировом рационе, ПНЖК семейства ω -6 – линолевой (18:2), γ -линоленовой (18:3) или арахидоновой (20:4) кислот [25]. Показано, что активность фермента ингибируется сезамином, нелипидным компонентом масла из зерен кунжута, а также у гипофизэктомированных крыс [14, 65]. При этом наблюдаются значительные изменения жирнокислотного состава фосфолипидов митохондриальных мембран. Выявлено значительное снижение содержания арахидоновой (20:4 ω -6) и эйкозопентаеновой (20:5; ω -3) кислот во фракциях фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Однако практически не изменяется содержание компонентов электрон-транспортной цепи, в том числе и цитохрома b_5 [14]. Ингибирование активности Δ^5 десатуразы происходит под влиянием тех же соединений, которые оказывают аналогичное действие на Δ^6 десатуразу (фумонизин В1, галовая кислота, куркумин, дексаметазон), а также на фоне безжирового рациона и введении циклогексемида [23, 25, 33, 34, 51].

Обращает внимание тот факт, что одни и те же воздействия оказывают, в ряде случаев, разнонаправленное влияние на активность различных десатураз (табл. 1). Так введение дексаметазона и недостаток ионов цинка в рационе вызывают стимуляцию Δ^9 десатуразы, и снижает активность Δ^6 десатуразы и Δ^5 десатуразы [51, 23, 52]. Активность Δ^9 десатуразы ингибируется при обогащении рациона солями кадмия, а скорость реакции метаболизма линолевой (18:2, ω -6) в арахидоновую (20:4, ω -6) повышается, что свидетельствует о повышении активности Δ^6 десатуразы и, возможно Δ^5 десатуразы [41].

Выраженное ингибирование десатураз (Δ^9 -, Δ^6 - и Δ^5 -) в микросомах печени крыс выявляется

при введении животным *cis*- и *trans*-изомеров (по расположению двойной связи) октадекаеновой кислоты (18:1). Наиболее выраженное снижение активности Δ^9 десатуразы наблюдается при использовании *cis*- Δ^{10} и *cis*- Δ^{11} изомеров, а Δ^6 десатуразы и Δ^5 десатуразы – *cis*- Δ^8 -изомера октадекаеновой кислоты (18:1) [48]. При соотношении ингибитор/субстрат (пальмитиновая кислота – 16:0) равном 3:1 активность Δ^9 десатуразы угнетается в наибольшей степени при введении следующих *trans*-изомеров октадекаеновой кислоты (18:1) – *trans*- Δ^3 , *trans*- Δ^5 , *trans*- Δ^7 , *trans*- Δ^{10} , *trans*- Δ^{12} , *trans*- Δ^{13} и *trans*- Δ^{16} ; Δ^6 десатураза (субстрат – γ -линоленовая кислота – 18:3, ω -6) при введении *trans*- Δ^3 , *trans*- Δ^4 , *trans*- Δ^7 и *trans*- Δ^{15} -18:1 изомеров. Снижение активности Δ^5 десатуразы (соотношение ингибитор/субстрат – дигомо- γ -линоленовая кислота – 18:3, ω -6, равно 6:1) отмечается при использовании *trans*- Δ^3 , *trans*- Δ^9 , *trans*- Δ^{13} и *trans*- Δ^{15} -изомеров жирной кислоты [47]. Следовательно, только *trans*- Δ^3 -изомер октадекаеновой кислоты (18:1) эффективно ингибирует все три десатуразы, что связано со структурными особенностями каждого из ферментов.

В заключение раздела следует отметить, что среди многочисленных факторов, влияющих на активность десатураз, также большое значение имеет текучесть мембраны. Показано, что введение крысам изоамилового и *n*-бутилового спиртов значительно повышают скорость латеральной диффузии цитохрома b_5 в микросомальной мембране печени, что трактуется авторами как повышение текучести мембраны. При этом значительно снижаются активности Δ^9 десатуразы и Δ^6 десатуразы, измеренные по метаболизму пальмитиновой (16) и линолевой (18:2; ω -6) кислот, соответственно [22].

2. Участие цитохрома b_5 в реакциях удлинения углеводородной цепи жирных кислот.

В клетках различных органов и тканей млекопитающих выделены две ферментные системы, осуществляющие реакции удлинения углеводородной цепи жирных кислот. Первая расположена в митохондриях, где в реакцию вступает жирная кислота в виде производного КоА и ацетилКоА. Удлинение цепи в этой системе

Таблица 1. Влияние ряда факторов на активность десатураз

Фермент Воздействие	Δ^9 десатураза	Δ^6 десатураза	Δ^5 десатураза
Ионы кадмия (избыток)	↓↓	↓	-
Ионы цинка (недостаток)	↑	↓	↓
Дексаметазон	↑	↓	↓
cis-изомеры октадекаеновой кислоты (18:1)	↓	↓	↓
trans-изомеры октадекаеновой кислоты (18:1)	↓	↓	↓

↓↓ - резкое угнетение активности,

↓ - снижение активности,

↑ - повышение активности,

«-» - нет эффекта

происходит только у насыщенных жирных кислот. Вторая система находится в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПС). В качестве донора углеводов для увеличения цепи жирной кислоты выступает только малонилКоА. В реакцию пролонгации в ЭПС могут вступать как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты.

Реакцию увеличения длины цепи можно разделить на два этапа. На 1-ом этапе происходит образование β -кетосоединения (кетонная группа) с последующим восстановлением до спирта (гидроксильная группа) с участием электронно-транспортной цепи (цитохром b_5 / НАДН цитохром b_5 редуктаза). На втором этапе осуществляется дегидратирование с образованием trans- α,β двойной связи и ее последующее восстановление [50].

По поводу участия цитохрома b_5 в реакциях синтеза жирных кислот, связанных с увеличением числа атомов углерода, существуют противоречивые мнения. Однако, приведенные ниже факты, свидетельствуют о том, что в восстановлении кетосоединения, образующего на 1-ом этапе реакции пролонгирования углеводов-

ной цепи жирных кислот, донором электронов является именно цитохром b_5 .

Среди данных о роли цитохрома b_5 в восстановлении β -кетонов можно выделить три наиболее важных [38,55,67].

1. антитела к цитохрому b_5 ингибируют (на 60%) присоединение малонилКоА к жирным кислотам в микросомальной фракции печени;

2. при повышении скорости окисления цитохрома b_5 увеличивается скорость утилизации малонилКоА и пальмитоилКоА с формированием стеариновой кислоты (микросомы печени крыс);

3. добавление экзогенного цитохрома b_5 (солюбилизованного в детергенте) к микросомам, выделенным из головного мозга, в которых гемопротейн был предварительно разрушен, приводит к восстановлению процесса элонгации жирных кислот, а именно превращение пальмитиновой (16) кислоты в стеариновую (18).

Таким образом, представленные результаты доказывают важную роль цитохрома b_5 в метаболизме жирных кислот, связанных с удлинением углеводородной цепи. Особенно важен тот

факт, что при участии гемопротейна происходит образование полиненасыщенных жирных кислот как семейства ω -6, так и ω -3, играющих важную роль в качестве предшественников биологически активных соединений, которые имеют важное значение в поддержании гомеостаза внутренней среды организма.

3. Участие цитохрома b_5 в синтезе холестерина

Синтез холестерина происходит в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов и осуществляется в 3 стадии. На первой стадии образуется мевалоновая кислота из трех молекул ацетилКоА, на второй происходит образование сквалена. Третья стадия рассматривается как наиболее важная и характеризуется образованием эпоксида сквалена, его дальнейшей циклизацией, синтезом ланостерина (C_{30}) и, в конечном итоге, холестерина (C_{27}) [62]. Метаболизм ланостерина в холестерин сопровождается сложной перестройкой молекулы стероида, которая включает деметилирование у 4-го (две метильные группы) и 14 атомов углерода, насыщение двойной связи ($C_{24}=C_{25}$), сдвиг двойной связи в кольце В из положения C_8-C_9 в положение C_5-C_6 . Все перечисленные реакции катализируются системой ферментов, среди которых, в свете рассматриваемых вопросов, наиболее интересны 4-метил стерол оксидаза и ланостерин Δ^5 -десатураза [58].

4-Метил стерол оксидаза катализирует реакцию деметилирования молекулы ланостерина в положении 4. Показано, что восстанавливающим эквивалентом фермента является цитохром b_5 . Это подтверждается тем фактом, что после обработки микросом трипсином активность 4-метил стерол оксидазы ингибируется, а ее восстановление происходит только после добавления в среду цитохрома b_5 . Оптимальная скорость деметилирования ланостерина при участии 4-метил стерол оксидазы наблюдается при наличии в среде инкубации цитохрома b_5 , цитохрома b_5 редуктазы и кислорода. [21, 26, 61].

При участии ланостерин Δ^5 -десатуразы (7 стерол 5-десатураза) происходит образование двойной связи в молекуле ланостерина (кольцо В в положение C_5-C_6) [26, 28]. Используя реконструированную систему, выявлено, что фермент является НАДН-зависимым и реакция десатурации протекает при наличии в системе фосфолипидов, молекулярного кислорода,

НАДН, цитохрома b_5 , цитохром b_5 редуктазы и, соответственно терминальной оксидазы данной системы [28, 37].

4. Участие цитохрома b_5 в синтезе плазмалогенов и церамида

Плазмалогены и церамид – липиды, которые относятся к фосфолипидам и цереброзидам, соответственно.

Плазмалогены являются подгруппой фосфолипидов, характеризующихся тем, что в 1-ом положении к остатку глицерина присоединена длинная алифатическая цепь (эфирный радикал), связанная с ним α, β -ненасыщенной эфирной связью, а во 2-ом положении – длинноцепочечная жирная кислота. Биологическая роль эфирного радикала недостаточно ясна. Предполагается, что он выполняет функцию антиоксиданта в биологических мембранах. Соединения данной группы в наибольшем количестве встречаются в мембранных структурах клеток мышечной и нервной ткани и составляют около 20% от общего количества фосфолипидов в организме человека [20, 60].

Между атомами углерода в алифатической цепи в положениях α и β присутствует двойная связь, образование которой происходит при участии микросомального фермента – $\Delta^{1'}$ -десатуразы (плазманилэтаноламин десатураза), активность которого зависит от присутствия цитохрома b_5 [59]. Показано, что при введении пиратама крысам активность $\Delta^{1'}$ -десатуразы, тестируемая по скорости синтеза плазмалогена, в микросомах, выделенных из головного мозга, достоверно возрастает. При добавлении в среду инкубации антител к цитохрому b_5 происходит ингибирование биосинтеза плазмалогена [73].

Церамид (N-ацилсфингозин) является жирнокислотным производным сфингозина и в наибольшем количестве определяется в нервной ткани. Предшественник церамида – дигидроцерамид, в результате биохимических реакций метаболизируется в различные сфинголипиды в зависимости от типа клеток [39]. Реакция, катализируемая ферментом дигидроцерамид десатуразой, является последним этапом синтеза церамида и протекает в микросомах. При добавлении в среду инкубации антител к цитохрому b_5 происходит резкое снижение образования це-

рамида. На основании этого сделан вывод, что восстановление субстрата происходит при участии микросомальной электронно-транспортной цепи, в состав которой входит цитохром b_5 . Авторы считают, что структура молекулы дигидроцерамид десатуразы сходна со строением Δ^9 десатуразы, что подтверждают многие факты – влияние концентрации кислорода, хелатирующих соединений, цианидов, а также присутствие цитохрома b_5 , которое оказывает практически одинаковое действие на оба фермента [53]. Также, видимо, существует определенная идентичность молекул дигидроцерамид десатуразы с Δ^6 - и Δ^5 десатуразами, о чем свидетельствует выраженное ингибирующее действие на активность фермента фумонизина В1 (ингибитор Δ^6 - и Δ^5 десатураз) [63, 71].

Представленные литературные данные свидетельствуют о том, что цитохром b_5 играет важную и незаменимую роль в качестве восстанавливающего компонента ферментных систем, участвующих в метаболизме липидов и не связанных с системой цитохрома Р-450. Следует отметить, что цитохром b_5 может вступать во взаимодействие как с НАД- (НАД цитохром b_5 редуктаза), так и НАДФ содержащими (НАДФ цитохром b_5 редуктаза, НАДФ цитохром Р-450 редуктаза) ферментами в рассмотренных выше реакциях.

Принимая участие в синтезе полиненасыщенных жирных кислот (реакции десатурации, элонгации), холестерина, плазмогенов и церамида, цитохром b_5 оказывает значительное влияние на гомеостаз организма, что определяется биологической ролью данных соединений. Во-первых, количество ПНЖК, насыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов мембран, а также холестерина значительно влияет на состояние мембраны, что в свою очередь определяет функциональную активность мембран-связанных ферментов. Во-вторых, ПНЖК, как отмечалось выше, являются предшественниками биологически активных соединений, во многом определяющих реакцию организма на различные экзогенные воздействия. Причем, нарушение их образования может приводить к развитию различных патологических состояний. В-третьих, известно, что холестерин является предшественником стероидных гормонов (глюкокортикоидов, минералокортикоидов, половых

гормонов). Нарушение синтеза холестерина, среди причины которого возможна разбалансировка окислительно-восстановительных реакций с участием цитохрома b_5 , может быть причиной самых разнообразных хронических заболеваний. В-четвертых, принимая во внимание участие цитохрома b_5 в синтезе плазмогенов и церамида, фосфолипидов, широко представленных в нервной системе, можно предположить, что нарушение их синтеза приведет к ее функциональным (как минимум) расстройствам. И это далеко не полный перечень нарушений, которые могут развиваться при изменении качественных и количественных характеристик ферментных систем, содержащих в качестве одного из компонентов цитохрома b_5 .

Учитывая ряд фактов, свидетельствующих о том, что структурной единицей ряда ферментов (L-лактат дегидрогеназы, нитрат редуктазы, сульфит оксидазы, стероилКоА десатуразы) является определенный сегмент цитохрома b_5 , а также идентичность строения N-концевого фрагмента молекулы у разных видов животных, можно сделать вывод, что цитохром b_5 – универсальный переносчик электронов в самых разнообразных окислительно-восстановительных реакциях [4, 16, 49]. Lededer R. считает, что цитохром b_5 обладает свойством «адаптивного модуля» в организме [44].

В данной работе мы не останавливаемся на роли цитохрома b_5 в реакциях, катализируемых изоформами системы цитохрома Р-450, которая является одной из ключевых ферментных систем организма. Роль цитохрома b_5 для нормального функционирования монооксигеназной системы переоценить невозможно, но это тема другого сообщения.

Литература

1. Иванов А.С., Скворцов В.С., А.И. Арчаков А.И./ Компьютерное моделирование трехмерной структуры полноразмерного цитохрома B_5 // *Вопр. мед. химии.*- 2000.- № 6.- стр.25-34.
2. Кржечковская В.В., Небольсин В.Е., Желтухина Г.А., Евстигнеева Р.П., Рубцова Е.Р. /Влияние цитохром Р-450-зависимых метаболитов арахидоновой кислоты на функциональное состояние сосудов // *Вопр. мед. химии.*- 1998.- №5.- с. 417-422
3. Небольсин В.Е., Кржечковская В.В., Желтухина Г.А., Евстигнеева Р.П. /Роль системы цитохрома Р450 в метаболизме полиненасыщенных жирных

- кислот. Биологическое действие метаболитов.// Усп. совр. биол.- 1999.- т. 119.- №1.- с. 76-89.
4. Abe K, Kimura S, Kizawa R, Anan FK, Sugita Y. /Amino acid sequences of cytochrome b5 from human, porcine, and bovine erythrocytes and comparison with liver microsomal cytochrome b5.// J Biochem (Tokyo).- 1985.- v.97.- №6.- p.1659-1668.
 5. de Alaniz M.J., de Gomez Dumm I.N., Brenner R.R./ Effect of different acids with delta 9,12-dienoic structures on delta 9 desaturation activity in rat liver microsomes.// Lipids.- 1986.- v.21.- №7.- p. 425-429.
 6. Alegret M., Cerqueda E., Ferrando R., Vazquez M., Sanchez R.M., Adzet T., Merlos M., Laguna J.C./ Selective modification of rat hepatic microsomal fatty acid chain elongation and desaturation by fibrates: relationship with peroxisome proliferation.// Br J Pharmacol.- 1995.- v.114.- №7.- p. 1351-1358.
 7. Altuve A, Silchenko S, Lee KH, Kuczera K, Terzyan S, Zhang X, Benson DR, Rivera M. /Probing the differences between rat liver outer mitochondrial membrane cytochrome b5 and microsomal cytochromes b5.// Biochemistry.- 2001.- v.40.- №32.- p.9469-9483.
 8. Ayala S., Brenner R.R./ Essential fatty acid status in zinc deficiency. Effect on lipid and fatty acid composition, desaturation activity and structure of microsomal membranes of rat liver and testes.// Acta Physiol Lat Am.- 1983.- v.33.- №3.- p.193-204.
 9. Banci L, Bertini I, Rosato A, Scacchieri S. /Solution structure of oxidized microsomal rabbit cytochrome b5. Factors determining the heterogeneous binding of the heme.// Eur J Biochem.- 2000.- v.267.- №3.- p.755-66.
 10. Borgese N, Gazzoni I, Barberi M, Colombo S, Pedrazzini E. / Targeting of a tail-anchored protein to endoplasmic reticulum and mitochondrial outer membrane by independent but competing pathways.// Mol Biol Cell. 2001 Aug;12(8):2482-96.
 11. Brenner R./ The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals.// Mol Cell Biochem.- 1974.- v. 3.- p.41-52
 12. Chen Z, Banerjee R. / Purification of soluble cytochrome b5 as a component of the reductive activation of porcine methionine synthase.// J Biol Chem. 1998 Oct 2;273(40):26248-26255.
 13. Cho H.P., Nakamura M.T., Clarke S.D./ Cloning, expression, and nutritional regulation of the mammalian Delta-6 desaturase.// J Biol Chem.- 1999.- v.274.- №1.- p. 471-477.
 14. Clejan S, Maddaiah V.T./ Growth hormone and liver mitochondria: effects on phospholipid composition and fatty acyl distribution.// Lipids.- 1986.- v.21.- №11.- p.677-683.
 15. Cowley A.B., Altuve A., Kuchment O., Terzyan S., Zhang X., Rivera M., Benson D.R. /Toward engineering the stability and heme-binding properties of microsomal cytochromes b5 into rat outer mitochondrial membrane cytochrome b5: examining the influence of residues 25 and 71.// Biochemistry.- 2002.- v.41.- №39.- p.11566-11581.
 16. Cytochrome b5 family// <http://metallo.scripps.edu/PROMISE/CYTB5.html>
 17. Davis CA, Dhawan IK, Johnson MK, Barber MJ. / Heterologous expression of an endogenous rat cytochrome b(5)/cytochrome b(5) reductase fusion protein: identification of histidines 62 and 85 as the heme axial ligands.// Arch Biochem Biophys. 2002 Apr 1;400(1):63-75.
 18. McDonough V., Stukey J., Martin C./ Specificity of unsaturated fatty acid-regulated expression of the *Saccharomyces cerevisiae* OLE1 gene.// J Biol Chem.- 1992.- v.267.- p. 5931-5936.
 19. Enoch H., Strittmatter P./ Cytochrome b5 reduction by NADPH-cytochrome P-450 reductase.// J Biol Chem.- 1979.- v.254.- p.8976-8981.
 20. Ford D., Gross R./ Identification of endogenous 1-O-alk-1'-enyl-2-acyl-sn-glycerol* in myocardium and its effective utilization by choline phosphotransferase.// J Biol Chem.- 1988.- v.263.- p.2644-2650.
 21. Fukushima H., Grinstead G.F., Gaylor J.L./ Total enzymic synthesis of cholesterol from lanosterol. Cytochrome b5-dependence of 4-methyl sterol oxidase.// J Biol Chem.- 1981.- v.256.- №10.- p.4822-4826.
 22. Garda H.A., Brenner R.R./ Short-chain aliphatic alcohols increase rat-liver microsomal membrane fluidity and affect the activities of some microsomal membrane-bound enzymes.// Biochim Biophys Acta.- 1984.- v.769.- № №1.- p.160-170.
 23. Gelderblom W.C., Moritz W., Swanevelter S., Smuts C.M., Abel S./ Lipids and delta6-desaturase activity alterations in rat liver microsomal membranes induced by fumonisin B1.// Lipids.- 2002.- v.37.- №9.- p.869-877.
 24. Giordano, S.J. and Steggle, A.W. /Differential expression of the mRNAs for the soluble and membrane-bound forms of rabbit cytochrome b5. //Biochim. Biophys. Acta.- 1993.- v.1172.- p.95-100.
 25. de Gomez Dumm I.N., de Alaniz M.J., Brenner R.R./ Effect of dietary fatty acids on delta 5 desaturase activity and biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes.// Lipids.- 1983.- v.8.- №11.- p.781-788.
 26. Greenstead G.F., Gaylor J.L./ Total enzymatic synthesis of cholesterol from 4,4,14a*-trimethyl-5a*-cholesta-8,24-dien-3b*-oc.// J Biol Chem.- 1982.- v.257.- p.13937-13944 .
 27. Guillou H., D'Andrea S., Rioux V., Barnouin R., Dalaine S., Pedrono F., Jan S., Legrand P./ Distinct roles of endoplasmic reticulum cytochrome b5 and fused cytochrome b5-like domain for rat $\delta 6$ -desaturase activity// J Lipid Res.- 2003.- v.16 [Epub ahead of print]
 28. Honjo K., Ishibashi T., Imai Y./ Partial purification and characterization of lathosterol 5-desaturase from rat liver microsomes.// J Biochem. (Tokyo).- 1985.- v.97.- №3.- p. 955-959.

29. *Honsho M, Mitoma JY, Ito A.* / Retention of cytochrome b₅ in the endoplasmic reticulum is transmembrane and luminal domain-dependent.// *J Biol Chem.* 1998 Aug 14;273(33):20860-20866.
30. *Horrobin D.F., Huang Y.S.*/ Schizophrenia: the role of abnormal essential fatty acid and prostaglandin metabolism.// *Med Hypotheses.*- 1983.- v.10.- №3.- p.329-336.
31. *Imai K., Koyama M., Kudo N., Shirahata A., Kawashima Y.*/ Increase in hepatic content of oleic acid induced by dehydroepiandrosterone in the rat.// *Biochem Pharmacol.*- 1999.- v.58.- №6.- p.925-933.
32. *Isemann, S., Khew-Goodall, Y., Gamble, J., Vadas, M., Wattenberg, B.*/A splice-isoform of vesicle-associated membrane protein-1 (VAMP-1) contains a mitochondrial targeting.// *Mol. Biol. Cell.*- 1998.- 9.- p.1649-1660.
33. *Kawashima H., Akimoto K., Jareonkitmongkol S., Shirasaka N., Shimizu S.*/ Inhibition of rat liver microsomal desaturases by curcumin and related compounds.// *Biosci Biotechnol Biochem.*- 1996.- v.60.- №1.- p.108-110.
34. *Kawashima H., Akimoto K., Shirasaka N., Shimizu S.*/ Inhibitory effects of alkyl gallate and its derivatives on fatty acid desaturation.// *Biochim Biophys Acta.*- 1996.- v.1299.- №1.- p.34-38.
35. *Kawashima Y., Hanioka N., Matsumura M., Kozuka H.*/ Induction of microsomal stearoyl-CoA desaturation by the administration of various peroxisome proliferators.// *Biochim Biophys Acta.*- 1983.- v.752.- №2.- p.259-264.
36. *Kawashima Y., Uy-Yu N., Kozuka H.*/ Sex-related differences in the enhancing effects of perfluoro-octanoic acid on stearoyl-CoA desaturase and its influence on the acyl composition of phospholipid in rat liver. Comparison with clofibrac acid and tiadenol.// *Biochem J.*- 1989.- v.263.- №3.- p.897-904.
37. *Kawata S., Trzaskos J.M., Gaylor J.L.*/ Microsomal enzymes of cholesterol biosynthesis from lanosterol. Purification and characterization of delta 7-sterol 5-desaturase of rat liver microsomes.// *J Biol Chem.*- 1985.- v.260.- №11.- p.6609-6667.
38. *Keyes S., Alfano J., Jansson I., Cinti D.*/ Rat liver microsomal elongation of fatty acids. // *J Biol Chem.*- 1979.- v.254.- p.7778-7784.
39. *Kok J.W., Nikolova-Karakashian M., Klappe K., Alexander C., Merrill A.H.Jr.*/ Dihydroceramide biology. Structure-specific metabolism and intracellular localization.// *J Biol Chem.*- 1997.- v.272.- №34.- p.21128-21136.
40. *Kudo N., Nakagawa Y., Waku K., Kawashima Y., Kozuka H.*/ Prevention by zinc of cadmium inhibition of stearoyl-CoA desaturase in rat liver.// *Toxicology.*- 1991.- v.68.- №2.- p.133-142.
41. *Kudo N., Waku K.*/ Cadmium suppresses delta 9 desaturase activity in rat hepatocytes.// *Toxicology.*- 1996.- v.114.- №2.- p.101-111.
42. *Kurata N., Privett O.S.*/ Effects of dietary trans acids on the biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes.// *Lipids.*- 1980.- v.15.- №12.- p.1029-1036.
43. *Kuroda, R., Ikenoue, T., Honsho, M., Tsujimoto, S., Mitoma, J.Y., Ito, A.*/ Charged aminoacids at the carboxyl-terminal portions determine the intracellular location of two isoforms of cytochrome b(5).// *J. Biol. Chem.*-1998 273, 31097-31102
44. *Lederer F.* /The cytochrome b₅fold: an adaptable module.// *Biochimie.*- 1994.- v.76.- p.674-692.
45. *Lee T.C., Baker R.C., Stephens W., Snyder F.*/ Evidence for participation of cytochrome b₅ in microsomal A*-6 desaturation of fatty acids.// *Biochim Biophys Acta.*- 1977.- v. 489.- p.25-31. 32.
46. *Lee KH, Kuczera K.* / Molecular dynamics simulation studies of cytochrome b₅ from outer mitochondrial and microsomal membrane.// *Biopolymers.* 2003 Jun;69(2):260-9.
47. *Mahfouz M.M., Johnson S., Holman R.T.*/ The effect of isomeric trans-18:1 acids on the desaturation of palmitic, linoleic and eicosa-8,11,14-trienoic acids by rat liver microsomes.// *Lipids.*- 1980.- v.15.- №2.- p.100-107.
48. *Mahfouz M., Johnson S., Holman R.T.*/ Inhibition of desaturation of palmitic, linoleic and eicosa-8,11,14-trienoic acids in vitro by isomeric cis-octadecenoic acids.// *Biochim Biophys Acta.*- 1981.- v.663.- №1.- p.58-68.
49. *Napier JA, Michaelson LV, Sayanova O.* /The role of cytochrome b₅ fusion desaturases in the synthesis of polyunsaturated fatty acids.// *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.*- 2003.- V.68.- №2.- p.35-43.
50. *Marquardt A., Stohr H., White K., Weber B.H.*/ cDNA cloning, genomic structure, and chromosomal localization of three members of the human fatty acid desaturase family.// *Genomics.*- 2000.- v.66.- №2.- p.175-183.
51. *Marra C.A., de Alaniz M.J., Brenner R.R.*/ Modulation of delta 6 and delta 5 rat liver microsomal desaturase activities by dexamethasone-induced factor.// *Biochim Biophys Acta.*- 1986.- v.879.- №3.- p.388-393.
52. *Marra C.A., de Alaniz M.J., Brenner R.R.*/ A dexamethasone-induced protein stimulates delta 9-desaturase activity in rat liver microsomes.// *Biochim Biophys Acta.*- 1988.- v.958.- №1.- p.93-98.
53. *Michel C., van Echten-Deckert G., Rother J., Sandhoff K., Wang E., Merrill A.H.Jr.*/ Characterization of ceramide synthesis. A dihydroceramide desaturase introduces the 4,5-trans-double bond of sphingosine at the level of dihydroceramide.// *J Biol Chem.*- 1997.- v.272.- №36.- p.22432-2247.
54. *Mihara K.*/ Structure and regulation of rat liver microsomal stearoyl-CoA desaturase gene.// *J Biochem. (Tokyo).*- 1990.- v.108.- №6.- p.1022-1029.
55. *Nagi M., Cook L., Prosd M., Cinti D.*/ Site of participation of cytochrome b₅ in hepatic microsomal fatty acid chain elongation.// *J Biol Chem.*- 1983.- v.258.- p.14823-14828.

56. Napier J.A., Michaelson L.V., Sayanova O./ The role of cytochrome b5 fusion desaturases in the synthesis of polyunsaturated fatty acids.// *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.*- 2003.- v.68.- №2.- p.135-143.
57. Okayasu T., Nagao M., Ishibashi T., Imai Y./ Purification and partial characterization of linoleoyl-CoA desaturase from rat liver microsomes.// *Arch Biochem Biophys*/ 1981.- v.206.- p.21-28.
58. Paik Y.K., Trzaskos J.M., Shafiee A., Gaylor J.L./ Microsomal enzymes of cholesterol biosynthesis from lanosterol. Characterization, solubilization, and partial purification of NADPH-dependent delta 8,14-steroid 14-reductase.// *J Biol Chem.*- 1984.- v.259.- №21.- p.13413-13423.
59. Paltauf F., Prough R., Masters B., Johnson J./ Evidence for the participation of cytochrome b5 in plasmalogen biosynthesis.// *J Biol Chem.*- 1974.- v. 249.- p.2661-2662.
60. Rangaswamy S., Zoeller R./ Fatty acid desaturation in an animal cell mutant defective in plasmanylethanolamine desaturase.// *Biochim Biophys Acta.*- 1994.- v.1211.- p.79-84
61. Rao G.A., Crane R.T., Larkin E.C./ Reduction of hepatic stearoyl-CoA desaturase activity in rats fed iron-deficient diets.// *Lipids.*- 1983.- v.18.- №8.- p.573-575.
62. Reinhart M.P., Billheimer J.T., Faust J.R., Gaylor J.L./ Subcellular localization of the enzymes of cholesterol biosynthesis and metabolism in rat liver.// *J Biol Chem.*- 1987.- v.262.- №20.- p.9649-9655.
63. Riley R.T., Norred W.P., Wang E., Merrill A.H./ Alteration in sphingolipid metabolism: bioassays for fumonisin- and ISP-I-like activity in tissues, cells and other matrices.// *Nat Toxins.*- 1999.- v.7.- №6.- p.407-414.
64. De Schrijver R., Privett O.S./ Effects of dietary long-chain fatty acids on the rat biosynthesis of unsaturated fatty acids in the rat.// *J Nutr.*- 1982.- v. 112.- №4.- p.619-626.
65. Shimizu S., Akimoto K., Shinmen Y., Kawashima H., Sugano M., Yamada H./ Sesamin is a potent and specific inhibitor of delta 5 desaturase in polyunsaturated fatty acid biosynthesis.// *Lipids.*- 1991.- v.26.- p.512-516.
66. Stucky J., McDonough V., Martin C./ The OLE1 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes the delta 9 fatty acid desaturase and can be functionally replaced by the rat stearoyl-CoA desaturase gene.// *J Biol Chem.*- 1990.- v.265.- p.20144-20149.
67. Takeshita M., Tamura M., Yoshida S., Yubisui T./ Palmitoyl-CoA elongation in brain microsomes: dependence on cytochrome b5 and NADH-cytochrome b5 reductase.// *J Neurochem.*- 1985.- v.45.- p.1390-1395.
68. Umeki S., Shiojiri H., Nozawa Y./ Chronic ethanol administration decreases fatty acyl-CoA desaturase activities in rat liver microsomes.// *FEBS Lett.*- 1984.- v.169.- №2.- p.274-278.
69. Vergeres G, Chen DY, Wu FF, Waskell L./ The function of tyrosine 74 of cytochrome b5.// *Arch Biochem Biophys.*- 1993.- v.305.- №2.- p.231-241.
70. Vergeres G., Waskell L./ Expression of cytochrome b5 in yeast and characterization of mutants of the membrane anchoring domain.// *J Biol Chem.*- 1992.- v.67.- p.12583-12591.
71. van der Westhuizen L., Shephard G.S., Snyman S.D., Abel S., Swanevelder S., Gelderblom W.C./ Inhibition of sphingolipid biosynthesis in rat primary hepatocyte cultures by fumonisin B1 and other structurally related compounds.// *Food Chem Toxicol.*- 1998.- v.36.- №6.- p.497-503.
72. Williams M.T., Simonet L./ In vivo suppression of stearyl CoA desaturase activity by griseofulvin: evidence against the involvement of lipid peroxidation.// *Toxicol Appl Pharmacol.*- 1988.- v.96.- №3.- p.541-549.
73. Woelk H., Peiler-Ichikawa K./ The action of piracetam on the formation of ethanolamine-plasmalogen by neuronal microsomes of the developing rat brain.// *Arzneimittelforschung.*- 1978.- v.28.- №10.- p.1752-1756.
74. Zhu H, Qiu H, Yoon HW, Huang S, Bunn HF. / Identification of a cytochrome b-type NAD(P)H oxidoreductase ubiquitously expressed in human cells.// *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Dec 21;96(26):14742-7.
75. 9.) Zoeller R.A., Wood R./ Analysis of the stearoyl-CoA desaturase system in the Morris hepatoma 7288C and 7288CTC.// *Lipids.*- 1984.- v.19.- №7.- p.488-491.