
МЕМБРАНСВЯЗАННЫЙ ЦИТОХРОМ b_5 . РОЛЬ ЦИТОХРОМА b_5 В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ИЗОФОРМ ЦИТОХРОМА P-450.

В.В. Кржечковская

НИИ ОПП РАМН, Москва

Цитохром b_5 является гемопротеином и участвует в разнообразных биохимических окислительно-восстановительных реакциях в качестве переносчика электронов. В обзоре дана краткая характеристика мембрансвязанного цитохрома b_5 и представлены данные о его роли в качестве редокс-партнера в реакциях, катализируемых различными изоформами цитохрома P-450. Цитохром b_5 оказывает неоднозначное влияние на активность изоформ терминальной оксигеназы, каталитическая активность которых в его присутствии повышается, снижается или не изменяется.

Ключевые слова: цитохром b_5 , цитохром P-450, изоформы.

Cytochrome b_5 is hemoprotein and participates in various biochemical oxidation-reduction reactions as a carrier electrons. In the review the brief characteristic membrane-association cytochrome b_5 is given and the data on his role are submitted as the redox-partner in reactions, catalyzing various isoform cytochrome P-450 isoform. Cytochrome b_5 renders ambiguous influence on activity of terminal oxygenase isoforms. Catalytic activity of cytochrome P-450 at presence of cytochrome b_5 raises, reduced or does not change.

Keywords: cytochrome b_5 , cytochrome P-450, isoform.

Система цитохрома P-450 относится к одной из самых древних ферментативных систем и выявлена у всех прокариотов и эукариотов. Структурная организация монооксигеназной системы и ее функциональное значение имеют свои отличия у животных, стоящих на различных ступенях эволюционной лестницы. В связи с известной ролью системы цитохрома P-450 в метаболизме эндогенных соединений (стероидных гормонов, полиненасыщенных жирных кислот и др.) и ксенобиотиков мы остановимся на некоторых особенностях данной ферментативной системы у млекопитающих.

Изоформы цитохрома P-450 локализованы в различных органах и тканях организма. В последние годы показано, что наиболее хорошо изученные изоформы (P450_{2B1/2}, 2E1, 3A1/2, 2D6 and 2C12) представлены как в эндоплазма-

тическом ретикулуме, так и в митохондриях [3, 4]. Однако пока неизвестна причина и функциональная целесообразность такой двойной локализации ферментов.

Реакции метаболизма различных эндогенных и экзогенных соединений с участием ферментов системы цитохрома P-450 можно разделить на 6 стадий (рис. 1) [42]:

1. связывание субстрата (S) с ферментом (ион железа трехвалентный);
2. восстановление субстрат-ферментного комплекса (присоединение первого электрона) при участии НАДФН цитохром P-450 редуктазы (ион желез трехвалентный);
3. присоединение молекулы кислорода с образованием фермент-субстратного оксикомплекса (возможно образование супероксид-аниона);

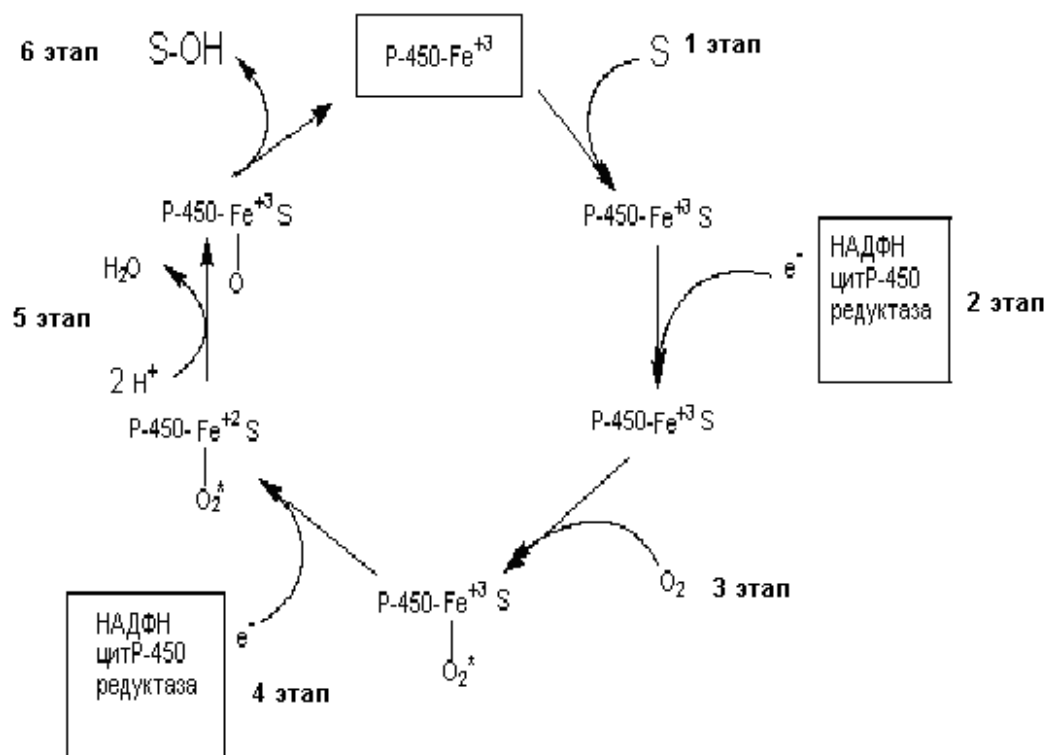


Рис. 1. Схема метаболических превращений субстрата (S) при участии ферментной системы цитохрома P-450.

4. присоединение второго электрона с восстановлением иона железа до валентности 2^+ (НАДФН цитохром P-450 редуктаза);
5. присоединение иона водорода к атому кислорода с окислением иона железа, образованием воды и, возможно, пероксида водорода;
6. расщепление фермент-субстратного комплекса с образованием окисленного метаболита.

Важно сразу подчеркнуть, что, по мнению большинства исследователей, цитохром b_5 (один из компонентов системы цитохрома P-450) осуществляет перенос электрона на 4 этапе монооксигеназного цикла и не может участвовать в этом процессе на 2 этапе, так как его редокс-потенциал составляет 20 мВ, а у цитохрома P-450 – 330 мВ [52, 57]. Porter T. высказывает мнение, что при участии цитохрома b_5 может происходить передача электрона не только на 4 этапе монооксигеназного цикла, но и на втором непосредственно от НАДН цитохром b_5 редуктазы [46].

Цитохром b_5 является гемопротеином, гемовая группа которого представлена гемом b.

Фермент (микросомальная изоформа) участвует в разнообразных биохимических окислительно-восстановительных реакциях в качестве переноска электронов с редокс-потенциалом гемопротеина 20 мВ. В настоящее время все известные изоформы цитохрома b_5 можно разделить на две группы – растворимые и мембрансвязанные. К растворимым формам цитохрома b_5 относится как локализованный в эритроцитах, так и цитозольный фермент, присутствующий в различных клетках. Эритроцитарная форма энзима участвует в реакциях восстановления метгемоглобина. Цитозольная форма цитохрома b_5 является, например, незаменимым компонентом в цикле синтеза метионина из гомоцистеина. Ряд авторов считает, что генетический полиморфизм может приводить к нарушению функциональной активности цитохрома b_5 и, как следствие этого, к повышению риска возникновения сердечно-сосудистой патологии у человека [10].

В группе мембрансвязанных изоформ цитохрома b_5 выделяют митохондриальную и микросомальную формы, которые связаны с соответствующими органеллами клетки в различных органах и тканях. Следует подчеркнуть, что

апопротеины этих изоформ цитохрома b_5 кодируются двумя различными генами [17].

Молекула микросомального цитохрома b_5 состоит из двух доменов – гидрофильного и гидрофобного (рис. 2). Гидрофильный участок фермента образован аминокислотными остатками с 1-88 и содержит гем, входящий в состав активного центра. Гидрофобный домен цитохрома b_5 образован остатками аминокислот С-конца белковой молекулы (остатки аминокислот 89-133). Основной функцией этой части молекулы является взаимодействие с мембраной, например, эндоплазматического ретикулума. С помощью компьютерного моделирования показано, что С-концевой участок молекулы цитохрома b_5 образует петлю и пронизывает липидную мембрану насквозь [1]. Наибольшая гидрофобность наблюдается в средней части петли, которая погружена в мембрану. Высказывается мнение, что С-концевая часть молекулы фермента играет важную роль при встраивании в мембрану и при ориентации энзима в липидном бислое, что обеспечивает его функциональную активность [5, 20, 58]. Хотя трехмерная структура молекулы цитохрома b_5 полностью не установлена, подобная модель дает представление о функциональных особенностях фермента, в том числе о локализации активного центра фермента, который расположен на N-концевом участке молекулы и имеет гидрофильное окружение.

Цитохром b_5 , локализованный в наружной мембране митохондрий, по сравнению с микросомальной изоформой обладает более низким редокс-потенциалом, молекула более стабильна (химическая и термическая денатурация), а связь между апопротеином и гемом значительно прочнее. В молекуле цитохрома b_5 выявлено два гидрофобных участка. Первый гидрофобный участок трехмерной структуры митохондриаль-

ного гемопротейна 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 большое значение в поддержании стабильности молекулы. В случае отсутствия или замены в них аминокислотных остатков снижается взаимодействие апопротеина с гемом [2, 11, 29, 50].

В данном сообщении мы остановимся на роли мембрансвязанного цитохрома b_5 в реакциях, катализируемых изоформами системы цитохрома P-450. Цитохром b_5 оказывает неоднозначное влияние на ферменты монооксигеназной системы, каталитическая активность которых в его присутствии повышается, снижается или не изменяется. Также наличие гемопротейна может приводить к изменению профиля синтезируемых метаболитов и количеству образующихся активных форм кислорода [45]. В присутствии цитохрома b_5 возможно изменение направленности реакции, катализируемой ферментом. Например, цитохром P-450c17 в зависимости от ряда факторов, в том числе наличия цитохрома b_5 функционирует как 17 α -гидроксилаза или 17,20-лиаза [6].

Выделяют несколько возможных механизмов стимулирующего влияния цитохрома b_5 на изоформы цитохрома P-450 [46, 51, 52]:

1. прямая передача электрона в монооксигеназной реакции, без посредства НАДФ цитохром P-450 редуктазы;
2. в случае использования второго электрона от цитохрома b_5 в монооксигеназном цикле приводит к образованию более активных радикалов кислорода, что, в свою очередь, сопровождается более быстрым образованием метаболита;

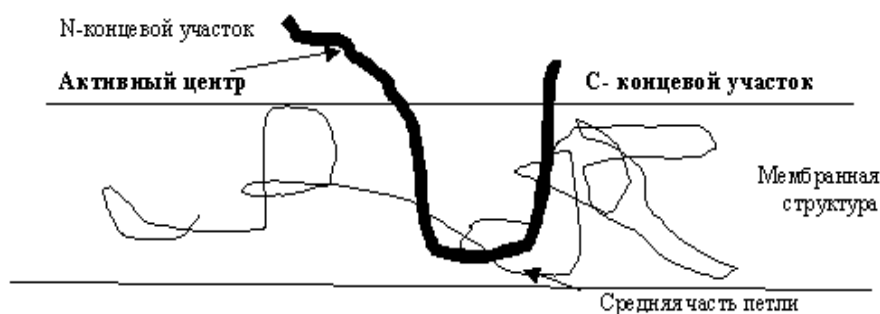


Рис. 2. Схематичное изображение расположения молекулы цитохрома b_5 в мембране.

3. цитохром b_5 взаимодействует с цитохромом P-450 с образованием комплекса двух гемопротеинов и последующей передачей двух электронов от НАДФН цитохром P-450 редуктазы, что повышает скорость образования активного кислорода и устраняет необходимость повторного взаимодействия цитохрома P-450 и НАДФН цитохром P-450 редуктазы;
4. аллостерическая стимуляция цитохрома P-450 без переноса электронов, например на втором этапе каталического цикла;
5. цитохром b_5 может оказывать защитное действие на молекулы терминальной оксигеназы, которое не связано с реакциями окислительно-восстановительного цикла, что предотвращает ее разрушение.

Вероятность передачи электрона на втором этапе монооксигеназного цикла непосредственно от НАДН цитохром b_5 редуктазы при участии цитохрома b_5 может также повышать эффективность окислительно-восстановительных реакций [46].

Механизм ингибирующего действия цитохрома b_5 на реакции, катализируемые изоформами цитохрома P-450, в настоящее время неизвестен.

Известно, что одна изоформа цитохрома P-450 может катализировать реакции биотрансформации различных субстратов, а цитохром b_5 оказывает влияние на скорость реакции как в зависимости от изоформы, так и от вида реакции (субстрата). В первой части сообщения мы остановимся на рассмотрении влияния цитохрома b_5 на интенсивность биохимической реакции по принципу – изоформа–реакция. Вторая часть будет посвящена роли цитохрома b_5 в реакциях метаболизм отдельных соединений.

1. Влияние цитохрома b_5 на реакции, катализируемые различными изоформами цитохрома P-450.

Цитохром b_5 оказывает различное влияние на активность изоформ цитохрома P-450 подсемейства 1A в зависимости от вида катализируемой реакции. Цитохром b_5 угнетает синтез производных тетрахлорбифенила (ТСВ) при участии цитохрома P-450 1A1. В то же время оказывает значительное стимулирующее влияние на метаболизм метанола и 7-этоксикумарина цитохромом P-450 1A2. Пока-

зано, что b_5 повышает скорость метаболизма этих соединений за счет ускорения передачи электрона к субстрату, что приводит к снижению образования активных форм кислорода. При изучении различных мутантных форм цитохрома P-450 1A2 выявлено, что остаток гистидина в положении 163, у которого нет непосредственного контакта с гемом, имеет принципиальное значение для взаимодействия двух гемопротеинов и оптимизации передачи электрона от цитохрома b_5 . Так, при замене гистидина на глутаминовую кислоту значительно снижается (примерно до -40 мВ) редокс-потенциал, а также фоторедукция (в 8 раз) терминальной оксигеназой [37].

Влияние цитохрома b_5 на метаболическую активность изоформ цитохрома P-450 подсемейства 2B зависит от вида животных, а также от катализируемой реакции (вида субстрата).

Отмечается определенная взаимосвязь между спиновым состоянием атома железа в молекуле цитохромов P-450 2B1, 2B4 и 2B6 (изоформы крысы, кролика и человека, соответственно) и скоростью метаболизма различных субстратов (бензфетамина и 7-этокси-4-трифлуорометилкумарина). Цитохром b_5 оказывает влияние только на способность цитохрома P-450 2B4 к взаимодействию с субстратом и на спиновое состояние атома железа в молекуле данного фермента [48].

В опытах с использованием метода экспрессии модифицированных ДНК изоформ подсемейства цитохрома P-450 2B печени (2B1 – крысы, 2B5 – кролики, 2B11 – собаки) в клетки *Escherichia coli* проведено изучение андростендион гидроксилазной активности ферментов. Показано, что метаболизм андростендиона изоформами 2B1 и 2B5 стимулируется в присутствии цитохрома b_5 , тогда как активность цитохрома P-450 2B11 ингибируется [27, 31].

В зависимости от присутствия в среде цитохрома b_5 и ее кислотности метаболизм галотана протекает с образованием двух метаболитов – 2-хлор-1,1,1-трифлуорэтан и 2-хлор-1,1-дифлуорэтилен, при участии цитохрома P-450 2B. В свою очередь метаболизм 2-хлор-1,1-дифлуорэтина цитохромом P-450 2B1 стимулируется цитохромом b_5 [49].

В наибольшей степени присутствие цитохрома b_5 оказывает влияние на метаболизм раз-

личных субстратов цитохромом P-450 2B4, выделенным из печени кроликов. И даже более того, одни те же соединения в зависимости от наличия цитохрома b_5 могут выступать в качестве конкурентных ингибиторов или альтернативных субстратов фермента. Например, в отсутствие гемопротейна метоксифлуран и бензфетамин являются конкурентными ингибиторами цитохрома P-450 2B4, в то время как в его присутствии – субстратами. При этом данные соединения взаимодействуют с одним и тем же местом связывания (активным центром) [32].

При изучении метаболизма тетранитрометана цитохромом P-450 2B4 выявлено, что реакция протекает только в присутствии цитохрома b_5 . При проведении исследования отмечается, что наличие двух остатков тирозина в положениях 34 и 129 в молекуле цитохрома b_5 имеют принципиальное значение для взаимодействия двух ферментов. Показано, что остаток тирозина-34 участвует в передаче электрона, а тирозина-129 контролирует присоединение цитохрома b_5 к молекуле терминальной оксигеназы [22].

Скорость метаболизма аминопирин цитохромом P-450 2B4 значительно повышается в присутствии цитохрома b_5 . Это происходит за счет конформационных изменений терминальной оксигеназы, что ускоряет передачу первого электрона и повышению эффективности гидроксилирования соединения [48].

Цитохром P-450 2B4 также катализирует окислительные реакции метаболизма бициклических производных стероидов. При использовании в качестве субстрата 3-оксодекалин-4-ене-10-карбоксальдегид (маркерный субстрат метаболизма стероидов) показано, что скорость гидроксилирования соединения цитохромом P-450 2B4 в 2,6 раза выше в присутствии цитохрома b_5 [56].

Цитохрома b_5 оказывает значительное влияние на активность и профиль метаболитов, образующихся при участии цитохромов P-450 2B5 и 2B11, выделенных из печени кроликов и собак, соответственно. Метаболизм тестостерона цитохромом P-450 2B5 осуществляется как в присутствии, так в отсутствие цитохрома b_5 , однако значительно изменяется качественный состав метаболитов, но не скорость его гидроксилирования. Также отмечается значительное повышение каталитической активности реком-

бинантного цитохрома P-450 2B5 в присутствии цитохрома b_5 при гидроксилировании 4-нитрозамина. Активность бензилоксирезорурфин О-деалкилазы (цитохром P-450 2B11) значительно повышается в присутствии цитохрома b_5 [31].

В литературе сравнительно мало данных о влиянии цитохрома b_5 на скорость реакций, катализируемых цитохромом P-450 2C. Среди них следует отметить, что метаболизм N-гидроксидапсона цитохромом P-450 2C8 ускоряется в присутствии цитохрома b_5 в среде инкубации [61].

Реакция гидроксилирования хлорзоксазона в 6-ом положении считается маркерной при оценки активности цитохрома P-450 2E1 у человека. В реконструированной системы с различными изоформами цитохрома P-450 было показано, что наибольшую активность в отношении данного субстрата имеет изоформа 2E1. Цитохром b_5 оказывает стимулирующее влияние на данную реакцию, что выражается в снижении константы Михаэлиса-Ментон (K_m) и повышении максимальной скорости реакции (V_{max}) [16, 33]. Показано, что основной изоформой, осуществляющей метаболизм энфлурана (анестетик), является также цитохром P-450 2E1. Реакция дефлуорирования соединения происходит только в присутствии цитохрома b_5 [55].

Анализ активности цитохрома P-450 2E1 человека, экспрессированного в бактериальные клетки, свидетельствует о том, что присутствие восстанавливающего эквивалента в виде системы «цитохром b_5 + НАДН цитохром b_5 редуктаза» повышает метаболизм нитрозаминов, а цитохром b_5 является необходимым компонентом системы [38]. В более ранней работе получены результаты, свидетельствующие о симулирующем влиянии цитохрома b_5 на каталитическую активность цитохрома P-450 2E1. Показано, что изоформа цитохрома P-450 2E1, выделенная печени хомячков, метаболизирует диметилнитрозамин. Добавление цитохрома b_5 в реконструированную систему приводит к снижению K_m и увеличению V_{max} для реакции N-деметилирования этого соединения [47]. С другой стороны отмечается, что в реакциях, катализируемых цитохромом P-450 2E1 (реконструированная система) в присутствии цитохрома b_5

снижается скорость утилизации НАДФН и уменьшается образование перекиси водорода, а также скорость Р-450-зависимых реакций метаболизма р-нитрофенола, этоксикумарина и других [43].

В настоящее время считается, что **цитохром Р-450 2G1** экспрессирован только в клетках слизистой оболочка носа у млекопитающих, в которых присутствуют обонятельные рецепторы. При исследовании метаболизма половых гормонов в реконструированной системе показано, что фермент, выделенный из клеток кролика, катализирует реакцию гидроксилирования половых гормонов – андростендиона, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, 5 α -дигидрокситестостерона. В присутствии цитохрома b₅ скорость метаболизма эстрадиола и прогестерона увеличивается в 2 и 2,6 раза, соответственно, тогда как реакции синтеза гидроксилированных метаболитов других половых гормонов практически не изменяются [12].

Цитохромы Р-450 подсемейства 3А в организме млекопитающих представлены большим разнообразием изоформ, метаболизирующих более 200 различных ксенобиотиков. Данные изоформы локализованы, в основном, в печени и слизистой тонкого кишечника.

В отличие от многих других изоформ цитохрома Р-450 изоформа 3А1 не проявляет каталитической активности в реконструированной системе в отсутствие цитохрома b₅. При добавлении антител к цитохрому b₅ к реконструированной системе, содержащей цитохром Р-450 3А1, или к микросомам, выделенным из печени крыс-самок после введения дексаметазона, отмечается значительное ингибирование (в среднем на 65%) образования метаболитов тестостерона (2 β -, 6 β - и 15 β -окситестостерона) [13]. В микросомальной фракции печени крыс значительно снижается скорость метаболизма парацетамола (ацетоминофена) при участии цитохрома Р-450 3А2 при добавлении антител к цитохрому b₅ [30].

Биотрансформация соединения FK506, обладающего выраженным иммунодепрессивным эффектом, осуществляется в основном изоформами цитохрома Р-450 подсемейства 3А разных видов животных и человека (3А2 – крысы, DPV-1 – собака, 3А4 – человек). Ферменты активно

гидроксилируют соединение только в присутствии цитохрома b₅ [54].

Цитохром Р-450 3А4 экспрессирован в печени человека в значительном количестве и при его участии осуществляется метаболизм около половины ксенобиотиков, поступающих в организм. Каталитическая активность фермента, по мнению Guengerich F.P., проявляется только в присутствии цитохрома b₅ [19]. Однако получены очень разноречивые данные о роли цитохрома b₅ в реакциях биотрансформации различных субстратов при участии цитохрома Р-450 3А4. В экспериментах с использованием реконструированной системы, содержащей цитохром Р-450 3А4, показано, что присутствие цитохрома b₅ необходимо для 6 β -гидроксилирования стероидов и N-гидроксилирования нифедипина, а метаболизм эритромицина (N-деметилирование) и бензфетамина возможен в его отсутствие [54]. При изучении активности цитохром Р-450 3А4 печени человека в реконструированной системе показано, что оптимальным молярным соотношением компонентов монооксигеназного цикла для проявления каталитической активности фермента является отношение цитохрома Р-450 3А4 к цитохрому b₅ к НАДФН цитохром Р-450 редуктазе равно 1:3:20. В отсутствие цитохрома b₅ фермент не метаболизирует кортизол, эритромицин и (R)-варфарин [7]. В то же время Muller-Enoch D. показал, что метаболизм нифедипина при участии цитохрома Р-450 3А4 происходит и в отсутствие цитохрома b₅ [39].

Eberhart D. показал, что скорость передачи электрона от НАДФН цитохром Р-450 редуктазы к цитохрому Р-450 3А4 определяется структурными особенностями субстрата, а не наличием в среде инкубации цитохрома b₅. В то же время отмечается, что в присутствии гемопротеина в среде инкубации снижается образование пероксидов водорода, что приводит к более быстрому образованию феррил-окси-комплекса (Fe²⁺-O²⁺-S). Это объясняется тем, что в процессе реакции происходит перекрывание активных центров цитохрома b₅ и НАДФН цитохром Р-450 редуктазы, а между цитохромом b₅ и Р-450 3А4 наблюдаются динамические взаимодействия. В результате отмечается синхронизация редокс-потенциалов цитохромов b₅ и Р-450 3А4, что и приводит к наблюдаемым эффектам [44].

Альтернативным путем биосинтеза желчных кислот является гидроксилирование в 25 положении 5β -холестан- 3α -, 7α -, 12α -триола изоформами цитохрома P-450A4 и 3A5. В присутствии цитохрома b_5 скорость реакции значительно возрастает. Показано, что цитохром P-450 3A4 более эффективно метаболизирует соединение, чем изоформа 3A5 [14].

Специфическая женская изоформа цитохрома P-450A9, выделенная из мозга крыс метаболизирует тестостерон, андростендион, прогестерон и дегидроэпиандростерон с образованием гидроксилированных метаболитов. Наиболее эффективно фермент гидроксилирует прогестерон (один из женских половых гормонов). В результате реакции образуются три основных метаболита – 6β -, 16α - и 21-гидроксипрогестерон, а в меньшем количестве – дигидроксипроизводные. Скорость реакции гидроксилирования оптимальна в отсутствии цитохрома b_5 . Авторы считают, что изоформа P-450 3A9 играет важную роль в метаболизме нейростероидов [59].

В печени крыс-самцов обнаружен цитохром P-450 3A18, экспрессия которого значительно повышается после введения животным дексаметазона или прегнена- 16α -карбонитрила. Молекула фермента содержит 497 аминокислотных остатков, которые кодируются 1987 нуклеотидами, и метаболизирует тестостерон в 6- и 16-положениях. В отличие от изоформ цитохрома P-450 3A1 и 3A2 для 16β - и 6α -гидроксилирования тестостерона цитохром b_5 не является необходимым компонентом в реконструированной системе с изоформой 3A18 [40].

Изоформы цитохрома P-450, которые относятся к подсемейству 4A, метаболизируют в основном жирные кислоты и их производные.

Цитохром b_5 снижает (на 20%) гидроксилирование лауриновой кислоты в реконструированной системе, содержащей цитохром P-450 4A1 и НАДФН-цитохром P-450-редуктазу. В то же время скорость окисления лауриновой кислоты в 11- и 12-гидроксилауриновую кислоты (в соотношении 24:76) при участии цитохрома P-450 4A3 не зависит от наличия цитохрома b_5 в среде инкубации [9, 21].

В модельной системе, содержащей НАДФН цитохром P-450 редуктазу и цитохром P-450 4A2, выделенный из почек крыс линии Lewis-

Wistar, с высокой скоростью метаболизируется лауриновая кислота независимо от наличия цитохрома b_5 . Данная изоформа также катализируется 19- и 20-гидроксилирование арахидоновой кислоты (19-НЕТЕ:20-НЕТЕ = 2:8) только в присутствии эквимольного количества цитохрома b_5 и десятимолярного – НАДФН-цитохром P-450 редуктазы [21].

Характерной особенностью цитохрома P-450 4A5 является то, что ион гемового железа находится в низкоспиновом состоянии и только после присоединения субстрата переходит в высокоспиновое. Фермент гидроксилирует лауриновую кислоту в присутствии цитохрома b_5 с большей скоростью, чем при его отсутствии. Метаболизм пальмитиновой кислоты с образованием гидроксилированных метаболитов осуществляется ферментом только при наличии цитохрома b_5 . Скорость гидроксилирования арахидоновой кислоты ферментом минимальна и не зависит от цитохрома b_5 [24].

Из нейтрофилов человека выделен, идентифицирован и очищен фермент лейкотриен B_4 (LTB₄) ω -гидроксилаза (цитохром P-450 4F3) с молекулярной массой 55 кДа. Фермент катализирует ω -гидроксилирование LTB₄ только в присутствии НАДФН цитохром P-450 редуктазы и цитохрома b_5 с K_m равной 64 микроМ и V_{max} – 34 нмоль/мин/нмоль цитохрома P-450. В присутствии LTB₄ ω -гидроксилазы также происходит гидроксилирование других эйкозаноидов – 20-гидрокси-LTB₄, 6-trans-LTB₄, липоксина A₄, липоксина B₄, 5- и 12-гидроксиэйкозатетраеновую (НЕТЕ), 12-гидроксистеариновой и 12-гидроксиолеиновой кислот, но K_m при метаболизме данных соединений значительно выше. В то же время биотрансформация 15-НЕТЕ, простагландина A₁ и простагландина E₁ не осуществляется цитохромом P-450 4F3, [28].

Цитохром P-450(DEHP), выделенный из печени крыс после введения ди(2-этилгексил)фталата (пролифератор пероксисом), по структуре и каталитической активности близок к цитохрому P-450A1. При участии фермент происходит гидроксилирование лауриновой кислоты и, с меньшей скоростью, других жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой, стеариновой). В присутствии цитохрома b_5 скорость образования 12-гидроксилауриновой кислоты возрастает в 10 раз [41].

2. Изменение метаболизма различных субстратов изоформами цитохрома

P-450 под влиянием цитохрома b_5 .

При изучении гидроксилирования аминопирина в реконструированных системах отмечается, что в присутствии цитохрома b_5 реакция протекает с большей скоростью. Этот эффект наблюдается при использовании микросом, выделенных как после введения животным фенобарбитала, так и 3-метилхолантрена [26].

Известно, что циклофосфамид (ЦФ) является пролекарством и оказывает свое максимальное терапевтическое (цитостатическое) действие только после метаболизма изоформами цитохрома P-450 печени. Препарат метаболизируется при участии различных изоформ цитохрома P-450 печени с образованием фармакологически активных (4-гидроксициклофосфамид) и токсических метаболитов [25]. Синтез 4-гидроксициклофосфамида осуществляется изоформами цитохрома P-450 2B6, 2C8, 2C9, 3A4 человека [8, 15]. При проведении исследования *in vitro* с использованием модельной системы печени крыс показано, что цитохром P-450 3A4 катализирует реакцию N-дехлорэтилирования ЦФ, с образованием нейротоксического метаболита [63]. Результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что метаболическая активация ЦФ осуществляется в основном цитохромами P-450 подсемейств 2B и 2C, а инактивация (или образование токсических производных) – ферментами подсемейства 3A [18]. Среди ферментов подсемейства P-450 2C наиболее активно метаболизирует ЦФ цитохром P-450 2C19 (наименьшее значение K_m). Изоформы цитохрома P-450 2C8, 2C9 и 2C18 также метаболизируют ЦФ, но с большей константой. Реакция образования биологически активных производных ЦФ протекает только в присутствии цитохрома b_5 [8].

В реконструированной системе, содержащей восстановленный НАДФ, НАДФН цитохром P-450 редуктазу и дилаурофосфатидилхоллин, изучали влияние цитохрома b_5 на метаболизм 9-антралдегида различными изоформами цитохрома P-450. Отмечается, что все исследованные изоформы – 2A1, 2B2, 2C6, 2C11 и 3A2, метаболизируют соединение как в отсутствие, так и в присутствии цитохрома b_5 , но скорость реакции в 2 раза выше в последнем варианте.

Исключение составляет цитохром P-450 2C11, каталитическая активность которого в целом наибольшая, но при добавлении цитохрома цитохрома b_5 увеличивается только на 20% [34].

Метаболизм тетрахлорбифенила (ТСВ) при участии ферментов системы цитохрома P-450 (2B1 и 1A1) печени происходит с образованием гидроксилированных метаболитов. При участии цитохром P-450 1A1 (реконструированная система) происходит синтез 2,3',4,4'-, 3,3',4,4'- и 2,3',4',5-ТСВ, образование которых значительно снижается при добавлении цитохрома b_5 . Цитохром P-450 2B1 катализирует образование 2,2',5,5'- и 2,3',4',5-ТСВ. При введении в систему цитохрома b_5 образование 3-гидроксипроизводных ТСВ повышается в среднем в 6 раз, а синтез 2,3,4,4-ТСВ уменьшается [35,36].

Влияние цитохрома на реакции гидроксилирования простагландинов зависит от гормонального фона, возраста и изучаемых тканей. Отмечается высокая скорость ω -гидроксилирования простагландинов E_1 , E_2 , $F_{2\alpha}$ и A_1 микросомами, выделенными из плаценты и беременной матки кроликов, а также из легких новорожденных кроликов. Максимальная скорость реакции наблюдается в присутствии цитохромов b_5 . Данная активность в легких взрослых животных не выявляется [60, 62]. С другой стороны, показано, что метаболизм простагландинов E_1 и E_2 в печени взрослых кроликов при участии цитохрома P-450 с образованием 18-, 19- и 20- гидроксиметаболитов (ω -1 и ω -2) не зависит от присутствия цитохрома b_5 [23].

В табл. 3 суммированы данные о влиянии цитохрома b_5 на изменение скорости реакции, спектра метаболитов и образование активных форм кислорода в реакциях системы цитохрома P-450. Представленные результаты позволяют сделать вывод о том, что

- в присутствии цитохрома b_5 скорость метаболизма большинства эндогенных соединений и ксенобиотиков повышается,

- влияние цитохрома b_5 на биотрансформацию одного и того же соединения, например андростендиона, у разных видов животных неодинаково – у кроликов (цитохром P-450 2B5) повышает, а у собак (цитохром P-450 2B11) снижает метаболизм стероида; повышает, а у собак (цитохром P-450 2B11) снижает метаболизм стероида;

Таблица 3. Влияние цитохрома b_5 на изменение скорости реакции, спектра метаболитов и образование активных форм кислорода в реакциях при участии различных изоформ цитохрома P-450

Изоформа цитохрома P-450	Субстрат	Изменение скорости реакции	Изменение спектра метаболитов	Образование активных форм кислорода
1	2	3	4	5
P-450 1A1	тетрахлорбифенил	↓	–	–
P-450 1A2	метанол, 7-этоксикумарин	↑П	–	↓
P-450 2A1	9-антралдегид	↑П	–	–
P-450 2B1	Андростендион	↑П	–	–
	2-хлор-1,1-дифлуороэтина	↑П	–	–
	тетрахлорбифенил (2,2',5,5'- и 2,3',4',5'-)	↑П	изменяется	–
	тетрахлорбифенил (2,3,4,4'-)	↓	изменяется	–
P-450 2B2	9-антралдегид	↑П	–	–
P-450 2B4	тетранитрометана	↑Н	–	–
	аминопирин	↑П	–	–
	3-оксодекалин-4-ене-10- карбоксальдегид	↑П	–	–
P-450 2B5	андростендион	↑П	–	–
	Тестостерон	не изменяет	изменяется	–
P-450 2B5	4-нитрозамина	↑П	–	–
P-450 2B11	андростендион	↓	–	–
	бензилоксирезорурфин	↑П	–	–
P-450 2C6	9-антралдегид	↑П	–	–
P-450 2C8	N-гидроксидапсон	↑П	–	–
	циклофосфамид (фармакол. активные)	↑Н	–	–
P-450 2C9	циклофосфамид (фармакол. активные)	↑Н	–	–
P-450 2C11	9-антралдегид	↑П	–	–
P-450 2C18	циклофосфамид (фармакол. активные)	↑Н	–	–
P-450 2C19	циклофосфамид (фармакол. активные)	↑Н	–	–

P-450 2E1	нитрозамины	↑Н (человек)↑П (хомячки)	–	–
	хлорзоксазон	↑П	–	–
	р-нитрофенола,	↓	–	↓
	этоксикумарина	↓	–	↓
	энфлуран	↑Н	–	–
P-450 2G1	эстрадиола	↑П	–	–
	прогестерон	↑П	–	–
P-450 2G1	тестостерон	не изменяет	–	–
	5α-дигидрокси-тестостерон	не изменяет	–	–
	андростендион	не изменяет	–	–
P-450 3A1	тестостерон	↑Н	–	–
P-450 3A2	парацетамол	↑П	–	–
	9-антралдегид	↑П	–	–
	FK506	↑П	–	–
P-450 3A4	нифедипин	↑Н, возможен в отсутствии	–	↓
	эритромицина	↑Н, возможен в отсутствии	–	↓
	бензфетамина	возможен в отсутствии	–	↓
	(R)-варфарин	↑Н	–	↓
	Стероиды (кортизол) 6β-гидроксилирование	↑Н	–	↓
	5β-холестан-3α-,7α-,12α-триол	↑П	–	↓
	FK506	↑Н	–	↓
P-450 3A5	5β-холестан-3α-,7α-,12α-триол	↑П	–	–
P-450 3A9	тестостерон, андростендион, прогестерон, дегидро-эпиандростерон	скорость оптимальна в отсутствии	–	–
P-450 3A18	тестостерон	не влияет	–	–
P-450 4A1	лауриновая кислота	↓	–	–
P-450 4A2	лауриновая кислота	возможен в отсутствии	–	–
	арахидоновая кислота	↑Н	–	–

↑ – Повышение, ↓ – Понижение;

↑П – в присутствии цитохрома b_5 скорость реакции повышается;

↑Н – цитохром b_5 является необходимым компонентом реконструированной системы для метаболизма соединения, то есть в его отсутствие реакция не протекает.

- цитохром b_5 у разных видов (человек и хомячок) может являться незаменимым компонентом для окисления соединения (нитрозамин) или оказывать стимулирующее действие;

- наличие цитохрома b_5 изменяет спектр метаболитов, образующихся при метаболизме соединения одной и той же изоформой цитохрома P-450, например тетрахлорбифенила цитохромом P-450 2B1;

- в присутствии цитохрома b₅ уменьшается образование активных форм кислорода, гиперпродукция которых оказывает негативное действие на жизнедеятельность клеток организма;

- метаболизм биологически активных соединений (арахидоновая кислота, лейкотриены) происходит только в присутствии цитохрома b₅.

Таким образом, цитохром b₅ играет важную роль в метаболизме эндогенных и экзогенных соединений ферментами системы цитохрома P-450, локализованными в различных органах и тканях.

В настоящее время достаточно подробно изучена роль цитохромов P-450 и b₅ в метаболизме холестерина и стероидных гормонов и, в частности, глюкокортикоидов. Известно, что холестерин является предшественником стероидных гормонов, а его синтез осуществляется в печени. Наряду с другими гормонами, глюкокортикоиды имеют огромное значение в поддержании гомеостаза организма, а их количественный и качественный состав значительно изменяется при большинстве патологических состояний, в том числе при различных видах аллергических реакций. В связи с важностью данной проблемы мы посвятим отдельное сообщение о роли цитохрома b₅ в синтезе холестерина и глюкокортикоидных гормонов.

Литература

1. Иванов А.С., Скворцов В.С., А.И. Арчаков А.И. Компьютерное моделирование трехмерной структуры полноразмерного цитохрома B5// *Вопр. мед. химии.*- 2000.- № 6.- С.25-34.
2. Altuve A., Silchenko S., Lee K.H., Kuczera K., Terzyan S., Zhang X., Benson D.R., 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.
3. Anandatheerthavarada H.K., Addya S., Dwivedi R.S., Biswas G., Mullick J., Avadhani N.G. Localization of multiple forms of inducible cytochromes P450 in rat liver mitochondria: immunological characteristics and patterns of xenobiotic substrate metabolism. // *Arch Biochem Biophys.*- 1997.- V.339.- № 1.- P. 136-150.
4. Bhagwat S.V., Mullick J., Raza H., Avadhani N.G. Constitutive and inducible cytochromes P450 in rat lung mitochondria: xenobiotic induction, relative abundance, and catalytic properties// *Toxicol Appl Pharmacol.*- 1999.- V.156.- № 3.- P. 231-240.
5. 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.- V.12.- № 8.- P. 2482-2496.
6. Brock B.J., Waterman M.R. Biochemical differences between rat and human cytochrome P450c17 support the different steroidogenic needs of these two species.// *Biochemistry.*- 1999.- V.38.- №5.- P.1598-1606.
7. Buters J.T., Korzekwa K.R., Kunze K.L., Omata Y., Hardwick J.P., Gonzalez F.J. cDNA-directed expression of human cytochrome P450 CYP3A4 using baculovirus.// *Drug Metab Dispos.*- 1994.- V.22.- №5.- P.688-692.
8. Chang T.K., Yu L., Goldstein J.A., Waxman D.J. Identification of the polymorphically expressed CYP2C19 and the wild-type CYP2C9-ILE359 allele as low-Km catalysts of cyclophosphamide and ifosfamide activation.// *Pharmacogenetics.*- 1997.- V.7.- №3.- P.211-221.
9. Chaurasia C.S., Alterman M.A., Lu P., Hanzlik R.P. Biochemical characterization of lauric acid omega-hydroxylation by a CYP4A1/NADPH-cytochrome P450 reductase fusion protein.// *Arch Biochem Biophys.*- 1995.- V.317.- №1.- P. 161-169.
10. Chen Z., Banerjee R. Purification of soluble cytochrome b5 as a component of the reductive activation of porcine methionine synthase.// *J Biol Chem.*- 1998.- V.273.- № 40.- P. 26248-26255.
11. Cowley A.B., Altuve A., Kuchment O., Terzyan S., Zhang X., Rivera M., Benson D.R. Toward engineering the stability and hemin-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.
12. Ding X., Coon M.J. Steroid metabolism by rabbit olfactory-specific P450 2G1.// *Arch Biochem Biophys.*- 1994.- V.315.- № 2.- P. 454-459.
13. Eberhart D.C., Parkinson A. Cytochrome P450 IIIA1 (P450p) requires cytochrome b5 and phospholipid with unsaturated fatty acids.// *Arch Biochem Biophys.*- 1991.- V.291.- № 2.- P. 231-240.
14. Furster C., Wikvall K. Identification of CYP3A4 as the major enzyme responsible for 25-hydroxylation of 5beta-cholestane-3alpha,7alpha,12alpha-triol in human liver microsomes.// *Biochim Biophys Acta.*- 1999.- V.1437.- № 1.- P. 46-52.
15. Gervot L., Rochat B., Gautier J.C., Bohnenstengel F., Kroemer H., de Berardinis V., Martin H., Beaune P., de Waziers I. Human CYP2B6: expression, inducibility and catalytic activities.// *Pharmacogenetics.*- 1999.- V.9.- №3.- P. 295-306.
16. Gillam E.M., Guo Z., Guengerich F.P. Expression of modified human cytochrome P450 2E1 in *Escherichia coli*, purification, and spectral and catalytic properties.// *Arch Biochem Biophys.*- 1994.- V.312.- № 1.- P. 59-66.
17. Giordano, S.J. and Steggles, 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.
18. *Grishanov A.I., Kaledin V.I., Zueva T.V., Nekhoroshkova E.K., Nikolin V.P., Liakhovich V.V.* Activity and induction of CYP2B, CYP2C, and CYP3A in tissues of cyclophosphane-sensitive and resistant neoplasms and the liver of neoplasm-carrying mice// *Vopr Med Khim.*- 2003.- V.49.- № 1.- P. 27-34.
 19. *Guengerich F.P.* Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism.// *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*- 1999.- V.39.- P. 1-17.
 20. *Hamamoto I., Hiwatashi A., Ichikawa Y.* Zonal distribution of cytochromes P-450 and related enzymes of bovine adrenal cortex--quantitative assay of concentrations and total contents.// *J Biochem (Tokyo).*- 1986.- V.99.- № 6.- P. 1743-1748.
 21. *Helvig C., Dishman E., Capdevila J.H.* Molecular, enzymatic, and regulatory characterization of rat kidney cytochromes P450 4A2 and 4A3.// *Biochemistry.*- 1998.- V.37.- №36.- P. 12546-12558.
 22. *Hlavica P., Kellermann J., Golly I., Lehnerer M.* Chemical modification of Tyr34 and Tyr129 in rabbit liver microsomal cytochrome b₅ affects interaction with cytochrome P-450 2B4.// *Eur J Biochem.*- 1994.- V.224.- №3.- P. 1039-1046.
 23. *Holm K.A., Koop D.R., Coon M.J., Theoharides A.D., Kupfer D.* omega-1 and omega-2 hydroxylation of prostaglandins by rabbit hepatic microsomal cytochrome P-450 isozyme 6.// *Arch Biochem Biophys.*- 1985.- V.243.- №1.- P. 135-143.
 24. *Hosny G., Roman L.J., Mostafa M.H., Masters B.S.* Unique properties of purified, *Escherichia coli*-expressed constitutive cytochrome P4504A5.// *Arch Biochem Biophys.*- 1999.- V.366.- №2.- P. 199-206.
 25. *Huitema A.D., Mathot R.A., Tibben M.M., Rodenhuis S., Beijnen J.H.* A mechanism-based pharmacokinetic model for the cytochrome P450 drug-drug interaction between cyclophosphamide and thioTEPA and the autoinduction of cyclophosphamide.// *J Pharmacokin Pharmacodyn.*- 2001.- V.28.- № 3.- P. 211-230.
 26. *Imaoka S., Inoue K., Funae Y.* Aminopyrine metabolism by multiple forms of cytochrome P-450 from rat liver microsomes: simultaneous quantitation of four aminopyrine metabolites by high-performance liquid chromatography.// *Arch Biochem Biophys.*- 1988.- V.265.- №1.- P. 159-170.
 27. *John G.H., Hasler J.A., He Y.A., Halpert J.R.* *Escherichia coli* expression and characterization of cytochromes P450 2B11, 2B1, and 2B5.// *Arch Biochem Biophys.*- 1994.- V.314.- № 2.- P. 367-375.
 28. *Kikuta Y., Kusunose E., Sumimoto H., Mizukami Y., Takeshige K., Sakaki T., Yabusaki Y., Kusunose M.* Purification and characterization of recombinant human neutrophil leukotriene B₄ omega-hydroxylase (cytochrome P450 4F3).// *Arch Biochem Biophys.*- 1998.- V.355.- №2.- P. 201-205.
 29. *Lee K.H., Kuczera K.* Molecular dynamics simulation studies of cytochrome b₅ from outer mitochondrial and microsomal membrane.// *Biopolymers.*- 2003.- V.69.- № 2.- P. 260-269.
 30. *Lee C.A., Manyike P.T., Thummel K.E., Nelson S.D., Slattery J.T.* Mechanism of cytochrome P450 activation by caffeine and 7,8-benzoflavone in rat liver microsomes.// *Drug Metab Dispos.*- 1997.- V.25.- №10.- P.1150-1156.
 31. *Lehnerer M., Schulze J., Petzold A., Bernhardt R., Hlavica P.* Rabbit liver cytochrome P-450 2B5: high-level expression of the full-length protein in *Escherichia coli*, purification, and catalytic activity.// *Biochim Biophys Acta.*- 1995.- V.1245.- № 1.- P. 107-115.
 32. *Lipka J.J., Waskell L.A.* Methoxyflurane acts at the substrate binding site of cytochrome P450 LM2 to induce a dependence on cytochrome b₅.// *Arch Biochem Biophys.*- 1989.- V.268.- № 1.- P. 152-160.
 33. *Lucas D., Ferrara R., Gonzalez E., Bodenez P., Albores A., Manno M., Berthou F.* Chlorzoxazone, a selective probe for phenotyping CYP2E1 in humans.// *Pharmacogenetics.*- 1999.- V.9.- № 3.- P. 377-388.
 34. *Matsunaga T., Iwawaki Y., Watanabe K., Narimatsu S., Yamamoto I., Imaoka S., Funae Y., Yoshimura H.* Cytochrome P450 isozymes catalyzing the hepatic microsomal oxidation of 9-anthraldehyde to 9-anthracene carboxylic acid in adult male rats.// *Biol Pharm Bull.*- 1993.- V.16.- №9.- P. 866-869.
 35. *Matsusue K., Ariyoshi N., Oguri K., Koga N., Yoshimura H.* Involvement of cytochrome b₅ in the metabolism of tetrachlorobiphenyls catalyzed by CYP2B1 and CYP1A1. // *Chemosphere.*- 1996.- V.32.- №3.- pP 517-523.
 36. *Matsusue K., Ariyoshi N., Oguri K., Koga N., Yoshimura H.* Role of cytochrome b₅ in the oxidative metabolism of polychlorinated biphenyls catalyzed by cytochrome P450.// *Xenobiotica.*- 1996.- V.26.- №4.- P. 405-414.
 37. *Mayuzumi H., Shimizu T., Sambongi C., Hiroya K., Hatano M.* Essential role of His163 of cytochrome P450 1A2 in catalytic functions associated with cytochrome b₅.// *Arch Biochem Biophys.*- 1994.- V.310.- № 2.- P. 367-372.
 38. *Mokashi V., Li L., Porter T.D.* Cytochrome b₅ reductase and cytochrome b₅ support the CYP2E1-mediated activation of nitrosamines in a recombinant Ames test.// *Arch Biochem Biophys.*- 2003.- V.412.- №1.- P. 147-152.
 39. *Muller-Enoch D.* Investigations on the role of cytochrome b₅ and divalent cations in the maximal nifedipine oxidase activity of human liver.// *Arzneimittelforschung.*- 1999.- V.49.- №5.- P.470-475.
 40. *Nagata K., Murayama N., Miyata M., Shimada M., Urahashi A., Yamazoe Y., Kato R.* Isolation and characterization of a new rat P450 (CYP3A18) cDNA encoding P450(6)beta-2 catalyzing testosterone 6 beta- and 16 alpha-hydroxylations.// *Pharmacogenetics.*- 1996.- V.6.- №1.- P. 103-111.

41. *Okita R.T., Okita J.R.* Characterization of a cytochrome P450 from di(2-ethylhexyl) phthalate-treated rats which hydroxylates fatty acids.// *Arch Biochem Biophys.*- 1992.- V.294.- №2.- P. 75-81.
42. *Ortiz de Montellano P.* //Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry.// Plenum Press, New York. 1986.
43. *Patten C.J., Koch P.* Baculovirus expression of human P450 2E1 and cytochrome b5: spectral and catalytic properties and effect of b5 on the stoichiometry of P450 2E1-catalyzed reactions.// *Arch. Biochem. Biophys.*- 1995.- V.317.- №2.- P.504-513.
44. *Perret A., Pompon D.* Electron shuttle between membrane-bound cytochrome P450 3A4 and b5 rules uncoupling mechanisms.// *Biochemistry.*- 1998.- V.37.- №33.- P. 11412-11424.
45. *Peterson J., Prough R.* Cytochrome P-450 reductase and cytochrome b5* in cytochrome P-450 catalysis.//Cytochrome P-450: structure, mechanism, and biochemistry. /Ed. Ortiz de Montellano P.- Plenum Press, New York, 1985.- P. 89-117.
46. *Porter T.D.* The roles of cytochrome b5 in cytochrome P450 reactions.// *J Biochem Mol Toxicol.*- 2002.- V.16.- №6.- P. 311-316.
47. *Puccini P., Menicagli S., Longo V., Santucci A., Gervasi P.G.* Purification and characterization of an acetone-inducible cytochrome P-450 from hamster liver microsomes.// *Biochem J.*- 1992.- V.287.- Pt 3.- P. 863-870.
48. *Reed J.R., Hollenberg P.F.* Comparison of substrate metabolism by cytochromes P450 2B1, 2B4, and 2B6: relationship of heme spin state, catalysis, and the effects of cytochrome b5.// *J Inorg Biochem.*- 2003.- V.93.- № 3-4.- P. 152-160.
49. *Ronnenberg W.C. Jr., Wang Y., Baker M.T.* Isoflurane and cytochrome b5 stimulation of 2-chloro-1,1-difluoroethene metabolism by reconstituted rat CYP2B1 and CYP2C6.// *Biochem Pharmacol.*- 1995.- V.50.- №4.- P. 521-528.
50. *Saido H., Watanabe F., Tamura Y., Miyatake K., Ito A., Yubisui T., Nakano Y.* Cytochrome b5-like hemoprotein/cytochrome b5 reductase complex in rat liver mitochondria has NADH-linked aquacobalamin reductase activity.// *J Nutr.*- 1994.- V.124.- № 7.- P. 1037-1040.
51. *Schenkman J.B., Jansson I.* The many roles of cytochrome b5.// *Pharmacol Ther.*- 2003.- V.97.- №2.- P. 139-152.
52. *Schenkman J.B., Voznesensky A.I., Jansson I.* Influence of ionic strength on the P450 monooxygenase reaction and role of cytochrome b5 in the process.// *Arch Biochem Biophys.*- 1994.- V.314.- № 1.- P. 234-241.
53. *Shet M.S., Fisher C.W., Holmans P.L., Estabrook R.W.* Human cytochrome P450 3A4: enzymatic properties of a purified recombinant fusion protein containing NADPH-P450 reductase.// *Proc Natl Acad Sci U S A.*- 1993.- V.90.- № 24.- P.11748-11752.
54. *Shiraga T., Matsuda H., Nagase K., Iwasaki K., Noda K., Yamazaki H., Shimada T., Funae Y.* Metabolism of FK506, a potent immunosuppressive agent, by cytochrome P450 3A enzymes in rat, dog and human liver microsomes.// *Biochem Pharmacol.*- 1994.- V.47.- №4.- P. 727-735.
55. *Thummel K.E., Kharasch E.D., Podoll T., Kunze K.* Human liver microsomal enflurane defluorination catalyzed by cytochrome P-450 2E1.// *Drug Metab Dispos.*- 1993.- V.21.- № 2.- P. 350-357.
56. *Vaz A.D., Kessell K.J., Coon M.J.* Aromatization of a bicyclic steroid analog, 3-oxodecalin-4-ene-10-carboxaldehyde, by liver microsomal cytochrome P450 2B4.// *Biochemistry.*- 1994.- V.33.- № 46.- P. 13651-13661.
57. *Veltman J.C., Maines M.D.* Alterations of heme, cytochrome P-450, and steroid metabolism by mercury in rat adrenal.// *Arch Biochem Biophys.*- 1986.- V.248.- №2.- P. 467-478.
58. *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.
59. *Wang H., Napoli K.L., Strobel H.W.* Cytochrome P450 3A9 catalyzes the metabolism of progesterone and other steroid hormones.// *Mol Cell Biochem.*- 2000.- V.213.- №1-2.- P. 127-135.
60. *Williams D.E., Hale S.E., Okita R.T., Masters B.S.* A prostaglandin omega-hydroxylase cytochrome P-450 (P-450PG-omega) purified from lungs of pregnant rabbits.// *J Biol Chem.*- 1984.- V.259.- № 23.- P. 14600-14608.
61. *Winter H.R., Wang Y., Unadkat J.D.* CYP2C8/9 mediate dapsone N-hydroxylation at clinical concentrations of dapsone.// *Drug Metab Dispos.*- 2000.- V.28.- №8.- P. 865-868.
62. *Yamamoto S., Kusunose E., Matsubara S., Ichihara K., Kusunose M.* Occurrence of cytochrome P-450 with prostaglandin omega-hydroxylase activity in rabbit placental microsomes.// *J Biochem (Tokyo).*- 1986.- V.100.- № 1.- P. 175-181.
63. *Yu L., Waxman D.J.* Role of cytochrome P450 in oxazaphosphorine metabolism. Deactivation via N-dechloroethylation and activation via 4-hydroxylation catalyzed by distinct subsets of rat liver cytochromes P450.// *Drug Metab Dispos.*- 1996.- V.24.- № 11.- P. 1254-1262.