

О.В. Калинина<sup>1</sup>, Е.С. Колотова<sup>2</sup>, Т.В. Панфилова<sup>1</sup>, А.А. Штиль<sup>2</sup>, Б.А. Фролов<sup>1</sup>

## **Природный тритерпеноид милиацин предотвращает вызванный метотрексатом окислительный стресс и нормализует экспрессию генов сур-2e1 и глутатионредуктазы в печени**

<sup>1</sup> Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования

«Оренбургская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, 460000, Оренбург, ул. Советская, 6

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»

Российской академии медицинских наук, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

*Изучено влияние тритерпеноида растительного происхождения милиацина (3-β-метокси-Δ<sup>18</sup>-олеанена) на индукцию окислительного стресса в печени мышей (СВАхС<sub>5</sub>7В1<sub>6</sub>)F<sub>1</sub>, подвергнутых воздействию метотрексата, и определена роль изоформы 2E1 цитохрома P-450 (сур-2e1) и глутатионредуктазы (glu red) в защитном действии тритерпеноида по оценке экспрессии генов, кодирующих указанные белки. Подтверждена способность метотрексата индуцировать окислительный стресс, сопровождающийся статистически достоверным накоплением в печени ТБК-реагирующих продуктов, и установлена способность тритерпеноида лимитировать этот процесс. Методом ПЦР после обратной транскрипции установлено увеличение количества мРНК сур-2e1 под влиянием метотрексата. Обнаружена конститутивная экспрессия glu red у интактных мышей, ингибируемая метотрексатом. Милиацин ослаблял или полностью отменял эффекты метотрексата на экспрессию указанных генов. Результаты исследования раскрывают новые аспекты протективного влияния милиацина, связанные с участием тритерпеноида в регуляции редокс-баланса клетки на геномном уровне.*

**Ключевые слова:** метотрексат, милиацин, повреждение печени, окислительный стресс, регуляция экспрессии генов

O.V. Kalinina<sup>1</sup>, E.S. Kolotova<sup>2</sup>, T.V. Panfilova<sup>1</sup>, A.A. Shtil<sup>2</sup>, B.A. Frolov<sup>1</sup>

## **The natural triterpenoid miliacin prevents methotrexate-induced oxidative stress and normalizes the expression of genes encoding the cytochrome P-450 2E1 isoform and glutathione reductase in the liver**

<sup>1</sup> N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the RAMS, 24, Kashirskoye hwy., Moscow, 115478, Russia

<sup>2</sup> The Orenburg State Medical Academy, 6, Soviet str., Orenburg, 460000, Russia

*We studied the role of the natural triterpenoid miliacin (3-β-methoxy-Δ<sup>18</sup>-oleanene) in the regulation of oxidative stress in the liver of (СВАхС<sub>5</sub>7В1<sub>6</sub>)F<sub>1</sub> mice exposed to methotrexate. Miliacin attenuated methotrexate-induced lipid peroxidation as determined by an attenuation of thiobarbituric acid-reacting products in the liver. Furthermore, miliacin normalized the expression of genes encoding the 2e1 isoform of cytochrome P-450 and glutathione reductase that were dramatically dysregulated by methotrexate. These results established the role of miliacin in modulation of redox genes, thereby providing evidence for a new mechanism of organ protection by this triterpenoid.*

**Key words:** methotrexate, miliacin, liver toxicity, oxidative stress, gene regulation

Метотрексат (МТ) — высокоэффективный препарат, используемый в лечении злокачественных новообразований, тяжелых форм псориаза и ревматоидного артрита [7]. Использование в терапевтических режимах предусматривает длительное применение и нередко эскалацию доз МТ. В свою очередь, это сопровождается

общерезорбтивной токсичностью, что обуславливает необходимость поиска органопротекторов для комбинирования с МТ. Ранее установлено, что тритерпеноид растительного происхождения милиацин ограничивает гепатотоксичность МТ [4], не влияя на его фармакокинетику [5] и противоопухолевую эффективность [6]. Известно, что токсичность МТ для клеток печени связана с индукцией окислительного стресса [21, 26], в основе которого лежит интенсификация свободнорадикального окисления биомолекул, обусловленная генерацией ак-

**Для корреспонденции:** Калинина Ольга Вячеславовна, асс. каф. патологической физиологии ГБОУ ВПО ОрГМА Минздрава РФ. E-mail: olgakalina78@mail.ru

тивных форм кислорода (АФК) и нарушением баланса про- и антиоксидантных систем клетки [13]. К важнейшим прооксидантам относится изоформа сур-2e1 цитохрома P-450 (цх P-450) — один из механизмов индукции окислительного стресса [20]. Напротив, ведущим функциональным звеном антиоксидантной защиты клеток являются низкомолекулярные тиолы, среди которых центральное место принадлежит восстановленному глутатиону — «катализатору тиолдисульфидного обмена» [8]. Поддержание внутриклеточного уровня восстановленного глутатиона обеспечивается глутатионредуктазой (*glu red*) [15].

**Цель работы** — изучение влияния милацина на индукцию окислительного стресса в печени животных, подвергнутых воздействию МТ, а также выяснение роли сур-2e1 и *glu red* в реализации защитного эффекта тритерпеноида по оценке экспрессии генов, кодирующих указанные белки.

### Методика

Исследования проведены на мышках-самцах (СВАхС<sub>5</sub>7В1<sub>6</sub>)F<sub>1</sub> массой 18—22 г из питомника РАМН «Столбовая». Использованы МТ (фирма «Эбеве», Австрия) и милацин, полученный из кристаллов просяного масла, выпадающих при его отстаивании на холоду с последующей перекристаллизацией из хлороформа. На основании данных ЯМР-, ИК- и масс-спектроскопии, а также хроматографии милацин отнесен к группе пентациклических тритерпенов, имеющих структуру 3-β-метоксигерманицена (3-β-метокси-Δ<sup>18</sup>-олеанена) [11].

Эксперименты выполнены на 41 животном. Мыши были разделены на 6 групп: интактную и 5 опытных. В 1-ю опытную группу включены животные, получавшие растворитель милацина твин-21 (конечная концентрация 1,6×10<sup>-7</sup> моль/кг) внутрибрюшинно 3-кратно (ежедневно в течение 3 сут.); во 2-ю — мыши, получавшие милацин 3-кратно в разовой дозе 2 мг/кг; в 3-ю — мыши после 1-кратного внутрибрюшинного введения МТ (10 мг/кг); группы 4-ю и 5-ю составили мыши после 1-кратного введения МТ с последующим (через 1, 24 и 48 ч) 3-кратным введением твина-21 или милацина, соответственно. Животных выводили из эксперимента на 4-е сут после инъекции МТ с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Маркером окислительного стресса служили продукты окисления, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой — ТБК-реагирующие продукты (ТБК-РП) [31]. ТБК-РП в гомогенатах печени животных выявляли с использованием стандартных реактивов ТБК — АГАТ («Агат-Мед», Россия). Интенсивность цветной реакции определяли на спектрофотометре АРЕL PD-303 UV при длинах волн 535 нм и 570 нм. Расчет ТБК-РП проводили в молях

на 1 г общих липидов (о.л.). Концентрацию о.л. определяли спектрофотометрически с использованием реактивов «Lachema» (Чехия).

Влияние милацина на экспрессию генов *сур-2e1* и *glu red* в печени животных, подвергнутых действию МТ, изучали на 28 мышках F<sub>1</sub>, разделенных на 4 группы (по 7 животных в группе):

- 1 — интактные животные;
- 2 — мыши, подвергавшиеся действию МТ (10 мг/кг);
- 3 — мыши, получавшие МТ с последующим 3-кратным введением твина-21;
- 4 — мыши, получавшие МТ с последующим 3-кратным введением милацина.

Образцы печени, как и в предыдущей серии, анализировали на 4-е сут. после введения МТ. Печень извлекали немедленно после выведения мышей из эксперимента, гомогенизировали в жидком азоте и добавляли 1 мл реагента TRIzol (Invitrogen, США). К лизату добавляли хлороформ (0,2 мл), встряхивали и центрифугировали 10 мин при 12 000 об/мин. К водной фазе добавляли равный объем 2-пропанола, инкубировали 10 мин при комнатной температуре и центрифугировали 10 мин при 12 000 об/мин. Осадок (тотальная клеточная РНК) промывали 0,5 мл 70%-ного водного этанола и растворяли в 50 мкл воды. Получали кДНК в реакции обратной транскрипции (реактивы Fermentas, Литва) с «случайными» гексануклеотидами («Хеликон», Россия). Пробы инкубировали 10 мин при комнатной температуре, затем 50 мин при 42°C и 15 мин при 70°C. Экспрессию генов *сур-2e1* и *glu red* определяли в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Праймеры синтезированы фирмой «Хеликон» (Россия) (табл.1), остальные реактивы приобретены в фирме Fermentas. ПЦР проводили на ДНК-амплификаторе «Терцик» («ДНК-технологии», Россия) по следующей схеме: денатурация для первого цикла — 1 мин (94°C), для каждого последующего — 10 с (94°C), отжиг праймеров — 10 с (60°C), элонгация — 30 с (72°C). Число циклов ПЦР установлено в предварительных опытах по линейному приращению продуктов реакции (24—27 циклов; табл. 1) Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1% агарозном геле (0,5 М трис-боратный буфер, рН 8,0). Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете. Экспрессию генов *сур-2e1* и *glu red* определяли по выраженности полосы ПЦР, соответствующей тому или иному продукту. В качестве контроля генной экспрессии использовали кДНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*gapdh*).

Достоверность различий между средними величинами оценивали с использованием непараметрического метода Манна—Уитни [2]. Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

Праймеры, использованные в ПЦР. Для каждого гена: верхняя строка — прямой праймер, нижняя — обратный

Ген	Нуклеотидные последовательности	Количество циклов
<i>cyp 2E1</i>	5'-CATCACCGTTGCTTGCTTG-3' 5'-GCCAACTTGGTTAAAGACTTGGG-3'	27
<i>glu red</i>	5'-GCGGCGCGCGCGCTCACC-3' 5'-GCGCCGAGCTCCGCCGCCCGC-3'	24
<i>gapdh</i>	5'-ACTGGCGTCTTCACCACCAT-3' 5'-TGTTGGCATGGACTGTGGTC-3'	24

### Результаты и обсуждение

Установлено (рис. 1), что введение твина-21 (группа 2) или милацина (группа 3) не влияло на содержание ТБК-РП в печени по сравнению с интактными животными (группа 1). МТ (группа 4) вызывал значительное (в среднем в 5,7 раза) накопление ТБК-РП: с  $0,11 \pm 0,015$  мкмоль/г о.л. до  $0,63 \pm 0,023$  мкмоль/г о.л. Твин-21 (группа 5) не отменял этот эффект МТ: уровень ТБК-РП у данной группы превышал таковой у интактных мышей в 5,4 раза, составляя  $0,59 \pm 0,046$  мкмоль/г о.л. В противоположность этому, применение милацина в комбинации с МТ (группа 6) существенно снижало содержание ТБК-РП в печени животных до уровня ( $0,16 \pm 0,010$  мкмоль/г о.л.), близкого к таковому у интактных мышей.

Конститутивная экспрессия гена изоформы цх Р450 *cyp-2e1* (рис. 2А) у интактных животных (К) не выявлена. МТ вызывал значительную индукцию *cyp-2e1* у всех особей. Твин-21 (МТ+Т) не отменял МТ-индуцированное накопление мРНК *cyp-2e1* ни в одном случае. Напротив, применение милацина на фоне МТ (МТ+М) подавляло индуцированную экспрессию *cyp-2e1* у 6 мышей (пробы 1—6) и заметно ослабляло у 1 особи (проба 7). Сам милацин не влиял на уровень мРНК *cyp-2e1*. Экспрессия контрольного гена *gapdh* не изменялась (рис. 2А, нижняя панель).

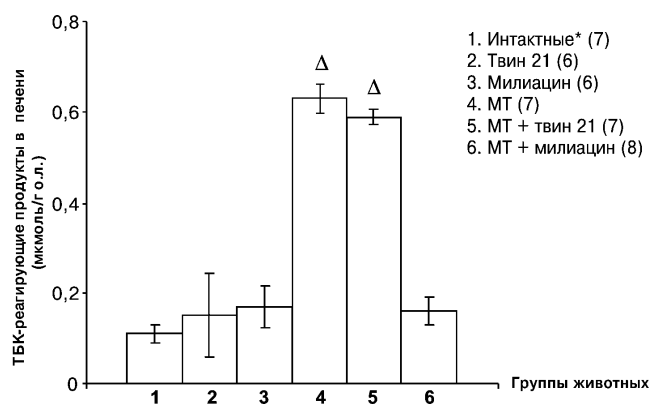


Рис. 1. Влияние метотрексата и милацина на количество ТБК-реагирующих продуктов в печени мышей (СВА x C<sub>57</sub>Bl<sub>6</sub>)F<sub>1</sub>: р<0,05 к группам 1, 2, 3, 6; \* в скобках — количество животных в группе

Иная закономерность обнаружена при изучении экспрессии гена *glu red* (рис. 2Б). У интактных мышей этот ген экспрессирован (К). МТ полностью подавлял экспрессию *glu red* у всех животных исследуемой группы. Твин-21 (МТ+Т) не отменял ингибирующего влияния МТ на экспрессию *glu red*. Милацин не влиял на уровень мРНК *glu red* (данные не приводятся). Важно, что милацин (МТ+М) ограничивал вызванное МТ подавление экспрессии *glu red*, полностью восстанавливая экспрессию этого гена у двух животных (пробы 1, 2) и частично — еще у трех (пробы 3—5). Экспрессия *gapdh* оставалась одинаковой (рис 2А, нижняя панель).

Полученные результаты позволяют высказать три положения. Во-первых, подтверждена способность МТ индуцировать окислительный стресс в печени, сопровождающийся значительным накоплением ТБК-РП [21, 26], основным компонентом которых является малоновый диальдегид [1]. Последний, будучи продуктом перекисного окисления липидов (ПОЛ), отражает интенсивность этого процесса и, следовательно, интенсивность окислительного стресса [18]. Во-вторых, отмена милацином МТ-индуцированного накопления ТБК-РП в печени указывает на способность тритерпеноида ограничивать активацию ПОЛ и окислительную модификацию биомолекул.

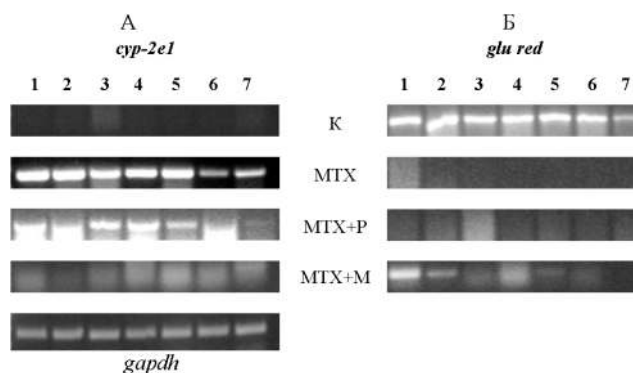


Рис. 2. Влияние метотрексата и милацина на экспрессию генов *cyp-2e1* (А) и *glu red* (Б) в печени мышей (СВА x C<sub>57</sub>Bl<sub>6</sub>) F<sub>1</sub>: М — милацин; МТ — метотрексат; Т — твин-21. Пояснения в тексте.

В-третьих, полученные данные свидетельствуют о том, что индукция окислительного стресса при действии МТ и гепатопротекторное влияние милацицина реализуются в условиях разнонаправленных изменений экспрессии генов *сур-2e1* и *glu red*, продукты которых регулируют окислительно-восстановительный баланс клетки.

Поскольку антиоксидантная активность милацицина, проявляющаяся ингибированием ПОЛ, установлена нами ранее на модели комбинированного стресса у мышей СВАхС<sub>5</sub>7В1<sub>6</sub>)F<sub>1</sub> [12], приоритетное значение приобретает вопрос о связи этого эффекта три-терпеноида с изменениями экспрессии редокс-генов. При оценке механизмов влияния МТ на экспрессию *сур-2e1* следует учитывать, что МТ не относится к ксенобиотикам, биотрансформация которых связана с участием монооксигеназ цх Р-450 [16, 25]. Образование активного метаболита МТ — 7-гидрокси-МТ [7] — в гепатоцитах происходит при участии растворимых цитозольных ферментов: альдегидоксидазы и ксантинооксидазы [23]. Незначительна и способность МТ к модуляции экспрессии изоформ *сур* в печени. В культуре гепатоцитов МТ вызывал лишь слабые изменения экспрессии *сур-3a4* [19, 30], *сур-3a2* [22], *сур-2b6* [24] и незначительную активацию ядерных рецепторов PXR (pregnan-X receptor) — факторов транскрипции генов *сур-2* и *сур-3* [17]. Эти данные исключают микросомальное окисление МТ как причину нарастания мРНК *сур-2e1*.

Более вероятным представляется механизм, связанный с увеличением мРНК *сур-2e1* под влиянием АФК. Образование 7-ОН-МТ в ходе ферментативных реакций с участием оксидаз сопряжено с генерацией АФК, способных индуцировать *сур-2e1*. Такое предположение расходится с представлениями об ингибирующем эффекте АФК на продукцию и активность микросомальных монооксигеназ [9, 14]. Однако регуляторное влияние АФК на генную экспрессию определяется их концентрацией и состоянием молекулярных систем, подвергающихся воздействию АФК [13, 15]. В связи с этим следует считать, что роль АФК в регуляции цх Р-450 не только негативная. Такое утверждение подтверждается и фактом увеличения мРНК ряда изоформ цх Р-450, включая *сур-2e1*, при острофазовом ответе [14], сопряженном с образованием АФК [10].

Влияние МТ на экспрессию гена *glu red* в печени, вероятно, носит двойственный характер. Известно, что индукция *сур-2e1* и генерация АФК активируют фактор транскрипции Nrf 2 (nuclear respiratory factor), играющий ключевую роль в адаптивном ответе клетки на окислительный стресс [20]. Транслокация Nrf 2 в ядро и его связывание с сайтом ARE (antioxidant responsive element) в промоторах генов антиоксидантной

защиты, включая *glu red*, служит механизмом их активации. Вместе с тем, накапливающиеся при окислительном стрессе АФК и продукты липопероксидации, в частности, альдегиды, обладают выраженным генотоксическим действием [3], что приводит к угнетению генной экспрессии. Исходя из полученных результатов, можно полагать, что в отношении *glu red* преобладает генотоксический эффект, приводящий к подавлению его экспрессии в ответ на МТ. Восстановление экспрессии *glu red* в комбинации милацицин + МТ могло определяться, по меньшей мере, двумя обстоятельствами: снижением выраженности окислительного стресса и, соответственно, генотоксичности и (или) прямым влиянием милацицина на Nrf 2, подобно тому, которое было установлено для синтетического аналога олеаноловой кислоты CDDO<sup>1</sup> [32].

Снижение экспрессии *сур-2e1* под влиянием милацицина в печени животных, подвергшихся воздействию МТ, по-видимому, отражает способность три-терпеноидов к избирательному ингибированию отдельных изоформ цх Р-450. Аналогичный эффект в отношении *сур-2e1* — снижение его содержания и активности в печени мышей с СС1<sub>4</sub>-индуцированной гепатотоксичностью — отмечен при применении олеаноловой и β-глицерритиновой кислот [28]. Подавление активности белков *сур-1a2*, *сур-3a4* и *сур-2c19* показано при действии олеаноловой и уросоловой кислот [29]. При этом отдельные изоформы монооксигеназ проявляют избирательную чувствительность к конкретным три-терпеноидам, о чем свидетельствует снижение в гепатоцитах мРНК *сур 1a 1/2* и *сур 2b 1/2*, но не *сур 2e1*, под влиянием альфа-гедерина [27]. Можно предположить, что механизм подобного влияния обусловлен конкурентным связыванием три-терпеноидов с факторами транскрипции и (или) с активными центрами монооксигеназ.

Обобщая полученные данные, необходимо отметить, что установленная ранее способность милацицина ограничивать окислительный стресс связывалась с мембраностабилизирующим действием три-терпеноида — повышением устойчивости мембран к АФК-индуцируемой липопероксидации [12]. Результаты настоящей работы раскрывают новые аспекты протективного влияния милацицина, связанные с его участием в регуляции редокс-баланса клетки путем отмены МТ-индуцированной экспрессии гена прооксидантного белка *сур-2e1* и восстановления экспрессии гена, кодирующего один из ведущих факторов антиоксидантной защиты — *glu red*.

<sup>1</sup> CDDO — 2-циано-3,12-диоксиолеан-1,9-диен-28-оидная кислота.

## Список литературы

1. *Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. — 1988. — №11. — С. 41-43.
2. *Гублер Е.В., Генкин А.А.* Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — Л.: Медицина, 1973. — 141 с.
3. *Дубинина Е.Е., Дадали В.А.* 4-гидрокси-транс-2-нонeналь в функциональной активности клеток // Биохимия. — 2010. — Т. 75. — Вып. 9. — С. 1189-1212.
4. *Калинина О.В., Красиков С.Т., Шехтман А.М.* и др. Гепатопротекторное действие мелиаина при токсическом поражении печени метотрексатом // Росс. биотер. журн. — 2009. — Т. 8, №1. — С. 48-54.
5. *Калинина О.В., Сингин А.С., Фролов Б.А.* и др. Изучение фармакокинетики метотрексата в комбинации с органопротектором мелиаином // Вестн. РОНЦ. — 2009. — Т. 20, №4. — С. 33-37.
6. *Калинина О.В., Фролов Б.А., Штиль А.А.* и др. Влияние мелиаина на противоопухолевую активность метотрексата на модели перевиваемой карциномы легких Льюис // Росс. биотер. журн. — 2009. — Т. 8, №4. — С. 45-48.
7. Клиническая фармакология по Гудману и Гилману. Кн. 3-я / Под общ. ред. А.Г. Гилмана, ред. Дж. Хардман и Л. Лимберд. В 4-х томах / Пер. с англ. — М.: Практика, 2006. — С. 1079-1083.
8. *Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.* Биологическая роль глутатиона // Усп. совр. биол. — 1990. — Т. 110. — Вып. 1(4). — С. 20-33.
9. *Ланкин В.З., Тихадзе А.К., Беленков Ю.Н.* Свободнорадикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. — М., 2000. — 69 с.
10. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. — Новосибирск: АРТА, 2008. — 284 с.
11. *Олифсон Л.С., Осаочая Н.Д., Нузов Б.Г.* и др. Химическая природа и биологическая активность мелиаина // Вопр. пит. — 1991. — №2. — С. 57-59.
12. *Панфилова Т.В., Штиль А.А., Фролов Б.А.* Тритерпеноид мелиаин снижает индуцируемое стрессом ПОЛ // Бюлл. эксп. биол. мед. — 2006. — С. 633-635.
13. *Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В.* Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов — равнозначных участников метаболизма // Пат. физиол. эксп. тер. — 2007. — №3. — С. 2-18.
14. *Сибиряк С.В., Вахитов В.А., Курчатова Н.Н.* Цитохром P 450 и иммунная система. — Уфа: Гилем, 2003. — 211 с.
15. *Турпаев К.Т.* Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов (обзор) // Биохимия. — 2002. — Т. 67. — Вып. 3. — С. 339-353.
16. *Филимонова А.А., Зиганин А.У., Зиганина Л.С.* Особенности метаболизма разных лекарственных средств с участием изоферментов цитохрома P-450 // Эксп. клин. фармакол. — 2007. — Т. 70, №3. — С. 69-77.
17. Цитокиновая регуляция биотрансформации ксенобиотиков и эндогенных соединений / Сибиряк С.В., Черешнев В.А., Симбирцев А.С. и др. — Екатеринбург: УрО РАН, 2006. — С. 160.
18. *Шилова И.В., Жаворонок Т.В., Суслев Н.И.* и др. Гепатозащитные свойства фракции экстракта лабазника вязолистного при экспериментальном токсическом гепатите // Бюлл. эксп. биол. мед. — 2008. — Т. 146, №7. — С. 54-57.
19. *Baumhake M., Rasel D., Rao-Schymanski R.A.* et al. Screening for inhibitory effects of antineoplastic agents on CYP 3A4 in human liver microsomes // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. — 2001. — Vol. 39, №12. — P. 517-528.
20. *Cederbaum A.I.* Nrf 2 and antioxidant defense against CYP2 E1 toxicity // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. — 2009. — Vol. 5, №10. — P. 1223-1244.
21. *Cetinkaya A., Bulbuloglu E., Kurutas E.B., Kantarceken B.* N-acetylcysteine ameliorates methotrexate-induced oxidative liver damage in rats // Med. Sci. Monitor. — 2006. — Vol. 12, №8. — P. 274-278.
22. *Cheung R.L., Lee C., Jones E.J.* et al. Lack of effect of methotrexate on the expression of constitutive hepatic cytochromes P-450 in the male rat // Xenobiotica. — 1996. — Vol. 26, №5. — P. 503-514.
23. *Chladek J., Martinkova J., Sispera L.* An in vitro study on methotrexate hydroxylation in rat and human liver // Physiol. Res. — 1997. — Vol. 46, №5. — P. 371-379.
24. *Faucette S.R., Wang H., Hamilton G.A.* et al. Regulation of CYP2 B6 in primary human hepatocytes by prototypical inducers // Drug Metab. Dispos. — 2004. — Vol. 32, №3. — P. 348-358.
25. *Guillon J., Souillet G., Riviere J.L.* et al. Action of methotrexate on cytochrome P-450 monooxygenases in rats. Study performed with [13C]-aminopyrine micro breath test // Eur. Drug Metab. Pharmacokinet. — 1994. — Vol. 19, №2. — P. 119-124.
26. *Hemeida R.A.* Curcumin attenuates methotrexate-induced hepatic oxidative damage in rats / R.A. Hemeida, O.M. Mohafez // J. Egypt. Natl. Canc. Inst. — 2008. — Vol. 2. — P. 141-148.
27. *Jeong H.G.* Suppression of constitutive and inducible cytochrome P-450 gene expression by alpha-hederin in mice // Biochem. Mol. Biol. Int. — 1998. — Vol. 46, №5. — P. 1019-1026.
28. *Jeong H.G., You H.J., Park S.J.* et al. Hepatoprotective effects of 18 beta-glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P-450 2E1 expression // Pharmacol. Res. — 2002. — Vol. 46, №3. — P. 221-227.
29. *Kim K.A., Lee J.S., Park H.Y.* et al. Inhibition of cytochrome P-450 activities by oleanolic acid and ursolic acid in human liver microsomes // Life Sci. — 2004. — Vol. 74, №22. — P. 2769-2779.
30. *Luo G., Cunningham H., Kim S.* et al. CYP 3A4 induction by drugs: correlation between a pregnan X receptor reporter gene assay and CYP 3A4 expression in human hepatocytes // Drug Metab. Dispos. — 2002. — Vol. 30, №7. — P. 795-804.
31. *Vincent H.K., Innes K.E., Vincent K.R.* Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity // Diabetes, Obesity Metab. — 2007. — Vol. 9, №6. — P. 813-839.
32. *Yates M.S., Tran Q.T., Dolan P.M.* Genetic versus chemoprotective activation of Nrf2 signaling: overlapping yet distinct gene expression profiles between Keap1 knockout and triterpenoid treated mice // Carcinogenesis. — 2009. — Vol. 30, №6. — P. 1024-1031.

Поступила 28.10.11

## Сведения об авторах:

*Колотова Екатерина Сергеевна*, мл. науч. сотр. лаб. механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН  
*Панфилова Татьяна Владимировна*, канд. мед. наук., доц. каф. патологической физиологии ГБОУ ВПО ОрГМА Минздрава РФ  
*Штиль Александр Альбертович*, д-р мед. наук, зав. лаб. механизмов гибели опухолевых клеток НИИ канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН  
*Фролов Борис Александрович*, д-р мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии ГБОУ ВПО ОрГМА Минздрава РФ