

DOI: 10.11844/cjcb.2013.07.0024

# 不同性别小鼠肝脏中II相代谢酶的mRNA表达

刘莹<sup>1</sup> 刘楠启<sup>1</sup> 蒋昆谕<sup>2</sup> 孟胜男<sup>2\*</sup><sup>1</sup>中国医科大学基础医学院生物化学教研室, 沈阳 110001; <sup>2</sup>中国医科大学药学院药剂学教研室, 沈阳 110001)

**摘要** 该研究考察了性别差异对小鼠肝脏II相代谢酶的mRNA表达的影响。将6月龄不同性别的C57BL/6小鼠分为雌、雄两组( $n=6$ ), 分别取其肝脏。以荧光定量PCR(Real-time quantitative PCR, RT-qPCR)测定肝脏中II相代谢酶mRNA的相对表达量。在分析的19个II相代谢酶中, 有4个代谢酶(Ugt1a1、Sult1a1、Sult2a2和Sult3a1)的mRNA水平在雌性小鼠肝脏中高表达( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ); 6个代谢酶(Ugt2b1、Ugt2b5、Ugt2b35、Sult5a1、Gstp1和Gstp2)的mRNA水平在雄性小鼠肝脏中表达较高( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ); 其他检测的II相代谢酶在雌雄小鼠肝脏中的mRNA表达没有显著性差异。性别差异显著影响小鼠肝脏中II相代谢酶的mRNA表达, 这将导致药物在药效和毒性方面的个体差异。

**关键词** II相代谢酶; mRNA谱; C57BL/6小鼠; 性别差异

## mRNA Profiles for Phase II Metabolizing Enzymes in Livers of Male and Female Mice

Liu Ying<sup>1</sup>, Liu Nanqi<sup>1</sup>, Jiang Kunyu<sup>2</sup>, Meng Shengnan<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Department of Biochemistry, College of Basic Medical Science, China Medical University, Shenyang 110001, China;<sup>2</sup>Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Science, China Medical University, Shenyang 110001, China)

**Abstract** Gender differences in mRNA profiles for phase II metabolizing enzymes were characterized in livers of male and female mice of 6 months of age. C57BL/6 mice were randomly divided into female group and male group ( $n=6$ ), the livers were collected. The relative mRNA expression of phase II metabolizing enzymes was examined by Real-time quantitative PCR (RT-qPCR). Gender differences were investigated for 19 phase II metabolizing enzymes. In female and male mice, mRNA levels for 4 phase II metabolizing enzymes (e.g., Ugt1a1, Sult1a1, Sult2a2 and Sult3a1) were higher in female mice ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ), whereas mRNA levels for 6 phase II metabolizing enzymes (e.g., Ugt2b1, Ugt2b5, Ugt2b35, Sult5a1, Gstp1 and Gstp2) were higher in male mice ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ). The mRNA levels of the other enzymes showed similar levels in both genders. Gender differences have significant effects on the mRNA expression profiles of phase II metabolizing enzymes in livers of mice, and it may contribute to individual differences in drug efficacy and toxicity.

**Key words** phase II metabolizing enzymes; mRNA profiles; C57BL/6 mice; gender differences

收稿日期: 2013-01-17 接受日期: 2013-04-25

国家自然科学基金(批准号: 81173123)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 024-23256666-5467, E-mail: shengnanmeng@yahoo.com.cn

Received: January 17, 2013 Accepted: April 25, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81173123)

\*Corresponding author. Tel: +86-24-23256666-5467, E-mail: shengnanmeng@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2013-06-05 15:51

URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130605.1551.002.html

大多数药物体内的代谢或生物转化在肝脏中进行, 通常可分为I相代谢反应和II相代谢反应<sup>[1]</sup>。目前, 针对I相代谢的研究有很多, 但针对II相代谢的研究相对较少, 由于II相代谢反应在药物代谢、药物解毒、药物相互作用等方面发挥了非常重要的作用, II相代谢的相关研究越来越受到关注。II相反应以葡萄糖醛酸结合反应最为常见, 此外还有硫酸化及谷

胱甘肽结合反应。

葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyltransferases, Ugts)催化的葡萄糖醛酸结合反应被认为是最常见的II相代谢反应,占有高于35%的II相生物转化<sup>[2-4]</sup>。Ugts定位在内质网,负责各种各样的酚类化合物、环境毒素以及致癌物的代谢<sup>[5-6]</sup>。硫酸基转移酶(sulfotransferases, Sults)是另外一大类涉及解毒、药物代谢和激素调控的II相代谢酶<sup>[7]</sup>。Sults定位在细胞中的胞浆或膜的相关部分,胞浆的Sults在外源性物质的代谢中发挥着重要的作用<sup>[8]</sup>。谷胱甘肽在肝细胞液谷胱甘肽转移酶(glutathione transferases, Gsts)催化下,介导由I相生物转化激活的亲电子外源性物质,以及在氧化应激过程中通过结合、还原、异构化反应而形成的次生代谢产物、内源性环氧衍生物、氢过氧化物和醌类等化合物生成谷胱甘肽的结合产物,在它们的解毒方面发挥了重要的作用<sup>[9]</sup>。

II相药物代谢酶由大量多种不同酶系组成,催化机体内、外源性物质的代谢。II相药物代谢酶不仅对药物的生物利用度有显著影响,尤其对药物不良相互作用的发生、外源性物质的解毒和致癌代谢物的产生等方面作用强大。因此,考察II相代谢酶在代谢器官的基因表达可以提供有价值的信息以深入解析药物的动力学、相互作用及解毒等方面的问题。

性别差异可以引起药动学和药效学的变化,其中性别差异对药动学的影响体现在药物的生物利用度、分布、代谢和/或排泄等不同方面。性别差异在代谢环节的表现是导致不同性别药动学改变的决定因素。而且,性别差异在代谢方面的直接效应是影响药物代谢酶的表达,进而使其活性发生相应的改变,直至导致药动学等各方面发生变化。

已有研究证实,不同性别可导致I相代谢酶Cyp450s的表达差异,这些差异对药物在临床相应的作用具有重要的影响<sup>[10]</sup>,也是药物作用个体差异的主要原因<sup>[11-12]</sup>,但性别差异对II相代谢酶的表达调控的研究相对很少,尤其实验动物选择的是小鼠的相关研究罕见报道。小鼠是一个非常典型的用于药物机制研究和药物的化学效能及毒性初步筛选的模型<sup>[13]</sup>,因此,深入了解不同性别的小鼠药物代谢酶表达的相关信息将为药物在临床合理应用提供科学的指导。另外,由于许多小鼠和人的药物代谢酶的基因具有同源性,因此,探究小鼠的药物代谢酶在代

谢器官表达的研究将为洞察人体的相应药物代谢酶的相关表现提供有力支持,并为进一步研究药物代谢酶的作用提供理论依据。本研究拟运用RT-qPCR技术,考察6月龄不同性别的C57BL/6小鼠的肝脏中II相代谢酶的mRNA表达谱,以期利用这些代谢酶的表达信息,解析人体与其相关的各种效应分子的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 12只6月龄雌雄C57BL/6小鼠,体重18~22 g,由中国医科大学实验动物部提供,许可证号:SCXK(辽)2008-0005。6月龄的小鼠分为雌雄两组( $n=6$ ),用苯巴比妥(50 mg/kg,皮下注射)麻醉,大约10 min后,当每只小鼠都麻醉后,将其肝脏切出,在液氮中速冻后,置-80 °C保存。为了降低昼夜节律<sup>[14]</sup>导致的II相代谢酶的mRNA变化,小鼠肝的收集在9:00到12:00之间。

1.1.2 引物 本研究中针对所检测的II相代谢酶的RT-qPCR实验所使用的引物列表见表1。

### 1.2 方法

1.2.1 肝脏总RNA抽提及反转录 采用Trizol、氯仿一步法从小鼠肝组织中提取总RNA(详见试剂操作说明)。用紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳确定RNA的纯度和浓度。总RNA提取采用Trizol试剂。总RNA经DNAase I处理及纯化后,采用Super III反转录酶合成cDNA。

1.2.2 RT-qPCR 荧光定量RT-qPCR依据双链高亲和染料SYBR green的作用原理,选用美国Applied Biosystems公司的SYBR<sup>®</sup> Green PCR Master试剂盒,按说明书操作。在定量PCR反应中,cDNA用量为2.0  $\mu$ L,200 nmol/L正、反向引物(表1)。反应在美国Applied Biosystems公司的7900HT Fast Real-time PCR仪上进行,设定定量PCR反应条件为95 °C,15 s;60 °C,1 min,40个循环;在最后一个循环结束后做溶解曲线(95 °C,15 s;60 °C,15 s;95 °C,15 s),确定PCR反应的质量。mRNA的浓度差异使用公式: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算,设定GAPDH为看家基因。

### 1.3 统计分析

实验数据以mean $\pm$ S.E.的形式提供,雌雄小鼠的性别差异用Student's *t*检验进行判断, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

表1 RT-qPCR分析中使用的引物  
Table 1 Primers of used for RT-qPCR analysis

基因 Gene	正向引物(5'→3') Forward primer(5'→3')	反向引物(5'→3') Reverse primer(5'→3')
<i>mGAPDH</i>	GAC AAC TCA CTC AAG ATT GTC AGC AAT GC	GTG GCA GTG ATG GCA TGG ACT GTG GTC
<i>Ugt1a1</i>	TGG TGG AAC TTG GAC GGA CT	CGC GCA GCA GAA AAG AAT CT
<i>Ugt1a5</i>	GCA TGC CCC TAC AAG GAT TA	GGA CCA CAC AGT TGG TGA CCT
<i>Ugt1a6</i>	ACA CCG GAA CTA GAC CAT CG	AAA TAG GGG CAT CAT CAC CA
<i>Ugt1a9</i>	TGT GTG GAT TAA TTG TCG CCA	CAA AGA TCA CTG ATG GGA GCG
<i>Ugt2b1</i>	CTG GAG AAC ATG GTG TGG TG	TGG GGG ATC CAC TTG TAG AG
<i>Ugt2b5</i>	TGT CTA TGA GGC CAT CTA TC	ATA TTC AGT GTA ACA GCT GC
<i>Ugt2b34</i>	AGC TGC CAA AGC AGT CAT TT	CAC AAG GGG GAT CTT GAG AA
<i>Ugt2b35</i>	CCT TCT CGG TCA TCC AAA AA	CTT CCA GTG CAT TGA GCA AA
<i>Sult1a1</i>	TGT CCT ATG GGT CGT GGT AC	CGT CTC AGC TCC CAC CAC TCC
<i>Sult2a2</i>	GAT CGG GTT ACT AAT GGC TTG AA	GTC CCC AGT TGT ACC TTT TCT CAT
<i>Sult3a1</i>	GGG TCG GCA CCC TGG C	CTC TTG GAA AGA AAG T
<i>Sult5a1</i>	TTC CAC TTC CAC CGA ATA GC	TGC GGA TAG TAG AGC GAG GT
<i>Sult1d1</i>	CCT GGC ACC TGG GAA GAG TG	CTC ACT TGT CCA GCC ATG AA
<i>Sult1e1</i>	GCA GCA GAT GAA GGA TTG CAG T	GGC TCA GAG CTC CAT TCT AAA
<i>Gsta2</i>	CAG CCT CCC CAA TGT GAA G	AGGCTTCTCTGGCTGCCAG
<i>Gsta4</i>	GTG CAG CGT GCT TTA AGG TG	GGT GAC ACT GCA ATT GGA ACC
<i>Gstp1</i>	GGC ATC TGA AGC CTT TTG AG	GAG CCA CAT AGG CAG AGA GC
<i>Gstp2</i>	CAA ATA TGG CAC CAT GAT CTA CAG A	GCA GGG TCT CAA AAG GCT TCA
<i>Gstt1</i>	TGT ACC TGG ATC TGC TGT CG	TGT GTG CCA GGT AGA GCA AG

## 2 结果

### 2.1 *Ugts*的mRNA表达

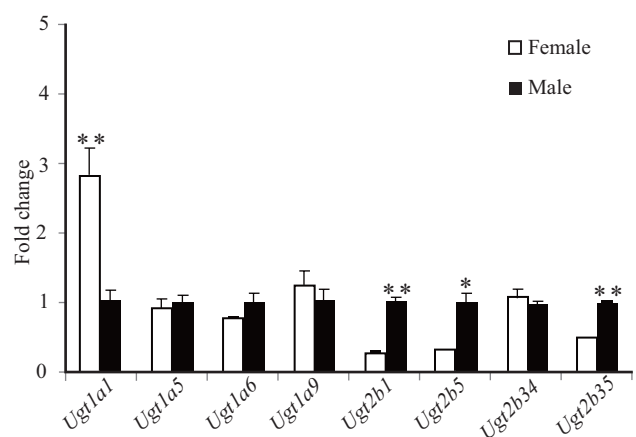
针对II相代谢酶中最常见的*Ugts*在雌雄小鼠肝脏中的mRNA表达研究显示,在雌性小鼠中*Ugt1a1*的mRNA水平具有较高的表达,是雄性小鼠相应基因表达的3倍( $P<0.01$ )(图1)。*Ugt1a5*、*Ugt1a6*、*Ugt1a9*和*Ugt2b34*的mRNA水平在两种性别中的表达显示没有差异。一些*Ugts*,即*Ugt2b1*( $P<0.01$ )、*Ugt2b5*( $P<0.05$ )、*Ugt2b35*( $P<0.01$ )的mRNA水平在雄性小鼠中的表达较高,呈现雄性主导的表达模式。

### 2.2 *Sults*的mRNA表达

*Sults*的mRNA水平显示不同的性别依赖性模式,*Sult1a1*、*Sult2a2*和*Sult3a1*的mRNA水平在雌性鼠中分别是雄性鼠中的1.7倍、7 740倍和3 580倍(图2)。*Sult1d1*和*Sult1e1*的mRNA水平在两种性别的鼠中相似。*Sult5a1*在雄性鼠中的mRNA水平比其在雌性鼠中的高19倍。结果显示,主要的*Sults*即*Sult1a1*、*Sult2a2*和*Sult3a1*的mRNA水平呈现特别明显的雌性主导的表达模式。而*Sult5a1*的mRNA水平呈现雄性主导的表达模式(图2)。

### 2.3 *Gsts*的mRNA表达

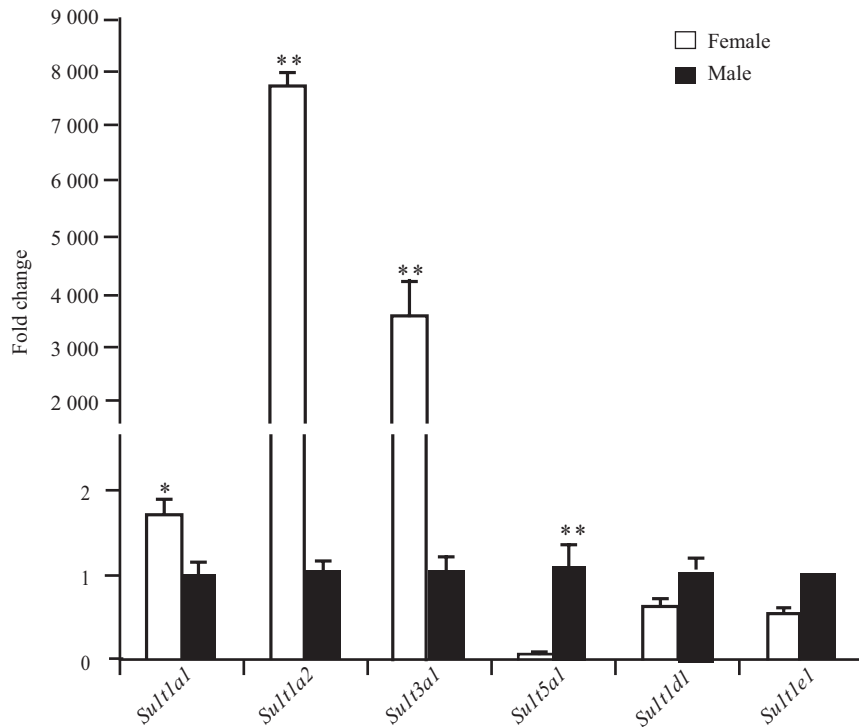
*Gsts*的mRNA表达研究结果证实,*Gsta2*、*Gsta4*和*Gstt1*的mRNA水平在两种性别的小鼠肝脏中具有



用*GAPDH*转录的几何平均值标准化表达水平。重复实验为4次。性别差异,\* $P<0.05$ 、\*\* $P<0.01$ ,由Student's *t*检验判定。

The geometric mean of *GAPDH* transcripts was used to normalize expression levels. Four times experiments repeated. Gender differences, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , determined with Student's *t* test.

图1 *Ugts*在雌雄小鼠(6月龄)肝脏中的mRNA的相对表达  
Fig.1 Relative mRNA expression of *Ugts* in livers of female and male mice(6 months old)

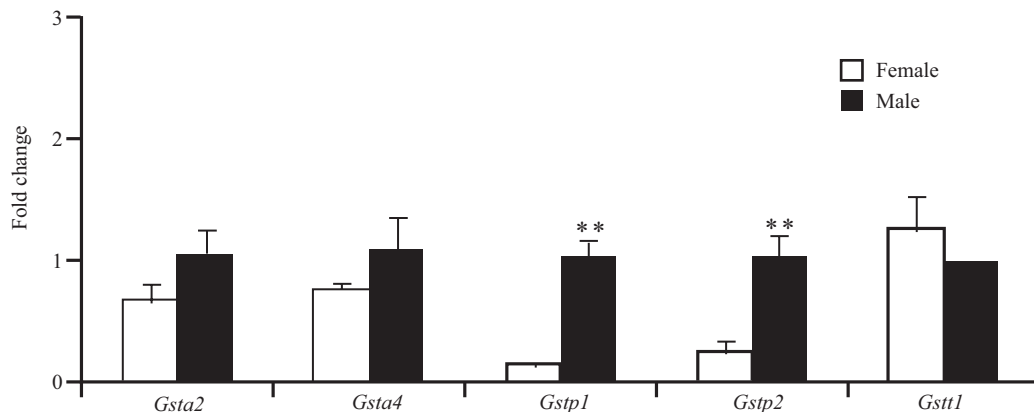


用GAPDH转录的几何平均值标准化表达水平。重复实验为4次。性别差异, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , 由Student's  $t$ 检验判定。

The geometric mean of GAPDH transcripts was used to normalize expression levels. Four times experiments repeated. Gender differences, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , determined with Student's  $t$  test.

图2 Sults在雌雄小鼠(6月龄)肝脏中的mRNA的相对表达

Fig.2 Relative mRNA expression of Sults in livers of female and male mice(6 months old)



用GAPDH转录的几何平均值标准化表达水平。重复实验为4次。性别差异, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , 由Student's  $t$ 检验判定。

The geometric mean of GAPDH transcripts was used to normalize expression levels. Four times experiments repeated. Gender differences, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , determined with Student's  $t$  test.

图3 Gsts在雌雄小鼠(6个月)肝脏中的mRNA的相对表达

Fig.3 Relative mRNA expression of Gsts in livers of female and male mice(6 months old)

相似的表达水平(图3); *Gstp1*和 *Gstp2*在雌性鼠中的mRNA水平是分别是雌性鼠中的6.7倍和4.4倍, 这两种酶的mRNA水平表达显示雄性主导的mRNA表达模式。

### 3 讨论

综合研究证实, 性别差异对其所引起的II相代

谢酶的mRNA水平变化的影响很明显。在本研究中, 很多Ugts的mRNA表达具有明显的性别依赖性(图1)。如*Ugt1a1*在雌性小鼠中的mRNA水平明显增高。相反, *Ugt2b1*、*Ugt2b5*和*Ugt2b35*的mRNA水平在雄性小鼠中具有非常高的表达。其他一些Ugts, 如*Ugt1a5*、*Ugt1a6*、*Ugt1a9*和*Ugt2b34*在雌雄小鼠肝脏中的mRNA表达水平相似。*Ugt1a1*是负责胆红素

结合的主要亚酶,本研究证实*Ugt1a1*的mRNA表达体现出显著的性别差异(雌性主导),这将会引起胆红素转化的性别差异,进而会导致由胆红素高低引发的系列疾病<sup>[15]</sup>。

Sults可以代谢多种基质,包括酚类、儿茶酚胺类、甲状腺激素、芳香烃类、雌激素、羟甾类。Sults催化外源性物质与磺酸化基团结合,并且3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸(PAPS)为所有的Sults催化合成磺酸化的供体。本研究检测所有的Sults中只有*Sult5a1*保持雄性主导的mRNA表达模式。而*Sult1a1*、*Sult2a2*、*Sult3a1*的mRNA水平在雌性小鼠中表达高。尤其,*Sult2a2*的mRNA在雌性小鼠中有非常丰富的表达(7 740倍),但在雄性鼠中的表达却相当低,该结果与相应的报道相符<sup>[16]</sup>。这一结果提示我们,有必要进行进一步的研究以阐明小鼠中调控*Sult2a2*的潜在机制。本研究中*Sult3a1*在雌性鼠中的mRNA水平约为雄性鼠的3 580倍(图2)。*Sult3a1*是仅有的催化N-磺基化、胺类(如苯基四氢嘧啶、苯胺、4-氯苯胺、2-萘胺、去甲丙咪嗪<sup>[17]</sup>),但不催化O-磺基化的亚酶。本研究结果显示,*Sult3a1*的mRNA水平具有非常明显的性别差异,有可能导致其底物在效能和毒性方面的差异。如4-氯苯胺是雄性大鼠和小鼠的致癌物<sup>[18]</sup>,是N-苯羟胺的主要毒性中间体。4-氯苯胺的C-羟基化物被硫酸化以满足排泄的需要。*Sult3a1*在雌性小鼠中的mRNA水平增高(图2),说明4-氯苯胺在雄性小鼠中的解毒有可能降低,因此在雄性小鼠中,4-氯苯胺有可能对癌症的发展有利。

Gsts催化各种各样的化学性致癌物、治疗药物、氧化应激产物和类固醇类激素(如 $\Delta 5$ -雄甾烯二酮<sup>[19]</sup>)的生物转化和处置。*Gstp1*和*Gstp2*的mRNA水平在雌性小鼠中明显地下降,具有明显的性别差异性。这种性别差异可导致以这种途径代谢的药物的解毒存在差异。如通过Gsts与谷胱甘肽结合是顺铂解毒的一条途径<sup>[20]</sup>。本研究中,性别引起的Gsts的mRNA水平差异将为顺铂由于性别不同导致的毒性改变提供可能的机制。Gsts在雌雄体中的表达差异不仅可引起该酶底物(体内外源性物质)的代谢、解毒变化的差异,同时还会引发不同性别中某些类型癌症的发生率的差异<sup>[21]</sup>。

本研究采集的有关II相代谢酶表达的数据均在mRNA水平上。在阐释这些数据时应慎重,因为

mRNA水平并非总是与蛋白水平和蛋白的活性相一致。基于以前的报道,许多代谢酶的蛋白浓度<sup>[22]</sup>和酶的活性<sup>[23-24]</sup>的降低是在转录水平调控的,本研究获得的mRNA表达结果将为大多数II相代谢酶的作用给予良好的指示。

本研究针对不同性别小鼠肝脏中II相代谢酶的mRNA表达情况进行了深入研究,目前对应人体肝脏中II相代谢酶的mRNA表达及活性的性别差异研究还未见报道。但针对某些I相药物代谢酶在不同性别的人体中的代谢差异有一些临床支持的数据。如CYP3A、CYP2B6、CYP1A2<sup>[25]</sup>等几种P450代谢酶有临床数据显示存在性别差异。其他代谢酶的相应研究较少,我们的研究结果会对II相代谢酶在临床的性别差异的研究提供有力支持。

### 参考文献 (References)

- 1 Dekant W. The role of biotransformation and bioactivation in toxicity. *EXS* 2009; 99: 57-86.
- 2 Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286(5439): 487-91.
- 3 Ishii Y, Nurrochmad A, Yamada H. Modulation of UDP-glucuronosyltransferase activity by endogenous compounds. *Drug Metab Pharmacokinet* 2010; 25(2): 134-48.
- 4 Wu B, Kulkarni K, Basu S, Zhang S, Hu M. First-pass metabolism via UDP-glucuronosyltransferase: A barrier to oral bioavailability of phenolics. *J Pharm Sci* 2011; 100(9): 3655-81.
- 5 Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: Metabolism, expression, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 581-616.
- 6 Iyanagi T. Molecular mechanism of phase I and phase II drug-metabolizing enzymes: Implications for detoxification. *Int Rev Cytol* 2007; 260: 35-112.
- 7 Chapman E, Best MD, Hanson SR, Wong CH. Sulfotransferases: Structure, mechanism, biological activity, inhibition, and synthetic utility. *Angew Chem Int Ed Engl* 2004; 43(27): 3526-48.
- 8 Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2010; 154(2): 103-16.
- 9 Oakley A. Glutathione transferases: A structural perspective. *Drug Metab Rev* 2011; 43(2): 138-51.
- 10 Anderson GD. Sex and racial differences in pharmacological response: Where is the evidence? *Pharmacogenetics, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. J Womens Health (Larchmt)* 2005; 14(1): 19-29.
- 11 Kamada N, Yamada K, Odomi M, Mukai T, Nishibayashi T, Ogawara K, *et al.* Sex differences in pharmacokinetics of cilostazol in rats. *Xenobiotica* 2011; 41(10): 903-13.
- 12 Hofer-Dückelmann C. Gender and polypharmacotherapy in the elderly: A clinical challenge. *Handb Exp Pharmacol* 2012; 214:

- 169-82.
- 13 Renaud HJ, Cui JY, Khan M, Klaassen CD. Tissue distribution and gender-divergent expression of 78 cytochrome P450 mRNAs in mice. *Toxicol Sci* 2011; 124(2): 261-77.
- 14 Zhang YK, Yeager RL, Klaassen CD. Circadian expression profiles of drug-processing genes and transcription factors in mouse liver. *Drug Metab Dispos* 2009; 37(1): 106-15.
- 15 Sugatani J. Function, genetic polymorphism, and transcriptional regulation of human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1. *Drug Metab Pharmacokinet* 2013; 28(2): 83-92.
- 16 Echchgadda I, Song CS, Oh TS, Cho SH, Rivera OJ, Chatterjee B. Gene regulation for the senescence marker protein DHEA-sulfotransferase by the xenobiotic-activated nuclear pregnane X receptor (PXR). *Mech Ageing Dev* 2004; 125(10/11): 733-45.
- 17 Yoshinari K, Nagata K, Ogino M, Fujita K, Shiraga T, Iwasaki K, *et al.* Molecular cloning and expression of an amine sulfotransferase cDNA: A new gene family of cytosolic sulfotransferases in mammals. *J Biochem* 1998; 123(3): 479-86.
- 18 Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC. Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem Toxicol* 1991; 29(2): 119-24.
- 19 Johansson AS, Mannervik B. Human glutathione transferase A3-3, a highly efficient catalyst of double-bond isomerization in the biosynthetic pathway of steroid hormones. *J Biol Chem* 2001; 276(35): 33061-5.
- 20 Townsend DM, Tew KD, He L, King JB, Hanigan MH. Role of glutathione S-transferase pi in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biomed Pharmacother* 2009; 63(2): 79-85.
- 21 Mitchell AE, Burns SA, Rudolf JL. Isozyme- and gender-specific induction of glutathione S-transferases by flavonoids. *Arch Toxicol* 2007; 81(11): 777-84.
- 22 Weisz J, Fritz-Wolz G, Clawson GA, Benedict CM, Abendroth C, Creveling CR. Induction of nuclear catechol-O-methyltransferase by estrogens in hamster kidney: Implications for estrogen-induced renal cancer. *Carcinogenesis* 1998; 19(7): 1307-12.
- 23 Peng FC, Jian WC, Edwards RJ. Profile of teritrem metabolism and cytochrome P-450 3A expression in liver microsomes from Wistar rats of both genders as a function of age. *J Toxicol Environ Health A* 2005; 68(21): 1871-88.
- 24 Warrington JS, Greenblatt DJ, von Moltke LL. Age-related differences in CYP3A expression and activity in the rat liver, intestine, and kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309(2): 720-9.
- 25 Waxman DJ, Holloway MG. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. *Mol Pharmacol* 2009; 76(2): 215-28.