

Tetrabromobisphenol-A가 처리된 랫드의 간에서 항산화활성 평가

이상윤, 윤강욱, 박선홍, 정선기, 강건욱¹, 정태천²,
김형식³, 정혜광, 김봉희, 김상겸*

충남대학교 약학대학 형질전환 복제돼지센터, ¹조선대학교 약학대학,
²영남대학교 약학대학, ³부산대학교 약학대학

Evaluation of Hepatic Antioxidant Defense Systems in Rats Treated with Tetrabromobisphenol-A

Sang yoon Lee, Kang Uk Yun, Sun Hong Park, Sun Ki Jung,
Keon Wook Kang¹, Tae Cheon Jeong², Hyung Sik Kim³,
Hye Gwang Jeong, Bong Hee Kim and Sang Kyum Kim*

College of Pharmacy and RCTCP, Chungnam National University, Daejeon

¹College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju

²College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan

³College of Pharmacy, Pusan National University, Busan

ABSTRACT

Hepatic antioxidant defense systems were examined in rats treated with tetrabromobisphenol-A (TBBPA), a brominated flame retardant, at the doses of 0, 250, 500 and 1,000 mg/kg for four weeks. Hepatic ratio of glutathione disulfide to glutathione (GSH) and levels of malondialdehyde, oxidative stress markers were not changed in rats treated with TBBPA. Hepatic expression of antioxidant enzymes including GSH peroxidase-1 (GPX-1)/GSH reductase (GR), alpha-, mu- and pi-class glutathione-S-transferase (GST) and gamma-glutamylcysteine ligase catalytic subunit was determined using immunoblot analysis. Alpha-class GSTs, GPX-1 and GR levels were significantly decreased in rats treated with TBBPA at the dose of 500 or 1,000 mg/kg. These results show that TBBPA results in down-regulation of hepatic expression of antioxidant enzymes related with GSH, suggesting the liver in TBBPA-treated rats may be more sensitive to oxidants.

Key words : tetrabromobisphenol-A, antioxidant defense system, oxidative stress, liver

서 론

브롬화 난연제 (brominated flame retardants)는 컴

퓨터, TV와 같은 가전제품, 건축용 자재, 실내장식
재 등 플라스틱이나 섬유를 원료로 한 각종 가연
성 제품에 첨가되고 있으며, 저렴한 가격과 높은
난연 효과로 전 세계 난연제 시장의 약 40% 정도
를 차지하고 있다. PBBs (polybrominated biphenyls),
PBDEs (polybrominated diphenyl ethers), TBBPA

※ To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-42-821-5930, Fax: +82-42-823-6566
E-mail: sangkim@cnu.ac.kr

(tetrabromobisphenol-A) 등의 세 종류가 대표적인 브롬화 난연제로 사용되었으나 PBBs는 이미 1970년대부터 발암성과 간독성이 확인되어 사용이 중지되었다. 최근 보고들에 의하면 PBDEs의 경우에도 간독성과 생식이상을 일으킴이 밝혀졌으며, 생물축적성이 있다는 이유로 잠재적인 POPs (persistent organic pollutants)로 주목받고 있다 (Kemmler *et al.*, 2003).

유럽연합은 2004년 8월 15일부터 PBDEs 중에서 penta-BDE, octa-BDE 2종에 대해 사용 및 판매금지를 시켰고, 국내의 경우에도 환경표지제도로 간접규제를 시행하고 있다. 따라서, 현재 안전하게 이용될 수 있는 브롬화 난연제로는 TBBPA를 들 수 있다. 국내에서 TBBPA는 가전제품, 조리기구, 건축재료 및 내염성 플라스틱 소재에 활용되며, 연간 수요량이 2003년 기준으로 30,000톤이나 된다. 전체 브롬화난연제 수요량이 46,000톤임에 비추어 국내 브롬화 난연제의 65% 정도가 TBBPA임을 알 수 있다. 북유럽인을 대상으로 하는 임상시험에서 인간의 혈액이나 모유에서 TBBPA가 검출됨이 보고되었으며 (Thomsen *et al.*, 2002a, b), 그 잠재적 위해성 때문에 International Programme on Chemical Safety와 World Health Organization에서는 TBBPA의 독성연구를 수행한 바 있다. 그 결과, 혈액독성, 행동독성, 발암원성 등의 기초 연구에서는 TBBPA가 무해한 것으로 보고되었으나 최근 일련의 연구 결과들은 TBBPA의 잠재적 간, 신장 및 면역독성의 가능성을 제시하고 있다 (Canesi *et al.*, 2005). 따라서, TBBPA의 주요장기에 대한 독성영향 평가 및 작용기전 규명은 환경독성학 측면에서 상당히 큰 의미가 있음을 알 수 있다. 특히, 화학물질에 의한 독성 발현에 중요한 인자인 항산화방어체계와 TBBPA 독성과 관련한 연구는 매우 미흡하다.

항산화방어체계 (antioxidant defense system)는 저분자의 항산화물질과 항산화효소로 구성되며 산화성물질을 무독화시킨다. 저분자의 항산화물질로는 glutathione (GSH)를 비롯하여 vitamin C와 E, bilirubin, hypotaurine 등이 있으며 항산화효소계는 superoxide dismutase, GSH peroxidase-1 (GPX-1)/GSH reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST), catalase 등으로 구성된다. 특히, GSH와 GSH를 기질로 이용하는 GPX/GR, GST 등은 항산화방어체계의 핵심을 구성한다 (Kim and Novak, 2007). 또한 GSH

합성의 속도결정단계를 촉매하는 gamma-glutamylcysteine ligase의 catalytic subunit (GCLC)은 산화적 손상에 의해 유도되며 GSH의 항상성을 유지하는 효소이다 (Kim *et al.*, 2004).

본 연구에서는 대표적인 브롬화 난연제인 TBBPA를 모델 화합물로 이용하여 TBBPA가 표적 장기인 간에서 항산화방어체계에 미치는 영향을 평가하였다. 이를 위하여 랫드에 4주간 TBBPA를 반복 투여하고 간을 절취한 후 간에서 GSH를 매개로한 항산화효소의 발현변화를 immunoblot analysis를 통하여 평가하였으며 또한 산화적 스트레스의 지표로 GSH disulfide (GSSG)/GSH의 비율과 malondialdehyde (MDA)의 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

특정병원체 부재의 Sprague-Dawley계 랫드를 사용한다. 입수된 동물은 무작위로 폴리카보네이트 cage에 분리 수용하여 최소한 1주 이상의 순화과정을 거쳐 사용하였다. 동물실의 사육환경은 실내온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 40~60%를 유지하고 150~300 Lux의 조도로 12시간씩 명암을 조절하였다.

2. 시 약

TBBPA, GSH, NADPH, GR, Tris-HCl, thiobarbituric acid, O-phthalaldehyde와 기타 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)에서 구입하였다. Immunoblot analysis를 위한 항체 중 GCLC, GR, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 그리고 GPX-1의 항체는 Lab frontier (Seoul, Korea)에서 구입하였다. GST alpha, mu와 pi class 항체는 Detroit R & D (Detroit, MI)에서 구입하였다.

3. 동물 투여 및 처리

Sprague-Dawley계 랫드(암, 수)를 구입하여 교배시킨 후 그 차산자에서 생후 18일부터 28일간 1회 반복 투여한 후 동물을 부검한다. 기존의 연구 보고에 의해 TBBPA의 NOEL 값이 250 mg/kg/day로 평가되었다 (Darnerud, 2003). 따라서 NOEL 값을 저용량군으로 설정하였으며, 중용량군은 500

mg/kg/day, 고용량군은 1,000 mg/kg/day로 투여하였다. 랫드를 diethyl ether로 마취시키고 복강을 절개하여 적출된 간에 3배 용량의 homogenizing buffer (1 mM의 EDTA와 50 mM의 Tris-HCl을 포함하는 0.154 M KCl 용액, pH 7.4)를 가하여 분쇄한 후 4°C, 10,000 g에서 high speed centrifuge (Model J2,-MC, Beckman Instruments Inc., California, USA)로 20분간 원심분리하고 상등액을 취하였다. 상등액을 4°C, 104,000 g에서 1시간 동안 ultracentrifuge (Model L80, Beckman Instruments Inc., California, USA)로 초원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액을 cytosol sample로 이용하며, cytosol sample은 실험시까지 -70°C 이하로 유지되는 deep freezer (Model ULT-1490, Revco., Asheville, NC)에 보관하였다. 단백질의 농도는 BCATM Protein Assay Kit를 통해 측정하였다.

4. GSH와 MDA 측정

GSH와 MDA를 정량하기 위해 약 1g의 간을 각각 ice-cold 1 M perchloric acid 또는 1.15% KCl 용액에서 분쇄하였다. Total GSH와 GSSG의 함량은 GSH reductase를 이용한 enzyme recycling 방법을 사용하였다. Eppendorf tubes에 0.3 mM NADPH 용액 0.7 mL, 6 mM 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) 용액 0.1 mL, 검체 또는 GSH 표준액 0.2 mL을 가하여 잘 섞은 후 상온에서 4분간 방치하였다. 반응액에 12 units/mL 농도의 GSH reductase를 가하고 잘 섞은 후 412 nm에서 약 2분간 흡광도의 변화를 측정하여 linear한 1분간의 기울기 변화를 구하고 검량선으로부터 GSH의 농도를 계산하였다. MDA는 thiobarbituric acid로 유도체화하고 형광검출기와 C18 컬럼을 장착한 HPLC를 사용하여 분리 및 정량하였다(Kim *et al.*, 2005).

5. Immunoblot analysis

항산화효소의 immunoblot analysis를 위해, 간의 cytosol (loading 시 20 µg의 protein) 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 nitrocellulose membrane에 transfer하여 0.05% Tween 20를 포함한 phosphate buffered saline (PBST)에 5% milk powder를 희석하여 blocking하였다. Immunodetection을 위해 1차 항체로서 anti-

GST alpha (1 : 80,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석), anti-GST mu (1 : 60,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석), anti-GST pi (1 : 1,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석), anti-GCLC (1 : 9,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석), anti-GR (1 : 2,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석), anti-GPX-1 (1 : 2,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석) 그리고 anti-GAPDH (1 : 1,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석)로 반응시켰다. 반응 후 PBST로 washing한 뒤 2차 항체로서 horseradish peroxidase (1 : 10,000, 5% milk를 녹인 PBST로 희석)를 실온에서 2시간 동안 반응시키고 ECL 용액으로 발광시켰다. 분석은 chemiluminescence를 이용한 “ChemiDoc XRS” digital imaging system으로 detection하였으며 densitometry를 이용한 Quantity One Software (Bio-Rad Laboratories)으로 정량하였다.

6. 통계처리

실험군 사이의 통계적 차이는 analysis of variance (ANOVA) 후 Dunnett's test로 검사하였다. 모든 실험결과는 평균±표준편차로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. TBBPA가 투여된 랫드에서 산화적 손상 지표의 변화

TBBPA가 처리된 랫드의 간에서 GSH, GSSG, GSSG/GSH와 DMA의 함량을 측정하였다 (Table 1). GSH는 양적으로 가장 풍부한 non-protein thiol로 간세포에서 mM 농도로 존재한다. GSH는 친전자성물질과 비효소적으로 반응하여 무독화시킬 뿐만 아니라 GST와 GPX의 기질로서 효소적으로 친전자성물질과 활성산소종을 제거한다 (Lu, 2009). 특히, 간의 GSH는 혈중 GSH의 공급원으로 기능하여 신장 등 다른 장기에 혈액을 통해 GSH를 공급한다 (Lu, 2009). GPX의 기질로 사용되어 산화된 GSH인 GSSG는 GR에 의해 환원되어 GSH로 재생되거나 세포의 축적을 막기 위해 혈액 또는 담즙으로 배설된다 (Lu, 2009). 산화적 손상은 GSH의 소모를 증가시키고 GSSG 생성의 증가를 유발한다. 따라서 GSSG/GSH는 산화적 손상의 지표로 사용

Table 1. Hepatic total GSH, GSSG, GSSG/GSH and MDA levels in rats treated with TBBPA

| | Control | TBBPA (250 mg/kg) | TBBPA (500 mg/kg) | TBBPA (1,000 mg/kg) |
|---------------------------------------|-----------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| Total GSH ($\mu\text{mol/g liver}$) | 3.4 \pm 0.7 | 4.2 \pm 0.4 | 6.5 \pm 0.6** | 4.1 \pm 0.9 |
| GSSG (nmol/g liver) | 45 \pm 10 | 54 \pm 18 | 59 \pm 5 | 42 \pm 10 |
| GSSG/GSH (%) | 1.38 \pm 0.17 | 1.30 \pm 0.36 | 0.93 \pm 0.02 | 1.06 \pm 0.07 |
| MDA (nmol/g liver) | 39.5 \pm 4.9 | 37.4 \pm 3.4 | 38.4 \pm 4.6 | 35.3 \pm 2.4 |

Rats were treated with TBBPA at the doses of 0, 250, 500 or 1,000 mg/kg for four weeks. Data are mean \pm SD for three rats. **significantly different from the animals treated with vehicle only at $p < 0.01$ (ANOVA followed by Dunnett's multiple range test)

되고 있다. 본 실험에서 GSH의 함량은 500 mg/kg 용량의 TBBPA에 의해 대조군에 비해 약 191%로 증가하였다(Table 1). 반면 GSSG의 농도는 동일 용량의 TBBPA에 의해 대조군 대비 약 131%로 증가하였으나 유의성은 관찰되지 않았다. GSSG/GSH의 비율은 대조군에서 1.38 \pm 0.17%였으며 TBBPA의 처리에 의해 유의적인 변화를 보이지 않았다. 지질의 과산화는 산화적 손상과정에서 흔히 발생하며 반응생성물로 MDA, 4-hydroxynonenal, organic peroxides 등이 생성된다. 이들 물질은 강한 반응성을 가지며 자발적으로 다른 물질과 반응하여 소거된다. 따라서 지질과산화의 생성물은 산화적 손상의 지표로서 광범위하여 사용되거나 산화적 스트레스에 정량적으로 반응하지 못할 가능성이 있다. 특히 thiobarbituric acid와 반응시켜 spectrophotometer를 이용하여 MDA를 측정하는 방법은 aldehydes 등을 비롯한 다른 물질의 간섭으로 인해 정확성에 문제가 있다(Volpi and Tarugi, 1998). 본 연구에서는 MDA와 thiobarbituric acid의 반응 생성물을 C18 컬럼이 장착된 HPLC로 분리하고 형광검출기로 정량함으로써 간섭을 최소화하였다. 실험결과 TBBPA의 처리는 간에서 MDA의 농도에 변화를 유발하지 않았다. 본 실험결과는 산화적 손상의 지표인 GSSG/GSH 그리고 MDA의 농도가 4주가 반복투여된 TBBPA에 의해 영향을 받지 않으며 따라서 산화적 손상은 TBBPA에 의해 발생하지 않았음을 시사한다.

2. TBBPA가 투여된 랫드에서 항산화 효소의 발현 변화

TBBPA를 처리한 랫드 간의 cytosol에서 항산화 효소의 발현변화를 관찰하였다(Figs. 1, 2). Immuno-

blot analysis에서 단백질의 loading control로 사용한 GAPDH는 TBBPA의 처리에 영향을 받지 않았다(Fig. 1A). GSTs는 주로 간 조직에 발현하며 친전자성물질과 GSH의 포함반응을 매개할 뿐만 아니라 과산화수소, organic peroxide에 대한 selenium-independent peroxidase 활성을 가지는 항산화 효소이다(Sun *et al.*, 1996; Ketterer, 1998; Townsend and Tew, 2003; Casalino *et al.*, 2007). 특히, alpha-class GST와 mu-class GST는 간에서 발현하는 대표적인 GST로 간에서 발현하며 항산화 활성의 중요한 역할을 담당한다. Cytosol에 존재하는 GSTs는 homo- 또는 heterodimeric 효소로 존재하며 간에서 alpha-class GSTA1, A2, 그리고 A3 subunit 그리고 mu-class GSTM1과 M2가 주로 발현한다(Mannervik *et al.*, 1985). 본 실험에서 TBBPA 투여는 mu class GST의 발현에 변화를 유발하지 못 하였다(Fig. 1B). 반면 alpha-class인 GSTA1/2와 GST3/5의 발현은 500 mg/kg 용량으로 처리된 TBBPA에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 1C, 1D). 태자의 간과 간암에서 발현하는 pi-class GST는 본 실험에서 검출한계 이하였으며 TBBPA 처리에 의해서도 검출되지 않았다(data not shown). 이 결과는 TBBPA가 GST isoform에 선택적으로 발현변화를 유발함을 시사한다. 또한 간의 주요 GST는 alpha class GST의 감소는 TBBPA가 친전자성물질의 포함반응 및 peroxides의 무독화능력을 저하시킬 가능성을 시사한다.

Gamma-glutamate-cysteine ligase (GCLC)는 GSH 신생합성의 속도결정단계를 촉매하는 효소로 활성을 가지는 heavy subunit, 즉 GCLC와 조절기능을 가지는 light subunit으로 구성된다(Lu, 1999; Serviddio *et al.*, 2004). GCLC의 발현은 산화적 손상에 의해 유도되며 이 현상은 산화적 스트레스에 적응하

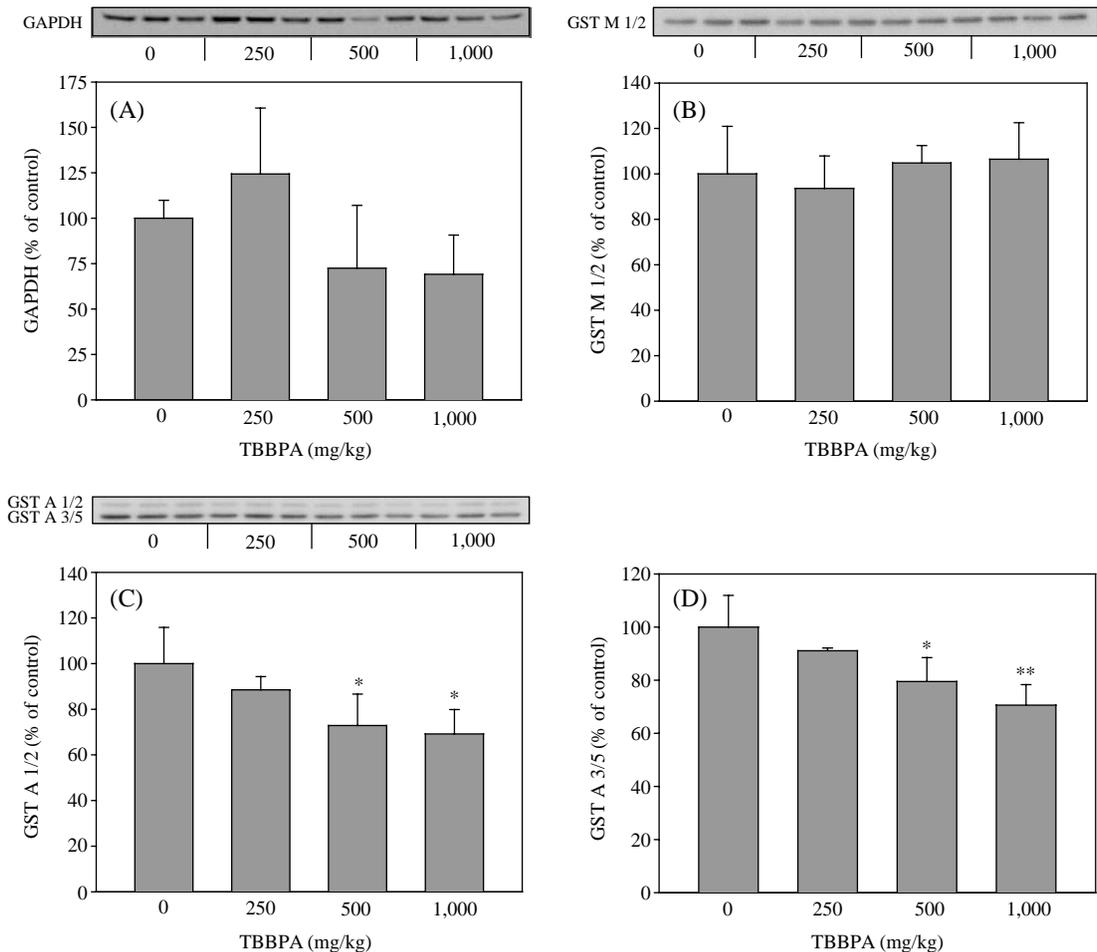


Fig. 1. Hepatic expression of GAPDH, GST mu and GST alpha in rats treated with TBBPA. Rats were treated with TBBPA at the doses of 0, 250, 500 or 1,000 mg/kg for four weeks. Expression levels are expressed as percentage of control rats treated with vehicle only. Data are mean \pm SD for three rats. *,**significantly different from the animals treated with vehicle only at $p < 0.05$ or $p < 0.01$, respectively (ANOVA followed by Dunnett's multiple range test).

기 위한 중요한 과정이다. 산화적 스트레스에 의한 GCLC의 발현증가는 NF-E2-related factor2, AP-1 등의 전사인자에 기인한다(Kim *et al.*, 2008). 본 연구에서 GCLC의 발현은 TBBPA의 영향을 받지 않았다(Fig. 2A). 따라서 TBBPA에 의한 GSH 상승은 신생합성을 매개하는 GCLC의 변화로 설명할 수 없다.

GPX/GR은 과산화수소 등 peroxide의 무독화를 매개하는 핵심효소로 peroxide를 환원시키는 과정에서 생성된 GSSG는 NADPH로부터 환원력을 제공받는 GR에 의해 다시 GSH로 환원된다. 따라서

GPX와 GR의 변화는 산화적 스트레스에 대한 세포의 저항성을 결정하는 중요한 요소이다(Sun *et al.*, 2009). TBBPA의 처리는 500 mg/kg 용량에서 GR의 발현을 대조군의 약 79% 수준으로 감소시켰으며 용량을 1,000 mg/kg으로 증가시킬 경우 유의적으로 GR의 발현이 감소하였다(Fig. 2B). GPX는 selenocysteine을 활성부위에 포함하고 있으며 과산화수소 외에 다양한 구조의 hydroperoxide를 무독화시킨다(Ursini *et al.*, 1995; Brigelius-Flohe, 1999). 현재까지 4가지 isoform이 발견되었으며 그 중에서 GPX-1은 세포 내에 널리 분포하고 과산화수소

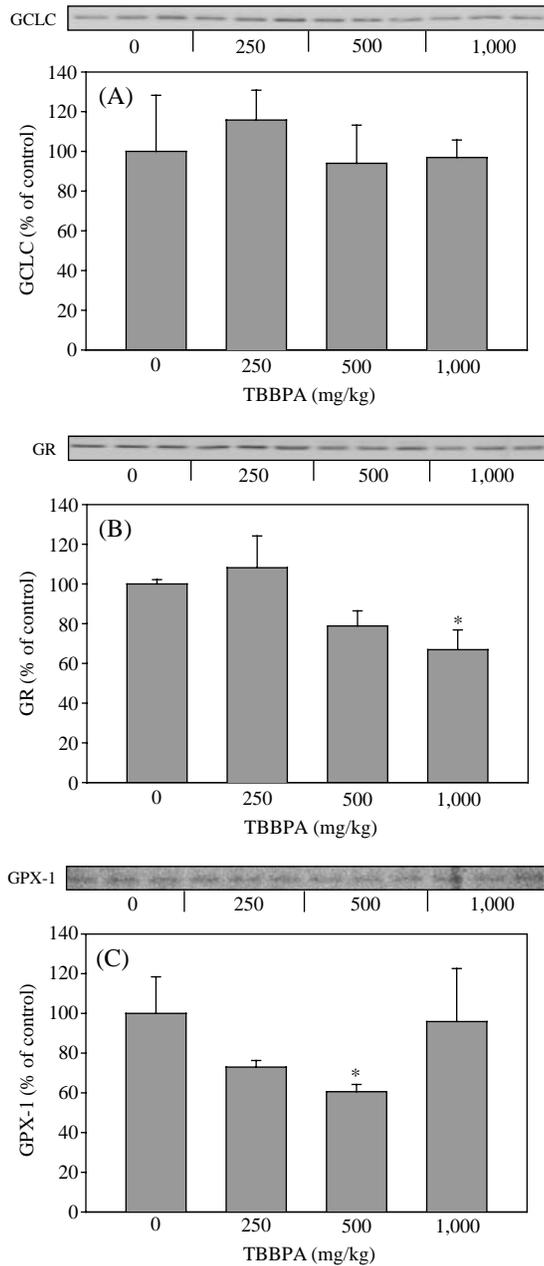


Fig. 2. Hepatic expression of GCLC, GR and GPX-1 in rats treated with TBBPA. Rats were treated with TBBPA at the doses of 0, 250, 500 or 1,000 mg/kg for four weeks. Expression levels are expressed as percentage of control rats treated with vehicle only. Data are mean \pm SD for three rats. *significantly different from the animals treated with vehicle only at $p < 0.05$ (ANOVA followed by Dunnett's multiple range test).

를 매우 효과적으로 제거하여 반응성이 강한 산화성물질인 hydroxyl radical 등의 생성을 억제한다. 또한 동맥 경화를 예방하는 중요한 항산화 효소로 보고되었다(Takebe *et al.*, 2002). TBBPA의 처리는 500 mg/kg 용량에서 유의적으로 GPX-1의 발현을 감소시켰다(Fig. 2C). 이 결과에서 TBBPA의 처리가 GPX/GR을 통한 peroxide의 무독화능력을 감소 시킴을 시사한다.

결론

TBBPA는 독성으로 사용이 금지되었거나 규제를 받고 있는 PBBs, PBDEs와 달리 상대적으로 독성이 낮은 것으로 보고되고 있다. 그러나 최근 일련의 연구결과들은 TBBPA의 잠재적 간, 신장 및 면역독성을 제시하고 있다. 본 연구에서는 브롬화 난연제(brominated flame retardants)로 광범위하게 TBBPA를 반복적으로 4주간 처리한 랫드의 간에서 항산화방어체계의 변화를 관찰하였다. 실험결과 4주간의 반복처리는 간에서 MDA, GSSG/GSH의 비율을 증가시키지 않았으며 반면 total GSH의 농도는 500 mg/kg 용량에서 유의적으로 증가하였다. GSH의 합성과 대사에 관여하는 효소의 발현변화를 평가한 결과 GST 중에서 alpha class GST, GR/GPX-1의 발현이 유의적으로 감소하였다. 이 결과는 TBBPA의 처리가 일부 항산화 효소의 발현을 감소시켜 결과적으로 산화성물질에 대한 간세포의 반응성을 증가시킬 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 식품의약품안전청 독성물질 국가관리과제의 지원으로 이루어진 것임.

참고 문헌

- Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidase, *Free Radical Biol Med* 1999; 27: 951-965.
- Canesi L, Lorusso LC, Ciacci C, Betti M and Gallo G. Effects of the brominated flame retardant tetrabromobis-

- phenol-A (TBBPA) on cell signaling and function of *Mytilus* hemocytes: Involvement of MAP kinases and protein kinase C, *Aquat Toxicol* 2005; 75: 277-287.
- Casalino E, Calzaretti G, Landriscina M, Sblano C, Fabiano A and Landriscina C. The Nrf2 transcription factor contributes to the induction of alpha-class GST isoenzymes in liver of acute cadmium or manganese intoxicated rats: comparison with the toxic effect on NAD(P)H: quinone reductase, *Toxicology* 2007; 237: 24-34.
- Darnerud PO. Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife, *Environ Int* 2003; 29: 841-853.
- Kemmler S, Herzke D and Law RJ. BFR-governmental testing programme, *Environ Int* 2003; 29: 781-792.
- Ketterer B. Glutathione S-transferases and prevention of cellular free radical damage, *Free Radic Res* 1998; 28: 647-658.
- Kim SK and Novak RF. The role of intracellular signaling in insulin-mediated regulation of drug metabolizing enzyme gene and protein expression, *Pharmacol Ther* 2007; 113: 88-120.
- Kim SK, Woodcroft KJ, Khodadadeh SS and Novak RF. Insulin signaling regulates gamma-glutamylcysteine ligase catalytic subunit expression in primary cultured rat hepatocytes, *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 99-108.
- Kim SK, Woodcroft KJ, Oh SJ, Abdelmegeed MA and Novak RF. Role of mechanical and redox stress in activation of mitogen-activated protein kinases in primary cultured rat hepatocytes, *Biochem Pharmacol* 2005; 70: 1785-1795.
- Kim SK, Yang JW, Kim MR, Roh SH, Kim HG, Lee KY, Jeong HG and Kang KW. Increased expression of Nrf2/ARE-dependent anti-oxidant proteins in tamoxifen-resistant breast cancer cells, *Free Radic Biol Med* 2008; 45: 537-546.
- Lu SC. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies, *FASEB J* 1999; 13: 1169-1183.
- Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, Jensson HM, Tahir K, Warholm M and Jornvall H. Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties, *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7202-7206.
- Sun Q, Komura S, Ohishi N and Yagi K. Alpha-class isozymes of glutathione S-transferase in rat liver cytosol possess glutathione peroxidase activity toward phospholipid hydroperoxide, *Biochem Mol Biol Int* 1996; 39: 343-352.
- Sun W, Kalen AL, Smith BJ, Cullen JJ and Oberley LW. Enhancing the antitumor activity of adriamycin and ionizing radiation, *Cancer Res* 2009; 69: 4294-4300.
- Takebe G, Yarimizu J, Saito Y, Hayashi T, Nakamura H, Yodoi J, Nagasawa S and Takahashi K. Comparative study on the hydroperoxide and thiol specificity of the glutathione peroxidase family and selenoprotein P, *J Biol Chem* 2002; 277: 41254-41258.
- Thomsen C, Lundanes E and Becher G. Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: A study on temporal trends and the role of age, *Environ Sci Technol* 2002a; 36: 1414-1418.
- Thomson C, Leknes H, Lundanes E and Becher G. A new method for determination of halogenated flame retardants in human milk using solid-phase extraction, *J Anal Toxicol* 2002b; 26: 129-137.
- Townsend DM and Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance, *Oncogene* 2003; 22: 7369-7375.
- Serviddio G, Romano AD, Gesualdo L, Tamborra R, Palma AM, Rollo T, Altomare E and Vendemiale G. Ursodeoxycholic acid protects against secondary biliary cirrhosis by preventing mitochondrial oxidative stress, *Hepatology* 2004; 39: 711-720.
- Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohe R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D and Flohe L. Diversity of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol* 1995; 252: 38-53.