

Glutathione S-transferase (GST) 유전자 다형성에 따른 우리나라 젊은 성인의 항산화 상태, DNA 손상 및 지질 양상*

조혜련 · 이혜진 · 강명희[§]

한남대학교 대덕밸리캠퍼스 생명나노과학대학 식품영양학과

Antioxidative Status, DNA Damage and Lipid Profiles in Korean Young Adults by Glutathione S-Transferase Polymorphisms*

Jo, Hye-Ryun · Lee, Hye-Jin · Kang, Myung-Hee[§]

Department of Food & Nutrition, Daedeok Valley Campus, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

ABSTRACT

Oxidative stress leads to the induction of cellular oxidative damage, which may cause adverse modifications of DNA, proteins, and lipids. The production of reactive species during oxidative stress contributes to the pathogenesis of many diseases. Antioxidant defenses can neutralize reactive oxygen species and protect against oxidative damage. The aim of this study was to assess the antioxidant status and the degree of DNA damage in Korean young adults using glutathione s-transferase (GST) polymorphisms. The GSTM1 and GSTT1 genotypes were characterized in 245 healthy young adults by smoking status, and their oxidative DNA damage in lymphocytes and antioxidant status were assessed by GST genotype. General characteristics were investigated by simple questionnaire. From the blood of the subjects, GST genotypes; degree of DNA damage in lymphocytes; the erythrocyte activities of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase; plasma concentrations of total peroxyl radical-trapping potential (TRAP), vitamin C, α - and γ -tocopherol, α - and β -carotene and cryptoxanthin, as well as plasma lipid profiles, conjugated diene (CD), GOT, and GPT were analyzed. Of the 245 subjects studied, 23.2% were GSTM1 wild genotypes and 33.4% were GSTT1 wild genotype. No difference in erythrocyte activities of superoxide dismutase, catalase, or glutathione peroxidase, and the plasma TRAP level, CD, GOT, and GPT levels were observed between smokers and non-smokers categorized by GSTM1 or GSTT1 genotype. Plasma levels of α - and γ -tocopherol increased significantly in smokers with the GSTT1 wild genotype ($p < 0.05$); however, plasma level of α -carotene decreased significantly in non-smokers with the GSTM1 wild genotype ($p < 0.05$). DNA damage assessed by the Comet assay was significantly higher in non-smokers with the GSTM1 null genotype; whereas DNA damage was significantly lower in non-smokers with the GSTT1 null genotype. Total cholesterol and LDL cholesterol levels were significantly higher in non-smokers with the GSTT1 null genotype than those with the GSTT1 wild genotype ($p < 0.05$). In conclusion, the GSTM1 null genotype or the GSTT1 wild genotype in non-smokers aggravated their antioxidant status through DNA damage of lymphocytes; however, the GSTT1 wild type in non-smokers had normal plasma total cholesterol and LDL-cholesterol levels. This finding confirms that GST polymorphisms could be an important determinant of antioxidant status and plasma lipid profiles in non-smoking young adults. Further study is necessary to clarify the antioxidant status and/or lipid profiles of smokers with the GST polymorphism and to conduct a study with significantly more subjects. (Korean J Nutr 2011; 44(1): 16 ~ 28)

KEY WORDS: oxidative stress, GST polymorphisms, antioxidative status, DNA damage, lipid profiles.

서 론

인간 변이 (inter-individual variation)가 크게 나타나는 것은 각 개인의 DNA 회복능에 대한 차이 뿐 아니라 발암물질의 체내 대사의 개인 차이로 설명할 수 있다.¹⁾ 최근 흡연 외부 발암물질이나 산화 스트레스에 대한 신체 반응에 개

접수일: 2011년 1월 3일 / 수정일: 2011년 2월 7일 / 채택일: 2011년 2월 9일

*This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2009-0069893).

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: mhkang@hnu.kr

자가 폐암으로 진단될 확률은 흡연량과 개인의 유전적 배경에 달려 있다는 지적과 함께 대상자의 유전자 다형성에 따라 발암물질의 활성화 및 제거 정도가 달라짐이 보고되고 있다.²⁾ 본 실험실에서 흡연자와 비흡연자의 입과구 산화적 DNA 손상정도를 조사한 선행 연구결과에서도 평균 DNA 손상 수치는 비흡연자에 비해 흡연자에서 더 높았으나 각 개인의 자료 분포를 보면 흡연자에서 DNA 손상도가 오히려 낮거나 비흡연자에서 더 높은 경우가 있는 것을 볼 수 있었다.³⁾ 마찬가지로 포도주스를 8주 간 투여한 선행 영양중재 연구에서 투여 전후의 입과구 DNA 손상정도를 관찰해 본 결과, 평균값으로는 투여 전에 비해 투여 후에 낮아졌으나 각 개인 수치로는 투여 후에 변화가 없거나 오히려 높아진 대상자가 있는 것도 관찰할 수 있었다.⁴⁾

이와 같은 개인 간 변이는 흡연을 비롯한 산화 스트레스 유발물질이나 혹은 포도주스 등 항산화 식품 등에 대한 각 개인의 유전적 민감도 (individual genetic susceptibility)가 다르기 때문일 것이다. 즉 외부에서 유입되는 유해 환경물질에 대한 활성화 및 해독에 관여하는 효소, 또는 산화 스트레스를 유발하거나 억제하는 효소의 유전자 다형성 (genetic polymorphisms)이 존재하기 때문이다.⁵⁾ 따라서 같은 대상자라 할지라도 각 개인의 유전적인 다형성에 따라 DNA 손상 정도가 다르게 나타날 수 있으므로 대상자의 유전독성 효과의 개인 차이를 더 잘 이해하기 위해서는 유전자 다형성을 고려할 필요가 있음이 제기되고 있다.⁶⁾ 특히 인체의 항산화 영양상태 및 DNA 손상 정도, 그리고 DNA 손상 감소를 위한 영양중재효과를 정확하게 해석하기 위해서는 먼저 대상자의 유전자 다형성에 대한 분석이 된 후에 그 유전적 감수성에 따라 해석을 해야 할 필요가 있다.

외부 유해 물질에 대해 해독 작용을 하는 phase II 해독효소의 대표적인 효소로 glutathione S-transferase (GST)를 들 수 있다. 이 효소는 여러 종류의 발암 물질에 glutathione을 결합시켜 독성 물질을 해독시키는 역할을 하는데 특히 흡연할 때 발생하는 발암물질인 polycyclic aromatic hydrocarbon을 해독시키는 작용을 한다.⁷⁾ 그 동안 GST polymorphisms로는 GSTM1 (μ class), GSTT1 (π class), GSTP1 (θ class) 등이 알려져 왔으며 이 중에서 특히 흡연, DNA 손상 및 항산화 관련하여서는 GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성이 영향을 준다.⁸⁾

GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성 중 null genotype은 각각의 효소들이 결손된 형태로서 GST-null genotype을 가진 개인은 활성화된 발암물질을 제거해 주는 능력이 낮음으로 인해 암의 위험률이 높아진다.⁹⁾ Ye와 Song⁹⁾은 30개의 case-control 연구를 meta analysis해서 분석한 결과,

GSTM1과 GSTT1 null genotype에서 급성 lymphoblastic leukemia 위험이 유의적으로 증가함을 관찰하였다. 특히 GSTM1 및 GSTT1 null genotype을 가진 사람이 흡연을 하는 경우 건강에 더 해로움이 보고되었다. 흡연자에 있어 GSTM1 효소의 결손은 담배로 인한 발암물질의 해독작용에 결손을 가져오게 되어 폐암의 위험을 증가시키며,¹⁰⁾ GSTM1과 GSTT1 null genotype을 가진 흡연자들은 같은 null genotype을 가진 비흡연자에 비해 관상동맥질환 (CAD) 위험도가 높았을 뿐 아니라 DNA 손상정도도 높았다.¹¹⁾ GSTM1 null genotype을 가진 젊은 성인에게서는 흡연으로 인해 발생하는 두경부 편평세포암종의 발생 위험이 유의적으로 증가하였다.¹²⁾

이와 같은 선행연구들은 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따라 흡연 등 외부의 산화 스트레스에 반응하는 신체 내 항산화 방어체계가 민감하게 영향을 받을 가능성을 시사해 주고 있다. 개인의 GSTM1 genotype은 세포 내 손상된 DNA의 회복 능력에 영향을 미칠 수 있음이 보고되었으며,^{13,14)} 유전적으로 phase I 효소활성이 높고, GST를 포함한 phase II 효소활성이 낮은 사람은 DNA 손상이 높고, 반대로 phase I 효소활성이 낮고 phase II 효소활성이 높은 사람은 DNA 손상이 낮음이 관찰되었다.¹⁴⁾ GSTM1 null genotype을 가진 대상자들이 GSTM1 wild genotype을 가진 대상자들에 비해 흡연에 의한 DNA 손상¹⁵⁾ 및 DNA adduct 수준¹⁶⁾이 유의적으로 높았다.

GST genotype은 인종에 따른 차이가 있으며 질병에 대한 상대위험도도 인종에 따라 달라지는 것이 보고되었다. Haase 등¹⁷⁾은 최근 인종별 GSTM1 유전자 다형성 연구결과 유럽인, 일본인, 백인의 경우 GSTM1 null genotype이 50% 정도를 차지하는데 비해 Afro-Americans의 경우는 1/4 정도인 반면, GSTT1 null genotype은 주로 아시아인에게서 흔히 나타나며 유럽인이나 다른 인종에서는 잘 나타나지 않음을 보고하였다. Zintazras¹⁸⁾은 9개의 백인, 동아시아, 인도인을 대상으로 한 case-control 연구들을 meta 분석한 결과, GSTT1 null genotype은 chronic myeloid leukemia (CML) 위험을 유의적으로 높였으며 이 상관성은 인종간의 차이를 보여 인도인에서는 유의적이었으나 동아시아인에게는 나타나지 않음을 관찰하였다. 이런 선행연구들을 살펴볼 때 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따른 항산화 상태나 DNA 손상정도도 인종에 따라 달라질 것으로 예상된다.

현재까지 우리나라 사람을 대상으로 수행된 GST 유전자 다형성 관련 연구들을 보면, GSTM1 null genotype을 가진 사람에게서 방광암의 위험률이 증가하였으며,¹⁹⁾ 위암과 GSTM1과 GATT1 polymorphism 사이에 연관성은 없었으

나 GSTM1 null genotype 환자의 예후가 좋지 않음이 보고되었다.²⁰⁾ 그러나 이 연구들은 모두 암 환자 및 심장병 환자를 대상으로 질병의 위험과 유전자 다형성의 관련성에 관한 연구이며, GST 유전자 다형성에 따른 우리나라 건강한 성인의 항산화 상태와 DNA 손상 그리고 지질 양상을 본 연구는 거의 보고된 바 없다. 또 우리나라 연구로 흡연자와 비흡연자의 DNA 손상정도를 비교하여 흡연자의 DNA 손상이 감소됨을 관찰하여 보고한 연구³⁾가 있으며, GST 유전자 다형성 관련하여서는 최근에 우리나라 건강한 성인을 대상으로 하여 GST 유전자 다형성에 따른 항산화 상태에 관한 연구²¹⁾가 한 편 있을 뿐이다.

따라서 본 연구는 건강하고 젊은 성인 집단을 대상으로 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성을 조사하여 각 유형별 빈도를 구한 후 이 유전적 감수성에 따라 신체 항산화 영양상태, DNA 손상 정도 및 지질양상이 달라지는지를 분석하여 앞으로 개인 맞춤형 항산화 영양상태 개선 연구의 기초자료로 삼고자 하는 목적으로 시도되었다.

연구 방법

연구대상자 선정 및 채혈

본 연구는 20~30세의 대전 소재 H대학교에 재학 중인 대학생 및 대학원생 245명을 대상으로 수행되었다. 대상자로부터 본인의 동의를 얻어 채혈하였고, 채혈 전 최소 8시간 이상은 음식물을 먹지 않도록 지도하였다. 채혈한 혈액은 10 mL heparinated sterile tube (Vacutainer Becton Dickinson Co.)에 담아 실험실에 가져온 후, glutathione s-transferase 유전자 다형성 분석을 위해서 전혈 500 µL를 취해 -80°C 냉동고에 보관하였다. Comet 분석용 전혈은 100 µL heparinated sterile tube에 별도로 담고, 나머지는 1,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층의 platelet-rich plasma (PRP)를 취하여 ascorbic acid 측정용 시료로 삼았다. 분리하고 남은 혈장은 다시 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 혈장과 혈구를 분리한 후 상층의 platelet-deficient plasma (PDP)는 항산화 비타민과 TRAP (Total radical-

trapping antioxidant potential)분석을 위해 -80°C 냉동고에 보관하였다. 적혈구는 iso-osmotic phosphate buffered saline (pH 7.4)을 첨가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리를 세 번 반복한 뒤 buffer와 1 : 1로 희석하여 erythrocyte suspension으로 만들었다. 비타민 C 분석용 혈장을 제외한 혈장과 적혈구는 분석 항목별로 분주하여 분석 전까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

일반사항 조사

설문지를 통해 연구대상자의 성별, 나이, 흡연여부, 흡연량, 흡연력, 금연기간, 알코올 섭취 여부, 알코올의 종류와 섭취량 등의 일반사항을 조사하였다. 채혈 전에 혈압계를 사용하여 대상자의 수축기 및 이완기 혈압을 측정하였고, 신장계로 신장을 측정한 후 Inbody 520 (Bio-electrical Impedance Fatness Analyzer, (주)바이오스페이스)을 이용하여 체중, body mass index (BMI), waist-hip ratio (WHR)를 조사하였다.

Glutathione s-transferase 유전자 다형성 분석

Glutathione s-transferase (GST) M1은 Bell 등²²⁾의 방법을, GSTT1은 Pemble 등²³⁾의 방법을 수정하여 수행하였다. 냉동 보관하여 두었던 전혈 500 µL를 취하여 DNA Genomic Blood Mini kit을 사용하여 DNA를 추출하였다. Internal standard로 β-globin을 사용하여 유전자 확인을 위한 multiple PCR을 시행하였다. PCR 과정을 위한 primer는 (주)바이오니아에서 제작한 primer를 사용하였으며 염기서열은 Table 1과 같다.

GSTM1과 GSTT1 유전자 분석을 위해서 0.1 µg genomic DNA를 각각의 10 nmol primers, 5 mM dNTP, 0.5 Unit Taq polymerase (Takara rTaq), 200 mM Tris-HCl (pH 8.3), 500 mM KCl과 30 mM MgCl₂를 20 µL의 PCR 혼합액에 첨가하여 94°C에서 7분 처리 후 94°C에서 30초, 65°C에서 30초, 72°C에서 30초의 조건으로 30회 반복한 후 72°C에서 5분간 반응시켰다. 증폭된 PCR product는 ethidium bromide (0.1 µg/mL)를 포함한 1% agarose gel에서 전기영동 하여 UV 하에서 확인하였다.

Table 1. Primer sequences used in the PCR reactions

Primer	Sequeunce (5' ----- 3')
GSTT1-forw.	ttc ctt act ggf cct cac atc tc
GSTT1-rev.	tca ccg gat cat ggc cag ca
GSTM1-forw.	gaa ctc cct gaa aag cta aag c
GSTM1-rev.	gtt ggg ctc aaa tat acg gtg a
β-globin-forw.	caa ctt cat cca cgt tca cc
β-globin-rev.	gaa gag cca agg aca ggt ac



적혈구 항산화 효소 활성 측정

적혈구 Catalase는 과산화수소가 물과 산소로 분해되는 반응을 촉매하며 반응속도는 과산화수소 농도와 비례하므로 과산화수소의 감소량을 측정함으로써 효소활성도를 측정할 수 있다. 과산화수소의 농도가 너무 높으면 (0.1 M 이상) catalase에 의한 반응이 억제되므로 약 0.01 M의 적은 농도를 사용해야 하며, 반응이 잘 이루어지게 하기 위해서는 반응 시작 후 늦어도 30초 후에는 과산화수소 절반을 분해할 수 있도록 효소의 농도를 결정해야 한다. 대상자들의 적혈구 catalase의 분석은 전보²⁴⁾에서와 같이 UV/VIS spectrophotometer (shimadzu UV-1601)에 의해 수행되었다. 용혈된 적혈구에 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)와 hydrogen peroxide를 첨가한 후 hydrogen peroxide의 감소량을 240 nm, 20°C에서 30초간 측정하였다.

Superoxide dismutase (SOD)는 pyrogallol (1, 2, 3-trihydroxybenzol)의 자동산화 반응을 억제하는 SOD의 양을 측정하는데 기초를 두고 있다. Pyrogallol은 수용액 내에서 황색의 색소를 형성하며 빠르게 자동 산화하는데 그 색소의 농도를 분광광도계로 측정하게 된다. 적혈구 SOD 활성도를 측정하기 위해 적혈구 현탁액을 증류수로 용혈시킨 후 ethanol과 chloroform을 가하고 이를 3,000 U/min에서 2분간 원심 분리하였다. 그 상층액을 여러 농도로 나누어 37°C에서 10분간 배양 후 20 µL의 pyrogallol (1,2,3-Trihydroxybenzol)를 첨가하여 그 농도를 UV/VIS spectrophotometer로 320 nm에서 180초간 측정하였다.²⁴⁾ 적혈구 내 SOD의 활성은 pyrogallol의 자동산화를 50% 억제하는 항산화능으로 정의하였다.

Glutathione peroxidase (GSH-Px)는 과산화물 (T-butylhydroperoxide)에 의해 glutathione이 산화되는 반응을 촉매 한다. 이때 산화된 glutathione은 glutathione reductase와 NADPH의 존재 하에 다시 glutathione으로 환원되고 NADPH는 NADP로 산화된다. 이를 이용해 용혈시킨 적혈구에 glutathione, glutathione reductase, NADPH를 첨가한 후 37°C에서 10분간 배양한 후에 T-butylhydroperoxide를 넣어 반응시켰으며 이때 감소된 NADPH의 농도를 UV/VIS spectrophotometer로 340 nm에서 90초 동안 측정함으로써 GSH-Px의 항산화 정도를 측정하였다.²⁴⁾

혈장 항산화 비타민 분석

대상자들의 혈장 ascorbic acid는 전보²⁴⁾에서와 같이 2, 4-dinitrophenylhydrazine method에 의해 UV/VIS spectrophotometer로 분석하였다. 혈장을 metaphosphoric acid로 처리하여 단백질을 침전시키고 ascorbic acid를 안정화시켰

다. Ascorbic acid는 copper-sulfate로 처리하면 dehydroascorbic acid로 산화된 뒤 diketogluconic acid로 가수분해된다. 이를 2, 4-dinitrophenylhydrazine으로 처리하면 안정한 적갈색물의 osazone이 형성되는데 이것을 UV/VIS spectrophotometer로 520 nm에서 측정하여 혈장 ascorbic acid의 농도를 분석하였다.

대상자들의 혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol, 및 carotenoids (α -carotene, β -carotene, and cryptoxanthin) 수준은 전보²⁴⁾에서와 같이 ethanol로 단백질을 제거하고 n-hexane으로 지방을 추출한 후 rotary evaporator로 hexane을 증발시키고, mobile phase (metanol: dichloromethane = 85 : 15)에 녹여 HPLC로 측정하였다.

혈장 TRAP 수준 분석

혈장 총 유리기포집 항산화능 (Total Radical-trapping Antioxidant Potential, TRAP)은 수용성 azo 화합물 ABTS [2, 2'-azinobis (3-ethyl- benzothiazoline 6-sulfonate)] radical이 열에 의해 분해되면 일정한 비율로 peroxy radical을 생성한다는 이점을 이용한 방법으로써⁴⁾ 혈장 내 α -tocopherol, ascorbate, urate, protein sulfhydryl groups 등의 항산화제들의 복합된 활성을 측정하여 혈장의 총 유리기 포집 항산화능을 나타내므로 시간과 노력을 절약할 수 있는 매우 유용한 방법이다. 혈장 중 TRAP 수준은 전보²⁴⁾에서와 같이 Rice-Evans와 Miller의 inhibition assay에 따라 분석하였다. 이 방법은 ABTS [2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate), 150 µM]와 metmyoglobin (2.5 µM)을 H₂O₂ (75 µM)로 활성화시킴으로써 생성된 ferryl myoglobin radical species와의 상호 작용에 의해 형성된 ABTS radical cation의 absorbance를 측정하는데 기초를 두고 있으며 그 absorbance의 억제 정도는 sample (0.84% plasma)에 들어 있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. Sample을 6분 동안 30°C에서 배양한 후 UV/VIS spectrophotometer로 740 nm의 파장에서 absorbance를 측정하였다. 혈장의 TRAP 수준은 trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, mM)로 표현하였다.

Alkaline comet assay를 이용한 임파구 DNA 손상 측정

Alkaline comet assay는 전보²⁴⁾에서와 같이 Singh (1998)의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다. 신선한 전혈 70 µL을 900 µL PBS에 섞은 후 Histopaque 1,077을 100 µL 사용해 임파구를 분리하였다. 처리 과정을 마친 임파구 20 µL를 채취하여 75 µL의 0.7% low melting agarose gel (LMA)과 섞은 후, normal melting agarose (NMA)

가 precoating 된 fully frosted slide 위로 고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장보관 하였다. Gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 µL로 한 겹 더 덮었다. Cell lysis를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris) 에 사용직전에 1% Triton X-100 와 10% Dimethyl sulfoxide를 섞은 후 slide를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지시키어 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 slide를 electrophoresis tank에 배열하고 냉장 보관하였던 전기영동 buffer (300 mM NaOH, 10 mM Na₂EDTA, pH > 13)를 채워 40분 동안 unwinding 시켜 DNA의 알칼리에 취약한 부위가 드러나게 한 후 25 V/300 ± 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 Tris 완충용액 (pH 7.4)에 10분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 slide를 건조시켰다. 20 µL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 형광 염색하여 cover glass로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica, Germany)상에서 관찰하였다. CCD camera (Nikon Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 comet image analyzing system (Kinetic image 6.0, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 임파구의 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편 거리인 tail length (TL), % DNA in tail, 그리고 TL과 % DNA in tail을 곱한 값인 tail moment (TM) 등 3가지 분석 지표로 살펴보았다.²⁴⁾ 각 대상자 당 2개의 slide를 만들어 각각 50개씩 총 100개의 임파구에서 DNA 손상 정도를 측정하였다.

혈장 내 지질수준 및 지질과산화

혈장 지질 성분인 총콜레스테롤 (TC, total cholesterol), HDL-콜레스테롤 (HDL-C) 및 중성지방 (TG, triglyceride) 수준은 (주)인화제약의 kit 시약을 이용하여 분석하였다. 각각의 효소 용액 1 mL에 혈장 0.01 mL을 잘 혼합하여 37°C의 항온수조에 5분간 반응시킨 후 Photometric Autoanalyzer로 흡광도를 측정하였다. LDL-콜레스테롤 (LDL-C)은 전보³⁾에서와 같이 Friedewald식을 이용하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{LDL-C (mg/dL)} = \text{TC} - (\text{HDL-C} + \text{TG}/5)$$

LDL의 산화정도는 전보²⁵⁾에서와 같이 혈장 conjugated diene (CD) 수준으로 측정하였다. CD 형성은 지질의 과산화 현상으로 생기는 첫 물질로서 혈장 (1 mg/mL EDTA)을 trisodium citrate buffer (pH 5.05, 5N HCl, 5,000 IU/L heparin)를 사용하여 LDL을 침전시키고 Na-phosphate

buffer (pH 7.4, 0.9% NaCl)로 녹인 후 chloroform: methanol (2 : 1)로 3 mL을 첨가하고 증류수를 1 mL 넣은 후 지용성 부분만 취하여 rotary evaporator로 증발시키고 cyclohexane 1 mL로 녹인 후 234 nm에서 UV/VIS spectrophotometer로 분석하였다.

혈장 GOT, GPT 분석

혈장 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase)와 GPT (glutamic pyruvic transaminase)수준은 (주)인화제약의 kit 시약을 이용하여 분석하였다. 효소 용액 1 mL에 혈장 0.1 mL을 잘 혼합하여 37°C의 항온수조에 3분간 반응시킨 후 Photometric Autoanalyzer로 흡광도를 측정하였다.

자료의 처리

모든 자료의 처리는 MS사의 Excel database system을 이용하여 입력한 후 statistical package for social science (SPSS-PC⁺, version 18.0)을 이용하여 처리하였다. 유전자형의 빈도차이에 대한 유의성 검정은 chi-square test (χ^2 -test)를 사용하여 검증하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 ± 표준오차 (SE)를 구하였고 두 군 간의 평균치의 유의성은 Student's t-test로 검증하였다. 모든 결과에 대하여 통계적 유의성 검증은 $\alpha = 0.05$ 수준으로 하였다.

결 과

연구 대상자들의 일반사항

연구 대상자의 일반사항은 Table 2와 같다. 대상자 245명 중 남성은 93명으로 평균나이는 20.9 ± 0.3세였고, 여성은 152명으로 20.4 ± 0.1세였다. 대상자 중 흡연자는 48명 (남성 흡연자 43명, 여성 흡연자 5명)으로 남자 흡연자의 비율이 더 많았다. 남성 흡연자는 하루 평균 12.4 ± 1.0 개피의 담배를 피우고 평균 4.7 ± 0.4년 동안 흡연을 하였고, 여성 흡연자는 하루 평균 4.5 ± 0.5 개피의 담배를 피우고 평균 1.0 ± 0.0년 동안 흡연을 하였다. 흡연량과 흡연횟수를 감안하여 1년에 한 갑 (20개피)을 피우는 것을 기준으로 계산한 흡연력 (pack years)²⁴⁾은 남성 흡연자는 3.0 ± 0.3년이었고 여성 흡연자는 0.2 ± 0.02년이었다. 대상자들 중 남성의 음주 비율은 91.4%이었고, 여성의 음주 비율은 85.5%이었다. 음주자들의 음주량은 1/2 ounce (14 g)의 100% alcohol을 기준으로 환산한 국제단위 1 drink (1 drink = 소주로 1잔 혹은 맥주로 2홉)를 사용하여 drink/day로 계산한 후, g/week로 환산해 본 결과, 남성은 285.1 ± 44.9 g/week, 여성은 114.5 ± 18.6 g/week이었다. 대상자들의 운동습관을 살펴보면,

Table 2. General characteristics of the subjects

Variables	Men (n = 93)	Women (n = 152)
Age, yrs (range)	20.9 ± 0.3 ¹⁾ (18–30)	20.4 ± 0.1 (18–29)
Smoker, n (%)	43 (46.2%)	5 (3.2%)
Height, cm	174.9 ± 0.5	161.0 ± 0.4
Body weight, kg	71.3 ± 1.2	55.3 ± 0.6
BMI, kg/m ³	23.3 ± 0.3	21.3 ± 0.2
Waist-hip ratio	0.83 ± 0.00	0.80 ± 0.00
SBP, ²⁾ mmHg	126.9 ± 1.1	115.2 ± 0.9
DBP, ³⁾ mmHg	82.8 ± 0.7	75.3 ± 0.6
Smoking habits		
Cigarettes/day	12.4 ± 1.0	4.5 ± 0.5
Smoking years	4.7 ± 0.4	1.0 ± 0.0
Pack-years ⁴⁾	3.0 ± 0.3	0.2 ± 0.0
Drinking habits		
Drinkers, n (%)	85 (91.4%)	130 (85.5%)
Alcohol consumption, g/week	285.1 ± 44.9	114.5 ± 18.6
Exercise habits		
Regular exercisers, n (%)	70 (75.3%)	59 (38.8%)
Exercise time, min/day	32.6 ± 3.2	22.1 ± 2.6

1) All values are Means ± SE 2) SBP: systolic blood pressure 3) DBP: diastolic blood pressure 4) Pack-years: (Cigarettes smoked/day × years smoked)/20

Table 3. Frequency of GSTM1 and GSTT1 genotypes of the subjects

Variables	Number of subjects (%) (n = 245)
GSTM1	
Null	188 (76.8%)
Wild	57 (23.2%)
GSTT1	
Null	163 (66.5%)
Wild	82 (33.5%)
GSTM1 and GSTT1 combined	
Both null	127 (51.8%)
Null/wild	97 (39.6%)
Both wild	21 (8.6%)

규칙적으로 운동을 하는 사람이 남성은 75.3%, 여성은 38.8%로 남성이 규칙적으로 운동하는 사람의 비율이 더 많았다. 운동을 하는 사람들의 평균 운동량은 남성과 여성이 각각 32.6 ± 3.2 min/day, 22.1 ± 2.6 min/day였다.

GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성 빈도 분석 및 흡연의 영향

전체 대상자들 중 GSTM1 null genotype은 76.8%, GSTT1 null genotype은 66.5%이었으며, GSTT1과 GSTM1 genotype을 둘 다 가진 대상자 (both wild)는 21명 (8.6%), 둘 중에 하나만 가지고 있는 사람 (null/wild)은 97명 (39.6%), 둘 다 없는 사람 (both null)은 127명 (51.8%)이었다 (Table 3).

Table 4. Frequency of GSTM1 and GSTT1 genotypes of subjects depending on smoking status, N (%)

Variables	Smokers (n = 48)	Non-smokers (n = 197)	p-value ¹⁾
GSTM1			
Null	38 (79.2%)	150 (76.1%)	0.657 ^{NS2)}
Wild	10 (20.8%)	47 (23.9%)	
GSTT1			
Null	26 (54.2%)	137 (69.5%)	0.043 ^{*3)}
Wild	22 (45.8%)	60 (30.5%)	

1) P-value by χ^2 -test 2) Not significant 3) *: p < 0.05

전체 대상자를 흡연자와 비흡연자로 나눈 후에, GSTM1 과 GSTT1 유전자 보유 여부에 따라 null type과 wild type 으로 나누어 그 빈도를 본 결과는 Table 4와 같다. 흡연자는 GSTM1 null type이 79.2%, wild type이 20.8%이었고, 비흡연자는 GSTM1 null type이 76.1%, wild type이 23.9%로 흡연여부에 따라 GSTM1 genotype 빈도에 차이를 보이지 않았다. GSTT1 genotype의 경우, 흡연자는 GSTT1 null type이 54.2%, wild type이 45.8%이었고, 비흡연자는 GSTT1 null type이 69.5%, wild type이 30.5%로 흡연자에 비해 비흡연자에게서 GSTT1 null type의 빈도가 높았다 (p < 0.05).

GST 유전자 다형성에 따른 적혈구 항산화 효소활성 분석

항산화 효소 활성정도를 적혈구 catalase (EC 1.11.1.6),

superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), glutathione peroxidase (GSH-Px, EC 1.11.1.9)로 나누어 살펴본 결과는 Tabel 5와 같다. 흡연자의 GSTM1 genotype 간의 catalase 활성도 비교 결과, genotype에 따른 차이가 없었고, GSTT1 또한 genotype에 따른 차이가 없었다. SOD와 GSH-Px 활성도도 GSTM1 및 GSTT1 모두 genotype에 따른 차이가 나타나지 않았다. 비흡연자에서도 마찬가지로 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따른 적혈구 항산화 효소 활성도의 차이가 없었다.

GST 유전자 다형성에 따른 혈장 항산화 비타민 및 혈장 총항산화능 (TRAP) 수준 분석

흡연자에서 GSTM1과 GSTT1 genotype 모두 wild type 의 혈장 비타민 C 수준이 null type에 비해 높은 경향을 보

였으나 통계적으로 유의적인 차이는 아니었다 (Table 6). 지용성 항산화 비타민의 경우 흡연자의 GSTM1 genotype에 서는 혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol, α -carotene, β -carotene 및 cryptozanthin 수준 모두 wild type에서 null type에 비해 높은 경향을 보였으나 역시 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그러나 흡연자의 GSTT1 genotype의 경우는 혈장 α -tocopherol과 γ -tocopherol 수준이 wild type에서 null type에 비해 유의적으로 높았으며 ($p < 0.05$), 나머지 지용성 항산화 비타민 수준은 wild type에서 높은 경향만 보였을 뿐 통계적으로 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

비흡연자의 경우는 혈장 α -carotene 수준이 GSTM1 null genotype에서 wild genotype에 비해 유의적으로 높은 수준을 보인 것 ($p < 0.05$)을 제외하고는 GSTM1 및 GSTT1

Table 5. Activities of erythrocyte catalase, SOD and GSH-Px according to the GSTM1 and GSTT1 genotypes in smokers and non-smokers

Variables	GSTM1			GSTT1		
	Null	Wild	p-value ¹⁾	Null	Wild	p-value
Smokers						
Catalase (k/g Hb)	40.1 ± 1.5 ²⁾	42.7 ± 1.6	NS ³⁾	39.3 ± 1.8	42.4 ± 1.7	NS
SOD (U/g Hb)	2197 ± 47	2193 ± 111	NS	2189 ± 58	2206 ± 67	NS
GSH-Px (U/g Hb)	30.5 ± 1.4	32.8 ± 3.0	NS	31.2 ± 1.9	30.8 ± 1.7	NS
Non-smokers						
Catalase (k/g Hb)	41.4 ± 0.5	41.8 ± 0.9	NS	41.5 ± 0.5	41.5 ± 0.8	NS
SOD (U/g Hb)	2272 ± 24	2286 ± 43	NS	2259 ± 24	2312 ± 42	NS
GSH-Px (U/g Hb)	35.6 ± 0.9	33.8 ± 1.7	NS	35.0 ± 1.0	35.5 ± 1.5	NS

1) P-value by Student t-test 2) All values are Mean ± SE 3) Not significant

Table 6. Plasma antioxidative vitamins and TRAP levels according to GST genotypes in smokers and non-smokers

Variables	GSTM1			GSTT1		
	Null	Wild	p-value ¹⁾	Null	Wild	p-value
Smokers						
Vitamin C (mg/dL)	1.27 ± 0.07 ²⁾	1.35 ± 0.12	NS ³⁾	1.25 ± 0.08	1.33 ± 0.08	NS
α -tocopherol (μ g/dL)	997 ± 95	1363 ± 261	NS	886 ± 122	1290 ± 135	0.031
γ -tocopherol (μ g/dL)	111 ± 10.8	121 ± 22.3	NS	92.6 ± 10.4	136 ± 15.7	0.024
α -carotene (μ g/dL)	3.75 ± 0.59	3.93 ± 0.74	NS	3.54 ± 0.42	4.07 ± 0.95	NS
β -carotene (μ g/dL)	7.78 ± 0.92	9.27 ± 1.79	NS	7.91 ± 0.93	8.27 ± 1.42	NS
Cryptozanthin (μ g/dL)	20.5 ± 1.5	21.4 ± 3.1	NS	20.4 ± 1.6	21.0 ± 2.3	NS
TRAP ⁴⁾ (mM)	1.52 ± 0.01	1.54 ± 0.02	NS	1.53 ± 0.01	1.52 ± 0.01	NS
Non-smokers						
Vitamin C (mg/dL)	1.38 ± 0.03	1.49 ± 0.08	NS	1.40 ± 0.04	1.40 ± 0.05	NS
α -tocopherol (μ g/dL)	1196 ± 48	1104 ± 102	NS	1178 ± 54	1167 ± 76	NS
γ -tocopherol (μ g/dL)	134 ± 6.4	110 ± 10.2	NS	131 ± 7.0	120 ± 8.2	NS
α -carotene (μ g/dL)	4.45 ± 0.26	3.53 ± 0.37	0.045*	4.30 ± 0.26	4.14 ± 0.41	NS
β -carotene (μ g/dL)	14.3 ± 1.0	11.7 ± 1.3	NS	13.5 ± 0.8	14.3 ± 2.0	NS
Cryptozanthin (μ g/dL)	24.4 ± 1.0	21.7 ± 1.2	NS	23.7 ± 1.0	23.9 ± 1.4	NS
TRAP (mM)	1.53 ± 0.01	1.55 ± 0.01	NS	1.52 ± 0.01	1.53 ± 0.01	NS

1) P-value by Student t-test 2) All values are Mean ± SE 3) Not significant 4) TRAP: total radical-trapping antioxidant potential *: $p < 0.05$

genotype에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았다. GST 유전자 다형성에 따른 혈장 총항산화능 (Total radical-trapping antioxidant potential, TRAP) 수준은 흡연자와 비흡연자 모두 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따른 차이가 나타나지 않았다 (Table 6).

GST 유전자 다형성에 따른 DNA 손상 정도

Comet assay를 통해 대상자의 DNA 손상 정도를 DNA in tail, tail length (TL) 및 tail moment (TM)로 살펴본 결과, 흡연자의 경우는 GSTM1 및 GSTT1 모두 null type과 wild type 간에 임파구 DNA 손상정도의 차이는 볼 수 없었다 (Table 7). 이에 비해 비흡연자의 경우는 GSTM1 wild type에 비해 null type에서 DNA in tail (%)로 본 DNA 손상 정도가 유의적으로 높았다. 그러나 GSTT1 genotype의 경우는 DNA in tail (%)과 tail moment로 본 DNA 손상 정도가 null type에 비해 wild type에서 오히려 유의적으로 높았다.

GST 유전자 다형성에 따른 혈장 지질 수준 및 LDL 산화정도의 비교

연구 대상자들의 혈장 지질 상태를 알아보기 위해 total cholesterol (TC), LDL-C, HDL-C, triglyceride (TG) 농도를 측정하였다. 흡연자의 경우, GSTM1, GSTT1 genotype에 따른 혈장 TC, LDL-C, HDL-C 및 TG 수준에 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Table 8). 이에 비해 비흡연자의 경우, GSTM1 genotype에 따른 각 지질의 농도는 차이가 없었으나, GSTT1 wild type에서 TC 및 LDL-C 농도가 null type에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$). 혈장에서 LDL의 산화정도를 측정하는 conjugated diene 수준은 흡연자와 비흡연자 모두 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따른 차이를 볼 수 없었다.

GST 유전자 다형성에 따른 혈장 GOT, GPT 수준

GOT, GPT는 간질환의 진단에 이용되는 지표로서 혈중

Table 7. Levels of lymphocyte DNA damage according to the GSTM1 and GSTT1 genotypes in smokers and non-smokers

Variables	GSTM1			GSTT1		
	Null	Wild	p-value ¹⁾	Null	Wild	p-value
Smokers						
DNA in tail (%)	22.5 ± 0.9 ²⁾	21.8 ± 1.4	NS ³⁾	22.4 ± 1.0	22.3 ± 1.1	NS
Tail length (µm)	25.8 ± 0.8	26.2 ± 1.6	NS	26.1 ± 1.0	25.6 ± 1.0	NS
Tail moment	6.2 ± 0.4	6.0 ± 0.8	NS	6.4 ± 0.5	5.8 ± 0.4	NS
Non-smokers						
DNA in tail (%)	21.9 ± 0.4	20.0 ± 0.6	0.007**	20.8 ± 0.3	23.0 ± 0.6	0.005**
Tail length (µm)	26.0 ± 0.5	25.7 ± 0.7	NS	25.4 ± 0.5	27.0 ± 0.6	NS
Tail moment	6.1 ± 0.2	5.6 ± 0.3	NS	5.5 ± 0.2	6.8 ± 0.3	0.000***

1) p-value by Student t-test 2) All values are Mean ± SE 3) Not significant
 : p < 0.01, *: p < 0.001

Table 8. Plasma lipid profiles and conjugated diene according to genotypes in smokers and non-smokers

Variables	GSTM1			GSTT1		
	Null	Wild	p-value ¹⁾	Null	Wild	p-value
Smokers						
Total cholesterol (mg/dl)	152.0 ± 4.8 ²⁾	172.0 ± 10.1	NS ³⁾	157.7 ± 5.6	154.1 ± 7.2	NS
LDL-C (mg/dl)	93.3 ± 4.9	103.7 ± 10.6	NS	96.5 ± 4.9	94.1 ± 7.8	NS
HDL-C (mg/dl)	41.8 ± 1.4	46.3 ± 2.4	NS	41.2 ± 1.4	44.3 ± 2.0	NS
Triglyceride (mg/dl)	95.9 ± 4.7	98.4 ± 5.7	NS	95.5 ± 5.5	97.5 ± 5.6	NS
CD (µmol/L)	48.7 ± 2.3	51.9 ± 3.0	NS	50.4 ± 2.9	48.3 ± 2.5	NS
Non-smokers						
Total cholesterol (mg/dl)	162.2 ± 2.7	170.3 ± 4.2	NS	167.5 ± 2.8	156.3 ± 4.1	0.026*
LDL-C (mg/dl)	97.4 ± 2.6	104.9 ± 3.6	NS	102.1 ± 2.6	92.2 ± 4.1	0.037*
HDL-C (mg/dl)	46.4 ± 0.8	44.9 ± 1.1	NS	46.4 ± 0.7	45.2 ± 1.2	NS
Triglyceride (mg/dl)	95.8 ± 2.1	91.9 ± 3.8	NS	94.9 ± 2.3	94.8 ± 3.3	NS
CD ⁴⁾ (µmol/L)	49.3 ± 1.2	52.8 ± 2.1	NS	50.2 ± 1.2	49.8 ± 2.0	NS

1) p-value by Student t-test 2) All values are Mean ± SE. 3) Not significant 4) CD: conjugated diene
 *: p < 0.05

Table 9. Levels of GOT, GPT according to genotypes in smokers and non-smokers

Variables	GSTM1			GSTT1		
	Null	Wild	p-value ¹⁾	Null	Wild	p-value
Smokers						
GOT (U/L)	39.1 ± 2.3 ²⁾	46.6 ± 5.0	NS ³⁾	39.6 ± 2.7	42.2 ± 3.5	NS
GPT (U/L)	34.7 ± 3.1	37.1 ± 5.3	NS	35.6 ± 3.8	34.8 ± 3.9	NS
Non-smokers						
GOT (U/L)	33.6 ± 0.9	33.6 ± 1.8	NS	33.5 ± 1.0	33.8 ± 1.5	NS
GPT (U/L)	26.0 ± 1.0	25.9 ± 1.7	NS	26.0 ± 1.1	26.0 ± 1.5	NS

1) p-value by Student t-test 2) All values are Mean ± SE 3) Not significant

GOT, GPT의 상승은 이들이 분포하고 있는 장기의 세포 변성 및 괴사를 반영하여 흡연군에서 이들 지표가 높다고 보고된 바 있다.²⁶⁾ 지질대사의 항산화성을 조절하는 주요기관인 간의 기능을 보고자 하여 대상자의 혈장 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase)와 GPT (glutamic pyruvic transaminase) 농도를 살펴보았다. 흡연자와 비흡연자 모두에서 GSTM1, GSTT1 유전자 보유 여부에 따른 GOT, GPT 수준의 차이는 없었다 (Table 9).

고 찰

최근 인종에 따른 GST 유전자 다형성에 관한 연구 결과, GSTT1 null genotype은 아시아인에게서 50~60%, 유럽인이나 미국인에게서는 10~20% 나타나며, GSTM1 null genotype은 유럽인, 일본인, 백인의 50~60% 정도를 차지하고 있으나 인도, 미국 흑인은 25%로 인종마다 차이를 보이는 것으로 나타났다.¹⁷⁾

우리나라 사람을 대상으로 GST 유전자 다형성에 대한 빈도를 조사한 결과가 수편 보고되었다. 1,051명의 성인남자를 대상으로 GSTM1 및 GSTT1 genotype을 조사한 결과 대상자의 53.8%가 GSTM1 null genotype을 가지고 있었고 54.3%가 GSTT1 null genotype 이었다.²⁷⁾ 이 연구에서 GSTM1 null genotype의 빈도는 한국인을 대상으로 한 다른 연구들^{28,29)}이나 일본인³⁰⁾ 혹은 서양인³¹⁾을 대상으로 한 연구와 유사한 것이었으나 GSTT1 null genotype의 경우는 우리나라 사람과 일본사람은 유사하였지만 서양인보다는 높았다고 보고하였다. 본 연구에서는 대상자의 GSTM1과 GSTT1 null genotype의 빈도가 76.8%와 66.5%를 보였고, GSTM1과 GSTT1 모두 null type인 대상자 빈도는 51.8%로써 앞의 선행연구들보다는 다소 높았는데 (Table 3), 이는 연구 대상자가 젊은 대학생들인데다가 연구대상자 수가 많지 않았기 때문인 것으로 생각된다. 본 연구 대상자 중 여성의 분포가 높았으나 여성과 남성의 유전자 다형성에 차이

는 보이지 않았으므로 (자료 미제시) 성별이 영향을 미친 것으로는 생각되지 않는다.

우리나라 흡연자 49명을 대상으로 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성을 본 결과 GSTM1 null genotype은 8.9%, GSTT1 null genotype은 59.2%를 보여 흡연자에 있어서 GSTM1 null type의 빈도수가 매우 낮음이 보고되었으나,³²⁾ 이 연구의 대상자 수가 통계적 의미를 가지기에는 너무 적었다. 최근 건강한 우리나라 성인을 대상으로 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성을 본 결과 GSTM1 null genotype은 59.4%, GSTT1 null genotype은 42.6%를 보였다는 보고²¹⁾가 있으나 이 연구에서는 흡연에 따른 GST 유전자 다형성 분포를 나누지 않았으므로 본 연구와는 비교가 어려웠다. 그 외에 우리나라에서 질병을 가진 환자들을 대상으로 GSTM1 및 T1 유전자 다형성 빈도에 관한 연구들이 수편 보고되고 있다.³³⁻³⁵⁾

SOD (superoxide dismutase)와 GSH-Px (glutathione peroxidase) 활성은 산화적 손상에 대항하는 생물분자들의 일차적인 방어선이며 이 효소들은 유기체가 스트레스 환경에 처했을 때 활성화 된다.³⁶⁾ 본 연구에서 흡연자와 비흡연자 모두에서 null type과 wild type 간에 적혈구 효소 활성의 차이를 볼 수 없었다. 이러한 결과는 155명의 중년 남성을 대상으로 GST 유전자 다형성에 따라 항산화 영양상태 등을 살펴 본 결과, null type과 wild type 간에 적혈구 효소 활성에 차이가 없었다는 결과와 같은 것이다.³⁷⁾ 또한 흡연 남성을 대상으로 GST 유전자 다형성과 항산화 효소 활성과의 관계를 살펴 본 결과 유전자 보유 여부에 따른 유의적 차이가 없음도 보고되었다.³²⁾ 그러나 Sahar 등³⁸⁾은 GSTM1과 GSTT1이 모두 wild type일 경우에 모두 null type이거나 null/wild type에 비해 적혈구 glutathione s-transferase 활성이 높았다고 보고하였다. 이와 같이 연구자마다 항산화 효소 활성도가 차이를 보이는 이유 중 하나로 항산화 효소와 항산화 영양소 모두를 포함한 생체 내 항산화 체계는 homeostatic control을 받고 있다는 것을 들 수 있다. 생체가 산화스

트레스를 많이 받을 때 이를 극복하기 위해 항산화 효소가 많이 사용되므로 효소활성도가 낮아지기도 하지만, 경우에 따라 산화스트레스를 완화시키기 위한 homeostatic control의 일환으로 항산화 효소가 더 활성화 될 수도 있을 것이다. 따라서 항산화 효소활성도는 생체 내 항산화 상태를 나타내는 적합한 지표라고 보기 어렵다.³⁹⁾

개인의 항산화 영양 상태는 여러 가지 요인들에 의하여 영향을 받는데, 식이 또는 보충제를 통한 항산화 영양소 섭취량, 지용성인 경우 흡수량에 영향을 미치는 식이 지방 섭취량, 과량의 다불포화지방산 섭취, 알코올, 흡연 등을 들 수 있다.⁴⁰⁾ 본 연구에서 대상자들의 혈장 항산화 비타민 영양 상태를 볼 때 흡연자의 GSTT1 wild genotype에서 α -와 γ -tocopherol 수준이 null type보다 유의적으로 높아 GSTT1 유전자를 가지고 있는 것이 항산화 영양 상태에 유리함을 나타내 주었다. 그러나 GSTM1 genotype의 경우는 비흡연자의 α -carotene 수준이 오히려 null type에서 높음을 보여 GSTT1과는 다른 양상을 보였다. Dusinska 등³⁷⁾은 155명의 러시아 중년 남성을 대상으로 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따른 혈장 비타민 C, carotenoids 및 비타민 E 수준을 본 결과, 비타민 C 수준이 GSTM1은 null type에서, GSTT1은 wild type에서 더 높았던 것을 제외하고 나머지 지용성 비타민 수준 (α - & γ -tocopherol, α - & β -carotene, β -cryptoxanthin, lycopene, retinal, lutein)은 GSTM1 및 GSTT1 genotype에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않음을 관찰하여 본 연구에서와 부분적으로 일치하는 결과를 보고하였다. 최근 Horská 등⁴¹⁾도 혈장 비타민 C 수준은 GSTM1과 GSTT1 유전자가 모두 결손된 경우 20% 정도 감소하나 혈장 비타민 E와 carotenoids 수준은 GST 유전자 다형성에 따른 영향을 받지 않음을 보고하였다.

Comet assay를 이용하면 oxygen radical에 의한 DNA 손상을 관찰할 수 있으며,⁴²⁾ 산화 스트레스에 노출되어 있는 흡연자의 경우 DNA 손상정도가 비흡연자에 비해 유의하게 증가되어 있음이 보고되었다.⁴³⁾ 본 연구에서 흡연자의 DNA 손상정도는 GSTM1 null type과 wild type 간에, 그리고 GSTT1 null type과 wild type 간에 차이를 볼 수 없었으나 비흡연자의 경우는 GSTM1 null type의 DNA 손상정도가 wild type에 비해 유의적으로 높음을 보여 GST 유전자 보유 혹은 결손 여부와 DNA 손상과의 관련성을 확인할 수 있었다. 81명의 임산부를 대상으로 GSTM1 유전자 다형성과 DNA 손상도 [소변 8-hydroxydeoxy-guanosine, (8-OHdG) 배설 측정]와의 관계를 살펴 본 결과 GSTM1 null type에 속하는 대상자들은 소변으로 손상된 DNA의 배출이 높아 DNA 손상정도가 큰 것으로 나타났고,⁴⁴⁾ Steinberg⁴⁵⁾

는 67명의 흑색종 환자를 대상으로 GSTM1 유전자 다형성과 DNA 손상정도의 관계를 Comet assay로 살펴 본 결과 GSTM1 null type에 속하는 대상자들이 DNA 손상정도가 유의적으로 높다고 하여 본 연구결과와 일치하는 결과를 보였다. 그러나 GSTM1 wild type과 null type 간에 DNA 손상정도에 차이가 없다는 선행연구도 보고된 바 있다. Dusinska 등³⁷⁾은 155명의 남자에게서 임파구를 분리하여 GSTM, GSTT, GSTP 유전자 다형성에 따라 알아본 결과 DNA tail %로 본 DNA 손상정도는 GSTM1의 경우 wild type과 null type 간에 차이를 보이지 않았다고 하였다. GSTM1 유전자가 결손된 경우 환경오염물질이나 다양한 산화물질의 해독능력이 떨어지게 되고 이로 인해 체내 독성을 나타내는 대사물질이 원활하게 제거되지 못하고 체내에 쌓이게 되며, 산화 스트레스에 대한 방어능력이 떨어지므로 DNA 손상정도가 높아질 것으로 생각 된다.⁴⁶⁾

본 연구에서 GST 효소의 다른 형태인 GSTT1의 경우, 비흡연자에서 GSTM1과는 달리 오히려 wild type에서 DNA 손상정도가 높고 null type에서 낮게 나타나 GST 효소의 종류에 따라 DNA 손상과의 관계에 있어서 다른 양상을 보였는데 이와 같은 결과는 Dusinska 등³⁷⁾이 GSTT1 wild type에 속하는 대상자들의 H₂O₂ sensitivity로 본 DNA 손상정도 (%DNA in tail)가 null type보다 유의적으로 높았다고 보고한 것과 일치한다고 볼 수 있다. 그러나 우리나라 사람에게 있어서 GSTM1 및 GSTT1 유전자의 보유 혹은 결손 여부와 산화 스트레스에 반응하는 biomarker와의 관련성을 좀 더 명확하게 밝히기 위해서는 앞으로 더 많은 수의 대상자를 사용한 폭 넓은 연구가 수행되어야 하리라고 본다.

본 연구에서 GSTT1 wild type을 가진 비흡연자의 혈장 총콜레스테롤 (TC) 및 LDL-C 수준이 null type에 비해 유의적으로 낮아 GSTT1 wild type을 가진 사람이 건강에 유리한 결과를 보였다. Maciel 등⁴⁷⁾은 GSTT1 null type에 비해 wild type 일 경우 HDL-C 수준이 높아 건강에 유리하였다고 하였다. 본 연구에서는 GSTT1 null과 wild type 간에 HDL-C 수준엔 유의적인 차이가 없었으나 총 콜레스테롤 및 LDL-C 수준이 GSTT1 wild type에서 낮아졌으므로 GST 유전자가 결손된 경우 혈장 지질 상태에 불리하게 작용하여 심혈관계 질환의 위험도가 커질 가능성이 있을 것으로 사료된다. 그러나 본 연구 대상자는 건강한 젊은 성인이었기 때문에 혈장 지질 수준은 모두 정상 범위에 속하였으므로 이런 결과가 큰 의미를 갖기는 어렵다. 향후 질병의 위험인자를 가지고 있는 반 건강인이나 특정 질병이 있는 대상자를 대상으로 GST 유전자 다형성이 혈장 지질 수준에 미치는 영향에 대해 좀 더 자세한 연구를 수행할 필요가 있을 것으로 생각

된다.

연구 결과를 요약해 보면, 우리나라 젊은 비흡연자에서 GSTM1 유전자가 결손될 경우 DNA 손상정도가 높아져서 항산화 상태가 악화됨을 알 수 있었다. 그러나 GSTT1의 경우는 GSTM1과는 달리 오히려 wild type에서 DNA 손상이 높게 나타나 GSTT1 유전자를 가지고 있는 것이 항산화 영양 상태에 불리하게 작용하는 것으로 생각된다. 그러나 GSTT1 wild type에서 혈장 지질 수준이 향상되는 것으로 볼 때 GSTT1 유전자는 항산화 상태보다는 오히려 혈장 지질 수준을 개선시키는데 더 큰 기여를 하는 것으로 여겨진다.

본 연구의 제한점으로는 비흡연 대상자 수에 비해 흡연 대상자 수가 상대적으로 적어서 흡연상태에 따라 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성에 미치는 영향을 일관성 있게 보기 힘들었다는 점, 그리고 대상자가 젊은 대학생들이어서 흡연력이 짧았던 점 등을 들 수 있다. GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성이 흡연 상태에 따라 체내 항산화 영양 상태, DNA 손상도 및 지질 양상에 어떤 차이를 보이는지를 좀 더 정확하게 규명하기 위해서는 좀 더 많은 수의 대상자를 구하여 보다 다양하고 광범위한 연구를 수행할 필요가 있는 것으로 생각된다. 특히 흡연의 영향을 좀 더 정확하고 일관성 있게 알아보기 위해서는 흡연력이 높은 흡연자를 구하여 실험을 진행할 필요가 있을 것으로 생각된다.

본 연구결과로부터 항산화 관련 환자-대조군 연구 및 영양중재 연구 결과 시 나타나는 개인 간의 변이차이가 부분적으로 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성에 기인할 수 있다는 설명이 가능할 것이다. 또 GSTM1 null genotype 및 GSTT1 wild genotype의 DNA 손상 민감도가 크게 나타난 결과는 앞으로 항산화 식품을 보충하는 영양중재 실험을 수행할 경우 GSTM1 null genotype 및 GSTT1 wild genotype 대상자에서 항산화 영양상태의 개선을 통한 DNA 손상 보호효과가 더 유리하게 나타날 가능성을 암시해 준다. 따라서 본 연구결과는 항산화 식품을 통한 영양처방이 더 필요한 집단을 선별하는 연구 및 GSTM1 및 GSTT1 null type의 대상자를 위한 맞춤형 영양처방을 할 수 있는 연구를 위한 좋은 기초 자료로 활용될 수 있을 것이다.

요약 및 결론

본 연구는 젊은 성인 집단을 대상으로 glutathione s-transferase (GST) M1 및 T1 유전자 다형성에 따라 신체 항산화 영양 상태, DNA 손상정도 및 지질 양상이 달라지는지를 알아보기 위해 수행되었다. 이를 위하여 건강한 대학생 245명을 대상으로 설문지를 통해 대상자들의 일반 사항을

조사하였고, 혈액을 채취하여 GST genotype, DNA 손상정도, 적혈구 항산화 효소 활성, 혈장 항산화 비타민 수준, 혈장 TRAP, 혈장 지질 및 conjugated diene 수준을 측정하였다.

전체 대상자 중 GSTM1과 GSTT1 모두 wild type보다 null type이 훨씬 많았으며, 흡연여부에 따라 대상자를 나누었을 때 GSTM1 genotype의 경우, 흡연자와 비흡연자의 null/wild type 비율이 비슷하였으나, GSTT1 genotype의 경우는 흡연자와 비흡연자의 null/wild type 비율에 차이를 보여 흡연자에서 GSTT1 wild type의 비가 높았다 ($p < 0.05$). GST 유전자 다형성에 따른 적혈구 항산화 효소 활성은 흡연자와 비흡연자 모두 유의적인 차이가 없었다. GST 유전자 다형성에 따른 혈장 항산화 비타민 수준은 GSTM1 null type을 가진 비흡연자의 α -carotene 수준이 wild type에 비해 높았으며, GSTT1 wild type을 가진 흡연자의 α - 및 γ -tocopherol 수준이 null type에 비해 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). Comet assay로 본 DNA 손상 정도는 GSTM1 null type을 가진 비흡연자에서 유의적으로 높은 반면, GSTT1의 경우는 wild type에서 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 혈장 총 콜레스테롤과 LDL-C 수준은 GSTT1 wild type을 가진 비흡연자에서 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$).

연구 결과를 요약해 보면, 우리나라 젊은 비흡연자에서 GSTM1 유전자가 결손될 경우 DNA 손상정도가 높아져서 항산화 상태가 악화됨을 알 수 있었다. 이에 비해 GSTT1의 경우는 GSTM1과는 달리 오히려 wild type에서 DNA 손상이 높게 나타났는데 이로 보아 GSTT1 유전자를 가지고 있는 것이 항산화 영양 상태에 불리하게 작용할 가능성도 생각해 볼 수 있다. 그러나 GSTT1 wild type에서 혈장 지질 수준이 향상되는 것으로 볼 때 GSTT1 유전자는 항산화 상태보다는 오히려 혈장 지질 수준을 개선시키는데 더 큰 기여를 하는 것으로 여겨진다. 이런 결과로부터 한 개인의 항산화 영양 상태, DNA 손상도 및 지질 양상은 그 개인이 가진 GST 유전자 다형성에 따라 달라짐을 확인 할 수 있었으며 GSTM1 genotype은 DNA 손상에 대한 민감도가 커서 wild type의 경우 DNA 손상에 유리하게 작용하고, GSTT1 genotype은 혈장 지질 양상에 대한 유전적 민감도가 커서 wild type의 경우 혈장 지질 개선에 유리하게 작용하는 것을 확인할 수 있었다.

Literature cited

- 1) Marcon F, Andreoli C, Rossi S, Verdina A, Galati R, Crebelli R. Assessment of individual sensitivity to ionizing radiation and DNA repair efficiency in a healthy population. *Mutat Res* 2003; 541(1-2): 1-8

- 2) Rollinson S, Roddam P, Kane E, Roman E, Cartwright R, Jack A, Morgan GJ. Polymorphic variation within the glutathione S-transferase genes and risk of adult acute leukaemia. *Carcinogenesis* 2000; 21(1): 43-47
- 3) Park E, Kang MH. Smoking and high plasma triglyceride levels as risk factors for oxidative DNA damage in the Korean population. *Ann Nutr Metab* 2004; 48: 36-42
- 4) Park YK, Park E, Kim JS, Kang MH. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Korean. *Mutat Res* 2003; 529: 77-86
- 5) Sinha R, Caporaso N. Diet, genetic Susceptibility and human cancer etiology. *J Nutr* 1999; 129(2S Suppl): 556S-559S
- 6) Hoffmann H, Isner C, Högel J, Speit G. Genetic polymorphisms and the effect of cigarette smoking in the comet assay. *Mutagenesis* 2005; 20(5): 359-364
- 7) Strange RC, Fryer AA. The glutathione S-transferase: Influence of polymorphism on cancer susceptibility. *IARC Sci Publ* 1999; (148): 231-249
- 8) Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotype GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 733-743
- 9) Ye Z, Song H. Glutathione s-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and the risk of acute leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2005; 41(7): 980-989
- 10) Davies SM, Bhatia S, Ross JA, Kiffmeyer WR, Gaynon PS, Radloff GA, Robison LL, Perentesis JP. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility, and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 100(1): 67-71
- 11) Masetti S, Botto N, Manfredi S, Colombo MG, Rizza A, Vassalle C, Clerico A, Biagini A, Andreassi MG. Interactive effect of the glutathione S-transferase genes and cigarette smoking on occurrence and severity of coronary artery risk. *J Mol Med* 2003; 81(8): 488-494
- 12) Gawecki W, Kostrzewska-Poczekaj M, Gajecka M, Milecki P, Szyfter K, Szyfter W. The role of genetic factor in etiopathogenesis of squamous cell carcinoma of the head and neck in young adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264: 1459-1465
- 13) Choi SC, Yun KJ, Kim TH, Kim HJ, Park SG, Oh GJ, Chae SC, Oh GJ, Nah YH, Kim JJ, Chung HT. Prognostic potential of glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes for gastric cancer progression. *Cancer Lett* 2003; 195(2): 169-175
- 14) Bouchardy C, Benhamou S, Jourenkova N, Dayer P, Hirvonen A. Metabolic genetic polymorphisms and susceptibility to lung cancer. *Lung Cancer* 2001; 32(2): 109-112
- 15) Palma S, Cornetta T, Padua L, Cozzi R, Appolloni M, Ievoli E, Testa A. Influence of glutathione S-transferase polymorphisms on genotoxic effects induced by tobacco smoke. *Mutat Res* 2007; 633: 1-12
- 16) Ketelslegers HB, Gottschalk RW, Godschalk RW, Knaapen AM, van Schooten FJ, Vlietinck RF, Kleinjans JC, van Delft JH. Interindividual variations in DNA adduct levels assessed by analysis of multiple genetic polymorphisms in smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(4): 624-629
- 17) Haase D, Binder C, Bünger J, Fonatsch C, Streubel B, Schnitger S, Griesinger F, Westphal G, Schoch C, Knopp A, Berkovicz D, Krieger O, Wörmann B, Hilgers R, Hallier E, Schulz T. Increased risk for therapy-associated hematologic malignancies in patients with carcinoma of the breast and combined homozygous gene deletions of glutathione transferases M1 and T1. *Leuk Res* 2002; 26(3): 249-254
- 18) Zintzaras E. Glutathione S-transferase M1 and T1 genes and susceptibility to chronic myeloid leukemia: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2009; 13(6): 791-797
- 19) McGrath M, Michaud D, De Vivo I. Polymorphisms in GSTT1, GSTM1, NAT1 and NAT2 genes and bladder cancer risk in men and women. *BMC Cancer* 2006; 6: 239
- 20) Jeong JH, Kim JH, Seo YI, Kim JH, Oh GJ, Chae CS, Lim SJ, Chung TH, Kim JJ. Association between glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and increased risk for bladder cancer in Korean smokers. *Cancer Lett* 2003; 202(2): 193-199
- 21) Jeon GI, Park E. Effect of glutathione S-transferase polymorphisms on the antioxidant system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2007; 36(6): 708-719
- 22) Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL, Lucier GW. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1159-1164
- 23) Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketter B, Taylor JB. Human glutathione S-transferase theta(GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; 300(Pt 1): 271-276
- 24) Park EJ, Kim JS, Jeon EJ, Kim HY, Par YK, Kang MH. The effects of purple grape juice supplementation on improvement of antioxidant status and lymphocyte DNA damage in Korean smokers. *Korean J Nutr* 2004; 37(4): 281-290
- 25) Kim JS, Park E, Min HS, Kang MH. Relationships of plasma homocysteine concentration and oxidative stress markers in Korean collage students. *Korean J Nutr* 2010; 43(5): 443-452
- 26) Bertolotti M, Spady DK, Dietschy JM. Regulation of hepatic cholesterol metabolism in the rat in vivo. *Biochim Biophys Acta* 1955; 1255: 293-300
- 27) Cho HJ, Lee SY, Ki CS, Kim JW. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 Polymorphisms in the Korean Population. *J Korean Med Sci* 2005; 20(6): 1089-1092
- 28) Choi SC, Yun KJ, Kim TH, Kim HJ, Park SG, OH, GJ, Chae SC, Nah YH, Kim JJ, Chung HT. Prognostic potential of glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes for gastric cancer progression. *Cancer Lett* 2003; 195: 169-175
- 29) Jang SS, Jung CY, Lee SY, Lee JH, Jeon HS, Park SH, Son JW, Lee EB, Kim CH, Kam S, Park RW, Kim IS, Jung TH, Park JY. The GSTT1 genotype as a marker for susceptibility to lung cancer in Korean female never-smokers. *Tuberc Respir Dis* 2003; 54: 485-494
- 30) Naoe T, Takeyama K, Yozozawa T, Kiyoi H, Seto M, Uike N, Ino T, Utsunomiya A, Maruta A, Jin-nai I, kamata N, Kubota Y, Nakamura H, Shimazaki C, Horiike S, Kodera Y, Saito H, Ueda R, Wiemels J, Ohno R. Analysis of genetic polymorphism in NQO1, GSTM1, GSTT1, and CYP344 in 469 Japanese patients with therapy-related leukemic/myelodysplastic syndrome and de novo acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4091-4095
- 31) Chen CI, Liu Q, Relling MV. Simultaneous characterization of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms by polymerase chain reaction in American whites and blacks. *Pharmacogenetics* 1996; 6(2): 187-191
- 32) Lee SH, Park E, Park YK. Glutathione S-Transferase M1 and T1 Polymorphisms and Susceptibility to Oxidative Damage in Healthy Korean Smokers. *Ann Nutr Metab* 2010; 56(1): 52-58
- 33) Kim SJ, Kim MG, Kim KS, Song JS, Yim SV, Chung JH. Impact of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms on the smoking-related coronary artery disease. *J Korean Med Sci* 2008; 23(3): 365-372
- 34) Yim JJ, Park GY, Lee CT, Kim YW, Han SK, Shim YS, Yoo CG. Genetic susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Koreans: combined analysis of polymorphic genotypes for microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase M1 and T1. *Thorax* 2000; 55(2): 121-125

- 35) Kim JH, Moon MK, Kim SW, Shin HD, Hwang YH, Ahn CR, Jang HC, Park KS, Kim SY, Lee HK. Glutathione S-Transferase M1 Gene Polymorphism is Associated with Type 2 Diabetic Nephropathy. *J Korean Diabetes Assoc* 2005; 29(4): 315-321
- 36) Andersen HR, Nielsen JB, Nielsen F, Grandjean P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1997; 43: 562-568
- 37) Dusinska M, Ficek A, Horska A, Raslova K, Petrovska H, Vallova B, Drlickova M, Wood SG, Stupakova A, Gasparovic J, Bobek P, Nagyova A, Kovacikova Z, Blazicek P, Liegebel U, Collins AR. Glutathione S-transferase polymorphisms influence the level of oxidative DNA damage and antioxidant protection in humans. *Mutat Res* 2001; 482: 47-55
- 38) Bessa SS, Ali EM, Hamdy SM. The role of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms and oxidative stress-related parameters in Egyptian patients with essential hypertension. *Eur J Intern Med* 2009; 20(6): 625-630
- 39) Kang MH, Yun JS. The effects of exercise and other relating factors on the activity of erythrocyte antioxidant enzymes and plasma TRAP levels in male college students. *Korean J Nutr* 2002; 35(1): 30-36
- 40) Papas AM. Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids* 1996; 31: S77-S81
- 41) Horska A, Mislanova C, Bonassi S, Ceppi M, Volkovova K, Dusinska M. Vitamin C levels in blood are influenced by polymorphisms in glutathione S-transferases. *Eur J Nutr* 2010; published online 09 December
- 42) Rojas E, Valverde M, Sordo M, Ostrosky-Wegman P. DNA damage in exfoliated buccal cells of smokers assed by the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res* 1996; 370(2): 115-120
- 43) Park EJ, Kang MH. Application of the alkaline comet assay for detecting oxidative DNA damage in human monitoring. *Korean J Nutr* 2002; 35(2): 213-222
- 44) Hong YC, Lee KH, Yi CH, Ha EH, Christiani DC. Genetic susceptibility of term pregnant women to oxidative damage. *Toxicol Lett* 2002; 129: 255-262
- 45) Steinberg ML, Hubbard K, Utti C, Clas B, Hwang BJ, Hill HZ, Orlow I. Patterns of persistent DNA damage associated with sun exposure and the glutathione S-transferase M1 genotype in melanoma patients. *Photochem Photobiol* 2009; 85: 379-386
- 46) Wu X, Shi H, Jiang H, Kemp B, Hong WK, Delclos GL, Spitz MR. Associations between cytochrome P4502E1 genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis* 1997; 18(5): 967-973
- 47) Maciel SS, Pereira Ada C, Silva GJ, Rodrigues MV, Mill JG, Krieger JE. Association between glutathione S-transferase polymorphisms and triglycerides and HDL-cholesterol. *Atherosclerosis* 2009; 206(1): 204-208