韓國環境衛生學會誌
Kor. J. Env. Hlth. Soc.
Vol.16, No.1,67~74,1990

흰쥐에 四塩化炭素投與時 小腸 Xanthine Oxidase活性 變動

尹 鍾 國

啓明大學校 自然科學大學

An Effect of Carbon Tetrachloride Treatment on the Xanthine Oxidase Activity of Small Intestine in Rats

Chong Guk Yoon

Dept. of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University

Abstract

An effect of carbon tetrachloride (CCl_4) was studied on the xanthine oxidase(XOD) activity of small intestine in male rats. Concomitantly a cause of increasing small intestine XOD was focused on an effect of actinomycin D and the kinetics of partial purified XOD from small intestine in CCl_4 intoxicated rats.

An injection of CCl_4 to the rats showed an increase of small intestine XOD. In the pretreatment of actinomycin D before injection of CCl_4 to the rats, the XOD activities of small intestine were significantly decreased. In the partial purified enzyme preparation, the small intestine XOD in CCl_4 intoxicated rats showed the more increased Km and Vmax value with xanthine as substrate than that of control group.

Ⅰ. 緖 論

Xanthine oxidase(EC 1.3.2.1; XOD)는 生體內에서 主로 purine體의 分解代謝 産物인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 尿酸으로 酸化시키는데 관여하는 酵素로서 細胞內에서는 cytosol 分劃에서 그 活性

이 높다고 한다.[1] 또한 哺乳動物의 小腸, 肝및 腎臟等 여러 臟器에 널리 分布되어 있으며, 特히 小腸과 肝에 本 酵素의 活性이 他臟器에 比하여 훨씬 높은 것으로 알려져 있다.[2] 이중 小腸XOD는 食餌中 外因性 purine 體의 消化分解段階에 作用하여 尿酸의 排泄을 遂行케 하며[3,4] 肝XOD는 肝組織에서 內因性 purine 體 分解代謝에 관여하는 것으로 알려져 있다.[5,6]

한편 最近産業의 發展에 따라 必然的으로 나타나는 産業公害物質類의 一種인 xenobiotics가 人體의 健康에 심각한 影響을 미치고 있는 것은 周知의 事實이다. 이들 xenobiotics中 四鹽化 炭素(以下 CCl_4라 略함)는 他臟器에 比해 주로 肝에 作用하는 肝毒素(hepatotoxin)로서 알려져 있으며,[7,8] 이를 實驗動物에 投與하면 肝 및 血淸 XOD活性이 增加한다고 하며,[9,10] virus[11,12] 細菌等[13]의 感染으로 因한 肝損傷時에도 肝 및 血淸XOD의 活性이 增加됨이 報告되었다. 尹等[14] 및 尹[10]은 實驗動物에 CCl_4投與時에 肝 및 血淸XOD 活性 增加는 損傷된 肝세포의 核融解(karyolysis)로 因한 purine 體의 分解代謝의 促進에 수반된 基質性誘導에 依한 酵素蛋白 合成增加와 損傷된 肝細胞膜의 透過性抗進에 起因된다고 하였다. 이와 같이 肝細胞의 損傷時에 小腸XOD의 活性變動을 檢討함은 代謝에 中樞的 役割을 담당하는 肝臟과 小腸間의 有機的 生理關係를 觀察하는 一環으로서의 意義를 찾을 수 있다고 생각된다. 더우기 CCl_4의 急性中毒時에 肝細胞에서는 核融解로 因한 核酸分解에 따른 基質性 誘導에起因된 XOD活性增加를 생각할 수 있지만, 比較的 CCl_4에 依한 核融解程度까지 그 損傷이 미치지 않은 小腸組織에 있어서 XOD活性 變動觀察은 生體內에서 CCl_4 投與로 因한 XOD變動에 對한 또 하나의 原因糾明을 모색하는데 의의를 찾을 수 있다고 思料된다.

이에 本 硏究는 實驗動物에 CCl_4를 投與한 다음 小腸中 XOD活性을 肝XOD活性과 比較觀察함과 동시에 小腸XOD活性變動의 機轉糾明의 一環으로 actinomycin D의 영향과 小腸XOD를 精製한후 基質에 對한 反應速度를 檢討하였다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

實驗動物은 尹의 方法[10]으로 調製한 標準食餌로 約 2個月間 飼育시킨 250g內外되는 Sprague-Dawley 種 숫쥐를 使用하였다.

CCl_4 投與는 CCl_4(Kanto 特級)와 olive oil의 同量混合液을 體重 100g當 0.1m*l* 를 腹腔內 注射한 후 18時間째 다시 投與하고 24時間 후 處置하였다.

Actinomycin D投與는 CCl_4만을 投與한 同一 實驗條件에 竝行하여 실시 하였으며 actinomycin D를 CCl_4 投與 1時間前에 體重 100g當 50μg[10]을 大腿外側 筋肉에 주사하였다. 이때 actinomycin D만 他群의 실험기간에 병행하여 投與한 群과 olive oil 만 投與한 群은 各各의 對照群으로 하였다.

2. 實驗動物의 處置

實驗動物은 弱한 ether 麻醉下에서 腹部正中線을 따라 開腹한 다음, 腹部大動脈으로 부터 採血한 후 곧바로 門脈으로 4℃의 生理食鹽水로 灌流하여 肝組織內에 남아있는 血液을除去한 후 摘出하였다. 이때 小腸은 적출하여 小腸內에 있는 殘存物質을 除去한 후 4℃의 saline으로 세척하였다. 摘出한 小腸 및 肝은 濾紙로 均等히 壓迫하여 組織內 남아 있는 生理食鹽水를 可能한한 모두 除去하였다. 또한 小腸은 肝과 더불어 重量을 測定하였다.

3. 小腸 및 肝組織의 酵素液調製

一定量의 小腸 및 肝을 取하여 4培量의 0.05 M potassium phosphate (pH, 8.0) 溶液을

加해 4℃內外로 維持하면서 痲醉하여 組織均質液(20 w/v %)을 만들었다. 이를 700 xg에서 10 分間 遠心分離하여 核 및 未痲醉分을 除去한 다음, 그 上層液을 15,000G에서 20 分間 遠心分離하여 上層液을 얻었다.

이 上層液 一定量을 透析膜에 넣어 50 倍量의 4℃ 0.05M potassium phosphate(pH, 8.0) 液中에서 透析시킨 것을 XOD活性 測定의 粗酵素 材料로 使用하였다.

4. 小腸, 肝 및 血淸中 XOD活性의 測定

XOD 測定은 尹[15] 및 Stirpe 等[16]方法에 따라 實施하였으며 酵素單位는 肝 및 小腸 組織에서는 基質(xanthine)로 부터 1 分동안 生成된 尿酸의 量을 酵素液中 含有된 蛋白質 mg當,血淸中에서는 血淸 1 ℓ當 μ mole로 表示하였다.

5. XOD酵素의 部分精製 및 反應速度測定

小腸 및 肝XOD를 Rowe 等[17]의 方法에 準해 熱處理, ammonium sulfate fractionation, aceton 처리한 것을 透析過程을 거쳐 部分精製된 酵素製品을 얻었다(Scheme 1 參照).

部分精製한 酵素를 使用하여 反應液中 0.1M potassium phospate buffer(pH, 8.0)媒質에서 xanthine 基質의 濃度를 變更시켜가면서 酵素活性을 測定하였다. 酵素液中 蛋白質 定量은 Lowry[18]等의 方法에 따라 bovine serum albumin을 標準品으로 하여 定量하였다.

6. 血淸中 alanine aminotransferase活性測定

血淸의 alanine aminotransferase(以下 ALT라 略함) 活性測定은 Reitman과 Frankel 方法[19]에 따라 실시하였으며 單位는 血淸 1 ml 當 Karmen unit[20]로 表示하였다.

얻어진 各 成績들의 平均値中 相互比較가 必要한 경우에는 student-t 檢定法에 依하여 檢定하였다.

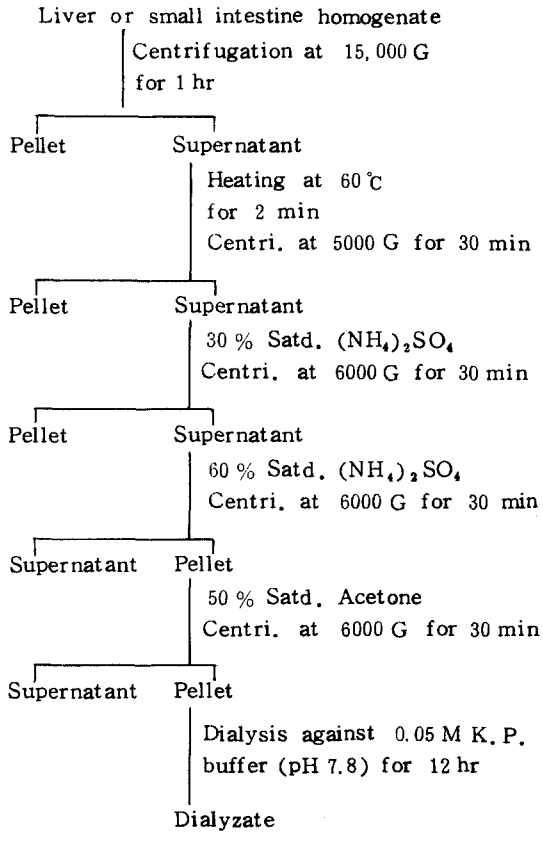
Ⅲ. 實驗成績

1. 小腸 및 肝重量의 變動

CCl_4 投與에 依한 體重當 肝무게의 百分率은 對照群에 比해 約 1.5 倍의 有意한($p < 0.05$) 增加를 보였으나 小腸은 對照群과 CCl_4 投與群間에 別다른 差異를 볼 수 없었다(Table 1 參照).

2. 血淸中 ALT活性 變動

血淸 ALT活性은 CCl_4 投與群이 對照群에 比



Scheme 1. Procedure of purification in rat liver or small intestine xanthine oxidase

하여 約 13倍의 현저한 增加를 보였다(Table 2 參照).

3. 小腸 및 肝組織에 있어서 部分精製한 酵素와 粗酵素에 있어서 XOD 活性比較

粗酵素XOD 活性度에 있어서는 CCl_4投與群이 對照群에 比하여 肝은 約 12%增加되는 傾向을 나타내었으나, 小腸組織은 CCl_4投與群間에는 別다른 差異를 볼수 없었다. 그러나 部分精製한 XOD活性度는 CCl_4 投與群이 對照群에 比해 小腸은 約 20%, 肝組織은 約 44%增加됨이 觀察되었다(Table 3參照).

4. 血淸XOD의 活性 變動

CCl_4投與한 實驗群이 對照群에 比해 血淸 XOD 活性度는 約 2倍의 有意한($p<0.01$) 增加를 보였다(Table 4參照).

5. Actinomycin D를 前處理한 후 CCl_4投與時에 XOD活性 變動

Actinomycin D와 CCl_4를 竝行하여 投與한 群은 CCl_4만을 投與한 群에 比해서 小腸XOD는 約 56%의 有意한($p<0.001$) 減少를 보였으며 肝XOD는 約 38%의 유의한 減少($p<0.05$)를 보였다. 또한 actinomycin D만을 投與한 群은 對照群에 比해서 小腸은 約 56% ($p<0.001$), 肝은 約 38%의 有意한($p<0.05$) 減少를 나타내었다.

한편 血淸 XOD活性은 actinomycin D와 CCl_4를 竝行하여 投與한 群은 CCl_4만을 投與한 群에 比해서 約 37%의 有意한 減少를 보였다(Fig. 1 및 Table 4參照).

Table 1. Effect of carbon tetrachloride treatment on the percent of small intestine or liver in rats

Unit : wt./bady wt.(%)

Groups \ Organs	Small intestine	Liver
Control	3.30 ± 0.12	3.12 ± 0.026
CCl_4 treatment	3.47 ± 0.22	4.76 ± 0.194*

Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats.
*: Significantly different from the control group ($p<0.05$).

Table 2. Effect of carbon tetrachloride treatment on the serum levels of aminotransferase (ALT) in rats

Group	ALT activity (Karmen unit / ml of serum)
Control	30.08 ± 2.46
CCl_4 treatment	380.83 ± 76.78***

Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats
***: Significantly different from the control group ($p<0.001$)

Table 3. Comparison of partial purified xanthine oxidase from pooled small intestine or liver with the crude enzymes in carbon tetrachloride intoxicated rats

Enzyme / Groups	Crude enzymes		Partial purified enzymes	
	Small intestine	Liver	Small intestine	Liver
Control	8.41 ± 0.40	2.90 ± 0.108	150.00	56.36
CCl_4 treatment	9.06 ± 0.45	3.25 ± 0.318	180.56	81.44

Enzyme unit : n moles uric acid formed / min / mg of protein
Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats. The purified enzymes are prepared from pooled liver or small intestine of 6 rats and each value is 3 experiments.

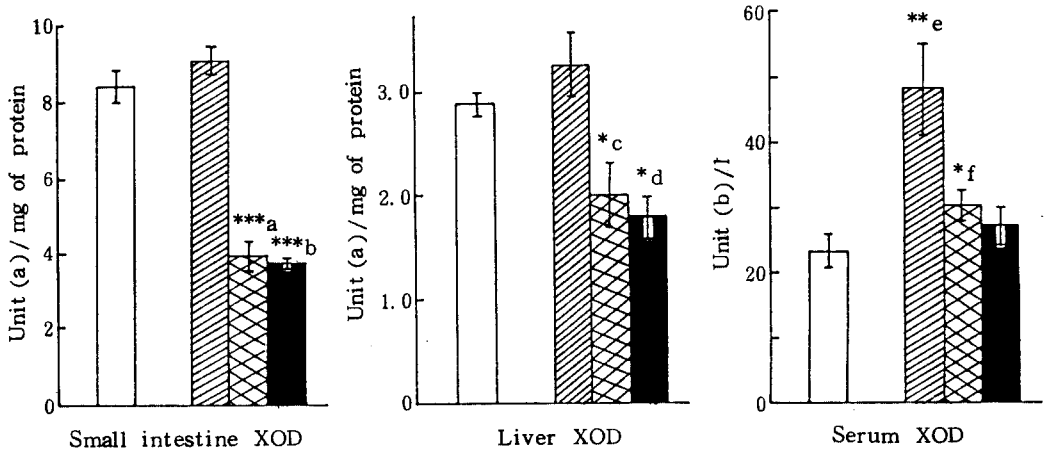


Fig. 1. Effect of actinomycin D on the small intestine, liver and serum xanthine oxidase (XOD) activity in CCl_4 intoxicated rats.
The vertical bars are the mean ± S.E. with 6 animals in each group.
***a) : Significantly different from the CCl_4 treated group ($p < 0.001$)
***b) : Significantly different from the control ($p < 0.001$), *c : Significantly different from the CCl_4 treated group ($p < 0.05$), *d : Significantly different from control ($p < 0.05$), *e : Significantly different from the control group ($p < 0.05$), *f : Significantly different from the CCl_4 treated group ($p < 0.05$).
□ : Control ▨ : CCl_4 treated group
▩ : CCl_4 + actinomycin D treated group ■ : Actinomycin D treated group
Unit(a) : n moles uric acid/min, Unit(b) : μ moles uric acid/min.

Table 4. Effect of actinomycine D on the activity of both small intestine and liver in carbon tetrachloride intoxicated rats

Groups \ Specimens	Small intestine	Liver	Serum
Control (1)	8.41 ± 0.45	2.90 ± 0.108	23.00 ± 2.59
CCl_4 (2)	9.06 ± 0.40	3.25 ± 0.318	47.72 ± 6.98**e)
CCl_4 + actinomycin D (3)	3.91 ± 0.41***a)	2.00 ± 0.310*c)	30.00 ± 2.23*f)
Actinomycin D (4)	3.72 ± 0.15***b)	1.80 ± 0.200*d)	27.00 ± 2.70

(1): Olive oil treated group, (2): CCl_4 treated group, (3): CCl_4 treated group pretreated with actinomycin D, (4): Actinomycin D treated group.
Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats.
***a) : Significantly different from the CCl_4 treated group ($p < 0.001$)
***b) : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)
*c), *f) : Significantly different from the CCl_4 treated group ($p < 0.05$)
*d) : Significantly different from the control group ($p < 0.05$)
**e) : Significantly different from the control group ($p < 0.001$)

6. 部分精製한 小腸XOD의 反應速度

CCl_4 投與한 實驗群 및 對照群의 小腸으로부터 精製된 XOD를 基質인 xanthine의 濃度를 變動시켜 가면서 反應速度(kinetics)를 測定하여 檢討한 成績이 Fig. 2와 같다. 對照群의 小腸으로 부터 精製된 XOD의 km 値는 23 μM인데 比해 CCl_4 實驗群는 167 μ Mole로서 約 7倍의 현저한 增加를 보였다. 한편 V_{max} 値는 CCl_4 를 投與한 實驗群이 대조군보다 約 4倍 以上 增加되었다.

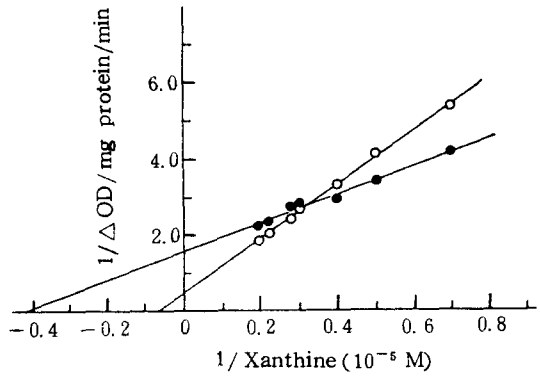


Fig. 2. Double reciprocal plots of small intestine xanthine oxidase with xanthine as a substrate in potassium phosphate buffer (pH, 8.0).
●-●; Control group, o-o; CCl_4 treated group.

Ⅳ. 考 察

CCl_4 를 實驗動物에 急性的으로 投與하면 他臟器보다 主로 肝에 損傷이 若起되며 이때肝細胞에 脂肪變動과 더불어 壞死(necrosis)가 招來됨은 잘 알려진 사실이며[7,8] 이러한 CCl_4 에 依한 毒作用은 肝細胞의 smooth endoplasmic reticulum에 存在하는 脂溶性 藥物代謝에 關與하는 mixed function oxidation 機構에 依하여 CCl_4 가 free radical($\cdot CCl_3$)로 變化되어 이것이 ER 및 細胞膜의 過酸化를 일으켜 肝損傷이 招來된다고 한다.[21,22]

本 實驗에서 體重當 肝무게의 百分率은 CCl_4 를 投與한 實驗群이 對照群에 比하여 有意하게 增加하였으나 小腸은 CCl_4 投與群과 對照群間에 別다른 差異를 볼 수 없었다. 또한 肝損傷時 그 活性度가 增加한다는 血淸ALT가 CCl_4 投與로 因하여 현저히 增加되었다. 따라서 本 實驗條件에서 CCl_4投與群에서 肝損傷은 深한 반면 小腸의 損傷은 거의 나타나지 않은 것으로 일단 생각할 수 있다. 이와같은 實驗 모델下에서 精製한 肝 및 小腸中 XOD 活性度는 CCl_4 投與로 因하여 對照群에 比하여 모두 增加되었으며, 이때 小腸 XOD의 活性 增加率이 肝 XOD보다 約 1.5倍 低下되었음을 알 수 있었다. 粗酵素에 있어서도 CCl_4 投與로 因한 小腸XOD의 活性增加率이 肝XOD보다 훨씬 낮았다. 尹은 CCl_4 投與에 依한 肝 및 血淸 XOD 活性增加原因은 肝細胞에서 酵素蛋白合成의 誘導와肝組織의 細胞膜 透過性 抗進에 起因되기 때문일 것이라고 하였다.[10] 더우기 CCl_4 에 依하여 損傷된 肝組織의 XOD를 精製한후 基質에 對한 kinetics를 觀察한 尹等[14]의 實驗結果에 依하면, 對照群에 比하여 V_{max} 値는 현저히 增加되었으며 K_m 値는 減少됨이 觀察되어 CCl_4로因한 肝損傷時 核酸性 物質의 多量 파괴에 따른 purine 體分代謝에 수반된 基質性 誘導作用에 의하여 肝XOD酵素蛋白의 合成이 增加될 것이라고 하였다. 그러나 本 實驗條件에서 CCl_4 投與에 依한 小腸의 損傷이 招來되었다고 보기 어려우며, 이런 條件下에서는 核酸分解가 若起될 程度가 되지 않음에도 불구하고 小腸XOD, 特히 精製酵素의 活性增加는 基質性誘導 以外 다른 要因에 依한 酵素蛋白合成의 誘導를 暗示하고 있다. 그러므로 이러한 實驗條件下에서도 小腸XOD의 活性 增加原因이 어떠한 要因에 依하여 酵素蛋白合成에 起因된 것인가를 알아보기 위하여 m-RNA合成을 抑制하여 蛋白合

成을 沮害하는 것으로 알려져 있는 actinomycin D[23]와 CCl_4를 竝行하여 投與한 뒤 小腸 XOD活性을 肝XOD活性과 比較觀察하였다.

小腸 및 肝XOD活性은 CCl_4와 actinomycin D를 竝行하여 投與한 實驗群이 CCl_4만을 投與한 群보다 減少하였으며 特히 肝損傷時 血中 XOD의 由來는 肝組織 못지 않게 그 含量을 多量含有한다는 小腸이 아닌 肝XOD라는 Dagher 等[24]의 報告를 감안하여 肝과 血淸中 XOD의 總活性과 小腸XOD에 對한 actinomycin D의 영향을 比較해 볼때 actinomycin D 전처리로 小腸XOD의 減少率이 肝組織보다 오히려 높게 나타났다. 더우기 本 實驗條件에서 CCl_4 投與群의 小腸XOD를 精製한 후 反應速度(kinetics)를 관찰해 볼때 V_{max}値 및 K_m 値가 對照群에 比하여 增加되었다. 이러한 實驗結果로 보아 CCl_4投與로 因한 小腸XOD 活性增加는 基質性誘導에 依한 蛋白合成이 아닌 CCl_4의 代謝物質인 free radical($\cdot CCl_3$)이 operon 側面에서 酵素蛋白合成 誘導因子로 作用할 것이라고 생각되어 진다. 또한 損傷된 肝組織의 어떠한 生理的 適應作用이 小腸酵素蛋白의 合成誘導에 影響을 미칠 것이라는 생각도 排除할 수 없으며 이는 추후 硏究檢討되어야 할 課題로 남아있다.

V. 要約 및 結論

CCl_4中毒이 小腸 xanthine oxidase(XOD) 活性에 어떠한 影響을 미치는지를 檢討함과 동시에 本 酵素의 活性變動의 機轉을 糾明하는 一環으로 흰쥐에 四鹽化炭素(50% in olive oil) 0.1ml를 腹腔內에 1日 1回 두번 投與한 후 實驗을 실시하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

四鹽化炭素(CCl_4)投與로 因하여 肝무게는 有意하게 增加되었으나 小腸은 別다른 變動이 觀察되지 않았으며, 이때 血淸ALT의 현저한 活性增加를 보여 肝損傷은 深한 편이었으나 小腸에서는 別다른 損傷이 나타나지 않음이 확인되었다. 이러한 實驗條件下에서도 肝과 더불어 小腸 XOD活性이 모두 增加되었으며 그 活性增加는 小腸XOD가 肝XOD보다 낮게 나타났다.

Actinomycin D와 CCl_4를 竝行하여 投與한 實驗群에서는 小腸 및 肝XOD活性이 모두 減少되었으며 그 減少率은 小腸XOD가 크게 나타났다.

한편 小腸XOD를 精製하였을때 CCl_4投與群의 V_{max} 値 및 K_m 値가 對照群보다 增加되었다.

以上 本 實驗成績을 綜合하여 볼때 CCl_4를 急性으로 投與하면 小腸XOD活性이 增加되며 이는 小腸細胞에서 酵素蛋白合成增加에 起因되는 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. Watts, R.W.E., Watts, J.E.M., and Seegmiller, J.E.: Xanthine oxidase activity in human tissue and its inhibition by allopurinol. J. Lab. and Clin. Med. 66(4), 668-697, 1965.
2. Al-Khalidi, U.A.S. and Chaglassian, T.H.: The species distribution of xanthine oxidase. Biochem. J., 97, 318-320, 1965.
3. Berlin, R.D. and Hawkins, R.A.; Secretion of purines by the small intestine: general characteristics. Am. J. Phsiol., 215(4), 932-941, 1968.
4. Khan, A.H., Wilson, S. and Crawhall, J.C.: The influx of uric acid and other purines into everted jejunal sacs of the rat and hamster. Can. J. Physiol. Pharmacol. 53, 113-119, 1974.
5. Ho, C.Y., Miller, K.V., Saraiano, D.A., Crane, R.T., Erickson, K. and Clifford,

A.J.: Absorption and metabolism of orally adminiistered purines in fed and fasted rats. J. Nutr. 109, 1377-1382, 1979.

6. Clifford, A.J., Riumallo, J.A., Young, V.R. and Schrimshaw, N.S.: Effect of oral purines on serum and urine uric acid of normal, hyperuricemic and gouty humans. J. Nutr. 106, 428-464, 1976.
7. Bassi, M.: Electron microscopy of rat liver after CCl_4 poisoning. Exper. Cell. Res., 2, 313-323, 1960.
8. Smuckler, E.A., Iseri, O.A., and Benditt, E.P.: An intracellular defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. J. Exper. Med., 116; 55-72, 1962.
9. 尹鍾國 : 四鹽化炭素를 투여한 흰쥐에서의 간장 및 혈청 Xanthine Oxidase 활성의 변동, 과학논집(계명대학교 생활과학연구소) 6, 75-82, 1980.
10. 윤종국 : 흰쥐에 사염화탄소에 의한 간손상시 Actinomycin D 및 Prednisolon이 혈청 X.O활성에 미치는 영향, 연구논집(계명대학교 기초과학연구소) 7(1), 113-123, 1988.
11. Shammaa, M.H., Nasrallah, S.M. and Al-Khalidi, U.A.S.: Serum xanthine oxidase an experience with 2000 patients. Digestive Disease., 18(1), 15-22, 1973.
12. Ziegler, D.W., Hutchinson, H.D., and Kisscing, R.E.: Induction of xanthine oxidase by virus infections in newborn mice. Infect. and Immun. 3(2), 237-242, 1971.
13. Tubaro, E., Banci, F., Lotti, B. and Croce, C.: Xanthine oxidase activation in animal liver during infectious process. Arzneim-Forch. (Drug Res)., 26(12), 2185-2186, 1976.
14. 윤종국 · 강희양 · 이상일 : 흰쥐에 四鹽貨炭素 投與가 XOD의 反應速度에 미치는 영향, 연구논집(계명대학교 기초과학연구소) 7(2), 281-287, 1988.
15. Yoon, C.G.: A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rats liver extracts. Keimyung Research Journal, 2 (Keimyung Technical college), 295-309, 1984.
16. Stirpe, F. and Dell Corte, E.: The regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem., 244, 3855-3863, 1969.
17. Rowe, P.B. and Wyngaarden, J.B.: The mechanism of dietary alteration in rat hepatic xanthine oxidase levels. J. Biol. Chem., 241, 5571-5576, 1966.
18. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr., A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275. 1951.
19. Reitman, S. and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Pathol., 28, 56-63, 1957.
20. Karmen, A., Wroblewski, F. and Ladue, J.S.: Transaminase activity in human blo od. J. Clin. Invest., 34, 126-131, 1955.
21. Hasegawa, T., Ogata, M. and Tomokuni, K.: Effect of carbon tetrachloride-induced soluble protein on microsomal NADPH oxidase activity of rat liver. Biochem. Pharm., 31(17), 2837-2840, 1982.
22. Noguchi, T., Fong, K.L., Lai, E.K., Olson, L. and MacCay, P.B.: Selective early loss of polypeptides in liver microsomes of CCl_4-treated rats. Biochem., Pharmacol., 31(5), 609-614, 1982.