

백서의 반복적인 육체운동에 의한 사염화탄소
간독성의 증폭효과

김수년 · 김영철*

서울대학교 약학대학

**POTENTIATION OF CARBON TETRACHLORIDE
HEPATOTOXICITY INDUCED BY REPEATED PHYSICAL
EXERCISE IN ADULT FEMALE RATS**

Su Nyeon Kim and Young Chul Kim*

*College of Pharmacy, Seoul National University, San 56-1, Shinrim-Dong,
Kwanak-ku, Seoul 151-742, Korea*

(Received December 15, 1992)

(Accepted December 28, 1992)

ABSTRACT: *Effects of repeated physical exercise on the carbon tetrachloride (CCl₄) hepatotoxicity were examined in adult female rats. Rats were introduced into a cylindrical rotating cage and forced to exercise for 1 hr each day, 6 days/week, for 5 consecutive weeks at a speed starting from 10 m/min, increased by 1 m/min per day until the speed reached 27 m/min. Significantly less body weight gain was observed in the exercise group suggesting that physical fitness had been induced in these animals. Eighteen hours following termination of the last exercise bout rats were treated with CCl₄ (2 mmol/kg, ip). The CCl₄-induced hepatotoxicity was significantly potentiated in the repeated exercise group compared to the resting sedentary animals as determined by changes in serum sorbitol dehydrogenase (SDH), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), and glucose-6-phosphatase (G-6-Pase) activities when measured 24 hrs following the CCl₄ treatment. Hepatic drug metabolizing activity was determined in order to elucidate the underlying mechanism of potentiating action of the CCl₄ hepatotoxicity induced by repeated physical exercise. Repeated exercise increased the hepatic microsomal cytochrome P-450 contents and aminopyrine N-demethylase activity. The results suggest that the potentiation of CCl₄ hepatotoxicity by repeated exercise is associated with induction of the mixed fu-*

*To whom correspondence should be addressed

nction oxidase (MFO) enzyme system mediating the metabolism of CCl₄ to its active metabolite(s).

Key Words: *Repeated Physical exercise, Physical fitness, Carbon tetrachloride, Hepatotoxicity, Mixed function oxidase (MFO) enzyme system, Cytochrome P-450.*

서 론

장기간의 반복적인 육체운동에 의해 유도되는 physical fitness는 생체 전반에 걸쳐 다양한 반응을 유발하며 특히 간의 경우 이 장기 자체에 미치는 일차적인 영향뿐 아니라 간에서 일어나는 여러 화학물질의 대사과정에 미치는 간접적인 영향을 통해 화학물질의 독성발현에 영향을 줄 수 있는 것으로 알려져 있다. Rowell은 (1974) 수시간의 강도 높은 육체운동이 간혈류를 60%까지 감소시킴을 indocyanine green clearance 측정을 통해 관찰하였으며 Sweeny는 (1981) flow limited metabolism을 보이는 lidocaine의 체내소실속도는 급성적인 육체운동에 의해 감소함을 보고하였다. 이와는 대조적으로 capacity limited metabolism을 나타내는 diazepam이나 (Clotz and Lücke, 1978), antipyrine (Taylor and Blaschke, 1984; Swartz *et al.*, 1974), amylobarbitone (Balasubramaniam *et al.*, 1970) 등의 약물의 체내 소실 속도는 급성 육체운동의 영향을 받지 않는 것으로 관찰되었다. 그러나 Somani 등 (1990) 은 육체운동이 각 조직으로의 혈류량 분포를 변화시켜 physostigmine과 그 대사체의 체내분포 및 배설에 영향을 미친다고 보고하였으며 또한 본 연구실에서는 랫트에게 사염화탄소를 투여하고 급성적인 운동을 부과하였을 때 이 용매에 의한 간독성이 현저하게 감소함을 관찰하고 육체운동에 의한 사염화탄소의 체내분포의 변화 및 체내 총잔류량의 저하를 그 기전으로 제시한 바 있다 (Kim and Kim, 1991).

한편 Boel 등은 (1984) aminopyrine과 antipyrine의 체내 소실속도가 반복적인 운동에 의해 증가함을 관찰하고 이들 약물의 대사효소계의 활성증가를 그 기전으로 추정하였다. 또 Ardie 등은 (1989) 랫트에게 6주간의 running exercise 부과하였을 때 microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)의 활성이 증가하고 이에 따라 ethanol의 혈중 반감기가 감소함을 관찰하였다. 반복적인 육체운동에 의해 유발되는 간의 약물대사능력의 변화는 치료약물의 약효 지속시간이나 여러 독성물질 특히 간대사에 의해 독성이 발현되는 secondary toxicants의 독성발현에 영향을 끼칠 것으로 추정된다. 따라서 본 연구에서는 각종 산업현장에서 널리 사용되는 유기용매인 사염화탄소의 간독성에 반복적인 육체운동이 미치는 영향과 그 기전을 규명하고자 하였다. 사염화탄소는 mixed function oxidase (MFO) enzyme system에 의해 trichloromethyl free radical ($\cdot\text{CCl}_3$)로 활성화되어 간독성을 유발하므로 간의 약물대사능력의 변화는 이 물질의 독성에 영향을 줄 것으로 기대되었다.

재료 및 방법

Animals

전 실험에 걸쳐 체중 150~250 g의 자성 Sprague-Dawley 랫트를 실험동물로 사용하였다. 분양받은 실험동물은 3주 이상 본 대학의 사육실에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 고형 사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였으며 사육실은 온도 $22 \pm 5^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 하루 12시간씩의 Light : Dark cycle을 유지하였다.

Chemicals

실험에 사용한 시약은 NADH, glucose-6-phosphate, 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid, triethanolamine-HCl, NADPH, semicarbazide-HCl, ammonium acetate, tris-[hydroxymethyl]aminomethane, bovine serum albumin, trichloroacetic acid, D(-)-fructose (이상 Sigma Chemical Co.), nicotinamide, magnesium chloride, zinc sulfate, barium hydroxide, potassium chloride, sodium hydroxide, sodium bicarbonate (이상 Aldrich Chem. Co.), Folin-phenol reagent, potassium tartrate, copper sulfate, potassium dihydrogen phosphate, sodium dithionite (이상 Merck Chem. Co.), carbon tetrachloride, maleic acid, sodium maleate (이상 일본 순정화학), sulfuric acid, hydrochloric acid (이상 일본 동양화학), ammonium molybdate, aminopyrine (이상 일본 국산화학), formaldehyde (일본 Shinyo Co.), GOT & GPT kit (영동제약) 등으로 그외의 시약 및 용매류는 모두 reagent grade 또는 그 이상이었다.

Treatment

실험동물에 육체운동을 부과하기 위해 속도 조절이 가능한 motor가 부착된 직경 30 cm, 길이 50 cm의 철제로 된 원통형 rotating cage를 제작하였다 (Figure 1). 이 rotating cage에 동물을 도입하여 1일 1시간씩 주 6일, 5주간 동안 운동을 부과하였다. 육체운동에 동물들을 적응시키기 위해 운동속도는 10 m/min에서 시작하여 매일 1 m/min씩 증가시켜 3주 후 속도가 27 m/min에 이르면 나머지 2주간은 같은 속도를 유지하였다. 시험이 개시되기 전에 동물들에게 예비실험을 실시하여 케이지의 회전운동에 순응하지 못하는 동물은 선별하여 제외시켰다. 사염화탄소 간 독성 지표를 측정하기 위해서 5주 경과시 최종적으로 운동을 부과하고 운동종료 18시간 후에 corn oil에 용해시킨 사염화탄소를 2 mmol/kg의 용량으로 복강주사하였다. 사염화탄소 투여 24시간 경과시 에테르로 마취시키고 복대동맥으로부터 채혈하여 혈청을 분리하거나 간을 적출하였다. 간대사능력을 측정하기 위한 실험에서는 최종적인 운동부과가 종료된 후 18시간 경과시 간을 적출하였다.

Assays

Sorbitol dehydrogenase (SDH) 활성은 Gerlach의 (1965) 방법을 수정하여 측정하였다. 0.2 M triethanolamine 완충액 (pH 7.4) 2.4 ml와 혈청 0.2 ml, NADH (12 mM) 0.1 ml에 72% fructose 용액 0.3 ml을 가하고 366 nm에서 1분간 흡광도의 변화를 측정하여 SDH 활성을 구하였다.

Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 glutamic pyruvic transaminase (GPT) 활성 측정은 Reitman과 Frankel의 (1957) 방법을 사용하여 측정하였다. GOT와 GPT 기질액을 1

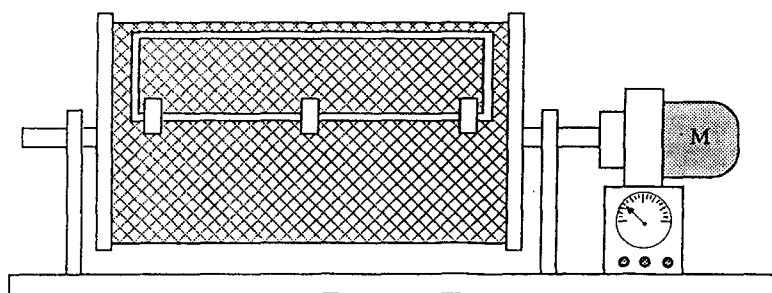


Figure 1. Schematic Diagram of Rotating Cage Used to Force Rats to Exercise.

m/씩 취하고 혈청 0.2 ml를 가하여 37°C 에서 GOT는 60분간, GPT는 30분간 incubation하였다. Incubation 종료시 2,4-DNPH 1 ml와 0.4 N NaOH 10 ml를 가하고 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Glucose-6-phosphatase 활성은 Traiger와 Plaa의 (1971) 방법을 수정하여 측정하였다. 적출된 간을 0.1 M maleate 완충액 (pH 6.25) 내에서 polytron으로 분쇄하여 homogenates 1 ml당 간조직 50 mg이 함유되게 하였다. 0.2 M glucose-6-phosphate 0.5 ml, maleate 완충액 1.8 ml와 간 homogenates 0.2 ml을 37°C 에서 40분간 incubation한 후 10% trichloroacetic acid로 반응을 종료시켰다. 2500 rpm로 원심분리한 상등액 1 ml와 2×10^{-3} M molybdate용액 5 ml을 섞은 후 reducing agent (4.2×10^{-2} M 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid) 1 ml을 가하고 30분 동안 방치한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Aminopyrine N-demethylase 활성은 Nash의 (1953) 방법을 수정하여 측정하였다. 적출된 간을 0.01 M phosphate 완충액 내에서 polytron으로 분쇄하여 1 ml당 간조직 250 mg을 함유하는 homogenates를 만들었다. 이 homogenates를 10,000 g에서 20분간 원심분리하고 그 상등액 1 ml에 NADPH 용액 1.5 ml와 aminopyrine용액 1 ml을 가하여 37°C 에서 분당 100회 진동시키며 incubation하였다. 15% ZnSO₄를 가하여 반응을 정지시키고 포화시킨 Ba(OH)₂ 용액을 1 ml씩 가한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상등액 2 ml와 Nash reagent 1.5 ml을 취하여 60°C 에서 40분간 incubation한 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간의 microsomal cytochrome P-450 contents는 Omura와 Sato의 (1964) 방법을 이용하여 측정하였다. 적출된 간을 분쇄하고 10,000 g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 100,000 g로 60분간 초원심분리하여 microsomal pellet을 분리하였다. 이 microsomes에 0.01 M phosphate 완충액을 가하여 suspension으로 만든 후 두 개의 quartz cuvette에 3 ml씩 취하였다. 각 cuvette에 reducing agent (sodium dithionite)를 10 mg 정도 가한 후, sample cuvette에 carbon monoxide (CO) gas를 60초간 포화시켰다. CO gas로 bubbling하지 않은 cuvette을 reference로 하여 450 nm와 500 nm에서의 흡광도를 측정하여 cytochrome P-450 contents를 계산하고 nmole cytochrome P-450/mg microsomal protein으로 표시하였다.

Microsomes중의 protein량은 Lowry 등의 (1951) 방법을 이용하여 측정하였다.

통계처리

실험 결과는 각 군의 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며 two tailed Student's *t*-test로 유의성을 검정하였다. 따로 기술하지 않은 한 P value가 0.05 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

각종 xenobiotics의 대사에 나타나는 개체간의 차이는 여러 유전적, 환경적 인자들과 이들의 상호작용에 기인하는 것으로 알려져 있다. 이러한 인자의 하나로 육체운동의 영향을 들 수 있다. 일부 연구자들에 의하면 일회 또는 반복적인 육체운동이 몇몇 약물과 독성물질의 체내분포 및 대사에 영향을 미치며 그 결과 이들 물질의 약효 및 독성에도 변화를 유발함이 보고되었다 (Dossing, 1985; Carlson and Kim, 1986). 본 연구에서는 자성 랫트를 대상으로 반복적인 육체운동이 사염화탄소의 간독성 발현에 미치는 영향을 검색하고 그 기전을 규명하고자 하였다.

널리 사용되는 산업용 용매인 사염화탄소는 대표적인 대사활성형 독성물질로서 간의 MFO system에 의해 대사되어 생성되는 trichloromethyl free radical ($\cdot\text{CCl}_3$) 이 독성을 유발하는 활성 본체이며 이 free radical이 세포나 세포내 소기관의 지질막을 공격하여 lipid peroxida-

tion을 일으키거나 (Recknagel and Glende, 1973), 세포내의 각종 macromolecules에 대한 covalent binding (Gillette, 1974), calcium homeostasis의 교란 등 (Long and Moore, 1986a, 1986b; Moore *et al.*, 1976) 을 통해 간세포의 괴사를 유발하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서는 만성적인 육체운동이 사염화탄소의 간독성에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 본 연구실에서 고안한 회전형 원통 케이지를 이용하여 실험동물에 5주간 점진적으로 운동량을 증가시키며 육체운동을 부과하였다. 운동개시 직후부터 운동군의 체중증가율은 대조군에 비해 저하되었으며 4주 이후에는 두군의 평균체중이 통계적으로 유의성있는 차이를 나타내었다 (Figure 2). 운동군의 체중증가율의 둔화는 체내 지방축적의 저하에 의한 것으로 보이며 이는 반복적인 육체운동에 의해 physical fitness가 유도되었음을 시사하고 있다.

5주간의 운동부과 종료 후 사염화탄소를 투여하고 이 용매에 의해 유도된 간독성의 지표들을 측정된 결과 chemical toxicants에 의한 간손상의 가장 민감한 지표로 알려진 SDH 활성은 대조군의 상승폭에 비해 운동군에서 현저하게 증가하였으며, 화학물질에 의한 lipid peroxidation의 간접적인 지표로 사용되는 glucose-6-phosphatase 활성도 증가하였다 (Table 1). 간독성의 보다 보편적인 지표인 혈청중의 GOT, GPT 활성 또한 운동군에서 증가하여 반복적인 육체운동은 사염화탄소의 간독성을 현저하게 증폭시킴을 나타내고 있다.

사염화탄소는 대표적인 간대사활성 의존형 간독성물질이므로 반복적인 육체운동에 의한 간의 약물대사능력의 변화를 측정하였다. 랫트에서 5주간의 육체운동을 위와 같은 스케줄로 부과한 다음 적출된 랫트의 간 microsomal fraction에서의 aminopyrine N-demethylase 활성과 cytochrome P-450 contents를 측정하였다. 측정된 간의 약물대사능력의 지표들은 모두 운동군에서 유의성있는 증가를 보였다 (Table 2). 이 결과는 장기간의 반복적인 육체운동에 의해 간의 mixed function oxidase enzyme system이 induction되며 앞에서 관찰된 간독성의 증가는 이 enzyme system의 활성증가에 의한 사염화탄소의 active metabolite(s)로의 대사전환증가에 기인함을

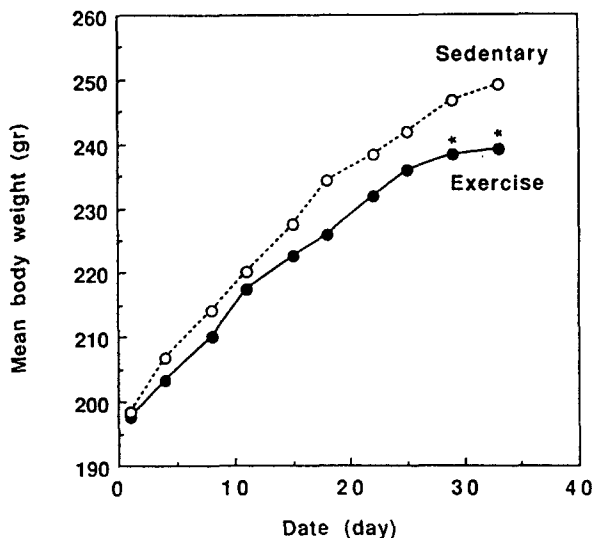


Figure 2. Body Weight Changes During Exercise Period.

Body weight was measured twice a week for 5 weeks. Each value represents the mean for six rats. Standard deviation was omitted for the sake of clarity. Open circle denotes the sedentary group; dark circle the exercise group. Asterisk indicates a significant difference from the sedentary group (Student's *t*-test, $P < 0.01$).

Table 1. Effect of Repeated Exercise on CCl₄ Hepatotoxicity^a.

Group	SDH (unit/ml)	GOT (unit/ml)	GPT (unit/ml)	Glucose-6-phosphatase (μ mole phosphate/g liver/min)
Sedentary	2045 \pm 559	215 \pm 15	192 \pm 23	10.19 \pm 1.17
Exercise	3199 \pm 528 ^b	263 \pm 20 ^b	236 \pm 20 ^b	8.69 \pm 0.64 ^c

^aRats in the exercise group were forced to run for 1 hour a day, 6 days a week, for 5 consecutive weeks. CCl₄ (2 mmol/kg, ip) was administered to the animals 18 hours following the last exercise bout. Rats were sacrificed for the assay 24 hours after the CCl₄ treatment. Each value represents the mean \pm SD for 6 rats.

^bSignificantly different from the sedentary group (Student's *t*-test, $P < 0.05$).

^cSignificantly different from the sedentary group (Student's *t*-test, $P < 0.01$).

Table 2. Effect of Repeated Exercise on Hepatic Drug Metabolizing Activity^a.

Group	Aminopyrine N-Demethylase (HCHO nmole/g liver/min)	Cytochrome P-450 Contents (nmole/mg protein)
Sedentary	31.68 \pm 4.29	0.869 \pm 0.054
Exercise	45.46 \pm 7.12 ^b	1.235 \pm 0.122 ^c

^aRats in the exercise group were forced to run for 1 hour a day, 6 days a week, for 5 consecutive weeks. Rats were sacrificed for the assay 18 hours following termination of the last exercise bout. Each value represents the mean \pm SD for 3 pooled samples each made of livers from 2 rats.

^bSignificantly different from the sedentary group (Student's *t*-test, $P < 0.05$).

^cSignificantly different from the sedentary group (Student's *t*-test, $P < 0.01$).

강력하게 시사하고 있다.

반복적인 육체운동이 간의 약물대사능력에 변화를 유발함을 지적한 본 실험결과는 일부 타 연구자들의 보고와 일치하고 있다. 즉, Frenkl 등은 (1980) 랫트에 장기적으로 swimming exercise를 부과한 경우 cytochrome P-450와 NADPH cytochrome reductase 등 microsomal enzymes의 contents나 활성이 증가함을 관찰하고 cytochrome P-450-dependent enzyme system 활성의 간접적인 지표라고 할 수 있는 hexobarbital sleeping time이 감소하였다고 보고한 바 있다. 이 이외에 인체나 실험동물을 대상으로 육체운동의 효과를 관찰한 실험결과를 통해 장기적인 육체운동은 갑상선 기능이나, sex hormone level, cortisol metabolism, 그리고 lipoprotein metabolism 등에 변화를 유발한다고 보고되고 있으며 (Boyden *et al.*, 1982; Few, 1974; Frey *et al.*, 1983), 그 기전은 육체운동에 의한 간의 약물대사능력의 변화와 유관한 것으로 추정되고 있다.

한편 본 연구실험결과는 급성적인 육체운동이 사염화탄소의 간독성을 저하시키는 효과를 가짐을 관찰한 보고와 (Kim and Kim, 1991) 현격한 대조를 보이고 있다. 급성적인 운동에 의한 사염화탄소의 간독성 저하효과의 기전은 육체운동에 의해 유발되는 생리적인 변화와 유관한 것으로 보인다. 즉, 급성적인 운동에 의한 근육으로의 혈류량 증가 및 상대적인 내부장기로의 혈류량 감소는 간에서 대사되는 이 용매의 간으로의 delivery되는 양을 감소시키며 호흡수 및 호흡심도의 증가는 사염화탄소의 호흡으로의 배설량을 증가시켜 사염화탄소의 body burden을 감소시키는 것이 간독성 저하의 기전으로 제시된 바 있다. 따라서 본 실험결과는 육체운동량이나 운동기간에 따라 동물에게 상이한 기전의 생리적 또는 생화학적 변화가 유도되며 그 결과 동일한 화학물질의 독성발현에 서로 상반되는 효과를 유발할 수 있음을 보여주고 있다.

동물실험의 궁극적인 목적은 대상화학물에 대한 인체의 반응을 유추하기 위한 자료를 확보

하는데 있다. 따라서 인체와 실험동물 사이에 존재하는 여러가지 환경조건의 차이를 최소화함으로써 보다 효율적인 extrapolation은 가능하게 된다. 본 연구실험결과는 실험이 진행되는 주간중에는 육체운동량이 적으며 또 활동이 케이지내에서 극도로 위축되어 있는 야행성동물인 랫트를 대상으로 하는 동물실험결과는 육체운동이 활발한 주간중의 인체에 침입하는 독성물질의 효과를 예측하는 데 제한적인 요소를 갖고 있음을 지적하고 있다. Xenobiotics의 체내대사 및 반응성에 대한 육체운동의 영향을 효과적으로 예측하기 위해서는 피폭되는 인체 집단의 육체운동량과 또한 그 물질의 성질, 독성기전, 주 표적기관 등을 종합적으로 고려하는 작업이 요구됨을 본 실험 결과는 시사하고 있다.

한편 인체가 상용하는 화학물질의 반응성에도 육체운동은 영향을 줄 수 있음을 주목해야 할 것이다. 최근에 들어와 건강 및 체중조절의 목적으로 여러가지 종류의 육체운동을 관례화하는 인구는 증가추세에 있다. 본 연구실험결과는 physical fitness는 xenobiotics의 대사에 중추적인 역할을 수행하는 간의 약물대사능력에 변화를 초래하게 되며 따라서 사용하는 약물의 부작용뿐만 아니라 그 혈중농도, 지속시간 및 반감기 등에 영향을 줄 수 있음을 암시하고 있다.

참 고 문 헌

- Ardies, C.M., Morris, G.S., Erickson, C.K. and Farrar, R.P. (1989): Both acute and chronic exercise enhances *in vivo* ethanol clearance in rats, *J. Appl. Physiol.*, **66**, 555-560.
- Balasubramaniam, K., Mawer, G.E. and Simons, P.J. (1979): The influence of dose on the distribution and elimination of amylobarbitone in healthy subjects, *Brit. J. Pharmacol.*, **40**, 578-579.
- Boel, J., Anderson, L.B., Rasmussen, B., Hansen, S.H. and Døssing, M. (1984): Hepatic drug metabolism and physical fitness, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 121-126.
- Boyden, T.W., Pamenter, R.W., Stanforth, P., Rotkis, T. and Wilmore, J.H. (1982): Evidence of mild thyroid impairment in women undergoing endurance training, *J. Endocrinol. Metabol.*, **54**, 53-56.
- Carlson, G.P. and Y.C. Kim (1986): Effect of Forced Exercise on Dichloromethane Blood Levels and Metabolism to Carbon Monoxide in Rats. *IRCS Med. Sci.*, **14**, 795.
- Clotz, U. and Lücke, C. (1978): Physical exercise and diazepam disposition, *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, **5**, 349.
- Døssing, M. (1985): Effect of Acute and Chronic Exercise on Hepatic Drug Metabolism. *Clinical Pharmacokinetics*, **10**, 426-431.
- Few, J.D. (1974): Effect of exercise on the secretion and metabolism of cortisol in man, *J. Endocrinol.*, **62**, 341-431.
- Frenkl, R., Byöre, A., Medszaros, J. and Szeberenyi, S. (1980): A study of enzyme inducing effect of physical exercise in man, *J. Sports Med.*, **20**, 371-376.
- Frey, M.A., Doerr, B.M., Srivastova, L.S. and Glueck, C.F. (1983): Exercise training, sex hormones and lipoprotein relationship in men, *J. Appl. Physiol.*, **54**, 757-762.
- Gerlach, U.E. (1965): Sorbitol Dehydrogenase in *Method of Enzymatic Analysis*, **761** (Bergmyer, H.U. Ed., A.E. Harper).
- Gillette, J.R. (1974): A perspective on the role of chemically reactive intermediate of foreign compound on toxicity, *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 2785.
- Kim, M.K. and Kim, Y.C. (1991): Effect of forced physical exercise on carbon tetrach-

- loride hepatotoxicity, *Korean J. Toxicol.*, **7**, 165-171.
- Long, R.M. and Moore, L. (1986a): Elevated cytosolic calcium, in rat hepatocytes exposed to carbon tetrachloride, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **238**, 186-191.
- Long, R.M. and Moore, L. (1986b): Inhibition of liver endoplasmic reticulum calcium pump by carbon tetrachloride and release of a sequestered calcium Pool, *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 4131-4137.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951): Protein measurement with Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- Moore, L., Devenport, R. and Landon, E.J. (1976): Calcium uptake a rat liver microsomal subcellular fraction in response to *in vivo* administration of carbon tetrachloride, *J. Biol. Chem.*, **251**, 1197-1201.
- Nash, T. (1953): A colorimetric estimation of HCHO by means of Hantzsch reaction, *Biochem. J.*, **55**, 415-421.
- Omura, T. and Sato, R. (1964): The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes, *J. Biol. Chem.*, **239**, 2379-2385.
- Recknagel, R.O. and Glende, E.A. (1973): Carbon tetrachloride: An example of lethal cleavage, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **2**, 263-297.
- Reitman, S. and Frankel, S.K. (1957): A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Amer. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56-63.
- Rowell, L.B. (1974): Human cardiovascular adjustment of exercise and thermal stress, *Physiological Reviews*, **54**, 75-159.
- Somani, S.M. and Babu, S.R. (1990): Effect of training exercise on time course of distribution of radioactivity in tissue or rat after ³H-physostigmine administration, *Toxicologist*, **10**, 241.
- Swartz, R.O., Sidell, F.R. and Cucinell, S.A. (1974): Effect of physical stress on the disposition of drugs eliminated by liver in man, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **188**, 1-7.
- Sweeny, G.D. (1981): Drugs-some basic concepts, *Medicine and Science in Sports and Exercise*, **13**, 247-251.
- Taylor, G. and Blaschke, T.F. (1984): Measurement of antipyrine half life from urinary drug concentration, *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, **18**, 650-651.
- Traiger, G.J.L. (1971): Difference in the potentiation of carbon tetrachloride in rats by ethanol and isopropanol pretreatment, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **20**, 105-112.