

BSO 유도 글루타치온 저감 흰쥐에서 1,2,4-trichlorobenzene의 급성독성

안 영 수

서울특별시 은평구 불광동 613-2 국립환경연구원 환경보건연구부

The Acute Toxicity of 1,2,4-Trichlorobenzene in Sprague-Dawley Rats Depleted of Glutathione by Treatment with Buthionine Sulfoximine

Young-Soo Ahn

Environmental Health Division, Environmental Health Research
Dept. National Institute of Environmental Research

(Received December 12, 1995)

(Accepted January 15, 1996)

ABSTRACT : 1,2,4-trichlorobenzene (1,2,4-TCB) is used as a dye carrier, an intermediate in the synthesis of herbicides, a flame retardant, and for other purpose. After a single oral administration of 1,2,4-TCB (200 mg/kg, 400 mg/kg) in rats, toxic effects were studied by means of serum biochemical and hematological analysis, and liver calcium concentration. Administration of 1,2,4-TCB resulted in dose-dependent manner liver and kidney damage being suggested by increased serum alanine aminotransferase (ALT) activities, liver calcium concentration and blood urea nitrogen (BUN). Pretreatment with DL-buthionine sulfoximine (BSO, 2 mmol/kg, i.p.) considerably decreased liver glutathione concentration, which was accompanied by markedly elevated serum ALT activities. It is well-known that toxicity of halogenated benzene such as bromobenzene, 1,4-dichlorobenzene is increased by pretreatment of phenobarbital, and protected by pretreatment of cytochrom P450 inhibitor including metyrapone. However, there were no obvious alterations in toxicity of 1,2,4-TCB by pretreatment of phenobarbital or metyrapone. In comparison with control group, treatment groups exhibited significant changes in some parameters of hematological analysis but all hematological values remained within normal ranges.

Key Words : 1,2,4-Trichlorobenzene, Liver toxicity, Glutathione

I. 서 론

Trichlorobenzene(TCB)의 세가지 이성체중 1,2,4-TCB가 산업적으로 가장 중요한 이성체이다. 1,2,4-TCB는 절연체, 살충제, 제초제, 소방재 및 산업중간체 등으로 널리 이용되는 유기용매이다(WHO, 1991). 많은 생산량과 다양한 산업적 용도에 따라 1,2,4-TCB는 자연환경에 널리 분포한 오염물질이 되었다(Anon, 1977; 1980). 음용수, 산업폐수(Gaffney, 1976), 어류조직(Veith 등, 1979) 등에서 1,2,4-TCB가 검출된 이후에 이 물질에 의한 건강위해성에 대한 연구가 활발하게 진행되어 왔다.

1,2,4-TCB는 벤젠의 할로겐유도체 중에서 독성이 가장 강한 물질로 주로 간장과 신장에 손상을 주는 것으로 알려져 있다(den Besten 등, 1991). 쥐에 1,2,4-TCB

를 4주 동안 흡입시킨 결과 간장과 신장에서 일시적인 독성작용이 관찰되었으며 고농도의 1,2,4-TCB를 단기간 투여한 쥐의 뇨에서 porphyrins의 농도가 증가하였다(Rimington and Ziegler, 1963). 또한 guinea pig에 1, 2,4-TCB를 단기간 피부노출에 의하여 간에서 작은 피사영역들이 발견되었다(Brown 등, 1969).

γ -Glutamylcysteine synthetase(γ -GCS)는 세포내 환원형 글루타치온(GSH)의 합성 및 농도유지에 중요한 작용을 하는데 buthionine sulfoximine(BSO)는 γ -GCS를 선택적으로 억제하여 간장과 신장의 GSH농도를 저하한다(Meister, 1978). GSH은 세포내 산화-환원 상태 및 세포막의 유지에 관여할 뿐만 아니라 이물질들의 해독 작용에 결정적인 역할을 한다(Smith and Rush, 1990). 따라서 BSO 투여에 의하여 간장내 글루타치온의 농도가 저감된 경우에 대사활성물질이 세포내 축적되어 많

은 화학물질의 독성이 크게 증가한다(Jollow 등, 1974; Mizutani 등, 1994).

본 연구는 용량에 따른 1,2,4-TCB의 독성과 세포내 GSH농도 및 대사활성이 1,2,4-TCB의 독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행하였다. 세포내 GSH농도를 저감하기 위하여 BSO를 투여하였으며 cytochrome P450 isozymes 활성을 조절하기 위하여 phenobarbital (PB)과 metyrapone(MP)을 사용하였다. 간독성의 지표로 혈장 alanine aminotransferase, 간조직 칼슘이온 농도와 신장독성의 지표로 혈장 creatine, blood urea nitrogen 등을 측정하였다. 아울러 조혈기능에 미치는 1, 2,4-TCB의 영향을 알아보기 위하여 혈액학적 분석을 실시하였다.

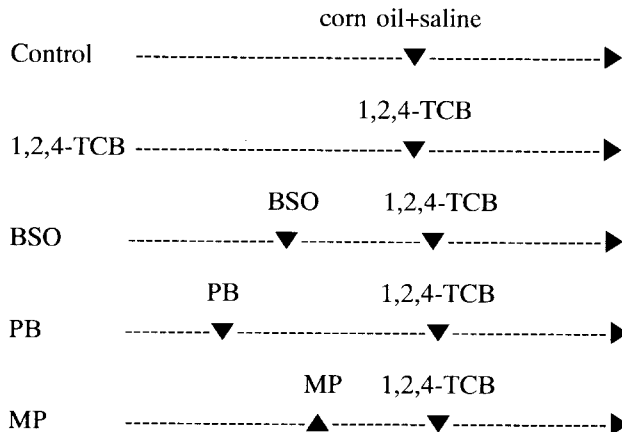
II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 체중 200 g 정도의 웅성 Sprague-Dawley 랫트를 대한실험동물센터에서 구입하여 2주간의 순화기간을 거쳐서 실험에 사용하였다. 사육실의 환경 조건은 온도 22±3°C, 상대습도 50±5%, 환기 횟수 10~15회/h, 12시간 조명(150~300 Lux, 07:00~19:00)을 유지하였으며 실험동물용 고품사료 및 음용수는 자유롭게 섭취시켰다.

2. 시험군 및 투여방법

시험군의 분류 및 약물투여는 다음 도식에 표시한 바와 같으며 각군당 10마리의 랫트를 사용하였다.



PB는 생리식염수에 녹여 연속적으로 3일간 80 mg/kg 용량으로 복강에 주사하였으며 마지막 주사는 1,2,

4-TCB투여 24시간 전에 실시하였다. MP(90 mg/kg) 및 BSO(600 mg/kg)는 1,2,4-TCB투여 1시간 전에 복강주사 하였다. 1,2,4-TCB는 옥수수 기름에 섞어서 200 mg/kg, 400 mg/kg 용량으로 경구투여 하였다. 사료는 1,2,4-TCB를 투여하기 15시간 전에 제거하고 1,2,4-TCB 투여후 2시간이 경과한 다음 재공급하였다. 1,2,4-TCB를 투여하고 24시간 지난 다음 가벼운 에테르 마취상태에서 복개후 심장에서 채혈한 다음 2~3개의 간엽을 적출하였다.

3. 혈액학적 분석

채혈한 혈액을 EDTA로 처리된 테스트튜브에 넣고 회전혼합기(ERMA, SR-20, Japan)로 1시간 동안 혼합한 다음 혈액분석기(ERMA, PC-604, Japan)로 적혈구수(WBC), 백혈구수(RBC), 혈색소량(Hgb) 및 헤마토크리트(Hct)를 자동 측정하였다.

4. 혈액생화학적 분석

채혈한 혈액을 상온에서 1시간 방치하여 응고시킨 후 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 생화학분석기(KONE, Finland)를 이용하여 혈장중 ALT, alkaline phosphatase(ALKP), glucose, creatine, uric acid, BUN 등을 측정하였다.

5. 간조직내 GSH 및 칼슘이온 농도 측정

약 200 mg의 간조직에 5% TCA(in 0.01M EDTA) 4.5 ml를 가하고 homogenizer로 분쇄하고 원심분리(1000 g, 10 min)하여 얻은 상층액을 GSH 및 칼슘이온 농도 측정에 사용하였다. 간조직내 비단백성 GSH의 총량은 Sedlak and Lindsay(1968) 방법에 의하여 측정하였다. 상층액 1 ml에 0.01 M EDTA용액 1 ml, 0.4 M Tris/HCl 완충액(pH 8.9) 4 ml, 0.01 M 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) 용액 0.1 ml를 가하고 잘 섞은 다음 412 nm에서 흡광도를 측정하여 간조직내 GSH를 정량하였다. 간조직내 칼슘이온 농도는 ICP(Jobin, Yvon 70 plus, France)를 이용하여 측정하였다.

6. 통계학적 방법

각 군의 측정자료에 대하여 평균치와 표준편차를 구하였고 대조군과 투여군 사이의 유의성을 Student's t-test를 사용하여 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 혈액생화학적 검사

1,2,4-TCB(200 mg/kg, 400 mg/kg)을 1회 경구투여하고 24시간 후에 측정된 여러가지 효소 및 생체대사물질의 농도 변화를 표 1에 나타내었다. 혈장의 ALT활성 증가는 간장의 조직학적 병변과 밀접한 상관관계가 있으며 화학물질에 의한 간손상의 개략적인 척도로 자주 이용되고 있다. 혈장 ALT활성은 대조군(mean 49 U/l)에 비하여 1,2,4-TCB투여 저농도군과 고농도군에서 각각 921 U/l, 1358 U/l로 용량의존적으로 크게 증가했다. 대조군의 간조직 칼슘이온 농도(mean 2.60 mmol/g liver)에 비하여 1,2,4-TCB투여 저농도군과 고농도군에는 각각 4.48 mmol/g liver, 6.31 mmol/g liver로 유의적인 증가를 보였다. 혈장 BUN농도는 대조군에서 15.01 mg/dl였으며 1,2,4-TCB투여에 의하여 용량의존적으로 증가하였다. Creatine, uric acid, GSH농도는 대조군의 것과 비교하여 400 mg/kg의 1,2,4-TCB를 투여한 군에서 유의적으로 증가하였으나, 200 mg/kg의 1,2,4-TCB를 투여한 군은 이들 생화학물질에 대하여 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

세포내 칼슘이온의 유입 및 과다한 축적은 carbon tetrachloride, D-galactosamine 등의 여러가지 화학물질

에 의해 유도된 세포괴사와 관련된 최종적인 현상으로 간주되고 있다(Farber, 1981). 간세포 괴사를 유발하는 대표적인 물질로서 bromobenzene에 대한 광범위한 연구를 통하여 이 물질에 의한 간독성 기전이 어느정도 밝혀지게 되었다. 간조직의 GSH농도 감소는 과다한 과산화지질을 형성하여 단백질-SH량의 저감을 일으킨다. 단백질-SH 손실은 세포내 칼슘이온의 항상성을 교란하여 결과적으로 세포괴사를 초래한다(Casini 등, 1987). BSO의 전처리에 의하여 1,2,4-TCB의 간독성은 증가하였으나(혈장 ALT활성 증가) 간조직내 칼슘이온 농도에는 유의적인 변화가 없었다. 따라서 BSO의 전처리에 의한 간독성의 증가는 과산화지질의 과다한 생성에 뒤따른 칼슘이온의 항상성 유지의 저해에 의한 것이 아니라고 생각된다.

체내 GSH의 저감이 1,2,4-TCB독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1,2,4-TCB를 BSO(1,2,4-TCB투여 1시간전 i.p., 2 mmol/kg)와 병용투여하여 얻은 결과를 표 2에 종합하였다. BSO는 간장과 신장의 γ -glutamylcystein synthetase활성을 특이적으로 억제하여 결과적으로 조직내 GSH농도를 용량의존적으로 저감한다(Meister, 1978). 본 연구에서도 간조직내 GSH농도는 대조군(mean 27.46 mmol/g liver)에 비하여 200 mg/kg 과 400 mg/kg의 1,2,4-TCB투여군에서 각각 21%, 24% 감소하였다. BSO와 1,2,4-TCB를 병용투여한 경우 간

Table 1. Blood biochemistry data in control and 1,2,4-TCB treated rats

Treatment	ALT (U/l)	Liver Calcium (mmol/g liver)	BUN (mg/dl)	ALP (U/ml)	Creatin (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	GSH (mmol/g liver)
Saline+Corn oil	49.70±19.23	2.60±1.66	15.01±4.57	243±100	0.53±0.12	1.05±0.49	27.46±10.02
1,2,4-TCB (200 mg/kg)	921±421**	4.48±2.34*	19.81±3.73**	274±104	0.59±0.11	1.66±1.32	21.57±4.41
1,2,4-TCB (400 mg/kg)	1,358±569**	6.31±3.20**	27.71±8.37**	286±105	0.81±0.33**	1.95±1.09*	20.80±5.13*

Each value represents mean ± S.D.

*: Significant difference from control (P < 0.05).

** : Significant difference from control (P < 0.01).

Table 2. Effects of pretreatment with BSO, microsomal monooxygenase modulators on blood biochemistry data in 1,2,4-TCB treated rats

Treatment	ALT (U/l)	Liver Calcium (mmol/g liver)	BUN (mg/dl)	ALP (U/ml)	Creatin (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	GSH (mmol/g liver)
1,2,4-TCB (200 mg/kg)	921±421	4.48±2.34	19.81±3.73	274±104	0.59±0.11	1.66±1.32	21.57±4.41
PB+TCB (200 mg/kg)	776±367	3.10±1.48*	20.30±4.56	232±141	0.72±0.20*	1.48±0.61	22.00±4.56
MP+TCB (200 mg/kg)	1,017±456	4.44±1.76*	20.07±3.96	249±131	0.59±0.24	1.20±0.55	21.66±1.86
BSO+TCB (200 mg/kg)	1,560±678**	5.08±1.86	20.51±4.47	288±140	0.61±0.15	1.36±0.66	17.74±2.42*
1,2,4-TCB (400 mg/kg)	1,358±569	6.31±3.20	27.71±8.37	286±105	0.81±0.33	1.95±1.09	20.80±5.13
PB+TCB (400 mg/kg)	1,102±415	4.33±1.93	26.02±7.87	243±131	0.75±0.29	1.35±0.71	20.84±5.10
MP+TCB (400 mg/kg)	1,348±400	4.94±2.00	27.74±7.89	267±105	0.68±0.28	1.32±0.58	21.66±3.78
BSO+TCB (400 mg/kg)	1,932±550**	5.59±1.98	29.46±7.51	306±103	0.85±0.36	1.47±0.82	14.56±1.70**

Each value represents mean ± S.D.

*: Significant difference from treatment group with the same dose of 1,2,4-TCB (P < 0.05).

** : Significant difference from treatment group with the same dose of 1,2,4-TCB (P < 0.01).

조직내 GSH농도는 동일 용량의 1,2,4-TCB만을 투여한 경우에 비하여 1,2,4-TCB의 저용량군 및 고용량군에서 각각 18%, 30%로 감소하여 두 군간의 유의적인 차이를 보였다. 조직내 GSH는 bromobenzene(Jollow 등, 1974), acetaminophene(Michell 등, 1973), cocaine(Evans and Harbison, 1978) 등과 같은 여러가지 이물질의 해독작용에 관여한다. 세포내 GSH농도가 저감된 경우 활성대사체를 해독할 수 있는 세포의 능력이 저하되기 때문에 세포내에 활성대사체가 축적되어 독성이 증가된다(Smith and Rush, 1990). 이러한 연구결과들과 일치하여 ALT활성에 의한 간독성 평가에서 1,2,4-TCB 투여군(200 mg/kg, 400 mg/kg)에 비하여 BSO를 전처리한 경우 ALT활성은 각각 42%, 69% 증가하였다. 그러나 간조직 칼슘, BUN, ALP, creatine 및 uric acid는 1,2,4-TCB 투여군과 BSO+1,2,4-TCB 투여군간에 유의적인 차이가 없었다.

일반적으로 벤젠의 할로겐유도체들은 대사과정에 의하여 형성된 epoxide 유도체나 quinone류들이 생체 거대분자와 결합하여 독성작용을 나타내는 것으로 여겨지고 있다. 따라서 대사활성을 조절하는 물질들에 의하여 벤젠의 할로겐유도체들의 독성이 변화되는 것이 많은 실험결과에서 밝혀졌다. 예를 들면, bromobenzene(Jollow 등, 1974; Lau 등 1980, 1984), 1,2-dichlorobenzene(Stine 등, 1991), hexachlorobenzene (van Ommen 등, 1989)의 독성은 cytochrome P450 iso-

zymes을 유도하는 물질에 의하여 증가하며 cytochrome P450 isozymes을 억제하는 물질들에 의하여 감소한다. 대사활성이 1,2,4-TCB의 간독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 cytochrome P450 isozymes 억제제(MP)와 유도제(PB)를 전처리하고 1,2,4-TCB의 독성 변화를 조사하였다. 혈장 creatine만이 200 mg/kg의 1,2,4-TCB 투여군에서 PB전처리에 의하여 유의적으로 증가하였으나, 다른 생체대사물이나 효소활성에 있어서는 PB나 MP전처리에 의하여 유의적인 영향이 없었다(Table 2). 생체대사가 1,2,4-TCB의 독성에 미치는 영향을 정확하게 밝히기 위해서는 *in vivo*에서의 1,2,4-TCB의 대사경로, 대사활성체의 규명 및 cytochrome P450 isozymes의 조절물질에 의한 1,2,3-TCB의 대사에 미치는 영향에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

2. 혈액학적 검사

1,2,4-TCB(200 mg/kg, 400 mg/kg)가 혈구수 및 헤마토크리트에 미치는 영향을 표 3에 종합하였다. 1,2,4-TCB 투여군(200 mg/kg)의 백혈구수는 $5.501 \pm 1.48 \times 10^6$ 으로 대조군의 것에 비하여 23.3% 감소하였으나 유의성은 없었으며 적혈구수(10.5%), 헤모글로빈(13.1%), 헤마토크리트(13.5%)는 유의적으로 증가하였다. 백혈구수에 있어서는 1,2,4-TCB 단독투여군과 PB+1,2,4-TCB 또는 MP+1,2,4-TCB군간에 유의적인 차이가 없

Table 3. Hematology data in control and 1,2,4-TCB treated rats

	WBC ($\times 10^3/dl$)	RBC ($\times 10^6/\mu l$)	Hct (%)	Hgb (g/dl)
Control	7.17 \pm 2.23	7.02 \pm 0.52	36.28 \pm 3.42	13.04 \pm 0.96
1,2,4-TCB (200 mg/kg)	5.50 \pm 1.48	7.76 \pm 0.58**	41.18 \pm 3.09**	14.75 \pm 1.13*
1,2,4-TCB (400 mg/kg)	6.37 \pm 3.19	7.39 \pm 0.89	38.70 \pm 4.30	13.40 \pm 1.52

Each value represents mean \pm S.D.

*: Significant difference from control ($P < 0.05$).

**: Significant difference from control ($P < 0.01$).

Table 4. Effects of pretreatment with BSO, microsomal monooxygenase modulators on hematology data in 1,2,4-TCB treated rats

Treatment	WBC ($\times 10^3/\mu l$)	RBC ($\times 10^6/\mu l$)	Hct (%)	Hgb (g/dl)
1,2,4-TCB (200 mg/kg)	5.50 \pm 1.48	7.76 \pm 0.58	36.28 \pm 3.42	13.04 \pm 0.86
PB+TCB (200 mg/kg)	7.46 \pm 3.75	7.46 \pm 0.44	40.22 \pm 3.31	13.80 \pm 1.03
MP+TCB (200 mg/kg)	4.93 \pm 1.24	7.44 \pm 1.00	39.44 \pm 6.30	14.06 \pm 1.85
BSO+TCB (200 mg/kg)	3.04 \pm 1.42*	6.73 \pm 0.51**	34.88 \pm 3.02**	13.02 \pm 1.42*
1,2,4-TCB (400 mg/kg)	6.37 \pm 3.19	7.39 \pm 0.89	38.70 \pm 4.30	13.40 \pm 1.52
PB+TCB (400 mg/kg)	1.102 \pm 415	4.33 \pm 1.93**	26.02 \pm 7.87*	24.30 \pm 1.31**
MP+TCB (400 mg/kg)	6.27 \pm 2.09	7.91 \pm 0.49	40.89 \pm 2.14	14.59 \pm 0.83
BSO+TCB (400 mg/kg)	5.97 \pm 2.41	7.89 \pm 0.68	39.88 \pm 4.42	14.73 \pm 1.26

Each value represents mean \pm S.D.

*: Significant difference from treatment group with the same dose of 1,2,4-TCB ($P < 0.05$).

**: Significant difference from treatment group with the same dose of 1,2,4-TCB ($P < 0.01$).

었다. 적혈구수, 헤모글로빈, 헤마토크리트에 있어서는 1,2,4-TCB의 투여 용량에 따라서 PB와 MP의 전처리 결과가 상반되게 나타났다(Table 4). 즉 1,2,4-TCB를 200 mg/kg을 투여한 실험군에 있어서 PB, MP 전처리에 의하여 적혈구수, 헤모글로빈, 헤마토크리트는 감소하였으나 1,2,4-TCB를 400 mg/kg 투여한 시험군에서는 적혈구수, 헤모글로빈, 헤마토크리트는 PB 전처리에 의하여 유의적으로 증가하였다. BSO의 전처리에 의한 1,2,4-TCB의 독성 변화는 고농도보다 낮은 농도에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. 적혈구수, 백혈구수, 헤모글로빈 및 헤마토크리트는 1,2,4-TCB(200 mg/kg) 투여군에 비하여 BSO+1,2,4-TCB(200 mg/kg)군에서 유의적으로 감소되었으나 400 mg/kg의 1,2,4-TCB를 투여한 경우에는 BSO의 전처리에 의하여 이들 혈액학적 성분에 유의적인 변화가 없었다.

여러가지 노출경로 및 동물종을 이용한 실험에서 1, 2,4-TCB가 조혈기능에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. Rao(1982) 등은 1,2,4-TCB(450 mg/kg)를 1주일에 5일동안 4주간 피부에 노출시킨 웅성 토끼의 뇨에서 coproporphyrin농도가 증가되는 것을 발견하였다. 또한 Swiss white mice에 1,2,4-TCB(500 mg/m³)를 하루에 7시간씩 3주간 흡입시킨 결과 골수장애를 나타내는 혈구수의 변화가 관찰되었다(Zub, 1978). 이러한 사실들과 일치하여 1,2,4-TCB(200 mg/kg, 400 mg/kg)를 쥐에 1회 경구투여한 본 실험의 결과에서도 대조군에 비하여 1,2,4-TCB투여군에서 WBC수는 감소하였고 RBC, Hgb, Hct는 증가하였다.

참고문헌

- Anon (1977): Investigation of selected potential environmental contaminants; Halogenated benzenes, EPA 560/2-77-044. Environmental Protection Agency, Washington, D. C.
- Anon (1980): Ambient water quality criteria for chlorinated benzenes; EPA 440/5-80-028. Environmental Protection Agency, Washington, D. C.
- Brown, V.K.H., Muir, C., and Thorpe, E. (1969): The acute toxicity and skin irritant properties of 1,2,4-trichlorobenzene. *Ann. Occup. Hyg.* **12**, 209-212.
- Casini, A.F., Maellaro, E., Pompella, A., Fellari, M., and Comporti, M. (1987): Lipid peroxidation, protein thiols and calcium homeostasis in bromobenzene-induced liver damage. *Biochem. Pharmacol.* **36**, 3689-3695.
- Den Besten, C., Vet, J.J.R.M., Besselink, H.T., Kiel, G.S., van Berkel, B.J.M., Beems, R., and Bladeren, P.J. (1991): The liver, kidney, and thyroid toxicity of chlorinated benzenes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **111**, 69-81.
- Evans, M.A., and Harbison, R.D. (1978): Cocaine-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **45**, 739-754.
- Farber, J.L. (1981): The role of calcium in cell death. *Life Sci.* **29**, 1289-1295.
- Gaffney, P.E. (1976): Carpet and rug industry case study I: Water and waste water treatment plant operation. *J. Water Pollut. Control Fed.* **48**, 2590-2598.
- Jollow, D.J., Mitchell, J.R., Zampaglione, N. and Gillette, J.R. (1974): Bromobenzene-induced liver necrosis: Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology.* **11**, 151-158.
- Lau, S.S., Monks, T.J., and Gillette, J.R. (1984): Multiple reactive metabolites derived from bromobenzene. *Drug Metab. Dispos.* **12**, 291-296.
- Lau, S.S. Abrams, G.D., and Zannoni, V.G. (1980): Metabolic activations and detoxification of bromobenzene leading to cytotoxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **214**, 703-708.
- Meister, A. In: H. Sies and A. Wendel (Eds.), Functions of Glutathione in Liver and Kidney., Springer, Berlin.
- Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Potter, W.Z., Gillette, J.R., and Brodie, B.B. (1973): Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **187**, 211-217.
- Mizutani, T., Nakahori, Y., and Yamamoto, K. (1994): p-Dichlorobenzene-induced hepatotoxicity in mice depleted of glutathione by treatment with buthionine sulfoximine. *Toxicology.* **94**, 57-67.
- Rao, K.S., Johnson, K.A., and Henck, J.W. (1982): Subchronic dermal toxicity study of trichlorobenzene in the rabbit. *Drug Chem. Toxicol.* **5**, 249-263.
- Rimington, C., and Ziegler, G. (1963): Experimental porphyria in rats induced by chlorinated benzenes. *Biochem. Pharmacol.* **12**, 1387-1397.
- Sedlak, J. and Lidsay, R.H. (1968): Estimation of total, protein-bound, and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* **25**, 192-205.
- Smith, P.F., and Rush, G.F. (1990): The role of glutathione in protection against chemically induced cell injury. In: R.S. Goldstein, W.R. Hewitt and J. B. Hook (Eds.), Toxic Interactions, Academic Press, San Diego.
- Stine, E.R., Gunawardhana, L., and Sipes, I.G. (1991): The acute hepatotoxicity of the isomers of

- dichlorobenzene in Fischer-344 and Sprague-Dawley rats: Isomer-specific and strain-specific differential toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **109**, 472-481.
- Van Ommen, B., Hendriks, W., Bessems, J.G.M., Geesink, G., Muller, F., and van Bladeren, P.J. (1989): The relation between the oxidative biotransformation of hexachlorobenzene and its porphyrinogenic activity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **100**, 517-528.
- Veith, G.D., Kuehl, D.W., Leonard, E.N., Publishi, F. A., and Gray, L.E. (1979): Polychlorinated biphenyls and other organic chemical residues in fish from major watersheds of the U.S. *Pestic. Monit. J.* **13**, 1-11.
- WHO (1991): Environmental health criteria 128; Chlorobenzenes other than hexachlorobenzene.
- Zub, M. (1978): Reactivity of the white blood cell system to toxic action benzene and its derivatives. *Acta bio. Cracoviensia.* **21**, 163-174.