

톨루엔 흡입이 신경세포에 미치는 독성

김대병¹ · 류종훈 · 신대섭 · 이종권 · 정경자 · 류승렬 · 최기환 · 이선희 · 김부영 · 윤여표*
식품의약품안전본부 독성연구소, *충북대학교 약학대학

Toxic Effect of Inhaled Toluene on the Neural Cell

Dai Byung Kim¹, Jong Hoon Ryu, Dai Sup Shin, Jong Kwon Lee, Kyung Ja Jung,
Seung Rel Ryu, Ki Hwan Choi, Sun Hee Lee, Pu Young Kim and Yeo Pyo Yoon*

Korea Food and Drug Administration,

National Institute of Toxicology Research, Seoul 122-020, Korea

*College of pharmacy, Chungbuk National University, Chungju, 361-763, Korea

(Received August 24, 1997)

(Accepted September 10, 1997)

ABSTRACT : Toluene inhalation increases glutamate level and its receptor in various brain regions. In this study, nitric oxide synthase (NOS) activities were investigated in various rat brain regions using NADPH diaphorase staining method which examined histochemical changes of NOS in the neural cells. Also, *in vitro* LDH leakage assay and MTT test were performed to investigate the toxic influences of toluene in cultured granule cell of rat cerebellum which was significantly affected with toluene *in vivo*. Rats were exposed to toluene of 10000 ppm for 3 days, 7 days and 14 days by 20 min × 2 times a day. NADPH diaphorase staining was processed in the different brain regions after inhalation. NADPH diaphorase staining density was not significantly changed at 3 days inhalation group, but the density decreased in proportion to the duration of toluene inhalation. Over 30% of staining density was decreased at 14 days group which was maximum duration of inhalation in this study. The tendency of staining density decrease was significant in granule cell of cerebellum. Cell death by toluene exposure was observed in cultured cerebellar granule cell. EC_{50} measured with LDH leakage assay and MTT test were 43 mM and 72 mM respectively.

Key Words : Toluene, NADPH diaphorase, Nitric oxide, Nitric oxide synthase, MTT test, LDH leakage assay, Granule cell

I. 서 론

톨루엔 흡입시 나타나는 이상 행동 및 중추신경계에 미치는 영향과 독성을 야기시키는 작용기전, 뇌조직의 변화 등에 관하여 많은 연구가 보고되고 있다. Arito 등 (1982; 1985)은 톨루엔을 반복하여 복강주사하였을 때 수면 및 행동변화와 뇌중 monoamine과 그 대사체의 변화에 대한 상관관계를 보고하였으며 Steinar 등 (1988)은 톨루엔 흡입에 의한 뇌중 신경전달물질 합성 효소의 변화를 측정하였으며, Mutti 등(1988)은 여러가지 유기용매에 대한 dopamine의 영향에 대해 보고하였다. 특히 랫드에 대한 톨루엔의 급성 및 아만성 중독시 dopamine과 norepinephrine 등의 신경전달물질에 대한

많은 보고가 있으나(Rea 등, 1984; Fuxe와 Andersson 등, 1995; Ikeda 등, 1986; von Euler 와 Fuxe 등, 1985; Arito 등, 1985; Bruckner 등, 1981), 급성 노출시와 아만성 또는 만성적으로 노출시 신경전달 물질의 양은 매우 다른 양상으로 나타나며 또한 만성노출인 경우에도 신경전달물질을 측정하는 시간간격에 따라 급성노출의 효과가 나타나는 경우도 있기 때문에 신경전달 물질의 변화에 대한 결론을 내리기는 매우 어려운 것으로 생각된다.

최근 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 합성되는 nitric oxide (NO) 는 새롭게 주목받고 있는 신경전달 물질로 NMDA 수용체를 경유하여 신경보호작용 또는 신경독성작용을 나타내어 신경세포에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Lipton 등, 1993). NOS의 뇌조직 내의 분포가 nicotinamide adenine dinucleotide phos-

¹To whom correspondence should be addressed

phate diaphorase(NADPHd)의 분포와 일치한다고 보고된 이래, 쉽게 실시할 수 있는 NADPHd의 염색으로 뇌 조직내에서의 그 분포를 확인할 수 있게 되었으며 이에 관한 많은 보고가 있다(Dawson 등, 1991; Snyder 등, 1989; Hope 등, 1991). 최근 톨루엔 흡입은 뇌의 많은 부위에서 글루타민의 농도증가 및 그 수용체의 증가를 유발한다는 보고가 있다(Bjornaes 등, 1988; Lee 등, 1995). 저자들은 아직까지 뇌신경조직에 어떠한 기전으로 독성을 나타내는지 분명히 밝혀져 있지 않은 톨루엔의 흡입시 나타나는 글루타민의 양적증가와 이와 동반한 NMDA수용체의 활성이 NOS의 활성을 유도하여 NO의 증가를 야기하며 이것이 뇌 신경세포에의 독성으로 이어질 것이라는 가정을 하게 되었다.

따라서 저자들은 본드의 흡입과 같은 고농도의 톨루엔 흡입시 나타나는 뇌신경세포에의 독성을 확인하는 일련의 실험중, 본연구에서는 톨루엔 흡입이 NO의 합성효소에 어떠한 영향을 미치는지를 NADPHd 염색방법을 이용하여 뇌신경세포의 조직화학적 변화를 랫드 뇌의 여러 부위에서 조사하였으며 톨루엔이 영향이 현저하게 나타난 소뇌의 granule cell을 배양하여 LDH leakage 측정 및 MTT 시험으로 *in vitro*에서 톨루엔의 영향을 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 흡입노출

식품의약품안전본부 독성연구소에서 사육한 5주령의 Sprague-Dawley Rat를 실험실내의 사육실에서 약 3주간 적응시킨후 실험에 사용하였다. 사육실내의 온도는 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도는 $50 \pm 20\%$ 이며 조명은 오전 8시에 꺼지고 오후 8시에 켜지도록 자동적으로 조절하였으며, 랫드는 polycarbonate cage(5마리/cage)에서 사육하고 물 및 사료는 자유급식 하였다.

흡입노출은 Heated liquid vaporization apparatus를 사용하여 톨루엔의 증기를 생성시켜 10000 ppm에 도달하도록 한다음, 흡입챔버에서 30분간 방치하였다. 챔버내의 공기 유통수는 시간당 17회로 조정하였다. 동일한 조작을 1시간 간격으로 1일 2회 실시하였다(김 등, 1994).

2. 조직염색

1) 관류고정

흡입 챔버에서 흡입시킨후 랫드를 꺼내어 urethane

(0.5 g/ml) 을 마리당 0.5 ml씩 복강에 주사하여 마취시킨 후 흉강을 절개하고 신속히 좌심실을 통해 상대동맥으로 삼관술을 시행하고 우심방을 절개하여 방혈을 유도한후 0.1 M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4, 4°C)을 관류시켜 완전히 방혈시킨 후 4% paraformaldehyde, 0.2% glutaraldehyde(in 0.1 M phosphate buffer, 4°C)를 차례로 약 20분간 관류시켜 전신을 고정하였다.

관류고정을 마친 랫드에서 뇌를 적출하고 약 4 mm의 두께로 절단하여 4% paraformaldehyde(in 0.1 M phosphate buffer, 4°C)에 넣고 약 2시간 동안 후고정을 시행하고 4°C 30% sucrose(in PBS) 용액에 침적시켜 4°C 에서 7일간 방치하였다. 30% sucrose에 침적된 뇌조직을 microtome을 이용하여 -20°C 에서 약 30 μm 의 두께로 동결절편을 만들어 Tris-buffered saline(TBS) 용액에 넣어 냉장보관하였다.

2) NADPHd 염색 및 정량분석

조직절편을 TBS용액에서 2회(5분간) 세척한 다음, Tris buffer-Triton X-100 (0.2%)(TBT) 용액을 넣고 15분간 37°C 에서 incubation하였다. 0.2 mM nitroblue tetrazolium과 1 mM NADPH로 된 반응액을 2-3 ml (30개 절편)씩 넣고 45분간 37°C 에서 incubation하였다. Incubation이 끝나면 5분씩 3회 TBS로 실온에서 세척한 것을 slide위에 올리고 증류수에 약 5분간 담근다. 반응의 종료후 완전히 건조시킨 다음 100% Xylene으로 3회 세척하고 permount로 봉입하였다.

3) 현미경 관찰 및 정량분석

각 군당 5-6마리에서 선택하여 조직화학염색을 실시하여 각 동물에서 최소 4절편을 광학현미경 200배하에서 영상분석기 (IBAS)를 사용하여 상대적 정량분석을 실시하였다. 유의성 검정은 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법으로 실시하였다. 통계학적 유의성은 $p < 0.05$ 에서 인정하였다.

3. 신경세포 변화측정

1) 소뇌 과립세포의 배양

생후 5-6일된 Long Evans hooded new born rat의 소뇌에서 과립세포를 분리하였다. 세포를 분리하기 전에 seeding할 well을 poly-lysine (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 으로 약 2시간 정도 coating한다. Pup을 치사시킨 다음 100% ethanol에 담갔다가 바로 빼낸후에 clean bench 내에서 소뇌를 신속하게 분리하였다. 소뇌를 분리하여 37°C 의 Krebs

Ringer Bicarbonate(KRB) buffer에 담가둔다. 2-5개의 소뇌를 모아 다시 한번 KRB buffer로 세척한 후 trypsin (2.5 mg/ml), deoxyribonuclease (0.5 mg/ml)로 37°C에서 약 20분간 incubation 하였다. 효소의 작용을 정지시키기 위해 Fetal Bovine Serum(FBS)를 함유한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM, Gibco, USA)을 가하고 수회 pipetting한후 100 µm Nitex screen (Spectrum, USA)으로 여과 하였다. 이액을 1000 rpm에서 원심분리한후 상층액을 버리고 pellets을 medium으로 재분산시켰다. 이액을 다시 30 µm Nitex screen으로 여과하여 세포수가 0.6×10^6 cells/ml 되도록 희석하였다. 이 세포액을 미리 poly-lysine으로 coating한 12 well(Coming, USA)에 1 ml씩 접종하였다. 세포 분리 48시간 후에 glial cell을 제거하기 위해 cytosine arabinoside (Sigma, USA)를 가하였다. 이렇게 분리한 세포는 7일간 배양한 후 실험에 사용하였다.

2) LDH leakage assay

7일간 배양한 세포의 배지를 실험전에 모두 제거하였다. 톨루엔을 농도별로 (10-160 mM) 세포에 처리한 후 완충액 50 µl를 취하여 30°C로 pre-warming된 lactate와 NAD⁺를 포함한 sigma assay kit 용액(Sigma, USA)에 넣어 반응시켰다. 세포내에서 세포외로 유출되어 나온 LDH가 lactate, NAD⁺와 반응하여 pyruvate와 NADH가 되며 이때 생성되는 NADH 양의 변화로 LDH leakage 정도를 측정하였다. LDH leakage는 UV-spectrophotometer(Milton Roy, USA)를 사용하여 wavelength 340 nm에서 1분간 UV absorbance 변화로 측정하였다. 각 세포별 LDH 총량을 측정하기 위하여 충분한 양의 Triton X-100(Sigma, USA)을 가하고 pipetting하여 모든 세포막을 파괴한후 각 세포의 총 LDH 양을 측정하였다. 결과는 각 세포의 LDH 총량에 대한 퍼센트로 표시하였다.

3) MTT reduction test

Mitochondrial succinate dehydrogenase의 효소활성을 측정하여 mitochondria의 안정성과 세포 생존율을 검색하는 시험법인 MTT reduction test를 톨루엔이 세포에 미치는 영향에 대하여 실시하였다. 각 농도별(10-160 mM)로 배지를 이용하여 희석후 37°C로 warming 한 후, 각 well의 배지를 모두 제거하여 MTT(2 mg/ml)를 가해 37°C에서 반응 시켰다. 배지 일부분 제거하고 sulfoxide (Sigma, USA)를 첨가하여 약 5분간 진탕시킨 후 96 well plate에 crystal formazan(Sigma, USA)용액 200 µl를 넣어 microplate reader (Molecular Device, USA)를 이용

하여 540 nm에서 optical density를 측정하였다. 시험결과는 정상 세포에 대한 퍼센트로 표시하였다.

III. 결 과

1. NADPHd의 염색능에 대한 톨루엔의 효과

NADPHd의 염색은 뇌의 전부위에서 관찰할 수 있었으며 특히 선조체, 해마, 소뇌에서의 결과를 Fig. 1에

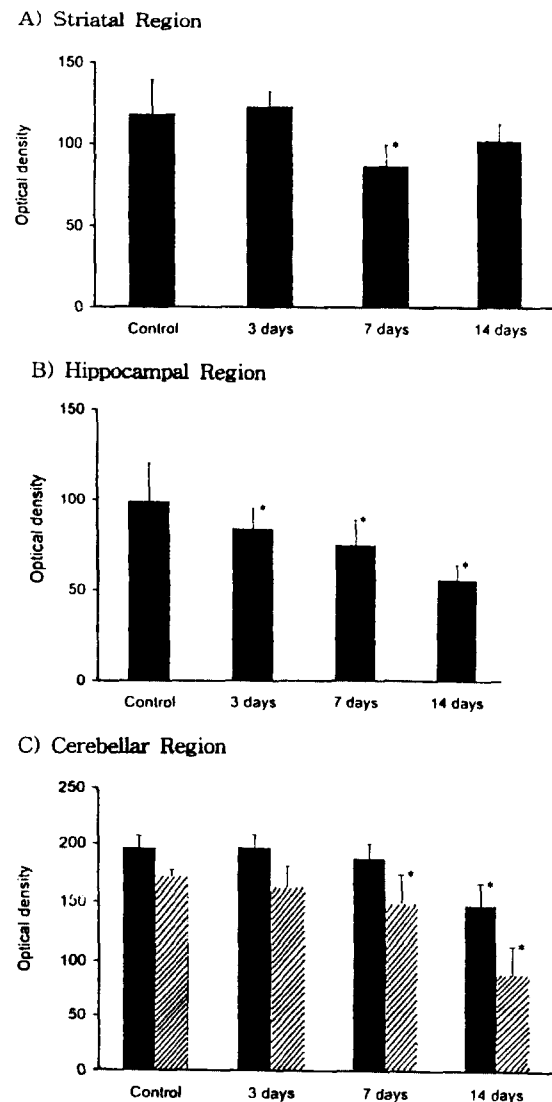


Fig. 1. The optical density of NADPHd (NADPH-diaphorase) was measured in the A) striatal region, B) hippocampal region, C) cerebellar molecular layer (■) and cerebellar granula region (▨) by an image analyzer. Gray scale 0 is black, 255 is white. Rats were exposed to toluene of 10000 ppm for 3 days, 7 days and 14 days by 20 mins \times 2 times/day. Each data are the mean \pm S.D for determinations of each region in 5 animals. Statistical comparisons used an one-way analysis of variance (* $p < 0.05$ compared to control).

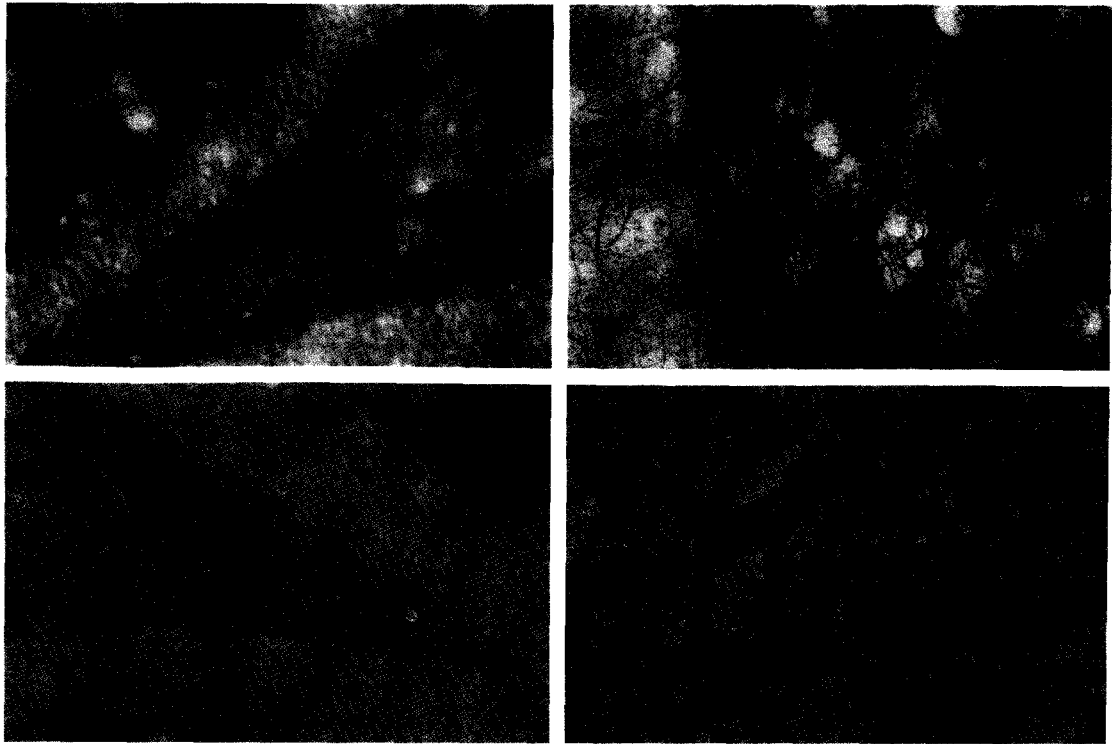


Fig. 2. NADPH diaphorase staining was processed in the hippocampal and striatal regions of rat. Rats were exposed to 10000 ppm toluene 20 min \times 2 times a day for 7 days. A and B are normal hippocampal and striatal regions. C and D are damaged hippocampal and striatal regions of toluene exposed rat (NADPH diaphorase staining \times 200).

나타내었다. 톨루엔의 흡입에 의해 NADPHd의 염색능은 3일 동안의 흡입에 의해서는 유의적인 변화를 관찰할 수 없었으나, 흡입시간이 늘어남에 따라 염색능은 점차 감소하는 경향을 보였고(Fig. 1, 2), 최장 흡입기간인 3주째에는 모든 부위에서 약 30% 이상 감소되었다. 또한 이러한 감소의 경향은 소뇌의 과립세포 부위에서 더욱 현저하였다(Fig. 1, $p < 0.05$).

2. 배양 소뇌세포에 미치는 톨루엔의 영향

배양된 소뇌의 과립세포에 대한 톨루엔은 세포에서의 LDH의 유출을 유도하여 세포막의 손상을 야기하며, 고농도의 톨루엔을 배양하였을 때 세포사를 관찰할 수 있었다. 톨루엔의 농도가 높아짐에 따라 유출되는 LDH의 양도 용량의존적으로 증가하였으며, 50% 유효농도(EC_{50})는 43 mM(26.19-70.80)이었다. 세포의 생존율을 확인할 수 있는 MTT assay에서도 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 대조군에서의 효소의 양을 100%로 환산하여 톨루엔의 농도에 따른 변화량을 백분율로 표시하였을 때, 효소의 양은 톨루엔의 농도에 따라 용량의존적으로 감소하였다. MTT assay에서의 톨루엔의 50% 유효농도(EC_{50})는 72 mM(61.38-84.19 mM)이었다.

IV. 고 찰

톨루엔은 매우 유해한 유기용매로 산업적으로 대량 사용되고 또한 청소년들이 환각의 목적으로 흡입하는 본드에 함유되어 있는 여러가지 유기용매중 가장 중추신경계에 미치는 영향이 큰 것으로 알려져 있다(김 등, 1994). 지금까지의 많은 연구는 산업장에서 노출가능한 정도의 농도에서 실시되어져 왔으나, 본드의 흡입 시에는 단시간, 그리고 매우 높은 농도로 흡입되기 때문에 이와같은 연구시에는 고농도에서의 영향을 검토할 필요성이 있다.

본 연구에서 저자들은 톨루엔의 흡입이 NOS의 염색능을 감소시키며, 이것은 톨루엔 흡입기간이 길면 길수록 감소하는 경향이 더욱 현저함을 확인할 수 있었다. 또한 소뇌의 과립세포에서는 다른 부위보다도 감소되는 경향이 뚜렷하였다. 소뇌 배양세포에서도 톨루엔의 노출은 세포막에 손상을 미치며, 결국에는 세포사까지 영향을 미친다는 사실이 확인되었다.

NOS는 L-arginine으로부터 NO를 합성하는 효소로서 여러가지 isoform이 있다고 보고되어 있으며, 뇌에서 검출되는 NOS는 nNOS 혹은 cNOS로 표현되며 이는 NADPHd와 동일하다고 보고되어 있다(Dawson 등,

1991). NADPHd의 염색은 간단하며 적은 비용으로 실시할 수 있는 실험으로 NOS의 분포 및 신경세포의 형태의 확인에 매우 유용한 방법이다. NOS는 뇌의 여러 부위에서 그 염색을 확인할 수 있으며 흥분성 아미노산, 즉 글루타민을 매개로 한 NMDA 수용체에 의해 유도 및 활성화된다. NMDA수용체의 과다한 흥분은 허혈로 인한 뇌손상, 파킨슨씨병, 간질 및 AIDS 관련 치매증상 등과 같은 많은 뇌질병에 관여한다(Choi, 1988; Moncada 등, 1992; Lipton, 1990; Slomianka 등, 1990). 랫드에 톨루엔을 흡입시켰을 때, 흥분성 아미노산의 함량이 유의적으로 증가한다고 하는 많은 보고가 있으며, 글루타민 합성효소의 활성 또한 증가된다고 보고되어 있다(Bjornaes 등, 1988; Lee 등, 1995). 흥분성 아미노산의 증가는 NMDA 수용체의 활성을 유도하며, 이는 NOS의 활성화로 연결된다고 생각되어진다. 그러나 본 연구에서는 모든 부위에서 NOS의 염색능의 저하가 관찰되었다(Fig. 1, 2). Lipton 등(1993)은 NOS에 의해 생성된 NO가 superoxide와 반응하여 OONO-로 되며 이것이 신경독성을 나타내지만 NO단독으로는 작용을 하지 못한다고 보고하고 있으며, NMDA 수용체의 산화, 환원의 상태에 따라 신경독성 혹은 신경보호작용을 한다고 보고하고 있다. 본 연구에서 모든 부위에서 NOS의 염색능이 감소되었다는 것은 다음과 같이 추측할 수 있겠다. 첫째, 톨루엔의 흡입으로 뇌내의 여러부위에서 글루타민의 농도증가가 일차적으로 신경세포에의 독성을 유발시켜 세포의 activity를 저하시켜 그것이 NOS의 활성저하로 연결되었을 것이라고 생각할 수 있다. 즉, 톨루엔이 비특이적으로 세포막의 인지질과 결합하여 세포막의 유동성에 영향을 미쳐 결국에는 NOS의 활성저하를 유발시켰을 것이다. 이것은 다음에 설명되는 *in vitro*의 실험에 의해서도 설명되어진다. 둘째, NMDA 수용체가 생성된 여러 형태의 NO 그룹에 의해 비활성형으로 전환되어 NOS의 down regulation을 유발시켰다고 가정할 수 있다. 즉, NO는 내인성의 cystein(cys)과 결합하여 cys-NO로서 NMDA 수용체의 redox site에 결합한 후 NMDA 수용체의 비활성화를 유발시킨다고 생각할 수 있다. 이때에 NO는 신경 보호 작용을 가지며, NOS의 down regulation이 발생할 것이다. 또한 SOD의 활성의 정도도 NO의 신경 보호작용 및 신경독성 작용에 영향을 미칠 가능성이 있다.

소뇌의 분자세포층과 과립세포층 모두에서 강한 NOS의 염색능을 관찰할 수 있었다. 이는 톨루엔의 흡입에 의해 점차 감소하였으며, 특히 과립세포층에서 더욱 감소하였다(Fig. 1). 해마조직에서도 유사한 결과

를 얻을 수 있었는데, 특히 해마의 과립세포층을 구성하고 있는 dentate gyrus 부위에서 NOS의 염색능의 저하가 관찰되었다(Fig. 2). Slomianka 등(1991)은 어린 랫드에 톨루엔을 흡입시켰을 때 해마의 과립세포에 특이적으로 형태학적인 변화를 관찰하였다고 보고하고 있다. 이는 해마의 과립세포층에서 NOS의 염색능이 감소되었다는 사실을 뒷받침하며, 톨루엔의 흡입은 과립세포에 특이적으로 영향을 미칠 가능성이 있다고 생각되어진다. 또한 선조체의 과립세포에 대한 염색능도 해마와 마찬가지로 저하되어있으며 과립세포의 형태학적 변화가 관찰되었다. 이상의 결과는 NOS가 톨루엔의 뇌신경조직 손상에 대하여 보호작용을 나타내는 것인지 아니면 톨루엔의 직접적인 작용에 의하여 NOS의 염색능이 저하된 것인지에 대하여는 추가실험을 통하여 확인되어야 할 것이다.

톨루엔의 효과가 현저하게 나타난 소뇌의 과립세포를 배양하여 톨루엔에 노출시켜 배양세포에 대한 영향을 LDH leakage 시험과 MTT 시험으로 확인하였다. Hasson 등(1988)은 선조체의 신경세포 및 astroglia에 대한 톨루엔의 효과를 보고하였다. Astroglia의 배양에서는 40 $\mu\text{mol/ml}$ 정도의 농도에서부터 영향을 미치며 신경세포에는 75 $\mu\text{mol/ml}$ 에서도 영향이 없다고 보고하고 있다. 본 실험의 결과에서는 톨루엔의 농도가 높아짐에 따라 유출되는 LDH의 양도 용량의존적으로 증가하였으며, MTT 시험에서도 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 Hasson 등의 보고와는 다른 것으로, 이는 신경세포의 종류에 기인된 것으로 생각되어진다. *In vivo*에서의 사용한 톨루엔의 농도와 그와 상응하는 *in vitro*에서의 농도를 결정하는 것은 매우 어렵다. 따라서 두가지의 조건에서 사용한 농도는 각기 다른 관점에서 고찰되어야 한다.

결론적으로 *in vivo*에서의 톨루엔의 흡입은 뇌의 여러부위에서 NOS의 염색능을 저하시키며 이러한 감소는 과립세포군에서 더욱 현저하였다. 또한 *in vitro*의 실험에서 톨루엔은 소뇌의 과립세포에 영향을 미치며 이는 LDH leakage 실험과 MTT 시험에서 확인할 수 있었다.

참고문헌

- Arito, H., Tsuruta, H., Nakagaki, K., Shigeru, T. (1984) : Acute effect of toluene on circadian rhythms of sleep-wakefulness and brain monoamine metabolism in rats, *Toxicology*, **33**, 291.
- Arito, H., Tsuruta, H., Nakagaki, K. and Tanaka, S. (1985) : Partial insomnia, hyperactivity and hy-

- perdipsia induced by repeated administration of toluene in rats; their relation to brain monoamine metabolism, *Toxicology*, **37**, 99.
- Bjornaes, S. and Naalsund, L.U. (1988): Biochemical changes in different brain areas after toluene inhalation, *Toxicology*, **49**, 367.
- Bruckner, J.V., Richard, G.P. (1981): Evaluation of toluene and acetone inhalant, *Toxicol. Appl. Pharm.*, **61**, 27.
- Choi, D.W. (1988): Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system, *Neuron*, **1**, 623.
- Dawson, T.M., Bredt, D.S., Fotuhi, M., Hwang, P.M. and Snyder, S.H. (1991): Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissue, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88**, 7799.
- Fuxe, K., Andersson, K., Nilsen, O.G., Toftgard, R., Eneroth, P. and Gustafsson, J.A. (1985): Toluene and telencephalic dopamine; selective reduction of amine turnover in discrete DA nerve terminal systems of the anterior caudate nucleus by low concentrations of toluene, *Toxicol. Lett.*, **12**, 115.
- Hasson, E., Euler, G.V., Fuxe, K. and Hasson, T. (1988): Toluene induces changes in the morphology of astroglia and neurons in striatal primary cells, *Toxicology*, **49**, 155.
- Hope, B.T., Michael, G.J., Knigger, K.M. and Vincent, S.R. (1991): Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88**, 2881.
- Ikeda, M., Koizumi, A., Kasahara, M. and Fujita, H. (1986): Combined effects of n-hexane and toluene on norepinephrine and dopamine levels in rat brain tissues after long-term exposures, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **36**, 510.
- Lee, S.H., Shin, D.S., Kim, P.Y. (1995): Changes of amino acid neurotransmitter contents in rat brain by toluene inhalation, *J. Appl. Pharmacol.*, **3**, 91.
- Lipton, S.A., Choi, Y.B., Pan, Z.H., Lei, S.Z., Chen, H. S.V., Sucher, N.J., Loscalzo, J., Singel, D.J. and Stamler, J.S. (1990): A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodegenerative effects of nitric oxide and related nitroso-compounds, *Nature*, **364**, 624.
- Lipton, S.A. (1990): Models of neuronal injury in AIDS: another role for the NMDA receptor? *Trends Neurosci.*, **15**, 75.
- Moncada, C., Lelciefre, D., Arvin, B. and Meldrum, B. (1992): Effect of NO synthase inhibition on NMDA- and ischemia-induced hippocampal lesions, *NeuroReport*, **3**, 530.
- Mutti, A., Falzai, M., Romanelli, M. (1988): Brain dopamine as a target for solvent toxicity-effects of some monocyclic aromatic hydrocarbons, *Toxicology*, **49**, 77-82.
- Rea, T.M., Nash, J.F., Zabik, J.E., Born, G.S. and Kessler, W.V. (1984): Effects of toluene inhalation on brain biogenic amines in the rat. *Toxicology*, **31**, 143.
- Slomianka, L., Edelfors, S., Ravn-Jonsen, A., Rungby, J., Danscher, G. and West, M.J. (1990): The effect of low-level toluene exposure on the developing hippocampal region of the rat: histological evidence and volumetric findings, *Toxicology*, **62**, 189.
- Snyder, S.H. and Bredt, D.S. (1989): Nitric oxide as a neuronal messenger, *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 122.
- Steinar, B., Liv, U.N. (1988): Biochemical changes in different brain after toluene inhalation, *Toxicology*, **49**, 367-374.
- Von Euler, G., Fuxe, K., Hansson, T., Ögren, S.-O., Agnati, L.F., Eneroth, P., Härfstrand, A. and Gustafsson, J.-Å. (1988): Effects of chronic toluene exposure on central monoamine and peptide receptors and their interactions in the adult male rat, *Toxicology*, **52**, 103.
- 김대병, 정경자, 이종권, 이선희, 신대섭, 김명수, 김부영 (1994): 유기용매의 흡입독성에 관한 연구 (II)-톨루엔급성흡입시 행동 및 뇌중 monoamine 농도에 미치는 영향, 국립보건안전연구원보, **7**, 82.