

Xylene 대사 효소활성에 미치는 주·야 시차의 영향

이혜자 · 윤종국 * †
신성대학 물리치료과
* 계명대학교 공중보건학과

Effect of Circadian Rhythms on the Xylene Metabolizing Enzyme Activities in Rats

Hye Ja Lee and Chong Guk Yoon * †

* Department of Physical Therapy, Sinsung College, Dangjin, Chungnam, 343-860, Korea
Department of Public Health, Keimyung University, Taegu, 704-701, Korea
(Received 20 February 2001 ; Accepted 3 April 2001)

ABSTRACT

To evaluate an effect of circadian variation on the xylene metabolizing enzyme activities, 50% *m*-xylene in olive oil(0.25 ml/100 g body weight) was intraperitoneally administered to the rats every other day for 6 days both in the night; 24:00 and the day; 12:00. Then animals were sacrificed at 8 hr after last injection of *m*-xylene. Hepatic microsomal cytochrome P450 contents were more increased both in control and xylene treated rats of night phase than those of day phase. But the activity of hepatic alcohol dehydrogenase(ADH) in control of night phase showed the similar value with that in those of day phase and xylene treated rats of day phase showed an increasing tendency of hepatic ADH activity as those of night phase showing similar activity. Furthermore, hepatic aldehyde dehydrogenase(ALDH) activity compared with control was found to be higher tendency in control rats of night phase than those of day phase. And by xylene treatment, enzyme activities of rats of day phase were higher tendency in rats of control but those of night phase were somewhat inhibited. Besides, xylene-treated animals of night phase showed increasing tendency of urinary methylhippuric acid concentration compared with those of day phase. On the other hand, liver weight per body weight(%), hepatic lipid peroxide content and serum xanthine oxidase activity were higher in night phase than day phase. And the activities of hepatic oxygen free radical metabolizing enzymes such as xanthine oxidase, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase and glutathione content were generally higher both in control and xylene-treated rats of night phase than those of day phase.

In conclusion, it can be hypothesized on the basis of the results that the accumulation rate of *m*-xylene intermediate metabolite, i.e. *m*-methylbenzaldehyde in liver tissues may be higher in night phase than in day phase and it may be responsible for higher liver toxicity in night phase than in day phase

Keywords : Circadian rhythms, Xylene metabolism, Rat

I. 서 론

산업장에서 야간 및 주야 작업 교대는 산업체 근로자의 건강뿐만 아니라 작업안전에 상당한 영향을 미치고 있으며, 야간 근무자들이 주간 근무자에 비하여 작업오류 및 사고유발 확률이 높은 것은 주지의 사실이다. 이러한 사고는 수면부족과 심리적 뿐만 아니라

더불어 내인적 생체리듬에도 상당한 영향을 받고 있음이 알려져 있다. 생체는 일정한 생리적 조절작용에 의하여 체내 항상성이 유지되고 있다. 이러한 항상성 작용에 따라 일 중 생리적 변동이 나타나고 있으며 정상상태에서도 시차에 따라 여러 가지 다양한 생리적 현상이 나타나고 있으며, 또한 비정상적인 질병상태에서도 그 증상의 정도가 질병의 종류에 따라 주(day phase)·야(night phase)간에 큰 차이가 있다는 것은 잘 알려진 사실이다.¹⁾ Halberg 등이 주·야 시차(circadian rhythm)에 따라 약물의 대사가 달리 나타남을 보고²⁾ 한 이래 여러 연구자들에^{3~7)} 의하여

†Corresponding author : Department of Public Health,
Keimyung University, Taegu, 704-701, Korea.
Tel : 053-580-5230, Fax : 053-580-5164
E-mail : jky446@kmucc.keimyung.ac.kr

xenobiotics 대사와 주·야 시차의 상호관련성에 대하여 많은 연구가 행해져 왔다. Cirtchlow 등⁸⁾은 약물대사효소의 활성변동이 부신피질 호르몬의 영향에 따라 시간적 및 주기적으로 나타난다고 보고한 바 있다. Radzialowski 등⁶⁾은 혈중 corticosterone 치가 야간에 감소된다고 하였으며, 또한 이 호르몬은 약물대사효소활성을 억제시킨다고 하였다. 최근 윤 등⁹⁾은 흰쥐에 있어서 bromobenzene에 의한 간독성이 야간에 높게 나타남을 관찰한 바 있다.

한편 xylene은 산업체에서 많이 사용되고 있는 유기용제로 생체에 폭로시 신경계^{10,11)}, 조혈계¹²⁾ 그리고 간^{13,14)}에 중독을 야기시키는 것으로 보고되고 있다. 그러므로 xylene의 생체내 독작용이 산업장에서 사용시에 주·야별 생체리듬에 따라 달리 나타날 수 있을 것으로 생각되며 이의 관찰을 통해 직업병 예방의 기초자료를 제시할 수 있을 것으로 사료된다.

이에 본 연구에서는 흰쥐를 사용하여 xylene을 주·야 (AM 12, PM 12)로 나누어 2일 간격으로 3회 투여한 다음 각각 8시간 후에 처치하여 간조직 중 xylene 대사에 관여하는 cytochrome P450 함량, alcohol 및 aldehyde dehydrogenase 활성과 조직의 손상에 관여하는 것으로 알려져 있는 oxygen free radical 대사기구의 활성 변동을 측정하여 상호비교 관찰하고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 동물의 처치 및 효소시료의 조제

실험동물은 체중 300 ± 10 g의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 수컷흰쥐를 대한실험동물센터로부터 구입한 후 사육실(온도: $25 \pm 1^\circ\text{C}$), 상대습도 ($50 \pm 5\%$)에서 1주일동안 적응시켜 실험에 사용하였다. 실험군은 각각 6마리씩 분리 수용하였으며 실험기간 동안 물과 사료(삼양사)의 양은 제한 없이 공급하였다. 또한 이들 실험군의 주간과 야간주기를 다시 대조군과 xylene 투여군으로 나누었다. Xylene 투여군은 olive oil과 동량 혼합액을 만들어 pathiratne 등의 방법¹⁵⁾에 준하여 체중 100 g당 0.25 ml씩 1일 1회 2일 간격으로 3회 복강내 주사하였으며, 대조군은 동량의 olive oil을 복강 내로 주사하였다. 이들 주간기와 야간기의 투여시간은 주간기는 정오(AM, 12)에, 그리고 야간기는 자정(PM, 12)에 주사한 후 이들을 각각 마지막 투여 후 8시간 절식시킨 다음 처치하였다. 동물은 ether 마취하에 복부 정중선을 따라 개복하고 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후, 4°C

생리 식염수로 간문맥을 통하여 간을 관류하여 적출하였다. 0.25 M sucrose 용액을 가한 homogenate (20% V/V)은 $600 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻은 다음, $10,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻었고, 그 상정액을 다시 $105,000 \times g$ 에서 1시간 동안 원심분리하여 cytosol과 pellet를 얻었다. 이 pellet은 0.25 M sucrose 용액으로 현탁한 후 $105,000 \times g$ 에서 1시간 초원심분리하여 microsome 분획을 얻었다.

가용성 분획은 xanthine oxidase(XO), glutathione peroxidase(GPx), glutathione-S-transferase(GST), superoxide dismutase(SOD), alcohol dehydrogenase(ADH) 그리고 dehydrogenase(ALDH) 활성 측정에 사용하였으며 microsome 분획은 cytochrome P450(CYP) 함량 측정에 사용하였다.

채취한 혈액은 실온에 30분 방치후 3000 rpm에서 15분 원심분리하여 혈청을 얻고 xanthine oxidase 활성도 측정용 시료로 사용하였다. 한편 metabolic cage를 이용하여 마지막 xylene을 주사한 후 24시간 동안의 요를 채취하여 *m*-methylhippuric acid 함량을 측정하였다.

2. 효소활성측정

간조직 중 ADH 활성은 기질인 ethylalcohol 및 methylbenzylalcohol과 NAD^+ 가 반응하여 생성되는 NADH를 340 nm에서 측정하는 Bergmeyer의 방법¹⁶⁾, ALDH 활성은 기질인 aldehyde 및 methylbenzaldehyde와 NAD^+ 의 반응에 의해 생성되는 NADH를 측정하는 Stachow 등의 방법¹⁷⁾, GPx 활성은 기질인 과산화수소의 제거에 이용된 산화형 glutathione을 환원시키는데 필요한 NADPH의 함량을 측정하는 Paglia와 Valentine의 방법¹⁸⁾, GST는 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione의 포함정도를 측정하는 Habig 등의 방법¹⁹⁾, XO 활성은 기질인 xanthine으로부터 생성되는 요산의 양을 측정하는 Stripe와 Della Corte의 방법²⁰⁾에 준했다. 그리고 SOD 활성은 Martin 등의 방법²¹⁾에 준하였으며 단위는 hematoxylin 자동산화율 50% 억제하는 정도를 1unit로 나타내었다.

3. 간조직 중 CYP, GSH 함량 측정

CYP의 함량 측정은 Omura와 Sato의 방법²²⁾ 준해 450-490 nm에서 흡광도의 차이를 CYP-CO complex의 분자흡광계수($\epsilon = 91 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이

용하여 CYP의 양을 계산하였다. Microsomal의 CYP의 양은 단백질 1 mg 당 nmole로 표시하였다. GSH의 함량은 Ellman의 방법²³⁾에 따라 비단백성 sulfhydryl group을 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)로 발색시켜 412 nm에서 비색 정량하였다. GSH의 함량 단위는 간 조직 1 g 당 μ mole로 나타내었다.

4. 요 중 *m*-methylhippuric acid 정량

요 중 *m*-methylhippuric acid 정량은 high pressure lipid chromatograph를 사용하였으며, Kiyoshi 등의 방법²⁴⁾에 따라 소변 200 μ l를 acetonitrile로 3배 희석한 다음 원침하여 얻은 상정액 5 μ l를 column에 주입한 후 이동상은 water-methanol-acetic acid(80:20:0.20, V/V/V)를 사용하였고, 유속은 1 ml/min으로 조정하여 분리한 *m*-methylhippuric acid를 UV-detector로 235 nm에서 측정하였다. 이때 *m*-methylhippuric acid 농도 산출은 standard를 사용하여 작성된 chromatogram의 면적을 사용하여 비례식으로 산출하였으며, 동일 시료 중 creatinine 측정은 Jaffe 반응을 이용한 Butler의 방법²⁵⁾에 준하였다. 단위는 *m*-methylhippuric acid g/creatinine g으로 나타내었다.

5. 간조직 단백질 정량

효소 단위 결정에 필요한 단백질 정량은 Lowry 등의 방법²⁶⁾에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

6. 성적 검정

실험 성적의 통계처리는 Student's *t*-test²⁷⁾로 하였으며 유의수준은 0.05이하로 하였다.

III. 결 과

1. 간조직 중 CYP 함량, ADH 및 ALDH 활성

CYP 함량은 대조군에서 night phase군이 day phase군 보다 약 72%의 유의한 증가를 보였다. 그리고 day phase군의 xylene 투여군은 대조군에 비하여 약 21% 증가되는 경향을 보였으며 night phase군에서는 xylene 투여군이 대조군 보다 약 21% 유의하게 증가되었다(Fig. 1).

한편 ADH 활성은 day phase군과 night phase군의 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으며 day phase군에서 xylene 투여군은 대조군에 비하여 약 37% 증가되는 경향을 보였으나 night phase군에서는 xylene 투여군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼

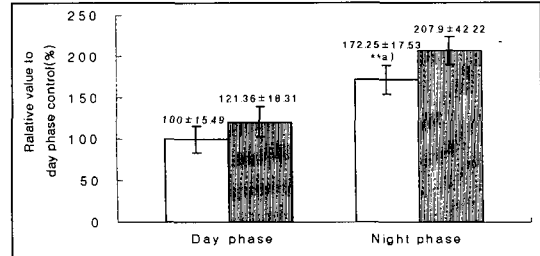


Fig. 1. Effect of circadian variation on the hepatic cytochrome P450 content in xylene-treated rats. Each value represents the mean \pm SE of 6 rats.

Unit : nmoles/mg protein

^{a)} : Significantly different from day phase control (** : *p* < 0.01)

□ : Control, ▨ : Xylene-treated group

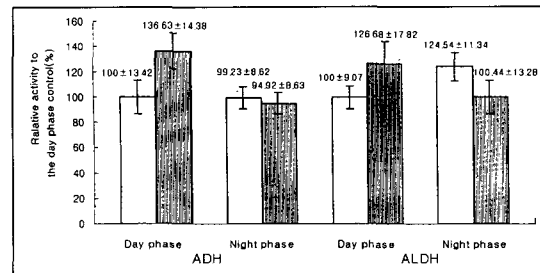


Fig. 2. Effect of circadian variation on the hepatic alcohol(ADH) or aldehyde(ALDH) dehydroge-nase activities in xylene-treated rats. Each value represents the mean \pm SE of 6 rats.

Unit : μ moles NADH formed/min/mg protein

□ : Control, ▨ : Xylene-treated group

수 없었다. 그리고 ALDH 활성은 night phase군의 대조군이 day phase군의 대조군 보다 약 25% 증가 되는 경향을 보였으며, day phase군에서 xylene 투여군은 대조군에 비해서 약 27% 증가되는 경향을 보였으나 night phase군에서는 xylene 투여군이 대조군 보다 오히려 약 18% 감소되는 경향을 보였다(Fig. 2).

2. 요 중 *m*-methylhippuric acid 함량

실험동물에 xylene 투여시 24시간 동안 요 중 배설된 *m*-methylhippuric acid 함량을 측정하는 것은 Fig. 3과 같다. 즉, Xylene을 투여함으로써 night phase군의 *m*-methylhippuric acid 함량은 day phase군에 비하여 약 24% 증가되는 경향을 보였다.

3. 체중당 간무게(%), 간세포막과산화물질(LPO) 및 혈청 XO 활성

시차별 xylene 투여시 간손상 정도를 검색하기 위

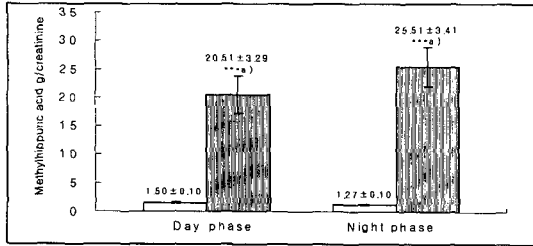


Fig. 3. Effect of circadian variation on the urinary methylhippuric acid concentration in xylene-treated rats.

Each value represents the mean \pm SE of 6 rats.
 a) :Significantly different from each phase control (***) : $p < 0.001$
 □ : Control, ▨ : Xylene-treated group

Table 1. Effect of circadian variation on the liver weight/body weight, (LW/BW, %), hepatic lipid peroxide(LPO) content and serum xanthine oxidase(XO) activity in xylene-treated rats

	Day phase		Night phase	
	control	xylene	control	xylene
LW/BW(%)	3.44 \pm 0.07	3.86 \pm 0.19	3.73 \pm 0.11	4.45 \pm 0.39
LPO ¹⁾	4.34 \pm 0.36	5.55 \pm 0.88	6.05 \pm 0.88	8.15 \pm 0.75
Serum XO ²⁾	32.63 \pm 2.78	55.72 \pm 5.68 ^{a)}	39.99 \pm 4.31	60.00 \pm 6.23 ^{b)}

The assay procedure was described in experimental methods. Rats were treated 3 times with xylene through intraperitoneally every other day.

Data are expressed as mean \pm SE of 6 rats.

1) ; nmoles/g of tissue

2) ; μ moles uric acid/min/ ℓ

a) ; Significantly different from day phase control(**: $p < 0.01$)

b) ; Significantly different from night phase control(*: $p < 0.05$)

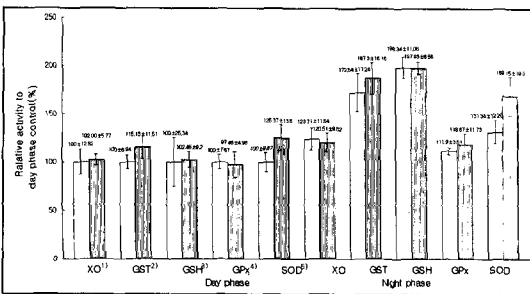


Fig. 4. Effect of circadian variation on the hepatic oxygen free radical metabolizing system in xylene-treated rats.

Each value represents the mean \pm SE of 6 rats.
 Unit : 1) nmoles uric acid formed/min/mg protein
 2) 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles/min/mg protein
 3) μ moles/g of tissue
 4) NADPH oxidized nmoles/min/mg protein
 5) unit#/mg protein(# ; 50% inhibition of autooxidation of hematoxylin)
 □ : Control, ▨ : Xylene-treated group

하여 체중당 간 무게, 간조직 중의 LPO 및 혈청 XO 활성을 측정한 것은 Table 1과 같다. day phase군에서 체중당 간 무게와 LPO 함량은 xylene을 투여함으로써 각각 약 12% 및 28% 증가되는 경향을 보였으며, night phase군에서는 각각 19%, 34% 증가되었다. 특히 혈청 XO 활성은 대조군 및 xylene 투여군 모두에서 night phase군이 day phase군 보다 각각 약 23% 및 8% 증가되었다.

4. Oxygen free radical 대사 효소활성

XO, GST, GPx, SOD 활성과 GSH 함량은 night phase군의 대조군이 day phase군의 대조군에 비해서 각각 23%, 72% ($p < 0.01$), 11%, 31%와 38% ($p < 0.01$) 증가되었다. 그리고 day phase군과 night phase군 모두 xylene 투여군과 대조군 간에는 통계학적인 차이를 볼 수 없었다.

IV. 고 찰

Xylene은 *o*-, *m*-, *p*-xylene의 3가지 이성질체를 가지며 대사경로는 이성질체의 종류에 따라서 다르다. 공업용 xylene은 이들 3가지 이성질체가 혼합되어 있고 이중 가장 많은 비율을 차지하는 *m*-xylene의 대사는 주로 간에서 혼합기능 산화효소계(mixed function oxidation system)의 CYP에 의해 *m*-methylbenzylalcohol로, ADH에 의해서 *m*-methylbenzaldehyde로 전환되며, 이는 다시 ALDH에 의해서 *m*-toluic acid로 산화된다. 그리고 *m*-toluic acid는 glycine과 포함된 후 *m*-methylhippuric acid로 전환되어 요 중으로 배설된다.^{28,29)}

이 같은 xylene 대사가 주·야별 시차에 따라 어떠한 차이가 나타나는지를 알아보기 위해서 night phase군(AM, 12) 및 day phase군(PM, 12)에 각각 xylene을 투여한 다음 8시간 후 처치하여 toluene 대사에 관여하는 효소의 활성도를 간 조직 중에서 검토하였다.

본 실험에서 xenobiotics의 생체 내 대사에 주된 역할을 하는 CYP 함량은 대조군 및 xylene 투여군 모두 night phase군이 day phase군 보다 유의하게 증가되었으며 이는 정도의 차이는 있으나 류 등³⁰⁾의 시차별 toluene 투여된 경우와 유사하였다. 흰쥐에 corticosterone 치가 야간에 감소한다는 것⁶⁾과 prednisolone을 실험동물에 투여시 CYP 함량이 감소된다는 보고⁹⁾와 본 실험결과를 고려해 볼 때 xylene으로부터 methylbenzylalcohol 생성율이 주간 보다

야간에 높게 나타나는 것은 부신피질 호르몬의 영향에 기인된 결과로 생각된다.

그러나 본 실험조건에서 night phase군이 day phase군 보다 methylbenzylalcohol 생성율이 높게 나타남에도 불구하고, xylene을 투여함으로써 간조직의 ADH 및 ALDH 활성은 day phase 군에서는 높게 나타나는 경향을 보였으나 night phase 군에서는 다소 감소되는 경향을 보였다. 또한 xylene의 최종대사산물인 *m*-methylhippuric acid의 요 중 배설량은 night phase군이 day phase군 보다 높게 나타나는 경향을 보였으나 통계학적 의의는 없었다.

이와 같은 실험결과는 night phase군이 day phase군 보다 xylene 투여로 인한 methylbenzy-alcohol 및 aldehyde 생성율이 크게 나타남을 유추할 수 있으며 이들 물질생성에 관여하는 효소활성이 본 실험조건에서 오히려 억제되는 현상을 시사해 주고 있다.

이는 in vitro 실험에서 alcohol 및 aldehyde와 ADH 및 ALDH 활성을 억제시킨다는 류 등³⁰⁾의 보고가 이를 뒷받침해주고 있다. 그리고 methylbenzaldehyde와 같은 aldehyde류는 세포상해를 유발시킬 뿐만 아니라 oxygens free radical 대사기구를 활성화시킨다는 보고³¹⁾가 있다. 따라서 간조직 손상과 관련하여 검토해 볼 때 간무게 및 과산화지질의 함량은 대조군과 xylene 투여군 모두에서 night phase군이 day phase군 보다 약간 증가되는 경향을 보였다. 또한 간손상시 그 활성이 증가된다³¹⁾는 혈청 XO는 night phase군이 day phase군 보다 유의한 증가를 보였다. 특히 oxygen free radical 대사에 관여하는 XO, GST, GPx, SOD 활성과 GSH 함량을 간조직 중에서 측정했을 때 대조군 및 xylene 투여군 모두에서 night phase군이 day phase군 보다 대체적으로 증가되었다. 이는 바로 xylene에 의한 간세포 상해가 day phase군 보다 night phase군에서 심화될 수 있는 잠재력(내재성)을 갖고 있음을 시사해 주고 있다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때 실험동물에 xylene을 주·야 시차별 투여시 체내 methylbenzyl-alcohol 및 aldehyde 생성율이 야간에서 높게 나타남으로써 xylene의 중독 현상이 주간 보다 야간에 높게 나타날 것으로 사료된다.

V. 결 론

Xylene 대사에 관여하는 효소활성이 주·야별에 따라 어떠한 차이가 나타나는지를 검토하고자 SD계 수컷흰쥐를 주(night phase, ;24:00)·야(day phase,

;12:00) 실험군으로 나누어 xylene을 2일 간격으로 체중 100 g 당 0.25 ml을 복강으로 투여한 후 각각 8 시간 후에 처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Xylene으로부터 *m*-methylbenzylalcohol 생성에 관여하는 간조직 cytochrome P450의 함량은 xylene을 투여하지 않은 대조군과 xylene을 투여한 실험군 모두에서 night phase군이 day phase군에 비하여 약 70% 이상 유의하게 높게 나타났다. 그리고 *m*-methylbenzylalcohol로부터 *m*-methylbenzaldehyde의 생성에 관여하는 alcohol dehydrogenase 활성은 대조군의 경우 night phase군과 day phase군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었으나 xylene을 투여함으로써 day phase군에서 약 37% 증가되는 경향을 보였다. 그러나 night phase군에 있어서는 대조군과 xylene 투여군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다. 한편, *m*-methylbenzaldehyde 대사에 관여하는 aldehyde dehydrogenase 활성은 대조군의 경우 night phase군이 day phase군 보다 약 25% 정도 높게 나타나는 경향을 보였으며, xylene을 투여함으로써 day phase군에서는 약 27% 증가되었으나, night phase군에서는 오히려 약 20% 정도 감소되었다.

2. Xylene 투여군에 있어서 요 중 *m*-methylhippuric acid 농도는 night phase군이 day phase군에 비하여 다소 높게 나타났으나 통계적인 차이는 없었다.

3. Xylene 투여로 인한 체중당 간무게, 간조직의 과산화지질 및 혈청 중 xanthine oxidase 활성의 증가는 night phase군이 day phase군 보다 다소 높게 나타났다.

4. 간조직에서 oxygen free radical 대사기구에 관여하는 XO, CYP, GST, GSH, GPx 및 SOD는 대조군과 실험군 모두에서 night phase군이 day phase군에 비해서 높게 나타났다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때 요 중 *m*-methylhippuric acid 함량이 주·야시차에 따라 별다른 차이가 없는데도 불구하고 xylene의 중간독성대사산물로 알려진 *m*-methylbenzaldehyde의 생성율이 day phase군 보다 night phase군에서 높게 유지되었다. 그러므로 night phase군이 day phase군 보다 xylene 투여에 의한 간상해의 정도가 크게 나타난 것으로 사료된다.

참고문헌

- 1) Reinberg, A. and Smolensky, M. H. : Biological

- Rhythms and Medicine. New York-Springer. 1983.
- 2) Halberg, F., Haus, E. and Stephens, A. : Susceptibility to ouabain and physiological 24-hour periodicity. *Fed. Process*, **18**(63), 1959.
 - 3) Marté, E. and F. Halberg. : Circadian susceptibility rhythm of mice to librium. *Fed. Process*, **20**(305), 1961.
 - 4) Davis, W. M. : Day-night periodicity in phenobarbital response of mice and influence of sociopsychological conditions. *Experientia (Basel)*, **18**, 235-237, 1962.
 - 5) Lutsch, E. F. and Morris, R. W. : Circadian periodicity in susceptibility to lidocaine hydrochloride. *Science*, **156**, 100-102, 1967.
 - 6) Radzialowski, F. M. and Bousquet, W. F. : Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in the rat and mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **163**, (1), 229-238, 1968.
 - 7) Belanger, P. M., Lalande, M., Labrecque, G. and Dore, F.M. : Diurnal variations in the transferase and hydrolases involved in glucuronide and sulfate conjugation of rat liver. *Drug Metab Dispos.*, **13**(3), 386-389, 1985.
 - 8) Critchlow, V., Liebelt, R. A., Bar-Sela, M., Mountcastle, W. and Lipscomb, H. S. : Sex difference in resting pituitary-adrenal function in the rat. *Am. J. Physiol.*, **205**(5), 807-815, 1963.
 - 9) 김광진, 신종규, 윤종국 : 랫드에 있어서 주·야 시차가 Bromobenzene 대사에 미치는 영향, *Kor. J. Toxicol.*, **13**(4), 377-383, 1997.
 - 10) Gamberale, F., Annwall, G. and Hultengren, M. : Exposure to xylene and ethylbenzene. III. Effects on central nervous functions. *Scand. J. Work Environ. Health.*, **4**(3), 204-211, 1978.
 - 11) Anderson, K., Fuxe, K., Nilsen, O. G., Toftgard, R., Eneroth, P. and Gustafsson, J. K. : Production of discrete changes in dopamine and noradrenalin levels and turnover in various parts of the rat brain following exposure to xylene, ortho-, meta-, and para-xylene, and ethylbenzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **60**, 535-548, 1981.
 - 12) Wronska Nofer, T., Rosin, J. and Bartosz, G. : Interaction of ethanol and xylene in their effects on erythrocytes and other hematological parameters in the rat. *J. Appl. Toxicol.*, **11**(4), 289-292, 1991.
 - 13) Elovaara, E. : Dose related effects of m-xylene inhalation on the xenobiotic metabolism of the rat. *Xenobiotica*, **12**(6), 345-352, 1982.
 - 14) Rana, S. V. and Kumar, S. : Effect of xylene, toluene and methyl alcohol on liver collagenesis in rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **31**(9), 782-784, 1993.
 - 15) Pathiratne, A., Puyear, R. L. and Brammer, J. D. : A comparative study of the effects of benzene, toluene, and xylenes on their in vitro metabolism and drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **82**(2), 272-280, 1986.
 - 16) Bergmeyer, H. U. : Methods of enzymatic analysis, New York : Academic Press, 1974.
 - 17) Stachow, C. S., Stevenson, I. L., and Day, D. : Purification and properties of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-specific benzaldehyde dehydrogenase from pseudomonas. *J. Biol. Chem.*, **242**, 5294-5300, 1967.
 - 18) Paglia, E. D. and Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**(1), 158-169, 1967.
 - 19) Habig, W.H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase : The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**(22), 7130-7139, 1974.
 - 20) Stirpe, F. and Della Cote, E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **244**(14), 3855-3863, 1969.
 - 21) Martin, J. P., Dailey, M. and Sugarman, E. : Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, **255**(2), 329-336, 1987.
 - 22) Omura, T. and Sato, R. : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes-Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370-2378, 1964.
 - 23) Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77, 1959.
 - 24) Kiyoshi, K., Yukio, H., Keiko, K. and Takashi, I. : Determination of benzoic acid and hippuric acid in human plasma and urine by high performance liquid chromatography. *J. chromatogr.*, **425**(1),

- 67-75, 1988.
- 25) Butler, A. R. : The Jaffe reaction Identification of the coloured species. *Clin. Chimica. Acta.*, **59**(2), 221-232, 1975.
- 26) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. L. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275, 1951.
- 27) Scheffler, W. C. : Statistics for the Biological Sciences. USA, Addison-Wesley Co., 1980.
- 28) Sedivec, V. and Flek, J. : The absorption, metabolism, excretion of xylenes in man. *Int. arch. Occup. Environ. Health*, **37**(3), 205-217, 1976.
- 29) Van Doorn, R. : Effect of toluene and xylene on liver glutathione and their urinary excretion as mercapturic acids in the rat. *Arch. toxicol.*, **43**, (4), 293-304, 1980.
- 30) 류종일, 윤종국, 신중규 : 흰쥐에 있어서 Toluene 대사에 미치는 주·야 시차의 영향, *대한의생명과학회지*, **5**(1), 67-74, 1999.
- 31) 윤종국, 이미경, 이상일 : 성장기간이 다른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 Oxygen Free Radical 생성계 및 해독계 효소 활성에 미치는 영향, *한국노화학회지*, **8**(1), 35-42, 1998.