

## 흰쥐에 toluene 투여가 백혈구 xanthine oxidase 및 superoxide dismutase 활성에 미치는 영향

윤종국 · 이혜자 · 최미애  
계명대학교 공중보건학과

### Effect of Toluene Treatment on the Xanthine Oxidase and Superoxide Dismutase Activities in Leukocyte of Bacterial Infected Rats

Chong Guk Yoon, Hye Ja Lee and Mi Ae Choi

Dept. of Public health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

(Received October 7, 1995)

(Accepted October 26, 1995)

**ABSTRACT** : This study was designed to observe the effect of toluene pretreatment on leukocyte variation in whole blood and the oxygen free radical generating, scavenging enzyme activities in neutrophil of bacteria infected rats. Toluene was administered 7 times intraperitoneally at levels of 9.45 mM/kg body weight to the rats and then infected with *S. aureus*  $2 \times 10^7$  cfu/ml. The toluene treated-rats showed the significantly decreased numbers of lymphocyte and monocytes, but the similar numbers of neutrophils with the control. Furthermore the increased neutrophils in blood of bacteria infected rats were reduced by the toluene pretreatment. Concomitantly the increased activities of xanthine oxidase and superoxide dismutase in neutrophil of bacteria infected rats were also decreased by the toluene pretreatment. On the other hand, injection of benzaldehyde to rats also led to similar results in the count of leukocytes, xanthine oxidase and superoxide dismutase activities of neutrophil with those of toluene treated rats. These data suggest that toluene and its intermediate metabolite, benzaldehyde influence on the phagocytosis and defence mechanism of neutrophil.

**Key Words** : Toluene, Leukocyte, Xanthine oxidase, Superoxide dismutase

#### I. 서 론

최근 산업의 급속한 발전에 따른 산업장 유해물질의 인체폭포로 인간의 건강에 심각한 문제가 제기되고 있다. 이와 같은 유해물질 중 toluene은 산업체에서 널리 이용되는 유기용제로서 생체에 폭로시 신경계(Ellenhorn 등, 1988; Lebel 등, 1989)와 순환계(Taylor 등, 1970; Zee-cheng 등, 1985; Vidrio 등, 1986) 및 간장 등 여러 기관에 손상(Rea 등, 1984; Rees 등, 1987; Hsieh 등, 1989)을 초래한다고 한다. 특히 인체가 toluene의 기본 골격구조를 가진 benzene에 급·만성 폭로시 골수의 조혈기능에 지장이 초래됨이 보고되어 왔다(Pagnotto 등, 1961; Smith, 1928; Aksoy 등, 1971).

최근 Pederson 등(1982)과 Harvey 등(1982)은 인체가 toluene, styrene, butadiene 등의 혼합유기용제에 폭로

시 백혈구 감소 등과 같은 혈액성분의 변동을 관찰하였으며, Moszczynski 등(1983)은 산업장에서 toluene이 함유된 혼합 방향족 유기용제에 폭로시 neutrophil의 생화학적 변화를 관찰하였다.

한편, 세균감염시 백혈구 증가증이 초래됨은 주지의 사실이며(Wintrobe, 1967), leukocyte 중 neutrophil이 세균을 탐식할 때 과립에서 생성되는 oxygen free radical들이 관여한다는 것은(Bernard, 1973; Fridceovich, 1972) 잘 알려져 있다. 그리고 Tubaro 등(1980)은 neutrophil중의 oxygen free radical들은 xanthine oxidase system에 의하여 생성된다고 하였다. 또한 neutrophil에 존재하는 superoxide dismutase는 oxygen free radical들로부터 백혈구 자체의 손상을 방어해 준다고(Richard 등, 1975) 한다.

이상과 같은 여러 연구자들의 보고를 종합하여 볼

때 toluene 중독시 혈액성분 변동 및 neutrophil내 phagocytosis와 관련된 생화학적 변화 등을 관찰함은 xenobiotics 중독에 관련된 혈액독성학의 기초자료 제시 뿐만아니라 산업장 근로자들의 건강관리 측면에서도 상당한 의의가 있을 것으로 사료된다. 그러므로 본 실험에서는 흰쥐에 toluene을 전처치한 다음 세균을 감염시킨 실험모델에서 혈액학적인 변동을 관찰함과 동시에 neutrophil의 oxygen free radical 생성계 효소인 xanthine oxidase(XO) 및 해독계 효소인 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 측정하여 상호 비교 검토하였다. 그리고 toluene에 의한 백혈구 수 및 생화학적 변동의 기전을 규명하는 일환으로 조직세포에 손상을 야기시키는 것으로 알려져 있는 toluene의 대사산물인 benzaldehyde(Toftgard와 Gustafsson, 1980; Ellenhorn과 Barceloux, 1988)를 실험동물에 toluene과 병행 투여한 후 *in vivo* 및 *in vitro*에서 상호 비교 관찰하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 동물 및 처치

#### 1) 동물

동물은 체중 300 g에서 350 g 되는 Sprague-Dawley 종의 웅성흰쥐를 계명대학교 의과대학 실험동물 사육실에서 동물사료(삼양사료 주식회사)로 사육하여 실험에 사용하였다.

#### 2) 세균 조제

실험에 사용된 세균은 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923으로 4°C에서 trypticase soy agar에 보관되어 있는 것을 계명대학교 의과대학 면역학 교실로부터 공급받았다. 배지 중의 colony를 선택하여 한 loop를 따서 5 cc의 nutrient broth에 심어 37°C에서 18시간 shaking incubator에서 진탕 배양하였다. 배양균액 0.1 ml를 20 ml의 nutrient broth에 옮겨 5시간 재배양하여 log 성장기의 균을 얻어 원심분리하였다. 침전된 균주를 saline으로 세척하는 원심분리 과정을 2회 거친 후  $2 \times 10^7/ml$  균이 함유되게 saline으로 희석하였다. 생균수의 측정은 먼저 재배양후의 균을 1:10에서  $10^6$ 까지 희석하여  $1 \times 10^3 \sim 10^6$  희석액을 nutrient agar plate에 37°C에서 24시간 배양한 다음 colony수를 세어 표준검량선에 준해 산정하였다. 표준검량선은 세균수의 대수값과 흡광도를 이용하여 semilog graph로 작성하였다.

#### 3) 실험군

각 실험군은 대조군, toluene 투여군, 세균 투여군, toluene 전처치 후 세균 투여군과 benzaldehyde 투여군으로 분리 수용하였다. Toluene 투여군은 olive oil로 희석한 50%(V/V) toluene 용액을 체중 100 g당 0.2 ml씩 pathiratne 등(1986)의 방법에 준하여 1일 1회 7일간 복강내로 주사하였다. 세균과 toluene의 병행 투여군은 toluene 투여군과 동일한 방법으로 투여한 후 24시간 후에 균주  $2 \times 10^7 cfu/ml$ 를 체중에 관계없이 1회 꼬리정맥으로 투여하였다. *S. aureus* 투여군은 처치 24시간 전에 꼬리정맥으로  $2 \times 10^7/ml$ 를 1회 투여하였다. Benzaldehyde 투여군은 olive oil로 희석한 50%(V/V)용액을 체중 100 g당 0.1 ml씩 1일 1회 7일간 복강내로 투여하였다. 대조군은 olive oil를 체중 100 g당 0.2 ml씩 복강내로 주사하였으며 5군 모두 마지막 주사 후 24시간 물만 주고 금식시켰다.

#### 4) 처치

동물의 처치는 효소활성의 일중 변동과 세균투여군에 대한 염증반응을 일정하게 하기 위하여 시간을 조절하였다. 동물은 ether 마취하에서 복부정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 일정량은 백혈구 측정을 위하여 EDTA 함유병에 넣고 나머지는 효소시료로 사용하기 위하여 즉시 항응고 처리하였다.

### 2. 효소시료의 조제

Boyum(1968)의 변법을 이용하여 전혈로부터 neutrophil을 분리하였다. 항응고제인 acid citrate dextrose (ACD)로 처리된 전혈을 silicon 처리된 conical tube에 넣어 둔 Ficoll-Hypaque(S.G. 1.077)용액에 4:6의 비율로 ficoll 층이 깨지지 않도록 조심스럽게 중첩시켰다. 중첩한 시료를 1,500 rpm에서 35분간 원심분리하여 비중차에 의해서 위로 부터 plasma, mononuclear cell, ficoll soln, granulocyte와 RBC가 혼합된 층을 형성시켰다. Granulocyte를 함유한 RBC층을 취하여 1×PBS에 녹인 동량의 3% dextran과 섞은 후 실온에 30분간 방치하여 RBC를 침전시켰다. Granulocyte가 대부분인 상층액을 취하여 1×PBS로 세척 후 ice cold distilled water로 RBC를 용혈시키고 동량의 2×PBS로 등장액을 만드는 과정을 2회 반복하여 잔존되어 있는 RBC를 제거하였다. 이 시료를 적당히 희석하여 혈구계산판으로 neutrophil의 숫자를 세어 계산하였다. 분리된 neutrophil은 homogenizer로 세포막을 파괴한 후 효소시료로 사용하였다.

### 3. 효소 활성도 측정

#### 1) Xanthine oxidase(XO) 활성도 측정

Neutrophil 중의 XO 활성도 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성되는 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stirpe와 Della Corte (1969)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소 시료가 1분 동안 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid의 양을 neutrophil 1개당의 nmole로 표시하였다.

#### 2) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

Neutrophil 중 SOD 활성도 측정은 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등(1987)의 방법에 준해 50 mM K.P. buffer(pH 7.5)-0.1 mM EDTA 함유 완충액에 10 μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시키는 동안 생성된 hematin을 파장 560 nm에서 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 효소 활성도 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 neutrophil cell당으로 나타내었다.

### 4. 전혈 중 백혈구 측정

EDTA로 처리한 전혈을 coulter counter(Sysmex-1500)로 백혈구 측정을 한 후 혈액도말 표본을 준비하여 wright 염색하여 현미경으로 differential count하였다.

## III. 결 과

### 1. Toluene의 투여가 전혈의 백혈구 수 및 백혈구 백분율에 미치는 영향

흰쥐에 toluene을 투여하였을 때 백혈구 수와 백분율을 관찰하였을 때 대조군에 비하여 백혈구 수는 유의하

게 감소하였다. 또한 백혈구의 각 분획을 백분율로 비교하였을 때 neutrophil은 toluene 투여군이 대조군 보다 유의하게 증가되었으나 lymphocyte 및 다른 분획은 toluene 투여군과 대조군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었다(Table 1).

### 2. Toluene을 전처치한 흰쥐에 있어 *S. aureus*의 감염시 neutrophil, lymphocyte, monocyte의 변동

Toluene을 전처치한 다음 *S. aureus*을 주사하여 감염을 유도시켰을 때 WBC의 각 분획을 세포수로 나타내면, 세균을 감염시키므로서 대조군에 비해 lymphocyte 및 monocyte는 별다른 변동을 나타내지 않았으나 neutrophil은 약 2배 정도의 현저한 증가를 보였다. 그러나 toluene을 전처치하므로서 lymphocyte, monocyte와 더불어 neutrophil 역시 감소되었다(Table 2).

### 3. *S. aureus* 투여가 neutrophil의 XO 및 SOD 활성도에 미치는 영향

Neutrophil의 oxygen free radical 생성에 관여하는 XO 활성도는 toluene 투여군이 대조군에 비하여 XO 활성이 약 35% 정도 현저히 감소되었으나 세균을 감

**Table 1.** Effect of toluene treatment on the changes of differential count in whole blood of rats

Groups	Control	T7
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	11.20 $\pm$ 0.10	7.37 $\pm$ 0.60***
Neutrophil (%)	19.50 $\pm$ 3.17	30.70 $\pm$ 1.83**
Lymphocyte (%)	69.00 $\pm$ 2.89	59.50 $\pm$ 2.25
Monocyte (%)	9.30 $\pm$ 2.17	7.00 $\pm$ 1.71
Band (%)	0.50 $\pm$ 0.20	1.08 $\pm$ 0.31
Eosinophil (%)	2.17 $\pm$ 0.57	1.92 $\pm$ 0.31

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 10 rats.

T7: Intraperitoneal toluene 7 times injection group (one time every day; 0.2 ml/100 g body wt).

Significantly different from control group (\*\*;  $p < 0.01$ , \*\*\*;  $p < 0.001$ ).

**Table 2.** Effect of *staphylococcus aureus* injection (i.v.) on the WBC count in toluene-treated rats

Groups	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte
	(Cell number $\times 10^3/\mu\text{l}$ of whole blood)		
Control	2.05 $\pm$ 0.31	7.38 $\pm$ 0.66	0.98 $\pm$ 0.15
Toluene	2.17 $\pm$ 0.23	4.13 $\pm$ 0.37*** <sup>a)</sup>	0.26 $\pm$ 0.05*** <sup>a)</sup>
<i>S. aureus</i>	4.16 $\pm$ 0.66** <sup>a)</sup>	8.49 $\pm$ 1.35	0.98 $\pm$ 0.20
Tol.+ <i>S. aureus</i>	3.19 $\pm$ 0.31* <sup>a)</sup>	3.39 $\pm$ 0.37*** <sup>a)</sup> ** <sup>b)</sup>	0.57 $\pm$ 0.07* <sup>a)</sup>

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 10 rats.

<sup>a)</sup>Significantly different from control group.

<sup>b)</sup>Significantly different from *S. aureus* group (\*;  $p < 0.05$ , \*\*;  $p < 0.01$ , \*\*\*;  $p < 0.001$ ).

**Table 3.** Effect of *S. aureus* injection (i.v.) on the activity of neutrophil XO and SOD in rats

Groups	XO <sup>1)</sup>	SOD <sup>2)</sup>
Control	19.9	3.1
Toluene	12.9	4.5
<i>S. aureus</i>	23.2	14.8
Tol.+ <i>S. aureus</i>	15.5	11.6

Unit: <sup>1)</sup>nmoles uric acid formed min<sup>-1</sup>/cell ( $\times 10^{-8}$ )<sup>2)</sup>unit #/cell ( $\times 10^{-7}$ )

#; 50% inhibition of autoxidation of hematoxylin

Each value represents the mean of 3 experiments (with pooled sample from each group).

**Table 4.** Effect of peritoneal benzaldehyde treatment on the WBC count in rats

Groups	WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )
Control	11.20 $\pm$ 0.10
Toluene	7.37 $\pm$ 0.36***
Benzaldehyde	9.62 $\pm$ 0.40**

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 10 rats.Significantly different from control group (\*\*;  $p < 0.01$ , \*\*\*;  $p < 0.001$ ).**Table 5.** Effect of toluene or benzaldehyde treatment on the free radical system in rats

Groups	XO <sup>1)</sup>	SOD <sup>2)</sup>
Control	19.9	3.1
Toluene	12.9	4.5
Benzaldehyde	15.4	4.3

Unit: <sup>1)</sup>nmoles uric acid formed min<sup>-1</sup>/cell ( $\times 10^{-8}$ )<sup>2)</sup>unit #/cell ( $\times 10^{-7}$ )

#; 50% inhibition of autoxidation of hematoxylin

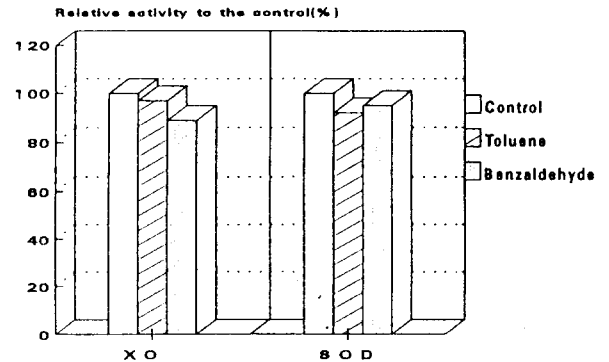
Each value represents the mean of 3 experiments (with pooled sample from each group).

염시키므로써 약 16% 정도 증가되었고, toluene을 전처치하므로써 약 22% 정도 감소되었다. Neutrophil의 세포상해를 보호하는 SOD의 활성도는 실험동물에 세균을 감염시키므로써 약 5배의 현저한 증가를 보였으나 toluene 전처치로 오히려 *S. aureus* 투여군에 비해 약 22% 감소되었다(Table 3).

#### 4. Benzaldehyde 투여가 WBC 수에 미치는 영향

Benzaldehyde를 투여하였을때 정도의 차이는 있지만 toluene 투여군과 함께 유의한 백혈구 감소를 보였다(Table 4).

#### 5. Benzaldehyde 투여가 XO 및 SOD 활성도에 미치는 영향

**Fig. 1.** Effect of toluene or benzaldehyde on the activity of XO or SOD "in vitro".

XO 및 SOD의 활성도 변동이 toluene 투여군과 benzaldehyde 투여군 간에 유사한 경향을 보였다. XO의 활성도는 toluene 투여군과 benzaldehyde 투여군 각각 35%, 23%의 감소를 보였고, SOD의 활성도는 각각 45%, 39% 증가하였다(Table 5).

#### 6. In vitro에서 XO 및 SOD 활성도에 미치는 toluene과 benzaldehyde의 영향

In vitro에서 XO와 SOD 활성도에 미치는 toluene과 benzaldehyde의 영향은 Fig. 1과 같다. XO와 SOD 활성도는 대조군과 실험군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었다.

## IV. 고 찰

본 실험에서 toluene 급성 투여시(7회, 26회) 대조군에 비해 백혈구 수는 유의하게 감소하였다. Toluene 투여시 leukopenia가 유도된 것이 어떤 백혈구 분획에 의한 것인지를 관찰하였을 때 WBC 중 lymphocyte와 monocyte는 대조군에 비해 유의하게 감소되었으나, neutrophil은 대조군과 toluene 투여군 간에 별다른 차이를 보이지 않았다. 이것은 타 연구자들의 보고(Harvey와 Ted, 1982; Moszczynski, 1983; Pederson과 Rasmussen, 1982)와 유사한 것으로 toluene 투여에 의한 leukopenia의 유도는 lymphocyte와 monocyte의 감소에 기인된 것으로 나타났다. 그러나 본 논문에서는 phagocytosis에 관련하여 toluene이 세균감염에 의한 neutrophilia에 어떠한 영향을 미치는지를 검토하기 위해 toluene을 전처치한 다음 *Staphylococcus aureus*로 감염을 유도시켜 WBC의 변동을 관찰하였다. 세균을 감염시키므로써 neutrophil은 대조군에 비해 약 2배로

증가되었다. 이때 toluene을 전처치함으로써 neutrophil이 감소되었다. 이러한 현상은 toluene 중독시 세균감염에 대한 감수성이 저하된다는 것을 암시한다.

Neutrophil은 세균의 phagocytosis에 중요한 역할을 수행하며 neutrophil의 세균 phagocytosis시 oxygen free radical이 bactericidal action에 관여한다는 것 (Bernard, 1973; Fridceвич, 1972)은 이미 잘 알려져 있다. Neutrophil의 oxygen free radical 생성에 관여하는 XO의 활성화도(Tubarо 등, 1980)와 해독에 관여하는 SOD의 활성화도(Richard 등, 1975)를 관찰해 본 결과 XO 활성화도는 toluene 투여군이 대조군에 비해 현저히 감소되었으나 세균감염으로 16% 증가되었고 toluene 전처치로 22% 감소되었다. Neutrophil의 세포상해를 보호하는 SOD의 활성화도는 세균을 감염시키므로서 현저한 증가를 보였으나 toluene 전처치로 오히려 세균투여군에 비해 감소되었다. 이 결과는 toluene이 neutrophil의 XO 활성을 억제시키므로서 phagocytosis를 저해시킬 뿐만 아니라 SOD의 활성화도 저해시키므로서 neutrophil의 보호작용에 영향을 미쳐 생체의 방어 기능을 약화시킨 것으로 생각된다. Toluene은 생체내에서 benzylalcohol, benzaldehyde, benzoic acid를 거쳐 최종적으로 마노산으로 되어 요로 배설되며(Toftgard와 Gustafsson, 1980; Ellenhorn과 Barceloux, 1988) 중간 대사물질인 benzaldehyde는 생체세포의 상해를 야기시키는 것으로 알려져 있다(Weiner, 1980). Leukocyte에 대한 toluene의 영향이 benzaldehyde에 기인된지를 알아보기 위하여 toluene 투여와 같은 조건으로 benzaldehyde를 투여하였을 때 WBC수는 정도의 차이는 있지만 toluene 투여시와 비슷한 백혈구 감소를 나타낸 것으로 보아 toluene 투여시의 백혈구 감소는 toluene 자체와 toluene 대사 중간체들이 복합적으로 조혈기관에 영향을 미쳐 나타난 결과로 여겨진다. 또한 benzaldehyde 투여시 XO 활성화도 및 SOD 활성화도 역시 두 군간에 유사한 경향을 보였다. 이처럼 toluene 및 benzaldehyde가 백혈구의 free radical generating 및 scavenging system에 영향을 미치는 것이 이들 xenobiotic의 직접적인 작용인가를 검토하는 방안으로 *in vitro* test를 행하였을 때 대조 시험군과 test 군 간에 별다른 차이를 보이지 않는 것으로 보아, toluene 투여시 neutrophil내 XO 및 SOD 활성화도 변동은 toluene의 직접적인 작용이 아니라 골수의 조혈기능에 기인된 것으로 생각된다. 즉 toluene 투여시 백혈구 감소는 lymphocyte 감소에 기인됨과 동시에 세균 감염시에는 toluene이 neutrophilia와 phagocytosis에 영향을 주는 것으로 생각된다. 이같은 현상은 toluene의 대사산물인

benzaldehyde의 영향인 것으로 사료된다.

## V. 요약

흰쥐에 toluene 투여가 혈액 중 leukocyte의 변동에 어떠한 영향을 미치는지를 검토할 목적으로 흰쥐에 toluene을 0.2 ml/100 g body wt.(50% in olive oil)를 투여한 후 혈액을 채취한 다음 백혈구 counting을 하였다. 또한 실험동물에 toluene을 전처치한 후 *Staphylococcus aureus*을 감염시켜 백혈구의 수 및 유형별 변동을 관찰함과 동시에 혈액 중의 neutrophil을 분리한 후 free radical의 generating 및 scavenging system을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Toluene으로 전처치한 후 세균을 감염시킨 경우 leukopenia가 초래됨과 동시에 neutrophil의 oxygen free radical 생성에 관여하는 xanthine oxidase 활성화와 해독에 관여하는 superoxide dismutase 활성이 유의하게 감소되었다. 이는 toluene이 neutrophil의 xanthine oxidase 활성을 억제시키므로서 WBC의 안정성에 영향을 미쳐 생체의 방어기능을 약화시킨 것으로 생각된다. 한편 toluene의 대사산물인 benzaldehyde의 백혈구에 대한 영향은 toluene과 유사하게 나타났다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때 toluene 투여시 백혈구 감소는 lymphocyte 감소에 기인됨과 동시에 세균감염시에는 toluene이 neutrophil과 phagocytosis에 영향을 주는 것으로 생각된다. 이와 같은 현상은 toluene의 대사산물인 benzaldehyde에 의하여 나타난 결과로 사료된다.

## 참고문헌

- Aksoy, M., Dincol, K. and Akgun, T. (1971): Haematological Effect of Chronic Benzene Poisoning in 217 Workers. *Brit. J. Ind. Med.* **28**, 296-302.
- Bernard, M.B., Ruby, S.K. and John, T.C. (1973): Biological Defense Mechanism. The Production by leukocytes of Superoxide, a Potential Bactericidal Agent. *J. Clin. Invest.* **52**, 741-744.
- Boewer, C., Enderlein, G., Wollgast, U., Nawka, S., Palowski, F.H. (1988): Epidemiological study on the hepatotoxicity of occupational toluene exposure. *Int Arch Occup Environ Health.* **60**, 181-186.
- Boor, J.W. and Hurtig, H.I. (1977): Persistent cerebellar ataxia after exposure to toluene. *Ann Neurol.* **2**, 440-442.
- Brucker, J.V. and Peterson, R.G. (1981): Evaluation of toluene and acetone inhalant abuse. II Model

- development and toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol.* **61**, 302-312.
- CIR (1987): Final report on the safety assessment of toluene. *J. Am Coll Toxicol.* **6**, 77-120.
- Dean, B.J. (1978): Genetic toxicology of benzene, toluene, xylene and phenols.: *Mutation Res.* **47**, 75-96.
- Ellenhorn, M.J. and Barceloux, D.G. (1988): 'Toluene' in Medical Toxicology. Elsevier Science Pub Co Inc, USA, 959-963.
- Ezio, T., Bruno, L. Claudio, S. and Giovanni, C. (1980): Xanthine Oxidase Increase in Polymorphonuclear Leukocytes and Macrophages in Mice in three Pathological Situations. *Biochem Pharmacol.* **1**, 1945-1948.
- Fishbein, L. (1985): An overview of environmental and toxicological aspects of aromatic hydrocarbons II. Toluene. *Sci Total Environ.* **42**, 267-288.
- Fridceovich, I. (1972): Superoxide radical and Superoxide dismutase Accouts. *Chem Res.* **5**, 321-326.
- Harvey, C. and Ted, M.W. (1982): A Hematology survey of workers at a styrene-butadiene synthetic rubber manufacturing plant. *Am Ind Hyg Assoc.* **43**, 164-169.
- Hayden, J.W., Peterson, R.G. and Brucker, J.V. (1977): Toxicology of toluene (methyl benzene) Review of current literature. *Clin Toxicol.* **11**, 549-559.
- Hsieh, G.C., Sharma, R.P. and Parker, R.D.R. (1989): Immunotoxicological evaluation of toluene exposure via drinking water in mice. *Environ Res.* **49**, 93-103.
- Kishi, R. *et al* (1988): Neurobehavioural effects and pharmacokinetics of toluene in rats and their relevance to man. *Brit J. Ind. Med.* **45**, 396-408.
- Knox, J.W. and Nelson, J.R. (1966): Permanent encephalopathy from toluene inhalation. *N Engl J. Med.* **275**, 1494-1496.
- Lebel, C.P. and Schstz, R.A. (1989): Effect of toluene on rat synaptosomal phospholipid methylation and membrane fluidity. *Biochem pharmacol.* **38**, 4005-4011.
- Morris, R.J. (1989): Toluene and hepatotoxicity. *J. Occup Med.* **31**(12), 1014-1015.
- Moszczyński, P. (1983): Hematological indices of peripheral blood in workers occupationally exposed to benzene, toluene, and xylene. *Zentral-Bakteriol-Mikrobiol-Hyg-B.* **178**(4), 329-339.
- Pagnotto, L.D., Elkins, H.B., Brugsch, H.G. and Waldley, J.E. (1961): Industrial Exposure from Petroleum Naphtha: L Rubber Coating Industry. *Am Ind Hyg Assoc J.* **22**, 417-421.
- Pathiratne, A., Puyear, R.L. and Brammer, J.D. (1986): 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.
- Pederson, L.M. and Rasmussen, J.M. (1982): The Haematological and biochemical Pattern in occupational organic solvent poisoning and exposure. *Int-Arch-Occup-Environ-Health.* **51**(2), 113-126.
- 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**, 143-150.
- Rees, D.C., Knisely, J.S., Jordan, S. and Balster, R. (1987): Discriminative stimulus properties of toluene in the mouse. *Toxicol Appl. pharmacol.* **88**, 97-104.
- Richard, B.J., Bernard, B.K., Hara, P.M., Joyce, E.L., Lawrende, S.W. and Robert, L.B. (1975): The Role of Superoxide Anion Generation in Phagocytic Bactericidal Activity. Studies with Normal and Chronic Granulomatous Disease leukocytes. *J. Clin. Invest.* **55**, 1357-1372.
- Satran, R. and Dodson, V. (1963): Toluene habituation. *N Engl J. Med.* **268**, 719-721.
- Smith, A.R. (1928): Chronic Benzol Poisoning Among Women Industrial Workers: A Study of Women Exposed to Benzol Fumes in Six Factories. *J. Ind Hyg.* **10**, 73-93.
- Stirpe, F. and Della, Corte, E. (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol Chem.* **244**, 3855-3863.
- Taylor, G.J. and Harris, W.S. (1970): Glue sniffing causes heart block in mice. *Science.* **170**, 866.
- Toftgard, R. and Gustafsson, J.A. (1988): Biotransformation of organic solvents. A review *Scand J Work Environ Health.* **6**, 1-18.
- Vidrio, H., Magos, G.A. and Lorenzana, J.M. (1986): Electrocardiographic effects of toluene in the anesthetized rat. *Arch Int Pharmacodyn.* **279**, 121-129.
- Weiner, H. (1980): Aldehyde oxidizing enzymes. In Jakoby WB(ed) Enzymatic Basis of Detoxication. New York Academic Press. (1), 261-280.
- Wintrobe, M.M. (1967): Clinical Hematology. ed 6. Lea & Febiger, Philadelphia: 224-294.
- Zee-Cheng, C.S., Mueller, C.E. and Gibbs, H.R. (1985): Toluene sniffing and severe sinus bradycardia. *Ann Intern Med.* **103**: 482.