

흰쥐에 있어서 Toluene 대사에 미치는 주·야 시차의 영향

계명대학교 공중보건학과, 경산대학교 보건과학부¹

류종일 · 윤종국[†] · 신중규¹

국문초록: 주·야 (day, night phase) 시차에 따른 toluene 대사를 검토할 목적으로 흰쥐에 50% toluene (olive oil과 toluene의 동량혼합액)을 체중 100 g 당 0.2 ml씩 밤 12시, 낮 12시에 각각 투여한 다음 각각 8시간 후에 처치하여, 다음과 같은 결과를 얻었다. 간 microsomal aniline hydroxylase 활성은 night phase군이 day phase군 보다 대조군 및 toluene 투여군 모두 높게 나타났으며, cytosol의 benzylalcohol dehydrogenase (BADH) 활성은 night phase군과 day phase군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었으나, toluene 투여시에는 night phase군이 day phase군 보다 효소의 활성도가 오히려 억제되었다. 또한 간 조직의 benzaldehyde dehydrogenase (BALDH) 활성은 night phase군이 day phase군 보다 다소 높게 나타나는 경향을 보였으며, toluene 투여시에는 night phase군에서는 대조군 보다 오히려 감소되었으나 day phase군에서는 높게 나타나는 경향을 보였다. 그리고 *in vitro* 시험에서 benzylalcohol 및 benzaldehyde가 BADH 및 BALDH 활성을 억제시킴이 관찰되었다. 요 중 hippuric acid 함량은 대조군 및 toluene 투여군 모두 night phase군과 day phase군 간에는 별다른 차이를 볼 수가 없었다. 한편 toluene 투여로 인한 체중 당 간 무게 및 혈청 xanthine oxidase 활성 증가율은 night phase군이 day phase군 보다 높게 나타났다. 이상 실험결과를 종합해 볼 때 요 중 hippuric acid 함량이 주·야 시차에 따라 별다른 차이가 없는데도 불구하고 toluene으로부터 benzylalcohol 및 benzaldehyde 생성률이 day phase군 보다 night phase군이 높게 나타남으로서 toluene 대사산물에 의한 간 손상 정도가 day phase군 보다 night phase군이 높게 나타난 것으로 사료 되어진다.

서 론

산업의 급속한 발전에 따라 산업화학물질의 사용량이 늘어 날로 증가하고 있을 뿐만 아니라, 산업장에서 주야를 막론하고 교대작업으로 생산활동을 계속하고 있어, 이로 인한 인체의 노출은 심각한 건강 문제를 야기시키고 있으며, 이에 대한 예방대책이 요구되고 있는 실정이다.

일반적으로 유해물질에 의한 중독현상은 주위 환경상태와 개인의 보호구 착용 여부 등 같은 생체 외적인 요인 뿐만 아니라 성별^{16,17}, 연령^{3,5}, 질

병상태^{19,29,34,39} 및 주야 시차^{1,6,12,14,26,27,32} 등과 같은 생체 내적인 요인에 의해서도 상당한 영향을 받고 있는 것으로 알려지고 있다.

한편 toluene은 xenobiotics의 일종으로 비교적 다른 유기용매 보다 안전성이 인정되어 산업체에서 많이 사용되고 있으나 신경계^{8,21,33,36}, 조혈계^{22~24,35}, 순환계^{41,43,44} 및 간^{15,28}에 독성이 야기된다고 보고하고 있어 관심의 대상이 되고 있으나 아직까지 주야 시차에 따른 toluene의 독성발현에 대한 연구보고는 없다.

그러므로 생체리듬과 xenobiotics의 대사 사이에는 상당한 관련성이 있을 것으로 사료되며, 이에 대한 연구는 산업보건학적 측면에서 상당한 의의가 있을 것으로 생각된다. 이에 본 연구는 흰쥐에 toluene을 주·야 시차별로 투여하면서 toluene 대사관련 효소 활성 변동을 측정함과 동시에 이의 최종 대사산물인 hippuric acid의 요 중 배설량을

[†] 논문접수: 1999년 4월 27일

수정재접수: 1999년 6월 1일

별책 요청 저자: (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000번지, Tel: (053) 580-5230, Fax: (053) 580-5164, E-mail: jky446@kmucc.keimyung.ac.kr

측정하여 상호 비교 검토하였다.

재료 및 방법

1. 동물의 사육 및 처치

실험동물은 체중 100 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐를, 시중에서 구입한 동물 사료 ((주) 삼양사)로 약 1개월간 사육시켜 체중 200 g 내외의 것을 실험에 사용하였다.

각 실험군은 주·야로 나누고 각각 대조군과 toluene 투여군으로 분리, 수용하였고 각각 6마리씩을 한 군으로 하였으며, 물과 사료의 양은 제한 없이 공급하였다.

Toluene은 Pathiratne 등의 방법³¹⁾에 준해 olive oil과 동량혼합액 (1:1)을 만들어 체중 100 g 당 0.2 ml씩 주·야 (AM 12시, PM 12시)로 나누어 1일 1회 2일 간격으로 3회 복강내로 투여한 다음 마지막 주사 8시간 후 처치하였다.

동물은 ether 마취하에 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험시킨 다음, 4℃ 생리 식염수로 간 문맥을 통하여 간을 관류하여 간내에 남아있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 생리 식염수로 세척 후 여지로 압박하여 간내에 남아있던 생리 식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량한 후 효소시료 조제에 사용하였다. 채취한 혈액은 30분 방치하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 혈청을 얻어 xanthine oxidase (XO) 활성 측정용 시료로 사용하였다. 또한 metabolic cage를 이용하여 마지막 toluene을 주사한 후 8시간 동안의 요를 채취하여 hippuric acid 함량을 측정하였다.

2. 효소시료의 조제

적출한 간의 일부를 취하여 1 g 당 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 빙냉하에 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액 (20% W/V)을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 다음, 상정액을 10,000×g에서 20분간 원심분리한 후 postmitochondria 분획을 얻고 다시 그 상정액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol과 microsome 분획을 분리하였다. Postmitochondria 분획은 benzylalcohol dehydrogenase (BADH)와 benzaldehyde dehydrogenase (BALDH) 활성 측정용 효소시료로 사용하였으며, microsome 분획은 aniline hydroxylase (AH) 활성

측정에 사용하였다.

3. 효소 활성 및 lipid peroxide (LPO) 함량 측정

간 조직 중 AH 활성 측정은 Kato 등의 방법¹⁸⁾, BADH 활성 측정은 Bergmeyer 등의 방법⁷⁾, BALDH 활성 측정은 Stachow 등의 방법³⁸⁾ 그리고 혈청 중 XO 활성 측정은 Stirpe와 Della Corte의 방법⁴⁰⁾에 준하여 측정하였다. 한편 간 조직 중 지질 과산화물 함량은 Ohkawa 등의 방법³⁰⁾에 준하였다. 그리고 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법²⁵⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

4. 요 중 hippuric acid 정량

요 중 hippuric acid 정량은 high pressure liquid chromatograph를 사용하였으며, Kubota 등의 방법²⁰⁾에 따라 소변 200 μl를 acetonitrile로 3배 희석한 다음 원침하여 얻은 상정액 5 μl를 column에 주입한 후 이동상은 water-methanol-acetic acid (80:20:0.2)를 사용하였고, 유속은 1 ml/min으로 조정하였으며 UV-detector로 235 nm에서 측정하였다. 동일 시료 중 creatinine 측정은 Jaffe 반응을 이용한 Butler의 방법⁹⁾에 준하였다. 단위는 hippuric acid g/creatinine g으로 나타내었다.

이상 실험결과와 유의성 검정은 student's t-test³⁷⁾로 하였으며 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. 주·야 시차에 따른 간의 AH 활성 변동

Table 1은 실험동물에 toluene 투여시 간 조직의 microsomal mixed function oxidase의 일종인 aniline hydroxylase (AH) 활성도 변동을 주·야 시차별로 관찰한 것이다.

AH 활성은 야간 처치군 (night phase)의 대조군이 주간 처치군 (day phase)의 대조군 보다 약 60% 정도 유의한 ($p < 0.05$) 증가를 보였다. 그리고 toluene 투여군에 있어서 AH의 활성도는 night phase군이 day phase군에서 보다 다소 높게 나타났다. 또한 day phase군에서는 toluene을 투여하므로써 AH의 활성도가 대조군에 비해서 다소 증가되었으나 night phase군에서는 오히려 약 23% 감소되었다.

Table 1. Effect of circadian variation on the hepatic aniline hydroxylase (AH) activity in toluene treated rats

Groups	Day phase		Night phase	
	Control	Toluene	Control	Toluene
AH [#]	25.00±3.85	28.25±4.11	40.25±3.39*	31.15±5.20

Other abbreviations are the same as in table 1.

Data are expressed as mean±S.E. for 6 rats, [#] *p*-aminophenol nmoles/mg protein/hr

Significantly different from the day phase control (*; *p*<0.05)

Table 2. Effect of circadian variation on the hepatic benzylalcohol dehydrogenase (BADH) and benzaldehyde dehydrogenase (BALDH) activity in toluene treated rats

Groups	Day phase		Night phase	
	Control	Toluene	Control	Toluene
BADH ¹⁾	1.87±0.11	2.25±0.17	1.88±0.25	1.64±0.16*
BALDH ²⁾	2.61±0.30	3.21±0.52	3.07±0.26	2.45±0.30

Other abbreviations are the same as in table 1.

^{1,2)} μmoles NADH/mg protein/min, Significantly different from the day phase toluene (*; *p*<0.05)

Table 3. Effect of circadian variation on the urinary hippuric acid concentration in toluene treated rats

Groups	Day phase		Night phase	
	Control	Toluene	Control	Toluene
Hippuric acid [#]	1.71±0.06	22.83±3.11	1.44±0.08	22.45±3.55

The assay procedure was described in experimental methods.

Data are expressed as mean±S.E. for 6 rats, [#] Hippuric acid g/creatinine g

2. 주·야 시차에 따른 간 조직 BADH 및 BALDH 활성 변동

Toluene 투여시 주·야 시차에 따른 간 조직 중 BADH와 BALDH의 활성 변동을 table 2에 나타내었다.

Day phase군과 night phase군의 대조군 간 BADH 활성은 별다른 차이를 볼 수 없었으나, toluene을 투여함으로 day phase군에서는 대조군에 비해서 약 20% 증가되었으나 night phase군에서는 오히려 감소되는 경향을 보였다. 한편 BALDH 활성은 night phase군의 대조군이 day phase의 대조군보다 약 19% 높게 나타났다. 또한 day phase군에서 toluene을 투여함으로서 BALDH의 활성이 대조군에 비해서 약 23% 증가되었으나, night phase군에서는 toluene을 투여하므로 오히려 약 20%

감소되었다.

3. 요 중 hippuric acid 함량 변동

Table 3는 toluene의 최종 대사산물인 요 중 hippuric acid의 주·야 시차에 따른 함량 변동을 나타낸 것이다.

Day phase군과 night phase군 모두 대조군에 비해 각각 약 12배와 15배의 유의한 (*p*<0.001) 증가를 나타내었으며, toluene을 투여하였을 때 주·야 시차에 따른 요 중 hippuric acid의 함량은 별다른 차이를 볼 수 없었다.

4. 체중 당 간 무게 (%), 간 조직 중 LPO 함량 및 혈청 XO 활성 변동

Toluene 투여시 주·야 시차에 따른 간 손상의 parameter를 확인한 결과는 table 4와 같다.

Table 4. Effect of circadian variation on the liver weight per body weight (L/B(%)), hepatic lipid peroxide (LPO) contents and serum xanthine oxidase (XO) activity in toluene treated rats

Parameters	Day phase		Night phase	
	Control	Toluene	Control	Toluene
L/B (%)	3.38±0.06	3.50±0.03	3.61±0.13	3.90±0.14 ^{a,b)}
LPO ¹⁾	4.34±1.21	4.33±0.95	6.05±0.88	6.31±1.02
XO ²⁾	32.63±2.78	45.03±5.51	37.48±4.29	60.82±6.03 ^{a)}

Other abbreviations are the same as in table 1.

¹⁾ nmoles/g of tissue, ²⁾ μmoles uric acid formed/l of serum

^{a)} Significantly different from the night phase control (*; p<0.05)

^{b)} Significantly different from the day phase toluene (*; p<0.05)

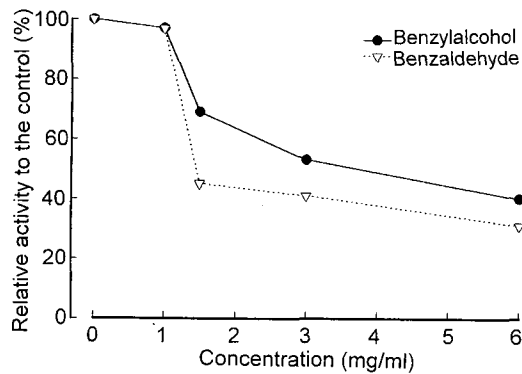


Fig. 1. Effect of benzylalcohol and benzaldehyde on the rats hepatic BADH activity *in vitro*.

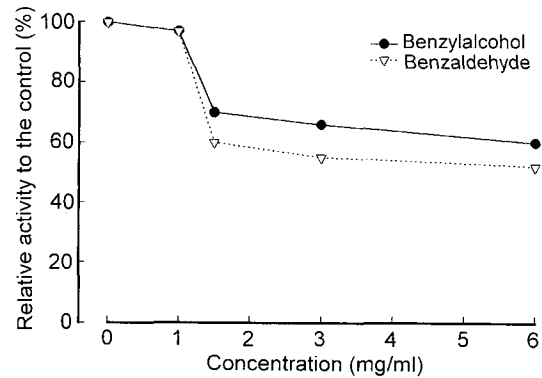


Fig. 2. Effect of benzaldehyde and benzylalcohol on the rats hepatic BALDH activity *in vitro*.

체중 당 간 무게는 대조군 및 toluene 투여군 모두 day phase군과 night phase군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었으며, 대조군 및 toluene 투여군에 있어 간 조직 중 과산화지질 함량은 night phase군이 day phase군 보다 각각 39%, 46% 높게 나타났다. 특히 혈청 중 XO 활성치는 day phase군에서는 toluene을 투여하므로써 약 38% 증가되었으며, night phase군에서 약 62%의 현저한 증가를 보였다 (p<0.05).

5. BADH 및 BALDH의 활성에 미치는 benzylalcohol 및 benzaldehyde의 영향

In vitro 시험에서 간 조직의 cytosol 분획 1 ml (protein 18 mg/ml) 당 benzylalcohol 및 benzaldehyde를 각각 1, 1.5, 3 및 6 mg 포함 되도록 하여 60분간 37°C에서 preincubation 시킨 효소시료의 BADH 및 BALDH의 활성도를 측정하는 것은 각각

Fig. 1과 Fig. 2이다.

Benzylalcohol의 농도를 증가시킴에 따라 BADH의 활성은 점차적으로 감소되어 benzylalcohol의 농도가 1.5 mg/ml일 때는 31%, 3 mg/ml인 경우에는 47%, 6 mg/ml일 때는 약 60% 억제되었다. Benzaldehyde의 경우에도 농도를 증가시킴에 따라 BADH의 활성도 역시 현저히 감소되어 benzaldehyde 1.5 mg/ml일 경우에는 55%, 3 mg/ml일 경우에는 59%, 6 mg/ml일 경우에는 약 69% 감소되었다.

그리고 BALDH의 경우에도 정도의 차이는 있으나 BADH의 경우와 유사하게 benzylalcohol 및 benzaldehyde의 농도를 증가시킴에 따라 BALDH 활성도가 점진적으로 감소되었으며, 그 억제도는 BADH와 BALDH 모두에서 benzaldehyde가 benzylalcohol 보다 더 크게 나타나고 있다.

고 찰

Toluene은 간세포내 endoplasmic reticulum (ER)에 존재하는 mixed function oxidase인 cytochrome P-450 (CYP)에 의하여 benzylalcohol로 전환되며, benzylalcohol dehydrogenase에 의해서 benzaldehyde로, 다시 benzaldehyde dehydrogenase에 의해서 benzoic acid로 산화된 다음, glycine과 포함된 hippuric acid로 요 중 배설된다^{11,42)}고 한다. 이러한 toluene 대사가 주·야 시차별에 따라서 어떠한 변동이 나타나는지 검토하고자 본 실험에서는 밤 12시 (night phase) 및 낮 12시 (day phase)에 각각 toluene을 투여한 다음, 각각 8시간 후 처치하여 toluene 대사에 관여하는 효소의 활성도를 간 조직 중에서 관찰하였다.

본 실험 조건하에서 microsomal mixed function oxidase의 일종인 aniline hydroxylase 활성도¹⁸⁾는 대조군 및 toluene 투여군 모두에서 night phase군이 day phase군 보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 약물대사효소의 활성이 부신피질 호르몬의 함량 변동에 따라 다르게 나타난다는 보고¹⁰⁾와 흰쥐에서 혈중 corticosterone치가 야간에 감소한다는 보고³²⁾ 및 흰쥐에 prednisolone을 투여하였을 때 CYP의 함량이 감소한다는 보고¹⁾들을 종합해 볼 때, toluene 투여시 benzylalcohol 생성률이 주간 보다 야간에서 높게 나타남을 암시하고 있으며, 이는 부신피질 호르몬의 혈중 농도 변화에 기인한 것으로 생각된다.

본 실험에서 night phase군에서 mixed function oxidase의 활성이 높게 유지되어 toluene으로부터 benzylalcohol 생성률이 day phase군 보다 높게 나타남에도 불구하고, toluene 투여군의 BADH 및 BALDH 활성도는 night phase군이 day phase군 보다 낮게 나타났다. 또한 toluene의 최종 대사산물인 hippuric acid의 요 중 배설량은 day phase군과 night phase군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었다. 이것은 night phase군에서 day phase군 보다 toluene 대사 중간 생성물인 benzylalcohol 및 benzaldehyde의 생체내 유지율이 높게 나타난 결과로 사료 되어진다.

한편, day phase군에서와는 달리 night phase toluene 투여군이 night phase 대조군 보다 BADH 및 BALDH 활성도가 낮게 나타난 것이 benzylalcohol과 benzaldehyde에 기인된 것인지를 검토할 목

적으로 *in vitro*에서 이들 효소 활성에 미치는 영향을 검토하였을 때, benzylalcohol 및 benzaldehyde 모두 BADH 및 BALDH 활성을 현저히 억제시키는 것으로 보아 night phase군에서 day phase군에 비해 과잉으로 생성된 benzylalcohol 및 benzaldehyde에 의해 이러한 결과가 나타난 것으로 생각된다.

그리고 toluene의 중간 대사산물 중 benzaldehyde는 세포상해를 유발시킨다는 보고¹³⁾를 감안하여 간 조직 손상과 관련하여 검토해 보았을 때, 간 손상시 증가된다는 간중량 및 과산화지질의 함량은 각각의 대조군과 toluene 투여군 간에는 유의성이 없었으나, day phase toluene군에 비해서는 night phase toluene군이 약간 증가하는 경향을 보였으며, 간 손상시 그 활성도가 증가된다는 혈청 XO^{2,4)}는 day phase toluene군 보다 night phase toluene군이 현저히 높게 나타났다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, night phase군이 day phase군 보다 benzaldehyde의 체내 유지율이 증가됨으로서 toluene의 급성적 투여에 의해 night phase군에서 간 손상이 day phase군 보다 심하게 나타난 것으로 사료된다.

이상 실험결과들을 종합해 볼 때, 실험동물에 toluene 투여시 night phase군에서 day phase군 보다 toluene으로 부터 benzylalcohol 및 benzaldehyde 생성률이 높게 유지됨으로서 benzylalcohol 및 benzaldehyde 체내 유지율이 증가되어 toluene에 의한 중독현상이 주간 보다 야간에서 높게 나타날 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) 김광진, 신중규, 윤종국 (1997): 랫드에 있어서 주·야 시차가 bromobenzene 대사에 미치는 영향. 한국독성학회지, **13(4)**: 377-383.
- 2) 윤종국, 신중규 (1989): 흰쥐에 사염화탄소 투여가 혈액 및 요 중 요산 함량에 미치는 영향. 대한보건협회지, **15(2)**: 13-19.
- 3) 윤종국, 이미경, 이상일 (1998): 성장기간이 다른 흰쥐에 CCl₄ 투여가 oxygen free radical 생성계 및 해독계 효소 활성에 미치는 영향. 한국노화학회지, **8(1)**: 35-42.
- 4) 윤종국, 이상일, 신중규 (1991): 식이성 단백질 함량에 따른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 xanthine oxidase 활성도에 미치는 영향. 한국영

- 양식량학회지, **20(6)**: 527-537.
- 5) 윤종국, 차귀영, 박천만 (1996): 흰쥐의 연령에 따른 사염화탄소 투여가 purine체 대사효소 활성에 미치는 영향. 한국노화학회지, **6(3)**: 71-77.
 - 6) Bélanger PM, Lalonde M, Labrecque G, Doré F (1985): Diurnal variations in the transferase and hydrolases involved in glucuronide and sulfate conjugation of rat liver. *Drug Metab Dispos*, **13**: 386-389.
 - 7) Bergmeyer HU (1974): Methods of Enzymatic Analysis (Vol. 2), Academic Press, New York, pp 428-429.
 - 8) Boor JW and Hurtig HI (1977): Persistent cerebellar ataxia after exposure to toluene. *Ann Neurol*, **2**: 440-442.
 - 9) Butler AR (1975): The Jaffe reaction. Identification of the coloured species. *Clin Chim Acta*, **59(2)**: 227-232.
 - 10) Critchlow V, Liebelt RA, Bar-Sela M, Mountcastle W and Lipscomb HS (1963): Sex difference in resting pituitary-adrenal function in the rat. *Am J Physiol*, **205**: 807-815.
 - 11) Cohr KH and Stockholm J (1979): Toluene. A Toxicologic review. *Scand J Work Environ Health*, **5**: 71-90.
 - 12) Davis WM (1962): Day-night periodicity in pentobarbital response of mice and influence of sociopsychological conditions. *Experientia (Basel)*, **18**: 235-237.
 - 13) Ellenhorn MJ and Barceloux DG (1988): Medical Toxicology, Elsevier Science Publishing Company, USA, pp 959-963.
 - 14) Halberg F, Haus E and Stephens A (1959): Susceptibility to ouabain and physiological 24-hour periodicity. *Federal Process*, **18**: 63.
 - 15) Hayden JW, Peterson RG and Bruckner JV (1977): Toxicology of toluene (methyl benzene), Review of current literature. *Clin Toxicol*, **11**: 549-559.
 - 16) Hurst EW (1985): Sexual differences in the toxicity and therapeutic action of chemical substances in *The Evaluation of Drug Toxicity* (Walpole AL and Spinks A eds.). Little Brown & Co., Boston.
 - 17) Iwata H, Yamamoto I and Huh K (1974): Sex different in allopurinol oxidizing enzyme activity in mouse liver supernatant fraction. *Biochem Pharmacol*, **23(6)**: 1144-1146.
 - 18) Kato R, Oshima T and Tomizawa S (1968): Toxicity and metabolism of drug in relation to dietary protein. *Jap J Pharmacol*, **18**: 356-366.
 - 19) Kitagawa H, Fujita S, Suzuki T and Kitani K (1985): Disappearance of sex difference in rat liver drug metabolism in old age. *Biochem Pharmacol*, **34(4)**: 579-580.
 - 20) Kubota K, Horai Y, Kushida K and Ishizaki Y (1988): Determination of benzoic acid and hippuric acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, **425(1)**: 67-75.
 - 21) Knox JW and Nelson JR (1966): Permanent encephalopathy from toluene inhalation. *N Engl J Med*, **275**: 1494-1496.
 - 22) Korpela M and Tahti H (1988): The effect of *in vitro* and *in vivo* toluene exposure on rat erythrocyte and synaptosome membrane integral enzymes. *Pharmacol Toxicol*, **63(1)**: 30-32.
 - 23) Korpela M, Vapaatalo H and Tahti H (1983): Effect of toluene on the hemolytic resistance of rat erythrocytes. *Toxicol Letters*, **17(3-4)**: 253-257.
 - 24) Lam CW, Galen TJ, Boyd JF and Pierson DL (1990): Mechanism of transport and distribution of organic solvents in blood. *Toxicol Appl Pharmacol*, **104(1)**: 117-129.
 - 25) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, **193**: 265-275.
 - 26) Lutsch EF and Morris RW (1967): Circadian periodicity in susceptibility to lidocaine hydrochloride. *Science*, **156**: 100-102.
 - 27) Marte E and Halberg F (1961): Circadian susceptibility rhythm of mice to librium. *Federal Process*, **20**: 305.
 - 28) Morris RJ (1989): Toluene and hepatotoxicity. *J Occup Environ Med*, **31(12)**: 1014-1015.
 - 29) Narimatus S, Watanabe K, Yamamoto I and Yoshimura H (1991): Sex difference in the oxidative metabolism of delta 9-tetrahydrocanna-

- binol in the rat. *Biochem Pharmacol*, **41(8)**: 1187-1194.
- 30) Ohkawa H, Ohish N and Yaki K (1979) : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, **95**: 351-355.
- 31) Pathiratne A, Puyear RL and Brammer JD (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**: 272-280.
- 32) Radzialowski FM and Bousquet WF (1968): Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in the rat and mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, **163(1)**: 229-238.
- 33) Rees DC, Knisely JS, Jordan S and Balster RL (1987): Discriminative stimulus properties of toluene in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol*, **88(1)**: 97-104.
- 34) Ronis MJJ and Cunny HC (1994): Physiological (endogenous) factors affecting the metabolism of xenobiotics in *Introduction to Biological Toxicology* (Hodgson E and Levi PE eds.), pp 133-151. Appleton & Lange, New Jersey.
- 35) Rosin J, Bartosz G and Wronska Nofer T (1988): Studies on the effect of ethanol and/or toluene on rat erythrocytes. *J Appl Toxicol*, **8(5)**: 369-372.
- 36) Satran R and Dodson V (1963): Toluene habituation. *N Engl J Med*, **268**: 719-721.
- 37) Scheffler WC (1980): Statistics for the biological sciences, pp 84-89. Addison-Wesley Publishing Co., Cambridge, MA.
- 38) Stachow CS, Stevenson IL and Day D (1967): Purification and properties of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-specific benzaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas*. *J Biol Chem*, **242(22)**: 5294-5300.
- 39) Stauber RE, Rosenblum E, Eagon PK, Gavalier JS and Van Theil DH (1991): The effect of portal-system shunting on hepatic sex hormone receptors in male rats. *Gastroenterology*, **100(1)**: 168-174.
- 40) Stirpe F and Della Corte E (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem*, **244(14)**: 855-863.
- 41) Taylor GJ and Harris WS (1970): Glue sniffing causes heart block in mice. *Science*, **170(960)**: 866-868.
- 42) Toftgard R, Nilsen OG and Gustafsson JA (1982): Dose dependent induction of rat liver microsomal cytochrome P-450 and microsomal enzymatic activities after inhalation of toluene and dichloromethane. *Acta Pharmacol Toxicol Copenh*, **51(2)**: 108-114.
- 43) Vidrio H, Magos GA and Lorenzana-Jimenez M (1986): Electrocardiographic effects of toluene in the anesthetized rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, **279(1)**: 121-129.
- 44) Zee-Cheng CS, Mueller CE and Gibbs HR (1985): Toluene sniffing and severe sinus bradycardia. *Ann Intern Med*, **103**: 482-485.

=Abstract=

Effect of Circadian Rhythms on the Toluene Metabolism in Rats

Jong-Ihl Ryu, Chong-Guk Yoon[†] and Joong-Kyu Shin¹

Department of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea,

Department of Health Science, Kyungsan University¹

To investigate the effect of the circadian variations on the toluene metabolism, 50% toluene in olive oil (0.2 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. Each group of animals was sacrificed at 8 hr after last injection of toluene. Hepatic microsomal aniline hydroxylase activity was more increased in control rats of night phase than those of day phase. On the other hand, the activities of hepatic benzylalcohol dehydrogenase in control rats of night phase showed the similar value with that in those of day phase and in case of toluene treatment, these enzyme activities in rats of night phase were rather more decreased than those of day phase. Furthermore, hepatic benzaldehyde dehydrogenase activities were more or less higher in the control rats of night phase than those of day phase and by toluene treatment, enzyme activities of rats of night phase were somewhat decreased than those of day phase. *In vitro*, benzylalcohol or benzaldehyde inhibited the activities of benzylalcohol or aldehyde dehydrogenase prepared from the rats liver supernatant. There were no differences in urinary hippuric acid contents between the night phase and day phase both in the control and toluene treated group. The increasing rate of liver weight per body weight (%), serum xanthine oxidase activities were higher in rats of night phase than in those of day phase by toluene treatment. In conclusion, these results indicate that the producing rate of benzylalcohol and benzaldehyde from toluene may be higher in rats of night phase than those of day phase.

Key Words: Circadian rhythms, Toluene metabolism

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 5(1): 67-74, June, 1999]

[†] Corresponding author