

## 육미지황탕이 카드뮴 중독된 흰쥐의 간장 약물대사 기능에 미치는 영향

서은실\* · 임종필

우석대학교 약학대학

(Received August 28, 2000)

### Effects of Yukmijihwang-Tang on the Hepatic Microsomal Function of Cd-poisoned Rat

Eun Sil Suh\* and Jong Pil Lim

College of Pharmacy, Woosuk University 565-701, Chonju Chonbuk

**Abstract** — In order to investigate the effects of Yukmijihwang-Tang on the hepatic microsomal function of Cd-poisoned rats, 3 mg/kg of cadmium (Cd) and 500 mg/kg of Yukmijihwang-Tang extract (YJT), a herbal hepatoprotective medicine, were administered concurrently to rats for 4 weeks. The levels of protein, aniline hydroxylase (AH) and malondialdehyde (MDA) were increased in Cd-treated group. This increase was suppressed by treatment of YJT. The levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glucose-6-phosphatase (G-6-P) and  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) of Cd-treated group were decreased. This decrease was inhibited by treatment of YJT. Treatment with YJT significantly protects cadmium-induced hepatotoxicity.

**Keywords** □ Yukmijihwang-Tang, Cd-poisoned, liver, toxicity.

카드뮴은 1960년대 일본에서 Itai-Itai 병인으로 밝혀진 이래 이의 독성에 대해 많은 연구가 이루어져 왔다.<sup>1)</sup> 만성 카드뮴 폭로의 원인 물질로는 페인트, 플라스틱, 안정제, 축전지, 살충제, 비료, 화장품 용기, 땀납 등 우리생활에 밀접하게 관련되어 있다.<sup>2,3)</sup> 환경 중 카드뮴 오염의 주요 원인은 화석연료 부식, 노폐물 소각, 쓰레기 슬러지 등이다.<sup>4)</sup> FDA는 카드뮴 섭취량의 잠정적 기준으로 1일 70  $\mu\text{g}$  이하가 바람직하다고 제시하였다. 미국에서 15~20세의 젊은 남자의 경우 하루 평균 39  $\mu\text{g}$ 을 섭취하고 있다고 FDA에서 보고하였으며,<sup>5)</sup> 1974년 일본의 조사 결과에 의하면 비오염 지역 주민의 1일 섭취량은 약 50  $\text{mg}$ 이었으나 오염지역 주민은 2~3배 량의 카드뮴을 섭취하고 있었으며 이들의 대부

분은 주식인 쌀에서 기인되고 있음을 보고하였다.<sup>6)</sup>

그 동안 카드뮴에 대한 연구가 많이 이루어져 왔는데 카드뮴의 장기에 대한 영향으로는 급성 중독 시 고환과 난소 등 생식기, 순환기계 및 폐에도 장애를 주며, 만성 중독 시 폐기종, 단백뇨, 신 독성, 간 독성, 빈혈, 고혈압, 고환염, 골연화증, 자연 골절 등을 유발한다고 보고되어 있다.<sup>7-12)</sup> Hoffman 등<sup>13)</sup>은 흰쥐에 cadmium 6 mg/kg을 투여했을 때 형태학적인 변화가 일어나며 카드뮴 급성 독성의 주요 표적 장기가 간장이라고 하였다.

육미지황탕은 東醫寶鑑<sup>14)</sup>에 “治虛勞腎氣衰弱久新憔悴寢汗”라 하였고, 中醫處方解說<sup>15)</sup> 및 本草學<sup>16)</sup>에는 “滋補肝腎, 清虛熱, 利濕”이라 하여 만성 소모성 질환, 대사성 이화작용 항진, 내분비 기능 실조 등에 補肝 및 補腎劑로 사용해 왔다.

그 동안의 육미지황탕에 관한 연구로는 許 등<sup>17)</sup>이

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 063-290-1024 (팩스) 063-291-9312

동 엑스를 흰쥐에 투여한 결과 혈청중 albumin의 증가를 보고하였으며, 송 등<sup>18)</sup>은 육미지황탕 전탕액을 가토에 투여한 바 사염화탄소 단독처리군은 정상군에 비하여 지질과산화가 상승하였으며 육미지황탕 처리군은 거의 정상 치로 감소하였다고 보고하였다. 또 柳 등<sup>19)</sup>은 육미지황탕을 처리한 신염 백서의 뇨중 단백질 함량이 투약 30일에 유의성있는 감소를 나타냈다고 보고한 바 있고, 林 등<sup>20)</sup>은 Cd를 투여한 쥐의 신장성 고혈압에 육미지황탕이 유의성 있는 회복효과가 있음을 보고 한 바 있다.

본 실험은 최근 환경 중에 급증되어 환경오염물질로 주목을 받고 있는 cadmium chloride(CdCl<sub>2</sub>)에 의한 간장 독성에 미치는 육미지황탕의 간장 보호작용을 알아보기 위하여 육미지황탕의 추출물을 카드뮴과 병용 투여하여 간장의 각종 효소변화를 소정의 동물실험을 통하여 검토하였다.

### 실험방법

**재료** - 六味地黃湯은 方藥合編<sup>21)</sup>의 처방에 준하여 숙지황 13g, 산약, 산수유 각 7g, 목단피, 복령, 택사 각 5g을 1점으로 하여 10배의 물을 가하여 전탕 후, 감압농축 동결건조하여 건조분말 엑스(이하 YJT라 함)로 만들어 사용시 정제수를 가하여 일정 농도로 만들어 투여하였다(수득율 10.5%).

**시약 및 기기** - 카드뮴으로는 cadmium chloride (Sigma Chemical Co.)을 사용하였고 기타 시약은 시판 특급 이상의 시약을 사용하였다. 기기로는 spectrophotometer(UV-240, Shimadzu), high speed centrifuge(KR-20000T, Kubota), Teflon-glass homogenizer (Fisher), ICAP(Jarrel-Ash, Atom Comp, Series 800), blood autoanalyzer(Hitachi 736-40) 등을 사용하였다.

**실험동물 및 약물투여** - 흰쥐는 체중 150g 정도의 건강한 Sprague-Dawley strain(male)을 사용하였다. 대조군과 Cd 단독 투여군 및 Cd와 YJT 병용 투여군으로 나누었으며, 실험군마다 8~10마리씩 사용하였다. 대조군에는 생리식염수 5.0 ml/kg을, Cd 투여군은 Cd로서 3 mg/kg씩을 피하주사로, Cd와 YJT 병용 투여군은 Cd로서 3 mg/kg씩을 피하로 투여하고 1시간 후 YJT로 500 mg/kg 씩을 경구로, 4주간 매일 1회씩 투여하였다. YJT 투여량은 예비실험에서 100 mg/kg으로부터 시작하여 1000 mg/kg까지 실험한 결과 처음

에는 용량 의존적으로 간장 보호효과가 증가하다가 500 mg/kg이상의 용량에서는 큰 차이가 나지 않으므로 500 mg/kg으로 결정하였다.

**간 microsome 분획의 분리** - 적출한 간을 잘게 썰어서 homogenizer를 사용하여 0.25M sucrose 용액으로 homogenize 시킨다. 10~20%의 간장 homogenate을 Cinti<sup>22)</sup> 등의 방법에 따라 differential centrifugation을 한다. Homogenate를 600 g에서 5분간 원심분리하고 microsome을 완전히 침전시키기 위하여 8 mM CaCl<sub>2</sub> 용액을 post-mitochondrial supernatant에 가한 후 다시 2°C에서 27,000 g로 원심분리한다. 여기서 얻은 pellet을 동량의 0.15 M KCl을 가하여 세척한 후 재 현탁시키고 다시 27,000 g에서 15분간 원심분리한 다음 그 pellet을 microsome분획으로 사용한다.

**Glucose-6-phosphatase 활성측정** - Fiske-Subbarow<sup>23)</sup>의 방법으로 측정하였다.

**Cytochrome p-450 함량측정** - Omura와 Sato<sup>24)</sup>의 방법으로 측정하였다.

**Lipid peroxidation측정** - 大石<sup>25)</sup>의 방법에 따라 malondialdehyde(MDA)를 thiobarbituric acid법에 의하여 측정하였다.

**혈청 AST 및 ALT 함량측정** - 최종 약물 투여 24시간 후 복부 대동맥에서 채취한 혈액을 상온에서 30분간 방치한 후에 2,000 g에서 원심분리하여 얻은 혈청을 blood autoanalyzer(Hitachi 736-40, Japan)를 사용하여 aspartate aminotransferase(ALT) 및 alanine aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

**Protein 함량측정** - Lowry<sup>26)</sup>의 방법으로 측정하였다.

**Aniline hydroxylase의 활성측정** - 간 microsome 분획중 aniline hydroxylase의 활성 측정은 incubation media를 제조한 다음 이 반응액을 37°C에서 20분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid 2 ml를 넣어 반응을 완료시키고 원심 분리하였다. 이 상등액 2.0 ml에 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1.0 ml와 2% phenol 함유 0.2 N-NaOH 용액 2.0 ml를 가한 다음 37°C에서 30분간 정색시켜 얻어진 청색의 반응생성물을 λ<sub>max</sub> 640 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.<sup>27)</sup>

**Aminolevulinic acid dehydratase의 활성측정** - Lee<sup>28)</sup>의 방법에 따라 측정하였다.

**통계처리** - 실험결과는 평균치와 실험오차로 표현하

였고, 각 군과의 차이를 Student-t test를 사용하여 검정하였으며,  $p$ 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

### 실험결과 및 고찰

**Glucose-6-phosphatase(G-6-P) 활성** - 대조군에 비하여 Cd 투여군에서 유의성있는( $p < 0.01$ ) 활성저하를 볼 수 있었다. 그러나 YJT의 병용 투여로 유의성있는( $p < 0.05$ ) 회복 효과를 나타냈다(Table I). G-6-P는 독성물질에 의한 microsome의 손상에 대하여 주요한 지표가 되는 것이다. Wapnir 등<sup>29)</sup>의 연구에서도 납 투여시 glucose-6-phosphatase 활성이 소장에서 증가했으며 간장에서는 감소한 것으로 나타나 일치하는 결과를 보였다.

**Cytochrome p-450 함량** - 각 실험군에서 cytochrome p-450 함량에 별다른 유의성이 없었다(Table II). Woods<sup>30)</sup>나 Fowler<sup>39)</sup>의 실험에서도 As투여군의 경우 cytochrome p-450 함량에 별다른 변화

가 없었다.

**Malondialdehyde(MDA) 함량** - Cd 투여군은 대조군에 비하여 유의성있게( $p < 0.01$ ) 증가하였으나 YJT와의 병용 투여군은 Cd 투여군에 비하여 유의적으로( $p < 0.01$ ) 감소하였다(Table III). Cd로 인한 독성은 여러 반응을 거쳐 지질 과산화물을 유도하고 이 과정의 최종산물인 MDA를 생성한다. 간장 독성 유발물질로 인하여 지질과산화 반응이 야기되어 lipid peroxy (LOO<sup>-</sup>) 등의 free radical이 생성되어 간 독성 발현에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>31)</sup> Rana 등<sup>32)</sup>은 Cd 투여에 의한 과산화지질의 상승을 보고했으며 Yanez 등<sup>33)</sup>은 Cd 투여시 과산화지질이 대조군에 비해 약 2.5배 가량 증가한다고 하여 본 실험과 유사하였다.

**혈청 AST 및 ALT 함량측정** - YJT 투여군에서는 대조군에 비하여 AST 및 ALT 활성이 유의성있게( $p < 0.05$ ) 감소하였다. 그러나 YJT와의 병용 투여군은 Cd 투여군에 비하여 유의적으로( $p < 0.05$ ) 증가하였다(Table IV). 이는 간 독성 발현으로 생성된 free radical이 지질과산화를 촉진하고 간세포의 괴사나 간

**Table I** - Effect of Yukmijihwang-Tang extract on hepatic glucose-6-phosphatase (G-6-P) activities in Cd-poisoned rats

Groups	G-6-P (nmole/mg protein)
Control	78.21 ± 5.06
Cd	52.24 ± 2.59**
Cd+YJT	66.44 ± 3.14 <sup>#</sup>

Each value is the mean ± SE of 8 to 10 rats. Rats were administered daily for 4 weeks as follows; Cd: 3 mg/kg as cadmium s.c., Control: 5.0 ml/kg of saline p.o., Cd+YJT: 3 mg/kg as cadmium s.c. and 500 mg/kg of Yukmijihwang-Tang ex. p.o. Significant difference from control group. (\*\* $p < 0.01$ ). Significant difference from Cd-treated group. (<sup>#</sup> $p < 0.05$ ).

**Table II** - Effect of Yukmijihwang-Tang extract on microsomal cytochrome p-450 concentration in Cd-poisoned rats

Groups	p-450 (nmole/mg protein)
Control	0.780 ± 0.06
Cd	0.792 ± 0.01
Cd+YJT	0.804 ± 0.05

Each value is the mean ± SE of 8 to 10 rats. Rats were administered daily for 4 weeks as follows; Cd: 3 mg/kg as cadmium s.c., Control: 5.0 ml/kg of saline p.o., Cd+YJT: 3 mg/kg as cadmium s.c. and 500 mg/kg of Yukmijihwang-Tang ex. p.o.

**Table III** - Effect of Yukmijihwang-Tang extract on malondialdehyde (MDA) level and protein concentration in Cd-poisoned rat liver microsome

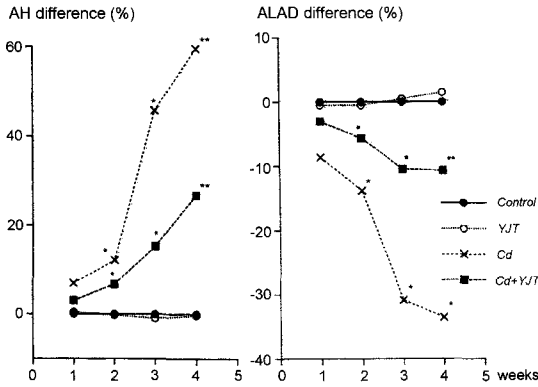
Groups	MDA (nmole/mg protein)	Protein (mg/g of liver)
Control	1.09 ± 0.011	32.19 ± 0.41
Cd	2.01 ± 0.041**	49.38 ± 1.12**
Cd+YJT	1.40 ± 0.012 <sup>###</sup>	38.19 ± 0.94 <sup>###</sup>

Each value is the mean ± SE of 8 to 10 rats. Rats were administered daily for 4 weeks as follows; Cd: 3 mg/kg as cadmium s.c., Control: 5.0 ml/kg of saline p.o., Cd+YJT: 3 mg/kg as cadmium s.c. and 500 mg/kg of Yukmijihwang-Tang ex. p.o. Significant difference from control group. (\*\* $p < 0.01$ ). Significant difference from Cd-treated group. (<sup>###</sup> $p < 0.01$ ).

**Table IV** - Effect of Yukmijihwang-Tang extract on serum AST and ALT levels in Cd-poisoned rats

Groups	AST level(U/L)	ALT level(U/L)
Control	74.23 ± 7.85	37.19 ± 3.09
Cd	109.38 ± 9.12*	45.81 ± 2.11*
Cd+YJT	89.11 ± 2.91 <sup>#</sup>	41.31 ± 1.99 <sup>#</sup>

Each value is the mean ± SE of 8 to 10 rats. Rats were administered daily for 4 weeks as follows; Cd: 3 mg/kg as cadmium s.c., Control: 5.0 ml/kg of saline p.o., Cd+YJT: 3 mg/kg as cadmium s.c. and 500 mg/kg of Yukmijihwang-Tang ex. p.o. Significant difference from control group. (\* $p < 0.05$ ). Significant difference from Cd-treated group. (<sup>#</sup> $p < 0.05$ ).



**Fig. 1** – Effects of Yukmijuhwang-Tang extract on activities of hepatic microsomal aniline hydroxylase (AH) and aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) in cadmium-poisoned rats. Each value is the mean  $\pm$  SE of 8 to 10 rats. Rats were administered daily for 4 weeks as follows; Cd: 3 mg/kg as cadmium *s.c.*, Control: 5.0 ml/kg of saline *p.o.*, Cd+YJT: 3 mg/kg as cadmium *s.c.* and 500 mg/kg of Yukmijuhwang-Tang ex. *p.o.* Difference (%): difference percent from control group. Significant difference from control group. (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

조직을 파괴시켜 transaminase가 혈중에 유리되어 높은 활성을 나타내기 때문으로 사료된다<sup>34)</sup>

**Microsomal protein 함량** – 대조군에 비하여 Cd 투여군에서 유의성있는( $p < 0.01$ ) 증가를 보였으며 YJT와의 병용 투여군의 경우는 이의 증가를 유의성있게( $p < 0.01$ ) 억제하였다(Table III). 일반적으로 microsome 분획 중의 protein의 함량은 약물대사 효소의 활성과 관계가 있으며 본 실험에서도 protein 함량 증가는 약물대사 효소의 활성증가와 비례하는 경향을 보여 주었다.

**Aniline hydroxylase의 활성** – Cd 투여군 및 YJT 병용 투여군에서 모두 증가하는 경향을 보였으며 4주째에는 Cd 투여군에서 14.65 nmole/mg protein으로 대조군의 8.55 nmole에 비하여 유의성있는( $p < 0.01$ ) 증가율을 나타내었으나 YJT와의 병용 투여군에서는 증가율이 10.84 nmole로 카드뮴 투여군에 비하여 유의적으로( $p < 0.01$ ) 감소하였다(Fig. 1). 이러한 microsome 효소의 활성 증가는 효소분자의 구조변경 또는 효소 단백질 합성 증가에 기인하는 것으로 알려져 있다.<sup>27)</sup>

**Aminolevulinic acid dehydratase(ALAD)의 활성** – Cd 투여군에서 시간 경과에 따라 급격히 감소하여 감소율이 4주째에는 대조군의 1.91 unit에 비하여

1.31로 유의성있게( $p < 0.05$ ) 감소하여 heme 생합성 효과가 저하되었을 것으로 사료된다. 그러나 YJT와의 병용 투여군에서는 4주째에 1.76 unit로 Cd 투여군에 비하여 유의성있는( $p < 0.01$ ) 억제효과를 나타냈다(Fig. 1). ALAD의 활성이 저하되면 혈액 및 뇨중의 ALA농도가 상승하며 장기간 계속될 경우 heme 합성저해에 의한 빈혈을 초래하게 됨은 물론이고 mitochondria 및 microsomal cytochrome과 같은 hemoprotein의 생합성이 영향을 받는다.<sup>35)</sup> Trevisan 등<sup>36)</sup> 및 Meredith 등<sup>37)</sup>은 납 투여시 ALAD가 각각 34% 및 70%로 저하됨을 보고하였고 Goering 등<sup>38)</sup>은 GaAs를 투여하여 신장에서 68%, 간장에서 79%까지 저하되었다고 하였으며 Fowler 등<sup>39)</sup>은 Pb 및 카드뮴을 병용 투여시 ALA가 크게 증가하였음을 보고했다.

## 결론

간장 독성을 일으키는 카드뮴(3 mg/kg)과 補肝腎劑로 사용되는 六味地黃湯(500 mg/kg)을 흰쥐에게 4주간 병용 투여하여 간장 약물대사 기능에 미치는 영향을 측정 한 결과 protein, aniline hydroxylase(AH) 및 malondialdehyde(MDA) 함량은 Cd 투여군에서 증가하였으며 이러한 증가는 육미지황탕의 투여로 억제되었다. 또한 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), glucose-6-phosphatase(G-6-P) 및  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase(ALAD) 함량은 Cd 투여군에서 감소하였는데 육미지황탕의 투여로 억제되었다. 육미지황탕의 투여는 카드뮴으로 인한 간장 독성에 유의성있는 보호효과를 나타냈다.

## 감사의 말씀

본 연구는 우석대학교 학술연구 조성비의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

## 문헌

- 1) Hagino N. and Yoshida K. : A study on the etiology of so called "Itai-Itai" disease. *J. Japan Orthop. Cd. Soc.* 20, 812 (1961).
- 2) Loren D. Koller : Effect of environmental contaminants on the immune response. *Advanced in veterinary*

- science and comparative medicine*. **23**, 267 (1979).
- 3) Edward J. : Nutrition and environmental health. John wiley & sons Inc. N.Y. p. 2 (1981).
  - 4) Davis, R. D. : Cadmium-a complex environmental problem. Part II. Cadmium in sludges used as fertilizer. *Experientia* (Basel), **40**(2), 117 (1984).
  - 5) Van Brunwaene R., Kirchmann R. and Impens R. : Cadmium contamination in agriculture and zootechnology. *Experientia*, **40**, 43 (1984).
  - 6) 齋藤寛 : 有害金屬と 生活環境. 藥局, **35**, 1147 (1984).
  - 7) Tsuchiya K. & Sugita M. A : Mathematical model for the biological half-life of a chemical. *Nord. Hyg. Tidskr.* **53**, 105 (1971).
  - 8) Joshi B. C., Powell A. and Holsgher M. : Immune complex nephritis in rats induced by long-term exposure to cadmium. *J. Comp. Path.* **91**, 11 (1981).
  - 9) Powell A., Joshi B., Dwivedi C. and Green L. : Immuno-pathological changes in Cd-treated rats. *Vet. Pathol.* **16**, 116 (1979).
  - 10) 의과대학 예방의학 협회 : 예방의학과 공중 보건, 계축 문화사, p. 234 (1986).
  - 11) Robert E. Dudley and Curtis D. : Cadmium-induced hepatic and renal injury in chronically exposed rats. *Toxic. Appl. Pharmacol.* **77**, 41 (1985).
  - 12) Battaiya Rajanna, Evelyn Fikes, Harold Simpson and Marvin Hopson: Reversibility effects on renal and hepatic gluco-neogenic enzymes in rats from chronic exposure of cadmium. *J. Toxic. Environ. Health.* **15**, 521 (1985).
  - 13) Hoffman E. O., Cook J. A., Diluzio N. R. and Coover J. A.: The effects of acute cadmium administration in the liver and kidney of the rat. *Lab. Invest.*, **32**, 655 (1975).
  - 14) 허 준 : 동의보감, 남산당, 서울, p. 449 (1983).
  - 15) 神戸中醫學研究會 : 中醫處方解説, 醫齒藥出版, 東京, p. 39 (1982).
  - 16) 生藥學 教授 協議會 : 本草學, 大韓 藥師會, p. 784 (1994).
  - 17) 허중회 : 가미육미지황탕이 *Streptozotocin* 백서의 혈당량에 미치는 영향, 경희한의대 논문집. **7**, 135 (1984).
  - 18) 김우식 : 육미지황탕 전탕액이 가토혈압 및 백서간 TBA 치에 미치는 영향에 관한 연구, 경희한의대 논문집. **2**, 145 (1979).
  - 19) 유지윤 : 육미지황탕 및 팔미지황탕이 항개량형 마빈신염에 미치는 영향, 원광 대학교 대학원 논문집. **3**, 541 (1983).
  - 20) 임종필, 서은실 : 육미지황탕이 카드뮴 중독된 흰쥐의 혈압에 미치는 영향, 한국생약학회지. **30**(3), 250 (1999).
  - 21) 황도연 : 증맥 · 방약합편, 남산당, p. 166 (1984).
  - 22) Cinti D. L., Moldeus P. and Schenkman J. B. : Kinetic parameters of drug-metabolising enzymes in Ca<sup>2+</sup>-sedimented microsomes from rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **21**, 3249 (1972).
  - 23) Fiske H. Cyrus and Subbarow Yellapragada: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* **66**, 375 (1925).
  - 24) Omura Tsuneo and Sato Ryo : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370 (1964).
  - 25) 大石誠子 : 과산화지질 측정법. 최신의학. **33**, 660 (1978).
  - 26) Lowry H. Oliver, Nira J. Rosebrough, A. Lewis Farr and Roses J. Randall: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
  - 27) Hong S. U. and Kim H. S. : Toxic effect of S-bioallethrin in rats. Environmental Pharmacy of Sungkyunkwan Univ. Graduate school. (1991).
  - 28) Lee Y. W. and Chung K. C. : Isolation and Purification of multiple molecular forms of  $\delta$ -aminolevulinate dehydratase from ICR inbred strain of mice. *Kor. Biochem. J.* **12**, 177 (1979).
  - 29) Wapnir A. Raul, Susan A. Moak, Fima Lifshitz and Saul Teichberg: Alterations of intestinal and renal functions in rats after intraperitoneal injections of lead acetate. *J. Lab. Clin. Med.* **94**, 144 (1979).
  - 30) David L. Eaton, Neill H. Stacey, and Cutis D. Klassen : Dose-response effect of various metal ions rat liver metallothionein, glutathion, heme oxygenase, and cytochrome p-450. *Toxic. Appl. Pharm.* **55**, 393 (1980)
  - 31) McCay, P. B., Lai, E. K. and Poyer, J. L. : Oxygen- and-carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J. Biol. Chem.* **259**(4), 2135 (1984).
  - 32) Rana S. V. S. and Kumar Ajay : Significance of lipid peroxidation in liver injury after heavy metal poisoning in rat. *Current Sci.* **53**, 933 (1984).
  - 33) Yanez Leticia, Letica Carrizales and Maria Teresa Zanatta: Arsenic-cadmium interaction in rats.-Toxic

- effects in the heart and tissue metal shifts. *Toxicology*. **67**, 227 (1991).
- 34) Philippe, L., Claude, D. and Alain, B. E. : Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. *Biochem. Pharm.* **39**, 2027 (1991)
- 35) Francis C. Knowles and Andrew A. Benson : The biochemistry of cadmium. *TIBS*. **43**, 178 (1983).
- 36) Trevisan Andrea, G. Paolo Gori, Antonella Zangirolami, Carla Benevento, Alberto Rosa and Paolo Chiesura: Site of action of metals on the aminolevulinic acid dehydratase of human erythrocytes. *Enzyme*. **25**, 33 (1980).
- 37) Meredith P. A. , Moore M. R. and Goldberg A. : Effects of aluminium, lead and zinc on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase. *Enzyme* **22**, 22 (1977).
- 38) Goering L, Peter, Robert R. Maronpot and Bruce A. Fowler: Effect of intratracheal gallium arsenide administration on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase in rats. -Relationship to urinary excretion of aminolevulinic acid. *Toxic. Appl. Pharmacol.* **92**, 179 (1988).
- 39) Fowler A. Bruce and Kathryn R. Mahaffey : Interactions among lead, cadmium and arsenic in relation to porphyrin excretion patterns. *Environ. Health Persp.* **25**, 87 (1978).