

흰쥐의 심혈관 기능에 대한 carbofuran의 독성작용

정이숙 · 이수환 · 백은주 · 문창규* · 문창현#

아주대학교 의과대학, *서울대학교 약학대학

(Received October 22, 2001; Revised November 17, 2001)

Carbofuran Induces Cardiovascular Dysfunction in Rat

Yi-Sook Jung, Soo Hwan Lee, Eun Joo Baik, Chang-Kiu Moon*
and Chang-Hyun Moon#

Department of Physiology, School of Medicine, Ajou University, Suwon 442-749,

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract — Of all pesticides, carbamates are known to be most common, since alternatives such as organophosphates have long lifetime and are extremely toxic to produce a delayed neurotoxic effect. Although a number of studies about toxicity of carbofuran, a most widely used carbamate, have been reported, its cardiovascular toxicity has not yet been studied. In the present study, we investigated its cardiovascular toxic effect in anesthetized rat in vivo and in isolated Langendorff rat heart. In anesthetized rat model, carbofuran (10 mg/kg) significantly reduced heart rate, and transiently increased blood pressure. In isolated rat heart, carbofuran (10 μ M) caused a significant depression in the left ventricular developed pressure (LVDP), indicating contractile dysfunction by carbofuran. Carbofuran (10 μ M) also decreased coronary flow rate (CFR) in isolated heart, indicating carbofuran-induced coronary dysfunction. These results suggest that carbofuran can cause cardiac dysfunction in rat in vivo and vitro.

Keywords □ Carbofuran, heart, blood pressure

살충제의 환경 독성에 관한 연구는 고용량의 급성 또는 아급성 폭로에 의한 중독 및 이들 화합물의 주 살충 작용 기전과 관련된 제 증상의 발현을 중심으로 많은 연구가 진행되어 왔다. 그러나 최근 사회적으로 많은 논란이 되고 있는 환경 호르몬(endocrine disruptor)의 예에서 볼 수 있듯이 환경 오염물질, 특히 살충제의 독성은 그 동안 알려져 있던 독성 발현 기전과는 판이한 경로를 통해 미처 예측하지 못한 부분에서 돌출적으로 발현될 가능성이 매우 높아, 새로운 parameter를 통한 독성의 재평가가 이루어져야 할 필요성이 제시되고 있다.

Carbamate계 살충제는 acetylcholine esterase 저해

작용을 주 살충기전으로 하며 유기인계 살충제에 비해 환경 잔류성이 낮으며, delayed neurotoxicity를 나타내지 않아 현재 전세계적으로 가장 널리 사용되고 있다. Carbamate 계열 화합물들의 독성은 주로 살충작용 기전과 관련된 급성 또는 아급성 중독 증상을 중심으로 밝혀져 왔다. 한편, 최근들어 이들 화합물이 thyroxin 호르몬 분비를 증가시키며,¹⁾ 남성 생식계(reproductive system) 교란을 유발하는 등²⁾ 환경 호르몬의 작용을 지닌다는 사실이 밝혀진 바 있다. 또한, carbamate계 살충제는 다양한 면역 독성을 유발하여 생체 방어기능을 저하시킬 것이라고 보고된 바 있다. 즉, carbamate는 토끼에서 지연형 과민반응을 억제시키며, 생쥐에서 체액성 면역능을 억제함으로써 virus에 대한 저항성을 저하시키고,^{3,4)} 모태에 노출시킨 경우 자손에 있어서 항체의 생성을 억제함이 관찰되었다.⁵⁾

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 031-219-504 (팩스) 031-219-5049

또한 macrophage의 기능을 저하시켜 감염된 세포의 제거능을 억제하였다.⁶⁾ *In vitro* system에서 IL-2에 대한 CTLL-2 cell의 분열능을 억제하는 것이 보고된 바 있다.⁷⁾ 이러한 보고들은 carbamate계 살충제가 면역독성이 있음을 시사하고 있다. 뿐만 아니라 최근에는 carbamate계 살충제가 심장기능을 저하시키고⁸⁾ 심근 및 혈관 평활근 세포사멸을 유도 할 수 있다는 연구 결과⁹⁾들이 발표되어 이들 화합물에 의한 심장 순환계 독성 발현 가능성이 시사된 바 있다. 그러나 carbamate계 살충제에 의한 심장순환계 독성에 관한 연구자료는 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 carbamate계 화합물 중에서도 가장 많이 사용되어지고 있는 carbofuran을 대상으로 하여 심장 순환계 기능에 미치는 영향을 *in vivo* 및 적출심장모델에서 검토함으로써 carbofuran에 의한 심혈관독성발현 여부를 평가하였다.

실험 방법

***In vivo* hemodynamic study** - 웅성 SD 흰쥐를 pentobarbital(35 mg/kg, i.p.)로 마취하고, polyethylene 관을 사용하여 경동맥 및 경정맥으로 삽관하였다. 수술을 행한 지 10-20분 후에 혈압 및 심박동수가 안정화되면 경정맥을 통하여 carbofuran 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg 농도를 각각 주입하고 시간 경과에 따른 혈압과 심박수의 변화를 관찰하였다. 용매는 ethanol을 사용하였으며 대조군으로는 ethanol 0.4% 투여군으로 하였다. 경동맥으로 삽입된 관을 Isotec pressure transducer에 연결하고 Grass 7P polygraph를 통하여 혈압을 측정하였다. 심장 박동수는 tachometer를 이용하여 동맥압으로부터 측정하였다. 이후 온도조절 방식을 이용하여 동물을 37°C에서 안정화시키며 이 모든 과정동안에도 혈압 및 심박동수를 계속 측정하였다. 이상은 자발 호흡상태에서의 실험방법이며, 인공호흡을 유도하기 위해서는 ventilator를 사용하여 일정하게 ventilation (rate:50/min)을 시행하는 상태에서 상기의 hemodynamic study를 실시하였다.

적출심장 실험(Langendorff experiment) - 흰쥐를 Sodium pentobarbital(50 mg/kg i.p.)로 마취시킨 후 heparin(1000U/kg i.v.)을 투여하고 Grover 등¹⁰⁾의 방법에 따라 심장을 적출하였다. Curtis와 Hearse¹¹⁾가 제안한 일정한 관류압이 유지된 Langendorff 실험기에

적출한 심장을 걸고 적절한 압력(65 mmHg, 80 cm H₂O)으로 생리액(Krebs-Henseleit solution, 조성 < mM > : 116 NaCl, 4.7 KCl, 1.1 MgSO₄, 1.17 KH₂PO₄, 24.9 NaHCO₃, 2.52 CaCl₂, 8.32 Glucose, 2.0 Pyruvate)을 perfusion 시켜주었다. 생리액의 온도는 37°C를 유지시켜 주고 실험을 진행하는 동안 계속 95% O₂와 5% CO₂의 혼합가스를 통해주어 pH를 7.4로 하였다. 에탄올과 증류수 혼합액(1 : 1 vol/vol)으로 채운 고무 풍선(latex balloon)을 매달은 금속 cannula를 폐정맥을 통해 좌심실에 삽입시키고 풍선에 전달되는 좌심실압을 isovolumetric하게 측정하기 위해 pressure transducer에 연결하였다. 심장을 15분간 안정화되도록 한 후 LVEDP(left ventricular end diastolic pressure)를 10 mmHg로 주고 이 풍선 부피를 전 실험 기간 동안 유지시켰다. Gottlieb valve를 이용해 정압관류(75 mmHg)를 하여 10-15분 이내 안정화시켜 LVDP가 70-120 mmHg 범위 안에서 유지되는 심장만을 사용하였다. 이상의 방법으로 적출하여 안정화시킨 Langendorff 심장에 vehicle(0.4% ethanol) 또는 carbofuran 10 μM을 각각 10분간 관류시키고 약물 관류 직전 및 관류 후에 다음의 각 parameters를 측정하였다. 수축기능을 알아보기 위한 parameter로서 수축기말 좌심실압(LVP, left ventricular peak systolic pressure), 이완기말 좌심실압(LVEDP, left ventricular end diastolic pressure), LVDP(left ventricular developing pressure), +dp/dt_{max} 및 -dp/dt_{max}를, 관상 혈관 기능을 평가하는 parameter로서 관상 혈류량(CF, coronary flow)을 측정하였고, 또한 심박동수(HR, heart rate)도 측정하였다.

실험 결과

자발호흡(spontaneous respiration) 상태에서 심박동수, 혈압, 호흡수에 대한 영향 - 자발호흡(spontaneous respiration) 상태에서 심박동수는 carbofuran을 0.1, 0.25, 0.5 mg/kg의 농도로 투여한 경우 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 1). 한편 1.0 mg/kg 투여에 의해서는 심박동수가 거의 정지되어 결국 사망이 초래되었다. 혈압의 경우는 0.1, 0.25, 0.5 mg/kg 모두에서 투여 2분 경과 후 35-50% 가량 증가되었다가 서서히(투여 후 10분까지) 원 상태로 회복되는 경향을 보였다(Fig. 2). 1.0 mg/kg에서는 심박수 및 혈압이 급

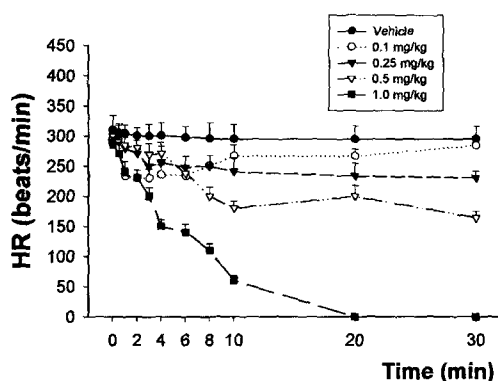


Fig. 1 - Effect of carbofuran on heart rate in anesthetized rat (without ventilation). Carbofuran (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 mg/kg) was injected intravenously. Data represents mean \pm S.E.M (n=6-7).

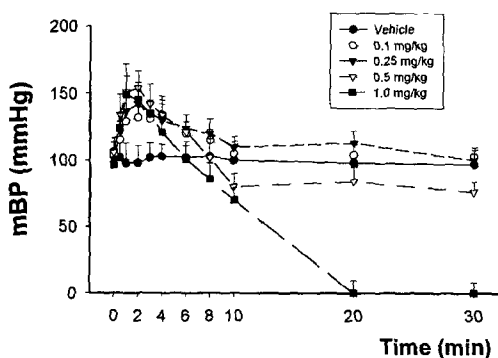


Fig. 2 - Effect of carbofuran on mean blood pressure (mBP) in anesthetized rat (without ventilation). Carbofuran (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 mg/kg) was injected intravenously. Data represents mean \pm S.E.M (n=6-7).

격히 저하되어 투여 후 20분 경 사망하는 경우가 대부분이었다. 호흡수의 경우 역시 0.1, 0.25, 0.5 mg/kg의 농도 의존적으로 감소되었으며 1.0, 2.0 mg/kg 투여에 의해서는 호흡이 거의 정지되었다 (Fig. 3).

인공호흡(ventilation) 상태에서의 심박동수, 혈압에 대한 영향 - 인공호흡기(ventilator)를 이용하여 호흡을 인위적으로 일정하게(50 times/min) 한 상태에서 carbofuran을 투여한 2.0 mg/kg농도에서 사망이 초래되지 않았다. 한편 ventilation 상태에서 carbofuran을 투여함에 의해 심박수가 감소되는 경향을 보였다(Fig. 4). 혈압의 경우 carbofuran 투여에 의하여 일시적으로 증가되었다가 서서히 원상태로 회복되었다(Fig. 5).

적출심장기능에 대한 영향 - Fig. 6에 표시한 바와 같이 심장수축력의 지표인 LVDP(좌심실압)의 경우 대

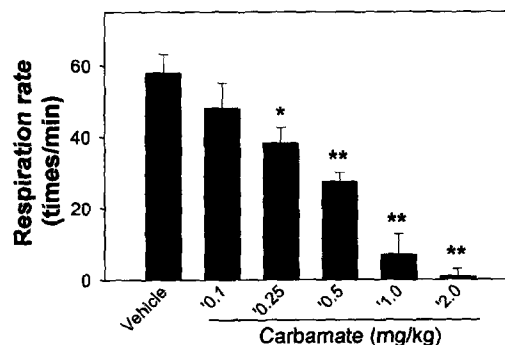


Fig. 3 - Effect of carbofuran on respiration rate in anesthetized rat. Carbofuran (0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg) was injected intravenously. Data represents mean \pm S.E.M (n=6-7). *P<0.05, **P< 0.01 vs control.

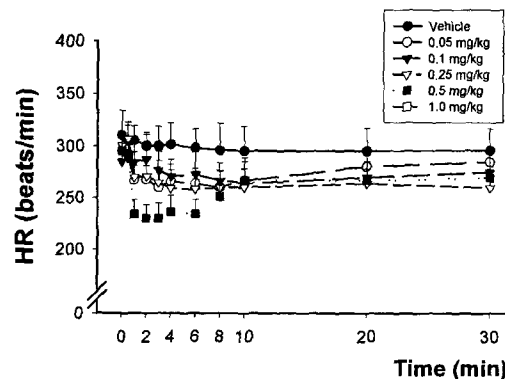


Fig. 4 - Effect of carbofuran on heart rate in anesthetized rat (with ventilation). Carbofuran (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 mg/kg) was injected intravenously. Data represents mean \pm S.E.M (n=6-7).

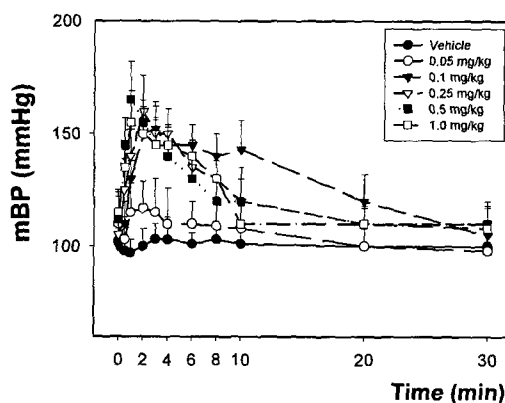


Fig. 5 - Effect of carbofuran on mean blood pressure (mBP) in anesthetized rat (with ventilation). Carbofuran (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 mg/kg) was injected intravenously. Data represents mean \pm S.E.M (n=6-7).

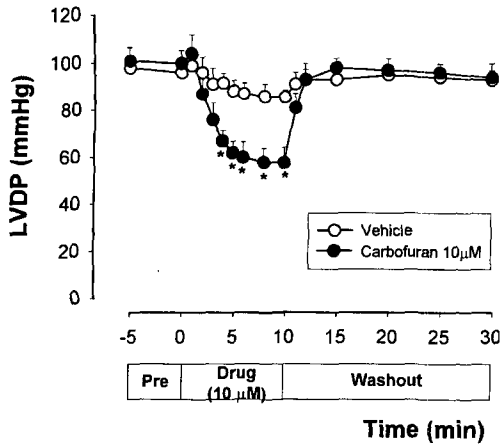


Fig. 6 - Effect of carbofuran on left ventricular developed pressure (LVDP, mmHg) in isolated rat hearts (n=5-6). Carbofuran (10 μ M) was perfused for 10 min and then washed out with normal Krebs-Henseleit solution. Data represents mean \pm S.E.M.

*P<0.05 vs the value before treatment

조군의 심장에서는 98.5 ± 5.5 mmHg 였다가 vehicle (ethanol 0.2%)투여에 의하여 86.8 ± 6.4 mmHg까지 감소하였다. Carbofuran 투여군의 경우에는 carbofuran 10 μ M을 가하자마자 1분 후부터 LVDP가 급격히 감소하기 시작하여 10분 후에는 56.2 ± 8.1 mmHg까지 크게 감소하였다. Carbofuran 투여를 멈추고 정상 관류액을 통과시킴에 따라 신속하게 LVDP가 96.9 ± 7.4 mmHg로 다시 회복되었다.

Fig. 7에는 수축변력, 즉 수축력의 속도변화에 대한 지표인 +dP/dt에 대한 carbofuran의 효과를 나타내었다. 대조군의 심장에서는 4500-4900 mmHg/sec범위내에서 유지되었으나 carbofuran 투여군의 경우에는 carbofuran 10 μ M을 가함에 따라 +dP/dt가 감소하기 시작하여 10분 후에는 3080 ± 260 mmHg/sec까지 감소하였다. Carbofuran 투여를 멈추고 정상 관류액을 통과시킴에 따라 다시 회복되었다.

Fig. 8에는 이완변력, 즉 이완기압의 속도변화에 대한 지표인 -dP/dt에 대한 carbofuran의 효과를 나타내었다. 대조군의 심장에서는 4000 mmHg/sec 범위 내에서 유지되었으나 carbofuran 투여군의 경우에는 carbofuran 10 μ M을 가함에 따라 -dP/dt가 급격히 감소하기 시작하여 10분 후에는 2040 ± 140 mmHg/sec까지 매우 급격하게 감소하였다. Carbofuran 투여를 멈추

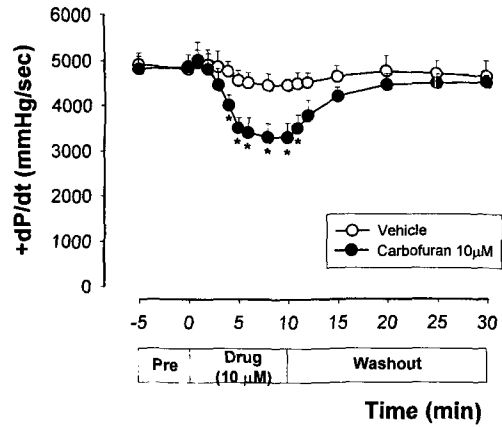


Fig. 7 - Effect of carbofuran on +dP/dt in isolated rat hearts (n=5-6). +dP/dt represents contractile rate of developed pressure (mmHg/sec). Carbofuran (10 μ M) was perfused for 10 min and then washed out with normal Krebs-Henseleit solution. Data represents mean \pm S.E.M.

*P<0.05 vs the value before treatment.

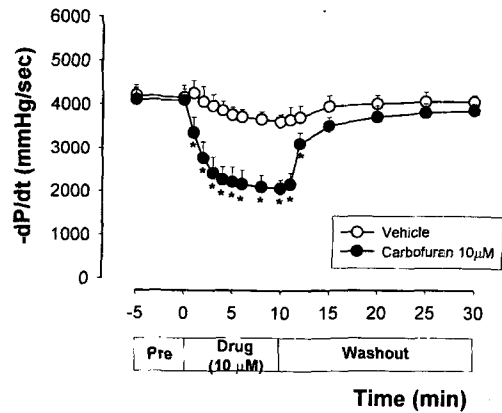


Fig. 8 - Effect of carbofuran on -dP/dt in isolated rat hearts (n=5-6). -dP/dt represents relaxation rate of developed pressure (mmHg/sec). Carbofuran (10 μ M) was perfused for 10 min and then washed out with normal Krebs-Henseleit solution. Data represents mean \pm S.E.M.

*P<0.05 vs the value before treatment.

고 정상 관류액을 통과시킴에 따라 다시 회복되었다.

Fig. 9에 나타낸 바와 같이 심박동속도(heart rate)에 대하여 carbofuran 10 μ M이 유의적인 감소작용을 나타내었는데, 이는 washout에 의해서도 회복되지 않았다.

Fig. 10에는 심장의 관상혈관 이완정도를 나타내는 관상혈류속도(CFR: coronary flow rate, ml/min)에

고 찰

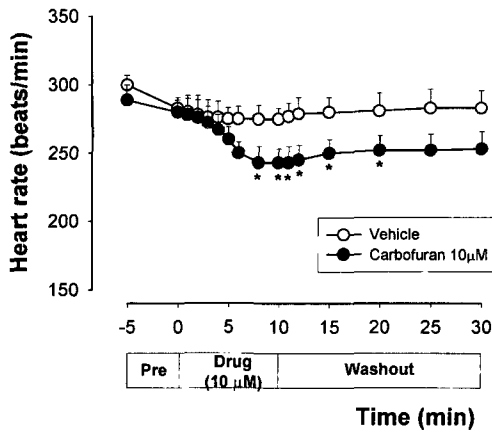


Fig. 9 - Effect of carbofuran on heart rate (HR, beats/min) in isolated rat hearts (n=5-6). Carbofuran (10 µM) was perfused for 10 min and then washed out with normal Krebs-Henseleit solution. Data represents mean ± S.E.M. *P<0.05 vs the value before treatment

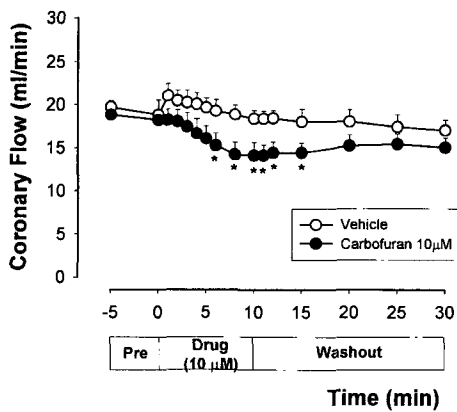


Fig. 10 - Effect of carbofuran on CFR in isolated rat hearts (n=5-6). CFR represents coronary flow rate (ml/min). Carbofuran (10 µM) was perfused for 10 min and then washed out with normal Krebs-Henseleit solution. Data represents mean ± S.E.M. *P<0.05 vs the value before treatment.

대한 효과를 나타내었다. 대조군 심장의 CFR은 19.8 ± 1.2 ml/min였으며, vehicle(ethanol 02%) 투여에 의하여 22.3 ± 2.8까지 일시적으로 증가되었으나, carbofuran 투여군에서는 10 µM 투여 후 유의적으로 CFR이 감소되었다. 이러한 감소는 Krebs-Henseleit solution으로 관류하여 washout되는 과정에서도 회복이 되지 않고 유지되었다.

Carbamate계 농약은 유기인계 살충제와 함께 전 세계적으로 가장 널리 사용되는 acetylcholin esterase (AChE) 저해성 살충제이다. 현재 사용되고 있는 AChE 저해제는 유기인제가 약 200여종, carbamate계가 약 25종에 달하며 이들이 혼합되어 약제로 시판되는 상품도 수천 종에 달하는 등 농업분야에서 사용빈도가 매우 높다. 일반적으로 농약은 맹독성이며, 환경 잔류성이 커서 생태계의 안정성을 파괴하는 등, 주요 환경위해 인자로 간주되고 있다. 1993년 미국의 Poison Control Center에 보고된 농약관련 화학물질 중독의 약 40%가 유기인제를 포함한 AChE 저해제에 의한 사고라는 점을 고려해 볼 때 이들이 인체에 미치는 독성은 양적, 질적인 면에서 심각히 다루어져야 할 부분으로 여겨지고 있다.¹²⁾ 유기인계 농약이 비가역적인 AChE 저해효과를 보이는 반면 carbamate계 농약은 가역적인 저해를 일으켜 비교적 급성 독성이 적고 체내에서 쉽게 대사되어 지속적인 신경독성(prolonged neurotoxicity)이 발생되지는 않으며, 환경 잔류성이 비교적 낮은 것으로 알려져 있음에도 불구하고 이로 인한 중독례가 다수 보고되고 있으며 일부 사망례도 알려져 있다. Carbamate계 살충제 독성에 관한 연구는 고용량의 급성 또는 아급성 폭로에 의한 중독 및 이들 화합물의 주 살충 작용 기전과 관련된 제증상의 발현을 중심으로 많은 연구가 진행되었다.^{12,13)} 그러나 최근에, 살충제의 독성이 그 동안 알려져 있던 독성 발현 기전과는 판이한 경로를 통해 미처 예측하지 못한 부분에서도 발현될 가능성이 시사됨에 따라, 새로운 parameter를 통한 독성의 재평가가 이루어져야 할 필요성이 제기되고 있다.

최근 carbamate계 살충제가 thyroxin 호르몬 분비를 증가시키며¹⁾ 남성 생식계(reproductive system) 교란을 유발하는 등²⁾ 환경 호르몬의 작용을 나타낸다는 사실이 보고되었다. 또한, carbamate계 살충제는 다양한 면역 독성을 유발하여 생체 방어기능을 저하시킬 것이라고 보고되었다. 뿐만 아니라 carbamate는 AChE 저해제의 일반적인 심장순환계 억제작용인 혈압 강하, 서맥(bradycardia), 심박출량 감소 등을 유발할 가능성이 있는데¹⁴⁾ 실제로 심근 및 혈관 평활근 세포사멸 유도 가능성⁴⁾을 나타내는 연구 결과와 함께 기니픽 적출 심방근의 수축력을 저하시켰다는³⁾ 보고

들이 발표되어 이들 화합물에 의한 심장 순환계 독성 발현 가능성을 시사하였다. 이와같이 carbamate계 화합물의 신경독성 이외의 독성발현에 관한 연구결과들이 많이 제시되고는 있으나, 이에 관련되는 연구보고는 매우 부족한 실정이다.

본 연구의 *in vivo* 동물모델 실험결과에 의하면 자발호흡의 경우 carbofuran의 농도가 증가할수록 심박수, 혈압 및 호흡이 급격히 감소하여 사망에 이르렀는데 이러한 사망의 원인으로 호흡저하가 일차적인 것인지, 심박수 저하에 따른 혈압저하가 일차적인 지를 명확히 할 필요성이 있었다. 따라서 인공호흡을 유지시켜 호흡에 대한 영향을 배제한 상태를 유도하고 이 상태에서 carbofuran을 투여함으로써 carbofuran에 의한 직접적인 심장혈관계 작용을 관찰하였다. 호흡을 인위적으로 일정하게(50 times/min) 한 상태에서 carbofuran을 투여한 경우 1.0 mg/kg는 물론 2.0 mg/kg를 투여하여도 사망이 초래되지 않았다. 이로부터 1.0 mg/kg 투여군에서의 사망원인이 호흡정지에 일차적으로 기인한 것임을 알 수 있었다. 이러한 호흡억제작용은 carbo-furan이 가지고 있는 AChE 억제작용에 기인한 것이라고 판단되었다. 인공호흡을 유지한 상태에서 carbofuran을 투여한 경우 심박수가 감소되는 경향을 관찰하였으며, 혈압의 경우에는 carbofuran 투여에 의하여 일시적으로 증가되었다가 서서히 원상태로 회복되는 것을 관찰하였다. 이상의 *in vivo* 실험결과는 carbofuran이 심장 박동 저하 등과 같은 심혈관계에 대한 직접작용을 나타낼 수 있음을 시사하였다. Carbofuran에 의한 일시적인 혈압증가 현상은 일시적으로 심장에 대한 afterload를 증가시킬 수 있는 가능성도 내포하고 있으며, 혈압이 서서히 회복되는 현상은 생체 내 reflex system에 의한 조절에 기인하였을 것으로 추정된다.

Carbofuran의 심장관 혈관에 대한 직접적인 작용을 적출심장모델에서 관찰한 결과 carbofuran(10 μ M)이 적출심장의 수축기능을 유의적으로 저하시켰으며, 또한 수축변력 및 이완변력도 현저히 감소시켰다. 특히 이완변력저하작용이 수축변력저하작용보다 강하게 나타났다. Carbofuran에 의한 심장수축저하현상과 함께 이완변력 저하와 같은 결과는 carbo-furan이 heart failure등을 유발할 가능성을 나타내며, 또 carbofuran에 의한 관상혈류 감소현상은 부분적 허혈 상태를 초래할 수 있고 이로 인해 심근경색 및 심근세포사멸로

이어질 가능성까지도 시사하고 있다.

이상과 같이 carbofuran은 직접적인 심장수축 저하 작용과 이완변력 저하작용을 통하여 생체 내에서, 심장혈을 초래할 수 있고 결국 congestive heart failure등을 유발할 수 있을 것으로 추정되었다. 또한 carbofuran에 의한 관상혈류 감소현상으로 인하여 부분적 허혈이 초래될 수 있고 이로 인해 심근경색, 심근세포사멸로까지 이어질 가능성도 시사되었다. 따라서 향후 심장세포 및 혈관세포를 이용하여 carbofuran의 심장혈관세포에 대한 독성 여부를 세포수준에서 직접 관찰할 필요성이 있다고 사료된다.

감사의 글

이 연구는 1999년도 과학재단의 특정기초연구과제(R01-1999-00159) 연구비 지원에 의하여 수행되었기에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Rawlings, N. C., Cook, S. J. and Waldbilg, D.: Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D and pentachloro-phenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *J. Toxicol. Environ. Health* **54(1)**, 21 (1998).
- 2) Pant, N., Prasad, A. K., Srivastava, S. C., Shankar, R. and Srivastava, S. P.: Effect of oral administration of carbofuran on male reproductive system of rat. *Hum. Exp. Toxicol.* **14(11)**, 889 (1995).
- 3) Street, J. C. and Sharma, R. P.: Alteration of induced cellular and humoral immune responses by pesticides and chemicals of environmental concern: Quantitative studies of immunosuppression by DDT, Arclor 1254, Carbaryl, Carbofuran, and Methylparathion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **32**, 587 (1975).
- 4) Fornier, M., Bernier, J., Flipo, D and Krzystyniak, K.: Evaluation of pesticide effects on humoral response to sheep erythrocytes and mouse hepatitis virus 3 by immunosorbent analysis. *Pest. Biochem. Physiol.* **26**, 353 (1986).
- 5) Barnett, J. B., Spyker-Cramner, J. M., Avery, D. L. and Hoberman, A. M.: Immunocompetence over the lifespan of mice exposed in utero to carbofuran

- or diazinon. I. Changes in serum immunoglobulin concentration. *J. Envir. Path. Toxic.* **4**, 53 (1980).
- 6) Krzystyniak, K., Trotter, B., Jolicoeur, P. and Four nier, M. : Macrophage functional activities versus cellular parameters upon sublethal pesticide exposure in mice. *Mol. Toxicol.* **1(2-3)** 247 (1987).
- 7) George P. C., Vennerstrom, J. L., Bavari, S. and Wang, T. L. : Inhibition of interleukin-2 driven proliferation of mouse CTLL-2 cells, by selected carbamate and organophosphate insecticides nad congeners of carbaryl. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **15(2-3)**, 199 (1993).
- 8) Nascimento, D. C. and Sakate, M. : Antagonism produced by hypertonic nutrient solutions on the depressive effect of carbofuran on isolated guinea pig atria. *Pharmacol. Res.* **33(4-5)**, 251 (1996).
- 9) Gupta, R. C., Goad, J. T. and Kadel, W. L. : Carbofuran-induced alterations (in vivo) in high-energy phosphates, creatine kinase (CK) and CK isoenzymes. *Arch Toxicol.* **65(4)**, 304 (1991).
- 10) Grover, G. J., Dzwonczy, S. and Parham, C. S. : Profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat hearts and anesthetized dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **16**, 853 (1990).
- 11) Curtis, M. J. and Hearse, D. J. : Ischemia-induced and reperfusion-induced arrhythmias differ in their sensitivity to potassium: implications for mechanisms of initiation and maintenance of ventricular fibrillation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **32**, 21 (1989).
- 12) Fuortes, L. J., Ayebo, A. D. and Kross, B. C. : Cholinesterase-inhibiting insecticide toxicity. *Am. Fam. Physician* **47**, 1613 (1993).
- 13) Risher, J. F., Mink, F. L. and Stara, J. F. : The toxicological effects of the carbamate insecticide aldicarb in mammals: a review. *Environ. Health Perspect.* **72**, 267 (1987).
- 14) Lazartigues E., Freslon, J.-L., Tellioglu, T., Courbon, B., Pelat, M., Trau, M.-A., Montastruc, J.-L. and Rascol, O.: Pressor and bradycardiac effects of tacrine and other acetylcholinesterase inhibitors inn the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **361**, 61 (1998).