

Cutaneous Toxicity of Xylene Application to Rat Skin

Tae-Won Jeon¹, Sang-Hee Lee² and Chong-Guk Yoon[†]

[†]Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea, ¹Efficacy and Safety Research Center for Traditional Oriental Medicines, Kyungsan University, Kyongbuk Technopark, Daegu 706-060, Korea,

²Department of Beauty & Scientific Aesthetics, Kyongdo College, Kyongbuk 757-807, Korea

To investigate the skin toxicity of xylene, xylene (25 mg/cm²) has been sequentially applied to the rat skin for four days. On the light microscopic examination, epithelium was left out with infiltration of inflammatory cells in border with dermis, and formation of new epithelial layer was shown under the inflammatory zone. Application of xylene to the rat skin showed the marked rise of cutaneous xanthine oxidase activity whereas, the activities of oxygen free radical scavenging enzymes, superoxide dismutase and glutathione S-transferase, were significantly declined. Furthermore, the content of cutaneous glutathione was more and less decreased in rat skin applied with xylene. In conclusion, these results suggest that a part of oxygen free radical may be responsible for morphological changes in skin by applying xylene to the rat skin.

Key Words: Xylene, Skin, Oxygen free radical, Xylene metabolizing enzyme, Morphological changes in skin

서 론

피부는 인체 내·외부 환경의 경계면을 이루며 외부 환경 변화에 대한 생리적 보호막으로써 생체 내의 항상성 유지에 매우 중요한 역할을 담당한다. 피부조직은 크게 표피와 진피로 나누며, 특히 표피층에 존재하는 각질층은 피부를 보호하고 외부 물질에 대한 투과 속도를 결정하는 생체막 역할을 한다. 그러나 지용성 물질은 피부의 표피층을 통해 비교적 흡수가 잘 이루어지는 것으로 알려져 있다¹³.

최근 산업의 발전에 따라 산업 화학 물질의 사용이 다양하게 증가되고 있으며, 산업장 뿐만 아니라 생활 공간에서도 이들 물질의 피부 노출 기회가 많아져 피부 관련 질환이 증가될 것으로 생각된다. 이와 같은 생체 이물질 (xenobiotics) 인 산업 화학 물질 중 유기용제는 피부염을 일으킨다는 보고^{14,16}가 있으나 이에 대한 피부조직의 병태생리적 기전은 불분명하다. Chae 등⁶은 최근 toluene을 실험동물의 피부에 도포 시 피부조직에 상당한 형태학적 변화가 초래되었다고 보고하였다. 한편 산업 화학 물질 중 산업장에서 유기용제로 많이 이용되고 있는 xylene은 하나의 고리를 가지고 있는 방

향족 탄화수소로서 인체에 폭로 시 신경계^{2,9}, 조혈계^{8,28} 그리고 간조직 손상^{21,22} 등을 야기시킨다고 보고되고 있으나 피부에 대한 독성 연구는 미흡한 실정이다. Xylene이 체내로 흡수되면 주로 간에서 혼합 다기능 산화 효소계 (mixed function oxidation system)에 의하여 methylbenzylalcohol로 전환된 후 alcohol dehydrogenase에 의해 methylbenzaldehyde로, 이 물질은 aldehyde dehydrogenase에 의해서 *m*-toluic acid로 산화된 다음, glycine과 포함되어 methylhippuric acid로 변환되어 요중에 배설된다^{19,24,26}.

이와 같은 xylene의 대사 과정 중에 생성된 methylbenzaldehyde는 세포 상해를 유발한다²⁷고 하며 유기용제와 같은 xenobiotics가 생체 내에서 대사 시 이들의 대사 산물의 연쇄적인 반응에서 생성된 oxygen free radical과 xenobiotics의 중간 대사 산물이 조직 세포에 독성을 유발한다^{12,30}. 따라서 xylene을 피부에 도포 시 xylene 및 이의 대사 산물과 oxygen free radical에 의하여 피부조직의 병태생리적 반응이 초래될 것으로 생각되며 이에 대한 연구는 피부 위생의 기초 자료 제시에 의의가 있을 것으로 생각된다.

이에 본 연구에서는 피부조직에 xylene이 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 xylene 일정량을 랫드 피부에 도포한 다음, 피부조직의 형태학적 변화를 관찰하고 이의 기전을 구명하기 위해 피부조직에서 xylene 대사 효소 활성을 간조직과 비교하는 한편 피부조직 중 oxygen free radical 대사에 관련된 효소 활성을 측정하여 유의있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

* 논문 접수: 2002년 5월 16일

수정재접수: 2002년 6월 3일

[†]별책 요청 저자: 윤종국, (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000번지, 계명대학교 공중보건학과

Tel: 053-580-5230, Fax: 053-580-5164, e-mail: jky446@kmu.ac.kr

재료 및 방법

1. 동물의 사육 및 처치

체중 200 ± 20 g 되는 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 숫 흰쥐를 (주) 대한바이오텍 (충북 음성)로부터 구입하여 계명대학교 동물사육실에서 일정한 조건 (온도: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도: $50 \pm 5\%$, 명암: 12시간 light/dark cycle)으로 일주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험군은 대조군 및 xylene 도포군으로 각각 6마리씩 분리 수용하였으며 실험 기간 동안 물과 사료 (삼양유지사료 (주), 강원도 원주시)의 양은 제한 없이 공급하였다. Xylene의 도포를 위해 먼저 동물의 복부 털을 제거, Chae 등의 방법⁹⁾에 준하여 제작한 O-ring형 유리관 (내경: 46 mm, 높이: 15 mm)을 이용하여 한쪽 면에 순간접착제 (α -cyanoacrylate)를 바르고 복부 피부에 부착시킨 후 xylene (25 mg/skin cm^2)을 1일 1회 2일 간격으로 4회 도포하였으며 반대 면에는 도포한 시료의 휘발을 막기 위해 알루미늄 호일로 즉시 밀봉하였고 xylene이 피부조직을 통해 완전히 흡수된 후 유리관을 떼내었다. 대조군의 경우 역시 동물의 복부를 제모한 후 xylene은 도포하지 않고 O-ring 유리관만 처리하여 xylene 도포군과 동일한 실험 조건을 유지하도록 하였다.

동물의 처치는 효소 활성의 일 중 변동을 고려하여 일정 시간 (AM 10)에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. Ether 마취 하에 개복한 후 복부 대동맥으로부터 채혈하고 간문맥을 통해 4°C 생리식염수로 관류하여 조직 내에 남아있는 혈액을 제거한 다음, 간을 적출하였으며 표피 및 진피를 포함한 피부조직도 적출하였다.

2. 효소원의 조제

적출한 피부 및 간조직의 일부를 취하여 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 빙냉 하에 biohomogenizer를 이용하여 20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 마쇄균질액을 $600 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거하고 상층액을 $10,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 제거한 후, 그 상층액을 다시 $105,000 \times g$ 에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 분리하였다. Cytosol 분획은 xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST) 및 alcohol dehydrogenase (ADH) 활성도 측정에 사용하였으며 microsome 분획은 cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) 활성도 측정에 사용하였다. 한편 마쇄균질액의 일부는 glutathione (GSH) 함량 측정용 시료로 사용하였다.

3. 효소 활성도 측정

피부 및 간조직 cytosolic ADH 활성도는 기질인 ethanol과 조효소인 NAD^+ 로부터 37°C 에서 5분간 반응하여 생성되는 NADH를 340 nm에서 측정하는 Bergmeyer 방법³⁾으로 측정하였으며, 활성도 단위는 효소액 중 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성된 NADH의 양을 nmole로 표시하였다. Microsomal CYPdAH 활성은 aniline을 기질로 하여 생성되는 *p*-aminophenol을 측정하는 Bidlack과 Lowery 방법⁴⁾으로 측정하였으며, 활성도 단위는 단백질 1 mg이 1시간 동안 생성하는 *p*-aminophenol을 nmole로 표시하였다. 그리고 피부조직의 XO 활성도는 기질인 xanthine으로부터 생성되는 뇨산의 함량을 측정하는 Stirpe와 Della Corte의 방법²⁵⁾에 준하였으며, 단위는 단백질 1 mg이 1분 동안 생성하는 뇨산을 nmole로 표시하였으며, SOD 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 측정하는 Martin 등의 방법¹⁸⁾에 의하였으며, 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 나타내었다. GPx 활성도는 기질인 과산화수소의 제거에 이용된 산화형 GSH를 환원시키는데 필요한 NADPH의 함량을 측정하는 Paglia와 Valetine의 방법²⁰⁾에 의하였으며, 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 표시하였다. 그리고 GST 활성도 측정은 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 GSH의 포함 정도를 측정하는 Habig 등의 방법¹¹⁾에 의하였으며, 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성된 포함체의 양을 nmole로 나타내었다. 이상 측정된 효소 활성도 중 일부는 대조군에 대한 백분율로 나타내었으며, 효소액 중 단백질 정량은 Lowry 등의 방법¹⁷⁾에 의하여 측정하였다.

4. Reduced GSH 함량 측정

피부조직 중 GSH 함량은 조직 마쇄균질액과 4% sulfosalicylic acid의 반응 원심분리 상층액 일정량이 0.1 mM 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) 함유 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)와 반응하여 생성된 *p*-nitrothiophenol을 측정하는 Ellman의 방법⁷⁾에 준하였다. GSH 함량은 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

5. 광학현미경 관찰

피부의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 대조군 및 xylene 도포군에서 적출한 피부조직을 즉시 10% neutral buffered formalin 액에 고정시키고, 고정이 끝난 조직을 흐르는 물에 수세한 후, 순차적으로 alcohol의 농도를 증가시키며 탈수시킨 다음, paraffin에 포매하였다. 포매된 조직을 $4 \mu\text{m}$ 두께로 절편 (Lipshaw, model 45)한 다음, hematoxylin-eosin 염색하고 광

학현미경 (Olympus, BH-2)으로 관찰하였다.

6. 통계처리

실험 결과의 통계처리는 Student's t-test²³⁾로 하였으며 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. 피부조직의 광학현미경적 형태 변화

Fig. 1은 xylene 도포에 따른 랫드 피부조직의 변화를 광학현미경으로 관찰한 결과이다. 대조군은 케라틴층을 가진

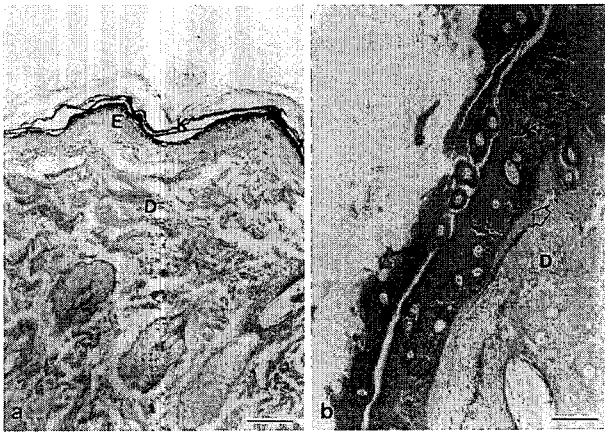


Fig. 1. Micrographs of skin tissue in rats, H&E stain, scale bar=50 μ m. **(a)** Normal. The epidermis was intact keratinized stratified squamous epithelium and connected well to dermis layer. $\times 100$. **(b)** Xylene application. Epithelium was left out with infiltration of inflammatory cells (*) in border with dermis. Formation of new epithelial layer (arrow) was shown under the inflammatory zone. $\times 100$. K: keratin, E: epidermis, D: dermis.

전형적인 중층편평상피로 진피층과 잘 결합된 모습이었으나 (Fig. 1a), xylene 도포 후 상피층 아래에 염증세포의 침윤에 의한 상피세포층의 탈락 현상이 나타나고, 염증병소 아래로 새로운 상피세포층의 형성이 관찰되지만 케라틴 과립 형성은 잘 이루어지지 않는 모습이였다 (Fig. 1b).

2. 피부와 간조직 xylene 대사 효소 활성 비교

Fig. 2는 랫드 피부에 xylene 도포 시 xylene 대사와 관련된 CYPdAH 및 ADH 활성을 피부 및 간조직에서 측정 비교한 것이다. 본 실험에서 xylene을 피부에 도포함으로써 CYPdAH 활성의 경우, 대조군에 비해 피부조직의 활성은 약간 감소하였고 간조직 활성은 약 10% 증가하는 경향은 보였으나 통계적 의미는 없었다. 그리고 간조직 CYPdAH의 경우, 피부조직에서 측정된 CYPdAH 보다 대조군 및 xylene 도포군 모두에서 10배 정도 현저히 ($P < 0.001$) 높은 활성을 나타내었다. 한편 ADH 활성의 경우, xylene을 도포함으로써 피부조직에서는 대조군에 비해 약 17%의 감소 경향을 나타내었고 간조직에서는 두 군간에 별다른 변동이 관찰되지 않았다. 그리고 피부조직과 간조직의 본 효소 활성을 비교해 볼 때, 피부조직 보다 간조직 활성이 대조군 및 xylene 도포군에서 각각 5.2배 및 6.8배 정도 현저히 ($P < 0.001$) 높았다.

3. 피부조직 oxygen free radical 대사 효소 활성

Xylene의 피부 도포에 의한 oxygen free radical 생성 및 해독 효소 활성 변동을 측정하여 대조군에 대한 백분율로 표시한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 피부조직의 oxygen free radical 생성계 효소 중 CYPdAH 활성은 xylene 도포군과 대조군 사이에 별다른 차이를 볼 수 없었으나 XO는 xylene을 도포함으로써 대조군에 비해 약 80%의 유의한 ($P < 0.05$) 활성 증

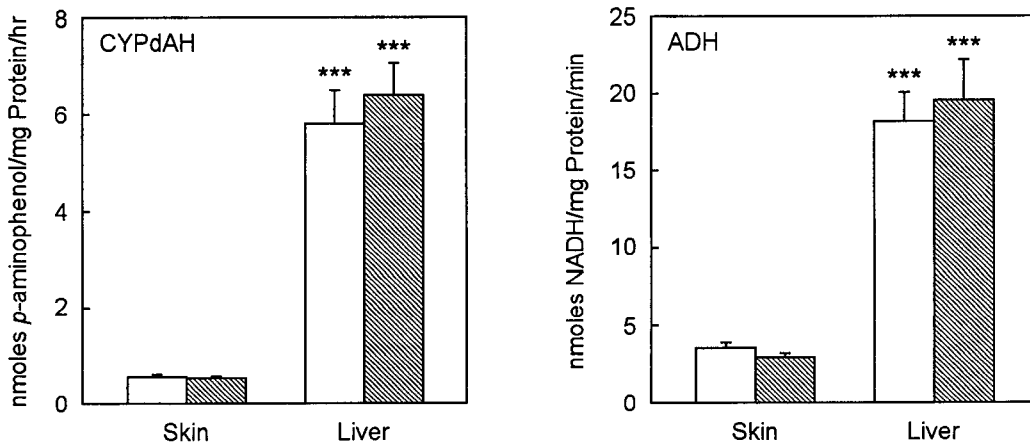


Fig. 2. Comparison of skin to liver in cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) and alcohol dehydrogenase (ADH) activities of xylene-treated rats. Each bar represents the mean \pm S.E. of 6 rats. *** Significantly different from the value in skin ($P < 0.001$). Keys: (□) control and (▨) xylene.

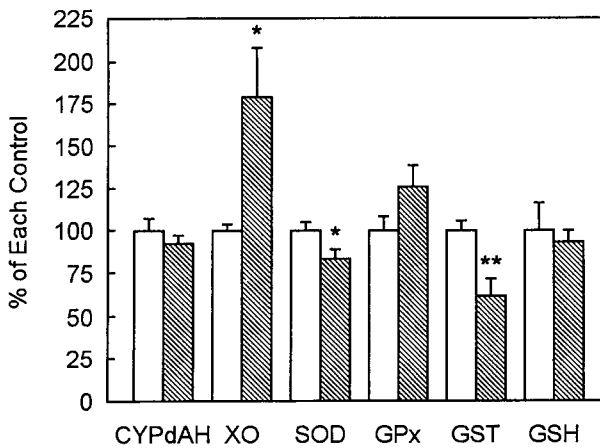


Fig. 3. Effects of xylene application to the activities of cutaneous oxygen free radical metabolizing enzymes and reduced glutathione (GSH) content in rats. Each bar represents the mean \pm S.E. of 6 rats and indicates relative percents to the control. Abbreviations: CYPdAH, cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase; XO, xanthine oxidase; SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase and GST, glutathione S-transferase. Significantly different from each control (*; $P < 0.05$, **; $P < 0.01$). Keys: (□) control and (▨) xylene.

가를 나타내었다. 그리고 oxygen free radical 해독계 효소 중 SOD 및 GST 활성의 경우는 xylene 도포군이 대조군에 비해 각각 16% ($P < 0.05$) 및 38% ($P < 0.01$) 정도로 유의하게 감소하였으나 GPx의 경우는 대조군에 비해 약 26% 오히려 증가하는 경향을 나타내었다. 한편 GSH 함량은 xylene을 도포함으로써 대조군에 비해 약간 감소하였다.

고 찰

현대의 산업 발전에 따라 생활 공간 및 산업장에서 유기용제와 접할 수 있는 기회가 많아졌으며, 특히 산업장에서는 유기용제의 직접적인 접촉으로 인한 직업성 피부 질환이 증가되어 미국 같은 선진 국가에서도 직업성 피부 질환이 전체 직업병 중 절반을 차지하고 있어¹²⁾ 심각한 사회 문제로 대두되고 있다. 유기용제는 화학적 성질로 인해 피부조직을 통한 침투 속도가 비교적 빠르기 때문에 피부조직에 손상을 용이하게 유발할 수 있다¹³⁾고 하며 최근 Chae 등⁶⁾은 toluene과 같은 유기용제를 실험동물의 피부에 도포시킬 경우, 피부조직에 심한 형태학적 변화가 초래된다고 하였다. 그리고 xylene은 toluene과 같은 벤젠 계열이며 methyl기가 toluene보다 한 개 더 붙어 있는 화학 물질로서 toluene보다 생체 세포에 대한 독성이 오히려 큰 것으로 보고²⁹⁾되고 있다. 따라서 xylene을 피부에 도포하는 경우에도 toluene 못지 않게 피부조직에 형태학적 및 병태생리적 변화가 상당히 야기될 것으로 사료되어 랫드의 피부조직에 xylene을 도포하고 형태학적 및 생화학적 변화를 관찰하여 이를 검정하고자 하였다.

본 연구에서 xylene을 랫드 피부에 도포시킨 후 광학현미경으로 관찰한 결과, 상피층 아래에 염증세포의 침윤에 의한 상피세포층의 탈락 현상이 나타나고, 염증병소 아래로 케라틴 파립 형성은 잘 이루어지지 않는 모습이 보였다. 그러므로 xylene을 피부조직에 도포한 경우에 피부조직에 형태학적으로 심한 염증 반응이 초래됨을 시사해 주고 있다. 일반적으로 피부조직에서도 xenobiotics 대사가 미약하나 어느 정도는 이루어진다고 한다¹⁰⁾. 그리고 Chae 등⁶⁾은 피부조직에 toluene 도포 시 팔목할 만한 형태학적 변화가 초래됨을 관찰하였으며 이는 toluene의 중간 대사 산물 및 oxygen free radical에 기인되어 나타난 결과라고 하였다. Xylene은 체내에서 cytochrome P450에 의하여 methylbenzylalcohol로 변화되며 이 물질은 ADH에 의해 methylbenzaldehyde로 전환되며 이 물질이 조직 세포 상해를 유발한다는 보고²⁷⁾가 있다. 본 실험에서 피부조직에 xylene을 도포함으로써 피부조직에서 cytochrome P450-dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) 활성이 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었으며 간조직에서도 두 군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다. 그러나 이들 효소 활성이 피부조직에서 측정된 경우보다 간조직에서 현저한 증가를 보였다. 한편 ADH 활성은 피부조직에서 xylene 도포군이 대조군보다 다소 낮게 나타나는 경향을 보였으며 간조직에서는 xylene 도포군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었다. 그러나 피부조직에서 본 효소 활성이 간조직에 비해서 현저히 낮게 나타났다. 이와 같은 현상은 피부조직에 xylene 도포 시에 xylene이 피부조직의 표피를 통과하고 진피조직까지 침투한 후 결합조직에서 혈관을 따라 전신에 분포하는 과정 중 간조직에서 대사된 methylbenzaldehyde가 피부로 재분포되어 피부조직에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각되나 본 실험 조건에서는 xylene의 대사 물질이 피부조직의 형태학적 변화에는 별다른 영향을 주지 않은 것으로 생각된다. 한편 Chae 등⁶⁾은 피부조직에서 oxygen free radical 대사 효소 활성이 간조직에 비해 현저히 낮게 나타나지만 어느 정도 이들 효소 활성이 검출된다고 한다. 그리고 xenobiotics가 체내에서 대사되는 과정에서 xenobiotics의 대사 연쇄 반응에서 oxygen free radical이 생성된다고 한다. Chae 등⁶⁾은 toluene을 피부조직에 도포 시에 피부조직에서 oxygen free radical의 생성 및 해독 기구의 불균형으로 oxygen free radical이 피부조직 상해에 상당한 영향을 미친다고 하였다. 그리고 xylene을 실험 동물에 투여 시에 간조직에서 xylene 대사 중간 생성 물질 뿐만 아니라 oxygen free radical에 의해서 조직 세포 상해가 초래된다는 보고¹⁹⁾가 있다. 따라서 피부에 xylene 도포 시에 형태학적 변화가 oxygen free radical 대사 효소 활성 변동에 의해 초래될 것인가를 본 실험 조건에서 검토하였다. 본 실험에서 oxygen free radical 생성 효소인 CYPdAH와 XO 활성을 피부조직에서 측정된 결과, CYPdAH 활성의 경우 xylene

도포군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으나 XO 활성은 xylene 도포군이 대조군 보다 현저히 증가되었다. 그러나 oxygen free radical 해독에 관여하는 SOD 및 GST 활성³⁰⁾은 xylene 도포군이 대조군 보다 유의하게 감소되었으며 GPx 활성은 xylene 도포군이 대조군 보다 다소 높게 나타났으나 통계학적 의의는 없었다. 더욱이 oxygen free radical의 일종인 H₂O₂ 해독에 관여하는 GSH 함량⁷⁾을 피부조직에서 측정하였을 때 xylene 도포군이 대조군 보다 약간 감소되었다. 따라서 xylene을 피부에 도포 시 oxygen free radical 중 세포 상해에 상당한 영향을 미치는 superoxide 생성에 관여하는 XO 활성이 xylene 도포군에서 현저히 높게 나타남을 알 수 있으며, 이는 피부조직에 xylene 도포 시 피부조직의 형태학적 변화는 superoxide radical에 상당한 영향을 받고 있음을 시사해 주고 있다.

이상 실험 결과를 종합해 볼 때 랫드 피부에 xylene 도포 시 피부조직의 형태학적 변화는 xylene 자체 및 oxygen free radical에 기인된 결과로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Ames BN, Kammen HO and Yamasaki E (1975): Hair dyes are mutagenic: identification of a variety of mutagenic ingredients. *Proc Natl Acad Sci USA*, **72(6)**: 2423-2427.
- 2) Andersson K, Fuxe K, Nilsson OG, Toftgard R, Eneroth P and Gustafsson JA (1981): Production of discrete changes in dopamine and noradrenaline 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(3)**: 535-548.
- 3) Bergmeyer HU (1974): Methods of enzymatic analysis. Vol 2, pp. 428-429. Academic Press, New York.
- 4) Bidlack WR and Lowery GL (1982): Multiple drug metabolism: p-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem Pharmacol*, **31(3)**: 311-317.
- 5) Chae SN, Jeon TW and Yoon CG (1999): Change of dermal oxygen free radical metabolizing enzyme activities in acute liver damage induced with CCl₄ in rats. *Korean J Biomed Lab Sci*, **5(1)**: 51-58.
- 6) Chae SN, Yoon CG and Park WH (2001): Effect of toluene application to the rat skin on the oxygen free radical metabolizing system. *J Toxicol Pub Health*, **17(1)**: 33-39.
- 7) Ellman GL (1959): Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, **82**: 70-77.
- 8) Fabre R and Truhaut R (1954): Le Problem ches solvants de remplacement du benzene dans ses rapports avec l'hygiene industrille. Congresso internazionale de Medicina del Lavoro, Napoli.
- 9) Gamberale F, Annwall G and Hultengren M (1978): Exposure to xylene and ethylbenzene. III. Effects on central nervous functions. *Scand J Work Environ Health*, **4(3)**: 204-211.
- 10) Guthrie FE and Hodgson E (1987): Elimination of toxicants. In "Modern toxicology" (Hodgson E and Levi PE, eds.), pp. 123-131. Elsevier, New York.
- 11) Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB (1974): Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid and formation. *J Biol Chem*, **249(22)**: 7130-7139.
- 12) Hafeman DG and Hoekstra WG (1977): Protection against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium, and methionine as measured by ethane evolution. *J Nutr*, **107(4)**: 656-665.
- 13) Holbrook KA (1991): Structure and function of the developing human skin. In "Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the skin" (Goldsmith LA, ed.), pp. 63-110, Oxford University Press, New York.
- 14) Iyadomi M, Higaki Y, Ichiba M, Morimoto M and Tomokuni K (1998): Evaluation of organic solvent-induced inflammation modulated by neuro-peptides in the abdominal skin of hairless rats. *Ind Health*, **36(1)**: 40-51.
- 15) Lee HJ, Yoon CG and Park WH (1999): Changes in xylene metabolism in rats induced various degree of liver damage with CCl₄. *J Toxicol Pub Health*, **15(3)**: 345-352.
- 16) Longacre SL (1987): Cyclohexane. In "Ehtel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents" (Snyder R ed.), pp. 225-235, Elsevier, Amsterdam.
- 17) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, **193**: 265-275.
- 18) Martin JP Jr, Dailey M and Sugarman E (1987): Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys*, **255(2)**: 329-336.
- 19) Ogata M, Tomokuni K and Takatsuka Y (1970): Urinary excretion of hippuric acid and m- or p-methylhippuric acid in the urine of persons exposed to vapors of toluene and m- or p-xylene as a test of exposure. *Br J Ind Med*, **27(1)**: 43-50.
- 20) Paglia ED and Valentine WN (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, **70**: 158-169.
- 21) Rana SV and Kumar S (1993): Effect of xylene, toluene and methyl alcohol on liver collagenesis in rats. *Indian J Exp Biol*, **31(9)**: 782-784.

- 22) Rydzynski K, Korsak Z, Jedlinska U and Sokal JA (1992): The toxic effects of combined exposure to toluene and m-xylene in animals. IV. Liver ultrastructure after subchronic inhalatory exposure. *Pol J Occup Med Environ Health*, **5(1)**: 35-42.
- 23) Scheffler WC (1980): Statistics for the biological sciences. pp. 84-89. Addison-Wesley, London.
- 24) Sedivec V and Flek J (1976): The absorption, metabolism, and excretion of xylenes in man. *Int Arch Occup Environ Health*, **37(3)**: 205-217.
- 25) Stirpe F and Della Corte E (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem*, **244(14)**: 3855-3863.
- 26) van Doorn R, Bos RP, Brouns RM, Leijdekkers CM and Henderson PT (1980): Effect of toluene and xylenes on liver glutathione and their urinary excretion as mercapturic acids in the rat. *Arch Toxicol*, **43(4)**: 293-304.
- 27) Weiner H (1980): Aldehyde oxidizing enzymes. In "Enzymatic basis of detoxication" (Jakoby WB, ed.), pp. 261-280. Academic Press, New York.
- 28) Wronska Nofer T, Rosin J and Bartosz G (1991): Interaction of ethanol and xylene in their effects on erythrocytes and other haematological parameters in the rat. *J Appl Toxicol*, **11(4)**: 289-292.
- 29) Yoon CG and Jeon TW (1999): Comparison the toluene-treated rats with the xylene-treated those on the liver toxication in rats. *J Inst Nat Sci (Keimyung University)*, **18(2)**: 97-102.
- 30) Yoon CG, Lee MK and Lee SI (1998): Effect of growth on the enzyme activities of oxygen free radical generating and scavenging system in CCl₄-treated rats. *Kor J Gerontol*, **8(1)**: 35-42.
-