

PCB 126'YA MARUZ KALMIŞ ZEBRA BALIĞI (*Danio Rerio*) LARVALARINDAKİ SENSORİMOTOR HASARLAR

Turgay ŞİŞMAN^{1*}, Fatime GEYİKOĞLU¹

¹Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 25240 Erzurum

Özet

Poliklorlu Bifeniller (PCBs) çevresel kirleticilerden olup toksik bileşiklerdir. Bu bileşiklerin nörotoksitesiyle ilgili çok sayıda araştırma mevcuttur. Bu çalışmada PCB bileşiklerinden PCB 126'nın Zebra Balığı (*Danio rerio*) larvalarında duyu hassasiyeti üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla daha önceki denemelerimizde belirlediğimiz subletal dozla koryondan yeni çıkan larvalar 2 gün boyunca PCB 126'ya maruz bırakılmıştır. Maruziyeti takiben 4 gün boyunca stereo mikroskop altında larvaların yüzme hareketleri 12 saat aralıklarla gözlenmiştir. Ayrıca ucu steril bir öze ile larvalara dokunmak suretiyle duyu hassasiyeti testi yapılmıştır. Dokunmaya karşı verilen yanıtlar 24 saat süreyle kaydedilmiştir. PCB 126 uygulanmış balık larvalarında yüzme hareketlerinde kontrole oranla önemli oranlarda azalmanın olduğu gözlenmiştir. Dokunmaya karşı verilen tepkilerdeki zayıflık larvalardaki paraliz durumu olarak yorumlanmıştır. Paraliz olan larvaların çoğunun 4. günün sonunda öldüğü tespit edilmiştir. Sonuçta PCB 126 Zebra Balığı larvalarının nöral sistemini etkileyerek sensorimotor hasarlara yol açmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zebra Balığı, PCB 126, sensorimotor hasar

SENSORIMOTOR DEFICITS IN LARVAE OF ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EXPOSED TO PCB 126

Abstract

The usage of the interlocking concrete pave has been increased recently. It is used in the areas in local roads and pavements, parking sites, commercial centers and industrial areas, which are exposed to intensive usage. Production of the concrete pave is a wide area for the consumption of the fly ash (FA). The usage of the FA in the production of concrete pave is a more high quality production, more economical and a more environmentally friendly approach. In this study, fly ash gathered from three different thermal power stations has been used as a substitute to cement in 10-20-30-40 % ratios. Half of the produced paves have been used as control example. The other half has been exposed to salt cure. The splitting tensile strength and water absorption characteristics of the pave have been determined. As a salt while tensile strength increased early ages due to salt cure, it was decreased in older ages. In addition to this finding, it was also determined that; as the FA addition increased, abrasion loss amount increased and water absorption amount decreased.

Keywords: Zebrafish, PCB 126, Sensorimotor Deficits

* E-posta: tsisman@atauni.edu.tr

1. Giriş

Yarı sentetik petrol türevi yağlar olan Poliklorlu Bifenil bileşikler (PCBs) hala pek çok sanayileşmiş ülkenin çevre ve insan sağlığı açısından üzerinde çalıştığı kimyasal bileşikler grubudur. Basitçe PCB kısaltmasıyla tanınan bu çeşitlenmiş bileşikler, kuramsal olarak 210 çeşit bifenil, terpenil ve naftilen bileşiğinden 50 veya daha fazla çeşidin karışımı ile hazırlanan organik bileşiklerdir. 209 farklı klorlanmış PCB konjeneri mevcuttur [1]. Bu bileşikler kullanıma amaçlarına göre % 40-60 oranında klorlandırılarak, başlıca *Arachlor*, *Kanechlor*, *Phenchor*, *Pyralene* ve *Clophen* ticari adları altında piyasaya sürülmektedirler. Ticari PCB'ler ağırlıkça değişik oranlarda klor içeren klorin bifenillerin karışımlarıdır. Örneğin; Arochlor 1242, 1254, 1260 olarak ifade edilen PCB karışımları sırasıyla %42, %54 ve %60 klor içermektedirler. PCB'lerin izomerik bileşimleri değişikdir ve tam olarak da bilinmediğinden örnekleme ve analizleri güçlükle yapılmaktadır.

Bütün dünyada PCB'lerden ileri gelen genel bir kirlenme ortamı şekillenmiş durumdadır. Bu durumun kaçınılmaz bir sonucu olarak balık türlerinde 10 ppm, hayvan vücut yağlarında 300 ppb, bitkisel yağlarda 150 ppb, hayvan etlerinde 10-30 ppb, tavuk yumurtalarında 30 ppb ve düşük yağ içerikli besinlerde de 5 ppb dolayında PCB kirliliğine rastlanabileceği anlaşılmıştır. Belirtilen durum karşısında da günümüz insanının günlük besinleriyle ortalama 150 ppb düzeyinde PCB kirliliği alabileceği, bu miktarın %80'inin de su ürünleri ile diğer hayvansal besinlerden kaynaklanabileceği belirlenmiştir [2]. PCB'lerin doğal balık popülasyonlarını etkileyebileceği ve özellikle de bu balıkların kontamine sulara bıraktıkları döllenmiş yumurtalarının erken dönemlerde olumsuz yönde etkilenebileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir [3, 4]. Deneysel çalışmalar sonucunda su ortamındaki PCB kirliliğinin hızla balık vücuduna girerek biriktiği (özellikle yağ dokusunda) ve bazı türleri (Som balıkları gibi) öldürdüğü tespit edilmiştir [5]. Ayrıca diğer balık türlerinde de ölümleri arttırdığı çeşitli araştırmacılar tarafından saptanmıştır [6, 7].

Son yıllarda ekotoksikoloji çalışmalarında *Danio rerio* (Zebra balığı) yumurtaları ve embriyoları sıklıkla kullanılmaya başlamıştır. Zebra balıkları, dayanıklı bir tür olmalarının yanı sıra kolay bulunabilmesi, laboratuvar ortamında kolay beslenebilmesi ve çoğalmaları, yüksek fekondite göstermesi (ergin dişiler haftalık aralıklarla yüzlerce yumurta bırakır), dış döllenmeyle üremesi, yumurta ve embriyolarının saydam oluşu, yumurta ve larva gelişiminin kolay izlenebilmesi, jenerasyon zamanının kısa olması ve toksik ajanlara embriyolarının duyarlı oluşu bakımından toksikoloji çalışmalarında oldukça sık başvurulan bir test organizması olmuştur [8, 9]. Öte yandan son zamanlarda Zebra balığı insan ve diğer omurgalıların hastalıklarının araştırılmasında mükemmel bir model organizma olarak kullanılmaktadır. Bunun nedenleri, Zebra balığı ile insan ve diğer omurgalıların genom yapılarının benzer oluşu, metabolizmalarının ve embriyonik gelişimlerinin hemen hemen aynı olması, en önemlisi insanlarda bulunan tümör baskılayıcı genin (sitokrom P450 grubu) Zebra balığında da keşfedilmiş olmasıdır.

Günden güne artan insan nüfusu ve gelişmekte olan ülkelerle gelişmiş ülkelerde endüstrinin hızlı gelişimi nedeniyle endüstriyel kaynaklı çevre kirleticileri doğaya daha çok karışmakta ve bu durum tüm dünyada teknik ve bilimsel topluluklarda acil araştırma konuları haline gelmektedir. PCB'ler bu kirleticilerden biri olmakla birlikte insanoğlunun yaşamını tehdit eder hale gelmiştir. Endüstrileşmiş bölge insanının yağ dokusundaki PCB birikimi gün geçtikçe artmakta ve uzun vadede kanser riski için potansiyel tehlike oluşturmaktadır [10]. Ayrıca ekosisteme yayılmış olan PCB bileşikler özellikle su ve sedimentlerde yaygın bir şekilde bulunmakta ve sucul canlıları tehdit etmektedir. Bu bileşiklerin nörotoksitesisiyle ilgili olarak özellikle laboratuvar hayvanlarıyla yapılmış çok sayıda araştırma mevcuttur [11, 12]. Bu stres faktörünün biyolojik etki mekanizmasının tam anlamıyla aydınlatılmamış olması, her ne kadar üretimi sınırlandırılmış ve kontrol altına alınmış olsa da tehlikenin devam etmesi de ayrı bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca bu bileşiklerle zebra balıklarının nörotoksitesisi ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmayışı bizi böyle bir çalışma yapmaya teşvik etmiştir. PCB'nin nörobiyolojik etki mekanizmasının işleyişiyle ilgili verilere katkıda bulunabilmek ve bu sayede PCB'lerin aynı yolla insanları etkileyip etkilemeyeceği hakkında fikir ileri sürebilmek çalışmamızın ana amacını oluşturmaktadır. Buradan hareketle PCB bileşiklerinden PCB126'nın Zebra balığı larvalarının nöral sisteminde herhangi bir etkiye sebep olup olmadığı ilk kez bu çalışma ile verilmiş olacaktır.

2. Materyal ve Metod

2.1. Zebra balığı kültürleri

Ergin Zebra balıkları 27 °C'lik sıcaklıktaki 25-L'lik tanklarda laboratuvarımızda yaşatılmaktadırlar. Günde 2 kez beslenen balıklar 14:10 fotoperiyoduna alıştırmışlardır. Yumurta toplanması için akşamdan yavrulama akvaryumuna sağlıklı ve karınları oldukça şişkin olan 2 dişi (ortalama boy uzunluğu 44.9 mm), 3 erkek (ortalama

boy uzunluğu 43.1 mm) balık alınmış ve ertesi sabah akvaryum tabanında 169 adet çapları 0.7 mm olan döllenmiş balık yumurtaları gözlenmiştir. Sifonlanarak alınan yumurtalar 1-2 kez musluk suyuyla yıkandıktan sonra içinde Holtfreter solüsyonu bulunan petri kaplarına alınmıştır ve döllenemeyen yumurtalar ayıklanmıştır. Deneylere başlayıncaya kadar yaklaşık 0.5 – 3.0 saat süren blastula aşamasındaki olan balık yumurtaları bu solüsyonda bekletilmiştir.

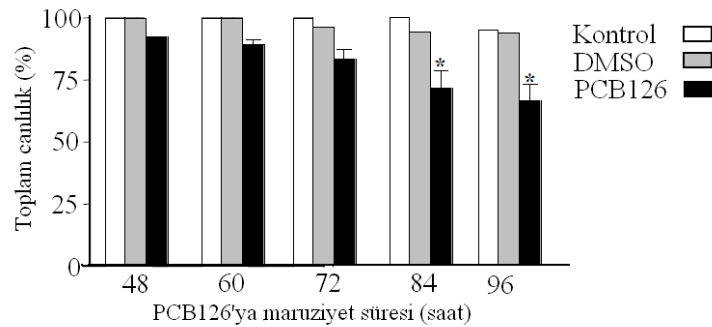
2.2. Larvalara PCB126'nın uygulanması

PCB126 (Riedel-de Haën, Almanya) % 10'luk dimetil sülfoksitte (DMSO) çözdürülerek 10 ppm'lik stok solüsyon hazırlanmış ve bu stoktan 1.00 ppm uygulama yapılmıştır (n=40). Kontrol olarak Holtfreter solüsyonu ve % 10'luk DMSO kullanılmıştır (n=40+40). Koryondan yeni çıkmış balık larvalarına (ortalama 60 saatlik, 3.5 mm uzunluğunda) 48 saat süreyle maruziyet gerçekleştirilmiştir. 144. saatin sonunda besin kesesi absorpsiyonunu tamamlayan larvaların maruziyetten itibaren 4 gün süreyle gözlemi yapılmıştır. Daha sonra normal ortama alınan larvalar larva yemi ile beslenmiş olup aç bırakılan grup olmamıştır. Sonuçlar her gün kaydedilmiş ve ölen larvalar petri kaplarından uzaklaştırılmıştır. PCB 126'ya maruz kalmış larvaların dokunmaya karşı verdikleri tepkiler 12 saatte bir videoya çekilerek belirlenmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 12.0 istatistik programı kullanılmıştır. Kontrol ve deney gruplarının karşılaştırılmasında Khi kare ile önem testi yapılmış ve P<0.05 seviyesi önemli olarak kabul edilmiştir.

3. Bulgular

Başlangıçta 40 tane olan lavalardan 48-96 saatlik uygulama sonrası farklı günlerde toplam 11 larva ölmüş, kontrol ve DMSO grubunda ise istatistik açıdan önemsiz ölümler meydana gelmiştir (Şekil 1). Deney grubunda canlı kalan balık larvalarıyla yapılan sensorimotor duyu hassasiyet analizi neticesinde dokunmaya karşı cevaplarda azalmalar gözlenmiştir. Dokunmaya karşı verilen olumsuz tepkiler ise larvanın anormalliğine, dolayısıyla uygulanan stres faktörünün toksisitesine işaret etmiştir. Olumsuz tepkiler Lefebvre ve ark. [13] tarafından daha önce tanımlanmış ve bu araştırmada da bu tepkiler dikkate alınarak larvaların davranışları incelenmiştir. Larvaların dokunmaya karşı verdiği bu olumsuz tepkiler ise şöyledir:

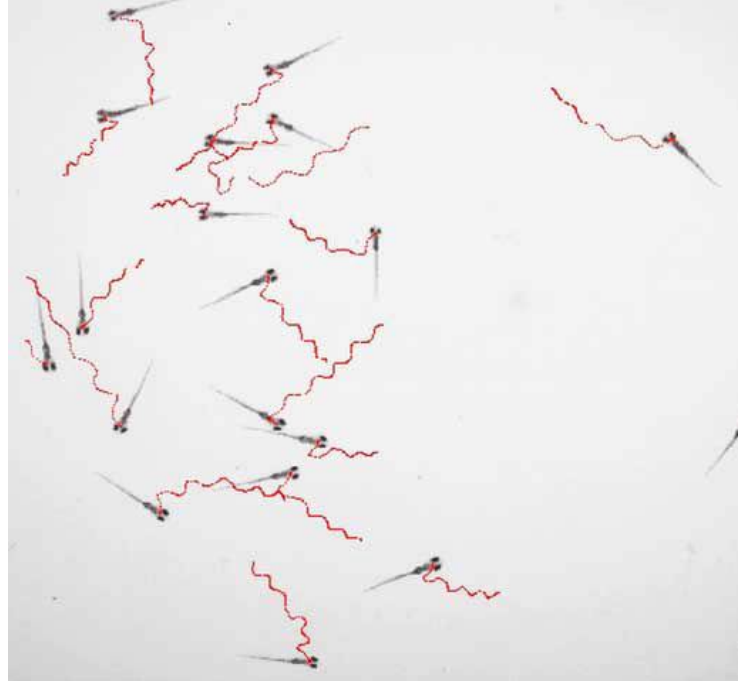
- 1- Dokunmaya karşı hiçbir tepkinin verilmemesi (Paralizi)
- 2- İki veya daha fazla dokunmadan sonra verilen tepkiler
- 3- Şiddeti az olan tepkiler (ilk dokunuştan sonra 1-2 kuyruk boyu ilerleyebilme).



Şekil 1. Fertilizasyondan sonra 48. saatte PCB126 maruz kalmış larvalardaki toplam canlılığın %'si. Her grupta n=40 larva bulunmaktadır. PCB126'ya maruz kalmış larvalarda ölümler 60. saatte başlamış ve 96. saatin sonunda toplam 11 adet larva ölmüştür (*P<0.05).

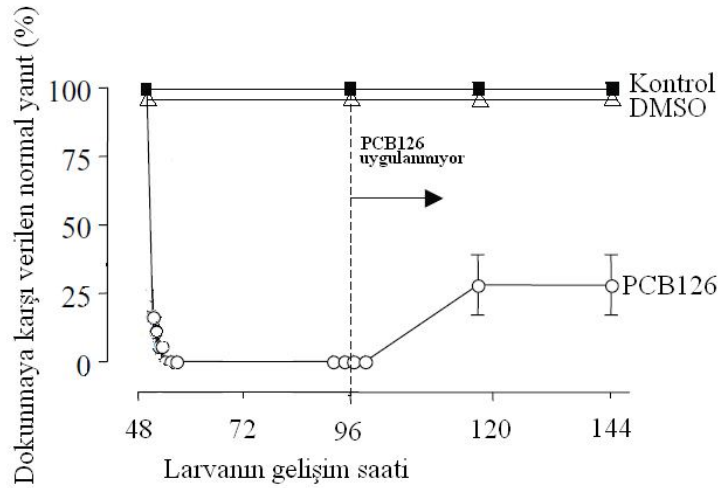
Denemelerimizde normal gelişim gösteren ve hiçbir kimyasala maruz kalmamış larvalarda baş bölgesi veya kuyruk kısmına ucu steril öze ile dokunulduğunda larvaların tamamı uyarıcı merkezinden hızla uzaklaşmışlardır. Bu durum larvaların nöromastlardan oluşan anterior ve posterior yanıl çizgi sistemlerinin aktif olduğunu göstermektedir. Oysa kimyasala maruz kalan larvalarda dokunmaya karşı verilen en net olumsuz yanıt paralizi (felç durumu) olmuştur. Larvaların hem baş hem de kuyruk bölgesine yapılan dokunmalar neticesinde larvaların çoğunun hiçbir tepki vermediği, yani hareket etmedikleri (paralizi), bazılarının ise 4-5 sefer dokunmadan sonra uyarıcı merkezinden uzaklaştıkları, bazılarının da ilk dokunuştan sonra en fazla 1-2 kuyruk boyu uzaklaşabildikleri video görüntüleri ile tespit edilmiştir (Şekil 2). 48 saatlik uygulamadan sonra PCB126 uygulanan larvalarda dokunmaya karşı verilen

yanıtlar tamamen azalmıştır. Kontrol ve DMSO grubunda ise dokunmaya karşı verilen yanıtlarda herhangi bir azalma veya paralizi görülmemiştir (Çizelge 1). Normal ortamda beslenen larvalardan paralizi gösterenlerin en fazla 4 gün yaşadıkları daha sonra öldükleri gözlenmiştir.



Şekil 2. Uyarıcıya larvaların verdiği şiddeti az olan tepkiler (iki dokunuştan sonra 1-2 kuyruk boyu ilerleyebilme).

Çizelge 1. PCB126'ya 48 saat maruz kalan Zebra balığı larvalarında uyarıcıya karşı verilen normal yanıtların yüzdesi. 48. saatten sonra paralizi olan larvalar normal ortama alınmıştır.



4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada PCB126'nın doza bağlı olarak zebra balığı larvalarında sensorimotor hasarlara yol açtığı bulunmuştur. PCB126'nın zebra balığı larvalarının sinir sistemi ile birlikte larvaların fizyolojisini, büyümesini, gelişimini ve canlılığını da etkilediği yaptığımız diğer çalışmalarda tespit edilmiştir [14]. Yaptığımız bu 6 günlük deneyde sensorimotor yani duysal hassasiyet azalması maruziyetten sonraki 2. günde ortaya çıkmış ve larvaların çoğu PCB126'dan olumsuz etkilenmişlerdir. Normalde zebra balığı embriolarında dokunmaya karşı yanıtlar fertilizasyondan sonraki 27. saatte başlamaktadır [15]. Balıklarda hem larva hem de ergin bireylerde olan

mekanosensör sistem erken larva evresinde gelişmeye başlar ve nöromast adı verilen nöronlardan oluşur. Nöromastlar iki tiptir: Sensör saç hücreleri ve destek hücreleri. Bu sistem larva vücudunun yan yüzünde belirir. Sensör saç hücreleri mekanik uyarıları alan ve sinir sistemine ileten hücreler olup omurgalılarda bulunan kulak içi hücrelerine benzemektedirler [16]. Dolayısıyla zebra balığı nöromastlarını olumsuz etkileyen herhangi bir kimyasal bileşik muhtemeldir ki omurgalıların sinir sistemini de etkileyecektir. Araştırmamızda subletal dozda PCB126 uygulanması neticesinde larvalarda duyu hassasiyetinin kaybolduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu bileşiklerin larvaların lateral çizgisinde bulunan nöromastları, yani sinir sistemini etkiledikleri sonucuna varılmıştır. Normal ortama alınan ve PCB126'dan etkilenen balık larvalarının 4 gün yaşadıkdan sonra ölmeleri ise şöyle açıklanabilir: Zebra balığı larvaları fertilizasyondan sonraki 3. günde yüzmeye ve operkulumlarını açıp kapatmaya başlarlar [8]. Operkulumlar açılınca solungaç yarıklarından ortamdaki su farinks kanalına girmektedir. PCB126 muhtemelen bu yolla larvalara girerek absorbe edilmiş ve maruziyetten sonraki aşamada da etkisini devam ettirmiştir.

Her ne kadar PCB'lerin balıklardaki nöromastları etkilediğine dair çalışmalar yapılmamış olsa da bu bileşiklerin çeşitli deney hayvanlarında doğum öncesi ve doğum sonrasında sinir sistemini etkilediği bilinmektedir [17]. Ayrıca Aroclor 1254'ün albino ratların hipotalamusunda oksidatif strese yol açtığı da yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [18]. Dioksin benzeri olmayan PCB'lerin nörolojik davranış, hücreler arası iletişim ve enzim sistemleri üzerine toksik etkilere sahip olduklarına dair çeşitli araştırma bulguları da vardır. Buna en güzel örnek PCB153 ile yapılan çalışma gösterilebilir. 20 mg/kg vücut ağırlığı/gün PCB153, 21 gün boyunca ergin dişi ratlara oral yolla yedirilmiş ve öncelikle hipocampus serebellum ve serebral korteksteki enzimlerin (dopamin, serotonin, 5-hidroksi-indol-3-asetik asit ve homovanillik asit) aktivitelerinde bir azalma ve dopaminerjik sistemde anormalliklerin olduğu bulunmuştur [19]. PCB bileşiklerinin neden olduğu nöral dejenerasyonun ise nörokimyasal ve nörobiyolojik proses boyunca dopamin dengesinin bozulmasına bağlı olarak olabileceği belirtilmiştir [20]. Burada dopamin dengesini bozan şey yine serbest oksijen radikalleridir. Çünkü beyinde, bol miktarda yağ asidi polimeri içeren fosfolipid bulunur ve bu bileşikler de peroksidasyondan sorumlu organik bileşiklerdir. PCB'lerin hipotalamusta oksidatif stresin artışına yol açması ve serbest radikallerin de hücresel elemanlara zarar vermesi [21] yukarıdaki ifadeleri desteklemektedir. PCB'lerin nöromastları nasıl etkilediği ile ilgili olarak diğer bir yaklaşım toksik maddenin nöron hücre zarındaki sodyum kanallarını bozarak iyon geçiş dengesini bozması olarak gösterilebilir. Bu çalışma PCB126'nın balık sinir sistemini ve fizyolojisini etkilediğini göstermektedir. Yüzey sularının bu çeşit kimyasallarla kirlendiği ve bu sularda ekonomik değeri olan balıkların varlığı göz önünde bulundurulduğunda PCB'lerin balık popülasyonları üzerinde olumsuz etkiler yapacağını ve hem ekonomiye hem de doğanın dengesine zarar vereceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- [1] UNEP, "Chemicals Guidelines For The Identification Of Pcb's And Materials Containing Pcb's" First Issue, *Inter-Organization Program For The Sound Management Of Chemicals* (1999)
- [2] WHO, "Polychlorinated Biphenyls And Terphenyls (Second Edition)" Environmental Health Criteria, 140, Geneva (1993)
- [3] D.R.M Passino, J.M. Kramer, "Toxicity Of Arsenic And Pcb's To Fry Of Deepwater Ciscoes (*Coregonus*)", *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 24: 527-534 (1980)
- [4] M.K. Walker, R.E. Peterson, "Potencies Of Polychlorinated Dibenzo-P-Dioxin, Dibenzofuran And Biphenyl Congeners Relative To 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-P-Dioxin For Producing Early Life Stage Mortality In Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*)", *Aquatic Toxicology*, 21: 219-238 (1991)
- [5] H. C. Cecil, J. Bitman, R. J. Lillie, G. F. Fries, J. Verrett, "Embryotoxic And Teratogenic Effect In Unhatched Fertil Eggs From Hens Fed Polychlorinated Biphenyls (Pcb's)", *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 11: 489-495 (1974)
- [6] B. L. Boese, M. Winson, H. I. I. Lee, S. Echols, J. Pelletier, R. Randall, "PCB Congeners And Hexachlorobenzene Biota-Sediment Accumulation Factors For *Macoma Nasuta* Exposed To Sediments With Different Total Organic Carbon Contents", *Environmental Toxicology And Chemistry*, 14: 303-310 (1995)
- [7] K.E. Clark, W. Stansley, L.J. Niles, "Changes In Contaminant Levels In New Jersey Osprey Eggs And Prey, 1989 To 1998", *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology*, 40: 277-284 (2001)
- [8] C.B. Kimmel, W.W. Ballard, S.R. Kimmel, B.Ullmann, T.F. Schilling, "Stages Of Embryonic- Development Of The Zebrafish", *Developmental Dynamics*, 203: 253-310. (1995)
- [9] Z. Lele, P.H. Krone, "The Zebrafish As A Model System In Developmental, Toxicological And Transgenic Research", *Biotechnology Advances*, 14: 57-72 (1996)
- [10] S. Safe, "Polychlorinated Biphenyls (Pcb's): Environmental Impact, Biochemical And Toxic Response, And Implications For Risk Assessment", *Critisis Review Toxicology*, 24: 87-149 (1994)

- [11] D.C Rice, "Effect Of Postnatal Exposure To A PCB Mixture In Monkeys On Multiple Fixed Interval-Fixed Ratio Performance", *Neurotoxicol. Teratol.* 19: 429–434 (1997)
- [12] K.M. Crofton, D.C. Rice, "Low-Frequency Hearing Loss Following Perinatal Exposure To 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (PCB 126) In Rats", *Neurotoxicol. Teratol.* 21: 299–301 (1999)
- [13] K.A. Lefebvre, V.L. Trainer, N.L. Scholz, "Morphological Abnormalities And Sensorimotor Deficits In Larval Fish Exposed To Dissolved Saxitoxin", *Aquatic Toxicology*, 66: 159-170 (2004)
- [14] T. Şişman, F. Geyikoğlu, M. Atamanalp, "Early Life-Stage Toxicity In Zebrafish (*Danio Rerio*) Following Embryonal Exposure To Selected Polychlorinated Biphenyls", *Toxicology And Industrial Health*, 23: 529-536 (2007)
- [15] A.B. Ribera, C. Nüsslein-Volhard, "Zebrafish Touch Insensitive Mutants Reveal An Essential Role For The Developmental Regulation Of Sodium Current", *Journal Of Neuroscience* 18: 9181–9191 (1998)
- [16] A. Ghysen, C. Dambly-Chaudiere, "Development Of The Lateral Line", *Current Opinon In Neurobiology*, 14, 67-73 (2004)
- [17] D.C. Rice, "Behavioral Impairment Produced By Low-Level Postnatal PCB Exposure In Monkeys", *Environmental Research*, 80: 113–121 (1999)
- [18] R. Muthuvel, P. Venkataraman, G. Krishnamoorthy, D.N. Gunadharini, P. Kanagaraj, A.J. Stanley, N. Srinivasan, K. Balasubramanian, M.M. Aruldas, J. Arunakaran, "Antioxidant Effect Of Ascorbic Acid On PCB (Aroclor 1254) Induced Oxidative Stres In Hypothalamus Of Albino Rats", *Clinica Chimica Acta*, 365: 297-303 (2006)
- [19] A.F. Castoldi, F. Blandini, G. Randie, A. Samuele, L. Manzo, T. Coccini, "Brain Monoaminergic Neurotransmission Parameters In Weanling Rats After Perinatal Exposure To Methylmercury And 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (PCB 153)", *Brain Research*, 1112: 91-98 (2006)
- [20] J.R. Richardson, G.W. Miller, "Acute Exposure To Aroclor 1016 Or 1260 Differentially Affects Dopamine Transporter And Vesicular Monoamine Transporter 2 Levels", *Toxicol. Lett* 148: 29-40 (2004)
- [21] P.A. Schilderman, L.M. Mass, D.M. Pachen, T.M. Dekok, J.C. Kleinjans, F.S. Vanschooten, "Induction Of DNA Adducts By Several Polychlorinated Biphenyls", *Environmental And Molecular Mutagenesis*, 36: 79-86 (2000)