KOR. J. ENVIRON. TOXICOL.
Vol. 15, No. 3, 61~67 (2000)

Styrene 및 Styrene-oxide가 송사리 알의 초기발생 과정에 미치는 독성

박 형 숙, 안 혜 원*

한서대학교 환경공학과, *수원대학교 환경공학과

Toxicity of Styrene and Styrene-oxide in Embryos of the Japanese Medaka (Oryzias latipes)

Hyoung-Sook Park and Hye-Won Ahn*

Department of Environmental Engineering, Hanseo University
Haemi-myun Daegok-yi 360, Seosan-shi, Chungnam, 356-820, Korea
**Department of Environmental Engineering, The University of Suwon,*
San 2-2, Wauri, Bongdam-eup, Hwasung-gun, Kyunggi-do, 445-743, Korea

ABSTRACT

Toxic lesions of styrene in the Japanese Medaka (Oryzias latipes) were compared with those of styrene oxide, the active metabolite of styrene, using embryo-larval assays. The developmental stages of Japanese Medaka (Oryzias latipes) treated with both chemicals were not altered and progressed normally. However, styrene oxide was more toxic than styrene in terms of causing death and lesions. High concentrations of styrene (higher than 4.9 ppm) and styrene oxide (higher than 2.4 ppm), resulting in more than 50% mortality, caused similar lesions of cardiovascular system, craniofacial bone formation and spinal deformities, although a number of lesions were not observed by both chemicals. In the group treated with styrene, eyeball sizes and intereye distances were reduced, while, in the group treated with styrene oxide, the eyes and eye cups were not developed and two eyes were sometimes fused. In addition, styrene oxide caused the lesion which involved the posterior brain and brain stem were herniated through the spinal cord. The noticeable difference of toxic symptoms between these two chemicals was the time of onset. Toxicities of cardiovascular system and craniofacial bone formation appeared on day 3 of development in styrene oxide treated group, but, styrene treated group started to show hemorrhages on day 3 and the craniofacial malformation were appeared on day 5. These differences between two chemicals may be due to the metabolism of styrene to styrene oxide, the reactive intermediate.

Key words : styrene, styrene oxide, embryo-larval assay, Japanese Medaka

서 론

Styrene monomer (vinylbenzene, phenylethylene)는 강력 플라스틱, 고무, 레진 등의 제조 및 polystyrene 포장재료로 널리 사용되는 화합물질이다. 직업상 styrene을 다루는 업종에 종사하는 근로자들이 고농도로 폭로되며, 일반인들 또한 담배연기, 자동차 배기가스, 음식 등을 통해 저농도로 광범위하게 폭로된다. 주로 호흡에 의해 흡수되며, 포유동물에서 신장, 간, 췌장 및 뇌로 분포되는데, 특

히 지방조직에 축척이 크므로 모체로부터 태반과 모유를 통해 자손으로 이행된다.[1] 간에서 styrene은 cytochrome P450-monooxygenase (cyt.P450)에 의하여 활성이 매우 큰 중간 대사체인 styrene 7, 8-oxide로 대사된 후,[2)-4)] 단백질이나 핵산과 같은 세포내 물질에 공유결합 함으로서[5)] 다양한 독성을 일으키게 된다. 사람의 경우, styrene의 주 대사산물인 mandelic acid/phenylglyoxylic acid가 소변으로 배출되며,[6)-7)] styrene 폭로에 대한 생체지표(bio-marker)로 사용하고 있다.

Styrene 및 styrene oxide의 독성은 잠재적 발암성을 지닌 돌연변이원성,[8)-14)] 신경계독성[15)-17)] 및 생식·발생학적 독성으로 대별되는데, 변이원성 및 신경계 독성은 잘 알려져 있는데 비하여 styrene의 생식 및 발생학적 독성은 상반된 의견으로 현재까지 논란이 계속되고 있는 연구 분야이다. 초기 역학연구에서 styrene 폭로시 mice 및 hamster 암컷의 자연유산[18)]과 menstrual cycle에 대한 영향[19)]이 발표된 바 있으나, 생식계 독성을 입증할 만한 충분한 자료를 제공하지는 못하였다. 1995년 미국의 질병통제국(CDC; Center for Disease Control) 에서는 styrene dimer 및 trimer를 내분비계장해 추정물질로 지정하였으나, 미국의 환경보호청(EPA; Environmental Protection Agency) 및 네델란드의 응용화학연구기구 등은 내분비교란 작용을 인정하지 않았다. 한편, 1998년 한국 및 일본에서 사용되고 있는 일회용 컵라면 용기에서 styrene dimer 및 trimer가 검출됨으로써 사회적인 파문을 일으켰다.

Styrene의 발생학적 독성에 관한 실험적 연구는 1974년 러시아의 Ragule이 쥐에 흡입함으로서 시작되었는데,[20)] 착상이전사망(preimplantation death)의 증가와 11.6 ppm에서 embryo가 100% 사망했다고 보고하였다. 이후, 포유동물에서 모체에 유해한 과량 폭로시 자손에서 사망과 골격 변형의 보고들이 있었다.[18)-19)] Styrene oxide의 경우도 어미에게 매우 유독한 용량에서 태아 사망과 성장지체를 나타내었다고 보고된 바 있다. 최근에 수행된 연구에서, 수생생물인 성게 embryos의 발달과정에 styrene 및 styrene oxide를 투여한 시점에 따라서 다른 단계의 분화과정에 특정한 손상(초반에는 세포붕괴, 후반에는 척추골격 손상)이 관찰되었다.[21)] 이밖에도, embryolethal 용량에서 chick embryo에 한쪽 눈(cyclops) 혹은 두 눈이 모두 없던가, 눈꺼풀 기형, 두개골 상부의 기형, 뇌출혈, 뇌의 돌출, 내장의 체외돌출, 말단 사지의 기형 및 부종 등의 손상이 보고되었는데, embryo의 연령에 따라 발현되는 독성이 달랐으며, 기형발생에 가장 취약한 시기는 발생 초기단계이었다.[22)] 이후, styrene은 사망 및 기형을 동반한 발생학적 독성물질(potential human developmental toxicant)로 분류[23)]되고 있으나 역학 조사결과 통계학적인 자료 부족으로 사람에 대한 발생학적 독성물질로는 가능성만을 제시하고 있는 상태이다.

발생과정 독성검사에는 고등동물의 성체를 사용하는 것보다 민감도가 뛰어난 하등동물의 알을 사용하는 것이 발생시기에 따른 성장결손 부위의 관찰이 용이하다.[24)] 담수에 서식하는 일본산 송사리(Oryzias latipes)의 알은 발생과정이 명확하게 구분되어 있고 독성물질에 대한 민감도가 뛰어나며 특히, 광학적인 투명함을 가지므로 발생과정 동안 연속적인 관찰이 가능하여 독성기작 연구 목적으로 대단히 유용하다. 또한 일본산 송사리(Oryzias latipes) 간 마이크로좀의 cyt.P450는 사람의 cyt.P450 계와 대사과정이 유사하므로[25)] 대사후 독성물질을 발생하는 화학물질의 독성 연구에 적합하다.

본 연구는 환경오염체인 styrene monomer와 대사체인 styrene oxides의 생식·발생학적 독성을 연구하는 첫단계로서, 일본산 송사리(Oryzias latipes)의 수정된 알에 두 화학물질을 노출시킨 후, 부화된 올챙이에 이르는 발생과정을 embryo-larval assay (ELA)를 사용하여 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 독성 실험

본 실험은 송사리 알의 초기 발생과정에서의 독성 평가를 위해 Embryo-Larval Assay를 시행하였으며, 사용한 송사리는 Japanese Medaka (Oryzias latipes)로서 Toothcarps족에 속하는 난생의 민물 killfish로서 Gulf Coast Research, Gulfport, MS.로부터 공급되었다. 독성 실험에 사용된 알을 채취하기 위하여 유리수조내에 약 60마리의 송사리 성체(약 6개월에서 12개월 정도 것 사용)를 암·

수 3:2의 비율로, 낮과 밤의 비율을 16:8시간, 수조내 온도를 22~25°C의 범위로 유지시켰다. 물고기는 1일 3~4회 Tetramin®tropical fish food (Tetra Werke, Melke, Germany)와 일주일에 2회 정도 갓 부화된 바다 새우를 먹이로 공급하였다. 수정후 1~2시간 내에 채취한 알은 현미경 하에서 관찰하여 동일한 발생 단계를 보이는 것을 선별하여 실험에 사용하였다. 리어링 용액 (rearing solution)과 다양한 농도의 styrene 및 styrene-oxide 용액을 1 ml씩 용량 2 ml의 Teflon 뚜껑이 있는 투명한 유리병에 담고, 채취한 알을 각병에 하나씩 넣었다. 비교실험 및 각각의 시험 용액은 동시에 15개를 준비하여 실시하였다. 시료와 알이 들어있는 유리병을 25°C의 항온기에서 배양하면서 알에서 일어나는 발생 및 성장과정, 결손부위, 치사여부 등을 현미경하에서 매일 관찰하였다. 일반적으로 송사리 알은 11~14일 정도 지나면 부화되며, 부화시 시험용액을 리어링 용액으로 교환한 후 3일 정도 더 관찰하여 사망과 생존을 결정하였다.[24] 모든 실험에는 처리군과 함께 리어링 용액만의 대조군 (control)과 메탄올만의 용매 대조군 (vehicle solvent control)을 포함시켰다.

2. 시 약

Styrene은 methanol에 5 mg/1 ml 로 용해된 순도 99.0% 상태로 Supelco (Bellefonte, PA)로부터 구입하였다. 이용액의 1 ml를 99 ml의 리어링 용액에 가하여 50 ppm의 styrene 용액을 준비한 후, 실험에는 대조군, 용매 대조군, 50 ppm, 30 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 2.5 ppm 농도로 제조한 styrene을 사용하였다.

Styrene-oxide는 Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI)로부터 순도 97% 상태로 구입한 것을 사용하였다. 3 g의 styrene-oxide를 정량하여 100 ml의 리어링 용액과 24시간 상온에서 교반한 후 1시간 방치하여 얻은 상등액을 100% 포화된 styrene-oxide로 간주하여 적절한 농도로 리어링 용액과 희석하였다. 본 실험에는 대조군, 포화용액의 1%, 0.75%, 0.5%, 0.25%, 0.1%의 희석된 styrene-oxide 용액을 사용하였다.

실험에 사용된 다양한 농도의 styrene과 styrne-oxide는 기체크로마토그래피-질량분석법 (GC/MS; Gas Chromatography-Mass Spectrometry)에 의해 정확한 농도를 측정하였다. 리어링 용액은 10% NaCl, KCl, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$를 증류수에 일정량 용해시켜 조제한 후, 멸균 여과시킨 것을 사용하였다.

결과 및 고찰

Embryo-Larval Assay 결과, styrene과 styrene-oxide에 폭로된 송사리 embryo의 발달단계들은 정상이었으며 대조군과 같은 발달단계를 나타내었다. 손상부위는 두 화합물이 유사하여 주로 심혈관계 (cardiovascular system), 두개안면골격형성 (craniofacial bone formation) 및 척추기형 (spinal deformities) 등이었으나 일부 손상의 경우 두 화합물에 의하여 다 관찰되지 않은 것도 있었다. 두 화합물에 의한 손상의 형태들이 Table 1에 비교되었으며 이들 손상들은 styrene-oxide 농도 2.4 ppm과 syrene 농도 4.9 ppm 이상에서 관찰된 것으로 이 농도에서 50% 이상의 치사율을 나타내었다. 손상으로 인해서 embryo가 부화되기 전이나 부화되는 시점에서 죽은 경우를 severe lesion으로 분류하였으며, 발달과정중 출혈증상 (hemorrhage)이 나타난 것들은 대부분 부화되는 시점을 전후하여 치사하였다. 전반적으로 styrene oxide가 sty-

Table 1. Comparision of severe lesions in the embryos of Japanese Medaka (Oryzias latipes) exposed to the concentrations resulting in>50% mortality[a] for Styrene and Styrene-oxide

Type of severe lesion	Styrene	Styrene -oxide
Caudal region hemorrhage	+++	+++
Tube heart	+++	+++
Pericardial edema	+++	+++
Slow circulation or noncirculation	+++	+++
Reduced eyeball & intereye distance	+++[c]	NA
Altered eye pigmentation & development	+	+++
Cornea bubbling	++[d]	NP
Spinal chord extruded	NP	+++
Skeletal effect (kink or bend)	++	+++

[a] Styrene>4.9 ppm, Styrene-oxide>2.4 ppm
[b] All +++ is equivalent to 100% affected
[c] Propotional to the concentration
[d] 3 out of 14 animal
[e] NA = non applicable
[f] NP = non present

Table 2. Comparision of IED, OED and Eyeball size in the embryos of the Japanese Medaka (Oryzias latipes) after treated with various concentrations of Styrene

Concentration (ppm)	Number of measured[a]	Inner eye distance (μm)	Outer eye distance (μm)	Eyeball size (μm)
Control	15/(15)	11.2±0.4	70.4±0.8	59.2±0.7
Vehicle control	15/(15)	10.9±0.5	68.0±1.0	57.0±1.0
0.5	13/(15)	11.4±0.9	66.5±1.5	55.1±1.4
0.9	14/(15)	12.0±1.0	64.8±1.1	52.8±1.2
1.9	13/(15)	9.5±0.8	62.2±0.8	52.6±0.8
4.7	12/(14)	10.3±0.8	61.3±1.1	51.0±0.8
4.9	7/(14)	11.2±1.1	64.0±1.6	52.0±1.8
10.0	0/(14)	–	–	–

[a] measured at stage 35 for the alive. number of measured/(number of total tested)
[b] Values represent mean±standard error.

rene보다 손상 및 치사를 일으키는 정도가 강력하였는데, 특히 두개안면골격 독성은 styrene oxide 폭로 동물에서 극심하였다. Styrene의 경우, 눈알 크기의 감소, 눈 사이 간격길이의 감소, 눈 색소의 변화, 머리의 미숙발달, 그리고 일부는(14개체중 3개체) 각막이 솟아오른 것이 관찰되었다. 눈알 크기의 감소와 눈사이 간격의 감소는 styrene의 농도 증가에 따라 비례하여 감소되었으며(Table 2) 치사한 것은 제외되었다. 그러나 styrene-oxide를 처치한 경우, 각막이 솟는 것은 발견 할수 없었으며 두개안면독성의 정도가 styrene에 폭로된 경우보다 심하여, 눈알 크기 및 눈사이 간격의 감소를 측정하기 어려웠으며 눈의 색소침착과 눈의 발달은 너무 심하게 손상되어 눈과 eye-cup이 발달되지 않던가 두눈이 융합되었다(Fig. 2). 척추골격은 styrene과 styrene-oxide에 의하여 꼬리 부분이 심하게 비틀리고 척추뼈는 굽으면서 성장이 저해되어 embryo 크기가 대조군에 비하여 감소하였다. Styrene-oxide 처치 구룹에서만 나타난 손상으로 후뇌와 뇌간이 척수로 탈장되었는데 이같은 손상은 고등척추동물에서 보여지는 척추뼈갈림증(spina bifida) 과 유사한 현상이다.

두화합물의 큰 차이는 독성이 처음 발현되는 시점(time of onset)이 다르다는 점이다. 즉, styrene에 폭로된 경우, 셋째날에 혈액순환이 매우 느려지거나 정지되면서 여러부위에 출혈이 나타났는데 특히 꼬리쪽(caudal regions)에 심한 출혈이 있었으며 tube heart, pericardial edema 등이 나타났다. 다섯째 날에 심혈관 손상은 더욱 진행되면서 두개안면골격기형이 관찰되었다(Fig. 1). 반면, styrene-oxide에 폭로된 그룹에서는 심혈관계효과 (pericardial edema, caudal hemorrahage, tube heart, non-circulation)와 두개안면효과(눈색소 변화, 눈과 머리의 변형된 발달)들이 모두 셋째날에 나타났다.

본 실험 결과에서의 두 화합물에 의한 독성 발현의 시점이 다른점, 손상부위가 다른점 및 styrene oxide의 독성이 styrene 보다 강력한 차이들은 동물체내에서 styrene이 styrene oxide로 대사되는 것을 증명해준다. 일반적인 styrene의 생체내 경로는 cytochrome P450에 의해 styrene-7,8-oxide 로 대사되는데, 사람에서는 Cyt.P450 IIE1에 의하여 산화되는 것으로 밝혀진 바 있다.[26] Styrene-7,8-oxide는 활동성이 큰 electrophile로서, 단백질, 핵산 등의 nucleophilic center와 비가역적으로 작용함으로서 독성을 일으킨다. 즉, 투여한 styrene이 styrene oxide로 대사된 후 독성작용을 일으킬 때의 embryo의 발달단계와 styrene-oxide에 직접 폭로시킨 경우의 embryo의 발달단계가 다르며, 독성체에 폭로되는 시점이 embryo의 초기 발달 단계일수록 더욱 민감하게 반응하기 때문에 독성 발현 시점의 차이나 독성의 강도가 다른것으로 해석된다. Vainio의 연구결과[22]도 유사하여, 수정된 chicken eggs가 배양되는 14일 동안 각기 다른 시점에 styrene과 styrene-oxide를 투여 했을때, embryo 나이에 따라 독성효과가 달랐으며 초기발달과정에서 가장 치명적 영향을 받는다고 보고한 바 있는데, 이때의 LD_{50}는 styrene 40 μmol/egg, styrene oxide 1.5 μmol/egg로서 styrene oxide의 독성이 강하였으며 기형을 나타낸 용량은 충분히 embryo를 치사시킬 수 있는 농도였다. 다른 가능

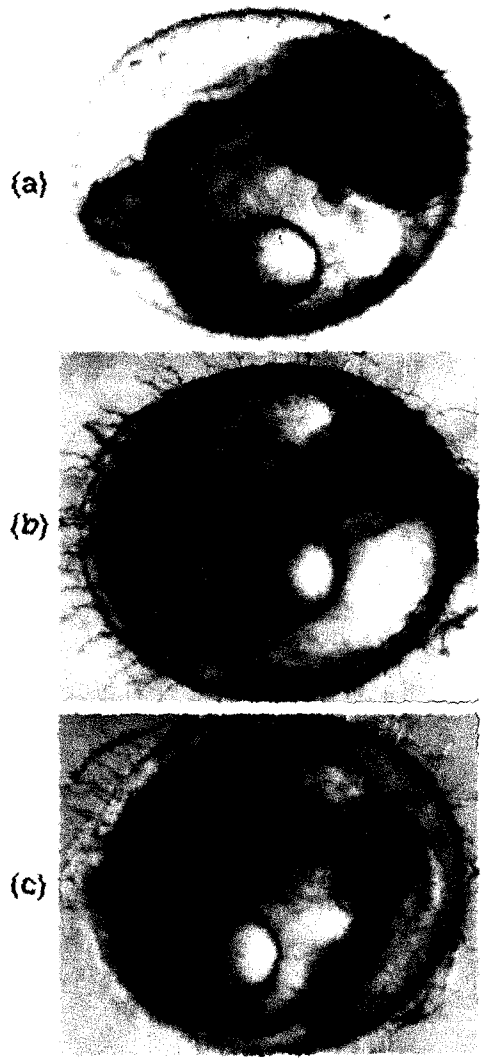

Fig. 1. Embryos of Japanese Medaka treated by styrene. (a) control (stage 34). (b) & (c) 4.9 ppm styrene treated embryos (stage 34)-hemorrhage, bent backbone, reduced eyeball size, retarded eye development (× 16).

성으로 고농도의 styrene이 단시간 내에 흡수된 경우, cytochrome P450 효소계의 용량 부족으로 흡수된 styrene을 빠른 시간내에 충분히 styrene oxide로 대사시킬 수 없는 점도 배제할 수 없다. 생성된 styrene-oxide는 styrene glycol을 거쳐서 mandelic acid 및 phenylglyoxylic acid로 되는 것이 주대사 경로로[21-4] 알려져 있다. 이들 대사경로들

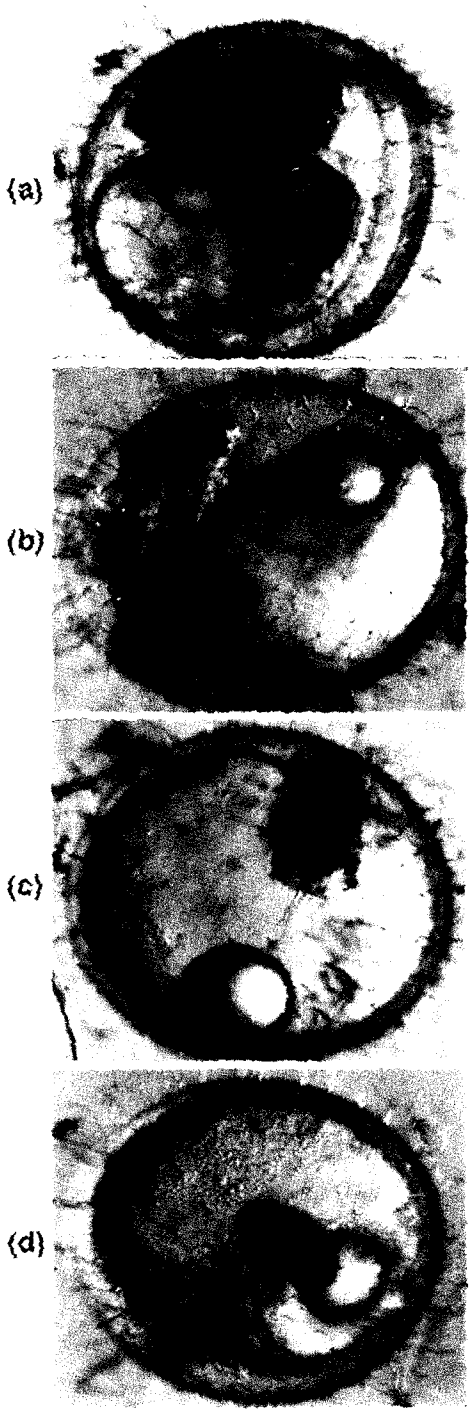

Fig. 2. Embryos of Japanese Medaka treated by styrene oxide. (a) control (stage 33). (b), (c), (d) 2.4 ppm styrene-oxide treated embryos (stage 33)- hemorrhage bent backbone, size reduced, eyes fused (× 16).

은 종(species), 기관(organ), 다양한 세포에 따라서 복합 활성효소인 cyt.P450 및 여러 불활성효소들에 의해 복잡해지며 달라진다.

본실험에서 나타난 기형발생의 원인으로는 유전독성작용이 주요 요인으로 추정된다. 이미 styrene과 styrene oxide는 돌연변이원성이 있는 것으로 확인되었고,[8)-12)] styrene oxide가 동물실험에서 발암물질로 작용했다는[13)-14)] 사실은 이들이 정상적 세포분열 과정에서 유전자 및 단백질을 손상시킨다는 것을 의미하므로, 충분히 발생과정에서 기형발생을 일으킬 수 있는것이다. 이외에도 styrene 대사중에 생성된 산분해물질이 중추신경계에 작용하는 신경독성 물질로서의 상호작용[27)]이 관여된 결과로 생각되나, 이에 대하여는 많은 연구들이 요구된다. 앞으로의 연구에서는 특히, 저농도에서의 embryo 반응 관찰 및 다세대간 실험들이 뒷받침 될 때, styrene 화합물의 생식 · 발생학적인 독성물질로의 규명과 사람에 대한 생식 · 발생학적인 만성적 영향을 이해 할수있을 것이다.

결 론

Styrene monomer와 styrene-oxide를 일본산 송사리의 수정된 알에 폭로시킨후 부화되기까지의 발달과정에 미치는 손상과 기형을 비교하였다. 두 화합물 모두 송사리알의 발달단계 (stage development)에 영향을 주지 않았으며 대조군과 동일한 발달단계를 나타내었다. 50% 이상의 치사율을 나타내는 농도 styrene 4.9 ppm, styrene-oxide 2.4 ppm에서 두 물질에 의하여 나타난 손상의 부위들은 주로 심혈관계, 안면골격기형, 척추기형이었으며, styrene-oxide의 독성작용이 styrene보다 강력하였다. 일부 손상은 두 물질에서 모두 나타난 반면 일부손상들은 각각의 물질에 따라 특정한 손상들을 나타내었는데, styrene의 경우 눈알크기 감소 및 각막이 솟아오른 것이 관찰된 반면 styrene-oxide의 경우 눈의 발달이 심하게 손상되어 측량하기 어려웠고 두눈이 융합되었다. 두 물질 모두 척추골격 성장을 손상하여 척추뼈가 심하게 굽으며 성장을 저해시켰는데, styrene oxide 폭로시에는 후뇌와 뇌간이 척수로 탈장되었다. 두물질의 큰 차이점은 처음 독성증상들이 나타난 시점 (time of onset)이 달랐으며 styrene-oxide의 경우가 빠르게 나타났는데, 이는 styrene이 생체 내에서 독성체인 styrene oxide로 대사 활성화된 후 작용하는 것을 증명해준다.

참 고 문 헌

1. Bond, J.A. *Review of the toxicology of styrene*, CRC Crit. Rev. Toxicol., 1989; 19: 227-249.
2. Watabe, T., Isobe, M., Sawahata, T., Yoshikawa,K., Yamada, S. and Takabatake, E. (1978) Metabolism and mutagenicity of styrene, Scan. J. Work Environ. Health, 1990; 4 (Suppl.2): 142-155. Boyd, D.P., Bodner, K.M., Bond, G. C., de la Cruz, P.L., Miller, R.R., and Nolan, R. J., Styrene: perspectives on the carcinogen question, SIRC Rev., 1990; 9.
3. Kessler, W., Jiang, X., and Filser, J.G., Direct determination of styrene-7, 8-oxide in blood by gas chromatography with flame ionization detection, J. Chromatogr., 1990; 534: 67.
4. Leibman, K.C., Metabolism and toxicity of styrene, Environ. Health Perspect., 1975; 11: 115.
5. van Anda, J., Smith, B.R., Fouts, J.R., and Bend, J.R. Concentration dependent metabolism and toxicity of ^{14}C styrene oxide in the isolated perfused rat liver, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1979; 211: 207-211.
6. Ohtsuji, H., and Ikeda, M. The metabolism of styrene in rat and the stimulatory effect of phenobarbital, Toxicol. Appl. Pharmacol., *1971*; *18*: *321-328*.
7. Bardodej, Z., and Bardodejova, E. Biotransformation of benzene, styrene and alphamethyl styrene in man, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 1970; 31: 206-209.
8. de Meester, C., Poncelet, F., Roberfroid, M., Rondelet, J., and Mercier, M. Mutagenicity of styrene and styrene oxide, Mutat. Res., 1977; 56: 147-152.
9. Bonatti, S., Abbondandolo, A., Corti, G., Fiorio, R., and Mazzaccaro, A. The expression curve of mutants induced by styrene oxide at the HGPRT locus in V79 cells, Mutat. Res., 1978; 52: 295-300.
10. Vergieva, T., and Zaikov, H. Behavioural changes in rats with inhalation of styrene effect, Hyg. Zdrav., 1981; 24: 242-247.
11. Vodicka, P., Vodickova, L., Trejbalova, K., Scram, R. J., and Hemminki, K. Persistence of O^6-guanine DNA adducts in styrene-exposed lamination workers determined by ^{32}P-postlabeling, Carcinogenesis, 1994; 15: 1949-1953.
12. Bastlova, T., Vodicka, P., Peterkova, K., Hemminki, K., and Lambert, B. Styrene oxide induced HPRT mutations,

DNA adducts and DNA strand breaks in cultured human lymphocytes, Carcinogenesis, 1995; 16: 2357-2362.
13. Ponomarkov, V., Cabral, J.R.P., Wahrendorf, J., and Galendo, D., A carcinogenicity study of styrene-7, 8-oxide in rats, Cancer Lett., 1984; 24: 95.
14. Lijinsky, W., Rat and mouse forestomach tumors induced by chronic oral administration of styrene oxide, J. Natl. Cancer Inst., 1986; 77: 471.
15. Galassi, C., Kogevinas, M., Ferro, G., and Biocca, M. Biological monitoring of styrene in the reinforced plastics industry in Emilia Romagna, Italy, Occup. Environ. Health, 1993; 65: 89-95.
16. Savolainen, H., and Vainio, H. Organ distribution and nervous system binding of styrene and styrene oxide, Toxicology, 1977; 8: 135-141.
17. Vergieva, T., and Zaikov, H. Behavioural changes in rats with inhalation of styrene effect, Hyg. Zdrav., 1981; 24: 242-247.
18. Kankaanpaa, J.T.J., Elovaara, E., Hemminki, K., Vainio, H. The effect of maternally inhaled styrene on embryonal and fetal development in mice and Chinese hamsters, Acta Pharmacol. Toxicol., 1980; 47: 127-129.
19. Sikov, M.R., Cannon, W.C., Carr, D.B., Miller, R.A., Niemeier, R.W., Hardin, B.D. Reproductive toxicology of inhaled styrene oxide in rats and rabbits, J. Appl. Toxicol., 1986; 6: 155-164.
20. Ragule N, The problem of embryotropic action of styrol, Gig Sanit., 1974; 11: 65-66.
21. Pagano, G., Esposito, A., Giordano, G.G. and Hagstrom, B.E. Embryotoxic and teratogenic effects of styrene derivatives on sea urchin development, Scan. J. work environ. & health, 1978; 4 (suppl. 2): 136-141.
22. Vainio, H., Hemminki, K. and Elovaara, E. Toxicity of Styrene and Styrene oxide on chick embryos, Toxicology, 1977; 8: 319-325.
23. Schardein, J.L. and Keller, K.A., Potential human developmental toxicants and the role of animal testing in their identification and characterization, CRC Crit. Rev. Toxicol., 1989; 9: 251-339.
24. Cooper, K.R. and H.Liu, Evaluation of baltic herring and icelandic cod liver oil for embryo toxicity, using the Japanese medaka (Oryzias latipes) embryo larval assay, Environmental Toxicology and Chemistry, 1991; 10: 707-714.
25. Schell, J.D., Cooper, K.O., Cooper, K.R, Hepatic microsomal Mixed-function oxidase activity in the Japanese Medaka (Oryzias latipes), Environ. Toxicol. Chem., 1987; 6: 717-721.
26. Guengerich, F.P., Kim, D.H., and Iwasaki, M., Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the Oxidation of many low molecular weight cancer suspects, Chem. Res. Toxicol., 1991; 4: 168-179.
27. Savolainen, H., and Vainio, H. Organ distribution and nervous system binding of styrene and styrene oxide, Toxicology, 1977; 8: 135-141.