

Estrés oxidativo en peces inducido por retardantes de flama bromados, una revisión

Oxidative stress in fish induced by brominated flame retardants, a review

Rosa M. González-Rivera¹✉, Jesús Javier Espinosa-Aguirre² y Hugo F. Olivares-Rubio^{2*}

Recibido: 14 de diciembre de 2020.

Aceptado: 12 de marzo de 2021.

Publicado: abril de 2021.

RESUMEN

Antecedentes. Los retardantes de flama son compuestos que se aplican como aditivos a diversos productos con el fin de reducir riesgos de incendios, entre los más usados se encuentran los retardantes de flama bromados (RFB) por su costo y eficiencia. Estos compuestos pueden alcanzar e impactar a los ambientes acuáticos; sin embargo, se carece de una revisión sobre el estrés oxidativo que ocasionan en los peces.

Objetivos. Proveer una revisión sobre la inducción de estrés oxidativo en peces ocasionado por retardantes de flama bromados y aportar nuevas líneas de investigación. **Métodos.** Se realizó una búsqueda en Google Académico y se consideraron treinta artículos de acuerdo a los criterios de inclusión. **Resultados.** Los retardantes de flama bromados son capaces de inducir especies reactivas del oxígeno, daños en las membranas celulares, proteínas y en el ADN, así como modificar la respuesta de biomarcadores relacionados con la defensa antioxidante. También se encontró en estudios *in vitro* que una posible causa de inducción de estrés oxidativo por estos compuestos ocurre a través de alteraciones en la actividad mitocondrial que causa incrementos en la producción de especies reactivas del oxígeno. **Conclusiones.** Es necesario incrementar estudios que consideren mezclas de RFB, particularmente, al tetrabromobisfenol A y a los nuevos retardantes de flama bromados debido a que su presencia en el ambiente es probable por la ausencia de restricciones normativas en su uso. Realizar estudios con especies de peces con reducida distribución geográfica por su alta susceptibilidad a contaminantes. Utilizar biomarcadores que involucren al daño oxidativo y a las defensas antioxidantes en un mismo estudio para obtener un panorama amplio de estos fenómenos y contribuir con otras investigaciones toxicológicas que colaboren al establecimiento de normas que controlen la liberación de estos contaminantes al ambiente.

Palabras clave: defensas antioxidantes, especies reactivas del oxígeno, estrés oxidativo, peces, retardantes de flama bromados.

¹ Departamento de Ingeniería en Sistemas Ambientales, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Avenida Wilfrido Massieu s/n, Unidad Profesional Zacatenco, Ciudad de México, 07738. México

² Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Mario de La Cueva s/n, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 70-228. México

***Corresponding author:**

Hugo F. Olivares-Rubio: e-mail: hugolivares@yahoo.com.mx

To quote as:

González-Rivera, R. M., J. J. Espinosa-Aguirre & H. F. Olivares-Rubio. 2021. Estrés oxidativo en peces inducido por retardantes de flama bromados, una revisión. *Hidrobiológica* 31 (1): 72-92.

DOI:10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2021v31n1/Gonzalez

ABSTRACT

Background. Flame retardants are compounds that are applied as additives to various products in order to reduce fire risks, among the most used are brominated flame retardants (BFR) due to their cost and efficiency. These compounds can reach and impact aquatic environments; however, a review of oxidative stress in fish is lacking. **Goals.** To provide a review on the induction of oxidative stress in fish induced by brominated flame retardants and to contribute new lines of research. **Methods.** A Google Scholar search was carried out and thirty articles were considered according to the inclusion criteria. **Results.** Brominated flame retardants are capable of inducing reactive oxygen species, damage to cell membranes, proteins and DNA, as well as modifying the response of biomarkers related to antioxidant defence. It was also found in *in vitro* studies that a possible cause of oxidative stress induction by these compounds occurs through alterations in mitochondrial activity that cause increases in the production of reactive oxygen species. **Conclusions.** It is necessary to increase studies that consider BFR mixtures, particularly tetrabromobisphenol A and the new brominated flame retardants because their presence in the environment is likely due to the absence of regulatory res-

trictions on their use. Carry out studies with fish species with reduced geographical distribution due to their high susceptibility to pollutants. Use biomarkers that involve oxidative damage and antioxidant defences to obtain a broad panorama of these phenomena in the same study and contribute to other toxicological investigations that collaborate in the establishment of standards that control the release of these pollutants into the environment.

Key words: antioxidant defences, reactive oxygen species, oxidative stress, fish, brominated flame retardants.

INTRODUCCIÓN

Los retardantes de flama (RF) son compuestos químicos que se aplican como aditivos a una gran cantidad de productos que pueden presentar combustión como textiles, electrónicos, plásticos, muebles, materiales de construcción, aislantes, papel y madera, entre otros, con el fin de reducir la inflamabilidad, retardar la ignición y favorecer la prevención de incendios (Brits *et al.*, 2016; Iqbal *et al.*, 2017; Pantelaki & Voutsas, 2019; Xiong *et al.*, 2019). Los RF se pueden clasificar en cuatro grupos principales: a) RF inorgánicos, b) RF nitrogenados, c) RF organofosforados y d) RF halogenados (Birnbau & Staskal, 2004; Segev *et al.*, 2009). Los RF halogenados presentan al Br y Cl en su estructura química, de éstos, los retardantes de flama bromados (RFB) son los que tienen la mayor oferta del mercado por su alta eficiencia y bajo costo, y están compuestos por cinco grupos: a) los éteres de difenilopolibromados (EDPB), b) los bifenilos polibromados (BFPB), c) los hexabromociclododecanos (HBCD), d) el tetrabromobisfenol A (TBBFA), y e) los nuevos retardantes de flama bromados (nRFB). Los cuatro primeros grupos presentan alta persistencia, toxicidad y se bioacumulan en especies modelo, en organismos silvestres y en el ser humano, con efectos que son bien conocidos, lo cual ha desencadenado su paulatina prohibición en Europa y los Estados Unidos de América; por esta razón, se han sintetizado y comercializado nuevos compuestos que conservan las propiedades de los principales grupos de RFB que muestran gran diversidad en su estructura química y fueron denominados como nRFB (De Wit, 2002; Watanabe & Sakai 2003; Xiong *et al.*, 2019). Xiong *et al.* (2019) han enlistado algunos de los nRFB, más relevantes como el decabromodifenil etano (DBDFE), el bis (2,4,6-tribromofenoxi) etano (BTBFE), el tetrabromobisfenol A bis (2,3-dibromopropil éter) (TBBFA-DBPE), 2-etilhexil-2,3,4,5-tetrabromobenzoato (TBB), bis- (2-etilhexil) tetrabromofthalato (TBFT), hexabromobenceno (HBB), 2,3,4,5,6-pentabromoetilobenceno (PBB), 2,3,4,5,6-pentabromotolueno (PBT) y 1,2-dibromo-4-(1,2-dibromoetil) ciclohexano (DBECH). Estos compuestos solo han sido vigilados en los Estados Unidos de América y de la Unión Europea por autoridades ambientales, mientras que en el resto del mundo se carece de un marco normativo para su monitoreo (Zuiderveen *et al.*, 2020). Las estructuras químicas de los principales grupos de RFB se pueden observar en la Figura 1.

Las principales fuentes de emisiones de los RFB al ambiente son las instalaciones que producen estos compuestos, los productos plásticos, los electrodomésticos y los polímeros retardadores de flama, también la industria del reciclaje, plantas de tratamiento de aguas residuales e incineradoras y en menor medida la volatilización y deposición atmosférica; su liberación al ambiente ha sido ampliamente documentada en diversos reportes en aire, suelo y agua, principalmente en Asia, Europa y América del Norte (Watanabe & Sakai, 2003; Covaci *et al.*, 2006;

Malkoste *et al.*, 2016; Iqbal *et al.*, 2017). Se han detectado RFB en ríos, lagos, aguas subterráneas y fuentes de agua potable; se ha encontrado que las plantas de tratamiento de aguas residuales pueden liberar EDPB, HBCD y TBBFA al ambiente a través de la descarga de sus efluentes a las aguas superficiales y la descarga de lodos activados (Covaci *et al.*, 2006; Malkoste *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2019; Xiong *et al.*, 2019). Concentraciones ambientales de EDPB en ríos y lagos se encuentran en el intervalo de 0.03 y 2,500 ng/L en Estados Unidos de América, Canadá y Japón; mientras que para los HBCD entre 0.00051 y 4,500 ng/L (Iqbal *et al.*, 2017). La presencia de diversos nRFB ha sido reportada en ríos, lagos y aguas marinas y a nivel mundial se encuentran en el intervalo de 0.23 a 32 pg/L y de 0.0016 a 9.43 ng/L; no obstante, dado que el uso de estos productos es diferenciado, las mayores concentraciones se encuentran asociadas a regiones urbanas (Xiong *et al.*, 2019). Debido a la alta hidrofobicidad de los RFB, tienden a estar asociados con material particulado y solo se disuelven en una fracción muy pequeña, esta disolución los hace biodisponibles para la biota en ambientes acuáticos, entre ellos los peces (Iqbal *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2019; Xiong *et al.*, 2019).

La bioacumulación en peces es uno de los efectos más comunes ocasionados por la exposición a RFB, la cual ha sido ampliamente documentada en diversas especies silvestres de estos organismos que habitan diferentes ambientes alrededor del mundo (Yang *et al.*, 2012; He *et al.*, 2013; Zeng *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2015; Iqbal *et al.*, 2017; Xiong *et al.*, 2019). Se ha observado que los EDPB provocan alteraciones en el eje hipotálamo-pituitario, en el transporte, metabolismo y señalización de hormonas esteroides y tiroideas, pudiendo afectar el desarrollo gonadal, la fertilidad y el éxito de la eclosión de huevos, la eclosión de huevos, factores que pueden aumentar el riesgo de una disminución en el tamaño de las poblaciones de peces silvestres (Noyes & Stapleton, 2014; Yu *et al.*, 2015). También se ha determinado que los EDPB causan deficiencias cognitivas y neuronales, arritmias cardíacas y pérdida de las habilidades locomotoras en los diferentes estadios de desarrollo del pez cebra (Lema *et al.*, 2007; Chou *et al.*, 2010; Truong *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2014; Macaulay *et al.*, 2015). Existen algunos estudios con resultados contrastantes sobre la función del citocromo P450 en la biotransformación de estos compuestos en los tejidos de los peces que no han permitido ser concluyentes sobre este tema (Tomy *et al.*, 2004; Benedict *et al.*, 2007; Browne *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2012; Du *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015; Dong *et al.*, 2018).

Producto de la respiración y la generación de energía, así como a la exposición a agentes estresantes que pueden ser físicos, químicos o biológicos, las especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus iniciales en inglés), como el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) incrementan sus concentraciones en las células y, por lo tanto, el riesgo toxicológico que representan por ser especies químicas altamente reactivas también se ve aumentado. Para poder hacer frente a esta condición oxidante celular, las mismas células poseen defensas antioxidantes de bajo peso molecular, las cuales incluyen a las vitaminas, carotenoides y al glutatión (GSH), que es capaz de reducir diversos compuestos con características electrofílicas; y por otro lado, a las defensas antioxidantes de alto peso molecular como la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1) que reduce $O_2^{\bullet -}$ a H_2O_2 , catalasa (CAT; EC 1.11.1.6) y glutatión peroxidasa (GPx; EC 1.11.1.9) que reducen H_2O_2 a agua, glutatión S-transferasa (GST; EC 2.5.1.18) que participa en la conjugación de metabolitos oxidantes de xenobióticos y glutatión reductasa (GR; EC 1.6.4.2) que proporcionan glutatión reducido para

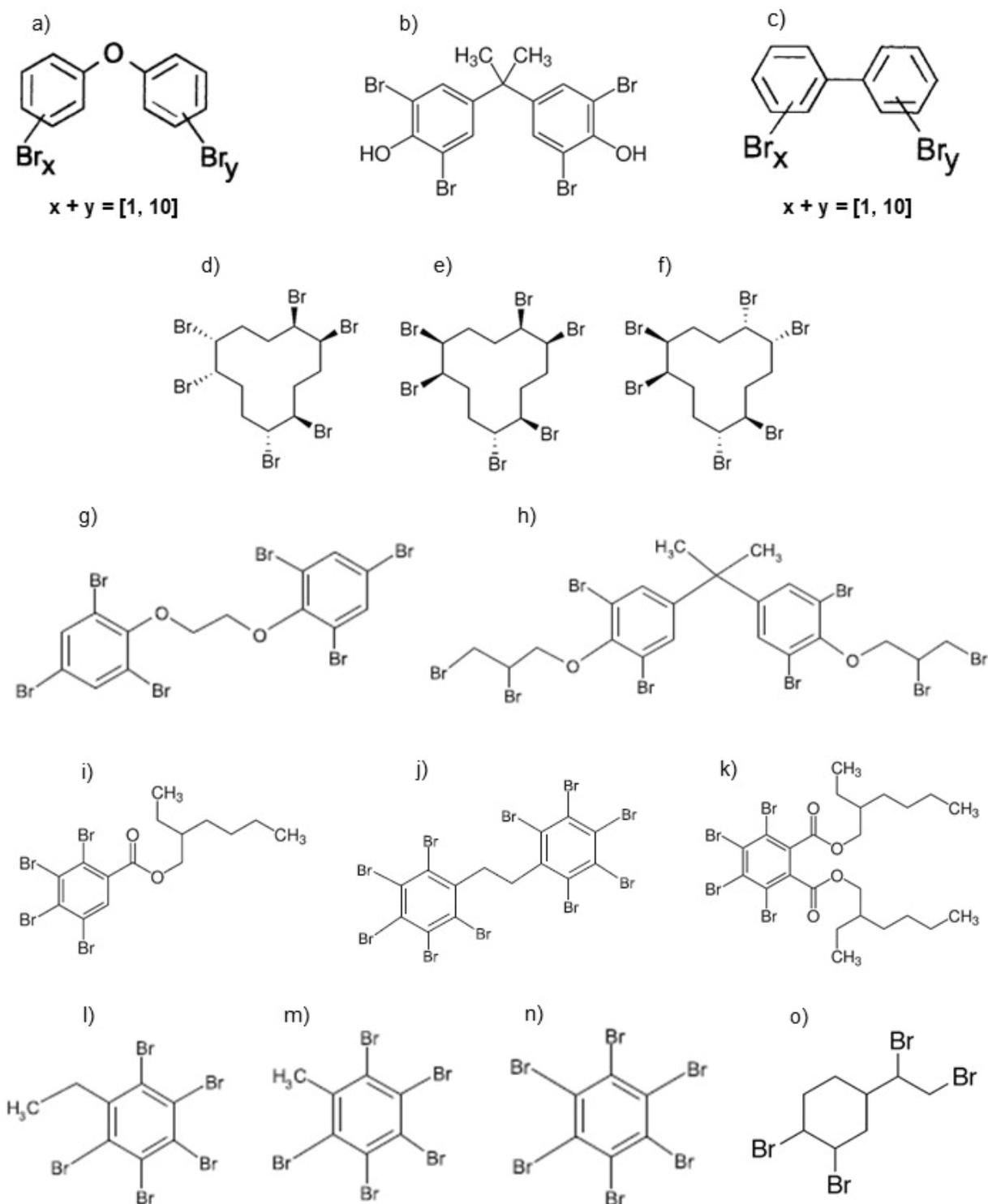


Figura 1. Estructura química de los principales grupos de BFR y algunos de los nBFR más relevantes. a) EDPB, b) TBBFA, c) BFPB, d) α -HBCD, e) β -HBCD, f) γ -HBCD, g) DBDFE, h) TBBFA-DBPE, i) TBB, j) BTBFE, k) TBFT, l) PBE, m) PBT, n) HBB y o) DBECH. Los incisos, a) y c), fueron adaptados de DeWit, 2002 y los valores de "x" e "y" podrían ser de 0 a 5.

las actividades de GPx y GST. En consecuencia, el estrés oxidativo es una condición que se caracteriza por una elevada y sostenida concentración de ROS, las cuales, al no ser contrarrestada eficientemente por la defensa antioxidante, causan daños en los componentes celulares como las membranas, las proteínas y el ADN (Winston & Di Giulio, 1991; Livingstone, 2003; Slaninova *et al.*, 2009; Sevcikova *et al.*, 2011; Lushchak, 2011). En peces, particularmente en estudios *in vitro*, se ha encontrado que un posible mecanismo de inducción de ROS por exposición a RFB ocurre a través de alteraciones en la función mitocondrial que también favorece la producción de ROS y la activación de defensas antioxidantes (Shao *et al.*, 2008; Linhartova *et al.*, 2015; Espinosa-Ruiz *et al.*, 2019a; Zhou *et al.*, 2019). Los biomarcadores que mayormente han sido empleados para evaluar el estrés oxidativo en peces ocasionado por la exposición a RFB son la medición de ROS, los daños en las membranas celulares, la oxidación de proteínas y alteraciones en el ADN y respecto a la defensa antioxidante, se han evaluado la actividad y la expresión de genes de SOD, CAT, GPx, GR y GST.

El objetivo de esta revisión es proporcionar un estado actual del conocimiento del estrés oxidativo inducido por RFB en condiciones controladas en peces, y brindar nuevas propuestas para la investigación en este tema.

MATERIALES Y MÉTODOS

La búsqueda de artículos sobre este tema se realizó empleando el buscador Google Académico, entre marzo y abril del 2020, utilizando el criterio de búsqueda "polybrominated flame retardant oxidative stress fish", el cual incluye la evaluación de biomarcadores tanto de defensa antioxidante como de daño oxidante en tejidos de peces que fueron expuestos o dosificados a RFB bajo condiciones de laboratorio, incluyendo estudios *in vivo* e *in vitro*. Como resultado, el buscador reportó 7200 resultados, de los cuales solamente se revisaron los 200 primeros, ya que posterior a este número de resultados se encontraron artículos que solo incluían una o dos palabras de los criterios de búsqueda y no cumplieron con los criterios de inclusión de la misma. Dado los diversos estudios que se centraron sobre el estrés oxidativo inducido por RFB en peces bajo condiciones controladas, decidimos presentar estos estudios dividiéndolos en dos apartados en la sección de Resultados y Discusión: a) estudios *in vivo*, que incluyen la exposición en el agua (trece artículos revisados), administración intraperitoneal (seis artículos revisados) y exposición a través de la dieta (cuatro artículos revisados) y, b) estudios *in vitro* (siete artículos revisados). Cada apartado presentará una discusión sobre los efectos principales reportados en cada uno de éstos y también se justificarán las propuestas de investigación sobre este tema.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios *in vivo*

Exposición en el agua

Respecto a los estudios que han reportado el estrés oxidativo y la defensa antioxidante en peces expuestos a RFB en el agua, se ha encontrado que el TBBFA es el más estudiado, seguido de los HBCD, EDPB y en menor cantidad, los nRFB. Primeramente, se presentarán los estudios que reportan los efectos del TBBFA. En embriones del pez cebra, *Danio rerio*, Hamilton 1822, a las 2 horas post fertilización que fueron tratados

con TBBFA a 0.25, 0.75 y 1.5 mg/L por 96 horas se observó que la actividad de SOD y el daño en membranas celulares se incrementó de manera proporcional con la concentración de los tratamientos (Hu *et al.*, 2009). En otro estudio similar, que evaluó la actividad enzimática de SOD, CAT y GPx se mostraron reducciones en embriones de pez cebra a los 3, 5 y 8 días post fertilización debido a los tratamientos con 0.4, 0.7 y 1 mg/L de TBBFA, observándose una tendencia similar respecto a la expresión de los genes *sod*, *cat* y *gpx1a* (Wu *et al.*, 2016). A pesar de que se ha documentado activación de las defensas antioxidantes por efecto del TBBFA, también se ha observado estrés oxidativo. Se encontró que el TBBFA a 5.09 mg/L es capaz de inducir daños en las membranas de células sanguíneas del pez cabeza de serpiente moteada, *Channa punctata*, Bloch 1793, de manera dependientes del tiempo (cada 24 horas hasta las 96 horas); mientras que el daño en el ADN fue mayor a las 24 y 48 horas (Sharma *et al.*, 2019).

Con respecto al sistema antioxidante del glutatión, en el pez dorado, *Carassius auratus*, Linnaeus 1758, expuesto a 0.5 y 2 mg/L de TBBFA por 2, 4, 8, 16, 32 y 64 días, se observó que la actividad de la GST fue, en todos los casos, mayor en el hígado respecto al suero sanguíneo, en ambos tejidos se observó que la mayor inducción fue en los peces tratados a 2 mg/L con respecto a los tratados a 0.5 mg/L de TBBFA y respecto al tiempo de exposición, las mayores actividades de GST se observaron a los 8 y 16 días en ambos tejidos. También se registró que la actividad de esta enzima fue aparentemente proporcional a las concentraciones de TBBFA (0.5, 1, 1.5 y 2 mg/L) por 32 y 64 días. Estos mismos autores encontraron que la actividad de GR también fue mayor en el hígado respecto al suero sanguíneo en todos los casos a 0.5 y 2 mg/L de TBBFA por 2, 4 y 8 días. Sin embargo, a los 16, 32 y 64 días de exposición se observaron disminuciones con respecto a cada grupo control. Estos hallazgos fueron confirmados en otro experimento donde especímenes de esta especie fueron expuesto con TBBFA a 0.5, 1, 1.5 y 2 mg/L por 32 y 64 días y se observó un decremento en la actividad de GR (Yang *et al.*, 2013). En otro estudio, la exposición de *D. rerio* por 120 horas post fertilización a TBBFA a concentraciones de 0.625 y 1.25 mg/L ocasionaron incrementos en la actividad de GST (Usenko *et al.*, 2016).

Se reportó una sobre expresión del gen *hsp70* (gen que codifica para una proteína de choque término de 70 kDa, HSP70, cuya expresión se relaciona con situaciones de estrés térmico y oxidativo) en el hígado de ejemplares machos adultos del pez cebra expuestos a 0.75 μ M de TBBFA. En las hembras tratadas con TBBFA a 0.75 μ M se sobre expresó el gen *gst*, también es posible que la formación de radicales libres haya ocurrido a través de la actividad de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa, dado que observaron sobre expresiones en otros genes que están relacionados con su activación (De Wit *et al.*, 2008). En *D. rerio* a las 2 horas post fertilización expuesto a TBBFA en el intervalo de concentraciones de 0.002 a 0.25 mg/L se encontró que los niveles de HSP70 mostraron una respuesta proporcional a la concentración de los tratamientos (Hu *et al.*, 2009).

A continuación, se presentan los efectos de los HBCD. Tanto la inducción de ROS como el daño en las proteínas fueron mayores después de la exposición a 100 y 500 μ g/L de los HBCD por 28 días y debido a 10, 100 y 500 μ g/L de los HBCD por 42 días en el cerebro de peces adultos de *Gobiocypris rarus*, Ye & Fu 1983, mientras que el daño en las membranas celulares solo fue mayor en los peces tratados a 100 y 500 μ g/L de los HBCD por 42 días. El daño en el ADN de los eritrocitos se

observó en los especímenes expuestos a 100 y 500 µg/L de los HBCD por 42 días, además, se encontró que las ROS estuvieron correlacionados con los biomarcadores de daño evaluados a los 42 días por un análisis de correlación lineal (Zhang *et al.*, 2008). En otra investigación se determinó que el contenido de ROS fue mayor en los embriones de pez cebra a las 4 horas después de la fertilización tratados con los HBCD a 0.1, 0.5, y 1 mg/L por 96 horas; estos incrementos en los niveles de ROS estuvieron relacionados con procesos de apoptosis, así como una reducción en la expresión de proteínas relacionadas con procesos anti apoptóticos (Deng *et al.*, 2009). En embriones del medaka marino, *Oryzias melastigma*, McClelland 1839, que fueron expuestos a una mezcla técnica de los HBCD a 5, 20 y 50 µg/L por 6 días, se encontraron daños en el ADN proporcionales a las concentraciones de prueba (Hong *et al.*, 2014).

Respecto a la defensa antioxidante, en el cerebro *G. rarus* se observó una disminución en la actividad de SOD en los peces expuestos a 500 µg/L de los HBCD por 28 días y a 10, 100 y 500 µg/L de los HBCD por 42 días; se observó una tendencia similar con el contenido de GSH a las mismas concentraciones de los HBCD y adicionalmente a 100 µg/L de los HBCD por 28 días y 1 µg/L de los HBCD por 42 días (Zhang *et al.*, 2008). En *D. rerio* a las 2 horas post fertilización expuesto a HBCD por 96 horas se halló que los daños en las membranas celulares fueron proporcionales a las concentraciones de los HBCD; sin embargo, la actividad de SOD fue inversamente proporcional con los tratamientos de 0.5 mg/L a 10 mg/L (Hu *et al.*, 2009).

La actividad de GST se incrementó por efecto de los HBCD a una concentración de 5 mg/L en *D. rerio* por 120 horas post fertilización (Usenko *et al.*, 2016). De manera general, se encontró que las actividades enzimáticas de SOD, CAT, GPx y GST en el hígado del carpin, *Carassius carassius*, Linnaeus 1758, fueron mayores en los peces expuestos a 20 µg/L con respecto a los tratados con 2 y 200 µg/L de los HBCD durante 7 días. El mayor incremento en la actividad de SOD respecto al control se observó al primer día de experimentación, para la actividad de CAT se reportó a los 7 días, mientras que para la actividad de GPx se detectó a los 4 días y para la GST a los 2 días de experimentación. Se identificó una tendencia similar para el daño en las membranas celulares, los mayores efectos se encontraron a los dos días de experimentación a la concentración de 20 µg/L de los HBCD y fueron similares a los 4 y 7 días de experimentación entre los tratamientos de 20 y 200 µg/L de los HBCD (Dong *et al.*, 2018). Respecto a las proteínas de HSP70 se reportó inducción dependiente de la concentración en el intervalo de 0.5-10 mg/L en *D. rerio* a las 2 horas post fertilización expuesto por 96 horas (Hu *et al.*, 2009).

Solamente dos estudios han reportado efectos en los biomarcadores de estrés oxidativo y la defensa antioxidante en peces expuestos al EDPB y dos más para los nRFB. En ejemplares juveniles de bacalao del Atlántico, *Gadus morhua*, Linnaeus 1758, después de tres semanas de exposición a 5 ng/L de 2, 2', 4, 4'-tetrabromodifenil éter (BDE-47), no se observó efecto en la expresión del gen que codifica para la GST isofor-ma π (*gstn*) en el hígado (Olsvik *et al.*, 2009). El 2, 4, 4'-tribromodifenil éter (BDE-28) a 10 ppm indujo la actividad de GST en el pez cebra a las 120 horas post fertilización, este efecto no fue observado para el BDE-47, 2, 2', 4, 4', 5-pentabromodifenil éter (BDE-99) ni para el 2, 2', 4, 4', 6-pentabromodifenil éter (BDE-100) a la misma concentración (Usenko *et al.*, 2015).

Respecto a los nRFB, se reportó que 2.5 mg/L de 1, 2, 3, 4, 5-pentabromo-6-clorociclohexano (PBCH) por 120 horas post fertilización en *D. rerio* ocasionó incrementos en la actividad de GST (Usenko *et al.*, 2016). La actividad de SOD estuvo incrementada en embriones de *D. rerio* expuestos a 1 y 10 µM de DBECH a 3 horas post fertilización hasta los 6 días. Tanto la actividad de CAT como la expresión del gen *cat* fueron incrementadas y al parecer de manera dependiente de las concentraciones de los tratamientos. Fenómenos similares se encontraron en la expresión del gen *gpx1* pero solamente a 0.1 y 10 µM. La concentración de GSH mostró una disminución a 1 y 10 µM dependiente de las concentraciones de prueba; mientras que el daño en membranas celulares estuvo inducido por DBECH a 0.1, 1 y 10 µM; así mismo, la inducción de genes relacionados con la apoptosis estuvo sobre expresada (Wang *et al.*, 2019). La tabla 1 presenta los estudios que reportan estrés oxidativo en peces expuestos a RFB en el agua en orden cronológico.

En la mayoría de los estudios revisados para este artículo, la vía de exposición de los RFB fue en el agua. No obstante, los RFB presentan alta hidrofobicidad lo que es un factor limitante en este tipo de diseño experimental haciendo imposible disolverlos a concentraciones mayores a la máxima solubilidad en agua. En el ambiente, los RFB tienden a encontrarse asociados a la materia particulada y solo una fracción muy pequeña se encuentra disuelta, como previamente se ha mencionado en las revisiones de Iqbal *et al.* (2017) y Xiong *et al.* (2019). Los embriones y larvas de *Danio rerio* han sido expuestos a TBBFA disuelto en el agua en un intervalo de 0.002 a 5.43 mg/L y ejemplares adultos de 0.4 a 0.8 mg/L. Se ha reportado que este RFB es capaz de incrementar los daños en membranas celulares, la actividad de SOD y el contenido de la proteína HSP70 por 96 horas (Hu *et al.*, 2009). No obstante, por tiempos más prolongados de exposiciones hasta 5 y 8 días post fertilización, provocan disminuciones en la actividad y en la expresión de genes de SOD, CAT y GPx (Wu *et al.*, 2016). Estos hallazgos denotan que existe un valor umbral en la respuesta antioxidante; en adición, las diferencias entre las actividades enzimáticas y la expresión de genes se debe a que los mecanismos de activación de genes ocurren en mucho menor tiempo en comparación la actividad enzimática la cual, en algunas ocasiones implica modificaciones postranscripcionales como han mencionado Wu *et al.*, (2016). Por otra parte, tanto en adultos como en larvas de *Danio rerio* en exposiciones prolongadas de 7 y 14 días, el TBBFA incrementa la actividad y expresión del gen *gst* (De Wit *et al.*, 2008; Usenko *et al.*, 2016), denotando procesos de conjugación por este compuesto, un hecho similar se observó en bioensayos con el pez *Carassius auratus* tratado a 0.5 y 2 mg/L hasta por 64 días, a pesar que la actividad de GR sufrió modulación y reducciones, que fueron observadas a las 18, 32 y 64 días en hígado y suero (Yang *et al.*, 2013). La mayor concentración de TBBFA se probó sobre ejemplares adultos de *Channa punctata* y fue 5.09 mg/L por 96 horas que ocasionaron daños en el ADN de la sangre (Sharma *et al.*, 2019).

Hu *et al.* (2009) emplearon el intervalo de concentraciones más amplio para los tratamientos en el agua de HBCD que fueron de 0.002 a 10 mg/L, el resto de estudios en este aspecto estudiaron las respuestas de estrés oxidativo en peces dentro de este intervalo tanto para embriones, larvas y peces adultos (Zhang *et al.*, 2008; Deng *et al.*, 2009; Hong *et al.*, 2014; Usenko *et al.*, 2016; Dong *et al.*, 2018). Se ha encontrado que los HBCD son capaces de incrementar las ROS, dañar proteínas, membranas celulares y al ADN, así como disminuir la actividad de la SOD en embriones y larvas de *Danio rerio* y *Oryzias*

melastigma y en ejemplares adultos de *Gobiocypris rarus* por exposiciones que van desde los 2 hasta los 42 días (Zhang *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2009; Deng *et al.*, 2009; Hong *et al.*, 2014; Usenko *et al.*, 2016). De manera interesante los HBCD, causaron incrementos en el metabolismo de la GST en embriones y larvas de *Danio rerio* (en concentración de 5 mg/L) y en ejemplares juveniles de *Carassius carassius* expuestos a 0.002, 0.02 y 0.2 mg/L por 7 días (Usenko *et al.*, 2016; Dong *et al.*, 2018). A pesar de que está documentado que los HBCD causan daños en las membranas celulares, proteínas y el ADN, así como abatimientos

en la actividad de SOD, Dong *et al.* (2018) reportaron incrementos en la actividad de SOD, CAT y GPx en hígado de ejemplares juveniles de *C. carassius* expuesto a 0.002, 0.02 y 0.2 mg/L por 7 días. Las diferencias entre estos estudios pueden deberse al estadio de los especímenes, donde la activación de estas defensas antioxidantes ocurre en juveniles mientras que el abatimiento se notó en embriones y larvas de *D. rerio* (Hu *et al.*, 2009). No obstante, en adultos de *Gobiocypris rarus* también se observaron reducciones en la actividad de SOD, por lo que estas diferencias pueden deberse al tiempo, ya que en el modelo experimental

Tabla 1. Estudios que reportan el estrés oxidativo en peces expuestos a retardantes de flama polibromados en el agua en condiciones de laboratorio.

Especie de pez y estadio	RFB	Concentraciones; tiempo(s)	Respuesta general	Referencia
<i>Danio rerio</i> (Hamilton, 1822), adultos	TBBFA	0.75 y 1.5 µM; 14 d	↑ expresión del gene <i>hsp70</i> (♂ a 1.5 µM) y <i>gst</i> (♀ a 0.75 µM) en hígado	De Wit <i>et al.</i> , 2008
<i>Gobiocypris rarus</i> (Ye & Fu, 1983), adultos	HBCD	1, 10, 100 y 500 µg/L; 14, 28 y 42 d	↑ ROS, daños en proteínas, daños en membrana celular (cerebro) y ADN (eritrocitos); ↓ actividad de SOD y GSH en el cerebro	Zhang <i>et al.</i> , 2008
<i>D. rerio</i> (Hamilton, 1822), 2 hpf	TBBFA	0.002, 0.01, 0.05, 0.25, 0.75 y 1.5 mg/L; 96 h después de exposición	↑ daños en membrana celular, actividad de SOD y HSP70 en organismo completo	Hu <i>et al.</i> , 2009
	HBCD	0.002, 0.01, 0.5, 2.5 y 10 mg/L; 96 h después de exposición	↑ daños en membrana celular, HSP70 y ↓ actividad de SOD en organismo completo.	
<i>Gadus morhua</i> (Linnaeus, 1758), juveniles	BDE-47	5 ng/L; 3 semanas	Sin cambios en expresión de gen <i>gstn</i> en el hígado	Olsvik <i>et al.</i> , 2009
<i>D. rerio</i> (Hamilton, 1822), embriones 4 hpf	HBCD	0, 0.05, 0.1, 0.5, y 1 mg/L; 96 h después de exposición	↑ ROS y procesos apoptóticos en organismo completo	Deng <i>et al.</i> , 2009
<i>Carassius auratus</i> (Linnaeus, 1758)	TBBFA	0.5 y 2 mg/L; 2, 4, 8, 16, 32 y 64 d	Suero: ↑ actividad de GST (2-64 d); ↓ actividad de GR (32-64 d) Hígado: ↑ actividad de GST (2-64 d); ↓ GR actividad (16-64 d)	Yang <i>et al.</i> , 2013b
<i>Oryzias melastigma</i> (McClelland, 1839), 1 y 4 dpf	HBCD	5, 20 y 50 µg/L; hasta 6 dpf	↑ daños en el ADN en organismo completo	Hong <i>et al.</i> , 2014
<i>D. rerio</i> (Hamilton, 1822), 6 hpf	BDE - 28, -47, -99 y -100.	10 ppm; hasta 24 y 120 hpf	↑ actividad de GST en organismo completo solo por BDE-28	Usenko <i>et al.</i> , 2015
<i>D. rerio</i> (Hamilton, 1822), 6 hpf	HBB	10 ppm; hasta 168 hpf	↑ actividad de GST en organismo completo	Usenko <i>et al.</i> , 2016
	HBCD	2.5 y 5 ppm; hasta 168 hpf		
	PBCH	2.5 ppm; hasta 168 hpf		
<i>D. rerio</i> (Hamilton, 1822), 2 hpf	TBBFA	0.625 y 1.25 ppm; hasta 168 hpf		
	TBBFA	0.1, 0.4, 0.7 y 1 mg/L; hasta los 1, 3, 5 y 8 dpf	↓ actividad y expresión de SOD, CAT y GPx en organismo completo	Wu <i>et al.</i> , 2016
	HBCD	2, 20 y 200 µg/L; 2, 4 y 7 d	↑ actividades de SOD, CAT, GPx y GST; ↑ daños en membrana celular en el hígado	Dong <i>et al.</i> , 2018
<i>Channa punctata</i> (Bloch, 1793), adultos	TBBFA	5.09 mg/L; 24, 48, 72 y 96 h	↑ Daños en ADN de la sangre	Sharma <i>et al.</i> , 2019
<i>D. rerio</i> (Hamilton, 1822), 3 hpf	DBECH	0.01, 0.1, 1 y 10 µM; hasta los 6 dpf	↑ actividad y expresión de genes SOD y CAT, daños en membrana celulares y apoptosis en organismo completo; ↓ GSH y expresión de gen <i>gpx1</i>	Wang <i>et al.</i> , 2019

hpf, horas post fertilización; dpf, días post fertilización; h, horas; d, días; ↑ inducción o contenido significativo respecto al control; ↓ inhibición o contenido significativo respecto al control. En negritas se muestran los tratamientos que causaron los efectos observados en la columna de respuesta general.

de *G. rarus* se consideraron tiempos más prolongados (14, 28 y 42 días) con respecto al estudio de Dong *et al.* (2018). Con relación a los EDPB solo hubo dos estudios, en peces expuestos en el agua a estos RFB, en *G. morhua*, 5 ng/L de BDE-47 por 3 semanas no causaron cambios en la expresión hepática del gen *gstn* (Olsvik *et al.*, 2009), mientras que el BDE-28 a 10,000 ng/L incrementó la actividad de GST en embriones-larvas del pez cebra a 120 horas post fertilización (Usenko *et al.*, 2015). Estas diferencias pueden explicarse a la discrepancia entre las concentraciones y a los tiempos de prueba.

Administración intraperitoneal

Aunque la vía de exposición de peces a contaminantes en el ambiente no ocurre por vía intraperitoneal, esta vía de exposición ofrece la posibilidad de reportar efectos con base en el peso del organismo, facilita la extrapolación con mamíferos terrestres y permite realizar pruebas toxicológicas con compuestos que presentan una reducida solubilidad en el agua como el caso de los RFB (Ardeshir *et al.*, 2017). De manera similar con la sección anterior, inicialmente, se abordarán los estudios realizados con el TBBFA, los HBCD, los EDPB y posteriormente los estudios que emplearon los nRFB. En la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792, dosificada con TBBFA a 1, 10, 50 y 100 mg/kg por 4 días se encontró que la actividad hepática de GR fue proporcional con las dosis. Las truchas fueron dosificadas con 100 mg/kg por 1, 4, 14 y 28 días y se encontró que la actividad de GR mostró una disminución a un día de administrada la dosis, mientras a los 4, 14 y 28 días la actividad de esta enzima fue mayor. La actividad de GST, GR y CAT fue similar en el hígado de ejemplares de la trucha arcoiris dosificada a TBBFA a 50 mg/kg por 4 días, y la actividad de CAT fue mayor en las truchas dosificadas con los HBCD a 50 y >500 mg/kg después de 4 días de tratamiento (Ronisz *et al.*, 2004). Una administración intraperitoneal de TBBFA a 100 mg/kg en *Carassius auratus* provocó incrementos en la producción de ROS en el hígado a las 12 horas, 1, 3, 5, 7 y 14 días. En una prueba con peces de esta misma especie a los que se le aplicaron dosis de TBBFA de 10, 50, 100, 200 y 300 mg/kg por 24 horas, se observó que la producción de ROS en el hígado y en la vesícula biliar fue mayor que el control y proporcional con las dosis de 100 a 300 mg/kg. La oxidación de proteínas en el hígado fue mayor a los 1, 3, 5, 7 y 14 días después de una administración de TBBFA a 100 mg/kg; para el caso del daño en las membranas celulares, se observaron efectos notables a los 3, 5 y 7 días. Además, se encontraron reducciones en los niveles de ROS, daño en las proteínas y en las membranas después de 28 días de exposición (Shi *et al.*, 2005).

En bioensayos donde se probaron concentraciones de 10, 50 y 100 mg/kg por 7, 14 y 30, las dosis individuales de 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6'-decabromodifenil éter (BDE-209) y DBDFE a los 7 y 14 días posteriores a la dosificación, no causaron incrementos en la actividad de SOD en el hígado de *C. auratus*; sin embargo, la mezcla (1:1) provocó reducciones en la actividad de esta enzima, y en la actividad de CAT en la mayoría de los casos. En general, la actividad de GR y las concentraciones de GSH en el hígado de los peces tratados fue similar o menor al control. La mezcla de BDE-209 y DBDFE (1:1) a las mismas dosis de prueba, 10, 50 y 100 mg/kg, causó una disminución dependiente de la dosis en la actividad de GPx a los 4 y 7 días; la actividad de la GST se redujo a los 14 y 30 días debido a los tres tratamientos y solo la mezcla de los RFB indujo esta respuesta a los 7 días. El daño en membranas celulares fue proporcional con la concentración de las dosis con la mezcla de RFB a los 14 y 30 días y por el DBDFE a los 30

días; en general, la mayor evidencia de estrés oxidativo se observó a los 30 días (Feng *et al.*, 2013a). En otro trabajo se encontró que la actividad hepática de GST estuvo significativamente incrementada por tres mezclas: BDE-209/BDE-47 y BDE-209/BDE-99 y BDE-209/BDE-47/BDE-99 en proporciones 1:1 y 1:1:1, con dosis de 0.2, 1 y 5 mg/kg por 4 días en *C. auratus*. En contraste, la actividad de CAT sufrió reducciones a las concentraciones de 1 y 5 mg/kg de las tres mezclas (Xie *et al.*, 2014). La administración de BDE-209, TBBFA, HBCD, DBDFE, HBB y PBT a 10 y 100 mg/kg de manera individual por 7, 14 y 30 días provocaron reducciones en la actividad de SOD, CAT, GPx y en los niveles de GSH en el hígado de *C. auratus* a los 30 días, siendo que los mayores efectos observados fueron ocasionados por el HBB y PBT. Así mismo se detectaron daños en las membranas celulares del hígado al mayor periodo de tratamiento (30 días), en varios de los casos, dichos incrementos fueron dependientes del tiempo. La integración de los biomarcadores determinó el efecto de los RFB encontrando la siguiente tendencia: PBT > HBB > HBCD > TBBFA > BDE-209 > DBDFE; sugiriendo que el PTB es el RFB de mayor toxicidad (Feng *et al.* 2013b).

En *C. auratus* dosificado con HBB a 10, 150 y 300 mg/kg por 7, 14 y 25 días se encontró que la actividad de SOD, CAT, GPx, GR y GST fue mayor en el hígado respecto a la branquia. La actividad de la SOD hepática mostró una inhibición relacionada con las dosis a los 25 días de tratamiento mientras que la SOD de la branquia mostró esta tendencia a los 14 días después de la dosis. La CAT del hígado mostró una tendencia irregular respecto al tiempo y dosis, la actividad de esta enzima en la branquia fue inhibida a los 14 y 25 días de manera dependiente de la dosis (Feng *et al.*, 2014). Las actividades de GPx y GR hepáticas y de la branquia fueron inhibidas de manera dependiente a la dosis y del tiempo de tratamiento. Las branquias fueron más susceptibles a la inhibición de la actividad de la GST debida al HBB y las menores actividades de esta enzima se registraron a los 14 y 25 días de experimentación en 300 mg/kg de HBB; en el hígado, solo hasta los 25 días se observó una disminución proporcional con las dosis. En las branquias el daño a las membranas celulares fue mayor respecto al observado en el hígado. La respuesta integrada de los biomarcadores en el hígado y en las branquias de los peces dosificados con 300 mg/kg de HBB por 25 días de tratamiento fueron mayores respecto a los otros tratamientos (Feng *et al.*, 2014). En la tabla 2, se muestra un resumen de los resultados de estudios que reportan estrés oxidativo en peces dosificados por vía intraperitoneal con RFB en orden cronológico.

En peces se encontró que entre 100 y 300 mg/kg de RFB son capaces de producir estrés oxidativo, mientras que estos efectos pueden observarse en roedores en dosis que van desde 0.6 hasta 500 mg/kg de RFB en ratas y ratones (Albina *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2015; Milovanovic *et al.*, 2018). Dentro de los estudios que reportaron el efecto de los RFB en el estrés oxidativo por vía intraperitoneal, solamente tres de ellos documentaron las secuelas del TBBFA en dos especies de peces, *O. mykiss* y *C. auratus*. En *O. mykiss* se encontró que 1, 10, 50 y 100 mg/kg de TBBFA por 4 días causaron modulación en la actividad hepática de GR (Ronisz *et al.*, 2004); mientras que en *C. auratus* se probó un amplio espectro de dosis (100-300 mg/kg de TBBFA) y tiempo (0.5-30 días), se encontró inducción de ROS, daños en membranas celulares y proteínas en hígado, así como abatimientos en la actividad de SOD, CAT y GPx (Shi *et al.*, 2005; Feng *et al.*, 2013b). Respecto a los estudios con los HBCD, Ronisz *et al.* (2004) reportaron que son capaces de estimular la actividad del hígado de CAT a 50 y 500 mg/kg de HBCD por 4 días y Feng *et al.* (2013b), reducciones en la actividad

de SOD, CAT, GPx y niveles de GSH e incrementos en los daños de las membranas celulares en el hígado por 10 y 100 mg HBCD/kg por 7, 14 y 30 días. Estas diferencias, pueden deberse a la alta dosis que emplearon Ronisz *et al.* (2004) comparadas con las dosis empleadas por Feng *et al.* (2013b). Los estudios por tratamiento intraperitoneal de los EDPB mostraron evidencias de estrés oxidativo en el hígado de *C. auratus* debido a abatimientos en la actividad de SOD, CAT y GPx y aumentos en los daños de membranas celulares (Feng *et al.*, 2013a; Xie *et al.*, 2014). La excepción en esta tendencia, estuvo representada por los aumentos en la actividad de GST debida a mezclas binarias y ternarias de tres congéneres de EDPB (-47, -99 y -209) a 0.04, 0.2, 1 y 5 mg/kg por 4 días (Xie *et al.*, 2014); probablemente, esta diferencia

pueda deberse a la dosis y al tiempo, ya que el estímulo en la actividad de GST estuvo relacionado a dosis y tiempo menores que en el reporte de Feng *et al.* (2013a). Feng *et al.* (2013b) emplearon la respuesta integrada de biomarcadores para una misma especie de pez, dosis y tiempo y dos nRFB, el PBT y el HBB, fueron más tóxicos que los HBCD, el TBBFA y un EDPB.

Administración a través del alimento

Los experimentos toxicológicos que se realizan a través de la dieta son relevantes porque en el ambiente muchas especies de peces se alimentan en el fondo, el cual es un reservorio importante para varios contaminantes como los orgánicos persistentes entre los que se

Tabla 2. Estudios que reportan el estrés oxidativo en peces tratados por vía intraperitoneal a retardantes de flama polibromados en condiciones de laboratorio.

Especie de pez	RFB	Dosis y tiempo(s)	Respuesta general	Referencia
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792)	TBBFA	1, 10, 50 y 100 mg/kg; 4 d.	↑ actividad de GR en el hígado	Ronisz <i>et al.</i> , 2004
		100 mg/kg; 1, 4, 14 y 28 d	↓ actividad de GR a 1 d; ↑ actividad de GR a 4, 14 y 28 d en el hígado	
<i>Carassius auratus</i> (Linnaeus, 1758)	HBCD	50 y >500 mg/kg; 5 d	↑ actividad de CAT en el hígado	Shi <i>et al.</i> , 2005
	TBBFA	100 mg/kg; 3, 6 y 12 h, 1, 3, 5, 7, 14 y 28 d	↑ niveles de ROS en hígado	
		100 mg/kg; 3, 6 y 12 h, 1, 3, 5, 7, 14 y 28 d	↑ daños en proteína y membranas celulares en hígado	
<i>C. auratus</i> (Linnaeus, 1758)	BDE-209	10, 50, 100, 200 y 300 mg/kg; 10, 50, 100, 200 y 300 mg/kg; 7, 14 y 30 d	↑ niveles de ROS en hígado y vesícula	Feng <i>et al.</i> , 2013a
	DBDFE	10, 50 y 100 mg/kg; 7, 14 y 30 d	↓ actividades de SOD, CAT, GPx, GR y GST, ↑ daños en membrana celular y GSH niveles en el hígado	
	BDE-209 y DBDFE (1:1)	10, 50 y 100 mg/kg; 7, 14 y 30 d	↓ actividades de SOD, CAT, GPx, GR y GST, ↑ daños en membrana celular niveles en el hígado	
<i>C. auratus</i> (Linnaeus, 1758)	BDE-209, TBBFA, HBCD, DBDFE, HBB, PTB	10 y 100 mg/kg; 7, 14 y 30 d	↓ actividades de SOD, CAT, GPx y niveles de GSH y ↑ daños en membrana celular niveles en el hígado	Feng <i>et al.</i> , 2013b
<i>C. auratus</i> (Linnaeus, 1758)	HBB	10, 150 y 300 mg/kg; 7, 14 y 25 d	↓ actividades de SOD, GR, GPx y GST y ↑ daños en membrana celular (hígado); ↓ actividades de CAT y GPx y ↑ daños en membranas celulares (branquia)	Feng <i>et al.</i> , 2014
<i>C. auratus</i> (Linnaeus, 1758)	BDE-209, BDE-209/-47 (1:1), BDE-209/-99 (1:1), BDE-209/-47/-99 (1:1:1)	0.04, 0.2, 1 y 5 mg/kg; 4 d	↑ actividad de GST y ↓ actividad de CAT en hígado; en adición, ↑ actividad de SOD para BDE-209/-99 (1:1)	Xie <i>et al.</i> , 2014

↑ Inducción o contenido significativo respecto al control; h, horas; d, días; ↓ inhibición o contenido significativo respecto al control. En negritas se muestran los tratamientos que causaron los efectos observados en la columna de respuesta general.

encuentran los RFB (WSDOH, 2021). En esta sección, la presentación de los hallazgos se realizará por orden cronológico debido a que en la mayoría de estos contemplan mezclas de RFB. Se realizó un análisis proteómico en el hígado del pez cebra expuesto por 21 días a una mezcla de 11 RFB (que incluyeron a BDE-28, -183, -209, HBCD, TBBFA y TBBFA-DBPE) a dos dosis, 10 y 100 nmol/g de alimento (quironómidos liofilizados). Se observó que en los machos se incrementó la expresión de una proteína con actividad de peroxidasa, así como de la peroxirredoxina 6. En ambos sexos se observó una sobre expresión de dos proteínas relacionadas con la producción de GSH (Kling *et al.*, 2008). En la carpita cabezona, *Pimephales promelas*, Rafinesque 1820, que fue tratada por 56 días en el alimento con dos retardantes de flama comerciales, Firemaster® 550 (FM-550) y Firemaster® BZ-54 (FM-BZ-54) cuyos componentes principales son el TBFT y el TBB, se halló que el daño en el ADN hepático fue mayor que el daño al ADN sanguíneo. FM-550 causó incrementos significativos en el daño de ADN de manera dependiente con respecto al tiempo (14, 28 y 56 días), mientras que el FM-BZ-54 los causó solamente a los 28 y 56 días (Bearr *et al.*, 2010).

En pruebas con especímenes del austrobacalao esmeralda, *Trematomus bernacchii*, Boulenger 1902, alimentados en condiciones de laboratorio con cápsulas de gelatina conteniendo una mezcla a partes iguales de ocho congéneres de EDPB (BDE-28, -47, -99 -100, 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexabromodifenil éter (BDE-153), 2, 2', 4, 4', 5, 6'-hexabromodifenil éter (BDE-154), 2, 2', 3, 4, 4', 5', 6'-heptabromodifenil éter (BDE-183) y -209) en dos dosis: 320 ng y 32 ng, suministrados a los 14, 28, 42 y 56 días de haber iniciado el ensayo, se obtuvieron los siguientes resultados: la peroxidación lipídica hepática a los 14 y 56 días fue mayor en los peces tratados con respecto a los controles, la oxidación de proteínas fue mayor en los peces alimentados con la baja y la alta dosis de la mezcla en comparación con el control en todos los tiempos de evaluación y esta alteración se vio reducida de manera proporcional durante las evaluaciones a los 14, 28, 42 y 56 días. Asimismo, la actividad de enzimática de SOD, CAT, GPx y GST se

incrementó de manera proporcional con los tratamientos (Ghosh *et al.*, 2013). En ejemplares de la trucha arcoíris que fueron alimentadas con BTBFE a una concentración de $51.7 \pm 17.9 \mu\text{g/g}$ en el alimento en peso húmedo por 48 horas y por 28 días, se observó que, en el hígado de los peces tratados por 28 días, el gen *txnip* (que codifica a una proteína que participa en la inhibición de la tiorredoxina con función antioxidante) estuvo sobre expresada, lo que permite sugerir que bajo esta condición probablemente se generó una situación de estrés oxidativo (Giraud *et al.*, 2017). En la tabla 3, se muestra una síntesis de los estudios que reportan estrés oxidativo en peces inducidos por vía del alimento con RFB en orden cronológico.

Existen diferencias en los hábitos alimenticios de los peces entre especies y esto puede llevar a diferencias en la asimilación de los RFB en el ambiente (Iqbal *et al.*, 2017); no obstante, esta vía de administración es relevante porque simula una vía de exposición que ocurre en el ambiente (WSDOH, 2021). La mayoría de los estudios en este tema emplearon mezclas de RFB (Kling *et al.*, 2008; Bearr *et al.*, 2010; Ghosh *et al.*, 2013). A pesar de las diferencias en las concentraciones de RFB en el alimento empleadas en este conjunto de estudios, se encontró que en un mínimo de 21 días se observan efectos significativos respecto a la expresión de proteínas con actividad antioxidante como la peroxidasa, peroxirredoxina 6 y otras relacionadas con la generación del GSH, así como la sobre expresión del gen *txnip* que participa en inhibición de tiorredoxina (Kling *et al.*, 2008; Giraud *et al.*, 2017). Respecto a al daño oxidativo, dos nRFB (TBFT y TBB) en mezcla indujeron daños en el ADN hepático después de su administración de 28 y 56 días (Bearr *et al.*, 2010).

Estudios *in vitro*

Los estudios *in vitro* permiten observar los efectos tóxicos de ciertos compuestos en líneas celulares y permiten identificar posibles mecanismos involucrados en estos procesos. En esta sección se presentarán primero los estudios que probaron la toxicidad de los EDPB y posterior-

Tabla 3. Estudios que reportan el estrés oxidativo en peces dosificados con retardantes de flama polibromados por medio del alimento en condiciones de laboratorio.

Especie de pez	RFB	Concentración y tiempo	Respuesta general	Referencia
<i>Danio rerio</i> (Hamilton, 1822)	11 RFB (BDE-28, -183, 209, HBCD, TBBFA y TB-BFA-DBPE)	10 y 100 nmol/g de alimento; 21 d	↑ peroxidasa y peroxirredoxina 6 (♂) y proteínas relacionadas con GSH (♂ y ♀) en hígado	Kling <i>et al.</i> , 2008
<i>Pimephales promelas</i> (Rafinesque, 1820)	Componentes de FM-550 y FM-BZ-54 (TBFT y TBB)	FM-550: 744.7 (TBFT) y 1658 $\mu\text{g/g}$ (TBB). FM-BZ-54: 907.4 $\mu\text{g/g}$ (TBFT) y 2087 (TBB); 14, 28 y 56 d	↑ daños ADN en hígado	Bearr <i>et al.</i> , 2010
<i>Trematomus bernacchii</i> (Boulenger, 1902)	BDE (-28, -47, -100, -99, -154, -153, -183 y -209) por partes iguales	320 ng y 32 ng , dosificados a 14, 28 y 42 d ; fin de experimento: 56 d (depuración)	↑ peroxidación lipídica, actividades de SOD, CAT, GPx y GST (no significativo)	Ghosh <i>et al.</i> , 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792)	BTBFE	51.7 $\mu\text{g/g}$ de peso húmedo ; 48 h y 28 d	↑ expresión del gen <i>txnip</i> que participa en inhibición de tiorredoxina en el hígado	Giraud <i>et al.</i> , 2017

FM-550, Firemaster® 550; FM-BZ-54, Firemaster® BZ-54; PBC, bifenilos policlorados; ↑, Inducción o contenido significativo respecto al control; h, horas; d, días; ↓, inhibición o contenido significativo respecto al control. En negritas se muestran los tratamientos que causaron los efectos observados en la columna de respuesta general.

mente los que usaron al TBBFA y los HBCD. Se observó que el BDE-47 a una concentración de 12.5 y 50 μM por 30 minutos de incubación es capaz de incrementar ROS en una línea celular obtenida del hígado de la trucha arcoíris (RTL-W1), y en otra línea celular obtenida de las branquias de esta especie (RTGill-W1) a 50 μM por los mismos 30 minutos, así mismo se encontró reducción en la viabilidad celular (Shao *et al.*, 2008). En la línea celular de fibroblastos SAF-1, obtenida de la dorada, *Sparus aurata*, Linnaeus 1758, tratada con BDE-47 y con BDE-99 en experimentos independientes a 1, 10, 50, 75 y 100 $\mu\text{mol/L}$ por 72 horas, la inducción de ROS en los fibroblastos expuestos a 10 y 100 $\mu\text{mol/L}$ de BDE-47 fue mayor que el control (~50% y ~100%, respectivamente), por otro lado, estos incrementos fueron observados después del tratamiento con 50, 75 y 100 $\mu\text{mol/L}$ de BDE-99. Esta misma línea celular tratada de manera independiente con BDE-47 y BDE-99 a una concentración de 1 $\mu\text{mol/L}$ y a una mezcla de ambos compuestos a la misma concentración por 7 y 15 días, mostró que la expresión de la proteína de factor nuclear eritroide 2 (NRF-2) se incrementó, la cual se sabe está relacionada con la activación de defensas antioxidantes enzimáticas (Espinosa-Ruiz *et al.*, 2019a). La respuesta de esta misma línea, SAF-1 de *Sparus aurata*, tratada con BDE-209 a 0.25, 0.5, 0.75, 1 y 2 $\mu\text{mol/L}$ por 72 horas, fue un aumento en las concentraciones de ROS con 0.75, 1 y 2 $\mu\text{mol/L}$ de BDE-209; mientras que con 1 $\mu\text{mol/L}$ por 7 y 15 días se hallaron incrementos significativos en la expresión de la proteína NRF-2 (Espinosa-Ruiz *et al.*, 2019b).

En la línea celular comercial de gónadas, RTG-2 (mezcla de testículo y ovario) de la trucha arcoíris tratadas con BDE-47 con 6, 12.5 y 25 μM por 4 horas y con 6 y 12.5 μM por 6 horas hubo una inducción de ROS; también se observaron disminuciones en el potencial de membrana mitocondrial como un daño en este organelo e inducción del proceso apoptótico (Zhou *et al.*, 2019). Recientemente, Espinosa-Ruiz *et al.* (2020) reportaron que la expresión de genes *nrf2*, *cat* y *sod* en la línea celular SAF-1 de la dorada tratada con BDE-47 con 1 $\mu\text{mol/L}$ por 72 horas, fueron similares al control.

En una línea celular de hepatocitos de *Danio rerio* tratada con los HBCD (5 μM), TBBFA (5 μM) y en una mezcla de cada uno (1:1) por 72 horas, se observó que estas concentraciones y su mezcla indujeron notablemente la producción de proteínas (betaína homocisteína metiltransferasa y transcelotasa) relacionadas indirectamente con la producción de GSH (Kling & Förlin, 2009). Por otro lado, en espermatozoides del esturión de Siberia, *Acipen serratensis*, Linnaeus 1758, tratados con TBBFA a concentraciones de 0.5, 1.75, 2.5, 5, y 10 $\mu\text{g/L}$ por dos horas se determinó que el daño en el ADN fue proporcional con los tratamientos; así mismo el daño en las membranas celulares fue mayor en los tratamientos de 5 y 10 $\mu\text{g/L}$ y el daño en las proteínas totales se detectó en todos los tratamientos; por otro lado, la actividad de SOD se incrementó proporcionalmente con la concentración del TBBFA, con estos datos se estableció que hay una correlación lineal entre la oxidación de proteínas y los daños al ADN (Linhartova *et al.*, 2015).

En la tabla 4 se muestra una síntesis de los estudios realizados *in vitro* en orden cronológico.

En líneas celulares de humanos y una de ratón se ha demostrado que una vía de generación de ROS por exposición a RFB ocurre a través de alteraciones en la función mitocondrial (Yan *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019; Cho *et al.*, 2020). En los estudios en los cuales se evaluó el estrés oxidativo en líneas celulares de peces sobresale la carencia de estudios realizados

con nRFB, solamente se han probado los EDPB, los HBCD y el TBBFA, todos ellos de manera individual con excepción del estudio de Kling & Förlin (2009) quienes ensayaron una combinación de los HBCD y TBBFA (1:1) a 5 μM por 72 horas y también de manera individual en hepatocitos de *D. rerio*, encontrando incrementos en proteínas relacionadas con generación de GSH y de NADPH. Linhartova *et al.* (2015) encontraron daños en membranas celulares, proteínas y ADN, así como en la actividad de SOD en espermatozoides del esturión por efecto del TBBFA (0.5-10 $\mu\text{g/L}$ por 2 horas). Respecto a los EDPB, se encontró que los congéneres BDE-47, -99 y -209 fueron capaces de incrementar las concentraciones de ROS, disminuir el potencial de membrana mitocondrial e incrementar la expresión de la proteína NRF-2 que se encuentra relacionada con la activación de las defensas antioxidantes enzimáticas (Shao *et al.*, 2008; Espinosa-Ruiz *et al.*, 2019a; Espinosa-Ruiz *et al.*, 2019b; Zhou *et al.*, 2019; Espinosa-Ruiz *et al.*, 2020). Estos estudios son sumamente relevantes ya que permiten identificar posibles mecanismos de producción de ROS a nivel celular. La evidencia presentada en esta revisión permite sugerir que los daños en la actividad mitocondrial son una fuente de ROS a nivel celular que se favorece la activación de las defensas antioxidantes.

Nuevas propuestas de investigación

No existen estudios sobre el estrés oxidativo en peces inducido por los BFPB, a pesar de que estos compuestos están prohibidos desde el siglo pasado, su presencia ha sido detectada en lodos de depuración, en sedimentos, ríos y en peces (Luross *et al.*, 2002; Clarke *et al.*, 2008; Yun *et al.*, 2008; Pohl *et al.*, 2004; Daso *et al.*, 2013). Es notable que el número de reportes dedicados a estudiar los efectos de los EDPB, los HBCD y el TBBFA en el estrés oxidativo de los peces destaque sobre los nRFB. A pesar de esta observación, resulta altamente probable que el TBBFA y los nRFB incrementen su relevancia en este campo de la investigación debido a que no existe legislación que prohíba la producción y uso del TBBFA, el cual ha sido incluido en lista REACH de la Unión Europea. No hay esquemas de monitoreo ni de reducción de emisión en China; sin embargo, ha prohibido la importación de basura electrónica (Malkoske *et al.*, 2016). Respecto a los Estados Unidos de América, se ha construido una base de datos de los efectos tóxicos de TBBPA en el ser humano y en el ambiente desde los años sesenta del siglo pasado y desde los años ochenta ha sido objeto de programas de monitoreo de toxicológico en ambientes acuáticos (Pittinger & Pecquet, 2018). También se prevé que en los próximos años los estudios toxicológicos sobre los nRFB se verán incrementados por dos razones principales: su síntesis es reciente y la normatividad ambiental sobre los nRFB es casi inexistente, ya que estos compuestos solo han sido objeto de vigilancia por autoridades ambientales de la Unión Europea y de los Estados Unidos de América, mientras que en la mayoría de los países no existen leyes para el monitoreo de estas sustancias (Zuiderveen *et al.*, 2020). En adición, no existe normatividad en México respecto a estos productos.

Recientemente ha habido un incremento en los estudios en condiciones de laboratorio que reportan los efectos tóxicos de algunas mezclas de estos compuestos en peces y en organismos acuáticos. Estos estudios pueden ofrecer un enfoque aproximado a lo que ocurre en los organismos en su ambiente, donde la exposición a un único contaminante es sumamente improbable, dado que los ambientes acuáticos son impactados por mezclas complejas de contaminantes (Celander, 2011). Sin embargo, cuando un organismo es tratado a una mezcla de contaminantes, pueden existir dificultades para atribuir una respuesta biológica

Tabla 4. Estudios que reportan el estrés oxidativo en líneas celulares de diferentes tejidos de peces expuestas a RFB.

Línea celular	RFB	Concentración y tiempo	Respuesta general	Referencia
Hepatocitos de trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i> ; Walbaum, 1792)	BDE-47	0.2, 0.8 , 3.2, 12.5 y 50 μM ; 30 min	↑ contenido de ROS y ↓ funcionalidad mitocondrial	Shao <i>et al.</i> , 2008
Branquias de trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i> ; Walbaum, 1792)	BDE-47	0.2, 0.8, 3.2, 12.5 y 50 μM ; 30 min		
Hepatocitos de <i>Danio rerio</i> (Hamilton, 1822)	HBCD	5 μM ; 72 h	↑ proteínas relacionadas con inducción de NADPH y generación de GSH	Kling & Förlin, 2009
	TBBFA	5 μM ; 72 h		
	HBCD y TBBFA	5 μM (1:1); 72 h		
Espermatozoides de esturión de Siberia (<i>Acipenser ruthenus</i> ; Linnaeus, 1758)	TBBFA	0.5 , 1.75 , 2.5 , 5 , y 10 $\mu\text{g/L}$; 2 h	↑ daños en el ADN y membranas celulares, oxidación de proteínas y actividad de SOD	Linhartova <i>et al.</i> , 2015
Fibroblastos de <i>Sparus aurata</i> (Linnaeus, 1758)	BDE-47	1, 10 , 25, 50 y 100 μM ; 72 h	↑ contenido de ROS	Espinosa-Ruiz <i>et al.</i> , 2019a
	BDE-99	1, 10, 25 , 50 y 100 μM ; 72 h		
	BDE-47	1 y 100 μM ; 72 h	↑ expresión del gen <i>nrf2</i>	
	BDE-99	1 y 100 μM ; 72 h		
Fibroblastos de <i>S. aurata</i> (Linnaeus, 1758)	BDE-209	0.25, 0.5, 0.75 , 1 y 2 μM ; 72 h	↑ contenido de ROS	Espinosa-Ruiz <i>et al.</i> , 2019b
		1 μM ; 7 y 15 d	↑ contenido de NRF2	
Gónadas de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i> ; Walbaum, 1792)	BDE-47	6 , 12.5 y 25 μM ; 2 , 4 y 6 h	↑ contenido de ROS y apoptosis, ↓ potencial de membrana mitocondrial	Zhou <i>et al.</i> , 2019
Fibroblastos de <i>S. aurata</i> (Linnaeus, 1758)	BDE-47	1 μM ; 72 h	Sin cambios en la expresión de genes de <i>nrf2</i> , <i>cat</i> y <i>sod</i>	Espinosa-Ruiz <i>et al.</i> 2020

↑ Inducción o contenido significativo respecto al control; h, horas; d, días; ↓ inhibición o contenido significativo respecto al control. En negritas se muestran los tratamientos que causaron los efectos observados en la columna de respuesta general.

a algún factor en particular, como ampliamente ha sido descrito en las respuestas de biomarcadores en peces silvestres (Celander, 2011); no obstante, los estudios que consideran mezclas de contaminantes permiten realizar aproximaciones a los fenómenos que ocurren en el ambiente, lo que representa una importante ventaja de este enfoque. En los estudios *in vivo* que reportaron el estrés oxidativo de peces por efecto de los RFB en mezcla, solamente fueron realizados por vía intraperitoneal y a través del alimento (Feng *et al.* 2013a; Xie *et al.* 2014; Kling *et al.* 2008; Bearn *et al.* 2010; Ghosh *et al.* 2013). Este grupo de estudios denota que las mezclas que contienen a los EDPB han sido las más evaluadas. Es destacable notar que solamente dos estudios, el de Kling *et al.* (2008) y Kling & Förlin (2009) incluyeron al TBBFA en sus mezclas; en adición, existe un creciente interés por conocer la toxicidad de los nRFB dado que hay un reducido número de estudios comparados con el resto de los RFB. Considerando lo anterior, resulta muy importante evaluar el estrés oxidativo en peces con mezclas que contengan TBBFA y nRFB en concentraciones que se presentan en el ambiente, por lo que realizar más estudios *in vivo* en peces sobre bioacumulación, biotransformación, estrés oxidativo, disrupción endocrina

y neurotoxicidad, ayudarían para establecer criterios y límites de concentración en ambientes acuáticos.

En este tema de revisión se ha observado que el pez cebra fue la especie que más se ha evaluado y en su mayoría en etapa de embrión o larva (Hu *et al.*, 2009; Deng *et al.*, 2009; Usenko *et al.*, 2015; 2016; Wu *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2019). Los estadios tempranos de cualquier especie de pez, son particularmente sensibles a los efectos tóxicos, por ser un estadio clave en el desarrollo ya que alteraciones fisiológicas y/o morfológicas pueden desencadenar daños irreversibles y provocar la muerte. Adicionalmente otra de las especies de peces más estudiadas fue el pez dorado (*C. auratus*), particularmente en los peces que fueron dosificados por vía intraperitoneal (Shi *et al.*, 2005; Feng *et al.*, 2013a; 2013b; Yang *et al.*, 2013; Feng *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2018). Con menor frecuencia se estudiaron otras especies de peces con fines comerciales como la trucha arcoíris, el bacalao, y la dorada (Ronisz *et al.*, 2004; Olsvik *et al.*, 2009; Giraudo *et al.*, 2017; Espinosa-Ruiz *et al.*, 2019a; 2019b; 2020) y otras de especies de peces de origen asiático, con una sola mención como *Gobiocypris rarus*, *Oryzias*

melastigma y *Channa punctata* (Zhang *et al.*, 2008; Hong *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2019). Las especies endémicas han sido de particular interés para la ecotoxicología dado que son más susceptibles a los cambios ambientales respecto a otras con amplia distribución geográfica. Existe una carencia de estudios sobre las especies endémicas y especies con reducida distribución geográfica, situación que resulta de interés dado que los RFB se han encontrado en una gran diversidad de ambientes acuáticos, siendo su presencia mayor en las zonas de reciclaje de residuos sólidos que contienen a estos compuestos (Malkoste *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2016; Iqbal *et al.*, 2017; Orisakwe *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2019).

La mayoría de los reportes presentados en esta revisión han documentado el estrés oxidativo en el hígado de los peces expuestos a RFB en el agua, por vía intraperitoneal y por el alimento, seguido de la sangre, y solo con una mención cada una, en cerebro y branquias. Solamente tres estudios del total de los revisados realizaron evaluaciones de biomarcadores relacionados con el estrés oxidativo en más de un tejido (Zhang *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2013; Feng *et al.*, 2014). Esta observación denota que es necesario incrementar los estudios que realizan comparaciones entre tejidos para determinar la susceptibilidad de los mismos al estrés oxidativo ocasionado por los RFB. Por ejemplo, se carecen de reportes que documenten la asimilación de estos compuestos en intestino de los peces. Tampoco se conoce de estos efectos en varios tejidos como los ojos, el corazón, el riñón, el timo y el músculo, cada uno con fisiología relevante para la salud de estos organismos. En adición, no todos los estudios presentados en esta revisión evaluaron tanto el daño oxidativo como a las defensas antioxidantes, lo que manifiesta la pertinencia de incrementar estudios que evalúen ambos aspectos.

Respecto a los estudios en los que se trataron los peces a través de mezclas en los alimentos, se destaca que todas las investigaciones en este tema emplearon mezclas de RFB con excepción del estudio de Giraudo *et al.* (2017) quienes solo emplearon al BTBF en *O. mykiss*. También sobresale que el TBBFA y los HBCD solamente fueron usados por Kling *et al.* (2008) en una mezcla en conjunto con otros nueve RFB (BDE-28, -183, -209, TBBFA-DBPE, HBB, DBECH, 4,4'-isopropilidenedis [2-(2,6-dibromofenoxil) etanol], 2,4,6-tribromofenol y 2-bromoestireno); y en otro estudio, una mezcla con 8 congéneres de EDPB indujo la actividad de SOD, CAT y GPx en el hígado de *T. bernacchii* (Ghosh *et al.*, 2013). Solamente, Berr *et al.* (2010) reportaron daños en el ADN en el hígado y en la sangre de *P. promelas* alimentado con los componentes de FM-500 y FM- BZ-54 (TBFT y TBB) como evidencia de daño oxidativo. No obstante, cuando se trata con mezclas y por vía de alimentación puede resultar difícil identificar el rol de cada componente de la mezcla en las respuestas biológicas observadas.

Los RFB son capaces de inducir estrés oxidativo en peces evidenciado a través de incrementos en las ROS, daños en proteínas, membranas celulares y en el ADN. También se observaron cambios en la actividad de las defensas antioxidantes enzimáticas, como respuestas a diferentes grados de daño oxidativo. Estos fenómenos fueron dependientes de las variables involucradas en el diseño experimental tal como los compuestos de prueba, concentración, dosis y duración. Resulta complicado determinar al más tóxico de los RFB en la inducción de estrés oxidativo en peces, dada la diversidad de modelos experimentales que se emplearon en los estudios revisados. Es necesario incrementar los ensayos con los nRFB y probar mezclas con el TBBFA que tienen po-

cas restricciones normativas. Es necesario conocer los efectos tóxicos de los RFB en especies de peces con reducida distribución geográfica debido a muchas de ellas son consideradas como frágiles. También es importante conocer los efectos en el estrés oxidativo y la defensa antioxidante de los RFB en otros tejidos de especies de peces además del hígado que es el principal tejido evaluado en estos estudios, particularmente en los que presentan un alto contenido lipídico dada la naturaleza de los RFB. Por otro lado, es deseable que futuros estudios continúen incluyendo la evaluación de biomarcadores relacionados con el daño oxidativo y con la actividad de defensas antioxidantes en conjunto para obtener un mejor panorama de los efectos de los RFB. Dado lo anterior, existe una gran cantidad de enfoques que pueden ser abordados para incrementar los conocimientos sobre los efectos de los RFB en la inducción de estrés oxidativo en especies de peces.

AGRADECIMIENTOS

Hugo F. Olivares-Rubio recibió apoyo financiero de una beca postdoctoral otorgada por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) - Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, México) y como miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SNI, CONACyT, México).

REFERENCIAS

- ALBINA, M. L., V. ALONSO, V. LINARES, M. BELLÉS, J. J. SIRVENT, J. L. DOMINGO & D. J. SÁNCHEZ. 2010. Effects of exposure to BDE-99 on oxidative status of liver and kidney in adult rats. *Toxicology* 271(1-2): 51-56. DOI:10.1016/j.tox.2010.03.006
- ARDESHIR, R. A., H. ZOLGHARNEIN, A. MOVAHEDINIA, N. SALAMAT & E. ZABIHI. 2017. Comparison of waterborne and intraperitoneal exposure to fipronil in the Caspian white fish (*Rutilus frisii*) on acute toxicity and histopathology. *Toxicology Reports* 4: 348-357. DOI:10.1016/j.toxrep.2017.06.010
- BEARR, J. S., H. M. STAPLETON & C. L. MITCHELMORE. 2010. Accumulation and DNA damage in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to 2 brominated flame-retardant mixtures, Firemaster® 550 and Firemaster® BZ-54. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 29(3): 722-729. DOI:10.1002/etc.94
- BENEDICT, R.T., H. M. STAPLETON, R. J. LETCHER & C. L. MITCHELMORE. 2007. De-bromination of polybrominated diphenyl ether-99 (BDE-99) in carp (*Cyprinus carpio*) microflora and microsomes. *Chemosphere* 69(6): 987-993. DOI:10.1016/j.chemosphere.2007.05.010
- BIRNBAUM, L.S. & D. F. STASKAL. 2004. Brominated flame retardants: cause for concern? *Environmental Health Perspectives* 112(1): 9-17. DOI:10.1289/ehp.6559
- BRITS, M., J. DE VOS, J. M. WEISS, E. R. ROHWER & J. DE BOER. 2016. Critical review of the analysis of brominated flame retardants and their environmental levels in Africa. *Chemosphere* 164: 174-189. DOI:10.1016/j.chemosphere.2016.08.097
- BROWNE, E.P., H. M. STAPLETON, S. M. KELLY, S. C. TILTON & E. P. GALLAGHER. 2009. *In vitro* hepatic metabolism of 2, 2', 4, 4', 5-pentabromodiphenyl ether (BDE 99) in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquatic Toxicology* 92(4): 281-287. DOI:10.1016/j.aquatox.2009.02.017

- CELANDER, M. C. 2011. Cocktail effects on biomarker responses in fish. *Aquatic toxicology* 105(3-4): 72-77. DOI:10.1016/j.aquatox.2011.06.002
- CHEN, H., X. TANG, B. ZHOU, N. XU & Y. WANG. 2016. Mechanism of Deca-BDE-induced apoptosis in Neuro-2a cells: Role of death-receptor pathway and reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. *Journal of Environmental Sciences* 46: 241-251. DOI:10.1016/j.jes.2016.02.015
- CHO, J. H., S. LEE, H. JEON, A. H. KIM, W. LEE, Y. LEE, S. YANG, J. YUN, Y. S. JUNG & J. LEE. 2020. Tetrabromobisphenol A-Induced Apoptosis in Neural Stem Cells Through Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction. *Neurotoxicity Research* 30: 74-85. DOI:10.1007/s12640-020-00179-z
- CHOU, C.T., Y. C. HSIAO, F. C. KO, J. O. CHENG, Y. M. CHENG & T. H. CHEN. 2010. Chronic exposure of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (PBDE-47) alters locomotion behavior in juvenile zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology* 98(4): 388-395. DOI:10.1016/j.aquatox.2010.03.012
- CLARKE, B., N. PORTER, R. SYMONS, P. MARRIOTT, P. ADES, G. STEVENSON & J. BLACKBEARD. 2008. Polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in Australian sewage sludge. *Chemosphere* 73(6): 980-989. DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.06.034
- COSTA, L. G., C. PELLACANI, K. DAO, T. J. KAVANAGH & P. J. ROQUE. 2015. The brominated flame retardant BDE-47 causes oxidative stress and apoptotic cell death *in vitro* and *in vivo* in mice. *Neurotoxicology* 48: 68-76. DOI:10.1016/j.neuro.2015.03.008
- COVACI, A., A. C. GERECKE, R. J. LAW, S. VOORSPOELS, M. KOHLER, N. V. HEEB, H. LESLIE, C. R. ALLCHIN & J. DE BOER. 2006. Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the environment and humans: a review. *Environmental Science & Technology* 40(12): 3679-3688. DOI:10.1021/es0602492
- DASO, A.P., O. S. FATOKI & J. P. ODENDAAL. 2013. Occurrence of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexabromobiphenyl (BB-153) in water samples from the Diep River, Cape Town, South Africa. *Environmental Science and Pollution Research* 20(8): 5168-5176. DOI:10.1007/s11356-013-1503-6
- DE WIT, C.A. 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46(5): 583-624. DOI:10.1016/S0045-6535(01)00225-9
- DE WIT, M., D. KEIL, N. REMMERIE, K. VAN DER VEN, E. J. VAN DEN BRANDHOF, D. KNAPEN, E. WITTERS & W. DE COEN. 2008. Molecular targets of TBBFA in zebrafish analysed through integration of genomic and proteomic approaches. *Chemosphere* 74(1): 96-105. DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.09.030
- DENG, J., L. YU, C. LIU, K. YU, X. SHI, L. W. YEUNG, P. K. S. LAM, R. S. S. WU & B. ZHOU. 2009. Hexabromocyclododecane-induced developmental toxicity and apoptosis in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology* 93(1): 29-36. DOI:10.1016/j.aquatox.2009.03.001
- DONG, H., G. LU, Z. YAN, J. LIU, M. NKOOM & H. YANG. 2018. Responses of antioxidant and biotransformation enzymes in *Carassius carassius* exposed to hexabromocyclododecane. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 62: 46-53. DOI:10.1016/j.etap.2018.06.009
- DU, M., C. FANG, L. QIU, S. DONG, X. ZHANG & C. YAN. 2015. Diastereoisomer-specific effects of hexabromocyclododecanes on hepatic aryl hydrocarbon receptors and cytochrome P450s in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 132: 24-31. DOI:10.1016/j.chemosphere.2015.02.049
- ESPINOSA-RUIZ, C. E., S. MANUGUERRA, A. CUESTA, M. A. ESTEBAN, A. SANTULLI & C. M. MESSINA. 2019a. Sub-lethal doses of polybrominated diphenyl ethers affect some biomarkers involved in energy balance and cell cycle, via oxidative stress in the marine fish cell line SAF-1. *Aquatic Toxicology* 210: 1-10. DOI:10.1016/j.aquatox.2019.02.014
- ESPINOSA-RUIZ, C. E., S. MANUGUERRA, A. CUESTA, A. SANTULLI & C. M. MESSINA. 2019b. Oxidative stress, induced by sub-lethal doses of BDE 209, promotes energy management and cell cycle modulation in the marine fish cell line SAF-1. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(3): 474. DOI:10.3390/ijerph16030474
- ESPINOSA-RUIZ, C. E., S. MANUGUERRA, E. CURCURACI, A. SANTULLI & C. M. MESSINA. 2020. Carbamazepine, cadmium chloride and polybrominated diphenyl ether-47, synergistically modulate the expression of antioxidants and cell cycle biomarkers, in the marine fish cell line SAF-1. *Marine Environmental Research* 154: 104844. DOI:10.1016/j.marenvres.2019.104844
- FENG, M., Y. LI, R. QU, L. WANG & Z. WANG. 2013a. Oxidative stress biomarkers in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to decabromodiphenyl ether and ethane, or their mixture. *Ecotoxicology* 22(7): 1101-1110. DOI:10.1007/s10646-013-1097-2
- FENG, M., R. QU, C. WANG, L. WANG & Z. WANG. 2013b. Comparative antioxidant status in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to six current-use brominated flame retardants: a combined experimental and theoretical study. *Aquatic Toxicology* 140: 314-323. DOI:10.1016/j.aquatox.2013.07.001
- FENG, M., R. QU, Y. LI, Z. WEI & Z. WANG. 2014. Biochemical biomarkers in liver and gill tissues of freshwater fish *Carassius auratus* following *in vivo* exposure to hexabromobenzene. *Environmental Toxicology* 29(12): 1460-1470. DOI:10.1002/tox.21876
- GHOSH, R., P. M. LOKMAN, M. D. LAMARE, V. J. METCALF, D. J. BURRITT, W. DAVISON & K. J. HAGEMAN. 2013. Changes in physiological responses of an Antarctic fish, the emerald rock cod (*Trematomus bernacchii*), following exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Aquatic Toxicology* 128: 91-100. DOI:10.1016/j.aquatox.2012.11.019
- GIRAUDO, M., M. DOUVILLE, R. J. LETCHER & M. HOUE. 2017. Effects of food-borne exposure of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to emerging brominated flame retardants 1, 2-bis (2, 4, 6-tribromophenoxy) ethane and 2-ethylhexyl-2, 3, 4, 5-tetrabromobenzoate. *Aquatic Toxicology* 186: 40-49. DOI:10.1016/j.aquatox.2017.02.023
- HE, M.J., X. J. LUO, L. H. YU, J. P. WU, S. J. CHEN & B. X. MAI. 2013. Diastereoisomer and enantiomer-specific profiles of hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A in an aquatic environment in a highly industrialized area, South China: vertical profile, phase partition, and bioaccumulation. *Environmental Pollution* 179: 105-110. DOI:10.1016/j.envpol.2013.04.016

- HONG, H., D. LI, R. SHEN, X. WANG & D. SHI. 2014. Mechanisms of hexabromocyclododecanes induced developmental toxicity in marine medaka (*Oryzias melastigma*) embryos. *Aquatic Toxicology* 152: 173-185. DOI:10.1016/j.aquatox.2014.04.010
- HU, J., Y. LIANG, M. CHEN & X. WANG. 2009. Assessing the toxicity of TB-BFA and HBCD by zebrafish embryo toxicity assay and biomarker analysis. *Environmental Toxicology: An International Journal* 24(4): 334-342. DOI:10.1002/tox.20436
- IQBAL, M., J. H. SYED, A. KATSOYIANNIS, R. N. MALIK, A. FAROOQI, A. BUTT, J. LI, G. ZHANG, A. CINCINELLI & K. C. JONES. 2017. Legacy and emerging flame retardants (FRs) in the freshwater ecosystem: A review. *Environmental Research* 152: 26-42. DOI:10.1016/j.envres.2016.09.024
- KLING, P., A. NORMAN, P. L. ANDERSSON, L. NORRGREN & L. FÖRLIN. 2008. Gender-specific proteomic responses in zebrafish liver following exposure to a selected mixture of brominated flame retardants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71(2): 319-327. DOI:10.1016/j.ecoenv.2007.12.010
- KLING, P. & L. FÖRLIN. 2009. Proteomic studies in zebrafish liver cells exposed to the brominated flame retardants HBCD and TBBPA. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72(7): 1985-1993. DOI:10.1016/j.ecoenv.2009.04.018
- LEMA, S. C., I. R. SCHULTZ, N. L. SCHOLZ, J. P. INCARDONA & P. SWANSON. 2007. Neural defects and cardiac arrhythmia in fish larvae following embryonic exposure to 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (PBDE 47). *Aquatic Toxicology* 82(4): 296-307. DOI:10.1016/j.aquatox.2007.03.002
- LINHARTOVA, P., I. GAZO, A. SHALIUTINA-KOLESOVA, M. HULAK & V. KASPAR. 2015. Effects of tetrabromobisphenol A on DNA integrity, oxidative stress, and sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa quality variables. *Environmental Toxicology* 30(7): 735-745. DOI:10.1002/tox.21953
- LIVINGSTONE, D.R. 2003. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Medecine Veterinaire* 154(6): 427-430.
- LUROSS, J. M., M. ALAEI, D. B. SERGEANT, C. M. CANNON, D. M. WHITTLE, K. R. SOLOMON & D. C. MUIR. 2002. Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in lake trout from the Laurentian Great Lakes. *Chemosphere* 46(5): 665-672. DOI:10.1016/S0045-6535(01)00230-2
- LUSHCHAK, V. I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology* 101(1): 13-30. DOI:10.1016/j.aquatox.2010.10.006
- MACAULAY, L. J., J. M. BAILEY, E. D. LEVIN & H. M. STAPLETON. 2015. Persisting effects of a PBDE metabolite, 6-OH-BDE-47, on larval and juvenile zebrafish swimming behavior. *Neurotoxicology and Teratology* 52: 119-126. DOI:10.1016/j.ntt.2015.05.002
- MALKOSKE, T., Y. TANG, W. XU, S. YU & H. WANG. 2016. A review of the environmental distribution, fate, and control of tetrabromobisphenol A released from sources. *Science of the Total Environment* 569: 1608-1617. DOI:10.1016/j.scitotenv.2016.06.062
- MILOVANOVIC, V., A. BUHA, V. MATOVIC, M. CURCIC, S. VUCINIC, T. NAKANO & B. ANTONIJEVIC. 2018. Oxidative stress and renal toxicity after subacute exposure to decabrominated diphenyl ether in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research* 25(8): 7223-7230. DOI:10.1007/s11356-015-5921-5
- NOYES, P.D. & H.M. STAPLETON. 2014. PBDE flame retardants: Toxicokinetics and thyroid hormone endocrine disruption in fish. *Endocrine Disruptors* 2(1): e29430. DOI:10.4161/endo.29430
- OLSVIK, P. A., K. K. LIE, J. STURVE, L. HASSELBERG & O. K. ANDERSEN. 2009. Transcriptional effects of nonylphenol, bisphenol A and PBDE-47 in liver of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Chemosphere* 75(3): 360-367. DOI:10.1016/j.chemosphere.2008.12.039
- ORISAKWE, O. E., C. FRAZZOLI, C. E. ILO & B. ORITSEMUELEBI. 2019. Public health burden of e-waste in Africa. *Journal of Health and Pollution* 9(22):190610. DOI:10.5696/2156-9614-9.22.190610
- PANTELAKI, I. & D. VOUTSA. 2019. Organophosphate flame retardants (OPFRs): A review on analytical methods and occurrence in wastewater and aquatic environment. *Science of the Total Environment* 649: 247-263. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.08.286
- PEREIRA, L. C., A. O. DE SOUZA & D. J. DORTA. 2013. Polybrominated diphenyl ether congener (BDE-100) induces mitochondrial impairment. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 112(6): 418-424. DOI:10.1111/bcpt.12046
- PITTINGER, C. A. & A. M. PECQUET. 2018. Review of historical aquatic toxicity and bioconcentration data for the brominated flame retardant tetrabromobisphenol A (TBBPA): effects to fish, invertebrates, algae, and microbial communities. *Environmental Science and Pollution Research* 25(15): 14361-14372. DOI:10.1007/s11356-018-1998-y
- POHL, H. R., S. BOSCH, R. AMATA & C. J. EISENMANN. 2004. *Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers*. U.S. Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 366 p.
- RONISZ, D., E. F. FINNE, H. KARLSSON & L. FÖRLIN. 2004. Effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane (HBCDD), and tetrabromobisphenol A (TBBFA), on hepatic enzymes and other biomarkers in juvenile rainbow trout and feral eelpout. *Aquatic Toxicology* 69(3): 229-245. DOI:10.1016/j.aquatox.2004.05.007
- SEGEV, O., A. KUSHMARO & A. BRENNER. 2009. Environmental impact of flame retardants (persistence and biodegradability). *International Journal of Environmental Research and Public Health* 6(2): 478-491. DOI:10.3390/ijerph6020478
- SEVCIKOVA, M., H. MODRA, A. SLANINOVA & Z. SVOBODOVA. 2011. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. *Veterinari Medicina* 56(11): 537-546. DOI:10.17221/4272-VETMED
- SHAO, J., M. L. ECKERT, L. E. J. LEE & E. P. GALLAGHER. 2008. Comparative oxygen radical formation and toxicity of BDE 47 in rainbow trout cell lines. *Marine Environmental Research* 66(1): 7-8. DOI:10.1016/j.marenvres.2008.02.007
- SHARMA, P., P. CHADHA & H. S. SAINI. 2019. Tetrabromobisphenol A induced oxidative stress and genotoxicity in fish *Channa punctatus*. *Drug and Chemical Toxicology* 42(6): 559-564. DOI:10.1080/01480545.2018.1441864
- SHEN, M., J. CHENG, R. WU, S. ZHANG, L. MAO & S. GAO. 2012. Metabolism of polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A by fish

- liver subcellular fractions *in vitro*. *Aquatic Toxicology* 114: 73-79. DOI:10.1016/j.aquatox.2012.02.010
- SHI, H., X. WANG, Y. LUO & Y. SU. 2005. Electron paramagnetic resonance evidence of hydroxyl radical generation and oxidative damage induced by tetrabromobisphenol A in *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology* 74(4): 365-371. DOI:10.1016/j.aquatox.2005.06.009
- SLANINOVA, A., M. SMUTNA, H. MODRA & Z. SVOBODOVA. 2009. REVIEWS Oxidative stress in fish induced by pesticides. *Neuroendocrinology Letters* 30(1): 2.
- SUN, H., Y. QI, D. ZHANG, Q. X. LI & WANG, J. 2016. Concentrations, distribution, sources and risk assessment of organohalogenated contaminants in soils from Kenya, Eastern Africa. *Environmental Pollution* 209: 177-185. DOI:10.1016/j.envpol.2015.11.040
- TANG, B., Y. H. ZENG, X. J. LUO, X. B. ZHENG & B. X. MAI. 2015. Bioaccumulative characteristics of tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecanes in multi-tissues of prey and predator fish from an e-waste site, South China. *Environmental Science and Pollution Research* 22(16): 12011-12017. DOI:10.1007/s11356-015-4463-1
- TOMY, G. T., V. P. PALACE, T. HALLDORSON, E. BRAEKEVELT, R. DANELL, K. WAUTIER, B. EVANS, L. BRINKWORTH & A. T. FISK. 2004. Bioaccumulation, biotransformation, and biochemical effects of brominated diphenyl ethers in juvenile lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Environmental Science & Technology* 38(5): 1496-1504. DOI:10.1021/es035070v
- TRUONG, L., D. MANDRELL, R. MANDRELL, M. SIMONICH & R. L. TANGUAY. 2014. A rapid throughput approach identifies cognitive deficits in adult zebrafish from developmental exposure to polybrominated flame retardants. *Neurotoxicology* 43: 134-142. DOI:10.1016/j.neuro.2014.03.005
- USENKO, C. Y., E. L. ABEL, M. KUDELA, A. JANISE & E. D. BRUCE. 2015. Comparison of PBDE congeners as inducers of oxidative stress in zebrafish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34(5): 1154-1160. DOI:10.1002/etc.2922
- USENKO, C. Y., E. L. ABEL, A. HOPKINS, G. MARTINEZ, J. TIJERINA, M. KUDELA, N. NORRIS, L. JOUDEH & E. D. BRUCE. 2016. Evaluation of common use brominated flame retardant (BFR) toxicity using a zebrafish embryo model. *Toxics* 4(3): 21. DOI:10.3390/toxics4030021
- WANG, X., L. WEI, Y. WANG, B. HE, B. KONG, J. ZHU, Y. JIN & Z. FU. 2019. Evaluation of development, locomotor behavior, oxidative stress, immune responses and apoptosis in developing zebrafish (*Danio rerio*) exposed to DBECH (tetrabromoethylcyclohexane). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 217: 106-113. DOI:10.1016/j.cbpc.2018.12.004
- WATANABE, I. & S. I. SAKAI. 2003. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environment International* 29(6): 665-682. DOI:10.1016/S0160-4120(03)00123-5
- WINSTON, G. W. & R. T. DI GIULIO. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* 19(2): 137-161. DOI:10.1016/0166-445X(91)90033-6
- WSDOH (WASHINGTON STATE DEPARTMENT OF HEALTH). 2021. Contaminants in Fish. Available online at: <https://www.doh.wa.gov/CommunityandEnvironment/Food/Fish/ContaminantsinFish#> (downloaded February 12, 2021).
- WU, S., G. JI, J. LIU, S. ZHANG, Y. GONG & L. SHI. 2016. TBBFA induces developmental toxicity, oxidative stress, and apoptosis in embryos and zebrafish larvae (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology* 31(10): 1241-1249. DOI:10.1002/tox.22131
- WU, S., M. WU, M. QI, L. ZHONG & L. QIU. 2018. Effects of novel brominated flame retardant TBBPA on human airway epithelial cell (A549) *in vitro* and proteome profiling. *Environmental Toxicology* 33(12): 1245-1253. DOI:10.1002/tox.22632
- WU, Z., W. HAN, X. YANG, Y. LI & Y. WANG. 2019. The occurrence of polybrominated diphenyl ether (PBDE) contamination in soil, water/sediment, and air. *Environmental Science and Pollution Research International* 26(23): 23219-23241. DOI:10.1007/s11356-019-05768-w
- XIE, Z., G. LU & P. QI. 2014. Effects of BDE-209 and its mixtures with BDE-47 and BDE-99 on multiple biomarkers in *Carassius auratus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38(2): 554-561. DOI:10.1016/j.etap.2014.08.008
- XIONG, P., X. YAN, Q. ZHU, G. QU, J. SHI, C. LIAO & G. JIANG. 2019. A review of environmental occurrence, fate, and toxicity of novel brominated flame retardants. *Environmental Science & Technology* 53(23): 13551-13569. DOI:10.1021/acs.est.9b03159
- YAN, C., D. HUANG & Y. ZHANG. 2011. The involvement of ROS overproduction and mitochondrial dysfunction in PBDE-47-induced apoptosis on Jurkat cells. *Experimental and Toxicologic Pathology* 63(5): 413-417. DOI:10.1016/j.etp.2010.02.018
- YANG, S. W., S. R. WANG, Z. G. YAN & P. Q. ZHANG. 2012. Tissue distribution and bioconcentration factors of tetrabromobisphenol A in five fishes in lake Chaohu. *Huanjingkexue= Huanjingkexue* 33(6): 1852-1857.
- YANG, S., F. XU, B. ZHENG, F. WU & S. WANG. 2013. Multibiomarker responses upon exposure to tetrabromobisphenol A in the freshwater fish *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology* 142: 248-256. DOI:10.1016/j.aquatox.2013.08.013
- YU, L., Z. HAN & C. LIU. 2015. A review on the effects of PBDEs on thyroid and reproduction systems in fish. *General and Comparative Endocrinology* 219: 64-73. DOI:10.1016/j.ygcen.2014.12.010
- YUN, S. H., R. ADDINK, J. M. McCABE, A. OSTASZEWSKI, D. MACKENZIE-TAYLOR, A. B. TAYLOR & K. KANNAN. 2008. Polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in sediment and floodplain soils of the Saginaw River watershed, Michigan, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55(1): 1-10. DOI:10.1007/s00244-007-9084-3
- ZENG, Y. H., X. J. LUO, X. B. ZHENG, B. TANG, J. P. WU & B. X. MAI. 2014. Species-specific bioaccumulation of halogenated organic pollutants and their metabolites in fish serum from an e-waste site, South China. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 67(3): 348-357. DOI:10.1007/s00244-014-0040-8
- ZHANG, J., T. D. WILLIAMS, M. A. E. ABDALLAH, S. HARRAD, J. K. CHIPMAN & M. R. VIANT. 2015. Transcriptomic and metabolomic approaches to investigate the molecular responses of human cell lines exposed to the flame retardant hexabromocyclododecane (HBCD). *Toxicology in Vitro* 29(8): 2116-2123. DOI:10.1016/j.tiv.2015.08.017

- ZHANG, X., F. YANG, X. ZHANG, Y. XU, T. LIAO, S. SONG & J. WANG. 2008. Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rare minnow (*Gobio cyprisrurus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD). *Aquatic Toxicology* 86(1): 4-11. DOI:10.1016/j.aquatox.2007.07.002
- ZHANG, Y., X. WANG, C. CHEN, J. AN, Y. SHANG, H. LI, H. XIA, J. YU, C. WANG, Y. LIU & S. GUO. 2019. Regulation of TBBPA-induced oxidative stress on mitochondrial apoptosis in L02 cells through the Nrf2 signaling pathway. *Chemosphere* 226: 463-471. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.03.167
- ZHAO, J., T. XU & D. Q. YIN. 2014. Locomotor activity changes on zebrafish larvae with different 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (PBDE-47) embryonic exposure modes. *Chemosphere* 94: 53-61. DOI:10.1016/j.chemosphere.2013.09.010
- ZHOU, Z., B. ZHOU, H. CHEN, X. TANG & Y. WANG. 2019. Reactive oxygen species (ROS) and the calcium-(Ca²⁺) mediated extrinsic and intrinsic pathways underlying BDE-47-induced apoptosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gonadal cells. *Science of The Total Environment* 656: 778-788. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.11.306
- ZUIDERVEEN, E. A., J. C. SLOOTWEG & J. DE BOER. 2020. Novel brominated flame retardants-A review of their occurrence in indoor air, dust, consumer goods and food. *Chemosphere* 255: 126816. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.126816