

CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA MIKROJĄDER W RETIKULOCYTACH SAMCÓW MYSZY NARAŻANYCH NA BISFENOL A ORAZ NA SKOJARZONE DZIAŁANIE PROMIENIOWANIA X I BISFENOLU A

FREQUENCY OF MICRONUCLEI IN RETICULOCYTES OF MALE MICE EXPOSED TO BISPHENOL A AND TO A COMBINATION OF X-RAYS AND BISPHENOL A

Małgorzata M. Dobrzyńska, Joanna Radzikowska

Zakład Ochrony Radiologicznej i Radiobiologii
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Słowa kluczowe: bisfenol A, promieniowanie X, skojarzone działanie, mikrojądra

Key words: bisphenol A, X-rays, combined exposure, micronuclei

STRESZCZENIE

Celem pracy było zbadanie wpływu bisfenolu A oraz skojarzonego działania promieniowania X i bisfenolu A na indukcję mikrojąder w retikulocytach krwi obwodowej i szpiku kostnego samców myszy. Myszy Pzh:Sfis przez 2 tygodnie napromieniano promieniowaniem X (0,05 Gy i 0,10 Gy) lub podawano im bisfenol A (5 mg/kg mc, 10 mg/kg mc, 15 mg/kg mc, 20 mg/kg mc, 40 mg/kg mc) lub poddawano skojarzonemu działaniu obu czynników (0,05 Gy + 5 mg/kg mc BPA lub 0,10 Gy + 10 mg/kg mc BPA). Bisfenol A i promieniowanie X zastosowane osobno stymulowały powstawanie mikrojąder w retikulocytach szpiku kostnego i krwi obwodowej. Skojarzone działanie promieniowania X i bisfenolu A zwiększało częstość występowania mikrojąder w porównaniu do efektów notowanych w następstwie działania samego bisfenolu A. Niekiedy, szczególnie po zastosowaniu skojarzenia obu czynników w małych dawkach, efekty skojarzonego działania przewyższały również rezultaty uzyskane po działaniu samego promieniowania jonizującego. Promieniowanie jonizujące jest prawdopodobnie czynnikiem decydującym o pękaniu lub nierównomiernej dystrybucji chromosomów w wyniku skojarzonego działania z bisfenolem A, który jest słabszym mutagenem.

ABSTRACT

The aim of the study was to estimate the effects of bisphenol A and combined exposure to X-rays and bisphenol A on the induction of micronuclei in the blood and bone marrow reticulocytes. Pzh:Sfis male mice were irradiated (0.05 Gy and 0.10 Gy) or/and treated with bisphenol A (5 mg/kg mc, 10 mg/kg mc, 15 mg/kg mc, 20 mg/kg mc, 40 mg/kg mc) or exposed to combination of both (0.05 Gy + 5 mg/kg mc BPA lub 0.10 Gy + 10 mg/kg mc BPA) for 2 weeks. Bisphenol A as well as ionizing radiation alone stimulated induction of micronuclei in peripheral blood and bone marrow reticulocytes. Combined exposure of X-rays and bisphenol A induced higher frequency of micronuclei compared to effect produced by BPA alone. Sometimes, especially after combined exposure to low doses of both agents, observed effects enhanced that obtained following exposure to X-rays alone. Ionising radiation is probably the agent which decided about damage and/or unequal distribution of chromosomes following combined exposure together with bisphenol A, which seems to be weak mutagen.

WSTĘP

Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (EPA) definiuje środowiskowe związki o aktywności estrogennej (ang. *endocrine disruptors*) jako egzogenne czynniki, które w organizmie zaburzają syntezę, wydzielanie, transport, wiązanie, działanie oraz eliminację

naturalnych hormonów odpowiedzialnych za zachowanie homeostazy, reprodukcję, rozwój i/lub behavior [21]. Do tej grupy związków zaliczane są m.in. niektóre pestycydy, ftalany, fitoestrogeny. Związki takie mogą wchodzić w skład produktów przemysłowych, komercyjnych oraz medycznych i farmaceutycznych [5, 24]. Mogą one wpływać w różnorodny sposób na zdrowie człowieka. Powodują m.in. występowanie nowotworów

Adres do korespondencji: Małgorzata M. Dobrzyńska, Zakład Ochrony Radiologicznej i Radiobiologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny, 00-791 Warszawa ul. Chocimska 24, tel, 022 5421 253, fax 022 54 21 309, e-mail: mdobrzynska@pzh.gov.pl

i zmian patologicznych w układzie rozrodczym oraz wpływają na pogorszenie płodności wskutek zmniejszonej produkcji nasienia [24]. Ponadto, mogą wywoływać efekty teratogenne, kancerogenne i mutagenne. Związki zaburzające procesy wydzielania wewnętrznego mogą także zaburzać proces rozdzielania chromosomów podczas mejozy [26].

Bisfenol A (BPA) jest związkiem bifenolowym zawierającym 2 grupy hydroksylowe w pozycji „para” i budową przypomina syntetyczny hormon dietylostilbestrol (DES). Ma właściwości estrogenne, jest 10 000 razy mniej aktywny niż 17 *beta*-estradiol i 20 000 razy mniej aktywny niż DES [31]. Używany jest jako surowiec do produkcji tworzyw sztucznych poliwęglanowych i żywic epoksydowych. BPA występuje m.in. w wysokojakościowych wyrobach z przezroczystych tworzyw sztucznych, w wewnętrznych powłokach puszek do napojów i żywności, cysternach do przechowywania wina, mleka lub wody, w rurach wodociągowych, butelkach dla niemowląt, materiałach do wypełnień dentystycznych, soczewkach, plastrach opatrunkowych [21]. W związku z niecałkowitą polimeryzacją podczas produkcji wyrobów zawierających bisfenol A oraz depolimeryzacją spowodowaną wzrostem temperatury, BPA i jego pochodne są wymywane do żywności, odżywek dla niemowląt i napojów lub do śliny pacjentów po założeniu wypełnień dentystycznych [21].

Promieniowanie jonizujące jest czynnikiem powszechnie występującym w środowisku człowieka. Pochodzi ono ze źródeł naturalnych i sztucznych. Mechanizm oddziaływania promieniowania jonizującego na organizm związany jest z pochłonięciem energii w procesie jonizacji (tj. oderwania elektronu, który zaczyna poruszać się swobodnie) lub wzbudzenia atomu (w wyniku przejścia jednego z elektronów na wyższy poziom energetyczny). Prowadzi to do zmian na poziomie molekularnym. Wzbudzone i zjonizowane atomy i cząstki ulegają przemianom w wolne rodniki, które będąc silnymi utleniaczami mogą indukować zaburzenia struktury DNA (np. rozerwanie nici DNA, mutacje punktowe, aberracje chromosomowe) prowadzące do blokady funkcji lub śmierci komórki. Skutek biologiczny promieniowania zależy od wielkości i mocy dawki oraz od promieniotrażliwości poszczególnych komórek i tkanek.

Oba czynniki zazwyczaj występują w środowisku w małych dawkach i posiadają niewielką aktywność. Podczas jednorazowego narażenia nie powodują więc ujemnych skutków zdrowotnych. Jednak długotrwała ekspozycja może prowadzić do zmian zarówno w komórkach somatycznych, jak i rozrodczych.

Dotychczas nie publikowano prac na temat wpływu skojarzonego działania promieniowania X i bisfenolu A. Dane na temat wpływu związków o aktywności estrogennej na organizm ssaków są fragmentaryczne. Celem niniejszej pracy było więc zbadanie wpływu bisfenolu

A oraz skojarzonego działania promieniowania X i bisfenolu A na indukcję mikrojąder w retikulocytach krwi obwodowej i szpiku kostnego myszy.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny stanowiły 8-tygodniowe samce myszy pochodzące z niewsobnego stada Pzh:Sfis. Zwierzęta przebywały w pomieszczeniu o stałej temperaturze i wilgotności z automatycznie regulowanym dobowym cyklem świetlnym. Samce napromieniano promieniowaniem X lub/i podawano im bisfenol A rozpuszczony w niewielkiej ilości alkoholu etylowego 70 %, a następnie rozcieńczony do odpowiedniej dawki w wodzie do picia. Zwierzęta poddawane były działaniu badanych czynników przez 2 tygodnie.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę IV Lokalnej Komisji Etycznej w Warszawie.

Źródłem promieniowania był terapeutyczny aparat rentgenowski THX-250 firmy Medicor. Parametry jego pracy były następujące: 170 kV, 20 mA, filtracja dodatkowa 0,5 mm Cu, warstwa połówkowa 0,8 mm Cu. Moc dawki wynosiła 0,20 Gy/min na całe ciało. Dawki promieniowania X wynosiły 0,05 Gy i 0,10 Gy. Dawki bisfenolu A wynosiły 5 mg/kg mc, 10 mg/kg mc, 15 mg/kg mc, 20 mg/kg mc i 40 mg/kg mc. W przypadku skojarzonego działania zastosowano dawki 0,05 Gy + 5 mg/kg mc BPA i 0,10 Gy + 10 mg/kg BPA. Krew z żyły ogonowej pobierano myszom po upływie 1 tygodnia od rozpoczęcia ekspozycji oraz po 24 h od jej zakończenia, a szpik kostny tylko po zakończeniu narażenia. Oceny indukcji mikrojąder w krwi obwodowej i szpiku kostnego dokonano według metody opisanej przez *Hayashi* i wsp. [15]. Z żyły ogonowej każdej myszy pobierano po 10 µl krwi, którą nanoszono na szkiełko mikroskopowe pokryte wodnym roztworem oranżu akrydynowego. Szpik kostny uzyskiwano poprzez wyizolowanie kości udowej i przepłukanie kanału szpikowego surowicą płodową cielęcą. Zawiesinę odwirowywano, po usunięciu większości supernatantu, pozostałość dokładnie mieszano. Na szkiełko mikroskopowe pokryte wodnym roztworem oranżu akrydynowego nanoszono po 25 µl otrzymanej zawiesiny komórek i przykrywano szkiełkiem nakrywkowym. Częstość występowania mikrojąder w retikulocytach krwi obwodowej i szpiku kostnego oceniano pod mikroskopem fluorescencyjnym zliczając po 1000 retikulocytów z każdej myszy i rejestrując liczbę komórek z mikrojądami.

Analizy statystycznej dokonano za pomocą testu *t-Studenta*.

WYNIKI

Wyniki z badań przedstawiono w tabeli 1.

porównaniu z efektami działania samego promieniowania. Indukcja mikrojąder po 2-tygodniowej ekspozycji była prawie dwukrotnie wyższa niż w połowie okresu

Tabela 1. Indukcja mikrojąder w retikulocytach samców myszy w następstwie 2-tygodniowej ekspozycji na bisfenol A lub/i na promieniowania X

Induction of micronuclei in male mice reticulocytes following 2-weeks exposure to X-rays and/or bisphenol A

Dawka	MN/1000 retikulocytów w krwi obwodowej \pm SD		MN/1000 retikulocytów w szpiku kostnym \pm SD
	po 1 tygodniu	po 2 tygodniach	
Kontrola	5,17 \pm 0,98	4,50 \pm 2,59	2,17 \pm 0,98
5 mg BPA	9,40 \pm 3,97 ^{ns}	6,40 \pm 4,10 ^{ns}	5,00 \pm 2,00*
10 mg BPA	8,20 \pm 2,77*	6,60 \pm 2,30 ^{ns}	5,20 \pm 2,59*
15 mg BPA	12,80 \pm 2,94*	8,60 \pm 1,67*	5,00 \pm 1,83*
20 mg BPA	9,80 \pm 2,28*	6,60 \pm 2,50 ^{ns}	2,40 \pm 0,89 ^{ns}
40 mg BPA	8,80 \pm 3,11*	8,80 \pm 2,39*	3,60 \pm 1,34 ^{ns}
0,05 Gy	14,20 \pm 7,90*	15,20 \pm 3,70*	5,40 \pm 3,65*
0,10 Gy	20,00 \pm 8,28*	19,20 \pm 1,64*	7,20 \pm 5,07*
0,05 Gy + 5 mg BPA	18,00 \pm 4,95*	17,60 \pm 8,38*	6,20 \pm 2,77*
0,10 Gy + 10 mg BPA	12,75 \pm 4,11*	22,40 \pm 8,79*	6,00 \pm 4,30*

* $p < 0,05$ w porównaniu do kontroli w teście *t-Studenta*

Po 1-tygodniowej ekspozycji częstość występowania mikrojąder we krwi obwodowej była największa po zastosowaniu bisfenolu A w dawce 15 mg/kg mc. Wszystkie wyniki, oprócz uzyskanych po ekspozycji na BPA w dawce 5 mg/kg mc BPA różniły się statystycznie od kontrolnych. Po 2 tygodniach podawania BPA częstość występowania mikrojąder zwiększała się w zakresie dawek od 5 do 15 mg/kg mc. Po zastosowaniu BPA w dawce 20 mg/kg mc zmniejszyła się ona do poziomu obserwowanego po dawce 10 mg/kg mc BPA, a po ekspozycji na BPA w dawce 40 mg/kg mc znów wzrosła się do poziomu obserwowanego przy dawce 15 mg/kg mc BPA. Tylko wyniki uzyskane po zastosowaniu BPA w dawce 15 mg/kg mc i 40 mg/kg mc różniły się istotnie od kontrolnych. Po zastosowaniu BPA we wszystkich dawkach oprócz najwyższej obserwowano niższą częstość indukcji mikrojąder po 2 tygodniach niż w połowie okresu ekspozycji. Po zastosowaniu BPA w dawce 40 mg/kg mc częstość występowania mikrojąder była taka sama po 1, jak i po 2 tygodniach. W następstwie napromieniania promieniowaniem X częstość występowania mikrojąder wzrastała w zależności od dawki. Wyniki różniły się statystycznie od kontrolnych. Liczebność mikrojąder po 1 i po 2 tygodniach była podobna. Skojarzone działanie promieniowania X i BPA w dawkach 0,05 Gy + 5 mg/kg mc indukowało powstawanie mikrojąder w krwi obwodowej z częstością wyższą niż po zastosowaniu każdego z czynników oddzielnie, zarówno po tygodniowej, jak i po dwutygodniowej ekspozycji. Częstość ta była podobna w połowie okresu ekspozycji i po jej zakończeniu. Skojarzone działanie promieniowania X i bisfenolu A w dawkach 0,10 Gy + 10 mg/kg mc BPA po 1-tygodniowej ekspozycji indukowało występowanie mikrojąder z częstością większą niż po zastosowaniu samego bisfenolu A, ale niższą w

ekspozycji. Częstość występowania mikrojąder była w tym wypadku wyższa niż po zastosowaniu każdego z czynników osobno. Wyniki uzyskane po skojarzonym działaniu promieniowania X i BPA w retikulocytach krwi obwodowej były znamienne statystycznie.

W retikulocytach szpiku kostnego częstość występowania mikrojąder była podobna po zastosowaniu dawek 5, 10 i 15 mg/kg mc BPA. Częstość ta była ponad 2-krotnie wyższa niż u zwierząt kontrolnych, a wyniki były istotne statystycznie. Natomiast po ekspozycji zwierząt na BPA w dawce 20 mg/kg mc częstość występowania mikrojąder zmniejszyła się do poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych. Z kolei po zastosowaniu BPA w dawce 40 mg/kg mc liczebność mikrojąder znów nieco wzrosła. Samo promieniowanie jonizujące indukowało powstawanie mikrojąder z częstością wzrastającą zależnie od dawki. Wyniki różniły się statystycznie od kontrolnych. Skojarzone działanie promieniowania X i BPA w mniejszych dawkach powodowało indukcję mikrojąder z częstością większą niż po zastosowaniu każdego z czynników osobno. Natomiast skojarzone działanie obu czynników w wyższych dawkach powodowało występowanie mikrojąder z częstością wyższą niż po zastosowaniu samego BPA, ale niższą niż po napromienianiu promieniowaniem X w dawce 0,10 Gy. Częstość występowania mikrojąder po zastosowaniu wyższych i niższych dawek obu czynników były podobne i różniły się statystycznie od wyników kontrolnych.

DYSKUSJA

W piśmiennictwie nie ma jednoznacznych danych na temat wpływu związków o aktywności estrogennej

na komórki somatyczne ssaków. Niektórzy autorzy obserwowali zwiększoną częstość występowania mikrojąder, aberracji chromosomowych lub wymiany chromatyd siostrzanych pod wpływem związków z tej grupy [9, 14, 17]. Wyniki innych badań świadczą o braku estrogennej właściwości związków o aktywności estrogennej w stosunku do materiału genetycznego komórek somatycznych [2, 3, 6, 12, 16, 30].

W niniejszej pracy wykazano indukcję mikrojąder w retikulocytach krwi obwodowej i szpiku kostnego samców myszy PzH:Sfis w następstwie 2-tygodniowego podawania bisfenolu A w wodzie do picia. Podobnie, *Masuda* i wsp. [23] wykazali indukcję mikrojąder w retikulocytach myszy szczepu ICR po jednorazowym dożołądkowym podaniu bisfenolu A. Jednakże, *Pacchierotti* i wsp. [27] nie stwierdzili indukcji mikrojąder w erytrocytach polichromatycznych szpiku kostnego myszy w wyniku doustnego podawania BPA. *Bolognesi* i wsp. [4] wykazali indukcję mikrojąder przez BPA i jego pochodne w erytrocytach ryb. Inni autorzy obserwowali wpływ BPA na indukcję mikrojąder w hodowlach komórek ludzkich. *Kabil* i wsp. [18] wykazali indukcję mikrojąder w komórkach MCF-7 raka piersi, natomiast *Johnson i Parry* [18] w hodowlach ludzkich limfoblastów AHH1. BPA nie indukował mikrojąder w hodowlach ludzkich fibroblastów AGO1522C [20] ani w hodowlach komórek V79 chomika chińskiego [28].

Rezultatem skojarzonego działania dwóch czynników może być zwiększenie efektu indukowanego przez każdy z nich [3, 10, 12] lub też jeden z czynników może powodować zmniejszenie efektu biologicznego indukowanego przez drugi [1, 8, 16, 22]. W niniejszej pracy po zastosowaniu obu czynników w małych dawkach wykazano indukcję mikrojąder z częstością większą niż po działaniu każdego z czynników oddzielnie. Natomiast po skojarzonym działaniu obu czynników w większych dawkach obserwowano występowanie mikrojąder z częstością znacznie przewyższającą efekt działania samego bisfenolu A. Częstość ta była podobna lub nieco niższa od obserwowanej po działaniu samego promieniowania X. Wydaje się więc, że bisfenol A jest słabszym mutagenem niż promieniowanie jonizujące, które potęguje efekt działania ksenoestrogenu. Znany jest natomiast modulujący wpływ promieniowania ultrafioletowego na efekty działania związków zaburzających procesy wydzielania wewnętrznego. *Mutou* i wsp. [25] wykazali, że promieniowanie ultrafioletowe powoduje zwiększoną aktywność estrogenną ftalanów lub degradację estradiolu i bisfenolu A. Wykazano także, że promieniowanie UVB zmniejsza aktywność estrogenną bisfenolu A [29]. W poprzednich latach w Zakładzie Ochrony Radiologicznej i Radiobiologii NIZP-PZH prowadzono badania skojarzonego działania promieniowania X i innego związku o aktywności

estrogennej, nonylfenolu. Po 2-tygodniowej ekspozycji wykazano stymulujące działanie na tworzenie mikrojąder w retikulocytach krwi obwodowej i szpiku kostnego samców myszy po zastosowaniu obu czynników w małych dawkach, podczas gdy po zastosowaniu obu czynników w większych dawkach wykazano ochronne właściwości nonylfenolu w stosunku do mutagennych skutków indukowanych przez promieniowanie X [7]. Natomiast po 8-tygodniowej ekspozycji na oba czynniki obserwowano zwiększoną indukcję mikrojąder, zarówno po zastosowaniu mniejszych, jak i większych dawek obu czynników [11].

WNIOSKI

1. Bisfenol A uszkadza materiał genetyczny retikulocytów krwi obwodowej i szpiku kostnego, czego konsekwencją jest indukcja mikrojąder.
2. Skojarzenie bisfenolu A z promieniowaniem jonizującym przewyższa efekt obserwowany w wyniku działania samego ksenoestrogenu. Promieniowanie jonizujące jest prawdopodobnie czynnikiem decydującym o pękaniu lub/i nierównomiernej dystrybucji chromosomów w wyniku skojarzonego działania z bisfenolem A, który jest słabszym mutagenem.

PIŚMIENNICTWO

1. *Al-Shabana O.A.*: Inhibition of adriamycin-induced micronuclei by deferoxamine in Swiss albino mice. *Mutat. Res.* 1992, 301, 107-111
2. *Ashby J., Fletcher K., Williams C., Odum J., Tinwell H.*: Lack of activity of estradiol in rodent bone marrow micronucleus assays. *Mutat. Res.* 1997, 395, 83-88.
3. *Astill B., Barber E., Lington A., Moran E., Mulholland A., Robinson E., Scheider B.*: Chemical industry voluntary test program for phthalate esters: health effects studies. *Environ. Health Perspect.* 1986, 65, 329-336.
4. *Bolognesi C., Perrone E., Roqseri P., Pampanin D.M., Sciutto A.*: Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquat. Toxicol.* 2006, 78, 93-98.
5. *Choi S.M., Yoo S.D., Lee B.M.*: Toxicological Characteristics of the Endocrine-Disrupting Chemicals: Developmental Toxicity, Carcinogenicity, and Mutagenicity. *J. Toxicol. Environ. Health* 2004, Part B, 7, 1-24.
6. *Chrisman C.L., Baumgartner A.P.*: Cytogenetic effects of diethylstilbestrol-diphosphate (DES-dp) on mouse bone marrow monitored by the micronucleus test. *Mutat. Res.* 1979, 67, 157-160.
7. *Czajka U., Dobrzyńska M.M.*: Indukcja mikrojąder w komórkach somatycznych myszy eksponowanych na działanie promieniowania X lub nonylfenolu oraz na

- skojarzone działanie obu czynników. Rocz. PZH 2006, 57, 155-164.
8. *De A.K., Agarwal K., Mukherjee A., Sengupta D.*: Inhibition by capsaicin agonist cyclophosphamide induced clastogenicity and DNA damage in mice. *Mutat. Res.* 1995, 335, 253-258.
 9. *Dhillon V.S., Dhillon I.K.*: Genotoxicity evaluation of estradiol. *Mutat. Res.* 1995, 345, 87-95.
 10. *Dobrzyńska M.M.*: Micronucleus formation induced by combination of low doses of X-rays and antineoplastic drugs in bone marrow of male mice. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 2000, 20, 321-327.
 11. *Dobrzyńska M. M.*: Ocena częstości występowania mikrojąder w erytrocytach myszy eksponowanych subchronicznie na promieniowanie jonizujące i nonylofenol. *Rocz. PZH* 2008, 59, 3, 309 – 318.
 12. *Dobrzyńska M.M., Gajewski A.K.*: Induction of micronuclei in bone marrow and sperm head abnormalities after combined exposure of mice to low doses of X-rays and acrylamide. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 2000, 20, 133-140.
 13. *Douglas G.R., Hugenholtz A.P., Blakey H.*: Genetic toxicology of phthalate esters: mutagenic and other genotoxic effects. *Environ. Health Perspect.* 1986, 65, 255-262.
 14. *Fauth E., Scherthan H., Zankl H.*: Chromosome painting reveals specific patterns of chromosome occurrence in mitomycin C and diethylstilboestrol induced micronuclei. *Mutagenesis* 2000, 15, 459-467.
 15. *Hayashi M., Morita T., Kodama Y., Sofuni T., Ishidate M. Jr.*: The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat. Res.* 1990, 245, 245-249.
 16. *Heo M.Y., Yu K.S., Kim K.H., Kim H.P., Au W.W.*: Anticlastogenic effects of flavonoids against mutagen-induced micronuclei in mice. *Mutat. Res.* 1992, 284, 243-249.
 17. *Hundal B.S., Dhillon V.S., Sidhu I.S.*: Genotoxic potential of estrogens. *Mutat. Res.* 1997, 389, 173-181.
 18. *Johnson G.E., Parry E.M.*: Mechanistic investigations of low dose exposures to the genotoxic compounds bisphenol – A and rotenone. *Mutat. Res.* 2008, 651, 56 – 63.
 19. *Kabil A., Silva E., Kortenkamp A.*: Estrogens and genomic instability in human breast cancer cells – involvement of Src/Raf/Erk signaling in micronucleus formation by estrogenic chemicals. *Carcinogenesis* 2008, 29, 1862 – 8.
 20. *Lehmann L., Metzler M.*: Bisphenol A and its methylated congeners inhibit growth and interfere with microtubules in human fibroblasts in vitro. *Chem Biol Interact.* 2004, 147, 273-85.
 21. *Markey C.M., Rubin B.S., Soto A.M., Sonnenschein C.*: Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental developmental biology. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2003, 83, 235-244.
 22. *Marks H.S., Anderson D., Stoewsand G.S.*: Inhibition of benzo(α)pyrene-induced bone marrow micronuclei formation by diallyl thioethers in mice. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1992, 37, 1-9.
 23. *Masuda S., Terashima Y., Sano A., Kuruto R., Sugiyama Y., Shimoi K., Tanji K., Yoshioka H., Terao Y., Kinane N.*: Changes in the mutagenic and estrogenic activities of bisphenol A upon treatment with nitrite. *Mutat. Res.* 2005, 585, 137 – 46.
 24. *Mendes A.J.J.*: The endocrine disruptors: a major medical challenge. *Food Chem. Toxicol.* 2002, 40, 781-88.
 25. *Mutou Y., Ibuki Y., Terao Y., Kojima S., Goto R.*: Change of estrogenic activity and release of chloride ion in chlorinated bisphenol A after exposure to ultraviolet B. *Biol. Pharm. Bull.* 2006, 29, 2116-19.
 26. *Pacchierotti F., Ranaldi R.*: Mechanisms and risk of chemically induced aneuploidy in mammalian germ cells. *Curr. Pharm. Des.* 2006, 12, 1489-1504.
 27. *Pacchierotti F., Ranaldi R., Eichenlaub - Ritter U., Attia S., Adler I.D.*: Evaluation of aneugenic effects of bisphenol A in somatic and germ cells of the mouse. *Mutat. Res.* 2008, 651, 64 - 70.
 28. *Pfeiffer E., Rosenberg B., Deuschel S., Metzler M.*: Interference with microtubules and induction of micronuclei in vitro by various bisphenols. *Mutat. Res.* 1997, 390, 21- 31.
 29. *Rosenfeld E.J., Linden K.G.*: Degradation of endocrine disrupting chemicals bisphenol A, ethinyl estradiol, and estradiol during UV photolysis and advanced oxidation processes. *Environ. Sci. Technol.* 2004, 38, 5476-83.
 30. *Shelby M.D., Tice R.R., Witt K.L.*: 17-β-Estradiol fails to induce micronuclei in the bone marrow cells of rodents. *Mutat. Res.* 1997, 395, 89-90.
 31. *Tyl R.W., Myers C.B., Thomas B.F., Keimowitz A.R., Brine D.R., Veselica M.M., Fail P.A., Chang T.Y., Seely J.C., Joiner R.L., Butala J.H., Dimond S.S., Cagen S.Z.*: Three-Generation Reproductive Toxicity Study of Dietary Bisphenol A in CD Sprague-Dawley Rats. *Toxicol. Sci.*, 2002, 68, 121-146.

Otrzymano: 08.07.2009

Zaakceptowano do druku: 06.01.2010

