

임신 중 내분비계 장애물질 Bisphenol A의 양수 내 농도와 임신결과와의 상관관계

윤정미¹ · 권자영¹ · 윤용달² · 김세광^{1,*}

¹연세대학교 의과대학 산부인과학교실, ²한양대학교 자연과학대학 생명과학과

Amniotic Fluid Bisphenol A Level and Its Relationship with Pregnancy Outcomes

Jeongmi Yoon¹, Ja Young Kwon¹, Yong-Dal Yoon² and Sei Kwang Kim^{1,*}

¹Dept. of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea

²Dept. of Life Sciences, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

ABSTRACT : Bisphenol A (BPA), a chemical with weak estrogenic activity is reported to affect preimplantation embryos, fetuses and alter their postnatal development. This study aimed to determine the relation between the levels of BPA in the amniotic fluid and pregnancy outcomes. ELISA was used to measure amniotic fluid BPA in 120 pregnant women who underwent genetic amniocentesis at 15~20 weeks gestation. The most common indication for amniocentesis was advanced maternal age (35 yrs or older). BPA was detected in all amniotic fluid. The range of amniotic fluid BPA concentrations was from 0.89 ng/mL to 37.13 ng/mL with a mean level of 7.24 ng/mL. We compared the means of amniotic fluid BPA concentrations according to maternal age (≥ 35 vs. < 35 yrs), fetal sex (male vs. female), gestational age at birth (≥ 37 vs. < 37 weeks), and infant birth weight (≥ 2.5 vs. < 2.5 kg). No significant differences were found in these outcomes. This is the first report of amniotic fluid BPA levels in Korean pregnant women. Our findings suggest that BPA may not affect the pregnancy outcomes such as fetal sex, preterm delivery and low birth weight. Whether prenatal exposure to BPA can have teratogenic effect on developing embryo needs to be studied.

Key words : Bisphenol A, Amniotic fluid, Human pregnancy, Developing embryo

요 약 : Bisphenol A(BPA)는 약한 estrogen 활성도를 보이는 화학물질로서 착상 전 배아나 태아에 영향을 미쳐, 출생 후 그들의 신체발달에 변화를 초래한다고 알려져 있다. 본 연구는 인체에서 임신 중기에 양수 내 BPA 농도를 측정하였으며, 측정된 농도에 따라 임신결과에 영향을 미치는지 여부를 알아보고자 하였다. 임신 15주에서 20주 사이에 유전학적 적응증으로 양수천자 검사를 시행 받았던 120명의 임신부 양수를 연구대상으로 ELISA 방법으로 농도를 측정하였다. 양수천자의 가장 많은 적응증은 35세 이상의 고령 임신부였다. BPA는 모든 양수에서 검출이 가능하였으며, 그 농도는 최저치 0.89 ng/mL부터 최고치 37.13 ng/mL까지의 분포를 보였고, 평균치는 7.24 ng/mL이었다. 양수 내 BPA 농도가 여러 임신결과들과 관련성이 있는지를 알아보기 위해 임신부 나이 35세 이상 대 미만, 남자 태아 대 여자 태아, 분만 당시 제태 연령 37주 이상 대 미만, 출생 당시 신생아 체중 2.5 kg 이상 대 미만으로 각각 나누어, 두 군간에 농도를 비교한 결과, 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 본 연구는 한국인 임신부를 대상으로 최초로 양수 내 BPA 농도에 관한 보고이다. 본 연구결과 BPA 농도는 임신부 나이나 태아성별에 따라 차이를 보이지 않았으며, 조산이나 저체중아의 발생과도 관련이 없음을 알 수 있었다. 향후 산전 BPA 노출이 배발생에 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

서 론

Bisphenol A(BPA)는 에스트로겐성 화합물로서, 많은 음료와 음식의 포장재료 성분의 하나인 epoxy resin과 polycarbonate 플라스틱의 생산에 사용된다. 최근 이와 같은 환경 화학물질이 인체에서 여러 질환의 원인이 될 수 있다는 우려가 증가하고 있다. 그러나 인체에서 내분비 교란물질의

* 교신저자: 김세광, 서울특별시 서대문구 연세로 50 연세대학교 의과대학 산부인과학교실. (우) 120-752, (전) 02-2228-2237, (팩) 02-313-8357, E-mail: skkim@yuhs.ac

영향에 대한 신뢰할만한 증거는 아직까지 부족하다. BPA의 역할에 대해서는 그간 여러 동물실험을 통해 에스트로겐 작용(Ashby & Tinwell, 1998), 정자 생성의 감소(Nikula et al., 1999), prolactin 분비자극(Steinmetz et al., 1997), 유방암 cell line에서 세포증식의 촉진(Krishman et al., 1993), 착상전 발달에 영향(Takai et al., 2001) 등이 보고되어 있다. 최근에는 인체의 태아도 양수와 태반을 통해 BPA에 노출이 될 수 있다는 보고가 있다(Ikezuki et al., 2002). 본 연구는 한국인 임신부를 대상으로 임신중기에 양수 내 BPA 농도를 측정함으로써 이를 바탕으로 하여 향후 태아에서 BPA 노출에 따른 위험도를 판단할 수 있는 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료되어 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 연세대학교 의과대학 세브란스병원 임상연구 심의위원회(Institutional Review Board)의 승인(4-2008-0274)을 받아 신촌 세브란스병원에서 임신 15주와 20주 사이에 여러 임상적 적응증으로 양수천자 검사를 시행 받았던 120명 임신부의 양수 및 이들의 분만 결과를 대상으로 하였다.

2. 양수채취

유전학적 양수천자의 적응증으로는 분만 당시 35세 이상의 고령임신부가 가장 많았고, 그 외에 초음파 검사상 태아기형이 의심되거나, 임신부 혈액을 이용한 다운증후(Down Syndrome) 태아에 대한 산전 선별검사인 triple test나 quadruple test 결과, 양성 소견(screen positive)을 보인 경우가 대부분을 차지하였다. 양수천자 방법은 초음파 유도하에 21 gauge 크기의 긴 바늘을 자궁내로 찌러 통상 15~20 mL 정도의 양수를 채취하였다. 채취한 양수로 세포유전학적 분석을 시행하고, 남은 양수를 이용하여 BPA 농도를 측정하였다. 양수 내에 혈액이 섞여 있거나 비정상 염색체 소견을 보인 경우는 연구대상에서 제외하였다.

3. ELISA를 이용한 BPA 농도 측정

양수 내 총 BPA 농도는 ELISA kit(Ecologiena, Japan Enviro Chemicals, Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 solid phase extraction 방법으로 측정하였다. 양수 내 결합형 BPA는 양

수시료(0.1 mL), acetic acid buffer(pH 5.0, 0.2 mL) 그리고 β -Glucuronidase(0.01 mL, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA)와 37°C에서 18시간 동안 반응시켜 가수분해시켰다. 이렇게 얻어진 시료는 Isolute M-M cartridge(ISOLUTE M-M 500 mg/3 mL PART#: 904-0050-B INTERNATIONAL SORBENT TECHNOLOGY)를 이용하여 다음과 같은 과정을 거쳐 전처리 시켰다.

Isolute M-M cartridge에 메탄올(10 mL)과 증류수(6 mL)로 필터를 전처리한 후 양수 시료를 넣고, 35% 메탄올을 통과시키고, 메탄올 2.5 mL로 용리해냈다. 이렇게 얻어진 용매는 speedvac에서 3시간 동안 증발시킨 뒤 100% 메탄올을 넣고 vortex로 강하게 섞어서 최종 농도 10% 메탄올이 되도록 증류수로 녹여냈다. 전처리가 끝난 각각의 양수시료(100 μ L)는 ELISA Kit에 포함된 conjugate solution(100 μ L)와 혼합하여 BPA가 코팅되어 있는 microplate well에 넣어 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 반응 후 microplate well에 남아있는 반응액은 완전히 제거하고, washing buffer로 세 번 세정하여 100 μ L의 color solution으로 30분간 상온에서 발색시켰다. 반응을 종결시키기 위해 100 μ L의 stop solution을 넣어준 후, ELISA reader를 이용하여 흡광도 450 nm에서 각 standard solution을 측정하여 standard curve를 작성하였다. 각 양수 시료 내 BPA 농도는 standard curve를 통해 정량적으로 산출하였다.

4. 임신결과

신생아의 임신결과를 분석하기 위해서 본 병원에서 분만한 경우는 전자의무 기록부를 분석하였고, 타병원에서 분만했던 경우는 분만 결과를 전화로 확인하였다.

5. 통계처리

통계적인 분석은 the Mann-Whitney test를 사용하여 그룹 간 차이를 분석하였으며, 모든 통계 분석은 SPSS, version 14.0을 사용하였고, $p < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다. 분석 결과는 평균과 표준편차로 제시하였다.

결 과

1. 임신부 임상적 특징

연구대상 임신부들에 대한 임상적 특징과 이들의 분만 후

Table 1. Characteristics of study population

Demographic (n=120)	Mean±SD
Maternal age (yrs)	33.25±4.24
Maternal BMI (kg/m ²)	26.82±4.08
Maternal age at menarche (yrs)	14.31±1.81
Gestational age at amniocentesis (wks)	18.41±2.59
Gender of neonates	
Male	55 (45.83) ^a
Female	65 (54.17) ^a
Gestational age at birth (wks)	37.96±3.74
Birth weight of infants (kg)	3.31±2.19

^a: Data are given as numbers (%).

임신결과에 대한 내용을 요약하면, 염색체 분석을 위해 양수 천자를 받은 임신부는 총 120명이었고, 평균 연령은 33.2세, 체질량 지수는 26.8 kg/m²이었다. 재태연령(gestational age)은 평균 37.9주, 출생 시 태아의 평균 체중은 3.3 kg였으며, 태아의 성별은 남아가 55명, 여아가 65명이었고, 태아에서 생식기 기형을 보인 예는 없었다(Table 1).

2. 양수 BPA 농도 분포

총 BPA 농도를 ELISA 분석방법을 이용하여 측정한 결과, 전체 연구대상 임신부의 50% 이상에서 5 ng/mL 미만을 보였으며, 그 분포는 Fig. 1과 같다. BPA가 검출이 안 된 경우는 없었고, 농도가 0에서 2.5 ng/mL 사이를 보이는 경우가 65명(54%)으로 가장 많은 빈도를 보였다. 최저치 0.89 ng/mL 부터 최고치 37.13 ng/mL까지의 분포를 보였고, 평균치는 7.24 ng/mL, 중앙치는 5.56 ng/mL이었다(Table 2).

3. 임신결과에 따른 양수 BPA 농도 비교

고령 임신부의 기준이 되는 35세 이상군과 35세 미만의 두 군으로 나누어 두 군간 BPA 농도 차이를 비교했을 때, 고령 임신부군에서 농도가 5.0 ng/mL로 35세 미만군 4.6 ng/mL

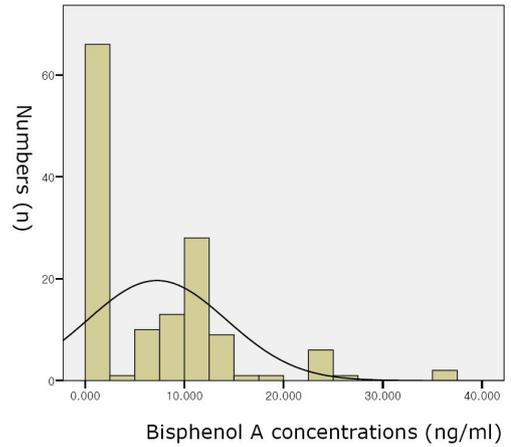


Fig. 1. Distribution of bisphenol A concentrations in amniotic fluid from 120 subjects. Bisphenol A concentration was measured by ELISA and subject numbers in the range of each concentration were calculated in frequency analysis using SPSS®, version 14.0 for Windows™.

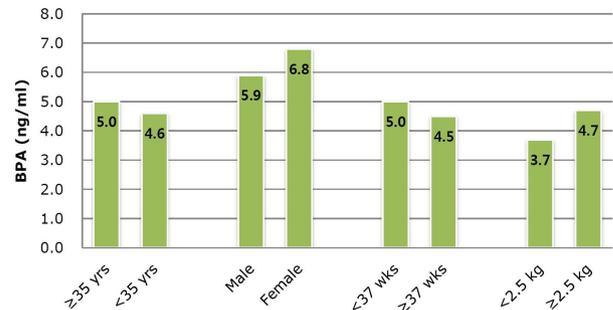


Fig. 2. Comparison of mean amniotic fluid bisphenol A concentrations in various pregnancy outcomes. Differences between groups were assessed using the non-parametric Mann-Whitney U-test and analysis of covariance adjusting for maternal age, fetal sex, gestational age at birth, and fetal weight. Statistical analyses were based on two-tailed test and performed by using SPSS®, version 14.0 for Windows™.

보다 높았으나 유의한 차이는 보이지 않았다. 그 외 신생아 성별이 남아(5.9 ng/mL)보다 여아(6.8 ng/mL), 재태연령이

Table 2. Means and selected percentiles of bisphenol A concentrations in amniotic fluid from 120 subjects

	Mean(SD)	Min	10 th	25 th	50 th	75 th	90 th	95 th	Max
Bisphenol A (ng/mL)	7.24(7.07)	0.89	1.38	1.65	5.59	11.22	14.22	22.85	37.13

Min: minimum, Max: maximum.

조산의 정의가 되는 37주를 기준으로 37주 이상(4.5 ng/mL)보다 37주 미만(5.0 ng/mL), 분만 당시 신생아 체중이 저출산 체중의 기준이 되는 2.5 kg 미만(3.7 ng/mL)보다 이상(4.7 ng/mL)군에서 각각 BPA 농도가 높게 나타났으나, 이 역시 통계학적으로 유의한 차이는 아니었다(Fig. 2).

고 찰

BPA는 내분비 교란물질로 알려져 있으며, 생체 및 시험관 여러 연구에서 생식 및 발달에 해로운 영향을 끼친다고 알려져 있다. 세포의 생활력(viability) 감소, 생식 세포 중 고환의 Sertoli 세포와 난소의 granulosa 세포에서 세포자연사를 유도한다는 보고가 있다(Tida et al., 2003). 쥐에서 주산기(perinatal period)에 BPA에 노출되었을 경우, 웅성태아에서는 전립선 무게의 증가(Nagal et al., 1997)와 정자생성 감소(vom Saal et al., 1998)가 자성태아에서는 질 개구(vaginal opening) 조기발생(Markey et al., 2001), 성장 및 성조숙 현상 촉진(Howdeshell et al., 1999) 등을 보인다고 한다. 그러나 이와 같은 유해한 영향을 볼 수 없었다는 상반된 보고도 있다(Yoshida et al., 2004).

인체 대상 연구보고를 보면 남아에서 생식기 기형이 증가하며(Paulozzi et al., 1997), 여아에서 성조숙이 일어나고(Hermann-Giddens et al., 1997) 성인 남자에서는 정자수가 감소(Carlsen et al., 1992)한다고 한다.

BPA는 인체내에서 소화기관에 의해 신속하게 흡수되며, 그 대사는 아직 잘 알려져 있지 않으나 간의 미세소체(microsome)에서 간 효소 uridine diphosphonate glucuronyl transferase (UGT)에 의해 글루쿠론산으로 변하고(Yokota et al., 1999), 4시간 내지 5.4시간의 반감기를 보이며 소변에서 제거된다고 한다.

설치류에서는 임신중 BPA가 태반을 쉽게 통과한다고 하며(Takaha & Oishi., 2000), 태반 이외에도 난포액, 양수 및 태자 혈청에도 존재함이 밝혀졌다(Zalko et al., 2003).

인체 임신중 BPA 농도를 측정해본 결과, 임신부 혈청 3.1 ng/mL, 태아 혈장 2.3 ng/mL, 태반 조직에서 12.7 ng/mL를 보여 태반에서 가장 많이 축적되어 있음이 확인되었다(Schcöfner et al., 2002). Ikezuki 등(2002)은 ELISA 방법으로 인체 내의 여러 체액에서 BPA 농도를 측정해본 결과, 혈청, 난포액, 태아혈청, 양수 등에서 모두 검출이 되었으며,

특히 임신 15주에서 18주 사이에 양수내 BPA 농도는 다른 체액에 비해 약 5배나 높음을 관찰한 후, 임신 중 BPA는 임신부 혈장으로부터 양수로 이동한 후 자궁강 내에 축적되므로 결과적으로 태아는 많은 양의 BPA에 노출될 수가 있다고 보고하였다. 이와 같이 임신중기에 양수 BPA가 높은 것은 이 시기에 태아에서 UGT 효소활성도를 포함한 간기능이 전반적으로 미숙하기 때문으로 설명된다. 이를 뒷받침하는 연구로 인체에서 임신 20주에 UGT를 측정해본 결과, 검출이 되지 않았다는 보고가 있다(Strassburg et al., 2002).

Ikezuki 등(2002)은 일본인 임신부를 대상으로 임신 15주에서 18주 사이에 32명의 양수 BPA를 ELISA 방법으로 분석한 결과, 평균 8.3 ng/mL±8.9를 보였고, 임신 말기에 38명에서의 농도는 평균 1.1 ng/mL±1.0을 보였다고 하였다.

일본인 대상의 양수내 BPA 농도를 본 연구보고와 비교해볼 때 본 연구의 임신중기 양수 BPA 농도는 그 분포가 좀 더 광범위하였고, 평균치는 7.24 ng/mL로 약간 낮게 나타났다.

염색체 이상 태아가 없었던 임신중기 일본인 임신부 200예를 대상으로 ELISA 방법으로 분석한 임신부 혈청 BPA 분포는 0.632 ng/mL에서 14.36 ng/mL 사이를 보였고 중앙치는 2.24 ng/mL였다. 양수에서의 분포는 0에서 5.6 ng/mL 사이를 중앙치는 0.26 ng/mL을 보였다(Yamada et al., 2002).

플라스틱 화학물질 등의 환경유해 물질에 가까이 노출되어 있던 임신부에서 이들의 나이와 사회경제적 지위 등의 위험인자를 조정한 후 분석한 결과, 이들에게 태아 염색체이상의 발생빈도가 높았다고 한다(Vrijheid et al., 2002). 본 연구에서는 염색체이상을 보인 경우는 없었으나, 35세 이상의 고령임신부군에서 BPA가 5.0 ng/mL로 35세 미만군의 4.6 ng/mL보다 약간 높은 경향을 보였다. 향후 태아 염색체이상과 BPA 농도와의 관련성 규명을 위해 더 많은 증례를 대상으로 하는 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Lee 등(2008)은 한국인 임신부 300명을 대상으로 임신부 혈액과 제대혈(umbilical cord blood)에서 BPA 농도를 측정해본 결과, 임신부 혈액에서의 농도가 제대혈(태아)보다 높게 나타났으며, 이들 두 군 사이에는 유의한 상관관계가 있다고 하였다. 본 연구에서는 양수 내에서의 BPA 농도만을 측정하였으나, 양수와 임신부 혈액에서 동시에 BPA를 측정해본 다른 보고들에서는 임신부 혈액에서의 농도가 양수나 제대혈보다 높게 나타났다고 한다.

본 연구에서는 태아가 여자일 때, 남자태아에 비해 양수내

BPA 농도가 약간 높게 나타났으나, 통계학적으로 유의하지는 않았다. Schönfelder 등(2000)의 보고에서는 남아태아 임신에서 여아태아 임신 때보다 임신부의 혈중 BPA가 높게 나타났다고 하였다. 이와 같이 성별에 따라 BPA 농도에 차이가 있으며, 정상 남성에서 여성보다 BPA가 농도가 높게 나타나는데, 이는 androgen 호르몬에 의해 BPA 대사에 차이가 있기 때문이라고 한다(Takeuchi & Tsutsumi, 2002).

출생 당시 태아 체중은 임신부 혈청 estrogen 농도와 비례한다고 한다. 그 이유는 estrogen이 세포 증식을 자극하여 태아의 성장과 발달에 중요한 역할을 하기 때문으로 알려져 있다. 동물 실험에서 산전에 소량의 BPA를 투여한 결과, 출생 직후 신생아의 체중이 증가함을 보고하면서(Rubin et al., 2001) 이와 같은 결과는 BPA가 태아 성장에 있어 estrogen과 같은 역할을 하기 때문이라고 설명하였다.

본 연구에서도 출생시 태아 체중이 2.5 kg 이상인 군에서 2.5 kg 미만인 저체중아를 분만했던 군에 비해 BPA의 농도가 높게 나타나, 이와 같은 가설을 뒷받침하고 있다. 또한 임신부 혈액 BPA 농도와 출생 당시 신생아 체중과의 연구 결과 BPA 농도가 2배 증가할 때마다 체중은 50 g씩 증가하는 양상을 보여 이들 둘 사이에 연관성이 있다고 한다(Lee et al., 2008).

결론적으로 본 연구는 한국인을 대상으로 최초로 임신중기 양수내 BPA 농도를 측정하였으며, 측정된 농도와 여러 임신결과들 즉 태아성별, 임신부 나이, 재태 연령 및 출생시 신생아 체중 등과의 관련성을 조사해본 결과, 유의한 차이를 발견할 수는 없었다. 향후 좀 더 많은 연구 대상으로 BPA의 산전 노출이 남아에서 생식기기형, 여아에서 성조숙 등을 야기하는지에 대한 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 연세대학교 의과대학 2008년도 일반교수연구비에 의하여 이루어졌음(6-2008-2043).

인용문헌

Asbhy J, Tinwell H (1998) Uterotrophic activity of bisphenol A in the immature rat. *Environ Health Perspect* 106:719-720.

Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE (1992) Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br Med J* 305:609-613.

Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG, Hasemeier CM (1997) Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: A study from the Pediatric Research in Office Settings network. *Pediatrics* 99: 505-512.

Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, vom Saal FS (1999) Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* 401:763-764.

Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, Kamei Y, Taketani Y (2002) Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Hum Reprod* 17:2839-2841.

Krishnan AV, Stathis P, Permuth S, Tokes L, Feldman D (1993) Bisphenol A: An estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinol* 132:2279-2286.

Lee YJ, Ryu HY, Kim HK, Min CS, Lee JH, Kim E, Nam BH, Park JH, Jung JY, Jang DD, Park EY, Lee KH, Ma JY, Won HS, Im MW, Leem JH, Hong YC, Yoon HS (2008) Maternal and fetal exposure to bisphenol A in Korea. *Reprod Toxicol* 25:413-419.

Markey CM, Michaelson CL, Veson EC, Sonnenschein C, Soto AM (2001) The mouse uterotrophic assay: A re-evaluation of its validity in assessing the estrogenicity of bisphenol A. *Environ Health Perspect* 109: 55-60.

Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boehler M, Welshons WV (1997) Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative *in vivo* bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environ Health Perspect* 105:70-76.

Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M, Toppari J (1999) Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse leddig tumor cell by bisphenol A and octylphenols. *Toxicol Appl Pharmacol* 157:166-173.

- Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ (1997) Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics* 100: 831-834.
- Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC, Soto AM (2001) Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environ Health Perspect* 109:675-680.
- Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I (2002) Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect* 110(11):A703-A707.
- Steinmetz R, Brown NG, Allen DL, Bigsby RM, Ben-Jonathan N (1997) The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release *in vitro* and *in vivo*. *Endocrinol* 138:1780-1786.
- Strassburg CP, Strassburg A, Kneip S, Barut A, Tukey RH, Rodeck B, Manns MP (2002) Developmental aspects of human hepatic drug glucuronidation in young children and adults. *Gut* 50:259-265.
- Takahashi O, Oishi S (2000) Disposition of orally administered 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propane (bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetus. *Environ Health Perspect* 108:931-935.
- Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Kamei Y, Osuga Y, Yano T, Taketani Y (2001) Preimplantation exposure to bisphenol A advances postnatal development. *Reprod Toxicol* 15:71-74.
- Takeuchi T, Tsutsumi O (2002) Serum bisphenol A concentrations showed gender differences, possibly linked to androgen levels. *Biochem Biophys Res Commun* 291:76-78.
- Tida H, Maehara K, Doiguchi M, Mori T, Yamada F (2003) Bisphenol A-induced apoptosis of cultured rat Sertoli cells. *Reprod Toxicol* 17:457-464.
- vom Saal FS, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Parmigiani S, Welshons WV (1998) A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicol Ind Health* 14:239-260.
- Vrijheid M, Dolk H, Armstrong B, Abramsky L, Bianchi F, Fazarinc I, Garne E, Ide R, Robert E, Scott JE, Stone D, Tenconi R (2002) Chromosomal congenital anomalies and residence near hazardous waste landfill sites. *Lancet* 359:320-322.
- Yamada H, Furuta I, Kato EH, Kataoka S, Usuki Y, Kobashi G, Sata F, Kishi R, Fujimoto S (2002) Maternal serum and amniotic fluid bisphenol A concentrations in the early second trimester. *Reprod Toxicol* 16:735-739.
- Yokota H, Iwano H, Endo M, Kobayashi T, Inoue A, Ikushiro S, Yuasa A (1999) Glucuronidation of the environmental oestrogen bisphenol A by an isoform of UDP-glucuronosyltransferase, UGT2B1, in the rat liver. *Biochem J* 340: 405-409.
- Yoshida M, Shimomoto T, Katashima S, Watanabe G, Taya K, Maekawa A (2004) Maternal exposure to low doses of bisphenol A has no effects on development of female reproductive tract and uterine carcinogenesis in donryu rats. *J Reprod Dev* 50:349-360.
- Zalko D, Soto AM, Dolo L, Dorio C, Rathahao E, Debrauwer L (2003) Biotransformation of bisphenol A in a mammalian model: Answers and new questions raised by low dose metabolic fate studies in pregnant CD1 mice. *Environ Health Perspect* 111:309-319.

(Received 23 February 2012, Received in revised form 10 March 2012, Accepted 20 June 2012)