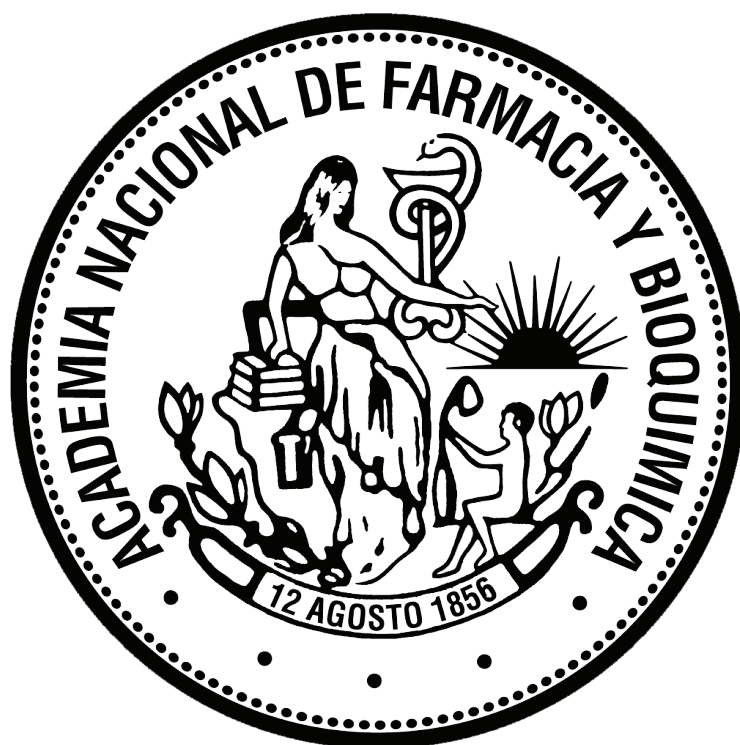


ANALES
DE LA
ACADEMIA NACIONAL
DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



2011

Las ideas que se exponen en los ANALES son de exclusiva responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente la opinión de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.

ANALES 2011



Fundada 1858

COMITE DE PUBLICACION

EDITORIAL BOARD

Editor:

Nacucchio, Marcelo C.

Miembros:

D'Aquino, Miguel
Baratti, Carlos M.
Caffini, Néstor O.
Díaz, Luis E.
Ióvine, Enrique
Mandrile, Eloy L.
Meda, Ronaldo
Roses, Otmaro E.
Rossi, Juan Pablo F.C.
Rubio, Modesto C.

Editada por la

**Academia Nacional
de Farmacia y Bioquímica**

Junín 956 - P.P.

Tel./fax: (011) 4964-8213

Buenos Aires

E-mail: acad@ffybu.uba.ar

Dirección Postal:

Junín 956 P.P.

1113 Buenos Aires - Argentina

<http://www.fybu.uba.ar/academia/infex.htm>

Diseño y composición laser:

MaiaPortnoy- tel.: 156-670-9768

La presente edición de
se terminó de imprimir en
Noviembre de 2012 en
MP, Malabia 2106 5ºD
Palermo
Ciudad de Buenos Aires

**ANALES DE LA ACADEMIA NACIONAL
DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
AÑO 2011**

Editada por la
Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica
Personería Jurídica Resol. Nº 1762-30/8/1968

CONSEJO DIRECTIVO 2011-2012

Presidente

Acad. Carlos M. Baratti

Vice-Presidente

Acad. Miguel Ángel Caso

Secretario General

Acad. Gabriel Mato

Prosecretario

Acad. Marta M. Salseduc

Tesorero

Acad. Ronaldo Meda

Protesorero

Acad. Miguel D' Aquino

Vocales Titulares

Acad. Carlos A. Gotelli

Acad. Juan Pablo F.C. Rossi

Vocales Suplentes

Acad. Otmaro E. Roses

Acad. Modesto C. Rubio

Revisores de Cuentas

Acad. Alfredo A. Hager

Acad. Eloy E. Mandrile

Acad. Francisco Stéfano

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACADEMICOS TITULARES

Acad. Sem M. Albonico	Acad. Miguel D`Aquino	Acad. Gabriel Mato
Acad. María Cristina Añón	Acad. Tomás de Paoli	Acad. Marcelo C. Nacucchio
Acad. Carlos M. Baratti	Acad. Luis E. Díaz	Acad. Edgardo Poskus
Acad. Mirta J. Biscoglio	Acad. Carlos H. Gaozza	Acad. Rubén V. D. Rondina
Acad. Alberto A. Boveris	Acad. Héctor I. Giuliani	Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Carlos Bregni	Acad. Carlos Gotelli	Acad. Juan Pablo F. C. Rossi
Acad. Rodolfo Brenner	Acad. Gabriel O. Gutkind	Acad. Modesto C. Rubio
Acad. Néstor O. Caffini	Acad. Alfredo A. Hager	Acad. Alfredo Salibian
Acad. Clyde N. Carducci	Acad. Silvia Hajos	Acad. Marta Salseduc
Acad. Ricardo A. Caro	Acad. Manuel R. Limeres	Acad. José Alberto Santome
Acad. Miguel A. Caso	Acad. Mario A. Los	Acad. Francisco J. E. Stéfano
Acad. Osvaldo D. Castrelos †	Acad. Eloy L. Mandrile	Acad. María Guillermina Volonté
		Acad. Regina L. W. de Wikinski

ACADEMICOS EMERITOS

Acad. Bandoni, Arnaldo L.	Acad. Ióvine, Enrique	Acad. Rodríguez, Horacio B.
Acad. Chechile, Héctor M.	Acad. Coussio, Jorge D.	Acad. Sanahuja, Juan Claudio
Acad. Chekherdemian, Mateo	Acad. Paladini, Alejandro C.	Acad. Somaini, Antonio

ACADEMICOS CORRESPONDIENTES

ARGENTINA

Acad. Amat, Aníbal
Acad. Cabada, Marcelo O.
Acad. del Valle Perdigón, Gabriela
Acad. Fay, Oscar H.
Acad. Fazio, Raúl C.
Acad. Lossa, Guillermo
Acad. Manzo, Rubén H.
Acad. Montecchia, Modesto P
Acad. Mottino, Aldo
Acad. Nadalin, Elsa María

Acad. Nicolini, Jorge O.
Acad. Orsingher, Otto
Acad. Pita Martín de Portela,
María Luz
Acad. Pechen, Ana María
Acad. Pérez, Hugo G.
Acad. Pesce de Ruiz Holgado, Aida
Acad. Riera, María Clelia
Acad. Sordelli, Daniel O.
Acad. Squassini, Marcelo

BRASIL

Acad. Pimenta, Aluisio
Acad. Cavalcanti, Caio Romero

CHILE

Acad. Arancibia Orrego, Aquiles
Acad. Montes Guyot, Marco A
Acad. Morán Gana, Rosa I.
Acad. Quilhot Palma, Wanda.

COLOMBIA

Acad. Fleming Martínez Rodríguez

CUBA

Acad. Galvis, Ricardo
Acad. Zayas Bazan y Perdomo, Héctor

ECUADOR

Acad. Araoz, Julio F.

Acad. Goetchel, Eduardo

ESPAÑA

Acad. Francés Causapé,

María del Carmen

Acad. Adzet Porredón, Tomás

Acad. Zaragoza García,

Francisco

Acad. Mariño Hernández,

Eduardo

Acad. Ylla Catalá Genis, Miguel

Acad. Monge Vega, Antonio

ESTADOS UNIDOS

Acad. Barrio, Jorge R.

Acad. Brioni, Jorge D.

Acad. Grifenhagen, George B.

Acad. Miller, Lloyd

Acad. Nimni, Marcel E.

FRANCIA

Acad. Aiache, Jean Marc

Acad. Fleury, Paul

Acad. Soto, Carlos

ITALIA

Acad. Govoni, Stefano

MEXICO

Acad. Joseph-Nathan, Pedro

PANAMA

Acad. Sanchez, Ceferino

PARAGUAY

Acad. Berganza, Luis H.

PERU

Acad. Pareja, Bertha P.

Acad. Pérez, José Amiel

Acad. Quevedo Ganoza, Fernando

VENEZUELA

Acad. Andrade, José Luis

URUGUAY

Acad. Ares Pons, Jorge

Acad. Cano Marotta, Cayetano

Acad. de los Santos Carvallido, Cosme

Acad. Delbene Garate, Uberfil

Acad. Fagiolino, Pietro

Acad. Lombardo de Bertolaza, Raquel

Acad. Menes, Justo Emilio

Acad. Moyna, Patrick

Acad. Olmos Ferreira, Aníbal Alberto

Acad. Polla Bermúdez, Oscar

Acad. Royer Meicoso, Joaquín E.

Acad. Sahakian Erganian, Hayg

ACADEMICOS HONORARIOS**BRASIL**

Acad. de Oliveira, Evaldo

ESPAÑA

Acad. del Castillo Garcia, Benito

Acad. Mayor Zaragoza, Federico †

Acad. Portugal, María Teresa Miras

Acad. Reol Tejada, Juan M.†

ITALIA

Acad. Paoletti, Rodolfo

SUMARIO



ANALES 2011



Conferencias

“Medicamentos seguros: Control de calidad y calidad en el control”

Por María Guillermina Volonté..... 8



Premios Otorgados

Premio 2011: “REBECA GERSHMAN” Área Fisiología

Nueva Evidencias del papel del Péptido Natriurético Tipo C en la funcionalidad vascular. Impacto en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la hipertensión arterial..... 13

Premio 2011: “AGUSTÍN D. MARENZI” Área Química Biológica

“Oclusión de Calcio en la Ca^{2+} - ATPasa de Membrana Plasmática”..... 16

Premio 2011: “VÍCTOR NETHOL” Área Cosmética

“El desafío de evaluar la irritación ocular en cosmética”..... 17

Premio 2011: “LUIS DE PRADO” Área Legislación

“Legislación de medicamentos y desarrollo de la industria farmacéutica antes de la ley Oñativia. Los productos con pirazolonas”..... 20

Premio 2011: “JUAN C. GARCÍA FERNÁNDEZ” Área Toxicología

“Acción del Plaguicida Organofosforado Clorpirifos sobre el crecimiento celular e independiente de estrógenos”..... 22

PREMIO ANUAL 155º JORNADA CIENTÍFICA

La gabapentina, ¿un sorprendente fármaco que previene la enfermedad de Alzheimer?..... 27

PREMIO ANUAL ACCESIT “155º JORNADA CIENTIFICA” - ACCESIT

Programación fetal de alteraciones en la morfología renal
por deficiencia de zinc en ratas”..... 28

 154º Jornada Científica

“Fraude científico”..... 29

 Actividades Académicas..... 36



Premio 2011: "JUAN C. GARCÍA FERNÁNDEZ" Área Toxicología

"Acción del Plaguicida Organofosforado Clorpirifos sobre el crecimiento celular e independiente de estrógenos".

Por Ventura C¹, Núñez M¹, Martinel Lamas D¹, Mohamad N¹, Randi A²,
Venturino A³, Rivera E¹, Cocca C¹

¹Laboratorio de Radioisotopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

²Laboratorio de Efectos Biológicos de Contaminantes Ambientales. Departamento de Bioquímica Humana. Facultad de Medicina, UBA.

³LIBIQUIMA, CONICET. E-mail: cventura@ffyb.uba.ar; cmcocca@ffyb.uba.ar

Introducción

Los compuestos organofosforados (OP) constituyen un grupo de sustancias altamente tóxicas, utilizadas en la actividad agrícola para el control de plagas e insectos. En la Patagonia Norte de nuestro país se produce la mayor proporción de peras y manzanas de exportación, fundamentalmente en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén con cerca de 60.000 Ha de producción. La aplicación de insecticidas, principalmente organofosforados, representa el mayor riesgo de impacto ambiental en esta zona, contaminando aguas superficiales y subterráneas, afectando poblaciones de especies acuáticas y poniendo en riesgo la salud humana^{1,2,3}. El principal mecanismo de toxicidad de los compuestos organofosforados es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. Sin embargo, otros efectos independientes de dicha inhibición han sido reportados⁴.

Entre los plaguicidas organofosforados más utilizados se encuentran el metilazinfos y en menor medida el clorpirifos (CPF), ambos empleados en el control de carpocapsa en el Alto Valle.

En los últimos años, ha cobrado importancia el estudio de los contaminantes ambientales en relación al desarrollo de cáncer, en especial para el cáncer de mama, ya que muchos de los plaguicidas de uso corriente actúan como disruptores endócrinos en los individuos expuestos^{5,6}.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción del CPF sobre el crecimiento celular en líneas derivadas de carcinomas mamarios humanos dependientes e independientes de estrógenos.

Resultados

1- Efecto del CPF sobre la proliferación de las

líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231.

Acción del CPF sobre la viabilidad celular. La viabilidad celular fue evaluada mediante el ensayo de MTT a concentraciones de CPF que variaron entre 0.05 y 50 μ M. La viabilidad celular no resultó significativamente disminuida con las concentraciones de CPF utilizadas, tanto en la línea MCF-7 como en MDA-MB-231 (figura 1A). Concentraciones de CPF superiores a 50 μ M resultaron en una disminución significativa de la viabilidad celular y se descartó su empleo para el resto de los experimentos (datos no mostrados).

Efecto del CPF sobre la formación de colonias. Con el fin de evaluar el efecto del CPF sobre la capacidad clonogénica, las células fueron expuestas a diferentes concentraciones del tóxico durante 10 días. Se utilizó estradiol (E_2) 10 nM como control positivo en la línea MCF-7. El CPF en concentración de 50 μ M redujo significativamente la capacidad clonogénica en ambas líneas celulares (40 y 60 % para MCF-7 y MDA-MB-231 respectivamente). Por otra parte, CPF 0,05 μ M produjo un aumento del 46% en la capacidad clonogénica de las células MCF-7 mientras que no se observaron diferencias respecto al control en el caso de la línea MDA-MB-231 (figura 1B).

Acción sobre el tiempo de duplicación. Se determinó el tiempo de duplicación de las células expuestas al tóxico. Para ello, se expusieron a las células a alta (50 μ M) y baja (0,05 μ M) concentración de CPF y se determinó el número de las mismas cada 24 hs durante 4 días. Como se observa en la figura 1C, el CPF 50 μ M prolongó significativamente el tiempo de duplicación en ambas líneas celulares.

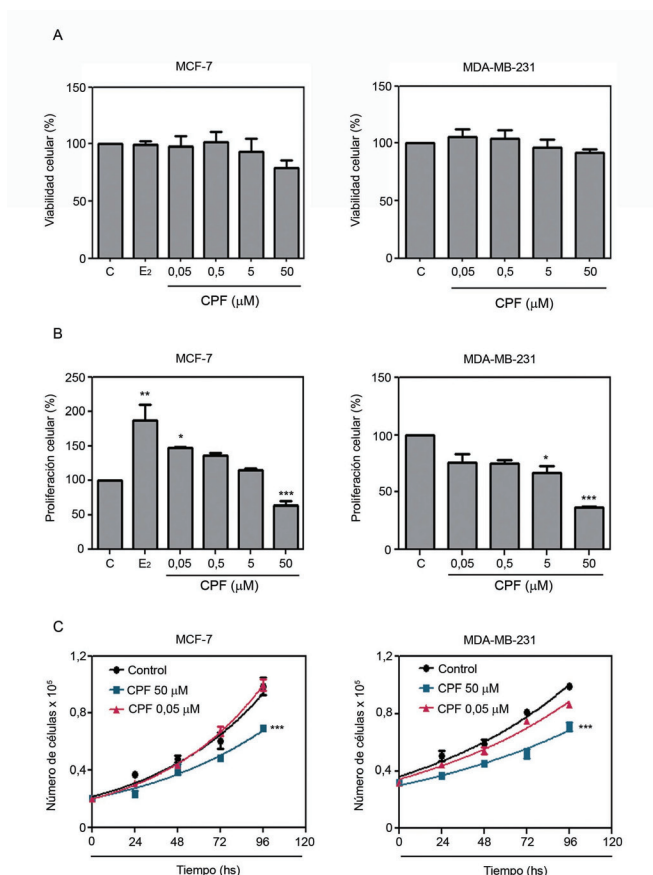


Figura 1

2- Efecto del CPF sobre el ciclo celular

Efecto sobre la distribución en las diferentes fases del ciclo. Dada la inhibición observada en la proliferación de ambas líneas celulares expuestas a CPF 50 μM, se determinó el efecto del tóxico sobre la distribución celular en las diferentes etapas de su ciclo. Este ensayo se realizó por citometría de flujo, utilizando ioduro de propidio (IP) como sonda fluorescente. El CPF 50 μM indujo modificaciones en el ciclo celular en ambas líneas celulares (figura 2). Para las células MCF-7, se observó un aumento significativo en el porcentaje de células en la fase S de su ciclo (49 % respecto al control) mientras que en la línea MDA-MB-231, se encontró un aumento en el porcentaje de células en fase G2/M (57 % respecto al control). Por otra parte, concentraciones de CPF inferiores a 50 μM no generaron modificaciones en la distribución celular en ninguna de las líneas celulares ensayadas.

Efecto sobre la incorporación de Bromodeoxiuridina. Con el fin de evaluar el porcentaje de células en activa síntesis de ADN, determinamos la incorporación de BrdU luego de 24 hs de tratamiento con CPF. Las células fueron incubadas con BrdU durante 2 hs a 37 °C y, posteriormente, se determinó el porcentaje de células positivas por inmunocitoquímica. En la línea MCF-7 no se observaron

diferencias en el porcentaje de células en síntesis entre el tratamiento con CPF 50 μM y el control (figura 3). Por otra parte, el CPF 0,05 μM produjo un aumento significativo en la proliferación celular (58 % respecto al control). En la línea celular MDA-MB-231, no se observaron modificaciones en el porcentaje de células en proliferación a las concentraciones estudiadas.

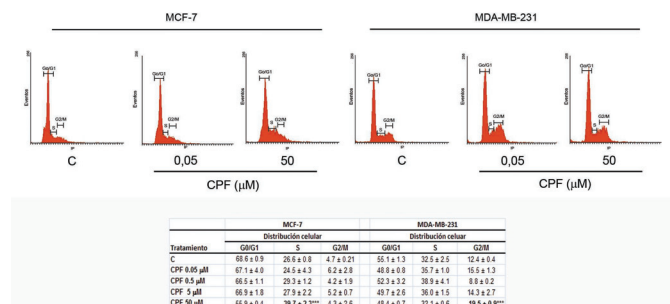


Figura 2

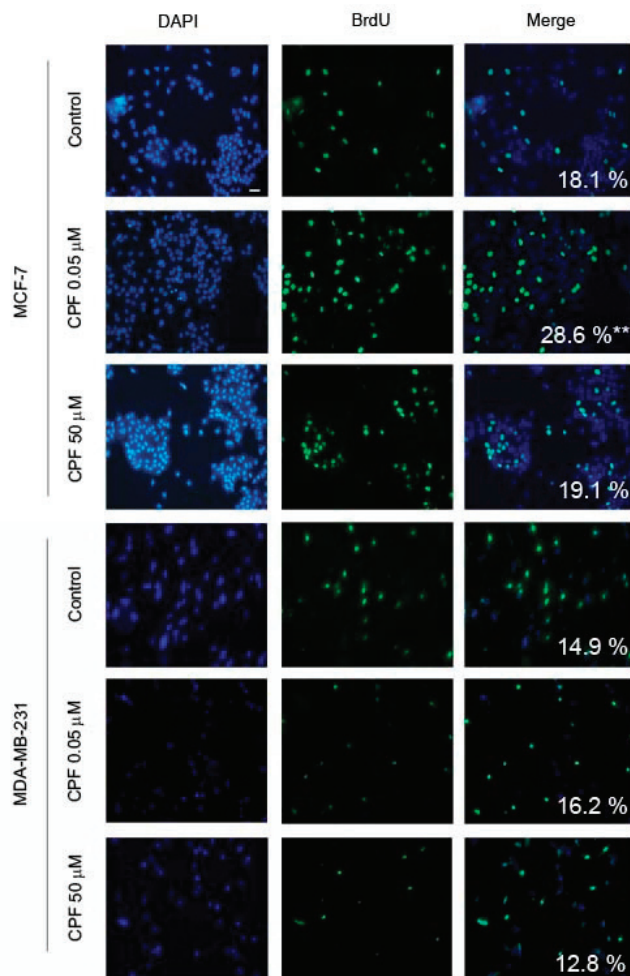


Figura 3

Efecto sobre proteínas reguladoras del ciclo celular. La entrada a la fase S del ciclo celular, se encuentra controlada por la acción de un complejo proteico formado por ciclina E y Cdk2. Los niveles de Ciclina E se encontraron aumentados en un 80 % cuando las células MCF-7 se exponen al tóxico en altas concentraciones (50 μ M), lo cual se corresponde con el arresto celular observado en la fase S del ciclo (figura 4). Si bien no llega a ser significativo, también se observó un aumento de Ciclina E cuando se utilizó CPF 0,05 μ M. Por otro lado, en la línea MDA-MB.231, no se observaron modificaciones significativas en los niveles de Ciclina E en ninguna de las concentraciones estudiadas.

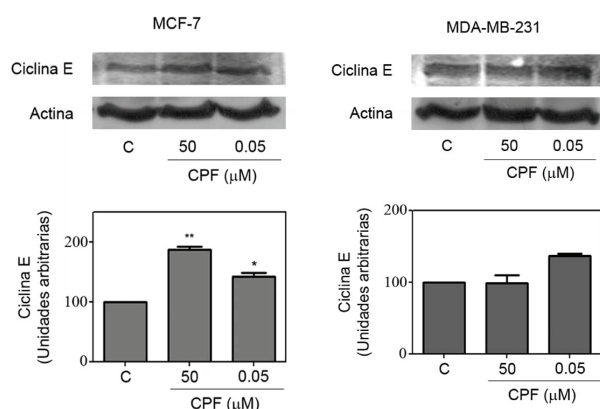


Figura 4

3- Estudios de las vías involucradas en los efectos inducidos por CPF 0,05 μ M en la línea celular MCF-7.

Fosforilación del Receptor estrogénico alfa (RE α). Se evaluó si el CPF es capaz de producir modificaciones en la fosforilación del RE α . El estudio se realizó por Western Blot, luego de exponer a las células MCF-7 a diferentes concentraciones de CPF durante 15 minutos. La exposición de las células a bajas concentraciones de CPF produce un aumento del 85 % en la fosforilación del RE α respecto del control. Sin embargo, no se observaron diferencias en la fosforilación de dicho receptor cuando las células fueron expuestas a CPF 50 μ M (figura 5).

4- Efecto del CPF sobre el balance redox celular.

Efectos sobre el contenido de especies reactivas del oxígeno (ROS). El contenido intracelular de ROS es uno de los principales factores implicados en la generación de daño celular. Por este motivo, evaluamos el contenido de especies oxidantes presentes en células expuestas a diferentes concentraciones de CPF durante 24 hs. El contenido intracelular de ROS fue analizado utilizando la sonda fluorescente DCF-2DA y cuantificado mediante citometría de flujo. Como se observa en la figura 6A, la exposición de ambas líneas celulares al tóxico en altas concentraciones, produjo un aumento en el

contenido intracelular de ROS (58 % y 108 % respecto al control, para MCF-7 y MDA-MB-231 respectivamente). Por otro lado, cuando se utilizaron concentraciones menores a 50 μ M, no se observaron modificaciones significativas en el contenido celular de ROS en ninguna de las líneas celulares utilizadas.

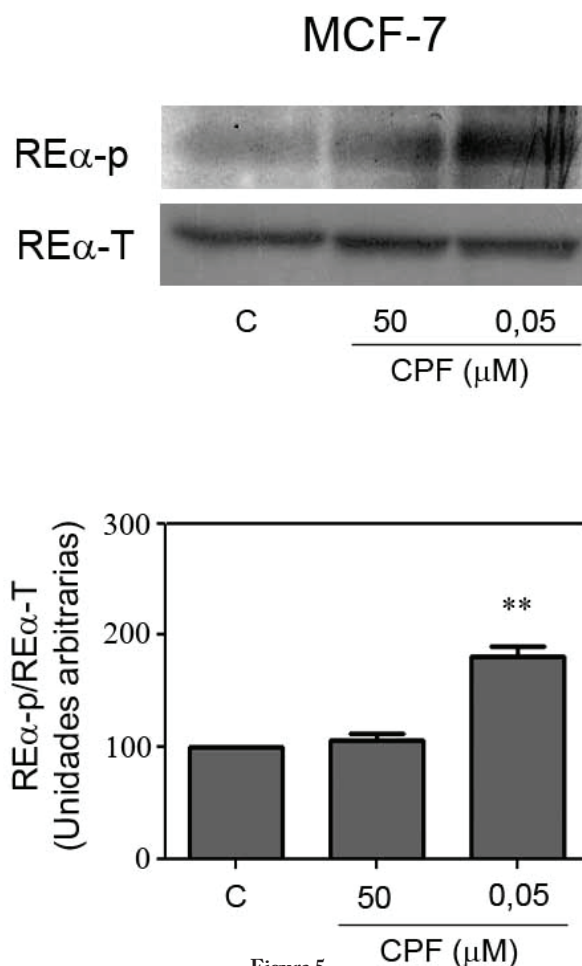


Figura 5

Contribución del peróxido de hidrogeno al aumento de ROS. Dado que la sonda utilizada nos permite cuantificar el nivel de todas las especies reactivas del oxígeno si discriminar entre las mismas, decidimos evaluar la contribución del H₂O₂ al aumento de fluorescencia observado previamente. Para ello, se agregaron 60 unidades de enzima catalasa durante 15 minutos antes de la incubación con DCF-2DA. Como se observa en la figura 6B, el agregado de catalasa revirtió completamente el aumento en los niveles de ROS producidos por el CPF 50 μ M en la línea MCF-7, dejando a las especies oxidantes en niveles comparables con las del control. Por otra parte, en la línea MDA-MB-231 el efecto del CPF en altas dosis sobre los niveles de ROS intracelulares no fue modificado por el agregado de catalasa exógena.

Efecto sobre la expresión y la actividad de la enzima catalasa. La catalasa es un componente clave del sistema antioxidante celular. Esta enzima elimina el exceso de peróxido de hidrogeno que puede generar daño en los sistemas biológicos. La determinación del contenido de catalasa fue realizada mediante Western Blot en lisados de células expuestas a diferentes concentraciones de CPF durante 24 hs. Como se muestra en la figura 7A, el contenido de catalasa no fue afectado por la exposición al tóxico en ninguna de las concentraciones evaluadas. Este resultado se repite en ambas líneas celulares. Debido a que no se observaron modificaciones en el contenido de proteína catalasa, decidimos investigar si el CPF modifica la actividad de dicha enzima en nuestro sistema de estudio. La actividad catalasa fue evaluada siguiendo espectrofotométricamente la disminución de la concentración de peróxido de hidrogeno. Como se observa en la figura 7B, la actividad enzimática no fue modificada significativamente por el CPF en ninguna de las concentraciones utilizadas. Este resultado es similar en ambas líneas celulares.

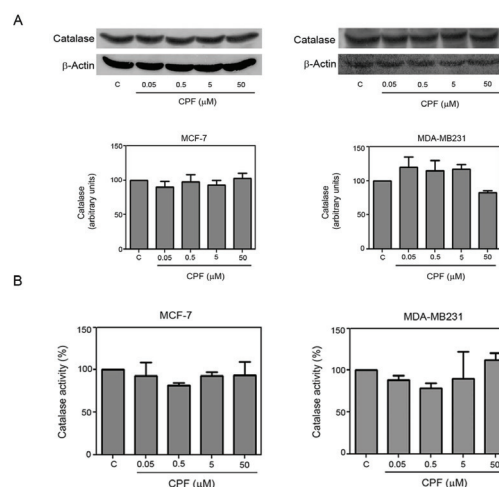


Figura 7

El CPF en alta concentración (50 μ M) inhibió la proliferación, produjo un retardo en la velocidad de crecimiento e indujo un arresto en la fase S o G2/M de las células expuestas, sin modificar la viabilidad de las mismas.

Varios trabajos señalan que el CPF es capaz de provocar estrés oxidativo y que el mismo puede inducir alteraciones en la estructura del ADN⁹. En este trabajo, observamos un aumento en el contenido de ROS cuando las células fueron expuestas a CPF 50 μ M. En el caso de las células MCF-7, el tratamiento con catalasa fue suficiente para revertir el estado de estrés producido por el CPF, llevando los niveles de ROS a valores basales. Este resultado sugiere que la especie reactiva preponderante en el desbalance redox es el H_2O_2 . Por otro lado, en la línea MDA-MB-231, el agregado de catalasa no alcanzó para revertir el efecto del CPF, indicando que se estarían produciendo principalmente otras especies oxidantes. El aumento en los niveles de ROS, generado cuando las células se exponen a altas concentraciones de CPF, podría estar vinculado con el arresto de las mismas en la fase de síntesis de su ciclo. Se ha demostrado que varios compuestos presentes en el medio ambiente son capaces de inducir modificaciones en la estructura del ADN y producir un arresto del ciclo en la fase de síntesis^{10,11}.

La ciclina E permite el paso de las células desde la fase Go/G1 a la fase S de su ciclo¹². Si bien altas concentraciones de CPF (50 mM) causan un incremento en los niveles celulares de ciclina E, el mismo podría estar asociado con la acumulación de células en fase S, ya que en este caso las células presentan una velocidad de crecimiento menor que los controles y una síntesis de ADN semejante. Por otro lado, en la línea celular MDA-MB-231, se observa un aumento en el porcentaje de células en fase G2/M para todas las concentraciones de CPF evaluadas, el cual podría relacionarse con la capacidad del CPF de unirse covalentemente a la tubulina,

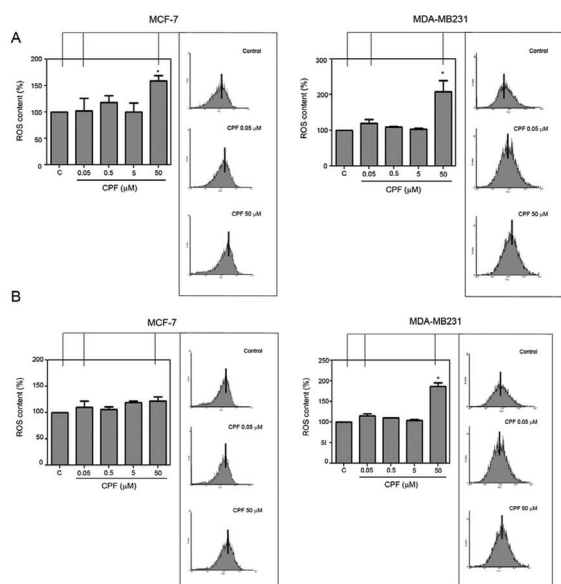


Figura 6

Discusión

El uso intensivo de los plaguicidas ha provocado un aumento de la concentración de estos tóxicos en el medio ambiente y varios reportes han alertado acerca de las acciones que podrían tener como agentes carcinogénicos^{7,8}. El CPF, es un pesticida organofosforado de amplio espectro utilizado para el control de plagas e insectos. Además de su uso agropecuario, el CPF es utilizado como insecticida doméstico en muchos países del mundo.

En el presente trabajo se describen los efectos del CPF sobre el crecimiento celular, que resultaron ser altamente dependientes de la dosis a la cual las células fueron expuestas.

proteína clave en la formación del huso mitótico¹³.

Se reportó que muchos de los plaguicidas de uso corriente pueden modificar la actividad aromatasa, enzima clave en la síntesis de estradiol¹⁴. Nuestros resultados indican que la exposición de las células MCF-7 a CPF 0,05 µM produce un aumento en la fosforilación del REα y a su vez un aumento en el contenido de ciclina E. Estos resultados, junto con el aumento en la capacidad clonogénica y en la incorporación de BrdU observados en la línea celular MCF-7, sugieren que el CPF puede inducir la proliferación celular mediante la activación del REα. Para confirmar estos resultados, se deben realizar estudios utilizando inhibidores de dicho receptor.

Nuestros resultados indican que el CPF a dosis altas inhibe del crecimiento mientras que a dosis bajas estimula la proliferación. Dado que efecto proliferativo sólo se manifestó en la línea MCF-7, la cual expresa el REα y es dependiente de estrógeno para su crecimiento, esta acción podría estar relacionada con el efecto estrogénico que se le ha adjudicado a ese tóxico.

Bibliografía

1. Loewy M, Kirs V, Carvajal G, Venturino A, Pechen de D'Angelo A M. (1999). Groundwater contamination by azinphos methyl in the Northern Patagonic Region (Argentina). *Sci. Total Environ.* 225, 211–218.
2. Anguiano O L, Pechen de D'Angelo A M. (2007). Provincia de Río Negro y Provincia de Neuquén. En: La problemática de los agroquímicos y sus envases, la incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta y el ambiente. Ministerio de Salud de la Nación, OPS/OMS, Buenos Aires, p. 181–201.
3. Loewy M, Carvajal G, Pechen de D'Angelo A M. (2003). Residuos de plaguicidas en efluentes de industrias agroalimentarias y aguas superficiales. En: Herkovits, J. (Ed.), *Environmental Toxicology and Chemistry, Contributions for a Sustainable Development*. Latin American Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Buenos Aires, p. 193–195.
4. Costa, L G. (2006). Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta* 366; 1–13.
- 5- Mnif W, Hassine AI, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B. *Int J Environ Res Public Health*. 2011 Jun;8(6):2265–303. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review.
- 6- Stefanidou M, Maravelias C, Spiliopoulou C. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2009 Sep;9(3):269–76. Human exposure to endocrine disruptors and breast milk.
7. St--Hilaire S, Mandal R, Commendador A, Mannel S, Derryberry D. *Int J Health Geogr*. 2011 May 10;10:32. Estrogen receptor positive breast cancers and their association with environmental factors.
8. Vinson F, Merhi M, Baldi I, Raynal H, Gamet-Payrastre L. Exposure to pesticides and risk of childhood cancer: a meta-analysis of recent epidemiological studies. *Occup Environ Med*. [Epub ahead of print]
9. Gupta S C, Mishra M, Sharma A, Deepak Balaji T G R, Kumar R, Mishra R K, Chowdhuri D K. (2010). Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in *Drosophila* through generation of reactive oxygen species. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1415–1423.
10. Wilson DM 3rd, Sofinowski TM, McNeill DR. (2003). Repair mechanisms for oxidative DNA damage. *Front Biosci*. 8:d963–81.
11. Shishodia S, Sethi G, Ahn KS, Aggarwal BB. (2007.) Guggulsterone inhibits tumor cell proliferation, induces S-phase arrest, and promotes apoptosis through activation of c-Jun N-terminal kinase, suppression of Akt pathway, and downregulation of antiapoptotic gene products. *Biochem Pharmacol*. 74(1):118–30.
12. Abukhdeir AM, Park BH. (2008). P21 and p27: roles in carcinogenesis and drug resistance. *Expert Rev Mol Med*. 10:e19.
13. Sachana M, Flaskos J, Sidiropoulou E, Yavari CA, Hargreaves AJ. *Toxicol In Vitro*. 2008 Aug;22(5):1387–91. Inhibition of extension outgrowth in differentiating rat C6 glioma cells by chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon: effects on microtubule proteins.
14. Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, Gjermansen IM, Bonefeld-Jørgensen EC. (2002). Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol*. 179(1):1–12.