

IRENEUSZ CAŁKOŚIŃSKI¹, LUDMIŁA BORODULIN-NADZIEJA¹, URSZULA WASILEWSKA¹,
MARCIN STAŃDA¹, JACEK MAJDA², MAREK CEGIELSKI³, PIOTR DZIĘGIEL³

Wpływ dioksyn na procesy rozrodcze u szczurów w badaniach *in vivo*

Effect of Dioxins on Reproduction in Rats *in vivo*

¹ Katedra i Zakład Fizjologii AM we Wrocławiu

² Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej IV Wojskowego Szpitala Klinicznego SPZOZ we Wrocławiu

³ Katedra i Zakład Histologii AM we Wrocławiu

Streszczenie

Wstęp. Obserwowane skażenie środowiska związkami chemicznymi, charakteryzującymi się zdolnościami kumulacji w organizmach i długim okresem półtrwania, jest przyczyną występujących zaburzeń hormonalnych i metabolicznych. Dioksyny są zaliczane do ksenobiotyków o działaniu hormonopodobnym przez receptor AhR (arylhydrocarbon receptor). Następstwem tego oddziaływania są zaburzenia w funkcji narządu rozrodczego.

Cel pracy. Określenie różnic między bezpośrednim a pośrednim działaniem dioksyn, które wywołują zmiany hormonalne i morfologiczne gonad.

Materiał i metody. Badanie przeprowadzono na 4-miesięcznych szczurach szczepu Buffalo, o masie ciała 0,18–0,22 kg. Badanej grupie samic podano podskórnie, jednorazowo dawkę 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksyny (TCDD). Obciążone działaniem TCDD samice skojarzono losowo z pochodzącymi z tej samej hodowli samcami nieobciążonymi dawką TCDD. Otrzymano pokolenie F₁ szczurów, które po osiągnięciu dojrzałości płciowej (4,5 miesiąca) poddano biologicznej próbie rozrodczości, a wobec braku pozytywnych wyników skojarzono je ponownie z grupami kontrolnymi. U samic obciążonych TCDD zbadano stężenie estradiolu w surowicy. U samic pokolenia F₁ wykonano również oznaczenie estradiolu w surowicy, a ponadto wykonano badanie histopatologiczne jajników. U szczurów pokolenia F₁ oznaczono stężenie testosteronu w surowicy i badanie histopatologiczne jąder.

Wyniki. U samic obciążonych dioksynami (działanie bezpośrednie TCDD) stwierdzono obniżone stężenie estradiolu i ograniczoną płodność w próbie biologicznej. U samic pokolenia F₁ (działanie pośrednie TCDD) było podwyższone stężenie estradiolu, a w jajniku nieliczne formy pęcherzyków wzrastających. U samców pokolenia F₁ wykazano obniżone stężenie testosteronu. W ocenie histopatologicznej jąder stwierdzono znaczące zaburzenia w spermatogenezie.

Wnioski. Działanie bezpośrednie TCDD na organizmy samic zmniejszało stężenie estradiolu w surowicy przy obniżonych zdolnościach rozrodczych. Działanie pośrednie TCDD u samic pokolenia F₁ powoduje podwyższenie stężenia estradiolu w surowicy i niepłodność. U samców pokolenia F₁ stwierdzona niepłodność wynikała ze znacznego obniżenia stężenia testosteronu i destrukcyjnych zmian w jądrach (*Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 6, 885–890).

Słowa kluczowe: dioksyny, estradiol, testosteron, histopatologia jąder i jajników u szczurów.

Abstract

Background. The pollution of environment with a whole variety of chemical compounds, which have ability to accumulate in organisms and long half-time, is a cause of hormonal and metabolic dysfunction. Dioxins belong to hormone-like AhR receptor (arylhydrocarbon receptor) stimulating xenobiotics, which bring on dysfunction of reproductive organs.

Objectives. The aim of the study was definition of differences between immediate and mediate effect of dioxins on hormonal and morphological changes in sexual organs.

Material and Methods. The investigation was performed on 4-month Buffalo strain rats with weight of 0.18–0.22 kg. The single dose of TCDD was subcutaneously administered to the examined group of female rats (TCDD female rats). The TCDD female rats were randomly paired with non-TCDD male rats of the same strain (control group), which yielded F₁ generation of rats. The F₁ generation of rats were tested for fertility in the pubertal period (4.5 months of age). Because of failure of the fertility tests, the F₁ generation rats were repeatedly paired with control groups. The serum concentration of estradiol was measured in the TCDD female rats. The measurement of

serum concentration of estradiol and histopathological examination of ovaries were also made in female F₁ generation rats. The measurement of serum concentration of testosterone and histopathological examination of testicles were performed in male F₁ generation rats.

Results. The lowered serum concentration of estradiol and depressed fertility were confirmed in the TCDD female rats (immediate dioxin effect group). The elevated serum concentration of estradiol and few growing Graaf follicles were found in the female F₁ generation rats (mediate dioxin effect group). The lowered serum concentration of testosterone and significant impairment of spermatogenesis in the histopathological examination of testicles were observed in male F₁ generation rats.

Conclusions. The immediate effect of TCDD on organisms of female rats caused decrease in serum concentration of estradiol concomitantly with impairment of fertility. The mediate effect of TCDD on female F₁ generation rats induced increase in serum concentration of estradiol and complete infertility. The infertility in male F₁ generation rats was brought on by the significant decrease in serum concentration of testosterone and destructive foci in testicles (*Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 6, 885–890).

Key words: dioxins, estradiol, testosterone, histopathology of testicles and ovaries in rats.

Postęp cywilizacyjny przyczyniający się do ciągłego wzrostu różnorodnych artykułów jednorazowego użytku, stosowanych w medycynie, przemyśle spożywczym i tekstylnym, niesie ze sobą problem utylizacji tych produktów.

W różnorodnych procesach utylizacyjnych oraz pod wpływem działania czynników atmosferycznych (tlen, światło) powstaje wiele różnych zanieczyszczeń, spośród których na szczególną uwagę zasługują związki chloroorganiczne, takie jak PCDD (polichlorowane dioksyny) i PCB, (polichlorowane bifenyle).

Związki te powodują skażenie środowiska i tym samym organizmów żywych. Charakteryzują się długim czasem eliminacji z organizmu i gromadzeniem się w organizmie.

Związki te mogą przedostać się do organizmu człowieka nie tylko przez przewód pokarmowy, ale i także przez skórę i drogi oddechowe [1]. Po raz pierwszy szkodliwe następstwa skażenia tymi substancjami zaobserwowano u pracowników zakładów tekstylnych. Był to trądzik chlorowy (*chloracne, acne chlorica*), objawiający się zmianami skórnymi [2]. Od tego czasu ukazało się wiele prac, które dokumentowały udział dioksyn w powstawaniu takich zmian, jak defekty tyroidowe, działanie kancerogenne i hepatotoksyczne [3–7].

W ostatnim dziesięcioleciu zwrócono uwagę na zależność między omawianymi substancjami a zaburzeniami procesów rozrodczych, obserwując zmiany związane z niepłodnością, wczesnymi poronieniami i trudnościami z donoszeniem ciąży [8].

Niektórzy autorzy [3, 9] stwierdzili, że znaczne ilości dioksyn dostają się z organizmu matek do płodów i noworodków przez łożysko i z mlekiem podczas laktacji.

W badaniach przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy w 2003 r. na szczurach wykazano niekorzystny wpływ jednorazowej dawki 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-dioksyny (charakteryzującej się największą toksycznością w tej grupie

związków) nie tylko na liczbę urodzonego potomstwa, ale i jego rozwój [10].

Przedstawiona praca jest kontynuacją badań opublikowanych wcześniej [10]. W pracy starano się znaleźć odpowiedź na pytanie, czym różni się bezpośrednie działanie TCDD na organizmy samicy od działania pośredniego stwierdzonego u ich potomstwa (pokolenie F₁).

Starano się również wykazać pośrednie, toksyczne działanie TCDD na zachodzące procesy oogenezy i spermatogenezy, a także występowanie zmian hormonalnych.

Material i metody

Badania wykonano na czteromiesięcznych samicach szczurów szczepu Buffalo o masie ciała 180–200 g. Zwierzęta losowo podzielono na dwie grupy po 6 zwierząt: K – kontrolną i D – obejmującą samice którym podano podskórnie jednorazowo TCDD rozpuszczonej w DMSO w dawce 5 µg/kg m.c.

Po upływie trzech tygodni od podania TCDD eksperyment przeprowadzono według następującego schematu (ryc. 1):

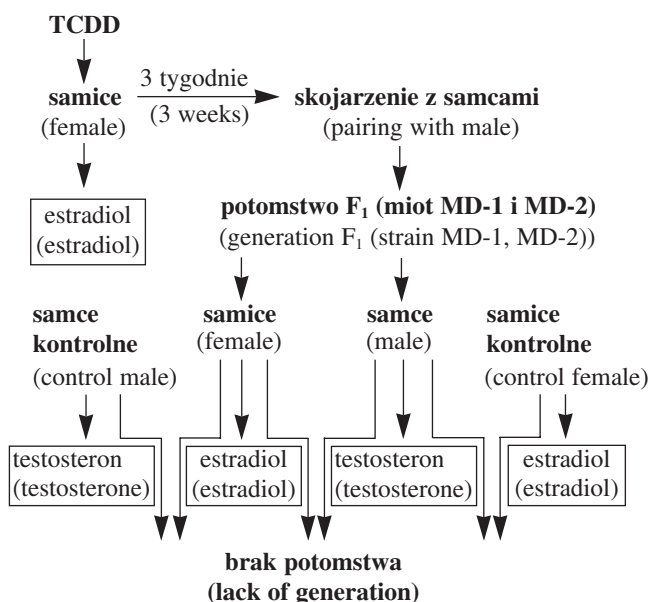
- grupę kontrolną samic i grupę samic po dawce dioksyny skojarzono losowo z samcami pochodzącymi z tej samej hodowli; otrzymane w ten sposób mioty – pokolenie F₁ – nazwano odpowiednio miotem kontrolnym (MK-1) i miotem dioksynowym (MD-1);

- po osiągnięciu dojrzałości płciowej (4,5 miesiąca) osobniki pokolenia F₁ miotów samic poddanych działaniu jednorazowej dawki TCDD zostały skojarzone ze sobą, a następnie, wobec braku objawów ciąży, po upływie 6 tygodni, z osobnikami z grupy kontrolnej;

- po upływie 6 tygodni od skojarzenia i braku objawów ciąży samice i samce zostały poddane narkozie barbituranowej (pentobarbital 30 mg/kg m.c.), krew do oznaczenia stężenia estradiolu i te-

stosteronu pobrano przez cewnik z aorty brzusznej. Hormony oznaczano w surowicy na analizatorze Immulite 2000 firmy DPC-Diagnostics metodą chemiluminiscencyjną w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wojskowego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu;

– przeprowadzono ocenę histopatologiczną jajników i jąder badanych zwierząt metodą barwienia hematoksyliną i eozyną w Katedrze i Zakładzie Histologii AM. Pobrane skrawki gonad utrwalano w 4% roztworze formaliny, następnie płukano 24 godziny w wodzie i odwadniano w szeregu alkoholi o rosnącym stężeniu od 70% do stężenia absolutnego. Skrawki były prześwietlane w benzenie dwukrotnie przez 15 minut, a następnie umieszczone w roztworze benzenu z parafiną na 0,5 godziny, po czym zatopiono je w parafinie. Błoczki parafinowe o grubości 8 μm cięto na ultramikrotomie firmy Leica 2145, a następnie wykonywano standardowe barwienie hematoksyliną i eozyną.



Ryc. 1. Schemat doświadczenia

Fig. 1. Experiment's description

Wyniki

Samice i samce, od których pobrano badany materiał (surowica, jajniki i jądra) pochodziły od matek poddanych jednorazowej ekspozycji TCDD (pokolenie F₁).

W badaniach opublikowanych wcześniej [10], wykonanych na tej samej grupie zwierząt, analizowano wpływ bezpośredniego oddziaływania dioksyn (przez dawki obciążające organizmy matek) na liczebność, przeżywalność i żywotność potomstwa w pokoleniu F₁ (MD-1). Po osiągnięciu dojrzałości płciowej pokolenia F₁ (samców i samic) grupy badanej podjęto próbę ich kojarzenia.

Po upływie 30 dni nie stwierdzono u żadnej z badanych samic ciąży. W następnym etapie kojarzono samice z pokolenia F₁ ze zdrowymi samcami pochodzącymi z tej samej hodowli oraz samce z pokolenia F₁ ze zdrowymi samicami kontrolnymi. Po upływie 30 dni w obu obserwowanych grupach nie stwierdzono ciąży.

Po biologicznej ocenie rozrodczości [10] dalszym etapem eksperymentu było oznaczenie stężenia hormonów płciowych (estradiolu i testosteronu) i badanie histopatologiczne gonad osobników pokolenia F₁.

Badanie histopatologiczne jajników wykazało brak pęcherzyków pierwotnych, nieliczne formy pęcherzyków wzrastających oraz obecność pojedynczych lub nielicznych przerosłych ciałek żółtych w jajnikach (ryc. 2, 3).

Ocena histopatologiczna jajowodów (ryc. 1 – widoczny przekrój poprzeczny jajowodu) nie wykazywała form patologicznych.

W ocenie histopatologicznej jąder szczurów pokolenia F₁ stwierdzono uszkodzenie błony własnej kanalików krętych oraz zaburzenia warstwowości nabłonka plemnikotwórczego (ryc. 4).

Obserwowano ponadto rozluźnienie zwartej struktury nabłonka plemnikotwórczego, charakteryzujące się obecnością pustych przestrzeni. W preparatach nie znaleziono spermatyd i plemników, zaobserwowano natomiast obumarłe komórki nabłonka plemnikotwórczego oraz komórki bezjądrzaste (ryc. 5).

W kanalikach krętych pod błoną białawą jądra wykazano również zakłócenia struktury nabłonka plemnikotwórczego (ryc. 6).

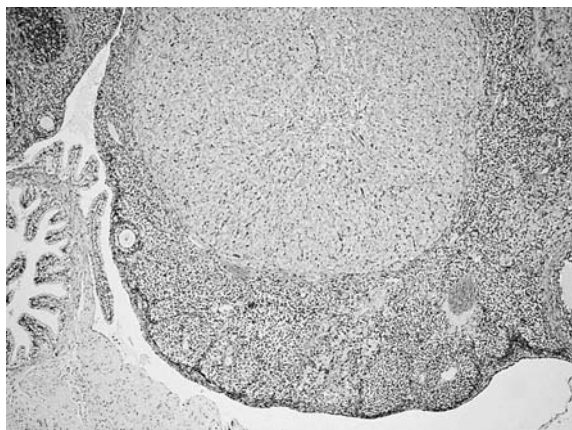
Oznaczone stężenia estradiolu u samic, którym podano jednorazową dawkę 2,3,7,8-TCDD wykazały statystycznie istotnie niższe stężenia tego hormonu niż w grupie kontrolnej (tab. 1).

Stężenie estradiolu w surowicy samic pokolenia F₁, pochodzących od matek poddanych bezpośredniemu działaniu dioksyn, wykazały statystycznie istotnie wyższe stężenie estradiolu w odniesieniu do grupy kontrolnej oraz do stężenia tego hormonu u ich matek (tab. 1).

Stężenie testosteronu oznaczone u samców pochodzących od matek poddanych działaniu jednorazowej dawki 2,3,7,8-TCDD było znacznie obniżone w stosunku do stężenia oznaczonego w grupie kontrolnej (tab. 2).

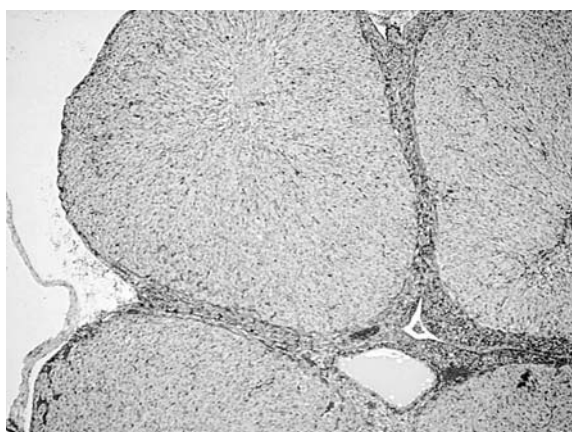
Omówienie

Przedstawione wcześniej wyniki badań nie wykazują jednoznacznie, czy przyczyną niepłodności są zmiany morfologiczne gonad pokolenia F_1 wynikające z toksycznego oddziaływania dio-



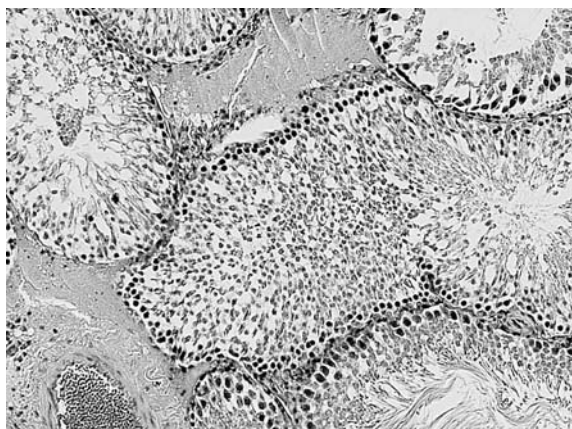
Ryc. 2. Jajnik i jajowód. Przerosłe ciało żółte, nieliczne formy pęcherzyków wzrastających. Pow. 40×

Fig. 2. Ovary and ovarian tube. The hypertrophied luteous body, few growing follicles. Magnification ×40



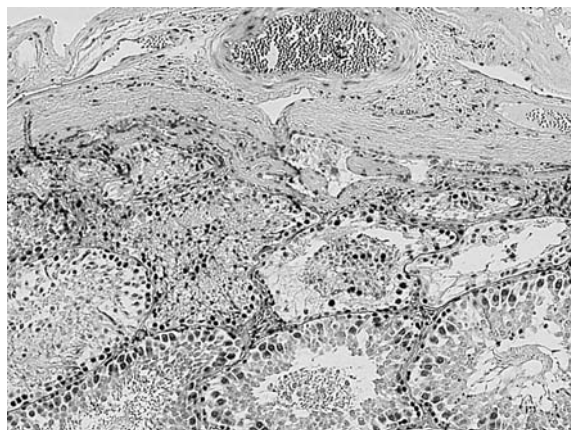
Ryc. 3. Jajnik. Brak form rozwojowych pęcherzyków pierwotnych i wtórnych. Pow. 40×

Fig. 3. Ovary. Absence of growing primary and secondary follicles. Magnification ×40



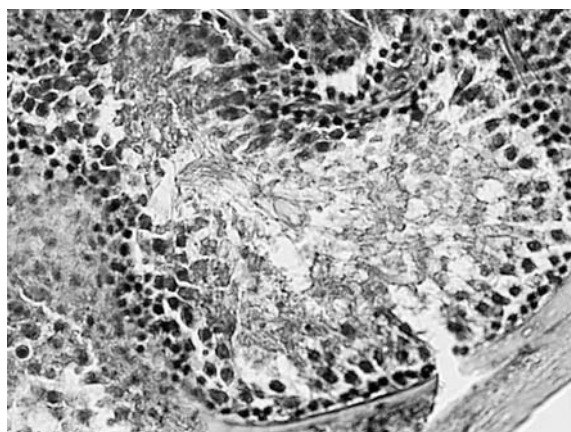
Ryc. 4. Jądro. Uszkodzenie błony własnej kanalików krętych. Pow. 100×

Fig. 4. Testicle. Damage of membrane of convoluted tubules. Magnification ×100



Ryc. 5. Jądro. Rozluźnienie zwartej struktury nabłonka plemnikotwórczego. Pow. 100×

Fig. 5. Testicle. Relaxation of tight structure of spermatogenic epithelium. Magnification ×100



Ryc. 6. Jądro. Zaburzenie struktury nabłonka plemnikotwórczego. Puste przestrzenie w nabłonku plemnikotwórczym. Pow. 200×

Fig. 6. Testicle. Derangement of structure of spermatogenic epithelium. Empty spaces in spermatogenic epithelium. Magnification ×200

ksyn, czy zmiany hormonalne spowodowane hormonopodobnym działaniem TCDD i wpływem tych endokrynnych zaburzeń na zmiany morfologiczne struktury jajników i jąder [10].

Ocena wpływu działania dioksyn na wydzielanie hormonów płciowych została przeprowadzona przez wielu autorów [11–15] na hodowlach komórkowych warstwy ziarnistej pęcherzyka Graffa. Uzyskane wyniki wykazywały znaczące różnice.

Moron et al. w badaniach *in vitro* stwierdzili, że TCDD powoduje zmniejszone wydzielanie estradiolu przez luteinowe komórki warstwy ziarnistej, bez żadnego wpływu na stężenie progesteronu [14]. W badaniach *in vitro* wykonanych przez Enan et al. wykazano obniżenie stężenia progesteronu przez komórki luteinowe warstwy ziarnistej w czasie ich ekspozycji na TCDD [13]. W bada-

Tabela 1. Stężenie estradiolu (pg/ml) u matek poddanych działaniu jednorazowej dawki TCDD i ich potomstwa żeńskiego

Table 1. Serum concentration of estradiol (pg/ml) in female rats exposed to single dose of TCDD and female offspring of the rats

Estrogeny – samice (Estrogens – female rats)			
	n	x	SD
Kontrola (Control)	7	67,1	7,4
Matki (Mothers)	6	54,5	5,3
	p ≤ 0,005		
Pokolenia F ₁ (F ₁ generation)	6	98,8	22,2
	p ≤ 0,005 t ≤ 0,05		

p – istotność różnic między grupą badaną a kontrolną.
t – istotność różnic między pokoleniami.

p – significance of differences between the study and control group.
t – significance of differences between generations.

Tabela 2. Stężenie testosteronu (nmol/l) u samców w grupie kontrolnej i samców pochodzących od matek (F₁) poddanych działaniu jednorazowej dawki TCDD

Table 2. Serum concentration of testosterone (nmol/l) in male rats from control group and male offspring of female rats (F₁) exposed to single dose of TCDD

Testosteron – samce (Testosterone – male)			
	n	x	SD
Kontrola (Control)	7	16,8	3,4
Pokolenia F ₁ (F ₁ generation)	9	6,5	1,6
	p ≤ 0,001		

p – istotność różnic między grupą badaną a kontrolną.
p – statistical significance assumed at p-value < 0.05.

niach własnych autorów prowadzonych na organizmach żywych potwierdzono, że dioksyny wpłynęły znacząco na przebieg i rozwój ciąży u matek, którym podano jednorazowo (3 tygodnie przed ciążą) dawkę TCDD. Samice te miały niższe stężenie estradiolu w porównaniu z grupą kontrolną i znacznie obniżoną zdolność rozrodu, co charakteryzowało się zmniejszoną plennością [10]. W obecnym eksperymencie prowadzonym *in vivo* istniała możliwość prześledzenia wpływu dioksyn na rozwój, wzrost i procesy rozrodcze zachodzące u potomstwa. Po osiągnięciu dojrzałości płciowej osobniki pokolenia F₁ poddano próbie biologicznej oceniającej ich zdolności rozrodcze. Niepłodność pokolenia F₁ dowodzi, że substancje te wywoływały zna-

miennie duży wpływ na procesy rozrodcze badanych osobników. Przyczyną obserwowanej niepłodności potomstwa płci żeńskiej były znaczące zmiany histopatologiczne w jajnikach charakteryzujące się znikomą liczbą lub wręcz brakiem oocytów oraz obecnością przetrwałych ciałek żółtych. Innymi przyczynami niepłodności samic pokolenia F₁ były, obserwowane w badaniach, zakłócenia hormonalne ze znacznie podwyższonym stężeniem estradiolu w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 1), co może powodować powstanie tak zwanego „bloku estrogenowego”. Blok ten zakłóca i uniemożliwia wystąpienie zapłodnienia. Interesujące jest to, że stężenie estradiolu u samic pokolenia F₁ było znacząco wyższe w porównaniu do oznaczonego u matek, które były poddane bezpośredniemu działaniu TCDD. Porównując bezpośrednio i pośrednie działanie dioksyn na organizmy samic można stwierdzić, że występujące reakcje są istotnie różne [11, 14].

Wyniki otrzymane przez innych badaczy wykazują, że TCDD tworzy kompleks z węglowodorowym receptorem arylowym (AhR), co przyczynia się do obniżenia wytwarzania estradiolu w hodowlach komórek warstwy ziarnistej jajnika [12, 15, 16]. Takie działanie dioksyn potwierdziły badania własne *in vivo*. U samic, którym jednorazowo podano TCDD stwierdzono obniżenie stężenia estradiolu w surowicy [10].

Inni autorzy [17] po jednorazowej dawce TCDD, zbliżonej rzędem wielkości do zastosowanej w przedstawionych badaniach, obserwowali zakłócenie gospodarki estrogenowej związane z wydłużeniem stadium diestrus i zachowaniem owulacji.

Obserwowany w badaniach znaczący wzrost stężenia estradiolu u samic pokolenia F₁ można tłumaczyć reakcją kompensacyjną związaną z łączeniem się TCDD z receptorem AhR i przez to zmniejszeniem się liczby receptorów estrogenowych (ER) [13, 14, 18] nie tylko u matek, którym podano TCDD, ale również u ich rozwijających się żeńskich płodów. U samic pokolenia F₁, u których nastąpiło zmniejszenie liczby receptorów ER w życiu płodowym może dochodzić do kompensacyjnego wzrostu estradiolu spowodowanego zaburzeniem układu regulującego oś podwzgórze–przysadka [6, 11].

Uzyskane wyniki u samic pokolenia F₁ – poddanych pośredniemu działaniu dioksyn – wykazują wzmocnione, negatywne oddziaływanie tych związków w porównaniu z ich matkami, które zachowały (choć znacząco ograniczone) zdolności rozrodcze [10].

Obserwowany wpływ dioksyn na jądra samców pokolenia F₁ jest związany ze znacznym zakłóceniem spermatogenezy oraz występowaniem morfologicznych uszkodzeń w jądrach (zmiany de-

strukcyjne w kanalikach nasiennych). Stężenie testosteronu jest znacznie obniżone w porównaniu do grupy kontrolnej. Powyższe zmiany w gonadach samców wskazują, że dioksyny, które dostały się do ich organizmów w okresie płodowym i wczesnonorodkowym (przez mleko matki) charakteryzują się dłuższym działaniem biologicznym ograniczającym zdolności rozrodcze u osobników dojrzałych. Efekty te można tłumaczyć wpływem TCDD na receptor AhR, zakłócającym biosyntezę steroidowych hormonów płciowych [3, 7, 9, 17].

Obserwowane pod wpływem działania TCDD obniżenie stężenia testosteronu (wspólna droga biosyntezy z progesteronem) można tłumaczyć podobnym, hamującym działaniem TCDD na progesteron jak w badaniach Ennana et al. [13]. Zna-

czący niedobór tego hormonu może się przyczyniać do występowania zaobserwowanych zmian histopatologicznych w jądrach.

Podsumowując wyniki badań, można stwierdzić, że działanie bezpośrednie TCDD na organizmy samic powodowało obniżenie stężenia estradiolu w surowicy przy obniżonych zdolnościach rozrodczych. Przyczyną niepłodności samic pokolenia F₁ były zaburzenia stężenia estradiolu i znaczące zmiany histopatologiczne w jajnikach związane z zakłóceniem oogenezy. Zaobserwowana u samców tego pokolenia niepłodność może wynikać ze znacznego obniżenia się stężenia testosteronu, powodującego zahamowanie spermatogenezy i występowanie destrukcyjnych zmian w jądrach.

Piśmiennictwo

- [1] Travis CC, Hattermer-Frey HA: Human exposure to dioxin. *Sci Total Environ* 1991, 104, 97–127.
- [2] Crow K: Chlorance. *Trans St Johns Hosp Dermatol Soc* 1970, 56, 77–99.
- [3] Pluim HJ, Koppe JG, Olie K, V.d. Slikke JW, Kok JH, Vulsma T, Van Tijn D, De Vijlder JJ: Effects of dioxins on thyroid function in newborn babies. *Lancet* 1992, 339, 1303–1304.
- [4] Eldridge SR, Gould MN, Butterworth BE: Genotoxicity of environmental agents in human mammary epithelial cells. *Cancer Res* 1992, 52, 5617–5621.
- [5] Gupta BN, Vos JG, Moore JA, Zinkl JG: Bullock pathologic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals. *Environ Health Perspect* 1973, 5, 125–140.
- [6] Longnecker MT, Bellinger DC, Crews D, Eskenazi B, Silbergeld EK, Woodruff TJ, Susser E: An approach to assessment of endocrine disruption in the national children's study. *Environ Health Perspect* 2003, 111, 13, 1691–1697.
- [7] Piskorska-Pliszczyńska J: Dioksyny i związane z nimi zagrożenia zdrowia. *Med Wet* 1999, 55, 491–496.
- [8] Grochowalski A: Dioksyny. Materiały Międzynarodowej Konferencji Dioksyny w Przemysle i Środowisku. Kraków 2001, 1–38.
- [9] Palandín S: Dietary exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins from infancy until adulthood: Comparison between breast-feeding and long-term exposure. *Env Health Prospect* 1999, 107, 45–51.
- [10] Całkosiński I, Borodulin-Nadzieja L, Stańda M, Wasilewska U, Cegielski M: Wpływ jednorazowej dawki TCDD na poziom estrogenów i reprodukcję u szczurów. *Med Wet* 2003, 59, 536–538.
- [11] Gregoraszczuk EL, Wójtowicz AK, Zabiłny E, Grochowalski A: Dose- and time dependent effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on progesterone secretion by porcine luteal cells cultured *in vitro*. *J Physiol Pharm* 2000, 51, 127–135.
- [12] Gregoraszczuk EL, Zabiłny E, Ochwat D: Aryl hydrocarbon receptor (AhR)-linked inhibition of luteal cell progesterone secretion in 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin treated cells. *J Physiol Pharm* 2001, 52, 2, 303–311.
- [13] Enan E, Moran F, Vandervoort CA, Steward DR, Overstreet JW, Lasley BL: Mechanism of toxic action of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-dioxin (TCDD) in cultured human luteinized granulosa cells. *Toxicology* 1996, 10, 483–497.
- [14] Moran F, Enan E, Vandervoort CA, Steward DR, Conley AJ, Overstreet JW, Lasley BL: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) modulates function of human luteinizing granulosa cells *in vitro*. Society for The Study of Reproduction, Portland, OR 1997 Suppl. 1, 56 (Abstract).
- [15] Gregoraszczuk EL, Zabiłny E, Piekło R, Grochowalski A, Wójtowicz A, Mika R: Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on luteal cell function. Tissue culture approach. *Organohalogen Compounds* 1999, 42, 67–71.
- [16] Heimler I, Trewin AL, Chaffin CL, Rawlins RG, Hutz RJ: Modulation of ovarian follicle maturation and effects on apoptotic cell death in Holtzman rats exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in utero and lactationally. *Reprod Toxicol* 1998, 12, 69–73.
- [17] Brinbaum LS: Developmental effects of dioxins and related endocrine disrupting chemicals. *Toxicol Lett* 1995, 82, 743–750.
- [18] Li X, Johanson DC, Rozman KK: Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on estrous cyclicity and ovulation in female Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett* 1995, 78, 219–222.

Adres do korespondencji:

Ireneusz Całkosiński
Katedra i Zakład Fizjologii AM
ul. Chałubińskiego 10
50-368 Wrocław
e-mail: mcalkosinska@xl.wp.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 23.03.2004 r.
Po recenzji: 5.05.2004 r.
Zaakceptowano do druku: 5.05.2004 r.

Received: 23.03.2004
Revised: 5.05.2004
Accepted: 5.05.2004