

Hormony steroidowe – charakterystyka, zastosowanie, pozostałości w żywności pochodzenia zwierzęcego

BARBARA WOŹNIAK

Zakład Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Woźniak B.

Steroid hormones – properties, application, residues in food of animal origin

Summary

Hormones play an important role in the bodies of mammals because they act on metabolism and reproduction, as well as coordinate and regulate activities of different parts of the body, organs and tissues. Steroid hormones possess the capacity to increase weight gain and to reduce the feed conversion ratio, therefore they can be used for anabolic purposes in animal fattening. Taking into account the toxicity of hormones, particularly their cancerogenic and mutagenic properties, the use of this group of compounds for animal fattening purposes has been prohibited in the European Union, but natural hormones are allowed in some countries, for example USA and Australia. However, steroid hormones are also natural constituents of muscle and fatty tissues as well as of livers and kidneys of nontreated animals. Their occurrence is not restricted to mammals. Steroid hormones have also been determined in fish and poultry; they have been found in other animal-derived food such as milk and eggs. The residues of anabolic hormones in animal tissue as a result of implantation or illegal use can be a hazard for humans. Therefore the monitoring of hormone residues in biological samples of animal origin is mandatory. Several cases exceeding the acceptable limits of 17 β -estradiol and testosterone in bovine serum were noted in Poland in the last five years. Moreover, the presence of endogenous 19-nortestosterone in the urine of pigs was observed and no residues of synthetic hormones in tissues of slaughter animals were found.

Keywords: Steroid hormones, anabolics, residues, food

Termin hormony wywodzi się z greckiego słowa *hormáō*, które oznacza pobudzać, i dotyczy ogromnej ilości biologicznie aktywnych związków. Po raz pierwszy termin ten został użyty w 1902 r. przez Williama Baylissa i Ernesta Starlinga do opisu działania sekretyny, która stymuluje wydzielanie soku trzustkowego (6). Kliniczne symptomy związane z niskim poziomem hormonów steroidowych w organizmie były znane dużo wcześniej niż rozwinęła się teoria hormonów, już bowiem Arystoteles znał efekty działania kastracji u ludzi i ptaków. W 1889 r. Brown-Sequard w wieku 72 lat przetestował na sobie wyciąg z jąder zwierzęcych i opublikował entuzjastyczne wyniki. Chociaż z dzisiejszego punktu widzenia minimalna zawartość androgenów w wodnym roztworze mogła dać jedynie efekt *placebo*, to jednak fakt ten dał podwaliny do izolowania aktywnych związków steroidowych ze źródeł biologicznych (5). Wielkim sukcesem dwóch naukowców – Doisy i Butenandta było uzyskanie w 1929 r. krystalicznej formy estronu z moczu

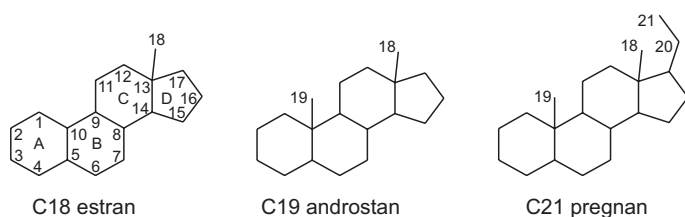
ciężarnych kobiet. Tym sposobem odkrywano kolejne hormony: w 1930 r. kortykosteroidy, progesteron, a w 1953 r. wyizolowano aldosteron. Odkrycia te miały decydującą rolę w rozwoju badań nad związkami steroidowymi. Natomiast doniesienia Pincusa z wczesnych lat 50. o antykoncepcyjnych właściwościach estrogenów i gestagenów podniosły hormony do rangi potencjalnych leków i spowodowały szeroki oddźwięk w badaniach chemicznych i farmakologicznych tych związków (5).

Kolejnym ważnym krokiem było uzyskanie znaczących izotopami hormonów, co umożliwiło prowadzenie badań nad mechanizmem ich działania oraz oznaczanie ich stężenia w plazmie metodą radioimmunologiczną. Opisanie przez Lorenza (30) po raz pierwszy w 1943 r. właściwości anabolicznych estrogenów przyczyniło się do zastosowania hormonów w hodowli zwierząt rzeźnych i pośrednio do rozwoju metod analitycznych, umożliwiających ich oznaczanie w różnego rodzaju próbkach biologicznych. Odkrycie recep-

torów umożliwiło poznanie mechanizmu działania hormonów. Bazując bardziej na efektach fizjologicznych niż budowie chemicznej, hormony definiowane są jako związki chemiczne wytwarzane w gruczołach dokrewnych, tkankach i komórkach, a wydzielane bezpośrednio do krwi, limfy czy płynu tkankowego, z którymi rozprawdane są po całym organizmie. Hormony oddziałują na metabolizm, reprodukcję, koordynują i regulują pracę wszystkich narządów i tkanek organizmu (5).

Charakterystyka steroidów

Steroidy syntetyzowane są w korze nadnerczy, gonadach i łożysku. Związkiem wyjściowym do powstania hormonów steroidowych jest cholesterol zawarty we krwi. Poszczególne etapy przekształcania cholesterolu możliwe są dzięki udziałowi szeregu enzymów umożliwiających utlenianie (hydroksylaza), rozrywanie podwójnych wiązań (desmolaza), przekształcanie androgenów w estrogeny (aromataza) itp. Hormony steroidowe charakteryzuje identyczna struktura chemiczna, której podstawą jest pierścień cyklopentanofenantrenu określanego terminem *gonane*. Dodatkowy węgiel w pozycji 18 tworzy strukturę estranu (C18), a w pozycji 19 androstanu (C19), natomiast dodatkowe dołączenie dwuwęglowego bocznego łańcucha do węgla w pozycji 17 daje strukturę pregnanu (C21) (ryc. 1). Budowa wszystkich hormonów steroidowych i ich metabolitów jest identyczna w odniesieniu do pierścienia B, C i D. W przypadku estrogenów (C18) pierścień A ma charakter aromatyczny z przyłączoną grupą hydroksylową do węgla w pozycji 3 (5).

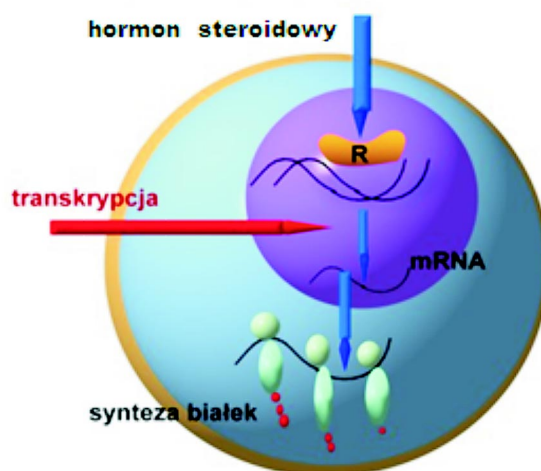


Ryc. 1. Główne pierścienie tworzące szkielet węglowy hormonów steroidowych

Naturalne hormony steroidowe to endogenne hormony płciowe wytwarzane w organizmie zwierząt i ludzi. Można je podzielić na trzy grupy, stosując jako kryterium efekty oddziaływania na organizm. Estrogeny, do których zalicza się, między innymi, 17β -estradiol i estron oraz gestageny, których głównym przedstawicielem jest progesteron, regulują cykl menstruacyjny u osobników żeńskich, są odpowiedzialne za rozwój żeńskich narządów i cech płciowych. Androgeny natomiast kierują rozwojem męskich narządów płciowych oraz utrzymaniem spermiogenezy (29). Oprócz powyższych właściwości wszystkie trzy grupy cechuje aktywność anaboliczna, przy czym dominującą rolę w tym względzie odgrywiają androgeny.

Syntetyczne i półsyntetyczne androgeny anaboliczne, takie jak 19-nortestosteron, boldenon, metylotestosteron, stanozolol, trenbolon posiadają budowę podobną do naturalnego testosteronu i są aktywne przy podawaniu drogą doustną. Ich właściwości anaboliczne są znacznie mocniejsze niż testosteronu, natomiast działanie androgenne – słabsze, dlatego jest to najliczniejsza grupa anabolików. Poprzez chemiczną modyfikację cząsteczki testosteronu można uzyskać związki o zwiększonej aktywności anabolicznej lub androgennej.

Mechanizm działania hormonów jest stosunkowo prosty. Do komórek docelowych docierają wraz z płynami ustrojowymi (najczęściej za pośrednictwem krwi). Obecność specyficznych receptorów umożliwia komórce wybór odpowiednich hormonów, a jednocześnie brak aktywności na inne, wobec których receptorów nie ma. Dla hormonów steroidowych receptory umiejscowione są w cytoplazmie lub jądrze komórki. Po połączeniu hormonu steroidowego z receptorem następuje aktywacja receptora, której konsekwencją jest jego zdolność do przyłączenia DNA i wywołanie transkrypcji przekaznika kwasu rybonukleinowego (mRNA). Kwas rybonukleinowy koduje syntezę białek, które spełniają funkcję enzymów kontrolujących procesy metaboliczne (5, 13). Ogólny schemat działania hormonów przedstawia ryc. 2.



Ryc. 2. Mechanizm działania hormonów steroidowych (5)

Proces metabolizmu nie wpływa na degradację podstawowego szkieletu hormonów steroidowych – policyklicznego pierścienia węglowego. Po przejściu szeregu przemian chemicznych hormony wydalone są z organizmu głównie z moczem, w niewielkiej ilości z kałem. Na metabolizm hormonów składa się szereg reakcji chemicznych, takich jak: utlenianie, redukcja, hydroksylacja, epimeryzacja – jest to tak zwana I faza metabolizmu. Większość metabolitów powstających w I fazie podlega dalszym metabolicznym przemianom w II fazie dzięki enzymom: glukuronylotransferazie i sulfotransferazie, obecnym między innymi w wątrobie, nerkach, przewodzie pokarmowym, łożysku. Formy sprzężone z kwasem glukuronowym po-

wstają głównie dla 5 β pochodnych, dla hormonów z grupami hydroksylowymi w pozycjach C3 α , C16 α , C17, C18, C21, natomiast z aktywnym siarczanem dla 3 β -hydroksysteroidów (5, 36).

Zastosowanie hormonów steroidowych

Hormony steroidowe u ludzi stosowane są w przypadkach niedoboru hormonów naturalnych w organizmie, w hormonalnej terapii zastępczej, antykoncepcji, leczeniu niepłodności, w zaburzeniach rozwojowych, anemii i chorobach krwi, leczeniu nowotworów, stanach wyczerpania organizmu (29). Hormony płciowe używane są w produkcji zwierzęcej w celach anabolicznych od ponad 60 lat (21, 28). Ich praktyczne zastosowanie ogranicza się do bydła, a szczególnie do zwierząt posiadających niski poziom endogennych hormonów płciowych (cielęta, woły, jałówki) i polega na uzupełnieniu niedoboru poziomu hormonów naturalnych. Hormony naturalne podawane *per os* i pozajelitowo są mało skuteczne, dlatego stosowane są głównie w formie implantów lub po podaniu doustnym w formie pochodnych, które działają dłużej i skuteczniej (3, 29). Steroidy powodują dodatkowe przyrosty masy ciała zwierząt od 10% do 30% i poprawiają stopień wykorzystania paszy o około 10% (31, 33). Hormony te stosuje się głównie u bydła i owiec, rzadziej u świń. Nie stwierdzono organoleptycznie różnic między mięsem produkowanym z zastosowaniem hormonalnych promotorów wzrostu i bez hormonów. Z wielu badań wynika natomiast, że tusze zwierząt traktowanych anabolikami hormonalnymi w porównaniu z tuszami pozyskiwanymi w chowie tradycyjnym są mniej otluszczone, a mięso jest chudsze (7, 14, 20, 23, 25, 28).

W Polsce, jak i w państwach Unii Europejskiej używanie hormonów do stymulacji wzrostu zwierząt jest prawnie zabronione, dopuszcza się natomiast stosowanie niektórych związków hormonalnych w celach terapeutycznych i zootechnicznych (9, 35). Jednak w niektórych krajach, np. w USA, Kanadzie, Australii zezwala się na stosowanie pewnych grup hormonów w tuczu zwierząt rzeźnych. Należą do nich hormony naturalne: estradiol, testosteron i progesteron oraz ich estry i pochodne, syntetyczny androgen octan trenbolonu oraz zeranol, które są podawane głównie jako implanty. Wyjątkiem jest octan melengestrolu, stosowany w USA jako dodatek paszowy dla jałówek (11). Czas implantacji wynosi średnio od 100 do 200 dni w zależności od rodzaju implantu i płci zwierzęcia. Oszacowano, że w USA w 1999 r. ponad 96% bydła podlegało implantacji (33). Do znanych preparatów hormonalnych zawierających hormony naturalne należą: Compudose, Implus, Synovex, natomiast w skład Revaloru oprócz benzoesu estradiolu wchodzi syntetyczny octan trenbolonu.

Toksyczność hormonów steroidowych

W ostatnich latach z inicjatywy Komisji Europejskiej podjęto szereg badań dotyczących toksyczności

poszczególnych hormonów, a wyniki badań przedstawione zostały między innymi w dwóch raportach Naukowego Komitetu SCVPH omawiających potencjalne ryzyko dla zdrowia konsumenta, wynikające z obecności pozostałości hormonów w mięsie i produktach mięsnych pochodzących od bydła (3, 33). Ocena genotoksyczności hormonów prowadzona była w doświadczeniach *in vivo* i *in vitro*, a wyniki badań przedstawiono w wielu publikacjach (2, 22, 27). Test Ames dotyczący mutagenności bakterii dał negatywne wyniki dla estradiolu, progesteronu, testosteronu, trenbolonu (19, 24, 26). Najnowsze rezultaty badań dotyczące 17 β -estradiolu potwierdziły genotoksyczność tego związku, który indukuje mutacje w różnych hodowlach komórek. Reaktywny metabolit, 3, 4-chinon estradiolu w badaniach *in vivo* wywołuje mutacje w komórkach skóry myszy. Pochodne katecholowe i chinonowe estrogenów tworzą również addukty z DNA w hodowlach komórkowych i komórkach skóry myszy (3). Natomiast progesteron i testosteron ocenione zostały przez Komisję Europejską jako związki nie wywołujące genotoksyczności i mutagenności (11, 33). W przypadku trenbolonu uznano, że nie ma wystarczających dowodów potwierdzających jego genotoksyczność, natomiast pełne wyjaśnienie zagadnienia wymaga dalszych badań (33, 34).

Kancerogenność hormonów badano u różnych gatunków zwierząt, takich jak: myszy, szczury, króliki, psy, małpy. Zgodnie z ustaleniami Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (16-18), syntetyczny estrogen – dietylostilbestrol i estrogeny naturalne zalicza się do grupy 1 – związków kancerogennych dla ludzi. W przypadku testosteronu istnieją dane o indukowaniu guzów macicy u myszy i prostaty u szczurów. Nie ma wystarczającej liczby badań w odniesieniu do ludzi, choć niektórzy badacze sugerują, że testosteron może wpływać na powstawanie nowotworu prostaty. Pod uwagę brany jest również fakt, że w wyniku aromatyzacji testosteronu do estradiolu, który wykazuje działania genotoksyczne, trudno jest ocenić ryzyko dla zdrowia ludzkiego związane z konsumpcją mięsa pochodzącego od zwierząt traktowanych hormonami. Według IARC (18), androgenne anaboliki klasyfikowane są jako substancje o prawdopodobnej kancerogenności dla ludzi (grupa 2A). Natomiast gestageny umieszczone są w grupie 2B (16, 18) – związków o możliwej kancerogenności dla ludzi.

Występowanie hormonów w żywności pochodzenia zwierzęcego

Publiczna uwaga zwrócona jest głównie na pozostałości hormonów w mięsie i produktach pochodzenia zwierzęcego. Hormony steroidowe to naturalne składniki mięśni, tkanki tłuszczowej, wątroby, nerek, kości i mózgu. Ich występowanie nie ogranicza się tylko do ssaków, naturalne steroidy stwierdzano też u ryb i drobiu, produktach pochodzenia zwierzęcego, takich jak: mleko, sery, jaja. Również rośliny zawierają zwią-

ki o strukturze identycznej jak hormony steroidowe. Konsumenci narażeni są nie tylko na działanie obecnych w żywności hormonów endogennych, ale także pozostałości hormonów naturalnych i syntetycznych będących konsekwencją implantacji zwierząt, jak też nielegalnego stosowania hormonalnych stymulatorów wzrostu (13). Z badań wynika że, naturalne stężenia estrogenów u bydła nie przekraczają w mięśniach $0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$, z wyjątkiem ciężarnych samic. Naturalny poziom progesteronu w tkankach jadalnych osobników męskich wynosi $0,01 \mu\text{g kg}^{-1}$ – $5 \mu\text{g kg}^{-1}$, u osobników żeńskich od $0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ do $40 \mu\text{g kg}^{-1}$. Najwyższe stężenia progesteronu oznaczano w tłuszczu ciężarnych krów, do $400 \mu\text{g kg}^{-1}$. Największe stężenia naturalnego testosteronu stwierdzano w tłuszczu dojrzewających byczków (5 – $20 \mu\text{g kg}^{-1}$), natomiast rzędu $0,1$ – $3 \mu\text{g kg}^{-1}$ w innych tkankach (12). Podobne stężenia naturalnych steroidów wykrywano w tkankach cieląt i świń.

Mleko i produkty mleczne uważane są za bogate źródło hormonów steroidowych. Stężenie progesteronu w mleku waha się od $1,4 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10 \mu\text{g L}^{-1}$, natomiast w maśle aż do $300 \mu\text{g kg}^{-1}$ (15).

U drobiu kumulacja lipofilnych hormonów występuje w tkance tłuszczowej i wzrasta z wiekiem zwierząt. Stężenie progesteronu w tkankach kurcząt wynosi $0,2 \mu\text{g kg}^{-1}$, u niosek – $7,8 \mu\text{g kg}^{-1}$, natomiast androgeny stwierdzano w bardzo niskich stężeniach $0,02$ – $0,03 \mu\text{g kg}^{-1}$ (13).

Jaja są również źródłem naturalnych aktywnych steroidów, głównie progesteronu i estrogenów (15).

Pozostałości hormonów obecne w tkankach zwierząt na skutek implantacji są ciągle przedmiotem dyskusji. Zwolennicy stosowania hormonów w produkcji zwierzęcej (np. USA) kładą nacisk na duże korzyści ekonomiczne i dowodzą, że podawanie preparatów hormonalnych zwierzętom w sposób kontrolowany eliminuje ryzyko występowania pozostałości w stężeniach wyższych od określonego bezpiecznego poziomu.

Z badań Arnolda (4) wynika, że codzienne spożycie przez 1 osobę 300 g mięsa, 100 g wątroby, 50 g tłuszczu i 50 g nerek (standaryzowane wskaźniki codziennego spożycia różnego rodzaju żywności pochodzenia zwierzęcego, służące do obliczania teoretycznych maksymalnych codziennych dawek) pochodzących od bydła implantowanego preparatem Synovex powoduje dostarczenie dodatkowej dawki estrogenów w ilości 30 – 50 ng , co stanowi mniej niż 2% ustalonej dla estradiolu wartości ADI wynoszącej 3000 ng/dzień dla osoby ważącej 60 kg . Ponadto dobowy syntezę estrogenów przez organizm ludzki wielokrotnie przekracza przytaczane wartości, ponieważ dla dzieci wynosi około $10\,000 \text{ ng}$, a dla kobiet $200\,000 \text{ ng}$ (28).

Przeciwnicy stosowania hormonów w produkcji żywności dowodzą, że istnieje ryzyko dla zdrowia konsumenta. Szczególnie narażone są dzieci, ponieważ poziom fizjologiczny hormonów płciowych jest

u nich bardzo niski w porównaniu z poziomem u dorosłych. Każda dodatkowa dawka hormonów, nawet w bardzo małych ilościach może mieć negatywny wpływ na organizm dziecka (1, 10, 11, 33). Ponadto niektóre narządy, np. macica wykazująca duże powinowactwo do receptorów estrogenowych, są wrażliwe nawet na bardzo małe dawki estrogenów. Dlatego też, biorąc pod uwagę dobro konsumenta, w państwach UE stosowanie hormonalnych stymulatorów wzrostu w tuczu zwierząt rzeźnych jest zabronione już od 1988 r. (8). Według Stephany'ego (37), zarówno w USA, jak i w UE nie ma odpowiedniej bazy informacyjnej na temat poziomu naturalnych i ksenobiotycznych hormonów w żywności pochodzenia zwierzęcego. Prowadzenie na szeroką skalę monitoringu hormonów w podstawowych artykułach żywnościowych umożliwiłoby zebranie wystarczającej liczby danych do jej utworzenia, co posłużyłoby, między innymi, do określenia stopnia ryzyka dla zdrowia człowieka, wynikającego z obecności hormonów steroidowych, a szczególnie estrogenów w żywności pochodzenia zwierzęcego.

Badanie pozostałości hormonów jest obecnie integralną częścią zarówno procesów wytwarzania, jak i kontroli żywności zwierzęcego pochodzenia, w systemie ochrony zdrowia człowieka (32). Krajowy program badań pozostałości jest obecnie całkowicie dostosowany do międzynarodowych wymagań. Zasady prowadzenia badań są zgodne z zaleceniami Dyrektywy 96/23/EC oraz Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 28 maja 2006 r. Zgodnie z przepisami, na obecność anabolików badane są: bydło, świnie, konie, owce, króliki, drób i ryby. Każdego roku liczba zwierząt kontrolowanych w kierunku pozostałości hormonów zależy od liczby zwierząt poddanych ubojowi w roku poprzednim. Rocznie w kierunku związków anabolicznych należących do grupy A1 (stilbeny), A2 (tyreostatyki), A3 (steroidy) i A4 (zeranol i metabolity) badanych jest ponad 6000 próbek moczu, surowicy, tkanki mięśniowej i tłuszczowej pobieranych od zwierząt w rzeźni i w gospodarstwach. Wyniki badań własnych prowadzonych w latach 2005–2008 w ramach Krajowego Programu Badań Kontrolnych Obecności Substancji Niedozwolonych oraz Pozostałości Chemicznych, Biologicznych i Produktów Leczniczych u Zwierząt i w Żywności Pochodzenia Zwierzęcego wskazują na sporadyczne przekroczenia dopuszczalnego stężenia hormonów naturalnych: 17β -estradiolu i testosteronu w surowicy bydlęcej, a także na obecność endogennego 19-nortestosteronu w moczu świń. Nie stwierdzano natomiast obecności stilbenów, hormonów syntetycznych ani też zeranolu i jego metabolitów. Na podstawie badań urzędowych oraz badań diagnostycznych prowadzonych na zlecenie indywidualnych klientów można stwierdzić, że w Polsce hormonalne stymulatory wzrostu nie są stosowane w produkcji żywności pochodzenia zwierzęcego.

Piśmiennictwo

1. *Aksglaede L., Juul A., Leffers H., Skakkebaek N. E., Andersson A. M.*: The sensitivity of the child to sex steroids: possible impact of exogenous estrogens. *Hum. Reprod. Update* 2006, 12, 341-349.
2. *Anon.*: Chemical Review and International Harmonisation Section Office of Chemical Safety Therapeutic Goods Administration, Department of Health and Ageing: A review to update Australia's position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs) used in cattle. Canberra July 2003.
3. *Anon.*: European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health on Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. Brussels 10 April 2002.
4. *Anon.*: Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Fifty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 893, Rome 2000.
5. *Baulieu E. E., Kelly P. A.*: Hormones. From molecules to disease. Hermann, Paris 1990.
6. *Bayliss W. M., Starling E. H.*: The mechanism of pancreatic secretion. *J. Physiol.* 1902, 28, 325-353.
7. *Bouffault J. C., Willemart J. P.*: Anabolic activity of trenbolone acetate alone or in association with estrogens, [w:] Meissonnier E.: Anabolic in animal production. OIE, Paris 1983, 155-177.
8. Council Directive 88/146/EEC, Off. J. Eur. Commun. 1988, L 128:36.
9. Council Directive 96/22/EC, Off. J. Eur. Commun. 1996, L 125:3.
10. *Courant F., Antignac J. P., Maume D., Monteau F., Andersson A. M., Skakkebaek N., André F., Le Bizec B.*: Exposure assessment of prepubertal children to steroid endocrine disrupters. Analytical strategy for estrogens measurements in plasma at ultra-trace level. *Anal. Chim. Acta* 2007, 586, 105-114.
11. *Doyle E.*: Human safety of hormone implants used to promote growth in cattle. A review of the scientific literature. FRI Briefings. Food Research Institute, University of Wisconsin Madison, WI 53706, July 2000.
12. *Fritsche S., Steinhart H.*: Differences in natural steroid hormone patterns of beef from bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 1998, 76, 1621-1625.
13. *Fritsche S., Steinhart H.*: Occurrence of hormonally active compounds in food: a review. *Eur. Food Res. Technol.* 1999, 209, 153-179.
14. *Gerken C. L., Tatum J. D., Morgan J. B., Smith G. C.*: Use of genetically identical (Clone) steers to determine the effects of estrogenic and androgenic implants on beef quality and palatability characteristics. *J. Anim. Sci.* 1995, 73, 3317-3324.
15. *Hartmann S., Lacorn M., Steinhart H.*: Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chem.* 1998, 62, 7-20.
16. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 21. Sex hormones (II). International Agency for Research on Cancer, Lyon 1979.
17. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 72. Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy. International Agency for Research on Cancer, Lyon 1999.
18. IARC Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Supplement N° 7. International Agency for Research on Cancer, Lyon 1987.
19. *Ingerowski G. H., Scheutwinkel-Reich M., Stan H. J.*: Mutagenicity studies on veterinary anabolic drugs with the Salmonella/microsome test. *Mutat. Res.* 1981, 91, 93-98.
20. *Johnson B. J., Anderson P. T., Meiske J. C., Dayton W. R.*: Effect of a combined trenbolone acetate and estradiol implant on feedlot performance, carcass characteristics, and carcass composition of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 1996, 74, 363-371.
21. *Kossila V. L.*: The use of anabolic steroids in animal production, [w:] Meissonnier E.: Anabolic in Animal Production. OIE, Paris 1983, 497-503.
22. *Liehr J. G.*: Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocrine Rev.* 2000, 21, 40-54.
23. *Lough D. S., Kahl S., Solomon M. B., Rumsey T. S.*: The effect of trenbolone acetate on performance, plasma lipids, and carcass characteristic of growing ram and ewe lambs. *J. Anim. Sci.* 1993, 71, 2659-2665.
24. *Lutz W. K., Deuber R., Caviezel M., Sagelsdorff P., Friederich U., Schlatter C.*: Trenbolone growth promotant: covalent DNA binding in rat liver and in Salmonella typhimurium, and mutagenicity in the Ames test. *Arch. Toxicol.* 1988, 62, 103-109.
25. *Martinez M., Lopezbote C., Sancho G., Ventanas J.*: Effects of trenbolone acetate on swine carcass characteristics and backfat composition. *Can. J. Anim. Sci.* 1992, 72, 969-972.
26. *Marzin D.*: Ames test and trenbolone. *Arch. Toxicol.* 1989, 419, 33-41.
27. *Metzler M., Kulling S. F., Pfeiffer E., Jacobs E.*: Genotoxicity of estrogens. *Z. Lebens. Unters. Forsch.* 1998, 206, 367-373.
28. *Meyer H. D., Karg H.*: Growth stimulators for farm animals: mode of action, effects on meat quality and potential risk originating from residues. Proc. FAO/CAAS Workshop on Biotechnology in Animal Production and Health in Asia and Latin America, Beijing Oct. 9-13, 1989, s. 49-58.
29. *Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer H. K., Schäfer-Korting M.*: Farmakologia i toksykologia. A. Danysz (red.), Wydawnictwo Medyczne Urban&Partner, Wrocław 2004.
30. *Preston R. L.*: Biological responses to estrogen additives in meat producing cattle and lambs. *J. Anim. Sci.* 1975, 41, 1414-1430.
31. *Preston R. L.*: Hormone containing growth promoting implants in farmed livestock. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1999, 38, 123-128.
32. Regulation 178/2002/EC of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Off. J. Eur. Commun. 2002, L31/1.
33. Report of the Veterinary Products Committee. Risk Associated with the Use of Hormonal Substances in Food-Producing Animals. VPC, Woodham Lane, New Haw, Addlestone, Surrey, June 2006.
34. *Richold M.*: The genotoxicity of trenbolone, a synthetic steroid. *Arch. Toxicol.* 1988, 61, 249-258.
35. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju wsi z dnia 28 lipca 2006 roku w sprawie sposobu postępowania z substancjami niedozwolonymi, pozostałościami chemicznymi, biologicznymi, produktami leczniczymi i skażeniami promieniotwórczymi u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego. Dz. U. Nr 147, poz. 1067.
36. *Schänzer W.*: Metabolism of anabolic androgenic steroids. *Clin. Chem.* 1996, 42, 1001-1020.
37. *Stephany R. W., Sterk S. S., Van Ginkel L. A.*: Tissue levels and dietary intake of endogenous steroids: an overview with emphasis on 17beta-estradiol. Proc. Euroresidue V Conference, Noordwijkerhout, The Netherlands 10-12 May 2004, s. 111-121.

Adres autora: dr Barbara Woźniak, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: bwozniak@piwet.pulawy.pl