

## EFFECT OF NATURAL SUBSTANCES ON SECRETION ACTIVITY OF PORCINE OVARIAN GRANULOSA CELLS.

Adriana Kolesárová, Marcela Capcarová, Nora Maruniaková, Marína Medved'ová, Alexander V. Sirotkin, Norbert Lukáč, Jozef Bulla

### ABSTRACT

The aim of this *in vitro* study was to examine the secretion of progesterone by porcine ovarian granulosa cells after deoxynivalenol and resveratrol addition. Ovarian granulosa cells were incubated with deoxynivalenol and resveratrol for 24h: at doses 2000, 3000 and 5000 ng.ml<sup>-1</sup> of deoxynivalenol and 10, 30 and 50 µg.ml<sup>-1</sup> of resveratrol while the control groups received no natural substances. Progesterone was determined by RIA. Progesterone release was stimulated by deoxynivalenol (at all used doses) and resveratrol (at 50 µg.ml<sup>-1</sup> but not at 30 and 10 µg.ml<sup>-1</sup>) treatment. Our *in vitro* results suggest that natural substances - deoxynivalenol and resveratrol have a dose-dependent effect on the secretion activity of porcine ovarian granulosa cells.

**Key words:** deoxynivalenol, resveratrol, progesterone, ovarian cells

---

### ÚVOD

Expozícia živočíchov exogénnymi faktormi je príčinou rôznych alterácií (Capcarova et al., 2008; Kolesarova et al., 2008, Kalafová et al., 2009a,b Skalická et al., 2009; Koréneková et al., 2009; Martiniaková et al., 2009). Deoxynivalenol (DON), mykotoxín patriaci do skupiny B trichotecénov, je produkovaný predovšetkým mikroskopickými hubami *Fusarium graminearum* a *Fusarium culmorum* (SCOOP, 2003). Mikroskopické huby rodu *Fusarium* sa pomerne často vyskytujú v rozličných obilninách (pšenica, kukurica, jačmeň, ovos a ryža) a produkty obilnín (slad, pivo a chlieb) (Eriksen a Alexander, 1998). Deoxynivalenol je rezistentný voči mletiu, spracúvaniu, tepelnému spracovaniu a rýchlo vstupuje do potravinového reťazca (Fink-Gremmels, 1999). Je rýchlo absorbovaný po orálnom podaní, pasívne je absorbovaný v celom tráviacom trakte a aktívne v obličkách (Marquardt and Frohlich, 1992), pečeni, svaloch, tukovom tkanive (Gareis and Scheuer, 2000) a v tkanivách reprodukčnej sústavy (Ranzenigo et al., 2008). Vyznačuje sa silným akútnym aj chronickým účinkom v závislosti od použitej dávky (Marquardt and Frohlich, 1992). Po akútnom podaní spôsobuje u ošípaných zvracanie, pri malých dávkach podávaných v krmive dochádza k redukcii rastu a príjmu krmiva (anorexia) (Rotter et al., 1996; Eriksen and Alexander, 1998). Aktívne sa deliace bunky, ku ktorým patria aj bunky imunitného systému (monocyty, makrofágy ako aj T a B lymfocyty) sú prvotne zasiahnuté DON-om (Pestka et al., 2004). Inhibuje syntézu DNA a RNA a syntézu proteínov na ribozómoch, má hemolytické účinky na erytrocyty (Rotter et al., 1996; Eriksen and Alexander, 1998). Expozícia mykotoxínov ovplyvňuje produkciu steroidných hormónov v ovariálnych granulóznych bunkách ako aj vývoj oocytov (Minervini et al., 2001; Alm et al., 2002), ovuláciu (Kumagai a Shimizu, 1982), funkciu reprodukčnej sústavy a graviditu (Long et al., 1982; D'Mello et al., 1999; Alm et al., 2002). Negatívne ovplyvňuje graviditu

ošípaných schopnosťou inhibovať dozrievanie oocytov (Alm et al., 2002, 2006).

Resveratrol (3,4',5- trihydroxystilbene; RV) je prírodným fytoalexínom vyskytujúci sa v hrozne, červenom víne a v iných produktoch. Jeho funkciou je chrániť rastliny pred stresom z okolitého životného prostredia a poškodením patogénmi (Hain et al., 1990), teda aj ochraňovať rastliny pred mikroskopickými hubami (Lin a Tsai, 1999). Vysoké koncentrácie resveratrolu sú v niektorých orientálnych bylínkach používané na liečenie horúčky, hyperlipidémie, zápalov a aterosklerózy (Chung et al., 1992). Resveratrol má silný inhibičný účinok na reaktívne formy kyselika (Rotondo et al., 1998) a je silnejším antioxidantom ako vitamín E v prevencii LDL oxidácii (Frankel et al., 1993). Predchádzajúce štúdie naznačujú možnú úlohu a ochranný účinok RV voči určitým formám poškodenia spôsobených oxidatívnym stresom (López-Vélez et al., 2003). Použitie butylhydroxyanizolu (BHA) a RV v prevencii kontaminácie mikroskopickými hubami došlo k inhibícii rastu mikroskopických húb a k produkcii toxínov na 80 % (Ricelli et al., 2003). Resveratrol je považovaný za potenciálnu chemopreventívnu látku pri estrogénmi-spúšťaných nádoroch prsníkov, blokovaním väčšiny kritických krokov v genotoxickej dráhe estrogénov (Lu et al., 2008). Resveratrol a jeho analógy inhibujú steroidogénu v Leydigových bunkách potláčaním expresie StAR a cytochrómu P450c17. Inhibícia steroidogény RV-om a jeho analógmi v Leydigových bunkách naznačuje nové mechanizmy účinku týchto látok, ktoré môžu vyvolať potenciálny terapeutický záujem, kde potláčanie androgénov je potrebné (Svechnikov et al., 2009).

Progesterón (P<sub>4</sub>) je popisovaný v granulóznych bunkách vaječníkov prasičiek (Kolesárová et al., 2008; 2009; Medved'ová et al., 2010; 2011), v ovariálnych folikuloch ošípaných (Skarzynski et al., 2008) a v žltom teliesku (Gregoraszcuk, 1997). Je esenciálny pre normálny ovariálny cyklus (Hagan et al., 2008; Arnhold et al., 2009), vývoj prsných žliaz a embryonálny vývoj (Hagan et al., 2008; Arnhold et al., 2009). Reprodukčné zdravie živočíchov môže byť ovplyvnené množstvom endogénnych,

ale aj exogénnych faktorov, ako sú ťažké kovy (Massanyi et al., 2010; Kňazická et al., 2010; Schneidgenová et al., 2007; 2008) a mykotoxíny (Maruniaková et al., 2010; Medved'ová et al., 2010; 2011).

Cieľom práce bolo skúmať vplyv prírodných látok deoxynivalenolu a resveratrolu na sekrečnú aktivitu ovariálnych granulóznych buniek prasníciek so zameraním na steroidný hormón progesterón.

## MATERIÁL A METÓDY

Vaječníky získané z necyklujúcich pubertálnych prasníciek plemena biela ušľachtilá sme individuálne uskladnili v termoske s fyziologickým roztokom pri izbovej teplote a spracovali maximálne do 6 hodín od zabitia zvierat v CVŽV Nitra. Ovariálne granulózne bunky sme izolovali metódou aspirácie zo stredne veľkých folikulov (3-5 mm). Suspenziu granulóznych buniek sme odstreďovali (1500 ot. min<sup>-1</sup>, 10 minút) za účelom oddelenia od folikulárnej tekutiny s následným premývaním pomocou sterilného kultivačného média DMEM/F12 1:1 (BioWhittaker<sup>TM</sup>, Verviers, Belgium) doplneného 10 % fetálnym teľacím sérom (BioWhittaker<sup>TM</sup>) a antibiotikom – antimykotikom (Sigma, St. Louis, MO, USA). Pomocou hemocytometra sme počítali bunky a upravili koncentráciu buniek na potrebnú (10<sup>6</sup> buniek.ml<sup>-1</sup> média). Bunkovú suspenziu riedenú kultivačným médiom sme kultivovali (37°C, 5 % CO<sub>2</sub>) v kultivačných platničkách (1 ml.kultúra<sup>-1</sup>). Po 5 dňoch kultivácie, keď bunky vytvorili na 75 % súvislú monovrstvu, sme médium nahradili čerstvým médiom s 10 % fetálnym teľacím sérom, bez prítomnosti antibiotík a bez (kontrola)/s prídavkom prírodných látok nasledovne: 1. s aplikáciou DON-u (Romer Labs Division Holding GmbH, Tulln, Rakúsko) v dávkach 2000, 3000 a 5000 ng.ml<sup>-1</sup>, 2. s aplikáciou resveratrolu v dávkach 10, 30, 50 µg.ml<sup>-1</sup>. Po 24 h kultivácii sme injekčnou striekačkou odobrali médium z kultivačných platničiek a uskladnili pri teplote -70°C až do doby rádioimunoanalýzy (RIA). Koncentrácie P<sub>4</sub> boli stanovené metódou RIA v 25-100 µl inkubačného média. Tieto látky boli naviazané použitím RIA kitov (Immunotech SAS, Marseille Cedex, France) podľa inštrukcií výrobcu (Makarevich a Sirotkin, 1999). Všetky RIA súpravy boli určené pre použitie vzoriek kultivačného média. Rozdiely medzi skupinami boli hodnotené Two Way ANOVA testom použitím štatistického programu Sigma Plot 11.0 (Jandel, Corte Madera, USA). Hodnoty predstavujú priemer ± SEM. Signifikantnosť rozdielov medzi skupinami bola určená na úrovni p<0,05.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Vplyv deoxynivalenolu na sekrečnú progesterónu

Po aplikácii rôznych dávok deoxynivalenolu sme zaznamenali diferencie v sekrečii steroidného hormónu P<sub>4</sub> ovariálnymi granulóznymi bunkami prasníciek (Obrázok 1). Podobne už predchádzajúci autori Gajacka et al. (2008) zaznamenali dávkovo-závislé hormonálne zmeny v sekrečii progesterónu vplyvom zearealenonu. V našej *in vitro* štúdií DON významne zvyšoval

(p<0,05) sekrečnú P<sub>4</sub> vo všetkých skupinách (2000, 3000, 5000 ng.ml<sup>-1</sup>) v porovnaní s kontrolnou skupinou bez aplikácie daného mykotoxínu.

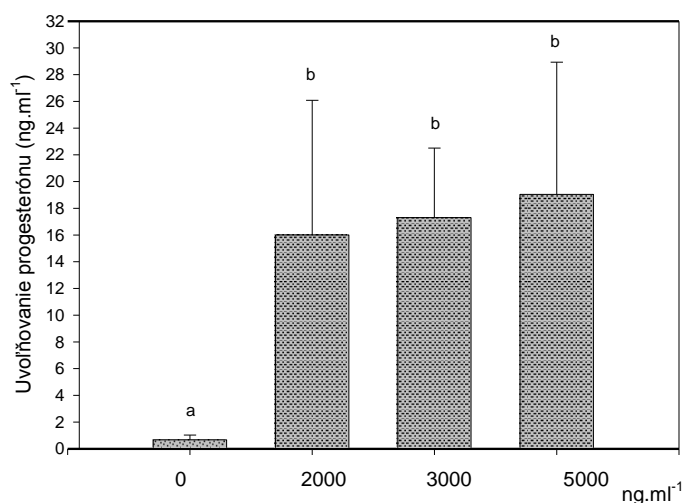
Naše výsledky sú v súlade s predchádzajúcou štúdiou (Medved'ová et al., 2010), v ktorej bola popisovaná významná (p<0,05) stimulácia sekrečie progesterónu vplyvom DON-u v dávke 1000 ng.ml<sup>-1</sup>. Podobné účinky na granulózne bunky prasníciek zaznamenali Maruniaková et al. (2010) v prípade T-2 a HT-2 toxínu, patriacich do skupiny A-trichotecénov. Autori zaznamenali významnú stimuláciu sekrečie progesterónu po aplikácii T-2 toxínu v dávke 1000 ng.ml<sup>-1</sup> a po aplikácii HT-2 toxínu v dávke 100 a 1000 ng.ml<sup>-1</sup>.

Z našich výsledkov ako aj z výsledkov iných autorov vyplýva, že DON ako aj ostatné toxíny zo skupiny trichotecénov spôsobujú zmeny v uvoľňovaní P<sub>4</sub> v závislosti od použitej dávky.

### Vplyv resveratrolu na sekrečnú progesterónu.

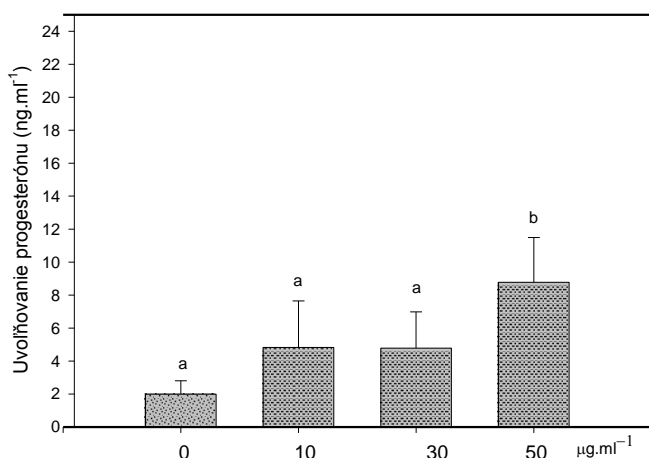
Po podaní resveratrolu sme podobne zaznamenali zmeny v uvoľňovaní progesterónu ovariálnymi granulóznymi bunkami prasníciek (Obrázok 2). Významné (p<0,05) zvýšenie P<sub>4</sub> sme zaznamenali po podaní resveratrolu v dávke 50 µg.ml<sup>-1</sup>, zatiaľ kým dávky 10 a 30 µg.ml<sup>-1</sup> neovplyvovali sekrečnú daného steroidného hormónu. Supornsilchai et al. (2005) vo svojich *in vitro* experimentoch zaznamenali o 400 % zvýšenú produkciu P<sub>4</sub> bunkami nádorových Leydigových bunkách - MA-10 myši. Resveratrol a genisteín inhibovali sekrečnú P<sub>4</sub>, na druhej strane quercentín stimuloval syntézu P<sub>4</sub> v MA-10 bunkách. Naše výsledky sú v súlade s výsledkami Makarevich et al. (1997), ktorí zistili, že koncentrácie genisteínu v rozmedzí od 37 nM do 37 µM stimulovali produkciu P<sub>4</sub> granulóznymi bunkami hovädzieho dobytku a králikov.

Výsledky našej práce naznačujú možný účinok prírodných látok ako je resveratrol na sekrečnú P<sub>4</sub> granulóznymi bunkami vaječníkov prasníciek v závislosti od použitej dávky.



Obrázok 1 Vplyv deoxynivalenolu na sekrečnú progesterónu granulóznymi bunkami vaječníkov prasníciek. a,a- nesignifikantné rozdiely (p>0,05) medzi

príslušnými skupinami; a,b - významné rozdiely ( $p < 0,05$ ) medzi príslušnými skupinami. Rozdiely medzi skupinami boli hodnotené Two Way ANOVA testom. Hodnoty predstavujú priemer  $\pm$  SEM. RIA metóda.



**Obrázok 2** Vplyv resveratrolu na sekréciu progesterónu granulóznymi bunkami vaječníkov prasničiek. a,a- nesignifikantné rozdiely ( $p > 0,05$ ) medzi príslušnými skupinami; a,b - významné rozdiely ( $p < 0,05$ ) medzi príslušnými skupinami. Rozdiely medzi skupinami boli hodnotené Two Way ANOVA testom. Hodnoty predstavujú priemer  $\pm$  SEM. RIA metóda.

## ZÁVER

Výsledky z experimentov naznačujú možný dávkovo-závislý účinok prírodných látok deoxynivalenolu a resveratrolu na sekrečnú aktivitu ovariálnych granulóznych buniek prasničiek, a preto ďalšie experimenty sú nevyhnutné pre presnejšie objasnenie účinku týchto prírodných látok.

## POUŽITÁ LITERATÚRA

ALM, H., GREISING, T., BRUSSOW, K.-P., TORNER, H., TIEMANN, U., 2002. The influence of the mycotoxins deoxynivalenol and zearalenol on *in vitro* maturation of pig oocytes and *in vitro* culture of pig zygotes. In *Toxicol in vitro*, vol. 16, 2002, no. 6, p. 643–648.

ALM, H., BRÜSSOW, K.P., TORNER, H., VANSELOW, J., TOMEK, W., DÄNICKE, S., TIEMANN, U., 2006. Influence of Fusarium-toxin contaminated feed on initial quality and meiotic competence of gilt oocytes. In *Reproductive Toxicology*, vol. 22, 2006, p. 44–50.

ARNHOLD, I.J., LOFRANO-PORTO, A., LATRONICO, A.C., 2009. Inactivating mutations of luteinizing hormone beta-subunit or luteinizing hormone receptor cause oligo-amenorrhea and infertility in women. In *Hormone Research*, vol. 71, 2009, p. 75-82.

CAPCAROVÁ, M., KOLESÁROVÁ, A., LUKÁČ, N., SIROTKIN, A., BÁRDOS, A., ROYCHOUDHURY, S. 2009. Antioxidant defence in porcine granulosa cells

exposed to lead *in vitro*, In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, p. 15-18.

D'MELLO, J.P.F., PLACINTA, C.M., MACDONALD, A.M.C., 1999. *Fusarium* mycotoxins, a review of global implications for animal health, welfare and productivity. In *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 80, 1999, p. 183–205.

ERIKSEN G.S. and ALEXANDER J. 1998. Fusarium toxins in cereals – a risk assessment. Nordic Council of Ministers, Tema Nord 1998, 502, Copenhagen.

FANG LU, MUHAMMAD ZAHID, CHENG WANG, MUHAMMAD SAEED, ERCOLE L. CAVALIERI, AND ELEANOR G. ROGAN., 2008. Resveratrol Prevents Estrogen-DNA Adduct Formation and Neoplastic Transformation in MCF-10F Cells. In *Cancer Prev Res*, vol. 1, 2008, n.2, p. 135-145.

FINK-GREMMELS J., 1999. Mycotoxins: their implications for human and animal health. In *Vet. Q.*, vol. 21, 1999, p.115-120.

FRANKEL E.N, WATERHOUSE A.L, KINSELLA J.E., 1993. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. In *Lancet*, vol. 341, 1993, p. 1103–1104.

GAJECKA, M., JANOWSKI, T., JAKIMIUK, E., ZIELONKA, L., PODHALICZ-DZIEGIELEWSKA, M., OBREMSKI, K., GAJECKI, M., 2008. Influence of long-term zearalenone intoxication on the concentration of progesterone and 17 $\beta$ -oestradiol in blood plasma in bitches. In *Bull. Vet. Ins. Pulawy*, vol. 52, 2008, p. 405-409.

GAREIS, M., SCHEUER, R., 2000. Ochratoxin A in meat and meat products. In *Archiv für Lebensmittelhygiene.*, vol. 51, 2000, p. 102–104.

GREGORASZCZUK E.L., 1997. Progesterone, androgen and estradiol production by porcine luteal cell subpopulations: dependence on cell composition and periods of luteal phase. In *Endocrine Regulation.*, vol. 31, 1997, p. 41–46.

HAGAN, C.R., FAIVRE, E.J., LANGE, C.A., 2008. Scaffolding actions of membrane-associated progesterone receptors. In *Steroids*, vol. 74, 2008, p. 568-572.

HAIN, R., BIESELER, B., KINDL, H., SCHRODER, G. AND STOCKER, R., 1990. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. In *Plant Mol. Biol.*, vol.15, 1990, p. 325–335.

CHEN, YU-CH., NAGPAL, L.M., STOCCO, M.D., LIN, T., 2007. Effects of genistein, resveratrol and quercetin on steroidogenesis and proliferation of MA-10 mouse Leydig tumor cells. In *Journal of Endocrinology*, vol. 192, 2007, p. 527-537.

CHUNG, M.I., TENG, C.M., CHENG, K.L., KO, F.N. AND LIN, C.N., 1992. An anti-platelet principle of veratrum formosarum. In *Planta Med.*, vol. 58, 1992, p. 274–276.

KALAFOVÁ, A., MASSÁNYI, P., CHRENEK, P., KOVÁČIK, J., LUKÁČ, N., CHRASTINOVÁ, L., SCHNEIDGENOVÁ, M., ČUPKA, P., JURČÍK, R. 2009. The effect of single nickel and combined nickel and zinc peroral administration on selected mineral blood parameters in female rabbits, In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009a, no. 4, p. 26-29.

KALAFOVÁ, A., KOVÁČIK, J., MASSÁNYI, P., SCHNEIDGENOVÁ, M., CHRASTINOVÁ, L., JURČÍK, R., LUKÁČ, N., CHRENEK, P., ČUPKA, P. 2009b. The effect of nickel and zinc experimental administration on

- selected haematology parameters in rabbits. In *Slovak Journal of Animal Science*, vol. 42, 2009b, suppl. 1, p. 123.
- KŇAŽICKÁ, Z., TVRDÁ, E., LUKÁČ, N., MASSÁNYI, P., KALAFOVÁ, A., SCHNEIDGENOVÁ, M., ONDRUŠKA, E. 2010. The influence of nickel and zinc on the occurrence of abnormal forms of rabbit sperms *in vivo*. In *Risk factor of food chain*, Nitra : SPU, 2010, p. 172-176, ISBN 978-80-552-0436-9.
- KOLESÁROVÁ A., SIROTKIN A., KOVÁČIK J., 2008. Endokrinné a vnútrobunkové mechanizmy pohlavného dospievania prasničiek. Vedecká monografia. Nitra : SPU, 131 s. ISBN 978-80-552-0109-2.
- KOLESÁROVÁ, A., ROYCHOUDHURY, S., SLIVKOVÁ, J., MASSÁNYI, P., SIROTKIN, A., CAPCAROVÁ, M., MEDVEĐOVÁ, M., KOVÁČIK, J. 2009. Olovom indukované zmeny v sekrécii hormonálnych látok ovariálnymi granulóznymi bunkami prasničiek *in vitro*, In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, p. 30-34.
- KORÉNEKOVÁ, B., SKALICKÁ, M., KOŽÁROVÁ, I., MAČANGA, J., KORÉNEK, M. 2009. Sledovanie rizikových chemických prvkov u kačíc divých (*Anas platyrhynchos*), In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, p. 35-37.
- KUMAGAI, S., SHIMIZU, T., 1982. Neonatal exposure to zearalenone causes persistent anovulatory estrus in the rat. In *Arch. Toxicol.*, vol. 50, 1982, p. 279–286.
- LIN, J.K., TSAI, S.H., 1999. Chemoprevention of cancer and cardiovascular disease by resveratrol. In *Proc Natl Sci Counc Repub China B*, vol. 23, 1999, p. 99–106.
- LONG, G.G., DIEKMAN, M., TUIITE, J.F., SHANNON, G.M., VESONDER, R.F., 1982. Effect of *Fusarium roseum* corn culture containing zearalenone on early pregnancy in swine. In *Am. J. Vet. Res.*, vol. 43, 1982, p. 1599-1603.
- LÓPEZ-VÉLEZ, M., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, F., DEL VALLE-RIBES, C., 2003. The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. In *Crit Rev food Sci Nut*, vol. 43, 2003, p. 233–244.
- MAKAREVICH A., SIROTKIN A., 1999. Development of sensitive radioimmunoassay for IGF-I determination in samples from blood plasma and cell-conditioned medium. In *Veterinarna Medicina.*, vol. 44, 1999, p. 71–78.
- MAKAREVICH A., SIROTKIN A., TARADAJNIK, T., CHRENEK, P., 1997. Effect of genistein and lavenderdustin on reproductive processes in domestic animals *in vitro*. In *Journal of steroid biochemistry and molecular biol.*, vol. 63, 1997, p. 329-337.
- MARTINIAKOVÁ, M., OMEKKA, R., JANČOVÁ, A., FORMICKI, G., STAWARZ, R. 2009. Koncentrácia vybraných rizikových prvkov v stehnových kostiach hrdziaka hôrneho (*Clethrionomys glareolus*), In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, p. 54-57.
- MARQUARDT, R.R., FROHLICH, A.A., 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. In *Journal of Animal Science.*, vol. 70, 1992, p. 3968–3988.
- MARUNIAKOVÁ, N., KOLESÁROVÁ, A., CAPCAROVÁ, M., MEDVEĐOVÁ, M., SIROTKIN, A.V., BULLA, J., 2010. Vplyv T-2 toxínu a HT-2 toxínu na sekréciu progesterónu granulóznymi bunkami vaječníkov prasničiek. In V Vedecká konferencia doktorandov.: Medzinárodná vedecká konferencia, Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 2010, s. 59-62.
- MASSANYI, P., SLIVKOVÁ, J., KROČKOVÁ, J., LUKÁČ, N., KALAFOVÁ, A., TOMAN, R., ROYCHOUDHURY, S., ČUPKA, P., BULLA, J., STAWARZ, R., DANKO, J., 2010. Analysis of selected heavy metals affecting animal reproduction – microscopic studies. In *ICER – 10*, University of Mauricius : Reduit, 2010, p. 159.
- MEDVEĐOVÁ, M., KOLESÁROVÁ, A., CAPCAROVÁ, M., SIROTKIN, A., KOVÁČIK, J., 2010. The release of progesterone by ovarian granulosa cells following cobalt experimental administration. In *Potravinárstvo*, vol. 4, p. 330-336.
- MEDVEDOVA, M., KOLESAROVA, A., CAPCAROVA, M., LABUDA, R., SIROTKIN, A., KOVACIK, J., BULLA, J., 2011. The effect of deoxynivalenol on the secretory activity, proliferation and apoptosis of porcine ovarian granulosa cells *in vitro*. In *Journal of Environmental Science and Health Part B in press*
- MINERVINI, F., DELL'AQUILA, M.E., MARITATO, F., MINOIA, P., VISCONTI, A., 2001. Toxic effects of the mycotoxin zearalenone and its derivatives on *in vitro* maturation of bovine oocytes and 17  $\beta$ -estradiol levels in mural granulosa cell cultures. In *Toxicol in vitro*, vol. 15, 2001, p. 489–495.
- PESTKA, J.J., ZHOU, H.R., MOON, Y., CHUNG, Y.J., 2004. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes : unraveling a paradox. In *Toxicol. Lett.*, vol. 153, 2004, p. 61-73.
- RANZENIGO, G., CALONI, F., CREMONESI, F., AAD, P.Y., SPICER, L.J., 2008. Effects of *Fusarium* mycotoxins on steroid production by porcine granulosa cells. In *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 107, 2008, no. 1–2, p. 115–130.
- RICELLI, A., NISINI, P.T., FABBRI, A.A., TADDEI, F., ZJALIC, S., FANELLI, C., 2003. Resveratrol and BHA as inhibitors of the growth and toxin production by different toxigenic fungi on cereals. In *Journal of Plant Pathology*. vol. 85, 2003, no. 4, p. 289.
- ROTONDO, S., RAJTAR, G., MANARINI, S., CELARDO, A., ROTILIO, D., DE GAETANO, G., EVANGELISTA, V., CERLETTI, CH 1998. Effect of trans-resveratrol, a natural polyphenolic compound, on human polymorphonuclear leukocyte function. In *Br J Pharmacol*, vol.123, 1998, p. 1691–1699.
- ROTTER, B.A., PRELUSKY, D.B., PESTKA, J.J., 1996. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). In *J. Toxicol. Environ. Health.*, vol. 48, 1996, p. 1-34.
- SCOOP, 2003. Collection of Occurrence Data of *Fusarium* Toxins in Food and Assessment of Dietary Intake by the Population of EU Member States. Directorate-General Health and Consumer Protection. <<http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/task3210.pdf>>.
- SCHNEIDGENOVÁ, M., KALAFOVÁ, A., CHRENEK, P., MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N. 2007. Mobility and concentration rabbit spermatozoa evaluation after

experimental nickel and zinc administration. In *Risk factor of food chain*, Nitra : SPU, 2007, p. 98-102, ISBN 978-80-8069-948-2.

SCHNEIDGENOVÁ, M., CHRENEK, P., CHLEBEC, I., KALAFOVÁ, A., LUKÁČ, N., ČUPKA, P., MASSÁNYI, P. 2008. Semen volume and spermatozoa motility in rabbits after an experimental nickel and zinc administration. In *Aktuálne smery v chove brojlerových králikov*, Nitra : VÚŽV, 2008, ISBN 978-80-88872-81-8.

SKALICKÁ, M., KORÉNEKOVÁ, B., KOŽÁROVÁ, I. 2009. Porovnanie hladín zinku a medi u strelených a zabitých bažantov, In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, p. 64-66.

SKARZYNSKI, D.J., SIEMIENIUCH, M.J., PILAWSKI, W., WOCLAWEK POTOCKA, I., BAH, M.M., MAJEWSKA, M., JAROSZEWSKI, J.J., 2008. In *Vitro* Assessment of Progesterone and Prostaglandin E(2) Production by the Corpus Luteum in Cattle Following Pharmacological Synchronization of Estrus. In *The Journal of Reproduction and Development*, vol. 55, 2008, p. 170-176.

SUPORNILCHAI, V., SVECHNIKOV, K., SEIDLOVA-WUTTKE, D., WUTTKE, W., O. SÖDER, O., 2005. Phytoestrogen Resveratrol Suppresses Steroidogenesis by Rat Adrenocortical Cells by Inhibiting Cytochrome P450 c21-Hydroxylase. In *Horm Res.*, vol. 64, 2005, no. 6, p. 280-286.

SVECHNIKOV, K., SPATAFORA, C., SVECHNIKOVA, I., TRINGALI, C., SÖDER, O., 2009. Effects of resveratrol analogs on steroidogenesis and mitochondrial function in rat Leydig cells *in vitro*. In *J. Appl. Toxicol.*, vol. 29, 2009, p. 673-680.

**Pod'akovanie:** Autori vyjadrujú pod'akovanie pracovníkom RIA laboratória, CVŽV Nitra Kataríne Tóthovej, Ing. Žofii Kuklove a doc. Ing. Romanovi Labudovi, PhD (Romer Labs Division Holding GmbH, Tulln, Austria), za poskytnutie mykotoxínov. Práca bola realizovaná za finančnej podpory VEGA grantu 1/0790/11 a KEGA projektu 101-001SPU-4/2010.

### Kontaktná adresa:

Adriana Kolesárová, Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, Email: adriana.kolesarova@yahoo.com, Adriana.Kolesarova@uniag.sk.

Marcela Capcarová, Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, Email: Marcela.Capcarova@uniag.sk.

Nora Maruniaková, Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, Email: noramaruniakova@gmail.com,

Marína Medved'ová, Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, Email: mata.medvedova@yahoo.com

Alexander V. Sirotkin, Institute for Genetics and Reproduction of Farm Animals, Animal Production Research Centre Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovak Republic, Email: sirotkin@cvzv.sk.

Norbert Lukáč, Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, Email: norolukac@gmail.com,

Jozef Bulla, Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, Email: Jozef.Bulla@uniag.sk.