Ocena genotoksyczności i mikrobiomu jelitowego u niedojrzałych płciowo loszek narażonych na niskie dawki zearalenonu

Streszczenie

Zearalenon jest mikotoksyną o niskiej masie cząsteczkowej, naturalnie wytwarzaną jako wtórny metabolit grzybów pleśniowych. Celem prac było określenie aktywności ZEN w jelitach podczas badań czasowej zmienności genotoksycznej *caecal water* oraz zmienności mikrobioty i mykobioty jelitowej niedojrzałych płciowo loszek narażonych *per os* niskimi dawkami zearalenonu (MABEL, NOAEL i niską dawką LOAEL).

Doświadczenie *in vivo* przeprowadzono na 60 klinicznie zdrowych niedojrzałych płciowo loszkach, o początkowej masie ciała (mc) 14,5 ± 2 kg. Zwierzęta zostały losowo wybrane do trzech grup doświadczalnych (grupa ZEN5, grupa ZEN10 i grupa ZEN15; n=15) i grupy kontrolnej (grupa C, n=15). Loszkom z grupy ZEN5 podawano *per os* ZEN w dawce 5 μg ZEN/kg mc (dawka MABEL), loszkom z grupy ZEN10 - 10 μg ZEN/kg mc (dawka NOAEL) i loszkom z grupy ZEN15 - 15 μg ZEN kg mc (dawka LOAEL). W 1. (w 7. dniu narażenia), 2. (w 21. dniu narażenia) i 3. (w 42. dniu narażenia) terminie narażenia ZEN, poddano eutanazji po 5 loszek z każdej z grup doświadczenia. Próbki do badań mikrobioty i mykobioty jelitowej pobierano po resekcji fragmentu jelit z rejonu: dwunastnicy - części pierwszej tzw. opuszka dwunastnicy oraz z poziomej lub trzeciej części dwunastnicy; jelita czczego; u ujścia jelita ślepego; i zstępującej części okrężnicy - od części środkowej. Do badań genotoksyczności próbki pobierano z odcinka biodrowo-ślepo-okrężniczego. Segmenty jelitowe zostały zawiązywane na obu końcach przed resekcją. Materiał badawczy składał się z próbek pobranych w sposób sterylny i dostarczanych do specjalistycznych laboratoriów, gdzie z określonych segmentów jelitowych pozyskiwano próbki do dalszych badań. Stopień genotoksyczności *caecal water* określano wykorzystując test kometowy, który umożliwia analizę modyfikacji DNA. Badania mikrobiotu i mykobiotu wykonano korzystając z testów mikrobiologicznych.

W trakcie badań genotoksyczności stwierdzano, wzrost stopnia siły korelacji o wysokich wartościach w 1. terminie narażenia w grupie C i ZEN5 (słaba zależność), z silną tendencją spadkową, do braku związku liniowego w grupie ZEN5. W grupach ZEN10 i ZEN15 (umiarkowana zależność) z nieznaczną tendencją spadkową w kolejnych terminach narażenia. Badania elektroforetyczne eksponowanych komórek, w grupie C i ZEN5 udokumentowały liczne komety bez ogona, a w grupach ZEN10 i ZEN15 stwierdzono mniej liczne komety, ale o silnie i bardzo silnie wyrażonych ogonach (odpowiednio). Rozkład komórek LLC-PK1 według ich procentowego udziału DNA w ogonie komety mieścił się w granicach od 15 do 20% w grupach C i ZEN5, a grupach ZEN10 i ZEN15 w przedziale od 30 do 60%. Natomiast % komórek z uszkodzonym DNA w grupach C i ZEN5 mieścił się w granicach do 20%, a w obu pozostałych od 5 do 15%.

Podczas badań mikrobioty jelitowej stwierdzano występowanie różnic w wartościach logarytmicznych między proksymalnym a dystalnym odcinkiem jelit w układzie statycznym (w określonym terminie badań), jak i dynamicznym (w trakcie doświadczenia), a dotyczyło to głównie *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis*. Zearalenon wpływał, nie tyle na różnorodność mikrobioty, ale bardziej na liczbę kolonii wybranych bakterii - szczególnie duży wpływ stwierdzano w grupach ZEN10 i ZEN15. W grupach ZEN5 i C liczba kolonii była podobna. W badanej mykobiocie stwierdzano, stymulujący wpływ ZEN na wartości logarytmiczne tak drożdżaków jak i pleśniaków, głównie w 1. termie badań, we wszystkich odcinkach jelit, z szczególnym wskazaniem na jelito grube.

W wyniku przeprowadzonych badań laboratoryjnych stwierdzono, że bardzo niskie dawki ZEN (MABEL, NOAEL i niska dawka LOAEL) w różnych terminach narażenia, są przyczynkiem uszkodzeń DNA proporcjonalnie do dawki badanej mikotoksyny oraz dowodzą u badanej mikrobioty i mykobioty, o mającej miejsce kontrreakcję organizmu loszek, wywołującej efekt kompensacji. W efekcie, można postawić wstępną hipotezę, że zaproponowaną dawkę "MABEL" należałoby rozważyć jako dawkę prewencyjną dla młodych rozwijających się loszek.

Słowa kluczowe: Zearalenon, niskie dawki, *caecal water*, genotoksyczność, mikrobiota jelitowa, mykobiota jelitowa, niedojrzałe płciowo loszki