

Опасность воздействия низких доз микотоксинов на организм

Последствия скармливания пороссятам кормов, естественным образом контаминированных дезоксиниваленолом, зеараленоном или их комбинацией

Статья предоставлена компанией «Олтек»

Общеизвестно, что контаминация кормов для сельскохозяйственных животных, в том числе свиней, микотоксинами приводит к огромным финансовым потерям (Stoev, 2013). Среди множества известных науке микотоксинов особую опасность представляют дезоксиниваленол (ДОН) и зеараленон — вторичные метаболиты различных плесневых грибов рода *Fusarium* (Ma et al., 2018). Скармливание кормов, контаминированных ДОНом и зеараленоном, может привести как к острым клиническим проявлениям, так и к долгосрочным последствиям в зависимости от концентрации микотоксинов и продолжительности их поступления в организм (Yang et al., 2020).

Опасность контаминации корма микотоксинами

Свиньи очень чувствительны к ДОНу, который может вызывать снижение потребления корма, прироста живой массы, провоцировать развитие гастроэнтерита, оказывать негативное влияние на иммунитет, в том числе ухудшая выработку антител после вакцинации и т. д. (Alizadeh et al., 2015; Savard et al., Li et al., 2018). Пороссята особенно восприимчивы к этому микотоксину. На клеточном уровне действие ДОНа проявляется ингибированием синтеза белков, ДНК, РНК (Tang et al., 2019).

Результаты многочисленных исследований показали, что ДОН вызывает целый ряд негативных изменений в кишечнике: воспалительные реакции, нарушение целостности клеточной мембраны и индукцию апоптоза (Pinton et al., 2009; Wang et al., 2018).

Зеараленон — еще один представитель фузариевых микотоксинов. Он часто встречается в зерне кукурузы, продуктах его переработки и в других зерновых культурах, включая пшеницу и ячмень. Установлено, что зеараленон конкурирует с 17 β -эстрадиолом за связывание с эстрогеновыми рецепторами. Это служит причиной ухудшения репродуктивной способности и приводит к поражению половых органов животных (Yang et al., 2018).

Кроме того, зеараленон оказывает отрицательное влияние на пищеварительную систему животных, приводя к нарушению целостности кишечника и ухудшая функционирование эпителиальных клеток (Marin et al., 2015; Przybylska-Gornowicz et al., 2018). В научной литературе есть данные, свидетельствующие о том, что даже в низких дозах зеараленон может вызывать воспа-

лительный ответ и ухудшать морфологию кишечника свиней (Pistol et al., 2014; Przybylska-Gornowicz et al., 2015; Lewczuk et al., 2016).

Одновременное поступление в организм свиней ДОНа и зеараленона может иметь синергический эффект, проявление которого зависит от концентраций микотоксинов и их соотношения (Wan et al., 2013; Przybylska-Gornowicz et al., 2018). Кроме того, оба микотоксина достаточно быстро всасываются в верхних отделах тонкого кишечника (Danicke et al., 2004).

Методика исследования

Цель описываемого исследования — оценка долгосрочных последствий скармливания пороссятам кормов, естественным образом контаминированных ДОНом и зеараленоном. В ходе эксперимента 21-дневных гибридных свинок ландрас \times йоркшир (80 голов) средней живой массой 6,45 кг методом аналогов разделили на четыре группы: контрольную и три опытные (по пять станков в каждой группе по четыре свинки в одном станке).

С 21-го по 42-й день жизни (первый экспериментальный период) пороссята контрольной группы получали стандартный рацион согласно рекомендациям NRC, сверстники опытных групп — стандартный рацион,

дополнительно загрязненный ДОНом (1000,6 мкг/кг), зеараленоном (269,1 мкг/кг) либо комбинацией этих микотоксинов (1007,5 и 265,4 мкг/кг соответственно). Для достижения необходимого уровня загрязнения в рационы включали зерно ячменя, естественным образом загрязненное ДОНом, и зерно кукурузы, естественным образом загрязненное зеараленоном.

С 43-го по 56-й день жизни (второй экспериментальный период) поросята всех групп получали контрольный рацион, не содержащий источников дополнительной загрязнения микотоксинами. Доступ животных к кормам и воде не ограничивали на протяжении всего эксперимента.

Влияние на продуктивность

Скармливание поросытам кормов, одновременно загрязненных ДОНом и зеараленоном, в период с 21-го по 42-й день привело к достоверному снижению как потребления корма, так и приростов живой массы ($p < 0,05$). Полученные результаты представлены на рисунке 1.

Во второй экспериментальный период, с 43-го по 56-й день жизни, поросытам всех групп задавали стандартный рацион без дополнительной загрязнения микотоксинами. После одновременного поступления ДОНа и зеараленона в организм животных в период с 21-го по 42-й день тенденция ($p < 0,061$) к снижению среднесуточного прироста живой массы сохранялась даже тогда, когда поросытам давали корма, не содержащие ДОН и зеараленон (рис. 2).

Воспалительные процессы в тканях кишечника

Желудочно-кишечный тракт — первая линия защиты организма, с которой вступают в контакт находящиеся в кормах микотоксины. Для оценки влияния ДОНа, зеараленона или их комбинации на иммунные процессы в тканях тощей кишки в ходе исследования определяли как концентрацию провоспалительных цитокинов, так и уровень экспрессии генов, кодирующих их синтез (цитокины — обобщенное название обширной группы небольших белковых молекул, играющих важную роль в обеспечении передачи сигнала между клетками и вовлеченных во множество иммунных процессов).

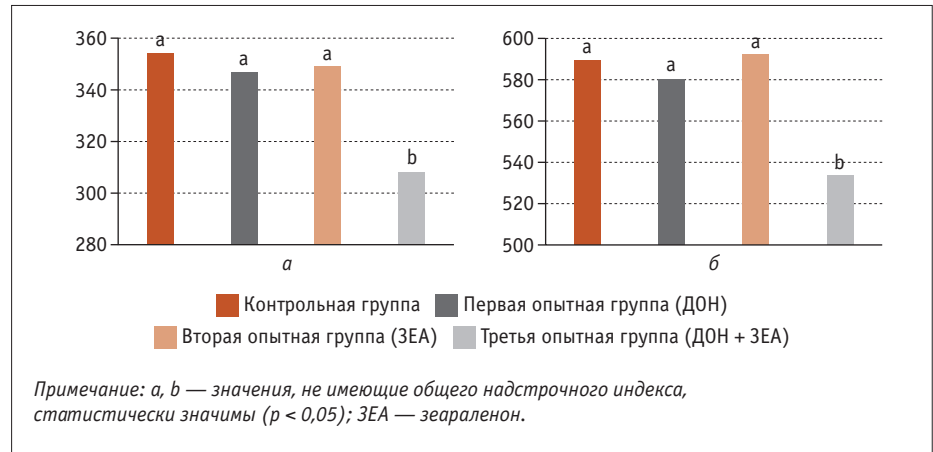


Рис. 1. Влияние скармливания рационов, загрязненных ДОНом, зеараленоном, а также ДОНом и зеараленоном одновременно, на среднесуточные приросты живой массы (а) и среднесуточное потребление корма (б) поросытами с 21-го по 42-й день жизни, г

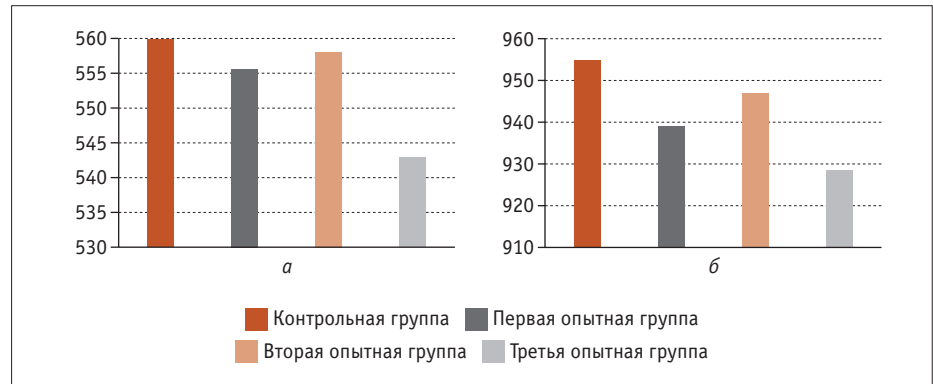


Рис. 2. Влияние скармливания рационов, загрязненных ДОНом, зеараленоном, а также ДОНом и зеараленоном одновременно, с 21-го по 42-й день жизни на среднесуточные приросты живой массы (а) и среднесуточное потребление корма (б) поросытами с 43-го по 56-й день жизни, г

Скармливание поросытам загрязненных микотоксинами кормов в течение трех недель (с 21-го по 42-й день жизни) привело к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов в тощей кишке. Воздействие каждого микотоксина по отдельности, а также их комбинации вызывало воспалительный ответ. Об этом свидетельствуют достоверные данные по изменению концентрации (таблица) и экспрессии (рис. 3) провоспалительных цитокинов в тощей кишке поросытам.

Отмечено, что даже с 43-го по 56-й день в тощей кишке поросытам третьей опытной группы, ранее получавших корма, одновременно загрязненные ДОНом и зеараленоном, уровень экспрессии провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6 достоверно сохранился на более высоком уровне ($p < 0,05$), чем в тощей кишке животных контрольной группы (см. рис. 3).

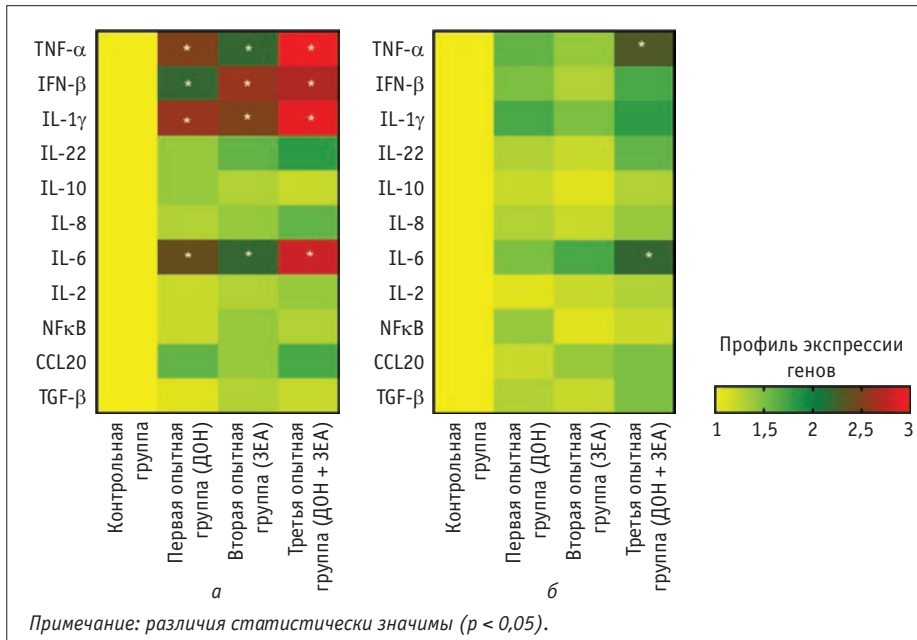
Цвет ячеек гистограммы условно отражает изменения в экспрессии генов: уровень экспрессии каждого цитокина в тощей кишке поросытам контрольной группы приняли за единицу. Уровень экспрессии каждого цитокина в тощей кишке аналогов первой, второй и третьей опытных групп представлен показателями, определенными относительно уровня экспрессии мРНК соответствующего цитокина в тощей кишке животных контрольной группы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что потребление поросытами загрязненных несколькими микотоксинами кормов может оказывать долгосрочное влияние на воспалительные процессы в кишечнике даже после перевода животных на рационы, не загрязненные микотоксинами.

Ранее было проведено большое количество исследований по влиянию

Влияние микотоксинов на выработку провоспалительных цитокинов в тощей кишке поросят				
Цитокин, пг/мг	Группа			
	контрольная	опытная		
		первая	вторая	третья
<i>С 21-го по 42-й день</i>				
TNF-α	73,32 ^c	91,54 ^b	90,82 ^b	128,56 ^a
IFN-γ	16,42	17,92	17,18	21,12
IL-1β	234,6 ^c	300,5 ^b	307,04 ^b	354,08 ^a
IL-8	706,92	704,7	698,2	745,6
IL-6	76,64 ^c	110,38 ^b	118,02 ^b	168,08 ^a
<i>С 43-го по 56-й день</i>				
TNF-α	52,92 ^b	62,54 ^b	57,32 ^b	92,36 ^a
IFN-γ	13,18	14,12	13,8	15,72
IL-1β	155,38 ^b	165,40 ^{ab}	161,96 ^{ab}	207,78 ^a
IL-8	418,2	427,69	445,23	458,15
IL-6	57,02 ^b	63,86 ^b	66,38 ^b	96,42 ^a

Примечание: a, b — значения, не имеющие общего надстрочного индекса, статистически значимы ($p < 0,05$).



Примечание: различия статистически значимы ($p < 0,05$).

Рис. 3. Уровень экспрессии генов провоспалительных цитокинов в тощей кишке поросят: а — с 21-го по 42-й день жизни, б — с 43-го по 56-й день жизни

ДОНа на кишечный эпителий. Доказано, что при скармливании контаминированных ДОНОм кормов в тощей кишке усиливается синтез провоспалительных цитокинов (Becker et al., 2011; Bracarense et al., 2012; Cano et al., 2013).

Зеараленон достаточно хорошо изучен. Он негативно влияет на репродуктивную функцию животных, но некоторые авторы сообщают о том, что его наличие в кормах также может усугублять проявление воспалительного ответа за счет повышения экспрессии провоспалительных цитокинов (Wan et al., 2013; Taranu et al., 2014; Liu et al., 2018). В ходе описываемого экспери-

мента установлено, что комбинация ДОНа и зеараленона оказала наиболее выраженное долгосрочное отрицательное воздействие на кишечный эпителий поросят.

Влияние на синтез белков плотных контактов

Белки плотных контактов — специализированные межклеточные белки, выполняющие структурную роль и обеспечивающие связь между смежными клетками. Белки плотных контактов препятствуют проникновению воды и прочих веществ через межклеточное пространство в просвет кишечника, а также защищают внутреннюю среду

организма от внедрения патогенных микроорганизмов через межклеточное пространство.

Известно, что вследствие воздействия многих микотоксинов нарушается целостность кишечного эпителия. В описываемом исследовании определяли влияние ДОНа, зеараленона и комбинации этих микотоксинов на экспрессию клаудина-4 и E-кадгерина (белки плотных контактов) в кишечном эпителии.

По итогам первых трех недель экспериментального кормления (с 21-го по 42-й день жизни) отмечено, что в кишечном эпителии поросят, получавших корма, контаминированные ДОНОм и (или) зеараленон, уровень экспрессии клаудина-4 достоверно ($p < 0,05$) снизился. В кишечном эпителии животных, потреблявших контаминированные зеараленон и одновременно ДОНОм и зеараленон корма, уровень экспрессии E-кадгерина был самым низким ($p < 0,05$).

В конце второго экспериментального периода (с 43-го по 56-й день жизни) было отмечено, что после того, как животные всех групп в течение двух недель получали контрольный рацион, в эпителии кишечника поросят, ранее потреблявших контаминированные корма, экспрессия E-кадгерина восстановилась и достигла уровня экспрессии этого же белка в эпителии кишечника аналогов контрольной группы. Однако в эпителии кишечника животных, с 21-го по 42-й день получавших контаминированные ДОНОм и одновременно ДОНОм и зеараленон корма, уровень экспрессии клаудина-4 был ниже, чем в эпителии кишечника поросят контрольной группы ($p < 0,05$).

Данные описываемого эксперимента согласуются с данными других подобных исследований: авторы сообщают о достоверном снижении экспрессии белков плотных контактов E-кадгерина, клаудина-4 и окклюдина в эпителии тонкого кишечника свиней (Pinton et al., 2009; Bracarense et al., 2012).

Результаты многих исследований также продемонстрировали, что провоспалительные цитокины участвуют в регуляции экспрессии белков плотных контактов кишечного эпителия (Patrick et al., 2006; Al-Sadi et al., 2009; Suzuki, 2013). Например, было установлено, что IFN-γ совместно с TNF-α снижает экспрессию некоторых белков плот-

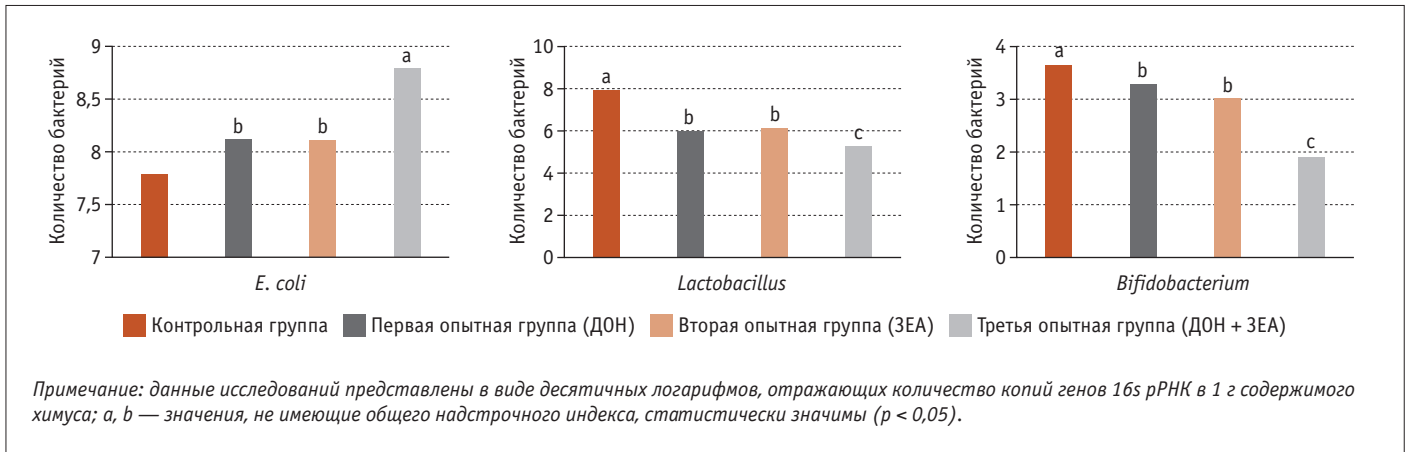


Рис. 4. Влияние скармливания контаминированных ДОНом, зеараленоном, а также одновременно ДОНом и зеараленоном кормов с 21-го по 42-й день жизни поросят на популяции *E. coli*, *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в химусе слепой кишки животных

ных контактов, вследствие чего барьерная функция кишечника ухудшается (Patrick et al., 2006). Данные описываемого исследования согласуются с данными проведенных ранее экспериментов, поскольку обусловленное ДОНом и зеараленоном повышение экспрессии провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 γ , IL-6) в тощей кишке совпало со снижением экспрессии белков плотных контактов. Вероятно, ДОН и (или) зеараленон сначала провоцируют выработку в кишечном эпителии провоспалительных цитокинов, которые впоследствии подавляют синтез белков плотных контактов (Suzuki, 2013).

Влияние на кишечный микробиом

Кишечный микробиом — сложное и многообразное сообщество бактерий, населяющих кишечный тракт (Rautava et al., 2012). Видовой состав, количество и соотношение различных микроорганизмов зависят от большого числа факторов, особенно алиментарных. При этом сам микробиом в значительной степени влияет на здоровье и продуктивность животных (Liew, Mohd-Redzwan, 2018). Так, результаты эксперимента, проведенного учеными научно-исследовательского университета Техаса (Aviles-Rosa et al., 2019), показали, что лишение новорожденных поросят доступа к фекалиям свиноматок оказывает долгосрочное негативное влияние на иммунитет и продуктивность молодняка. Это свидетельствует о важнейшем значении раннего заселения кишечника поросят здоровой микрофлорой, получаемой ими от матерей.

В описываемом эксперименте определяли влияние скармливания исследуемых микотоксинов на распространенность популяций некоторых бактерий (*E. coli*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) в химусе слепой кишки поросят. Потребление с 21-го по 43-й день жизни кормов, контаминированных как ДОНом, так и зеараленоном, оказало достоверное влияние на популяции исследуемых бактерий. Отмечено, что количество *E. coli* увеличилось, в то время как число *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* уменьшилось.

Одновременное поступление в организм ДОНа и зеараленона еще больше усугубляло эффекты, которые наблюдали при попадании в организм поросят только одного из этих микотоксинов (рис. 4).

По окончании второго экспериментального периода (с 43-го по 56-й день жизни), когда поросята всех групп потребляли контрольные рационы, некоторые из ранее отмеченных изменений в микробиоме сохранились: в химусе слепой кишки поросят третьей опытной группы количество *E. coli* достоверно возросло, а в химусе слепой кишки животных первой, второй и третьей опытных групп число *Lactobacillus* достоверно уменьшилось.

Выводы

Результаты описанного исследования продемонстрировали: несмотря на то что контаминация кормов для поросят только ДОНом (1000 мкг/кг) или зеараленоном (265 мкг/кг) не повлияла на показатели продуктивности, одновременное поступление обоих ми-

котоксинов в организм отрицательно сказалось на среднесуточных приростах живой массы и на потреблении корма. Это свидетельствует о наличии синергетического эффекта между ДОНом и зеараленоном. Их совместное действие на кишечный микробиом оказалось сильнее, чем влияние каждого из микотоксинов по отдельности.

При комбинации ДОНа с зеараленоном токсические эффекты, выражавшиеся в увеличении воспалительного ответа в тощей кишке поросят и уменьшении экспрессии некоторых белков плотных контактов, сохранились даже через две недели после перевода животных с контаминированных микотоксинами рационов на контрольные.

Таким образом, доказано, что низкий уровень контаминации кормов для молодняка свиней ДОНом и зеараленоном не считается безопасным даже при отсутствии у поросят каких-либо клинических проявлений. Постоянное поступление в организм ДОНа и (или) зеараленона даже в низких концентрациях может приводить к повреждению кишечника, что негативно сказывается на здоровье животных.

Статья опубликована в журнале *Toxicology* в 2020 г. (Ru Jia, Wenbin Liu, Lihong Zhao, Lirong Cao, Zhuoyu Shen). ЖР

ООО «Оллтек» **Alltech®**
105062, Москва,
Подсосенский пер., д. 26, стр. 3
Тел.: +7 (495) 258-25-25
E-mail: russia@alltech.com
www.alltech.com/russia