



西北农业学报
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica
ISSN 1004-1389, CN 61-1220/S

《西北农业学报》网络首发论文

题目: DON 暴露对断奶仔猪小脑组织脂质过氧化反应、神经递质分泌及钙稳态的影响

作者: 朱雷, 曹利, 冉梦, 王中正, 陈晓芳, 李玉, 冯士彬, 吴金节, 王希春

收稿日期: 2019-03-30

网络首发日期: 2020-01-07

引用格式: 朱雷, 曹利, 冉梦, 王中正, 陈晓芳, 李玉, 冯士彬, 吴金节, 王希春. DON 暴露对断奶仔猪小脑组织脂质过氧化反应、神经递质分泌及钙稳态的影响 [J/OL]. 西北农业学报.
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.s.20200107.0920.010.html>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DON 暴露对断奶仔猪小脑组织脂质过氧化反应、 神经递质分泌及钙稳态的影响

朱雷¹,曹利¹,冉梦¹,王中正^{1,2},
陈晓芳¹,李玉¹,冯士彬¹,吴金节¹,王希春¹

(1.安徽农业大学 动物科技学院,合肥 230036;2.安徽省铜陵市农业委员会,安徽铜陵 244000)

摘要 旨在研究脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)暴露对断奶仔猪小脑组织中脂质过氧化、神经递质及钙稳态的影响。选择临床检查健康的15头“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪,随机分成3组,每组5头,对照组饲喂基础饲料, DON 低剂量组和高剂量组分别饲喂 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 DON 饲料。试验期为60 d。试验结束时进行屠宰,取部分小脑组织匀浆用于检测氧化与抗氧化指标、神经递质及钙离子含量;部分组织存于液氮,用于检测钙调通路相关基因和蛋白的表达水平。结果显示,与对照组相比, DON 显著降低断奶仔猪小脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,提高一氧化氮(NO)含量;并引起5-羟色胺(5-HT)及 Ca^{2+} 含量显著增加,同时使多巴胺(DA)及乙酰胆碱(ACh)的含量显著下降;此外, DON 还使小脑组织中钙调蛋白(CaM)及钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 基因表达降低,同时降低 CaM 蛋白表达水平,增加 CaMK II 蛋白磷酸化水平。研究结果说明: DON 可影响断奶仔猪小脑的脂质过氧化反应,改变神经递质分泌,引起钙稳态失衡,对断奶仔猪具有一定的神经毒性作用。

关键词 脱氧雪腐镰刀菌烯醇;断奶仔猪;小脑;脂质过氧化;神经递质;钙稳态

中图分类号 S852.4

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2020)01-

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON),又名呕吐毒素,主要是由禾谷镰刀菌产生的一种B型单端孢霉烯^[1]。据检测报告数据显示,2017年国内各省市区域的玉米、玉米副产物全价饲料等1034个饲料原料及配合饲料样品的DON超标率分别达到1.23%、6.67%及1.76%^[2]。在另一调查中,全国21个省市检测的659份饲料及饲料原料样品中,霉菌毒素污染水平呈现出区域差异,整体受DON毒素污染最为严重^[3]。以往的研究结果表明, DON 对动物机体具有免疫毒性、神经毒性及细胞毒性等多种毒性作用^[4]。有学者发现, DON 暴露可以影响雏鸡脑部的脂质过氧化水平,神经递质分泌以及扰乱钙稳态的平衡,此外, DON 还可以改变雏鸡脑部的形态结构^[5-7]。另外其他研究表明, DON 还可以影响体外培养仔猪海马神经细胞的神经递质分泌、改变脂质过氧化及钙稳态的状态^[8-9]。低水平的DON可以影响猪脑脊髓

液中多巴胺的浓度^[10],而高水平DON则可使初产猪皮质中5-羟色胺及下丘脑多巴胺浓度增加,同时减少下丘脑中去甲肾上腺素及脑桥中多巴胺的含量^[11]。在小脑神经研究方面,也有学者发现DON可使断奶仔猪小脑的部分神经递质分泌异常^[12]。目前,关于饲料中DON对断奶仔猪神经毒性的研究大多集中在大脑组织及神经细胞的体外毒性方面,对小脑组织的研究较少。因此,本研究旨在通过断奶仔猪DON体内暴露试验,探索其对仔猪小脑组织的毒性作用,为进一步丰富和完善DON的神经毒性机理提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪,由安徽省青阳县五星畜牧种猪场提供。

收稿日期 2019-03-30 修回日期 2019-04-24

基金项目 国家自然科学基金(31472250);安徽省生猪产业技术体系资助项目(AHCYJSTX-05)。

第一作者 朱雷,男,硕士研究生,从事兽医临床诊疗技术研究。E-mail: 811415214@qq.com

通信作者 王希春,男,副教授,主要从事畜禽中毒病与食品安全研究。E-mail: wangxichun@ahau.edu.cn

1.2 主要试剂和仪器

禾谷镰刀菌菌种由南京农业大学动物医学院中毒病实验室惠赠;多咪静注射液,购自美国辉瑞制药有限公司;ELISA 试剂盒,均购自上海源叶生物科技有限公司;Ca²⁺ 测定试剂盒,购自北京利德曼生化股份有限公司;RIPA 裂解液及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒,均购自碧云天生物技术研究;β-actin 抗体,购自北京锐抗生物科技有限公司;Calmodulin (CaM)、CaMK II、CaMK II (Phospho Thr305) 抗体,均购自美国 Immuno-Way;二抗购自碧云天生物技术研究;Trizol RNA 提取试剂,购自大连宝生物工程有限公司;StarScript II First-strand cDNA Synthesis Mix, 购自北京康润诚业生物技术有限公司(GenStar);SybrGreen q-PCR mastermix, 购自广州柏仕达新材料有限公司;Pierce™ ECL Western-blot Substrate, 购自美国 Thermo 有限公司。

1.3 试验动物的分组与饲养管理

选取 15 头 21 日龄平均体质量为 (6.87 ± 0.41)kg 的临床检查健康的“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪,随机分为 3 栏,每栏 5 头,分别饲喂基础饲料(对照组)、低剂量 DON 饲料(DON 质量分数为 1 mg·kg⁻¹)、高剂量 DON 饲料(DON 质量分数为 2 mg·kg⁻¹)。试验期为 60 d。自由采食,自由饮水,每天观察仔猪的采食和健康状况,消毒免疫程序严格按照猪场管理方案进行。

1.4 样品采集与处理

在第 60 天时,每栏选 5 头仔猪,麻醉后经前腔静脉放血致死,仔细剥离头骨并迅速取出完整的脑,并置于冰上分离出小脑组织。取部分小脑

组织加入一定量生理盐水,置于冰上进行匀浆,3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液保存于一 80 °C 冰箱内,用以检测脂质过氧化指标、神经递质含量及 Ca²⁺ 浓度;剩余部分组织装入冻存管,保存于液氮,用以检测钙调蛋白通路相关基因蛋白的表达情况。

1.5 检测指标和方法

1.5.1 氧化与抗氧化性能指标的测定 分别用猪超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA) ELISA 检测试剂盒进行测定,操作过程严格按照试剂盒说明书进行。

1.5.2 神经递质及钙离子浓度的测定 分别用猪 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、乙酰胆碱(ACH)和 γ-氨基丁酸(GABA) ELISA 检测试剂盒及 Ca²⁺ 测定试剂盒进行测定,操作过程严格按照试剂盒说明书进行。

1.5.3 qRT-PCR 法检测组织中 CaM 和 CaMK II mRNA 基因相对表达水平 将组织样本分别用液氮研磨粉碎,加入 1 mL Trizol 试剂,在碎冰上进行匀浆处理,离心取上清液,加入 500 μL 酚氯仿,振荡混匀,静置 5 min,置于离心机中,4 °C 离心 10 min,取上清并加入 700 μL 异丙醇,混匀,4 °C 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,去上清,取白色沉淀,用 φ=75% 乙醇洗涤 1 次,置于超净台上风干,溶于 50 μL DEPC 处理水中,电泳检测。用反转录试剂盒将提取的 RNA 反转录成 cDNA。根据 GenBank 中序列,运用 Primer 5.0 软件设计目的基因和内参基因的特异性上、下游引物序列。相关基因的引物序列见表 1。

表 1 CaM、CaMK II 目的基因和 18S 内参基因引物参数

Table 1 Parameters of primer for CaM, CaMK II and 18S genes

基因 Gene	基因登录号 GenBank sequence No.	引物 Primer	5'→3' 序列 Sequence(5'→3')	产物/bp Production
18S	NR_046261.1	Forward	CGGCGACGACCCATTGCAAC	99
		Reverse	GAATCGAACCCCTGATTCCCGTC	
CaM	NM_001244209	Forward	TGAAGGATACAGACAGCGAG	164
		Reverse	GATGTCAGCCTCTCTGATCA	
CaMK II	NM_214381.1	Forward	TCTGGTAGGTGACGATGCTG	156
		Reverse	GACCCAGAGCGATGAAAATG	

1.5.4 Western-blot 法检测组织中钙调通路中相关蛋白的表达水平 称取 0.1 g 冻存的小脑组织,加入 1 mL RIPA 裂解液,14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 收集上清,备用。收集的上清液用

BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,按照每孔蛋白总量为 50 μg 计算蛋白上样量,分装后的蛋白加入 Loading Buffer (5×),100 °C 水浴 5 min,存于 4 °C,备用。安装胶板,配 12% 的分

离胶及 15% 的浓缩胶,加样后将电压调至 80 V 开始电泳,待样品跑至两胶分界线时将电压调至 120 V,待样品跑至胶板底部时终止电泳。随后切下所需凝胶将条带转移至 PVDF 膜上。将印有蛋白的膜置于 50 g/L 的脱脂牛奶中,置于水平摇床上室温孵育 4 h 进行封闭。随后 4 °C 孵育一抗过夜。次日 TBST 清洗后,室温孵育二抗 45 min, TBST 清洗后滴加显影液使用凝胶成像系统成像,并用 Quantity one 软件对条带进行灰度分析。

1.6 数据处理

试验数据均以“平均值±标准差”表示,使用 SPSS 20.0 软件中的 ANOVA 过程进行数据分析,多重比较采用 LSD 法;使用 Adobe Photo-

shop CS4 软件合成图片;柱形图使用 GraphPad Prism 5.0 软件制作。

2 结果与分析

2.1 仔猪小脑组织中脂质过氧化指标的检测

由表 2 可见,与对照组相比,高剂量组 SOD 活性极显著降低($P < 0.01$),与低剂量组相比,高剂量组 SOD 活性显著降低($P < 0.05$)。与对照组相比,试验组的 GSH-Px 活性均极显著降低($P < 0.01$),且高剂量组极显著低于低剂量组($P < 0.01$)。与对照组相比,试验组的 NO 浓度均极显著升高($P < 0.01$);与低剂量组相比,高剂量组 NO 浓度极显著升高($P < 0.01$)。各组间 MDA 浓度无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 DON 对小脑中脂质过氧化指标活性的影响

Table 2 Effect of DON on activities of lipid peroxidation indexes in cerebellum

项目 Item	对照组 Control group	低剂量组 Low dose group	高剂量组 High dose group
SOD/(pg · mL ⁻¹)	12.668 ± 0.298 Aa	12.193 ± 0.082 ABa	11.660 ± 0.333 Bb
GSH-Px/(U · mL ⁻¹)	150.718 ± 3.615 Aa	136.351 ± 1.317 Bb	128.017 ± 1.554 Cc
NO/(μmol · L ⁻¹)	80.033 ± 15.837 Aa	124.007 ± 16.946 Bb	152.396 ± 4.099 Bc
MDA/(nmol · L ⁻¹)	10.033 ± 2.120	10.068 ± 1.933	10.604 ± 2.489

注:同行进行相比,数据后不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),不同小写字母表示差异显著但未达极显著($0.01 < P < 0.05$),字母相同或者无字母者表示差异不显著($P > 0.05$)。下同。

Note: In the same row of the different groups, the data with different superscripts of uppercase letters indicate significance at $P < 0.01$, the data with different superscripts of lowercase letters indicate significance at $0.01 < P < 0.05$, the data with the same superscripts letter or no superscripts mean no significant difference. The same below.

2.2 断奶仔猪小脑组织中神经递质及 Ca²⁺ 浓度的检测

由表 3 可知,与对照组相比,高剂量组 5-HT 浓度极显著升高($P < 0.01$),且高剂量组显著高于低剂量组($P < 0.05$)。各组间 NE 和 GABA 浓度无显著性差异($P > 0.05$)。与对照组相比,试验组 DA 含量均极显著降低且呈剂量依赖型(P

< 0.01)。与对照组相比,试验组 ACH 含量均极显著降低($P < 0.01$);与低剂量组相比,高剂量组 ACH 含量极显著降低($P < 0.01$)。与对照组相比,试验组钙离子浓度均极显著上升($P < 0.01$);与低剂量组相比,高剂量组钙离子浓度呈极显著上升($P < 0.01$)。

表 3 DON 对小脑中神经递质及 Ca²⁺ 浓度的影响

Table 3 Effect of DON on concentrations of neurotransmitters and Ca²⁺ in cerebellum

项目 Item	对照组 Control group	低剂量组 Low dose group	高剂量组 High dose group
5-HT/(pg · mL ⁻¹)	1647.593 ± 66.686 Aa	1721.667 ± 2.778 ABa	1852.222 ± 46.729 Bb
NE/(ng · mL ⁻¹)	9.412 ± 0.780	9.420 ± 0.294	9.838 ± 1.078
DA/(nmol · L ⁻¹)	100.867 ± 1.642 Aa	88.046 ± 3.438 Bb	84.811 ± 4.756 Bb
GABA/(μmol · L ⁻¹)	7.094 ± 0.846	6.678 ± 0.123	6.113 ± 0.526
ACH/(μg · mL ⁻¹)	673.750 ± 4.410 Aa	626.528 ± 2.927 Bb	536.250 ± 1.667 Cc
Ca ²⁺ /(mmol · L ⁻¹)	0.086 ± 0.005 Aa	0.105 ± 0.005 Bb	0.158 ± 0.003 Cc

2.3 仔猪小脑组织中钙调通路相关基因 mRNA 表达量的影响

由图 1 可知,高剂量组 *CaM* mRNA 表达量极显著低于对照组和低剂量组($P < 0.01$)。与对照组相比,随饲料中 DON 含量的增加,仔猪小脑中 *CaMK II* mRNA 基因相对表达量均极显著降低($P < 0.01$)。

2.4 DON 对仔猪小脑组织中钙调通路相关基因蛋白表达水平的影响

如图 2 所示,高剂量组 *CaM* 蛋白水平极显著低于对照组和低剂量组($P < 0.01$),而高剂量组 *CaMK II* 蛋白磷酸化水平极显著高于对照组和低剂量组($P < 0.01$)。对照组与低剂量组之间差异不显著($P > 0.05$)。

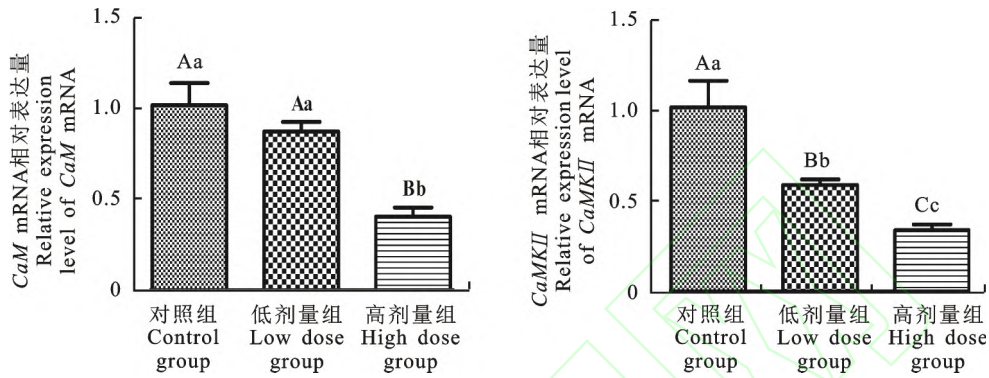
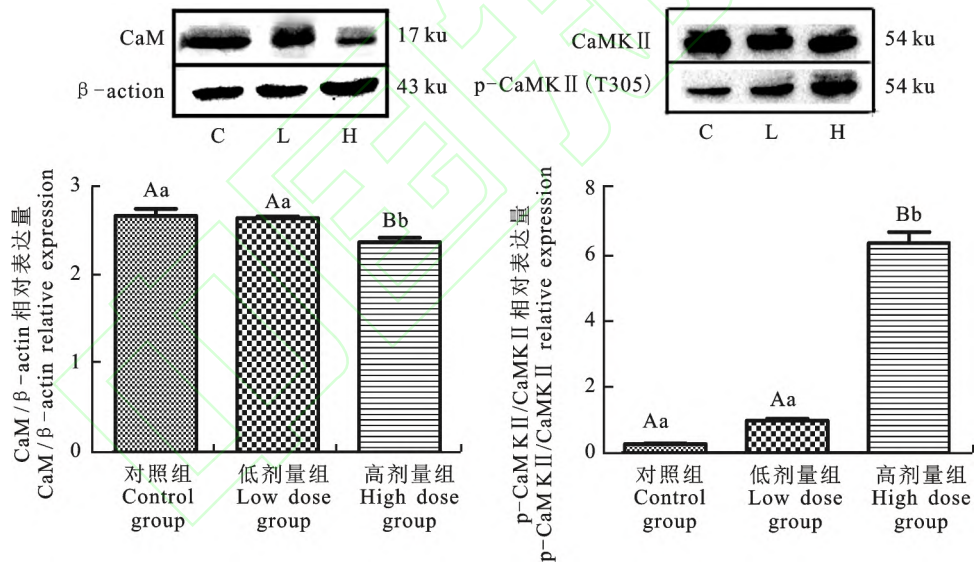


图 1 DON 对小脑中 *CaM* 和 *CaMK II* mRNA 相对表达量的影响

Fig.1 Effects of DON on relative expression of *CaM* and *CaMK II* mRNA in cerebellum



C 为对照组 C is control group; L 为低剂量组 L is low dose group; H 为高剂量组 H is high dose group

图 2 DON 对小脑中 *CaM* 和 *CaMK II* 蛋白表达水平的影响

Fig.2 Effects of DON on expression levels of *CaM* and *CaMK II* proteins in cerebellum

3 结论与讨论

玉米为仔猪饲料中的重要成分之一,饲料一旦保存不当,如遇到潮湿、高温等环境,则极易产生 DON。研究表明,DON 对动物具有神经及细胞毒性作用,可使雏鸡脑组织^[7]及体外培养的仔猪海马神经细胞^[9]发生脂质过氧化及细胞损伤,本试验使用的断奶仔猪饲料中 DON 质量分数为

$1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,该质量分数为国家标准中的最高限量,将其作为试验低剂量组进行 DON 对断奶仔猪小脑组织和细胞损伤作用的研究。

当动物出现氧化应激时,机体产生导致细胞和组织损伤的促氧化剂,与此同时,机体也将产生相应的抗氧化剂进行平衡,如 SOD、GSH-Px 等^[13]。此外,NO 也可通过细胞膜的脂质过氧化作用从而导致神经细胞的损伤,若 NO 含量过多

最终会造成脑损伤^[14]。本试验中所检测的 MDA 为脂质过氧化的最终产物,综合以上指标可说明机体发生脂质过氧化的程度。研究表明, DON 可使仔猪海马细胞中 SOD 及 GSH-Px 含量显著降低,而使 MDA 的含量极显著升高^[9]。此外, $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DON 可使断奶仔猪血清中 GSH-Px 含量显著降低^[15]。在本试验中, DON 使断奶仔猪小脑组织中 GSH-Px 及 SOD 显著下降,而 NO 及 MDA 显著升高,说明 DON 诱导仔猪小脑组织出现脂质过氧化现象,并对脑组织细胞产生一定毒性作用。

神经递质为动物机体中传导神经冲动的重要物质。其中 ACH 尤为重要,它可在突触间进行传递,传导神经冲动。有研究显示, ACH 在低浓度时,神经间的兴奋传递被抑制,神经细胞的生长和分化均受到影响,从而导致神经系统的生长发育迟缓^[16]。此外, DON 导致动物产生呕吐反应,可能是由于其作用在肠嗜铬细胞(EC)细胞而诱导 5-HT 的局部释放^[17]。NE 则对急性应激反应具有快速的反应,是交感神经肾上腺素的核心组成成分^[18]。已有学者研究表明, DON 可使猪下丘脑、额叶和小脑中引起 NE 及 5-HT 的增加和 DA 的减少^[12]。同时还可使猪血清及脑部 5-HT 浓度的升高从而改变猪的摄食行为并出现拒食和呕吐现象^[19-20]。本试验中断奶仔猪小脑组织中 5-HT 含量显著升高,而 DA、ACH 含量下降,说明 DON 影响仔猪小脑组织中各种神经递质的分泌,对小脑的神经传导产生一定影响,而 NE 并未出现显著变化,说明长期饲喂含 DON 饲料对断奶仔猪机体产生慢性毒性作用而非急性。

在动物机体中, Ca^{2+} 是一种非常重要的物质,它可以调节神经递质的释放,影响细胞内钙稳态。作为 Ca^{2+} 释放传感器的 CaM 在脑中含量丰富^[21],过氧化氢酶(CAT)、SOD 及大多数神经递质的释放过程均是受 Ca^{2+} 与 CaM 结合所调控^[22]。但 Ca^{2+} 浓度较高则会产生细胞毒性,导致神经细胞凋亡和坏死^[23]。此外, *CaMK II* 是一种多聚体丝氨酸-苏氨酸激酶,为神经递质释放的必需物质^[24],其最初通过结合钙化钙调蛋白($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$)激活,该蛋白质的磷酸化则有助于确定细胞膜的兴奋性及细胞 Ca^{2+} 稳态^[25]。研究表明, DON 可使体外培养的仔猪海马细胞中 Ca^{2+} 含量极显著升高^[9]。本试验中,试验组断奶仔猪小脑组织中 Ca^{2+} 含量上升,但 *CaM* 基因及

蛋白的表达量均降低,同时 *CaMK II* 磷酸化程度升高导致其基因与蛋白含量降低,说明 DON 对小脑的钙稳态造成一定程度的影响,具有一定的神经毒性作用。

综上所述,通过体内暴露试验, DON 可影响断奶仔猪小脑组织脂质过氧化反应,改变神经递质的分泌,同时扰乱钙调通路相关基因与蛋白的表达水平,引起钙稳态失衡。上述结果表明 DON 可对仔猪产生一定的神经毒性作用。

参考文献 Reference:

- [1] 许伟,耿芳芳,范梦雪,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇毒性的研究进展[J].生物学杂志,2016,33(1):78-81,85.
XU W, GENG F F, FAN M X, et al. Research progress of deoxynivalenol toxicity [J]. *Journal of Biology*, 2016, 33(1):78-81,85.
- [2] 周建川,雷元培,王利通,等.2017 年中国饲料原料及配合饲料中霉菌毒素污染调查报告[J].饲料工业,2018,39(11):52-56.
ZHOU J CH, LEI Y P, WANG L T, et al. A survey report on the mycotoxin contamination of Chinese raw materials and feed in 2017 [J]. *Feed Industry*, 2018, 39(11):52-56.
- [3] 黄俊恒,黄广明.2017 年 21 省市饲料及饲料原料霉菌毒素污染状况分析[J].养猪,2018(3):20-22.
HUANG J H, HUANG G M. Analysis on the mycotoxin contamination of raw materials and feed from 21 provinces in 2017 [J]. *Swine Production*, 2018(3):20-22.
- [4] WANG X C, XU W, FAN M X, et al. Deoxynivalenol induces apoptosis in PC12 cells via the mitochondrial pathway [J]. *Environmental Toxicology & Pharmacology*, 2016, 43:193-202.
- [5] WANG X C, TANG J S, GENG F F, et al. Effects of deoxynivalenol exposure on cerebral lipid peroxidation, neurotransmitter and calcium homeostasis of chicks in vivo [J]. *Toxicol*, 2018, 150:60-65.
- [6] 耿芳芳,范梦雪,姜云晶,等. DON 暴露对雏鸡神经递质及钙调蛋白含量的影响 [J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(2):56-62.
GENG F F, FAN M X, JIANG Y J, et al. Effects of deoxynivalenol exposure on neurotransmitter and calmodulin contents in chicken [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2017, 45(2):56-62.
- [7] 耿芳芳,许伟,范梦雪,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇对雏鸡脂质过氧化反应及脑部形态结构的影响[J].南京农业大学学报,2016,39(3):460-466.
GENG F F, XU W, FAN M X, et al. Effects of deoxynivalenol on lipid peroxidation reaction and brain morphology in chicken [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2016, 39(3):460-466.
- [8] 范梦雪,陈晓芳,姜云晶,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇对仔猪海

- 马神经细胞的毒性作用[J].中国兽医科学,2017,47(1):121-127.
- FAN M X, CHEN X F, JIANG Y J, *et al.* Toxic effects of deoxynivalenol on hippocampal nerve cells of piglets[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2017, 47(1): 121-127.
- [9] 王希春, 储小燕, 张娅菲, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇暴露对仔猪海马神经细胞神经递质、脂质过氧化及钙稳态的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(9): 3726-3733.
- WANG X CH, CHU X Y, ZHANG Y F, *et al.* Effects of deoxynivalenol exposure on neurotransmitter, lipid peroxidation and calcium homeostasis in piglet hippocampal nerve cells[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(9): 3726-3733.
- [10] PRELUSKY D B. The effect of low-level deoxynivalenol on neurotransmitter levels measured in pig cerebral spinal fluid [J]. *Journal of Environmental Science & Health. part. b Pesticides Food Contaminants & Agricultural Wastes*, 1993, 28(6): 731-761.
- [11] SWAMY H V, SMITH T K, MACDONALD E J. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with *Fusarium mycotoxins* on brain regional neurochemistry of starter pigs and broiler chickens [J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(7): 2131-2139.
- [12] PRELUSKY D B, YEUNG J M, THOMPSON B K, *et al.* Effect of deoxynivalenol on neurotransmitters in discrete regions of swine brain [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1992, 22(1): 36-40.
- [13] SIES H, BERNDT C, JONES D P. Oxidative stress [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2017, 86(1): 715-748.
- [14] MA Q. Advances in mechanisms of anti-oxidation [J]. *Discovery Medicine*, 2014, 17(93): 121-130.
- [15] WU L, LIAO P, HE L Q, *et al.* Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)-challenged growing pigs[J]. *BMC Veterinary Research*, 2015, 11(1): 144.
- [16] 卢宁, 俞捷, 许洁, 等. 壬基酚对仔代脑组织 AchE 和 ChAT 活性的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(9): 1221-1223.
- LU N, YU J, XU J, *et al.* Effects of nonylphenol on the activity of AchE and ChAT in brain of filial rat[J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2009, 34(9): 1221-1223.
- [17] WU W D, BATES M A, BURSIA S J, *et al.* Peptide YY3-36 and 5-hydroxytryptamine mediate emesis induction by trichothecene deoxynivalenol(vomitoxin)[J]. *Toxicological Sciences*, 2013, 133(1): 186-195.
- [18] HENDRICKSON R C, RASKIND M A. Noradrenergic dysregulation in the pathophysiology of PTSD [J]. *Experimental Neurology*, 2016, 284: 181-195.
- [19] PRELUSKY D B. The effect of deoxynivalenol on serotonergic neurotransmitter levels in pig blood [J]. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 1994, 29(6): 1203-1218.
- [20] SWAMY H V, SMITH T K, MACDONALD E J, *et al.* Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium mycotoxins* on swine performance, brain regional neurochemistry, and serum chemistry and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxins adsorbent [J]. *Journal of Animal Science*, 2002, 80(12): 3257-3267.
- [21] PANG Z P, CAO P, XU W, *et al.* Calmodulin controls synaptic strength via presynaptic activation of calmodulin kinaseII[J]. *Journal of Neuroscience*, 2010, 30(11): 4132-4142.
- [22] DICK I E, TADROSS M R, LIANG H, *et al.* A modular switch for spatial Ca²⁺ selectivity in the calmodulin regulation of CaV channels[J]. *Nature*, 2008, 451(7180): 830-834.
- [23] 崔越, 周敏, 周静文, 等. 海马神经钙离子通道的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(3): 643-645.
- CUI Y, ZHOU M, ZHOU J W, *et al.* Research progress of calcium channel in hippocampal neurons[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2012, 32(3): 643-645.
- [24] SHIBASAKI T, SUNAGA Y, FUJIMOTO K, *et al.* Interaction of ATP sensor, cAMP sensor, Ca²⁺ sensor, and voltage-dependent Ca²⁺ channel in insulin granule exocytosis.[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(9): 7956-7961.
- [25] ERICKSON J R, HE B J, GRUMBACH I M, *et al.* CaMK II in the cardiovascular system: sensing redox states [J]. *Physiology Review*, 2011, 91(3): 889-915.

Effects of Deoxynivalenol Exposure on Lipid Peroxidation Reaction, Neurotransmitter Secretion and Calcium Homeostasis of Cerebellum in Weanling Piglets

ZHU Lei¹, CAO Li¹, RAN Meng¹, WANG Zhongzheng^{1,2}, CHEN Xiaofang¹,
LI Yu¹, FENG Shibin¹, WU Jinjie¹ and WANG Xichun¹

(1. College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

2. Anhui Agriculture Commission of Tongling City, Tongling Anhui 244000, China)

Abstract The study was conducted to investigate the effects of deoxynivalenol (DON) exposure on lipid peroxidation, neurotransmitters, and calcium homeostasis in cerebellum of weanling piglets. Fifteen healthy “Duroc×Landrace×Yorkshire” weanling piglets were selected, and randomly divided into 3 groups, namely control group, low-dose and high-dose group (5 piglets in each group). Piglets in control group were fed with basal diet, while, 1 mg·kg⁻¹ and 2 mg·kg⁻¹ of DON were fed to each low-dose and high-dose groups. The trials were conducted for 60 d. At the end of experiment, 5 piglets from each group were slaughtered and samples from their cerebellum were collected to detect oxidant and antioxidant indices. Some part of the cerebellum sample was stored in liquid nitrogen for measuring the expression level of genes and proteins related to calmodulin pathway. Compared with the control group, the activities of superoxide dimutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) of low and high-dose DON groups decreased significantly, and the contents of nitric oxide (NO) increased significantly. The concentrations of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and calcium ion increased, while dopamine (DA) and acetylcholine (ACH) decreased significantly. In addition, DON also reduced the expression of calmodulin (*CaM*) and calmodulin-dependent protein kinase II (*CaMK II*) genes in cerebellum, while it decreased the expression of *CaM* protein with increase of phosphorylation level of *CaMK II* protein. These results indicated that DON exposure changed lipid peroxidation reaction and secretions of neurotransmitters, which ultimately led to imbalance of calcium homeostasis, DON exerted neurotoxic effects on weanling piglets.

Key words Deoxynivalenol; Weanling piglet; Cerebellum; Lipid peroxidation; Neurotransmitter; Calcium homeostasis

Received 2019-03-30

Returned 2019-04-24

Foundation item National Natural Science Foundation of China (No. 31472250); Project of Modern Agricultural Industry and Technology System of Anhui Province (No. AHCYJSTX-05).

First author ZHU Lei, male, master student. Research area: veterinary clinical diagnosis and treatment. E-mail: 811415214@qq.com

Corresponding author WANG Xichun, male, associate professor. Research area: animal poisoning diseases and food safety. E-mail: wangxichun@ahau.edu.cn

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)