

Einfluss von Metformin auf die Mikrobiome von einheimischen Süßwasserfischen mit Auswirkungen auf deren Vitalität

Eike Rogall^{1*}, Stefanie Jacob², Rita Tribskorn², Thomas Schwartz¹

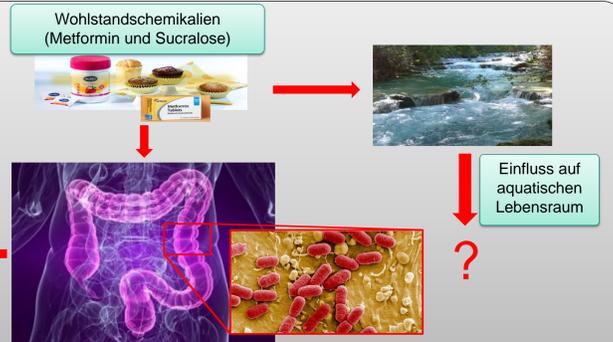
¹Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Abteilung Bioprozesstechnik und Biosysteme

²Eberhard Karls Universität Tübingen, Institut für Evolution und Ökologie, Physiologische Ökologie der Tiere

Motivation

Der Einfluss der Darmflora auf die Gesundheit von Mensch und Tier rückt immer mehr in den Fokus der Forschung. Es wurde bereits gezeigt, dass Veränderungen in der Zusammensetzung der Darmflora Krankheiten auslösen können (Suez *et al.*, Nature 2014 und Forslund *et al.*, Nature 2015). Aus diesem Grund sind „Wohlstandschemikalien“, die in großen Mengen verbraucht werden, und von denen bekannt ist, dass sie das Mikrobiom des Menschen beeinflussen, auch für aquatische Organismen besonders interessant. Viele dieser Chemikalien kommen in relevanten Konzentrationen in aquatischen Lebensräumen vor (Scheurer *et al.*, 2009), ihre Auswirkungen auf aquatische Ökosysteme sind jedoch so gut wie unbekannt.

Folgen bei Mensch und Maus durch verändertes Mikrobiom:
– Typ-2 Diabetes
– Fettleibigkeit (Suez *et al.*, Nature 2014)
– Erhöhte Virulenzfaktoren (Forslund *et al.*, Nature 2015)



Methoden

Hälterung der Fische

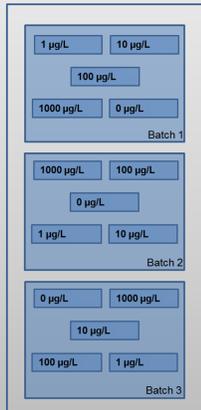
Testbedingungen, bei denen die Bachforellen gehalten wurden:
Metforminkonzentrationen:
0 µg/L, 1 µg/L, 10 µg/L, 100 µg/L, 1000 µg/L
Temperatur: 7 °C und 11 °C
Replikate: 3x 10 Fische pro Metforminkonzentration

Probenahmen:
3 und 8 Wochen nach Aufzehrung des Dottersacks

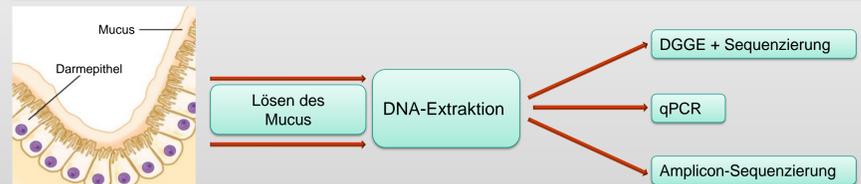
Versuchsansätze



Juvenile Bachforelle



Versuche mit Bachforellen und Metforminkonzentrationen von 0 µg/L – 1000 µg/L



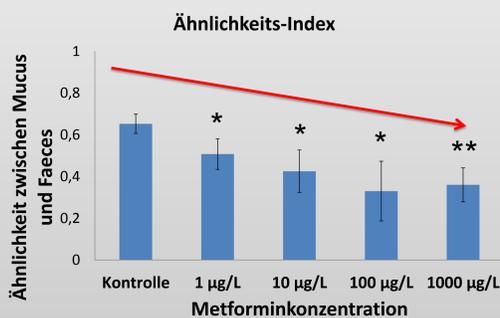
Charakterisierung des Darm-Mikrobioms bei Fischen

- Molekularbiologische Populationsanalysen:
 - PCR-DGGE mit Sequenzierung: Ähnlichkeit-Indices
 - qPCR: Quantifizierung identifizierter Genera und Pathogene
 - Amplicon-Sequenzierung: Gesamtpopulation der *Eubacteria*
- Vorteile der Methoden: „Mikrobiom-Abdruck“ der Darmflora ohne Verfälschung durch Kultivierung

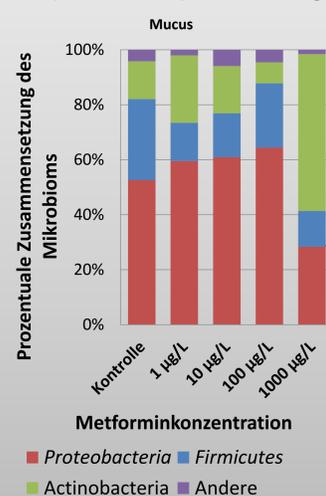
Ergebnisse

Populationsanalysen

PCR-DGGE

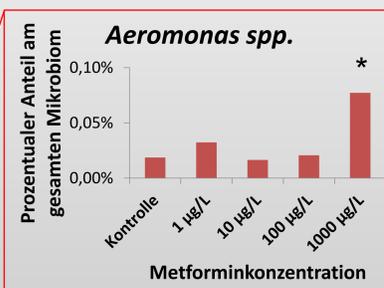


Amplicon-Sequenzierung

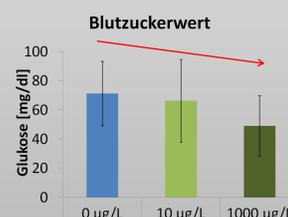


Zwei unterschiedliche Methoden zur Analyse des Darmmikrobioms zeigen beide, dass Metformin das Mikrobiom der Fische signifikant beeinflusst

Pathogene und Vitalitätsmarker



In der Bakteriengruppe *Proteobacteria* sind einige Fischpathogene zu finden, wie z.B. *Aeromonas hydrophila* und *Aeromonas salmonicida*. Die Gruppe der Aeromonaden ist bei höchster Metforminkonzentration deutlich erhöht nachweisbar



Metformin beeinflusst den Blutzuckerspiegel der Fische und damit den Glukosestoffwechsel

Zusammenfassung und Ausblick

- Die häufigsten Bakteriengruppen im Darm-Mikrobiom von Bachforellen sind *Proteobacteria*, *Firmicutes* und *Actinobacteria*
- Metformin verursacht signifikante Veränderungen im Darm-Mikrobiom
- Bei hoher Metforminkonzentration werden Aeromonaden, zu denen auch Fischpathogene gehören, deutlich häufiger nachgewiesen, obwohl der Anteil der *Proteobacteria* insgesamt sinkt
- Metformin scheint auch bei Bachforellen den Glukosestoffwechsel zu beeinflussen
- Weitergehende Analysen unter dem Einfluss von Wohlstandschemikalien sind geplant:
 - Stoffwechsel- und Immunantworten bei Bachforellen ausgelöst durch Mikrobiom-Veränderungen
 - Die Expression von Virulenzfaktoren bei vorhandenen Fischpathogenen im Mikrobiom
 - Zusammenhang mit ökotoxikologischen Fragestellungen

Acknowledgement: Dieses Projekt ist Teil des Wassernetzwerks Baden-Württemberg und des Effect Network in Water Research (Effect-net).