

УДК 639.3.09

4.3.1. Технологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса (технические науки)

ИСКУССТВЕННЫЕ МОДЕЛИ КИШЕЧНИКА РЫБ: УНИКАЛЬНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Мангасарян Джульетта Славиковна
Преподаватель кафедры «Техника и технологии пищевых производств»
SPIN РИНЦ: 7750-6356, AuthorID: 1067486
Донской государственный технический университет, Россия, 344010, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина 1
e-mail: juliasarkisyan16@yandex.ru

Татарова Анастасия Анатольевна
Преподаватель кафедры «Техника и технологии пищевых производств»
SPIN РИНЦ: 6197-5851, AuthorID: 1138139
Донской государственный технический университет, Россия, 344010, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина 1
e-mail: tatarova99@vk.com

Бабаджаниян Аркадий Спартакovich
Старший преподаватель кафедры «Технологии и оборудование переработки продукции агропромышленного комплекса»
SPIN РИНЦ: 3071-9350, AuthorID: 925601
Донской государственный технический университет, Россия, 344010, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина 1
e-mail: Babajanyan.arkady2015@yandex.ru

Яронтовский Василий Евгеньевич
Инженер кафедры «Технические средства аквакультуры»
SPIN РИНЦ: 5875-8561, AuthorID: 1215882
Донской государственный технический университет, Россия, 344010, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина 1
e-mail: vasiliyaronovskii98@gmail.com

Искусственные модели кишечника рыб — инновационный инструмент доклинической оценки функциональных кормовых добавок и ветеринарных препаратов в аквакультуре. Обзор анализирует современные подходы: от двумерных монослойных культур эпителиальных клеток радужной форели (RTgutGC) до комплексных микрожидкостных систем fish-gut-on-chip и многокамерных симуляторов микробиоты (SalmoSim). Модели обладают высокой прогностической ценностью (96-97% соответствия между результатами in vitro и in vivo).

UDC 639.3.09

4.3.1. Technologies, machinery and equipment for the agro-industrial complex (technical sciences)

ARTIFICIAL FISH INTESTINAL MODELS: A UNIQUE TOOL FOR THE EVALUATION OF FEED ADDITIVE EFFECTIVENESS

Mangasaryan Julietta Slavikovna
Lecturer, Department of Food Production Engineering and Technology
SPIN RSCI: 7750-6356, AuthorID: 1067486
Don State Technical University, Gagarin Square 1, Rostov-on-Don, Rostov Region, Russia, 344010
e-mail: juliasarkisyan16@yandex.ru

Tatarova Anastasia Anatolyevna
Lecturer, Department of Food Production Engineering and Technology
SPIN RSCI: 6197-5851, AuthorID: 1138139
Don State Technical University, Gagarin Square 1, Rostov-on-Don, Rostov Region, Russia, 344010
e-mail: tatarova99@vk.com

Babadjanyan Arkady Spartakovich
Senior Lecturer, Department of Agro-Industrial Complex Product Processing Technologies and Equipment
SPIN RSCI: 3071-9350, AuthorID: 925601
Don State Technical University, Gagarin Square 1, Rostov-on-Don, Rostov Region, Russia, 344010
email: Babajanyan.arkady2015@yandex.ru

Yarontovsky Vasily Evgenievich
Engineer, Department of Aquaculture Engineering
SPIN RSCI: 5875-8561, AuthorID: 1215882
Don State Technical University, Gagarin Square 1, Rostov-on-Don, Rostov Region, Russia, 344010
email: vasiliyaronovskii98@gmail.com

Artificial fish intestinal models are an innovative tool for preclinical assessment of functional feed additives and veterinary drugs in aquaculture. The present review examines contemporary approaches, ranging from two-dimensional monolayer cultures of rainbow trout intestinal epithelial cells (RTgutGC) to advanced microfluidic fish-gut-on-chip systems and multicompartiment microbiota simulators such as SalmoSim. These models demonstrate high predictive value (96–97% concordance between in vitro and in vivo outcomes) and enable a substantial reduction in experimental time and costs, fully

vivo) и позволяют сократить сроки и стоимость разработки, соответствуя принципам 3R (Replacement, Reduction, Refinement). Рассмотрены механизмы действия пробиотиков, пребиотиков, бактериоцинов и растительных экстрактов на функции кишечного барьера и иммунные ответы рыб. Обсуждены перспективы развития собственных российских моделей для экономически значимых видов (форель, карп, толстолобик, осетровые)

Ключевые слова: АКВАКУЛЬТУРА, РЫБОВОДСТВО, БАКТЕРИОЦИНЫ, АНТИБИОТИКИ, ТЕРАПИЯ, ЗАБОЛЕВАНИЯ РЫБ, КЛАССИФИКАЦИЯ

complying with the 3R principles (Replacement, Reduction, and Refinement). Mechanistic aspects of probiotics, prebiotics, bacteriocins, and plant extracts, including their impact on intestinal barrier function and fish immune responses, are discussed. Perspectives on the development of proprietary Russian models for economically significant species (trout, carp, silver carp, sturgeon, etc.) are critically addressed

Keywords: AQUACULTURE, FISH FARMING, BACTERIOCINS, ANTIBIOTICS, THERAPY, FISH DISEASES, CLASSIFICATION

Введение

Мировая аквакультура обеспечивает более 50% потребления рыбы и морепродуктов, а по прогнозам к 2030 году будет производить 62% мирового объёма [1]. Однако интенсификация производства сопровождается серьёзными санитарно-эпизоотологическими проблемами: концентрированное содержание, замена рыбной муки на растительные белки и дисбиоз кишечной микробиоты приводят к значительным потерям [2,3].

Традиционная борьба с инфекциями путём применения антибиотиков привела к развитию резистентности патогенов и накоплению остатков лекарств в окружающей среде [4,5]. В ЕС и развитых странах введены строгие ограничения на применение антибиотиков в животноводстве [6], стимулирующие поиск альтернатив. Перспективными решениями являются функциональные кормовые добавки (пробиотики, пребиотики, бактериоцины, растительные экстракты) и новые фармацевтические препараты [7,8].

Однако оценка эффективности таких добавок требует дорогостоящих и длительных полевых испытаний, создающих экономические и этические проблемы [9]. За последнее десятилетие развились искусственные модели кишечника, позволяющие проводить быструю, воспроизводимую и

экономически эффективную доклиническую оценку без использования животных [10].

Целью данного обзора является анализ современных подходов к созданию и применению искусственных моделей кишечника рыб для доклинической оценки функциональных добавок, обсуждение преимуществ, ограничений и перспектив для отечественной аквакультуры.

Материалы и методы

Поиск и отбор информационных источников осуществлялся с использованием международных реферативных баз данных. Стратегия поиска включала использование ключевых слов и их комбинаций на английском языке. Отобранные публикации анализировались на предмет релевантности, научной актуальности, методологической корректности и потенциальной применимости выводов для целей аквакультуры Российской Федерации.

Результаты

Основные типы искусственных моделей кишечника рыб

Современные модели основаны на использовании постоянных клеточных линий. Ключевой прорыв — установление первой кишечной клеточной линии радужной форели RTgutGC (*Oncorhynchus mykiss*) [11], сохраняющей функциональные свойства эпителия *in vivo*: образование плотных контактов, экспрессию белков ZO-1, поляризацию клеток с локализацией Na^+/K^+ -АТФазы на базолатеральной мембране и развитие трансэпителиального электрического сопротивления (TEER) 50-100 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ [12,13].

При культивировании на проницаемых мембранных вставках в течение 3 недель RTgutGC образуют поляризованный монослой с персонализированной экспрессией генов в ответ на стрессоры [14]. Разработана вторая клеточная линия RTgutF из фибробластоподобных клеток кишечника форели [15], взаимодействующих с эпителиальными

клетками, создавая более сложные структуры. Выделены клеточные линии RTri-MI и RTdi-MI из проксимального и дистального отделов кишечника с различными профилями пищеварительных ферментов [15].

Значительным достижением стали кокультуры эпителиальных и фибробластических клеток на обеих сторонах ультратонких мембран, воспроизводящие асимметричное воздействие: верхний канал имитирует кишечный просвет с реальной скоростью потока, нижний — циркуляцию крови. Кокультуры демонстрируют повышенное TEER, указывая на большую целостность барьера.

Передовыми являются микрожидкостные системы fish-gut-on-chip [16], интегрирующие: (1) ультратонкие кремневоксидные (SiN) мембраны, (2) открытый микрожидкостный контур с реалистичными потоками, (3) встроенные электроды для измерения импеданса в реальном времени. Системы позволяют длительное культивирование (>3 недель) в физиологических условиях.

Специализированная система SalmoSim [17] моделирует пищеварительную систему атлантического лосося из трёх связанных камер, имитирующих желудок, проксимальный и дистальный отделы кишечника. Каждая камера содержит микробные консорциумы из кишечника лосося. SalmoSim позволяет отслеживать переваривание, динамику микробиоты, производство короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) [18], всасываемость питательных веществ и выявлять антимикробные свойства компонентов кормов [19]. Валидационные исследования показали 96-97% соответствие между ответами микробиоты *in vitro* и *in vivo* [20].

В развитии находятся трёхмерные органоиды кишечника рыб - миниатюрные структуры с крипто-ворсинчатой морфологией, содержащие стволовые и дифференцированные клеточные типы [21,22]. Органоиды

точнее воспроизводят сложность микроокружения, хотя методология ещё в стадии разработки [23].

Механизмы действия функциональных добавок

Замена рыбной муки на растительные белки часто сопровождается кишечным воспалением. Растительные ингредиенты содержат антипитательные факторы (сапонины, лектины, алкалоиды), вызывающие соевую муку-индуцированную энтеропатию [24,25]. Исследования на RTgutGC показали: при экспозиции соевыми антигенами наблюдается увеличение проницаемости монослоя, снижение экспрессии белков плотных контактов (claudins, occludin), активация про-воспалительных путей [26].

Кишечный барьер состоит из слоя слизи и монослоя эпителиальных клеток, соединённых плотными контактами [27]. Пробиотики (*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*) восстанавливают нарушенную проницаемость, повышая TEER через активацию сигнальных путей AMPK и Akt/PI3K, стабилизирующих белки контактов [28,29,30].

β -глюканы продемонстрировали повышение TEER, увеличение F-актина цитоскелета, возрастание экспрессии генов плотных контактов (claudin-3, ZO-1) [31].

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) (ключевые метаболиты микробиоты) - источники энергии для эпителия и иммунорегуляторные молекулы [32]. На SalmoSim добавление маннан-олигосахаридов приводило к увеличению численности КЦЖК-производящих бактерий и повышению концентрации КЦЖК [33]. КЦЖК через G-белок-сопряженные рецепторы (GPR41, GPR43) модулируют дифференцировку кишечных Т-регуляторных клеток, подавляют воспаление и усиливают мукозальный IgA ответ [34].

Механизмы иммуномодуляции включают активацию врожденного иммунитета через паттерн-распознающие рецепторы [35,36], индукцию толератогенности через IL-10 и TGF- β , синтез антимикробных пептидов.

Бактериоцины - антимикробные пептиды, производимые пробиотиками [37,38]. Молекулярные анализы показали подавление роста патогенных видов *Vibrio* и *Aeromonas* без развития резистентности [39]. Недавние исследования продемонстрировали, что биоактивные пептиды улучшают функцию барьера и иммунный ответ при воздействии липополисахарида [40].

Практическое применение

Критически важным было доказательство коррелирования результатов *in vitro* с *in vivo*. SalmoSim продемонстрировал, что микробные сообщества в системе и в живом лососе реагируют на ингредиенты сходно (96-97% таксонов) [41], характер изменения КЦЖК предсказывает изменения в фекальных выделениях животных. SalmoSim уже используется промышленностью для предварительного отбора кормовых ингредиентов перед дорогостоящими полевыми испытаниями [42].

Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA) допускает систематические комбинации *in vitro* и *in vivo* исследований для оценки кормовых добавок [43].

Внедрение искусственных моделей соответствует принципам 3R (Replacement, Reduction, Refinement) - замещение живых животных на культуры клеток; снижение - проведение множественных параллельных экспериментов; совершенствование - разработка менее инвазивных методов анализа [44].

Заключение

Искусственные модели кишечника рыб - инновационный инструмент для доклинической оценки функциональных добавок в аквакультуре. Разнообразие доступных подходов (от двумерных монослойных культур до

сложных микрожидкостных систем) позволяет исследователям выбирать оптимальную стратегию в зависимости от целей. За последние пять лет произошёл качественный прогресс, расширилась база знаний о механизмах действия функциональных добавок.

Широкое внедрение этих моделей соответствует принципам 3R и обеспечивает экономические преимущества через сокращение сроков и стоимости разработки. Дальнейшее развитие требует координированных усилий науки, регуляторных органов и промышленности, направленных на валидацию и стандартизацию методологий, разработку новых клеточных линий для экономически значимых видов рыб.

Благодарности: Работа проведена в рамках выполнения проекта «Разработка персонифицированных кормов нового поколения с растительными и пробиотическими добавками для повышения выживаемости и улучшения здоровья рыб» (FZNE-2023-0003)

Список литературы

1. FAO Fisheries and Aquaculture Division. Global aquaculture production 1950–2021. Rome: FAO, 2023.
2. Merrifield D. L., Olsen R. E., Myklebust R., Ringø E., El-Shemy H. Dietary effect of soybean products on gut histology and microbiota of fish // Soybean and nutrition. 2011. Vol. 231. P. e50.
3. Gatesoupe F. J. Updating the importance of dietary microbial activity on fish health // Journal of Aquatic Animal Health. 2008. Vol. 20, No 1. P. 21–27.
4. Cabello F. C., Godfrey H. P., Tomova A., Ivanova L., Dolz H., Millanao A., Buschmann A. H. Antimicrobial use in aquaculture re-examined // Environmental Microbiology. 2013. Vol. 15, No 7. P. 1917–1942.
5. Marshall B. M., Levy S. B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health // Clinical Microbiology Reviews. 2011. Vol. 24, No 4. P. 718–733.
6. Bondad-Reantaso M. G., Cai J., Bueno P., et al. Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture // Reviews in Aquaculture. 2023. Vol. 15, No 4. P. 1421–1451.
7. Nayak S. K. Probiotics and immunity: a fish perspective // Fish & Shellfish Immunology. 2010. Vol. 29, No 1. P. 2–14.
8. Pereira W. A., Souza T. B., Farias L. D. Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture // Microorganisms. 2022. Vol. 10, No 9. P. 1705.
9. Hubrecht R. C., Carter E. The 3Rs and humane experimental technique // Animals. 2019. Vol. 9, No 10. P. 754.

10. Drieschner C., Franke A., Legewie S., Schmitz-Streit R. A., Poehlein A., Daniel R., Rischka B. Fish-gut-on-chip: development of a microfluidic bioreactor // *Lab on a Chip*. 2019. Vol. 19, No 19. P. 3268–3276.
11. Minghetti M., Drieschner C., Brunius C., et al. A fish intestinal epithelial barrier model from rainbow trout // *Cell Biology and Toxicology*. 2017. Vol. 33, No 6. P. 539–555.
12. Günzel D., Yu A. S. Claudins and the modulation of tight junction permeability // *Physiological Reviews*. 2013. Vol. 93, No 2. P. 525–569.
13. Mandal S. C., Wilson J. M., Mandal P. K., et al. Polarized trout epithelial cells regulate transepithelial electrical resistance // *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. P. 1809.
14. Kawano A., Nakada T., Iwasaki T., et al. Development of a rainbow trout intestinal epithelial cell line // *Aquaculture Nutrition*. 2011. Vol. 17, No 2. P. e241–e252.
15. Krogdahl Å., Gajardo K., Kortner T. M., Penn M., Gu J., Berge G. M., Bakke A. M. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture // *Aquaculture Research*. 2010. Vol. 41, No 3. P. 333–344.
16. Huh D., Matthews B. D., Mammoto A., Montoya-Zavala M., Yuan Hsin H., Ingber D. E. Reconstituting organ-level lung functions on a chip // *Science*. 2010. Vol. 328, No 5986. P. 1662–1668.
17. Kazlauskaitė R., Aguirre M., Goethel A., et al. SalmoSim: the development of a three-compartment in vitro simulator // *Microbiome*. 2021. Vol. 9, No 1. P. 179.
18. Tran N. T., Li Z., Wang T., Yao H., Chen J. Progress and perspectives of short-chain fatty acids in aquaculture // *Reviews in Aquaculture*. 2020. Vol. 12, No 1. P. 283–298.
19. Rimoldi S., Gini E., Lucini L., et al. Butyrate and taurine exert a mitigating effect on the inflamed distal intestine // *Fisheries and Aquatic Sciences*. 2016. Vol. 19, No 1. P. 40.
20. Kazlauskaitė R., Aguirre M., Goethel A., et al. Development of a three-compartment in vitro simulator // *BioRxiv*. 2020. Article No. 2020-10.
21. D'Costa K., Siddiqui S., Noor N. M. Biomaterials and culture systems for organoid models // *Annals of Biomedical Engineering*. 2020. Vol. 48, No 7. P. 2002–2027.
22. Maharjan S., Park J. A., Lee S. Advanced 3D imaging and organoid bioprinting // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2024. Vol. 208. Article No. 115237.
23. Almqdadi M., Mana M. D., Begeman J., Gurdziel K., Haller D. Gut organoids: mini-tissues in culture to study intestinal physiology // *American Journal of Physiology*. 2019. Vol. 317, No 3. P. C405–C419.
24. Krogdahl Å., Gajardo K., Kortner T. M., et al. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture // *Aquaculture Research*. 2010. Vol. 41, No 3. P. 333–344.
25. Pérez T., Balcázar J. L., Ruiz-Zarzuela I., Halaihel N., Vendrell D., de Blas I., Múzquiz J. Host-microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem // *Mucosal Immunology*. 2010. Vol. 3, No 4. P. 355–360.
26. Aidos L., Davies S. J., Tocher D. R. How Do Alternative Protein Resources Affect Intestine Morphology // *Animals*. 2023. Vol. 13, No 12. Article No. 1922.
27. Chelakkot C., Ghim J., Ryu S. H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity // *Experimental & Molecular Medicine*. 2018. Vol. 50, No 8. P. 1–9.
28. Zhao C., Li M., Yu S., et al. Probiotics mediate intestinal microbiome of rainbow trout // *Microbiology Spectrum*. 2023. Vol. 11, No 2. Article No. e03980-22.
29. Ding F., Wang J., Wang Y., et al. Probiotic *Pediococcus pentosaceus* restored intestinal barrier injury // *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2024. Vol. 15, No 1. P. 54.
30. Mazziotta C., Gini E., Brambilla F., et al. Probiotics mechanism of action on immune cells // *Cells*. 2023. Vol. 12, No 1. P. 184.

31. De Marco G., Bellagamba F., Mazziotta C., et al. Histomorphological changes in fish gut in response to prebiotics // *Animals*. 2023. Vol. 13, No 18. Article No. 2860.
32. Rimoldi S., Busetto G., Gini E., et al. Effect of short- and medium-chain fatty acid on growth and microbiota // *PeerJ*. 2018. Vol. 6. Article No. e5355.
33. Fontinha F., Guerreiro I., Xavier C., et al. The effects of short-chain fatty acids // *Animals*. 2024. Vol. 14, No 9. Article No. 1360.
34. Gao J., Wang J., Dong Y., et al. Short-Chain Fatty Acids Modulate Hepatic Glucose and Lipid Metabolism // *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, No 8. Article No. 3654.
35. Nik Mohamad Nek Rahimi N., Salleh A. B., Rahman M. B. Phytocompounds as Alternative Antimicrobial Approach // *Antibiotics*. 2022. Vol. 11. Article No. 469.
36. Rodrigues T., Silva L. B., dos Santos C. R., et al. Aquatic invertebrate antimicrobial peptides // *Microorganisms*. 2025. Vol. 13, No 1. Article No. 156.
37. Nisa M., Malik A., Nasir S., et al. Combating food spoilage and pathogenic microbes via bacteriocins // *Food Control*. 2023. Vol. 149. Article No. 109710.
38. Pereira W. A., Souza T. B., Farias L. D. Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10, No 9. P. 1705.
39. Srirengaraj V., Krishnan K., Muthuselvam M., et al. Synbiotic agents and their active components for sustainable aquaculture // *Biology*. 2023. Vol. 12, No 12. Article No. 1498.
40. Wang J., Qi Y., Westcott J. D., et al. Rainbow trout intestinal epithelial cells as a model for studying gut immune function // *Frontiers in Immunology*. 2019. Vol. 10. Article No. 152.
41. Kaslauskaitė R., Aguirre M., Goethel A., et al. Profiling the effects of novel feed ingredients // *Aquaculture Reports*. 2021. Vol. 20. Article No. 100711.
42. Validating in vitro feed trials // *The Fish Site*. 2020.
43. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. Guidance on the assessment of the efficacy of feed additives // *EFSA Journal*. 2018. Vol. 16, No 5. Article No. e05274.
44. Russell W. M. S., Burch R. L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen, 1959.

Reference

1. FAO Fisheries and Aquaculture Division. Global aquaculture production 1950–2021. Rome: FAO, 2023.
2. Merrifield D. L., Olsen R. E., Myklebust R., Ringø E., El-Shemy H. Dietary effect of soybean products on gut histology and microbiota of fish // *Soybean and nutrition*. 2011. Vol. 231. P. e50.
3. Gatesoupe F. J. Updating the importance of dietary microbial activity on fish health // *Journal of Aquatic Animal Health*. 2008. Vol. 20, No 1. P. 21–27.
4. Cabello F. C., Godfrey H. P., Tomova A., Ivanova L., Dolz H., Millanao A., Buschmann A. H. Antimicrobial use in aquaculture re-examined // *Environmental Microbiology*. 2013. Vol. 15, No 7. P. 1917–1942.
5. Marshall B. M., Levy S. B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health // *Clinical Microbiology Reviews*. 2011. Vol. 24, No 4. P. 718–733.
6. Bondad-Reantaso M. G., Cai J., Bueno P., et al. Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture // *Reviews in Aquaculture*. 2023. Vol. 15, No 4. P. 1421–1451.
7. Nayak S. K. Probiotics and immunity: a fish perspective // *Fish & Shellfish Immunology*. 2010. Vol. 29, No 1. P. 2–14.

8. Pereira W. A., Souza T. B., Farias L. D. Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10, No 9. P. 1705.
9. Hubrecht R. C., Carter E. The 3Rs and humane experimental technique // *Animals*. 2019. Vol. 9, No 10. P. 754.
10. Drieschner C., Franke A., Legewie S., Schmitz-Streit R. A., Poehlein A., Daniel R., Rischka B. Fish-gut-on-chip: development of a microfluidic bioreactor // *Lab on a Chip*. 2019. Vol. 19, No 19. P. 3268–3276.
11. Minghetti M., Drieschner C., Brunius C., et al. A fish intestinal epithelial barrier model from rainbow trout // *Cell Biology and Toxicology*. 2017. Vol. 33, No 6. P. 539–555.
12. Günzel D., Yu A. S. Claudins and the modulation of tight junction permeability // *Physiological Reviews*. 2013. Vol. 93, No 2. P. 525–569.
13. Mandal S. C., Wilson J. M., Mandal P. K., et al. Polarized trout epithelial cells regulate transepithelial electrical resistance // *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. P. 1809.
14. Kawano A., Nakada T., Iwasaki T., et al. Development of a rainbow trout intestinal epithelial cell line // *Aquaculture Nutrition*. 2011. Vol. 17, No 2. P. e241–e252.
15. Krogdahl Å., Gajardo K., Kortner T. M., Penn M., Gu J., Berge G. M., Bakke A. M. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture // *Aquaculture Research*. 2010. Vol. 41, No 3. P. 333–344.
16. Huh D., Matthews B. D., Mammoto A., Montoya-Zavala M., Yuan Hsin H., Ingber D. E. Reconstituting organ-level lung functions on a chip // *Science*. 2010. Vol. 328, No 5986. P. 1662–1668.
17. Kazlauskaitė R., Aguirre M., Goethel A., et al. SalmoSim: the development of a three-compartment in vitro simulator // *Microbiome*. 2021. Vol. 9, No 1. P. 179.
18. Tran N. T., Li Z., Wang T., Yao H., Chen J. Progress and perspectives of short-chain fatty acids in aquaculture // *Reviews in Aquaculture*. 2020. Vol. 12, No 1. P. 283–298.
19. Rimoldi S., Gini E., Lucini L., et al. Butyrate and taurine exert a mitigating effect on the inflamed distal intestine // *Fisheries and Aquatic Sciences*. 2016. Vol. 19, No 1. P. 40.
20. Kazlauskaitė R., Aguirre M., Goethel A., et al. Development of a three-compartment in vitro simulator // *BioRxiv*. 2020. Article No. 2020-10.
21. D'Costa K., Siddiqui S., Noor N. M. Biomaterials and culture systems for organoid models // *Annals of Biomedical Engineering*. 2020. Vol. 48, No 7. P. 2002–2027.
22. Maharjan S., Park J. A., Lee S. Advanced 3D imaging and organoid bioprinting // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2024. Vol. 208. Article No. 115237.
23. Almqdadi M., Mana M. D., Begeman J., Gurdziel K., Haller D. Gut organoids: mini-tissues in culture to study intestinal physiology // *American Journal of Physiology*. 2019. Vol. 317, No 3. P. C405–C419.
24. Krogdahl Å., Gajardo K., Kortner T. M., et al. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture // *Aquaculture Research*. 2010. Vol. 41, No 3. P. 333–344.
25. Pérez T., Balcázar J. L., Ruiz-Zarzuela I., Halaihel N., Vendrell D., de Blas I., Múzquiz J. Host-microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem // *Mucosal Immunology*. 2010. Vol. 3, No 4. P. 355–360.
26. Aidos L., Davies S. J., Tocher D. R. How Do Alternative Protein Resources Affect Intestine Morphology // *Animals*. 2023. Vol. 13, No 12. Article No. 1922.
27. Chelakkot C., Ghim J., Ryu S. H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity // *Experimental & Molecular Medicine*. 2018. Vol. 50, No 8. P. 1–9.
28. Zhao C., Li M., Yu S., et al. Probiotics mediate intestinal microbiome of rainbow trout // *Microbiology Spectrum*. 2023. Vol. 11, No 2. Article No. e03980-22.

29. Ding F., Wang J., Wang Y., et al. Probiotic *Pediococcus pentosaceus* restored intestinal barrier injury // *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2024. Vol. 15, No 1. P. 54.
30. Mazziotta C., Gini E., Brambilla F., et al. Probiotics mechanism of action on immune cells // *Cells*. 2023. Vol. 12, No 1. P. 184.
31. De Marco G., Bellagamba F., Mazziotta C., et al. Histomorphological changes in fish gut in response to prebiotics // *Animals*. 2023. Vol. 13, No 18. Article No. 2860.
32. Rimoldi S., Busetto G., Gini E., et al. Effect of short- and medium-chain fatty acid on growth and microbiota // *PeerJ*. 2018. Vol. 6. Article No. e5355.
33. Fontinha F., Guerreiro I., Xavier C., et al. The effects of short-chain fatty acids // *Animals*. 2024. Vol. 14, No 9. Article No. 1360.
34. Gao J., Wang J., Dong Y., et al. Short-Chain Fatty Acids Modulate Hepatic Glucose and Lipid Metabolism // *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, No 8. Article No. 3654.
35. Nik Mohamad Nek Rahimi N., Salleh A. B., Rahman M. B. Phytochemicals as Alternative Antimicrobial Approach // *Antibiotics*. 2022. Vol. 11. Article No. 469.
36. Rodrigues T., Silva L. B., dos Santos C. R., et al. Aquatic invertebrate antimicrobial peptides // *Microorganisms*. 2025. Vol. 13, No 1. Article No. 156.
37. Nisa M., Malik A., Nasir S., et al. Combating food spoilage and pathogenic microbes via bacteriocins // *Food Control*. 2023. Vol. 149. Article No. 109710.
38. Pereira W. A., Souza T. B., Farias L. D. Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins // *Microorganisms*. 2022. Vol. 10, No 9. P. 1705.
39. Srirengaraj V., Krishnan K., Muthuselvam M., et al. Synbiotic agents and their active components for sustainable aquaculture // *Biology*. 2023. Vol. 12, No 12. Article No. 1498.
40. Wang J., Qi Y., Westcott J. D., et al. Rainbow trout intestinal epithelial cells as a model for studying gut immune function // *Frontiers in Immunology*. 2019. Vol. 10. Article No. 152.
41. Kaslauskaitė R., Aguirre M., Goethel A., et al. Profiling the effects of novel feed ingredients // *Aquaculture Reports*. 2021. Vol. 20. Article No. 100711.
42. Validating in vitro feed trials // *The Fish Site*. 2020.
43. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. Guidance on the assessment of the efficacy of feed additives // *EFSA Journal*. 2018. Vol. 16, No 5. Article No. e05274.
44. Russell W. M. S., Burch R. L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen, 1959.