

УДК 579.64;579.676;636.087

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ПРОБИОТИКОВ НА СИМБИОНТНОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ

© 2015 г. Н. А. Ушакова*, Р. В. Некрасов**, И. В. Правдин***,
Н. В. Сверчкова****, Э. И. Коломиец****, Д. С. Павлов*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Москва, Ленинский просп., 33

**Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы, 60

*** Научно-технический центр биотехнологий в сельском хозяйстве,
309292 Белгородская обл., г. Шебекино, ул. Докучаева, 2

**** Институт микробиологии НАН Беларуси, 20141 Беларусь, Минск, ул. Купревича, 2

E-mail: naushakova@gmail.com

Поступила в редакцию 24.02.2015 г.

Рассмотрены и обобщены литературные и собственные данные о механизмах влияния микроорганизмов-пробиотиков, пребиотиков и их сочетаний на процессы симбионтного пищеварения. Отмечено, что эффекты воздействия на организм связаны с повышением метаболической активности бактерий кишечника: стимуляцией бактериальной ферментации углеводов и образования короткоцепочечных жирных кислот, повышением всасывающей способности кишечника за счет увеличения длины ворсинок и глубины крипт, снижением выделения токсичных продуктов протеолиза (аммиак, фенолы, тиолы, индолы и др.). Показано, что комбинация пробиотиков и пребиотиков обеспечивает усиление биологической эффективности комплексного препарата, что способствует активизации углеводного, белкового, минерального обменов веществ.

DOI: 10.7868/S0002332915050136

Развитие фундаментальных исследований симбиотических взаимодействий организма и его микробиоты получило новое направление в связи с появлением представлений о механизмах влияния бактерий-пробиотиков на процессы симбионтного пищеварения. Биологически активные добавки, содержащие живые микробные культуры, оказывают благоприятное действие на организм человека и животного, улучшая кишечный микробный баланс, стимулируя обменные и иммунные процессы. Кишечный микробиоценоз — это высокоорганизованная динамическая система, которая реагирует определенными качественными и количественными сдвигами на изменения состояния организма (Шендеров, Манвелова, 1997; Шендеров 1998; Гриневиичи др., 2008). Сложившееся в онтогенезе бактериальное сообщество желудочно-кишечного тракта и его метаболическая активность играют важнейшую роль в поддержании здоровья и нормальной жизнедеятельности организма хозяина. При этом одна из основных функций микробной экосистемы кишечника связана с пищеварением.

Цель работы — обобщение литературных и собственных данных по симбионтному пищеварению и оценке факторов, влияющих на его эффективность.

БАКТЕРИАЛЬНОЕ СООБЩЕСТВО ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЕГО СОСТАВ И МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

В современной литературе выделяют три типа пищеварения: собственное, аутолитическое и симбионтное (Чернин и др., 2013б). Собственное (ферментативное) пищеварение осуществляется собственными ферментами организма и в основном завершается в тонком кишечнике, где активно всасываются пищевые вещества. Аутолитическое пищеварение происходит за счет ферментов пищевых продуктов, главным образом на начальных этапах онтогенеза, когда у молодого организма еще не развито собственное пищеварение. У млекопитающих в этом процессе участвуют гидролитические ферменты молока матери; у некоторых видов животных отмечено отрыгивание родителями полупереваренной пищи детенышам (хищники, некоторые птицы). Симбионтное пищеварение связано с метаболической активностью симбионтных микроорганизмов и дополняет ферментативное пищеварение, повышая общую эффективность переваривания и усвоения пищевых субстратов (рисунок).

Соотношение собственного и симбионтного пищеварения зависит от типа питания. У растительноядных животных симбионтное пищеваре-

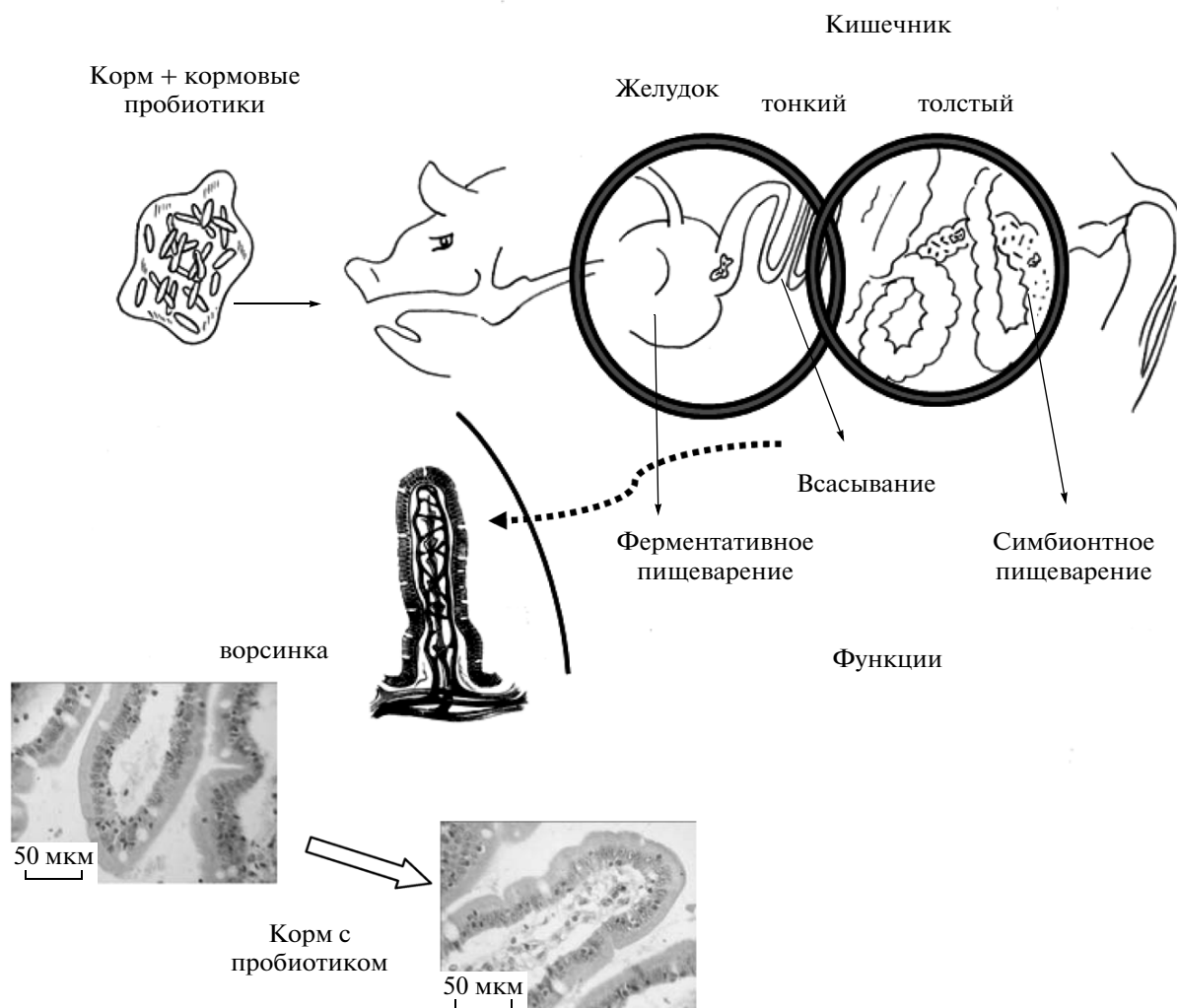


Схема взаимодействия ферментативного и симбионтного пищеварения.

ние играет более важную роль и связано с морфологическими преобразованиями пищеварительной системы – особенностями строения желудка и толстого отдела кишечника, степенью развитости слепой кишки (Наумова, 1981). В частности, у жвачных в рубцовом отделе сложного желудка с помощью симбионтов – бактерий и простейших – переваривается до 95% сахаров и крахмала, а также 55–60% клетчатки корма (Курилов и др., 1968). У нежвачных животных (с однокамерным желудком) основные процессы симбионтного пищеварения происходят в толстом отделе кишечника. В этом же отделе кишечника жвачных происходит остаточное пищеварение целлюлозы и растительных белков, поскольку в толстой кишке практически отсутствует собственное пищеварение (Чернин и др., 2013а).

На композицию и особенности метаболизма кишечной микробиоты влияют различные факторы: доступность, разнообразие, состав и физико-химические свойства поступающих питательных веществ, продолжительность нахождения в кишечнике, pH химуса, возраст хозяина, состояние локального иммунитета, индивидуальные стратегии бактериальной ферментации, специфика выделенных бактериальных метаболитов (Gibson, Roberfroid, 1995; Meimandipour *et al.*, 2009; Парфенов, Бондаренко, 2012). Предположено, что наиболее важную роль в регуляции метаболизма кишечного бактериального сообщества играет доступность питательных веществ. В частности, соотношением доступных углеводов к азоту определяется интенсивность сахаролитической ферментации по отношению к протеолитической (Priebe *et al.*, 2002). Питательные компо-

ненты подвергаются воздействию эндогенных ферментов в верхней части пищеварительной системы, но основное ферментативное пищеварение происходит в желудке. В толстый кишечник поступают пищевые углеводы (остаточные крахмалы, пищевые волокна, олигосахариды, клеточные стенки растений), протеин, остаточные жиры, общий состав и количество которых зависят от метаболической энергии и всасывания субстратов организмом хозяина, которыми определяется запас энергии и питательных веществ для роста и развития кишечных бактерий.

В целом в проксимальном отделе толстой кишки субстраты доступны в изобилии. Микробиота в первую очередь ферментирует углеводы, так как энергетически процесс получения АТФ из углеводов предпочтительнее, чем из протеинов (Van Loo, 2004). Как следствие, сахаролитические виды бактерий преобладают в этом отделе кишечника. По мере продвижения пищи по кишечнику отношение доступных углеводов к азоту уменьшается и в бактериальной композиции начинают преобладать протеолитические, метаногенные и сульфатредуцирующие виды (Macfarlane 1992).

Основные продукты ферментации углеводов кишечными бактериями – короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, пропионат, бутират) (Topping, Clifton, 2001). Большинство образованных веществ всасывается и метаболизируется, а также используется хозяином как запас энергии. Пропионаты транспортируются в печень в процессе глюконеогенеза, ацетат – в различные ткани, а также используются как топливо. Бутираты в основном окисляются кишечным эпителием. Считается, что при увеличении образования продуктов ферментации углеводов создаются более кислые условия (Scherrach *et al.*, 2001), что повышает колонизационную резистентность против патогенов, уменьшает образование вторичных желчных кислот, снижает активность специфических ферментов, например протеаз (Macfarlane *et al.*, 1988; Topping *et al.*, 2003; Zamra *et al.*, 2004). Другая важная функция продуктов ферментации углеводов – влияние на физиологию кишечника путем воздействия на трофику кишечного эпителия. Все три доминирующих метаболита (ацетат, пропионат, бутират) стимулируют пролиферацию и дифференциацию клеток различных отделов кишечного тракта (Frankel *et al.*, 1994). Кроме того, показано, что эти вещества обладают противовоспалительными свойствами, влияют на активность гормонов (Hamer, *et al.*, 2008).

Хотя конечные продукты бактериального метаболизма необходимы организму хозяина, некоторые продукты протеолиза потенциально ток-

сичны. Протеолиз происходит в основном в дистальной части кишечника, где снижена концентрация доступных субстратов и отмечено нейтральное значение pH (Macfarlane *et al.*, 1992). Анаэробным расщеплением пептидов кишечными бактериями обуславливаются не только образование полезных для хозяина метаболитов (в частности, короткоцепочечных и разветвленных жирных кислот – изобутирата, метилбутирата, изовалериата), но и выделение серии потенциально токсичных субстанций, включающих в себя аммиак, амины, фенолы, тиолы и индолы (Rastall, 2004). Одни метаболиты повторно используются как источник азота для бактериального роста, в то время как другие поступают в колоноциты и транспортируются в кровь. Продукты расщепления ароматических аминокислот тирозина и триптофана (фенолы и индолы) нейтрализуются в печени и выводятся с мочой. Интенсивность вторичного бактериального использования таких азотсодержащих метаболитов влияет на общий азотный обмен в организме.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ, ПРЕБИОТИКОВ И СИНБИОТИКОВ НА СИМБИОНТНОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ

Поскольку процесс пищеварения связан не только с положительным эффектом ферментации углеводов, но и с образованием потенциально токсических продуктов бактериального расщепления протеинов, большинство разработок кормовых рационов для животных связано с повышением сахаролитической активности кишечника и снижением протеолиза. Один из наиболее специфических способов воздействия – сдвиг баланса кишечной микробиоты с помощью определенных пищевых факторов в целях ингибирования вредных или патогенных видов бактерий и обеспечения преимущественного развития видов бактерий, полезных для хозяина. Для этого используются пробиотики – живые бактерии, оказывающие положительное влияние на организм хозяина. К числу видов пробиотических бактерий, применяемых для животных, относятся представители родов *Bacillus* (наиболее часто используются *B. subtilis* и *B. licheniformis*), *Streptococcus* (*S. faecium*), *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. helveticum*), *Bifidobacterium* (*B. globosum*). Альтернативная стратегия – влияние на кишечную микробиоту хозяина с помощью пребиотиков (пищевых компонентов, не гидролизующихся пищеварительными ферментами в желудке и положительно влияющих на организм хозяина путем селективной стимуляции роста и/или активности одного или нескольких видов полезных

бактерий кишечника) (Gibson *et al.*, 2004). К пребиотикам относят фруктоолигосахариды, инулин, галактоолигосахариды, лактулозу, пищевые волокна. Большое внимание в последнее время уделяется пектинам, а также хитину и его производному – хитозану.

Пре- и пробиотики, а также их композиции оказывают влияние на рост и метаболическую активность кишечной микробиоты, ее состав и функции (Campbell *et al.*, 1997; De Preter *et al.*, 2011; Ушакова и др., 2012, 2013а, б). Одно из развивающихся направлений коррекции микробиоты связано с использованием синбиотиков (комплексные препараты, состоящие из пробиотиков и пребиотиков). Такие комбинации обеспечивают выживание и имплантацию живых пробиотических бактерий в кишечном тракте животного и усиление их биологической активности с помощью пребиотиков.

Эффективность действия пробиотиков и пребиотиков оценивается по образованию короткоцепочечных жирных кислот как маркеров активности сахаролитической ферментации. Интенсивность образования этих метаболитов служит индикатором положительной бактериальной активности (Sakata *et al.*, 2003; Hernot *et al.*, 2009). Пробиотики, пребиотики стимулируют образование короткоцепочечных жирных кислот, что свидетельствует о повышении бактериальной активности кишечника, и связанным с этим лучшим использованием азота бактериальной массой химуса кишечника.

Считается, что пробиотики способны оказывать не прямое воздействие на бактериальную ферментацию углеводов и протеинов посредством стимуляции тех видов кишечной микробиоты, которые преимущественно ферментируют углеводы. Эксперименты, проведенные на крысах, свиньях, цыплятах и собаках, показали, что общая концентрация короткоцепочечных жирных кислот или концентрация бутирата возрастают в кишечном содержимом или фекалиях при введении в корма пребиотиков (Heijnen, Beunen, 1997; Flickinger *et al.*, 2003; Propst *et al.*, 2003; Rehman *et al.*, 2008; Van Craeyveld *et al.*, 2008), компонентов клеточных стенок, растительных фруктанов и даже неочищенных фитобиотиков (Demigne *et al.*, 2008). Эффективность применения в рационе молодых свиней комплексного синбиотического препарата Простор, включающего в себя пробиотики (штаммы *B. Subtilis*), пребиотики (пектины свекловичного жома, клеточные стенки дрожжей) и неочищенные порошки лекарственных растений (травы эхинацеи пурпурной и плодов расторопши пятнистой), продемонстрировано в опытах по кормлению поросят (Nekrasov

et al., 2014). При этом наблюдаемое у поросят увеличение живой массы тела сопровождалось интенсификацией пищеварения, увеличением числа клеток эпителия и общей площади их цитоплазмы в тонком отделе кишечника, где происходят основные процессы всасывания, увеличение размеров ворсинок. Этим подтверждается высказанное предположение о том, что продукты ферментации углеводов стимулируют пролиферацию и дифференциацию клеток кишечного эпителия (Frankel *et al.*, 1994).

Пробиотические препараты стимулируют развитие кишечных бактерий, что ведет к включению азота (из аммиака и других источников) в белок бактериальных клеток, уменьшая выделение аммиака с мочой. Также показано, что и пребиотики способны снижать в выделениях концентрацию аммония (Flickinger *et al.*, 2003; Rehman *et al.*, 2008). При этом влияние пребиотиков на аммоний-азотный метаболизм в кишечнике связано с перераспределением поступления азота не в мочу, а в фекалии (Heijnen, Beunen, 1997), что объясняется возрастанием синтеза бактериального протеина и уменьшением всасывания в кишечнике азота, образованного из аммония. Такое влияние пре- и пробиотиков косвенно проявляется в уменьшении неприятного аммиачного запаха на животноводческих фермах и птицеводческих хозяйствах и имеет положительное экологическое значение.

Дополнительной информацией о влиянии пищевых компонентов на модификацию кишечной микробиоты являются сведения о бактериальной ферментативной активности в кишечнике на примере гидролиза гликозидных связей. К гликозидазам относятся β -глюкозидаза и β -глюкуронидаза, которые расщепляют гликозидные связи с образованием агликанов, многие из которых обладают канцерогенными свойствами (Goldin, 1990). В ряде исследований показано, что пре- и пробиотики существенно снижают β -глюкуронидазную активность в фекалиях мини-свиней (Haberger *et al.*, 2003).

Желчные кислоты – это натуральные детергенты, которые эмульгируют липиды и жирорастворимые витамины, что обеспечивает их использование организмом. В печени из холестерина синтезируются первичные желчные кислоты, из которых образуются желчные соли, поступающие в процессе пищеварения в тонкий кишечник, где они активно всасываются. Приблизительно 5% желчных солей поступает в толстый кишечник и подвергается бактериальной трансформации путем деконъюгации с последующими ферментативными преобразованиями. Наиболее важное из них – дегидроксилирование 7α -дегид-

роксилазой с образованием вторичных желчных кислот (дезоксихолевой и литохолевой) (McGarr *et al.*, 2005). Вторичные желчные кислоты могут провоцировать канцерогенез (Pearson *et al.*, 2009). Имеются сведения о влиянии пре- и пробиотиков на метаболизм желчных кислот. В опытах *in vitro* показано ингибирование бактериального образования вторичных желчных кислот при добавлении пребиотиков. Добавление к фекальной микробиоте лактобацилл и бифидобактерий снижало скорость такой конверсии желчных кислот. Схожий эффект был получен в опытах *in vivo* на крысах при добавлении в их рацион пребиотиков. При этом наблюдалось ингибирование процесса дегидроксилирования первичных желчных кислот (Andrieux *et al.*, 1989).

Исследования на животных показали положительное влияние про- и пребиотиков на всасывание минералов. При этом возрастало потребление таких минералов, как кальций, магний (Demigne *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010). Существует несколько объяснений данному явлению. Возможно, при интенсификации развития бактерий в кишечнике под влиянием пре- и/или пробиотиков происходит снижение рН химуса, что вызывает увеличение растворимости минералов. Также в экспериментах показано, что добавление как пробиотиков, так и пребиотиков к рациону вызывает увеличение длины ворсинок, глубины крипт, увеличение поверхности кишечного мукозного слоя, в котором идут процессы всасывания, возможно, в результате выделения бутирата, влияющего на мукозные клетки (Kleessen *et al.*, 2003). Кроме того, предположено, что усиление всасывания кальция в толстом кишечнике при приеме пребиотиков связано с увеличением синтеза мукозных пептидов, связывающих кальций (Ohta *et al.*, 1998).

Биологической активностью обладают метаболитные пробиотики – препараты, которые содержат не только клетки пробиотических микроорганизмов, но и продукты их жизнедеятельности. Например, препарат Споробакт, содержащий споры двух штаммов *B. subtilis*, клетки бацилл и их метаболиты, улучшает усвоение питательных веществ корма, что ведет к снижению затрат комбикорма на получение дополнительного прироста живой массы, повышает продуктивность животных (Михалюк и др., 2013; Сверчкова и др., 2013). В опыте на фистульных бычках выявлено действие на микробиоценоз рубца пробиотика на основе *B. Subtilis* В-8130 с комплексом метаболитов (продуктов твердофазного культивирования бациллы на свекловичном жоме). Исследования методом T-RFLP-анализа состава микробного сообщества показали, что введение с кормами в

желудочно-кишечный тракт животных клеток *B. Subtilis* В-8130 вызвало изменения, подтверждающие влияние пробиотиков на симбионтное пищеварение (Ушакова и др., 2013б). У контрольных животных доминировали бактерии филума Firmicutes ($55.11 \pm 1.97\%$), главным образом класса Clostridia ($53.10 \pm 2.06\%$) с основной долей семейств Lachnospiraceae ($25.93 \pm 1.41\%$) и Clostridiaceae ($9.9 \pm 1.35\%$). Примерно в равных количествах присутствовали члены филума Bacteroidetes ($11.15 \pm 2.88\%$) и филума Actinobacteria ($9.27 \pm 1.95\%$). Доля некультивируемых форм составила $17.28 \pm 2.01\%$. Содержание бацилл сем. Bacillaceae было $<2\%$ ($1.46 \pm 0.41\%$). Выявленный состав микробного сообщества в рубце бычков характеризовал процессы пищеварения в этом отделе желудочно-кишечного тракта, которые соответствовали физиологическому состоянию молодых животных, перешедших с молочной на растительную диету: расщепление клетчатки и крахмала кормов связано с массовым развитием бактерий сем. Lachnospiraceae, филума Bacteroidetes, сем. Ruminoceae, сем. Thermoanaerobacteriaceae, обладающих целлюлолитической и амилолитической активностями. Ферментация сложных и простых углеводов была обеспечена также совокупной жизнедеятельностью представителей семейств Clostridiaceae, Eubacteriaceae, Veillonellaceae и других присутствующих в рубце бактерий (Dehority, Grubb, 1981). Попадание в рубец опытных животных клеток *B. subtilis* вызвало незначительное увеличение доли Bacillaceae (до $2.8 \pm 0.3\%$). Однако на порядок выросла численность Thermoanaerobacteriaceae, Peptostreptococcaceae, Alicyclobacillaceae. В 2 раза увеличилась численность Pseudomonadaceae, Burkholderiaceae, некультивируемых Bacteroidetes. В целом повысились показатели эффективности пищеварения: увеличилось на 35% общее количество рубцовых бактерий и простейших (численность бактерий увеличилась на 30%, простейших – на 40%), на 10.7% вырос синтез летучих жирных кислот. Изучение корреляционных связей представителей рубцового микробного сообщества с пищеварением, ростом и развитием животных выявило избирательную стимуляцию введенными бациллами тех групп и отдельных представителей, которые имели положительные коэффициенты корреляции с обсуждаемыми процессами. Произошла направленная перестройка микробной экосистемы рубца в сторону повышения положительного влияния на пищеварение и продуктивность хозяина.

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Один из путей повышения эффективности пробиотиков – сочетание эффекта пробиотической коррекции и стимуляции микробного сообщества с действием добавленных биологически активных веществ. Усилить эффективность действия пробиотического препарата можно введением сорбентов, фитобиотиков, пребиотиков, к числу которых относятся хитин и хитозан.

Особенности структуры и физико-химических свойств хитина и различных фракций хитозана вызвали в последние годы значительный интерес к этим природным полимерам. Сегодня известно >200 областей применения хитина и хитозана, в том числе в медицине, ветеринарии. Хитозан нормализует микробиоту кишечника, сорбирует и выводит токсины, выравнивает кислотность, повышает усвояемость корма, способствует увеличению привесов молодняка и повышению продуктивности взрослых животных. Хитозан – эффективный пребиотик, который подавляет рост и развитие патогенных бактерий и грибов в кишечнике (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Fusarium oxisporum*) и препятствует появлению дисбактериоза, обычно сопровождающего микотоксикозы (<http://ej.kubagro.ru/2011/09/pdf/31.pdf>). В то же время введение в пищу хитозана и его производных (сукцинат хитозана, аскорбат хитозана, лактат хитозана и др.) стимулирует интенсивность размножения и рост колоний *Bifidobacterium bifidum* и некоторых видов рода *Lactobacillus* (*L. brevis*, *L. casei*, *L. acidophilus*) (Абакумова, 2007).

Включение в рацион молодняка крупного рогатого скота комплекса сукцината хитозана с пробиотическим препаратом Проваген способствует повышению среднесуточного привеса телят, положительно влияет на клинические и биохимические показатели крови (Крапивина и др., 2012). Аналогичное действие оказывает применение белкового гидролизата из отходов креветки в комплексе с пробиотическим препаратом Муцинол при откорме молодняка свиней (Буханцев, 2012).

Потенциальные источники хитина многообразны и широко распространены в природе (Скрябин и др., 2002). Наиболее доступным для промышленного освоения и масштабным источником получения хитина являются панцири промысловых ракообразных. Возможно также использование гладиуса (скелетной пластинки) кальмаров, сепиона каракатицы, биомассы мицелиарных и высших грибов. Значительную биомас-

су, содержащую хитин в кутикуле, могут обеспечить насекомые (тутовый шелкопряд, медоносные пчелы и мухи) вследствие их быстрого воспроизводства. Кутикулу насекомых можно рассматривать как источник различных биологически активных веществ с возможностью выделения хитина в отдельном виде или в виде комплексов (Tellam, Eisemann, 2000; Немцев и др., 2004; Останина, 2007). Известно, что в кутикуле взрослых насекомых хитин (до 30–50%) ковалентно связан с белками типа артраподина и склеротина, а также с меланиновыми соединениями, которые могут составлять до 40% массы кутикулы.

При культивировании *L. acidophilus*, *Bifidobacterium adolescentis* на питательной среде с добавлением стерилизованных сухих личинок *Hermetia illucens*, кутикула которых может содержать до 30% хитина, был отмечен активный рост лакто- и бифидобактерий. Такой же эффект наблюдался и в отношении бактерий *B. subtilis* 497 и *B. subtilis* БИМ В-713, основы пробиотика Споробакт, предназначенного для повышения усвояемости кормов и активизации процессов метаболизма у сельскохозяйственных животных и птицы (Сверчкова и др., 2013). Это свидетельствует о наличии в биомассе насекомого биологически активных веществ, вероятно, хитиновой природы, стимулирующих развитие полезных культур бактерий, и перспективности их комбинирования с пробиотическими препаратами.

Современные технологии позволяют углубленно изучить механизмы воздействия различных факторов на организм хозяина и его симбионтов, оценить характер межмикробных отношений, в том числе внутри кишечной экосистемы, например при поступлении в организм массы посторонних бактерий в составе биологически активных пробиотических препаратов. При этом стала возможна направленная коррекция микробной экосистемы хозяина, следствием которой является закономерное изменение его состояния. Способ влияния на эффективность симбионтного пищеварения – применение комплексных синбиотических препаратов, в которых пробиотики и их метаболиты сочетаются с пребиотиками. Большой теоретический и практический интерес представляет использование биологически активных компонентов насекомых, в том числе хитина кутикулы и хитозана в качестве пребиотика.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (ГК № 14.М04.12.0005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абакумова Е.А.* Разработка технологии функциональных кисломолочных напитков с олигосахаридами хитозана: Автореф. дис. канд. техн. наук. Ставрополь: ГОУ ВПО СевКавГТУ, 2007. 23 с.
- Буханцев О.В.* Технология получения биологически активных веществ из отходов переработки креветки и применение их в животноводстве: Автореф. дис. канд. биол. наук. Щелково: ВНИТИБП, 2012. 27 с.
- Гриневич В.Б., Захаренко С.М., Осипов Г.А.* Принципы коррекции дисбиозов кишечника // Лечащий врач. М.: Открытые системы, 2008. № 6. С. 6–10.
- Крапивина Е.В., Иванов Д.В., Феськов А.И., Фролова М.А., Албулов А.И., Буханцев О.В.* Влияние выпаивания телятам разных доз пробиотика “Проваген” и комплекса этого пробиотика с хитозаном на микробицидную активность нейтрофилов крови // Науч. журн. КубГАУ. 2012. № 02(076). С. 623–633.
- Курилов Н.В., Грызлова О.Н., Лищенко В.Ф.* Роль микроорганизмов в питании жвачных (обзор литературы). М.: Колос, 1968. 132 с.
- Михалюк А.Н., Каврус М.А., Андрейчик Е.А., Дубинич М.В., Коломиец Э.И., Сверчкова Н.В.* Эффективность использования спорового пробиотического препарата в условиях СПК “Щучинагропродукт” Щучинского района Гродненской области // Сельское хозяйство — проблемы и перспективы: сб. науч. тр. Гродно: Ветеринария, 2013. Т. 20. С. 189–196.
- Наумова Е.И.* Функциональная морфология пищеварительной системы грызунов и зайцеобразных. М.: Наука, 1981. 262 с.
- Немцев С.В., Зуева О.Ю., Хисматуллин М.Р., Албулов А.И., Варламов В.П.* Получение хитина и хитозана из медоносных пчел // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 1. С. 46–50.
- Останина Е.С.* Технология переработки восковой моли, изучение противотуберкулезных свойств хитозана и взаимодействия с липолитическими ферментами: Автореф. дис. канд. биол. наук. Щелково: ВНИТИБП, 2007. 26 с.
- Парфенов А.И., Бондаренко В.М.* Что нам дал вековой опыт познания симбионтной кишечной микрофлоры? // Терапев. архив. 2012. № 83 (2). С. 5–10.
- Сверчкова Н.В., Заславская Н.С., Романовская Т.В., Коломиец Э.И.* Подходы к созданию пробиотических препаратов для кормопроизводства // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. Института микробиологии НАН Беларуси / Под ред. Коломиец Э.И., Лобанка А.Г. Минск: Беларус. навука, 2013. Т. 5. С. 323–331.
- Скрябин К.Г., Вихорева Г.А., Варламов В.П.* Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. М.: Наука, 2002. 360 с.
- Ушакова Н.А., Лактионов К.С., Козлова А.А., Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н.* Особенности воздействия комплексного пробиотика, содержащего целлюлолитические бактерии рода *Cellulomonas*, на активно растущих кроликов // Изв. РАН. Сер. биол. 2013а. № 3. С. 292–298.
- Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Мелешко Н.А., Лантев Г.Ю., Ильина Л.А., Козлова А.А., Нифатов А.В.* Влияние *Bacillus subtilis* на микробное сообщество рубца и его членов, имеющих высокие коэффициенты корреляции с показателями пищеварения, роста и развития хозяина // Микробиология. 2013б. Т. 82. № 4. С. 456–463.
- Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г., Кравицова Л.З., Бобровская О.И., Павлов Д.С.* Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фундам. исследования. 2012. № 1. С. 184–192.
- Чернин В.В., Бондаренко В.М., Парфенов А.И.* Участие просветной и мукозной микробиоты кишечника человека в симбионтном пищеварении // Бюл. Оренбург. науч. центра УрО РАН (электрон. журн.). 2013а. № 4.
- Чернин В.В., Парфенов А.И., Бондаренко В.М., Рыбальченко О.В., Червинец В.М.* Симбионтное пищеварение человека. Физиология, клиника, диагностика и лечение его нарушений. Тверь: Триада, 2013б. 232 с.
- Шендеров Б.А.* Медицинская микробная экология и функциональное питание. М.: Грантъ, 1998. Т. 1. 288 с.
- Шендеров Б.А., Манвелова М.А.* Функциональное питание и пробиотики: микрoэкологические аспекты М.: Грантъ, 1997. 226 с.
- Andrieux C., Gadelle D., Leprince C., Sacquet E.* Effects of some poorly digestible carbohydrates on bile acid bacterial transformations in the rat // Br. J. Nutr. 1989. V. 62. P. 103–119.
- Campbell J.M., Fahey G.C., Wolf B.W.* Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats // J. Nutr. 1997. V. 127. P. 130–136.
- Dehority B.A., Grubb J.* Bacterial population adherent to the epithelium of the roof of the dorsal rumen in sheep // Environ. Microbiol. 1981. V. 41. № 6. P. 1424–1427.
- Demigne C., Jacobs H., Moundras C., Davicco M.J.* Comparison of native or reformulated chicory fructans, or non-purified chicory, on rat cecal fermentation and mineral metabolism // Eur. J. Nutr. 2008. V. 47. P. 366–374.
- De Preter V., Hamer H.M., Windey K., Verbeke K.* The impact of pre- and/or probiotics on human colonic metabolism: Does it affect human health? // Mol. Nutr. Food Res. 2011. V. 55. № 1. P. 46–57.
- Flickinger E.A., Schreijen E.M., Patil A.R., Hussein H.S.* Nutrient digestibilities, microbial populations, and protein catabolites as affected by fructan supplementation of dog diets // J. Anim. Sci. 2003. V. 81. P. 2008–2018.
- Frankel W.L., Zhang W., Singh A., Klurfeld D.M.* Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the

- rat jejunum and colon // *Gastroenterology*. 1994. V. 106. P. 375–380.
- Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota – introducing the concept of prebiotics // *J. Nutr.* 1995. V. 5. P. 1401–1412.
- Gibson G.R., Probert H.M., Van Loo J., Rastall R.A. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics // *Nutr. Res. Rev.* 2004. V. 17. P. 259–275.
- Goldin B.R. Intestinal microflora – metabolism of drugs and carcinogens // *Ann. Med.* 1990. V. 22. P. 43–48.
- Haberer P., du Toit M., Dicks L.M.T., Ahrens F. Effect of potentially probiotic lactobacilli on faecal enzyme activity in minipigs on a high-fat, high-cholesterol diet – a preliminary *in vivo* trial // *Int. J. Food Microbiol.* 2003. V. 87. P. 287–291.
- Hamer H.M., Jonkers D., Venema K., Vanhoutvin S. Review article: the role of butyrate on colonic function // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008. V. 27. P. 104–119.
- Heijnen M.L.A., Beynen A.C. Consumption of retrograded (RS3) but not uncooked (RS2) resistant starch shifts nitrogen excretion from urine to feces in cannulated piglets // *J. Nutr.* 1997. V. 127. P. 1828–1832.
- Herot D.C., Boileau T.W., Bauer L.L., Middelbos I.S. *In vitro* fermentation profiles, gas production rates, and microbiota modulation as affected by certain fructans, galactooligosaccharides, and polydextrose // *J. Agric. Food Chem.* 2009. V. 57. P. 1354–1361.
- Kleessen B., Hartmann L., Blaut M. Fructans in the diet cause alterations of intestinal mucosal architecture, released mucins and mucosa-associated bifidobacteria in gnotobiotic rats // *Br. J. Nutr.* 2003. V. 89. P. 597–606.
- Macfarlane G.T., Allison C., Gibson G.R. Effect of Ph on protease activities in the large-intestine // *Lett. Appl. Microbiol.* 1988. V. 7. P. 161–164.
- Macfarlane G.T., Gibson G.R., Cummings J.H. Comparison of Fermentation reactions in different regions of the human colon // *Appl. Bacteriol.* 1992. V. 72. P. 57–64.
- McGarr S.E., Ridlon J.M., Hylemon P.B. Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer: a review of the literature // *J. Clin. Gastroenterol.* 2005. V. 39. P. 98–109.
- Meimandipour A., Shuhaimi M., Hair-Bejo M., Azhar K. *In vitro* fermentation of broiler cecal content: the role of lactobacilli and pH value on the composition of microbiota and end products fermentation // *Lett. Appl. Microbiol.* 2009. V. 49. P. 415–420.
- Nekrasov R.V., Chabaev M.G., Anisova N.I., Kravtsova L.Z., Ushakova N.A. The efficiency of a novel symbiotic supplement in a pig diet // EAAP-2014. 65th annual meeting of the European Federation of Animal Science. Copenhagen; Denmark: Wageningen, 2014. P. 300.
- Ohta A., Motohashi Y., Ohtsuki M., Hirayama M. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats // *J. Nutr.* 1998. V. 128. P. 934–939.
- Pearson J.R., Gill C.I., Rowland I.R. Diet, fecal water, and colon cancer – development of a biomarker // *Nutr. Rev.* 2009. V. 67. P. 509–526.
- Priebe M.G., Vonk R.J., Sun X., He T. The physiology of colonic metabolism. Possibilities for interventions with pre- and probiotics // *Eur. J. Nutr.* 2002. V. 41. P. 12–110.
- Propst E.L., Flickinger E.A., Bauer L.L., Merchen N.R. A dose-response experiment evaluating the effects of oligofructose and inulin on nutrient digestibility, stool quality, and fecal protein catabolites in healthy adult dogs // *J. Anim. Sci.* 2003. V. 81. P. 3057–3066.
- Rastall R.A. Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance // *J. Nutr.* 2004. V. 134. P. 2022S–2026S.
- Rehman H., Bohm J., Zentek J. Effects of differentially fermentable carbohydrates on the microbial fermentation profile of the gastrointestinal tract of broilers // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2008. V. 92. P. 471–480.
- Sakata T., Kojima T., Fujieda M., Takahashi M. Influences of probiotic bacteria on organic acid production by pig caecal bacteria *in vitro* // *Proc. Nutr. Soc.* 2003. V. 62. P. 73–80.
- Scheppach W., Luehrs H., Menzel T. Beneficial health effects of low-digestible carbohydrate consumption // *Br. J. Nutr.* 2001. V. 85. P. S23–S30.
- Tellam R.L., Eisemann G. Chitin is only a minor component of the peritrophic matrix from larvae of *Lucilia cuprina* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2000. V. 30. № 12. P. 1189–1201.
- Topping D.L., Clifton P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non-starch polysaccharides // *Physiol. Rev.* 2001. V. 81. P. 1031–1064.
- Topping D.L., Fukushima M., Bird A.R. Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art // *Proc. Nutr. Soc.* 2003. V. 62. P. 171–176.
- Van Craeyveld V., Swennen K., Dornez E., Van de Wiele T. Structurally different wheat-derived arabinoxylooligosaccharides have different prebiotic and fermentation properties in rats // *J. Nutr.* 2008. V. 138. P. 2348–2355.
- Van Loo J. The specificity of the interaction with intestinal bacterial fermentation by prebiotics determines their physiological efficacy // *Nutr. Res. Rev.* 2004. V. 17. P. 89–98.
- Wang Y., Zeng T., Wang S.E., Wang W. Fructo-oligosaccharides enhance the mineral absorption and counteract the adverse effects of phytic acid in mice // *Nutrition*. 2010. V. 26. P. 305–311.
- Zampa A., Silvi S., Fabiani R., Morozzi G. Effects of different digestible carbohydrates on bile acid metabolism and SCFA production by human gut micro-flora grown in an *in vitro* semi-continuous culture // *Anaerobe*. 2004. V. 10. P. 19–26.

Mechanisms of the Effects of Probiotics on Symbiotic Digestion

N. A. Ushakova^a, R. V. Nekrasov^b, I. V. Pravdin^c, N. V. Sverchkova^d, E. I. Kolomiyets^d, and D. S. Pavlov^a

^a *Severtsov Institute of Problems of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences,
Leninskii pr. 33, Moscow, 119071 Russia*

^b *Academician Ernst All-Russia Research Institute of Animal Husbandry,
Dubrovitsy 60, Podolsk raion, Moscow oblast, 142132 Russia*

^c *Research Center for Biotechnologies in Agriculture, ul. Dokuchaeva 2, Shebekino, Belgorod oblast, 309292 Russia*

^d *Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, ul. Kuprevicha 2, Minsk, 20141 Belarus
e-mail: naushakova@gmail.com*

The published data and our own data on the mechanisms of the influence of microbial probiotics, prebiotics, and their combinations on the processes of symbiotic digestion have been considered and generalized. It is shown that the effects on an organism are associated with the enhanced metabolic activity of intestinal bacteria: stimulation of bacterial fermentation of carbohydrates and formation of short-chained fatty acids, an increase in the blotting capacity of the intestines due to elongation of villi and deepening of crypts, and a decrease in secretion of toxic proteolytic products (ammonia, phenols, thiols, indoles, etc.). It has been shown that a combination of probiotics and prebiotics enhances the biological efficiency of a complex preparation, which contributes to activation of carbohydrate, protein, and mineral metabolism.