

УДК 616.344-002-031.84:612.08

Д.С. Солейко

# Використання моделей *ex vivo*, *in vitro*, мікрофлюїдних пристроїв, технологій тканинної інженерії, визначення їхньої етико-деонтологічної складової в експериментальних дослідженнях хвороби Крона та інших запальних захворювань кишечника

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, Україна

Paediatric Surgery (Ukraine). 2025. 4(89): 109-122. doi: 10.15574/PS.2025.4(89).109122

**For citation:** Soleiko DS. (2025). The use of *ex vivo*, *in vitro* models, microfluidic devices, tissue engineering technologies, the determination of their ethical and deontological components in experimental studies of Crohn's disease and other inflammatory bowel diseases. Paediatric Surgery (Ukraine). 4(89): 109-122. doi: 10.15574/PS.2025.4(89).109122.

Експериментальні дослідження актуальних питань хвороби Крона (ХК) та інших запальних захворювань кишечника (ЗЗК) обумовлені підвищенням рівня захворюваності, наявністю нез'ясованих етіологічних факторів, багатьох ланок патогенезу, відсутністю ефективного комплексного лікування, профілактичних заходів виникнення захворювань і попередження їхніх хірургічних ускладнень.

**Мета** – визначити технологічну ефективність, відповідність етико-деонтологічним вимогам, практичне значення, специфічність, результативність і перспективність використання моделей *ex vivo*, *in vitro*, мікрофлюїдних пристроїв, технологій тканинної інженерії в експериментальних дослідженнях актуальних питань ХК та інших ЗЗК.

Різноманітні дослідження *in vivo* мають певні фізіологічні, етичні і трансляційні обмеження, що змушує науковців до здійснення нових методів експериментального пошуку, спираючись на розвиток сучасних технологій. За результатами наукового пошуку охарактеризовано моделі *ex vivo*, *in vitro*, висвітлено використання мікрофлюїдних пристроїв, технологій тканинної інженерії, наведено основні положення та проблемні питання етико-деонтологічної складової експериментальних досліджень хвороби Крона та інших ЗЗК. Наведені переваги, недоліки та практичне значення експериментальних систем.

**Висновки.** Використання моделей *in vitro* та *ex vivo* дає змогу відтворювати і досліджувати фізіологічні, патологічні процеси з високим рівнем специфічності. Застосування технологій тканинної інженерії та мікрофлюїдики дає можливість зменшити кількість піддослідних тварин. Використання людських біологічних зразків потребує суворого дотримання етико-деонтологічних та юридично-правових норм. Впровадження мікрофлюїдних пристроїв і роботизованих платформ забезпечує високу результативність у розробленні методів таргетної терапії, визначенні й прогнозуванні лікувального ефекту медичних препаратів, дослідженні фізіологічних і патологічних процесів при ХК та інших ЗЗК. Інтеграція мікрофлюїдних систем зі штучним інтелектом і роботизованими платформами, використання біологічних гідрогелів і технології 3D-біодруку сприятимуть створенню мультиорганних мереж для відносно тривалих експериментальних досліджень ЗЗК, реєстрації та аналізу їхніх результатів без порушення цілісності експериментальної системи.

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** хвороба Крона, запальні захворювання кишечника, експериментальні дослідження, мікрофлюїдика, моделі *ex vivo*, моделі *in vitro*, тканинна інженерія, деонтологія, етика.

## Reviews

**The use of *ex vivo*, *in vitro* models, microfluidic devices, tissue engineering technologies, the determination of their ethical and deontological components in experimental studies of Crohn's disease and other inflammatory bowel diseases****D.S. Soleiko***National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine*

Experimental studies of current issues of Crohn's disease (CD) and other inflammatory bowel diseases (IBD) are due to the increase in morbidity, the presence of unclear etiological factors, many links in pathogenesis, the lack of effective comprehensive treatment, preventive measures for the occurrence of diseases and the prevention of its surgical complications.

**Aim** – to determine the technological efficiency, compliance with ethical and deontological requirements, practical significance, specificity, effectiveness and prospects for using *ex vivo*, *in vitro* models, microfluidic devices, tissue engineering technologies (TET) in experimental studies of current issues of CD and other IBD.

Various *in vivo* studies have certain physiological, ethical and translational limitations, which forces scientists to implement new methods of experimental search, relying on the development of modern technologies. According to the results of scientific literature search, *ex vivo*, *in vitro* models are characterized, the use of microfluidic devices and TET is highlighted, the main provisions and problematic issues of the ethical and deontological component of experimental studies of Crohn's disease and other IBD are given. The advantages, disadvantages, and practical significance of experimental systems are presented.

**Conclusions.** The use of *in vitro* and *ex vivo* models provides the opportunity to reproduce and study physiological, pathological processes with a high level of specificity. The use of TET and microfluidics technologies allows to reduce the number of experimental animals. The use of human biological samples requires strict adherence to ethical, deontological and legal norms. The introduction of microfluidic devices and robotic platforms ensures high efficiency in the development of targeted therapy methods, determination and prediction of the therapeutic effect of medical drugs, research of physiological and pathological processes in Crohn's disease and other IBD. The integration of microfluidic systems with artificial intelligence and robotic platforms, the use of biological hydrogels and 3D-bioprinting technology allows the creation of multi-organ networks for relatively long-term experimental studies of IBD, registration and analysis of their results without violating the integrity of the experimental system.

The author declares that there is no conflict of interest.

**Keywords:** Crohn's disease, inflammatory bowel diseases, experimental studies, microfluidics, *ex vivo* models, *in vitro* models, tissue engineering, deontology, ethics.

Питома вага хронічних неінфекційних захворювань у структурі летальності у світі становить 74% [46]. Хвороба Крона (ХК) є неспецифічним гранулематозним запаленням шлунково-кишкового тракту. Хронічний рецидивний перебіг ХК суттєво збільшує ризик розвитку в пацієнтів кишкової малігнізації. Належить до групи запальних захворювань кишечника (ЗЗК), яким притаманні хірургічні ускладнення (кровотечі, кишкова непрохідність, нориці, перфорації, стриктури, септичний стан) і позакишкові прояви (ураження тканин ділянки ока, печінки, суглобів, шкірних покривів). Причини ХК, як і переважної більшості інших ЗЗК, не визначені, а його індукція є наслідком поєднання багатьох факторів різного генезу. Патогенез і патофізіологія ЗЗК багатокомпонентні, складні та остаточно не досліджені. Збільшення кількості хворих на ЗЗК є загальносвітовою тенденцією і в сукупності із викладеними проблемними маркерами обумовлює актуальність продовження наукового пошуку.

**Мета** дослідження – визначити технологічну ефективність, відповідність етико-деонтологічним вимогам, практичне значення, специфічність, результативність і перспективність використання моделей *ex vivo*, *in vitro*, мікрофлюїдних пристроїв,

технологій тканинної інженерії (ТІ) в експериментальних дослідженнях актуальних питань ХК та інших ЗЗК.

Невід'ємною частиною наукових досліджень у біології та медицині є експериментальний етап. Дослідження із використанням різних біологічних видів *in vivo* є необхідними та результативними. Перевагами таких експериментів є максимально наближене за адресними ознаками до людського організму середовище, можливість дослідження протягом тривалого часового проміжку, моделювання умов хронічного патологічного процесу, визначення та фіксація системних відповідей, ефектів інших органів і систем досліджуваного біологічного виду. Певні видові, технічні недоліки та етичні обмеження, локація умовного експериментального простору моделей *in vivo* на тканино-органному рівні лімітують їх використання [39]. Передусім це стосується обмеженої здатності визначення прогнозу клінічної ефективності діагностично-лікувальних засобів, наслідків і можливих ускладнень захворювань у людей. Дослідження *ex vivo* та *in vitro* є фундаментальним розділом ТІ – міждисциплінарної наукової галузі, розділу регенеративної медицини, у який імплементовані біологія, інженерія, медици-

на, фізика і хімічні науки. Перспективність, результативність і безпечно впровадження ТІ в клінічних дослідженнях полягає в міждисциплінарній взаємодії науковців, фахівців відповідних інженерних спеціальностей, клінічних працівників, у їхній фаховій орієнтації, у відповідних експертних теоретичних знаннях, практичних дослідницьких навичках, взаємному обміні знаннями [11,32].

Завданням ТІ є створення біологічних заміників органів і тканин, мультиорганних тест-систем *ex vivo* для наукових досліджень у біологічних і медичних галузях, таких як фармакокінетика, для визначення транспортування ліків [34]. ТІ також відтворює живі біологічні тканини, використовуючи клітини (наприклад, стовбурові), молекули та інші біологічні структури. Процес відбувається в умовах лабораторії (*in vitro*) або в людському організмі [8]. Біологічні експериментальні моделі *ex vivo* та *in vitro* дають змогу проводити дослідження на рівні органел і клітин, моделювати природне середовище, яке оточує органели/клітини, із визначеними необхідними параметрами, здійснювати адресний моніторинг, визначати та фіксувати прижиттєві експериментальні зміни під час досліджень *in situ*.

Комбінування в експериментальних дослідженнях технологій мікрофлюїдики, клітинної біології та електроніки дало змогу вийти на принципово новий рівень моделей *ex vivo* та *in vitro*, який виключає безпосередню участь представників біологічних видів. Мікрофлюїдика виникла на початку 80-х років ХХ сторіччя як міждисциплінарний простір взаємодії молекулярної біології, молекулярного аналізу та мікроелектроніки. Мікрофлюїдна система – це компактна камера з мікроканалами, у яких створюється потік певної рідини. Розміри мікроканалів вимірюються в мікрометрах, а кількість рідини – у мікролітрах. Мікрофлюїдні моделі *in vitro* та *ex vivo* ефективні в дослідженнях біологічних процесів людського організму на рівні клітин, органел і молекулярних комплексів. Можливість здійснення тривимірного аналізу морфологічних характеристик кишкового епітелію без припинення експерименту є гарним прикладом перспективності та ефективності використання мікрофлюїдних технік. Практичне значення мікрофлюїдних пристроїв полягає в можливості опрацювання як невеликої кількості зразків, так і достатньо значної, у невеликій потребі в реактивах і необхідних хімічних речовинах, тривалому зберіганні зразків. Мікрофлюїдним системам притаманна мінімальна інвазивність, компактність, точність і швидкість порівняно з традиційною апаратурою. Зазначені технології

активно поєднують зі штучним інтелектом, використовують в експериментальних дослідженнях, діагностичних і лікувальних приладах у практичній медицині [14].

#### **Етико-деонтологічна складова експериментальних досліджень *ex vivo* та *in vitro***

Дослідження з використанням моделей *ex vivo* та *in vitro* не мають подібних до експериментів *in vivo* етичних і деонтологічних обмежень – вони інші. Проте дискусія про етико-деонтологічні вимоги до експериментів *ex vivo*, *in vitro* триває і вимагає залучення фахівців з етики та суспільних наук. Дослідження і визначення питань етичного характеру має конструктивну і критичну складові. Вони полягають у визначенні найкращих практичних положень, базуються на соціальних науках і філософії використання технологій [18]. Паралельне дослідження етики характеризується конструктивною, а не суто критичною перспективою, зосереджується на розробленні найкращих практик і спирається на ідеї соціальних наук, концепції застосування технологічної складової в експериментальних дослідженнях. Детальний аналіз висвітлює багатогранність питання етико-деонтологічної складової в зазначених групах досліджень ТІ. Науковцями визначені етичні наслідки та регенеративні цілі на всіх етапах досліджень – від лабораторного до клінічного [1].

Фази розвитку досліджень:

- 1) добробут піддослідної тварини,
- 2) належне поводження з досліджуваними людськими тканинами,
- 3) інформована згода пацієнта на власну участь у дослідженні,
- 4) очікуваний терапевтичний потенціал і практичний результат дослідження,
- 5) безпека і можливі ризики дослідження,
- 6) перехід до клінічної фази дослідження,
- 7) прогнозований соціальний вплив дослідження.

Загальні етичні питання:

- 1) наукова добросесність виконання дослідження і висвітлення його результатів,
- 2) механізми, інструменти, принципи регулювання дослідження,
- 3) залучення пацієнтів і громадськості до участі у відповідних етапах досліджень.

В експериментальних дослідженнях *in vivo* науковці мають дотримуватися чіткого балансу між науковою потребою і відповідністю створюваних моделей до визначених завдань [9]. Стратегія повного або часткового виключення біологічних видів з експериментального пошуку і доклінічних досліджень має забезпечуватися використанням техно-

## Reviews

логії культивування тканин *ex vivo*, моделі органа на чіпі, дослідженням хоріоалантоїсної мембрани, досліджень *in vitro* – СК34 (візуалізація даних та їхній інтелектуальний аналіз), застосуванням децелюляризованої тканини (видалення з тканини шляхом спеціальної обробки клітинних компонентів зі збереженням або мінімізацією втрати тканинних і/або органоспецифічних властивостей позаклітинного матриксу з можливістю збереження судинних, нейронних мереж та архітектури), органодів, досліджень *in silico* (комп'ютерне моделювання та симуляція) [35,36,40]. Інші механізми полягають у безперервному моніторингу стану кожного піддослідного біологічного об'єкта, дослідженні одразу декількох видів біологічного матеріалу на одній тварині, створенні однієї великої біологічної моделі замість чисельного моделювання на мілких тваринах, невикористанні домашніх тварин і приматів, не подібних до людини, удосконаленні та проведенні самих експериментів для зменшення/уникнення страждань [2,28]. Принципи проведення експериментів із залученням біологічних видів полягають у заміні, зменшенні, вдосконаленні. Має бути визначена прогностична цінність і відповідність тваринної моделі патологічного процесу для людського організму. У використанні компонентів клітинних каркасів і тканинних культур перевага має надаватися зразкам не тваринного і не людського походження, а синтетичним штучним каркасам. Методи взяття зразків тканин на дослідження мають бути безболісними і безпечними для донора, що забезпечується використанням неінвазивних біопсійних технологій. Біопсія, використання і зберігання зразків тканин здійснюються виключно за згоди донора/його опікунів [6]. Пацієнт має отримувати всебічну інформаційну підтримку. З різних етичних, моральних, хибних прогностичних та інших причин, невизначеності можливих негативних наслідків і ризиків для донора, наявності терапевтичної помилки, згода може бути оскаржена в порядку, визначеному відповідними положеннями чинного законодавства. Перед взяттям, використанням і зберіганням біологічних зразків донор має бути поінформований про мету їхнього майбутнього використання і наявність можливих його фінансових інтересів або сторони, яка здійснює дослідження. Має бути дотримана конфіденційність особистої інформації особи. Інформація має бути анонімною. Актуальним і дискусійним питанням залишається визначення чітких правових умов створення біобанків будь-якої форми та права власності, необхідності патентування продуктів ТІ [8,11].

Слід зазначити, що комерціалізація використання людських тканин в експериментальних дослідженнях не сприяє дотриманню принципів альтруїстичного добровільного донорства та збільшує можливі ризики корисної експлуатації самих донорів [10].

«Терапевтична обіцянка» в клінічних дослідженнях за участі добровольців полягає в забезпеченні лікування захворювань, які не мають альтернативних ефективних і/або безпечних методів корегування, можуть стати альтернативою трансплантації донорських органів і зменшують/усувають необхідність імуносупресії. Кінцевий результат має бути спрямований на поліпшення загального стану та життя хворого [17].

Використання регенеративних методів ТІ має враховувати фактори імуногенності, мутагенезу, онкогенності, цитотоксичності, динамічної взаємодії з межуючими тканинами людського організму, мінливості та незворотності індукованих змін. Відповідні заходи безпеки не повинні бути надмірно обтяжливими, їхнім завданням є забезпечення мінімізації можливих ризиків, пропорційності очікуваної користі для окремого пацієнта і суспільства в цілому. Спостереження і визначення стану учасника дослідження має бути тривалим, систематичним і всебічним. Хворий має бути ознайомлений з усіма результатами обстеження [41].

На першому етапі клінічних випробувань залучають хворих із середнім ступенем тяжкості або термінальною стадією захворювання. Мають констатуватись об'єктивні, суб'єктивні, кінцеві маркери та результати, загальна виживаність у досліджуваній групі [15].

Висвітлення доведених результатів клінічних досліджень має бути всебічним та об'єктивним. Це забезпечує відсутність упередження до запропонованих інноваційних методів обстеження, лікування та їхню відтворюваність. Дослідники мають усвідомлювати етичні та соціальні наслідки проведеної наукової роботи [8].

### Моделі *in vitro*

Експериментальні дослідження *in vitro* – дослідження біологічного матеріалу в лабораторних умовах (у перекладі з латинської – «у склі»).

#### Епітеліальні клітинні лінії

8 лютого 1951 року американський клітинний біолог Джордж Отто Гей (George Otto Gey) отримав клітини раку шийки матки від 31-річної афроамериканки Генрієти Лекс (Henrietta Lacks), яка невдовзі померла від зазначеного онкологічного захворювання. Це поклало початок першій іморталізованій (безсмертній) лінії людських клітин HeLa [3].

У подальшому з ізолятів людських або тваринних клітин були культивовані інші іморталізовані клітинні лінії: Vero, LS174T, Caco2, HEK293, SW480, Jurkat, MUTZ-3, HT29, 3T3, OK, Ptk2, Huh7, A549, T84 та ін. Сутність іморталізованих клітинних ліній полягає в здатності культивування ізольованих клітин *In vitro* протягом тривалого часу завдяки мутаціям, які нівелюють процес старіння [25].

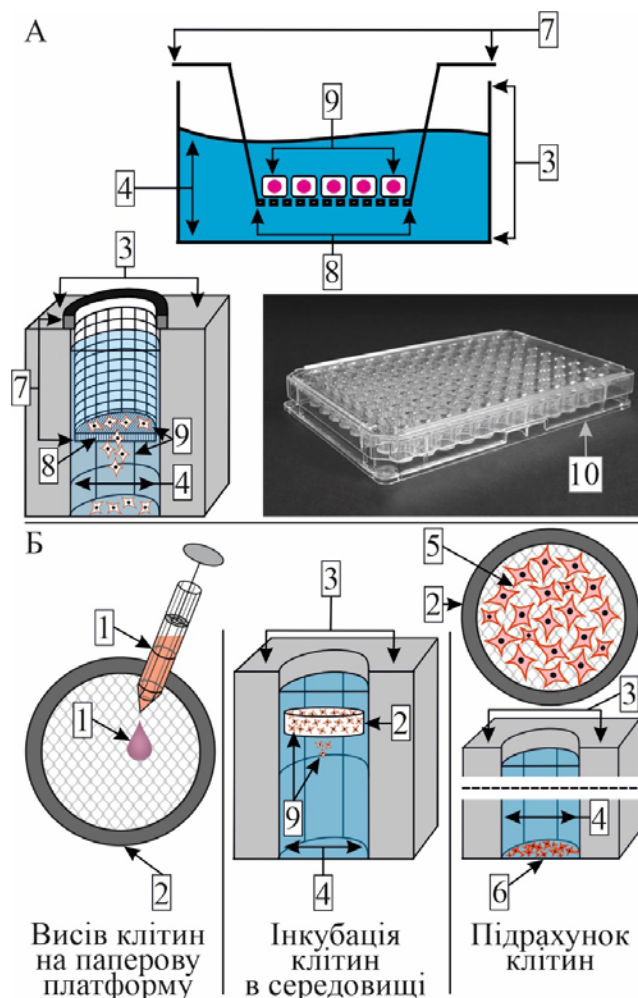
Клітини іморталізованих ліній використовуються для відтворення моделей злоякісних клітин і створення моделей структурних елементів тканин людського організму. Наприклад, клітини Caco2 здатні диференціюватися в клітини кишкового епітелію людини. Утворюючи суцільний клітинний шар, вони експресують відповідні білки та гени, притаманні кишечнику людини [25]. Субклональні клітини HT-29-MTX, HT-29-H використовуються для дослідження проникності та абсорбції медичних препаратів завдяки здатності продукувати слиз. Епітеліальні іморталізовані клітинні лінії дали змогу відкрити чотири нові рецептори людського кишечника, визначити протизапальний ефект бактерій роду *Lactobacillus*, захисні та відновлювальні властивості пробіотичних бактеріальних штамів [33].

Моделі кишкових клітин тваринного походження використовуються для дослідження взаємодії людського кишечника та його мікробіому, процесів розвитку кишечника в неонатальному періоді [33].

Недоліками клітинних ліній є те, що вони відрізняються від клітин, отриманих шляхом біопсії. Наприклад, у клітинах лінії Caco-2 це стосується процесів біосинтезу білків щільного сполучення, ферментативних і транспортних сполук, неможливості продукування слизового секрету. Клітини лінії HT-29 характеризуються наявністю бар'єра підвищеної герметичності та порушенням процесів глікогенезу, гліколізу. HT-29 утворюють герметичний бар'єр і мають порушений метаболізм глюкози [21]. Такі фактори, як різноманітність клітинних ліній, що мають походження з новоутворень, неоднакові умови культивування, є причиною утворення субклональних ліній, відсутності експериментальної ідентичності при відтворенні та моделюванні різних експериментальних моделей у різних дослідницьких центрах [30].

#### Метод аналізів клітинної міграції та інвазії Transwell

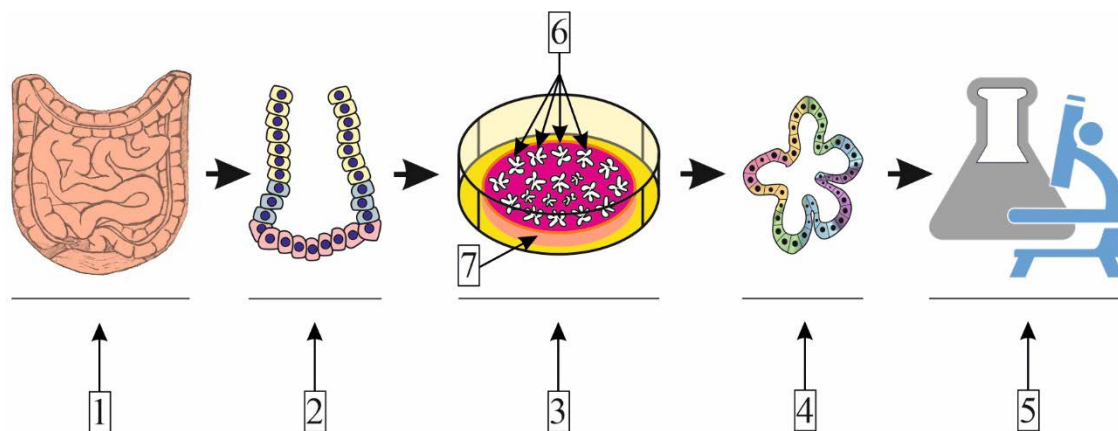
Метод передбачає використання двох заповнених поживним середовищем камер, розділених пористою мембраною з наявністю матриксу або без нього. У верхній камері розташовують клітини, а в нижній – хемотаксичну (похідне від хемотаксис) речо-



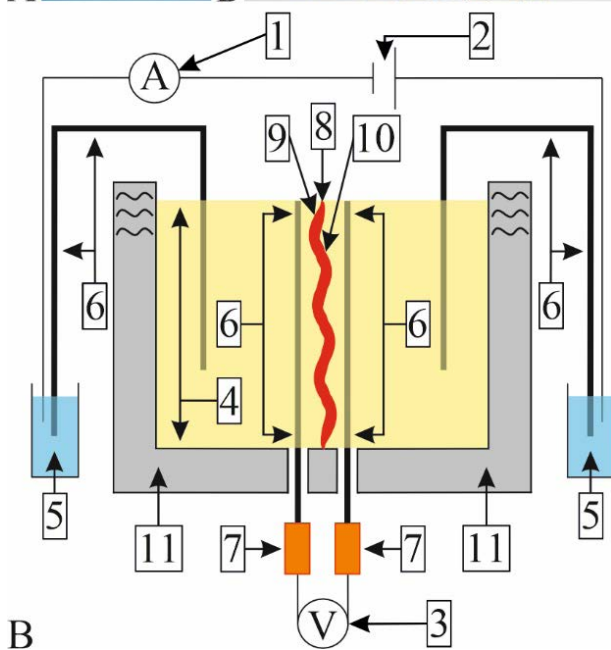
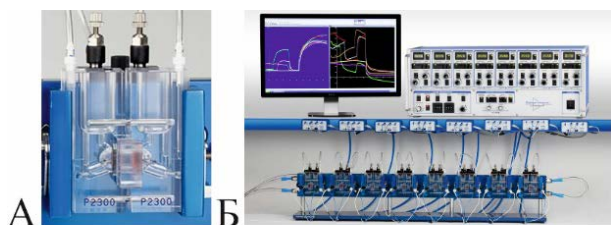
**Рис. 1.** Системи Transwell, загальний і схематичний вигляд будови, принцип проведення досліджень: А – система Transwell із використанням камер; Б – система Transwell на паперовій основі: 1 – культура клітин в екстрацелюлярному матрику, 2 – паперова основа, 3 – камера 96-лункового планшета, 4 – хемокінвмісне середовище, 5 – неінвазивні клітини на паперовій основі, 6 – інвазивні клітини в хемокінвмісному середовищі, 7 – камера з напівпроникною мембраною, 8 – напівпроникна мембрана, 9 – культуральні клітини, 10 – 96-лунковий планшет, загальний вигляд (фотографія із сайту [www.analytical-sales.com](http://www.analytical-sales.com))

вину, яка викликає спрямовану міграцію клітин через пори мембрани. Після експозиції системи в умовах 37°C і фарбування здійснюють кількісний підрахунок клітин, що мігрували, за допомогою світлової мікроскопії [21].

Transwell-аналіз на паперовій основі здійснюють із використанням паперової платформи, де паперовий каркас із восковим шаром є культуральним середовищем, а целюлозні волокна утримують гідрогель, насичений клітинами (рис. 1). Використання в обох версіях методики 96-лункового планшета робить метод високопродуктивним і дає змогу одночасно здійснювати до 96 досліджень (рис. 1).



**Рис. 2.** Схема культивування органоїдів: 1 – тканини кишечника людини, 2 – ізольована крипта з тканин кишечника, 3 – проліферація стовбурових клітин у культуру органоїдів, 4 – органоїди, 5 – використання органоїдів у дослідженнях, 6 – стовбурові клітини, 7 – гідрогель із позаклітинним матриксом, культуральним середовищем і факторами росту



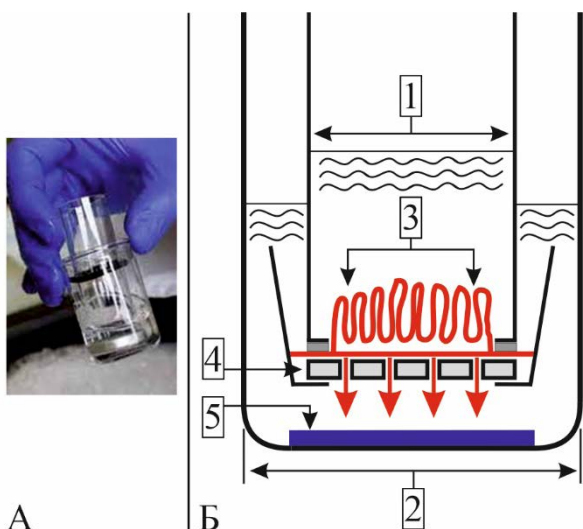
**Рис. 3.** Загальний і схематичний вигляд камери Уссінга: А – загальний вигляд камери Уссінга; Б – загальний вигляд системи із використанням камер Уссінга, мультиканального вольтамперного блок-фіксатора і монітора; В – схематичний вигляд будови камери Уссінга: 1 – амперметр, 2 – джерело постійного електричного струму, 3 – вольтметр, 4 – розчин Кребса-Рінгера, 5 – розчин насичений хлоридом калію (KCl) і хлоридом срібла (AgCl), 6 – агарові містки, 7 – KCl-каломельні електроди, 8 – кишковий сегмент, 9 – поверхня слизового шару, 10 – поверхня серозного шару, 11 – «водяна сорочка» із підтриманням сталої температури камери 37°C (фотографії з сайту <https://physiologicinstruments.com>)

Методи *Transwell*-аналізів клітинної міграції та інвазії використовуються в дослідженнях тканинних репаративних і реконструктивних процесів при запаленні, міграції клітин, інвазії пухлинних клітин при метастазуванні в здорові тканини, фізіологічного ангиогенезу. Зазначений експериментальний метод дає змогу визначити неможливість міграції імунних клітин запаленої слизової кишки до лімфатичних вузлів при ХК із наступним утворенням негерметичного лімфатичного бар'єра і формуванням зазначеними клітинами інфільтрату в слизовій оболонці, як початкової стадії хронічного запалення [11,43]. Недоліком методу є значна собівартість лабораторних матеріалів, що використовуються.

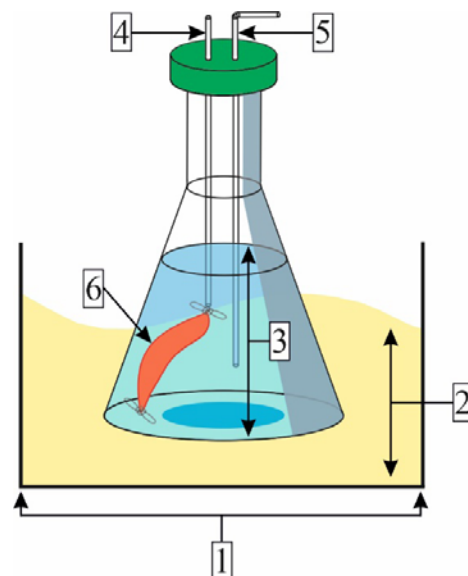
#### Кишкові органоїди

Кишкові органоїди – це вирощені *in vitro* зі стовбурових клітин тривимірні клітинні мікроструктури з внутрішнім вільним простором – ентероїди та колоноїди. Вони мають здатність до гістогенезу і регенерації при відповідному методі культивування. Стовбурові клітини, з яких відбувається проліферація ентероїдів і колоноїдів, отримують із людських кишкових біоптатів. Потім їх розміщують у гідрогелі, який містить позаклітинний матрикс, фактори росту та культуральне середовище [5]. Кишковим органоїдам притаманний біосинтез фармакокінетичних ферментів (рис. 2).

Органоїди використовують для дослідження кишкового епітелію, ембріогенезу кишечника, регенерації тканин, репаративних процесів і зменшення ризику малігнізації при ЗЗК, розроблення ліків для муковісцидозу, впливу на кишечник і людський організм мікробних токсинів, дослідження паразитарних, вірусних і бактеріальних інфекцій. Але відсутність стромальних, судинних, імунних складових



**Рис. 4.** *InTESTine™*, загальний і схематичний вигляд: А – загальний вигляд; Б – схематичний вигляд: 1 – апікальна камера, 2 – базолатеральна камера (бік кровоносних судин), 3 – кишковий сегмент *ex vivo*, 4 – напівпроникна мембрана, 5 – інвазивні біологічні структури, які подолали бар'єр напівпроникної мембрани (фотографія з сайту <https://www.tno-pharma.com>)



**Рис. 5.** Схематичний вигляд моделі вивернутого кишкового мішка: 1 – термостатична водяна камера для дотримання сталої температури системи, 2 – водне середовище, 3 – сольовий розчин із поживними речовинами, 4 – з'єднувальна трубка, 5 – трубка для подачі кисню або газової суміші, 6 – вивернутий кишковий сегмент

і мікробіому не дає змоги відтворити зазначені процеси *in vivo*. Процес культивування органоїдів є матеріально витратним, а обмеженість збільшення масштабності експериментів з органоїдами та проблема їхнього культивування з іншими клітинними штамами обмежує використання в наукових експериментах [25,30].

#### Моделі *ex vivo*

Експериментальні дослідження *ex vivo* – дослідження живого біологічного матеріалу (тканин) поза організмом господаря в умовах максимально наближених до природних.

#### Камера Уссінга

У 1950 р. датський зоолог Ганс Хенріксен Уссінг (Hans Henriksen Ussing) розробив пристрій для дослідження механіки активного транспорту речовин у тканинах кишечника. Пристрій отримав назву «камера Уссінга», яка використовується для дослідження іонного транспортування в слизовій оболонці кишечника та інших тканинах. Камера містить електроди, які вимірюють напруги та електричні струми короткого замикання з метою визначення руху іонів через шар епітеліальних клітин [19]. Сучасна модифікація камери складається з 2 півкамер, які містять отвори для робочого розчину (розчин Кребса–Рінгера), газової трубки та 2 електродів. Завдяки цьому відтворюються базолатеральний та апікальний шари досліджуваної тканини. Між півкамерами розташований слайдер для досліджуваної тканини,

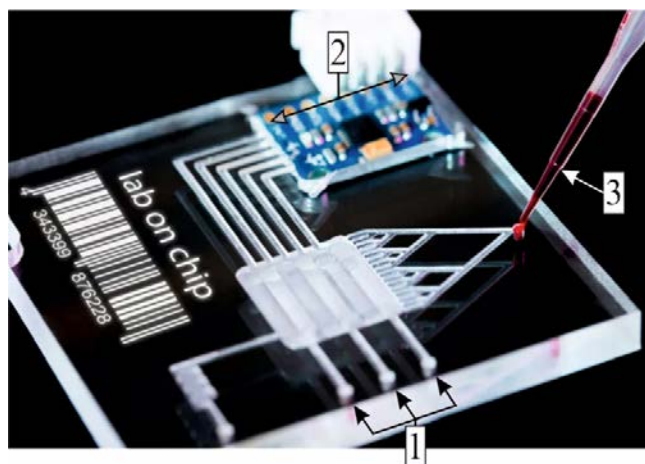
якою може бути біопсійний матеріал, епітеліальна тканина або клітинний моношар. За допомогою зазначеного пристрою фіксують струм короткого замикання, трансепітеліальний опір, провідність і напругу. Це надає можливість дослідження трансмембранного транспорту іонів, цілісності та щільності епітеліального бар'єра. У визначенні результатів досліджуваних показників використовують спектрофотометрію та відповідне програмне забезпечення (рис. 3).

Практичне значення зазначеного пристрою полягає в дослідженні ентеротоксинів і транслокації бактеріальних штамів, таких як *Shigella*, *Enterococcus faecalis*, дослідженні процесів взаємодії «хазяїн-мікробіом» як одного з етіологічних факторів ЗЗК. Недоліками камери Уссінга є мала пропускна спроможність, неможливість проведення тривалих експериментальних досліджень і технічна складність її використання [19].

#### Система *InTESTine™*

Нідерландська організація з прикладних досліджень у природничих науках TNO (Nederlands Organisatie voor Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek) розробила нову модель *ex vivo* тканини *InTESTine™*.

Перевагами *InTESTine™* порівняно з камерою Уссінга є можливість одночасного дослідження декількох різних сегментів кишкової трубки, які відповідно мають різні морфологічні, структурні та



**Рис. 6.** Загальний вигляд блока експериментальної мікрофлюїдної системи «орган на чіпі»: 1 – мікроканали, 2 – електронний блок керування параметрами відтворюваних фізіологічних процесів у мікроканалах, 3 – культура клітин у середовищі (фотографія з сайту <https://amf.ch>)

анатомо-фізіологічні характеристики, а також можливість проведення дослідження за участі слизового шару, у присутності або відсутності мікробіоти. Завдяки можливості горизонтального налаштування за допомогою відповідного пристрою можна досліджувати одночасно до 96 зразків кишкової тканини тривалістю до 26 годин (рис. 4).

Систему *InTESTine™* використовують для визначення токсичності ліків, дослідження дифузії та транспортування медичних препаратів через стінку кишки, дослідження абсорбції ліків для перорального застосування, різноманітних фізіологічних процесів кишечника та інших відділів шлунково-кишкового тракту, ранніх відповідей імунної та ендокринної системи [25,33]. Недоліками зазначеного методу досліджень є обмежена життєздатність досліджуваної біологічної тканини і складність підготовчого етапу.

#### *Модель вивернутого кишкового мішка*

Джеральд Вайзман (Gerald Wiseman) і Томас Хастінгс Вільсон (Thomas Hastings Wilson) у 1954 р. впровадили та представили модель вивернутого кишкового мішка, яка полягає в сегментації певного відділу кишки піддослідної тварини, вивертанні відповідних сегментів, їхній санації, заповненні розчином Кребса–Рінгера і зануренні в колбу з трубкою для аерації за температури 37°C (рис. 5). Розчин Кребса–Рінгера є багатокомпонентним глюкозо-солевим розчином, який застосовують в експериментальних дослідженнях фізіології людських тканин і для перфузії органів поза організмом.

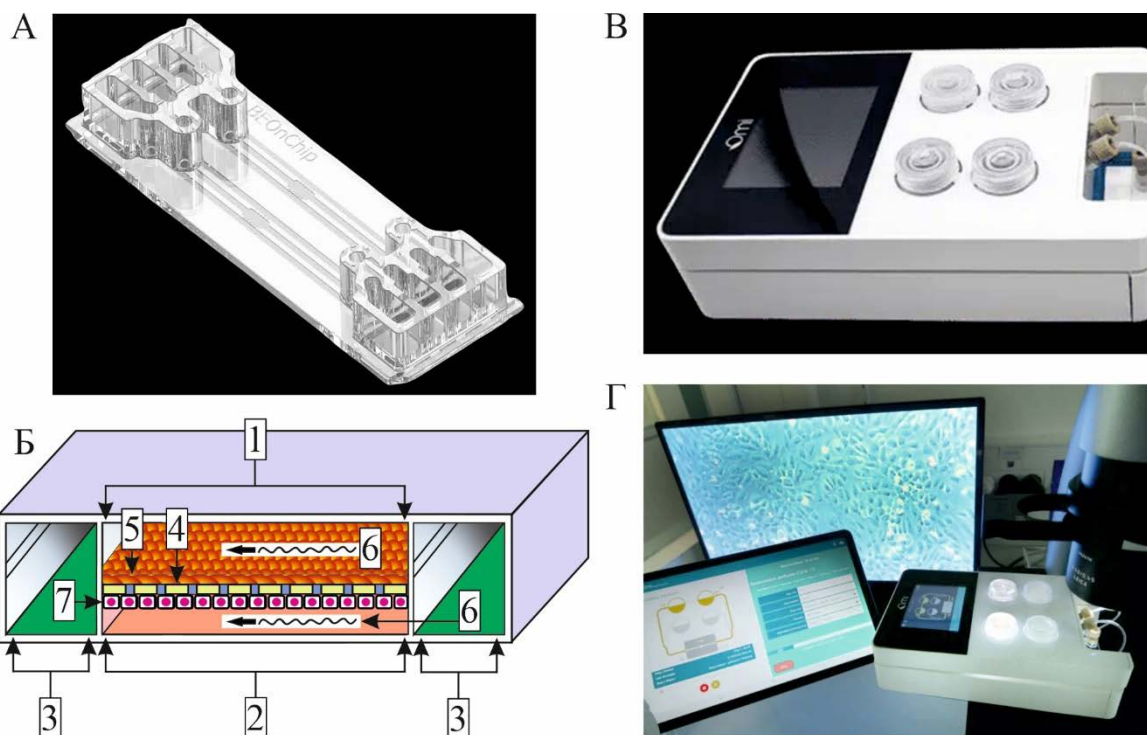
Модель використовують для дослідження абсорбції, метаболізму, транспортування та дифузії медич-

них препаратів у кишечнику. Недоліками моделі є нетривала життєздатність біологічних тканин (лише до 2 годин), чисельні анатомо-фізіологічні фактори піддослідної тварини, мінливість факторів рідинного середовища, обмеженість порівняльної ідентичності фізіологічного і патологічних станів лабораторної тварини та людського організму [19,37].

#### *Мікрофлюїдні моделі кишки на чіпі*

Концепція кортико-вісцеральної теорії полягає в керуванні, контролюванні та регулюванні головним мозком життєдіяльності внутрішніх органів за участі нервової системи. Взаємовідносини кори головного мозку та певного органа є взаємним процесом зі свідомою та несвідомою компонентами. Відповідно фізіологічні/патофізіологічні зміни одночасно відбуваються як у периферійних органах, так і в центральній нервовій системі. На підставі зазначеної теорії розроблена концепція «вісь мозок–тіло» і «вісь мозок–орган». Фізіологія кишечника – це сукупність складних взаємовідносин між головним мозком, кишковими структурами, імунними механізмами, внутрішньокішковим середовищем, мікробіотою, кишковим вмістом, секреторними та перистальтичними процесами. Концептуально обґрунтовані моделі *in vivo*, за участі різних біологічних видів, залишаються основним методом дослідження актуальних питань фізіології та захворювань кишечника. Але вони мають недоліки та обмеження самої використовуваної біологічної системи, які ми вже висвітлювали [39]. Моделі *in vitro* обмежуються залученням у дослідження культуральних клітин та органодів. У них виключена можливість дослідження фізіологічних і патологічних процесів на тканинному рівні. Це обумовило пошук науковцями нових експериментальних підходів. Мікрофлюїдні моделі кишки на чіпі є принципово новим методом дослідження функціональних процесів кишечника за участі кишкового мікробіому і/або різних клітинних популяцій. Моделі кишки на чіпі є представником модельного експериментального ряду систем, які отримали назву «орган на чіпі» або «лабораторія на чіпі» (рис. 6) [16].

Вони вважаються мікрофізіологічними експериментальними системами і є науково доведеною з'єднувальною складовою в системі «дослідження *in vivo* → лабораторія на чіпі → клінічні випробування» [16]. Кишка на чіпі – це штучна модель певного відділу кишечника із визначеним контрольованим клітинним і біохімічним складом. Системи складаються з пористої мембрани із фіксованими на ній клітинами кишкового епітелію, яка є напівпроникним бар'єром між 2 мікроканалами. Верхній мікро-

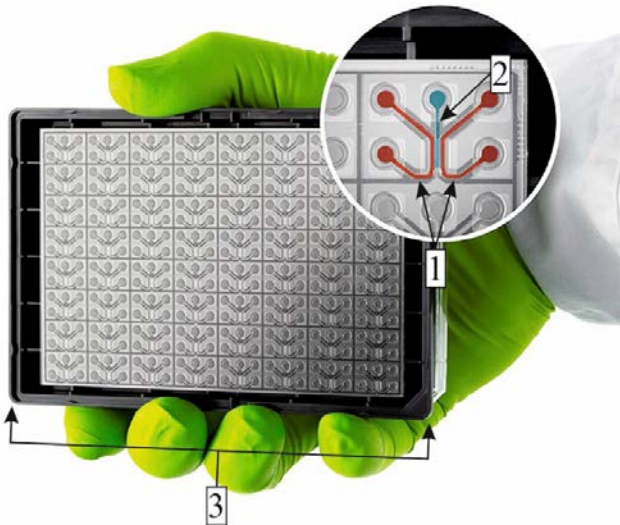


**Рис. 7.** Загальний і схематичний вигляд мікрофлюїдної моделі кишки на чіпі: А – загальний вигляд градієнтного чіпа потоку для 3D-культур клітин мікрофлюїдної моделі кишки на чіпі; Б – схематичний вигляд будови та принципу роботи градієнтного чіпа потоку для 3D-культур клітин мікрофлюїдної моделі кишки на чіпі; В – загальний вигляд автоматизованої платформи кишки на чіпі; Г – загальний вигляд автоматизованої системи кишки на чіпі із використанням платформи, електронних засобів керування, візуалізації та реєстрації: 1 – верхній мікрофлюїдний канал, 2 – нижній мікрофлюїдний канал, 3 – бокові вакуумні камери, 4 – напівпроникна мембрана, 5 – моношар кишкових органоїдів, 6 – схематичне позначення потоку середовища, 7 – інші кишкові клітини (фотографії з сайту <https://www.fluigent.com>)

канал моделює просвіт кишкової трубки, а нижній – судини стінки певного сегмента людського кишечника. Напівпроникна мембрана бере участь у дифузному транспортуванні поживних речовин і молекулярних структур (рис. 7) [42].

Мікроканали можуть бути дворівневими, що використовуються в дослідженнях і дифузії певних хімотерапевтичних препаратів, таких як циклофосфамід. Матеріал для мембрани обирається залежно від мети дослідження, а через мембранні пори здійснюється міжканальне транспортування розчинних молекул. Мембрана може піддаватися штучному фізичному розтягуванню з метою імітації перистальтичних рухів. Зазвичай у якості кишкових епітеліальних клітин використовуються клітини іморталізованої лінії Caco2, які розташовуються в пристрої в середовищі, де за певний час відбувається їхня адгезія. За допомогою шприца, перистальтичних насосів або сили природного тяжіння створюється потік середовища, який забезпечує клітини поживними речовинами і видаляє продукти їхньої життєдіяльності, мертві клітини, підтримує та збільшує суцільність кишкового епітеліального шару [46]. Моделювання компоненти кишкового

мікробного середовища здійснюють внесенням у відповідний мікроканал культивованих штамів патогенних і непатогенних мікроорганізмів, пробіотиків або багатокомпонентної людської фекальної мікробіоти [12,38]. Процес потоку середовища ініціює диференціацію кишкових епітеліальних клітин із подальшим утворенням ворсинчастих 3D-структур, структурно та функціонально ідентичних із ворсинками кишечника людини. За допомогою створення вакуумних умов у бічних камерах приладу відтворюють перистальтичні кишкові рухи. Можливість створення штучного керованого кисневого градієнту дає змогу імітувати фізіологічний стан гіпоксії кишкового простору та одночасно культивувати облигатні анаеробні штами з факультативними анаеробними штамми кишкових мікроорганізмів, клітинами іморталізованих ліній. Для відтворення кишкової мікроархітектури шляхом 3D-друку створюють каркас, на якому культивують клітини, які, своєю чергою, утворюють просторово розташовану вісь «крипта-ворсинка». Це дає змогу досліджувати процеси взаємодії мікробіоти і людського кишечника. У мікрофлюїдних системах також застосовують органоїди. Метод дослідження



**Рис. 8.** Загальний вигляд і будова мікрофлюїдної пластини OrganoPlate: 1 – мікроканали із кишковими органідами, 2 – мікроканал з екстрацелюлярним матриксом, 3 – 64-секційна платформа (фотографія з сайту <https://www.fishersci.co.uk>)

допомагає довести життєздатність і метаболічну активність кишкових тканин протягом 8 годин після резекції. Складні моделі кишки на чіпі містять капілярні ендотеліальні, епітеліальні, фібробластні, імунні клітини. Коменсальна мікрофлора міститься в мікроканалі, який моделює просвіт кишки. Інший мікроканал моделює кровоносні судини з ендотеліальним шаром. Значення досліджуваних параметрів, таких як коротколанцюгові жирні кислоти, пули цитокінів, концентрація вільного кисню, визначають адресними біологічними сенсорами або на підставі аналізу відповідного матеріалу, забір якого здійснюють власноруч [24]. Прикладом створення моделі ЗЗК є культивування в експериментальній системі кишки на чіпі епітеліальних кишкових клітин, мононуклеарних клітин периферичного кров'яного русла, патогенних і непатогенних штамів кишкової палички [22]. Подібні моделі використовуються для вивчення запального процесу кишечника при ЗЗК, впливу променевої терапії на проникність кишкового бар'єра та кишкові епітеліальні клітини. Експериментальні системи кишки на чіпі можуть бути аеробними чи анаеробними для дослідження відповідних штамів мікроорганізмів. На цей час створені моделі тонкої кишки на чіпі, товстої кишки на чіпі, порожньої кишки на чіпі і дванадцятипалої кишки на чіпі. Зазначені моделі містять органіди відповідних відділів кишки [19,46].

Моделі кишки на чіпі використовують для вивчення взаємодії «хазяїн-мікроорганізм», бар'єрної функції кишкового епітелію, процесів руху та мета-

болізму перетравлених харчових інгредієнтів, адресних питань харчової алергії, мікробіому, патофізіології кишечника при ЗЗК, дуоденіту, онкологічних захворювань товстої кишки, ефективності і прогнозування терапевтичного ефекту медичних препаратів. Використання в цій експериментальній системі органідів із донорських клітин кишечника пацієнта, імунних клітин і певних представників мікробіоти надає можливість адресного діагностування і визначення індивідуального лікування для конкретного пацієнта. Складні моделі цього типу дають змогу досягнути стабільності аеробних та анаеробних культур мікробіому, отриманих із людських калових мас, і спільно культивувати їх із людськими кишковими епітеліальними клітинами в умовах фізіологічної гіпоксії, яка є природною для кишкового просвіту. Це максимально наближає дослідження до умов *in vivo*. Недоліками вважають ще існуючу неповну структурно-функціональну відповідність із людським кишечником, складність у роботі, низьку відтворюваність і статичність в умовах різних лабораторій, високі якісні вимоги до матеріалів для виробництва самої системи [27,30].

Також існують безмембранні моделі кишки на чіпі, прикладом яких є платформа OrganoPlate. Це тривимірна мікрофлюїдна пластинка для біологічних тканин із можливістю одночасного дослідження 96 зразків. Кількість мікроканалів сягає 64, завдяки чому забезпечується безперервна циркуляція середовища з імітацією природного кровотоку і фізіологічних метаболічних процесів (рис. 8).

Платформу використовують для імітації процесів запалення кишечника, зокрема, при ХК та інших ЗЗК, оцінювання транспортування кишкових медичних препаратів, проникності кишкового епітеліального бар'єра, гетерогенного впливу ентеротоксинів патогенних штамів мікробіому, зокрема, *Clostridium difficile* [29].

Недоліками систем кишки на чіпі є проблема відтворення двошарового слизового шару та індукції його фізіологічних і патофізіологічних змін [30].

Платформу OrganoPlate використано як базовий майданчик для експериментального дослідження ХК та інших ЗЗК. На її основі розроблено автоматизовану модульну систему кишки на чіпі з принципом роботи «підключи і працюй». 40 кишкових епітеліальних трубчастих 3D-структур із поляризацією і перфузією вирошено з іморталізованих клітинних ліній Caco-2 (ентероцити) та HT29-MTX-E12 (келихоподібні клітини). Представники клітинних ліній THP-1 і MUTZ-3 використано в експериментальній

системі для визначення вивільнення цитокинів. Індукцію моделі певного типу ЗЗК досягнуто за допомогою введення в систему екзогенних інтерлейкіну (IL)-1 $\beta$  і фактора некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). Для визначення запального процесу використано показники трансепітеліального опору та кількісні показники секреції прозапальних цитокинів. Втрата змодельованим кишковим епітелієм бар'єрних функцій і продукція цитокинів є маркерами відтвореного запального процесу. Автори констатують патофізіологічну відповідність зазначеної моделі захворювання до відповідного ЗЗК [13].

Недоліками системи є її багатокомпонентність, дороговартісність, складність відтворення контрольних методів дослідження, таких як імуногістохімія, визначення трансепітеліального опору, аналіз експресії генів та ін.

Мікрофлюїдні системи органа на чіпі продуктивно поєднують із робототехнікою. Прикладом такої комбінованої платформи є система *Interrogator* («дослідник» – пер. з англ.), що має мобільний мікроскоп, адресний пакет програмного забезпечення, перистальтичний насос, рідинний маніпулятор, лунковий планшет та інкубатор біологічних тканин у вигляді чіпів (рис. 9).

Платформа забезпечує мультивекторне керування параметрами експерименту, автоматизації культивування клітин, здійснення одночасної мікроскопії до 10 задіяних в інкубації тканин чіпів. Періодичне автоматизоване з'єднання і взаємодія штучних ендотеліальних судинних каналів, резервуарів із середовищем, використання середовища як альтернативи крові дають змогу здійснювати експеримент тривалістю до 3 тижнів із використанням до 8 двоканальних чіпів із культивованими в них тканинами – гематоенцефалічний бар'єр, легенева, мозкова, ниркова, кишкова, печінкова, серцева, шкірний покрив. Отже, дослідники створили мультиорганну флюїдну мережу моделі людського тіла на чіпі. Прорахована на підставі експериментальних даних і математичних обчислень зменшена мультикамерна модель цієї експериментальної системи дає змогу обчислювати й прогнозувати зміни її параметрів під час експерименту. Роботизована платформа забезпечує проведення неінвазивної мікроскопії клітин у мікрофлюїдних чіпах та взяття клітинного матеріалу на дослідження безпосередньо під час експерименту без порушення цілісності системи [31].

Недоліками системи є її мультимодульність і складність. «Дослідник» потребує потужної матеріально-технічної бази, команди висококваліфікованих фахівців та адресної допоміжної апаратури.

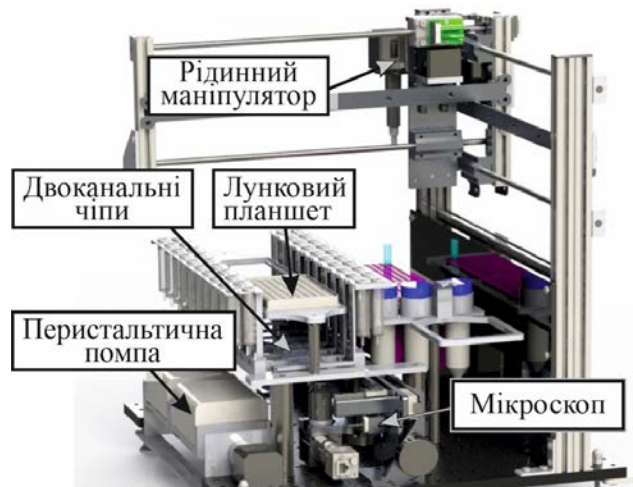


Рис. 9. Роботизована мультиорганна флюїдна мережа моделі людського тіла на чіпі (фотографія з джерела doi: 10.1038/s41551-019-0497-x)

Для наближення системи органа на чіпі до будови та функціональності органів і тканин людського організму синтезовано гідрогелі. Мета полягає в заміні жорсткої або напівжорсткої напівпроникної мембрани на біологічний, комбінований або штучний гідрогель. Це надає можливість імітації природного середовища клітин, кращої їхньої проліферації та диференціації, 3D-архітектури біологічних тканин із бар'єрною функцією в динамічних умовах, можливість інтеграції в систему органа на чіпі електродів для реєстрації трансепітеліального електричного опору. Прикладом біологічних гідрогелів є Matrigel, отриманий шляхом екстракції із саркоми миші типу Енгельбрета–Хольма–Сварма, яка використовується як джерело компонентів базальної мембрани для експериментальних досліджень. Matrigel є складною мультикомпонентною системою, яка містить ламінін, колаген IV типу, глікопротеїн ентактин як фактор контакту та сполучення між собою біологічних клітин, фактори росту клітин і протеолітики. Недоліками гідрогелів є багатокомпонентний мінливий склад, параметри якого дослідник не може визначати та змінювати; відсутність контролю та впливу на ремоделювання власними клітинами, погані механічні властивості, ризик вірусної контамінації, необхідність в обладнанні для зберігання в певних температурних умовах, проведення досліджень із гелями в низькотемпературних умовах [44].

Описані моделі *ex vivo* та *in vitro* дають змогу відтворити патофізіологічні аспекти ХК та інших ЗЗК [22]. За їхньою допомогою доведена безпосередня роль мікробіоти кишечника в фізіологічних захисних реакціях організму як відповіді на ЗЗК, інфекційні, імунологічні та аутоімунні захворювання [7].

## Reviews

Моделі *in vitro* стратегічно важливі в дослідженнях можливих наслідків змін на рівні популяцій клітин у відповідь на вплив певних патогенів, зміни оточуючого середовища та умов їхньої життєдіяльності. Використання моделей *in vitro* також допомагає дослідити трансепітеліальне транспортування поживних речовин, біологічно-активних і хімічних сполук у фізіологічному стані та в умовах патофізіологічних змін. Це визначає їхній вагомий внесок у з'ясування ролі сапрофітної, патогенної, пробіотичної кишкової мікрофлори для фізіології людського організму і патологічних процесів, у фармакологічні дослідження і наближення предметних медичних галузей до розроблення таргетного індивідуального лікування ЗК та інших неспецифічних запальних захворювань.

Викладене доводить необхідність і перспективність застосування експериментальних досліджень *ex vivo* та *in vitro* в поєднанні з мікрофлюїдними технологіями і приладами. Це стосується як досліджень ЗК, так і іншої патології. Актуальність такого виду досліджень підтверджує прогресивна динаміка світового ринку мікрофлюїдики. За 2018–2024 рр. він збільшився, за незалежними оцінками, більш ніж у 10 разів – з 3,6 млрд до 37,49 млрд дол. США. За прогнозами, у 2030 р. його капіталізація сягне 73,85 млрд дол. США, демонструючи середньорічне зростання в 11,99%. Це обумовлене передусім потребою використання мікрофлюїдних систем в експериментальних доклінічних дослідженнях і виробництві діагностичних приладів. Такі системи використовуються в інноваційних рішеннях у біотехнологіях, моніторингу навколишнього середовища та різних галузях системи охорони здоров'я [14].

Стратегічним питанням подальших результативних доклінічних досліджень є отримання та культивування стандартизованих органодів шляхом створення мережі взаємодіючих біобанків [4].

Слід зазначити, що термінологія *ex vivo* та *in vitro* в ТІ та регенеративній медицині потребує чіткого визначення, критеріїв і розмежування. Це обумовлено ігноруванням історичного визначення зазначених і введенням нових термінів певними дослідниками без належного наукового обґрунтування [23].

Експериментальні системи *in vivo*, *ex vivo* та *in vitro* мають різні індивідуальні цілі, переваги, недоліки й обмеження. Але є взаємодоповнювальними, невід'ємною обов'язковою експериментальною складовою в медицині, яка передуює клінічним випробуванням. Їх комплексне використання дає змогу вирішувати складні наукові завдання, досягати створення нових раціональних ефективних рішень

у медицині, ТІ, біології та інших галузях людської діяльності.

## Висновки

### **Технологічна ефективність і специфічність.**

Використання моделей *in vitro* та *ex vivo* дає змогу досліджувати фізіологічні, патологічні процеси на органело-клітинному і тканинному рівнях із високим рівнем специфічності (специфічність експериментальної методики – здатність виявляти відсутність ефекту в випадках, коли експериментальний вплив не здійснювався). Завдяки цьому є можливість відтворювати й досліджувати кишковий епітеліальний бар'єр, механізми іонного транспортування і транспортування лікувальних препаратів, що є вкрай важливим у дослідженнях ХК та інших ЗК.

**Етико-деонтологічна відповідність.** Використання технологій ТІ та мікрофлюїдики допомагає кількісно зменшити використання піддослідних тварин, що відповідає етичній концепції ЗР (*Replacement, Reduction, Refinement* – *Заміна, Зменшення, Удосконалення*). Використання людських біологічних зразків потребує суворого дотримання етико-деонтологічних та юридично-правових норм.

**Практичне значення і результативність.** Впровадження мікрофлюїдних пристроїв і роботизованих платформ дає змогу створювати адресні біологічні 3D-моделі для експериментальних досліджень значної тривалості. Це забезпечує високу результативність у розробленні методів таргетної терапії, визначенні й прогнозуванні лікувального ефекту медичних препаратів на моделях, подібних до органів і систем людського організму, дослідженні фізіологічних і патологічних процесів при ХК та інших ЗК.

**Перспективність розвитку.** Інтеграція мікрофлюїдних систем зі штучним інтелектом і роботизованими платформами, використання біологічних гідрогелів і технології 3D-біодруку сприятимуть створенню мультиорганних мереж для відносно тривалих експериментальних досліджень без порушення цілісності експериментальної системи. Це обумовлює наукову перспективність зазначених технологій. Прогнозована капіталізація світового ринку мікрофлюїдики підтверджує економічну доцільність застосування описаних технологій, а створення мережі біобанків стандартизованих органодів і стала генерація стандартизованих іморталізованих клітинних популяцій – ефективність і перспективність їхнього використання в експериментальних дослідженнях на доклінічному етапі.

*Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.*

**References/Література**

1. Afshar L, Aghayan HR, Sadighi J, Arjmand B, Hashemi SM, Basiri M et al. (2020). Ethics of research on stem cells and regenerative medicine: ethical guidelines in the Islamic Republic of Iran. *Stem Cell Res Ther.* 11(1): 396. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01916-z>.
2. Alvites RD, Branquinho MV, Sousa AC, Lopes B, Sousa P, Mendonça C et al. (2021). Small Ruminants and Its Use in Regenerative Medicine: Recent Works and Future Perspectives. *Biology (Basel).* 10(3): 249. <https://doi.org/10.3390/biology10030249>.
3. Baptiste DL, Caviness-Ashe N, Josiah N, Commadore-Mensah Y, Arscott J et al. (2022). Henrietta Lacks and America's dark history of research involving African Americans. *Nurs Open.* 9(5): 2236-2238. <https://doi.org/10.1002/nop2.1257>.
4. Botti G, Di Bonito M, Cantile M. (2021). Organoid biobanks as a new tool for pre-clinical validation of candidate drug efficacy and safety. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 13(1): 17-21. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33815668/>.
5. Clua-Ferré L, Suau R, Vañó-Segarra I, Ginés I, Serena C, Manyé J. (2024). Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: A focus on inflammatory bowel disease. *Clin Transl Med.* 14(11): e70075. <https://doi.org/10.1002/ctm2.70075>.
6. Cruz Rivera S, Aiyegbusi OL, Ives J, Draper H, Mercieca-Berber R, Ells C et al. (2022). Ethical Considerations for the Inclusion of Patient-Reported Outcomes in Clinical Research: The PRO Ethics Guidelines. *Jama.* 327(19): 1910-1919. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.6421>.
7. De Gregorio V, Sgambato C, Urciuolo F, Vecchione R, Netti PA, Imperato G. (2022). Immunoresponsive microbiota-gut-on-chip reproduces barrier dysfunction, stromal reshaping and probiotics translocation under inflammation. *Biomaterials.* 286: 121573. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121573>.
8. De Kanter AJ, Jongsma KR, Verhaar MC, Bredenoord AL. (2023). The Ethical Implications of Tissue Engineering for Regenerative Purposes: A Systematic Review. *Tissue Eng Part B Rev.* 29(2): 167-187. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2022.0033>.
9. Dubinina VO, Ksonz IV, Bilash SM, Abyzova LV, Bilanov OS, Ksonz VI. (2023). Axiological dimensions of medical deontology in pediatric surgery. *Paediatric Surgery (Ukraine).* 4(81): 108-113; doi: 10.15574/PS.2023.81.108.
10. Eder MM. (2023). Aligning clinical research ethics with community-engaged and participatory research in the United States. *Front Public Health.* 11: 1122479. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1122479>.
11. Garreta E, Kamm RD, Chuva de Sousa Lopes SM, Lancaster MA, Weiss R, Treppe X et al. (2021). Rethinking organoid technology through bioengineering. *Nat Mater.* 20(2): 145-155. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00804-4>.
12. Gazzaniga FS, Camacho DM, Wu M, Silva Palazzo MF, Dinis ALM, Grafton FN et al. (2021). Harnessing Colon Chip Technology to Identify Commensal Bacteria That Promote Host Tolerance to Infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 11: 638014. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.638014>.
13. Gijzen L, Marescotti D, Raineri E, Nicolas A, Lanz HL, Guerra D et al. (2020). An Intestine-on-a-Chip Model of Plug-and-Play Modularity to Study Inflammatory Processes. *SLAS Technol.* 25(6): 585-597. <https://doi.org/10.1177/2472630320924999>.
14. Grand View Research. (2025). Microfluidics Market Size, Share & Trends Analysis Report By Technology, By Product (Microfluidic-based Devices, Microfluidic Components), By Material (Silicon, Glass), By Application (Medical, Non-Medical), By Region, And Segment Forecasts, 2025-2030. URL: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/microfluidics-market> 119.
15. Grupp TM, Rusch S, Massin P, Blom A, Garcia-Rey E, Cristofolini L et al. (2023). 1st EFORT European Consensus «Medical & Scientific Research Requirements for the Clinical Introduction of Artificial Joint Arthroplasty Devices»: Background, Delphi Methodology & Consensus process. *EFORT Open Rev.* 8(7): 499-508. <https://doi.org/10.1530/eor-23-0054>.
16. Guo Y, Chen X, Gong P, Li G, Yao W, Yang W. (2023). The Gut-Organ-Axis Concept: Advances the Application of Gut-on-Chip Technology. *Int J Mol Sci.* 24(4): 4089. <https://doi.org/10.3390/ijms24044089>.
17. Jacques E, Suuronen EJ. (2020). The Progression of Regenerative Medicine and its Impact on Therapy Translation. *Clin Transl Sci.* 13(3): 440-450. <https://doi.org/10.1111/cts.12736>.
18. Jongsma KR, Bredenoord AL. (2020). Ethics parallel research: an approach for (early) ethical guidance of biomedical innovation. *BMC Med Ethics.* 21(1): 81. <https://doi.org/10.1186/s12910-020-00524-z>.
19. Joshi A, Soni A, Acharya S. (2022). *In vitro* models and *ex vivo* systems used in inflammatory bowel disease. *In vitro Model.* 1(3): 213-227. <https://doi.org/10.1007/s44164-022-00017-w>.
20. Justus CR, Marie MA, Sanderlin EJ, Yang LV. (2023). Transwell *In vitro* Cell Migration and Invasion Assays. *Methods Mol Biol.* 2644: 349-359. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3052-5\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3052-5_22).
21. Kenney RM, Loeser A, Whitman NA, Lockett MR. (2018). Paper-based transwell assays: an inexpensive alternative to study cellular invasion. *Analyst.* 144(1): 206-211. <https://doi.org/10.1039/c8an01157e>.
22. Kim HJ, Lee J, Choi JH, Bahinski A, Ingber DE. (2016). Co-culture of Living Microbiome with Microengineered Human Intestinal Villi in a Gut-on-a-Chip Microfluidic Device. *J Vis Exp.* (114): 54344. <https://doi.org/10.3791/54344>.
23. Klein L, Huttmacher DW. (2024). Straddling the Line Between *In vitro* and *Ex vivo* Investigations. *Tissue Eng Part C Methods.* 30(10): 443-451. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2024.0246>.
24. Kriaa A, Mariaule V, De Rudder C, Jablaoui A, Sokol H, Wilmes P et al. (2024). From animal models to gut-on-chip: the challenging journey to capture inter-individual variability in chronic digestive disorders. *Gut Microbes.* 16(1): 2333434. <https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2333434>.
25. Li XG, Chen MX, Zhao SQ, Wang XQ. (2022). Intestinal Models for Personalized Medicine: from Conventional Models to Microfluidic Primary Intestine-on-a-chip. *Stem Cell Rev Rep.* 18(6): 2137-2151. <https://doi.org/10.1007/s12015-021-10205-y>.
26. Macedo MH, Dias Neto M, Pastrana L, Gonçalves C, Xavier M. (2023). Recent Advances in Cell-Based *In vitro* Models to Recreate Human Intestinal Inflammation. *Adv Sci (Weinh).* 10(31): e2301391. <https://doi.org/10.1002/advs.202301391>.
27. Malaguarnera G, Graute M, Homs Corbera A. (2021). The translational roadmap of the gut models, focusing on gut-on-chip. *Open Res Eur.* 1: 62. <https://doi.org/10.12688/openreseurope.13709.2>.
28. Mangione F, Salmon B, ElEldeen M, Jacobs R, Chaussain C, Vital S. (2022). Characteristics of Large Animal Models for Current Cell-Based Oral Tissue Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 28(3): 489-505. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2020.0384>.
29. Morelli M, Cabezuolo Rodríguez M, Queiroz K. (2024). A high-throughput gut-on-chip platform to study the epithelial responses to enterotoxins. *Sci Rep.* 14(1): 5797. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56520-5>.
30. Morelli M, Kurek D, Ng CP, Queiroz K. (2023). Gut-on-a-Chip Models: Current and Future Perspectives for Host-Microbial Interactions Research. *Biomedicines.* 11(2): 619. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020619>.
31. Novak R, Ingram M, Marquez S, Das D, Delahanty A, Herland A et al. (2020). Robotic fluidic coupling and interrogation of multiple vascularized organ chips. *Nat Biomed Eng.* 4(4): 407-420. <https://doi.org/10.1038/s41551-019-0497-x>.
32. Oerlemans AJ, van Hoek ME, van Leeuwen E, Dekkers WJ. (2014). Hype and expectations in tissue engineering. *Regen Med.* 9(1): 113-122. <https://doi.org/10.2217/rme.13.89>.

## Reviews

33. Rahman S, Ghiboub M, Donkers JM, van de Steeg E, van Tol EAF et al. (2021). The Progress of Intestinal Epithelial Models from Cell Lines to Gut-On-Chip. *Int J Mol Sci.* 22(24): 13472. <https://doi.org/10.3390/ijms222413472>.
34. Schenke-Layland K, Nerem RM. (2011). *In vitro* human tissue models—moving towards personalized regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 63(4-5): 195-196. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.05.001>.
35. Shevchenko YeV, Hladkykh FV, Matvieienko MS. (2024) Cryomedical biotechnologies as a key to effective decellularization in the creation of scaffolds for vascular transplantation. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 32; 3(50): 366-386. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-08>.
36. Shevchenko YV, Liadova TI, Hladkykh FV, Matvieienko MS, Chyzh MO, Komorovsky RR. (2024). Decellularized Matrix Scaffolds for Vascular Transplantation: Addressing Immunogenicity, Sterilization, and Current Strategies for Long-Term Storage. *Ukrainian Journal of Cardiovascular Surgery.* 32(4): 78-90. [https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32\(04\)/ShL061-7890](https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32(04)/ShL061-7890).
37. Shi Q, Carrillo JC, Penman MG, Manton J, Fioravanzo E, Powrie RH et al. (2022). Assessment of the Intestinal Absorption of Higher Olefins by the Everted Gut Sac Model in Combination with In Silico New Approach Methodologies. *Chem Res Toxicol.* 35(8): 1383-1392. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.2c00089>.
38. Shin YC, Shin W, Koh D, Wu A, Ambrosini YM, Min S et al. (2020). Three-Dimensional Regeneration of Patient-Derived Intestinal Organoid Epithelium in a Physiodynamic Mucosal Interface-on-a-Chip. *Micromachines (Basel).* 11(7): 663. <https://doi.org/10.3390/mi11070663>.
39. Soleiko DS, Prytula VP. (2025). *In vivo* experimental models in scientific research on current issues of Crohn's disease and other inflammatory bowel diseases. *Paediatric Surgery (Ukraine).* 3(88): 135-148. [Солейко ДС, Притула ВП. (2025). Експериментальні моделі *in vivo* в наукових дослідженнях актуальних питань хвороби Крона та інших запальних захворювань кишечника. *Хірургія дитячого віку (Україна).* 3(88): 135-148]. [doi: 10.15574/PS.2025.3\(88\).135148](https://doi.org/10.15574/PS.2025.3(88).135148).
40. Stoyeva TV, Dzhahashvili OV, Melnychenko MH, Hudz VA. (2019). Using mathematical modeling in the differential diagnosis of acute abdominal syndrome in children. *Paediatric surgery. Ukraine.* 1(62): 47-52. <https://doi.org/10.15574/PS.2019.62.47>.
41. Taylor WJ, Willink R, O'Connor DA, Patel V, Bourne A, Harris IA et al. (2023). Which clinical research questions are the most important? Development and preliminary validation of the Australia & New Zealand Musculoskeletal (ANZMUSC) Clinical Trials Network Research Question Importance Tool (ANZMUSC-RQIT). *PLoS One.* 18(3): e0281308. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281308>.
42. Thomas DP, Zhang J, Nguyen NT, Ta HT. (2023). Microfluidic Gut-on-a-Chip: Fundamentals and Challenges. *Biosensors (Basel).* 13(1): 136. <https://doi.org/10.3390/bios13010136>.
43. Ungaro F, Garlatti V, Massimino L, Spinelli A, Carvello M, Sacchi M et al. (2019). mTOR-Dependent Stimulation of IL20RA Orchestrates Immune Cell Trafficking through Lymphatic Endothelium in Patients with Crohn's Disease. *Cells.* 8(8): 924. <https://doi.org/10.3390/cells8080924>.
44. Vera D, García-Díaz M, Torras N, Castillo Ó, Illa X, Villa R et al. (2024). A 3D bioprinted hydrogel gut-on-chip with integrated electrodes for transepithelial electrical resistance (TEER) measurements. *Biofabrication.* 16(3). <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ad3aa4>.
45. World Health Organization (WHO). (2020). Global health estimates 2019: estimated deaths by age, sex, and cause. Geneva, Switzerland.
46. Xiang Y, Wen H, Yu Y, Li M, Fu X, Huang S. (2020). Gut-on-chip: Recreating human intestine *in vitro*. *J Tissue Eng.* 11: 2041731420965318. <https://doi.org/10.1177/2041731420965318>.

## Відомості про автора:

Солейко Дмитро Сергійович – к.мед.н., доц. каф. дитячої хірургії ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Адреса: м. Вінниця, вул. Пирогова, 56. <https://orcid.org/0000-0002-8663-990X>.

Стаття надійшла до редакції 05.09.2025 р., прийнята до друку 12.12.2025 р.