

DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1560>

Обзорная статья



Варианты экспериментального моделирования некротического энтероколита: обзор литературы

Д.А. Северинов, В.А. Липатов, В.П. Гаврилюк, Е.А. Иванова

Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

АННОТАЦИЯ

Некротический (некротизирующий) энтероколит (НЭК) новорожденных — многофакторное заболевание неуточненной этиологии. Отсутствие данных об этиологическом факторе и сложность патогенетических механизмов обуславливают сложности моделирования этого заболевания. Авторы, занимающиеся вопросами изучения патогенеза НЭК, разработкой актуальных методов лечения, стремятся смоделировать в эксперименте те условия, которые имеют место в клинической практике. Цель работы — анализ вариантов экспериментального моделирования НЭК новорожденных, описанных в открытом доступе. Для этого проведено исследование более 50 значимых научных публикаций по соответствующей тематике таких баз данных, как Google Scholar, PubMed, Scopus (издательства Elsevier), eLibrary (с 2000 по 2022 г.). В данной работе описаны актуальные методы моделирования НЭК в эксперименте, в том числе *in vitro* (с использованием клеток и клеточных культур), *in vivo* (на лабораторных животных, таких как мыши, крысы, кролики, свиньи), *ex vivo* (с использованием кадаверного материала). Каждый из указанных вариантов моделирования имеет различные задачи и, соответственно, отражает лишь часть патогенеза НЭК или типичных для него морфологических проявлений в стенке кишечной трубки, но не дает полной картины течения заболевания. В статье также подробно описана методика авторского моделирования НЭК в эксперименте на неполовозрелых кроликах лапароскопическим доступом, основанная на субсерозном введении повреждающего раствора в кишечную стенку.

Ключевые слова: некротический (некротизирующий) энтероколит; новорожденные; экспериментальное моделирование; эксперимент; лабораторные животные.

Как цитировать

Северинов Д.А., Липатов В.А., Гаврилюк В.П., Иванова Е.А. Варианты экспериментального моделирования некротического энтероколита: обзор литературы // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. 2023. Т. 13, № 4. С. 513–524. DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1560>

DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1560>

Review Article

Experimental modeling of necrotic enterocolitis: A review

Dmitry A. Severinov, Vyacheslav A. Lipatov, Vasily P. Gavriliuk, Ekaterina A. Ivanova

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

ABSTRACT

Neonatal necrotizing enterocolitis (NEC) is a multifactorial disease of unspecified etiology. The lack of data on etiological factors and the complexity of pathogenetic mechanisms determine the complexity of NEC modeling. The authors involved in the study of the pathogenesis of NEC and the development of current treatments seek to model in the experiment the conditions that occur in clinical practice. Thus, this study aimed to analyze the options for the experimental modeling of neonatal NECs described in the public domain. Thus, more than 50 relevant scientific publications in databases such as Google Scholar, PubMed, Scopus (publishers Elsevier), and eLibrary (from 2000 to 2022) were reviewed. This paper describes the most current methods of modeling NEC, including *in vitro* (using cells and cell cultures), *in vivo* (in laboratory animals such as mice, rats, rabbits, and pigs), and *ex vivo* (using cadaver material) experiments.

Keywords: necrotizing enterocolitis; newborns; experimental modeling; experiment; laboratory animals.

To cite this article

Severinov DA, Lipatov VA, Gavriliuk VP, Ivanova EA. Experimental modeling of necrotic enterocolitis: A review. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care*. 2023;13(4):513–524. DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1560>

Received: 03.10.2023

Accepted: 10.11.2023

Published: 25.12.2023

DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1560>

Review Article

坏死性小肠结肠炎实验模型的变体：文献综述

Dmitry A. Severinov, Vyacheslav A. Lipatov, Vasily P. Gavriliuk, Ekaterina A. Ivanova

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

摘要

新生儿坏死性小肠结肠炎 (NEC) 是一种病因不明的多因素疾病。由于缺乏有关病因的数据以及发病机制的复杂性, 很难为这种疾病建立模型。从事 NEC 发病机制研究、实际治疗方法开发的作者努力在实验中模拟临床实践中发生的条件。这项工作的目的是分析公开领域中描述的新生儿坏死性小肠结肠炎实验模型的各种变体。为此, 我们对 Google Scholar、PubMed、Scopus (出版商爱思唯尔)、eLibrary (2000 年至 2022 年) 等数据库中相关主题的 50 多篇重要科学出版物进行了研究。本文介绍了在实验中模拟坏死性小肠结肠炎的实际方法, 包括体外 (使用细胞和细胞培养物)、体内 (实验动物, 如小鼠、大鼠、兔子、猪) 和体外 (使用尸体材料)。每种建模方法都有不同的目的, 因此只能反映坏死性小肠结肠炎的部分发病机制或其在肠管壁上的典型形态表现, 而不能完整地反映疾病的过程。文章还详细介绍了作者通过腹腔镜对未成熟家兔进行坏死性小肠结肠炎模拟实验的方法, 该方法基于向肠壁粘膜下注射破坏性溶液。

关键词: 坏死性小肠结肠炎; 新生儿; 实验模型; 实验; 实验动物。

引用本文

Severinov DA, Lipatov VA, Gavriliuk VP, Ivanova EA. 坏死性小肠结肠炎实验模型的变体: 文献综述. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care*. 2023;13(4):513–524. DOI: <https://doi.org/10.17816/psaic1560>

收到: 03.10.2023

接受: 10.11.2023

发布日期: 25.12.2023

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одна из нерешенных проблем неонатальной хирургии состоит в лечении пациентов с некротическим (некротизирующим) энтероколитом (НЭК) [1]. До 1964 г. данная патология не была выделена как отдельная нозологическая форма и обозначалась как функциональная кишечная непроходимость, внутрибрюшной абсцесс, спонтанная перфорация кишки, некротический колит новорожденных с перфорацией, ишемический энтероколит, инфаркт кишечника, аппендицит новорожденных. Утвердившийся ныне термин «некротический (некротизирующий) энтероколит» предложен Н. Rossier и С. Schmid в 1959 г. [2].

НЭК — неспецифическое воспалительное заболевание неустановленной этиологии с мультифакторным патогенезом, объясняющим развитие заболевания как результата гипоперфузии незрелой слизистой оболочки кишечника новорожденного, перенесшего перинатальную гипоксию и, как следствие, изменение кровотока в системе мезентеральных сосудов [3]. Помимо этого, важную роль в развитии НЭК новорожденного играет ранняя и неадекватная энтеральная нагрузка преимущественно искусственными молочными смесями, а также инфицирование его организма патогенными микроорганизмами [4]. Учитывая сложный патогенез развития данного заболевания, прицельное воздействие на его звенья является важной задачей хирургов и неонатологов [5]. Несмотря на значительные успехи в современной клинической медицине, смертность от НЭК остается достаточно высокой и занимает лидирующие позиции среди новорожденных. Частота встречаемости НЭК у новорожденных, по данным различных авторов, варьирует от 0,3 до 3 случаев на 1000 детей, то есть от 2,1 до 4 % от всех детей, поступивших в отделение интенсивной терапии. Летальность составляет от 4 до 20 %, при тяжелом течении достигает до 80 % [6]. Повреждение кишечной стенки при НЭК сопровождается воспалительной реакцией, повышением ее проницаемости, что в свою очередь ведет к заселению бактериальными агентами [7]. Незрелость нервной и иммунной систем, механизмов регуляции моторики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) способствует развитию вторичной нейронной дисплазии на фоне воспаления [8].

Для разработки методов лечения, изучения течения патологических процессов в макроорганизме при НЭК разработано множество экспериментальных моделей (*in vivo*, *in vivo*, *ex vivo*).

Цель работы — анализ вариантов экспериментального моделирования НЭК новорожденных, описанных в открытом доступе. Для этого проведено исследование более 50 значимых научных публикаций по соответствующей тематике таких баз данных, как Google Scholar, PubMed, Scopus (издательства Elsevier), eLibrary (с 2000 по 2022 г.). Подробное описание экспериментальных моделей НЭК (*in vivo*, *in vivo*, *ex vivo*), используемых для разработки методов лечения, изучения течения патологических процессов, приводим ниже.

КЛЕТОЧНЫЕ МОДЕЛИ (ЭКСПЕРИМЕНТ *IN VITRO*)

На эпителиальных клетках кишечника (Intestinal epithelial cells (IECs)) изучают воздействие связанных с развитием НЭК факторов стресса на клеточном уровне. Исследование клеточных линий в эксперименте *in vitro* дает преимущество для оценки отдельных НЭК-ассоциированных факторов или их комбинаций [9]. А. Vein и соавт. [10], изучая клетки IEC-18, продемонстрировали, что липополисахариды (ЛПС), такие как эндотоксин и основной компонент внешней мембраны грамотрицательных бактерий, индуцируют гиперпроницаемость IECs, а также повреждение эпителиального барьера и транслокации бактериальных агентов из просвета кишки в ее стенку [10]. В. Li и соавт. [11] исследовали воздействие перекиси водорода (H₂O₂) в клеточной линии IEC-18, так как данный механизм является одним из основных в развитии НЭК. В эксперименте *in vitro* удалось воспроизвести повреждение эпителия кишечника посредством воздействия H₂O₂, которое характеризовалось изменением активности глутатионпероксидазы и тиобарбитуровой кислоты в клетках IEC-18. В работе [12] так же использована линия IEC-18 для исследования влияния других факторов стресса на повреждение и регенерацию эпителия кишечной стенки, которое приводит к увеличению экспрессии интерлейкина-6 (IL-6). Доказано, что незначительное повреждение IEC-18 индуцирует стволовые клетки кишечника, стимулируя процессы репарации [12]. Важное преимущество использования IECs — доступность трансгенных клеточных линий для изучения прицельного воздействия на повреждение и регенерацию эпителия. Помимо культур клеток животных могут быть использованы клеточные линии человеческого происхождения (культуры клеток рака толстой кишки), например LS174T и Caco-2, благодаря которым R.Y. Wu и соавт. [13] экспериментально подтвердили положительную роль олигосахаридов грудного молока в повышении экспрессии слизистого отделяемого, тем самым защищая кишечник новорожденного.

ОРГАНОИДНЫЕ МОДЕЛИ (ЭКСПЕРИМЕНТ *IN VITRO*)

Одним из новаторских открытий в области гастроэнтерологии, впервые продемонстрированных в 2009 г., является способность генерировать нетрансформированную ткань, полученную из кишечника, для долгосрочного роста *in vitro* [14]. Дальнейшая работа в этой области привела к успешному поддержанию и росту трехмерных структур, которые повторяли особенности кишечника живого организма. Органоидные модели — это трехмерные культуры клеток, которые воспроизводят некоторые функциональные аспекты целых органов [15]. Эти системы *in vitro* могут быть получены из клеток-предшественников и стволовых

клеток как мышиной, так и человеческой ткани. Такие культуры известны как органоиды, поскольку обладают органопоподобными свойствами и разделяют большую часть клеточной сложности и физиологических особенностей органов *in vivo* [16]. Органоиды обладают преимуществом, заключающимся в способности сохраняться в культуре в течение очень длительных периодов времени. Трехмерные органоиды, полученные из кишечника, оказались новым мощным инструментом в разработке методов профилактики и лечения НЭК. В различных исследованиях использовались органоиды кишечника взрослых мышей для изучения повреждения кишечника [17].

Этические нормы сдерживают изучение патофизиологии НЭК и эффективности новых терапевтических средств непосредственно у пациентов. Поэтому новая модель НЭК с использованием эмбриональной ткани человека имеет важное значение для расширения нашего понимания этого заболевания. Недавно было показано, что органоиды человеческого происхождения могут служить релевантной доклинической моделью НЭК у человека. S. Senger и соавт. [18] сгенерировали органоиды по возрастному спектру плода (гестационный возраст 11–22,5 нед.), чтобы определить изменения в развитии кишечника, связанные с началом НЭК.

Органоиды кишечника человека из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток недавно были предложены также в качестве подходящей модели для НЭК. Эти органоиды напоминают ткань кишечника плода, что подтверждено анализом экспрессии генов [19]. Более того, после трансплантации органоидов кишечника человека мышам-хозяевам наблюдается значительное увеличение OLFM4, что свидетельствует о росте и созревании трансплантированных органоидов. Известны модели НЭК на основе органоидов кишечника, полученных посредством интраоперационных биопсий (выделение стволовых клеток) подвздошной кишки недоношенных детей, перенесших лапаротомию и резекцию некротизированного участка кишечной трубки [20]. Органоиды потенциально могут быть использованы в качестве модели *ex vivo* для изучения прогрессирования и патогенеза НЭК, а также для разработки терапевтических средств [21]. Человеческие органоиды, выращенные из донорской ткани или из человеческих эмбрионально индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, в настоящее время являются одним из наиболее важных инструментов для понимания формирования кишечника человека и патогенеза НЭК [22].

Органоидные модели *in vitro* предполагают значительные преимущества по сравнению с моделями *in vivo* для будущих исследований. В настоящее время эти системы разрабатываются с использованием стандартизированных протоколов для использования в глобальных фундаментальных исследовательских проектах, таких как скрининг лекарственных средств и результатов их применения.

КАДАВЕРНЫЕ МОДЕЛИ (ЭКСПЕРИМЕНТ *EX VIVO*)

Особую роль в развитии ишемии при НЭК с дальнейшей полиорганной недостаточностью отводят синдрому интраабдоминальной гипертензии. В 2004 г. на конференции Всемирного общества по изучению абдоминального компартмент-синдрома (World Society of the Abdominal Compartment Syndrome — WSACS) было дано следующее определение данному синдрому: «Стойкое повышение внутрибрюшного давления (ВБД) до 12 мм рт. ст. и более, при измерении трижды каждые 4–6 ч» [23]. В литературе описываются различные исследования по воссозданию моделей повышенного ВБД для изучения не только патологических изменений в кишечнике, подобным тем, что определяются у детей с НЭК, и прогнозирования его стадии, но и для исследования различных подходов к абдоминальной декомпрессии. Авторами разработаны три модели повышенного ВБД («жидкостная», «газовая» и «отечная») на нефиксированных трупах, отличающиеся субстанцией, которой заполняли брюшную полость, и вариантами ее введения. Каждая из них имеет свои достоинства и недостатки [24]. Однако трудоемкость воссоздания, возрастной аспект кадавер-материала и его содержание в соответствующих условиях делают почти невозможным подобное моделирование повышенного ВБД, направленное на изучение НЭК.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НЭК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

В эксперименте на мелких грызунах авторы прибегают к моделированию НЭК посредством сенсibilизации организма лабораторных животных стрессовыми факторами (холод, нарушение кормления и пр.). N. Vargemian и соавт. в собственных исследованиях индуцирует развитие НЭК посредством кормления лабораторных животных гиперосмолярной смесью, чередуя с введением ЛПС [25]. T. Jilling и соавторы с первых суток жизни предлагают выкармливать новорожденных мышат (после кесарева сечения) с помощью зонда, а также подвергать воздействию низких температур и гипоксическому стрессу (4 °C в течение 10 мин, при 100 % N₂ в течение 1 мин). Описан также вариант моделирования НЭК на мышах, когда мышат отделяют от матери на седьмой день после родов и помещают в инкубатор (37 °C), где кормят искусственной молочной смесью пять раз в день и кишечными бактериями, выделенными из кала пациентов, оперированных по поводу НЭК. Животных также подвергают кратковременным периодам гипоксии два раза в день (10 мин при 95 % N₂, 5 % O₂) [цит. по: 26]. Данная модель получила наибольшую популярность среди исследователей ввиду относительной простоты исполнения. В работах Besner с соавторами

представлена модификация описанной выше методики с добавлением дополнительного стрессового фактора — гипотермии [цит. по: 26]. Pierro и соавторы сочетали гипоксию с введением ЛПС [27]. Maheshwari и соавторы моделировали НЭК посредством комбинации асфиксии (100 % газообразный азот) и гипотермии (4 °C в течение 10 мин) два раза в день, также использовали переливание крови [цит. по: 26]. В исследованиях M. Ginzl и соавт. [28] использовали в качестве раздражителя слизистой оболочки декстран сульфат натрия (который применяют для индуцирования воспалительных заболеваний кишечника у половозрелых лабораторных животных), после чего были обнаружены НЭК-подобные поражения в тонкой и толстой кишке при отсутствии воздействия гипоксии и гипотермии. McElroy и соавторы использовали химическую абляцию ацидофильных энтероцитов (клеток Панета) у мышей в возрасте 14–16 дней, что приводит к повреждению кишечника, подобному НЭК [цит. по: 28].

Помимо химических методов моделирования и воздействия гипотермии, гипоксии на лабораторных животных возможно моделирование НЭК в хирургическом эксперименте (наложение лигатуры на верхнюю брыжеечную артерию). В опыте на половозрелых мышатах при окклюзии *a. mesenterica superior* в течение 20 мин у 50 % животных через 2 сут развивался мезентериальный тромбоз, а у новорожденных мышат (массой 90 г) одноминутная окклюзия приводит к гибели животных в течение недели (63 % случаев), в 46 % случаев — выявлен некроз, в 17 % — перфорация стенки кишки [29].

Среди особенностей моделирования НЭК на лабораторных мышах следует отметить, что новорожденная мышь обладает чертами, характерными для 28-недельного младенца, то есть небольшим количеством подкожного жира, низкой терморегуляционной возможностью организма и дискоординированной перистальтикой кишечника [30]. Кроме того, кишечный микробиом, наблюдаемый у мышей с НЭК, сопоставим с человеческим. Несмотря на недостатки мышинной модели, которые заключаются в малых размерах животного и различии между иммунными клетками мыши и человека, мышинные модели НЭК стали важными инструментами в изучении патогенеза данной нозологии.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НЭК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

Крысы были первыми животными, использованными для экспериментального моделирования НЭК. В. Barlow и T.V. Santulli в 1974 и 1975 гг. описали модель НЭК, основанную на факторах, которые, по мнению авторов, способствовали развитию НЭК у человека: незрелость кишечника, гиперосмолярное питание, гипоксический стресс и наличие бактерий [по: 25]. Поэтому В. Barlow

с соавторами содержали новорожденных крыс (рожденных путем кесарева сечения) в инкубаторе и подвергали следующим стрессовым нагрузкам: кормление искусственными молочными смесями — по 0,1 мл каждые 3 ч через орогастральный зонд, 200 кал/(кг·сут); асфиксия (100 % N₂ в течение 50 с два раза в день; заклеивание пластикового пакета вокруг головы на 3–5 мин, пока не наблюдался цианоз); инокуляция *Escherichia coli* (1109 организмов в сутки). К третьему дню жизни у большинства животных развилось вздутие живота, кровавый стул, нарушение дыхания, цианоз, при морфологической оценке микропрепаратов — геморрагический некроз кишечника [по: 18]. В настоящее время данный вариант моделирования НЭК нашел отражение в работах зарубежных и отечественных исследователей. Другие авторы использовали и модифицировали неонатальную модель НЭК у крыс. M.S. Carlan и соавт. [31], F.L. Gonçalves и соавт. [32] скорректировали протокол индукции НЭК, подвергнув пятидневных крысят воздействию 100 % N₂ в течение 60 с с последующей гипотермией при 4 °C в течение 10 мин. Гипоксическое повреждение было стандартизировано E.R. Nadler и соавт. [33] путем помещения крысят в камеру с контролем содержания O₂ (5 % O₂ и 95 % N₂).

По мнению некоторых авторов, развитие НЭК у новорожденных детей связано с длительной ишемией кишечника. Придерживаясь данной гипотезы, были разработаны методы моделирования НЭК, основанные на чередовании ишемии и реперфузии кишечника с последующим развитием ишемии кишечной стенки. Взрослым крысам породы Sprague–Dawley выполняли «прерывистую» окклюзию верхней брыжеечной артерии в течение 60 мин. При микроскопическом исследовании препаратов, полученных от животных серий эксперимента с подобным вариантом моделирования НЭК, наблюдается следующее: деструктивные изменения ворсинок кишечника, отек, микротромбоз подслизистой оболочки, эрозии слизистой оболочки, десквамации эпителиальных клеток, некроз [34].

Однако патофизиология этих моделей не полностью соответствует развитию НЭК. Экспериментальная модель НЭК должна отображать патологические и системные изменения, характерные для НЭК новорожденного. Такие изменения возникают на фоне энтеральной нагрузки. Помимо этого, данный вариант механической окклюзии возможен у взрослых или молодых животных (у новорожденных крысят дифференцировка тканей низкая, размер сосудов слишком мал для прецизионной работы с ними), что также устраняет важный аспект незрелости организма [4, 5, 8].

A.B. Пискалов и соавт. [24] в своих исследованиях разработали модель повышенного ВБД на крысах, с учетом развития схожего патологического процесса у новорожденных с НЭК, при полиорганной недостаточности. У молочных крысят с массой 50–60 г повышали ВБД введением в полость объемообразующего препарата. При гистологическом исследовании кишки отмечаются

воспалительные и некротические изменения, характерные для новорожденных с НЭК. Возможно также экспериментальное формирование длительного повышения ВБД молочным крысам (на протяжении 3 сут) [24].

С целью ранней диагностики НЭК современные исследователи применяют региональную оксиметрию методом близкой к инфракрасной спектроскопии (Near-infrared spectroscopy, NIRS). Благодаря данному методу A. DeWitt и соавт. [35] доказали, что в патогенезе НЭК одним из главных факторов развития заболевания является гипоксия (у группы недоношенных новорожденных с НЭК отмечались более низкие показатели абдоминальной оксигенации).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРОЛИКОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НЭК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

Помимо наиболее распространенных моделей НЭК, описанных выше, некоторые исследователи используют принципиально иные методы для воспроизведения НЭК-подобных повреждений кишечника. Такие методы не получили широкого распространения в экспериментальной практике, так как не учитывают многофакторную природу НЭК и не воспроизводят типичные особенности течения заболевания у человека. К таковым можно отнести одну из самых популярных моделей, основанную на концепции ишемии-реперфузионного повреждения кишечника [2].

Опираясь на гипотезу о значительном ишемическом повреждении кишечной стенки новорожденного ребенка с НЭК, авторы проводили лигирование или эмболизацию верхних брыжеечных сосудов у мелких грызунов (кролики) [3]. Однако, учитывая малый диаметр таких сосудов, исследования проводили на взрослых особях, что опосредованно отдаляет от реальной клинической ситуации. Несколько иной подход описан D.A. Clark и соавт. [36]. Согласно данной методике перевязывали кишечник кролика лигатурами, чтобы сформировать петли длиной 10 см, сохраняя при этом в них кровоток. В просвет отграниченной петли вводили смесь казеина в дозе 10 мг/мл, глюконата кальция и пропионовой кислоты (рН 4,0), через 3 ч при гистологическом исследовании выявили отек и уплощение ворсинок кишки, дилатацию лимфатических сосудов, а через 16 ч были обнаружены геморрагический некроз и значительная инфильтрация полиморфно-ядерными лейкоцитами слоев кишечной стенки.

Используя ту же концепцию «замкнутого» контура, A.P. Vozeman и соавт. [37] блокировали наружное отверстие анального канала недоношенных кроликов с помощью цианоакрилатного тканевого клея, а при кормлении смесью смешивали ее с *Enterobacter cloacae* помимо подготовки животного путем воздействия стресса и температуры внешней среды. Существует подход, основанный на локальном воздействии на стенку кишечной трубки

для формирования очага некроза. Данный способ моделирования локального некроза серозно-мышечного слоя стенки кишечника описан И.И. Бабич и соавт. [38]. Посредством лапаротомии авторы предлагают ввести кролику в серозно-мышечный слой подвздошной кишки 70 % раствор этилового спирта до получения сине-багрового участка (зона нарушения кровотока вследствие химического повреждения).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СВИНЕЙ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НЭК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

K.R. Shreyas и соавт. [39] проводили моделирование НЭК у новорожденных поросят при помощи кормления их смесями, ферментированными кишечной палочкой. При развитии патологического процесса у животных наблюдали повышенное содержание короткоцепочечных жирных кислот, которые провоцируют повреждение кишечной стенки. В работах P. Sibbons и соавт. [40], Н.Б. Тихоновой и соавт. [41] при проведении окклюзии сосудов брыжеечной аркады дистального отдела подвздошной кишки у маловесных поросят в течение 48 ч морфологическая картина характеризовалась широким диапазоном изменений: от минимальных в виде эрозий слизистой оболочки и десквамации единичных эпителиальных клеток, до выраженных — с некрозом стенки, пневмотозом, перфорацией и развитием перитонита. При окклюзии только лимфатических сосудов морфологическая картина НЭК отмечалась лишь у особей с очень низкой массой тела, а при окклюзии только артерий морфологическая картина отличалась отсутствием пневматоза стенки кишки. Уменьшение времени окклюзии верхней брыжеечной артерии до 60 мин с последующим проведением 60-минутной реперфузии по данным морфологического исследования И.Ю. Карповой и соавт. [42], не вызывало развития НЭК, но увеличивало проницаемость кишечной стенки. P.T. Sangild и соавт. [43] описывают способ моделирования НЭК следующим образом: рожденных путем кесарева сечения на позднем сроке гестации (что приводит к естественному периоду гипоксии и гипотермии) поросят кормят молочной смесью (в дозе 20 мл/кг, 5 раз в день) с добавлением кишечных бактерий, полученных от новорожденных, прооперированных по поводу НЭК.

Моделирование НЭК в эксперименте на мини-пигах и поросятах имеет ряд преимуществ перед моделями с использованием грызунов. Важным является их анатомическое, физиологическое сходство, особенности развития с ЖКТ человека. Помимо этого, вес поросенка варьирует от 1000 г до 1300 г, что приблизительно соответствует весу недоношенного новорожденного ребенка с НЭК. К недостаткам использования таких моделей можно отнести высокую стоимость, обусловленную

необходимостью индивидуального ухода за животными, а также наличием специализированного помещения и оборудования для их выхаживания.

Краткая характеристика описанных выше методик приведена в таблице.

По нашему мнению, из видов лабораторных животных, используемых авторами в экспериментальном моделировании НЭК, наиболее подходящими для хирургического эксперимента являются неполовозрелые кролики. Выбор данного вида лабораторных животных обусловлен рядом факторов, таких как: размеры брюшной полости (соответствуют или близки к таковым у новорожденных детей и позволяют выполнять оперативные вмешательства лапароскопическим способом или традиционным доступом — лапаротомия, с достаточным обзором без применения увеличительной техники); выполнение непродолжительных (до 40–50 мин в случае наложения межкишечного анастомоза) манипуляций под общей анестезией — масочный наркоз без применения наборов для интубации трахеи или наложения трахеостомы; достаточный объем крови, доступный для многократного забора в ходе хронического опыта; осуществление центрального венозного доступа для длительного динамического контроля уровня оцениваемых показателей крови и интравенозного введения лекарственных препаратов (если этого требуют условия эксперимента), применение датчиков, устройств и инструментов, используемых в педиатрической и неонатальной практике; доступность данного вида животных и высокая их выживаемость в эксперименте.

В ходе экспериментальных исследований на базе лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии Курского государственного медицинского университета был разработан способ лапароскопического моделирования некротического энтероколита, который отличается от имеющихся простотой выполнения и стабильностью воспроизведения патологических (НЭК-подобных) изменений в кишечной стенке. Под ингаляционной анестезией кролику, расположенному на спине, в условиях операционной после наложения карбоксиперитонеума, установки лапароскопа (5 мм) и одного эндоскопического инструмента-манипулятора (3 мм) выполняли ревизию брюшной полости. Захватывали петлю тонкой кишки в месте предполагаемого моделирования. Затем шприцем с инъекционной иглой после прокола передней брюшной стенки и введения иглы в брюшную полость производили пункцию стенки кишки и субсерозно вводили 1 мл 33 % перекиси водорода. После чего кролика помещали в бокс для наблюдения и спустя 12 ч оценивали полученные изменения (макро- и микроскопическая картина соответствует НЭК-подобным изменениям при сегментарном поражении кишечной трубки).

Описанный способ позволяет моделировать наиболее типичные морфологические проявления тяжелого течения НЭК с помощью эндовидеохирургических технологий, характеризующийся высокой воспроизводимостью. Моделирование НЭК посредством лапароскопии максимально приближает экспериментатора к реальной клинической ситуации, когда патологический процесс развивается

Таблица. Сравнительная характеристика моделей некротического (некротизирующего) энтероколита в эксперименте

Table. Comparative characteristics of necrotizing enterocolitis models in the experiment

Объект исследования	Стресс-факторы	Преимущества	Недостатки
Клетки	H ₂ O ₂ ; ЛПС; бактерии; гипоксия	Более низкие затраты; прицельное изучение изменений в клетках кишечной трубки	Ограниченное время культивирования; необходимость дорогостоящего оборудования
Органоиды	Гипоксия; ЛПС; бактерии	Долгосрочное культивирование; возможность получения органоидов из широкого спектра видов-хозяев и отделов ЖКТ	Отсутствие основных компонентов ЖКТ живого организма
Грызуны (крысы и мыши)	Гиперосмолярная молочная смесь; гипоксия; гипотермия; ЛПС; ишемия/реперфузия	Низкие затраты; простое разведение; наличие трансгенных моделей; начало искусственного вскармливания с рождения	Технические трудности при искусственном вскармливании; воздействие грудного молока в первые часы или дни жизни (мыши)
Кролики	Ишемия/реперфузия тонкой кишки	Позволяет оценить изменения кровотока в стенке кишечника пациента с НЭК	Патофизиология модели основана на механическом компоненте, не включает все аспекты патогенеза НЭК; выполняется у половозрелых животных
Свиньи	Асфиксия; гипотермия; искусственное вскармливание	Большое сходство в анатомии ЖКТ и в гистопатологических изменениях; схожие размеры тела	Высокие затраты; НЭК развивается в течение первых суток жизни

Примечание. НЭК — некротический (некротизирующий) энтероколит; ЛПС — липополисахарид; ЖКТ — желудочно-кишечный тракт.
Note. NEC — necrotizing enterocolitis; LPS — lipopolysaccharide; GI tract — gastrointestinal tract.

при отсутствии обширного повреждения серозного покрова брюшной полости, что возникает при лапаротомии. Это позволит использовать полученные результаты для разработки новых методов лечения НЭК и последующего их внедрения в клиническую практику [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, недостаточная изученность патогенеза, причин и условий возникновения НЭК (гипоксия, искусственное вскармливание, недоношенность и незрелость систем организма и пр.), его сложное этапное течение приводят к закономерным трудностям экспериментального моделирования. Поэтому остаются актуальными вопросы изучения патогенеза НЭК, вариантов его экспериментального моделирования, так как это позволит в дальнейшем апробировать инновационные разработки, новые подходы к лечению этой нозологии. В связи с чем среди современных исследователей существуют различные подходы к моделированию НЭК: использование клеточных культур, кадаверного материала, лабораторных животных (мышей, крыс, кроликов, мини-пиггов). Каждый из указанных вариантов моделирования имеет различные задачи и, соответственно, отражает лишь часть патогенеза НЭК или типичных для него морфологических проявлений в стенке кишечной трубки, но не дает полной картины течения заболевания. Следовательно, остается важным вопрос разработки адекватной модели НЭК, которая бы позволила оценить степень и характер взаимодействия множества факторов развития нозологии. А впоследствии, при детальном анализе, — влиять на них на этапах терапевтического воздействия.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования

и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: Д.А. Северинов — экспериментальное моделирование, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; В.П. Гаврилюк, В.А. Липатов — сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста статьи, редактирование; Е.А. Иванова — экспериментальное моделирование, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников;

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 23-25-10004) в рамках регионального конкурса при поддержке Министерства образования и науки Курской области

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведенным исследованием и публикацией настоящей статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Author's contribution. Thereby, author made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. Personal contribution of each author: D.A. Severinov — experimental modeling, literature review, literature collection and analysis, writing and editing of the paper; V.A. Lipatov, V.P. Gavriluk — collecting and analyzing literary sources, preparing and writing the text of the article, editing; E.A. Ivanova — experimental modeling, literature review, literature collection and analysis.

Funding source. The study was funded by Russian Science Foundation (grant No. 23-25-10004) within the framework of a regional competition with the support of the Ministry of Education and Science of the Kursk Region.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bazacliu C., Neu J. Necrotizing enterocolitis: long term complications // *Curr Pediatr Rev.* 2019. Vol. 15, No. 2. P. 115–124. DOI: 10.2174/1573396315666190312093119
2. Карпова И.Ю., Молчанова Д.В., Ладыгина Т.М. Экспериментальное моделирование некротизирующего энтероколита: патогенез, предикторы заболевания, профилактика // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии.* 2020. Т. 13, № 3. С. 293–300. DOI: 10.18499/2070-478X-2020-13-3-293-300
3. Neu J., Modi N., Caplan M. Necrotizing enterocolitis comes in different forms: historical perspectives and defining the disease // *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018. Vol. 23, No. 6. P. 370–373. DOI: 10.1016/j.siny.2018.07.004
4. Gordon P.V., Swanson J.R. Necrotizing enterocolitis is one disease with many origins and potential means of prevention // *Pathophysiology.* 2014. Vol. 21, No. 1. P. 13–19. DOI: 10.1016/j.pathophys.2013.11.015
5. Карпова И.Ю., Бугрова М.Л., Васягина Т.И., Карпеева Д.В. Постгипоксические изменения трансформации стенки кишки потомства крыс // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии.* 2021. Т. 14, № 4. С. 265–271. DOI: 10.18499/2070-478X-2021-14-4-265-271
6. Vongbhavit K., Underwood M.A. Intestinal perforation in the premature infant // *J Neonatal-Perinat Med.* 2017. Vol. 10, No. 3. P. 281–289. DOI: 10.3233/NPM-16148
7. Зеброва Т.А., Барская М.А., Козин И.И., и др. Изучение факторов риска развития некротизирующего энтероколита в эксперименте // *Детская хирургия. Журнал им. Ю.Ф. Исакова.* 2021. Vol. 25, № 6. С. 375–381. DOI: 10.55308/1560-9510-2021-25-6-375-381
8. Son J., Kim D., Na J.Y., et al. Development of artificial neural networks for early prediction of intestinal perforation in preterm infants // *Sci Rep.* 2022. Vol. 12, No. 1. ID 12112. DOI: 10.1038/s41598-022-16273-5

9. Ares G.J., Buonpane C., Yuan C., et al. A novel human epithelial enteroid model of necrotizing enterocolitis // *J Vis Exp*. 2019. No. 146. ID e59194. DOI: 10.3791/59194
10. Bein A., Zilbershtein A., Golosovsky M., et al. LPS in duces hyper-permeability of intestinal epithelial cells // *J Cell Physiol*. 2017. Vol. 232, No. 2. P. 381–390. DOI: 10.1002/jcp.25435
11. Li B., Zani A., Martin Z., et al. Intestinal epithelial cell injury is rescued by hydrogen sulfide // *J Pediatr Surg*. 2016. Vol. 51, No. 5. P. 775–778. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.02.019
12. Lee C., Minich A., Li B., et al. Influence of stress factors on intestinal epithelial injury and regeneration // *Pediatr Surg Int*. 2018. Vol. 34, No. 2. P. 155–160. DOI: 10.1007/s00383-017-4183-3
13. Wu R.Y., Li B., Koike Y., et al. Human milk oligosaccharides increase mucin expression in experimental necrotizing enterocolitis // *Mol Nutr Food Res*. 2019. Vol. 63, No. 3. ID 1800658. DOI: 10.1002/mnfr.201800658
14. Dedhia P.H., Bertaux-Skeirik N., Zavros Y., Spence J.R. Organoid models of human gastrointestinal development and disease // *Gastroenterology*. 2016. Vol. 150, No. 5. P. 1098–1112. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.12.042
15. Schweiger P.J., Jensen K.B. Modeling human disease using organotypic cultures // *Curr Opin Cell Biol*. 2016. Vol. 43. P. 22–29. DOI: 10.1016/j.ceb.2016.07.003
16. Kretzschmar K., Clevers H. Organoids: modeling development and the stem cell niche in a dish // *Dev Cell*. 2016. Vol. 38, No. 6. P. 590–600. DOI: 10.1016/j.devcel.2016.08.014
17. Shiloh R.L., Jessica S., Huiyu G., et al. Loss of murine Paneth cell function alters the immature intestinal microbiome and mimics changes seen in neonatal necrotizing enterocolitis // *PLoS One*. 2018. Vol. 13, No. 10. ID 204967. DOI: 10.1371/journal.pone.0204967
18. Senger S., Ingano L., Freire R., et al. Human fetal-derived enterospheres provide insights on intestinal development and a novel model to study necrotizing enterocolitis (NEC) // *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2018. Vol. 5, No. 4. P. 549–556. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.01.014
19. Warner B.B., Tarr P.I. Necrotizing enterocolitis and preterm infant gut bacteria // *Semin Fetal Neonatal Med*. 2016. Vol. 21, No. 6. P. 394–399. DOI: 10.1016/j.siny.2016.06.001
20. Li B., Lee C., Cadete M., et al. Neonatal intestinal organoids as an ex vivo approach to study early intestinal epithelial disorders // *Pediatr Surg Int*. 2019. Vol. 35, No. 1. P. 3–7. DOI: 10.1007/s00383-018-4369-3
21. Sulistyo A., Rahman A., Biouss G., et al. Animal models of necrotizing enterocolitis: review of the literature and state of the art // *Innov Surg Sci*. 2018. Vol. 2, No. 3. P. 87–92. DOI: 10.1515/iss-2017-0050
22. Ganji N., Li B., Lee C., et al. Necrotizing enterocolitis: state of the art in translating experimental research to the bedside // *Eur J Pediatr Surg*. 2019. Vol. 29, No. 4. P. 352–360. DOI: 10.1055/s-0039-1693994
23. Rusthoven E., van der Vlugt M.E., van Lingen-van Bueren L.J., et al. Evaluation of intraperitoneal pressure and the effect of different osmotic agents on intraperitoneal pressure in children // *Perit Dial Int*. 2005. Vol. 25, No. 4. P. 352–356. DOI: 10.1177/089686080502500409
24. Писклаков А.В., Федоров Д.А., Новиков Б.М. Опыт лечения новорожденных с некротизирующим энтероколитом с учетом показателей внутрибрюшного давления // *Детская хирургия. Журнал им. Ю.Ф. Исакова*. 2012. № 2. С. 27–29.
25. BAREGAMIAN N., RYCHAHOU P.G., HAWKINS H.K., et al. Phosphatidylinositol 3-kinase pathway regulates hypoxia-inducible factor-1 to protect from intestinal injury during necrotizing enterocolitis // *Surgery*. 2007. Vol. 142, No. 2. P. 295–302. DOI: 10.1016/j.surg.2007.04.018
26. Lopez C.M., Sampah M.E.S., Duess J.W., et al. Models of necrotizing enterocolitis // *Semin Perinatol*. 2023. Vol. 47, No. 1. ID 151695. DOI: 10.1016/j.semperi.2022.151695
27. Zani A., Zani-Ruttenstock E., Peyvandi F., et al. A spectrum of intestinal injury models in neonatal mice // *Pediatr Surg Int*. 2016. Vol. 32, No. 1. P. 65–70. DOI: 10.1007/s00383-015-3813-x
28. Ginzel M., Feng X., Kuebler J.F., et al. Dextran sodium sulfate (DSS) induces necrotizing enterocolitis-like lesions in neonatal mice // *PLoS One*. 2017. Vol. 12, No. 8. ID 182732. DOI: 10.1371/journal.pone.0182732
29. Nolan L.S., Wynn J.L., Good M. Exploring clinically-relevant experimental models of neonatal shock and necrotizing enterocolitis // *Shock*. 2020. Vol. 53, No. 5. P. 596–604. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001507
30. McCarthy R., Martin-Fairey C., Sojka D.K., et al. Mouse models of preterm birth: suggested assessment and reporting guidelines // *Biol Reprod*. 2018. Vol. 99, No. 5. P. 922–937. DOI: 10.1093/biolre/i0y109
31. Caplan M.S., Robinson D.T. Linking fat intake, the intestinal microbiome, and necrotizing enterocolitis in premature infants // *Pediatr Res*. 2015. Vol. 77, No. 1. P. 121–126. DOI: 10.1038/pr.2014.155
32. Gonçalves F.L., Gallindo R.M., Soares L.M., et al. Validation of protocol of experimental necrotizing enterocolitis in rats and the pitfalls during the procedure // *Acta Cirurgica Brasileira*. 2013. Vol. 28, No. S1. P. 19–25. DOI: 10.1590/S0102-86502013001300005
33. Nadler E.P., Dickinson E., Knisely A., et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis // *J Surg Res*. 2000. Vol. 92, No. 1. P. 71–77. DOI: 10.1006/jsre.2000.5877.
34. Матевосян К.Ш., Козловский Ю.Е., Алексанкин А.П., и др. Особенности моделирования некротизирующего энтероколита новорожденных на крысах Sprague-Dawley // *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2015. Т. 4, № 3. С. 81–81. DOI: 10.18499/2225-7357-2015-4-3-81-81
35. DeWitt A.G., Charpie J.R., Donohue J.E., et al. Splanchnic near-infrared spectroscopy and risk of necrotizing enterocolitis after neonatal heart surgery // *Pediatr Cardiol*. 2014. Vol. 35, No. 7. P. 1286–1294. DOI: 10.1007/s00246-014-0931-5
36. Clark D.A., Thompson J.E., Weiner L.B., et al. Necrotizing enterocolitis: intraluminal biochemistry in human neonates and a rabbit model // *Pediatr Res*. 1985. Vol. 19. P. 919–921. DOI: 10.1203/00006450-198509000-00010
37. Bozeman A.P., Dassinger M.S., Birusingh R.J., et al. An animal model of necrotizing enterocolitis (NEC) in preterm rabbits // *Fetal Pediatr Pathol*. 2013. Vol. 32, No. 2. P. 113–122. DOI: 10.3109/15513815.2012.681426
38. Бабич И.И., Мельников Ю.Н. Определение уровня резекции кишки при осложненных формах кишечной непроходимости у детей // *Детская хирургия. Журнал им. Ю.Ф. Исакова*. 2020. Т. 24, № 2. С. 78–82. DOI: 10.18821/1560-9510-2020-24-2-78-82
39. Shreyas K.R., Qinghe M., Benjamin D.S., et al. Enteral administration of bacteria fermented formula in newborn piglets: a high fidelity model for necrotizing enterocolitis // *PLoS One*. 2018. Vol. 13, No. 7. ID 201172. DOI: 10.1371/journal.pone.0201172
40. Sibbons P., Spitz L., van Velzen D., Bullock G.R. Relationship of birth weight to the pathogenesis of necrotizing enterocolitis in the neonatal piglet // *Pediatr Pathol*. 1988. Vol. 8, No. 2. P. 151–162. DOI: 10.3109/15513818809022292

41. Тихонова Н.Б., Серебряков С.Н., Матевосян К.Ш., и др. Экспериментальные модели некротизирующего энтероколита новорожденных // Клиническая и экспериментальная морфология. 2014. № 4. С. 58–62.

42. Карпова И.Ю., Паршиков В.В., Проданец Н.Н., и др. Клинико-экспериментальное обоснование влияния гипоксии на стенку тонкой и толстой кишки у новорожденных // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2018. Т. 11, № 4. С. 268–274. DOI: 10.18499/2070-478X-2018-11-4-268-274

REFERENCES

1. Bazacliu C, Neu J. Necrotizing enterocolitis: long term complications. *Curr Pediatr Rev.* 2019;15(2):115–124. DOI: 10.2174/1573396315666190312093119

2. Karpova IYu, Molchanova DV, Ladygina TM. Experimental modeling of necrotizing enterocolitis: pathogenesis, predictors, prevention of the disease. *Journal of Experimental and Clinical Surgery.* 2020;13(3):293–300. (In Russ.) DOI: 10.18499/2070-478X-2020-13-3-293-300

3. Neu J, Modi N, Caplan M. Necrotizing enterocolitis comes in different forms: historical perspectives and defining the disease. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018;23(6):370–373. DOI: 10.1016/j.siny.2018.07.004

4. Gordon PV, Swanson JR. Necrotizing enterocolitis is one disease with many origins and potential means of prevention. *Pathophysiology.* 2014;21(1):13–19. DOI: 10.1016/j.pathophys.2013.11.015

5. Karpova IYu, Bugrova ML, Vasyagina TI, Karpeeva DV. Posthypoxic changes in rat offspring under the intestinal wall transformation. *Journal of Experimental and Clinical Surgery.* 2021;14(4):265–271. (In Russ.) DOI: 10.18499/2070-478X-2021-14-4-265-271

6. Vongbhavith K, Underwood MA. Intestinal perforation in the premature infant. *J Neonatal-Perinat Med.* 2017;10(3):281–289. DOI: 10.3233/NPM-16148

7. Zebrova TA, Barskaya MA, Kozin II, et al. Experimental studies on risk factors of necrotizing enterocolitis. *Russian Journal of Pediatric Surgery.* 2021;25(6):375–381. (In Russ.) DOI: 10.55308/1560-9510-2021-25-6-375-381

8. Son J, Kim D, Na JY, et al. Development of artificial neural networks for early prediction of intestinal perforation in preterm infants. *Sci Rep.* 2022;12(1):12112. DOI: 10.1038/s41598-022-16273-5

9. Ares GJ, Buonpane C, Yuan C, et al. A novel human epithelial enteroid model of necrotizing enterocolitis. *J Vis Exp.* 2019;(146):e59194. DOI: 10.3791/59194

10. Bein A, Zilbershtein A, Golosovsky M, et al. LPS induces hyper-permeability of intestinal epithelial cells. *J Cell Physiol.* 2017;232(2):381–390. DOI: 10.1002/jcp.25435

11. Li B, Zani A, Martin Z, et al. Intestinal epithelial cell injury is rescued by hydrogen sulfide. *J Pediatr Surg.* 2016;51(5):775–778. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.02.019

12. Lee C, Minich A, Li B, et al. Influence of stress factors on intestinal epithelial injury and regeneration. *Pediatr Surg Int.* 2018;34(2):155–160. DOI: 10.1007/s00383-017-4183-3

13. Wu RY, Li B, Koike Y, et al. Human milk oligosaccharides increase mucin expression in experimental necrotizing enterocolitis. *Mol Nutr Food Res.* 2019;63(3):1800658. DOI: 10.1002/mnfr.201800658

14. Dedhia PH, Bertaux-Skeirik N, Zavros Y, Spence JR. Organoid models of human gastrointestinal development and disease. *Gastroenterology.* 2016;150(5):1098–1112. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.12.042

43. Sangild P.T., Petersen Y.M., Schmidt M., et al. Preterm birth affects the intestinal response to parenteral and enteral nutrition in newborn pigs // *J Nutr.* 2002, Vol. 132, No.12. P. 3786–3794. DOI: 10.1093/jn/132.9.2673

44. Патент РФ на изобретение № 2803635/ 18.09.23. Бюл. № 26. Гаврилюк В.П., Липатов В.А., Мишина Е.С., и др. Способ лапароскопического моделирования некротического энтероколита. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=54659933>. Дата обращения: 22.09.2023

15. Schweiger PJ, Jensen KB. Modeling human disease using organotypic cultures. *Curr Opin Cell Biol.* 2016;43:22–29. DOI: 10.1016/j.ccb.2016.07.003

16. Kretzschmar K, Clevers H. Organoids: modeling development and the stem cell niche in a dish. *Dev Cell.* 2016;38(6):590–600. DOI: 10.1016/j.devcel.2016.08.014

17. Shiloh RL, Jessica S, Huiyu G, et al. Loss of murine Paneth cell function alters the immature intestinal microbiome and mimics changes seen in neonatal necrotizing enterocolitis. *PLoS One.* 2018;13(10):204967. DOI: 10.1371/journal.pone.0204967

18. Senger S, Ingano L, Freire R, et al. Human fetal-derived enterospheres provide insights on intestinal development and a novel model to study necrotizing enterocolitis (NEC). *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2018;5(4):549–556. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.01.014

19. Warner BB, Tarr PI. Necrotizing enterocolitis and preterm infant gut bacteria. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(6):394–399. DOI: 10.1016/j.siny.2016.06.001

20. Li B, Lee C, Cadete M, et al. Neonatal intestinal organoids as an *ex vivo* approach to study early intestinal epithelial disorders. *Pediatr Surg Int.* 2019;35(1):3–7. DOI: 10.1007/s00383-018-4369-3

21. Sulisty A, Rahman A, Biouss G, et al. Animal models of necrotizing enterocolitis: review of the literature and state of the art. *Innov Surg Sci.* 2018;2(3):87–92. DOI: 10.1515/iss-2017-0050

22. Ganji N, Li B, Lee C, et al. Necrotizing enterocolitis: state of the art in translating experimental research to the bedside. *Eur J Pediatr Surg.* 2019;29(4):352–360. DOI: 10.1055/s-0039-1693994

23. Rusthoven E, van der Vlugt ME, van Lingen-van Bueren LJ, et al. Evaluation of intraperitoneal pressure and the effect of different osmotic agents on intraperitoneal pressure in children. *Perit Dial Int.* 2005;25(4):352–356. DOI: 10.1177/089686080502500409

24. Pisklavov AB, Fedorov DA, Novikov BM. Opyt lecheniya novorozhdennykh s nekroti-ziruyushchim ehnterokolitom s uchetom pokazatelei vnutribryushnogo davleniya. *Russian Journal of Pediatric Surgery.* 2012;(2):27–29. (In Russ.)

25. Baregamian N, Rychahou PG, Hawkins HK, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase pathway regulates hypoxia-inducible factor-1 to protect from intestinal injury during necrotizing enterocolitis. *Surgery.* 2007;142(2):295–302. DOI: 10.1016/j.surg.2007.04.018

26. Lopez CM, Sampah MES, Duess JW, et al. Models of necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol.* 2023;47(1):151695. DOI: 10.1016/j.semperi.2022.151695

27. Zani A, Zani-Ruttenstock E, Peyvandi F, et al. A spectrum of intestinal injury models in neonatal mice. *Pediatr Surg Int.* 2016;32(1):65–70. DOI: 10.1007/s00383-015-3813-x

28. Ginzel M, Feng X, Kuebler JF, et al. Dextran sodium sulfate (DSS) induces necrotizing enterocolitis-like lesions in neonatal mice. *PLoS One.* 2017;12(8):182732. DOI: 10.1371/journal.pone.0182732

29. Nolan LS, Wynn JL, Good M. Exploring clinically-relevant experimental models of neonatal shock and necrotizing enterocolitis. *Shock*. 2020;53(5):596–604. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001507
30. McCarthy R, Martin-Fairey C, Sojka DK, et al. Mouse models of preterm birth: suggested assessment and reporting guidelines. *Biol Reprod*. 2018;99(5):922–937. DOI: 10.1093/biolre/iocy109
31. Caplan MS, Robinson DT. Linking fat intake, the intestinal microbiome, and necrotizing enterocolitis in premature infants. *Pediatr Res*. 2015;77(1):121–126. DOI: 10.1038/pr.2014.155
32. Gonçalves FL, Gallindo RM, Soares LM, et al. Validation of protocol of experimental necrotizing enterocolitis in rats and the pitfalls during the procedure. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2013;28(S1):19–25. DOI: 10.1590/S0102-86502013001300005
33. Nadler EP, Dickinson E, Knisely A, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis. *J Surg Res*. 2000;92(1):71–77. DOI: 10.1006/jsre.2000.5877
34. Matevosyan KS, Kozlovsky YuE, Aleksankin AP, et al. Aspects of modeling neonatal necrotizing enterocolitis in Sprague-Dawley rats. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2015;4(3):81–81. (In Russ.) DOI: 10.18499/2225-7357-2015-4-3-81-81
35. DeWitt AG, Charpie JR, Donohue JE, et al. Splanchnic near-infrared spectroscopy and risk of necrotizing enterocolitis after neonatal heart surgery. *Pediatr Cardiol*. 2014;35(7):1286–1294. DOI: 10.1007/s00246-014-0931-5
36. Clark DA, Thompson JE, Weiner LB, et al. Necrotizing enterocolitis: intraluminal biochemistry in human neonates and a rabbit model. *Pediatr Res*. 1985;19:919–921. DOI: 10.1203/00006450-198509000-00010
37. Bozeman AP, Dassinger MS, Birusingh RJ, et al. An animal model of necrotizing enterocolitis (NEC) in preterm rabbits. *Fetal Pediatr Pathol*. 2013;32(2):113–122. DOI: 10.3109/15513815.2012.681426
38. Babich II, Melnikov YuN. How to define the level of intestinal resection in complicated forms of intestinal obstruction in children. *Russian Journal of Pediatric Surgery*. 2020;24(2):78–82. (In Russ.) DOI: 10.18821/1560-9510-2020-24-2-78-82
39. Shreyas KR, Qinghe M, Benjamin DS, et al. Enteral administration of bacteria fermented formula in newborn piglets: a high fidelity model for necrotizing enterocolitis. *PLoS One*. 2018;13(7):201172. DOI: 10.1371/journal.pone.0201172
40. Sibbons P., Spitz L., van Velzen D., Bullock G.R. Relationship of birth weight to the pathogenesis of necrotizing enterocolitis in the neonatal piglet. *Pediatr Pathol*. 1988;8(2):151–162. DOI: 10.3109/15513818809022292
41. Tikhonova NB, Serebriakov SN, Matevosian KSh, et al. Experimental models of neonatal necrotizing enterocolitis. *Clinical and Experimental Morphology*. 2014;4(4):58–62. (In Russ.)
42. Karpova IYu, Parshikov VV, Prodanets NN, et al. Clinical and experimental substantiation of the effect of hypoxia on the wall of the small and large intestine in newborns. *Journal of Experimental and Clinical Surgery*. 2018;11(4):268–274. (In Russ.) DOI: 10.18499/2070-478X-2018-11-4-268-274
43. Sangild PT, Petersen YM, Schmidt M, et al. Preterm birth affects the intestinal response to parenteral and enteral nutrition in newborn pigs. *J Nutr*. 2002;132(12):3786–3794. DOI: 10.1093/jn/132.9.2673
44. Patent RU № 2803635/ 18.09.23. Byul. No. 26. Gavriiliuk VP, Lipatov VA, Mishina ES, et al. *Method of laparoscopic modeling of necrotizing enterocolitis* (In Russ.) [cited: 2023 Sept 22]. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=54659933>.

ОБ АВТОРАХ

***Дмитрий Андреевич Северинов**, канд. мед. наук;
адрес: Россия, 305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3;
ORCID: 0000-0003-4460-1353; eLibrary SPIN: 1966-0239;
e-mail: dmitriy.severinov.93@mail.ru

Вячеслав Александрович Липатов, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0001-6121-7412; eLibrary SPIN: 1170-1189;
e-mail: drli@yandex.ru

Василий Петрович Гаврилюк, д-р мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0003-4792-1862; eLibrary SPIN: 2730-4515;
e-mail: wvas@mail.ru

Екатерина Александровна Иванова;
ORCID: 0000-0003-1729-7835;
e-mail: katerinaivanovarus@gmail.com

AUTHORS' INFO

***Dmitriy A. Severinov**, MD, Cand. Sci. (Med.);
address: 3 K. Marksa st., Kursk, 305041, Russia;
ORCID: 0000-0003-4460-1353; eLibrary SPIN: 1966-0239;
e-mail: dmitriy.severinov.93@mail.ru

Viacheslav A. Lipatov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
ORCID: 0000-0001-6121-7412; eLibrary SPIN: 1170-1189;
e-mail: drli@yandex.ru

Vassili P. Gavriilyuk, MD, Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor;
ORCID: 0000-0003-4792-1862; eLibrary SPIN: 2730-4515;
e-mail: wvas@mail.ru

Ekaterina A. Ivanova; ORCID: 0000-0003-1729-7835;
e-mail: katerinaivanovarus@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author