

УДК 611.85+57.086



Разработка методики культивирования эксплантов органа Корти *in vitro* с использованием полиэтиленимина

Е.В. Поликарпов¹, Е.А. Смолярчук¹, Е.М. Григоревских¹, Е.Ю. Ярошенко¹,
С.И. Павлова², Д.А. Кудлай^{1,3,4}, К.В. Савостьянов⁵, З.В. Бакаева^{1,5}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Россия, 428015, г. Чебоксары, Московский пр-кт, д. 15

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Россия, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

⁴ Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» Федерального медико-биологического агентства, Россия, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24

⁵ Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 119991, г. Москва, Ломоносовский пр-кт, д. 2, стр. 1

E-mail: polikarpovev12@gmail.com

Получена 16.12.2025

После рецензирования 15.05.2026

Принята к печати 19.06.2026

Цель. Разработать методику культивирования эксплантов органа Корти *in vitro* с использованием полиэтиленимина (PEI) в качестве адгезивного субстрата. В исследовании оценивалась перспективность применения PEI в качестве эффективной альтернативы существующим субстратам для культивирования образцов внутреннего уха *in vitro*.

Материалы и методы. В работе использовали экспланты органа Корти, полученные от новорождённых мышей (P1–P2). Стеклоклеточные поверхности обрабатывали раствором PEI с последующей обработкой фетальной бычьей сывороткой. Для оценки пригодности использования разработанной модели эксплантов в изучении ототоксичности проводили обработку гентамицином. В качестве ототоксического использовали изоликивиритигенин. В исследовании проводился морфологический анализ изображений, полученных с помощью конфокальной флуоресцентной микроскопии. В результате оценена выживаемость волосковых клеток после окрашивания фаллоидином, меченным Alexa Fluor 488. Проведена оценка величины стереоцилиарных углов наружных волосковых клеток.

Результаты. PEI-покрытие обеспечило надежную фиксацию эксплантов органа Корти (до 72 ч) без признаков открепления от культуральной поверхности. Образцы сохраняли прочность прикрепления через два этапа смены культуральной среды и последующие 16 циклов промывки в процессе флуоресцентного окрашивания. Морфологический анализ контрольной группы не выявил признаков токсического воздействия PEI на волосковые клетки. Органотипическая модель с использованием PEI-покрытия позволила воспроизвести классическую картину гентамицин-индуцированной ототоксичности с базально-апикальным градиентом повреждения. Впервые с помощью данной модели продемонстрирован ототоксический эффект изоликивиритигенина (1 мкМ) против гентамицин-индуцированной ототоксичности (500 мкМ), наиболее выраженный в среднем отделе улитки как для внутренних, так и для наружных волосковых клеток ($p < 0,0001$ для обоих сравнений с группой гентамицина).

Для цитирования: Е.В. Поликарпов, Е.А. Смолярчук, Е.М. Григоревских, Е.Ю. Ярошенко, С.И. Павлова, Д.А. Кудлай, К.В. Савостьянов, З.В. Бакаева. Разработка методики культивирования эксплантов органа Корти *in vitro* с использованием полиэтиленимина. *Фармация и фармакология*. 2026;14(4):326-337. DOI: 10.19163/2307-9266-2026-14-4-326-337

© Е.В. Поликарпов, Е.А. Смолярчук, Е.М. Григоревских, Е.Ю. Ярошенко, С.И. Павлова, Д.А. Кудлай, К.В. Савостьянов, З.В. Бакаева, 2026

For citation: E.V. Polikarpov, E.A. Smolyarchuk, E.M. Grigorevskikh, E.Yu. Yaroshenko, S.I. Pavlova, D.A. Kudlay, K.V. Savostyanov, Z.V. Bakaeva. Development of a method for *in vitro* cultivation of Corti's organ explants using polyethyleneimine. *Pharmacy & Pharmacology*. 2026;14(4):326-337. DOI: 10.19163/2307-9266-2026-14-4-326-337

Заключение. Впервые показана эффективность PEI как альтернативного субстрата для культивирования образцов внутреннего уха, продемонстрировавшего оптимальные адгезивные свойства и с отсутствием собственной токсичности. Разработанная нами методика представляет перспективный подход для исследований ототоксичности и скрининга отопротекторов.

Ключевые слова: ототоксичность; отопротекция; волосковые клетки; эксплант органа Корти; полиэтиленимин; изоликиритигенин

Список сокращений: PEI — полиэтиленимин; HBSS — сбалансированный солевой раствор Хэнкса; FBS — раствор фетальной бычьей сыворотки; ИЛГ — изоликиритигенин; НВК — наружные волосковые клетки; ВВК — внутренние волосковые клетки.

Development of a method for *in vitro* cultivation of Corti's organ explants using polyethyleneimine

E.V. Polikarpov¹, E.A. Smolyarchuk¹, E.M. Grigorevskikh¹, E.Yu. Yaroshenko¹,
S.I. Pavlova², D.A. Kudlay^{1,3,4}, K.V. Savostyanov⁵, Z.V. Bakaeva^{1,5}

¹ Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
8 Trubetskaya Str., Bldg. 2, Moscow, Russia, 119991

² Chuvash State University,
15 Moskovsky Ave., Cheboksary, Russia, 428015

³ Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskie Gory, Bldg. 3, GSP-1, Moscow, Russia, 119991

⁴ State Research Center Institute of Immunology,
24 Kashirskoe Hwy, Moscow, Russia, 115522

⁵ National Medical Research Center for Children's Health,
2 Lomonosovsky Ave., Bldg. 1, Moscow, Russia, 119991

E-mail: polikarpovev12@gmail.com

Received 16 Dec 2025

After peer review 15 May 2026

Accepted 19 June 2026

The aim. To develop a method for *in vitro* cultivation of Corti's organ explants using polyethyleneimine (PEI) as an adhesive substrate. The study evaluated the potential of PEI as an effective alternative to existing substrates for *in vitro* cultivation of inner ear samples.

Materials and methods. Explants of Corti's organ from newborn mice (P1–P2) were used. Glass culture surfaces were treated with a PEI solution followed by treatment with fetal bovine serum. To assess the suitability of the developed explant model for ototoxicity studies, treatment with gentamicin was performed. Isoliquiritigenin was used as an otoprotector. Morphological analysis of images obtained by confocal fluorescence microscopy was conducted. The survival of hair cells after staining with phalloidin labeled with Alexa Fluor 488 was evaluated. The magnitude of stereociliary angles of outer hair cells was assessed.

Results. PEI-coating provided reliable fixation of Corti's organ explants (up to 72 h) without signs of detachment from the culture surface. The samples maintained their attachment strength through two media changes and subsequent 16 washing cycles during fluorescent staining. Morphological analysis of the control group revealed no signs of toxic effects of PEI on hair cells. The organotypic model using PEI coating reproduced the classic pattern of gentamicin-induced ototoxicity with a basal-apical gradient of damage. For the first time, this model demonstrated the otoprotective effect of isoliquiritigenin (1 μ M) against gentamicin-induced ototoxicity (500 μ M), most pronounced in the middle turn of the cochlea for both inner and outer hair cells ($p < 0.0001$ for both comparisons with the gentamicin group).

Conclusion. The efficacy of PEI as an alternative substrate for cultivating inner ear samples has been demonstrated for the first time, showing optimal adhesive properties and no inherent toxicity. The developed method represents a promising approach for ototoxicity research and otoprotector screening.

Keywords: ototoxicity; otoprotection; hair cells; Corti's organ explant; polyethyleneimine; isoliquiritigenin

Abbreviations: PEI — polyethyleneimine; HBSS — Hank's balanced salt solution; FBS — fetal bovine serum; ILG — isoliquiritigenin; OHC — outer hair cells; IHC — inner hair cells.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) нарушения слуха затрагивают более 5% населения мира, что составляет около 466 млн. человек [1]. Наиболее распространённой формой этой патологии

является сенсоневральная тугоухость [2]. К её развитию могут приводить различные факторы, такие как продолжительное воздействие интенсивного шума, возрастные изменения, инфекционные и генетические заболевания [3]. Кроме того, одной из частых причин остаётся

лекарственно-индуцированная ототоксичность. Более 600 лекарственных препаратов в той или иной степени обладают ототоксичным эффектом [4]. К числу наиболее ототоксичных агентов, широко используемых в медицине, относятся аминогликозидные антибиотики, химиотерапевтические препараты на основе платины, петлевые диуретики, макролидные антибиотики и противомаларийные средства [5, 6]. Несмотря на хорошо доказанную эффективность вышеперечисленных средств в борьбе с инфекциями и злокачественными новообразованиями, применение этих препаратов сопряжено с высоким риском развития слуховых и вестибулярных расстройств. Тем не менее, в некоторых случаях польза от их применения перевешивает потенциальные риски.

Риск ототоксичности существует для всех возрастных групп. Несмотря на то, что основные ототоксичные препараты хорошо известны, распространённость этой нежелательной реакции остаётся не исследованной. Главной диагностической проблемой является позднее выявление ототоксичности, которое обычно происходит уже при сформировавшейся тяжёлой тугоухости с поражением речевых частот. Одной из причин является отсутствие настороженности в отношении отологических симптомов, поскольку они не представляют прямой угрозы для жизни пациента [7]. Однако последствия такой терапии могут существенно снизить качество жизни пациента в долгосрочной перспективе. В педиатрической практике ототоксичность является очень серьёзной проблемой, поскольку даже умеренная потеря слуха может существенно влиять на развитие речи и когнитивных навыков, такие дети испытывают трудности в обучении и социальной адаптации [8].

Отсутствуют одобренные отопротекторы для предотвращения тугоухости, вызванной аминогликозидными антибиотиками. Эти препараты остаются незаменимыми в лечении многих опасных заболеваний, таких как туберкулёз, сепсис, муковисцидоз и инфекции новорождённых. Частота развития ототоксичности после терапии аминогликозидами варьирует в зависимости от дозировки, пути введения, чувствительности аудиологических тестов и других факторов, и в среднем составляет от 7 до 90%. Среди аминогликозидов уровень ототоксичности различается. Например, канамицин проявляет более выраженное кохлеотоксическое действие по сравнению со стрептомицином. Стрептомицин оказывает преимущественное вестибулотоксичное воздействие при минимальном влиянии на слух [9].

Для оценки эффективности потенциальных отопротекторов необходимы адекватные

экспериментальные модели. На сегодняшний день использование эксплантов органа Корти является незаменимым подходом в изучении ототоксичного и отопротективных эффектов веществ. При работе с эксплантами в определённой степени удаётся моделировать реальные условия их существования. Однако, несмотря на это в условиях культуральной среды происходит неизбежное изменение фенотипа клеток культивируемых тканей. В связи с этим клеточные реакции могут не полностью соответствовать наблюдаемым процессам в условиях *in vivo*. Это является основным ограничением, с которым сталкиваются исследователи при использовании модели культуры эксплантов органа Корти. Таким образом, параметры протоколов выделения и культивирования клеток могут существенно влиять на результаты экспериментов [10].

Одним из факторов успешного культивирования *in vitro* является природа адгезивного субстрата, покрывающего поверхность культуральной посуды. Выполняя роль аналога внеклеточного матрикса, такой субстрат должен быть биосовместимым и обеспечивать надёжную фиксацию образца [11]. Необходимо, чтобы образцы оставались прикреплёнными к культуральной посуде, выдерживая многократные этапы промывки, при которых возникает сдвигающие силы. Проблема открепления и «всплытия» при культивировании остаётся важной методологической проблемой при работе с эксплантами внутреннего уха [12]. Для покрытия чаще всего используют положительно заряженные полимеры, такие как поли-L/D-лизин, поли-L-орнитин, а также очищенные молекулы — коллаген, ламинин [12, 13]. Также широко применяются коммерчески доступные клеточные клеи [14]. Тем не менее продолжается поиск более эффективных решений для улучшения прикрепления эксплантов и сохранения их целостности в процессе культивирования.

В основе данной работы лежит разработка методики культивирования эксплантов органа Корти *in vitro* с использованием полиэтиленimina (PEI) в качестве адгезивного субстрата. PEI показал пригодность и высокую адгезивную активность при использовании в других *in vitro* системах [15, 16].

В связи с этим **ЦЕЛЬЮ** исследования была оценка перспективности применения PEI в качестве эффективной альтернативы существующим субстратам для работы с объектами внутреннего уха.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Новорождённых мышей (P1–P2) линии C57BL/6 получали и содержали в виварии Института биологии гена РАН (ИБГ РАН) в условиях постоянного

доступа к воде и пище. Температуру воздуха поддерживали в диапазоне 22–24°C, световой цикл (день/ночь) — 14/10 ч. В экспериментах использовали 12 мышей-самцов на 1–2-й день после рождения (P1–P2). До момента начала эксперимента детёныши содержались с самкой на естественном вскармливании.

Эксперименты на животных проводились в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, а также Правилами надлежащей лабораторной практики, утверждёнными приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 4 января 2016 года. Протокол исследования одобрен ЛНЭК ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, протокол № 05 от 15 мая 2025 г.

Подготовка хирургического инструментария и лабораторной посуды

Стерилизация микрохирургических инструментов, предназначенных для препарирования костных структур черепа и вскрытия костной капсулы улитки, а также покровных стекол (14 мм), проводилась путём автоклавирования. Асептическая обработка вспомогательных инструментов и рабочих поверхностей осуществлялась с использованием 70% водного раствора этанола. Микродиссекцию поверхности улитки проводили при помощи микродиссекционного ножа (Fine Science Tools, № 10056-12) и микропинцетов Dumont #4 (Fine Science Tools, № 11241-30), Dumont #55 (Fine Science Tools, № 11295-51). Для изоляции улитки в целом и кортиева органа из толщи височной кости проводилась предварительная подготовка стерильных чашек Петри (Greiner Bio-One, № 627160), в которые наливали охлаждённый сбалансированный солевой раствор Хэнкса (HBSS), не содержащий ионов кальция и магния (pH=7,4; Gibco, Thermo Fisher Scientific, № 14185-052). Для повышения жизнеспособности тканей в процессе длительной диссекции осуществлялось хранение чашек с образцами на охлаждённой поверхности с использованием хладагента на протяжении всей процедуры. С целью обеспечения надёжной фиксации эксплантов органа Корти проводилась обработка покровных стекол (Ted Pella, № 26023) PEI (Sigma-Aldrich, № P3143). Покровные стёкла предварительно размещали в лунках конфокальных чашек. На первом этапе на покровные стекла наносили 200 мкл раствора PEI в концентрации 1 мг/мл, после чего их инкубировали в течение 1 ч при комнатной

температуре для создания слоя, способствующего адгезии эксплантов. По истечении указанного времени проводили двукратную отмывку стекол деионизованной водой для полного удаления не связавшегося с поверхностью полимера. На заключительном этапе подготовки подложек для непосредственного улучшения адгезивных свойств и повышения биосовместимости каждое покровное стекло покрывали 200 мкл 10% раствора фетальной бычьей сыворотки (FBS) в солевом растворе HBSS, содержащем кальций и магний, с последующей инкубацией в течение 2 ч.

Процедура изоляции улитки

Для изоляции улитки проводили декапитацию особей с последующим помещением головы в стерильную чашку Петри. Для предотвращения контаминации образцов проводилась наружная обработка головы 70% водным раствором этанола. После этого голову переносили в чашку для препарирования, содержащую 3 мл охлаждённого раствора HBSS, где осуществлялись все последующие манипуляции. На следующем этапе производилось удаление кожи и мягких тканей, покрывающих свод черепа, для чего использовалось хирургическое лезвие или пружинные ножницы. Затем, с применением того же хирургического лезвия, выполнялось осторожное вскрытие черепной коробки по линии сагиттального шва. После обеспечения доступа к полости черепа, для осторожного отделения головного мозга от костных структур черепа и визуализации улиток использовался микрохирургический шпатель. С помощью стереоскопического микроскопа (Olympus SZX7, Olympus Corporation, Япония, увеличение 8х–16х) определялась локализация отических капсул. С помощью микропинцета Dumont #4 и микрохирургического ножа проводилось рассечение синхондрозов и швов черепа для изоляции улиток [17].

Препарирование поверхностей улитки

На протяжении всего этапа препарирования поверхностей улитки использовался микропинцет Dumont #55. Производилось удаление хрящевой стенки лабиринта улитки. Далее осуществляли отделение органа Корти с сосудистой полоской от модиолуса. Сосудистая полоска аккуратно удалялась от кортиева органа, затем аккуратно удалялись тикториальная и рейснерова мембраны. Выделенный кортиев орган с помощью микрохирургического ножа делили на три равные части, соответствующие базальному, среднему и апикальному отделам. Образцы с помощью пипетки и носика на 200 мл переносились на покровное стекло в конфокальной чашке с культуральной средой.

Культивирование экспланта органа Корти

Экспланты культивировали в среде DMEM/F12 (Gibco, Thermo Fisher Scientific, № 11320033) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) (Gibco, Thermo Fisher Scientific, № A5256701), 1× Глутамакса (Gibco, Thermo Fisher Scientific, № 35050061) и 134 мкМ ампициллина (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, № 11593-027). Образцы помещали на покровные стёкла, предварительно покрытые водным раствором полиэтиленimina (PEI, 1 мг/мл) (Sigma-Aldrich, № P3143). Позицию эксплантов контролировали под стереоскопическим микроскопом (Olympus SZX7, Olympus Corporation, Япония), добиваясь чёткой визуализации трёх рядов наружных и одного ряда внутренних волосковых клеток (при увеличении 56×). Для улучшения адгезии экспланта к покрытию использовали метод кратковременного удаления среды: культуральную жидкость полностью удаляли из культуральной чашки (Mattek, № P35G-1.5-14-C). Этот шаг способствовал плотному прилеганию экспланта к поверхности, после чего среду немедленно возвращали. Чашки с закреплёнными эксплантами инкубировали в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂) в течение 24 ч перед началом обработки исследуемыми веществами (Рис. 1).

Обработка эксплантов исследуемыми веществами

Для получения стоковых растворов гентамицин (ПанЭко, № A011) растворяли в деионизированной воде, изоликиритигенин (ИЛГ) (чистота 98%, Xi'An YiyangBio-Tech Co., Китай) — в ДМСО. Стоковые растворы стерилизовали фильтрацией через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм и разбавляли в культуральной среде до нужной концентрации. Для однократной обработки эксплантов исследуемыми веществами культуральную среду аккуратно удаляли из культуральной чашки, где находились образцы на покровном стекле. Затем в чашку осторожно добавляли 2 мл культуральной жидкости с исследуемыми веществами — гентамицин (500 мкМ) или гентамицин (500 мкМ) с ИЛГ (1 мкМ), стараясь избежать открепления эксплантов с поверхности стекла. Экспланты в контрольной группе подвергались аналогичной процедуре, но без обработки исследуемыми веществами. Экспланты контрольной и исследуемых групп инкубировали в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂) в течение 24 ч. Концентрация гентамицина (500 мкМ), вызывающая потерю внутренних (ВБК) или наружных волосковых клеток (НБК), определена в предыдущих работах [18]. Также предполагалось, что концентрация ИЛГ (1 мкМ) будет вызывать отопротекторный эффект по аналогии с нейропротекцией, которая определена нами ранее [19].

Окрашивание эксплантов фаллоидином и визуализация волосковых клеток

Спустя 24 часа после обработки эксплантов органа Корти исследуемыми веществами их окрашивали фаллоидином (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, № A12379) для визуализации актиновых филаментов в стереоцилиях внутренних и наружных волосковых клеток. Экспланты фиксировали в 10% растворе формальдегида в течение 30 минут, пермеабелизировали 0,1% раствором Triton X-100 (Sigma-Aldrich, № X100) на PBS (Sigma-Aldrich, № P4417-100TAB) в течение 15 минут и блокировали 1% раствором BSA (Sigma-Aldrich, № A7906-10G) на PBS в течение 20 минут при комнатной температуре. Окрашивание эксплантов фаллоидином проводили путем инкубации эксплантов в растворе красителя в течение 30 минут при комнатной температуре. После этого образцы отмывали PBS. Конфокальную микроскопию проводили на микроскопе Nikon Eclipse Ti2 с использованием объектива Nikon S Plan Fluor ELWD 20×/0.45 (Nikon Instruments Inc., Япония). Съёмка проводилась с использованием программного обеспечения NIS-Elements.

Подсчёт волосковых клеток и измерение значения стереоцилиарных углов

Количество внутренних и наружных волосковых клеток подсчитывали на участках базиллярной мембраны длиной 100 мкм. Для каждого экспланта анализ проводили в трёх случайно выбранных областях, после чего рассчитывали среднее значение для одного экспланта. В эксперименте использовали по 8 эксплантов для каждой экспериментальной группы. Погибшие волосковые клетки отсутствовали в рядах как внутренних, так и внешних волосковых клеток. Для оценки ультраструктуры волосковых клеток применялось измерение стереоцилиарных углов наружных волосковых клеток в программном обеспечении ImageJ 1.54p. Углы V-образных стереоцилиарных пучков измерены путём проведения двух линий вдоль медиальной стороны пучков.

Статистический анализ

Для сравнения данных между группами использован однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). При обнаружении статистически значимых различий проводили попарное сравнение групп с помощью пост-хок теста Тьюки. Данные представлены в виде среднего (M) ± стандартное отклонение (SD). Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка адгезивных свойств PEI-покрытия

Экспланты культивировали в течение 72 ч в среде DMEM/F12, содержащей 10% FBS, Glutamax (1×) и 134 мкМ ампициллина. Использование PEI в качестве покрытия обеспечивало

решение ключевой методической задачи — надёжного закрепления эксплантов на поверхности культуральной посуды. Благодаря образованию прочной связи, образцы оставались стабильно зафиксированными в процессе инкубирования и многочисленных промывок растворами на этапах смены среды и флуоресцентного окрашивания. В нашей работе продемонстрирована окраска фаллоидином, на что потребовалось около 16 циклов промывки для одной конфокальной чашки. Экспланты оставались стабильно закреплёнными на протяжении всего срока культивирования (до 3 дней). В ходе экспериментов не наблюдалось смещения или всплытия эксплантов, что не только предотвратило потерю биологического материала, но и минимизировало механические повреждения, обеспечив сохранность волосковых клеток.

Влияния PEI-покрытия на жизнеспособность и ультраструктурную организацию волосковых клеток

Жизнеспособность и структурная целостность волосковых клеток подтверждались сохранением чётко организованных рядов как BVK, так и HBK, окрашенных фаллоидином с меткой AlexaFluor 488. Критически важным результатом стало отсутствие каких-либо признаков токсического воздействия PEI на сенсорные волосковые клетки. У подавляющего большинства проанализированных волосковых клеток в контрольной группе не наблюдалось признаков дегенерации. Морфологический анализ показал неизменную ультраструктуру клеток. Характерная V-образная форма кутикулярной пластинки оставалась интактной, а стереоцилии сохраняли своё нормальное строение и ориентацию (Рис. 2А). Это соответствует морфологической норме, что свидетельствует об адекватности предложенной модели культивирования. Для оценки пространственной организации стереоцилий измеряли углы их V-образного пучка в трёх анатомических отделах улитки (апикальном, среднем, базальном), каждый из которых содержал три ряда HBK. Статистический анализ включал два этапа. На первом этапе с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) установили отсутствие значимых различий между рядами HBK (1, 2, 3) внутри каждого из отделов (для всех отделов $p > 0,05$), что свидетельствует об отсутствии разницы в значении углов, образованных V-образным пучком стереоцилий внутри отделов (см. Рис. 2А). На втором этапе, после объединения данных по рядам, сравнивали средние значения углов между отделами. Однофакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимые различия ($p < 0,0001$). Последующий пост-хок анализ с применением критерия Тьюки подтвердил наличие статистически значимых различий между всеми тремя отделами ($p < 0,001$

для одного и $p < 0,0001$ для двух остальных попарных сравнений). Таким образом, нами установлен чёткий базально-апикальный градиент: угол V-образного пучка стереоцилий закономерно увеличивался от апикального отдела к базальному (Рис. 2Б).

Гентамицин-индуцированная ототоксичность и отопротекторный эффект изоликивритигенина

Воздействие 500 мкМ гентамицина в течение 24 часов вызывало выраженные дегенеративные изменения в эксплантах органа Корти в сравнении с контрольной группой (Рис. 3А, 3Г, 3Ж). Гентамицин-индуцированная токсичность проявлялась массовой потерей как HBK, так и BVK (Рис. 3Б, 3Д, 3З). В ответ на гентамицин потеря HBK происходила по градиенту от базального завитка улитки к апикальному, причем HBK базального завитка проявляли себя как наиболее чувствительные (см. Рис. 3З), а HBK апикального завитка — наименее чувствительные (см. Рис. 3Б). Конфокальная микроскопия выявила значительное нарушение морфологии волосковых клеток: отмечались разрушение стереоцилий и дезинтеграция V-образных пучков. Количественный анализ, проводимый путём ручного подсчёта, подтвердил достоверное снижение количества волосковых клеток при обработке гентамицином по сравнению с контрольной группой, культивировавшейся в среде без гентамицина. Сочетанное применение 1 мкМ ИЛГ и 500 мкМ гентамицина продемонстрировало выраженный отопротекторный эффект. В группе комбинированной обработки морфология сенсорного эпителия существенно сохранена по сравнению с группой, получавшей только гентамицин во всех завитках улитки. Наблюдалось сохранение целостности рядов волосковых клеток (Рис. 3В, 3Е, 3И). Однако стереоцилиарные пучки в группе гентамицина и ИЛГ не сохраняли характерную V-образную организацию.

Количественная оценка выживаемости волосковых клеток показала, что ИЛГ повышал количество сохраненных клеток, снижая уровень их гибели, индуцированной гентамицином. На рисунке 4 изображены количественные данные BVK (Рис. 4А) и HBK (Рис. 4Б) для апикального, среднего и базального отделов улитки.

В апикальном отделе количество BVK в контрольной группе составило $13,0 \pm 0,8$. Обработка гентамицином не приводила к достоверной потере BVK: в группе «Гентамицин» их количество составило $11,1 \pm 1,2$, в группе «Гентамицин+ИЛГ» — $13,6 \pm 1,1$. В то же время гентамицин вызывал значительную потерю числа HBK до $31,1 \pm 1,7$ ($p < 0,0001$ по сравнению с контролем), однако в группе с ИЛГ отмечалось практически полное сохранение HBK ($43,4 \pm 2,8$; $p < 0,0001$ по сравнению с гентамицином).

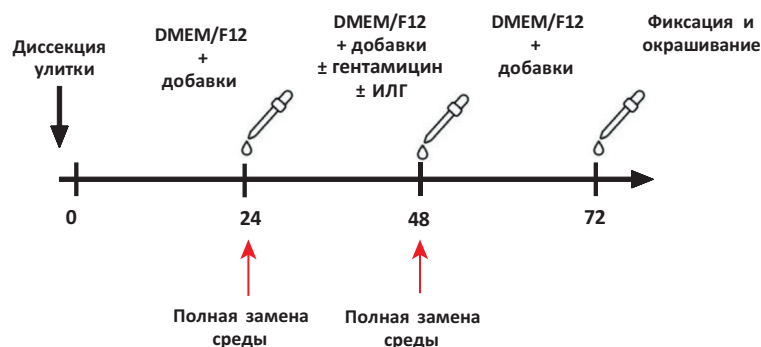


Рисунок 1 — Временная шкала эксперимента, отображающая последовательность и продолжительность различных воздействий в культуре эксплантов органа Корти.

Примечание: культуральная среда для эксплантов состоит из питательной среды DMEM/F12 и добавок — фетальная бычья сыворотка 10% (FBS), GlutaMax, ампициллин. Каждые 24 часа образцы подвергались механическому воздействию, связанному со сменой культуральной среды. Окончательный этап фиксации и окрашивания включал в себя 16 циклов промывки образцов. Общее число циклов составило 18.

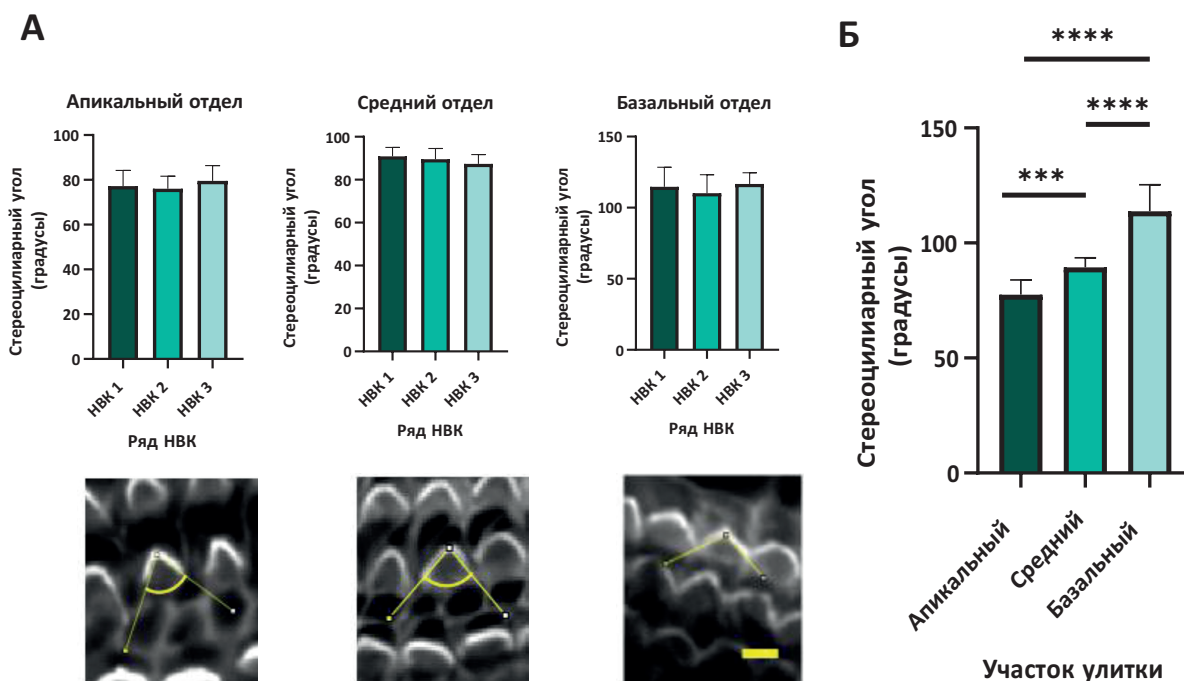


Рисунок 2 — Количественный анализ стереоцилиарного угла наружных волосковых клеток.

Примечание: А — значения углов в пределах каждого отдела; Б — сравнение средних значений между отделами; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$; НВК — наружные волосковые клетки; НВК 1–3 — ряды наружных волосковых клеток. Масштабная линейка 5 мкм.

В среднем отделе в контрольной группе количество ВВК составляло $12,9 \pm 2,0$. Применение гентамицина вызывало резкую гибель ВВК, снижая их количество до $2,0 \pm 1,3$ ($p < 0,0001$). Защитный эффект ИЛГ был выраженным: в группе «Гентамицин+ИЛГ» количество ВВК достоверно выше и составляло $10,8 \pm 1,0$ ($p < 0,0001$ по сравнению с гентамицином). Аналогичная динамика наблюдалась для НВК: контроль — $39,8 \pm 7,1$, гентамицин — $16,5 \pm 1,6$ ($p < 0,0001$ по сравнению с контролем), гентамицин+ИЛГ — $30,0 \pm 1,3$ ($p < 0,0001$ по сравнению с гентамицином).

Наиболее выраженные повреждения наблюдались в базальном отделе. Количество ВВК в контроле — $13,2 \pm 0,7$. В группе «Гентамицин»

наблюдалась полная потеря ВВК ($p < 0,0001$ по сравнению с контролем), тогда как на фоне применения ИЛГ выживаемость клеток частично сохранена ($5,8 \pm 1,6$) ($p < 0,0001$ по сравнению с группой гентамицина). Количество НВК в контроле составляло $42,6 \pm 3,1$. Гентамицин приводил к их полной гибели ($p < 0,0001$ по сравнению с контролем), в то время как в группе «Гентамицин+ИЛГ» сохранялось $3,5 \pm 1,3$ НВК ($p < 0,01$ по сравнению с гентамицином).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ИЛГ в концентрации 1 мкМ обладает способностью защищать волосковые клетки органа Корти от ототоксического действия 500 мкМ гентамицина в условиях *in vitro*.

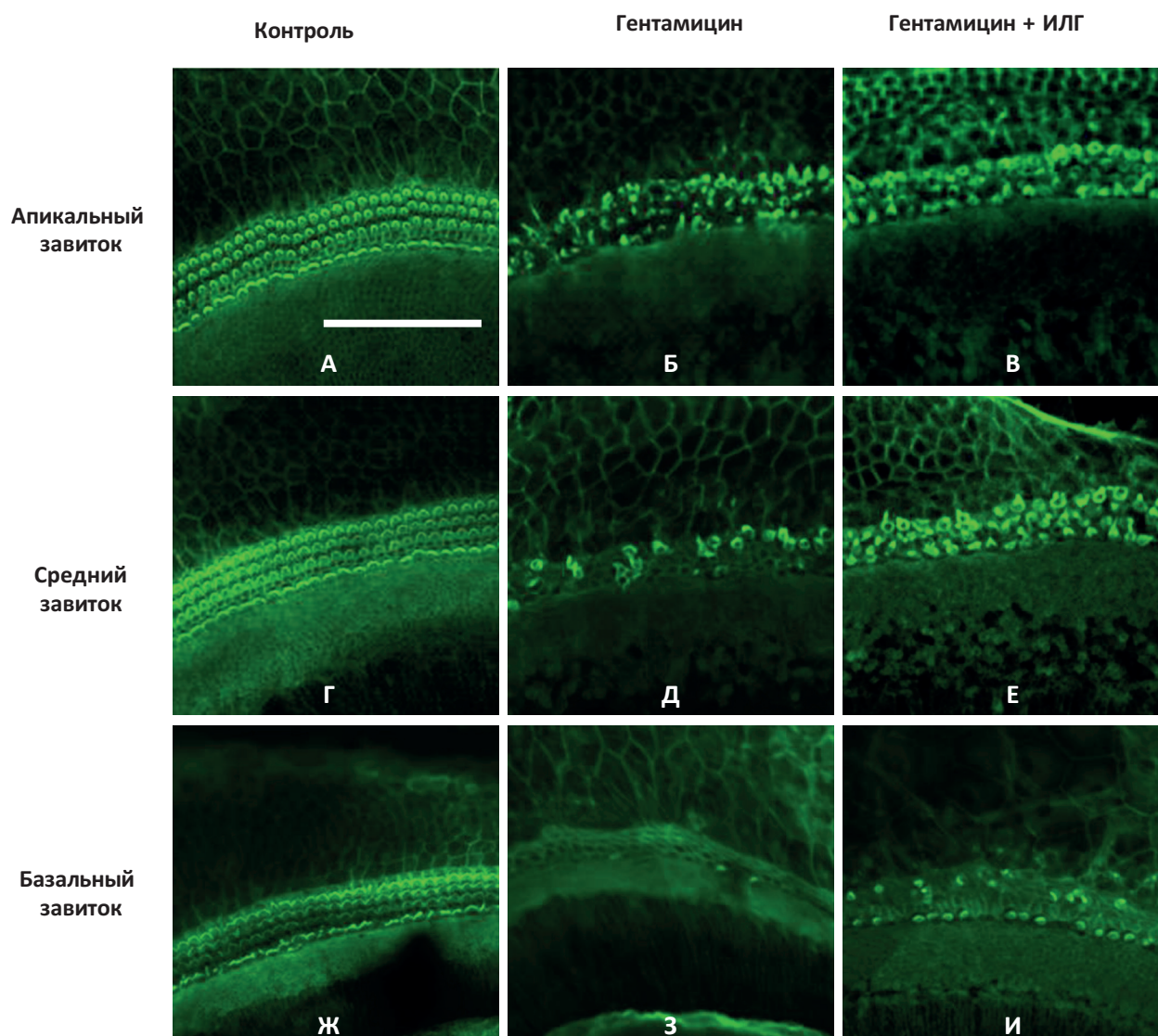


Рисунок 3 — Микроскопические изображения эксплантов органа Корти, окрашенных фаллоидином.

Примечание: представлены апикальные (А–В), средние (Г–Е) и базальные (Ж–И) области.

Обработка гентамицином (500 мкМ) вызывает массивную потерю внутренних и наружных волосковых клеток по сравнению с контролем. Сочетанное применение гентамицина и изоликвиригенина обеспечивает статистически значимое сохранение волосковых клеток. Масштабная линейка 100 мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение слуха, вызванное ототоксичными препаратами, может быть, как обратимым, так и необратимым. Необратимая тугоухость развивается в случае гибели волосковых клеток и нейронов спирального ганглия, которые не способны к регенерации у взрослых млекопитающих. Именно с этим связан необратимый характер нарушения слуха для препаратов платины и аминогликозидных антибиотиков [7]. До конца не изучены ключевые пути гибели клеток внутреннего уха при развитии ототоксичности. В связи с этим активно изучаются механизмы ототоксичности и ведутся поиски соединений с отопротективными свойствами [20, 21]. На сегодняшний день лекарственный препарат на основе тиосульфата натрия остаётся

единственным клинически одобренным отопротекторным средством во всем мире, специально предназначенным для предотвращения ототоксичности, вызванной цисплатином.

За последнее десятилетие в области культивирования волосковых клеток внутреннего уха млекопитающих *in vitro* достигнут определённый прогресс, и на сегодняшний день опубликованы различные системы культивирования. Культуральная среда является сложной многокомпонентной системой, имитирующей условия *in vivo* для слухового сенсорного эпителия. Для этого используют питательные среды с различными добавками, в том числе и ростовыми факторами [13]. Одной из проблем при культивировании эксплантов внутреннего уха

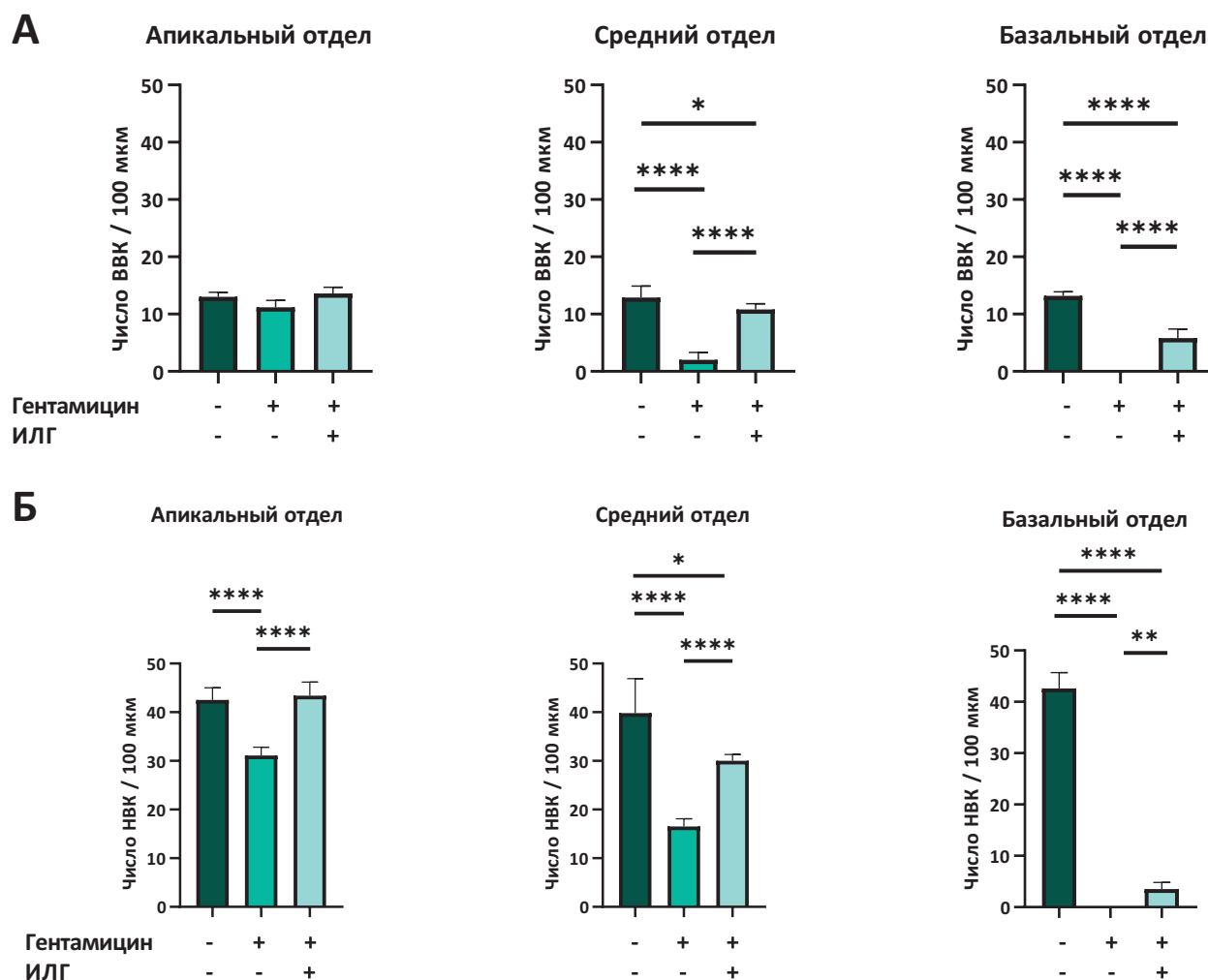


Рисунок 4 — Количественная оценка защитного эффекта изоликвиригенина против гентамицин-индуцированной ототоксичности.

Примечание: А — внутренние волосковые клетки, Б — наружные волосковые клетки. Столбчатая диаграмма показывает количество волосковых клеток в различных экспериментальных группах на 100 мкм базиллярной мембраны. Плотность волосковых клеток была подсчитана на отрезках базиллярной мембраны длиной 100 мкм. Статистическую значимость определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим тестом Тьюки; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$ между соответствующими группами.

является предотвращение отслоения и всплывания, что влияет на их целостность, реакцию на экспериментальные воздействия и последующее исследование клеток [12]. Несмотря на то, что для адгезии эксплантов органа Корти традиционно используются природные компоненты матрикса (например, коллаген, ламинин и фибронектин) или полиаминокислотные субстраты (например, поли-D/L-лизин, поли-D/L-орнитин), поиск новых альтернатив остаётся актуальным [13, 14]. В настоящем исследовании мы показываем, что синтетический PEI может также успешно использоваться в качестве адгезионного покрытия для культивирования эксплантов органа Корти.

PEI представляет собой синтетический катионный полимер с большим количеством положительных зарядов при физиологическом уровне pH. В отличие от поли-лизина

и поли-орнитина, PEI не содержит пептидных связей, что делает его чрезвычайно устойчивым к протеолизу [22]. Одним из выделяющих его преимуществ является сильная адгезионная активность, что показано в сравнительных исследованиях с другими субстратами для прикрепления [15]. Свойства PEI как субстрата для адгезии клеточных культур хорошо изучены, и он широко применяется с этой целью. Однако до сих пор нет сообщений о его использовании для культивирования эксплантов органа Корти. В нашей работе PEI успешно обеспечивал прикрепление эксплантов к культуральной поверхности. При этом важно показать, что PEI как компонент культуральной системы не является дополнительным повреждающим фактором. В контексте изучения ототоксичности и отопротекции важно, чтобы сам адгезионный субстрат не влиял на выживаемость и морфологию клеток в течение

всего периода культивирования. В этом случае повреждение и гибель волосковых клеток можно однозначно связать с действием исследуемого ототоксина. Волосковые клетки в контрольной группе сохраняли морфологические характеристики, что оценивалось по сохранности стереоцилиарных пучков и значениям, образованным ими стереоцилиарных углов. Отсутствовала дезорганизация и фрагментация стереоцилиарных пучков. Морфологическая особенность в виде уменьшения стереоцилиарного угла от базального до апикального участка соответствовала норме [23]. Это свидетельствует об отсутствии влияния PEI-покрытия на ультраструктурные особенности морфологии и токсичности в отношении волосковых клеток.

В нашем исследовании продемонстрировано, что оптимизированная нами с использованием PEI-покрытия органотипическая культура применима для изучения ототоксичности и отопротекции. Изучено поведение культуры эксплантов органа Корти, полученных по оптимизированному протоколу, в условиях гентамицин-индуцированной ототоксичности. Гентамицин является стандартным подходом для моделирования аминокликозидной ототоксичности на эксплантах органа Корти *in vitro* и применяется в исследованиях отопротекторной активности веществ [24]. В нашем эксперименте наблюдался характерный паттерн повреждения волосковых клеток, проявляющийся в виде выраженного базально-апикального градиента. Таким образом, оптимизированная органотипическая экспериментальная модель корректно воспроизводит типичные характеристики гентамицин-индуцированного повреждения, что является необходимым условием для её использования в фармакологических исследованиях.

Убедившись, что модель эксплантов органа Корти корректно воспроизводит гентамицин-индуцированную ототоксичность, мы применили её для изучения потенциальных отопротекторных свойств ИЛГ. Изоликирвигенин (ИЛГ) — природный флавоноид, привлекающий внимание благодаря своей широкой биологической активности, включая противовоспалительные и антиоксидантные свойства. Он демонстрирует нейропротективные свойства, что установлено ранее [19]. В исследовании Y. Chen и соавт. показано, что ИЛГ обладает отопротективными свойствами в модели цисплатиновой ототоксичности [25]. В настоящем исследовании впервые показано, что ИЛГ обладает также выраженным протекторным действием в отношении волосковых клеток органа Корти в условиях гентамицин-индуцированного повреждения. Аминокликозидные антибиотики увеличивают продукцию АФК при попадании в волосковую клетку через механотрансдукционные каналы,

что в конечном итоге приводит к перекисному окислению липидов и активации проапоптотических путей гибели волосковой клетки [9]. Соответственно, предположительным механизмом отопротекторного эффекта ИЛГ в данном случае может быть снижение окислительного стресса в волосковых клетках, благодаря активации сигнального пути Nrf-2 [26]. Nrf-2 отвечает за цитопротекцию, регулируя экспрессию множества белков антиоксидантной системы клетки. Таким образом, ИЛГ может представлять собой перспективный подход по предотвращению аминокликозидной ототоксичности.

Ограничения исследования

В представленной работе использовали режим относительно краткосрочного культивирования эксплантов органа Корти (до 72 часов). В связи с этим необходимы дальнейшие исследования, чтобы оценить морфофункциональные характеристики волосковых клеток при более долгосрочном культивировании с адгезионным покрытием на основе PEI. Остаётся неясным уровень экспрессии ионных каналов и рецепторов в данных условиях культивирования, что имеет принципиальное значение для интерпретации электрофизиологических исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования разработана методика культивирования *in vitro* эксплантов органа Корти с использованием PEI в качестве адгезивного субстрата. Впервые показано, что синтетический PEI является эффективным субстратом для надёжной фиксации тканевых эксплантов органа Корти. Продemonстрирована его устойчивость к многочисленным промывкам, что критически важно в процессе культивирования и для подготовки образцов к исследованию с использованием флуоресцентной микроскопии. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что PEI представляет собой перспективную и эффективную альтернативу традиционно используемым адгезивным субстратам для исследования образцов внутреннего уха. Разработанный метод может быть применим для решения актуальных научных задач, что подтверждено на модели гентамицин-индуцированной ототоксичности и оценки отопротекторного эффекта ИЛГ.

Разработанная модель культивирования эксплантов органа Корти на PEI-покрытии создает основу для решения ряда перспективных задач. Обладая сильными адгезионными свойствами, данный субстрат может быть эффективно применён в методиках по изучению ототоксичности, отопротекции, регенерации структур внутреннего уха.

БЛАГОДАРНОСТИ

Благодарим Центр коллективного пользования Института биологии гена РАН за предоставленных для исследования животных.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда поддержки молодых учёных имени Геннадия Комиссарова и Министерства здравоохранения Российской Федерации, проект № АААА19-119012590191-3. Оборудование для исследования было приобретено в рамках гранта в виде субсидии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по программе обновления инструментальной базы НИОКР (внутренний номер 08-07-S6/2021/82930).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.В. Поликарпов — определение концепции, разработка методологии, проведение исследования, валидация, написание черновика рукописи; Е.А. Смоларчук — работа с данными, администрирование проекта; Е.М. Григоревских — валидация; Е.Ю. Ярошенко — проведение исследования; С.И. Павлова — работа с данными; Д.А. Кудлай — пересмотр и редактирование рукописи; К.В. Савостьянов — администрирование проекта, привлечение финансирования; З.В. Бакаева — определение концепции, разработка методологии, проведение исследования, работа с данными, пересмотр и редактирование рукописи, научное руководство.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Chadha S., Kamenov K., Cieza A. The World Report on Hearing, 2021 // Bull World Health Organ. — 2021. — Vol. 99, No. 4. — P. 242–242A. DOI: 10.2471/BLT.21.285643
2. Sheffield A.M., Smith R.J.H. The Epidemiology of Deafness // Cold Spring Harb Perspect Med. — 2019. — Vol. 9, No. 9. — P. a033258. DOI: 10.1101/cshperspect.a033258
3. Tripathi P., Deshmukh P. Sudden Sensorineural Hearing Loss: A Review // Cureus. — 2022. — Vol. 14, No. 9. — P. e29458. DOI: 10.7759/cureus.29458
4. Ganesan P., Schmiedge J., Manchaiah V., Swapna S., Dhandayutham S., Kothandaraman P.P. Ototoxicity: A Challenge in Diagnosis and Treatment // J Audiol Otol. — 2018. — Vol. 22, No. 2. — P. 59–68. DOI: 10.7874/jao.2017.00360
5. Остроумова О.Д., Ших Е.В., Реброва Е.В., Рязанова А.Ю., Переверзев А.П. Лекарственно-индуцированная тугоухость как проявление лекарственно-индуцированной ототоксичности // Вестник оториноларингологии. — 2019 — Т.4, № 84. — С. 72–80. DOI: 10.17116/otorino20198404172. EDN: FNAVOC
6. Padelou M.P., Byelyayeva L., Malmström S., Pucheu S., Peytavy M., Laullier H., Hodges D.B. Jr, Tzafirri A.R., Naert G. Ototoxicity: A High Risk to Auditory Function That Needs to Be Monitored in Drug Development // Mol Neurosci. — 2024. — Vol. 17. — P. 1379743. DOI: 10.3389/fnmol.2024.1379743
7. Reynard P., Thai-Van H. Drug-induced hearing loss: Listening to the latest advances // Therapie. — 2024. Vol. 79, No. 2. — P. 283–295. DOI: 10.1016/j.therap.2023.10.011
8. Phillips O.R., Baguley D.M., Pearson S.E., Akeroyd M.A. The long-term impacts of hearing loss, tinnitus and poor balance on the quality of life of people living with and beyond cancer after platinum-based chemotherapy: literature review // J Cancer Surviv. — 2023. — Vol. 17, No. 1. — P. 40–58. DOI: 10.1007/s11764-022-01314-9.
9. Шубникова Е.В., Вельц Н.Ю. Ототоксичность аминогликозидов: современные представления // Антибиотики и химиотерапия. — 2022. — Т. 67, № 11–12. — С. 79–90. DOI: 10.37489/0235-2990-2022-67-11-12-79-90. EDN: FVHSRQ
10. Frisch S.M., Francis H. Disruption of Epithelial Cell-Matrix Interactions Induces Apoptosis // J Cell Biol. — 1994. — Vol. 124, No. 4. — P. 619–626. DOI: 10.1083/jcb.124.4.619
11. Freshney R.I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 6th ed. — Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2010. — 732 p. DOI: 10.1002/9780470649367
12. Levano S., Lu Y., Cortada M., Bodmer D. Whole Neonatal Cochlear Explants as an In Vitro Model // J Vis Exp. — 2023. — No. 197. DOI: 10.3791/65160
13. Zhang L.W., Cang X.H., Chen Y., Guan M.X. In Vitro Culture of Mammalian Inner Ear Hair Cells // J Zhejiang Univ-Sci B. — 2019. — Vol. 20, No. 2. — P. 170–179. DOI: 10.1631/jzus.B1700613
14. Landegger L.D., Dilwali S., Stankovic K.M. Neonatal Murine Cochlear Explant Technique as an In Vitro Screening Tool in Hearing Research // J Vis Exp. — 2017. — No. 124. — P. 55704. DOI: 10.3791/55704
15. Vancha A.R., Govindaraju S., Parsa K.V., Jasti M., González-García M., Ballesterio R.P. Use of Polyethyleneimine Polymer in Cell Culture as Attachment Factor and Lipofection Enhancer // BMC Biotechnol. — 2004. — Vol. 4. — P. 23. DOI: 10.1186/1472-6750-4-23
16. Bledi Y., Domb A.J., Linial M. Culturing Neuronal Cells on Surfaces Coated by a Novel Polyethyleneimine-Based Polymer // Brain Res Protoc. — 2000. — Vol. 5, No. 3. — P. 282–289. DOI: 10.1016/S1385-299X(00)00024-6
17. Polikarpov E.V., Kozin S.V., Smolyarchuk E., Savostyanov K., Mironov A.V., Sologova S., Chasovnikova V.V., Ereemeeva K.V., Fisenko A., Kudlay D., Bakaeva Z.

- Cochlear isolation in neonatal mice for *in vitro* and *ex vivo* models: an anatomical landmark-based protocol // Front Pharmacol. – 2026. – Vol. 17. – P. 1727526. DOI: 10.3389/fphar.2026.1727526
18. Gao K., Ding D., Sun H., Roth J., Salvi R. Kanamycin Damages Early Postnatal, but Not Adult Spiral Ganglion Neurons // Neurotox Res. – 2017. – Vol. 32, No. 4. – P. 603–613. DOI: 10.1007/s12640-017-9773-2
 19. Zgodova A., Pavlova S., Nekrasova A., Boyarkin D., Pinelis V., Surin A., Bakaeva Z. Isoliquiritigenin Protects Neuronal Cells against Glutamate Excitotoxicity // Membranes – 2022. – Vol. 12, No. 11. – P. 1052. DOI: 10.3390/membranes12111052
 20. Zhang B., Hu Y., Du H., Han S., Ren L., Cheng H., Wang Y., Gao X., Zheng S., Cui Q., Tian L., Liu T., Sun J., Chai R. Tissue Engineering Strategies for Spiral Ganglion Neuron Protection and Regeneration // J Nanobiotechnology. – 2024. – Vol. 22, No. 1. – P. 458. DOI: 10.1186/s12951-024-02742-8
 21. Qi J., Huang W., Lu Y., Yang X., Zhou Y., Chen T., Wang X., Yu Y., Sun J.Q., Chai R. Stem Cell-Based Hair Cell Regeneration and Therapy in the Inner Ear // Neurosci Bull. – 2024. – Vol. 40, No. 1. – P. 113–126. DOI: 10.1007/s12264-023-01130-w
 22. Yang M., You D., Liu G., Lu Y., Yang G., O'Brien T., Henshall D.C., Hardiman O., Cai L., Liu M., Shen S. Polyethyleneimine Facilitates the Growth and Electrophysiological Characterization of iPSC-Derived Motor Neurons // Sci Rep. – 2024. – Vol. 14, No. 1. – P. 26106. DOI: 10.1038/s41598-024-77710-1
 23. Son E.J., Wu L., Yoon H., Kim S., Choi J.Y., Bok J. Developmental gene expression profiling along the tonotopic axis of the mouse cochlea // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, No. 7. – P. e40735. DOI: 10.1371/journal.pone.0040735
 24. Draf C., Wyrick T., Chavez E., Pak K., Kurabi A., Leichtle A., Dazert S., Ryan A.F. A Screen of Autophagy Compounds Implicates the Proteasome in Mammalian Aminoglycoside-Induced Hair Cell Damage // Front. Cell Dev. Biol. – 2021. – Vol. 9. – P. 762751. DOI: 10.3389/fcell.2021.762751
 25. Chen Y., Luo X., Deng Y., Zhu G., Chu X., Zhu J., Shao S., Zhang L., Chen X., Chen Y., Lin C., Ge G., Wu S. Isoliquiritigenin Attenuates Cisplatin-Induced Hearing Loss and Ototoxicity by Activating the Keap1-Nrf2-ARE Pathway // Free Radic Biol Med. – 2025. – Vol. 241. – P. 599–616. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2025.10
 26. Qiu M., Ma K., Zhang J., Zhao Z., Wang S., Wang Q., Xu H. Isoliquiritigenin as a modulator of the Nrf2 signaling pathway: potential therapeutic implications // Front Pharmacol. – 2024. – Vol. 15. – P. 1395735. DOI: 10.3389/fphar.2024.1395735

АВТОРЫ

Поликарпов Евгений Валерьевич — ассистент кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). ORCID ID: 0000-0001-7001-1918. E-mail: polikarpovev12@gmail.com

Смолярчук Елена Анатольевна — кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). ORCID ID: 0000-0002-2615-7167. E-mail: smolyarchuk_e_a@staff.sechenov.ru

Григоревских Екатерина Михайловна — старший преподаватель кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). ORCID ID: 0000-0002-4290-4396. E-mail: grigorevskikh_e_m@staff.sechenov.ru

Ярошенко Елена Юрьевна — студент Института фармации им. Нелюбина, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). ORCID ID: 0009-0003-4771-4019. E-mail: elena.a.y.03@gmail.com

Павлова Светлана Ивановна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и биохимии ФГБОУ ВО «ЧГУ имени И.Н. Ульянова». ORCID ID: 0000-0001-9976-7866. E-mail: flavonoid@yandex.ru

Кудлай Дмитрий Анатольевич — доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры фармакологии Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); заместитель декана по научно-технологическому развитию факультета биоинженерии и биоинформатики, старший научный сотрудник факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова; ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71 ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. ORCID ID: 0000-0003-1878-4467. E-mail: kudlay_d_a@staff.sechenov.ru

Савостьянов Кирилл Викторович — доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией медицинской геномики, начальник Медико-генетического центра ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4885-4171. E-mail: 7443333@gmail.com

Бакаева Занда Валериевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова; ведущий научный сотрудник, исполняющая обязанности заведующей лабораторией нейробиологии и основ развития мозга ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2797-3270. E-mail: zv.bakaeva@gmail.com