

ОПТИМИЗИРОВАННЫЙ ПРОТОКОЛ ИЗОЛЯЦИИ УЛИТКИ НОВОРОЖДЁННЫХ МЫШЕЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМ СКРИНИНГА ОТОПРОТЕКТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ

Поликарпов Е.В.¹, Часовникова В.В.¹,
Козин С.В.¹, Бакаева З.В.^{1,2}

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия;

Ключевые слова: ототоксичность; отопротекция; кохлеарный эксплант; нейросенсорная тугоухость; аминокликозидная ототоксичность

Актуальность. Сенсоневральная тугоухость является распространённой формой нарушения слуха. Данная патология у детей может приводить к отставанию в развитии и нарушению способности к обучению и социальному взаимодействию. Причиной указанных форм нарушений слуха у детей является применение аминокликозидных антибиотиков. В связи с этим актуальной является создание экспериментальных моделей скрининга и разработка отопротекторов, позволяющих предотвратить развитие аминокликозидной ототоксичности. В области разработки отопротекторов широкое применение нашли модели *ex vivo* и *in vitro* из образцов улитки новорождённых животных. Изоляция улитки из костей черепа сопряжена с высоким риском механического повреждения отической капсулы и перепончатого лабиринта, что может отразиться на качестве выделяемых образцов. **Цель:** разработать и оптимизировать протокол выделения улитки новорождённых мышей, позволяющий сохранить морфологическую целостность отической капсулы и структур перепончатого лабиринта.

Материалы и методы. Изоляция улитки неонатальных мышей (P1-P3) из височной кости была проведена с помощью «Stereomicroscope Olympus SZX7» («Olympus Corporation»). Диссекция костей черепа осуществлялась с использованием ультратонких пинцетов Dumont #4, Dumont #55 в холодном сбалансированном солевом растворе Хэнкса (HBSS) без Ca^{2+} и Mg^{2+} . Для анализа качества получаемых образцов проводился иммуноцитохимический анализ кохлеарных эксплантов с помощью окраски волосковых клеток фаллоидином, меченным Alexa Fluor 488. Участки кохлеарного экспланта считались морфологически неповреждёнными, когда демонстрировалась сохранённая архитектура с четырьмя чётко видимыми рядами внутренних и внешних волосковых клеток.

Результаты. Для изоляции улитки мы использовали ключевые анатомические ориентиры: клиновидно-затылочный, клиновидно-каменистый и каменисто-затылочный синхондрозы, а также каменисто-чешуйчатый шов. Такой подход уменьшает вероятность чрезмерного механического влияния на отическую капсулу и структуры перепончатого лабиринта за счёт диссекции тканей по естественным границам костей черепа. Применение протокола позволило получать интактные кохлеарные экспланты с сохранённой архитектурой волосковых клеток.

Заключение. Применение разработанного протокола позволяет уменьшить риск механических повреждений отической капсулы и структур перепончатого лабиринта у новорождённых мышей. Особенно полезен данный проток для исследователей, осваивающих навык создания *in vivo* и *ex vivo* систем внутреннего уха.

* * *