

РЕГЕНЕРАЦІЙНА СЛАБКІСТЬ ВНУТРІШНЬОГО ВУХА І БІОІНЖЕНЕРНЕ ВІДНОВЛЕННЯ СЛУХУ: КОРОТКИЙ ОГЛЯД ПРОБЛЕМИ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

У попередній статті [1] коротко оглянуто сучасні уявлення щодо функції і онтогенезу внутрішнього вуха – слухового біопристрою людини з хитромудрою внутрішньою будовою. Щоправда, на тлі центральних відділів нервової системи, функція і онтогенез цього органу видаються пересічними. Саме тому, а також враховуючи мізерну кількість рецепторних клітин у вусі людини, незрозумілим залишається відсутність відновлення популяції цих клітин. Мабуть, у зв'язку із цим кількість осіб на планеті, котрі страждають розладами слуху, складає не менше 1,4 млрд [2]. У цій статті ми оглянемо дані щодо регенераційного потенціалу завитки людини, сформулюємо гіпотезу доцільності його обмеження і оглянемо сучасні напрямки вирішення цієї біомедичної проблеми.

Мета дослідження – оглянути й узагальнити наявні дані щодо регенераційного потенціалу завитки людини і шляхів вирішення проблеми відновного лікування порушень слуху.

Методи дослідження

У основних наукових базах даних здійснено пошук і відбір друкованих праць за ключовими словами «прогенітори внутрішнього вуха», «стовбурові клітини внутрішнього вуха», «порушення слуху», «регенерація внутрішнього вуха», «внутрішньозавиткові імплантанти», «стовбурові імплантаційні системи».

Результати

Відсутність самовідтворення популяції волоскових клітин завитки ссавців

Свідчення про наявність певної спроможності щодо відновлення популяцій рецепторних клітин внутрішнього вуха ссавців (миші, мурчака і людини) стосуються, в основному, присінкової його частини [3-6]. Підозрюють, що відновлення вестибулярних волоскових клітин (якщо воно має місце у зрілому організмі) може здійснюватися як шляхом трансдиференціювання підтримувальних клітин, так і мітотично-залежним чином [5], тобто з клітин-попередників, котрі існують самостійно чи виникають внаслідок зворотнього диференціювання підтримувальних клітин. Стосовно останнього шляху відомо, що хоча б у миші серед клітин зрілого [6] чи незрілого постнатального [7, 8] вестибулярного апарату присутні стовбурові клітини або такі, що можуть набувати властивостей стовбурових.

На даний час накопичено достатньо доказів можливості отримання прогеніторів волоскових клітин завитки у новонароджених мишей і щурів [9-12]. У якості джерел таких прогеніторів виявлено такі клітинні популяції: 1) клітини барабанної межі (англ. – tympanic border) [13], які у незрілих організмів вкривають барабанну (повернуту у барабанні сходи) поверхню базилярної мембрани і зберігають низьку проліферати-

вну активність [14]; 2) підтримувальні клітини (англ. – supporting cells), розташовані латеральніше зовнішніх волоскових клітин [15-19], у тому числі клітини так званого малого епітеліального гребня незрілої завитки (англ. – lesser epithelial ridge) [20]; 3) внутрішні стовбчасті клітини (англ. – inner pillar cells), які формують медіальну стінку тунелю спірального органу [21]; 4) клітини так званого великого епітеліального гребня незрілої завитки (англ. – greater epithelial ridge), розташованого медіальніше внутрішніх волоскових клітин і оточуючих їх фалангових підтримувальних клітин [22, 23].

Відомо також, що після ототоксичного впливу у ранньому постнатальному періоді різні види підтримувальних клітин спірального органу миші відтворюють повноцінні волоскові клітини *in situ* [24]. А після вибіркової абляції волоскових клітин спірального органу на першому тижні постнатального життя миші часткове відновлення цієї клітинної популяції за рахунок підтримувальних клітин здійснюється обома згадуваними вище механізмами: а) прямого трансдиференціювання і б) зворотнього диференціювання і проліферації з подальшим диференціюванням [25].

Молекулярні механізми вікового пригнічення такого шляху відтворення популяції волоскових клітин (*тобто, відтворення за участю підтримувальних клітин завитки*) вивчаються [26] і включають епігенетичні зміни [27], зокрема, метилювання певних ділянок хромосомних послідовностей дезоксирибонуклеїнової кислоти [28].

Тим не менш, попри численні докази обмеження регенераційного потенціалу завитки дослідних гризунів раннім постнатальним періодом життя, у зрілої миші після тяжкої втрати волоскових клітин серед фалангових і внутрішніх стовбчастих клітин виявляли такі, що експресують LGR5 (*leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5*) [29], а саме LGR5-позитивні клітини, чутливі до Wnt (*wingless-related integration site*), відомі участю у відновленні популяції волоскових клітин новонародженої миші [30-34], зокрема, можливістю тимчасово і частково відновлювати популяцію внутрішніх волоскових клітин після вибіркової їх абляції [35].

Стосовно регенераційного потенціалу внутрішнього вуха людини дані скупіші. Відомо, що у маточці (*utricle*) і завитці зрілої людини присутні клітини, котрі можуть давати початок сфероїдним проліфератам *in vitro*, однак лише ті з них, котрі отримано із маточки, *in vitro* дають початок клітинам, схожим на волоскові, і нейронам [36]. Поодинокі дані свідчать про можливість отримання органоїдів з клітин внутрішнього вуха людини без генноінженерних конверсій, щоправда, у присутності агоністів Wnt-шляху і антагоністів Notch-шляху (*оглянуто у* [34]). Однак, які саме клітини стають джерелом органоїдів в умовах такого факторного впливу *in vitro* – невідомо.

Отже, на даний час специфічний клітинний фенотип завитки з функцією стовбурової клітини чи прогенітора волоскових клітин навіть у новонароджених ссавців *in vivo* не ідентифіковано; накопичені дані свідчать, що такі клітини можуть *перебувати серед* або *утворюватися* з допоміжних клітин спірального органу.

Чи може відсутність самовідтворення популяції внутрішніх волоскових клітин мати позитивне значення?

Наявні у літературі спорадичні «*інтерпретації*» браку самовідтворення вкрай важливої і при цьому мізерної за чисельністю популяції не таких уже й складних за будовою волоскових клітин спірального органу у дорослих ссавців [37, 38] – непереконливі. Наприклад, відомо, що ураження апарату внутрішнього вуха може спричинятися найрізноманітнішими, не завжди антропогенними, чинниками [39], а тому пов'язувати брак регенерації спірального органу ссавців з надто малим відрізком часу, необхідним для «*еволюційного віднайдіння*» адекватної регенераційної відповіді на «*нещодавно виниклі*» ототоксини [37, 40] – наївно.

Внутрішнє вухо ссавців має ряд суттєвих відмінностей, від слухового апарату інших тварин, у яких регенерація цього органу присутня: 1) периферична частина слухового аналізатора ссавців організована у спіральний орган специфічного клітинного складу і непересічної радіарної будови, з

вмістом характерних лише для ссавців внутрішніх волоскових клітин (*позбавлених, до речі, у дорослому віці важливої для дозрівання цих клітин кіноцилії*); 2) у ссавців існують, як припускають, «*рецепторно-підсилювальні*» клітини завитки зі здатністю до електрорухомості (англ. – *electromotility*) – зовнішні волоскові клітини; 3) внутрішнє вухо ссавців отримує неповторну складну аферентну і еферентну іннервацію [38]. Дійсно, ці особливості, мабуть, є визначальною умовою у цілому кращого слуху у ссавців, однак чому ці зміни повинні геть нівелювати перспективу регенерації внутрішнього слуху (див. [37], з посиланням на [41]) – незрозуміло.

Існує також і аргумент на користь того, що брак регенерації спірального органу у ссавців – перспективний, доцільний: завитка чомусь містить особливо велику кількість так званих надзвичайно довгоживучих білків (англ. – *extremely long-lived proteins*) [42], найвідомішими з яких є кристалін, колаген, еластин і дентин з тривалістю існування більше 70 років [43]. Наявність саме таких білків характерна для органів з низькою регенераційною здатністю – ока і мозку [44].

З огляду на онтогенетичні дані [1], цілком очевидно, що тонотопічний градієнт волоскових клітин є наслідком каскаду складного просторового диференціювання цілісної сукупності незрілих клітин внутрішнього вуха на тлі наскрізних градієнтів морфогенів і тісної міжклітинної взаємодії. Це означає, що певна, умовно розглядувана незріла клітина, котра повинна була б замінити втрачену зрілим організмом волоскову клітину, не має жодних шансів отримати саме той патерн фенотипових характеристик, котрий був характерний для втраченої. Адже, будучи незрілою і налаштованою на взаємодію з ембріональними факторами індукції й дозрівання, така клітина потрапляє у оточення диференційованих і старіючих клітин внутрішнього вуха, геть позбавлених експресії потенційних ембріональних регуляторів. Про відсутність наскрізних градієнтів морфогенів і про гігантські розміри зрілої завитки у порівнянні з ембріональними – і говорити нічого. Отже, кожне таке «*заміщення*» втраченої клітини новою

в умовах зрілого чи старіючого вуха вироджуватиме його вкрай необхідні для вірного слухового чуття тонотопічні характеристики і у висліді призводитиме до істотних викривлень слуху. Тому оптимальний підхід до крізьжиттєвої регенерації внутрішнього вуха людини у всій повноті його складних функціональних характеристик повинен був би спиратися на принцип «*все або нічого*». Так і трапилось: ми бачимо реалізацію цієї стратегії у вигляді «*якщо не можна все, то краще нічого*». Іншими словами, краще поступово втрачати слух без істотних пертурбацій його звичних, внутрішньо збалансованих і взаємноузгоджених спектральних характеристик, аніж поступово набувати задовільно гучне, однак істотно викривлене звукосприйняття.

Підозрюємо, що таким же є резон обмеження ауторегенерації складних, функціонально вузько диференційованих систем – зорового аналізатора, головного і спинного мозку. Надто багато прикладів патології, котра супроводжується постанням надмірної, незбалансованої і тяжко приборкованої функціональної активності тих чи інших частин мозку – епілепсія, хронічний біль, спастичність, дистонії і гіперкінези, манії, фобії, гіперпродуктивні психози тощо. Зазвичай, найоптимальніше сучасне лікування такої патології полягає – *ні, не в регенерації мозку* – а навпаки, у знищенні чи вимкненні тих його частин, котрі генерують патологічну функцію. І напевно, будь-яка людина, переживши, приміром, досвід хронічного болю, цілком зрозуміє доцільність деструктивного втручання: коли задля вимкнення больового відчуття варто знехтувати іншою чутливістю у цій же ділянці тіла – настільки нестерпнішим буває аномальний надмір функції, ніж її пригнічення чи повне вимкнення.

Все сказане, на перший погляд, нівелюється тим простим фактом, що тонотопія спірального органу – характерна для тих видів, у яких регенерація слухового апарату є рутинним процесом, отже холізм онтогенетичного розгортання ансамблів волоскових клітин не є пересторогою для їх точкового заміщення у дорослому віці. Однак правда полягає у тому, що внутрішнє вухо ссавців і, особливо, людини набагато склад-

ніше, ніж у згаданих щойно видів [41]. Ця складність необхідна для забезпечення не лише тональної широти звукового чуття, а й для вищої точності відображення коливних компонентів звукового потоку, а також для якісного виокремлення важливих компонентів на складному акустичному тлі, зокрема, вилучення тональностей і динамічних властивостей мови тощо. Чим точніші усі ці процеси, тим якісніша функція комунікації, котра у людини розвинута до рівня, котрий дозволяє формувати цілу неутилітарну сферу – акустичне мистецтво. Однак покращення усіх перелічених характеристик чуття означає збільшення складності і точності будови слухової системи, що неможливо без збільшення взаємозалежності існування, функції і, головне, – онтогенезу усіх елементів системи. Ось чому онтогенез спірального органу людини, у порівнянні з іншими живими істотами, повинен бути істотно ціліснішим процесом, у контексті якого розвиток окремих волоскових клітин настільки взаємоузалежених, що їх вдаль відтворення у зрілому організмі стає неможливим.

Така ситуація – *на перший погляд несподівана* – є цілком буденною. Ми добре знаємо: якщо механізм настільки складний і його частини настільки взаємозалежні (*хоча б просторово, зважаючи на пошировий спосіб виготовлення*), що для заміни якогось його елемента потрібні засоби, кваліфікація і зусилля, **не простіші**, ніж засоби, кваліфікація і зусилля, залучені для виготовлення механізму у цілому – тверезіше **увесь** поламаний механізм замінити новим, а не лагодити його частини. Згадаймо рутинні життєві історії із поламаними комп'ютерними процесорами, жорсткими дисками, сенсорними екранами смартфонів тощо. У кращому випадку у майстерні звучить фраза: *«заміна такої-то складової Вашого улюбленого смартфона вартуватиме трохи менше, ніж купівля нового»*. У гіршому (*і частіше*) – *«замінити поламану деталь Вашого улюбленого смартфона неможливо, пропонуємо пересунути фокус Вашої споживчої уваги на щось нове...»*.

Викладені щойно припущення, на перший погляд, не можуть пояснити надто слабку (*хоча не нульову*) регенераційну зда-

тність вестибулярного апарату людини. Адже, як вірно відмічають М. Ronaghi та співавтори (2012) [37], нібито невеликі структурні відмінності між вестибулярним апаратом амніот не-ссавців і ссавців важко співвіднести з драматичною різницею у регенераційному потенціалі вестибулярного апарату цих груп тварин. Однак, думаємо, така ситуація теж є наслідком виключної точності і тому складності онтогенезу вестибулярної системи ссавців, котра відіграє у ссавців і людини не лише роль супроводжувача набагато складнішої, ніж у інших тварин, рухової активності в умовах гравітаційного поля, а й у правильному функціонуванні не менш складної системи просторової навігації і похідної від неї системи улаштування і метризації внутрішнього світу людини [45, с. 71-74, 99-114].

Таким чином, проблема відсутності суттєвого відновлення втраченого слуху має, на наш погляд, фундаментальну причину. І тим не менше, задля вирішення цієї проблеми слід приборкати страх перед монументальністю виклику і починати хоча б з чогось. Наприклад, варто намагатись відтворити хоча б основні елементи просторового візерунку морфогенів навколо відновлюваних волоскових клітин завитки. Тим більше, відомо, що навіть один ізольований градієнт морфогену теоретично може точно визначати просторово прив'язане комітування клітинного фенотипу [46], а технології модифікування (*розумій – конструювання*) градієнтів морфогенів стають реальністю [47].

Очікувано схожа ситуація і аналогічні виклики – з регенерацією ока людини [48].

Стратегії штучного відновлення слуху

Зважаючи на отримані емпіричні дані щодо регенераційного потенціалу завитки ссавців, шляхи зовнішньо ініційованого, лікувального відтворення популяції внутрішніх волоскових клітин людини повинні включати активацію трансдиференціювання допоміжних клітин спірального органу у волоскові [49-53] або активацію їх зворотнього диференціювання у попередники волоскових клітин [34, 50, 52, 53]. На даний час вирішення цього завдання прагнуть досягти

за допомогою відомого фактору Atoh1 [54], ефективність якого, щоправда, може мати жорстке вікове обмеження [55]. Іншими першочерговими мішенями біоінженерного впливу на допоміжні клітини спірального органу з метою відновлення популяції волоскових клітин є елементи BMP-, Wnt-, Notch- і SHH-каскадів (*BMP* – *bone morphogenetic protein*; *SHH* – *sonic hedgehog*) [31, 56-59]. Цей перелік подовжуватиметься [34, 51, 52, 60-63] з розробкою способів одночасного впливу на кілька систем регуляції онтогенезу [34], у тому числі, з використанням коктейлів дрібних молекул і малих інтерферуючих РНК (англ. – *small interfering RNAs*) [64]. Речовини, котрі модулюють Wnt- і Notch-шляхи на даний час уже апробовуються у ряді клінічних досліджень [34], а генно-інженерні системи, створювані за допомогою технології генетичного редагування CRISPR/Cas9 і з використанням вірусних носіїв, ліпосом, екзосом чи наночасток – активно вивчаються в умовах експерименту [53].

Не забуваймо також і про інше. Відомо, що лінійна густина внутрішніх і зовнішніх волоскових клітин вздовж спірального органу драматично зменшується з віком ([65], з посиланням на [66]). Однак, вікова дегенерація, як і інші види патології завитки — поступова, і апоптотична чи аутофагічна загибель волоскової клітин є результатом тривалого процесу, котрий супроводжується накопиченням порушень її механоцептивного апарату, синапсів тощо [67]. Наприклад, виявлено, що для волоскових клітин загалом характерна вікова втрата стереоцилій на тлі зміни експресії генів *Sod1*, *Sirt6*, *Jund* і *Cbx3*, для зовнішніх волоскових — вікове зменшення соми, зміни рухливості і жорсткості [68]. Отже, для відновлення функції слуху у таких випадках доцільно використовувати стратегію стимулювання внутрішньоклітинної регенерації чи, приміром, антиапоптотичного впливу [67]. Стовбурові клітини нейрального чи мезенхімального фенотипу теоретично можуть бути джерелом факторів, котрі обмежують дегенерацію волоскових клітин, стимулюють їхню внутрішньоклітинну регенерацію, не враховуючи можливого позитивного впливу цих стовбурових клітин на відновлення по-

пуляції волоскових клітин допоміжними клітинами спірального органу чи навіть ймовірності того, що зазначені стовбурові клітини й самі можуть стати джерелом волоскових клітин (див. [69]).

Побіжно зазначимо, що реалізація шляху точкового заміщення волоскових клітин «зовнішніми» (тобто, трансплантованими) клітинами неможлива без розробки засобів їх точної імплантації у спіральний орган. У цьому контексті варто відмітити, що оптично контрольований прецизійний доступ до спірального органу людини, мабуть, незабаром стане реальністю [70].

Іншим, набагато складнішим для реалізації шляхом відновлення втраченого через загибель волоскових клітин слуху, є відтворення усього клітинного комплексу у межах вирощеного *ex vivo* «квазіспірального органу» з подальшою його трансплантацією та іннервацією слуховими аферентами. Така стратегія може бути успішною за умови істотного розвитку технології вирощування органодів на точних, створюваних засобами тривимірного друку органічних риштуваннях (*скаффолдах*), у межах яких стовбурові клітини завитки зможуть правильно диференціюватися й формувати характерний функціональний ансамбль спірального органу (див. [69]). Такий «тканинно-інженерний зачаток» спірального органу можна буде імплантувати у завитку, очікуючи його вдалого подальшого дозрівання та піклуючись про його успішну іннервацію нейронами спірального ганглія. Теперішній етап цієї технології – отримання безструктурних органодів внутрішнього вуха із плюрипотентних клітин [71, 72] – лиш перший, найпростіший крок, а повноцінна реалізація напрямку – справа неблизького майбутнього.

Абіотична альтернатива

Не менш активно розвивається абіотична альтернатива описаним щойно стратегіям відновлення слуху – імплантаційні завиткові системи (англ. – *cochlear implants*). Пересічна система такого типу включає приймач акустичних коливань, кодувальний пристрій, передавач і власне завитковий електрод, покликаний грубо, але тонотопічно стимулювати дендрити нейро-

нів спірального вузла [73-76]. Стовбурові імплантаційні системи (англ. – *auditory brainstem implants*) завдяки встановленому у відповідному місці на поверхні стовбура електроду забезпечують пряму передачу генерованих під впливом акустичних коливань електричних імпульсів на нейронні мережі завиткових ядер, чим частково протезують слух [77-80]. Зайве говорити, що якість слуху – відсікання шуму, виокремлення тонів тощо — за такого протезування низька [81], як і про існування гамузу інших технічних і клінічних проблем методу [73-75]. Однак, техніка абіотичного протезування невпинно вдосконалюється [74, 76, 81], зокрема, засоби тонотопічного стимулювання слухових нейронів [81].

А загалом, на наш погляд, найменш легковажними є припущення, що майбутнє відновного лікування порушень слуху – за вдалим поєднанням біотичних та абіотичних підходів.

Висновок

З усього, наведеного у цій статті, зрозуміло, що перманентне заміщення пошкоджених волоскових клітин новими – *якби воно було реальним* – за відсутності усієї

палітри і просторового візерунку регуляторів вздовж довгого тунелю дорослої завитки майже вірогідно розмивало б значущі топічні властивості спірального органу і щонайменше про тонально точне звукове чуття з віком можна було б забути.

Тому цілком зрозуміло, що відновлення слуху біотичними засобами мислиться як відтворення популяції волоскових клітин виключно у контексті реставрації спірального органу в цілому, з усіма його важливими характеристиками (J.V. Brigande і S. Heller, 2009).

Якщо так – вирішення проблеми відновлення слуху є завданням для онуків.

І все ж нам, з нашими все ще мізерними біотехнологічними спроможностями, важливо відновити у інвалідизованих пацієнтів хоча б щось, покладаючи усі сподівання на дивовижну міць пластичності нервової системи, котра, як відомо, дозволяє істотно покращити функцію у ще складніших ситуаціях – після перенесеного інсульту, черепно-мозкової травми чи травми спинного мозку.

І це, мабуть, все, на що варто сподіватись найближчим часом. Хоча цього – *погодилося* – не так уже й мало.

Література

1. Медведєв ВВ, Косаковський АЛ. Молекулярні механізми онтогенезу завитки: короткий огляд. Оториноларингологія. 2023;5(6):76-84. doi: 10.37219/2528-8253-2023-5-76.
2. Olusanya BO, Davis AC, Hoffman HJ. Hearing loss: rising prevalence and impact. Bull World Health Organ. 2019 Oct 1;97(10):646-646A. doi: 10.2471/BLT.19.224683.
3. Forge A, Li L, Corwin JT, Nevill G. Ultrastructural evidence for hair cell regeneration in the mammalian inner ear. Science. 1993 Mar 12;259(5101):1616-9. doi: 10.1126/science.8456284.
4. Warchol ME, Lambert PR, Goldstein BJ, Forge A, Corwin JT. Regenerative proliferation in inner ear sensory epithelia from adult guinea pigs and humans. Science. 1993 Mar 12;259(5101):1619-22. doi: 10.1126/science.8456285.
5. Rubel EW, Dew LA, Roberson DW. Mammalian vestibular hair cell regeneration. Science. 1995 Feb 3;267(5198):701-7. doi: 10.1126/science.7839150.
6. Li H, Liu H, Heller S. Pluripotent stem cells from the adult mouse inner ear. Nat Med. 2003 Oct;9(10):1293-9. doi: 10.1038/nm925.
7. Oshima K, Grimm CM, Corrales CE, Senn P, Martinez Monedero R, Géléoc GS, Edge A, Holt JR, Heller S. Differential distribution of stem cells in the auditory and vestibular organs of the inner ear. J Assoc Res Otolaryngol. 2007 Mar;8(1):18-31. doi: 10.1007/s10162-006-0058-3.
8. Wang T, Chai R, Kim GS, Pham N, Jansson L, Nguyen DH, Kuo B, May LA, Zuo J, Cunningham LL, Cheng AG. Lgr5+ cells regenerate hair cells via proliferation and direct transdifferentiation in damaged neonatal mouse utricle. Nat Commun. 2015 Apr 7;6:6613. doi: 10.1038/ncomms7613.
9. Malgrange B, Belachew S, Thiry M, Nguyen L, Rogister B, Alvarez ML, Rigo JM, Van De Water TR, Moonen G, Lefebvre PP. Proliferative generation of mammalian auditory hair cells in culture. Mech Dev. 2002 Mar;112(1-2):79-88. doi: 10.1016/s0925-4773(01)00642-6.

10. Doetzlhofer A, White PM, Johnson JE, Segil N, Groves AK. In vitro growth and differentiation of mammalian sensory hair cell progenitors: a requirement for EGF and periotic mesenchyme. *Dev Biol.* 2004;272(2):432-47. doi: 10.1016/j.ydbio.2004.05.013.
11. Diensthuber M, Oshima K, Heller S. Stem/progenitor cells derived from the cochlear sensory epithelium give rise to spheres with distinct morphologies and features. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2009 Jun;10(2): 173-90. doi: 10.1007/s10162-009-0161-3.
12. Sinkkonen ST, Chai R, Jan TA, Hartman BH, Laske RD, Gahlen F, Sinkkonen W, Cheng AG, Oshima K, Heller S. Intrinsic regenerative potential of murine cochlear supporting cells. *Sci Rep.* 2011;1:26. doi: 10.1038/srep00026.
13. Jan TA, Chai R, Sayyid ZN, van Amerongen R, Xia A, Wang T, Sinkkonen ST, Zeng YA, Levin JR, Heller S, Nusse R, Cheng AG. Tympanic border cells are Wnt-responsive and can act as progenitors for postnatal mouse cochlear cells. *Development.* 2013 Mar; 140(6):1196-206. doi: 10.1242/dev.087528.
14. Taniguchi M, Yamamoto N, Nakagawa T, Ogino E, Ito J. Identification of tympanic border cells as slow-cycling cells in the cochlea. *PLoS One.* 2012; 7(10):e48544. doi: 10.1371/journal.pone.0048544.
15. White PM, Doetzlhofer A, Lee YS, Groves AK, Segil N. Mammalian cochlear supporting cells can divide and trans-differentiate into hair cells. *Nature.* 2006 Jun 22;441(7096):984-7. doi: 10.1038/nature04849.
16. Savary E, Hugnot JP, Chassigneux Y, Travo C, Duperray C, Van De Water T, Zine A. Distinct population of hair cell progenitors can be isolated from the postnatal mouse cochlea using side population analysis. *Stem Cells.* 2007 Feb;25(2):332-9. doi: 10.1634/stemcells.2006-0303.
17. Savary E, Sabourin JC, Santo J, Hugnot JP, Chabbert C, Van De Water T, Uziel A, Zine A. Cochlear stem/progenitor cells from a postnatal cochlea respond to Jagged1 and demonstrate that notch signaling promotes sphere formation and sensory potential. *Mech Dev.* 2008 Aug;125(8):674-86. doi: 10.1016/j.mod.2008.05.001.
18. Chai R, Kuo B, Wang T, Liaw EJ, Xia A, Jan TA, Liu Z, Taketo MM, Oghalai JS, Nusse R, Zuo J, Cheng AG. Wnt signaling induces proliferation of sensory precursors in the postnatal mouse cochlea. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 May 22;109(21): 8167-72. doi: 10.1073/pnas.1202774109.
19. Shi F, Kempfle JS, Edge AS. Wnt-responsive Lgr5-expressing stem cells are hair cell progenitors in the cochlea. *J Neurosci.* 2012 Jul 11;32(28):9639-48. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1064-12.2012.
20. Zhai S, Shi L, Wang BE, Zheng G, Song W, Hu Y, Gao WQ. Isolation and culture of hair cell progenitors from postnatal rat cochleae. *J Neurobiol.* 2005 Dec;65(3):282-93. doi: 10.1002/neu.20190.
21. Zhang Y, Guo L, Lu X, Cheng C, Sun S, Li W, Zhao L, Lai C, Zhang S, Yu C, Tang M, Chen Y, Chai R, Li H. Characterization of Lgr6+ Cells as an Enriched Population of Hair Cell Progenitors Compared to Lgr5+ Cells for Hair Cell Generation in the Neonatal Mouse Cochlea. *Front Mol Neurosci.* 2018 May 14;11:147. doi: 10.3389/fnmol.2018.00147.
22. Zhang Y, Zhai SQ, Shou J, Song W, Sun JH, Guo W, Zheng GL, Hu YY, Gao WQ. Isolation, growth and differentiation of hair cell progenitors from the newborn rat cochlear greater epithelial ridge. *J Neurosci Methods.* 2007 Aug 30;164(2):271-9. doi: 10.1016/j.jneumeth.2007.05.009.
23. Kubota M, Scheibinger M, Jan TA, Heller S. Greater epithelial ridge cells are the principal organoid-forming progenitors of the mouse cochlea. *Cell Rep.* 2021 Jan 19;34(3):108646. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108646.
24. Heuermann ML, Matos S, Hamilton D, Cox BC. Regenerated hair cells in the neonatal cochlea are innervated and the majority co-express markers of both inner and outer hair cells. *Front Cell Neurosci.* 2022 Sep 16;16:841864. doi: 10.3389/fncel.2022.841864.
25. Cox BC, Chai R, Lenoir A, Liu Z, Zhang L, Nguyen DH, Chalasani K, Steigelman KA, Fang J, Rubel EW, Cheng AG, Zuo J. Spontaneous hair cell regeneration in the neonatal mouse cochlea in vivo. *Development.* 2014 Feb;141(4):816-29. doi: 10.1242/dev.103036.
26. Li XJ, Morgan C, Nadar-Ponniah PT, Kolanus W, Doetzlhofer A. TRIM71 reactivation enhances the mitotic and hair cell-forming potential of cochlear supporting cells. *EMBO Rep.* 2023 Sep 6;24(9): e56562. doi: 10.15252/embr.202256562.
27. Xiao Y, Li D. The role of epigenetic modifications in sensory hair cell development, survival, and regulation. *Front Cell Neurosci.* 2023 Jun 14;17:1210279. doi: 10.3389/fncel.2023.1210279.
28. Nguyen JD, Llamas J, Shi T, Crump JG, Groves AK, Segil N. DNA methylation in the mouse cochlea promotes maturation of supporting cells and contributes to the failure of hair cell regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2023 Aug 15;120(33):e2300839120. doi: 10.1073/pnas.2300839120.
29. Smith-Cortinez N, Hendriksen FGJ, Ramekers D, Stokroos RJ, Versnel H, Straatman LV. Long-term survival of LGR5 expressing supporting cells after severe ototoxic trauma in the adult mouse cochlea. *Front Cell Neurosci.* 2023 Aug 24;17:1236894. doi: 10.3389/fncel.2023.1236894.
30. Bramhall NF, Shi F, Arnold K, Hochedlinger K, Edge AS. Lgr5-positive supporting cells generate new hair cells in the postnatal cochlea. *Stem Cell Reports.* 2014 Feb 20;2(3):311-22. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.01.008.
31. Li W, Wu J, Yang J, Sun S, Chai R, Chen ZY, Li H. Notch inhibition induces mitotically generated hair cells in mammalian cochleae via activating the Wnt pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Jan 6;112(1):166-71. doi: 10.1073/pnas.1415901112.
32. Cheng C, Guo L, Lu L, Xu X, Zhang S, Gao J, Waqas M, Zhu C, Chen Y, Zhang X, Xuan C, Gao X, Tang M, Chen F, Shi H, Li H, Chai R. Characterization of the Transcriptomes of Lgr5+ Hair Cell Progenitors and Lgr5- Supporting Cells in the Mouse Cochlea. *Front Mol Neurosci.* 2017 Apr 26;10:122. doi: 10.3389/fnmol.2017.00122.
33. McLean WJ, Yin X, Lu L, Lenz DR, McLean D, Langer R, Karp JM, Edge ASB. Clonal Expansion of Lgr5-Positive Cells from Mammalian Cochlea and

- High-Purity Generation of Sensory Hair Cells. *Cell Rep.* 2017 Feb 21;18(8):1917-1929. doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.066.
34. Smith-Cortinez N, Tan AK, Stokroos RJ, Versnel H, Straatman LV. Regeneration of Hair Cells from Endogenous Otic Progenitors in the Adult Mammalian Cochlea: Understanding Its Origins and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 2023 Apr 25;24(9):7840. doi: 10.3390/ijms24097840.
 35. Xia M, Wu M, Zhao L, Ma J, Li W, Li H. Selective ablation of inner hair cells and subsequent in-situ hair cell regeneration in the neonatal mouse cochlea. *Hear Res.* 2021 Aug;407:108275. doi: 10.1016/j.heares.2021.108275.
 36. Senn P, Mina A, Volkenstein S, Kranebitter V, Oshima K, Heller S. Progenitor Cells from the Adult Human Inner Ear. *Anat Rec (Hoboken).* 2020 Mar; 303(3):461-470. doi: 10.1002/ar.24228.
 37. Ronaghi M, Nasr M, Heller S. Concise review: Inner ear stem cells--an oxymoron, but why? *Stem Cells.* 2012 Jan;30(1):69-74. doi: 10.1002/stem.785.
 38. Elliott KL, Fritzsche B, Duncan JS. Evolutionary and Developmental Biology Provide Insights Into the Regeneration of Organ of Corti Hair Cells. *Front Cell Neurosci.* 2018 Aug 8;12:252. doi: 10.3389/fncel.2018.00252.
 39. Barrallo-Gimeno A, Llorens J. Hair cell toxicology: With the help of a little fish. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Dec 13;10:1085225. doi: 10.3389/fcell.2022.1085225.
 40. Brigande JV, Heller S. Quo vadis, hair cell regeneration? *Nat Neurosci.* 2009 Jun;12(6):679-85. doi: 10.1038/nn.2311.
 41. Warchol ME. Sensory regeneration in the vertebrate inner ear: differences at the levels of cells and species. *Hear Res.* 2011 Mar;273(1-2):72-9. doi: 10.1016/j.heares.2010.05.004.
 42. Savas JN. The cochlea is built to last a lifetime. *Hear Res.* 2023 Sep 1;436:108821. doi: 10.1016/j.heares.2023.108821.
 43. Toyama BH, Hetzer MW. Protein homeostasis: live long, won't prosper. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013 Jan;14(1):55-61. doi: 10.1038/nrm3496.
 44. Fornasiero EF, Mandat S, Wildhagen H, Alevra M, Rammner B, Keihani S, Opazo F, Urban I, Ischebeck T, Sakib MS, Fard MK, Kirli K, Centeno TP, Vidal RO, Rahman RU, Benito E, Fischer A, Dennerlein S, Rehling P, Feussner I, Bonn S, Simons M, Urlaub H, Rizzoli SO. Precisely measured protein lifetimes in the mouse brain reveal differences across tissues and subcellular fractions. *Nat Commun.* 2018 Oct 12;9(1):4230. doi: 10.1038/s41467-018-06519-0.
 45. Tsybalyuk V, Medvedev V. [A man and his brain]: [monograph: in 3 volumes]. 2nd edition. Vinnytsya: Nova Knyha, 2023; Vol. 2: 448 p. [In Ukrainian].
 46. Vetter R, Iber D. Precision of morphogen gradients in neural tube development. *Nat Commun.* 2022 Mar 3;13(1):1145. doi: 10.1038/s41467-022-28834-3.
 47. Zhu R, Santat LA, Markson JS, Nandagopal N, Gregrowicz J, Elowitz MB. Reconstitution of morphogen shuttling circuits. *Sci Adv.* 2023 Jul 14;9(28):eadf9336. doi: 10.1126/sciadv.adf9336.
 48. Medori M, Spelzini G, Scicolone G. Molecular complexity of visual mapping: a challenge for regenerating therapy. *Neural Regen Res.* 2020 Mar;15(3):382-389. doi: 10.4103/1673-5374.266044.
 49. Izumikawa M, Minoda R, Kawamoto K, Abrashkin KA, Swiderski DL, Dolan DF, Brough DE, Raphael Y. Auditory hair cell replacement and hearing improvement by Atoh1 gene therapy in deaf mammals. *Nat Med.* 2005 Mar;11(3):271-6. doi: 10.1038/nm1193.
 50. Zhang S, Qiang R, Dong Y, Zhang Y, Chen Y, Zhou H, Gao X, Chai R. Hair cell regeneration from inner ear progenitors in the mammalian cochlea. *Am J Stem Cells.* 2020 Jun 15;9(3):25-35.
 51. Iyer AA, Groves AK. Transcription Factor Reprogramming in the Inner Ear: Turning on Cell Fate Switches to Regenerate Sensory Hair Cells. *Front Cell Neurosci.* 2021 Mar 29;15:660748. doi: 10.3389/fncel.2021.660748.
 52. Xu S, Yang N. Research Progress on the Mechanism of Cochlear Hair Cell Regeneration. *Front Cell Neurosci.* 2021 Aug 20;15:732507. doi: 10.3389/fncel.2021.732507.
 53. Wang J, Zheng J, Wang H, He H, Li S, Zhang Y, Wang Y, Xu X, Wang S. Gene therapy: an emerging therapy for hair cells regeneration in the cochlea. *Front Neurosci.* 2023 May 3;17:1177791. doi: 10.3389/fnins.2023.1177791.
 54. Kelly MC, Chang Q, Pan A, Lin X, Chen P. Atoh1 directs the formation of sensory mosaics and induces cell proliferation in the postnatal mammalian cochlea in vivo. *J Neurosci.* 2012 May 9;32(19):6699-710. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5420-11.2012.
 55. Liu Z, Dearman JA, Cox BC, Walters BJ, Zhang L, Ayrault O, Zindy F, Gan L, Roussel MF, Zuo J. Age-dependent in vivo conversion of mouse cochlear pillar and Deiters' cells to immature hair cells by Atoh1 ectopic expression. *J Neurosci.* 2012 May 9;32(19):6600-10. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0818-12.2012.
 56. Mizutani K, Fujioka M, Hosoya M, Bramhall N, Okano HJ, Okano H, Edge AS. Notch inhibition induces cochlear hair cell regeneration and recovery of hearing after acoustic trauma. *Neuron.* 2013 Jan 9;77(1):58-69. doi: 10.1016/j.neuron.2012.10.032.
 57. Ni W, Zeng S, Li W, Chen Y, Zhang S, Tang M, Sun S, Chai R, Li H. Wnt activation followed by Notch inhibition promotes mitotic hair cell regeneration in the postnatal mouse cochlea. *Oncotarget.* 2016 Oct 11;7(41):66754-66768. doi: 10.18632/oncotarget.11479.
 58. Chen Y, Lu X, Guo L, Ni W, Zhang Y, Zhao L, Wu L, Sun S, Zhang S, Tang M, Li W, Chai R, Li H. Hedgehog Signaling Promotes the Proliferation and Subsequent Hair Cell Formation of Progenitor Cells in the Neonatal Mouse Cochlea. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:426. doi: 10.3389/fnmol.2017.00426.
 59. Bai H, Jiang L, Wang X, Gao X, Bing J, Xi C, Wang W, Zhang M, Zhang X, Han Z, Xu J, Zeng S. Transcriptomic analysis of mouse cochleae suffering from gentamicin damage reveals the signalling pathways involved in hair cell regeneration. *Sci Rep.* 2019 Jul 19;9(1):10494. doi: 10.1038/s41598-019-47051-5.

60. Shu Y, Li W, Huang M, Quan YZ, Scheffer D, Tian C, Tao Y, Liu X, Hochedlinger K, Indzhukulian AA, Wang Z, Li H, Chen ZY. Renewed proliferation in adult mouse cochlea and regeneration of hair cells. *Nat Commun.* 2019 Dec 4;10(1):5530. doi: 10.1038/s41467-019-13157-7.
61. Udagawa T, Atkinson PJ, Milon B, Abitbol JM, Song Y, Sperber M, Huarcaya Najarro E, Scheibinger M, Elkon R, Hertzano R, Cheng AG. Lineage-tracing and translatomic analysis of damage-inducible mitotic cochlear progenitors identifies candidate genes regulating regeneration. *PLoS Biol.* 2021;19(11):e3001445. doi: 10.1371/journal.pbio.3001445.
62. Iyer AA, Hosamani I, Nguyen JD, Cai T, Singh S, McGovern MM, Beyer L, Zhang H, Jen HI, Yousaf R, Birol O, Sun JJ, Ray RS, Raphael Y, Segil N, Groves AK. Cellular reprogramming with ATOH1, GF11, and POU4F3 implicate epigenetic changes and cell-cell signaling as obstacles to hair cell regeneration in mature mammals. *Elife.* 2022 Nov 29;11:e79712. doi: 10.7554/eLife.79712.
63. Li XJ, Morgan C, Goff LA, Doetzlhofer A. Follistatin promotes LIN28B-mediated supporting cell reprogramming and hair cell regeneration in the murine cochlea. *Sci Adv.* 2022 Feb 11;8(6):eabj7651. doi: 10.1126/sciadv.abj7651.
64. Quan YZ, Wei W, Ergin V, Rameshbabu AP, Huang M, Tian C, Saladi SV, Indzhukulian AA, Chen ZY. Reprogramming by drug-like molecules leads to regeneration of cochlear hair cell-like cells in adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2023 Apr 25;120(17):e2215253120. doi: 10.1073/pnas.2215253120.
65. Lim R, Brichta AM. Anatomical and physiological development of the human inner ear. *Hear Res.* 2016 Aug;338:9-21. doi: 10.1016/j.heares.2016.02.004.
66. Wright A, Davis A, Bredberg G, Ulehlova L, Spencer H. Hair cell distributions in the normal human cochlea. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1987;444:1-48.
67. Wagner EL, Shin JB. Mechanisms of Hair Cell Damage and Repair. *Trends Neurosci.* 2019 Jun;42(6):414-424. doi: 10.1016/j.tins.2019.03.006.
68. Liu H, Giffen KP, Chen L, Henderson HJ, Cao TA, Kozeny GA, Beisel KW, Li Y, He DZ. Molecular and cytological profiling of biological aging of mouse cochlear inner and outer hair cells. *Cell Rep.* 2022 Apr 12;39(2):110665. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110665.
69. He Z, Ding Y, Mu Y, Xu X, Kong W, Chai R, Chen X. Stem Cell-Based Therapies in Hearing Loss. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Oct 21;9:730042. doi: 10.3389/fcell.2021.730042.
70. Iyer JS, Yin B, Stankovic KM, Tearney GJ. Endomicroscopy of the human cochlea using a micro-optical coherence tomography catheter. *Sci Rep.* 2021 Sep 9;11(1):17932. doi: 10.1038/s41598-021-95991-8.
71. van der Valk WH, Steinhart MR, Zhang J, Koehler KR. Building inner ears: recent advances and future challenges for in vitro organoid systems. *Cell Death Differ.* 2021 Jan;28(1):24-34. doi: 10.1038/s41418-020-00678-8.
72. Nist-Lund C, Kim J, Koehler KR. Advancements in inner ear development, regeneration, and repair through otic organoids. *Curr Opin Genet Dev.* 2022 Oct;76:101954. doi: 10.1016/j.gde.2022.101954.
73. Boisvert I, Reis M, Au A, Cowan R, Dowell RC. Cochlear implantation outcomes in adults: A scoping review. *PLoS One.* 2020 May 5;15(5):e0232421. doi: 10.1371/journal.pone.0232421.
74. Naples JG, Ruckenstein MJ. Cochlear Implant. *Otolaryngol Clin North Am.* 2020 Feb;53(1):87-102. doi: 10.1016/j.otc.2019.09.004.
75. Carlyon RP, Goehring T. Cochlear Implant Research and Development in the Twenty-first Century: A Critical Update. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2021 Oct;22(5):481-508. doi: 10.1007/s10162-021-00811-5.
76. Hrnčirik F, Roberts I, Sevgili I, Swords C, Bance M. Models of Cochlea Used in Cochlear Implant Research: A Review. *Ann Biomed Eng.* 2023 Jul;51(7):1390-1407. doi: 10.1007/s10439-023-03192-3.
77. Wong K, Kozin ED, Kanumuri VV, Vachicouras N, Miller J, Lacour S, Brown MC, Lee DJ. Auditory Brainstem Implants: Recent Progress and Future Perspectives. *Front Neurosci.* 2019 Jan 29;13:10. doi: 10.3389/fnins.2019.00010.
78. Shetty KR, Ridge SE, Kanumuri V, Zhu A, Brown MC, Lee DJ. Clinical and scientific innovations in auditory brainstem implants. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2021 Apr 6;7(2):109-115. doi: 10.1016/j.wjorl.2021.02.002.
79. Martins QP, Gindri BFS, Valim CD, Ferreira L, Patatt FSA. Hearing and language development in children with brainstem implants: a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2022 Nov-Dec;88 Suppl 3(Suppl 3):S225-S234. doi: 10.1016/j.bjorl.2022.07.004.
80. Veronese S, Cambiaghi M, Tommasi N, Sbarbati A, Galvin JJ 3rd. Ten-year follow-up of auditory brainstem implants: From intra-operative electrical auditory brainstem responses to perceptual results. *PLoS One.* 2023 Mar 2;18(3):e0282261. doi: 10.1371/journal.pone.0282261.
81. Hanlon K, Büning H, Géléoc GSG. Light at the end of the tunnel of Corti. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2023 May 23;29:437-438. doi: 10.1016/j.omtm.2023.05.006.

Надійшла до редакції 12.12.2023

© В.В. Медведєв, 2023

РЕГЕНЕРАЦІЙНА СЛАБКІСТЬ ВНУТРІШНЬОГО ВУХА І БІОІНЖЕНЕРНЕ ВІДНОВЛЕННЯ СЛУХУ: КОРОТКИЙ ОГЛЯД ПРОБЛЕМИ

Медведев ВВ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

e-пошта: vavo2010@gmail.com

А н о т а ц і я

Будова органу слуху поєднує простоту і глибину, залишаючись у багатьох питаннях предметом активного наукового пошуку. Онтогенез цього добірного механізму регулюється складними і ще не вповні зрозумілими механізмами. Технологічний інструментарій сьогочасної біомедичної науки дозволяє не лише досліджувати, а й маніпулювати об'єктами клітинного і молекулярного рівня. У цій статті ми оглядаємо дані щодо реалістичності відновлення популяції слухових рецепторів людини і перспективні шляхи вирішення цього завдання. Крім того, ми пропонуємо відповідь на фундаментальне питання — чому при мізерній кількості відносно просто улаштованих рецепторних клітин внутрішнього вуха їхня популяція не відновлюється самостійно.

Ключові слова: спіральний орган, стовбурові клітини, прогенітори, порушення слуху, регенерація, біопротезування, біоінженерія.

REGENERATIVE WEAKNESS OF THE INNER EAR AND BIOENGINEERED HEARING RESTORATION: A BRIEF PROBLEM OVERVIEW

Medvediev VV

Bogomolets National Medical University

e-mail: vavo2010@gmail.com

A b s t r a c t

The structure of the hearing organ combines simplicity and depth, remaining in many issues the subject of active scientific research. The ontogenesis of this exquisite mechanism is regulated by complex and still incompletely understood mechanisms. The technological tools of modern biomedical science allow not only to study, but also to work at the cellular and molecular level. In this article, we review data on the realism of restoring the population of human auditory receptors and promising ways to solve this problem. In addition, we offer an answer to a fundamental question – why, with a small number of relatively simply arranged receptor cells of the inner ear, their population is not self-restored.

Key words: spiral organ, stem cells, progenitors, hearing impairments, regeneration, bioprosthesis, bioengineering.