

УДК 616.28-008.14-053:616-08

О. М. Науменко, Ю. В. Дєва, О. В. Васильєв
 Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, м. Київ

СПІВВІДНОШЕННЯ ЗМІН СЛУХОВОЇ ТА ВЕСТИБУЛЯРНОЇ ФУНКЦІЙ В УМОВАХ ЗМОДЕЛЬОВАНОЇ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЇ ПРИГЛУХУВАТОСТІ

В роботі досліджено стан слухової та вестибулярної функцій у мишей в умовах експериментальної сенсоневральної приглухуватості. У тварин зі змодельованої сенсоневральної приглухуватості, за даними об'єктивного дослідження ОАЕП, визначаються достовірні порушення слухової функції, в порівнянні з інтактними мишами контрольної групи. Також в ході експерименту було встановлено порушення вестибулярної функції внутрішнього вуха за допомогою вестибулярних тестів.

Ключові слова: модель СНП, сенсоневральної приглухуватості, отоакустичної емісія, вестибулярна функція, миші.

Робота є фрагментом НДР «Розробка та впровадження нових технологій для вдосконалення методів діагностики та лікування захворювань носа, приносових пазух, глотки, гортані, трахеї і стравоходу», № державної реєстрації 0113U4000882.

Визначення об'єктивних змін з боку внутрішнього вуха у експериментальних тварин в умовах змодельованої сенсоневральної приглухуватості (СНП) є досить актуальним у вивченні патогенезу перцептивних порушень слуху. Слід відмітити, що досі переважна більшість наукових робіт пов'язаних з сенсоневральною приглухуватістю стосувалась визначення суб'єктивних показників слуху або гістологічних постмортальних досліджень [6, 9]. Відмінністю цієї роботи з дослідження розладів внутрішнього вуха в експериментальних тварин при змодельованій сенсоневральній приглухуватості є те, що ми проводили об'єктивне прижиттєве дослідження слуху, для чого використовували реєстрацію отоакустичної емісії на частоті продуктів спотворення (ОАЕПС) в ході роботи ми оцінювали результати змін як слуху, так і вестибулярної функції. В якості моделі захворювання використовувалась модель експериментальної сенсоневральної приглухуватості судинного генеза, котра була отримана шляхом дозованого лігування вертебральної артерії у мишей (лінія FVB-Cg-Tg (GFPU) 5NaGy/j).

Метою роботи було вивчити стан вестибулярної і слухової функцій у мишей зі змодельованою СНП.

Матеріал та методи дослідження. Функціональна активність слухової системи дослідних тварин оцінювалось за допомогою рефлексу Ргеуег'а [13] та методу отоакустичної емісії на частоті продуктів спотворення (ОАЕПС). Визначення рефлексу Ргеуег'а здійснювалось за допомогою динаміка, який на фіксованій відстані від вушної раковини тварини (10 см) подавав звук з частотою 2000 Гц та інтенсивністю 40 і 80 дБ. Про наявність слуху у щурів свідчили рухи вушних раковин в момент подачі звукового стимулу.

Об'єктивна оцінка слухової функції проводилась у експериментальних тварин методом отоакустичної емісії продуктів спотворення за допомогою комп'ютерної системи «Нейроаудіо» (Росія). Для обтурації слухових ходів тварин використовувався зонд найменшого розміру, призначений для дослідження слуху у новонароджених. Герметичність обтурації зондом зовнішнього слухового ходу у дослідних щурів забезпечувалась за допомогою гумової вкладки конічної форми найменшого діаметру. В роботі вивчалась отоакустична емісія продуктів спотворення (distortion product otoacoustic emission - DPOAE). Вибір для дослідження цього типу ОАЕ зумовлений тим, що за технічними можливостями саме ця методика дає можливість характеризувати функціональну збереженість волоскових клітин. Такі акустичні характеристики необхідні в зв'язку з тим, що у гризунів, а саме мишей, слухове сприйняття є більш високочастотним, крива їх слухового відчуття лежить у діапазоні від 0,8-1,0 кГц до 80-100 кГц з максимальною чутливістю у білих мишей в зоні від 6-10 кГц.

Особливістю вказаного варіанта ОАЕ є одночасна подача двох тональних стимулів f_1 і f_2 при їх співвідношенні: $f_1 < f_2$ і $f_2/f_1 = 1,22$. Автоматично проводився аналіз отриманої відповіді на частотах від 1,0 до 10,0 кГц. З врахуванням технічних можливостей приладу інтенсивність парних стимулів на частотах від 1 до 2 кГц становила 66-67 дБ УЗД, а на більш високих частотах коливалась в діапазоні 64-65 дБ УЗД. Дослідження проводилось с кроком 4 вимірювання на октаву. Дані накопичувались протягом 180 сек. Аналізувались лише такі показники ОАЕ, амплітуда яких за шкалою була вище за рівень шуму на даній частоті на 5 дБ. Вестибулярна функція досліджувалась у експериментальних тварин за допомогою наступних методів.

Визначались: час перевероту зі спини на живіт, тест «нахиленої площини» та тест «обертання на платформі». В контролі всі тварини задовільно виконували всі тести.

Результати дослідження та їх обговорення. Слух у інтактних лабораторних мишей, що складала контрольну та основну групи до початку експерименту характеризувалися активним, живим рефлексом Ргеуег та специфічними результатами отоакустичної емісії продуктів спотворення, які дещо відрізнялись від таких у людини [4, 5]. Так, у білій миші з нормальним рефлексом Ргеуег'a при оцінці відповіді завитки під час визначення отоакустичної емісії продуктів спотворення, при аналізі частотного представництва відгуків, з'ясовано, що на частоті 1-2 кГц, у 97% тварин відгуки не реєструються. В цілому параметри отоакустичної емісії у білих мишей контрольної групи та у мишей з експериментальних груп до лігування вертебральної артерії нагадують результати людини, за винятком зміщення частотного діапазону у ділянку високих частот. Відмічені особливості ОАЕПС, скоріш за все пов'язані з тим, що для мишей максимум слухової чутливості знаходиться в зоні високих і ультразвукових частот.

Серед обстежених нами інтактних мишей порого відповіді ОАЕПС були проаналізовані нами на 7 частотах, згідно яких була побудована DP-грама ОАЕ. Згідно отриманих нами даних на частотах 1000 та 1429 Гц співвідношення рівня сигналу емісії і шуму не перевищувало 1,1дБ, що свідчить про відсутність отоакустичної емісії на цих частотах. Достовірно емісія реєструвалась у мишей починаючи з 4 кГц, сягаючи максимальних значень на частотах 6 - 10 кГц.

Отримані нами результати дослідження функціонального стану завитки за даними ОАЕПС свідчать про достовірну наявність відгуків, переважно починаючи з частоти 6кГц. ОАЕПС була визначена у всіх тварин контрольної групи та у експериментальних тварин до початку лігування вертебральної артерії. Після відтворення експериментальної моделі сенсоневральної приглухуватості отоакустична емісія проводилась з інтервалом 7 дб протягом одного місяця. Зміни у досліджуванних показниках емісії були зареєстровані у переважній більшості тварин через 1 тиждень. Графічно крива отоакустичної емісії тварини з відсутністю реєстрації ОАЕПС мала наступний вигляд рис.1. Результат теста (праве вухо):Результат теста (ліве вухо).

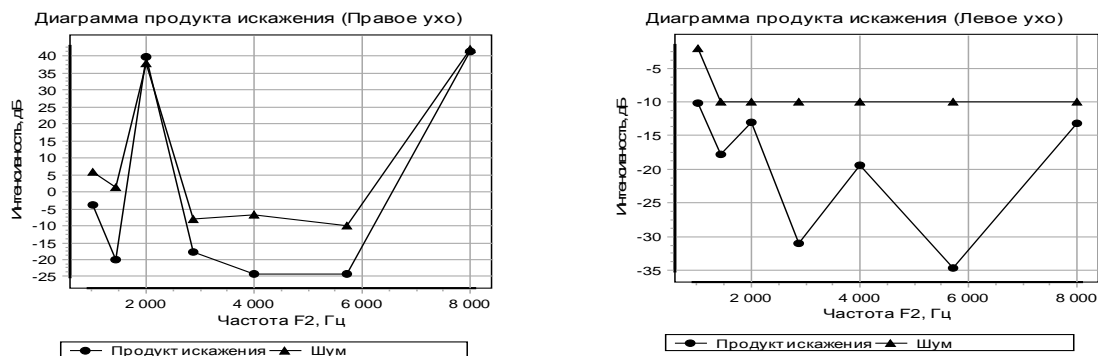


Рис. 1. Графічне зображення отоакустичної емісії продуктів спотворення у білій миші в умовах експериментальної сенсоневральної приглухуватості.

Як видно з даних рисунка 1 у тварин зі змодельованою сенсоневральною приглухуватістю визначались суттєві зміни співвідношення сигнал/шум. Вони полягали у зменшенні співвідношення сигнал/шум на різних частотах від $1,3 \pm 0,15$ дБ до $4,78 \pm 1,1$, порівняно з контрольною групою, в якій інтервал становив від $5,6 \pm 0,9$ до $7,62 \pm 1,9$ дБ починаючи з частоти 2кГц, що свідчить про відсутність відгуку волоскових клітин у тварин зі змодельованою сенсоневральною приглухуватістю (таблиця 1).

Таблиця 1

Пороги відповідей ОАЕПС мишей основної групи та інтактних мишей, (M±m)

Частоти, Гц	Основна група			Контрольна група		
	Продукти спотворення, дБ	Рівень шуму, дБ	Співвідн. сигнал/шум, дБ	Продукти спотворення, дБ	Рівень шуму, дБ	Співвідн. сигнал/шум, дБ
2000	1,04±0,03	0,08±0,02	1,0±0,1	6,57±1,5	12,15±4,2	6,08±1,1
2857	10,57±1,3*	14,75±2,5	4,2±1,1	7,82±1,9	14,12±4,5	5,6±0,9
4000	9,19±1,1*	4,78±1,1	3,4±1,7	12,14±2,8	17,25±3,7	6,51±1,5
5714	10,91±3,1	3,32±2,1	5,6±1,9	17,81±2,3	23,76±5,1	7,62±1,9
8000	13,55±1,5*	4,54±1,2	6,0±2,6	33,83±3,6	41,03±5,3	6,7±1,3

Примітка: відмінності достовірні при порівнянні з показником амплітуди ОАЕ на даній частоті на початку експерименту (p < 0,05; t-критерій Стьюдента).

При оцінці стану вестибулярної системи у мишей зі змодельованою СНП були визначені постійні зміни з боку вестибулярної і слухової функції на 2 тижні дослідження. При виконанні тесту «нахиленої площини» 9 (60%) тварин, з 15 не втримувались на платформі, а при виконанні тесту «обертання на платформі» у 10 (66,6%) спостерігалось подовження тривалості ністагму голови (таблиця 2).

Таблиця 2

Результати дослідження вестибулярної функції у експериментальних та інтактних тварин

Тести, визначення вестибулярної функції	Тварини зі змодельованою СНП, n-15		Інтактні тварини, n-10	
	Абс. к-ть	%	Абс. к-ть	%
Порушення виконання тесту «нахиленої площини»	9	60	-	
Порушення виконання тесту «обертання на платформі»	10	66,6	-	
Не було порушень	3	20	10	100

Як видно з даних таблиці у 10 (66,6%) тварин зі змодельованою СНП відмічались розлади вестибулярної функції, не було визначено відхилень за даними вестибулометричного обстеження у 3 (20%) експериментальних тварин.

Исценок

У тварин зі змодельованою сенсоневральною приглухуватістю визначено достовірні зміни стану вестибулярної та слухової функції в основній групі, які з'явилися після першого тижня від початку експеримента, що полягав у лігуванні вертебральної артерії, при цьому у контрольній групі мишей змін ні слухової, ні вестибулярної функцій не були визначено.

Список літератури

1. Мітін Ю.В. Визначення стану внутрішньолабиринтного тиску при сенсоневральній приглухуватості за даним отоакустичної емісії / Ю.В. Мітін, Ю.В. Деева // Журн. ВУШНИХ, носових і горлових хвороб. — 2002. — № 3 — С. — С 54.
2. Новожилова І.О. Світові тенденції зростання резистентності мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів (огляд літератури) / І. О. Новожилова, В. М. Мельник, В. Г. Матусевич // Український медичний часопис — 2013. - № 6
3. Хилов К.Л. Функция органа равновесия и болезнь передвижения / К.Л. Хилов // Л.: Медицина. — 1969. — 279с.
4. Храбриков А.Н. Характеристика сенсоневральной тугоухости и перспективы ее дифференциальной диагностики на основе регистрации вызванной отоакустической эмиссии / А.Н. Храбриков // Вестник оториноларингологии. — 2003. — № 6. — С.17–19.
5. Храбриков А.Н. Перспективы диагностики доклинических форм сенсоневральной тугоухости на основе регистрации различных классов вызванной отоакустической эмиссии / А.Н. Храбриков // Российская оториноларингология. — 2004. — № 3. — С.113– 116.
6. Шидловська Т.В. Андрейченко С.В. Експериментальне дослідження комплексної дії шуму і рентгенівського опромінення на перекісне окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів головного мозку у щурів / Т.В. Шидловська, М.С. Козак, І.О. Постригам, М.О. Демченко, С.В. Андрейченко // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. -2004. -№ 3. - С. 9-12.
7. Шидловська Т.В. Загальні принципи діагностики і лікування хворих з сенсоневральною приглухуватістю / Т.В. Шидловская, Т.А. Шидловська // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. - 2005. - №4. - С. 2-17.
8. Asada Y. High-dose steroid therapy for sudden deafness— efficacy in severe cases / Y. Asada, H.Suzuki, S. Nakabayashi, M.Furukawa // Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho. — 1998. — P. 1069– 1074.
9. Becvarovski Z. Rapid elevation of gentamicin levels in the human labyrinth following intravenous administration / Z. Becvarovski, E.M. Michaelides, J.M. Kartush [et al.] // Laryngoscope. — 2002. — P. 1163– 1165.
10. Kuliszewski M. A. A direct comparison of endothelial progenitor cell dysfunction in rat metabolic syndrome / M.A. Kuliszewski, M.R. Ward, J.W. Kowalewski [et al.] // Atherosclerosis. — 2012.

Реферати

СООТНОШЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СЛУХОВОЙ И ВЕСТИБУЛЯРНОЙ ФУНКЦИИ В УСЛОВИЯХ СМОДЕЛИРОВАННОЙ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ

Науменко А.Н., Деева Ю.В., Васильев А.В.

В работе исследовано состояние слуховой и вестибулярной функций у мышей в условиях экспериментальной сенсоневральной тугоухости. У животных со смоделированной сенсоневральной тугоухостью, по данным объективного исследования ОАЭПИ, определяются достоверные нарушения слуховой функции, по сравнению с интактными мышами контрольной группы. Также в ходе эксперимента было установлено нарушение вестибулярной функции внутреннего уха с помощью вестибулярных тестов.

Ключевые слова: модель СНП, сенсоневральной

CORRELATION OF CHANGING AUDITORY AND VESTIBULAR FUNCTION IN A SIMULATED SENSONEURAL HEARING LOSS

Naumenko O.N., Deeva U.V., Vasiliev A.V.

We have investigated state of auditory and vestibular function in the model of sensorineural hearing loss. In several animal models of sensorineural hearing loss, according to the objective examination AEPI, we have determined valid violations of auditory functions compared to intact control group in mice. In addition during the course of experimentation we found a violation of the vestibular function of the inner ear via the vestibular test.

Key words: model SNHL, sensorineural hearing

тугоухости, отоакустическая эмиссия, вестибулярная loss, otoacoustic emission, vestibular function, mice.
 функция, мыши.

Стаття надійшла 1. 03. 2016 р.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 577.113.4:546.719

К.В. Парамонова, О.А. Голіченко, С.О. Бабій, О.В. Штеменко, Н.І. Штеменко
 Дніпропетровський Національний Університет ім. О.Гончара, Український Державний
 Хіміко-Технологічний Університет, Державна установа «Інститут гастроентерології
 НАМНУ», м. Дніпропетровськ, Інститут біохімії імені О.В.Палладіна АН України, м. Київ

ВЗАЄМОДІЯ ДНК З КЛАСТЕРНИМИ СПОЛУКАМИ РЕНІЮ РІЗНИХ СТРУКТУРНИХ ТИПІВ

Вивчено взаємодію ДНК з кластерними сполуками Ренію(III) трьох структурних типів, що відрізняються кількістю та орієнтацією органічних лігандів навколо кластерного фрагменту Re_{26+} методом електронної спектроскопії. Підтверджено механізм взаємодії цис-, транс-дикарбоксилатів та тетракарбоксилату диренію(III) із суперспіралізованим полінуклеотидом шляхом ковалентного зв'язування, утворення комплексу сполука Ренію(III) – нуклеїнова основа з наступним розплетенням спіралі ДНК. Показано, що така взаємодія має особливості при низьких і високих концентраціях кластерних сполук Ренію та відрізняється для різних структурних типів. Показано редокс-активацію процесу взаємодії сполук Ренію та ДНК, що може пояснити показану раніше синергічну або адитивну антиканцерогенну дію сполук Ренію та Платини.

Ключові слова: кластерні сполуки Ренію(III), ДНК, розплетення ДНК, редокс-активація.

Робота є фрагментом НДР «Координаційні сполуки $Re(I,III)$ та $Zr(IV)$ як основа для синтезу нових біологічно активних речовин та функціональних матеріалів», № держреєстрації 0114U002488.

У наших роботах вивчалася взаємодія ДНК з одним із представників цис-дикарбоксилатів диренію(III) [15] та взаємодія нуклеїнових основ із сполукою, яка належить до тетракарбоксилатів диренію(III) [16]. У цих роботах було доведено факт взаємодії комплексних сполук ренію(III) як із суперспіралізованим полінуклеотидом, так і з нуклеїновими основами пуринового ряду шляхом ковалентного зв'язування і утворенням комплексу сполука Ренію(III) – нуклеїнова основа. З іншого боку, в експериментах *in vivo* було продемонстровано високоефективну протипухлинну активність цис-, транс- дикарбоксилатів та тетракарбоксилатів диренію(III) [13-16]. Також було припущено, що синергічний або адитивний протипухлинний ефект сполук Ренію та Платини, який спостерігався за одночасного введення цих сполук щурам-пухлиноносцям, може бути наслідком процесу редокс-активації комплексних сполук Ренію(III) у клітинах пухлин внаслідок прооксидантного стану їхнього внутрішньоклітинного середовища, що підсилюється введенням сполук Платини.

Метою роботи було дослідження взаємодії кластерних сполук Ренію(III) трьох структурних типів [3], а саме - цис-, транс-дикарбоксилатів та тетракарбоксилату диренію(III), які відрізняються кількістю та орієнтацією органічних лігандів навколо кластерного фрагменту Re_{26+} , з ДНК та з'ясування питання про можливість редокс-активації цих взаємодій.

Матеріал та методи дослідження. У роботі досліджувалися кластерні сполуки Ренію: біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- μ -півалатодиреній(III) (cis- $Re_2((CH_3)_3CCOO)_2Cl_4 \cdot 2DMSO$) (I); транс-тетрахлориди- μ -півалатодиреній(III) (trans- $Re_2((CH_3)_3CCOO)_2Cl_4$) (II); біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- μ -ізобутиратодиреній(III) (cis- $Re_2(i-C_3H_7COO)_2Cl_4 \cdot 2DMSO$) (III); транс-тетрахлориди- μ -ізобутиратодиреній(III) (trans- $Re_2(i-C_3H_7COO)_2Cl_4$) (IV); дихлоротетра- μ -ізобутиратодиреній(III) ($Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$) (V), які були синтезовані за процедурою [15, 16]. ДНК тимусу теляти (СТ-ДНК), з середньою молекулярною масою 328Да на один нуклеотид, з молярним коефіцієнтом поглинання $\epsilon_{260} = 0,6600 \cdot 10^4 M^{-1} cm^{-1}$, придбали в Serva, Німеччина.

Електронні спектри поглинання (ЕСП) поглинання були виміряні на спектрофотометрі HP 8453 фірми «Newlett Paskard» у діапазоні від 220 нм до 400 нм за процедурою [5]. Рівень чистоти дослідної ДНК встановлювали шляхом розрахунку співвідношення показників поглинання СТ-ДНК при 260 нм та 280 нм, що становило менше ніж 1,8. Це вказувало на чистоту зразку СТ-ДНК, вільної від білкових молекул. Досліди з титруванням СТ-ДНК сполуками Ренію були проведені з фіксованими концентраціями СТ-ДНК (0,12 мкМ) у Tris-HCl буфері (5 мМ, pH 7,5) та в присутності 20 мМ NaCl. Розчин комплексу Ренію та СТ-ДНК інкубували протягом 5 хвилин, після чого були зняті спектри поглинання. Окрім того, було проведено титрування СТ-ДНК кластерними сполуками Ренію