

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

**ЛОБЗИНА**  
**Елена Валериевна**

**МЕХАНИЗМЫ ПОРАЖЕНИЯ ВНУТРЕННЕГО УХА  
ПРИ ШУМОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**  
(клинико-экспериментальное исследование)

14.03.03 – патологическая физиология

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
Заслуженный работник высшей школы РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
Овсянников Виктор Григорьевич;  
**Научный консультант:**  
доктор медицинских наук, профессор  
Золотова Татьяна Викторовна.

Ростов-на-Дону – 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. Обзор литературы.....	11
1.1. Распространённость сенсоневральной тугоухости и социальная значимость проблемы.....	11
1.2. Влияние акустического воздействия на слуховую функцию и возможности его выявления.....	13
1.3. Известные способы моделирования сенсоневральной тугоухости в эксперименте и отопротективная терапия.....	23
ГЛАВА 2. Материал и методы исследования.....	33
2.1. Характеристика экспериментальных животных.....	33
2.1.1. Схема экспериментального моделирования тугоухости.....	36
2.1.2. Методика исследования животных.....	36
2.2. Характеристика пациентов с сенсоневральной тугоухостью.....	40
2.2.1. Методы обследования пациентов .....	43
2.3. Методы статистической обработки материала.....	48
ГЛАВА 3. Результаты собственного экспериментального исследования по моделированию сенсоневральной тугоухости у животных.....	49
3.1. Моделирование сенсоневральной тугоухости у экспериментальных животных – белых крыс.....	49
3.2. Результаты оценки слуховой функции у экспериментальных животных.....	55
3.3. Результаты оценки морфологических исследований внутреннего уха экспериментальных животных.....	57
3.4. Отопротективное действие силденафила на периферический отдел слухового анализатора при моделировании шумовибрационной тугоухости у белых крыс.....	70

ГЛАВА 4. Функциональные исследования и рентгеноспектральный микроанализ у пациентов с сенсоневральной тугоухостью, ассоциированной со звуковым воздействием.....	78
4.1 Функциональные исследования слуха у пациентов с сенсоневральной тугоухостью.....	78
4.2. Рентгеноспектральный микроанализ у пациентов с сенсоневральной тугоухостью до и после лечения.....	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	86
ВЫВОДЫ.....	93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	94
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	96
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	120

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Ежегодное увеличение числа больных с патологией слухового анализатора является характерной чертой последних десятилетий, несмотря на постоянную работу по внедрению современных методов диагностики и реабилитации, что диктует необходимость более глубокого изучения этой патологии (Пальчун В.Т. и соавт., 2016; Кунельская Н.Л. и соавт., 2018; Лазарева Л.А., Музаева Б.Р., 2018; Wu С.М., 2014; Müller M. et al., 2016). Данная тенденция сохраняется, как по всей России, так и по Ростовскому региону (Золотова Т.В., 2013). Между тем, механизмы нарушения слухового анализатора не до конца изучены (Wong А.С.У., Ryan А. F., 2015). Этиология сенсоневральной тугоухости (СНТ) многообразна, а патогенез чрезвычайно сложен, что определяет необходимость проведения новых исследований как экспериментальных, так и клинических.

В последние годы возобновился интерес к экспериментальным исследованиям по изучению патологии внутреннего уха, в том числе, при СНТ. Публикации по этому направлению в доступных нам источниках принадлежат, в большей степени, зарубежным авторам (Sha S.H., Schacht J., 2000; Manohar S. et al., 2017; Soyalic H. et al., 2017). Безусловно, в отечественной науке предстоит восполнить этот пробел, и особое место при этом принадлежит экспериментальным исследованиям слуховых структур на клеточно-молекулярном уровне.

В структуре заболеваний органа слуха высокий процент составляет тугоухость, обусловленная воздействием шума. Свыше 2,6 млн. человек населения, работают в таких отраслях как транспорт, связь, строительство, производство электроэнергии на работах с повышенным уровнем шума, инфразвука и ультразвука (Илькаева Е.Н., 2009; Петрова Н.Н., Сидоров А.А., 2010). Считается, что уровень производственного шума 80 дБ является тем минимумом, который не оказывает влияния на степень риска возникновения

тугоухости (Дайхес Н.А. и соавт., 2018). Воздействию шума подвергался каждый третий работник по результатам аттестации рабочих мест. Больше чем в 50% случаев был повышен уровень шума по условиям работы на железнодорожном транспорте (Панкова В.Б., 2017). Поражение звуковоспринимающего аппарата может возникать уже при шуме на рабочем месте, соответствующем 81-90 дБ, а также встречается и при длительном воздействии шума нормативного характера (Панкова В.Б., 2009, 2017; Панкова В.Б., Скрябина Л.Ю., 2016). Раннее выявление слуховых нарушений и профилактические меры по предотвращению прогрессирования СНТ у работников железнодорожного транспорта остаются чрезвычайно важной задачей в настоящих условиях. Современные сведения об участии апоптического пути гибели клеток в морфо-функциональной картине СНТ, считающегося обратимым на начальных стадиях, вселяют надежду на возможность профилактики прогрессирования СНТ на ранних этапах развития и нацеливают на поиск средств для оптимизации лечения (Золотова Т.В., 2004; 2013; Сигалева Е.Э., 2010).

Таким образом, целесообразно продолжение исследований, в том числе и на клеточно-молекулярном уровне, по уточнению механизмов поражения внутреннего уха при СНТ, в частности связанных с шумом и шумовибрационным воздействием: роли апоптоза, изменений на уровне клеток спирального органа, нейронов спирального ганглия, сосудистой полоски.

**Степень разработанности темы.** Экспериментальные исследования на животных по изучению механизмов поражения внутреннего уха долгое время были недостаточно освещены в литературных источниках, и лишь в последние годы появились работы, в большей степени зарубежных учёных, в которых на новом уровне ставятся вопросы патогенеза, уровней и глубины поражения сенсоневральных структур (Manohar S. et al., 2017; Soyalic H. et al., 2017). Неоднозначны данные об основных путях гибели клеток

внутреннего уха и регенеративных возможностях слухового анализатора (Сигалева Е.Э., 2010) Остается дискуссионным и вопрос о приоритетной гибели НВК или нейронов спирального ганглия при СНТ (Fernandez К.А., 2015). Не исключено, что это связано с отличающимися параметрами и длительностью воздействия раздражителя, но требует достоверной клинической оценки значения этих факторов для уточнения патогенеза и создания лечебно-профилактических рекомендаций и прогнозирования течения СНТ.

Все эти вопросы требуют достоверной экспериментальной и клинической оценки с последующим уточнением основных механизмов развития тугоухости и возможностях терапии и профилактики СНТ, в частности, при акустическом и вибрационном воздействии.

**Цель исследования:** выявление механизмов поражения внутреннего уха при шумовом и шумовибрационном воздействии и оптимизация отопротективной терапии на основании клинико-экспериментального исследования.

**Задачи исследования:**

1. Изучить состояние слуховой функции у лабораторных животных - белых беспородных крыс в процессе эксперимента по моделированию сенсоневральной тугоухости.

2. Создать экспериментальную модель сенсоневральной тугоухости у крыс на основе шумового и вибрационного воздействия.

3. Исследовать механизмы поражения внутреннего уха экспериментальных животных на основе оценки морфологических изменений после шумового и вибрационного воздействия.

4. Изучить отопротективные свойства препарата силденафил у экспериментальных животных, подвергнутых шумовому и вибрационному воздействию.

5. Исследовать элементный состав эритроцитов крови методом

рентгеноспектрального анализа у пациентов с сенсоневральной тугоухостью в процессе использования силденафила с функциональной оценкой слухового анализатора и определением возможностей профилактических и лечебных мероприятий.

**Научная новизна исследования.** Научная новизна работы обусловлена созданием экспериментальной модели СНТ на животных – белых крысах при шумовом и вибрационном воздействии и выявлением звеньев патогенеза поражения спирального (кортиевого) органа на основе морфо-функциональных исследований – разработан способ моделирования сенсоневральной тугоухости (Патент РФ № 2627155).

На экспериментальной модели СНТ собственной модификации впервые показано положительное влияние силденафила на структуры слухового анализатора животных, и обоснована возможность его использования для профилактики и лечения тугоухости, ассоциированной с шумовым и вибрационным воздействием.

Обоснована возможность использования силденафила в патогенетической терапии СНТ, определены меры профилактики и лечения заболевания с применением силденафила лицам, подвергающимся воздействию шума, на примере работников железнодорожного транспорта.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** На основании примененных современных методов исследования на экспериментальной модели тугоухости у животных, а также на основании результатов многоплановых клинических исследований больных – группы работников железнодорожного транспорта, страдающих сенсоневральной тугоухостью, уточнены ряд звеньев патогенеза СНТ, влияющие на индивидуальные особенности течения заболевания.

Доказана возможность использования силденафила в лечении патологии внутреннего уха по данным экспериментальных исследований на животных и применения его у больных с СНТ, разработаны схемы и показания к

применению патогенетически направленного лечения пациентов с тугоухостью, позволяющего повысить эффективность терапии этой группы пациентов.

Результаты исследования внедрены в учебные программы для студентов на кафедре патологической физиологии и в программах для обучающихся специалитета и последипломного образования на кафедре болезней уха, горла, носа ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Фактический материал может быть полезен в практической деятельности врачей оториноларингологов.

**Методология и методы исследования.** При выполнении работы использовался основной метод патологической физиологии – экспериментальное моделирование сенсоневральной тугоухости у крыс на основе шумового и вибрационного воздействия. В работе использованы патофизиологические, морфологические, математические методики, субъективные и объективные методы исследования.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Акустическое и вибрационное воздействие при примененных параметрах в условиях иммобилизационного стрессирования экспериментальных животных (белых крыс) вызывает сенсоневральную тугоухость.

2. Основными механизмами формирования патологии внутреннего уха у экспериментальных животных (белых крыс) при используемых параметрах шумового и вибрационного воздействия являются нарушения микроциркуляции с признаками отёка и дистрофии в кортиевоом органе, изменения волосковых клеток, имеющих признаки раннего апоптоза, а также гибель нейронов спирального ганглия путем апоптоза.

3. Определение возможностей микроциркуляторного эффекта силденафила на периферический отдел слухового анализатора.

**Апробация работы.** Результаты исследований, основные положения



диссертации доложены на 4-м Национальном Конгрессе аудиологов, 8-м Международном симпозиуме «Современные проблемы физиологии и патологии слуха» (Суздаль, 2011); Proceedings XXXI World Congress of Audiology (Moscow, Russia, 2012); заседании Ростовской секции, посвященной 90-летию основания кафедры болезней уха, горла, носа ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России (Ростов-на-Дону, 2013); 5-м национальном конгрессе аудиологов. 9-м международном симпозиуме «Современные проблемы физиологии и патологии слуха» (Суздаль, 2013); 2-ой итоговой научной сессии молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2015); XIV Российском конгрессе оториноларингологов (Москва, 2015); 12-й научно-практической конференции врачей КЧР с международным участием (Черкесск, 2016); I конгрессе оториноларингологов северо-западного федерального округа «Балтийский бриз» (Светлогорск, 2017); XVI Российском конгрессе оториноларингологов «Наука и практика в оториноларингологии» (Москва, 2017).

**Внедрение в практику результатов работы.** Материалы исследования используются в программах для студентов на кафедре патологической физиологии и в программах для обучающихся специалитета и последиplomного образования на кафедре болезней уха, горла, носа ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, а также внедрены в практику работы оториноларингологических отделений г. Ростова-на-Дону.

**Публикации результатов исследования.** По результатам исследований опубликовано 20 печатных работ, в том числе 6 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе

получен патент на изобретение.

**Личный вклад автора.** Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором (90%).

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных данных, включающих эксперимент с белыми крысами по моделированию сенсоневральной тугоухости и клиническую часть по обследованию больных с сенсоневральной тугоухостью, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 131 отечественный и 75 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 7 таблицами и 21 рисунком.

# ГЛАВА 1

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### **1.1. Распространённость сенсоневральной тугоухости и социальная значимость проблемы**

Сенсоневральная тугоухость (СНТ) в современных условиях относится к распространённым полиэтиологическим заболеваниям со сложным патогенезом. Профессиональная тугоухость, обусловленная воздействием шума, образует большую часть в структуре заболеваний органа слуха. Более 2,6 млн. трудящихся участвуют в работе предприятий, в том числе на транспорте, с повышенным уровнем шума, инфразвука, ультразвука (Илькаева Е.Н., 2009; Петрова Н.Н., Сидоров А.А., 2010; Сигалева Е.Э., 2010). В 42,6% случаев ежегодно регистрируемых в России, статистические сведения констатируют нарушения в слуховом анализаторе от воздействия шума и вибрации среди первичных форм профессиональной тугоухости при этом около 30% таких расстройств приходится на предприятия (Петрова Н.Н., Сидоров А.А., 2010).

Высокая частота патологии, связанной с нарушениями слуха, а также наличие социального аспекта при возникновении тугоухости у человека повышает значимость проблемы (Гофман В.Р., 2003). Мировая статистика (ВОЗ) предоставляет данные о 250 млн. жителей земного шара с признаками тугоухости (Загорянская М.Е. и соавт., 2003; Загорянская М.Е., Румянцева М.Г., 2008; Таварткиладзе Г.А., 2003, 2008). 278 млн. человек больных по данным XXXI Всемирного Конгресса Аудиологов 2012 г. (Virzbicka L. et al., 2012). В России эта патология формирует 2-10% с численным перевесом (63,2-80%) сенсоневральной тугоухости (Загорянская М.Е., Румянцева М.Г., 2003; 2008; Таварткиладзе Г.А., 2001; 2003; 2008; Крюков А.И., 2011). Нарушения слуховой функции с поражением сенсоневральных структур продолжают количественный рост в последние десятилетия и по результатам

анализа ассоциируют с постоянно ухудшающейся экологической обстановкой, действием шума в быту и на производстве, заболеваниями сердца и сосудов, нервно-психическими ситуациями (Янов Ю.К., Ситников В.П., 2002; Таварткиладзе Г.А., 2003, Conlon V.J.et al., 1998). Социально значимые слуховые нарушения слуха отражаются на адаптации больных, повышают их стрессовый уровень, влияют на качество жизни. (Бабияк В.И. и соавт., 2004; 2005 Такое же положение, сопровождающееся ростом заболеваемости СНТ, сохраняется и на Юге Российской Федерации (Золотова Т.В., 2004; 2013).

Определяющая роль шума в числе прочих патогенных производственных обстоятельств свойственна как для России, так и для большинства развитых стран мира (Amedofu G.K., 2002; Ahmed H.O. et al. 2004; Johansson M.,2004; Guerra M.R., 2005; Rubak T., 2006; Montiel-López M., 2006; Ustinaviciene R., 2007; Mrena R., 2007; El Dib R.P. et al. 2008; Bogerl M., 2009; Skogstad M. , 2009; Azizi M., 2010). Порядка 11,4% рабочих американцев имеют нарушения слуха разной степени выраженности согласно сведениям Национального института США по охране труда и здоровья (NIOSH).

Ежедневно, миллионы рабочих в странах Северной Америки подвергаются воздействию шума выше предельно допустимых значений от разнообразных машин. В особенности подвергаются шуму работники транспорта и промышленных предприятий, военные. (Ising H., 2004; Lisa Goines, Louis Hagler, 2007).

В Российской Федерации воздействие производственного шума в течение последнего десятилетия остается наиболее острой в гражданской авиации, угольной промышленности, машиностроении, металлургии, а уровень выявления всех профессиональных заболеваний, в том числе СНТ, не велик и не отражает истинного профессионального риска (Остапкович

В.Е. 1991; Козин О.В. 2006; Панкова В.Б. 2001, 2007, 2009, 2012, 2017; Илькаева Е. Н. 2009).

Э.Г. Беличева (2008), Е.Н. Илькаева (2008, 2009) приводят данные, свидетельствующие, что современной особенностью сенсоневральной тугоухости является и то, что не только происходит повсеместное нарастание заболеваемости, но и омоложение, с поражением в основном трудоспособного населения. Н.А. Дайхес и соавт. (2018) указывают, что данные последних лет позволяют к факторам риска потери слуха вследствие шумового воздействия, наряду с гипертонзией, курением и другими, относить старение, что требует продолжения исследований по анализу взаимосвязи аудиологических характеристик с возрастом и неблагоприятными производственными факторами.

## **1.2. Влияние акустического воздействия на слуховую функцию и возможности его выявления**

Сенсоневральная тугоухость – заболевание, характеризующееся снижением слуха, шумом в ушах, нарушением разборчивости речи, при этом страдает функция звуковосприятия вследствие нарастающих дегенеративно-атрофических изменений в слуховом анализаторе. На ранних этапах можно приостановить дальнейшее прогрессирование заболевания, но, к сожалению, расстройства слуха в этот период часто остаются незамеченными, как известно, необратимы в поздних стадиях (Кунельская Н.Л., 2012, Золотова Т.В., 2013; Бербом Х. и соавт., 2012).

Акустический раздражитель является одной из главных причин возникновения сенсоневральной тугоухости, вызывающий механические и метаболические нагрузки на кохлеарные структуры (Lim, 1986; Harding G.W., Bohne V.A., Vos J.D. 2005; Cheng et al., 2005; Henderson et al., 2006). Проанализировав результаты исследований (Сагалович Б.М., 1978; Евдощенко Е.А., Косаковский А.Л., 1989, Токарев О.П., 1998; Носуля Е.В.,

Гайдаров Г.М., 2000; Лопотко А.И., 2008; Таваркиладзе Г.А., 2008; Кунельская Н.Л., 2012; Золотова Т.В., 2013; Бербом Х. и соавт., 2012), можно представить классификацию сенсоневральной тугоухости:

1. По темпам развития:

- острая сенсоневральная тугоухость (чаще односторонняя) по времени развития подразделяется на:

А) внезапную форму (от нескольких минут до 12 часов);

Б) острую форму (увеличение временного промежутка до суток и более).

- хроническая сенсоневральная тугоухость (чаще двусторонняя, в течение длительного времени).

Формы хронической сенсоневральной тугоухости (Гребенюк И.Э., 2007; Золотова Т.В., 2007; Лопотко А.И., 2008):

1) Стабильная.

2) Прогрессирующая:

- медленно прогрессирующая;

- быстро прогрессирующая.

2. По длительности течения:

- острая сенсоневральная тугоухость (до 1 мес.),

- подострая (от 1 до 3-х мес.),

- хроническая (более 3-х мес.).

3. По морфологическому признаку:

- первичная (не воспалительная),

- вторичная (воспалительная).

По мнению ученых (Евдощенко Е.А., Косаковский А.Л., 1989; Петухова Н.А., 2000; Петрова Г.М. и соавт., 2002; Бабияк В.И., Накатис Я.А., 2005; Крюков А.И., Петухова Н.А., 2006; Бакулина Л.С., Машкова Т.А., 2007; Золотова Т.В., 2007, 2010; Бербом Х. и соавт., 2012) следует выделить формы сенсоневральной тугоухости по этиологическому фактору:

- сосудистая,

- инфекционная,
- токсическая (в том числе, применение ототоксических веществ),
- травматическая (акутравма, баротравма, механическая травма),
- профессиональная (шум, вибрация и др.),
- воспалительная (при остром и хроническом отите),
- обменная,
- возрастная (пресбиакузис),
- наследственная,
- врожденная,
- иммунная.

В настоящее время сложилось достаточно полное представление о причинах, приводящих к развитию тугоухости, но непосредственно патогенетические аспекты раскрыты все еще недостаточно.

Л.А. Лазарева (2006) приводит данные о роли иммунологических нарушений в звеньях иммуноглобулинов и цитокинов, таких как фактор некроза опухолей, интерлейкин 1 и субпопуляций лимфоцитов в патогенезе сенсоневральной тугоухости.

В механизмах развития острой сенсоневральной тугоухости участвуют гистаминовые рецепторы H3/H4-типа (Лазарева Л.А., 2013).

Под сомнение поставили наличие во внутреннем ухе специфической анаболической системы стрессозащиты в эксперименте на мышах при политональной стимуляции, исследовав воздействие акустического стресса (Крюков А.И. и соавт., 2001).

Дисфункция при сенсоневральной тугоухости связана с нарушением преобразования акустической энергии в периферическом отделе слухового анализатора или с нарушением проведения нервного импульса к центральному отделу слухового анализатора – аудиторной невропатией, диагностируется при сопоставлении результатов тональной пороговой аудиометрии, отоакустической эмиссии, акустического рефлекса, слуховых

вызванных потенциалов (Гвелесиани Т.Г., Цыганкова Е.Р., 2001, Таварткиладзе Г.А., 2001; Ларская А.В., Гвоздиков И.М., 2007).

С.М. Петрова (2003) считает, что при некоторых формах сенсоневральной тугоухости разрушение рецепторных клеток спирального органа приводит к изменениям состояния волокон слухового нерва, который иннервирует поврежденный участок базилярной мембраны, при этом, нервные волокна наименее подвержены неблагоприятным воздействиям, если они располагаются дальше от основания улитки.

По современным представлениям, механизм ототоксического действия аминокликозидов основывается на нарушении энергетического обмена в клетке, связанного с патологией митохондрий и повреждение клетки вследствие изменения ионной проводимости, при этом свободные радикалы могут быть пусковым моментом (Андреев П.В., 2003, Dehne N. Et al., 2002).

По мнению Т. Pham Et al. (2005) у больных с недостатком витаминов А-ретинолом, Е- токоферолом и В2- рибофлавином и снижением уровня апопротеида Е, современного кардиомаркера со свойствами ингибитора свободнорадикального окисления, наблюдается развитие хронической сенсоневральной тугоухости.

Отрицательное действие патогенных факторов на рецепторы внутреннего уха, на центральную нервную систему и органы чувств, а также на весь организм в целом провоцирует нарушения его гомеостаза и изменения в анализаторных системах (Панкова В.Б., 1999). В развитии различных заболеваний все больше внимания уделяется роли нарушений электролитного баланса в последнее время. Один из важных регуляторов гомеостаза организма изучается кальций-фосфорный метаболизм (Королук М.А., 1994; Ахкубекова Н.К., 1997; Сыч Ю.П., 2005; Мазуров В.И., 1999; Рожинская Л.Я., 2000; Райская-Качесова О.Н., 2003; Косяков С.А., 2008; Beurg M. et al.; 2005). Недостаточно изучена роль микроэлементных нарушений, а именно, кальциевого обмена в развитии тугоухости, тогда как



кальций является регулятором клеточной гибели по пути апоптоза или некроза (Золотова Т.В., 2004; 2013). В отечественной и зарубежной литературе встречаются крайне редко публикации, давшие представление о выявлении клеточных механизмов сенсоневральной тугоухости, а именно апоптотическому, регулируемому пути гибели клеток (Camarero G. et al., 2001; Kamiya K. et al., 2001; Morishita H. et al., 2001, Журавский С.Г., 2006), что подтверждает необходимость дальнейшего изучения данной проблемы.

Т.В.Золотова (2013), опираясь на собственные исследования, считает, что акутравма возникает в результате чрезмерного кратковременного или длительного воздействия шума с развитием необратимых изменений во внутреннем ухе, превосходит механические травмы внутреннего уха по частоте и приводит к сенсоневральной тугоухости. «Акустический рефлекс» является одним из защитных механизмов органа слуха, благодаря которым, внутреннее ухо человека способно выдерживать сильные нагрузки. Шумовое воздействие приводит к необратимым изменениям в волосковых клетках спирального органа, затем спирального узла. Изначально морфологические изменения начинаются с ядер и ядрышек волосковых клеток, потом происходит деформация наружных волосковых клеток, затем столбиковых клеток, в последующем вовлекаются и внутренние волосковые клетки, так изменения распространяются на опорный аппарат. Только со временем, спиральный ганглий и волокна слухового нерва вовлекаются в патологический процесс.

Причины морфологических изменений:

- чрезмерная акустическая энергия,
- сосудистые изменения,
- нервно – трофические нарушения.

В ответ на интенсивный звук вовлекается вегетативная иннервация внутреннего уха и приводит к рефлекторному генерализованному спазму

сосудов. Шумовое воздействие приводит к увеличению проницаемости сосудов улитки и нарушению функции гематолабиринтного барьера.

Длительное отрицательное действие производственного шума, превышающего (ПДУ), способствует развитию хронической профессиональной тугоухости. В.Е. Остапкович., А.В. Брофман (1982); Т.П. Бессараб (1997); В.Б. Панкова и соавт. (2007, 2012) приводят данные, что среди профессиональных заболеваний третье место занимает сенсоневральная тугоухость, а в некоторых отраслях- первое место. Современными данными является то, что каждый пятый работающий человек сейчас подвергается воздействию производственного шума (Панкова В.Б., 2008, 2016, 2017).

Изначально звук высокой частоты вызывает утомление слухового анализатора, при продолжительном воздействии развиваются и постепенно усиливаются деструктивные процессы в рецепторе, следовательно, эффективность профилактики и лечения может быть возможна лишь в начальных стадиях профессиональной тугоухости (Остапкович В.Е.,1983). Отрицательному действию шума на железнодорожном транспорте подвергаются не только машинисты и их помощники, но и работники железнодорожных станций, переездов, регулировщики ,мастера-ремонтники, монтеры, обходчики путей и др. (Мухамедова Г.Р., 2009).

Сенсоневральная тугоухость развивается у работающих на шумном производстве 10 лет и более, с наибольшей вероятностью при стаже работы 10-19 лет (Панкова В.Б., 2007, 2008, 2016). Первые признаки отрицательного воздействия шума на орган слуха проявляются через 4-5 лет работы в шуме, превышающем ПДУ, а умеренные через 10-15 лет у работников шумоопасных профессий (Шульга И.А., 2014).

В 1996 г. на сессии Всемирной ассамблеи охраны здоровья была принята Глобальная стратегия «Медицина труда для всех», направленная на обеспечение безопасного труда на производстве, а в 2007 г. был принят

Глобальный план действий на 2008-2017 гг. по защите здоровья работников, основанный на предложениях, поступивших из 104 разных стран, и призванный способствовать проведению мероприятий по безопасности труда во всемирном масштабе (Панкова В.Б., 2009, 2016).

Своевременное выявление влияния неблагоприятных факторов, в частности, акустического воздействия зависит от своевременного обследования. Диагностика СНТ базируется преимущественно на аудиологическом исследовании, включающем субъективные и объективные методы. К субъективным методам исследования слуха относят: исследование слуха речью, камертонами, тональную пороговую и надпороговую аудиометрию, речевую аудиометрию, ультразвуковую аудиометрию, шумометрию и др. К объективным методам исследования слуха относят: акустическая импедансометрия, исследование слуховых вызванных потенциалов, регистрация отоакустической эмиссии (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А., 2003). Авторы рекомендуют, чтобы оценить выраженность слуховых нарушений, необходимо использовать Международную классификацию (таблица 1.1) степеней тугоухости и глухоты (Wilson J., 1988), в ее основе уровень средней величины порогов слышимости по воздуху в диапазоне речевых частот (500 – 4000Гц).

Степень снижения слуха у работников железнодорожного транспорта рекомендуется оценивать по профессиональной классификации тугоухости (Панкова В.Б., 2011, 2016), которая приведена в главе IV.

Высоко информативной, объективной и современной является методика регистрации коротколатентных слуховых вызванных потенциалов, которая способствует углубленному исследованию слуха (Хечинашвили С.Н., Кеванишвили З.Ш., 1985; Григорьева И.Ф., 1992; Гнездицкий В.В., 1997; Заболотный Д.И., Шидловская Т.А., 1998, 2002; Feblot P., 1979; Kaga K. Et al., 1997).

**Таблица 1.1** – Международная классификация тугоухости и глухоты

Степень тугоухости	Аудиометрический порог
I степень (легкое снижение слуха)	26 – 40 дБ
II степень (умеренное снижение слуха)	41- 55 дБ
III степень (выраженное снижение слуха)	56 – 70 дБ
IV степень (значительно выраженное снижение слуха)	71 – 90 дБ
Глухота	91 и более дБ

Н.Ю. Александров (2001) считает, что клиническое значение имеют абсолютные величины латентностей, увеличение абсолютной латентности I потенциала, говорит о периферическом поражении слухового нерва.

С.Н.Хечинашвили, З.Ш. Кеванишвили (1985) представили результаты показателей регистрации коротколатентных слуховых вызванных потенциалов при сопоставлении с результатами тональной пороговой аудиометрии, отражающие слух преимущественно на средних и высоких частотах.

Раннее выявление слуховых расстройств и профилактические меры по предотвращению прогрессирования сенсоневральной тугоухости у работников железнодорожного транспорта остаются чрезвычайно важной задачей и в настоящих условиях, что приобретает особую актуальность в связи с современными сведениями об участии апоптического пути гибели клетки в морфо-функциональной картине сенсоневральной тугоухости, считающегося обратимым на начальной стадии (Золотова Т.В., 2004; Шестаков В.А., 1997).

В.П. Скулачев (1996) считает, что апоптоз для клетки способ уйти из жизни, клетка поэтапно разбирает себя на молекулы, которые могут быть полезны другим клеткам организма.

Апоптоз – механизм устранения живых, но утративших свою функцию клеток при гормональных перестройках и инволютивных процессах, широко распространен в естественных условиях (таблица 1.2) (Новиков В.С., 1996, Лушников Е.Ф. и др., 2001).

**Таблица 1.2** – Физиологические процессы, которые осуществляются по механизму апоптоза

Физиологические процессы
феномен осеннего опадения листьев
отмирание хвоста у головастика и человеческого эмбриона
формообразование органов в период онтогенеза
возрастная атрофия ткани предстательной железы
атрофия гиперплазированной молочной железы и ткани матки в постлактационном, послеродовом периодах
формообразование органов в период онтогенеза
увядание кожи
устранение лимфоцитов к окончанию срока существования
гибель клеток на стадии предопухолевой трансформации, вирусной персистенции

В.Д. Самуилов и соавт. (2000) считают, что основной ультраструктурный критерий апоптоза – электронно-микроскопическая картина конденсации и маргинации хроматина у ядерной мембраны – результат цепи реакции, который приводит к эндонуклеазной фрагментации молекулы ДНК и разрушению структурных белков ядерного скелета.

Применение специфических иммуногистохимических методик (TUNEL-, ABC- методы; EPOS, En Vision) доказывает на светооптическом уровне, что клетка находится на промежуточных этапах апоптоза (Эллиниди В.Н. и соавт., 2002), с применением меченых моноклональных и поликлональных антител против известных белков, которые вырабатываются на этапах апоптоза (Вах, Вак, caspase 3, 6, 7, 9, c-myc, c-fos, цитохром С).

Завершающие этапы программированной клеточной гибели имеют характерную морфологическую картину, это позволяет подтвердить апоптоз на цитологических мазках или гистологических препаратах. Характерные критерии программированной клеточной гибели – оксифильность цитоплазмы, типичные изменения ядра: гиперхромия, оптическая плотность, сжатость, округлость, форма в виде полулуний или пикноз (Лушников Е.Ф. и соавт., 2001).

Прохождение апоптоза в кортиевом органе в экспериментах с применением иммуногистохимических методов обнаружено при воздействии интенсивного шума, старении слухового анализатора, воздействии противоопухолевых препаратов (Nakagawa T. et al., 1997; Vago P. et al., 1998; Forge A. et al., 2000 a; Hu В.Н. et al., 2002 a,b; Liu W. et al., 1998; Yang W.P. et al., 2004).

Зарубежные авторы (Vago P. et al., 1998; Lenoir M. et al., 1999) считают, что компенсаторная гипертрофия поддерживающих клеток Дейтерса происходит после апоптотической гибели наружных волосковых клеток, с формированием «эпителиального рубца». Это позволяет предотвратить развитие вторичных деформаций структуры спирального органа, функциональных нарушений звуковосприятия на соседних сохранных участках завитков с интактными волосковыми клетками и сохранить исходное положение кутикулярной пластинки. Интересно, что у крыс в зонах гипертрофированных поддерживающих клеток Дейтерса на месте исчезнувших наружных волосковых клеток появляются атипичные,

«переходные» клетки с ультраструктурными молекулярными характеристиками, которые схожи с незрелыми волосковыми клетками.

Представления о запуске, особенностях течения и регуляции апоптоза волосковых клеток носят характер фундаментальной базы в разработке способов защиты спирального органа (отопротекции), возрастание неспецифической клеточной резистентности в неблагоприятных для существования волосковых клеток условиях: акутравмы, инволютивные изменения при старении, а также воздействие ототоксических препаратов (Torchinsky S. et al., 1999; Pirvola U. et al., 2000; Staecker H. et al., 2000; Staecker H. et al., 2001).

### **1.3. Известные способы моделирования сенсоневральной тугоухости в эксперименте и отопротективная терапия**

Г.А. Таварткиладзе (1995), Н.М.Маткулиев, З.Х. Каримова (2012), считают, что в сурдологии важным направлением должно быть изучение сенсоневральной тугоухости в экспериментах на животных.

По мнению В.Ф. Ундриц (1962) используются собаки и кошки, так как у них относительно большое ухо и это облегчает манипуляции, кролики, у них легко достигаемая булла, морские свинки, улитка которых сильно выдается в виде конуса в полость буллы, мыши и голуби для моделирования заболеваний внутреннего уха. Так как в последнее время гуманное отношение к животным приобретает особое значение, В.В. Киселев (1989); Д.В. Помухин. (1999) считают, что список экспериментальных животных можно дополнить использованием доступных, не обладающих интеллектом, экономически выгодных крыс.

В экспериментах на крысах, морских свинках, кроликах наименьшая степень искажения результатов по сравнению с собаками и кошками, имеющими видовые особенности и зависят от породы животного (Сагалович Б.М.; Пальчун В.Т., 1999).

У животных отсутствует постоянная реакция на звук, поэтому определить слух непросто. Рефлекс Пре́йера (Preyer) наиболее постоянный, при сильном звуке происходит ритмическое подергивание ушной раковины, кохлеопупиллярный и кохлеопальпебральный рефлекс менее значимы, так как менее постоянны (Ундриц В.Ф., 1962).

В экспериментальном исследовании L. Afzelius, J. Aursness (1979) произвели перевязку передней нижней мозжечковой артерии у 41 морской свинки, только у 22 обнаружили дистрофические изменения наружных волосковых клеток, следовательно, степень воспроизводимости морфологической основы патологии (53,7%) на морских свинках небольшая.

J. Zou et al. (1994) осуществили моделирование сенсоневральной тугоухости у морских свинок и обнаружили мембранные аутоантитела. T.S. Nair et al. (1999) в экспериментальной СНТ на морских свинках оказывали воздействие звука 6 кГц (108 дБ) в течение недели по 30 минут, в результате обнаружили антитела к тканям спирального органа. У 51% больных с аутоиммунной сенсоневральной тугоухостью обнаружены схожие антитела, это доказывает о патологической роли аутоантител у человека при тугоухости.

A. Shulman (1999) считает обязательным проведение фундаментальных экспериментальных исследований ототоксического воздействия на лабиринт, изучение апоптоза, нейрохимических механизмов.

T. Nakagava et al. (1997) выявили проявления апоптоза при моделировании сенсоневральной тугоухости, при воздействии звука изучали куриную базилярную мембрану (in situ) и выделили два типа гибели клеток:

1) путем экстрагирования из эпителия, при этом апоптоз и некроз не участвуют;

2) в результате апоптоза в волосковых клетках происходят нарушения, затем, после элиминации, в клетках начинается процесс регенерации.



E.Ruosianti, J.C. Reed (1994), изучая сенсоневральную тугоухость, считают важным, что при нарушении концентрации ионов кальция в клетках и при снижении энергетических запасов клеток, апоптоз индуцируется.

Гипоксия, токсическое воздействие, снижение нейротрофических факторов, могут вызвать апоптотический путь в клетках улитки (Cheng A.G. et al., 1999).

Зарубежные авторы определили протеины митохондрий и их влияние на клеточную гибель, в дальнейшем отмечена возможность воздействия на апоптоз через протеины митохондрий (Patterson S.D. et al., 2000).

Клеточная смерть с признаками апоптоза с нарушениями в области нейронов вентральных и кохлеарных ядер (по афферентному пути) была обнаружена после одностороннего разрушения улитки мышей (Mostafapour S.P. et al., 2000).

В.Н. Hu et al. (2000) обнаружили апоптоз в волосковых клетках улиток морских свинок после интенсивного шумового воздействия. Авторы выделили несколько типов реформации ядер волосковых клеток:

- кариорексис, кариопикноз;
- увеличение ядер.

А.А. Aarnisalo et al. (2000) в результате акустического воздействия на спиральный орган, выявили апоптоз в слуховых мозговых нейронах мозга.

В эксперименте на линии мышей с генетически детерминированной прогрессирующей тугоухостью в высокочастотной зоне изучали патогенез сенсоневральной тугоухости, это дало возможность сравнения с начальной формой сенсоневральной тугоухости у людей, произведенное гистологическое исследование подтвердило прогрессирование ретроградной дегенерации клеток спирального ганглия (White J.A. et al., 2000).

В работах зарубежных авторов имеются данные о вовлечении в патологический процесс периферических структур и нейронов слухового пути (Kazee A.M. et al., 1995; Kazee A.M., West N.R., 1999).

Е.С. Bielefeld (2013) В эксперименте на 18 шиншилах (36 ушах) применил АЕBSF (4-(2-аминоэтил) бензинсульфонил флюорид) ингибитор NADPH оксидаза (фермент), растворенный в дистиллированной воде доставил в улитку внутреннего уха посредством диффузии через мембрану круглого окна улитки. В противоположное ухо была введена дистиллированная вода для контроля. В дальнейшем шиншиллы подвергли воздействию шума 4 kHz октавная полоса звука при 106 dB звукового давления в течение 6 часов и прерывистому шуму (75 пар импульсов по 155dB). Порог слухового отклика ствола мозга до и после шумового воздействия были равны 2 – 8 kHz. В ушах, обработанных NADPH-окислительным замедлителем, под воздействием прерывистого шума бесповоротный сдвиг порога чувствительности был снижен, в группах подвергнутых непрерывному шуму, разницы не было. Между подвергнутыми и не подвергнутыми шумовому воздействию ушами прерывистым и непрерывным шумом, статистического различия в потерях (ОНС) клеток не было.

A.R. Fetoni et al. (2013) в эксперименте на крысах изучали взаимосвязь между окислительным повреждением улитки и слуховой травмой коры мозга при повторяющимся шумовом воздействии. Водный раствор коэнзима Q10 аналог (Qter) был использован, чтобы доказать эффект увеличенной антиокислительной защиты. Проанализировав слуховую функцию, окислительную нагрузку улитки, морфологические изменения в структурах улитки и слуховых корковых структурах, и уровни коэнзимов Q9 и Q10 как индикаторы эндогенной антиокислительной возможности, было обнаружено:

- снижение слуха, повреждения в волосковых клетках и спиральном ганглии вызванное акутравмой (окислительным стрессом);
- шумовое воздействие изменило дендритную структуру и уменьшило число остистых отростков 2-3 и 5-6 слоя пирамидальных нейронов слуховой зоны коры головного мозга;

- систематическое введение коэнзима Q10 снижает повреждение улитки, потерю слуха, дендритную кору травмирование, вызванное воздействием шума. В улитке уровень содержания коэнзимов Q9 и Q10 увеличивается. Учеными были сделаны выводы, что антиоксидантная терапия восстанавливает нейронную структуру слуховой зоны коры головного мозга и слух, путем уменьшения вызванного акутравмой дисбаланса окислительно – восстановительного потенциала в улитке и деафферентации (прерывание афферентной иннервации), способствует восстановлению акустического проводящего пути нервной системы.

W.N. Mulders, D. Robertson (2013) изучали развитие гиперактивности (самопроизвольного увеличения числа работающих нейронов) после асимметричной акутравмы 10kHz путем регистрации одиночной нервной клетки в нижнем бугорке (IC) слухового анализатора у морских свинок. Они пришли к выводу, что гиперактивность в нижнем бугорке происходит в промежутке между 4 и 12 часами после звукового воздействия и в течение нескольких часов нежеле чем дней после травмы улитки. Эти результаты совпали с описанными в слуховой зоне коры у кошек (Norena A.J., Eggermont J.J., 2003). Между 12 часами и до 2 недель после акутравмы не было систематического увеличения гиперактивности. Она была распространена по большей части в нижнем бугорке через 12 и 24 часа после начала восстановления, а при увеличении времени восстановления гиперактивность становилась локализованной в области устойчивого повреждения, соответствовала областям улитки.

D.A. Liano, J. Turner, D.M. Caspary (2012) подвергали мышей в возрасте 1-3 месяца акутравме и оценивали по поведенческому признаку звона в ушах и потери слуха сразу после шумового воздействия, затем повторно в возрасте 24-30 месяцев. Через 2 месяца поведенческого оценивания, изучали слуховую корковую синаптическую передачу в мозговых срезах, используя электростимулирование мнимого таламокортикального центростремления, а

для измерения коркового возбуждения использовали флавопротеиновую автофлюоресцентную томографию. В результате, взаимосвязи между слуховой корковой активацией и активацией соматосенсорной коры в одном и том же срезе не было, предполагая, что увеличения в слуховой корковой активации не относились к возбужденному состоянию у животных после звуковой травмы. Данные, проведенного исследования, предполагают, что акутравма может причинять долго длящиеся изменения в слуховой коре и могут предусматривать определенные цели для улучшения последствий хронического звона в ушах.

Так как пациентам с сенсоневральной тугоухостью прижизненно невозможно проведение гистологических исследований внутреннего уха, это ведет к увеличению работ по моделированию тугоухости у животных (Золотова Т.В., 2013).

S. Manohar et al. (2017) разработали парадигму активного звукового предупреждения (ASAP), в которой крысы изменяли предпочтение в прозрачной и темной коробке в ответ на звук. Когда звук не подавался, крысы проводили 95% времени в темной коробке. При помещении шумов SPL 60 или 90 дБ (2-20 кГц, 2-8кГц или 16-20кГц) время нахождения крыс в процентном соотношении уменьшалось в темной коробке при увеличении звука с 60дБ до 90 дБ SPL. Величина уменьшения не была одинаковой для шума 16-20кГц и не связана с шириной полосы частот 2-20кГц и 2-8кГц, это свидетельствует о том, что предотвращение звука зависит не только от громкости, но и аверсивного качества шума. Затем в течение 28 дней крыс подвергали воздействию до 16-20 кГц при 102 дБ SPL, это вызвало постоянный пороговый сдвиг 30-40 дБ на частотах 16 и 32 кГц. После прекращения воздействия шума животных тестировали по парадигме ASAP. Сохранились предпочтения крысами темной коробки при высокочастотной потери слуха. Но, когда шум 2-20 кГц или 2-8 кГц был 60 или 90 дБ SPL крысы избегали темной коробки, при шуме 16-20кГц с SPL на 60 или 90 дБ

животные находились в темной коробке, предположительно потому, что потеря слуха на высоких частотах делала шум на 16-20 кГц менее неприятным и слышимым. Данные исследования показывают, что, когда у крыс развивается высокочастотная потеря слуха, они становятся менее толерантными к низкочастотному шуму. Звуки высокой интенсивности воспринимаются как более неприятные и их следует избегать.

T. Nicolson (2017) изучал гены, которые необходимы для функции волосяных клеток у рыбок данио, с особым упором на механотрансдукцию. Учитывая прозрачность внутреннего уха и доступные генетические инструменты, рыбки данио стали все более популярной моделью для изучения глухоты и вестибулярной дисфункции.

H. Soyalic, F. Gevrek, S. Karaman (2017) оценивали терапевтическую пользу куркумина в модели акустической травмы на крысах с использованием измерений гистопатологии, иммуногистохимии и отоакустической эмиссии на частоте продуктов искажения (DPOAE). 28 крыс серии Вистар были распределены на 4 группы. 1 группа – контрольная, подвергалась только акустической травме. 2 группа – группа куркумина. 3 группа – группа куркумина и акустическая травма. 4 группа – группа с физиологическим раствором и акустической травмой. Отоакустическую эмиссию проводили в конце эксперимента и всех животных умертвляли. Кохлею собирали и готовили для окрашивания TUNEL (TdT-опосредованный дезоксиуридинтрифосфат).

В результате 3 группа поддерживала базовые значения DPOAEs при 3000 Гц, 4000 Гц и 8000 Гц на 3-ий и 5-ый день эксперимента. Результаты DPOAEs были сопоставлены с иммуногистохимическими и гистопатологическими данными во всех группах. По сравнению с группой гистопатологического контроля в 1 группе наблюдалось статистически значимое увеличение показателей апоптоза в кортиевом органе, внутренней волосковой клетке и участках наружных волосковых клеток ( $p < 0,05$ ). По

сравнению с контрольной группой у крыс 3-й группы наблюдалось небольшое увеличение апоптических индексов внутренних и внешних волосковых клеток. Результаты подтвердили вывод о том, что куркумин может защищать кохлеарные ткани от акустической травмы у крыс. Инъекция куркумина до и после акустической травмы снижает повреждение кохлеарных волосковых клеток и может защитить от потери слуха.

Далеко не всегда эффективно медикаментозное лечение сенсоневральной тугоухости, чтобы стабилизировать или улучшить слуховую функцию (Золотова Т.В., 2013).

Если морфологический субстрат звуковосприятия слухового анализатора сохранен и нарушения на ретролабиринтных участках спирального органа обратимы, возможно улучшение слуха при хронической сенсоневральной тугоухости (Солдатов И.Б. и др., 1985; Цирульников Е.М., Пудов В.И., 1987; Пальчун В.Т. и соавт., 1988; Линьков В.И., 1991; Токарев О.П., 1998; Сапожников Я.М., 1996; Горопчина Л.В., 2003).

С.Г. Журавский (2006) утверждает, что актуально изучение и внедрение в клиническую практику эффективных препаратов, которые оказывали бы слухосохраняющее действие при превентивном назначении – отопротекторов. Так как во внутреннем ухе высших млекопитающих отсутствует регенераторная клеточная пролиферация, то при утрате волосковых клеток, нейронов спирального ганглия, волокон слухового нерва, от проводимого лечения слух не улучшается.

При разработке терапевтического пособия при острой и хронической сенсоневральной тугоухости за основу можно взять лечение при острой фокальной ишемии головного мозга (Гусев Е.И. и соавт., 2001; Одинак М. и соавт., 2004).

Улучшение трофики (реперфузии) и цитопротективная терапия являются принципиальными составляющими современной терапии ишемических состояний (Журавский С.Г., 2006). Необходимо выделение

«первичной» и «вторичной» отопротекции (Журавский С.Г., 2006), по аналогии с «первичной» и «вторичной» нейропротекцией (Гусев Е.И. и соавт., 2001). Первичная отопротекция (превентивное использование) – прерывание ранних процессов ишемического каскада, которые вызывают быстрое некротическое повреждение, вторичная отопротекция – снижение выраженности отдаленных последствий ишемии, важна при лечении на ранних сроках заболевания и профилактики при прогрессировании заболеваний (Журавский С.Г., 2006).

Современные направления стратегии нейропротекции и отопротекции при лечении сенсоневральной тугоухости (Бачурин С.О., 2001; Гусев Е.И. и соавт., 2001):

- 1) уменьшение интенсивности эксайтотоксического повреждения, блокированием NMDA- рецепторов;
- 2) разработка ингибиторов белков апоптоза;
- 3) разработка лекарственных средств с нейротрофической активностью;
- 4) разработка современных блокаторов кальциевых каналов;
- 5) разработка современных антиоксидантов.

Для клинической практики наиболее реальными в настоящее время являются блокада кальциевых каналов и антиоксидантное действие (Журавский С.Г., 2006).

Неоднократно наблюдалась эффективность проведения антиоксидантной терапии в клинических условиях при сенсоневральной тугоухости (Рындина А.М., Квасова Т.В., Цвылева И.Д., 2004) и при моделировании патологии слухового анализатора (Sha S.H. et al., 2000).

Цитофлавин (янтарная кислота, рибоксин, никотинамид, рибофлавин) является перспективным комплексным отечественным препаратом в сурдологии (Журавский С.Г., 2006).

С.Е. Колбасов и соавт. (2003) утверждают что, введение янтарной кислоты уменьшает уровень экспериментально – индуцированного патологического апоптоза. Действие янтарной кислоты подавляет гиперактивацию перекисного окисления липидов и реактивирует антиоксидантную защиту (Колбасов С.Е. и соавт., 2003; Ливанов Г.А. и соавт., 2003; Цивинский А.Д. и соавт., 2004).

Цитофлавин эффективен у больных с хроническими формами цереброваскулярной патологии (Ивницкий Ю.Ю., 1998; Суслина З.А. и соавт., 2002; Ключева Е.Г. и соавт., 2002; Румянцева С.А. и соавт., 2003; Скоромец А.А. и соавт., 2003), улучшение когнитивных функций, результат нейротропного действия препарата (Скоромец А.А. и соавт., 2003; 2004).

Медикаментозное лечение сенсоневральной тугоухости не всегда дает положительный эффект, являясь чаще всего фактором стабилизации процесса, что в ряде случаев связано с отсутствием патогенетической направленности используемых лекарственных препаратов (Золотова Т.В., 2004, 2010, 2013). Схемы лечения, которые используются сейчас отличаются незначительно и практически одинаково эффективны (Никитин К.А., Бачегова Е.М., 2011), так как отсутствует патогенетическая направленность применяемых препаратов и имеются пробелы в вопросах патогенеза сенсоневральной тугоухости, не смотря на это, не прекращаются попытки улучшить слух (Золотова Т.В., 2013).

Учитывая изученные данные литературных источников, целесообразно продолжение исследований по уточнению механизма поражения слуховых путей при СНТ, ассоциированной с шумовым воздействием, изучения морфофункциональных нарушений слухового анализатора при сенсоневральной тугоухости, функциональных изменений у работников, подвергающихся шумовому воздействию, в частности, железнодорожного транспорта, поиску методов лечебного и профилактического воздействия.



## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа состоит из экспериментальной и клинической частей и выполнена на кафедре патологической физиологии (заведующий кафедрой – Заслуженный работник высшей школы РФ, д.м.н., профессор В.Г. Овсянников) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ) (ректор – д.м.н., профессор С.В.Шлык) и клинической базе Дорожной клинической больницы (ДКБ) на станции Ростов-Главный ОАО «РЖД».

За последние годы отмечается чёткая тенденция к неуклонному росту числа пациентов с сенсоневральной тугоухостью.

В настоящем исследовании использованы данные обязательных предварительных медицинских осмотров и обязательных периодических медицинских осмотров, которые проводятся в ДКБ, согласно приказу Минздравсоцразвития России №302н от 12.4.11г., приказу ОАО «РЖД» №6Ц, указанию МПС России №Л-2257у от 08.10.99.

Несмотря на многочисленные печатные работы, посвященные различным аспектам СНТ, механизмы развития заболевания остаются не до конца изученными. Это вызывает необходимость проведения дальнейших экспериментальных исследований с использованием животных, моделированием тугоухости у животных и использованием «модели» для уточнения патогенетических аспектов болезни и для апробации лекарственных препаратов.

#### **2.1. Характеристика экспериментальных животных**

Эксперимент с созданием «модели» сенсоневральной тугоухости при шумовом и шумовибрационном воздействии проводился на белых беспородных крысах мужского пола, половозрелых, в возрасте 2-х – 3-х

месяцев, массой 180–200 г. В эксперименте участвовало 55 крыс.

Были отобраны внешне здоровые животные, которые содержались в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами для вивариев, предназначенных для разведения и содержания опытных (лабораторных) животных, используемых в экспериментальных работах при научных исследованиях (Санитарно-эпидемиологические правила СП 2.2.1.3218-14 "Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)". Постановление Главного государственного санитарного врача РФ 29 августа 2014 года N 51 Об утверждении СП 2.2.1.3218-14, зарегистрировано в Министерстве юстиции РФ 31 октября 2014 года, регистрационный N 34547).

В эксперименте по созданию способа моделирования сенсоневральной тугоухости при шумовом воздействии участвовало 20 особей белых беспородных крыс (40 ушей) – группа III (ШУМ).

В эксперименте по шумовибрационному воздействию участвовало 35 белых крыс (70 ушей), которые были разделены на группы К контроля и 5 групп экспериментальных животных (1,2,3,4,5) (таблица 2.1).

**Таблица 2.1** – Группы подопытных животных и условия эксперимента при шумовибрационном воздействии

Группы животных (крыс)	Количество экспериментальных крыс	Экспериментальные условия	Количество височных костей для гистологического исследования
Всего	<b>35</b>	По группам	70
Контрольная группа (К)	5	Здоровые животные	10
1 группа	4	Звук + вибрация + иммобилизация по 15 мин. Забой на 10 день (4 крысы)	8

2 группа	6	Звук + вибрация + иммобилизация по 15 мин. Забой на 3 день (2 крысы), 20 день (4 крысы)	12
3 группа	8	Звук + вибрация + иммобилизация по 30 мин. Забой на 3 день (4 крысы), 10 день (4 крысы)	16
4 группа	6	Звук + вибрация + иммобилизация по 15 мин., 10 дней, затем лечение 10 дней силденафилом. Забой на 20 день (6 крыс)	12
5 группа	6	Звук + вибрация + иммобилизация по 15 мин + лечение силденафилом (одновременно). Забой на 10 день (6 крыс)	12

### 2.1.1. Схема экспериментального моделирования тугоухости

Нами было исследовано 55 подопытных белых беспородных крыс (110 ушей) в возрасте 2-х – 3-х месяцев. Все тщательно отобранных 50 здоровых особей животных участвовали в этапах эксперимента и 5 крыс были контрольными.

В группу К (Контроль) входили здоровые интактные крысы.

Группу Ш (Шум) – 20 крыс подвергали шумовому воздействию (90 дБ) по 15 минут в день и иммобилизации, которую начинали за 30 минут до шумового воздействия, в течение 10 дней, после чего исследовали слух и всех крыс выводили из эксперимента. Получена «модель» шумовой тугоухости.

Группу 1 – 4 крысы подвергали иммобилизации, вибрации и шумовому воздействию ежедневно в течение 10 дней по 15 минут, формируя «модель

тугоухости». Интенсивность шума – 90 дБ. В процессе формирования модели тугоухости наблюдали ежедневно за изменением рефлекса Preyer: «сохранение», «угасание», «исчезновение» и изменением отоакустической эмиссии, которую проводили ежедневно и после «исчезновения» рефлекса Preyer. Вывели из эксперимента на 10 день 4 крысы.

Группу 2 – 6 белых беспородных крыс подвергали иммобилизации, вибрационному и шумовому воздействию по 15 минут в день в течение 20 суток ежедневно. Выводили из эксперимента 2 животных на 3-й и 4 крысы на 20-й день;

группу 3 – 8 крыс в течение 10 дней ежедневно по 30 минут подвергали иммобилизации, вибрационному и шумовому воздействию. Ежедневно наблюдали рефлекс Preyer и проводили отоакустическую эмиссию. Вывели из эксперимента по 4 животных на 3-й, 10-й день;

Группу 4 – 6 крыс подвергали иммобилизации, шумовому и вибрационному воздействию ежедневно в течение 10 дней по 15 минут, затем в течение 10 дней животным силденафил вводили «per os» с питьевой водой из расчета 25мг/кг – «позднее лечение». Вывели из эксперимента на 20 день 6 крыс.

группу 5 – 6 крыс подвергали иммобилизации, шумовому и вибрационному воздействию ежедневно в течение 10 дней по 15 минут и одновременно добавляли силденафил в воду. Вывели из эксперимента на 10 день 6 животных.

### **2.1.2. Методика исследования животных**

- При обследовании белых беспородных крыс использовали методы;
- отомикроскопии,
  - изучение рефлекса Preyer,
  - исследования отоакустической эмиссии,
  - гистологическое исследование препаратов улиток крыс после забоя

животных.

При проведении отомикроскопии оценивали состояние наружного слухового прохода, барабанной перепонки, определяли наличие или отсутствие патологического содержимого. Для отомикроскопии использовали современный отоскоп фирмы Riester (Германия). Признаков гнойного отита у отобранных здоровых животных не было.

До начала эксперимента крысам проводили исследование слуха.

Крысу фиксировали в одноместной клетке – домике для обеспечения неподвижности. Первоначально использовали субъективный метод оценки слуховой функции крыс. На звук, подаваемый посредством звукореактотестера ЗРТ – 01 (Московский завод «Ритм») на фиксированном расстоянии (0,1м) от головы, с частотой 2000 и 4000Гц, при интенсивности 90 дБ УЗД, животные реагировали подергиванием ушных раковин, то есть у всех животных был выявлен живой рефлекс Preyer. Непроизвольное подергивание ушных раковин на звук считали положительным рефлексом Preyer, то есть «животное слышит» (Золотова Т.В., 2004, 2013). В процессе эксперимента состояние слуха всех крыс оценивали с помощью рефлекса Preyer и наблюдали за его сохранением, угасанием и исчезновением.

Объективным методом, который использовали для оценки слуха у крыс, был метод исследования отоакустической эмиссии (ОАЭ) путем определения

- отоакустической эмиссии на частоте продуктов искажения (ОАЭЧПИ)
- и
- задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ).

Отоакустическую эмиссию регистрировали прибором OtoRead («Interacoustics», Дания), предназначенным для скринингового исследования нарушений слуха. Зонд прибора OtoRead вводили в слуховой проход, чтобы обеспечить герметичность, выбрав ушной вкладыш по размеру наружного слухового прохода животного. После калибровки прибора на дисплее были

отображены результаты теста в виде графика из 6 столбцов. Один столбец соответствовал отоакустической эмиссии на частоте продукта искажения (ОАЭЧПИ) или задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ). Каждая полоска отображала соотношение сигнал/ шум (SNR) в 2 дБ. После окончания тестирования на дисплее прибора появлялась надпись «прошел», «не прошел». До начала эксперимента мы получали ответ «прошел». Далее ОАЭ исследовали в процессе и по окончании эксперимента.

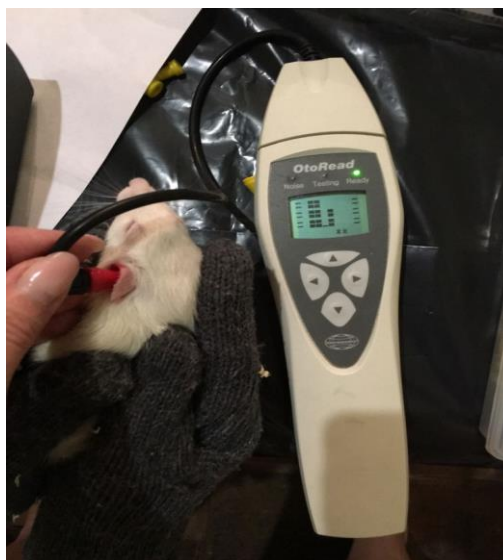
Отоакустическая эмиссия на частоте продукта искажения (ОАЭЧПИ) выявляется при спектральном анализе активности, зарегистрированной в ответ на одновременную стимуляцию двумя тональными сигналами –  $f_1$  (более низкий тон) и  $f_2$  (более высокий тон). Интенсивность  $f_1$  обозначается L1, а  $f_2$  – L2. Соотношение тонов  $f_2/f_1$  составляет в основном  $1/2$ , так как оба тона располагаются в пределах одной октавы. Вследствие интерференции двух волн в улитке возникает третья волна ( $f = (2f_1 - f_2)$ ).

Задержанная вызванная отоакустическая эмиссия (ЗВОАЭ) – это акустический сигнал, который излучается не во время стимула, а преимущественно после его окончания. Задержанная вызванная отоакустическая эмиссия представляет собой 2-3 группы колебаний с очень малой амплитудой различной частоты, которые продолжаются 20-30 мс. и возникают через 6-8 мс после начала стимула. Зонд, в корпусе которого расположены миниатюрные телефон и микрофон вводили в наружный слуховой проход для регистрации задержанной вызванной отоакустической эмиссии. Стимулами были широкополосные акустические щелчки. При нормальном слухе пороги возникновения задержанной вызванной отоакустической эмиссии и отоакустической эмиссии на частоте продукта искажения очень близки к субъективным порогам слышимости.

Наличие отоакустической эмиссии свидетельствовало о нормальном слухе, то есть о нормальном функционировании наружных волосковых клеток.

Исследование отоакустической эмиссии прибором «OtoRead» у интактной белой крысы прибором OtoRead представлено на рисунке 2.1.

Вибрационное воздействие с помощью аппарата для встряхиваний АВУ – 6С на белую крысу, находящуюся в условиях иммобилизации представлено на рисунке 2.2.



**Рисунок 2.1** – Исследование отоакустической эмиссии у здоровой интактной крысы с помощью прибора OtoRead



**Рисунок 2.2** – Вибрационное воздействие с помощью аппарата для встряхиваний АВУ – 6С на белую крысу, находящуюся в условиях иммобилизации

После окончания воздействия факторов в соответствии с дизайном работы животных, подлежащих выведению из эксперимента по представленной выше схеме, мгновенно декапитировали с применением обезболивания (наркоз) в строгом соответствии с принципами Хельсинской декларации.

Для подготовки к дальнейшему морфологическому исследованию отделяли височные кости от других костей черепа крыс, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, после чего осуществляли декальцинацию в декальцинирующей жидкости с последующей проводкой спиртах возрастающей крепости, моделировали кусочки ткани, осуществляли заливку в парафин, получали срезы спирального органа. Для окрашивания декальцинированной ткани использовали гематоксилин-эозин и проводили морфологическое исследования улиток внутреннего уха с оценкой состояния структур спирального органа методом световой микроскопии.

## **2.2. Характеристика пациентов с сенсоневральной тугоухостью**

Проведено обследование 127 пациентов, с сенсоневральной тугоухостью, обратившихся в поликлинику №3 ДКБ на станции Ростов-Главный ОАО «РЖД» для обследования и лечения и для профилактического осмотра за период с 2013 по 2015 годы.

Критерии включения: взрослые, возраст от 18 до 60 лет, подвергающиеся регулярно действию шума или шумовибрационному воздействию, обратившиеся к ЛОР врачу для обследования и лечения по поводу сенсоневральной тугоухости; наличие у обследуемых признаков изменений слуховой функции по типу нарушения звуковосприятия

Критерии исключения: нарушения звукопроводения; тяжёлая соматическая патология у пациентов на момент обследования.



Признаки СНТ имели место у 127 больных, сроки заболевания – от 3 мес. и более. Возраст - от 18 до 60 лет - средний возраст обследованных 44,5±12,5 лет, среди них - 46 мужчин и 81 женщина.

Распределение обследованных пациентов по возрасту и полу представлено в таблицах 2.2, 2.3.

**Таблица 2.2** – Возраст и пол пациентов с сенсоневральной тугоухостью, распределение по возрастным группам.

Количество больных		Больные сенсоневральной тугоухостью, распределенные по возрасту					
		18-20	21-30	31-40	41-50	51-60	итого
Женщины		6	8	15	23	29	81
	%	4,73	6,3	11,81	18,12	22,84	63,8
Мужчины	Пациент / n	4	6	12	9	15	46
	%	3,2	4,7	9,4	7,1	11,8	36,2
Всего	Пациент n	10	14	27	32	44	127
	%	7,93	11	21,21	25,22	34,64	100

В возрастной группе старше 40 лет оказалось наибольшее количество пациентов, что составило 59,86%.

При выявлении жалоб и сборе анамнеза определено, что все 127 больных отмечали снижение слуха или ощущение заложенности в ушах, 86 из них (67,7%) жаловались на сочетание снижения слуха и субъективного шума в ушах различной интенсивности и частотной характеристики (звон, писк, свист, треск, шипение, гудение). Чаще всего пациенты (94 чел. - 74,0%) характеризовали ощущение шума в ушах как «звон» или «писк».

Односторонний процесс наблюдался у 11 человек (8,7%), двусторонний - у 116 (91,3%).

Все 127 обследованных были разделены на группы в зависимости от длительности пребывания в шумной обстановки:

- группа 1: СНТ, стаж от 1 до 10 лет - 39 человек (30,7%),
- группа 2: СНТ, стаж от 11 до 20 лет - 42 человек (33,1%).
- группа 3: СНТ, стаж от 21 до 30 лет и более - 46 человек (36,2%).

Группу контроля составили 32 здоровых человека (мужчин) с нормальным слухом, в возрасте от 18 до 40 лет.

В нашем исследовании все обследованные пациенты подвергались длительному шумовому воздействию на производстве или в быту, но по данным анамнеза и общеклинического обследования нарушения слуховой функции возникли явно вследствие воздействия шума или вибрации - у 73 (57,5%), сосудистые нарушения зафиксированы у 37 больных (29,1%), врожденная и генетическая сенсоневральная тугоухость выявлена у 17 больных (13,4%).

**Таблица 2.3** – Результаты тональной пороговой аудиометрии у пациентов с сенсоневральной тугоухостью; распределение по группам, (n, %)

ГРУППЫ	Результаты тональной пороговой аудиометрии	Число больных с СНТ	
		абс.	%
А	Признаки воздействия шума на орган слуха	34	26,8
В	I степень СНТ	43	33,9
С	II степень СНТ	29	22,8
Д	III степень СНТ	21	16,5
ИТОГО		127	100

### **2.2.1. Методы обследования пациентов**

Обследование лиц, обратившихся с предварительным диагнозом сенсоневральная тугоухость, включало: сбор анамнеза, осмотр ЛОР органов, в том числе отомикроскопию, общеклинические исследования и дополнительные исследования по показаниям.

Всем больным проведено аудиологическое исследование с помощью субъективных и объективных методов и их анализ.

#### **Аудиометрическое исследование**

Всем 127 больным и 32 здоровым лицам контрольной группы проведено аудиометрическое исследование посредством субъективных и объективных методов.

Для исследования слуха использовано оборудование сурдологического кабинета ДКБ на станции Ростов-Главный ОАО «РЖД», аудиологической лаборатории кафедры болезней уха, горла, носа ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Субъективные методы включали исследование слуха при помощи шепотной и разговорной речи, камертональное исследование, тональную пороговую. Объективные методы исследования слуха включали: акустическую импедансометрию (тимпанометрию, исследование акустического рефлекса).

Акуметрия - исследование слуха речью и камертонами - первый этап исследования. Исследование слуха речью проводилось в сурдологическом кабинете, соответствующем необходимым требованиям, с применением маскировки. Результаты фиксировались в метрах. Использовался цифровой тест, таблицы слов Воячека (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А.,2003). Камертональное исследование слуховой функции проводили при помощи набора из 4 камертонов; при камертональных пробах использовали камертон С128: проводили опыты Вебера, Ринне, Федеричи (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А.,2003).

Аппаратные субъективные методы исследования слуха проводили по стандартным методикам в стационарной звукоизолированной сурдокамере. Тональную пороговую аудиометрию осуществляли, применяя клинический аудиометр АС-40 («Interacoustics», Дания). По общепринятой методике (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А., 2003), измеряли слуховые пороги в стандартном диапазоне частот от 125 Гц до 8000 Гц. Для исключения переслушивания при различии в состоянии слуха между ушами более 40 децибел (дБ) использовали маскировку, применяя «узкополосный» шум, заглушающий лучше слышащее ухо.

Степень снижения слуха оценивали по профессиональной классификации тугоухости. Согласно этой классификации (в отличие от международной), учитываются признаки воздействия шума на орган слуха и средние значения слуховых порогов, которые рассчитываются на частотах 500, 1000, 2000 Гц с фиксацией порога на 4000 Гц, а нарушения оцениваются по следующей шкале:

- признаки воздействия шума на орган слуха – средние значения слуховых порогов на частотах 500, 1000, 2000 Гц - менее 10 дБ, на 4000Гц – до 40 дБ,
- I степень (легкое снижение слуха) – на частотах (500, 1000, 2000 Гц) 10-20дБ, на 4000Гц –  $60\pm 20$  дБ,
- II степень тугоухости (умеренное снижение слуха) – на частотах 500, 1000, 2000 Гц) 21 – 30 дБ, на 4000Гц –  $65\pm 20$  дБ,
- III степень тугоухости (выраженное снижение слуха) – на частотах 500, 1000, 2000 Гц - 31дБ и более, на 4000Гц –  $70\pm 20$  дБ

Акустическая импедансометрия - объективный метод оценки состояния слуховой системы, используемый в настоящем исследовании, включающий тимпанометрию и акустическую рефлексометрию, проводилась с использованием прибора: «Тимпанометр портативный» (аудиометр импедансный) «Titan» фирмы «Interacoustics». С помощью тимпанометрии

регистрируется акустическое сопротивление в ответ на изменение давления в наружном слуховом проходе, а с помощью акустической рефлексометрии регистрируются сокращения стременной мышцы в ответ на акустическую стимуляцию, что позволяет объективизировать измеряемые слуховые пороги обследуемого.

Во время проведения теста запрещалось пациентам двигаться, говорить и глотать. Зондом с индивидуальным ушным вкладышем герметично закрывали слуховой проход и подавали звук частотой 250 Гц - «зондирующий» тон, который используется для измерения изменений подвижности в звукопроводящей системе среднего уха при компрессии и декомпрессии воздуха в диапазоне от +200дПа до -200дПа. Поток воздуха меняет давление в полости наружного уха, генератор звуковой волны заставляет барабанную перепонку двигаться, а ее колебания регистрируются датчиком и записываются на полученных тимпанограммах. На оси абсцисс выведено значение давления в наружном слуховом проходе, на оси ординат – значение акустического сопротивления (Jerger J., 1970). Тимпанометрия позволяет выявить 5 типов тимпанограмм - типы А, В, С, D, Е, и подтипы Ad и As. (Бобошко М.Ю., Лопотко А. И., 2003, 2008):

тип А - соответствует нормальной подвижности барабанной перепонки, пиковое значение акустического сопротивления возникает при нулевом значении давления воздуха;

тип В - определяется при отсутствии колебаний барабанной перепонки вследствие скопления жидкого содержимого в барабанной полости и при фиксации барабанной перепонки рубцами;

тип С - нормальная конфигурация тимпанограммы со смещением пика в сторону отрицательного давления более чем на -50 дПа, что соответствует дисфункции слуховой трубы;

тип D - на тимпанограмме высокая амплитуда пика или появляются дополнительные зубцы вследствие выраженной податливости в определенных сегментах барабанной перепонки;

тип E - имеет два пика при положительном и отрицательном давлении из-за дряблости и податливости барабанной перепонки;

тип Ad - характеризуется высокой амплитудой пика, превышающей рабочий диапазон прибора. Наблюдается при разрыве цепи слуховых косточек при атрофических изменениях барабанной перепонки, рубцах;

тип As - наблюдается при снижении амплитуды колебаний с сохраненной эластичностью барабанной перепонки, что возможно при отосклерозе.

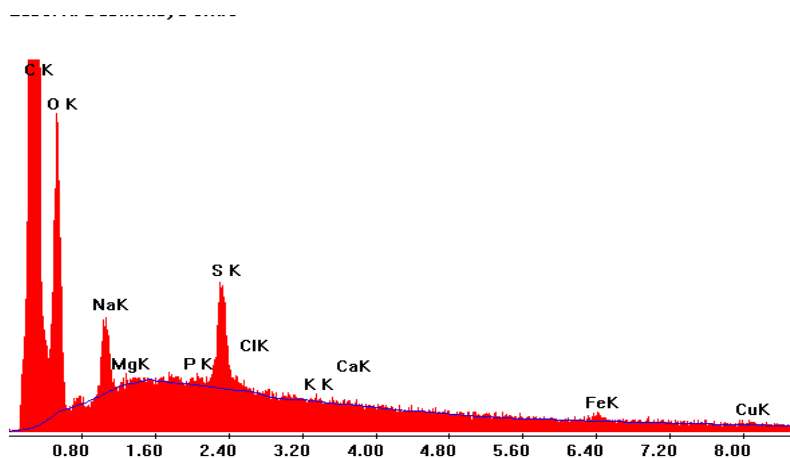
При нарушении звуковосприятия, характерного для сенсоневральной тугоухости, фиксируется тимпанограмма «тип A».

Акустическая рефлексометрия позволяет оценить рефлекторную деятельность мышц барабанной полости. Основным диагностическим критерием был зондирующий тон с частотами от 500 до 2000 Гц длительностью 1000 мс, подаваемый контра- или ипсилатерально. В норме порог акустического рефлекса составляет 80-90 дБ над порогом слуховой чувствительности. Регистрировали акустический рефлекс при ипси- и контралатеральной стимуляции у больных с сенсоневральной тугоухостью. Для сенсоневральной тугоухости характерно снижение порогов акустического рефлекса, сужение динамического диапазона (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А., 2003; Бобошко М.Ю., 2015).

### **Рентгеноспектральный микроанализ**

Рентгеноспектральный микроанализ проводили для определения содержания (весовой процент) элементов - кислорода, натрия, калия, кальция, фосфора, железа в эритроцитах крови 32 исследуемых больных с сенсоневральной тугоухостью.

Подготовку материала для рентгеноспектрального микроанализа проводили по общепринятой методике (Goldstein J.I. et.al, 1992). Каплю крови в виде сгустка помещали в широкогорлый сосуд с 2,5% глутаровым альдегидом на фосфатном буфере (pH 7,2). Продолжительность фиксации составляла 2 часа. Пипеткой отбирали жидкость, промывали фосфатным буфером, и осуществляли «проводку» по восходящей батарее спиртов (до абсолютизированного - 100% спирта), просушивали образец на воздухе 24 часа. Образцы монтировали на столики с помощью специальных двусторонних адгезивных подложек с углеродным покрытием и напыляли углеродом в напылительной установке Polaron («VG Microtech», Англия). Образцы просматривали в сканирующем электронном микроскопе XL30 («Philips»), оборудованном детектором («Edax») с ультратонким окном. На выбранных участках проводили сбор спектров при ускоряющем напряжении 25000 вольт. Рабочее расстояние составляло 10 мм, спектры собирали со случайно выбранных 5 участков каждого образца. Спектры обрабатывали с помощью прикладных программ с автоматическим отсечением фона и обработкой пиков. Интенсивность излучения в каждый момент сканирования отражается графически на мониторе компьютера, по горизонтали оси – длина волн, по вертикали – интенсивность излучения. Содержание обнаруженных элементов по полученным линиям спектрограммы определяли в весовых и атомарных процентах, при этом все обнаруженные элементы принимали за 100%. В качестве контроля использовали эритроциты крови 10 здоровых лиц. На рисунке 2.3 представлены результаты исследования эритроцитов крови здорового человека (Д., 31 год) из группы контроля методом рентгеноспектрального микроанализа.



**Рисунок 2.3** – Результаты рентгеноспектрального микроанализа эритроцитов крови здорового человека (Д., 31 год) из группы контроля.

### 2.3. Методы статистической обработки материала

Достоверность различий качественных показателей при их сравнении оценивали с помощью непараметрического критерия статистики ( $\chi$ ) Ван Дер Вардена (Боровиков В.П., 2003; Реброва О.Я., 2003).

Оценивали, как качественный альтернативный признак ( $p+q=1$ ), где  $p$ - доля единиц, обладающих признаком;  $q$ - доля единиц, не обладающих признаком. Рассчитывали показатель изменчивости качественного признака ( $S$ ) по формуле:  $S = \sqrt{p \cdot q}$ , а также среднее значение альтернативного признака, дисперсию альтернативного признака, среднее квадратическое отклонение. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических критериев, используемых для малых выборок, независящих от характера распределения – точного критерия Фишера, критерия Вилкоксона. Использовали пакет прикладных программ STATISTICA 10,0 (StatSoft Inc., США), «Microsoft Excel».



## ГЛАВА 3

### РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПО МОДЕЛИРОВАНИЮ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ У ЖИВОТНЫХ

#### **3.1. Моделирование сенсоневральной тугоухости у экспериментальных животных – белых крыс**

##### **Способ моделирования сенсоневральной тугоухости, вызванной акустическим воздействием широкополосного шума**

Нами (с соавт.) предложен способ моделирования сенсоневральной тугоухости, вызванной акустическим воздействием широкополосного шума, защищённый Патентом РФ № 2627155.

Изучение механизмов возникновения СНТ в эксперименте на животных с целью последующего патогенетического лечения является чрезвычайно важной задачей современной оториноларингологии.

Проведенными исследованиями по научно-медицинской и патентной литературе выявлены различные способы моделирования сенсоневральной тугоухости.

Так, Патентом РФ № 2222054 (опубл. 20.01.2004) защищен “Способ моделирования сенсоневральной тугоухости”, но он предполагает воздействие ототоксического фактора – гентамицина.

В работе А.А. Паневина (2015) описан способ моделирования СНТ, вызванной интенсивным акустическим воздействием на экспериментальное животное - самцы крыс, линия Wistar, вес 200 – 250 г. Тональный сигнал частотой 5 кГц при уровне звука 110 – 112 дБ подаётся непрерывно в течение 2 часов в свободном звуковом поле. Недостатками данного способа являются: отсутствие достижения стойкой потери слуха; кратковременность реализации модели СНТ: на 7 сутки после однократной двухчасовой акустической стимуляции у всех подопытных животных восстановилась

функциональная активность слухового рецептора; чрезмерное однократное воздействие на внутреннее ухо тональным звуком значительной интенсивности - 110-112 дБ, вызывающим острую акустравму; использование тонального стимула, который реже, чем шум встречается на производстве и в быту; высокая себестоимость модели в связи с использованием дорогостоящих животных линии Wistar.

Китайские ученые Y. Liang, S. Zhang, X. Zhang (2015) использовали способ моделирования СНТ, вызванной воздействием белого шума на экспериментальное животное: морских свинок подвергали однократной экспозиции белого шума при уровне звука 110 дБ. По данным слуховых вызванных потенциалов результаты оценивали до эксперимента, через 1 неделю после экспозиции шума, констатируя значительные сдвиги слуховых порогов, а в группе с применением лечения – через 1, 2, 4 недели после введения силденафила. Патологические изменения в нейроэпителиальных - волосковых клетках улитки определяли с помощью световой и сканирующей электронной микроскопии. Недостатками данного способа являются: чрезмерное однократное воздействие на внутреннее ухо белым шумом значительной интенсивности - 110 дБ, вызывающим острую акустравму.

Наиболее близким техническим решением, принятым нами за прототип, являлся описанный в работе Н.Н. Петровой (2010) способ моделирования СНТ, предусматривающий акустическое воздействие широкополосным шумом и вибрацией на подопытных животных - морских свинок. Каждое подопытное животное для моделирования шумовибрационной тугоухости подвергали воздействию вибрации и, генерируемого вибростендом, широкополосного шума с уровнем звука 85 дБ в течение четырёх недель по 3 часа в день. Состояние слуховой функции у животных оценивали после действия производственного фактора. Недостатками прототипа являются: анатомическое несоответствие строения улитки морской свинки и человека; слишком большие сроки для воспроизведения сенсоневральной тугоухости -

4 недели; сложность – необходимость наличия специального вибростенда и специалиста, его обслуживающего.

Задачей предложенного изобретения явилась разработка простого, эффективного, достоверного и недорогого способа моделирования СНТ, вызванной акустическим воздействием широкополосного шума. Техническим результатом, объективно проявляющимся при осуществлении данного способа, явилось его упрощение и сокращение времени воспроизведения модели сенсоневральной тугоухости.

Данный эксперимент по моделированию (патент РФ № 2222054 “Способ моделирования сенсоневральной тугоухости”, опубл. 20.01.2004) проводили следующим образом. Лабораторное животное (белую беспородную крысу) ежедневно (10 дней) 1 раз в сутки иммобилизовали путём помещения её в специальную одноместную тесную плексиглазовую клетку по 30 минут, а затем проводили воздействие шумом широкополосного диапазона 15 минут. Акустическое воздействие осуществляли с помощью стандартного звукореактотестера ЗРТ-01, «Ритм», г. Москва, с частотными параметрами 355 - 5 тыс. Гц и уровне звука 85 - 90 дБ. После завершения воздействия звуком животное пересаживали в общую клетку с возможностью передвижения.

Воспользовавшись цифровым измерителем уровня звука типа AR 824, производства НТУ «АРК Энергосервис» измеряли уровень звука (г. Санкт-Петербург, Россия).

С целью подтверждения реализации модели СНТ, на 11 день эксперимента проводили оценку слуха крысы, с фиксированием отоакустической эмиссии (ОАЭ), затем животное под наркозом обезболивали и умерщвляли в соответствии с положениями о гуманном отношении к животным. Подготавливали гистологические препараты с окраской гематоксилином–эозином, проводили морфологическое исследование срезов улитки.

Посредством портативной системы регистрации ОАЭ «OtoRead» оценивали слух каждого уха крысы. В результате исследования задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ), если на экране прибора появлялось слово “ПРОШЕЛ”, подтверждался нормальный слух, результат “НЕ ПРОШЕЛ” говорил о потере слуха.

Нами было исследовано 20 подопытных белых беспородных крыс (40 ушей) - группа *III* («Шум»), возраст 2 – 3 месяца, чтобы разработать представляемый способ.

До начала эксперимента провели регистрацию ОАЭ всем 20 экспериментальным крысам - 40 ушей путём исследования ЗВОАЭ. У всех крыс (40 ушей) до начала воздействия подтверждён результат – “ПРОШЕЛ”, что позволяло констатировать нормальный слух у этих животных.

Всех крыс экспериментальной группы *III* ежедневно в течение 10 суток, до еды 1 раз в день обездвиживали, помещая каждую в одноместный крысиный домик по методике, описанной в материалах патента РФ № 2222054 “Способ моделирования сенсоневральной тугоухости”, опубл. 20.01.2004., на 30 минут, а затем по 15 минут воздействовали широкополосным шумом. На 11 день эксперимента проводили оценку слуха у 20 подопытных крыс с помощью исследования ЗВОАЭ.

По результатам исследования после воздействия шума и иммобилизации: у всех 20 крыс (40 ушей) результат регистрации ЗВОАЭ оказался “НЕ ПРОШЕЛ”, это подтверждало патологию на уровне нейроэпителиальных клеток периферического отдела слухового анализатора («модель СНТ»), у всех 20 экспериментальных животных группы *III*, подобно развитию СНТ у человека.

По завершению действия повреждающих факторов и предварительного исследования слуха все 20 животных группы *III* были умерщвлены под наркозом. После декальцинации и соответствующей подготовки гистологические препараты в виде ультратонких срезов улиток (40 ушей, 400

препаратов), ориентированные на кортиев (спиральный) орган, были окрашены гематоксилином – эозином. Далее были проведены морфологические исследования препаратов улиток крыс с применением метода световой микроскопии.

Имели место признаки, свидетельствующие о неблагоприятном воздействии используемых в эксперименте раздражителей на внутреннее ухо белых лабораторных крыс: отмечены признаки дистрофии различных элементов улитки, в том числе, вспомогательных клеток кортиева органа, разрушения нейроэпителиальных, преимущественно наружных, отсутствие поддерживающих клеток в ограниченных местах, дефекты участков основной (базиллярной) мембраны, изменения со стороны вестибулярной мембраны в виде её деформаций и, местами, разрывов, признаки отёка спиральной связки, а также сосудистой полоски, деформация или отсутствие покровной мембраны в сравнении с контролем. Выявленные морфологические знаки свидетельствовали о повреждении периферического отдела слухового аппарата животных, подобно нарушениям при СНТ у человека. Исходя из этого, можно было констатировать успешное воспроизведение поражения слухового анализатора на уровне улитки как «модели СНТ». Таким образом, такое повреждение было доказано объективно на основании:

- функционального метода - исследование отоакустической эмиссии, отражающей «работу наружных нейроэпителиальных клеток» кортиевого органа, либо её отсутствие при тугоухости и

- морфологического метода, зафиксировавшего нарушения анатомии спирального органа улитки крысы, в том числе нейроэпителиальных и поддерживающих, на гистологических препаратах.

Следовательно, результаты двух достоверных, объективных методов исследования: функционального и морфологического подтверждало

повреждение структур кортиевого органа внутреннего уха у всех 20 животных группы Ш, т.е. о реализации модели шумовой тугоухости.

Таким образом, нами, Т.В. Золотовой, Н.В. Дубинской, Е.В. Лобзиной, (Патент РФ № 2627155) предложен способ моделирования сенсоневральной тугоухости, включающий акустическое воздействие широкополосным шумом на крысу. Этот способ прост в исполнении, по сравнению с прототипом, сократилось время реализации модели СНТ. Наш способ дает адекватное воспроизведение сенсоневральной тугоухости, которая вызвана акустическим воздействием широкополосного шума на слуховой аппарат крысы.

### **Моделирование сенсоневральной тугоухости, вызванной шумовибрационным воздействием**

В эксперименте по воспроизведению шумовибрационной сенсоневральной модели тугоухости участвовало 35 крыс. Использовали белых беспородных крыс массой 180–200 г. мужского пола, половозрелых, в возрасте 2-х – 3-х месяцев.

Были отобраны внешне здоровые животные, с гладкой блестящей шерстью, активных. Важным критерием являлось отсутствие воспалительных изменений в ушах животных, поэтому предварительно «отбраковывали крыс», у которых по данным отомикроскопии имели место признаки острого отита.

Все животные – 35 белых крыс (70 ушей) были разделены на 6 групп:

группа К – интактные крысы (Контроль) – 5 особей,

группы 1 – 5 – экспериментальные крысы – 30 особей:

группа 1 («шумовибрационная модель»): 4 особи – подвергали иммобилизации, вибрационному и шумовому воздействию по 15 мин. ежедневно в течение 10 дней.

группа 2: 6 особей - подвергали иммобилизации, вибрации и шумовому воздействию по 15 мин. ежедневно в течение 20 дней.

группа 3: 8 особей подвергали иммобилизации и шумовому воздействию ежедневно по 30 мин. 10 дней.

группа 4: 6 особей – подвергали иммобилизации, вибрационному и шумовому воздействию 10 дней и отсроченно, после формирования тугоухости, через 10 дней от начала эксперимента добавляли лекарственный препарат (силденафил) в воду из расчета 25мг/кг.

группа 5: 6 особей - подвергали иммобилизационному, вибрационному и шумовому воздействию ежедневно по 15 мин. 10 дней и одновременно добавляли лекарственный препарат (силденафил).

### **3.2. Результаты оценки слуховой функции у экспериментальных животных**

Группа К (контрольная) – 5 здоровых особей (10 ушей) – белых беспородных крыс. При отомикроскопии барабанные перепонки у всех животных серые, бледные; рефлекс Preyer живой. Результаты исследования отоакустической эмиссии (ОАЭ) по данным ЗВОАЭ и ОАЭРПИ «Тест прошёл» на оба уха у всех 5 животных.

В группе 1 из 4 животных, которых подвергали ежедневному по 15 мин. комбинированному воздействию шума («озвучивание»), вибрации и иммобилизации («иммобилизационное стрессирование»), после окончания воздействия (через 10 суток) отмечено: угасание рефлекса Прейера и результат «не прошел» при исследовании отоакустической эмиссии (ОАЭ) у 3-х крыс, и у 1-й результат соответствовал контролю, то есть воспроизведение «модели тугоухости» по результатам функциональных методов исследования слуха соответствовало 75%.

В группе 2 из 6 крыс, которых подвергали ежедневно по 15 минут воздействию шума («озвучивание»), вибрации и иммобилизации («стресс») в течение 20 дней, исчезновение рефлекса Прейера было у 8, и результат «не

прошел» при исследовании ОАЭ - у 5 крыс, а у 1 результат соответствовал контролю, то есть «модели тугоухости» - 83,3%.

В группе 3 из 8 крыс, которых подвергали воздействию шума («озвучивание»), вибрации и иммобилизации («стресс») по 30 минут в течение 10 дней, угасание рефлекса Прейера после окончания воздействия было у 8, и результат «не прошел» при исследовании ОАЭ - у 8 крыс, то есть у всех животных (8) была сформирована «модель тугоухости» - 100%.

В группе 4 из 6 крыс, которые получали лечение через 10 дней от начала эксперимента, то есть по окончании моделирования тугоухости воздействием шума, вибрации и иммобилизационного стрессирования (по 15 минут 10 дней): угасание рефлекса Прейера после окончания воздействия с последующим лечением было у 5, и результат «не прошел» при исследовании ОАЭ у 5 крыс, то есть результаты исследования слуха свидетельствовали об отрицательных результатах «позднего лечения» у большинства - 5 крыс (83,3%), лишь у 1 крысы слух улучшился до уровня контроля (16,7%).

В группе 5 из 6 крыс, которые получали лечение одновременно со звуковым воздействием, вибрацией и иммобилизацией по 15 минут («модель тугоухости») в течение 10 дней: угасание рефлекса Прейера после окончания воздействия было у 2 крыс, и результат «не прошел» при исследовании ОАЭ у 2 крыс (33,3%), а у 4 животных (66,7%) результаты исследования слуха свидетельствовали о положительных результатах «раннего лечения» и соответствовали контролю.

На рисунке 3.1 представлены результаты исследования отоакустической эмиссии у белой лабораторной крысы прибором «OtoRead», которые свидетельствовали о том, что тест пройден - «ПРОШЕЛ» (рисунок 3.1). Следовательно, нормальные показатели слуховой функции, полученные при объективном исследовании слуха путём регистрации ОАЭ, подтверждают положительные результаты «раннего» лечения.



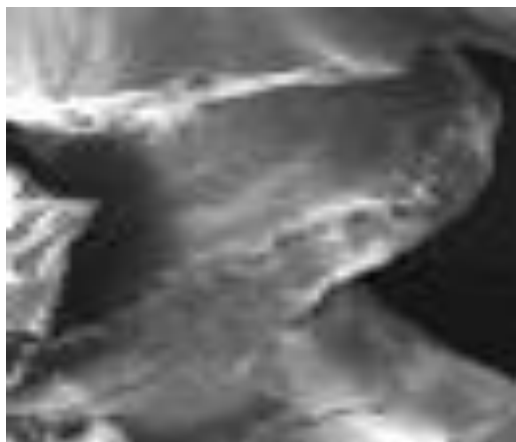


**Рисунок 3.1** – Фотография, отображающая улучшение слуховой функции у крысы после лечения по результатам объективного исследования слуха (группа 5)

Таким образом, исследование ОАЭ прибором «OtoRead» у лабораторных животных – белых крыс коррелирует с методом исследования слуха у животных по рефлексу Прейера и может быть использовано для объективной оценки слуховой функции у животных. В настоящем эксперименте регистрация ОАЭ позволила подтвердить отсутствие эмиссии у крыс при моделировании СНТ шумовибрационной этиологии, что свидетельствовало о повреждении наружных волосковых клеток.

### **3.3. Результаты оценки морфологических исследований внутреннего уха экспериментальных животных**

После декапитации животных выделены височные кости крыс, приготовлены срезы улиток крыс (рисунок 3.2) и гистологические препараты спирального органа.



**Рисунок 3.2** – Изолированная улитка крысы при сканирующей электронной микроскопии

В контрольной группе гистологических исследований орган слуха представлен внутренними и наружными волосковыми и опорными (5 типов) клетками, расположенными по разные стороны туннеля, сформированного опорными клетками-столбами. В просвете туннеля определяются нервные волокна, идущие от спирального ганглия и разных групп ядер оливарного комплекса (афферентные и эфферентные волокна соответственно). Внутренние и наружные волосковые клетки отличаются по форме, количеству, расположению и количеству нервных синапсов. ВВК меньше, расположены в один ряд, имеют грушевидную форму, тогда как НВК гораздо больше, расположены в 3-5 рядов, имеют цилиндрическую форму. ВВК полностью со всех сторон окружены опорными (внутренними фаланговыми) клетками. НВК контактируют с опорными (наружными фаланговыми) клетками только в области базальной и апикальной поверхности и средняя часть их омывается эндолимфой, что, вероятно, делает эти клетки более чувствительными к воздействию токсических веществ. На ВВК обнаружено больше нервных синапсов не только с дендритами нейронов спиральных ганглиев, но и с аксонами нейронов стволовой части мозга. На апикальной поверхности волосковых клеток имеются стереоцилии, контактирующие с покровной мембраной. В отличие от опорных фаланговых клеток волосковые

клетки имеют более мелкие ядра, в которых хорошо просматривается мелкозернистый хроматин и ядрышки.

Из опорных 5 типов клеток органа слуха кроме клеток-столбов и внутренних и наружных фаланговых клеток Дейтерса имеются пограничные наружные и внутренние клетки Гензена,  $1/3$  прилежащие соответственно к наружным и внутренним фаланговым клеткам. Значительная высота этих клеток постепенно уменьшается и соответствует высоте наружных поддерживающих клеток Клаудиуса с латеральной стороны или высоте медиально лежащих эпителиоцитов внутренней бороздки, выстилающих спиральный лимб.

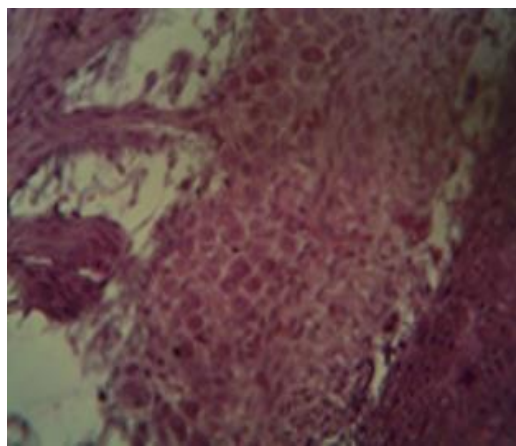
Наружные поддерживающие клетки Клаудиуса - это кубической формы эпителиоциты, лежащие между клетками Гензена и эпителиоцитами наружной борозды.

Клетки Беттхера лежат под клетками Клаудиуса, возможно, участвуют в процессах всасывания и секреции. Определяются только в базальных отделах улиткового канала.

Этот клеточный ансамбль расположен на базилярной пластинке улиткового канала, имеющего треугольную форму на гистологическом срезе. Две другие стенки такого треугольника образованы вестибулярной мембраной и сосудистой полоской с подлежащей спиральной связкой. Улитковый канал отделяется вестибулярной мембраной от расположенной над ним вестибулярной лестницей, а базилярной пластинкой - от расположенной под ним барабанной лестницей. Вестибулярная и барабанная лестницы *in vivo* заполнены перилимфой, а улитковый канал - эндолимфой. Сосудистая полоска занимает около  $2/3$  боковой стенки, остальная  $1/3$  последней выстлана эпителиоцитами спирального выступа и спиральной связки в области наружной спиральной бороздки. Вестибулярная мембрана покрыта однослойным эпителием и обеспечивает транспорт воды и электролитов между пери- и эндолимфой. В сосудистой полоске,

представленной многослойным эпителием с густой сетью кровеносных капилляров, определяется 3 слоя эпителиоцитов: маргинальный, промежуточный, базальный. Маргинальные эпителиоциты имеют микроворсинки на апикальной поверхности и базальную исчерченность в связи с большим количеством митохондрий, обеспечивающих работу мембранных и ионных  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  насосов, что сопровождается высокой концентрацией  $\text{K}^+$  в эндолимфе. Важной особенностью сосудистой полоски является её участие в транспорте кислорода и питательных веществ, регуляции ионного состава эндолимфы.

В спиральной связке обнаружено множество сосудов, встречаются апудоциты. Между вестибулярной и основной мембранами находится угол с соединительнотканым спиральным лимбом с большим количеством клеток и коллагеновых волокон. Эпителий, покрывающий спиральный лимб, вырабатывает матрикс для покровной мембраны. В спиральном ганглии биполярные нейроны имеют крупное светлое центрально расположенное ядро с мелкими глыбками хроматина и четким ядрышком (рисунок 3.3).



**Рисунок 3.3** – Нейроны спирального ганглия. Контроль. Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 400

Таким образом, проведенные исследования показали, что гистологическое строение клеток и неклеточных структур органа слуха

животных этой группы, его структурных составляющих, морфофункциональное состояние эпителиальных, соединительнотканых и нейрональных компонентов соответствуют норме и могут составить группу сравнения.

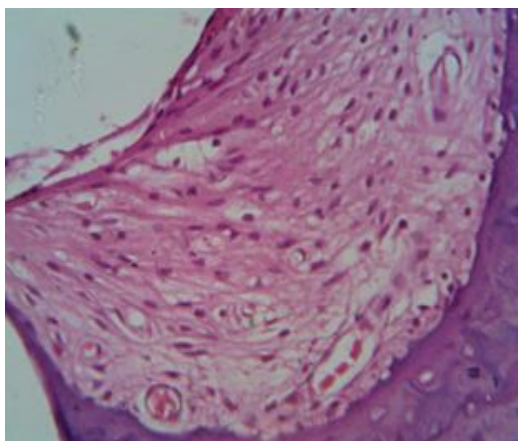
В первой группе экспериментальных животных с моделированием СНТ путем озвучивания, вибрации и стрессирования по 15 мин в течение 10 дней ВВК не изменены. Большинство НВК имеет хорошо структурированные хроматин и ядрышки. Однако отдельные НВК, встречающиеся на протяжении всего улиткового канала, отличаются наличием признака раннего апоптоза (подчеркнутый рельеф кариолеммы, небольшие очаги маргинации хроматина, (рисунок 3.4) редко – гиперхроматоз ядер).



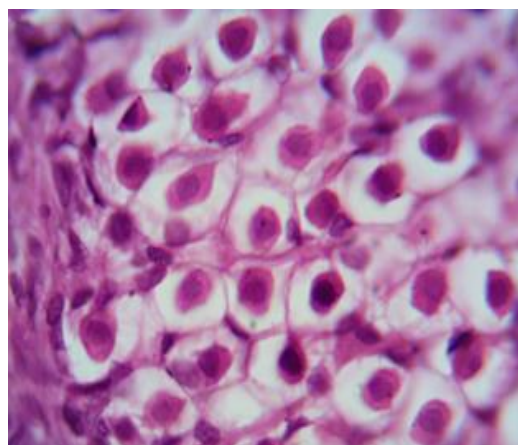
**Рисунок 3.4** – Сохранность НВК. Маргинация хроматина (↑). СНТ (после комбинированного воздействия 15мин. 10 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 1000

Покровная мембрана несколько отечна. В зоне фаланговых клеток Дейтерса межклеточные пространства расширены. Наружные поддерживающие клетки Гензена и пограничные клетки Клаудиуса отслоены, в состоянии лизиса. Сосуды сосудистой полоски расширены, полнокровны. Спиральная связка очагово отечна, с уменьшением клеточности. В сосудах - сладж (рисунок 3.5).

В спиральном ганглии резко выражен перичеселлюлярный отек и набухание нейронов. Цитоплазма вакуолизирована. Ядра отдельных нейроцитов уменьшены в размере и гиперхромны (рисунок 3.6).



**Рисунок 3.5** – Отек спиральной связки. Сладж. СНТ (после комбинированного воздействия 15мин. 10 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 400



**Рисунок 3.6** – Спиральный ганглий. Перичеселлюлярный отек, вакуолизация цитоплазмы, гиперхромность ядер нейронов. СНТ (после комбинированного воздействия по 15мин. 10 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 1000

В вестибулярной лестнице иногда определяются свободно лежащие крошковатые массы. В барабанной лестнице в зоне основного завитка улитки в разных случаях отмечаются разной степени выраженности кровоизлияния. В улитковом канале в некоторых случаях встречаются небольшие сетчатые или крошковатые наложения на вестибулярной мембране. Указанные

изменения с варьирующей степенью выраженности встречаются на протяжении всего улиткового канала.

Таким образом, гистологические исследования, проведенные в 1 группе экспериментальных животных показали, что воздействие озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. 10 дней при заданных параметрах вызывает у крыс повреждение органа слуха по типу СНТ, которое подтверждается не только клинично – физиологическими, но и гистологическими показателями:

1) выраженным перицеллюлярным отеком и набуханием нейроцитов в спиральном ганглии,

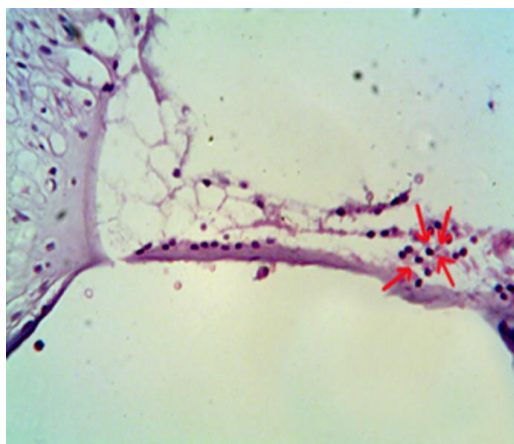
2) слабо выраженными, мозаично встречающимися на протяжении всего улиткового канала ранними апоптическими изменениями НВК при удовлетворительной их сохранности (маргинация хроматина, подчеркнутый рельеф кариолеммы),

3) нарушением микроциркуляции с формированием сладж синдрома, нарушением проницаемости сосудистой стенки, развитием гипоксии и отеков,

4) сладжем, очаговой отечностью, дистрофией фибробластов спиральной связки,

5) отслойкой и цитолизом клеток Гензена, Клаудиуса и эпителиоцитов, покрывающих спиральный выступ и спиральную связку.

Во 2 группе экспериментальных животных при моделировании СНТ путем воздействия озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. 20 дней в отдельных ВВК и НВК отмечаются более выраженные и чаще встречающиеся, чем в 1 группе экспериментальных животных, проапоптические изменения в виде маргинальной агрегации глыбок гетерохроматина, подчеркнутой рельефности кариолеммы, гиперхромности ядер. Редко (в одном случае) регистрируются очаги выпадения отдельных НВК. (рисунок 3.7)



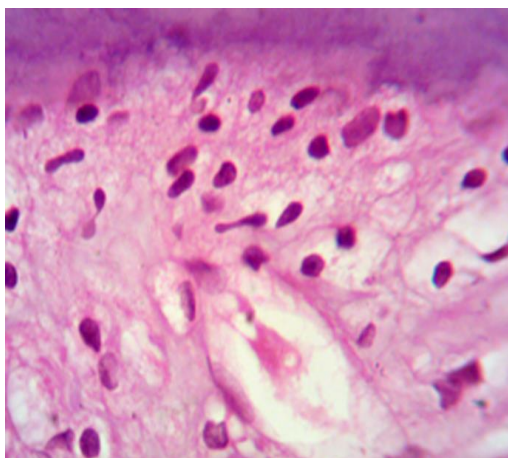
**Рисунок 3.7** – Мозаичное отсутствие НВК (↑). СНТ (после комбинированного воздействия 15мин. 20 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 100

Покровная мембрана отечна и разволокнена. Встречаются очаги «пузырения» - цитоплазмы. Пространства между фаланговыми клетками расширены в связи с выраженным межклеточным отеком.

Наружные пограничные клетки Гензена, поддерживающие клетки Клаудиуса и эпителиоциты спирального выступа и спиральной связки слущены и лизируются с формированием оксифильных шаровидных масс.

Сосудистая полоска несколько отечна. На апикальной поверхности её маргинального слоя клеток определяется небольшое количество шарообразных оксифильных масс. Сосуды неравномерно полнокровны, чаще расширены. Спиральная связка резко отечна на большем протяжении. Количество клеток уменьшено. Оставшиеся фибробласты дистрофически изменены (рисунок 3.8) и отличаются набухшими, светлыми, нередко вакуолизированными ядрами.





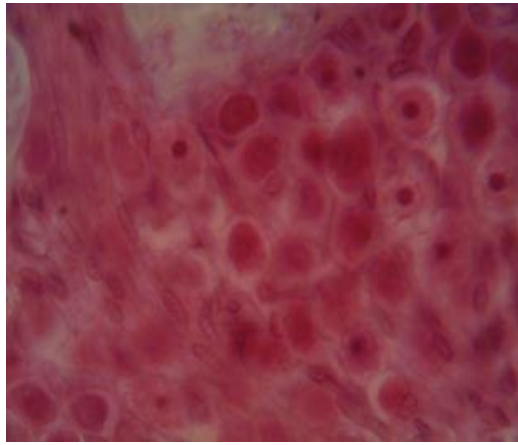
**Рисунок 3.8** – Дистрофические изменения фибробластов спиральной связки. СНТ (после комбинированного воздействия 15мин. 20 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 1000

Встречаются одиночные или небольшие группы (2-3 клетки) мононуклеарных лейкоцитов. Сосуды расширены с выраженным периваскулярным отеком, в некоторых – сладж.

Нейроны спирального ганглия дистрофически изменены с вакуолизированной цитоплазмой. Многие нейроны отличаются уменьшенными в размере гиперхромными апоптозноизмененными ядрами. (рисунок 3.9)

Единичные нейроны в состоянии цитолиза. Просвет вестибулярной лестницы свободен или содержит небольшое количество сетчатых оксифильных масс. В улитковом канале чаще пристеночно, в зоне сосудистой полоски, спиральной связки и клеток Гензена и Клаудиуса определяется варьирующее количество шаровидных масс.

В барабанной лестнице встречаются одиночные эритроциты или небольшие кровоизлияния, определяемые только на уровне основного завитка улитки.



**Рисунок 3.9** – Апоптоз нейронов спирального ганглия. СНТ (после комбинированного воздействия 15мин. 20 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 1000

Итак, анализ полученных результатов гистологических исследований показал, что моделирование СНТ путем воздействия озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. 20 дней сопровождается более выраженными патологическими изменениями в органе слуха, чем в 1 группе экспериментальных животных (моделирование СНТ путем воздействия озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. 10 дней), причём при этом способе моделирования СНТ:

1) утяжеляются микроциркуляторные расстройства и признаки гипоксии, что проявляется более выраженными сладжем, отеком, дистрофическими изменениями клеточных элементов на всем протяжении улиткового канала.

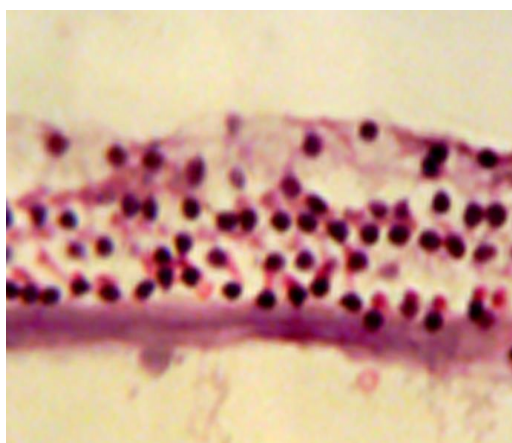
2) в спиральном ганглии нарастает степень выраженности дистрофических и апоптотических изменений нейроцитов, встречается цитолиз.

3) преимущественно в НВК определяются ранние апоптотические изменения с большим разбросом степени выраженности и частоты встречаемости на всем протяжении улиткового канала вплоть до формирования чаще одиночных очагов выпадения НВК (в одном случае).

Однако в общей массе патологические изменения нейронов гораздо более выражены, чем изменения волосковых клеток.

4) нарастают дистрофические изменения фибробластов и инфильтрация мононуклеарными лейкоцитами спиральной связки, а также цитолиз выстилающих её эпителиоцитов и цитолиз клеток Гензена и Клаудиуса.

В 3 группе экспериментальных животных гистологические исследования, проведенные после моделирования СНТ путем воздействия озвучивание + вибрация + стресс по 30 мин. 10 дней показали, что отдельные ВВК и несколько большее количество НВК отличается наличием ранних признаков апоптоза: подчеркнутый рельеф кариолеммы, небольшие очаги маргинации хроматина, гиперхроматоз ядер. Эти изменения регистрируются на протяжении всего улиткового канала. Однако среди НВК вдоль всей улитки встречаются очаги запустения, где единичные НВК отсутствуют. (рисунок 3.10)



**Рисунок 3.10** – Мозаичное отсутствие НВК. СНТ (после комбинированного воздействия 30мин. 10 дней). Окраска гематоксилином - эозином.

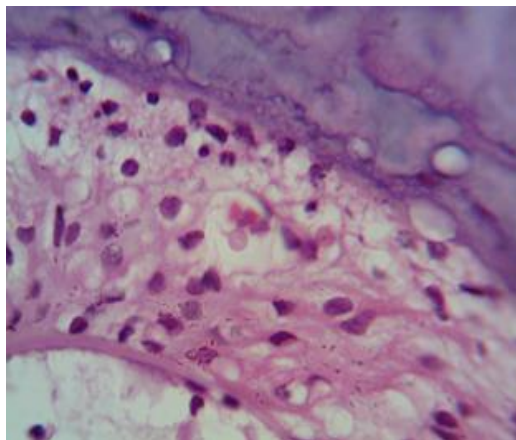
Увеличение 400

Клетки Гензена, Клаудиуса, эпителиоциты спиральной связки слущены и находятся в состоянии цитолиза с формированием оксифильных шаровидных масс.

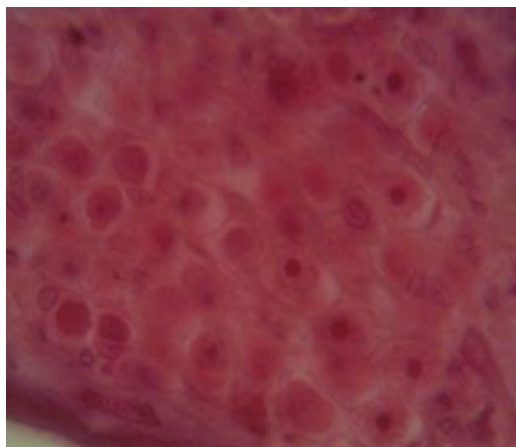
В спиральной связке при некотором нарастании отека (при сравнении с 1 группой исследований) увеличиваются участки, не содержащие клеток. Параллельно с этим нарастает инфильтрация мононуклеарными лейкоцитами слабо или умеренно выраженная с большей плотностью расположения мононуклеаров ближе к костной стенке органа слуха (рисунок 3.11).

Однако наиболее тяжелые изменения отмечаются в спиральном ганглии (рисунок 3.12).

Большинство нейронов имеют выраженные дистрофические изменения, находятся в состоянии апоптоза или цитолиза, отличаются вакуолизированной цитоплазмой и резко гиперхромными ядрами. Встречаются клетки с фрагментацией клеточной оболочки, и только единичные нейроны имеют типичные светлые ядра с глыбками хроматина и ядрышками.



**Рисунок 3.11** – Дистрофические изменения фибробластов спиральной связки. Отек. Инфильтрация мононуклеарными лейкоцитами. СНТ (после комбинированного воздействия 30мин. 10 дней). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 1000



**Рисунок 3.12** – Дистрофические изменения и апоптоз нейронов спирального ганглия. СНТ (после комбинированного воздействия 30мин. 10 дней).

Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 1000

В просвете вестибулярной лестницы иногда определяются сетчатые структуры, а в просвете барабанной лестницы форменные элементы крови (одиночные эритроциты). В улитковом канале в зоне наружной спиральной вырезки отмечается лизис эпителиоцитов с формированием оксифильных шаровидных масс.

Таким образом, гистологические исследования кортиевого органа в 3-й группе животных после моделирования СНТ путем воздействия озвучивание + вибрация + стресс по 30 мин. 10 дней свидетельствуют об утяжелении и усугублении морфологических показателей повреждения органа слуха и, следовательно, о более выраженном прогрессировании СНТ. При этом:

1) нарастает частота встречаемости и выраженность дистрофических изменений нейронов спирального ганглия и гибель их по типу апоптоза,

2) на фоне сохранившихся (редко – с ранними признаками апоптоза) ВК определяются одиночные бреши с отсутствием единичных НВК,

3) остаются выраженными слущивание и лизис эпителиоцитов спирального выступа и спиральной связки.

4) прогрессирующие дистрофические изменения и гибель фибробластов в спиральной связке обуславливают увеличение площади бесклеточных

пространств в ней и усиление моноклеарной лейкоцитарной инфильтрации.

Наблюдаемые после моделирования СНТ изменения в кортиеовом органе показали, что вредоносность стандартной силы повреждения для уха в большей степени утяжеляется с удлинением разового, а не общего времени воздействия на ухо.

### **3.4. Отопротективное действие силденафила на периферический отдел слухового анализатора при моделировании шумовибрационной тугоухости у белых крыс**

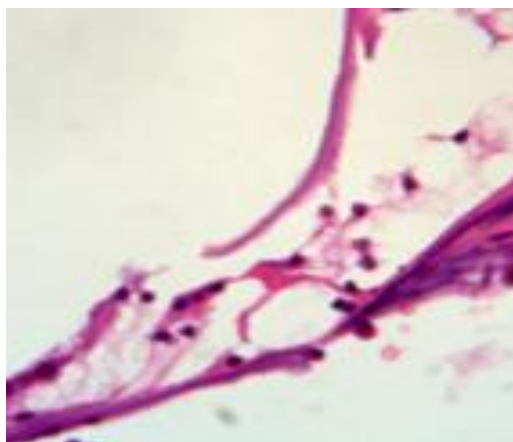
Сосудистый фактор, несмотря на отсутствие его прямого воздействия при моделировании СНТ, выступает универсальным ведущим патологическим фактором в патогенезе заболевания, приводя к апоптозу, дистрофии, гипоксии клеточного массива спирального органа и спирального ганглия, что подтверждается результатами наших гистологических исследований. Эти данные свидетельствуют о необходимости поиска способов профилактики и лечения с коррекцией сосудистого звена патогенеза при шумовибрационном воздействии, имеющего место, например, у работников железнодорожного транспорта. С этой целью возможно применение средств с положительным действием на микроциркуляцию. К таким средствам относится силденафил, более известный под названием «Виагра».

Силденафил изначально был предложен для регуляции микроциркуляторных расстройств и обладает общим действием на организм. Лишь в последующем в больших дозах его стали использовать как средство для повышения потенции, хотя он и не обладает избирательным на половую функцию действием.

Следует отметить, что лишь применение в больших дозах препарат может привести к осложнениям, тогда как небольшие или обычные

терапевтические дозировки не приводят к осложнениям или побочным явлениям.

В 4 группе экспериментальных животных с отсроченным использованием силденафила после моделирования СНТ путем озвучивания и вибрации на фоне стресса по 15 мин. в течение 10 дней изменений со стороны ВВК не отмечается. НВК сохранены (рисунок 3.13), некоторые имеют ранние признаки апоптоза (подчеркнутая четкость кариолеммы, маргинация хроматина, гиперхроматоз ядер) на всем протяжении кортиева органа.



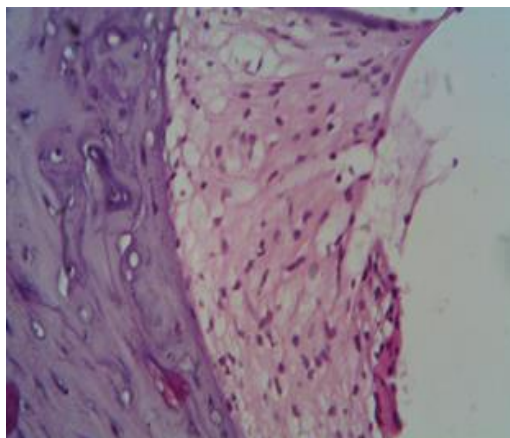
**Рисунок 3.13** – Сохранность волосковых клеток. Межклеточный отек фаланговых клеток. Дистрофические изменения, цитоллиз некоторых опорных клеток Кортиева органа. СНТ (отсроченное применение силденафила после моделирования тугоухости). Окраска гематоксилином - эозином.

Увеличение 1000

Межклеточные пространства между фаланговыми клетками несколько расширены.

Клетки Гензена, наружные поддерживающие клетки Клаудиуса дистрофически изменены, вакуолизированы, некоторые в состоянии цитоллиза. Сосудистая полоска без особенностей. Спиральная связка очагово отечна с уменьшением клеточности и неравномерно распределенной, слабо

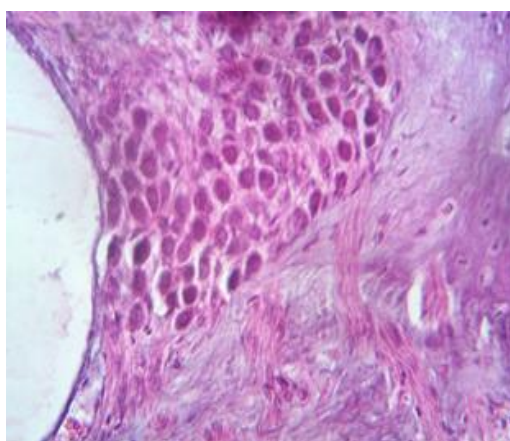
выраженной инфильтрацией мононуклеарными лейкоцитами (рисунок 3.14).



**Рисунок 3.14** – Отек, дистрофические изменения фибробластов спиральной связки. Очаговая инфильтрация мононуклеарными лейкоцитами. СНТ (после комбинированного воздействия 15 мин. 10 дней + отсроченно силденафил).

Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение 400

Эпителий спирального выступа и спиральной связки в состоянии лизиса. Нейроны спирального ганглия со слабо выраженным перицеллюлярным отеком, некоторые – набухшие, дистрофически изменены (рисунок 3.15) с вакуолизированной цитоплазмой и гиперхромным ядром.



**Рисунок 3.15** – Перицеллюлярный отек, дистрофические изменения нейронов спирального ганглия. СНТ (после комбинированного воздействия 15 мин. 10 дней + отсроченно силденафил). Окраска гематоксилином -

эозином. Увеличение 400



Однако в сравнении с 1, 2, 3 группами гораздо чаще встречаются нейроны с типичными светлыми ядрами и ядрышками. Просвет вестибулярной лестницы и улиткового канала свободны. В просвете барабанной лестницы встречаются эритроциты.

Таким образом, полученные данные при гистологическом исследовании показали, что использование силденафила после моделирования патологии внутреннего уха несколько уменьшает выраженность патологических изменений в кортиевом органе, уменьшая степень поражения НВК и нейронов, и, следовательно, оказывая некоторое протективное воздействие на различные структуры кортиева органа (в том числе нейроны и НВК), и с учетом отсроченного от моделирования прогрессирования СНТ силденафил может быть использован для лечебно-профилактических целей.

При этом отмечается:

1) уменьшение отечности тканей кортиева органа как показатель улучшенной микроциркуляции,

2) лучшая сохранность НВК и нейронов с уменьшением частоты и степени выраженности апоптоза этих клеток на всем протяжении кортиева органа.

3) снижение выраженности дистрофических изменений опорных клеток и фибробластов спиральной связки кортиева органа.

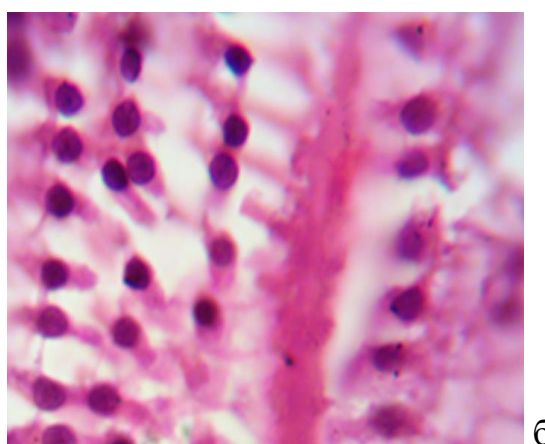
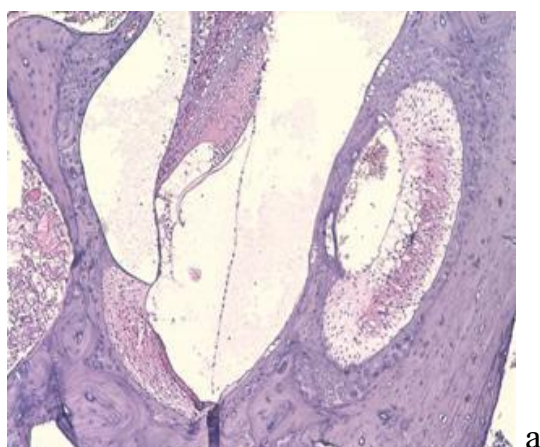
В 5 группе экспериментальных животных при моделировании СНТ с использованием озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. с одновременным введением животным per os силденафила в течение 10 дней получены следующие результаты: ВВК не изменены. НВК на протяжении всего улиткового канала сохранены, некоторые имеют признаки раннего апоптоза с подчеркнутым рельефом кариолеммы, иногда – маргинацией хроматина или гиперхромностью ядер (рисунок 3.16 а, б).

Покровная мембрана имеет обычное строение. Опорные и поддерживающие клетки не изменены, но межклеточные пространства

между наружными фаланговыми клетками несколько расширены. В просвете туннеля определяются нервные волокна.

В сосудистой полоске отмечается слабо выраженный межклеточный отек. Сосуды расширены.

Спиральная связка очагово отечна с некоторым уменьшением клеточности при слабо выраженных дистрофических изменениях отдельных фибробластов. Сосуды расширены. Отмечается сдувание и цитолиз эпителия спиральной связки и спирального выступа.

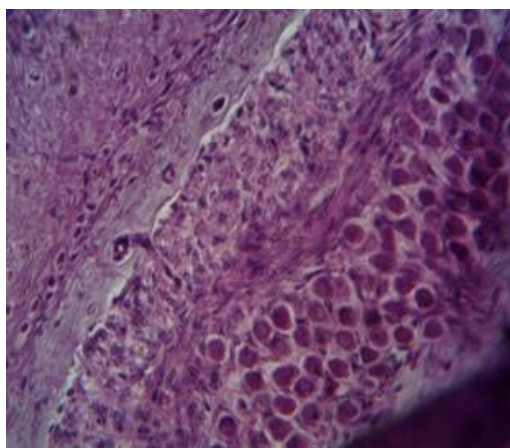


**Рисунок 3.16** – Сохранность Кортиева органа (а) и ВК (б) СНТ (после комбинированного воздействия 15 мин. 10 дней + силденафил). Окраска гематоксилином - эозином. Увеличение а - 100, б - 1000

В спиральном ганглии определяется небольшой отек стромы, набухание отдельных нейронов с вакуолизацией цитоплазмы и гиперхромностью ядер

некоторых из них. Однако большинство нейронов имеют характерные для нервной ткани светлые ядра с небольшими глыбками хроматина и 1 – 2 ядрышками (рисунок 3.17).

Просвет вестибулярной лестницы чаще свободен. В улитковом канале в некоторых случаях встречаются небольшие скопления сетчатых эозинофильных масс. В барабанной лестнице определяются одиночные или небольшие скопления эритроцитов, иногда сетчатые массы.



**Рисунок 3.17** – Удовлетворительная сохранность нейронов спирального ганглия при небольшом перичеллюлярном отеке и некоторой гиперхромности отдельных ядер. СНТ (после комбинированного воздействия 15 мин. 10 дней + силденафил). Окраска гематоксилином - эозином.

Увеличение 400

Таким образом, по результатам гистологических исследований одновременное с моделированием тугоухости использование силденафила предупреждает развитие или уменьшает выраженность повреждений различных структур спирального органа. В том числе (хотя и в несколько меньшей степени) и нейронов спирального ганглия, что связано с их (нейронов!) более выраженным повреждением при моделировании.

Этот фрагмент наших исследований доказывает некоторую эффективность сосудорасширяющих средств (силденафил) при развитии

СНТ, протективные свойства которых можно связать с уменьшением микроциркуляторных расстройств: выраженностью отеков, наличием сладжа, морфофункциональным состоянием различных тканей и клеток кортиева органа, но особенно нейронов спирального ганглия, как более повреждаемых и поэтому менее сохранившихся. Патология последних в нашем эксперименте при моделировании СНТ соответствует вторичной транссинаптической нейродегенерации (дегенерация нервных клеток при нарушении их афферентной связи).

Анализ этих данных позволяет:

1) отметить особую уязвимость нейронов спирального ганглия при данном способе моделирования СНТ и их важную роль в патогенезе этого заболевания,

2) подчеркнуть свойство силденафила (сосудорасширяющее средство) как протектора в отношении различных структур кортиева органа в том числе и нейронов спирального ганглия и возможность использования их в качестве профилактического средства при сверхпороговых или пограничных звуковых и вибрационных воздействиях на орган слуха.

Резюме. Проведенные гистологические исследования показали:

I. Воздействие (озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. 10 дней) вызывает у экспериментальных животных СНТ, что наряду с клинико-физиологическими тестами документировано гистологическими показателями:

1. Более выраженные повреждения нейронов, чем НВК (выраженный перичеллюлярный отек, набухание нейронов спирального ганглия, признаки апоптоза).

2. Сохранность НВК на протяжении всего улиткового канала с наличием ранних апоптотических признаков в некоторых из них. Однако и редко встречаемые выпадения (отсутствие) единичных НВК.

3. Нарушение микроциркуляции с формированием сладж синдрома, нарушением проницаемости сосудистой стенки, развитием гипоксии и отеков.

4. Сладж, отек интерстиция, дистрофия фибробластов спиральной связки, слущивание, цитоллиз поддерживающих клеток и эпителиоцитов спиральной связки.

II. Моделирование СНТ при разных временных параметрах (15 мин. 20 дней и 30 мин. 10 дней), но при стандартных звуко-вибро-стрессорных воздействиях показало, что повреждение Кортиева органа утяжеляется больше при удлинении разового, а не общего времени воздействия на орган слуха.

III. Отмечена некоторая эффективность сосудорасширяющих средств при развитии СНТ, протективные свойства которых можно связать с уменьшением микроциркуляторных расстройств: сладж, отеки, морфофункциональное состояние различных тканей и клеток Кортиева органа, но особенно нейронов спирального ганглия, имеющих более выраженные изменения, патология которых соответствует вторичной транссинаптической дегенерации. Улучшение микроциркуляторных показателей уменьшает выраженность патологических изменений в Кортиевом органе и степень поражения НВК, и нейронов спирального ганглия в том числе, что позволяет их использовать для лечебно-профилактических целей.

## ГЛАВА 4

### ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И РЕНТГЕНСПЕКТРАЛЬНЫЙ МИКРОАНАЛИЗ У ПАЦИЕНТОВ С СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ, АССОЦИИРОВАННОЙ СО ЗВУКОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

#### **4.1. Функциональное исследование слуха у пациентов с сенсоневральной тугоухостью**

В последние годы в Российской Федерации возрастает количество работающего населения, на производствах с вредными и опасными условиями труда. По данным Росстата, к концу 2010 года, общая величина составила 29% от числа занятого населения. Производственный шум составляет 55% по России и занимает ведущее место в числе вредных факторов для трудового процесса, влияющих на здоровье работников. Возникающая вследствие негативного воздействия шума сенсоневральная тугоухость (СНТ), составляет, по данным статистики, 42,6% случаев в структуре профессиональной патологии, из них почти треть обнаруживается на предприятиях транспорта и связи. По данным В.Б.Панковой (2009) воздействию шума на железнодорожном транспорте подвергался каждый третий работник и повышенный уровень шума больше 50% отмечен по данным аттестации рабочих мест. Представленные данные наглядно показывают, что выявление слуховых расстройств в ранние сроки и профилактика прогрессирования СНТ у работников железнодорожного транспорта в современных условиях остаются актуальными.

Мы проводили изучение слуховой функции у больных, в анамнезе которых имело место звуковое воздействие на орган слуха.

Обследовано 127 человек, обратившихся в поликлиническое отделение №3 Дорожной клинической больницы на станции Ростов-Главный.

Проведенное нами исследование показало, что развитие СНТ у работников железнодорожного транспорта связано работой на объектах, в 31 % случаев не соответствующих гигиеническим нормативам по уровню шума. Исследование слуховой функции методом тональной пороговой аудиометрии проведено лицам в возрасте 18-60 лет с нарушениями слуха. Стаж работы в условиях шума - от 5 до 30 лет. По результатам тональной пороговой аудиометрии, проведенной 127 лицам, выделено 4 группы (А, В, С, Д).

В группу А - 34 человек - вошли работники с признаками воздействия шума на орган слуха (26,8%).

У 93 обследованных (73,2%) выявлена СНТ 1-3 степени:

группа В - 43 человек (33,9%) с тугоухостью 1 степени,

группа С - 29 человек (22,8%) со 2 степенью тугоухости,

группа Д - 21 человек (16,5%) с 3 степенью тугоухости.

У всех больных при тимпанометрии определялись тимпанограммы «типа А».

Анализ результатов исследования слуха показал, что в аудиологическом профиле работников, подвергающихся действию шума и вибрации, в 26,8% случаев преобладают «признаки воздействия шума на орган слуха» и в 33,9% случаев - I степень тугоухости, то есть не глубокие нарушения слуховой функции.

Ежегодное углубленное оториноларингологическое и аудиологическое обследование, позволяет своевременно выявить начальные признаки сенсоневральной тугоухости с целью назначения средств профилактики её прогрессирования.

60 пациентов получали стандартное лечение по схеме, включающей препараты из группы ноотропов (ноотропил) или сосудистых средств (кавинтон), антихолинэстеразных средств (ипидакрин), метаболическую терапию (витамины группы В), перорально, 1-2 раза в год.

32 пациента получали силденафил по схеме 25 мг 1раз в день, 10 дней, 2 раза в год. Наблюдение, включающее аудиологический контроль, показало высокую эффективность используемой схемы, подтверждённую отсутствием прогрессирования тугоухости. Результаты проведенного исследования позволяют констатировать, что раннее выявление СНТ у работников железнодорожного транспорта с проведением лечебно-профилактических мероприятий по рекомендуемой схеме позволяет предотвратить прогрессирование тугоухости, уменьшить или устранить субъективный шум в ушах.

На примере материалов профилактических осмотров 2013 года рассмотрим состояние слуха у работников железнодорожного транспорта.

В Дорожной клинической больнице (ДКБ) на станции Ростов-Главный ОАО «РЖД», согласно приказу Министерства Здравоохранения и Социального развития России № 302н от 12 апреля 2011 г., а также указанию МПС России № Л-2257у от 08.10.99 проводятся:

- обязательные предварительные медицинские осмотры (ПМО для поступающих на работу,
- обязательные периодические медицинские осмотры.

В 2013 г. медицинские осмотры прошли 6392 чел., из них – поступающих на работу - 1420, абитуриентов, поступающих в Ростовский государственный университет путей сообщения–527, работников СКЖД – 4445, при этом аудиометрическое исследование проведено у 4557 человек. Тональную пороговую аудиометрию выполняли с помощью аудиометра фирмы «Madsen Electronics» (Дания). Нарушения слуховой функции оценивали в соответствии с критериями, принятыми в профпатологии, с использованием классификации профессиональной тугоухости.

Результаты обследования с распределением по категориям в зависимости от формы нарушения слуха приведены в таблице (таблица 4.1).



**Таблица 4.1** – Категории работников железнодорожного транспорта (ОАО «РЖД») по результатам исследования слуха

Категории работников в	Состояние слуха	Число обследованных (человек)	Доля в % от общего числа обследованных
1 категория	Нормальный слух	3463	76
2 категория	Известная ранее хроническая тугоухость	501	11
3 категория	Впервые выявленная начальная доклиническая форма СНТ	593	13
итого		4557	100

Функциональные исследования слуховой функции свидетельствовали о наиболее значимом влиянии возраста и стажа работы в шумной обстановке. Результаты аудиометрического исследования позволили выявить основные типы аудиограмм у работников шумовых профессий (железнодорожников): изолированное снижение слуха на частотах 4000 и 8000 Гц (64% случаев). Кроме того, имели место пологонисходящие кривые, обрывистый тип кривой. При импедансометрии у всех обследованных зарегистрирована тимпанограмма «тип А».

Начальная доклиническая форма – результат воздействия производственного шума на орган слуха выявлена у 593 работников, что составило 13% случаев. При умеренной и значительной степенях снижения

слуха работники железнодорожного транспорта становятся профнепригодными к специальностям, непосредственно связанным с движением поездов и маневровой работой.

Особо актуально выявление доклинических форм тугоухости и ранняя профилактика слуховых расстройств, возникших под воздействием интенсивного производственного шума. Отрицательному действию шума на железнодорожном транспорте, помимо машинистов локомотивных бригад, подвергаются работники других профессий – монтеры, обходчики, регулировщики движения поездов и другие. В группы диспансерного («Д») наблюдения вошли лица, работающие в условиях воздействия производственного шума: 1 группа - практически здоровые, работающие в условиях производственного шума, 2 – с повышенным риском развития профессиональной тугоухости, т.е. с отдельными признаками неблагоприятного воздействия шума, 3 – больные с установленным диагнозом профессиональной, сенсоневральной тугоухости.

На диспансерном учете в 2013 г. состояло 269 (100%) человек, из них: с доклинической начальной формой СНТ – 93 (35%), хронической СНТ – 122 (45%), кондуктивной тугоухостью – 41 (15%), комбинированной тугоухостью – 13 (5%). Двусторонний процесс обнаружен у 68 человек (25%), односторонний – у 201 (75%). Анализ данных амбулаторных карт железнодорожников с диагнозом СНТ, показал, что преобладает возраст 40 - 50 лет и старше, стаж работы более 20 лет. Наряду с СНТ у 73% железнодорожников встречается и общесоматическая патология, такая как патология сердечно - сосудистой системы (61%), опорно-двигательного аппарата.

Выявление ранних, доклинических форм нарушений слуха способствует своевременному проведению профилактических мероприятий и назначению оптимального лечения. С работниками, подвергающимися воздействию производственного шума, но с нормальным слухом, проводится беседа о

режиме труда и отдыха один раз в год. Им необходимо использовать средства индивидуальной защиты органа слуха (СИЗ), витаминотерапию, физиотерапевтическое воздействие (ФТ). Работникам с 1-2-й степенью один раз в год проводится беседа о режиме труда и отдыха; применяются СИЗ, консервативная комплексная терапия проводится в условиях дневного стационара или ЛОР отделения ДКБ и способствует улучшение кровоснабжения внутреннего уха, стимуляцию процессов регенерации нервной ткани, ФТ. Организационные и технические мероприятия направлены на создание малошумной техники и оборудования, а также на снижение уровней шума в источниках его образования и распространения.

Таким образом, наш опыт по профилактике ранних форм профессиональной СНТ позволяет направить усилия на предотвращение возникновения сенсоневральной тугоухости, прогрессирования процесса в структурах слухового анализатора, продлевая профпригодность и работоспособность работников железнодорожного транспорта.

#### **4.2. Рентгеноспектральный микроанализ у пациентов с сенсоневральной тугоухостью до и после лечения**

С помощью рентгеноспектрального микроанализа исследовали элементный состав образца крови (эритроцитов) у пациентов с сенсоневральной тугоухостью, в весовых атомарных процентах. Материал изучали в сканирующем электронном микроскопе, микроанализ проводили с помощью специального детектора и прикладных программ.

Содержание микроэлементов в крови (масс.%) у пациентов с СНТ до и после лечения представлено в таблице (таблица 4.2).

**Таблица 4.2** – Содержание микроэлементов в эритроцитах крови (масс.%) у пациентов с сенсоневральной тугоухостью до и после лечения

Элементы	Контрольная группа (n=32), M±m	Больные СНТ (n=32), M±m	
		До	После лечения
<b>O</b>	<b>29,2±1,9</b>	<b>19,51±2,8*</b>	<b>33,2±3,2 °</b>
Fe	0,08±0,002	0,23±0,02	0,25±0,03
P	0,02±0,001	0,26±0,003	0,27±0,005
S	0,45±0,01	3,61±1,57*	2,06±0,85
Cl	0,02±0,001	0,21±0,02	0,22±0,01
K	0,02±0,001	0,32±0,004	0,07±0,009
Ca	0,02±0,002	0,23±0,02*	0,07±0,005°
Na	0,74±0,04	6,33±1,1*	2,55±1,0°

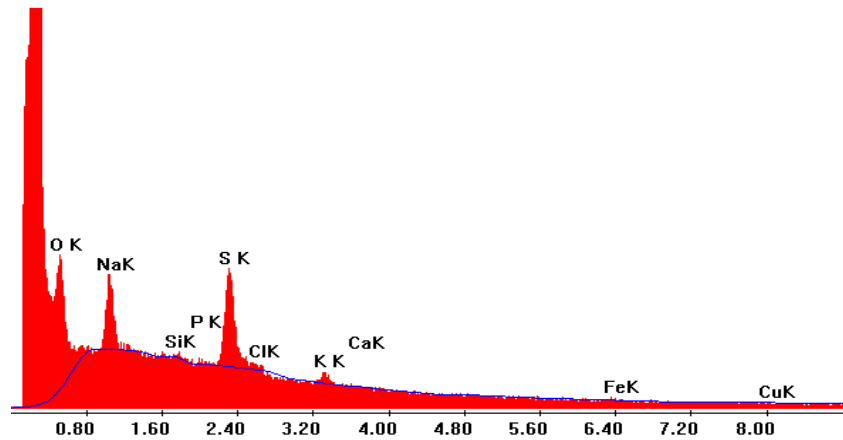
Примечание: \* - достоверные отличия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ;

° - достоверные отличия после лечения по сравнению с исходными данными при  $p < 0,05$ .

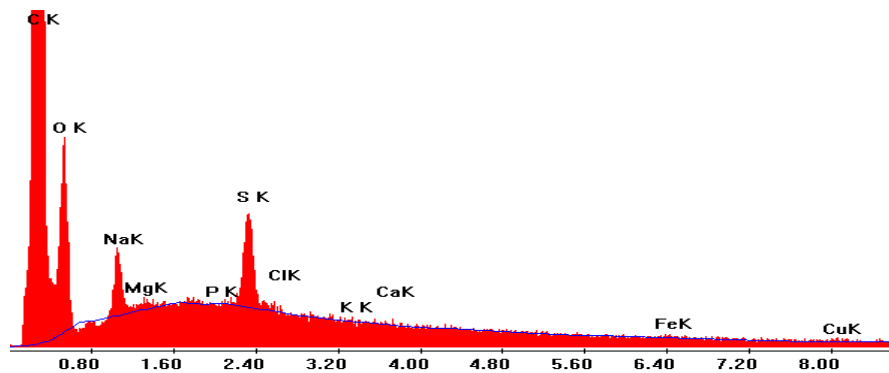
Наиболее существенные сдвиги у пациентов с СНТ обнаружены в отношении доли кислорода, снижение которой по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) свидетельствовало в пользу гипоксии тканей.

После лечения с применением силденафила отмечена значительная положительная динамика: достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение доли кислорода в элементном составе эритроцитов, что может свидетельствовать о насыщении крови кислородом и уменьшении гипоксии тканей головного мозга и структур слухового анализатора.

На рисунке 4.1 (а, б)) наглядно показано изменение элементных соотношений эритроцитов крови пациента (А.) после лечения в сравнении с первоначальными данными.



а



б

**Рисунок 4.1** – а – Результаты рентгеноспектрального элементного анализа эритроцитов пациента А., 38 лет, страдающего сенсоневральной тугоухостью, до лечения. При визуальной оценке наиболее значимые пики - спектры долей кислорода (ОК), натрия (NaK), серы (SK); б – Результаты рентгеноспектрального элементного анализа эритроцитов пациента А., 38 лет, страдающего сенсоневральной тугоухостью, – после лечения. Значительное увеличение доли кислорода (ОК), тенденция к нормализации соотношений долей других (NaK, CaK, SK) элементов

Таким образом, можно предполагать как протективный, так и лечебный эффект силденафила у пациентов с СНТ шумовибрационного генеза и рекомендовать этот препарат для введения в схемы профилактических мероприятий у лиц, подвергающихся шумовому, шумовибрационному воздействию.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патология внутреннего уха, сопровождающаяся нарушением слуховой функции, отличается полиэтиологичностью и сложным, до настоящего времени не до конца раскрытым патогенезом. Анатомо-физиологические особенности внутреннего уха, его расположение в толще височной кости не позволяют прижизненно получить необходимые знания о тонких изменениях в его структурах на клеточном уровне, элементном, молекулярном уровнях, изучать морфологические особенности патологии улитки. Именно поэтому неопределима роль экспериментальных исследований при этой сложной, считающейся неизлечимой, патологии (Wong A.C.Y., A. F. Ryan, 2015, Manohar S. et al., 2017; Soyalic H. et al., 2017).

Неоднозначны взгляды исследователей на характер патофизиологических процессов в кортиевоом органе, в слуховом анализаторе при действии неблагоприятных факторов на организм человека, на особенности развития и последствия дистрофических нарушений, виды гибели клеток в спиральном органе и возможности медикаментозного влияния на эти процессы (Fernandez K.A., 2015; Müller M. et al., 2016). Важность выявления этих деталей для дальнейшего функционирования органа слуха и особенностей профилактики и лечения развивающейся сенсоневральной тугоухости (СНТ) побуждает к более интенсивному, детальному выяснению механизмов поражения внутреннего уха при неблагоприятных внешних воздействиях, одним из которых, является шум

Длительное воздействие производственного или бытового шума на орган слуха, является одним из основных факторов, способствующих развитию тугоухости и глухоты в условиях современной техногенной революции. Многолетние наблюдения и анализ материалов, полученных при обследовании больных с сенсоневральной тугоухостью в поликлинике №3 НУЗ ДКБ на станции Ростов-Главный ОАО РЖД, свидетельствуют о

неуклонном росте числа больных со сниженным слухом, а проведенные медицинские осмотры у 4557 работников Северо – Кавказской железной дороги (СКЖД), с исследованием слуховой функции выявили доклинические формы тугоухости в 13% случаев. Число больных с сенсоневральной тугоухостью, ассоциированной с шумовым воздействием, растет и требует более глубокого изучения этой патологии.

Длительное воздействие шума у работников железнодорожного транспорта приводит к дегенеративно-атрофическим изменениям в структурах внутреннего уха, которые, как известно, необратимы в поздних стадиях. На ранних этапах развития сенсоневральной тугоухости можно приостановить дальнейшее прогрессирование заболевания, но, к сожалению, расстройства слуха в этот период часто остаются незамеченными. Раннее выявление слуховых расстройств и профилактические меры по предотвращению прогрессирования сенсоневральной тугоухости у работников железнодорожного транспорта остаются чрезвычайно важной задачей и в настоящих условиях, что приобретает особую актуальность в связи с современными сведениями об участии апоптического пути гибели клетки в морфо-функциональной картине сенсоневральной тугоухости, считающегося обратимым на начальной стадии.

Данные об изменении метаболизма у больных с сенсоневральной тугоухостью (Журавский С.Г., 2006) и о роли кислорода в жизнедеятельности клетки позволили полагать возможное положительное влияние препаратов, обладающих вазодилатационным действием и способствующих насыщению крови кислородом, на функцию улитки и всего слухового анализатора. Нами применён ранее не используемый для целей лечения СНТ препарат с известным вазодилатационным действием силденафила в небольших дозировках. Лишь в единичных работах говорится о возможном использовании силденафила на основании экспериментального

исследования у животных (Liang Y., Zhang S., Zhang X., 2015), при этом не достаточно раскрыты механизмы воздействия и точки приложения средства.

На основании проведенных клинических наблюдений больных с СНТ мы пришли к выводу, что силденафил может быть включен в схему лечения в тех случаях, когда наиболее вероятен сосудистый компонент заболевания на фоне акустического и виброакустического воздействия.

Эффекты силденафила позволили предполагать его эффективность при лечении СНТ, что требовало как экспериментального, так и клинического подтверждения.

Нами был предложен Способ моделирования сенсоневральной тугоухости (Патент РФ № 2627155, 2017) на основе акустического воздействия на белых беспородных крыс на фоне иммобилизационного стрессирования, которое мы дополняли вибрационным воздействием, что приближало экспериментальных животных к естественным условиям на железнодорожном транспорте. Эффективность модели подтверждали исследованием слуха у животных по оценке рефлекса Прейера и по результатам исследования отоакустической эмиссии (ОАЭ), а также по данным морфологических исследований структур внутреннего уха после забоя животных по окончании эксперимента. В эксперименте участвовало 55 особей. Проводилось сравнение с интактными животными. Проведенные гистологические исследования показали, что моделирование СНТ путем шумовибрационного воздействия на фоне иммобилизационного стрессирования экспериментальных животных сопровождается: I. Воздействие (озвучивание + вибрация + стресс по 15 мин. 10 дней) вызывает у экспериментальных животных СНТ, что наряду с клинико-физиологическими тестами документировано гистологическими показателями:



1. Более выраженные повреждения нейронов, чем НВК (выраженный перицеллюлярный отек, набухание нейронов спирального ганглия, признаки апоптоза).

2. Сохранность НВК на протяжении всего улиткового канала с наличием ранних апоптотических признаков в некоторых из них. Однако и редко встречаемые выпадения (отсутствие) единичных НВК.

3. Нарушение микроциркуляции с формированием сладж синдрома, нарушением проницаемости сосудистой стенки, развитием гипоксии и отеков.

4. Сладж, отек интерстиция, дистрофия фибробластов спиральной связки, слущивание, цитоллиз поддерживающих клеток и эпителиоцитов спиральной связки.

II. Моделирование СНТ при разных временных параметрах (15 мин. 20 дней и 30 мин. 10 дней), но при стандартных звуко-вибро-стрессорных воздействиях показало, что повреждение Кортиева органа утяжеляется больше при удлинении разового, а не общего времени воздействия на орган слуха.

Группу животных, участвующих в эксперименте, подвергали действию силденафила, обладающего свойством вазодилатации и оказывает действие на метаболические и сосудистые процессы в организме. В результате эксперимента проведенные гистологические исследования показали, что использование силденафила после моделирования СНТ несколько уменьшает выраженность патологических изменений в кортиевом органе, уменьшая степень поражения НВК и нейронов, и, следовательно, оказывая некоторое протективное воздействие на различные структуры кортиева органа (в том числе нейроны и НВК), и с учетом отсроченного от моделирования прогрессирования СНТ силденафил может быть использован для лечебно-профилактических целей.

При этом отмечается:

1) уменьшение отечности тканей кортиева органа как показатель улучшенной микроциркуляции,

2) лучшая сохранность НВК и нейронов с уменьшением частоты и степени выраженности апоптоза этих клеток на всем протяжении кортиева органа.

3) снижение выраженности дистрофических изменений опорных клеток и фибробластов спиральной связки кортиева органа.

На другой группе животных показано, что одновременное с моделированием СНТ использование силденафила предупреждает развитие или уменьшает выраженность повреждений различных структур спирального органа. В том числе (хотя и в несколько меньшей степени) и нейронов спирального ганглия, что связано с их (нейронов!) более выраженным повреждением при моделировании.

Этот фрагмент наших исследований доказывает некоторую эффективность сосудорасширяющих средств (силденафил) при развитии СНТ, протективные свойства которых можно связать с уменьшением микроциркуляторных расстройств: выраженностью отеков, наличием сладжа, морфофункциональным состоянием различных тканей и клеток кортиева органа, но особенно нейронов спирального ганглия, как более повреждаемых и поэтому менее сохранившихся. Патология последних в нашем эксперименте при моделировании СНТ соответствует вторичной транссинаптической нейродегенерации (дегенерация нервных клеток при нарушении их афферентной связи).

Анализ этих данных позволяет:

1) отметить особую уязвимость нейронов спирального ганглия при данном способе моделирования СНТ и их важную роль в патогенезе этого заболевания,

2) подчеркнуть свойство силденафила (сосудорасширяющее средство) как протектора в отношении различных структур кортиева органа в том

числе и нейронов спирального ганглия и возможность использования их в качестве профилактического средства при сверхпороговых или пограничных звуковых и вибрационных воздействиях на орган слуха.

Полученные результаты эксперимента были учтены при планировании и проведении клинического исследования.

Нами обследовано 127 больных с сенсоневральной тугоухостью в возрасте от 18 до 60 лет, 46 мужчины и 81 женщина, в анамнезе которых имел место акустический или шумовибрационный фактор. При аудиометрическом исследовании выявлено: у 26,8% работников «признаки воздействия шума на орган слуха», у 33,9% I степень СНТ, у 22,8% II степень СНТ и у 16,5% III степень СНТ по профессиональной классификации тугоухости и тимпанограмма «тип А» при тимпанометрии.

Пациентам с признаками СНТ назначали отопротективное лечение, а 32 из них – препарат силденафил. Методом сканирующей микроскопии с последующим компьютерным элементным анализом нами установлено, что силденафил способствует насыщению эритроцитов крови кислородом, что, следует полагать, уменьшает гипоксию тканей, в том числе слухового анализатора, при сенсоневральной тугоухости. Полученные нами данные коррелировали с благоприятной динамикой слуховой функции у пациентов, принимавших препарат.

Таким образом, полученные нами данные позволили обосновать использование силденафила в клинической практике у больных с сенсоневральной тугоухостью, особенно в сочетании с нарушениями сердечнососудистой системы и цереброваскулярной недостаточностью. Разработаны практические рекомендации для врачей, обосновывающие назначение данной группы препаратов, с определением показаний и схемы введения силденафила при сенсоневральной тугоухости.

Приведенные собственные данные экспериментального и клинического исследований свидетельствуют о тонких структурных изменениях во

внутреннем ухе при экспериментальной сенсоневральной тугоухости у животных (белых крыс), включая апоптоз различных клеточных структур, и об отрицательном действии шума и вибрации на фоне стрессирования на сосудистую полосу, но в большей степени о гибели нейронов спирального ганглия апоптическим путем при признаках раннего апоптоза волосковых клеток, а также об особых свойствах силденафила, обладающего, как оказалось, благоприятным действием при шумовибрационной патологии внутреннего уха.

## ВЫВОДЫ

1. Для объективной оценки слуховой функции у белых крыс в эксперименте информативно электрофизиологическое исследование задержанной вызванной отоакустической эмиссии и отоакустической эмиссии на частоте продуктов искажения.

2. Шумовибрационное воздействие на фоне иммобилизационного стресса вызывает у животных (белых крыс) в хроническом эксперименте развитие сенсоневральной тугоухости, что подтверждается у всех животных объективными функциональными и морфологическими методиками.

3. Морфологические изменения во внутреннем ухе у лабораторных животных (белых крыс) после моделирования шумовибрационного воздействия характеризуются признаками нарушения микроциркуляции в кортиевом органе, отёка, дистрофических нарушений, раннего апоптоза волосковых клеток и гибелью нейронов спирального ганглия путем апоптоза.

4. Определены экспериментально протективные возможности препарата силденафил при сенсоневральной тугоухости у лабораторных животных после шумовибрационного воздействия.

5. Элементный состав эритроцитов крови, изученный при рентгеноспектральном анализе, приближен к нормальному, но имеет тенденцию к достоверному снижению доли кислорода ( $p < 0,05$ ) у пациентов с сенсоневральной тугоухостью; после лечения с применением силденафила доля кислорода в эритроцитах нормализуется. Функциональная оценка слухового анализатора при шумовом и вибрационным воздействием свидетельствует о преобладании «признаков воздействия шума» на орган слуха (26,8%) и I степень тугоухости (33,9%), а ежегодное оториноларингологическое и аудиологическое обследование, позволяет своевременно выявить начальные признаки сенсоневральной тугоухости с целью назначения средств профилактики её прогрессирования.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Шумовибрационная модель сенсоневральной тугоухости у белых беспородных крыс может быть использована на доклиническом этапе испытаний лекарственных средств, планируемых к применению для профилактики и лечения сенсоневральной тугоухости.

2. В схеме профилактики и лечения сенсоневральной тугоухости у работников «шумовых профессий» возможно применение силденафила, улучшающего микроциркуляцию слухового анализатора.

3. Рекомендуемая схема применения силденафила для взрослых (с 18 лет) при сенсоневральной тугоухости: прием препарата внутрь, по 25 мг в сутки (1 табл.) в течение 10 дней 2 раза в год.

4. Для достижения наилучшего эффекта и во избежание осложнений следует учитывать противопоказания к приёму силденафила: повышенную чувствительность к препарату, применение в сочетании с любыми формами нитратов и нитритов, с гипогликемическими лекарствами и бета-адреноблокаторами, заболевания, сопровождающиеся кровотечениями; потенциально опасны - гипертензия, гипотония, нестабильная стенокардия, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, инсульт.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПСНТ – профессиональная сенсоневральная тугоухость

СНТ – сенсоневральная тугоухость

ПДУ – предельно допустимый уровень

ПМО – периодический медицинский осмотр

НВК – наружные волосковые клетки

ВВК – внутренние волосковые клетки

ОАЭ – отоакустическая эмиссия

ОАЭЧПИ – отоакустическая эмиссия на частоте продуктов искажения

ЗВОАЭ – задержанная вызванная отоакустическая эмиссия

СИЗ – средства индивидуальной защиты

ПДУ – предельно допустимый уровень

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров Н.Ю. Вызванные потенциалы в диагностике поражений нервной системы / Н.Ю. Александров. – СПб., 2001. – 63 с.
2. Алибеков И.М. Амбулаторная оперативная оториноларингология в условиях городского центра Западной Сибири (десятилетний опыт работы) / И.М. Алибеков, Х.Т. Абдулкеримов, А.А. Чесноков // Российская оториноларингология. – 2014. – № 3. – С. 3–6.
3. Альтман Я.А. Руководство по аудиологии / Я.А. Альтман, Г.А. Таварткиладзе. – М.:ДМК Пресс, 2003. – 360 с.
4. Андреев П.В. Прогностический аспект в профилактике нейросенсорной тугоухости токсического генеза у детей / П.В. Андреев // Журн. вушных, носових і горлрвих хвороб. – 2003. – №1. – С. 2–5.
5. Ахкубекова Н.К. Показатели кальций–фосфорного обмена и костного метаболизма у женщин с диффузным токсическим зобом и первичным гипотиреозом: дис. канд. мед. наук / Н.К. Ахкубекова. – М., 1997. – 167 с.
6. Бабияк В.И. Некоторые психологические аспекты проблемы «качества жизни человека» / В.И. Бабияк, М.И. Говорун, В.В. Митрофанов // Российская оториноларингология. – 2004. – №2. – С. 3–6.
7. Бабияк В.И. Клиническая оториноларингология: рук–во для врачей / В.И. Бабияк, Я.А. Накатис. – СПб.: Гиппократ, 2005. – 800 с.
8. Бакулина Л.С. Лечение острой сенсоневральной тугоухости / Л.С. Бакулина, Т.А. Машкова // Матер. 2–го национ. конгресса аудиологов и 6–го междунар., симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха», Суздаль, 2007. – М., 2007 – С. 34.
9. Бачурин С.О. Медико-химические подходы к направлению поиска препаратов для лечения и предупреждения болезни Альцгеймера / С.О. Бачурин // Вопросы медицинской химии. – 2001. – №2. – С.27–51.



10. Беличева Э.Г. Острая и внезапная сенсоневральная тугоухость: этиология, клиника, диагностика, эффективность ранней этиопатогенетической терапии: автореф. дис... д-ра мед. наук / Э.Г. Беличева.– СПб., 2008. – 23 с.
11. Бербом Х. Болезни уха, горла и носа / Х. Бербом, О. Кашке, Т. Навка, Э. Свифт; пер. с англ. – М.: МЕДпресс–информ, 2012. – 776 с.
12. Бессараб Т.П. Этиопатогенетическое значение гиперлиппротеинемии в развитии профессиональной нейросенсорной тугоухости: автореф. дис... канд. мед. наук / Т.П. Бессараб. – М., 1997. – 30 с.
13. Бобошко М.Ю. Слуховая труба / М.Ю. Бобошко, А.И. Лопотко. – СПб.: СпецЛит, 2003. – 360 с.
14. Бобошко М.Ю. К вопросу об оценке степени тугоухости / М.Ю. Бобошко, Л.Е. Голованова, О.Н. Владимирова // Российская оториноларингология. – 2015. – №5. – С. 24–27.
15. Боровиков В.П. Statistika. Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – 2-е изд. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
16. Бушманов А.Ю. Концептуальные особенности информационно-аналитического обеспечения реабилитации профбольных и пострадавших на производстве / А.Ю. Бушманов, А.П. Бирюков, Е.В. Васильев [и др.] // Современные технологии реабилитации, санаторно-курортного лечения и оздоровления работающего населения, профессиональных больных и пострадавших от несчастных случаев на производстве: материалы 3-го междунар. конгресса, Сочи, 17-19 окт. 2011. – Сочи, 2011. - С 40-42.
17. Верещагин А.И. О состоянии профессиональной заболеваемости в Российской Федерации в 2010 году: Информационный сборник статистических и аналитических материалов / под ред. глав. врача ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора к.м.н. А.И. Верещагина. – М.: Роспотребнадзор, 2011. – 108 с.

18. Гвелесиани Т.Г. Аудиторная (слуховая) нейропатия – редкая патология слухового анализатора / Т.Г. Гвелесиани, Е.Р. Цыганкова // IV Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии слуха»: тез. докл. – М., 2001. – С. 93–94.
19. Гнездицкий В.В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике / В.В. Гнездицкий. – Таганрог: Изд-во ТГТУ, 1997. – 252 с.
20. Гофман В.Р. Этиопатогенетическая модель диагностики и лечения больных с патологией слуховой системы / В.Р. Гофман, М.И. Говорун // Российская оториноларингология. – 2003. – № 2(5). – С. 80–84.
21. Гребенюк И.Э. Этиопатогенетические аспекты сенсоневральной тугоухости: автореф. дис.... канд. мед. наук / И.Э. Гребенюк. – М., 2007. – 25 с.
22. Григорьева И.Ф. Ранняя диагностика нарушений слуха у детей с периферическими и центральными поражениями слуховой системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.Ф. Григорьева. – СПб., 1992. – 23 с.
23. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 327с.
24. Дайхес Н.А. Взаимосвязь аудиологических характеристик членов лётных экипажей с возрастом и основными производственными факторами / Н.А. Дайхес, Е.Е. Аденинская, А.С. Мачалов, Я.М. Сапожников, Н.И. Симонова // Российская оториноларингология. - 2018. - №6(97).- С.15–21.
25. Евдощенко Е.А. Нейросенсорная тугоухость / Е.А. Евдощенко, А.Л. Косаковский. – Киев: Здоровья, 1989. – 112 с.
26. Ермолаев В.Г. Практическая аудиология / В.Г. Ермолаев, А.Л. Левин. – Л.: Медицина, 1969. – 238 с.
27. Журавский С.Г. Сенсоневральная тугоухость: Молекулярно-генетические, структурные и лечебно-профилактические аспекты (клинико-

экспериментальное исследование): дис. ... д-ра мед. наук / С.Г. Журавский. – СПб, 2006. – 356 с.

28. Заболотный Д.И. Слуховые вызванные потенциалы у больных с нарушениями голоса в зависимости от состояния слуха в расширенном диапазоне частот / Д.И. Заболотный, Т.А. Шидловская // Вестник оториноларингологии. – 1998. – №2. – С. 12–15.

29. Заболотный Д.И. Сенсоневральная тугоухость или кохлеит? / Д.И. Заболотный, Ю.В. Попов // Новости оториноларингологии и логопатологии. – 2002. – №3(31). – С. 128–132.

30. Загорянская М.Е. Возможности ранней медико-социальной реабилитации взрослых с нарушением слуха / М.Е. Загорянская, М.Г. Румянцева, Л.Б. Дайняк // Проблема реабилитации в оториноларингологии: тр. Всерос. конф. с междунар. участием, посв. 80-летию со дня рождения Героя Соц. Труда, акад. РАМН И.Б. Солдатова / под ред. Ю.К. Янова, В.Ф. Антонива, Н.В. Ереминой. – Самара, 2003. – С. 116–117.

31. Загорянская М.Е. Значение эпидемиологических методов исследования в профилактике нарушений слуха / М.Е. Загорянская, М.Г. Румянцева // Российская оториноларингология. – 2003. – №3(6). – С. 78–83.

32. Загорянская М.Е. Возможности своевременной ранней реабилитации детей с нарушением слуха / М.Е. Загорянская, М.Г. Румянцева // Российская оториноларингология. – 2008. – Прил. №1. – С.257–261.

33. Золотова Т.В. Дифференциальный подход к лечению сенсоневральной тугоухости: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Т.В. Золотова. – М., 2004. – 42 с.

34. Золотова Т.В. Дифференциальный подход к лечению сенсоневральной тугоухости: дис. ... д-ра мед. наук / Т.В. Золотова. – М., 2004. – 301 с.

35. Золотова Т.В. Роль микроэлемента селена в патогенезе сенсоневральной тугоухости / Т. В. Золотова, А.П. Давыдова // Всероссийская научно–практическая конференция, посвященная 150–летию со дня рождения Н.П. Симановского: сб. тр. – СПб., 2004. – С. 165–166.
36. Золотова Т.В. Способ моделирования сенсоневральной тугоухости: Пат. 2222054 РФ / Т.В. Золотова, С.Н. Панченко. – №2002133845. – Оpubл. 2004, Бюл. №18; Приоритет от 15.12.02.
37. Золотова Т.В. Способ лечения сенсоневральной тугоухости: Пат. 2232014 РФ / Т.В. Золотова, А.Г.Волков, Е.А. Костенко. – №2003115986; Приоритет от 28.05.03. – Оpubл. 1.07.2004. Бюл. №19.
38. Золотова Т.В. Основные принципы диагностики и лечения сенсоневральной тугоухости / Т.В. Золотова. – Ростов н/Д, 2007. – 33 с.
39. Золотова Т.В. Сенсоневральная тугоухость: принципы диагностики и лечения / Т.В. Золотова. – Ростов н/Д: РостГМУ, 2010. – 77 с.
40. Золотова Т.В. Сенсоневральная тугоухость. – Ростов н/Д: ЗАО «Книга», 2013. – 544 с.
41. Ивницкий Ю.Ю. Янтарная кислота в системе средств метаболической коррекции функционального состояния и резистентности организма / Ю.Ю. Ивницкий. – СПб., 1998. – 56 с.
42. Илькаева Е.Н. Оценка вероятности формирования профессиональных нарушений органа слуха у работников, подвергающихся воздействию производственного шума / Е.Н. Илькаева, А.Д. Волгарева, Э.Р. Шайхлисламова // Медицина труда и промышленная экология. – 2008. – №9. – С. 27–31.
43. Илькаева Е.Н. Медико–социальная значимость потери слуха в трудоспособном возрасте и научное обоснование методов профилактики: автореф. дис. ...докт. мед. наук / Е.Н. Илькаева. – М., 2009. – 48 с.

44. Киселев В.В. Эндолимфатический гидропс. Экспериментально–клиническое исследование: дис. канд. мед. наук / В.В. Киселев. – Ростов н/Д, 1989. – 191 с.
45. Клочева Е.Г. Применение цитофлавина у больных с гипоксическим состоянием головного мозга ишемического генеза / Е.Г. Клочева, М.В. Александров, Е.Б. Фомина // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2002. – № 1–2. – С.128–133.
46. Козин О.В. Метод расчета экспозиции авиационного шума при оценке его воздействия на орган слуха у лиц летного состава / О.В. Козин // Гигиена и санитария. – 2006. – № 2. – С. 83–85.
47. Колбасов С.Е. Изучение эффективности цитофлавина в модели экспериментальной черепно–мозговой травмы / С.Е. Колбасов, Т.Н. Саватеева, М.К. Шевчук // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2003. – №3. – С.112–115.
48. Колбасов С.Е. Эффективность цитофлавина при экспериментальном сахарном диабете у крыс / С.Е. Колбасов, Т.Н. Саватеева, А.В. Лычаков // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2003. – №3. – С. 132–134.
49. Королюк М.А. Динамика связанного кальция в нервной ткани при интоксикации цианидом: дис. ... канд. мед. наук / М.А. Королюк. – СПб., 1994. – 173 с.
50. Косяков С.Я. Сенсоневральная тугоухость. Современные возможности терапии с позиции доказательной медицины / С.Я. Косяков, А.Г. Атанесян. – М.: МЦФЭР, 2008. – 79 с.
51. Крюков А.И. Метаболические и иммунологические аспекты патологии внутреннего уха с позиций органоспецифичности / А.И. Крюков, М.Н. Шубин, А.Н. Петровская, А.Б. Туровский // Материалы XVI съезда оториноларингологов РФ «Оториноларингология на рубеже тысячелетий». – Сочи, 2001. – С. 9–12.

52. Крюков А.И. Ангиогенная кохлеовестибулопатия / А.И. Крюков, Н.А. Петухова. – М.: Медицина, 2006. – 256 с.
53. Крюков А.И. Органоспецифичность ушного лабиринта и патология внутреннего уха / А.И. Крюков // Материалы XVIII съезда оториноларингологов России, 26–28 апреля 2011 г. – СПб., 2011. – Т.2. – С. 94–95.
54. Кунельская Н.Л. Лечебная тактика при нейросенсорной тугоухости / Н.Л. Кунельская // Материалы I Петербургского Форума оториноларингологов России, 17 апр. 2012. – СПб., 2012. – Т. 2. – С. 249–252.
55. Кунельская Н.Л. Хроническая нейросенсорная тугоухость, современные направления терапии и реабилитации / Н.Л. Кунельская, Ю.В. Левина, О.С. Федотова // Материалы II всероссийского конгресса национальной медицинской ассоциации оториноларингологов России «Лазурный Сочи», 21-23 нояб. 2018. – Сочи, 2018. – С. 92.
56. Лазарева Л.А. Динамика цитокинов в процессе лечения у больных острой сенсоневральной тугоухостью / Л.А. Лазарева // Матер. науч.–практ. конф. с междуна. участием «Современные вопросы диагностики и реабилитации больных с тугоухостью и глухотой», Суздаль, 2006. – М., 2006 – С. 117.
57. Лазарева Л.А. Патогенез острой сенсоневральной тугоухости и роль иммунологических механизмов в его формировании: дис. ... доктора мед. наук / Л.А. Лазарева. – Москва, 2013. – 322 с.
58. Лазарева Л.А. Использование анкетирования как способа ранней эпидемиологической диагностики сенсоневральных нарушений слуха у взрослых / Л.А. Лазарева, Б.Р. Музаева // Материалы II всероссийского конгресса национальной медицинской ассоциации оториноларингологов России «Лазурный Сочи», 21-23 нояб. 2018. – Сочи, 2018. – С. 98-99.
59. Ларская А.В. Аудиторная нейропатия / А.В. Ларская, И.М. Гвоздикова // Матер.2-го национ. конгресса аудиологов и 6-го

междунар. симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха», Суздаль, 2007. – М., 2007. – С. 146–147.

60. Ливанов Г.А. Пути фармакологической коррекции последствий гипоксии при критических состояниях у больных с острыми отравлениями / Г.А. Ливанов, В.В. Мороз, Б.В. Батоцыренов // Анестезиология и реаниматология. – 2003. – №3. – С.51–54.

61. Линьков В.И. Острая нейросенсорная тугоухость – вопросы этиологии, патогенеза и роль антигипоксантов в ее ранней терапии: (Клинико–эксперим. исслед.): автореф. дис... д–ра мед. наук / В.И. Линьков . – Л., 1991. – 49 с.

62. Лопотко А.И. Практическое руководство по сурдологии / А.И. Лопотко. – СПб., 2008. – 274 с.

63. Лушников Е.Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е.Ф. Лушников, А.Ю. Абросимов. – М.: Медицина, 2001. – 192 с.

64. Мазуров В.И. Динамика уровней провоспалительных цитокинов у больных в зависимости от различных форм ИБС / В.И. Мазуров // Клиническая медицина. – 1999. – Т.77, №11. – С. 23–27.

65. Маткулиев Н.М. Патоморфологические изменения в периферических и центральных отделах слухового анализатора при гентамициновой интоксикации / Н.М. Маткулиев, З.Х. Каримова // Материалы I Петербургского Форума оториноларингологов России, 17–18 апр. 2012. – СПб., 2012. – С. 269–272.

66. Мухамедова Г.Р. Регистрация вызванной отоакустической эмиссии у работников локомотивных бригад железнодорожного транспорта / Г.Р. Мухамедова // Вестник оториноларингологии. – 2009. – №6. – С. 19–21.

67. Никитин К.А. Лечебная тактика при острой сенсоневральной тугоухости / Никитин К.А., Бачегова Е.М. // Российская оториноларингология. – 2011. - № 4(53). - С. 123.

68. Новиков В.С. Программированная клеточная гибель / В.С. Новиков. – СПб.: Наука, 1996. – 276 с.
69. Носуля Е.В. Стандарты и оценка качества лечебно-диагностической помощи при заболеваниях ЛОР органов / Е.В. Носуля, Г.М. Гайдаров. - Иркутск: «Иркутская областная типография №1», 2000. – 176 с.
70. Овсянников В.Г. Патологические изменения во внутреннем ухе при экспериментальном моделировании сенсоневральной тугоухости у животных / Овсянников В.Г., Золотова Т.В., Лобзина Е.В., Дубинская Н.В // Кубанский научный медицинский вестник. – 2018. - №3 (25). – С.74-79.
71. Одинак М. Инсульт. Ишемическая полутень / М. Одинак, И. Вознюк, С. Янишевский. – СПб., 2004. – 47 с.
72. Омельченко В.П. Медицинская информатика / В.П. Омельченко, А.А. Демидова. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2016. – 528 с.
73. Остапкович В.Е. Профессиональные заболевания лор–органов / В.Е. Остапкович, А.В. Брофман. – М.: Медицина, 1982. – С.100.
74. Остапкович В.Е. Руководство по профессиональным заболеваниям: в 2–х т. / В.Е. Остапкович; под ред. Н.Ф. Измерова. – М.: Медицина, 1983. – 383 с.
75. Остапкович В.Е. Шумовая патология оториноларингологии / В.Е. Остапкович // Вестник оториноларингологии. – 1991. – №3. – С. 6–10.
76. Пальчун В.Т. Исследование парабактериальных явлений в слуховом анализаторе при воздействии ототоксических антибиотиков / В.Т. Пальчун, В.И. Асламазова, С.Я. Косяков [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 1988. – №3. – С. 5–7.
77. Пальчун В.Т. Оториноларингология: рук–во для врачей / В.Т. Пальчун, А.И. Крюков. Ч.1. – М.: Медицина, 2001. – С. 99.
78. Пальчун В.Т. Клинические особенности острой нейросенсорной тугоухости, сопровождающейся головокружением / В.Т. Пальчун,



А.Л. Гусева, Ю.В. Левина, С.Д. Чистов // Вестник оториноларингологии. – 2016. – №1. – С. 8-12.

79. Паневина А.А. Слуховосстанавливающий эффект N-сукцинил-хитозана в условиях модели острого акустического субповреждающего воздействия / А.А. Паневина // Российская оториноларингология – 2015. – № 3(76). – С. 108.

80. Панкова В.Б. Отологические эффекты импульсного шума / В.Б. Панкова, Е.А. Синева // Вестник оториноларингологии – 1999. – № 1. – С. 10–12.

81. Панкова В.Б. Состояние слуха у работников в нормативных уровнях шума / В.Б. Панкова // 4-й Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии слуха»: тез. докл. – Суздаль, 2001. – С. 129–130.

82. Панкова В.Б. Профессиональные заболевания в клинике оторинологии / В.Б. Панкова // Российская оториноларингология. – 2007. – №5. – С. 131–134.

83. Панкова В.Б. Профессиональные заболевания ЛОР органов: некоторые решения и перспективы / В.Б. Панкова, Г.Р. Мухамедова // Российская оториноларингология. – 2007. – Прил. №2. – С. 466–469.

84. Панкова В.Б. Профессиональная тугоухость у работников транспорта / В.Б. Панкова // Вестник оториноларингологии. – 2008. – № 3. – С. 11–14.

85. Панкова В.Б. Актуальные проблемы профпатологии ЛОР органов / В.Б. Панкова // Вестник оториноларингологии. – 2009. – №6. – С. 5–9.

86. Панкова В.Б. Профессиональная тугоухость у работников железнодорожного транспорта / В.Б. Панкова // Вестник оториноларингологии. – 2009. – № 6. – С. 14–18.

87. Панкова В.Б. Спорные вопросы классификации тугоухости / В.Б. Панкова, Г.Р. Мухамедова // Материалы VIII съезда

оториноларингологов России, 26–28 апр. 2012. – СПб, 2011. – Т. 2. – С. 122–123.

88. Панкова В.Б. Распространенность и особенности экспертных решений при профессиональной тугоухости у работников транспорта (на примере железнодорожного и воздушного транспорта) / В.Б. Панкова, Л.Ю. Скрябина // Вестник оториноларингологии. – 2016. – Т. 81, № 1. – С. 13–18.

89. Панкова В.Б. Критерии связи нарушений слуха с профессией и критерии профпригодности по слуху у авиационного персонала гражданской авиации / В.Б. Панкова // Вестник оториноларингологии. – 2017. – №2 (Т.82). – С.11–15.

90. Петрова Г.М. Основы комплексного подхода к реабилитации больных с нарушениями слуха / Г.М. Петрова, В.И. Пудов, И.Г. Самойлова // Новости оториноларингологии и логопатологии. – 2002. – №4 (32). – С. 36–39.

91. Петровой Н.Н. Проблемы профессиональной сенсоневральной тугоухости: автореф. дис. ...д-ра мед. наук / Н.Н. Петровой. – СПб., 2010. – С.15.

92. Петрова Н.Н. Современные закономерности патологической пораженности ЛОР заболеваниями со снижением слуха в условиях промышленного предприятия / Н.Н. Петрова, А.А. Сидоров // Российская оториноларингология. – 2010. – №6. – С. 71–75.

93. Петрова С.М. К вопросу об электротестировании кандидатов на кохлеарную имплантацию / С.М. Петрова // Вестник оториноларингологии. – 2003. – №3. – С. 12–15.

94. Петухова Н.А. Квантовая гемотерапия нейросенсорной тугоухости / Н.А. Петухова. – М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 2000. – 160 с.

95. Помухин Д.В. Экспериментальный эндолимфатический гидропс: дис. ... канд. мед. наук / Д.В. Помухин. – Ростов н/Д, 1999. – 141 с.

96. Райская-Качесова О.Н. Значение кальциевого обмена в патогенезе хронической тугоухости: автореф. дис. ...канд. мед. наук / О.Н. Райская–Качесова. – СПб., 2003. – 2003. – 20 с.
97. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistika / О.Ю. Реброва. – Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
98. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз: Практическое руководство для врачей / Л.Я.Рожинская. – М.: Издатель Мокеев, 2000. – 195 с.
99. Румянцева С.А. Антиоксидантная терапия цитофлавином инфарктов головного мозга / С.А. Румянцева, О.Р. Кузнецов, В.Н. Евсеев // Альманах анестезиологии и реаниматологии. – 2003. – №3. – С.43–44.
100. Румянцева С.А. Энцефалографический мониторинг при терапии инсульта цитофлавином / С.А. Румянцева, О.Р. Кузнецов, В.Н. Евсеев // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2003. – №3. – С.129–132.
101. Рындина А.М. Антигипоксанты в лечении сенсоневральной тугоухости / А.М. Рындина, Т.В. Квасова, И.Д. Цвылева // Ученые записки СПбГМУ им. Акад. И.П.Павлова. – 2004.– № 2. – С.51–53.
102. Сагалович Б.М. Общая семиотика тугоухости / Б.М. Сагалович // Тугоухость / под ред. Н.А. Преображенского. – М.: Медицина, 1978. – С. 168–197.
103. Сагалович Б.М. Болезнь Меньера / Б.М. Сагалович, В.Т. Пальчун. – М.: МИА, 1999. – 525 с.
104. Самуилов В.Д. Программируемая клеточная смерть / В.Д. Самуилов, А.В. Олескин, Е.М. Лагунова // Биохимия. – 2000. – Т.65, №8. – С. 1029–1046.
105. Сапожников Я.М. Современные методы диагностики, лечения и коррекции тугоухости и глухоты у детей в возрастном аспекте: дис. ... д-ра мед. наук / Я.М. Сапожников. – М., 1996. – 222 с.

106. Сигалева Е.Э. Функциональное состояние слуховой системы космонавтов после воздействия шума в космическом полете: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Е.Э. Сигалева. – М., 2010. – 48 с.
107. Скоромец А.А. Эффективность цитофлавина в постинсультном периоде ишемического нарушения мозгового кровообращения / А.А. Скоромец, В.В. Никитина, К.В. Голиков // Медицинский академический журнал. – 2003. – Т.3, №2. – С.90–97.
108. Скоромец А.А. Эффективность цитофлавина при спондилогенных радикуломиелоишемиях / А.А. Скоромец, В.В. Никитина, Д.М. Быковицкий // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 2004. – №5. – С.24–27.
109. Скулачев В.П. В своем межмембранном пространстве митохондрия таит «белок самоубийства», который, выйдя в цитозоль, вызывает апоптоз / В.П. Скулачев // Биохимия. – 1996. – Т.61, Вып.11. – С. 2060–2063.
110. Солдатов И.Б.. Гистохимическая и иммунохимическая идентификация эндокринных клеток во внутреннем ухе / И.Б. Солдатов, Н.Н. Рештейн, И.М. Кветной [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – №1. – С. 80–81.
111. Суслина З.А. Антиоксидантное и нейротрофическое действие цитофлавина при хронических цереброваскулярных заболеваниях / З.А. Суслина, М.М. Танащян, И.Н. Смирнова И.Н. // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2002. – №3. – С. 110–114.
112. Сыч Ю. П. Заместительная терапия левотироксином у пациентов с субклиническим гипотиреозом и ишемической болезнью сердца: дис. ... канд. мед. наук / Ю.П. Сыч. – М., 2005. – 112 с.
113. Таваркиладзе Г.А. Фундаментальные и прикладные исследования научного центра аудиологии и слухопротезирования / Г.А. Таваркиладзе // Folia Otorhinolaryngologica. – 1995. – Vol. 1, N 1. – P.40–65.

114. Таварткиладзе Г.А. Состояние сурдологической службы в России / Г.А. Таварткиладзе, М.Е. Загорянская, М.Г. Румянцева, Л.Б. Дайняк // Материалы XVI съезда оторинолар. РФ «Оториноларингология на рубеже тысячелетий»: сб. статей. – Сочи, 2001. – С. 261–265.
115. Таварткиладзе Г.А. Реабилитационная аудиология: основы, принципы, перспективы / Г.А. Таварткиладзе // Российская оториноларингология. – 2003. – № 3(6). – С. 132–135.
116. Таварткиладзе Г.А. Роль аудиологического скрининга и ранней аудиологической диагностики в профилактике инвалидности по слуху / Г.А. Таварткиладзе // Проблема реабилитации в оториноларингологии: тр. Всерос. конф. с междунар. участием, посв. 80-летию со дня рождения Героя Соц. Труда, акад. РАМН И.Б. Солдатова / под ред. Ю.К. Янова, В.Ф. Антонива, Н.В. Ереминой. – Самара, 2003. – С. 178–180.
117. Таварткиладзе Г.А. Современное состояние и тенденции развития экспериментальной и клинической аудиологии / Г.А. Таварткиладзе // Вестник оториноларингологии. – 2003. – № 3. – С. 3–6.
118. Таварткиладзе Г.А. Клиническая аудиология / Г.А. Таварткиладзе, Т.Г. Гвелесиани; МЗ Рос. Федерации; Разраб. Научн. центром аудиологии и слухопротезирования. – М.: Святигор Пресс, 2004. – 74 с.
119. Таварткиладзе Г.А. Кохлеарная имплантация / Г.А. Таварткиладзе. – М.: Святигор Пресс, 2004. – 83 с.
120. Таварткиладзе Г.А. Современные имплантационные технологии в реабилитации больных с различными формами тугоухости и глухотой / Г.А. Таварткиладзе // Российская оториноларингология. – 2008. – Прил. №1. – С. 387–392.
121. Таварткиладзе Г.А. Руководство по клинической аудиологии / Г.А. Таварткиладзе. – М.: Медицина, 2013. – 256 с.

122. Токарев О.П. Формы нейросенсорной тугоухости, поддающиеся лечению / О.П. Токарев // Вестник оториноларингологии. – 1998. – №1. – С. 22–25.
123. Торопчина Л.В. Применение биостимулирующей сыворотки крови в лечении детей с нейросенсорными нарушениями слуха: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.В. Торопчина. – М., 2003. – 24 с.
124. Ундриц В.Ф. Руководство по клинической аудиологии / В.Ф. Ундриц, Я.С. Темкин, Л.В. Нейман. – М.: Медицина, 1962. – 324 с.
125. Хечинашвили С.Н. Слуховые вызванные потенциалы человека / С.Н. Хечинашвили, З.Ш. Кеванишвили. – Тбилиси: Сабчота Сакартвело, 1985. – 368 с.
126. Цивинский А.Д. Эффективность цитофлавина и мексидола в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы на фоне острой интоксикации этанолом / А.Д. Цивинский, С.Е. Саватеева, С.Е. Колбасов // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. – 2004. – №1. – С.120–122.
127. Цирульников Е.М. Фокусированный ультразвук в диагностике лабиринтных и ретролабиринтных форм нейросенсорной тугоухости / Е.М. Цирульников, В.И. Пудов // Топическая диагностика нарушений слуховой и вестибулярной систем. – М., 1987. – С. 75–81.
128. Шестаков В.А. Социобиология человека. Физиологические аспекты / В.А. Шестаков. – М.: РИОЗАО «АВИР ВВЦ», 1997. – 104 с.
129. Шульга И.А. Отопротекция как способ профилактики и лечения ранних клинических форм сенсоневральной тугоухости // Омский научный вестник. - 2014. - № 2 (134). - С.100-102.
130. Эллиниди В.Н. Практическая иммуногистохимия / В.Н. Эллиниди, Н.В. Анисеева, Н.А. Максимова. – СПб., 2002. – 35 с.
131. Янов Ю.К. Состояние и перспективы развития кохлеарной имплантации в России / Ю.К. Янов, В.П. Ситников // Проблемы и

возможности микрохирургии уха: Материалы Российской научно-практической конференции оториноларингологов. – Оренбург, 2002. – С. 4–6.

132. Aarnisalo A.A. Apoptosis in auditory brainstem neurons after a severe noise trauma of the organ of Corti: intracochlear GDNF treatment reduces the number of apoptotic cells / A.A. Aarnisalo, U. Pirvola, X.Q. Liang et al. // *ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* – 2000. – Vol. 62, N 6. – P.330–334.

133. Afzelius L. Struktural changes in the organ of Corti of the guinea Pig after obstruction of arterial blood flow to the inner ear / L. Afzelius, J. Aursness // *Acta Otolaryngol.* – 1979. – Vol. 104, N 3–4. – P.202–210.

134. Ahmed O.H. Towards sustainable use of potassium in pineapple waste / O.H. Ahmed, M.H. Husni, A.R. Anuar, M.M. Hanafi // *Scientific World J.* – 2004. – N 4. – P. 1007–1013.

135. Amedofu G.K. Hearing impairment among workers in a surface gold mining company in Ghana / G.K. Amedofu // *Air. J. Health Sci.* – 2002. – Vol. 9, N 1–2. – P. 91–97.

136. Azizi M. New modalities of renin–angiotensin system inhibition: Renin inhibitors and active immunization against angiotensin II / M. Azizi // *Rev. Med. Interne.* – 2010. – Vol. 31, N 10. – P. 659–664.

137. Beurg M. Ryanodine receptors and BK channels act as a presynaptic depressor of neurotransmission in cochlear inner hair cells. / M. Beurg, A. Hafidi, L.J. Skinner // *Eur. J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 22, N 5. – P. 1109–1119.

138. Beurg M. The mechanism of pneumolysin–induced cochlear hair cell death in the rat / M. Beurg, A. Hafidi, L. Skinner [et al.] // *J. Physiol.* – 2005. – Vol. 568, Pt. 1. – P. 211–227.

139. Bielefeld E.C. Age-related hearing loss patterns in Fischer 344/NHsd rats with cisplatin–induced hearing loss / E.C. Bielefeld // *Hear Res.* – 2013. – Vol. 306. – P. 46–53.

140. Bielefeld E.C. Reduction in impulse noise-induced permanent threshold shift with intracochlear application of an NADPH oxidase inhibitor / E.C. Bielefeld // *J. Am. Acad. Audiol.* – 2013. – Vol. 24, N 6. – P. 461–473.
141. Boger M.S. Highly sensitive C-reactive protein, body mass index, and serum lipids in HIV-infected persons receiving antiretroviral therapy: a longitudinal study / M.S. Boger, A. Shintani, L.A. Redhage [et al.] // *J. Acquir. Immune Defic Syndr.* – 2009. – Vol. 52, N 4. – P. 480–487.
142. Camarero G. Delayed inner ear maturation and neuronal loss in postnatal Igf-1-deficient mice / G. Camarero, C. Avendano, C. Fernandez-Moreno [et al.] // *J. Neurosci.* – 2001. – Vol. 21, N 19. – P. 7630–7641.
143. Cheng A.G. Calpain inhibitors protect auditory sensory cells from hypoxia and neurotrophin-withdrawal induced apoptosis / A.G. Cheng, T. Huang, A. Stracher [et al.] // *Brain Res.* – 1999. – Vol. 850, N 1–2. – P. 234–243.
144. Conlon B.J. Attenuation of neomycin ototoxicity by iron chelation / B.J. Conlon, B.P. Perry, D.W. Smith // *Laryngoscop.* – 1998. – Vol. 108, N 2. – P. 84–287.
145. Dehne N. Involvement of the mitochondrial permeability transition in gentamicinotoxicity / N. Dehne, U. Rauen, H. de Groot, J. Lautermann // *Hearing Research.* – 2002. – Vol. 169, N 1–2. – P. 47–55.
146. El Dib R.P. Prevalence of high frequency hearing loss consistent with noise exposure among people working with sound systems and general population in Brazil: a cross-sectional study / R.P. El Dib, E.M. Silva, J.F. Morais, V.F. Trevisani // *BMC Public Health.* – 2008. – Vol. 8. – P. 151.
147. Feblot P. Les potentiels évoqués précoces chez l'adulte / P. Feblot // *Les Cahiers d'O.R.L.* – 1979. – Vol. 14, N 10. – P. 1001–1008.
148. Fernandez K.A. Aging after noise exposure: acceleration of cochlear synaptopathy in "recovered" ears / K.A. Fernandez, P.W. Jeffers, K. Lall [et al.] // *J. Neurosci.* – 2015. – Vol. 35, N 19. – P. 7509–7520.



149. Fetoni A.R. Noise-induced hearing loss (HINL) as a target of oxidative stress-mediated damage: cochlear and cortical responses after an increase in antioxidant defense / A.R. Fetoni, P. De Bartolo, S.L. Eramo [et al.] // *J. Neurosci.* – 2013. – Vol. 33, N 9. – P. 4011–4023.
150. Forge A. Apoptotic death of hair cells in mammalian vestibular sensory epithelia / A. Forge, L. Li // *Hear. Res.* – 2000. – Vol. 139, N 1–2. – P.97–115.
151. Goines L. Noise pollution: a modern plague / L. Goines, L. Hagler // *South Med. J.* – 2007. – Vol. 100, N 3. – P. 287–294.
152. Goldstein J.I. Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis / Joseph I. Goldstein, Dale E. Newbury, Patrick Echlin [et al.]. – Boston: Springer-Verlag US, 1992. – 820 p.
153. Guerra M.R. Prevalence of noise-induced hearing loss in metallurgical company / M.R. Guerra, P.M. Lourenço, M.T. Bustamante-Teixeira, M.J. Alves // *Rev. Saude Publica.* – 2005. – Vol. 39, N 2. – P. 238–244.
154. Guinan JJ Jr. Medial-olivocochlear-efferent inhibition of the first peak of auditory-nerve responses: evidence for a new motion within the cochlea / Guinan JJ Jr, Lin T, Cheng H.J. // *J. Acoust. Soc. Am.* – 2005. – Vol. 118, N 4. – P. 2421–2433.
155. Harding G.W. The effect of an age-related hearing loss gene (Ahl) on noise-induced hearing loss and cochlear damage from low-frequency noise / G.W. Harding, B.A. Bohne, J.D. Vos // *Hear. Res.* – 2005. – Vol. 204, N 1–2. – P. 90–100.
156. Henderson D. Prevention of hearing loss from noise exposure using Src inhibitors / D. Henderson, B.H. Hu, E.C. Bielefeld [et al.] // *Hear Res.* – 2006 Sep 6. PMID:16950581.
157. Hu B.H. Intense noise-induced apoptosis in hair cells of guinea pig cochlea / B.H. Hu, W. Guo, P. Wang et al. // *Acta Otolaryngol.* – 2000. – Vol. 120, N 1. – P.19–24.

158. Hu B.H. F-actin cleavage in apoptotic outer hair cells in chinchilla cochlear exposed to intense noise / B.H. Hu, D. Henderson, T.M. Nicotera // *Hear Res.* – 2002. – Vol.172, N 1–2. – P.1–9.
159. Hu B.H. Involvement of apoptosis in progression of cochlear lesion following exposure to intense noise / B.H. Hu, D. Henderson, T.M. Nicotera // *Hear Res.* – 2002. – Vol.166, N 1–2. – P.62–71.
160. Ising H. Stress effects of noise in a field experiment in comparison to reactions to short term noise exposure in the laboratory / H. Ising, R. Michalak // *Noise Health.* – 2004. – Vol. 6, N 24. – P. 1–7.
161. Jerger J. Clinical experiences with impedans audiometry / J. Jerger // *Arch. otolaryng. (Chicago).* – 1970. – Vol.92. – P. 311–324.
162. Johansson M. Reference data for evaluation of occupationally noise–induced hearing loss / M. Johansson, S. Arlinger // *Noise Health.* – 2004. – Vol. 6, N 24. – P. 35–41.
163. Kaga K. Temporal bone pathology of acoustic neuroma correlating with presense of electrocochleography and absence of auditory brain–stem response / K.Kaga, S. Iwasaki, A. Tamura et al. // *J. Laryngol. Otol.* – 1997. – Vol. 111, N 10. – P. 967–972.
164. Kamiya K. Mitosis and apoptosis in postnatal auditory system of the C3H / He strain / K. Kamiya, K. Takahashi, K. Kitamura [et al.] // *Brain Res.* – 2001. – Vol. 901, N 1–2. – P. 296–302.
165. Kazee A.M. Preservation of synapses on principal cells of the central nucleus of the inferior colliculus with aging in the CBA mouse / A.M. Kazee, N.R. West // *Hear. Res.* – 1999. – Vol. 133, N 1–2. – P. 98–106.
166. Lenoir M. Morphological and molecular changes in the inner hair cell region of the rat cochlea after amikacin treatment / M. Lenoir, N. Daudet, G. Humbert et al. // *J. Neurocytol.* – 1999. – Vol. 28, N 10–11. – P.925–937.

167. Liang Y. Effect of sildenafil on morphology to noise-induced hearing loss in guinea pigs / Y. Liang, S. Zhang, X. Zhang // *J. Clin. Otorhin, Head, Neck Surgery*. – 2015. – Vol. 29, N 13. – P. 1216–1220.
168. Liano D.A. Diminished cortical inhibition in an aging mouse model of chronic tinnitus / D.A. Liano, J. Turner, D.M. Caspary // *J. Neurosci*. – 2012. – Vol. 32, N 46. – P. 16141–16148.
169. Lim D.J. Cochlear micromechanics in understanding otoacoustic emission / D.J. Lim // *Scand Audiol Suppl*. – 1986. – Vol. 25. – P. 17–25.
170. Lim D.J. Effects of noise and ototoxic drugs at the cellular level in the cochlea: a review / D.J. Lim // *Am. J. Otolaryngol*. – 1986. – Vol. 7, N 2. – P. 73–99.
171. Liu W. Caspase inhibitors prevent cisplatin-induced apoptosis of auditory sensory cells / W. Liu, H. Staecker, H. Stupak et al. // *Neuroreport*. – 1998. – Vol.9, N 11. – P.2609–2614.
172. Manohar S. Noise-induces loudness intolerance in a rat Active Sound Avoidance Paradigm (ASAP) / S. Manohar, J. Spoth, K. Radziwon [et al.] // *Hear. Res*. – 2017. – Vol. 353. – P. 197-203.
173. Montiel-López M. Prevalence and characterization of hearing loss in workers exposed to industrial noise of the turbogenerated electric plant of a petrochemical industry / M. Montiel-López, G. Corzo-Alvarez, B. Chacín-Almarza [et al.] // *Invest Clin*. – 2006. – Vol. 47, N 2. – P. 117–131.
174. Morishita H. Deafness due to degeneration of cochlear neurons in caspase-3-deficient mice / H. Morishita, T. Makishima, C. Kaneko [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. – 2001. – Vol. 284, N 1. – P. 142–149.
175. Mostafapour S.P. Patterns of cell death in mouse anteroventral cochlear nucleus neurons after unilateral cochlea removal / S.P. Mostafapour, S.L. Cochran, N.M. Del Puerto, E.W. Ruben // *J. Comp. Neurol*. – 2000. – Vol. 426, N 4. – P.561–571.

176. Mrena R. Occupational noise-induced hearing loss reports and tinnitus in Finland / R. Mrena, M. Ylikoski, A. Mäkitie [et al.] // *Acta Otolaryngol.* – 2007. – Vol. 127, N 7. – P. 729–735.
177. Mulders W.N. Development of hyperactivity after acoustic trauma in the guinea pig inferior colliculus / W.N. Mulders, D. Robertson // *Hear Res.* – 2013. – Vol. 298. – P. 104–108.
178. Müller M. Löwenheim Begrenzung chronischer Hörverluste durch locale Glukokortikoidgabe Meerschweinchen mit akutem Lärmtrauma / M. Müller, M. Tisch, H. Maier // *HNO.* – 2016. – Bd.64. – S. 831–840.
179. Nair T.S. KHRI-3 monoclonal antibody-induced damage to the inner ear: antibody staining of nascent scars / T.S. Nair, D.M. Prieskorn, J.M. Miller [et al.] // *Hear Res.* – 1999. – Vol. 129, N 1–2. – P. 50–60.
180. Nakagawa T. Two modes of auditory hair cell loss following acoustic overstimulation in the avian inner ear / T. Nakagawa, H. Yamane, S. Shibata [et al.] // *Orl; Journal of Oto-Rhino-Laryngology & its Related Specialties.* – 1997. – Vol.59, N 6. – P. 303–310.
181. Nicolson T. The genetics of hair-cell function in zebrafish / T. Nicolson // *J. Neurogenet.* – 2017. – Vol. 13. – P. 1–11.
182. Noreña A.J. Changes in spontaneous neural activity immediately after an acoustic trauma: implications for neural correlates of tinnitus / A.J. Noreña, J.J. Eggermont // *Hear Res.* – 2003. – Vol. 183, N 1–2. – P. 137–153.
183. Noreña A.J. Neural correlates of an auditory afterimage in primary auditory cortex / A.J. Noreña, J.J. Eggermont // *J Assoc Res Otolaryngol.* – 2003. – Vol. 4, N 3. – P. 312–328.
184. Patterson S.D. Mass spectrometric identification of proteins released from mitochondria undergoing permeability transition / S.D. Patterson, C.S. Spahr, E. Daugas [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2000. – Vol. 7, N 2. – P. 137–144.

185. Pham T. The receptor binding domain of apolipoprotein E is responsible for its antioxidant activity / T. Pham, A. Kodvawala, Y. Hui // *Biochemistry*. – 2005. – Vol.44, N 20. – P. 7577–7582.
186. Pirvola U. Rescue of Hearing, Auditory Hair Cells, and Neurons by CEP –1347/KT7515, an Inhibitor of c-Jun N-Terminal Kinase Activation / U. Pirvola, L. Xing-Qun, J. Virkkala [et al.] // *J Neurosci*. – 2000. – Vol.20, N 1. – P.43–50.
187. Rubak T. The risk of noise-induced hearing loss in the Danish workforce / T. Rubak, S.A. Kock, B. Koefoed-Nielsen [et al.] // *Noise Health*. – 2006. – Vol. 8, N 31. –P. 80–87.
188. Ruosianti E. Anchorage dependency, integrins and apoptosis / E. Ruosianti, J.C. Reed // *Cell*. – 1994. – Vol. 77, N 4. – P.477–478.
189. Sha S.H. Antioxidants attenuate gentamicin- induced free radical formation in vitro and ototoxicity in vivo: D-methionine is a potential protectant / S.H. Sha, J. Schacht // *Hear. Res.* – 2000. – Vol. 142, N 1–2. – P.34–40.
190. Shulman A. The cochleovestibular system/ ototoxicity/ clinical issues / A. Shulman // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1999. – Vol.884. – P.433–436.
191. Skogstad M. A twelve-year longitudinal study of hearing thresholds among professional divers / M. Skogstad, T. Eriksen, Skare Ø. // *Undersea Hyperb Med.* – 2009. – Vol. 36, N 1. – P. 25–31.
192. Soyalic H. Curcumin protects against acoustic trauma in the rat cochlea / H. Soyalic, F. Gevrek, S. Karaman // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 2017. – Vol. 99. – P. 100–106.
193. Staecker H. Regeneration, repair & protection in the inner ear / H. Staecker, T. Van de Water T. // *Cochlear Implants* / Ed. Waltzman and Cohen. – New York, 2000. – P.17–29.
194. Staecker H. Over expression of bcl-2 in organ of Corti explants and cell cultures containing auditory neurons modulates oxidative stress induced

sensory cell death / H. Staecker, W. Liu, X. Wei et al. // XXXVIII workshop on inner ear biology. – Rome, 2001. – P.62–63.

195. Staecker H. Oxidative stress in aging in the C57B16/J mouse cochlea / H. Staecker, Q.Y. Zheng, T.R. Van de Water // *Acta Otolaryngol.* – 2001. – Vol.121, N 6. – P.66–72.

196. Torchinsky C. Regulation of p27Kipl during gentamicin mediated hair cell death / C. Torchinsky, E. Messana, M. Arsura et al. // *J. Neurocytol.* – 1999. – Vol.28, N 10–11. – P.913–924.

197. Ustinaviciene R. Morbidity of textile industry workers in Kaunas / R. Ustinaviciene, L. Piesine // *Medicina (Kaunas).* – 2007. – Vol. 43, N 6. – P. 495–500.

198. Vago P. Amikacin intoxication induces apoptosis and cell proliferation in rat organ of Corti / P. Vago, G. Humbert, M. Lenoir // *Neuroreport.* – 1998. – Vol. 9, N 3. – P.431–436.

199. Virzbicka L. Long term stability of inner ear function using vibrant soundbridge / L. Virzbicka, G.M. Sprinzl, V. Koci // *Proceeding XXXI Word Congress of Audiology, 29.04 – 3.05.2012, Moscow, Russia.* – Moscow, 2012. – P. 185.

200. White J.A. Pattern of degeneration of the spiral ganglion cell and its processes in the C57BL/6J mouse / J.A. White, B.J. Burgess, R.D. Hall, J.B. Nadol // *Hear Res.* – 2000. – Vol. 141, N 1–2. – P. 12–18.

201. Wilson J. Global action against hearing impairment / J. Wilson // *Scand. Audiology.* – 1988. – Suppl. 28. – P. 33–58.

202. Wong, A.C.Y. Noise-induced hearing loss in the 21st century: A research and translational update / Wong Ann Chi Yan, Kristina E Froud, Yves Shang–Yi Hsieh // *World J. Otorhinolaryngol.* – 2013. –Vol. 3, N 3. – P. 58–70.

203. Wong A.C.Y. Mechanisms of sensorineural cell damage, death and survival in the cochlea / A.C.Y. Wong, Allen F. Ryan // *Front Aging Neurosci.* – 2015. – Vol. 7. – P. 58.

204. Wu C.M Recurrens of idiopathic sudden sensorineural hearing loss: a retrospective cohort study / C.M. Wu // Otol. Neurotol. – 2014. – Vol. 35, N 10. – P. 1736-1741.

205. Yang W.P. Quantitative analysis of apoptotic and necrotic outer hair cells after exposure to different levels of continuous noise / W.P. Yang, D. Henderson, B.H. Hu, T.M. Nicotera // Hear. Res. – 2004. – Vol. 196, N 1–2. – P.69–76.

206. Zou J. Components of membranous labyrinth proteins of guinea pig and the detection of anti-68kD antibody in sensorineural hearing loss / J. Zou, S. Zhai, P. Wang // Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. – 1994. – Vol. 29, N 1. – P. 19–22.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**



«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач  
ГБУ РО «РОКБ»  
д.м.н. Коробка В.Л.



«        »        2017 г.

#### АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Метод разработан Лобзиной Еленой Валерьевной, врачом-оториноларингологом, аспирантом ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ и Золотовой Татьяной Викторовной, профессором кафедры болезней уха, горла, носа ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ.

Место внедрения: оториноларингологическое отделение ГБУ РО «РОКБ», г. Ростов-на-Дону.

Название: «Методы диагностики сенсоневральной тугоухости, обусловленной акустическим воздействием».

Число специалистов, освоивших метод: 11.

Способ использован у 26 больных.

Полученный от внедрения лечебно-профилактический эффект: применение в практической деятельности «Методов диагностики сенсоневральной тугоухости, обусловленной акустическим воздействием» позволяет повысить точность диагностики заболевания и способствует назначению целенаправленного лечения.

Заведующий оториноларингологическим  
отделением ГБУ РО «РОКБ»  
к.м.н.



Колесников В.Н.

«Ростовская клиническая больница»  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения здравоохранения  
«Южный окружной медицинский центр  
Федерального медико-биологического  
агентства»  
[РКБ ФГБУЗ ЮОМЦ ФМБА России]  
Россия, 344023, г. Ростов-на-Дону, ул. Попова, 34

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач РКБ  
ФГБУЗ ЮОМЦ ФМБА России  
С.А. Плескачев



03.11.2017 г.

**АКТ О ВНЕДРЕНИИ**  
результатов научно-исследовательской работы

Результаты научно-исследовательской работы

Лобзиной Елены Валериевны

(название научного исследования, патента и т.д.)

по теме «Диагностика и лечение сенсоневральной тугоухости шумового генеза», выполненной на кафедре болезней уха, горла, носа ФВГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ, внедрены (использованы) в лечебном процессе оториноларингологического отделения РКБ ФГБУЗ ЮОМЦ ФМБА России.

Указанные разработки применяются для улучшения диагностики сенсоневральной тугоухости, назначения патогенетической терапии, повышения эффективности лечения пациентов с этой патологией.

Руководитель Центра оториноларингологии  
Заведующий оториноларингологическим  
отделением РКБ ФГБУЗ ЮОМЦ  
ФМБА России



Ю.А. Олейникова



«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач  
им. Н.А. Семашко  
Сизякин Д.В.



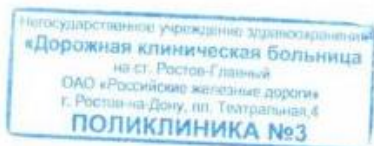
24» апреля 2017 г.

### АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Выдан Е.В. Лобзиной для предоставления в диссертационный Совет, свидетельствующий о том, что «Методы диагностики сенсоневральной тугоухости, обусловленной акустическим воздействием» внедрены в практическую деятельность ЛОР отделения МБУЗ «Городская больница №1 им. Н.А. Семашко» г. Ростова-на-Дону.

Зав. 2 ЛОР отделением, к.м.н.

Тюкина М.И.



УТВЕРЖДАЮ

Главный врач  
НУЗ «Дорожная клиническая больница  
на ст. Ростов-Главный ОАО «РЖД»  
к.м.н., к.э.н. Нахрацкая О.И.



2017 г.

### АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы

Результаты научно-исследовательской работы Лобзиной Елены Валериевны «Методы диагностики сенсоневральной тугоухости, обусловленной акустическим воздействием» выполненной на кафедре патологической физиологии внедрены в НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Ростов-Главный ОАО «РЖД» поликлинике №3. Указанные результаты применяются для повышения эффективности диагностики и лечения больных с сенсоневральной тугоухостью.

Зав. поликлиникой №3  
НУЗ «Дорожная клиническая больница  
на ст. Ростов-Главный ОАО «РЖД»

Дульеров К.А.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2627155

**СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ  
ТУГОУХОСТИ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *Золотова Татьяна Викторовна (RU), Дубинская Наталья Викторовна (RU), Лобзина Елена Валерьевна (RU)*

Заявка № 2016133837

Приоритет изобретения 17 августа 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 03 августа 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 17 августа 2036 г.



*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Иллеев* Г.П. Иллеев