

О.М. НАУМЕНКО, Ю.В. ДЕСЬВА, М.В. ТАРАСЕНКО

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ СЛУХУ У ЩУРІВ З АУТОІМУННИМ ТИРЕОЇДИТОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Каф. оториноларингології (зав. – проф. Ю.В. Десьва) НМУ ім. О.О. Богомольця

Сенсоневральна приглухуватість (СНП) відноситься до захворювань, які не втратили своєї актуальності протягом десятиліть. Широка розповсюдженість уражень органа слуху в сучасних умовах, мала ефективність лікування, відсутність надійних способів профілактики втрати слуху, недостатні знання про патогенез порушень звукосприйняття визначають необхідність подальших наукових досліджень в цьому напрямку [1].

Автоімунна СНП – це різновид приглухуватості, який з часом почав набирати значної актуальності, у зв'язку з ростом питомої частки автоімунних захворювань, зокрема і в практиці оториноларинголога.

В даний час при наданні медичної допомоги хворим з хронічною прогресуючою СНП більшість отоларингологів віддає перевагу «тактиці заміщення», тобто слухопротезуванню. Очевидно, скептичне ставлення до можливості ефективного консервативного лікування пацієнтів з перцептивними порушенням слуху обумовлено недостатністю наших знань про походження даного захворювання, в результаті чого під термінами «сенсоневральна», «перцептивна», «нейросенсорна» приглухуватість, «неврит слухового нерву» зібраний ряд захворювань з загальним проявом – порушенням звукосприйняття і різним механізмом розвитку. Крім того, безумовно, доцільним є пошук можливостей консервативного лікування у пацієнтів з гострою і прогресуючою формами захворювання [2]. У літературі є окремі повідомлення про спроби визначення можливих варіантів генезу СНТ. Так, Veldman і співавтори (1984) спробували

встановити ознаки аутоімунного генезу цього захворювання, проте методи обстеження хворих були недостатньо специфічними, а робота не увінчалася практичними рекомендаціями щодо лікування хворих.

Аутоімунну приглухуватість почали діагностувати зі зростаючою частотою з 1980-х років. У пацієнтів раптово з'являється прогресуюча двобічна СНП та погіршується розпізнавання мови, можуть бути прояви периферичного вестибулярного синдрому. Приглухуватість прогресує протягом 3-4 місяців на фоні виникнення або прогресування інших аутоімунних захворювань. Слух покращується при призначенні преднізолону перорально. Нині лікування метотрексатом у низьких дозах вважають альтернативою довготривалій терапії преднізолоном [3]. Але метотрексат має ототоксичну дію і, не дивлячись на позитивну динаміку під час лікування аутоімунного захворювання, слух у пацієнтів погіршується.

У хворих на аутоімунний тиреоїдит (АТ) страждає основний обмін, що суттєво впливає на метаболізм клітин, нормальна функція яких залежить від повноцінних процесів іонного обміну та нормального рівня показників імунологічної активності, зокрема це стосується і волоскових клітин внутрішнього вуха [4].

Відомо, що виникнення і розвиток аутоімунних захворювань щитоподібної залози складається з трьох стадій. У початковій (аферентній) стадії під дією несприятливих зовнішніх факторів відбувається накопичення антигенпрезентуючих клітин (АПК). У схильних до аутоімунних захворювань осіб (при АТ це характеризується

наявністю у крові молекул головного комплексу гістосумісності HLADR3, HLADR5 або HLADQW7) власні антигени розщеплюються в АПК з утворенням пептидів, які зв'язуються у потенційно хворих на АТ зі вказаними молекулами головного комплексу гістосумісності і транспортуються в дренуючі лімфовузли, де взаємодіють з неактивованими Т-лімфоцитами. Ця взаємодія відбувається між лігандом В7 на АПК і рецептором CD28 на Т-лімфоцитах, наслідком чого є активація, диференціація і проліферація Т-лімфоцитів, що перетворює їх на антигенреактивні. Регулятором цього процесу можуть бути ген CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated 4 molecule), молекула якого конкурентно зв'язується з В7 на АПК, або ген рецептора вітаміну D₃, активна форма якого 1,25(OH)₂ D₃ здатна пригнічувати проліферацію активованих Т-лімфоцитів та їх активність. Друга (центральна) стадія аутоімунного процесу – неконтрольована продукція антигенреактивних клітин і аутоантитіл спочатку в дренуючих лімфовузлах, а потім і в тканині щитоподібної залози, де з'являються Т-клітинні зони, В-клітинні фолікули і тяжі плазматичних клітин, здатних продукувати антитіла до антигенів щитоподібної залози. У третій (еферентній) стадії аутоімунного процесу щитоподібна залоза інфільтрується аутореактивними Т-лімфоцитами і відбувається реалізація на пряму розвитку патології. У випадку лімфоїдної інфільтрації залози Т-хелперами переважно субпопуляції 2 (Th2), що продукують інтерлейкіни-4 і 10 (ІЛ-4, 10), які здатні активувати В-лімфоцити до продукції тиреостимулювальних імуноглобулінів, що конкурентно з тиреотропним гормоном (ТТГ) взаємодіють із його рецепторами на тиреоцитах [4].

Останнім часом все більша кількість дослідників інформують про асоціацію АТ з когнітивними та афективними порушеннями в фазі еутиреозу. Нещодавні дослідження показали, що ці порушення супроводжуються змінами мозкової перфузії, зменшенням щільності сірої речовини мозку. Мозкові порушення можуть бути дуже незначними і виявляються лише під час спеціальних досліджень. Когнітивний дефіцит і високе психосоціальне навантаження хворих

на АТ з еутиреозом без видимих ознак енцефалопатії пов'язані з підвищенням рівнів антитіл до тиреоїдної пероксидази (АТТ-ПО). При проведенні досліджень *in vitro* впливу АТ на процес виникнення порушень з боку ЦНС виявився взаємозв'язок між підвищенням кількості антитіл до астроцитів мозочка людини та зростанням рівнів показника АТТПО. Так звані аутоантитіла до нейрочутливих клітин нервової тканини, які помітно збільшені у пацієнтів з АТ, можуть впливати на мієліногенез та відповідно призводити до порушення цілісності мієлінових оболонки. Окрім того, у хворих з АТ помітно збільшується продукція моноцитів і Т-лімфоцитів, що може негативно вплинути на більшість нейротрансмітерів і відповідно порушити нейрональні зв'язки [5].

Проведені дослідження взаємозв'язку АТ і порушень функції внутрішнього вуха свідчать про статистично достовірне зниження амплітуди отоакустичної емісії на частоті продукту спотворення (ПСОАЕ) у досліджуваній групі пацієнтів у порівнянні з пацієнтами контрольної групи ($p < 0,05$) [6]. Крім того, під час аналізу даних порогових тональної аудіометрії у хворих на АТ відмічаються підвищення порогів сприйняття звуку на деяких частотах, крім того, на основі лінійного кореляційно-регресійного аналізу отриманих даних, підтверджена залежність між підвищенням порогів звукосприйняття та підвищенням рівнів АТГ [7].

Разом з тим, досліджень, які б стосувалися впливу АТ на нейроепітеліальні клітини внутрішнього вуха практично немає, тому метою роботи було виявлення функціональних змін структур внутрішнього вуха у щурів з АТ в експерименті.

Матеріали і методи

АТ моделювався за схемою, яку запропонувала група китайських науковців (Teng et al., 2007). Моделювання АТ ми проводили на самцях білих щурів [8, 9]. Щури були поділені на 2 групи, 1-а – контрольна, налічувала 10 тварин та 2-а – основна – 15 щурів, у яких експериментально був викликаний АТ. В ході експерименту вміст йоду в нормальному раціоні тварин складав 460 мг/кг. АТ ми моделювали у щурів віком 4 тижні. Середня вага щурів

складала $134,82 \pm 1,85$ г. Протягом 112 діб тварини основної групи отримували йодид натрію з питною водою в концентрації 0,005% (50 мг/л), що у 100 разів перевищує нормальну концентрацію йоду у питній воді. Тварини контрольної групи протягом цього ж терміну отримували звичайну питну воду.

Як підтвердження розвитку АТ, у експериментальних щурів проводилось дослідження рівня антитіл до тиреоглобуліну (АТГ) в сироватці крові. У тварин основної і контрольної груп кров для дослідження забирали при кімнатній температурі на 112-у добу експерименту. За допомогою центрифугування при 3000 об/хв протягом 20 хв відокремлювали сироватку. Рівні АТГ оцінювалися в двох пробах за допомогою непрямого імуноферментного аналізу з використанням сироватки щурів. Сироватку розводили в 100 разів і інкубували. Мічені пероксидазою антитіла до імуноглобуліну щурів G (розведення 1:250, Sigma, США) використовували як вторинні антитіла. Зміну кольору тетраметилбензідина вимірювали за допомогою мікротитрування (Bio-Rad 680, США). Рівні АТГ були виражені в одиницях оптичної щільності (ОЩ). Для визначення особливостей функціональних порушень слуху у щурів була застосована реєстрація отоакустичної емісії на частоті продукту спотворення (ПСОАЕ). Рівні ПСОАЕ оцінювалися 3 рази: до початку експерименту, на 57-у і 113-у добу від початку експерименту. Результат вважається позитивним за наявності відповіді ОАЕ на всіх частотах діапазону від 2 кГц до 8 кГц.

Результати та обговорення

Показники рівнів АТГ у щурів контрольної групи і основної групи (з експериментально викликаним АТ) на 112-у добу експерименту, виражені в одиницях ОЩ, становили: основна група – $0,69 \pm 0,24$; контрольна група – $0,46 \pm 0,05$ ($p < 0,01$) (рис. 1.) Як видно з даних, наведених на діаграмі, наявна статистично достовірна різниця у показниках оптичної денситометрії у сироватці щурів зі змодельованим АТ.

При першій реєстрації ПСОАЕ, яку проводили перед початком моделювання АТ, була отримана відповідь у вигляді про-

дукту спотворення ПСОАЕ у 100% щурів обох груп. Частотний діапазон відповідей продукту спотворення у щурів складав від 2000 Гц до 10000 Гц (рис. 2.), що співпадає з літературними даними [6, 7, 10, 11].

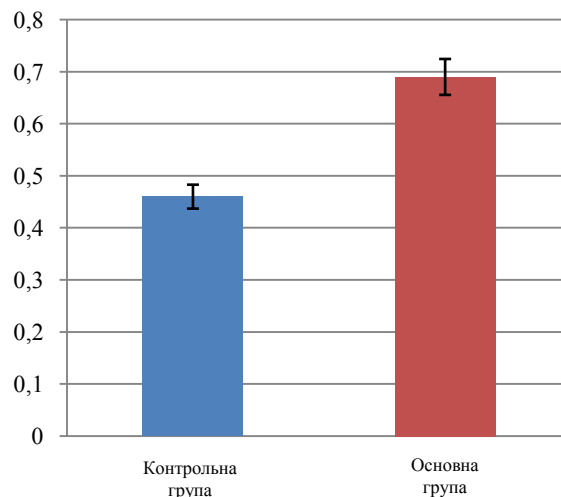


Рис. 1. Показники рівнів АТГ в сироватці крові щурів основної групи зі змодельованим АТ та контрольної групи, виражені в одиницях оптичної щільності оптичної денситометрії (112-а доба експерименту).

На 57-у добу експерименту було проведено повторну реєстрацію ПСОАЕ у щурів обох груп. Отримані результати свідчили про відсутність ПСОАЕ у 20% щурів основної групи, і наявність ПСОАЕ у 100% щурів контрольної групи. Такі ж дослідження ми повторили на 113-у добу експерименту. Було виявлено відсутність ПСОАЕ у 47,7% щурів основної групи (рис. 3) і наявність ПСОАЕ у 100% щурів контрольної групи.

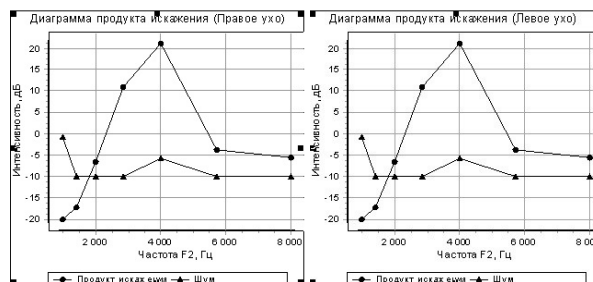


Рис. 2. Результати ПСОАЕ у щура перед проведенням моделювання АТ.

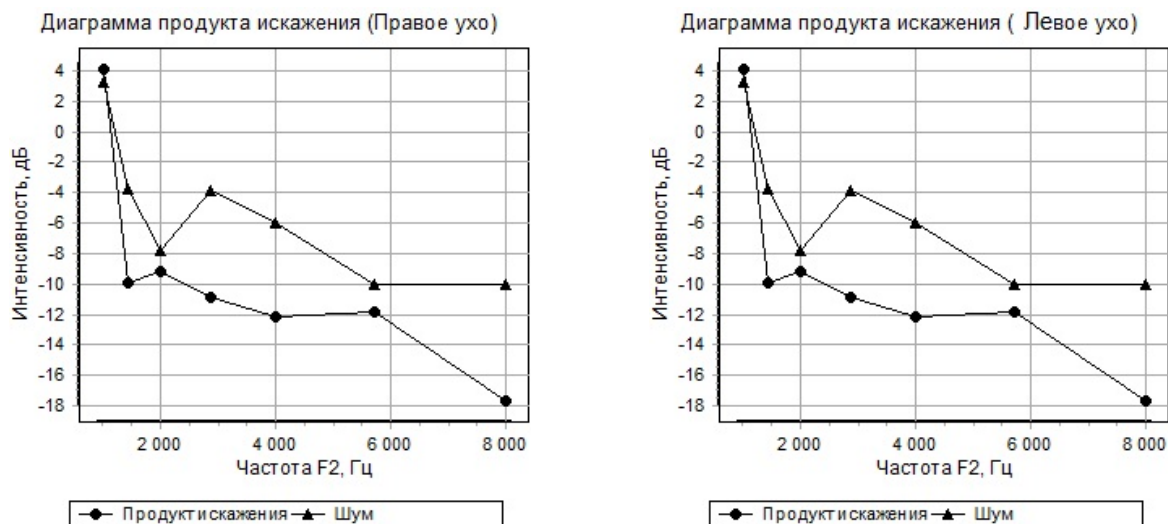


Рис. 3. Результати ПСОАЕ у щура основної групи на 113-у добу проведення експерименту з моделювання АТ.

Висновки

Експериментально викликане підвищення рівня АТГ у 47,7% щурів основної

групи, за даними ПСОАЕ, супроводжується порушенням функції волоскових клітин внутрішнього вуха на 113 день.

Література

1. Шидловська Т.А. Медико-біологічні аспекти впливу іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС / Т.А. Шидловська. – Чорнобиль: ЗАТ «Книга», 2011. – 216 с.
2. Клинико-аудиологические признаки аутоиммунной сенсоневральной тугоухости / М.Б. Самбур, В.Н. Писанко, Г.Е. Тимен та ін. // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2000. – №6. – С. 105-107.
3. Isaacson J. E. Differential diagnosis and treatment of hearing loss [Електронний ресурс] / J. E. Isaacson, N. M. Vora // Am Fam Physician. – 2003. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14524400>.
4. Олійник В. А. Аутоімунний тиреоїдит [Електронний ресурс] / В. А. Олійник // Інфомедіа "Здоров'я України". – 2015. – Режим доступу до ресурсу: <http://health-ua.com/article/2274.html>.
5. Leyhe T. Cognitive and affective dysfunctions in autoimmune thyroiditis [Електронний ресурс] / T. Leyhe, K. Mussing // Brain Behav. Immun. – 2014. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
6. Do antithyroid antibodies affect hearing outcomes in patients with pediatric euthyroid Hashimoto's thyroiditis? [Електронний ресурс] / [L. Renda, M. Parlak, O. Selcuk та ін.] // Int J Pediatr Otorhinolaryngol. – 2015. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26388187>.
7. Evaluation of hearing functions in patients with euthyroid Hashimoto's thyroiditis [Електронний ресурс] / [A. Arduc, S. Isik, S. Allusoglu та ін.] // Endocrine journal (Houndmills, Basingstoke, England). – 2015. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25963023>.
8. Extraction, purification and identification thyroglobulin of mouse [Електронний ресурс] / [X. C. Teng, X. K. Jia, C. L. Fan та ін.] // Chin J Mod Med. – 2007. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
9. Experimental study on the effects of chronic iodine excess on thyroid function, structure, and autoimmunity in autoimmune-prone NOD.H-2h4 mice [Електронний ресурс] / [X. Teng, Z. Shan, W. Teng та ін.] // Clin Exp Med. – 2009. – Ре-

- жим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
10. Electrophysiological tests of the hearing organ in Hashimoto's disease / W. Gawron, L. Pospiech, A. Noczynska, K. Orendorz-Fraczkowska // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2004. – 17(1):27-32.
 11. Two cases of hearing loss following Hashimoto disease / W. Gawron, L. Pospiech, A. Noczynska, J. Klempous // Wiad Lek. – 2002. – 55(7-8):478-82.

References:

1. Shidlovskaya T.A. Medico-biological aspects of exposure to ionizing radiation due to the Chernobyl accident. Chornobyl: ZAT "Kniga"; 2011. 216 p. Ukrainian
2. Sambur MB, Pisanko VN, Timen GE. Clinical and audiological signs of autoimmune sensorineural hearing loss. Zhurnal vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 2000;(6):105-7. Russian
3. Isaacson JE, Vora NM. Differential diagnosis and treatment of hearing loss. Am Fam Physician. 2003 Sep 15;68(6):1125-32.
4. Oliynyk VA. Autoimmune thyroiditis [electronic resource]. Available at: <http://health-ua.com/article/2274.html>. Ukrainian
5. Leyhe T, Müssig K. Cognitive and affective dysfunctions in autoimmune thyroiditis. Brain Behav Immun. 2014 Oct;41:261-6. doi:10.1016/j.bbi.2014.03.008.
6. Renda L, Parlak M, Selçuk ÖT, Renda R, Eyigör H, Yılmaz MD, Osma Ü, Filiz S. Do antithyroid antibodies affect hearing outcomes in patients with pediatric euthyroid Hashimoto's thyroiditis? Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2015 Dec;79(12):2043-9. doi: 10.1016/j.ijporl.2015.09.006.
7. Arduc A, Isik S, Allusoglu S, Iriz A, Dogan BA, Gocer C, Tuna MM, Berker D, Guler S. Evaluation of hearing functions in patients with euthyroid Hashimoto's thyroiditis. Endocrine. 2015 Dec;50(3):708-14. doi: 10.1007/s12020-015-0624-8.
8. Teng XC, Jia XK, Fan CL. Extraction, purification and identification thyroglobulin of mouse. Chin J Mod Med. Chin J Mod Med. 2007;17:1467-9.
9. Teng X, Shan Z, Teng W, Fan C, Wang H, Guo R. Experimental study on the effects of chronic iodine excess on thyroid function, structure, and autoimmunity in autoimmune-prone NOD.H-2h4 mice. Clin Exp Med. 2009 Mar;9(1):51-9. doi:10.1007/s10238-008-0014-0.
10. Gawron W, Pośpiech L, Noczyńska A, Orendorz-Fraczkowska K. Electrophysiological tests of the hearing organ in Hashimoto's disease. J Pediatr Endocrinol Metab. 2004 Jan;17(1):27-32.
11. Gawron W, Pośpiech L, Noczyńska A, Klempous J. [Two cases of hearing loss following Hashimoto disease]. Wiad Lek. 2002;55(7-8):478-82. Polish.

Поступила в редакцію 25.03.16.

© О.М. Науменко, Ю.В.Дєєва, М.В. Тарасенко, 2016

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ СЛУХА У КРЫС С АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Науменко О.М., Деева Ю.В., Тарасенко М.В. (Киев)

А н о т а ц и я

Актуальность. Сенсоневральная тугоухость (СНТ) относится к заболеваниям, которые не потеряли своей актуальности в течение десятилетий. Широкая распространенность поражений органа слуха в современных условиях, малая эффективность лечения, отсутствие надежных способов профилактики потери слуха, недостаточные знания о патогенезе нарушений звуковосприятия определяют необходимость дальнейших научных исследований в этом направлении.

У больных с аутоиммунным тиреоидитом (АТ) страдает основной обмен, что существенно влияет на метаболизм клеток, нормальная функция которых зависит от полноценных процессов ионного обмена и нормального уровня показателей иммунологической активности, в частности это касается и волосковых клеток внутреннего уха.

Проведенные различными авторами исследования взаимосвязи АТ и нарушений функции внутреннего уха свидетельствуют о снижении амплитуды отоакустической эмиссии на частоте продукта искажения (ПИОАЕ). Кроме того, во время анализа данных пороговой тональной аудиометрии у больных с АТ отмечаются повышение порогов восприятия звука на некоторых частотах. На основе линейного корреляционно-регрессионного анализа полученных данных, подтверждена зависимость между повышением порогов звуковосприятия и повышением уровней АТГ.

Цель: выявить функциональные изменения структур внутреннего уха у крыс с АТ в эксперименте.

Материалы и методы: Моделирование АТ мы проводили путем введения животным с питьевой водой NaI в концентрации 50 мг/л (что превышает нормальную концентрацию NaI в 100 раз). В качестве подтверждения развития АТ в экспериментальных крыс проводилось исследование уровня антител к тиреоглобулину (АТГ) в сыворотке крови. Уровни АТГ выражались в единицах оптической плотности (ОП). Исследование уровня и характера нарушений звуковоспринимающего аппарата у крыс проводилось с помощью регистрации отоакустической эмиссии на частоте продуктов искажения (ПИОАЕ). Исследования проводились в двух группах белых крыс. Первая группа – интактные животные (10 крыс), вторая группа – крысы с экспериментально вызванным АТ (15 крыс).

Результаты исследования и их обсуждение: Показатели уровня АТГ составляли: основная группа – $0,69 \pm 0,24$ ед. ОП; контрольная группа – $0,46 \pm 0,05$ ед. ОП ($p < 0,01$). В ходе эксперимента у животных обеих групп проводилась регистрация ПИОАЕ 3 раза. 1-я регистрация выполнялась в начале эксперимента до моделирования АТ, при этом в обеих группах регистрировали отзыв эмиссии на частоте 2000-8000 Гц.

При повторной регистрации ПИОАЕ на 57-й день моделирования состояния АТ у 20% крыс 2-й группы отмечалось отсутствие отзывов ПИОАЕ. При регистрации ПИОАЕ на 113-й день моделирования состояния АТ у 47,7% крыс 2-й группы отмечалось отсутствие отзывов ПИОАЕ.

Выводы: Экспериментально вызванное повышение АТГ у 47,7% крыс основной группы по данным ПИОАЭ приводит к нарушению функции волосковых клеток внутреннего уха на 113-й день эксперимента.

Ключевые слова: сенсоневральная тугоухость, аутоиммунный тиреоидит, отоакустическая эмиссия на частоте продукта искажения.

CHARACTERISTIC OF FUNCTIONAL HEARING DISORDERS IN RATS WITH EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE THYROIDITIS

Naumenko A., Deyeva Y., Tarasenko M.

Bogomolets National medical university; Department of otorhinolaryngology (Kiev, Ukraine)
e-mail: maks191@mail.ru

Abstract

Background. In patients with autoimmune thyroiditis (AT) the basal metabolic rate is affected, which significantly affects the metabolism of cells, its normal function depends on the full ion exchange processes and normal level of immunological activity, in particular this applies to the inner ear hair cells.

Aim. To investigate the AT condition influence on the inner ear structures function in experimental rats.

Materials and methods. Simulation of AT we conducted by injecting the animals with drinking water NaI at a concentration of 50 mg/l (that exceeds the normal concentration of NaI in 100 times). As a confirmation of the AT development in experimental rats we studied the antibodies to thyreoglobulin (ATPO) levels in the rats serum. ATPO levels were expressed in terms of optical density (OD). The inner ear function investigation we

performed by using of distortion product otoacoustic emission (DPOAE) registration. Animals were divided in two groups. The first group – intact animals (10 rats), the second group were the rat with AT (15 rats).

Results of the study and their discussions:

OD indicators were: the main group- 0.69 ± 0.24 ; the control group – 0.46 ± 0.05 ($p < 0.01$). Rats in both groups was conducted registration of DPOAE three times. The first registration of the DPOAE were performed before AT simulation in rats of the second group. We carried out the DPOAE in both groups and registered emission on frequency range from 2000 to 8000 Hz. When we registered DPOAE on 57-th day AT simulation in rats of the second group, we achieved absence of DPOAE answers in 20%. When we registered DPOAE on the 113-day AT simulation in rats of the second group, we achieved absence of DPOAE answers in 47,7%.

Conclusions:

Experimentally induced increasing of ATPO levels in 47, 7% of rats, by DPOAE data, leads to disruption of the inner ear hair cells function on 113-th experimental day.

Key words: sensorineural hearing loss, autoimmune thyroiditis, distortion product of otoacoustic emission.