

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

Амірханова Маргарита Рафаелівна

УДК: 616.28-008.1-575.113

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ АПОПТОЗНОГО КАСКАДУ В
РОЗВИТКУ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЇ ПРИГЛУХУВАТОСТІ**

За спеціальністю 222 – Медицина

Галузь знань 22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Амірханова М. Р.

Науковий керівник: Дєєва Юлія Валеріївна, доктор медичних наук, професор.

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Амірханова М. Р. Роль поліморфізму генів апоптозного каскаду в розвитку сенсоневральної приглухуватості.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина (22 – Охорона здоров'я) – НМУ імені О. О. Богомольця, Київ, 2023.

Вступ. Сенсоневральна приглухуватість (СНП) – це захворювання, яке має багатофакторну етіологію та патогенез, характеризується перцептивним порушенням слухової функції і виникає в результаті ураження будь-якої ділянки слухового аналізатора – від рецепторів слухового нерву до слухової зони кори головного мозку. За даними різних джерел щороку захворюваність на СНП оцінюється від 5 до 30 випадків на 100000 населення. Було встановлено, що люди з порушенням слуху мають вищі показники госпіталізації, деменції, депресії та навіть смертності. Близько 80% пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю відзначають наявність шуму в голові, в одному або в обох вухах (тинітус). При своєчасному, ранньому звертанні хворого за допомогою та скоординованій роботі лікарів можна очікувати підвищення позитивних результатів терапії та прогнозу на відновлення або покращення стану слуху.

Перцептивні порушення можуть бути вродженими та набутими. Найбільш вивченими факторами етіопатогенезу є судинний, віковий та акустичний. Частота вроджених форм достатньо висока серед населення – 1/1000 новонароджених, і є найчастішою вродженою вадою в розвинених суспільствах. За даними різних джерел, спадкова втрата слуху складає 40-45% усіх випадків порушення слуху.

Протягом останніх десятиліть все більше з'являється наукових досліджень, що вивчають питання ролі поліморфізму різноманітних генів в патогенезі сенсоневральних порушень слуху. Одним з таких напрямків присвячений ролі апоптозу в патогенезі перцептивного порушення слуху. За

умови фізіологічного функціонування організму, тканин та клітин в ньому, існує баланс між утворенням нових клітин і їх руйнуванням та загибеллю. Певні генотипи можуть мати вплив на цей баланс і сприяти підвищеній активності процесів апоптозу. Вивчення поліморфізму генів *Bcl-2*, *Bax* та *Bid* та його асоціації з виникненням та розвитком перцептивних порушень слуху через апоптоз може стати основою для розробки превентивних заходів, для генетичної діагностики та генної терапії сенсоневральної приглухуватості в майбутньому.

Мета: визначити наявність можливої асоціації між поліморфізмом генів апоптозу *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) та розвитком сенсоневральної приглухуватості у пацієнтів, які працюють в умовах виробничого шуму методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.

Методи дослідження. Було проведено ретроспективне дослідження показників кількості та характеру звернень пацієнтів з сенсоневральними порушеннями слуху до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років. З цією метою проаналізовано 13147 медичних карток стаціонарного хворого пацієнтів, які були направлені до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021 рр. або звертались у отоларингологічне відділення самостійно. З них було відібрано 1138 карт пацієнтів з перцептивними порушеннями слуху. Розподіл за встановленими в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ діагнозами показав, що серед таких пацієнтів найбільшу частку склали пацієнти з гострою СНП (935 випадків), найменшу – з хворобою Мен'єра (5 випадків). Визначалась абсолютна та відносні кількості пацієнтів з СНП, структура основних причин виникнення гострих перцептивних порушень зі слів хворого та за даними об'єктивних методів дослідження, інтервал між виникненням перших симптомів СНП та госпіталізацією в отоларингологічне відділення, тривалість стаціонарного лікування пацієнтів з СНП, наявність

супутніх змін – цукровим діабетом 2 типу, тинітусом, вестибулярними порушеннями.

Для досягнення встановленої мети дисертаційної роботи нами було проведено обстеження 678 пацієнтів віком від 18 до 65 років, які працюють в умовах виробничого шуму (машиністи, помічники машиністів, слюсари, монтери колій залізничного транспорту) на базі Державного закладу Дорожня клінічна лікарня №2 станції Київ ДТГО Південно-західна залізниця. Медіана віку визначалась в області 52 років. Пацієнтам проводилось загальноклінічне, отоларингологічне, аудіометричне дослідження, в результаті чого виділено 89 пацієнтів (13,1%) з перцептивними порушеннями слуху. Розподіл пацієнтів по ступеням втрати слуху проводився за Міжнародною класифікацією порушень:

- Нормальний слух – сприйняття звуків інтенсивністю до 20 дБ. При цьому відсутні або мінімальні проблеми зі слухом.
- Легка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 20 до 35 дБ. При розмові людина може мати незначні проблеми.
- Помірна втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 35 до 50 дБ. На цьому рівні помірні проблеми під час спілкування.
- Помірно важка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 50 до 65 дБ. Спілкування з іншими значно утруднене. Людина чує голосну розмову.
- Важка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 65 до 80 дБ. Людина практично не чує розмову, значні труднощі в спілкуванні.
- Надзвичайно важке порушення слуху (або глибока втрата слуху) – підвищення рівнів сприйняття звуків від 80 до 95 дБ. Характерним є надзвичайно поганий слух. Звичайну розмову людина не чує.
- Повна або загальна втрата слуху (глухота) – підвищення рівнів сприйняття звуків понад 95 дБ.

Серед 89 осіб з порушеннями слуху віком від 18 до 65 років легкий ступінь втрати слуху було виявлено у 67 працівників (75,3%), помірний ступінь – у 11 обстежених (12,35%), помірно важкий ступінь також у 11 пацієнтів (12,35%) випадків виявлених перцептивних порушень.

За віком пацієнти з сенсоневральною приглухуватістю були розподілені на три підгрупи. В першу підгрупу ввійшли обстежувані до 45 років включно, в другу – від 46 до 55 років включно, в третю – пацієнти віком від 56 до 65 років. Розподіл ступеней втрати слуху за віком виявився нерівномірним, особливо зниження слуху помірно важкого ступеню. В другій підгрупі (вік від 46 до 55 років) пацієнтів із помірно важкою втратою слуху в області 500, 1000 і 2000 Гц було виявлено у 4,9% випадків. В третій підгрупі 23,3% відповідно. Серед пацієнтів до 45 років було виявлено 2 випадки помірно важкого ступеню втрати слуху, що склало 11,1%. Такий високий відносний показник скоріше за все зумовлений невеликою кількістю пацієнтів в першій підгрупі. Результати обстеження 678 робітників, які працюють в умовах виробничого шуму дали змогу провести суворий відбір в групи дослідження, створені для визначення можливої асоціації між поліморфізмом генів *Bcl-2* rs2279115, *Bax* rs4645878, *Bid* rs8190315 та підвищеним ризиком розвитку сенсоневральної приглухуватості. До основної групи ввійшли 41 пацієнтів з перцептивними порушеннями слуху (з та без шуму). До групи контролю ввійшли 48 обстежених без ознак порушень слуху. Критеріями включення в дослідження був вік від 18 до 50 років, стаж роботи в умовах виробничого шуму навантаження понад 3 роки. Критерії виключення – цукровий діабет або порушення толерантності до глюкози, дисліпідемія, артеріальна гіпертензія, порушення мозкового кровообігу, психічні захворювання. Такі обмеження дали змогу мінімізувати ризик розвитку перцептивних порушень судинного генезу та під впливом інших етіопатогенетичних чинників, а також з високою ймовірністю виключити наявність асоціації між поліморфізмом досліджуваних генів та патологією сполучної та залозистої тканини, а отже, отримані результати співставити з особливостями відповіді нервової тканини

на причинний фактор (виробничий шум). Всім пацієнтам була надана поінформована згода, яка була схвалена етичною комісією.

Дизайн дослідження визначення можливої асоціації між поліморфізмом генів *Bcl-2* rs2279115, *Vax* rs4645878, *Bid* rs8190315 та підвищеним ризиком розвитку сенсоневральної приглухуватості типу випадок-контроль, проводився на базі Державного закладу Дорожня клінічна лікарня №2 станції Київ ДТГО Південно-західна залізниця. Для комплексного дослідження слухової функції пацієнтам проводили повне аудіометричне обстеження. Діагностика проводилась в звукоізолюючому приміщенні з рівнем фонового шуму не більше 30 дБ.

Було проведено розподіл пацієнтів за віком: 1 підгрупа – пацієнти до 35 років включно, 2 підгрупа – від 36 до 45 років включно, 3 підгрупа – від 46 до 50 років включно; за стажем роботи: 1 – до 10 років, 1 – від 10 до 20 років, 3 – понад 20 років; за ступенем втрати слуху: легка, помірна та помірно важка втрата слуху.

Аналіз асоціації поліморфізму генів *Bcl-2*, *Vax* та *Bid* та розвитку сенсоневральної приглухуватості розраховувався на основі даних, отриманих за методом ПЛР у зразках венозної крові обстежених пацієнтів. Молекулярно-генетичні дослідження виконували в лабораторії Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця за стандартними методиками. Забір периферичної крові здійснювали в стерильні пробірки закритої системи об'ємом 2,5 мл з ЕДТА. Стерильні пробірки з отриманим матеріалом зберігали при -20°C (не більше 1 місяця). Виділення геномної ДНК із лейкоцитів периферійної крові пацієнтів проводилась за допомогою комерційного набору реагентів для екстракції нуклеїнових кислот (РНК/ДНК) з клінічного матеріалу «Biocore® Nucleo – M» (Україна), на основі сировини Thermo Scientific, США згідно інструкції, наданої виробником. Для визначення поліморфізму гену *Bcl-2* проводилась ПЛР з використанням TaqMan® Assays (США) rs2279115, гену *Vax* – rs4645878, гену *Bid* – rs8190315 фірми Thermo Scientific (США).

Алелі, присутні у зразку, ідентифікували шляхом вимірювання флуоресценції на каналах дослідження FAM та VIC.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програмного забезпечення IBM SPSS Statistics Base v.22. Для аналізу статистичних відмінностей між тестовими та контрольними значеннями були використані параметричні та непараметричні критерії. Для виявлення наявності кореляційного зв'язку між різними показниками визначався показник рангової кореляції Спірмена та коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона. Критичний рівень значимості був прийнятий за 0,05. Корекцію Бонферроні проводили для кожного p -значення будь-якого SNP. Для додаткової оцінки вірогідності отриманих результатів, розраховувався показник співвідношення шансів (OR – Odds Ratio) з 95% довірчим інтервалом. Для порівняння дихотомічних якісних змінних в двох незалежних сукупностях використовувався точний метод Фішера. З метою виявлення факторних ознак, пов'язаних з ризиком розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах підвищеного звукового навантаження, було використано метод побудови та аналізу моделей логістичної регресії.

Результати дослідження. Аналіз показників кількості та характеру звернень пацієнтів з сенсоневральними порушеннями слуху до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років показав, що абсолютна та відносна кількість пацієнтів за вказані роки зменшилась у 2020-2021 роках. Причиною даних змін було тимчасове перепрофілювання отоларингологічного відділення в ці роки під прийом інфекційних хворих на COVID-19.

Найбільш частою причиною розвитку перцептивних змін у обстежених медичних картках виявився гострий середній отит або загострення хронічного (509 випадків), але частина таких порушень кісткової провідності може бути результатом розвитку змін, зумовлених запальними процесами. 155 людей не змогли визначити, що саме спровокувало перцептивні порушення.

Середній інтервал між виникненням перших симптомів сенсоневральної приглухуватості та госпіталізацією в отоларингологічне відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021рр. становив 8,19 днів, середній показник тривалості стаціонарного лікування таких пацієнтів в стаціонарі становив 9,4 дні. Статистичної відмінності між роками, що увійшли в дослідження, за обома показниками не було виявлено ($P > 0,05$).

Обстеження 678 пацієнтів віком від 18 до 65 років, які працюють в умовах виробничого шуму (машиністи, помічники машиністів, слюсари, монтери колій залізничного транспорту) на базі Державного закладу Дорожня клінічна лікарня №2 станції Київ ДТГО Південно-західна залізниця виявив слабкий позитивний кореляційний зв'язок між віком та зниженням сприйняття шепітної мови і ступенем втрати слуху і зв'язок середнього ступеня вираженості між стажем роботи та зниженням сприйняття шепітної мови і ступенем втрати слуху ($P < 0,05$). Це було підтверджено і двофакторним аналізом методом побудови моделей логістичної регресії.

Вивчення розподілу генотипів та частоти алелей у робітників, які працюють в умовах виробничого шуму віком від 18 до 50 років, виявило, що поліморфізм не всіх досліджених генів мав статистично значиму різницю в основній групі дослідження (пацієнти з перцептивним порушенням слуху різного ступеню втрати слуху) в порівнянні з контрольною групою (робітники без порушень слуху). Ген *Bcl-2* (rs2279115): в основній групі генотип А/А виявлено в 19,5%, А/С – 65,9%, С/С – 14,6%; в контрольній 10,4%, 35,4% та 54,2% відповідно ($p < 0,05$). Ген *Bid* (rs8190315): в основній групі генотип С/С не було визначено, С/Т - 7,3%, Т/Т – 92,7%; в контрольній групі – 0%, 2,1% та 97,9% відповідно ($P > 0,05$). Ген *Bax* (rs4645878): в основній групі генотип А/А мали 2,4% досліджених, А/Г 24,4%, Г/Г 73,2%; в контрольній – 2,1%, 12,5% та 85,4% відповідно ($P > 0,05$). Результати були отримані з поправкою Бонферроні для кожного Р-значення будь-якого SNP.

Когорти дослідження були також розподілені на чотири підгрупи на основі комбінації алелей А та С у гена *Bcl-2* та алелей А та Г у гена *Bax*. Було

виявлено, що при комбінації генотипу по типу *GG/GT* та *AG/GG* статистично значимо підвищується ризик розвитку перцептивних порушень. Тим часом комбінація генотипу *CC* та *AG/GG* частіше зустрічається у працівників без перцептивних порушень ($P < 0,05$).

З метою виявлення факторних ознак, пов'язаних з ризиком розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, було використано метод побудови та аналізу моделей логістичної регресії. Для відбору мінімальної кількості факторних ознак було використано метод Stepwise (покрокового відкидання змінних). В результаті біло виділено основну факторну ознаку – поліморфізм гену *Bcl-2* (rs2279115). На основі даних побудована логістична модель прогнозування $AUC=0,74$ (95% ВІ 0,63 – 0,84), статистично значимо перевищує 0,5 ($P < 0,05$).

Висновки.

У дисертації шляхом проведення полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі проведено вивчення питання наявності асоціації поліморфізму генів апоптозного каскаду *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) з розвитком перцептивних порушень, виділено найбільш впливові комбінації алелей та генотипів даних генів та запропоновано практичне використання отриманих результатів.

1. Серед загальної кількості пацієнтів, які звертались самостійно або були направлені на стаціонарне лікування в отоларингологічне відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років, випадки перцептивного порушення слуху склали 8,7%, що свідчить про відносно широке розповсюдження даної патології серед стаціонарних хворих отоларингологічного відділення.
2. Серед можливих причин виникнення перцептивних порушень слуху зі слів досліджуваних хворих на першому місці був середній отит, переважно після ГРЗ або переохолодження. Це говорить про очевидну необхідності проведення аудіометричного дослідження у всіх пацієнтів з ураженням середнього вуха. Однак такий високий показник може бути зумовлений

тим, що не в усіх випадках розвивалась власне сенсоневральна приглухуватість, а виявлені зміни на тональній аудіометрії були зумовлені запальними процесами.

3. У 23% пацієнтів з перцептивними порушеннями слуху не вдалось встановити етіологічний чинник, що свідчить про важливість подальшого дослідження етіопатогенезу сенсоневральної приглухуватості з метою підвищення ефективності лікування.
4. Наявність у пацієнтів молодого віку (до 45 років) з невеликим стажем роботи в умовах шуму (до 10 років) помірно важкого ступеня втрата слуху може свідчити про наявність у них супутніх патологій, в тому числі, генетичної, які призводять до підвищеного ризику розвитку порушення слуху і такі пацієнти потребують додаткового обстеження, включаючи визначення характеру поліморфізму генів.
5. Встановлено, що у носіїв гетерозиготного генотипу *A/C* гену *Bcl-2* (rs2279115) ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, підвищений ($P < 0,05$); ВШ 3,517; 95% ДІ 1,465-8,441.
6. Встановлено, що у носіїв гомозиготного генотипу *A/A* гену *Bcl-2* (rs2279115) ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, знижений ($P < 0,05$); ВШ 0,145; 95% ДІ 0,051-0,409.
7. Виявлено, що поліморфізм генотипів гену *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) не проявив статистично значимого впливу на ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму ($P > 0,05$).
8. Встановлено, що у носіїв з комбінацією генотипу по типу *AA/AC* гену *Bcl-2* (rs2279115) та *AG/GG* гену *Bax* (rs4645878) ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, підвищений ($P < 0,05$), ВШ 6,245; 95% ДІ 2,312-16,865.

9. Встановлено, що поліморфізм генотипів гену *Bcl-2* (rs2279115), *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) не проявив статистично значимого впливу на ступінь втрати слуху, сторону ураження та тип кривої при аудіометричному обстеженні ($P > 0,05$ в усіх випадках).

Ключові слова: сенсоневральна приглухуватість, невротизація, поліморфізм, генотип, ген, апоптоз, слуховий аналізатор, нервова система, спіральний орган (орган Корті), регенерація, молекулярна генетика, стовбурові клітини, аудіометрія.

ABSTRACT

Amirkhanova Margaryta. The role of polymorphism of apoptotic cascade genes in the development of sensorineural deafness.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 - Medicine (22 - Health Care) - O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2023.

Introduction. Sensorineural deafness (SND) is a disease that has a multifactorial etiology and pathogenesis. It is characterized by a perceptual impairment of auditory function and is caused by damage to any part of the auditory analyzer – from the receptors of the auditory nerve to the auditory zone of the cerebral cortex. According to various sources, the incidence of SNP is estimated from 5 to 30 cases per 100,000 populations each year. People with hearing loss have been found to have higher rates of hospitalization, dementia, depression and even mortality. About 80% of patients with sensorineural hearing loss (SND) note the presence of noise in the head, in one or both ears (tinnitus). With timely, early referral of the patient for help and coordinated work of doctors, one can expect an increase in the positive results of therapy and the prognosis for recovery or improvement of the hearing condition.

Perceptual disorders can be congenital or acquired. The most studied etiopathogenesis factors are vascular, age and acoustic. The frequency of congenital forms is quite high among the population – 1/1000 newborns, and is the most common congenital defect in developed societies. Hereditary hearing loss accounts for about 40-45% of all cases of hearing impairment.

During the last decades, more and more scientific studies are appearing, studying the role of polymorphism of various genes in the pathogenesis of sensorineural hearing disorders. One of these directions for twenty years has been dedicated to the role of apoptosis in the pathogenesis of perceptual hearing impairment. Under the conditions of physiological functioning of the body, tissues and cells in it, there is a balance between the formation of new cells and their destruction and death. Certain genotypes can have an impact on this balance and contribute to the increased activity of apoptosis processes. The study of the polymorphism of *Bcl-2* (anti-apoptotic), *Bax* and *Bid* (pro-apoptotic) genes and its influence on the occurrence and development of perceptual hearing disorders due to apoptosis may become the basis for genetic diagnosis and gene therapy of sensorineural deafness in the future.

Purpose: to determine the presence of a possible association between the polymorphism of the apoptosis genes *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) and *Bid* (rs8190315) and the development of sensorineural deafness in patients who work in industrial noise conditions by the polymerase chain reaction method in real time.

Methods and materials. A retrospective study of indicators of the number and nature of referrals of patients with sensorineural hearing disorders to the otolaryngology department of the Kyiv city Oleksandrivska Clinical Hospital during 2015-2021 was conducted. For this purpose, 13,147 medical records of inpatient patients who were referred to the otolaryngology department of the Oleksandriv Clinical Hospital of Kyiv for 2015-2021 or who applied to the otolaryngology department independently were analyzed. From them, 1138 cards of patients with perceptual hearing disorders were selected. Among them, the largest share was made up of patients with acute SNP (935 cases), the smallest - with Meniere's disease (5

cases). The absolute and relative number of patients with SNP, the structure of the main causes of acute perceptual disturbances from the patient's words and according to the data of objective research methods, the interval between the appearance of the first symptoms of SNP and hospitalization in the otolaryngology department, the duration of inpatient treatment of patients with SNP, the presence of accompanying changes was studied – type 2 diabetes, tinnitus, vestibular disorders.

In order to achieve the established goal of the dissertation work, we conducted an examination of 678 patients aged 18 to 65 years who work in conditions of industrial noise (drivers, drivers' assistants, fitters, fitters of railway tracks) at the State Road Clinical Hospital No. 2 of the Kyiv DTGO station South-west railroad. The median age in the region was 52 years. The patients underwent a general clinical, otolaryngological, and audiometric examination, as a result of which 89 patients (13.1%) with perceptual hearing disorders were identified. The distribution of patients by degrees of hearing loss was carried out according to the International Classification of Disorders:

- Normal hearing – perception of sounds with an intensity of up to 20 dB. At the same time, there are no or minimal hearing problems.
- Mild hearing loss – increase in sound perception levels from 20 to 35 dB. When talking, a person may have minor problems.
- Moderate hearing loss – increase in sound perception levels from 35 to 50 dB. At this level, moderate problems with communication.
- Moderately severe hearing loss – increase in sound perception levels from 50 to 65 dB. Communication with others is much more difficult. A person hears a loud conversation.
- Severe hearing loss – increase in sound perception levels from 65 to 80 dB. A person practically cannot hear a conversation, significant difficulties in communication.
- Extremely severe hearing impairment (or profound hearing loss) – increase in sound perception levels from 80 to 95 dB. Extremely poor hearing is characteristic. He does not hear normal conversation.

- Complete or total hearing loss (deafness) – increased sound perception levels above 95 dB.

Among 89 people with hearing impairment aged 18 to 65 years, a mild degree of hearing loss was found in 67 workers (75.3%), a moderate degree - in 11 examinees (12.35%), a moderately severe degree also in 11 patients (12.35%) of detected perceptual disorders. The distribution of degrees of hearing loss according to age was uneven, especially moderately severe hearing loss. In the second subgroup (age from 46 to 55 years), patients with moderately severe hearing loss in the area of 500, 1000 and 2000 Hz were found in 4.9% of cases. In the third subgroup, 23.3% respectively. Among patients under 45 years of age, 2 cases of moderately severe degree of hearing loss were found, which amounted to 11.1%. Such a high relative indicator is most likely caused by a small number of patients in the first subgroup. The results of the examination of 678 workers who work in conditions of industrial noise made it possible to carry out a strict selection in the study groups created to determine the possible association between the polymorphism of the genes *Bcl-2* rs2279115, *Bax* rs4645878, *Bid* rs8190315 and the increased risk of developing sensorineural deafness. The main group included 41 patients with perceptual hearing disorders (with and without noise). The control group included 48 subjects without signs of hearing impairment. The criteria for inclusion in the study were age from 18 to 50 years, experience of working in conditions of increased sound load for more than 3 years. Exclusion criteria are diabetes mellitus or impaired glucose tolerance, dyslipidemia, arterial hypertension, impaired cerebral circulation, mental illness. All patients provided informed consent, which was approved by the ethics committee.

The design of the study to determine the possible association between the polymorphism of the genes *Bcl-2* rs2279115, *Bax* rs4645878, *Bid* rs8190315 and the increased risk of developing sensorineural deafness of the case-control type was carried out on the basis of the State Road Clinical Hospital No. 2 of the Kyiv DTGO South-Western Railway station. For a comprehensive study of auditory function,

patients underwent a complete audiometric examination. Diagnostics was carried out in a soundproof room with a background noise level of no more than 30 dB.

Patients were divided by age: 1 – patients under 35 years old, 2 – from 35 to 45 years old, 3 – from 45 to 50 years old; by length of service: 1 – up to 10 years, 1 – from 10 to 20 years, 3 – over 20 years; according to the degree of hearing loss: mild, moderate and moderately severe hearing loss.

Analysis of the influence of *Bcl-2*, *Bax*, and *Bid* gene polymorphisms on the development of sensorineural deafness was performed by PCR in venous blood samples of the examined patients. Peripheral blood sampling was carried out in sterile tubes of a closed system with a volume of 2.5 ml with EDTA. Sterile test tubes with the obtained material were stored at -20°C (no more than 1 month). Isolation of genomic DNA from peripheral blood leukocytes of patients was carried out using a commercial set of reagents for the extraction of nucleic acids (RNA/DNA) from the clinical material "Biocore® Nucleo - M" (Ukraine, based on Thermo Scientific raw materials, USA) according to the instructions provided by the manufacturer. To determine the *Bcl-2* gene polymorphism, PCR was performed using TaqMan® Assays (USA) rs2279115, *Bax* gene – rs4645878, *Bid* gene – rs8190315 from Thermo Scientific (USA).

Alleles present in the sample were identified by measuring fluorescence in the FAM and VIC probe channels.

Statistical data processing was carried out using IBM SPSS Statistics Base v.22 software. Parametric and non-parametric criteria were used to analyze statistical differences between test and control values. Spearman's rank correlation index and Pearson's linear correlation coefficient were determined to detect the presence of a correlation between various indicators. The critical level of significance was taken as 0.05. Bonferroni correction was performed for each p - value of any SNP. In order to identify factor characteristics associated with the risk of developing perceptual disorders in people who work in conditions of increased sound load, the method of building and analyzing logistic regression models was used. For an additional assessment of the probability of the obtained results, the odds

ratio (OR) with a 95% confidence interval was calculated. An online calculator (www.gigacalculator.com) was used for this purpose.

Results. The absolute and relative number of patients who sought help in the otolaryngology department of the Kyiv city Oleksandrivska Clinical Hospital in 2015-2021 decreased in 2020-2021. The reason for these changes was the temporary repurposing of the otolaryngology department in these years to receive infectious patients with COVID-19.

Acute otitis media or exacerbation of chronic otitis media was the most frequent cause of perceptual changes in the examined medical records (509 cases), but part of such bone conduction disorders may be the result of changes caused by inflammatory processes. 155 people could not determine what exactly caused the perceptual disturbances.

The average interval between the onset of the first symptoms of sensorineural hearing loss and hospitalization in the otolaryngology department of the Kyiv city Oleksandrivska Clinical Hospital for 2015-2021. was 8.19 days, the average duration of inpatient treatment of such patients in a hospital was 9.4 days. There was no statistical difference between the years included in the study for both indicators ($P > 0.05$).

An examination of 678 patients aged 18 to 65 years who work in conditions of industrial noise (drivers, drivers' assistants, fitters, fitters of railway tracks) on the basis of the State Road Clinical Hospital No. 2 of the Kyiv station DTGO South-Western Railway revealed a weak positive correlation link the relationship between age and the decrease in the perception of whispered speech and the degree of hearing loss and the relationship of medium degree of severity between the length of work and the decrease in the perception of whispered speech and the degree of hearing loss ($P < 0.05$). This was also confirmed by two-factor analysis by the method of constructing logistic regression models.

The study of the distribution of genotypes and the frequency of alleles in patients of both groups, conducted at the third stage of the study, showed that not all genes had a statistically significant difference. *Bcl-2* gene (rs2279115): in the main

group, the *A/A* genotype was found in 19.5%, *A/C* – 65.9%, *C/C* – 14.6%; in the control group, 10.4%, 35.4% and 54.2%, respectively ($P < 0.05$). *Bid* gene (rs8190315): in the main group, the *C/C* genotype was not determined, *C/T* – 7.3%, *T/T* - 92.7%; in the control group – 0%, 2.1% and 97.9%, respectively ($P > 0.05$). *Bax* gene (rs4645878): in the main group, 2.4% of the studied had the *A/A* genotype, *A/G* 24.4%, *G/G* 73.2%; in the control group – 2.1%, 12.5% and 85.4%, respectively ($P > 0.05$). Results were Bonferroni-corrected for each P-value of any SNP.

Study cohorts were also divided into four subgroups based on the combination of *A* and *C* alleles in the *Bcl-2* gene and *A* and *G* alleles in the *Bax* gene. It was found that with the combination of the *AA/AC* and *AG/GG* genotypes, the risk of developing perceptual disorders increases statistically significantly. Meanwhile, the combination of *TT* and *AG/GG* genotype is more common in workers without perceptual disorders ($P < 0.05$).

In order to identify factor characteristics associated with the risk of developing perceptual disorders in people who work in conditions of increased sound load, the method of building and analyzing logistic regression models was used. The Stepwise method (stepwise discarding of variables) was used to select the minimum number of factorial features. As a result, the main factor characteristic – *Bcl-2* gene polymorphism (rs2279115) was highlighted in white. Based on the data, a logistic prediction model was built, $AUC=0.74$ (95% CI 0.63 – 0.84), statistically significantly higher than 0.5 ($P < 0.05$).

Conclusions.

In the dissertation, by conducting polymerase chain reaction in real time, the issue of the association of polymorphisms of the apoptotic cascade genes *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) and *Bid* (rs8190315) with the development of perceptual disorders was studied, the most influential combinations of alleles and genotypes of these genes were identified and practical use of the obtained results is proposed.

1. Among the total number of patients who applied independently or were referred for inpatient treatment to the otolaryngology department of the

Oleksandrivskaya Clinical Hospital in Kyiv during the years 2015-2021, cases of perceptive hearing impairment accounted for 8.7%, which indicates a sufficiently wide spread of this pathology among inpatients patients of the otolaryngology department.

2. Among the possible causes of perceptual hearing disorders, according to the studied patients, the first place was otitis media, mainly after acute respiratory failure or hypothermia. This indicates the obvious need to conduct an audiometric study in all patients with middle ear damage. However, such a high rate may be due to the fact that not all cases actually developed sensorineural deafness, and the detected changes in tone audiometry were caused by inflammatory processes.
3. In 23% of patients with perceptual hearing disorders, it was not possible to establish an etiological factor, which indicates the importance of further research into the etiopathogenesis of sensorineural deafness in order to improve the effectiveness of treatment.
4. The presence of moderately severe hearing loss in young patients (up to 45 years old) with a short experience of working in noisy conditions (up to 10 years) may indicate the presence of concomitant pathologies, including genetic ones, which lead to an increased risk of developing hearing impairment and such patients require additional examination, including determination of the nature of gene polymorphism.
5. It was established that the presence of the heterozygous genotype *A/C* of the *Bcl-2* gene (rs2279115) can increase the risk of developing perceptual disorders in people who work in conditions of industrial noise ($P < 0.05$); OR 3.517; 95% CI 1.465 -8.441.
6. It was found that the presence of the homozygous genotype *A/A* of the *Bcl-2* gene (rs2279115) can reduce the risk of developing perceptual disorders in people who work in industrial noise conditions ($P < 0.05$); OR 0.145; 95% CI 0.051 -0.409.

7. It was found that the polymorphism of the *Bid* (rs8190315) and *Bax* (rs4645878) gene genotypes did not have a statistically significant effect on the risk of developing perceptual disorders in people who work in conditions of industrial noise ($P > 0.05$).
8. It was established that the combination of the *AA/AC* genotype of the *Bcl-2* gene (rs2279115) and *AG/GG* of the *Bax* gene (rs4645878) statistically significantly increases the risk of developing perceptual disorders in people who work in conditions of industrial noise ($P < 0.05$), OR 6.245; 95% CI 2.312-16.865.
9. It was established that the polymorphism of the *Bcl-2* (rs2279115), *Bid* (rs8190315) and *Bax* (rs4645878) gene genotypes did not have a statistically significant effect on the degree of hearing loss, the side of the lesion and the type of curve during the audiometric examination ($P > 0.05$ in all cases).

Key words: sensorineural deafness, neurotization, polymorphism, genotype, alleles, gene, apoptosis, auditory analyzer, nervous system, spiral organ, regeneration, molecular genetics, stem cells, audiometry.

ЗМІСТ

Вступ.....	23
Розділ 1. Огляд літератури	
1.1. Сучасний погляд на етіопатогенез гострої та хронічної сенсоневральної приглухуватості.....	29
1.1.1. Загальні поняття.....	29
1.1.2. Етіологія та патогенез.....	29
1.1.3. Класифікація.....	32
1.1.4. Методи лікування та реабілітації.....	33
1.2. Тинітус.....	35
1.2.1. Загальні поняття.....	35
1.2.2. Етіологія та патогенез.....	36
1.2.3. Методи діагностики	37
1.2.4. Методи лікування.....	38
1.3. Поліморфізм генів в розвитку СНП та тинітусу.....	43
1.3.1. Несиндромні форми втрати слуху.....	43
1.3.2. Синдромні форми порушення слуху.....	46
1.3.3. Патогенетичні механізми генетичних порушень слуху.....	47
1.4. Апоптоз.....	50
1.4.1. Загальні поняття.....	50
1.4.2. Поліморфізм генів апоптозу.....	52
Розділ 2. Матеріали та методи дослідження	
2.1. Інформаційний аналіз даних.....	55
2.2. Загальна характеристика пацієнтів.....	56
2.3. Методи дослідження слухової функції та тинітусу в клінічних групах.....	66
2.4. Забір та підготовка матеріалу.....	68
2.5. Полімеразна ланцюгова реакція.....	69
2.6. Статистичні методи, використані в дослідженні.....	72

Розділ 3. Аналіз впливу стажу роботи та віку на розвиток перцептивних порушень у пацієнтів, які працюють в умовах виробничого шуму.

- 3.1. Аналіз кількості та характеру звернень пацієнтів з сенсоневральними порушеннями слуху до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років.....74
- 3.2. Корелятивний зв'язок між стажем роботи й віком пацієнтів та ризиком розвитку перцептивних порушень слуху у робітників в умовах виробничого шуму.....81

Розділ 4. Оцінка асоціації поліморфізму генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) та ризику розвитку сенсоневральної приглухуватості у пацієнтів, які працюють в умовах виробничого шуму.

- 4.1. Поліморфізм гену *Bcl-2* (rs2279115) та оцінка асоціацій між носіями різних генотипів гену в групах дослідження.....90
- 4.2. Поліморфізм гену *Bax* (rs4645878) та оцінка асоціацій між носіями різних генотипів гену в групах дослідження.....94
- 4.3. Поліморфізм гену *Bid* (rs8190315) та оцінка асоціацій між носіями різних генотипів гену в групах дослідження.....97
- 4.4. Узагальнюючі дані аналізу поліморфізмів генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) як можливий прогностичний критерій ризику розвитку перцептивних порушень слуху.....101

Розділ 5. Заключення та узагальнення отриманих результатів..... 106

Висновки.....108

Практичні рекомендації.....111

Література.....112

Список публікацій здобувача за темою дисертації.....136

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

СНП – Сенсоневральна приглухуватість.

SNP – однонуклеотидний поліморфізм генів

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція.

ІРСНП – ідіопатична раптова сенсоневральна приглухуватість.

АФК – активні форми кисню.

КПТ – когнітивно-поведінкова терапія

TRT – Tinnitus retraining therapy

DFNA – аутосомно-домінантний тип успадкування

DFNB – аутосомно-рецесивний тип успадкування

ПДРФ – поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів

ВСТУП

Актуальність проблеми. Сенсоневральна приглухуватість (СНП) посідає значне місце серед захворювань ЛОР-органів і за різними даними щороку захворюваність оцінюється від 5 до 30 випадків на 100000 населення. В рамках дослідження The Global Burden of Disease Study було встановлено, що на четвертому місці серед провідних причин інвалідності в світі знаходиться саме втрата слуху [1]. За прогнозами до 2050 року кількість людей, які будуть страждати від порушення слуху, зросте до 2,5 мільярдів [2].

Зниження або втрата слуху в першу чергу призводить до психоемоційних та соціальних труднощів, до проблем у відносинах в сім'ї, зниження якості життя [3].

Було встановлено, що люди з порушенням слуху мають вищі показники госпіталізації [4], смертності [5], деменції [6,7] та депресії [8,9].

Близько 80% пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю (СНП) відзначають наявність шуму в голові, в одному або в обох вухах (тинітус). З них у половини він є постійним та нав'язливим, заважає зосередитись на роботі, іноді стає більш помітним в тиші, під час засинання.

Постійний вушний шум присутній близько у 8% населення Земної кулі. За даними Deutschen Tinnitus-Liga, більше трьох мільйонів жителів Німеччини страждають від шуму у вухах та голові і щороку це число збільшується на 250 тисяч людей [10]. Близько 1% громадян Сполучених Штатів Америки звертались до медичних закладів з приводу дзвону у вухах, близько половини дорослого населення США відчувають тинітус періодично або постійно. Не зважаючи на численні дослідження, етіопатогенез розвитку та прогресування хронічної сенсоневральної приглухуватості, а також шуму у вухах залишається не з'ясованим у 40-60% випадків. Було виявлено зв'язок між мутацією та поліморфізмом різноманітних генів та схильністю до розвитку перцептивних слухових порушень. Останнє десятиріччя все частіше

піднімається питання участі апоптозного каскаду як основного механізму виникнення даного захворювання. Було показано, що з віком знижується експресія *Bcl2* та збільшується експресія *Bax*, що призводить до порушення проникності мембрани мітохондрії і наближення волоскової клітини до апоптозу. Оскільки при зменшенні *Bcl2*, який зв'язується з *p53* у мітохондріях, може збільшитись вивільнення *p53*, що буде додатково діяти як активатор *Bax* і *Bid*, що також буде підвищувати ризик апоптозу волоскової клітини та розвиток преспіакузису. Сучасними дослідженнями показаний зв'язок між апоптозом і, зокрема, особливостями експресії білків апоптозу (*Bcl2*, *Bax* та *Bid*) та віковими змінами у периферичній частині слухового аналізатора як однієї з причин розвитку пресбіакузис. Спираючись на ці дані, можна припустити, що поліморфізм генів *Bcl2*, *Bax* та *Bid* може мати свою роль у розвитку перцептивних порушень при сенсоневральній приглухуватості.

Серед методів лікування хронічної сенсоневральної приглухуватості та тинітису визначають хірургічні, медикаментозні, терапію звуком та інше, але ефективність їх залишається досить низькою. В більшості випадків досягається лише полегшення стану пацієнта. Тому проведення досліджень, направлених на з'ясування можливих генетичних факторів в етіопатогенезі сенсоневральної приглухуватості є важливим і зможе оптимізувати етіопатогенетично обґрунтовану терапію.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами
Дисертація є складовою частиною науково-дослідної роботи кафедри Отоларингології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Мета роботи: визначити наявність можливої асоціації між поліморфізмом генів апоптозу *Bcl-2* (rs 2279115), *Bax* (rs 4645878) та *Bid* (rs 8190315) та розвитком сенсоневральної приглухуватості у пацієнтів, які працюють в умовах виробничого шуму методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.

Завдання дослідження:

- 1.Провести аналіз кількості та характеру звернень пацієнтів з сенсоневральними порушеннями слуху до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років.
- 2.Оцінити залежність перцептивних порушень слухової функції від стажу роботи та віку людей, які працюють в умовах виробничого шуму.
- 3.Визначити характер поліморфізму генів апоптозного каскаду *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) у пацієнтів з хронічною сенсоневральною приглухуватістю та у робітників без порушення слуху.
- 4.Вивчити наявність асоціації поліморфізму гена *Bcl-2* (rs2279115) з розвитком перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму.
- 5.Вивчити наявність асоціації поліморфізму гена *Bid* (rs8190315) з розвитком перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму.
- 6.Вивчити наявність асоціації поліморфізму гена *Bax* (rs4645878) з розвитком перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму.
- 7.Визначити перспективи практичного використання відомостей про характер асоціації поліморфізму генів *Bcl-2*, *Bid* та *Bax* і розвитком сенсоневральної приглухуватості у людей, які працюють в умовах виробничого шуму.

Об'єкт дослідження: поліморфізм генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315), стан слухової функції у людей, які працюють в умовах шуму, апоптоз.

Предмет дослідження: дані анамнезу, клінічного та отоларингологічне обстеження хворих на сенсоневральну приглухуватість, показники аудіометрії, результати полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Методи дослідження: Під час дослідження було використано загальноклінічні: скарги, анамнез життя та захворювання; отоларингологічний огляд, включаючи риноскопія, орофарингоскопію та отоскопію. З метою визначення поліморфізму генів була використана полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ), психоакустичні (суб'єктивна аудіометрія тональна та у розширеному діапазоні частот, мовна, камертональні обстеження, шумометрія), статистичні. Обидві групи дослідження (основна та контрольна) поліморфізму генів *Bcl-2* (rs2279115), *Vax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) були статистично порівняні за віком та є однорідними.

Наукова новизна:

- Вперше в Україні на підставі результатів полімеразної ланцюгової реакції проведено визначення поліморфізму генів *Bcl-2* (rs2279115), *Vax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) у пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю.
- Визначено, що наявність генотипу *A/C* гену *Bcl-2* (rs2279115) може свідчити про значення цього типу поліморфізму в розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах шуму.
- З'ясовано, що наявність різних генотипів гену *Bid* (rs8190315) та *Vax* (rs4645878) у людей, які працюють в умовах шуму, не мала значної різниці.
- Виявлено, що комбінація генотипу по типу *AA/AC* гену *Bcl-2* (rs2279115) та *AG/GG* гену *Vax* (rs4645878) статистично значимо підвищує ризик розвитку перцептивних порушень.

Особистий внесок здобувача: здобувачу належить ідея розробки наукової роботи та методології обстеження пацієнтів. Особисто здійснено загальноклінічний та отоларингологічний огляд, відбір пацієнтів в групи дослідження, психоакустичне обстеження (аудіометрія) на базі Державного закладу Дорожньої клінічної лікарня №2 станції Київ ДТГО Південно-західна

залізниця. Особисто проведений аналіз отриманих результатів, включаючи статистичну обробку, сформульовано наукову новизну, написано всі розділи дисертаційної роботи, висновки, запропоновано практичне використання отриманих результатів.

Основні розділи включають матеріали та методи дослідження, результати дослідження, висновки та їх обговорення.

Публікації:

1. Амірханова М.Р., Дєєва Ю.В., Аналіз звернень пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю до отоларингологічного відділення протягом 2015-2021 років. *Отоларингологія* №1-2(5) 2022; 56-61. DOI 10.37219/2528-8253-2022-1-56.
2. Амірханова М.Р., Дєєва Ю.В., Аналіз етіопатогенетичних факторів розвитку та прогресування перцептивних порушень. *Отоларингологія* № 1-2(6) 2023; 24-29. DOI 10.37219/2528-8253-2023-1-24.
3. Amirkhanova Margaryta, Dieieva Yulia. The association of polymorphisms in the *Bcl2*, *Bid*, and *Bax* genes on the development of sensorineural hearing loss. *Otorhinolaryngology* №3(6) 2023; 29-37. DOI 10.37219/2528-8253-2023-3-29.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційного дослідження було представлено й обговорено на засіданні кафедри 4 жовтня 2023р, протокол № 138. Результати дисертації подано в матеріалах Науково-практичної конференції «Сучасні технології діагностики та лікування в оториноларингології», 2023р., м. Львів.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота викладена державною мовою на 136 сторінках машинописного тексту. Робота складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, двох розділів результатів власного дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел та додатку. Робота містить 14 таблиць та ілюстрована 27 рисунками. Список використаних літературних джерел містить 242 найменувань.

Практичне значення отриманих результатів.

1. Вивчення поліморфізму генів та їх асоціації з розвитком перцептивних порушень слуху та прогресування хронічної сенсоневральної приглухуватості може стати підґрунтям з'ясуванню етіопатогенетичних факторів захворювання, що, в свою чергу, приведе до вдосконалення методів специфічного та індивідуалізованого лікування.
2. Визначення переліку досліджень для складання генетичного паспорту людини може стати потужним превентивним заходом перцептивних порушень, особливо при роботі в умовах виробничого шуму.
3. Виявлення осіб з підвищеною чутливістю до шуму через поліморфізм різних генів, в тому числі, генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) створює можливість знизити ризик розвитку професійних захворювань серед робітників, які працюють в умовах виробничого шуму.
4. Визначення поліморфізму генів *Bcl-2* (rs2279115) та *Bax* (rs4645878) може бути використано як прогностичний критерій підвищеного ризику перцептивних уражень слухової функції у людей в умовах шуму.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасний погляд на етіопатогенез гострої та хронічної сенсоневральної приглухуватості.

1.1.1. Загальні поняття.

Сенсоневральна приглухуватість – поліетіопатогенетичне захворювання, яке характеризується порушенням перцептивним порушенням слухової функції і є результатом ураження будь-якої ділянки слухового аналізатора від рецепторів слухового нерву до слухової зони кори головного мозку та має високе медичне й соціальне значення. Порушення слуху, наявність шуму у вухах значною мірою порушують працездатність хворих, викликають зміни психоемоційного стану, дратівливість, порушення сну, а іноді й до інвалідизації [11]. За статистикою, люди з порушеннями слуху мають вищі показники госпіталізації [12] і навіть смертності [13], розвитку деменції [14] та депресії [15]. Не зважаючи на численні дослідження в області діагностики та лікування СНП, ці питання залишаються актуальними.

Згідно сучасних уявлень про етіопатогенез сенсоневральної приглухуватості, вплив факторів зовнішнього середовища складають лише 25% від випадків сенсоневральної приглухуватості, 50% викликають генетичні фактори і в близько 25% випадків етіологія не відома, але більшість дослідників схиляються до думки, що це теж генетичні зміни, які поки не вивчено [16].

1.1.2. Етіологія та патогенез

Етіологія ураження слухового аналізатора дуже різноманітна. Патогенез складний і до кінця ще не вивчений. Розвиток СНП може бути пов'язаний з судинною патологією головного мозку атеросклеротичної, гіпертонічної,

дисметаболічної [17, 18], вертеброгенної, травматичної природи [19, 20], внаслідок ототоксичного впливу фармацевтичних препаратів, спадкових факторів, токсичного впливу, впливу вірусів [21, 22, 23] та ін. У ряді випадків розвиток патології слухового аналізатора виникає в результаті впливу звуків, в тому числі акустичної травми гострої або хронічної, поєднаного впливу різних чинників фізичної природи. Питанням етіології і патогенезу СНП присвячено багато робіт [24, 25], в т.ч. експериментальних [26]. В сучасному житті шум такої інтенсивності, яка створює дискомфорт і больові відчуття, зустрічається досить часто. Небезпечно гучні звуки оточують нас постійно.

Вік є найбільш вивченою причиною зниження слуху. За дослідженнями, вікові зміни зазвичай двобічні, симетричні і стосуються найбільш високих частот – 2000 Гц та вище [27], виникають через вікові пошкодження кохлеарних волоскових клітин і зниження функції судинної смужки.

Акутравма є другим з найбільш досліджених факторів впливу на перцептивну функцію слухового аналізатора [28]. В сучасному житті багато людей працює в умовах звукового навантаження, гостру або хронічну акустичну травму може також спричинити музика, в тому числі, використання навушниками, вибухи, стрільба, використання електроінструментів та інше. Патогенез пошкодження полягає в прямому механічному впливі тиску від інтенсивних звукових хвиль, а також активацією молекулярних шляхів, включаючи перевантаження кальцієм та утворення активних форм кисню [29]. До цієї ж причини можна віднести і професійні фактори, виробничий шум.

Хімічні та лікарські речовини, примислові та побутові отрути можуть негативно впливати на слуховий аналізатор. До найбільш поширених належать аміноглікозиди, при використанні яких втрата або зниження слуху спостерігається приблизно в 20% [30]. Відсоток ураження збільшується в разі повторних курсів терапії, наприклад у пацієнтів з кістозним фіброзом [31]. Часті ураження також викликає застосування цисплатина, особливо при одночасному опроміненні області голови у пацієнтів з раком голови та шиї – до 65% [32, 33]. Особливо сприятливими до нього є діти.

Хронічні захворювання. Особливий вплив на виникнення та розвиток перцептивних порушень слухового аналізатору є наявність у пацієнтів цукрового діабету 2 типу та серцево-судинних захворювань, остеохондрозу шийного відділу хребта.

Генетичні мутації. Відомо понад 100 генів, мутації в яких призводять до втрати або зниження слуху. Підраховано, що приблизно 1% генів беруть участь в процесі проведення та сприйняття звуку [34]. Близько 30 мутацій пов'язані з прогресуючим порушенням слуху в дорослому стані і успадковуються за аутосомно-домінантним типом [35]. Генетичний фактор, як причину втрати слуху в дорослому віці, оцінюють від 25 до 55% [36]. Інші зміни генів призводять до вродженої патології слуху, яка може бути як ізольованою, так і частиною синдрому. Ідентифікація генетичних модифікацій, які посилюють або послаблюють сприйнятливність до набутого порушення перцептивної функції під дією різних факторів, включаючи вік, шум та інші, буде великим кроком вперед у вивченні етіопатогенезу сенсоневральної приглухуватості та пошуку обґрунтованих методів лікування.

Серед більш рідких причини порушення слуху слід відзначити новоутворення, в тому числі, мозку, алергічні захворювання.

Достатньо часто спостерігаються комбіновані ураження органу слуха.

Ідіопатична раптова сенсоневральна приглухуватість (ІРСНП) становить від 5 до 20 випадків на 100000 населення. Критеріями постановки є зниження слуху щонайменше на трьох частотах понад 30 дБ протягом 72 годин або менше. Хоча остаточна причина розвитку такого стану невідома, але вважається, що вона є вірусною, судинною (мікротромбоемболія, спазм судин та інше) або аутоімунною. Деякі дослідники виділяють ще метаболічні, запальні та окиснювальні фактори. Діагноз встановлюється після виключення основних відомих причин розвитку порушень слуху [37]. Характерним для такого стану є достатньо високий відсоток спонтанного одужання. Для кращої діагностики такого стану та прогнозування перебігу було проведено ряд досліджень з виявлення показників, які можна було б вважати маркерами

позитивної динаміки та прогнозу перебігу ідіопатичного порушення перцептивної функції слуху [38-41]. Серед них низький показник нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення [42, 43, 44], низька кількість моноцитів та їх співвідношення до ліпопротеїдів високої щільності [45, 46, 47], низька концентрація фібриногену [48], тромбоцитарного глікопротеїну IIIa та TNF- α [49, 50].

Одним з механізмів розвитку порушень вважається кохлеарне синаптичне пошкодження. Неінвазивного методу визначення такого пошкодження не розроблено, і в цьому напрямку проводяться активні дослідження [51, 52].

Окислювальний стрес, як прояв каскаду запальної реакції, можна назвати одним з найпотужніших патогенетичних механізмів пошкодження волоскових клітин шляхом апоптозу за рахунок утворення активних форм кисню (АФК).

1.1.3. Класифікація

Втрату слуху окрім за етіопатогенетичним фактором можна класифікувати за іншими критеріями. Серед них зокрема:

1. Міжнародна класифікація порушень слуху (оцінка проводиться, а середнім показником сприйняття звуків на частотах 500 Гц, 1000 Гц, 2000 Гц та 4000 Гц, визначених на стороні краще сприймаючого вуха):
 - Нормальний слух – сприйняття звуків інтенсивністю до 20 дБ. При цьому відсутні або мінімальні проблеми зі слухом.
 - Легка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 20 до 35 дБ. При розмові людина може мати незначні проблеми.
 - Помірна втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 35 до 50 дБ. На цьому рівні помірні проблеми під час спілкування.

- Помірно важка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 50 до 65 дБ. Спілкування з іншими значно утруднене. Людина чує голосну розмову.
- Важка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 65 до 80 дБ. Людина практично не чує розмову, значні труднощі в спілкуванні.
- Надзвичайно важке порушення слуху (або глибока втрата слуху) – підвищення рівнів сприйняття звуків від 80 до 95 дБ. Характерним є надзвичайно поганий слух. Звичайну розмову людина не чує.
- Повна або загальна втрата слуху (глухота) – підвищення рівнів сприйняття звуків понад 95 дБ.

2. За віком, в якому почались зміни:

- Прелінгвальна;
- Постлінгвальна;
- Фізіологічна або вікова.

3. За механізмом:

- Кондуктивна;
- Сенсоневральна;
- Змішана.

4. За розвитком симптомів:

- Раптова (до 12 годин)
- Гостра (до місяця)
- Хронічна (понад місяць), яка за перебігом може бути стабільна та прогресуюча.

1.1.4. Методи лікування та реабілітації

Більшість напрямків медикаментозного лікування сенсоневральної приглухуватості направлені на блокування шляхів загибелі волоскових клітин, зменшення впливу активних форм кисню.

Генна терапія в основу бере дослідження на тваринах, за якими були використано генні вектори, що можуть регулювати розвиток волоскових клітин та викликати їх регенерацію [53]. Місцеву терапію запропоновано проводити через середнє вухо, овальне та кругле вікно, дифузією препаратів у перилімфу [54]. Технологія непридатна для лікування людей. Було досягнуто значне покращення стану слухової функції на мишачих моделях при синдромі Ашера [55-58], Джервелла та Ланге-Нільсена [59] методом заміни патологічного гену. Окрім заміни генів, перспективним є метод супресії генів, який вже використовується на моделях тварин, а також застосовується для лікування ритиніту, викликаного цитомегаловірусом, у пацієнтів з синдромом набутого імунodefіциту [60] та спадкового амілоїдозу у дорослих [61], а також цілеспрямоване редагування генів, яке має великий потенціал, але ще не має повноцінного впровадження в практику [62-65], вірус простого герпесу людини [66, 67], вірус вакцини віспи [68] та інші. Для досягнення максимального титру вірусу у внутрішньому вусі, пропонуються такі основні шляхи введення (ін'єкції): в мембрану круглого вікна [69], каналостому, кохлеостому в ендолімфу або перилімфу, поєднаний шлях в мембрану круглого вікна з каналною фенестрацією [70-73].

Слухопротезування як метод реабілітації. Метою даного методу є правильний підбір слухового апарату, за допомогою яких пацієнти зможуть чути навіть тихі звуки без больового відчуття та дискомфорту. Не дивлячись на простоту використання, відсоток пацієнтів, які носять слухові апарати навіть у США становить всього 14% [74]. Найбільш частими причинами, які вказують як причину відмови, є косметичний дефект, відсутність комфорту, незвичність сприйняття звуку, витрати на апарат та його обслуговування.

Також доступні різні неналаштовані пристрої, які називаються «допоміжними слуховими технологіями»; вони включають телефони з підсиленням звуку, візуальні технології, такі як субтитри, відеоконференції та візуальні або вібротактильні сповіщення [75].

Кохлеарні імпланти. Люди з вираженою або повною втратою слуху зазвичай не можуть отримати значного покращення за допомогою використання слухового апарату. В таких випадках пацієнтам рекомендують хірургічну імплантацію пристроїв, які можуть викликати електричну стимуляцію слухового нерву в обхід кохлеарних клітин [76]. Основною причиною відмови від такого методу лікування є його вартість.

Неспецифічні методи лікування порушень слуху. Лікування стовбуровими клітинами. Були спроби підсадки «наївних» клітин у внутрішнє вухо мишей, для прискорення формування опірних клітин та їх перетворення на волоскові, але цей метод виявився ефективним лише в гострому періоді і малоефективним у випадках, коли порушення слуху відбулось більше, ніж за кілька місяців до лікування. Це автори пояснюють втратою молекулярних зв'язків між волосковими та опірними клітинами [77]. Найбільший потенціал мають ембріональні стовбурові клітини, але в більшості країн це викликає етичні питання [78, 79].

1.2. Тинітус

1.2.1. Загальні поняття

Тинітус — це слухове фантомне відчуття, яке виникає, коли немає зовнішнього звуку. Шум у вухах зустрічається у 10-15% населення. [80, 81, 82]. У 2000 році в Англії було проведено дослідження епідеміології тинітусу з участю опитування 34050 дорослих. Результати показали, що у 10,1% відчувають постійно або періодично (але більше 5 місяців) шум у вухах, з них у 5,1% одnobічний, 5,5 двобічний. Близько 5% дорослих описують шум як помірно дратуючий, 2-4% визначають його значним, з приводу чого проходили лікування в стаціонарі, у 0,5% опитаних значно впливав на життя, що призводило до психічних розладів, порушення сну, зниження працездатності та загального виснаження [83, 84]. Ряд досліджень були

направлені на вивчення розповсюдження та особливостей проявів тинітусу у дітей та підлітків. У 2016 році опублікована стаття Hall et al., за результатами якої у 3,1% підлітків віком 11 років клінічно визначався шум у вухах, у 9,6% з них були прояви гіперакузису. За даними дослідження Humphris et al. в цьому ж році 3,7% дітей в 11 років мали прояви гіперакузису, при цьому у 41,7% з них скаржились на шум у вухах.

1.2.2. Етіологія та патогенез

Більшість випадків тинітусу, але не всі, пов'язані з порушенням слуху різної етіології. Пониження слуху призводить до зменшення інтракортикального гальмування і збільшення швидкості спонтанного збудження нейронів слухового аналізатора, включаючи дорсальне кохлеарне ядро, центральне ядро нижнього горбика, слухової зони кори головного мозку. Саме це збудження розглядають як основу виникнення відчуття фантомного звуку [88]. Такий механізм підтверджує дослідження за участю людей з нормальним слухом та відсутністю скарг на шум у вухах. Людей без скарг на зниження слуху чи наявність шуму в вухах розміщували у звуконепроникній кімнаті протягом 10 хвилин, після чого майже всі вони вказували, що чули звук, який за описом та характером дуже схожий на той, що описують люди з шумом у вухах – ніби мозок зменшує гальмування і посилює нервові збудження вздовж слухового аналізатору за відсутності слухового навантаження [89].

Подібно до того, як деякі пацієнти з нейропатичним болем сприймають дотик до шкіри як хворобливе відчуття, часто пацієнти з шумом у вухах сприймають певні звуки як болісні або неприємні (гіперакузія, мізфонія). Відчуття тривоги та психічних змін у пацієнтів з фантомним болем аналогічні порушенням сну, депресії, тривоги та іншим змінам у людей з шумом у вухах [90].

Деякі клінічні дослідження вказують на те, що походження шуму у вухах не завжди є периферичним. Перерізання восьмої пари черепно-мозкового

нерву для полегшення стану пацієнтів з тинітусом в 34-38% випадків не давало ефекту. Це вказує на можливе центральне походження виникнення відчуття шуму [91]. Крім цього, можливим механізмом розвитку тинітусу було визнано реорганізацію коркової тонотопічної карти – нейрони з пошкодженої ділянки, яка сприймає певні частоти, починають сприймати імпульси від менш ушкоджених ділянок, що відповідають іншим частотам [92]. Тим не менш, деякі психоакустичні висновки суперечать такому твердженню, адже домінуюча частота шуму частіше припадає не на край втрати слуху (як мало б бути за теорією реорганізації тонотопічної карти), а на область частот втрати слуху [93,94]. До того ж є дані, що шум у вухах може виникнути у людей без порушення слуху, які демонструють нормальні пороги під час тональної аудіометрії в межах 125-8000Гц [95].

Реорганізацію карти слухової ділянки часто порівнюють з подібними явищами після ампутації кінцівки [96]. Припускають, що такий розвиток можливий, коли нейронна активність в сенсорній корі пов'язана з іншими частинами головного мозку, в першу чергу, фронтальною, тім'яною та лімбічною областю мозку. Це уявлення підтверджується нейровізуалізацією людини, яке виявляє залучення не лише слухової системи, а й префронтальні та емоційні центри в виникненні шуму у вухах [97].

Жодна із запропонованих теорій виникнення тинітусу не доведена однозначно. Більшість робіт з доказової бази було проведено на тваринах однак немає абсолютних підтверджень, що результати цих досліджень можна спроектувати на людину [98, 99].

1.2.3. Методи діагностики

В більшості випадків діагноз тинітусу встановлюється без об'єктивних тестів, на основі анамнезу хвороби, скарг та характеристики шуму самого пацієнта, на оцінці впливу шуму на пацієнта та його родину. Основними характеристиками тинітусу є його локалізація та характер – постійний або періодичний, ритмічний чи пульсуючий та інше. Важливим є визначення

впливу шуму у вухах на сон пацієнта, на можливість концентрації уваги. В світі існують різні анкети для опитування таких пацієнтів, наприклад інвентаризація недоліків шуму у вухах (the tinnitus handicap inventory), функціональний індекс шуму (the tinnitus functional index) [100, 101, 102]. Також існують анкети для визначення супутніх станів, таких як гіперакузис, схильність до депресії, наявності психологічного стресу та інше [103, 104]. Тести, за допомогою яких встановлюють відповідність між гучністю та висотою тинітусу, є складними, важкими для пацієнтів. Оскільки це мало впливає на вибір та планування методу лікування, таку діагностику проводять не часто [105]. Серед додаткових методів дослідження вказують МРТ, УЗД, КТ, КТ-ангіографію, ММР-ангіографію, звичайну ангіографію.

Зазвичай, терапевтичні підходи мають емпіричний характер. Враховуючи велику кількість запропонованих інструментів оцінки шуму у вухах, була спроба відокремити різні фенотипи шуму у вухах для покращення індивідуалізованого підбору лікування. В центрі по вивченню тинітусу в Берліні було обстежено 1228 пацієнтів з хронічним шумом у вухах, заповняли 14 анкет для оцінки дистресу, викликаного основними скаргами, гучності шуму, частоти та локалізації, а також для визначення супутніх станів – депресії, відчуття стресу, якість життя, фізичне та психічне здоров'я, особистого ставлення до симптомів та ставлення до їх подолання, соціально-демографічні показники. На основі даних анкет можна ідентифікувати підгрупи пацієнтів, що дозволить обрати найкращу стратегію лікування [106].

1.2.4. Методи лікування

Для проведення терапії шуму у вухах потрібно в першу чергу визначити який він за характером (об'єктивний чи суб'єктивний), і виключити варіанти, коли інша виліковна патологія спричиняє виникнення вторинного тинітусу. Стандартна терапія має враховувати причинно-наслідковий зв'язок. Є основних два напрямки лікування: (1) звукова терапія, яка включає слухові апарати, в тому числі комбіновані, та звукові генератори; (2) дистрес-терапія

– релаксаційна, когнітивно-поведінкова (КПТ). Може використовуватись комбіноване лікування. Також можна класифікувати як акустично-фізичні, психологічні та фармакологічні методи лікування [107].

У 2009 році в Англії вийшов науковий посібник, який описує три етапи надання допомоги людям з шумом у вухах. На першому етапі діагностика проводиться спеціально навченими лікарями первинної ланки для виявлення інших патологій, які викликають симптоми, наприклад, інфекційні захворювання, слухові галюцинації, ураження головного мозку та інші. Пацієнтів та направляють до вузьких спеціалістів з метою лікування основного захворювання. Інші пацієнти розділяються на дві категорії. Пацієнти з легкими випадками направляються в місцеві аудіологічних центрах діагностики для підбору слухових апаратів в разі необхідності. До другої категорії відносяться пацієнти з шумом у вухах та ознаками тривожності чи депресії, значним порушенням сну, різким зниженням слуху, вертіго, вперше діагностоване асиметричне порушення слуху, наявність гіперакузії та інше, вони направляються на другий етап допомоги. На цьому етапі проводиться комплекс поглиблене, включаючи аудіологічне, вестибулярне, психологічне, обстеження та більш складна терапія, наприклад встановлення імпланту, контроль проведеного лікування та його корекція. В разі шуму тяжкого ступеню або такого, що не піддається лікування, при підозрі на внутрішньочерепну патологію, пацієнта направляють на третій рівень медичної допомоги, в якому є багатoproфільна команда для більш спеціалізованої оцінки та лікування [108].

Звукотерапія є клінічно поширеним методом лікування шуму у вухах [109]. Розроблено різні форми звукової терапії, але існують суперечності щодо критеріїв вибору та ефективності різних форм звукової терапії в клініці.

За результатами ретроспективного дослідження у 2008 році, в яке ввійшли 1440 пацієнти, яким було проведено слухопротезування, було виявлено, що різниця в динаміці сприйняття шуму не велика між одnobічною та двобічною корекцією, але статистично значуще покращення пацієнти

відмічали при використанні аналогових апаратів в порівнянні з цифровими [110]. Було повідомлено про значні покращення ($P < 0,001$), які стосувались сприймання шуму пацієнтом, впливу його на емоційний, психологічний стан, сон і працездатність. При цьому, ефект від лікування зберігався протягом 18 місяців [111]. Аналогічну терапію оцінювали в іншому дослідженні за допомогою шкали ВАШ, яка показала, що у 68% випадків значно покращилось сприйняття шуму у вухах [112]. Пізніше була проведена оцінка змін сприйняття через 12 місяців після імплантації. Результати показали статистично значуще зниження показників шкали оцінки тинітусу у 66% випадків. Кількість пацієнтів, які описували шум у вухах як помірний або важкий, знизилась з 37% до 10% [113, 114]. Зменшення шуму у вухах після імплантації можна пояснити кількома механізмами: звикання, акустичне маскування, кортикальна реорганізація та пряма електрична нервова стимуляція. Але все таки, деякі автори вказують, що користь від використання імплантів треба інтерпретувати з обережністю, особливо у випадках односторонньої глухоти [115]. Поряд із слухопротезуванням та імплантами для покращення сприйняття шуму у вухах використовуються зовнішні генератори звуків. При цьому було показано, що більшу ефективність мали амплітудно- та частотно-модульовані тони в порівнянні з використанням немодульованих тонів або білого шуму [116]. Також терапевтичний ефект використання широкопasmового шуму виявився більш ефективним для лікування тинітусу в порівнянні з змішаними чистими тонами [117]. Найкращий ефект показала індивідуально підібрана багатокomпонентна терапія, особливо у пацієнтів, у яких частота шуму припадає на рівень втрати слуху [118, 119].

Але через обмеженість даних досліджень, переконливих даних про високу ефективність звукової терапії для лікування шуму у вухах не було виявлено, що потребує подальшого вивчення питання з залученням більшої кількості даних [120]. Основними критеріями оцінки результатів були зміни гучності чи тяжкості шуму у вухах та/або вплив на якість життя. Вторинними

результатами були зміна порогів слуху чистого тону та побічні ефекти лікування. Після аналізу було виявлено, що звукотерапія, включаючи зовнішні генератори шуму та слухові апарати, не має значних переваг в порівнянні з такими методами лікування, як техніка релаксації, когнітивно-поведінкова терапія, впливу звуків навколишнього середовища та інші [121]. Також існують припущення, що терапія звуком може підвищувати інвалідність серед людей з шумом у вухах [122]. У 2018 році був проведений ще один аналіз робіт щодо порівняння різних методів звукової терапії між собою. Основними критеріями оцінки були тяжкість симптомів, спричинених шумом, на основі розширеного анкетування. вторинними критеріями були симптоми депресії, тривоги, якість життя, а також біль або дискомфорт чи подразнення шкіри, пов'язані з застосуванням пристроїв. В жодному з включених досліджень не вивчалось питання побічних ефектів від використання пристроїв та вторинних результатів симптомів депресії, тривоги та інших психологічних змін [123, 124, 125].

Оскільки результати звукотерапії не завжди приносять результат, залишаються актуальними методи, які сприяють звикання до симптому. До таких методів зокрема відноситься когнітивно-поведінкова терапія (КПТ) та інші нейрофізіологічні методи, а також групова чи інтернет терапія [126, 127].

Психологічний, або когнітивно-поведінковий, метод лікування оснований на точці зору, що в значній кількості випадків шум є не органічною проблемою, а пов'язаний з негативною оцінкою себе та навколишнього середовища, дисфункцією уваги та підвищеним психофізіологічним збудженням [128]. Різновидом такої терапії може бути поведінкове втручання на основі біологічного зв'язку [129]. У 2011 році було проведено матаналіз 15 робіт з вивчення ефективності когнітивно-поведінкової терапії, який показав ефективність КПТ, навіть в віддалений період [130].

Найкраще досліджена із нейрофізіологічних методів є терапія повторного навчання шуму у вухах (Tinnitus retraining therapy (TRT)), яка поєднує в собі консультування та звукову терапію [131]. Результат аналізу 123

робіт вказує на більшу ефективність методики повторного навчання шуму в порівнянні з маскуванням шуму, але дослідження низької якості, а тому питання потребує подальшого вивчення [132].

У короткостроковому плані лікування шуму у вухах, ймовірно, продовжуватиметься використання методів лікування, які сприяють звиканню, але кінцевою метою є лікування або методи лікування, які пригнічують сприйняття шуму у вухах [133].

Після виникнення теорії впливу окислювального стресу на виникнення шуму у вухах, було запропоноване використання різноманітних антиоксидантних сполук як потенційного підходу до лікування, яке зменшує дискомфорт та інтенсивність проявів [134]. Також було проведено дослідження ефективності застосування закису азоту, як анестетику та заспокійливого засобу із підтвердженою безпекою [135]. За статистикою лише в Англії виписують понад 100000 рецептів на бетагістин щороку, і близько 10% лікарів первинної ланки використовує його для лікування шуму у вухах, хоча аналіз досліджень щодо такого лікування показав неоднорідність результатів, відсутність значущої різниці між плацебо та одномісячним прийомом бетагістину [136]. Аналіз робіт, присвячених оцінці впливу цинку на тинітус, показав, що докази були низької якості, динаміка не довготривалою (до 4 місяців) і не виявили суттєвої різниці між групами цинку та плацебо, в деяких дослідженнях використовували неперевірені інструменти та шкали для оцінки змін шуму у вухах [137, 138].

На початку 21 століття була виказана гіпотеза, що гепабентин зменшує суб'єктивні та об'єктивні прояви шуму. Учасники отримували препарат протягом 20 тижнів. Результати показали покращення стану, особливу у пацієнтів з акустичною травмою. Але вибірка була маленькою і докази виявились низької якості [139, 140].

Серед інших, менш розповсюджених методів лікування хронічного шуму у вухах слід згадати про транскраніальну магнітну стимуляцію над

скронево-тім'яною корою [141] та глибоку стимуляцію мозку в ділянці хвостатих нейронів та смугастого тіла [142, 143].

1.3. Поліморфізм генів в розвитку СНП та тинітису

Перцептивні порушення можуть бути вродженими та набутими. Вроджені зустрічаються достатньо часто – 1/1000 новонароджених, і є найчастішою вродженою вадою в розвинених суспільствах [144]. До введення в практику тактики раннього виявлення порушень слуху у дітей, глухоту або значне зниження слуху діагностували в середньому в 2-3 роки, що значно перевищує вік формування мови та мовлення [145]. Спадкова втрата слуху складає близько 40-45% усіх випадків порушення слуху [146]. Її можна розділити на несиндромні, які складають приблизно 70% випадків, обмежені внутрішнім вухом, та синдромні, які є частиною аномалій організму. Несиндромальні можна розділити на типом успадкування на аутосомно-домінантні (DFNA), аутосомно-рецесивні (DFNB) та зчеплені з X-хромосомою (DFN) [147].

1.3.1. Несиндромні форми втрати слуху.

Серед несиндромних форм втрати слуху аутосомно-рецесивний тип наслідування зустрічається найчастіше – в 55%, аутосомно-домінантний в 37%, зчеплений з X-хромосомою в 4% і 1% відносять до інших причин (наприклад, зчеплених з Y-хромосомою). Вивчено багато генів, які мають вплив на різні ланки будови внутрішнього вуха та його функції [148].

1. Стероцилії волоскових клітин прикріплюються до покривної мембрани за допомогою різноманітних адгезивних білків, порушення структури або функції яких впливають на роботу внутрішнього вуха. Зміни генів, які мають вплив на цю ланку патогенезу, призводять до втрати слуху, зокрема:

- DFNA4 призводить до глухоти за аутосомно-домінантним типом, порушує роботу адгезивного білку CEACAM16 [149];
 - DFNB12, аутосомно-рецесивний тип наслідування, викликають глухоту, пов'язану з пігментним ретинітом і вестибулярною дисфункцією [150];
 - DFNB18, аутосомно-рецесивний тип, порушує роботу кадгерину [151,152];
 - DFNB16, аутосомно-рецесивний тип, впливає на структуру та функцію стереоциліну [153];
 - DFNB22, аутосомно-рецесивний тип, пов'язаний з білком отоанкорін [154];
 - DFNB23, аутосомно-домінантний тип, пов'язаний з протокадгеніном, α -текторином [155];
 - DFNA9, аутосомно-домінантний тип, пов'язаний з цистеїном, викликає глухоту з вестибулярними порушеннями [156] та інші.
2. Транспортні білки – сімейство міозинів, які за участю АТФ транспортують різні види білків, необхідних для нормального функціонування структур внутрішнього вуха:
- DFNB67, пов'язаний з мутантним алелем *Tmhs*, який кодує білок тетраспану [157];
 - DFNB84, аутосомно-рецесивний тип, втрата слуху супроводжується вестибулярними порушеннями [158];
 - DFNA22/DFNB37, пов'язані з дефектом міозину VI [159];
 - DFNA11/DFNB2, пов'язані з дефектом міозину VIIa [160];
 - DFNA17, Пов'язаний з нем'язовим важким ланцюгом міозину IX [161] та інші.
3. Білки синапсів, до яких належить:
- білок VGLUT3, є рецептором глутамату, кодується SLC17A8 у локусі DFNA25, спадкується за аутосомно-рецесивним типом;

- Отоферлін, кодується OTOF, приймає участь в кальцій-залежному злитті везикул із плазматичною мембраною, спадкується за аутосомно-домінантним типом.

4. Білки цитоскелету

- DFNB36 – втрата слуху, пов’язана з білком еспіном, який забезпечує стабільність стереоциліарного цитоскелету [162];
- DFNB24 – глухота, пов’язана з радиксином, який проходить уздовж стереоцилії, зв’язуючи нитки актину з плазматичною мембраною [163];
- DFNA20/26 – глухота, спричинена зміною актину, та інші [164, 165].

5. Білки, що підтримують іонний гомостаз:

- DFNB29 – глухота, при якій буде відсутній білок клаудін або він не буде функціонувати, що призводить до зміни електричного потенціалу простору навколо зовнішніх волоскових клітин;
- DFNA5 – глухота, пов’язана з білком щільного з’єднання 2, який забезпечує тісні з’єднання з актиновим цитоскелетом та інші [166].

6. Зчеплені з X-хромосою:

- DFN2 – постлінгвальне несиндромальне порушення слуху, пов’язані з мутацією в PRPS1 в локусі Xq22, що призводить до втрати активності фосфорибозилпірофосфат (PRPP) синтетази 1 [167];
- DFN3 – порушення слуху в результаті мутації в POU3F4 в локусі Xq21.1, який кодує фактор транскрипції [168];
- DFNX4 – постлінгвальне прогресуюче порушення слуху в результаті мутації білку малих м’язів, але це направлення потребує продовження досліджень [169];

7. DFN6 – глухота, для якої характерно початок у хлопчиків шкільного віку з прогресуючим перебігом, у жінок – носіїв може бути помірне порушення сприйняття високих частот. Пов’язано з локалізацією мутації в регіоні Xp22 та інші [170, 171, 172].

8. Інші варіанти:

- DFNY – глухота, що передавалась лише по чоловічій лінії, скоріше за все, зчеплена з Y-хромосоною, але ген ще виявлено [173];
- Порухення слуху, пов'язані з мітохондріальними мутаціями [174].

1.3.2. Синдромні форми порушення слуху.

Синдромні порушення є проявом синдрому, який проявляється і за межами органу слуху. Серед таких синдромів найбільш вивченими є

1. Синдром Альпорта – порушення стосуються базальних мембран через порушення колагенового матриксу типу IV, проявляється прогресуючою нирковою недостатністю та глухотою. Може успадковуватись за аутосомно-рецесивним та X-зчепленим типом [175, 176].
2. Брахіо-ото-ренальний синдром, за розвиток який відповідає ген EYA1, він є аналогом гену відсутності очей у дрозофіли, має аутосомно-домінантний тип успадкування [177].
3. Синдром CHARGE, характеризується колобомою ока (C), патологією серця (H), атрезією хоан (A), затримкою росту та розвитку (R), аномалією сечостатевої системи (G), патологією зовнішнього та внутрішнього вуха (E). Має аутосомно-домінантний тип успадкування [178].
4. Синдром Джервелла та Ланге-Нільсена, характеризується вродженою двобічною глухотою в поєднанні з подовженим інтервалом QT, синкопальними нападами, шлуночковими аритміями та високим ризиком раптової смерті. Має аутосомно-рецесивний тип успадкування. Вплив на вухо відбувається, ймовірно, через порушення гемостазу ендолімфи [179].
5. Хвороба Норрі, X-зчеплений розлад нервової системи, для якого є характерним наявність фіброзних і васкулярних змін сітківки, що викликає прогресуюче погіршення зору до сліпоти, та прогресуюче порушення слуху [180].
6. Синдром Пендреда, аутосомно-рецесивний тип глухоти [181].

7. Синдром Перро, аутосомно-рецесивне захворювання, яке характеризується дигенезією яєчників у жінок, сенсоневральною глухотою у жінок і у чоловіків, іноді й іншими неврологічними проявами [182, 183].
8. Синдром Стіклера, характеризується очними, слуховими, орофаціальними та кістковими аномаліями, може наслідуватись за аутосомно-рецесивним та аутосомно-домінантним типом, пов'язують з мутацією генів колагену IX [184].
9. Синдром Трічера Коллінза, розвиток якого пов'язаний з рибосомопатією, може наслідуватись за аутосомно-рецесивним та аутосомно-домінантним типом [185].
10. Синдром Ваарденбурга, спричинений дефектом функції ембріонального нервового гребеня, характеризується глухотою з пігментними аномаліями, може наслідуватись за аутосомно-рецесивним та аутосомно-домінантним типом [186, 187].

В 2016-2017рр було проведено перехресне дослідження 4000000 однонуклеотидних поліморфізмів за участю 167 пацієнтів з шумом у вухах та 749 дорослих без скарг на шум (контрольна група). Однак жоден з результатів не досягли статистичної значимості, що, на думку авторів, може бути пов'язано з малою вибіркою [188].

1.3.3. Патогенетичні механізми генетичних порушень слуху.

Протягом останніх десятиліть все більше з'являється наукових досліджень, присвячених питанню ролі поліморфізму різноманітних генів в патогенезі сенсоневральних порушень слуху. За ланками патогенезу можна виділити кілька напрямків.

1. Мікросудинні захворювання внутрішнього вуха та порушеннями функції ендотелію. Це може призводити до пошкодження судин внутрішнього вуха, мікротромбоемболії, мікрокрововиливам та спазмам в них, в перш чергу, лабіринтової артерії [189.]. Було знайдено корелятивний зв'язок між рядом генетичних поліморфізмів, що відповідають за ендотеліну та

захворюваннями серцево-судинної симптоми, включаючи атеросклероз. Так, декілька поліморфізмів EDN1 корелюють з тромботичними змінами [190]. Ендотеліальна синтаза оксиду азоту продукує NO, викликаючи розслаблення гладеньких м'язів. Було виявлено статистично значущий зв'язок між поліморфізмом гена eNOS Glu298Asp та виникненням ідіопатичної сенсоневральної приглухуватості [191]. Castiglione та ін. висунув гіпотезу, що гомозиготний генотип FPN1 -8GG впливає на особливості метаболізму іонів двовалентного заліза в судинній смужці, які призводять до підвищення їх концентрації в ендолімфі і асоціюються з підвищеним ризиком раптової втрати слуху [192]. Kitoh та ін. в результаті дослідження зв'язку між поліморфізмом гену супероксиддисмутази (забезпечує захист від дії ототоксичних речовин) SOD1 та виникненням РСНП прийшли до висновку, що rs4998557 може бути асоційований з підвищеним ризиком виникнення захворювання [193].

2. Запалення, окислювальний стрес. Вивчення поліморфізму MTFHR p.Ala222Val, мутація якого знижує функцію метіоніну і призводить до порушень роботи тромболітичної ланки гемостазу, виявили значний вплив на розвиток порушень функції внутрішнього вуха [194]. Ряд досліджень, присвячених вивченню генетичних особливостей реакції на окислювальний стрес і сприйнятливостю до раптової втрати слуху, не виявив статистично значущих відмінностей [195]. Також не було виявлено зв'язку між мутацією p.Arg534Gln фактору V Лейдена, який пов'язаний зі станом гіперкоагуляції та тромболітичними розладами, та ризиком виникнення перцептивних порушень [196]. Було виявлено зв'язок між поліморфізмом rs660339, мітохондріальним білком-2 (UCP2) та розвитком РСНП [197] й пресбіакузису [198]. Tian та ін. в свої роботах вивчали роль поліморфізмів інтерлейкіну-6 та молекули міжклітинної адгезії (ICAM-1) у виникненні сенсорних порушень. Було виявлено, що наявність сумісного поліморфізму цих факторів в значному ступені впливало на ризик розвитку ІРСНП [199].

3. Зміни в калієвих каналах. Результати досліджень показали можливий зв'язок між поліморфізмом гену KCNE1 та виникненням тинітусу [200], а також між мутантним алелем A rs4660470 в KCNQ4, що впливає на рециркуляцію калію 4 та підвищеним ризиком розвитку раптової втрати слуху[201]. Але цей напрямок потребує вивчення інших генів, які мають відношення до гемостазу калію. У 2018 році Sanlin та ін. показав, що поліморфізм rs11928865 має вплив на схильність до втрати слуху у пацієнтів у віці понад 50 років [202]. В це же час ряд досліджень не знайшли статистично достовірного впливу поліморфізму гену метаболічного рецептору глутамату 7 на втрату слуху в китайській популяції серед працівників під дією шуму [203, 204].

Серед основних груп поліморфізмів генів, які мають вплив на виникнення тинітусу, можна виділити наступні.

1. Кардіоваскулярні. Було знайдено зв'язок між поліморфізмом гена ADD1 G460W (ангіотензинперетворювального фермента) і схильністю до важкого хронічного шуму у вухах – генотип GW підвищує ризик захворювання в 2,5 рази порівняно з іншими генотипами [205].
2. Нейротрофічні. В ранньому розвитку центральної частини слухового нерву та внутрішнього вуха відіграють роль нейротрофічні фактори головного мозку. Поліморфізм генів, які мають вплив на роботу цих факторів, може бути причиною розвитку тинітусу [206, 207].
3. Функціонування калієвих каналів. Поліморфізм гену субодиниць калієвого каналу, KCNE1, має вплив на дефекти дозрівання центральних відділів слухового нерву і має кореляційний зв'язок з хронічним шумом у вухах [208, 209].
4. Функціонування серотонінових рецепторів та транспортних білків. Однак дослідження в цьому напрямку потребують подальшої роботи, оскільки було показано лише залежність серотоніну на депресію, яка часто присутня у пацієнтів з шумом у вухах [210, 211].

Протягом двадцяти років з'явилися роботи по дослідженню ролі апоптозу в патогенезі перцептивного порушення слуху.

1.4. Апоптоз

1.4.1. Загальні поняття.

При фізіологічному функціонуванні організму, тканин та клітин в ньому, існує баланс між утворенням нових клітин і їх руйнуванням та загибеллю.

Апоптоз – це контрольована смерть клітин, невід'ємна частиною її життя, під час якої відбувається руйнування геному клітини, подрібнення її на більш дрібні частини та утилізація їх за допомогою фагоцитів [212]. Особливу роль відіграє апоптоз в ембріологічному розвитку, в оновленні тканин (волосся, шкіра та інше), старінні, підтримці гемостазу. При наявності мутаційних змін в генах, які впливають на різні ланки апоптозного каскаду, може виникнути порушення регуляції даного процесу, його прискорення або уповільнення. Роль апоптозу в загибелі кохлеарних волоскових клітин, як причини виникнення перцептивних порушень, ще не досить зрозуміла і тому викликає зацікавленість протягом останніх двадцяти років. В процесі апоптозу розрізняють три стадії – ініціації або зустріч з сигналами; стадія сприйняття, аналізу та передачі сигналу молекулам – посередникам; стадія активації каспаз [213, 214].

Фаза ініціації запускається під дією зовнішніх (позаклітинних) та внутрішніх (клітинних) стресових факторів. Прикладом позаклітинних факторів може бути гіпоксія, радіація, акутравма та інші. Внутрішньоклітинні – пошкодження ДНК, ураження клітини вірусами. Ці стресові фактори запускають другу фазу, яка може мати зовнішній та внутрішній шлях. Зовнішній шлях реалізується за допомогою спеціальних рецепторів, розташованих на поверхні клітини. Найважливішими рецепторами такого

типу є Fas-R (рецептор антигену, асоційованого з фібробластами), який найчастіше експресується в тимусі, печінці, серці та нирках [215]. Він зв'язується з лігандами Fas-рецептора, які експресуються Т-кілерами та НК-клітинами. Аналогічно TNF-R (рецептор тумор-некротизуючого фактору) зв'язується зі своїм лігандом TNF [216, 217]. Утворення таких зв'язків призводить до активації в третій фазі апоптозу каспаз, в першу чергу, каспази 8 та каспази 10, які є ініціюючими каспазами, як і каспази 2 та 12, а також можуть активувати ефекторні каспази, до яких належать -3,-6,-7 [218]. Регулюються вони білковими регуляторами, до яких належать і білки родини *Bcl-2*. Найбільша активність притаманна каспазі-3, при активації якої клітина втрачає шанс на виживання і безповоротно йде до загибелі.

Внутрішній шлях, або мітохондріальний, реалізується внаслідок порушення структури ДНК під час старіння клітини або дії стресових факторів чи активних форм кисню, в результаті чого утворюються пори в мембрані мітохондрій, що призводить до розриву мембрани і виходу в цитоплазму апоптозних факторів: цитохром С, який разом з фактором *Apaf-1* (фактор активації апоптозних протеаз-1) активує каспазу-9, яка, в свою чергу, активує каспази-3,-6,-7; флавопротеїн *AIF* (фактор, який індукує апоптоз) переходить в ядро, активує ДНКазу і призводить до фрагментації ДНК; мітохондріальний білок *Diablo/Smac HtrA2/Omi* (високотемпературний білок) активують каспазу-3 [219].

Велику роль у внутрішньому шляху апоптозу відіграють білки сімейства *Bcl2*, яких відомо близько 25 [220]. Існують білки, що стимулюють апоптоз (проапоптичні) та блокують його (антиапоптичні). В клітині має бути тонкий баланс між цими білками. Антиапоптичні білки включають *Bcl-2*, *Bcl-xL*, *Bcl-W*, *Mcl-1*, *A1* і *Bcl-B*. Проапоптичні групи включають *Bid*, *Bim*, *Bad*, *Noxa* та *Puma*, а також групу з кількома доменами – *Bax*, *Bak* та *Bok* [221].

Дегрануляція білків *Bcl2* може призвести до багатьох видів раку – злоякісної гліоми, колоректальний рак, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома, серозна карцинома яєчників та інші [222, 223, 224]. В більшості

випадків механізми повністю не вивчені, але є дані, що збільшені рівні *Bcl2* були пов'язані з ризиком виникнення пухлин. Терапію, яка модулює пізню експресію *Bcl2* і *Bax*, можна розглядати як перспективний метод лікування онкологічних станів.

Також було проведено кілька досліджень, які показали, що збільшення каспаз-3, -7 і -9 супроводжує розвиток пресбіакузису [225, 226].

Було показано, що з віком знижується експресія *Bcl2* та збільшується експресія *Bax*, що призводить до порушення проникності мембрани мітохондрії і наближення волоскової клітини до апоптозу. Оскільки при зменшенні *Bcl2*, який зв'язується з *p53* у мітохондріях, може збільшитись вивільнення *p53*, що буде додатково діяти як активатор *Bax* і *Bid*, що також буде підвищувати ризик апоптозу волоскової клітини та розвиток преспіакузису. Дія ототоксичних препаратів, як і порушення роботи волоскових клітин, спричинена дією шуму, за механізмом схожі на апоптозний каскад [227, 228]. Хоча до кінця механізм не з'ясовано, вважається, що частина волоскових клітин гине через некроз, а частина через апоптоз внутрішнім та зовнішнім шляхами. Дослідники припустили, що під дією звуку або інших стресових факторів підвищується кількість активних форм кисню, що призводить до вивільнення *p53*, підвищення утворення *Bid* і *Bax*, зменшення експресії *Bcl-6* і *Bc-12*, штовхають волоскову клітину до клітинної смерті через апоптоз [229].

Цікавими є роботи щодо генетичних модифікацій, які мають вплив на різні ланки апоптозу. Так, було досліджено кілька генів, які мають прямий зв'язок з проапоптолітичним процесом.

1.4.2. Поліморфізм генів апоптозу

Цікавими є роботи щодо генетичних модифікацій, які мають вплив на різні ланки апоптозу. Так, було досліджено кілька генів, які мають прямий зв'язок з проапоптолітичним процесом. Так, в дослідженні Luping Zhan у 2020 році було виявлено, що гетерозиготний варіант *p.L183V* в *THOS1* може бути

вірогідною причиною несиндромальної втрати слуху. *THOС1* є частиною рибонуклеїнового комплексу, який відповідає за роботу *p53*. Мутація *THOС1* призводить до зменшення кількості волоскових клітин через підвищення апоптозу. Але оскільки дослідження стосувалось здебільшого рибок Данію, то цей шлях більш швидкої вікової втрати слуху потребує подальшого дослідження у людей [230].

Однонуклеотидні поліморфізми (SNP) генів, які впливають на експресію білків апоптозу, вивчались в різних областях медицини. В 2009 році Mia M. Gaudet та інші, показали, що мінорні алелі *Bid* rs8190315 впливають на ризик розвитку раку молочної залози [321]. У 2019 році Rafael Tomoya Michita та інші оцінювали шість SNP в генах шляхів, пов'язаних з апоптозом: *Fas* (rs2234767, rs1800682), *Fas-L* (rs763110, rs5030772), *Bax* (rs4645878) і *Bcl-2* (rs2279115) методом ПЛР на основі поліморфізму довжини (RFLP) на передчасне переривання вагітності. Результати показали, що генотип *Bax*-248G/A незалежно асоціюється з ідіопатичною раптовою втратою вагітності [232].

Nicole Zangrilli Hoh та інші проводили скринінг гена *Bcl-2* для визначення наявності генетичної мінливості в ньому та її впливу на важкість перебігу черепно-мозкової травми. Багатофакторний аналіз показав, що існує чотири SNP, які мали вплив на тяжкість перебігу: rs17759659, rs1801018, rs7236090 і rs949037. Наявність варіантного алеля для rs17759659 та rs1801018 була пов'язана з більш тяжким перебігом та вищою смертністю пацієнтів з травмами. Гомозиготні алелі для rs7236090 та rs949037 асоціювалися з більш сприятливим перебігом [233].

Одним з генів, мутація якого пов'язана з апоптозом та підвищеним ризиком розвитку некрозу волоскових клітин, є *DFNA5*, який кодує утворення білку родини гасдермінів. На дослідженнях з дріжджами було показано, що дикий тип гену *DFNA5* (wt *DFNA5*) не має впливу на клітини, тоді як мутантний варіант (mut *DFNA5*) призводив до зупинки клітинного циклу і загибелі клітини через апоптоз [234].

DFNA51 – інвертована геномна дуплікація ДНК, яка кодує білок *ZO-2*, що належить до мембраноасоційованих гуанлаткіназ. Цей білок бере участь в з'єднанні з актином у цитоскелеті та допомагає підтримувати бар'єр між перилімфою та ендолімфою. Надмірна експресія білків призводить до зниження фосфорилування, активації глікогенсинтазної кінази 3β та розвитку несиндромальної сенсоневральної приглухуватості через внутрішній, мітохондріальний, шлях апоптозу. Дослідження проводилось на мишах. Захворювання спадкується за аутосомно-домінантним типом [235, 236].

Мутація гену *DFNB74* пов'язана з аутосомно-рецесивним перцептивним порушенням слуху. Ген регулює роботу редуктази *B3* і має чотири ізоформи, три з яких (*B, C, D*), знаходяться в мітохондріях. Редуктаза *B3* кодує метіонін сульфоксид редуктазу, яка приймає участь у відновленні білків в результаті окисного пошкодження. Мутація гену призводить до порушення функції білка і до підвищеної активації каспаз апоптозу, а отже, і до прискореної загибелі волосових клітин. Дослідження проводилось на мишах [237, 238, 239].

Вивчення поліморфізму генів *Bcl-2, Bax* та *Bid* та його впливу на виникнення та розвиток перцептивних порушень слуху через апоптоз може стати основою для генетичної діагностики та генної терапії сенсоневральної приглухуватості в майбутньому.

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Інформаційний аналіз даних

Для інформаційного аналізу та узагальнення даних звернення пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю було проведено ретроспективне дослідження показників кількості та характеру звернень пацієнтів з сенсоневральними порушеннями слуху до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років. З цією метою проаналізовано 13147 медичних карток стаціонарного хворого пацієнтів, які були направлені до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021 рр. або звертались у отоларингологічне відділення самостійно. З них було відібрано 1138 карт пацієнтів з встановленими перцептивними порушеннями слуху як причиною госпіталізації. Розподіл за встановленими діагнозами серед цих 1138 пацієнтів в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ показав, що серед них найбільшу частку склали пацієнти з гострою сенсоневральною приглухуватістю (935 випадків), на другому місці загострення хронічної форми СНП, найменшу – з хворобою Мен'єра (5 випадків). Визначалась абсолютна та відносні кількості пацієнтів з СНП, структура основних причин виникнення гострих перцептивних порушень зі слів хворого та за даними об'єктивних методів дослідження, інтервал між виникненням перших симптомів СНП та госпіталізацією в отоларингологічне відділення, тривалість стаціонарного лікування пацієнтів з СНП, наявність супутніх змін – цукровим діабетом 2 типу, тинітусом, вестибулярними порушеннями.

2.2. Загальна характеристика пацієнтів.

Клінічне дослідження (відбір та обстеження пацієнтів) проводилось на базі Державного закладу Дорожня клінічна лікарня №2 станції Київ ДТГО Південно-західна залізниця. Для досягнення встановленої мети дисертаційної роботи нами було проведено попереднє обстеження 678 пацієнтів віком від 18 до 65 років, які працюють в умовах виробничого шуму (машиністи, помічники машиністів, слюсари, монтери колій залізничного транспорту). На цьому етапі дослідження проводилась оцінка найбільш впливових факторів розвитку сенсоневральної приглухуватості в умовах виробничого шуму – віку робітників та стажу роботи.

Для збереження однорідності когорти пацієнтів обстеження проводилось тільки працівників залізничного транспорту, робота яких пов'язана з виробничим шумом понад 60 дБ – машиністи, помічники машиністів, слюсари, монтери колій залізничного транспорту. Критеріями включення також був вік від 18 до 65 років та стаж роботи понад 3 роки. Медіана віку визначалась в області 52 років. Наявність встановленого діагнозу цукрового діабету, гіпертонічної хвороби, ішемічної хвороби серця чи остеохондрозу шийного відділу хребта було виключенням для участі в дослідженні. Критеріями виключення також були особи з встановленою причиною виникнення перцептивних порушень слуху (за винятком дії виробничого шуму) – психоемоційний стрес, судинна патологія, захворювання середнього вуха, інтоксикації та інше. В дослідження були також включені пацієнти, які протягом 5 років були переведені на інші посади в зв'язку з порушенням слуху та протипоказанням до роботи в умовах шуму.

Нами проводилось повне отоларингологічне обстеження пацієнтів, включаючи огляд зовнішніх слухових ходів та барабанної перетинки для виключення наявності причин порушення кістково-повітряної провідності, вивчались дані медичних карток амбулаторного хворого з метою виявлення хронічних захворювань та змін, які мають вплив на звукосприймаючий апарат,

включаючи підвищений рівень глюкози крові натщесерце, підвищений рівень холестерину та коефіцієнту атерогенності, наявність встановленої артеріальної гіпертензії або часте підвищення артеріального тиску (понад 140/90 мм.рт.ст.) зі слів пацієнта без встановленого діагнозу, суміжної хірургічної та неврологічної патології, наявність порушень мозкового кровообігу, в тому числі, через зміни шийного відділу хребта та змін за даними доплерографії судин голови і шиї або реоенцефалограми. Наявність перерахованих патологій у пацієнтів була критерієм виключення з основної групи дослідження.

В ході збору анамнезу життя збирались дані щодо стажу роботи в умовах виробничого шуму, перенесених захворювань та травм, наявність головного болю, підвищення артеріального тиску або приступів серцебиття, болей в шийному відділі хребта, спраги, частого сечовипускання та інше.

При зборі анамнезу хвороби найбільшу увагу приділяли тривалості порушень слуху або змін на аудіограмі під час планових обстежень, наявності або відсутності шуму в вухах або голові, перебігу захворювання – стабільне чи прогресуюче. А також дані про проходження планового чи ургентного лікування сенсоневральної приглухуватості. Основними скаргами серед пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю були зниження слуху одnobічне або двобічне, рідше шум у вухах (тинітус) або вестибулярні розлади.

В результаті проведення повного отоларингологічного обстеження та аудіометрії (мовної, камертональної та тональної) 678 працівників залізничного транспорту виявлено, що серед них у 89 обстежених (13,1%) виявлені зміни різного ступеню. Саме ці пацієнти були включені в подальше дослідження. Під час отоскопії особливу увагу приділяли огляду барабанної перетинки – до обстеження включали лише пацієнтів без перфорації або рубцевих змін.

Розподіл пацієнтів по ступеням приглухуватості проводився за Міжнародною класифікацією порушень слуху (оцінка проводиться а середнім

показником сприйняття звуків на частотах 500 Гц, 1000 Гц, 2000 Гц та 4000 Гц, визначених на стороні краще сприймаючого вуха):

- Нормальний слух – сприйняття звуків інтенсивністю до 20 дБ. При цьому відсутні або мінімальні проблеми зі слухом.
- Легка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 20 до 35 дБ. При розмові людина може мати незначні проблеми.
- Помірна втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 35 до 50 дБ. На цьому рівні помірні проблеми під час спілкування.
- Помірно важка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 50 до 65 дБ. Спілкування з іншими значно утруднене. Людина чує голосну розмову.
- Важка втрата слуху – підвищення рівнів сприйняття звуків від 65 до 80 дБ. Людина практично не чує розмову, значні труднощі в спілкуванні.
- Надзвичайно важке порушення слуху (або глибока втрата слуху) – підвищення рівнів сприйняття звуків від 80 до 95 дБ. Характерним є надзвичайно поганий слух. Звичайну розмову людина не чує.
- Повна або загальна втрата слуху (глухота) – підвищення рівнів сприйняття звуків понад 95 дБ [2].

Всі пацієнти дослідження були поділені на три підгрупи в залежності від ступеню втрати слуху – легкий, помірний та помірно важкий. Пацієнтів з важкою, надзвичайно важкою та повною втратою слуху в даному дослідженні не було. Приклад аудіограми пацієнта з легким ступенем втрати слуху наведено на рисунку 2.1.

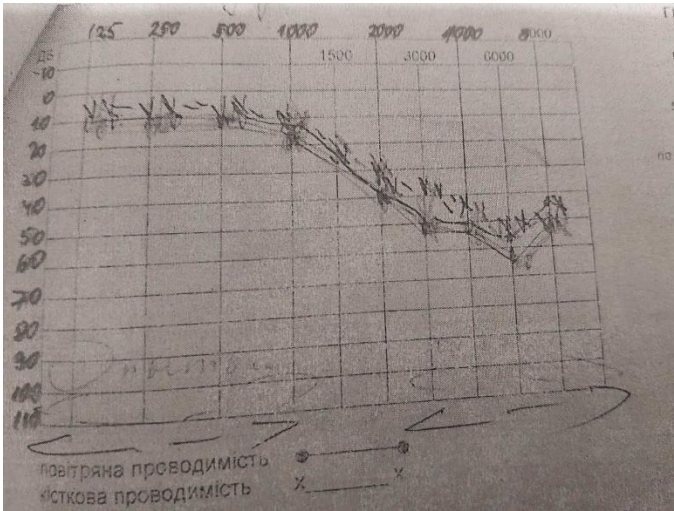


Рис. 2.1. Приклад аудіограми пацієнта з легким ступенем втрати слуху.

Приклад аудіограм пацієнтів з помірною втратою слуху наведено на рисунку 2.2.

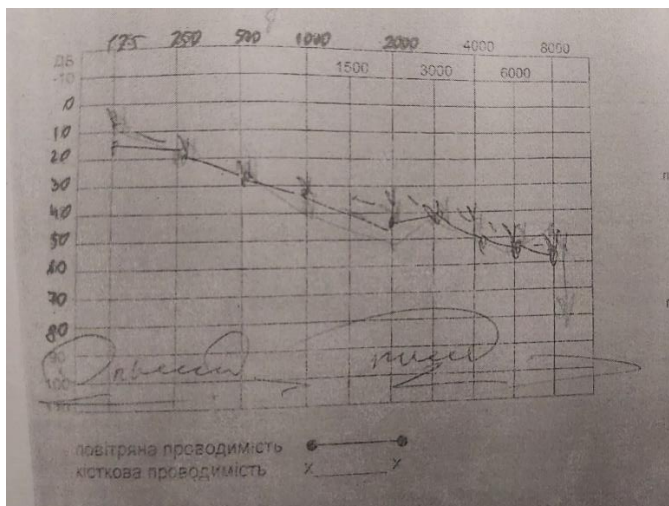


Рис. 2.2. Приклад аудіограми пацієнта з помірною втратою слуху.

Приклад аудіограми пацієнта з помірно важкою втратою слуху наведено на рисунку 2.3.

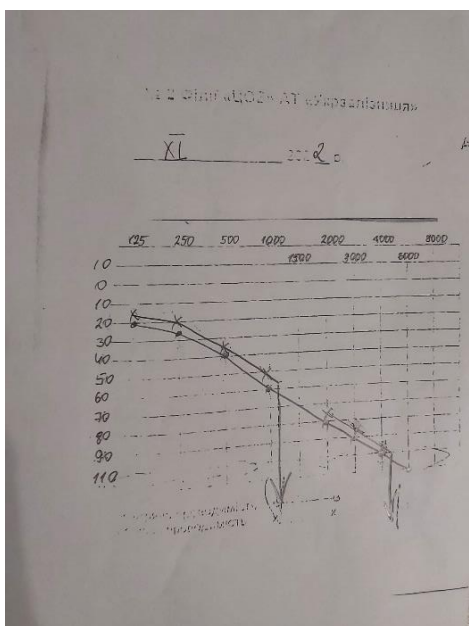


Рис. 2.3. Приклад аудіограми пацієнта з помірно важкою втратою слуху

Легкий ступінь втрати слуху (середній показник сприйняття звуків на частотах 500 Гц, 1000 Гц, 2000 Гц та 4000 Гц, визначених на стороні краще сприймаючого вуха, від 20 до 36 дБ) було виявлено у 67 працівників (75,3%), помірний ступінь (середня втрата слуху в області 500, 1000 і 2000 Гц та 4000 Гц 35-50 дБ) – у 13 обстежених (14,6%), помірно важкий ступінь (середня втрата слуху в області 500, 1000 і 2000 Гц та 4000 Гц 50-65 дБ) також у 9 пацієнтів (10,1%) випадків виявлених перцептивних порушень.

Розподіл виявлених перцептивних порушень за ступенями втрати слуху показано на рисунку 2.4.

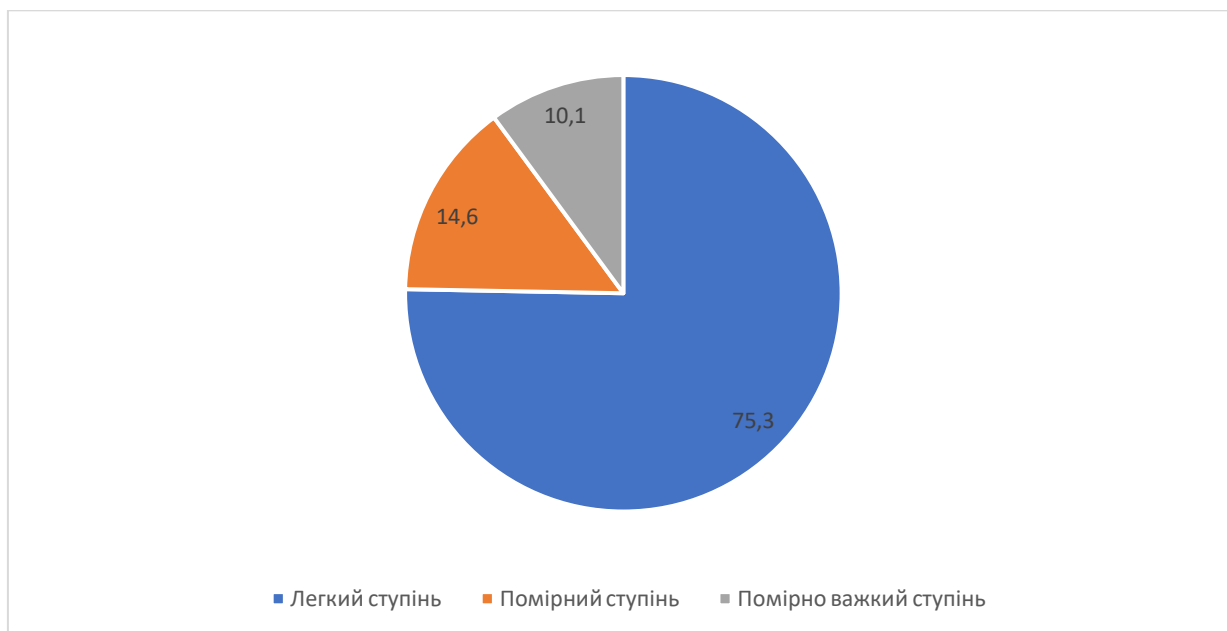


Рис. 2.4. Розподіл перцептивних порушень за ступенями втрати слуху.

Як видно за даними діаграми, переважна кількість пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю мала легкий ступінь втрати слуху, а помірний і помірно важкий ступінь зустрічався в значно меншій відносній кількості – 14,6% та 10,1% відповідно.

Для оцінки впливу віку на розвиток перцептивних порушень у осіб, які працюють в умовах виробничого шуму, всі робітники, були розподілені на три підгрупи в залежності від віку. До першої ввійшли працівники з віком до 45 років включно, до другої – від 46 до 55 років включно, до третьої – від 56 до 65 років включно. Медіана віку визначалась в області 52 років. Статистично значимої різниці показників рівня цукру, холестерину крові та артеріального тиску під час обстеження у пацієнтів підгруп не було виявлено. В кожній з цих підгруп, розподілених по віку, визначалась кількість пацієнтів з різними ступенями втрати слуху. Результати розподілу пацієнтів на підгрупи за віком та за ступенем втрати слуху вказано на рисунку 2.5.

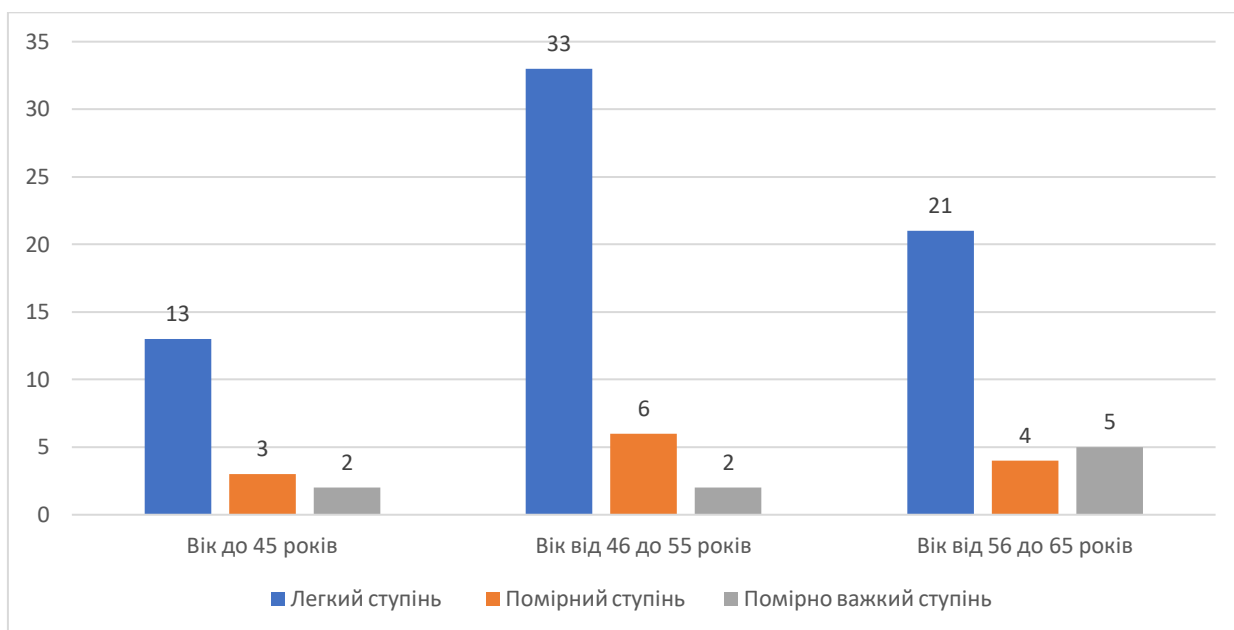


Рис. 2.5. Розподіл пацієнтів з перцептивними порушеннями на підгрупи за віком та за ступенем втрати слуху.

Найбільшу кількість становили пацієнти другої підгрупи віком від 56 до 65 років. Розподіл ступеней втрати слуху за віком виявився нерівномірним, особливо зниження слуху помірно важкого ступеню. В другій підгрупі (вік від 46 до 55 років) пацієнтів із помірно важкою втратою слуху в області 500, 1000 і 2000 4000 Гц було виявлено у 4,9% випадків. В третій підгрупі (вік від 56 до 65 років включно) 16,6% відповідно. Серед пацієнтів до 45 років також виявлено 2 випадки помірно важкого ступеню втрати слуху, що склало 11,1%. Такий високий відносний показник скоріше за все зумовлений невеликою кількістю пацієнтів в першій підгрупі [241].

Результати обстеження 678 робітників, які працюють в умовах виробничого шуму дали змогу провести суворий відбір в групи дослідження, створені для визначення можливої асоціації між поліморфізмом генів *Bcl-2* rs2279115, *Vax* rs4645878, *Bid* rs8190315 та підвищеним ризиком розвитку сенсоневральної приглухуватості. Було сформовано наступні групи досліджень:

Основна група дослідження – пацієнти з сенсоневральною приглухуватістю. Контрольна група дослідження – особи без ознак перцептивних порушень слуху.

Критерії включення в дослідження:

- Вік від 18 до 50 років.
- Робота, пов'язана з підвищеним звуковим навантаженням.
- Стаж роботи понад 3 роки.
- Підписання інформативної згоди на проведення дослідження.

Критерії виключення:

- Наявність цукрового діабету або порушення толерантності до глюкози, дисліпідемії.
- Наявність захворювань сполучної тканини.
- Наявність встановленого діагнозу артеріальної гіпертензії або рецидивуюче підвищення артеріального тиску понад 140/90 мм.рт.ст. зі слів пацієнта.
- Наявність коморбідних захворювань, включаючи термінальні чи декомпенсовані форми.
- Наявність психічних захворювань.
- Порушення мозкового кровообігу та кровообігу в шийному відділі.
- Новоутворення.

Такі обмеження дали змогу з високою ймовірністю виключити наявність асоціації між поліморфізмом досліджуваних генів та патологією сполучної та залозистої тканин, а отже, отримані результати співставити з особливостями відповіді нервової тканини на причинний фактор (виробничий шум).

Пацієнти обирались віком до 50 років для виключення вікових змін. Критерії виключення встановлені для однорідності когорти. Всі пацієнти були працівниками залізничного транспорту і умовою прийняття їх на роботу є відсутність будь-яких порушень слуху.

В даному дослідженні поліморфізму генів *Bcl-2* rs2279115, *Bax* rs4645878, *Bid* rs8190315 дизайну випадок-контроль приймали участь 41 пацієнт з перцептивними порушеннями та 48 пацієнтів контролю, які працювали в тих самих умовах виробничого шуму, але без розвитку патології слуху. Детальна інформація по розподілу пацієнтів в контрольній групі та групі дослідження представлена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1.

Розподіл пацієнтів в основній та контрольній групах.

Групи дослідження	Основна (n=41)	Контрольна (n=48)	Рівень значимості, p
Вік Me (Q _I ÷Q _{III})	47 (43÷49)	45 (38÷48)	p>0,05
Стаж роботи Me (Q _I ÷Q _{III})	14(8÷19)	14(11÷18)	p>0,05

Отже, як видно з таблиці, медіана віку основної групи знаходилась в області 47 років, контрольної групи – в області 45 років. при цьому статистично значимої різниці між цими показниками не було виявлено ($P > 0,05$). Медіана стажу роботи працівників основної та контрольної групи знаходилась в області 14 років без статистично значимої відмінності ($P > 0,05$).

Пацієнти обох груп дослідження були розподілені на три підгрупи по віку. До першої ввійшли працівники з віком від 18 до 35 років включно, до другої – від 36 до 45 років включно, до третьої – від 46 до 50 років включно.

На рисунку 2.6. показано розподіл пацієнтів на підгрупи за віком.

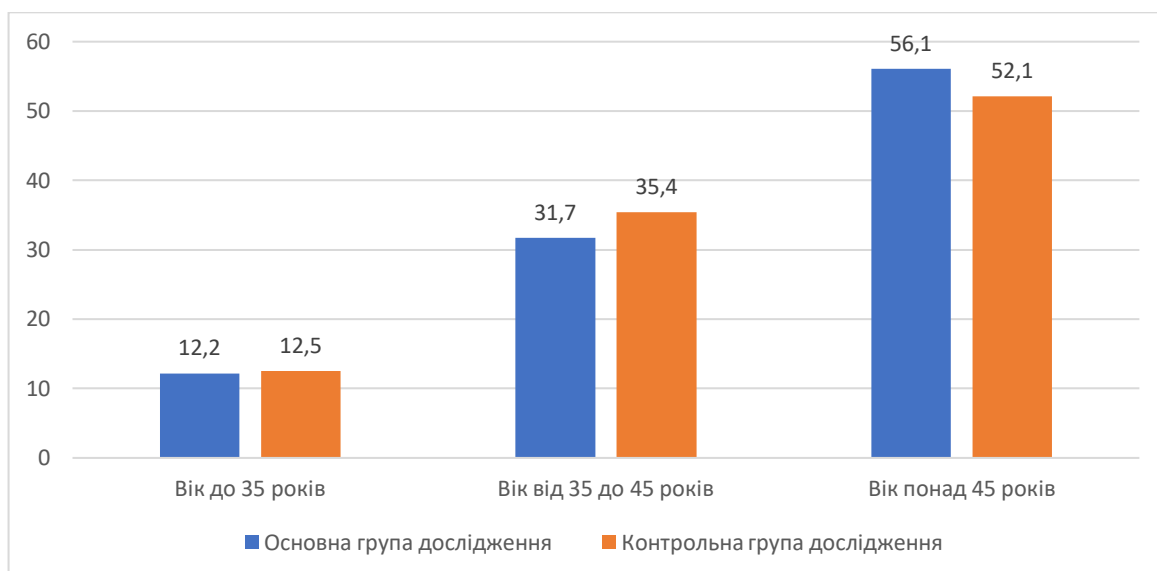


Рис. 2.6. Розподіл пацієнтів по підгрупах за віком, %.

В основній групі серед пацієнтів з встановленим діагнозом сенсоневральної приглухуватості розподіл по трьох підгрупах за віком становив 12,2%, 31,7% та 56,1% відповідно. В групі контролю серед осіб без порушення слуху розподіл по трьох підгрупах становив 12,5%, 35,4% та 52,1% відповідно.

Пацієнти обох груп дослідження були розподілені на три підгрупи по стажу роботи. До першої ввійшли працівники зістажем від 3 до 10 років, до другої від 10 до 20 років стажу, до третьої – понад 20 років стажу в умовах виробничого шуму. На рисунку 2.7. показано розподіл пацієнтів на підгрупи за стажем роботи.

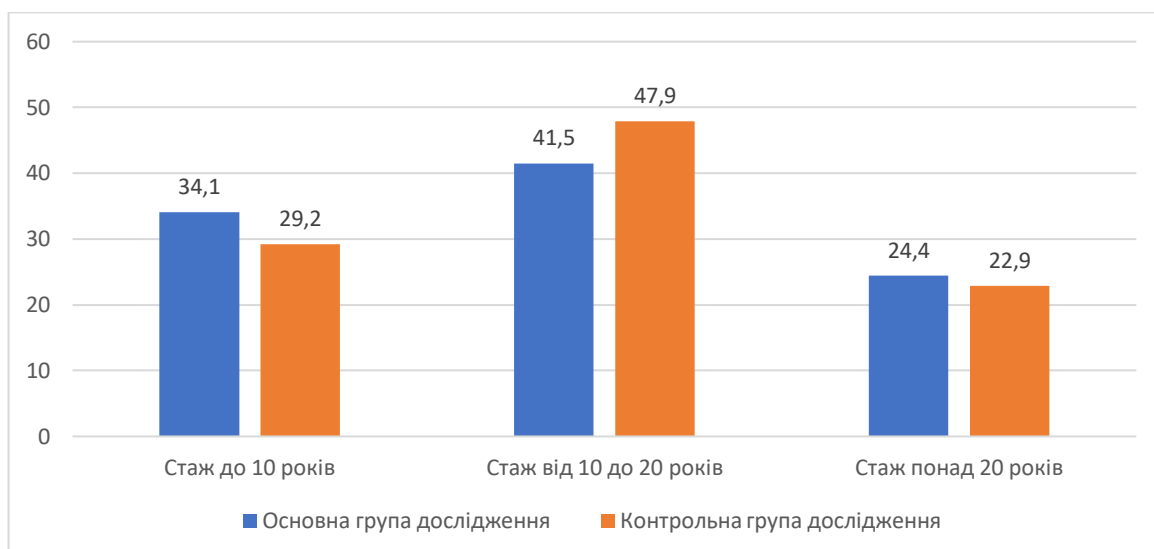


Рис. 2.7. Розподіл пацієнтів по підгрупах за стажем, %.

В основній групі серед пацієнтів з встановленим діагнозом сенсоневральної приглухуватості розподіл по трьом підгрупах за стажем роботи становив 34,1%, 41,5% та 24,4% відповідно. В групі контролю серед осіб без порушення слуху розподіл по трьом підгрупах становив 29,2%, 47,9% та 22,9% відповідно.

Як видно з рисунків 2.6. та 2.7. суттєвої відмінності в підгрупах за віком та стажем між пацієнтами в обох групах теж немає ($P > 0,05$) [242].

2.3. Методи дослідження слухової функції та тинітусу в клінічних групах.

Для комплексного дослідження слухової функції пацієнтам проводили повне аудіометричне обстеження, яке включало оцінку відстані сприйняття шепітної та розмовної мови, камертональні проби, тональну порогову та високочастотну аудіометрію, тимпанометрію. Діагностика проводилась в звукоізольованій кімнаті з рівнем фонового шуму не більше 30 дБ.

Оцінка відстані шепітної мови та розмовної проводилась за допомогою двозначних числівників.

Камертональні проби Вебера, Рінне та Федеріче проводились за допомогою камертону С128, частота звучання 128 Гц.

Тональна порогова та надпорогова аудіометрії виконувались на апараті МА-31 фірми Klamann @ Grahnert, Німеччина. Пороги повітряної провідності визначались в діапазоні частот від 125 до 8000 Гц за допомогою головних повітряних телефонів з додатковою ізоляцією шуму, розташованого на вушних раковинах. Пороги кісткової провідності визначались в діапазоні частот від 250 до 8000 Гц за допомогою кісткового телефону, розташованого за вушною раковиною на соскоподібному відростку. Силу звуку, що подавався в телефони пацієнта, поступово збільшували з кроком в 2 дБ до тих пір, поки пацієнт не відзначав, що чує звук і підтверджував це натисканням на кнопку. Визначення порогів повітряної та кісткової провідності проводили двічі для кожної з частот.

Високочастотну аудіометрію проводили для визначення ранніх латентних форм перцептивних порушень слуху за допомогою аудіометра АВА-1 на частотах 10, 12, 14, 16 та 18 кГц.

Дослідження мовної аудіометрії проводили за допомогою цифрового тесту Є.М. Харшака (50% розбірливості) та мовного тесту Г.И. Гринберга і Л.Р. Зиндера (100% розбірливості). Найбільш важливим критерієм оцінки мовної аудіометрії вважалось співвідношення порогів тонального та мовного слуху.

Для оцінки стану середнього вуха та виявлення прихованої патології проводили тимпанометрію та реєстрацію акустичного рефлексу. Тимпанометрію визначали для оцінки стану середнього вуха, проводили за допомогою імпенсметра AZ-26 виробництва Oticon, Данія. Оцінювались отримані дані за Jerger. Критерієм включення в дослідження була реєстрація у пацієнта тимпанограми типу А за класифікацією Джергера (1970) за умови, що

амплітуди абсолютної та відносної податливості в ній укладалися в межі норми.

Визначення тинітус проводили за допомогою того ж аудіометра шляхом регулювання висоти та гучності звуку, що подавався на повітряний телефон, до мінімальних рівнів, які є повним відтворенням шуму у вухах пацієнта.

Дослідження функції слухового аналізатора складалось з визначення та деталізації скарг, збору анамнезу. Також для оцінки функції рівноваги тіла пацієнтам проводились стандартний та сенсibilізований тест Ромберга двічі з розплющеними та заплющеними очима.

2.4. Забір та підготовка матеріалу

Підготовку матеріалу для подальшого дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції проводили в наступній послідовності:

- Забір крові у пацієнтів всіх клінічних груп дослідження проводили з ліктьової вени натщесерце у вакуумну пробірку з фіолетовою кришкою 2,5 мл з антикоагулянтом КЗ-EDTA.
- На кожен пробірку наносили напис з номером примірника матеріалу, датою взяття та даними пацієнта – прізвище, ім'я, по батькові та рік народження.
- Після забору крові пробірку обережно повільно кілька разів перевертали вверх дном для якісного перемішування з антикоагулянтом.
- Стерильні пробірки з отриманим матеріалом зберігали при -20°C (не більше 1 місяця).
- До Науково-дослідницького інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця доставлялись пробірки на кожного пацієнта в замороженому вигляді, транспортування проводили в

спеціальних сумках-холодильниках з холодогеном для збереження холодового ланцюга.

2.5. Полімеразна ланцюгова реакція.

Виявлення однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP), які приймають участь в утворенні або активності ферментів та білків апоптозу, проводиться методом полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Молекулярно-генетичні дослідження виконували в лабораторії Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О.Богомольця за стандартними методиками.

Виділення геномної ДНК із лейкоцитів периферійної крові пацієнтів проводилась за допомогою комерційного набору реагентів для екстракції нуклеїнових кислот (РНК/ДНК) з клінічного матеріалу «Biocore® Nucleo – M» згідно інструкції, наданої виробником.

Етапи екстракції ДНК:

- Підготували 4 плашки з лунками.
- Рознесли по 50 мкл Реагенту для елюції по лункам плашки №4.
- Рознесли по 290 мкл Буферу для промивання-2 по лункам плашки №3.
- Рознесли по 290 мкл Буферу для промивання-1 по лунка плашки №2.
- Із розрахунку на один зразок змішали 120 мкл Лізуючого буферу, 300 мкл Реагента для осадження, 5 мкл розчину Протеїнази К, 12 мкл Магнітного сорбенту та рознесли в кількості 400 мкл по лункам плашки №1.
- Додали по 200 мкл дослідних зразків в лунки плашки №1. В лунку негативного контролю виділення внесли 200 мкл фізіологічного розчину.

- Ретельно перемішали компоненти реакційної суміші та термостували у термошейкері протягом 8 хвилин при температурі при 56⁰С та перемішуванні при 700 об/хв.
- Тримаючи пробірки в магнітному штативі, обережно, не зачіпаючи сорбенту, видаляли супернатант за допомогою вакуумного відсмоктувача.
- Двічі проводили процедуру промивання супернатанта за допомогою 290 мкл буферного розчину-1 протягом 2 хвилин при кімнатній температурі з подальшим виділенням супернатанта.
- Висушували протягом 3 хвилин.
- Додавали 50 мкл реагенту для елюції, після чого термостували у термошейкері протягом 8 хвилин при температурі 56⁰С та перемішуванні при 700 об/хв.
- Залишаючи пробірки в магнітному штативі, відбирали супернатант з розчином ДНК
- Концентрацію та чистоту ДНК вимірювали за допомогою DeNovix DS-11 FX + (DeNovix Inc., США).
- Отриману ДНК зберігали при температурі -20⁰С до проведення ПЛР.

Для визначення поліморфізму досліджуваного гену проводилася ПЛР з використанням TaqMan® Assays rs2279115, rs8190315 та rs4645878 фірми Thermo Scientific. Дослідження проводили у 20 мкл реакційної суміші, що містила 10 мкл TaqMan®Universal PCR Master Mix, 0,5 мкл 40× TaqMan® Assays, 7,5 мкл вільної від нуклеаз води та 2 мкл ДНК. ПЛР проводили в ампліфікаторі Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems із додержанням відповідного до протоколу температурного режиму реакції (таблиця 2.2).

Таблиця 2.2.

Характеристика етапів полімеразної ланцюгової реакції.

Етапи	Температура	Тривалість	Цикли
Активація полімерази AmpliТaq Gold	95 °С	10 хв	Інкубація
Денатурація ДНК	95 °С	15 с	40х
Відпал праймерів / Елонгація	60 °С	1 хв	

Характеристика праймерів, які було використано для визначення поліморфізму гену *Bcl-2* (rs2279115), гену *Bax* (rs4645878) та гену *Bid* (rs8190315) фірми Thermo Scientific (США) для полімеразної ланцюгової реакції з використанням TaqMan® Assays (США), вказані в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3.

Характеристика генів *Bcl-2*, *Bid* та *Bax*

Ген	Назва	Номер rs	Полі- морфізм VIC/FAM	Розташу- вання	Довжина пептидного ланцюга	Молеку- лярна маса
<i>Bcl-2</i>	Апоptosis regulator <i>Bcl-2</i>	2279115	<i>A/C</i> <i>(G/T)</i>	коротке плече 18-ї хромосоми	239	26 266
<i>Bid</i>	ВН3 interacting domain	8190315	<i>C/T</i>	Коротке плече 22-ї хромосоми	195	21 995

	death agonist					
<i>Bax</i>	BCL2 associated X, apoptosis regulator	4645878	A/G	коротке плече 19-ї хромосоми	192	21 184

Алелі, присутні у зразку, ідентифікували шляхом вимірювання флуоресценції на каналах дослідження FAM та VIC:

Ген *Bcl-2* (rs2279115):

CTCCCAGGAGAGAGACAGGGGAGA[G/T]GGGACGATGAAGGAGCCGGGGACGG.

Ген *Bid* (rs8190315):

TTTGTGATGCACTCATCCCTGAGGC[C/T]GGAACCGTTGTTGACCTGAGGGGAA.

Ген *Bax* (rs4645878):

AGGCATTAGAGCTGCGATTGGACGG[A/G]CGGCTGTTGGACGGCGCCACTGCTG.

2.6. Статистичні методи, використані в дослідженні.

Первинна обробка даних дослідження здійснювалась в програмі MS Excel 2013. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програмного забезпечення IBM SPSS Statistics Base v.22. Для аналізу статистичних відмінностей між тестовими та контрольними значеннями були використані параметричні та непараметричні критерії в залежності від виду розподілу та типу даних порівняння. Для виявлення наявності кореляційного зв'язку між різними показниками визначався показник рангової кореляції Спірмена та коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона. Корекцію Бонферроні проводили для кожного P-значення будь-якого SNP. З метою виявлення факторних ознак,

пов'язаних з ризиком розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах підвищеного звукового навантаження, було використано метод побудови та аналізу моделей логістичної регресії. Для порівняння дихотомічних якісних змінних в двох незалежних сукупностях використовувався точний метод Фішера. Критичний рівень значимості статистичної обробки даних був прийнятий за 0,05. Для додаткової оцінки вірогідності отриманих результатів, розраховувався показник співвідношення шансів (OR – Odds Ratio) з 95% довірчим інтервалом. З цією метою використовувався онлайн-калькулятор (www.gigacalculator.com).

РОЗДІЛ 3.

**АНАЛІЗ ВПЛИВУ СТАЖУ РОБОТИ ТА ВІКУ НА РОЗВИТОК
ПЕРЦЕПТИВНИХ ПОРУШЕНЬ У ПАЦІЄНТІВ, ЩО ПРАЦЮЮТЬ В
УМОВАХ ПІДВИЩЕНОГО ВИРОБНИЧОГО ШУМУ**

**3.1. Аналіз кількості та характеру звернень пацієнтів з
сенсоневральними порушеннями слуху до
отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної
лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років.**

Перш за все нами було проведено ретроспективне дослідження 13147 медичних карт стаціонарного хворого пацієнтів, які звертались самостійно або були направлені на стаціонарне лікування в отоларингологічне відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за період січень 2015р.-жовтень 2021р. на предмет кількості випадків та причин госпіталізації по рокам. Результат показано в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Кількість пацієнтів отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021 рр. (n=13147)

Роки	Загальна кількість пацієнтів ЛОР відділення*	Загальна кількість пацієнтів перцептивними порушеннями	Кількість пацієнтів з гострою СНП	Кількість пацієнтів з хронічною СНП	Кількість пацієнтів з хворобою Мен'єра

		слухової функції			
2015	2395	237	208	29	-
2016	2594	237	197	38	2
2017	2499	256	211	43	2
2018	2309	208	167	41	-
2019	2111	130	98	31	1
2020	645	32	24	8	-
2021**	594	39	27	12	-
Загальна кількість	13147	1139	932	202	5

Примітка: *Пацієнти з діагнозом COVID-19 не враховувались в загальну кількість пацієнтів в цьому і в усіх наступних розрахунках.

**У 2021 році аналізувались медичні карти до жовтня.

Як видно з наведених у таблиці даних, серед усіх звернень пацієнтів з перцептивним порушенням слуху до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021 рр. найбільшу частку склали пацієнти з гострою СНП, що склало 932 випадків або 81,8%, найменшу – з хворобою Мен'єра 5 пацієнтів або 0,44% випадків.

Кількість пацієнтів, які проходили стаціонарне лікування в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ почала скорочуватися у 2018 та 2019 роках з різким зниженням кількості у 2020-2021 роках (рисунок 3.1.). Найбільш вірогідною причиною таких змін було зумовлено тимчасовим перепрофілюванням отоларингологічного відділення в ці роки (2020-2021рр.) під прийом інфекційних хворих на COVID-19.

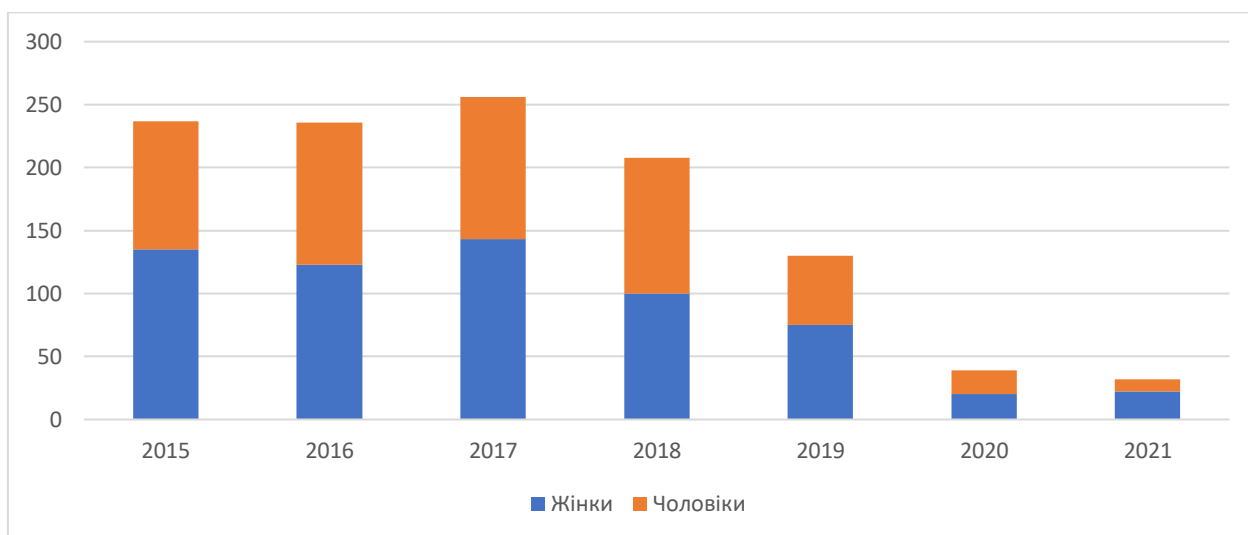
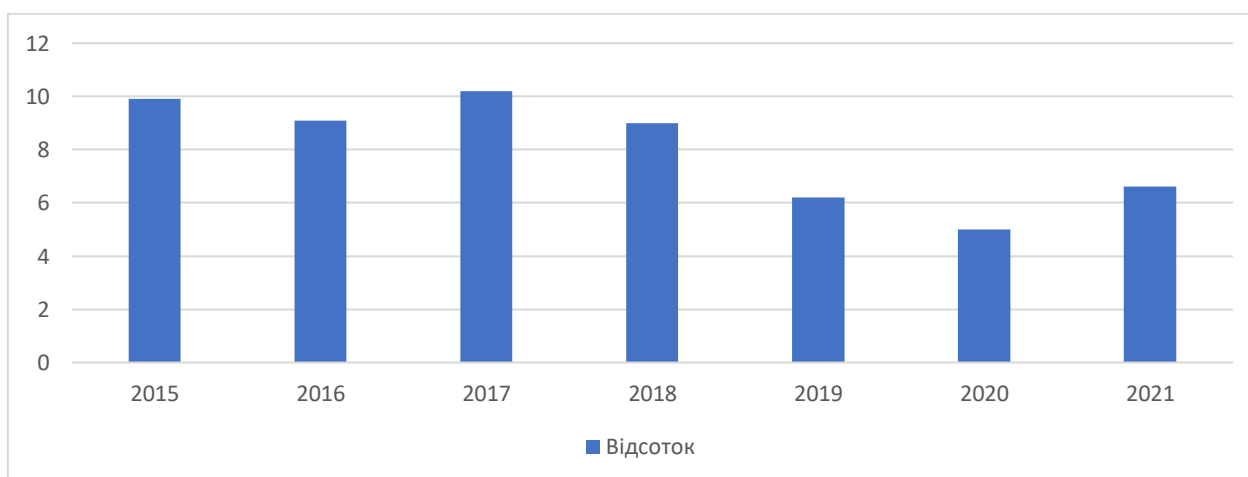


Рис. 3.1. Абсолютна кількість пацієнтів з СНП отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021 рр.

Відносна частка пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю серед всіх хворих отоларингологічного відділення* у 2020-2021рр. також зменшилась, однак не так різко (рисунок 3.2.).



Примітка: *Пацієнти з діагнозом COVID-19 не враховувались в загальну кількість пацієнтів в цьому і в усіх наступних розрахунках.

Рис. 3.2. Відносна кількість пацієнтів з СНП отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021 рр.

За даними, які наведені на рисунках 3.1. та 3.2., у 2020 та 2021 роках значно зменшилась кількість пацієнтів з досліджуваною патологією в абсолютному значеннях з 256 у 2017 році до 32 та 39 пацієнтів у 2020 та 2021 роках відповідно. Це було зумовлено тимчасовим перепрофілюванням отоларингологічного відділення в ці роки під прийом інфекційних хворих на COVID-19. У відносних значеннях також було зменшення показників з 10,2% у 2017 році до 5% та 6,6% у 2020 та 2021 роках відповідно. Найбільш імовірними причинами динаміки цього показника були страх перед стаціонарним лікуванням та обмеження спілкування населення, карантинні заходи.

Подальший аналіз пацієнтів, які звертались до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років стосувався лише випадків з перцептивними порушеннями слуху.

Було вивчено структуру основних причин виникнення гострих перцептивних порушень зі слів хворого та за даними об'єктивних методів дослідження (рисунок 3.3.).

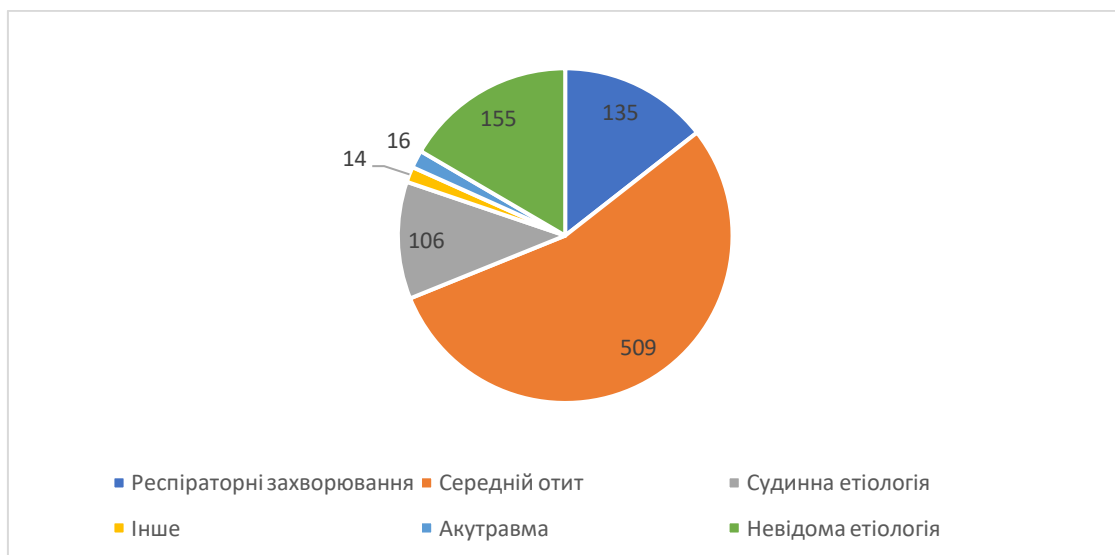


Рис. 3.3. Розподіл пацієнтів отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ з гострими перцептивними порушеннями слухової функції за причиною.

Проведений аналіз дозволив виявити, що найбільш часто зміни кісткової провідності за даними аудіометрії виникали на фоні гострого або загострення хронічного середнього отиту (509 випадків). Такий високий показник може бути зумовлений тим, що не в усіх випадках розвивалась власне сенсоневральна приглухуватість, а виявлені зміни кісткової провідності можуть бути результатом розвитку змін, зумовлених запальними процесами. 155 пацієнтів не могли пов'язати ні з чим конкретним початок зниження слуху та/або появу шуму в вухах. Ці пацієнти потребували подальшого більш поглибленого обстеження для визначення етіопатогенезу перцептивних порушень слуху. На третьому по частоті місці пацієнти вказували переохолодження, гострі респіраторні захворювання (135 випадків). У 106 пацієнтів гостра сенсоневральна приглухуватість була викликана судинними порушеннями, в тому числі підвищенням артеріального тиску у 77 хворих, виявленими змінами судин за даними доплерографії судин шиї та головного мозку у 18 випадках. 11 пацієнтів вказували як причину зниження слуху емоційне навантаження або перенесення стресів. Акутравма, в тому числі в умовах АТО та навчання стрільбі, спричинила перцептивні порушення у 16 осіб. Серед інших причин були оперативні втручання на вусі (3 випадки), невринома (1), баротравма та розрив барабанної перетинки (7) або після використання хіміопрепаратів (3).

Однією з причин переходу гострої форми СНП у хронічну та неефективності лікування перцептивних порушень слуху є пізні звертання пацієнтів, неухважність до порушень або виникнення шуму у вухах, довготривале самолікування. Тому важливим було вивчення інтервалу між виникненням перших симптомів та госпіталізацією в отоларингологічне відділення (рисунки 3.4.).

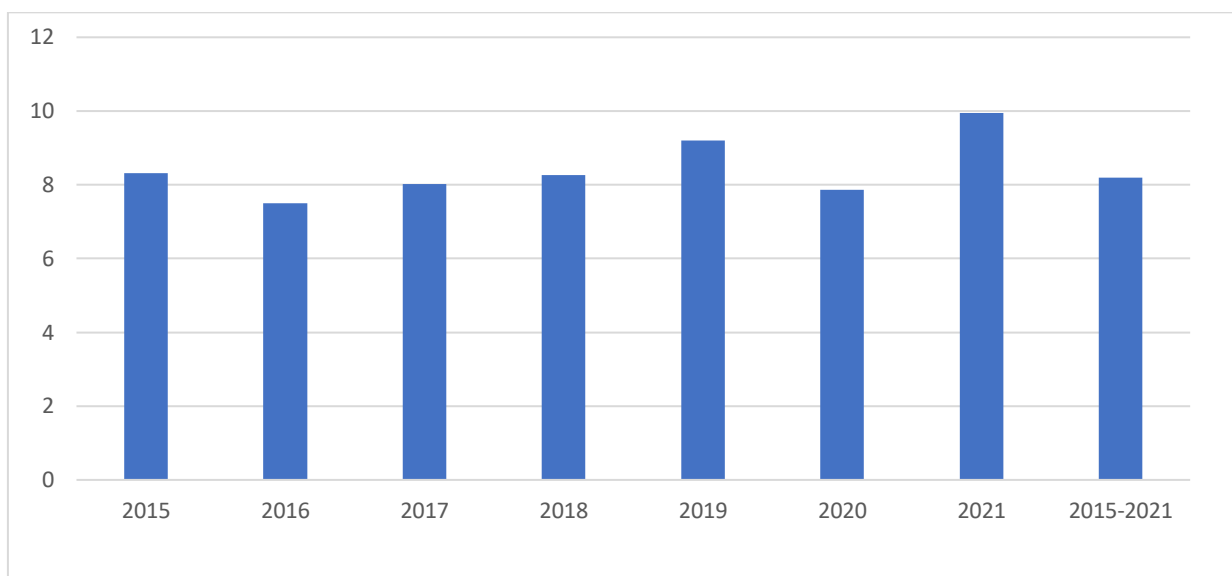


Рис. 3.4. Інтервал між виникненням перших симптомів СНП та госпіталізацією в отоларингологічне відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ.

Згідно отриманих результатів аналізу, середній інтервал між виникненням перших симптомів СНП та госпіталізацією в отоларингологічне відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021рр. становив 8,19 днів. Найменший інтервал був у 2016 році – 7,5 днів, найбільший – 10 днів у 2021 році. Але даний інтервал за окремі роки та за період 2015-2021 роки статистичної відмінності не мав ($P > 0,05$).

Аналіз тривалості стаціонарного лікування пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю також вказує на відсутність статистично значимої відмінності за роки дослідження (Рисунок 3.5.).

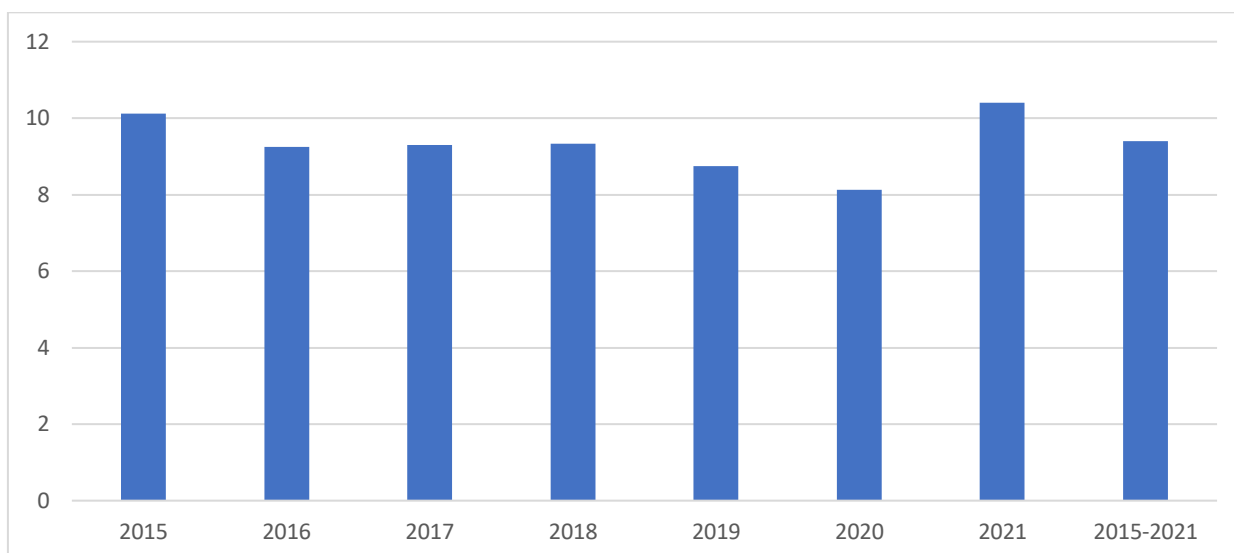


Рис. 3.5. Тривалість стаціонарного лікування пацієнтів з СНП в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021рр.

Середній показник тривалості стаціонарного лікування пацієнтів з СНП в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021рр. становив 9,4 дні. Найменший показник був у 2020 році – 8,1 день, найбільший – 10,4 дні у 2021 році.

Нами також було вивчено статистичні дані щодо розподілу випадків сенсоневральної приглухуватості на двобічну та одnobічну. Було виявлено, що серед загальної кількості пацієнтів з перцептивними порушеннями слухової функції, які проходили лікування в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021рр. (n=1138), було 495 випадків з двобічним, 354 з лівобічним і 289 з правобічним порушенням кісткової провідності за даними аудіометричного дослідження. Кількість пацієнтів з СНП та з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу, наявним тинітусом та вестибулярними порушеннями відображена на рисунку 3.6. Слід зазначити, що ці прояви могли комбінуватися у деяких пацієнтів.

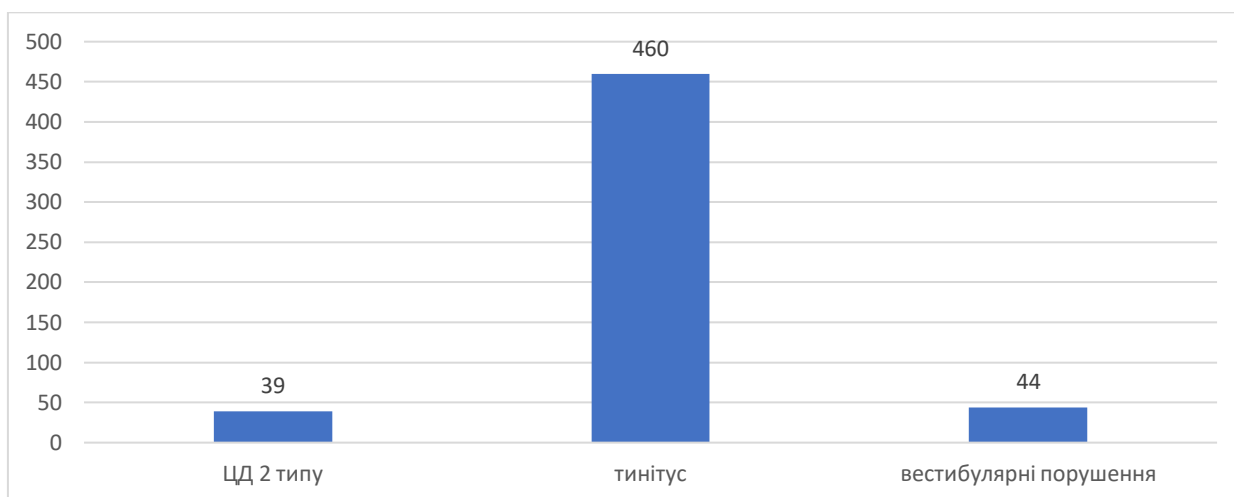


Рис. 3.6. Кількість пацієнтів з СНП в отоларингологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні міста Київ за 2015-2021рр. та цукровим діабетом 2 типу, тинітусом, вестибулярними порушеннями.

Отже, у 460 випадках з 1139 (40%) у пацієнтів з встановленим діагнозом гострої або хронічної сенсоневральної приглухуватості була присутня скарга на одно- чи двобічний шум у вухах, у 44 випадках (3,9%) – на порушення вестибулярного апарату різного ступеня вираженості. У 39 пацієнтів (3,4%) супутньою патологією був цукровий діабет 2 типу [240].

3.2. Корелятивний зв'язок між стажем роботи й віком пацієнтів та ризиком розвитку перцептивних порушень слуху у робітників в умовах виробничого шуму.

Результати комплексного аудіометричного обстеження (мовної, камертональної та тональної аудіометрії) робітників залізничного транспорту, робота яких пов'язана з виробничим шумом, показали, що серед 678 обстежених працівників у 89 (13,1%) виявлені зміни перцептивного слуху різного ступеню.

При цьому визначено три найбільш характерні типи аудіограм при сенсоневральній приглухуватості в осіб, які працюють в умовах виробничого шуму. Найбільш часто зустрічалась крива з пологим зниженням слуху з підвищенням порогів слуху на всіх частотах з максимумом в ділянці високих частот (71% випадків). Приклад такої аудіограми на рисунку 3.7.

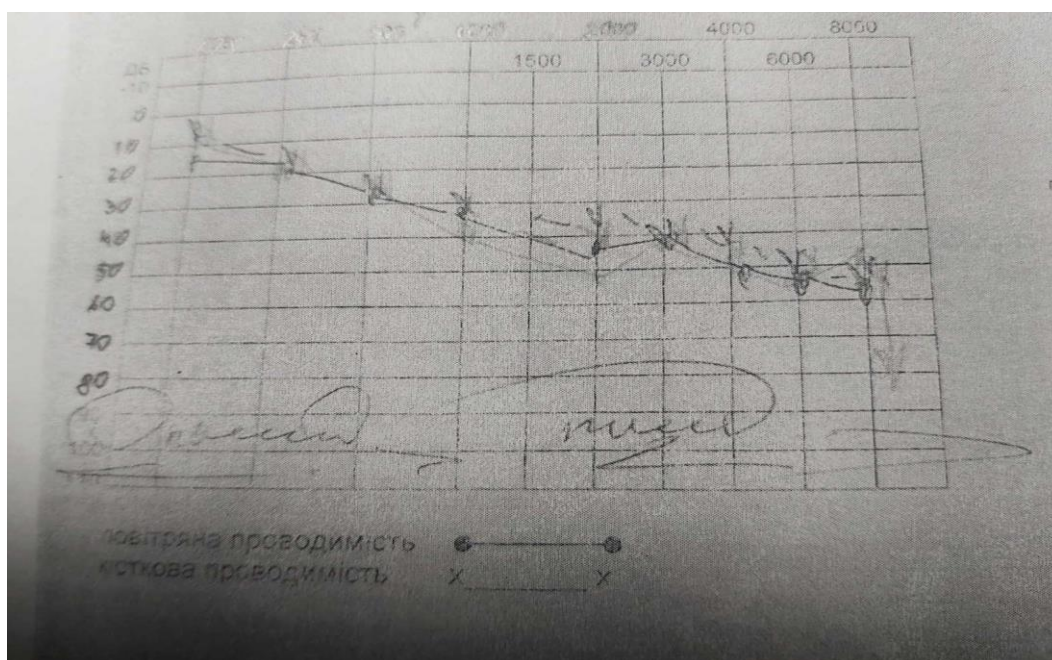


Рис. 3.7. Приклад аудіограми з пологим зниженням слуху з підвищенням порогів слуху на всіх частотах з максимумом в ділянці високих частот.

На другому місці за частотою фіксувалось ізольоване підвищення порогів сприйняття звуку, частіше в діапазоні 4000 Гц або 6000 Гц (25%). У дво випадках був змішаний тип кривої – поступове підвищення порогів сприйняття, починаючи з низьких частот з різким підвищенням на частоті 4000 Гц і зниженням на 20 дБ на частоті 6000 Гц та 8000 Гц. Приклад аудіограми з ізольованим підвищення порогів сприйняття звуку зображено на рисунку 3.8.

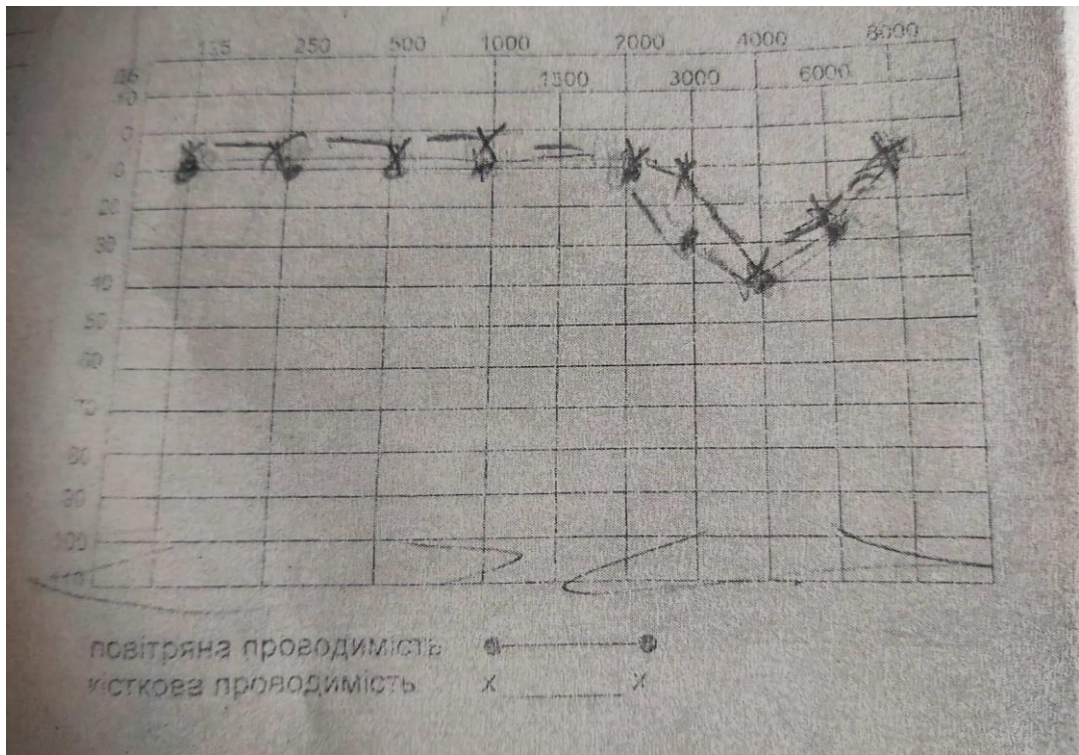


Рис. 3.8. Приклад аудіограми з ізольованим підвищенням порогів сприйняття звуку.

У 4% випадках фіксувався обривний тип аудіограми з відносним збереженням порогів сприйняття слуху на низьких частотах та різким їх підвищенням починаючи з 2000-3000 Гц. Приклад такого типу аудіограм показано на малюнку 3.9.

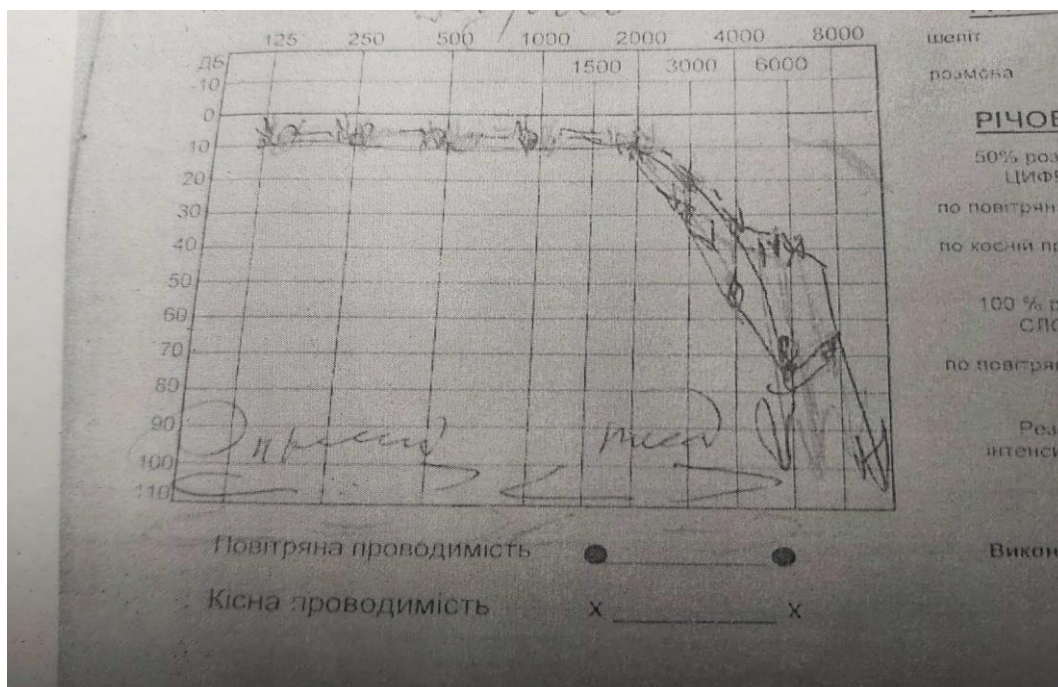


Рис. 3.9. Приклад аудіограми обривного типу з відносним збереженням порогів сприйняття слуху на низьких частотах та різким їх підвищенням починаючи з 2000-3000 Гц.

Вплив вікових змін на сприйняття звуків загальновідомий і вивченню його механізмів присвячено бігато наукових робіт та статей. В нашому дослідження з метою загального та отоларингологічного обстеження пацієнтів в ході попереднього відбору також були проведені розрахунки для виявлення наявності кореляційного зв'язку між віком пацієнтів та ступенем втрати слуху. Для цього було використано показник рангової кореляції Спірмена (Рисунок 3.10.).

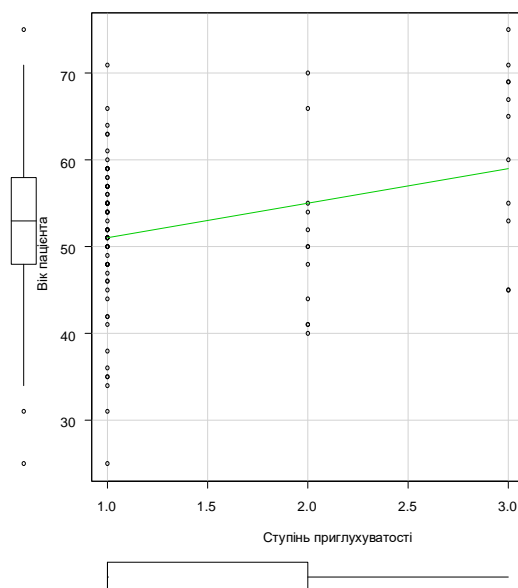


Рис. 3.10. Коефіцієнт кореляційного зв'язку між віком пацієнтів та ступенем втрати слуху.

Як видно з рисунка 3.10., при проведенні аналізу зв'язку показників віку та ступеню втрати слуху у пацієнтів з перцептивними порушеннями було виявлено слабкий позитивний зв'язок 0,167, і збільшення показника віку призводить до підвищення ризику розвитку сенсоневральної приглухуватості. Але статистично значимого рівня цей зв'язок не досягнув ($P > 0,05$).

Для виявлення наявності кореляційного зв'язку між віком пацієнтів та зниженням сприйняття шепітної мови, як більш детального методу оцінки, було використано коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона (Рисунок 3.11.).

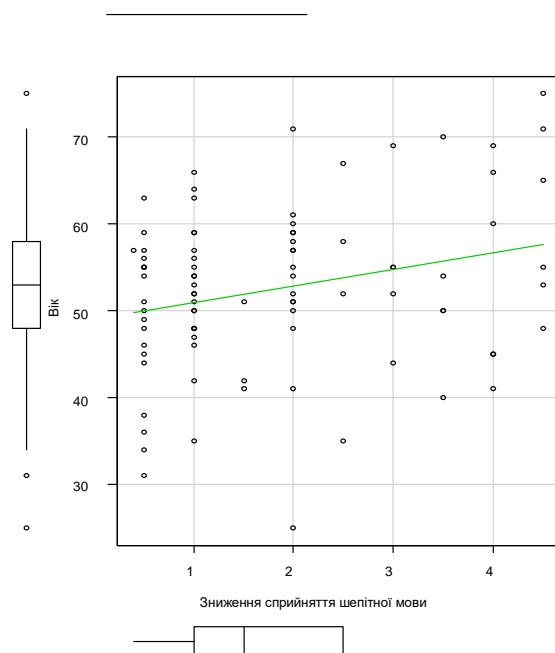


Рис. 3.11. Коефіцієнт кореляційного зв'язку між віком пацієнтів та зниженням сприйняття шепітної мови.

При проведенні аналізу зв'язку показників віку та зниженням сприйняття шепітної мови було також виявлено слабкий позитивний зв'язок 0,261, але статистично значимо відрізняється від 0 (95% СІ 0,0562-0,445, $P < 0,05$). Зі збільшенням віку збільшується ступінь глухоти та зниження сприйняття шепітної мови.

Вплив шуму на перцептивні порушення слуху також вивчався у великій кількості досліджень. Найбільш впливовими параметрами є інтенсивність та тривалість впливу. Для виявлення наявності кореляційного зв'язку між стажем роботи та ступенем приглухуватості в нашому дослідженні, було використано показник рангової кореляції Спірмена (Рисунок 3.12.).

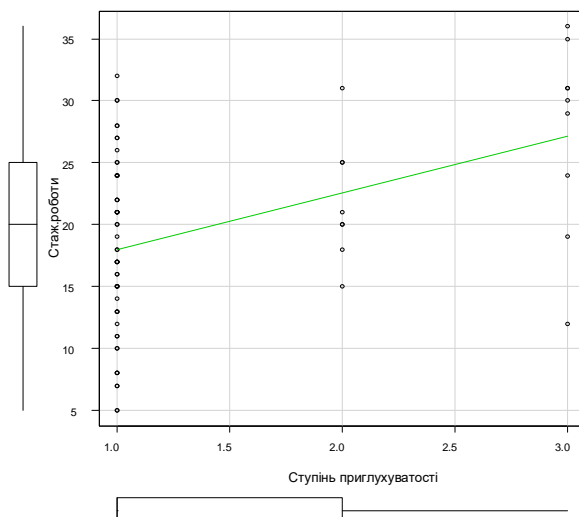


Рис. 3.12. Коефіцієнт кореляційного зв'язку між стажом роботи та ступенем глухоти.

При проведенні аналізу зв'язку показників стажу роботи та ступеню глухоти у пацієнтів з перцептивними порушеннями, які працюють в умовах виробничого шуму, було виявлено позитивний кореляційний зв'язок середнього ступеня вираженості 0,382, при цьому $P < 0,05$. Тобто, як і очікувалось, зі збільшенням стажу роботи збільшується ступінь приглухуватості.

Для виявлення наявності кореляційного зв'язку стажом роботи та зниженням сприйняття шестітної мови, було використано коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона (Рисунок 3.13.).

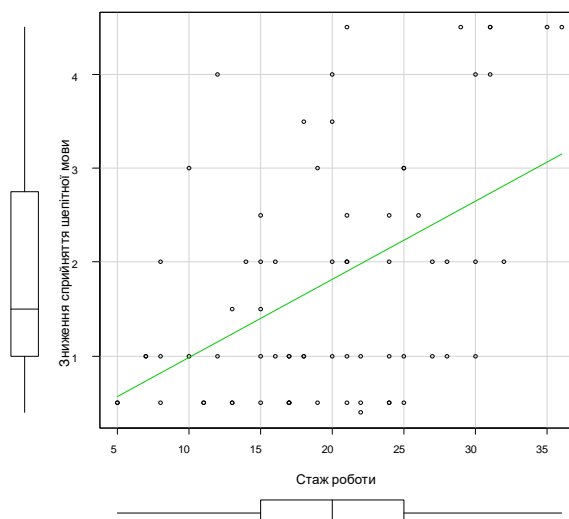


Рис. 3.13. Коефіцієнт кореляційного зв'язку між стажом та зниженням сприйняття шепітної мови.

При проведенні аналізу зв'язку показників стажу роботи та зниженням сприйняття шепітної мови було також виявлено с позитивний кореляційний зв'язок середнього ступеня вираженості 0,476, статистично значимо відрізняється від 0 (95% CI 0,274-0,639, $P < 0,05$). Зі збільшенням стажу роботи збільшується ступінь зниження сприйняття шепітної мови.

Для визначення зв'язку ризику розвитку перцептивних порушень слуху з факторними ознаками (вік та стаж роботи) було використано метод побудови та аналізу моделей логістичної регресії. Результати двофакторного аналізу зв'язку показані у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

Коефіцієнти двофакторної моделі прогнозування розвитку перцептивних порушень слуху у пацієнтів, що працюють в умовах навантаження шумом.

Фактори ризику	Значення коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості, P
Const	0,16±0,07	0,84
Вік пацієнта	0,08±0,056	0,67
Стаж роботи	0,08±0,02	0,002

Таким чином, встановлено, що ризик розвитку перцептивних порушень у працівників залізничного транспорту, які працюють в виробничого шуму, статистично значимо зі стажем роботи ($P < 0,05$) [241].

РОЗДІЛ 4.

ОЦІНКА АСОЦІАЦІЇ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ГЕНІВ *BCL-2* RS2279115, *BAX* RS4645878 ТА *BID* RS8190315 ТА РИЗИКУ РОЗВИТКУ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЇ ПРИГЛУХУВАТОСТІ У ПАЦІЄНТІВ З ПЕРЦЕПТИВНИМИ ПОРУШЕННЯМИ, ЯКІ ПРАЦЮЮТЬ В УМОВАХ ПІДВИЩЕНОГО ЗВУКОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ

В дослідженні визначення дизайну випадок-контроль приймали участь 89 осіб – 41 пацієнт з перцептивними порушеннями та 48 пацієнтів контролю, які працювали в тих самих умовах підвищеного звукового навантаження, але без розвитку патології слуху. Визначались особливості розподілу поліморфізму генів генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) в обох групах дослідження та наявність асоціації з встановленим діагнозом сенсоневральної приглухуватості.

В результаті полімеразної ланцюгової реакції для визначення SNP, всі пацієнти були класифіковані на гетерозиготні та гомозиготні:

- *Bcl-2* - *G/G*, *G/T*, *T/T*.
- *Bid* – *C/C*, *C/T*, *T/T*.
- *Bax* – *A/A*, *A/G*, *G/G*.

4.1. Поліморфізм гену *Bcl-2* rs2279115 та оцінка асоціацій між носіями різних генотипів гену в групах дослідження.

Результат проведеного аналізу частоти генотипів гена *Bcl-2* rs2279115 у хворих з СНП та в контрольній групі наведено на рисунку 4.1.

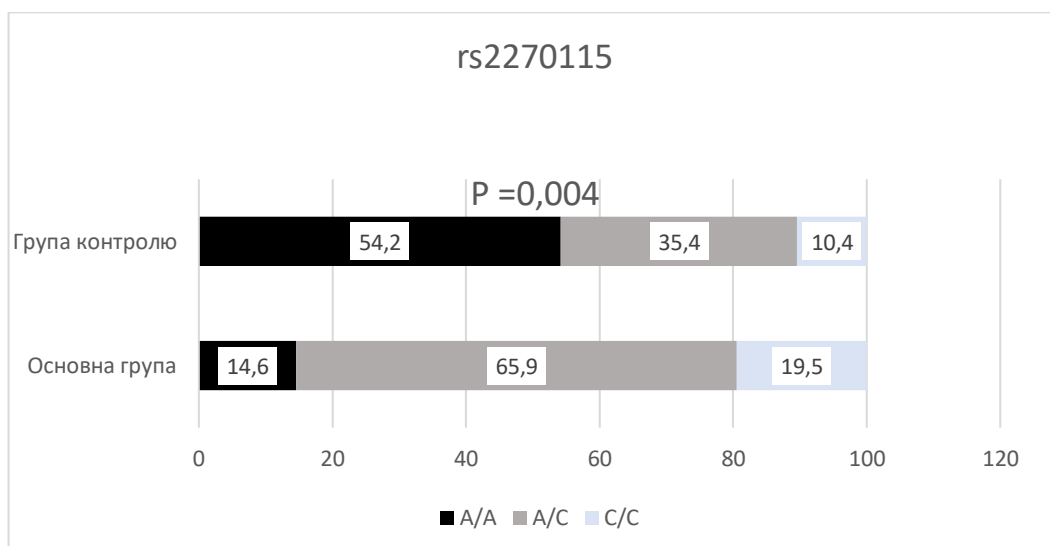


Рис. 4.1. Частота генотипів гена *Bcl-2*(rs2279115) у хворих з СНП та в контрольній групі. P – статистична значущість відмінностей показників за точним тестом Фішера

Результат проведеного аналізу частоти алелей гена *Bcl-2* (rs2279115) в дослідних групах наведено в рис.4.2.

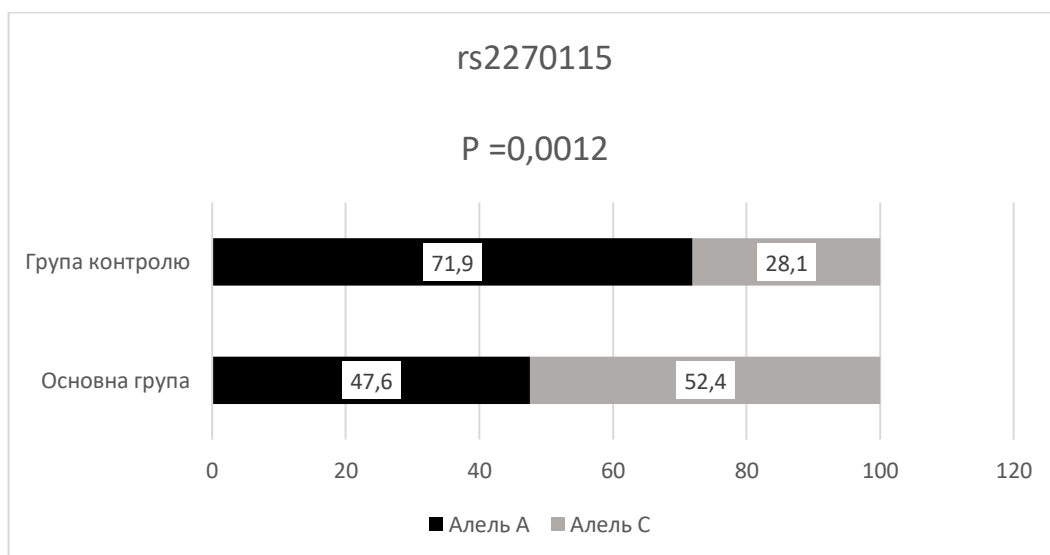


Рис 4.2. Частота алелей гена *Bcl-2*(rs2279115) у хворих з СНП та в контрольній групі. P – статистична значущість відмінностей показників за точним тестом Фішера

Як видно с рисунків 4.1. та 4.2., в контрольній групі переважають робітники з наявністю генотипу *AA* (54,2%), генотип *AC* та *CC* склав 35,4% та 10,4% відповідно. Серед пацієнтів основної групи переважають носії гетерогенного генотипу *AC* (65,9%), осіб з генотипом *AA* та *CC* менше в порівнянні з групою контролю (14,6% та 19,5% відповідно). В контрольній групі переважає носійство алеля *A*, а в основній групі – алеля *C*. Отже, можна припустити, що наявність у особи гетерогенного генотипу *AC* гену *Vcl-2* rs2279115, а також носійство алеля *C* підвищує ризик виникнення перцептивних змін та розвитку сенсоневральної приглухуватості.

Для оцінки вірогідності асоціації між цими показниками було проведено статистичні розрахунки. Результати представлені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1.

Результати розрахунку оцінки асоціацій між носіями різних генотипів та алелей гену *Vcl-2* rs2279115 та сенсоневральної приглухуватості в групах дослідження

Генотип		Основна група (n=41), abc (%)	Контрольна група (n=48), abc (%)	ВШ (OR) (95% ДІ)	Рівень значимості (P)
	<i>A/A</i>	6 (14,6)	26 (54,2)	0,145 (0,051- 0,409)	P =0,00012*
	<i>A/C</i>	27 (65,9)	17 (35,4)	3,517 (1,465- 8,441)	P =0,01*

	C/C	8 (19,5)	5 (10,4)	2,085 (0,624- 6,963)	P = 0,367
Алелі	A	39 (47,6)	69 (71,9)	0,355 (0,191- 0,66)	P = 0,0012*
	C	43 (52,4)	27 (28,1)	2,818 (1,514- 5,244)	P = 0,0012*

Отже, при проведенні статистичної обробки отриманих результатів була виявлена асоціація поліморфізмів гену *Bcl-2* rs2279115 із розвитком сенсоневральної приглухуватості. Наявність гетерогенного генотипу AC *Bcl-2* rs2279115 статистично значимо збільшує ризик виникнення перцептивних порушень (P < 0,05).

При порівнянні отриманих даних розподілу генотипів та алелей гену *Bcl-2* rs2279115 та даними, представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3, було отримано наступні дані (таблиця 4.2.)

Таблиця 4.2.

Порівняння даних частоти генотипів та алелей гену *Bcl-2* rs2279115 в результаті дослідження та представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3.

<i>Bcl-2</i> rs2279115	Дані дослідження, %	Дані проєкту*, %	Рівень значимості (P)
A/A	34,3	32,4	P > 0,05
A/C	50,65	48,5	P > 0,05
C/C	15	19	P > 0,05
Алель А	60	57	P > 0,05

Алель С	40,3	43	P >0,05
---------	------	----	---------

*Примітка: Дані проєкту 1000 Genomes Project Phase 3. <https://www.ensembl.org>.

Між даними розподілу генотипів та алелей гену *Bcl-2* rs2279115, отриманими під час нашого дослідження та представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3 не було виявлено статистично значимої відмінності.

4.2. Поліморфізм гену *Bid* rs8190315 та оцінка асоціацій між носіями різних генотипів гену в групах дослідження.

Результат проведеного аналізу частоти генотипів гену *Bid* rs8190315 у хворих з СНП та в контрольній групі наведено на рисунку 4.3.

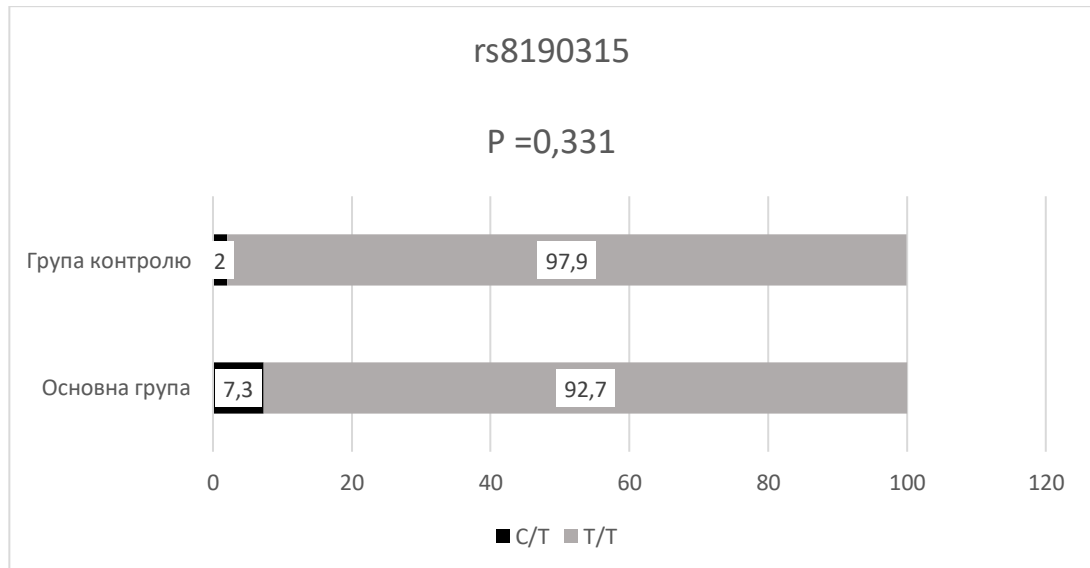


Рис 4.3. Частота генотипів гену *Bid* rs8190315 у хворих з СНП та в контрольній групі. P – статистична значущість відмінностей показників за точним тестом Фішера

Результат проведеного аналізу розподілу алелей гену *Bid* rs8190315 в дослідних групах наведено на рисунку 4.4.

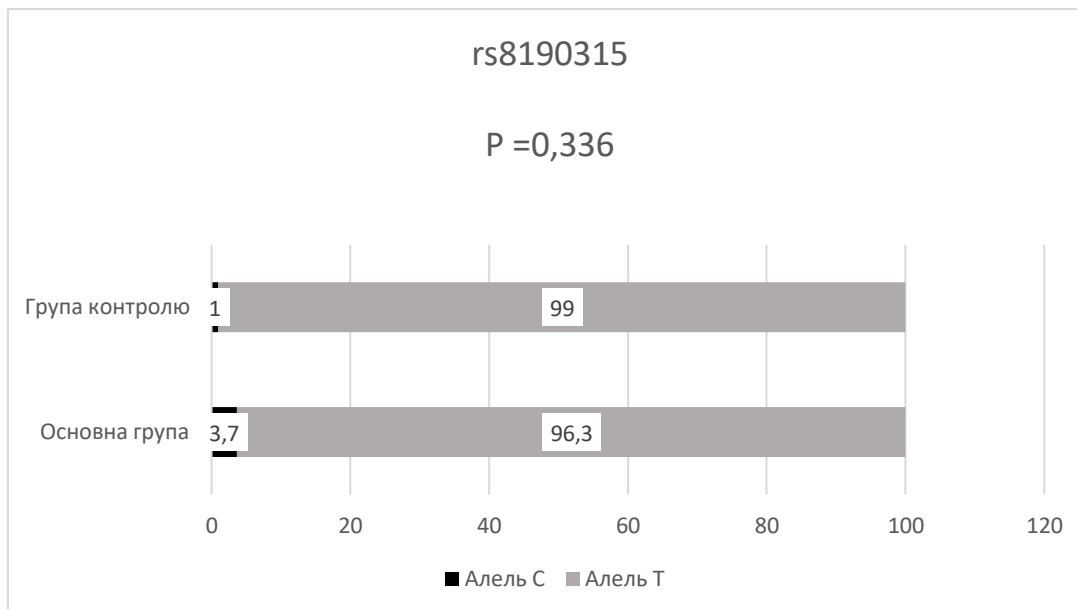


Рис 4.4. Частота алелей гену *Bid* rs8190315 у хворих з СНП та в контрольній групі. P – статистична значущість відмінностей показників за точним тестом Фішера

У досліджуваних обох груп більшу кількість становили особи з генотипом *TT* та відсутній генотип *CC*. Носійство алеля Т значно перевищувало частоту носійства А, але статистично значимої різниці у осіб обох груп дослідження виявлено не було ($P > 0,05$).

Для оцінки вірогідності асоціації між цими показниками було проведено статистичні розрахунки. Результати представлені в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3.

Результати розрахунку оцінки асоціацій між носіями різних генотипів гену *Bid* rs8190315 в групах дослідження

Генотип		Основна група (n=41), абс (%)	Контрольна група (n=48), абс (%)	ВШ (OR) (95% ДІ)	Рівень значимості, (P)
<i>Bid</i> , C/T (rs8190315)	C/C	0 (0)	0 (0)	-	-
	C/T	3 (7,3)	1 (2)	3,71 (0,371-37,128)	P =0,331
	T/T	38 (92,7)	47 (97,9)	0,27 (0,027-2,697)	P =0,331
Алелі	C	3 (3,7)	1 (1)	3,556 (0,363-34,845)	P =0,336
	T	79 (96,3)	95 (99)	0,277 (0,028-2,718)	P =0,336

Таким чином, не було виявлено асоціації між генотипами або алелями *Bid* rs8190315 та ризиком розвитку перцептивних порушень у робітників, які працюють в умовах виробничого шуму.

При порівнянні отриманих даних розподілу генотипів та алелей гену *Bid* rs8190315 та даними, представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3, було отримано наступні дані (таблиця 4.4.)

Таблиця 4.4.

Порівняння даних розподілу генотипів та алелей гену *Bid* rs8190315 в результаті дослідження та представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3.

<i>Bid</i> rs8190315	Дані дослідження, %	Дані проєкту*, %	Рівень значимості (P)
C/C	0	0,2	P >0,05
C/T	4,7	3,6	P >0,05
T/T	95,5	96,2	P >0,05
C	2,35	2	P >0,05
T	98	98	P >0,05

*Примітка: Дані проєкту 1000 Genomes Project Phase 3. <https://www.ensembl.org>.

Між даними розподілу генотипів та алелей гену *Bid* rs8190315, отриманими під час нашого дослідження та представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3 не було виявлено статистично значимої відмінності.

4.3. Поліморфізм гену *Vax* rs4645878 та оцінка асоціацій між носіями різних генотипів гену в групах дослідження у робітників, які працюють в умовах виробничого шуму.

Результат проведеного аналізу розподілу частоти генотипів гену *Vax* rs4645878, в дослідних групах наведено в рис. 4.5.

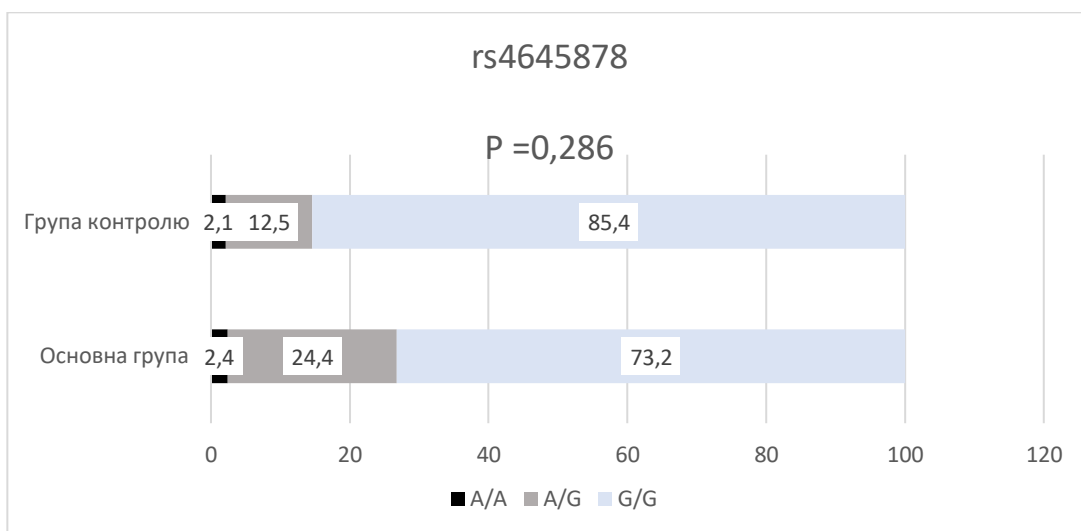


Рис 4.5 Частота генотипів гена *Vax* rs4645878 у хворих з СНП та в контрольній групі. P – статистична значущість відмінностей показників за точним тестом Фішера

Результат проведеного аналізу розподілу алелей гена *Vax* rs4645878 в дослідних групах наведено в рис.4.6.

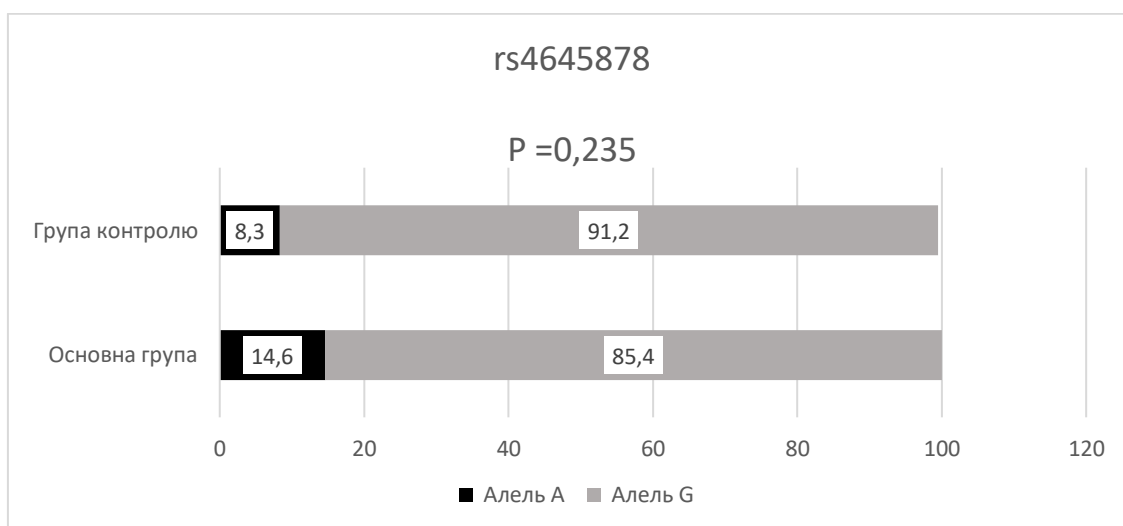


Рис 4.6. Частота алелей гена *Vax* rs4645878 у хворих з СНП та в контрольній групі. P – статистична значущість відмінностей показників за точним тестом Фішера.

В обох групах дослідження була переважна кількість осіб з генотипом *GG*. У пацієнтів основної групи дослідження була вищою кількість гетерогенних генотипів *AG* (24,4%) в порівнянні з контрольною (12,5%). Носійство алеля *G* зустрічається значно частіше за носійство алеля *A*. Результати оцінки асоціації між генотипами та ризиком перцептивних порушень представлені в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5.

Результати розрахунку оцінки асоціацій між носіями різних генотипів гену *Vax* rs4645878 в групах дослідження

Генотип		Основна група (n=41), abc (%)	Контрольна група (n=48), abc (%)	ВШ (OR) (95% ДІ)	Рівень значимості, (P)
<i>Vax</i> , <i>A/G</i> (rs4645878)	<i>A/A</i>	1 (2,4)	1 (2,1)	1,175 (0,071-19,394)	P =0,9
	<i>A/G</i>	10 (24,4)	6 (12,5)	2,258 (0,742-6,875)	P =0,178
	<i>G/G</i>	30 (73,2)	41 (85,4)	0,466 (0,162-1,324)	P =0,193
Алелі	<i>A</i>	12 (14,6)	8 (8,3)	1,886 (0,731-4,867)	P =0,235
	<i>G</i>	70 (85,4)	88 (91,2)	0,53 (0,205-1,369)	P =0,235

Таким чином, не було виявлено асоціації між генотипами або алелями гену *Vax* rs4645878 та ризиком розвитку перцептивних порушень у осіб, які працюють в умовах виробничого шуму.

При порівнянні отриманих даних розподілу генотипів та алелей гену *Vax* rs4645878 та даними, представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3, було отримано наступні дані (таблиця 4.6.)

Таблиця 4.6.

Порівняння даних розподілу генотипів та алелей гену *Vax* rs4645878 в результаті дослідження та представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3.

<i>Vax</i> rs4645878	Дані дослідження, %	Дані проєкту*, %	Рівень значимості (P)
A/A	2,25	1,4	P <0,05*
A/G	18,45	18,1	P >0,05
G/G	79,3	80,5	P >0,05
A	11,45	10,4	P >0,05
G	88,3	89,6	P >0,05

*Примітка: Дані проєкту 1000 Genomes Project Phase 3. <https://www.ensembl.org>.

Кількість носіїв гомозиготного генотипу AA гену *Vax* rs4645878 у осіб, які брали участь в дослідженні статистично відрізнялось від даних, представлених в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3. Відмінність, скоріш за все, обумовлена відносно невеликою вибіркою, а також низьким відсотком носіїв даного генотипу. Між іншими даними розподілу генотипів та алелей гену *Vax* rs4645878, отриманими під час нашого дослідження та представленими в проєкті 1000 Genomes Project Phase 3 не було виявлено статистично значимої відмінності.

4.4. Узагальнюючі дані аналізу поліморфізмів генів *Bcl-2* (rs2279115, *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) як можливий прогностичний критерій ризику розвитку перцептивних порушень слуху.

Когорти дослідження були також розподілені на чотири підгрупи на основі комбінації алелей *G* та *T* у гена *Bcl-2* та алелей *A* та *G* у гена *Bax*. Комбінацію алелей *C* та *T* гена *Bid* не були включені в комбінації через відсутність статистично значимої різниці даних алелей у осіб, які працюють в умовах виробничого шуму, в обох групах дослідження. Дані представлені в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7.

Комбінований розподіл генотипів *Bcl-2* та *Bax* в основній та контрольній групах

Комбінація генотипів	Основна група (n=41), абс (%)	Контрольна група (n=41), абс (%)	ВШ (OR) (95% ДІ)	Рівень значимості, (P)
<i>CC/AT</i> та <i>AG/GG</i>	34 (82,9%)	21 (43,7%)	6,245 (2,312-16,865)	P <0,05
<i>CC/AT</i> та <i>AA</i>	1 (2,45%)	1 (2,1%)	1,175 (0,071-19,394)	P >0,05
<i>CC</i> та <i>AG/GG</i>	6 (14,65%)	26 (54,2%)	0,145 (0,051-0,409)	P <0,05
<i>CC</i> та <i>AA</i>	0	0		-

Було виявлено, що при комбінації генотипу по типу *CC/AT* та *AG/GG* статистично значимо підвищується ризик розвитку перцептивних порушень. Тим часом комбінація генотипу *CC* та *AG/GG* частіше зустрічається у працівників без перцептивних порушень ($P < 0,05$).

З метою оцінки впливу носійства різних генотипів генів апоптозу *Bcl-2* (rs2279115, *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) на ризик розвитку перцептивних порушень при сенсоневральній приглухуватості у осіб, які працюють в умовах виробничого шуму, та виявлення причинно-наслідкових впливів носійства з урахуванням стажу роботи та віку пацієнтів, було використано метод побудови та аналізу моделей логістичної регресії. Результат багатофакторного аналізу показаний в таблиці 4.8.

Таблиця 4.8.

Коефіцієнти п'ятифакторної моделі прогнозування розвитку перцептивних порушень слуху у людей, які працюють в умовах підвищеного звукового навантаження.

Фактори ризику	Значення коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості, P	Показник ВШ (95% ВІ)
Const	-6,01±5,21	0,249	-
Вік пацієнта	-0,06±0,04	0,121	0,94 (0,86-1,02)
Стаж роботи	0,05±0,04	0,181	1,05 (0,98-1,14)
Поліморфізм гену <i>Bcl-2</i> (rs2279115)	1,21±0,38	0,001*	3,37 (1,60-7,09)

Поліморфізм гену <i>Bid</i> (rs8190315)	1,51±1,50	0,316	4,52 (0,24-86,1)
Поліморфізм гену <i>Bax</i> (rs4645878)	0,37±0,53	0,490	1,44 (0,51-4,10)

Аналіз проводився на результатах обстеження 89 працівників залізничного транспорту, у 41 з яких було встановлено діагноз сенсоневральної приглухуватості. Для відбору мінімальної кількості факторних ознак було використано метод Stepwise (покрокового відкидання змінних). В результаті було виділено основну факторну ознаку – поліморфізм гену *Bcl-2* (rs2279115). На основі даних побудована логістична модель прогнозування $AUC=0,74$ (95% ВІ 0,63 – 0,84), статистично значимо перевищує 0,5 ($P < 0,05$) – рисунок 4.7.

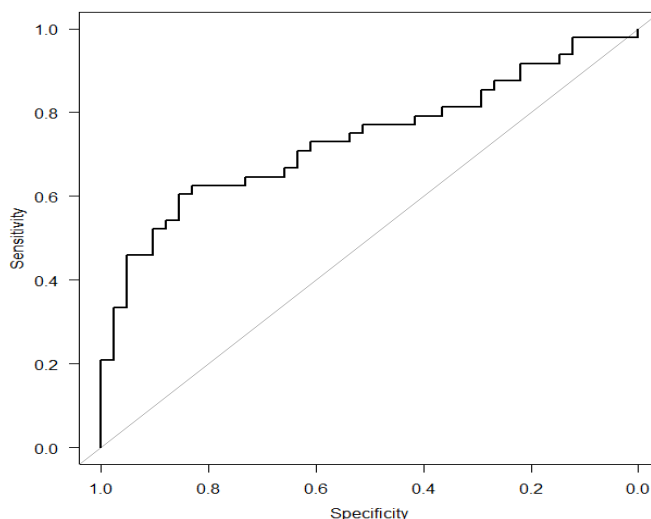


Рисунок 4.7. ROC-крива логістичної моделі регресії, зв'язок між поліморфізм гену *Bcl-2* (rs2279115) та ризиком розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах підвищеного звукового навантаження.

Графічне зображення логістичної моделі прогнозування вказує на статистичну достовірність зв'язку між поліморфізмом генотипів гену *Bcl-2* (rs2279115) та ризиком розвитку СНП [242].

Додатково була проведена оцінка впливу носійства у пацієнтів з встановленим діагнозом сенсоневральної приглухуватості (основна група дослідження) різних генотипів генів *Bcl-2* (rs2279115, *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) на ступінь втрати слуху (легкий, помірний або помрно важкий), сторону ураження (лівобічна, правобічна або двобічна сенсоневральна приглухуватість) та тип кривої при аудіометричному обстеженні (з пологим зниженням слуху з підвищенням порогів слуху на всіх частотах з максимумом в ділянці високих частот, з ізольованим підвищенням порогів сприйняття звуку або з відносним збереженням порогів сприйняття слуху на низьких частотах та різким їх підвищенням починаючи з 2000-3000 Гц). Результати дослідження вказані в таблиці 4.9.

Таблиця 4.9.

Оцінка впливу носійства у пацієнтів з встановленим діагнозом сенсоневральної приглухуватості різних генотипів генів *Bcl-2* (rs2279115, *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) на ступінь втрати слуху, сторону ураження та тип аудіометричної кривої

	Ступінь втрати слуху (Рівень значимості, P)	Сторона ураження (Рівень значимості, P)	Тип аудіометричної кривої (Рівень значимості, P)
Поліморфізм гену <i>Bcl-2</i> (rs2279115)	0,551	0,957	0,745

Поліморфізм гену <i>Bid</i> (rs8190315)	0,356	0,704	0,652
Поліморфізм гену <i>Bax</i> (rs4645878)	0,475	0,609	0,583

Застосування точного тесту Фішера з поправкою Бонферроні показало, що розподіл генотипів в осіб обох груп порівняння статистично значущо не впливав на ступінь втрати слуху, сторону ураження та тип кривої при аудіометричному обстеженні ($P > 0,05$ в усіх випадках).

РОЗДІЛ 5. ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Підсумовуючи результати, отримані в ході проведення третього розділу дисертаційної роботи, слід відзначити, що найчастішою причиною виникнення гострої сенсоневральної приглухуватості в нашому дослідженні було запалення середнього вуха, особливо на фоні гострих респіраторних вірусних інфекції. Такий високий показник може бути зумовлений тим, що не в усіх випадках розвивалась власне сенсоневральна приглухуватість, а виявлені зміни кісткової провідності можуть бути результатом розвитку змін, зумовлених запальними процесами. Частково механізм таких уражень може мати і судинний патогенез – порушення виникають на фоні підвищення температури та інтоксикації під час основного захворювання. За даними світової літератури, судинна патологія є основним механізмом виникнення перцептивних порушень [19, 22, 26, 28, 37].

Визначення етіології та патогенезу розвитку перцептивних порушень при гострій та хронічній сенсоневральній приглухуватості є важливим для підбору найбільш ефективного індивідуалізованого лікування. За отриманими результатами статистичного аналізу медичних карток стаціонарного хворого пацієнтів, які звертались самостійно або були направлені на стаціонарне лікування до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років, було виявлено, що 155 пацієнтів з перцептивними порушеннями (майже третина) не могли вказати на причину виникнення або прогресування погіршення слуху і під час перебування на стаціонарному лікуванні причина так і не була встановлена. Виходячи з отриманого результату, можна сказати, що дослідження, спрямовані на вивчення етіопатогенезу, є важливими і можуть бути основою до підвищення ефективності лікування таких хворих в подальшому [22, 24].

Подальший аналіз звернень до отоларингологічного відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років показав, що не було статистичної відмінності між кількістю жінок та чоловіків, отже, немає гендерної нерівності. Однак, середній вік жінок за 2015-2021 роки був статистично вищим за такий показник у чоловіків – 52,8 роки та 47,2 роки відповідно ($P < 0,001$).

За стороною ураження була проведена структуризація пацієнтів. В загальній кількості найбільшу кількість становило двобічне ураження, найменшу – правобічне. У пацієнтів з ЦД 2 типу двобічне ураження зустрічалося в 64%, що свідчить про дифузне ураження при гіперглікемії. Найбільш частою причиною виникнення або прогресування СНП на фоні ЦД 2 типу був інфекційний фактор – гостре респіраторне захворювання чи отит.

Під час дослідження характеру наявних супутніх розладів у пацієнтів з гострою сенсоневральною приглухуватістю або загостренням хронічної форми захворювання було виявлено, що вестибулярні порушення найбільш часто виникали на фоні ізольованого правобічного ураження (понад 38%). Це питання потребує подальшого дослідження – визначення статистично значимої достовірності такої асоціації та можливих її причин.

Під час попереднього обстеження осіб, які працюють в умовах виробничого шуму (машиністи, помічники машиністів, слюсари, монтери колій залізничного транспорту), були проведені розрахунки для виявлення наявності кореляційного зв'язку між віком пацієнтів, стажем роботи та ступенем втрати слуху. Був виявлений позитивний зв'язок – чим більше вік та стаж роботи, тим вищий ризик розвитку сенсоневральної приглухуватості в результаті дії виробничого шуму. Найбільша кількість працівників з перцептивними порушеннями слуху визначалась при стажі роботи від 10 до 20 років. Отримані результати відповідають загальноновизнаним даним світової літератури [29].

Ретельне обстеження працівників залізничного транспорту, які працюють в умовах виробничого шуму, дало змогу провести детальний відбір

пацієнтів в основну та контрольну групи дослідження для визначення поліморфізму генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) та можливої асоціації його з ризиком розвитку сенсоневральної приглухуватості. Більшість аналогічних досліджень, висвітлених в світовій літературі, проведено на тваринах або стосуються питання пресбіакузису [29, 230, 228, 235].

Дослідження SNP гену *Bcl-2* (rs2279115) виявили, що наявність у особи генотип *G/T* може підвищувати ризик розвитку перцептивних порушень порівняно з генотипом *G/G* та *T/T* ($P < 0,05$). Різниця генотипів гену *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) у осіб з наявністю перцептивних порушень слуху та без порушень не досягла статистичної значимості ($P > 0,05$). Це може вказувати на відсутність асоціації між різними генотипами генів *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) та ризиком розвитку сенсоневральної приглухуватості. Когорти дослідження були також розподілені на чотири підгрупи на основі комбінації алелей *G* та *T* у гена *Bcl-2* та алелей *A* та *G* у гена *Bax*. Було виявлено, що при комбінації генотипу по типу *GG/GT* та *AG/GG* статистично значимо підвищується ризик розвитку перцептивних порушень. Тим часом комбінація генотипу *TT* та *AG/GG* частіше зустрічається у працівників без перцептивних порушень ($P < 0,05$).

Побудова та аналіз багатофакторної логістичної моделі регресії (вік, стаж, поліморфізм генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878)) підтвердили статистично значимий вплив поліморфізму гену апоптозу *Bcl-2* (rs2279115). Ми не знайшли впливу генетичної варіабельності генів *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) на ризик розвитку перцептивних порушень.

Для більш достовірного вивчення питання впливу генів апоптозу на розвиток перцептивних порушень є необхідність подальшого вивчення цього питання, включаючи дослідження по асоціації поліморфізму інших генів, які приймають участь в запланованій смерті клітин людини. Також важливим є вивчення питання експресії генів.

ВИСНОВКИ

У дисертації шляхом проведення полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі проведено вивчення питання наявності асоціації поліморфізму генів апоптозного каскаду *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) з розвитком перцептивних порушень, виділено найбільш впливові комбінації алелей та генотипів даних генів та запропоновано практичне використання отриманих результатів.

1. Серед загальної кількості пацієнтів, які звертались самостійно або були направлені на стаціонарне лікування в отоларингологічне відділення Олександрівської клінічної лікарні міста Київ протягом 2015-2021 років, випадки перцептивного порушення слуху склали 8,7%, що свідчить про відносно широке розповсюдження даної патології серед стаціонарних хворих отоларингологічного відділення.
2. Серед можливих причин виникнення перцептивних порушень слуху зі слів досліджуваних хворих на першому місці був середній отит, переважно після ГРЗ або переохолодження. Це говорить про очевидну необхідності проведення аудіометричного дослідження у всіх пацієнтів з ураженням середнього вуха. Однак такий високий показник може бути зумовлений тим, що не в усіх випадках розвивалась власне сенсоневральна приглухуватість, а виявлені зміни на тональній аудіометрії були зумовлені запальними процесами.
3. У 23% пацієнтів з перцептивними порушеннями слуху не вдалось встановити етіологічний чинник, що свідчить про важливість подальшого дослідження етіопатогенезу сенсоневральної приглухуватості з метою підвищення ефективності лікування.
4. Наявність у пацієнтів молодого віку (до 45 років) з невеликим стажем роботи в умовах шуму (до 10 років) помірно важкого ступеня втрата слуху може свідчити про наявність у них супутніх патологій, в тому

числі, генетичної, як призводять до підвищеного ризику розвитку порушення слуху і такі пацієнти потребують додаткового обстеження, включаючи визначення характеру поліморфізму генів.

5. Встановлено, що у носіїв гетерозиготного генотипу *A/C* гену *Bcl-2* (rs2279115) ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, підвищений ($P < 0,05$); ВШ 3,517; 95% ДІ 1,465-8,441.
6. Встановлено, що у носіїв гомозиготного генотипу *A/A* гену *Bcl-2* (rs2279115) ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, знижений ($P < 0,05$); ВШ 0,145; 95% ДІ 0,051-0,409.
7. Виявлено, що поліморфізм генотипів гену *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) не проявив статистично значимого впливу на ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму ($P > 0,05$).
8. Встановлено, що у носіїв з комбінацією генотипу по типу *AA/AC* гену *Bcl-2* (rs2279115) та *AG/GG* гену *Bax* (rs4645878) ризик розвитку перцептивних порушень у людей, які працюють в умовах виробничого шуму, підвищений ($P < 0,05$), ВШ 6,245; 95% ДІ 2,312-16,865.
9. Встановлено, що поліморфізм генотипів гену *Bcl-2* (rs2279115), *Bid* (rs8190315) та *Bax* (rs4645878) не проявив статистично значимого впливу на ступінь втрати слуху, сторону ураження та тип кривої при аудіометричному обстеженні ($P > 0,05$ в усіх випадках).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Проводити повноцінне аудіометричне обстеження всіх пацієнтів, які звертаються зі скаргами на порушення слуху з метою своєчасного діагностування перцептивних порушень.
2. У випадках з невстановленим етіопатогенезом розвитку сенсоневральної приглухуватості слід проводити поглиблене обстеження пацієнта, включаючи генетичні дослідження, спрямовані на виявлення можливих супутніх патологій, які мають вплив на розвиток перцептивних порушень слуху.
3. Вивчення поліморфізму генів та їх асоціації з розвитком перцептивних порушень слуху та прогресування хронічної сенсоневральної приглухуватості може стати підґрунтям з'ясуванню етіопатогенетичних факторів захворювання, що, в свою чергу, приведе до вдосконалення методів специфічного та індивідуалізованого лікування.
4. Визначення переліку досліджень для складання генетичного паспорту людини може стати потужним превентивним заходом перцептивних порушень, особливо при роботі в умовах виробничого шуму.
5. Виявлення осіб з підвищеною чутливістю до шуму через поліморфізм різних генів, в тому числі, генів *Bcl-2* (rs2279115), *Bax* (rs4645878) та *Bid* (rs8190315) створює можливість знизити ризик розвитку професійних захворювань серед робітників, які працюють в умовах виробничого шуму.
6. Визначення поліморфізму генів *Bcl-2* (rs2279115) та *Bax* (rs4645878) може бути використано як прогностичний критерій підвищеного ризику перцептивних уражень слухової функції у людей в умовах шуму.
7. У випадку виявлення осіб-носіїв генотипів, що підвищують ризик розвитку перцептивних порушень, слід пояснити їм ризик виникнення сенсоневральної приглухуватості та рекомендувати уникати роботи в умовах виробничого шуму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388:1545–602.
2. World report on hearing. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
3. Mick P, Kawachi I, Lin FR. The association between hearing loss and social isolation in older adults. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2014;150:378–84.
4. Contrera KJ, Betz J, Genther DJ, Lin FR. Association of hearing impairment and mortality in the National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2015;141:944–6.
5. Fisher D, Li CM, Chiu MS, et al. Impairments in hearing and vision impact on mortality in older people: the AGES- Reykjavik Study. *Age Ageing* 2014;43:69–76.
6. Lin FR, Yaffe K, Xia J, et al. Hearing loss and cognitive decline in older adults. *JAMA Intern Med* 2013;173:293–9.
7. Gallacher J, Ilubaera V, Ben-Shlomo Y, et al. Auditory threshold, phonologic demand, and incident dementia. *Neurology* 2012;79:1583–90.
8. Mener DJ, Betz J, Genther DJ, Chen D, Lin FR. Hearing loss and depression in older adults. *J Am Geriatr Soc* 2013;61: 1627–9.
9. Starr A, Rance G. Auditory neuropathy. *Handb Clin Neurol* 2015;129:495–508.
10. Piccirillo J. F., Garcia K. S., Nicklaus J., Pierce K., Burton H., Vlassenko A. G., Mintun M., Duddy D., Kallogjeri D., Spitznagel E. L. Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation to the Temporoparietal Junction for Tinnitus // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011. № 137 (3). P. 221–228.
11. Mick P et al. The association between hearing loss and social isolation in older adults. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2014;150:378–84.

12. Genter DJ et al. Association of hearing loss with hospitalization and burden of disease in older adults. *JAMA* 2013;309:2322–4.
13. Contrera KJ et al. Association of hearing impairment and mortality in the National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2015;141:944–6.
14. Gallacher J et al. Auditory threshold, phonologic demand, and incident dementia. *Neurology* 2012;79:1583–90.
15. Mener DJ et al. Hearing loss and depression in older adults. *J Am Geriatr Soc* 2013;61: 1627–9.
16. Iris Schrijver. Hereditary Non-Syndromic Sensorineural Hearing Loss Transforming Silence to Sound. *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 6, No. 4, November 2004.
17. Zhang, X. et al. Selected blood inflammatory and metabolic parameters predicted successive bilateral sudden sensorineural hearing loss. *Dis. Markers* 2019, 2019, 7165257.
18. Göde, S. et al. Evaluation of procalcitonin and hs-CRP levels in sudden sensorineural hearing loss. *J. Int. Adv. Otol.* 2018, 14, 44.
19. Дєєва ЮВ, Дибкалюк СВ, Коновалов СЕ. Вплив хірургічної корекції кровотоку в вертебробазиллярному басейні на стан слухового аналізатора у пацієнтів з екстравазальною компресією вертебральних артерій. *Журн. вушних, носових и горлових хвороб.* 2016;3-с:41-2.,
20. Elham Tavanai Role of et al. Antioxidants in prevention of age-related hearing loss: a review of literature. *European Archives of otorhyno-laryngology.* 2017 April 274; Issue 4:1821-34.
21. Brandon E. Cohen et al. Viral Causes of Hearing Loss: A Review for Hearing Health Professionals. *Trends in Hearing.* 2014;18: 1-17. DOI: 10.1177/2331216514541361.
22. Fred H. Linthicum et al. Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss: Vascular or Viral? *Otolaryngology -Head and Neck Surgery.* 2013;149(6):914-917. DOI: 10.1177/0194599813506546.

23. Koumpa FS et al. Sudden irreversible hearing loss post COVID-19. *BMJ Case Rep* 2020;13:238419. DOI:10.1136/bcr-2020-238419.
24. Ciorba A et al. Sudden sensorineural hearing loss: is there a connection with inner ear electrolytic disorders? A literature review. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2016;29(4):595–602. doi:10.1177/0394632016673845.
25. Cao Z, Gao J, Huang S, et al. Genetic polymorphisms and susceptibility to sudden sensorineural hearing loss: a systematic review. *Audiol Neurootol.* 2019;24(1):8–19. doi:10.1159/000497032.
26. Дєєва ЮВ, Васильєв ОВ. Дослідження стану слухового аналізатора у тварин в умовах експериментальної сенсоневральної приглухуватості. *Журн. вушних, носових і горлових хвороб.* 2017;4:34-9., 93, 202, 228.
27. Allen PD, Eddins DA. Presbycusis phenotypes form a heterogeneous continuum when ordered by degree and configuration of hearing loss. *Hear Res* 2010; 264:10–20.
28. Шидловська ТА, Шевцова ТВ, Пойманова ОС, Петрук ЛГ, Кузьмук Ю. Стан слухової функції за даними суб'єктивної аудіометрії у постраждалих з акутравмою, отриманою в зоні проведення антитерористичної операції. *Військова медицина України.* 2018;18:1:57-65.
29. Carroll YI, Eichwald J, Scinicariello F, et al. Vital signs: noise-induced hearing loss among adults — United States 2011–2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2017;66:139–44.
30. Duggal P, Sarkar M. Audiologic monitoring of multi-drug resistant tuberculosis patients on aminoglycoside treatment with long term follow-up. *BMC Ear Nose Throat Disord* 2007;7:5.
31. Garinis AC, Cross CP, Srikanth P, et al. The cumulative effects of intravenous antibiotic treatments on hearing in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2017;16: 401–9.

- 32.Theunissen EA, Zuur CL, Bosma SC, et al. Long-term hearing loss after chemo-radiation in patients with head and neck cancer. *Laryngoscope* 2014;124:2720–5.
- 33.Frisina RD, Wheeler HE, Fossa SD, et al. Comprehensive audiometric analysis of hearing impairment and tinnitus after cisplatin-based chemotherapy in survivors of adult-onset cancer. *J Clin Oncol* 2016;34:2712–20.
- 34.Friedman TB, Griffith AJ: Human nonsyndromic sensorineural deafness. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2003, 4:341– 402.
- 35.Griffith AJ et al. Ballenger’s otorhinolaryngology head and neck surgery. 18th ed. Shelton, CT: People’s Medical Publishing House, 2017: 329–45.
- 36.Christensen K, Frederiksen H, Hoffman HJ. Genetic and environmental influences on self-reported reduced hearing in the old and oldest old. *J Am Geriatr Soc* 2001;49:1512–7.
- 37.Stachler RJ, Chandrasekhar SS, Archer SM, et al. Clinical practice guideline: sudden hearing loss. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012;1463 Suppl:S1–S35.
- 38.Öçal, R. et al. Is the C-reactive protein/albumin ratio a prognostic and predictive factor in sudden hearing loss? *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2020, 86, 180–184.
- 39.Yoon, S.; Kim, M. et al. Inflammatory cytokines and mononuclear cells in sudden sensorineural hearing loss. *J. Laryngol. Otol.* 2019, 133, 95–101.
- 40.C.; Xuan, X.; Zhou, Z. et al. A preliminary report on the investigation of prestin as a biomarker for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Ear Nose Throat J.* 2020, 99, 528–531.
- 41.Jeon Gang Doo, Dokyoung Kim et al. Biomarkers Suggesting Favorable Prognostic Outcomes in Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:7248; DOI:10.3390/ijms21197248.
- 42.Seo, Y.J.; Choi, J.Y.; Moon, I.S. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio: Novel markers for diagnosis and prognosis in patients

- with idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Dis. Markers* 2014, 2014, 702807.
43. Chen, L.; Zhang, G. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts diagnosis and prognosis of idiopathic sudden sensorineural hearing loss: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2018, 97, e12492.
44. Kang, J.W.; Kim, M.G. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio as a valuable prognostic marker in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol.* 2020, 140, 307–313.
45. Canpolat, U.; Çetin, E.H. et al. Association of monocyte-to-HDL cholesterol ratio with slow coronary flow is linked to systemic inflammation. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2016, 22, 476–482.
46. Koçak, H.E.; Acipayam, H. et al. Is the monocyte/HDL ratio a prognostic marker of idiopathic sudden hearing loss? *Otolaryngol. Pol.* 2016, 70, 26–30.
47. Kaneva, A.M.; Yanov, Y.K. et al. The atherogenic index (ATH index) as a potential predictive marker of idiopathic sudden sensorineural hearing loss: A case control study. *Lipids Health Dis.* 2019, 18, 64.
48. Oya, R.; Takenaka, Y. et al. Serum Fibrinogen as a Prognostic Factor in Sudden Sensorineural Hearing Loss: A Meta-analysis. *Otol. Neurotol.* 2018, 39, e929–e935.
49. Weiss, D.; Neuner, B. et al. Platelet glycoproteins and fibrinogen in recovery from idiopathic sudden hearing loss. *PLoS ONE* 2014, 9, e86898.
50. Park, M.S.; Song, J.J. Sudden sensorineural hearing loss. *Otorhinolaryngol. Head Neck Surg.* 2018, 34, 631–652.
51. Liberman MC, Epstein MJ et al. Toward a differential diagnosis of hidden hearing loss in humans. *PLoS One* 2016;11(9): e0162726.
52. Hickox AE, Larsen E et al. Translational issues in cochlear synaptopathy. *Hear Res* 2017; 349:164–71.
53. Fukui H, Raphael Y. Gene therapy for the inner ear. *Hear Res* 2013;297:99–105.

54. Staecker H, Rodgers B. Developments in delivery of medications for inner ear disease. *Expert Opin Drug Deliv* 2013;10: 639–50.
55. Gyorgy B., Meijer E.J. et al. (2019) Gene transfer with AAV9-PHP.B rescues hearing in a mouse model of Usher syndrome 3A and transduces hair cells in a non-human primate. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, 13, 1–13.
56. Dulon D., Papal S. et al. (2018) Clarin-1 gene transfer rescues auditory synaptopathy in model of Usher syndrome. *J. Clin. Invest.*, 128, 3382–3401.
57. Geng R., Omar A. et al. (2017) Modeling and preventing progressive hearing loss in Usher syndrome III. *Sci. Rep.*, 7, 13480.
58. Pan B., Askew C., Galvin A. et al. (2017) Gene therapy restores auditory and vestibular function in a mouse model of Usher syndrome type 1c. *Nat. Biotechnol.*, 35, 264–272.
59. Chang Q., Wang J. et al. (2015) Virally mediated *Kcnq1* gene replacement therapy in the immature scala media restores hearing in a mouse model of human Jervell and Lange-Nielsen deafness syndrome. *EMBO Mol. Med.*, 7, 1077–1086.
60. Urban E. and Noe C.R. (2003) Structural modifications of antisense oligonucleotides. *Farmacol.*, 58, 243–258.
61. Adams D., Gonzalez-Duarte A. et al. (2018) Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis. *N. Engl. J. Med.*, 379, 11–21.
62. Chien W.W., McDougald D.S. et al. (2015) Cochlear gene transfer mediated by adeno-associated virus: comparison of two surgical approaches. *Laryngoscope*, 125, 2557–2564.
63. Wang Y., Sun Y. et al. (2013) Early postnatal virus inoculation into the scala media achieved extensive expression of exogenous green fluorescent protein in the inner ear and preserved auditory brainstem response thresholds. *J. Gene Med.*, 15, 123–133.
64. Xia L., Yin S. and Wang J. (2012) Inner ear gene transfection in neonatal mice using adeno-associated viral vector: a comparison of two approaches. *PLoS One*, 7, e43218.

65. Kilpatrick L.A., Li Q. et al. (2011) Adeno-associated virus-mediated gene delivery into the scala media of the normal and deafened adult mouse ear. *Gene Ther.*, 18, 569–578.
66. Bowers W.J., Chen X. et al. (2002) Neurotrophin-3 transduction attenuates cisplatin spiral ganglion neuron ototoxicity in the cochlea. *Mol. Ther.*, 6, 12–18.
67. Chen X., Frisina R.D. et al. (2001) HSV amplicon-mediated neurotrophin-3 expression protects murine spiral ganglion neurons from cisplatin-induced damage. *Mol. Ther.*, 3, 958–963.
68. Derby M.L., Sena-Esteves M. et al. (1999) Gene transfer into the mammalian inner ear using HSV-1 and vaccinia virus vectors. *Hear. Res.*, 134, 1–8.
69. Yoshimura H., Shibata S.B. et al. (2018) Enhanced viral-mediated cochlear gene delivery in adult mice by combining canal fenestration with round window membrane inoculation. *Sci. Rep.*, 8, 2980.
70. Suzuki J., Hashimoto K. et al. (2017) Cochlear gene therapy with ancestral AAV in adult mice: complete transduction of inner hair cells without cochlear dysfunction. *Sci. Rep.*, 7, 45524.
71. Kawamoto K., Oh S.H. et al. (2001) The functional and structural outcome of inner ear gene transfer via the vestibular and cochlear fluids in mice. *Mol. Ther.*, 4, 575–585.
72. Chien W.W., McDougald D.S. et al. (2015) Cochlear gene transfer mediated by adeno-associated virus: comparison of two surgical approaches. *Laryngoscope*, 125, 2557–2564.
73. Kilpatrick L.A., Li Q. et al. (2011) Adeno-associated virus-mediated gene delivery into the scala media of the normal and deafened adult mouse ear. *Gene Ther.*, 18, 569–578.
74. Chien W, Lin FR. Prevalence of hearing aid use among older adults in the United States. *Arch Intern Med* 2012;172: 292–3.

75. Blazer DG, Domnitz S et al. Hearing health care for adults: priorities for improving access and affordability. Washington, DC: National Academies Press, 2016.
76. Tang L, Thompson CB et al. Rehabilitation and psychosocial determinants of cochlear implant outcomes in older adults. *Ear Hear* 2017;38:663–71.
77. Choi J., Huebner A.J. et al. (2017) Prolonged Mek1/2 suppression impairs the developmental potential of embryonic stem cells. *Nature*, 548, 219–223.
78. Chen J., Hong F. et al. (2018) Differentiation and transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived otic epithelial progenitors in mouse cochlea. *Stem Cell Res. Ther.*, 9, 230.
79. Perny M., Ting C.C. et al. (2017) Generation of otic sensory neurons from mouse embryonic stem cells in 3D culture. *Front. Cell. Neurosci.*, 11, 409.
80. Adjamian P Sereda M Hall DA. The mechanisms of tinnitus: perspectives from human functional neuroimaging. *Hear Res.* 2009; 253: 15-31.
81. Baguley, D., McFerran, D., and Hall, D. (2013). Tinnitus. *Lancet* 382, 1600–1607. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60142-7, Shargorodsky, J., Curhan, G. C., and Farwell, W. R. (2010).
82. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am. J. Med.* 123, 711–718. doi: 10.1016/j.amjmed.2010.02.015.
83. Davis A, El Rafeie A. Epidemiology of tinnitus. In: Tyler RS, ed. *Tinnitus handbook*. San Diego, CA: Singular, Thomson Learning, 2000: 1–23.
84. Epidemiology of tinnitus Clinical Hearing Sciences Professor David Baguley Nottingham Biomedical Research Centre, University of Nottingham 2017
85. Lopez-Escamez, J. A., Bibas et al. (2016). Genetics of tinnitus: an emerging area for molecular diagnosis and drug development. *Front. Neurosci.* 10:377. doi: 10.3389/fnins.2016.00377.
86. Sonmez, G., Basekim, et al. 2007. Imaging of pulsatile tinnitus: a review of 74 patients. *Clin. Imaging* 31 (2), 102–108

87. Liyanage, S.H., Singh, A., Savundra, P., Kalan, A., 2006. Pulsatile tinnitus. *J. Laryngol. Otol.* 120 (2), 93–97.
88. Eggermont J, Roberts L. The neuroscience of tinnitus. *Trends Neurosci* 2004; 27: 676–82.
89. Del Bo L et al. (2008) Tinnitus aurium in persons with normal hearing: 55 years later. *Otolaryngol Head Neck Surg* 139:391–394.
90. De Ridder D, Elgoyhen AB, et al. Phantom percepts: tinnitus and pain as persisting aversive memory networks. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 8075–80.
91. Kaltenbach, J.A., Zhang, J., Finlayson, P., 2005. Tinnitus as a plastic phenomenon and its possible neural underpinnings in the dorsal cochlear nucleus. *Hear. Res.* 206(0378-5955), 200–226.
92. Eggermont, J.J., 2006. Cortical tonotopic map reorganization and its implications for treatment of tinnitus. *Acta Otolaryngol. Suppl.* (556), 9–12.
93. Noreña A, Micheyl C et al. Psychoacoustic characterization of the tinnitus spectrum: implications for the underlying mechanisms of tinnitus. *Audiol Neurootol.* 2002; 7: 358-369.
94. Sereda M, Hall DA, Bosnyak DJ et al. Re-examining the relationship between audiometric profile and tinnitus pitch. *Int J Audiol.* 2011; 50: 303-312.
95. Kana Lee , Kunihiro Makino , Kohei Yamahara Epub 2017 Apr 20. Evaluation of tinnitus retraining therapy for patients with normal audiograms versus patients with hearing loss 2018 Apr;45(2):215-221. doi: 10.1016/j.anl.2017.03.009.
96. De Ridder D, Elgoyhen AB et al. Phantom percepts: tinnitus and pain as persisting aversive memory networks. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 8075-8080.
97. Lanting CP de Kleine E van Dijk P. Neural activity underlying tinnitus generation: results from PET and fMRI. *Hear Res.* 2009; 255: 1-13.
98. Noreña AJ. An integrative model of tinnitus based on a central gain controlling neural sensitivity. *Neurosci Biobehav Rev* 2011; 35: 1089–109.

99. Eggermont JJ. Hearing loss, hyperacusis, or tinnitus—what is modeled in animal research? *Hear Res* 2013; 295: 140–49.
100. Newman CW Jacobson GP Spitzer JB. Development of the tinnitus handicap inventory. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1996; 122: 143-148.
101. Hoare DJ Gander PE Collins L Smith S Hall DA. Management of tinnitus in English NHS audiology departments: an evaluation of current practice. *J Eval Clin Pract*. 2012; 18: 326-334.
102. Meikle MB Henry JA Griest SE et al. The tinnitus functional index: development of a new clinical measure for chronic, intrusive tinnitus. *Ear Hear*. 2012; 33: 153-176.
103. Khalifa S Dubal S et al. Psychometric normalisation of a hyperacusis questionnaire. *ORL J Otorhinolaryngology Relat Spec*. 2002; 64: 436-442.
104. Zigmond AS Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983; 67: 361-370.
105. Fowler EP. The illusion of loudness of tinnitus—its etiology and treatment. *Laryngoscope*. 1942; 52: 275-285.
106. Uli Niemann, Petra Brueggemann et al. Phenotyping chronic tinnitus patients using self-report questionnaire data: cluster analysis and visual comparison 2020 Oct 2;10(1):16411. doi: 10.1038/s41598-020-73402-8.
107. Noble W. Treatments for tinnitus. *Trends Amplif*. 2008; 12: 236-241.
108. Department of Health Provision of services for adults with tinnitus. http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH_093844 Date: Jan 28, 2009.
109. Zeng, X. L., Gong, S. S., Li, P. & Li, Y. (2009) Chronic tinnitus: a grading management mode study. *Chinese Medical Journal*, 89, 114– 116.
110. M I Trotter and I Donaldson. Hearing aids and tinnitus therapy: a 25-year experience. Volume 122, Issue 10 October 2008 , pp. 1052-1056 DOI: <https://doi.org/10.1017/S002221510800203X>.

111. Forti, S., Costanzo et al. (2009) Are results of tinnitus retraining therapy maintained over time? 18-month follow-up after completion of therapy. *Audiology and Neuro-Otology*, 14, 286– 289.
112. Trotter, M. & Donaldson, I. (2008) Hearing aids and tinnitus therapy: a 25-year experience. *Journal of Laryngology and Otology*, 122, 1052– 1056.
113. Hosam A Amoodi, Paul T Mick et al. The effects of unilateral cochlear implantation on the tinnitus handicap inventory and the influence on quality of life. *Cochlear implants and tinnitus. Prog Brain Res.* 2007; 166: 347-355.
114. Punte AK Meeus O van der Heyning P. Cochlear implants and tinnitus. in: Møller AR Langguth B DeRidder D Kleinjung T *Textbook of tinnitus.* Springer, New York 2011: 619-624.
115. Roberto Bovo, Andrea Ciorba, Alessandro Martini. Tinnitus modifications after cochlear implantation. PMID: 20580171 DOI: 10.1016/j.anl.2010.05.003.
116. Reavis KM, Rothholtz VS et al. Temporary suppression of tinnitus by modulated sounds. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2012; 13: 561-571.
117. Ying Li, Guodong Feng et al. Clinical trial on tinnitus patients with normal to mild hearing loss: broad band noise and mixed pure tones sound therapy 2019 Mar;139(3):284-293. doi: 10.1080/00016489.2019.1575522.
118. B Luo, B B Xiong et al. Preliminary analysis of the effects of individualized sound therapy on chronic subjective tinnitus 2018 Jun 5;32(11):819-822;826. doi: 10.13201/j.issn.1001-1781.2018.11.005.
119. Haiyan Wang, Dongmei Tang et al. The state of the art of sound therapy for subjective tinnitus in adults 2020 Sep 14;11:2040622320956426. doi: 10.1177/2040622320956426.
120. Hobson J Chisholm E El Refaie A. Sound therapy (masking) in the management of tinnitus in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 14.
121. Hall DA Láinez MJA Newman CW et al. Treatment options for subjective tinnitus: self reports from a sample of general practitioners and ENT

- physicians within Europe and the USA. *BMC Health Serv Res.* 2011; 11: 302
View in Article.
122. Zeng, X. L., Gong, S. S., Li, P. & Li, Y. (2009) Chronic tinnitus: a grading management mode study. *Chinese Medical Journal*, 89, 114– 116.
 123. Magdalena Sereda et al. Sound therapy (using amplification devices and/or sound generators) for tinnitus 2018 Dec 27;12(12):CD013094. doi: 10.1002/14651858.
 124. Derek J Hoare et al. Amplification with hearing aids for patients with tinnitus and co-existing hearing loss doi: 10.1002/14651858.CD010151.pub2
 125. Zhonghua Er et al. A double-blind randomized controlled trial on the efficacy of mixed pure tone sound therapy in chronic tinnitus patients with different hearing loss 2019 May 7;54(5):355-361. doi: 10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2019.05.008.
 126. Kaldo, V., Levin, S. et al. (2008) Internet versus group cognitive-behavioral treatment of distress associated with tinnitus: a randomized controlled trial. *Behavior Therapy*, 39, 348– 359.
 127. Sadlier, M., Stephens, S. D. & Kennedy, V. (2008) Tinnitus rehabilitation: a mindfulness meditation cognitive behavioural therapy approach. *Journal of Laryngology and Otology*, 122, 31– 37.
 128. Weise C Heinecke K Rief W. Biofeedback-based behavioral treatment for chronic tinnitus: results of a randomized controlled trial. *J Consult Clin Psychol.* 2008; 76: 1046-1057.
 129. Martinez-Devesa P Perera R et al. Cognitive behavioural therapy for tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010.
 130. Hesser H Weise C Westin VZ Andersson G. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of cognitive behaviour therapy for tinnitus distress. *Clin Psychol Rev.* 2011; 31: 545-553.
 131. Jastreboff PJ Hazell JWP A neurophysiological approach to tinnitus: clinical implications. *Br J Audiol.* 1993; 27: 7-17.

132. Phillips JS McFerran D Tinnitus retraining therapy (TRT) for tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 3.
133. McFerran DJ Baguley DM Is psychology really the best treatment for tinnitus?. *Clin Otolaryngol.* 2009; 34: 99-101.
134. Anna I Petridou et al. The Effect of Antioxidant Supplementation in Patients with Tinnitus and Normal Hearing or Hearing Loss: A Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Trial 2019 Dec 12;11(12):3037. doi: 10.3390/nu11123037.
135. Helena Y Hong et al. Effect of Nitrous Oxide as a Treatment for Subjective, Idiopathic, Nonpulsatile Bothering Tinnitus: A Randomized Clinical Trial. 2018 Sep 1;144(9):781-787. doi:10.1001/jamaoto.2018.1278.
136. Inge Wegner et al. Online ahead of print. Betahistine for tinnitus. 2018 Dec 28;12(12):CD013093. doi: 10.1002/14651858.CD013093.
137. Osmar C Person et al. Zinc supplementation for tinnitus. 2016 Nov 23;11(11):CD009832. doi: 10.1002/14651858.
138. Chun-Wei Yeh et al. Effects of oral zinc supplementation on patients with noise-induced hearing loss associated tinnitus: A clinical trial. 2019 Feb;42(1):46-52. doi: 10.1016/j.bj.2018.10.009.
139. Aazh H El Refaie A Humphriss R Gabapentin for tinnitus: a systematic review. *Am J Audiol.* 2011; 20: 151-158.
140. Bauer CA Brozoski TJ Effect of gabapentin on the sensation and impact of tinnitus. *Laryngoscope.* 2006; 116: 675-68.
141. E M Khedr et al. Effect of daily repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment of tinnitus: comparison of different stimulus frequencies PMID: 18202212 DOI: 10.1136/jnnp.2007.127712.
142. Shi Y Burchiel KJ Anderson VC Martin WH Deep brain stimulation effects in patients with tinnitus. *Otolaryngology Head Neck Surg.* 2009; 141: 285-287.
143. Cheung SW Larson PS Tinnitus modulation by deep brain stimulation in locus of caudate neurons (area LC). *Neuroscience.* 2010; 169: 1768-1778

144. Egilmez, O.K.; Kalcioglu, M.T. Genetics of nonsyndromic congenital hearing loss. *Scientifica*, 2016, 2016, 7576064.
145. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Infants tested for hearing loss: United States, 1999–2001. *MMWR* 2003, 52:981–984.
146. ACMG: Genetics evaluation guidelines for the etiologic diagnosis of congenital hearing loss. Genetic Evaluation of Congenital Hearing Loss Expert Panel: ACMG statement. *Genet Med* 2002, 4:162–171.
147. Smith, R.J.; Bale, J.F. Jr.; White, K.R. Sensorineural hearing loss in children. *Lancet*, 2005, 365(9462), 879-890.
148. Egilmez, O.K.; Kalcioglu, M.T. Genetics of nonsyndromic congenital hearing loss. *Scientifica*, 2016, 2016, 7576064.
149. J. Zheng, K. K. Miller, T. Yang et al., “Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 16 interacts with α -tectorin and is mutated in autosomal dominant hearing loss (DFNA4),” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, no. 10, pp. 4218–4223, 2011.
150. J. M. Bork, L. M. Peters, S. Riazuddin et al., “Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene CDH23,” *The American Journal of Human Genetics*, vol. 68, no. 1, pp. 26–37, 2001.
151. Z. M. Ahmed, T. N. Smith, S. Riazuddin et al., “Nonsyndromic recessive deafness DFNB18 and usher syndrome type IC are allelic mutations of USH1C,” *Human Genetics*, vol. 110, no. 6, pp. 527–531, 2002.
152. X. M. Ouyang, D. Yan, L. L. Du et al., “Characterization of Usher syndrome type I gene mutations in an Usher syndrome patient population,” *Human Genetics*, vol. 116, no. 4, pp. 292–299, 2005.
153. E. Verpy, S. Masmoudi, I. Zwaenepoel et al., “Mutations in a new gene encoding a protein of the hair bundle cause non-syndromic deafness at the DFNB16 locus,” *Nature Genetics*, vol. 29, no. 3, pp. 345–349, 2001.

154. I. Zwaenepoel, M. Mustapha, M. Leibovici et al., "Otoancorin, an inner ear protein restricted to the interface between the apical surface of sensory epithelia and their overlying acellular gels, is defective in autosomal recessive deafness DFNB22," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, no. 9, pp. 6240–6245, 2002.
155. K. Verhoeven, L. Van Laer, K. Kirschhofer et al., "Mutations in the human α -tectorin gene cause autosomal dominant non-syndromic hearing impairment," *Nat Genet*, vol. 19, no. 1, pp. 60–62, 1998.
156. N. G. Robertson, L. Lu, S. Heller et al., "Mutations in a novel cochlear gene cause DFNA9, a human nonsyndromic deafness with vestibular dysfunction," *Nature Genetics*, vol. 20, no. 3, pp. 299–303, 1998.
157. M. I. Shabbir, Z. M. Ahmed, S. Y. Khan et al., "Mutations of human TMHS cause recessively inherited non-syndromic hearing loss," *Journal of Medical Genetics*, vol. 43, no. 8, pp. 634–640, 2006.
158. M. Schraders, J. Oostrik, P. L. M. Huygen et al., "Mutations in PTPRQ are a cause of autosomal-recessive nonsyndromic hearing impairment DFNB84 and associated with vestibular dysfunction," *The American Journal of Human Genetics*, vol. 86, no. 4, pp. 604–610, 2010.
159. N. Michalski, V. Michel, A. Bahloul et al., "Molecular characterization of the ankle-link complex in cochlear hair cells and its role in the hair bundle functioning," *The Journal of Neuroscience*, vol. 27, no. 24, pp. 6478–6488, 2007.
160. N. Michalski, V. Michel, A. Bahloul et al., "Molecular characterization of the ankle-link complex in cochlear hair cells and its role in the hair bundle functioning," *The Journal of Neuroscience*, vol. 27, no. 24, pp. 6478–6488, 2007.
161. S. Modamio-Høybjør, M. A. Moreno-Pelayo, A. Mencía et al., "A novel locus for autosomal dominant nonsyndromic hearing loss, DFNA50, maps to chromosome 7q32 between the DFNB17 and DFNB13 deafness loci," *Journal of Medical Genetics*, vol. 41, article e14, 2004.

162. S. Naz, A. J. Griffith, S. Riazuddin et al., “Mutations of ESPN cause autosomal recessive deafness and vestibular dysfunction,” *Journal of Medical Genetics*, vol. 41, no. 8, pp. 591–595, 2004.
163. S. Y. Khan, Z. M. Ahmed, M. I. Shabbir et al., “Mutations of the RDX gene cause nonsyndromic hearing loss at the DFNB24 locus,” *Human Mutation*, vol. 28, no. 5, pp. 417–423, 2007.
164. A. K. Rzadzinska, M. E. Schneider, C. Davies, G. P. Riordan, and B. Kachar, “An actin molecular treadmill and myosins maintain stereocilia functional architecture and self-renewal,” *The Journal of Cell Biology*, vol. 164, no. 6, pp. 887–897, 2004.
165. S. Riazuddin, S. Anwar, M. Fischer et al., “Molecular basis of DFNB73: mutations of BSND can cause nonsyndromic deafness or Bartter syndrome,” *The American Journal of Human Genetics*, vol. 85, no. 2, pp. 273–280, 2009.
166. Oguz Kadir et al. Genetics of Nonsyndromic Congenital Hearing Loss. Volume 2016 | Article ID 7576064 | <https://doi.org/10.1155/2016/7576064>.
167. Liu X, Han D, Li J, Han B, Ouyang X, Cheng J, et al. Loss-of-function mutations in the *PRPS1* gene cause a type of nonsyndromic X-linked sensorineural deafness, DFN2. *Am J Hum Genet*. 2010;86:65–71.
168. de Kok YJ, van der Maarel SM, Bitner-Glindzicz M, Huber I, Monaco AP, Malcolm S, et al. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene *POU3F4*. *Science*. 1995;267:685–688.
169. Schraders M, Haas SA, Weegerink NJ, Oostrik J, Hu H, Hoefsloot LH, et al. Next-generation sequencing identifies mutations of *SMPX*, which encodes the small muscle protein, X-linked, as a cause of progressive hearing impairment. *Am J Hum Genet*. 2011;88:628–634.
170. del Castillo I, Villamar M, Sarduy M, Romero L, Herraiz C, Hernandez FJ, et al. A novel locus for non-syndromic sensorineural deafness (DFN6) maps to chromosome Xp22. *Hum Mol Genet*. 1996;5:1383–1387.

171. Zong L, Guan J, Ealy M, Zhang Q, Wang D, Wang H, et al. Mutations in apoptosis-inducing factor cause X-linked recessive auditory neuropathy spectrum disorder. *J Med Genet.* 2015;52:523–531.
172. Rost S, Bach E, Neuner C, Nanda I, Dysek S, Bittner RE, et al. Novel form of X-linked nonsyndromic hearing loss with cochlear malformation caused by a mutation in the type IV collagen gene *COL4A6*. *Eur J Hum Genet.* 2014;22:208–215.
173. Wang QJ, Lu CY, Li N, Rao SQ, Shi YB, Han DY, et al. Y-linked inheritance of non-syndromic hearing impairment in a large Chinese family. *J Med Genet.* 2004;41:e80.
174. Bykhovskaya Y, Estivill X, Taylor K, Hang T, Hamon M, Casano RA, et al. Candidate locus for a nuclear modifier gene for maternally inherited deafness. *Am J Hum Genet.* 2000;66:1905–1910.
175. Mochizuki T, Lemmink HH, Mariyama M, Antignac C, Gubler MC, Pirson Y, et al. Identification of mutations in the alpha 3(IV) and alpha 4(IV) collagen genes in autosomal recessive Alport syndrome. *Nat Genet.* 1994;8:77–81.
176. Barker DF, Hostikka SL, Zhou J, Chow LT, Oliphant AR, Gerken SC, et al. Identification of mutations in the *COL4A5* collagen gene in Alport syndrome. *Science.* 1990;248:1224–1227.
177. Hoskins BE, Cramer CH, Silvius D, Zou D, Raymond RM, Orten DJ, et al. Transcription factor *SIX5* is mutated in patients with branchio-oto-renal syndrome. *Am J Hum Genet.* 2007;80:800–804.
178. Lalani SR, Safiullah AM et al.. *SEMA3E* mutation in a patient with *CHARGE* syndrome. *J Med Genet.* 2004;41:e94.
179. Neyroud N, Tesson F et al. A novel mutation in the potassium channel gene *KVLQT1* causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome. *Nat Genet.* 1997;15:186–189.
180. Berger W, van de Pol D et al. Mutations in the candidate gene for Norrie disease. *Hum Mol Genet.* 1992;1:461–465.

181. Yang T, Gurrola JG et al. Mutations of *KCNJ10* together with mutations of *SLC26A4* cause digenic nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct syndrome. *Am J Hum Genet.* 2009;84:651–657.
182. Chatzispirou IA, Alders M et al. A homozygous missense mutation in *ERAL1*, encoding a mitochondrial rRNA chaperone, causes Perrault syndrome. *Hum Mol Genet.* 2017;26:2541–2550.
183. Jenkinson EM, Rehman AU et al. Perrault syndrome is caused by recessive mutations in *CLPP*, encoding a mitochondrial ATP-dependent chambered protease. *Am J Hum Genet.* 2013;92:605–613.
184. Baker S, Booth C et al. A loss of function mutation in the *COL9A2* gene causes autosomal recessive Stickler syndrome. *Am J Med Genet A.* 2011;155A:1668–1672.
185. Dauwerse JG, Dixon J et al. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. *Nat Genet.* 2011;43:20–22.
186. Sanchez-Martin M, Rodriguez-Garcia A et al. *SLUG* (*SNAI2*) deletions in patients with Waardenburg disease. *Hum Mol Genet.* 2002;11:3231–3236.
187. Bondurand N, Dastot-Le Moal F et al. Deletions at the *SOX10* gene locus cause Waardenburg syndrome types 2 and 4. *Am J Hum Genet.* 2007;81:1169–1185.
188. Gilles, A., Van Camp, G., Van de Heyning, P., and Fransen, E. (2017). A pilot genome-wide association study identifies potential metabolic pathways involved in tinnitus. *Front. Psychol.* 8:71. doi: 10.3389/fnins.2017.00071.
189. Uchida Y, Teranishi M, Nishio N, et al. Endothelin-1 gene polymorphism in sudden sensorineural hearing loss. *Laryngoscope.* 2013;123(11):E59–E65. doi:10.1002/lary.24298.
190. Yasuda H, Kamide K, Takiuchi S, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2007;21(11):883–892. doi:10.1038/sj.jhh.1002234.

191. Yazdani N, Hamidi AK, Soroush N, et al. eNOS gene Glu298Asp variant confer risk in sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol.* 2018;138(10):904–908. doi:10.1080/00016489.2018.1497806.
192. Castiglione A, Ciorba A, Aimoni C, et al. Sudden sensorineural hearing loss and polymorphisms in iron homeostasis genes: new insights from a case-control study. *Biomed Res Int.* 2015;2015:834736. doi:10.1155/2015/834736.
193. Kitoh R, Nishio SY, Ogawa K, et al. SOD1 gene polymorphisms in sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol.* 2016;136(5):465–469. doi:10.3109/00016489.2015.1116047.
194. Hamidi AK, Yazdani N, Seyedjavadi KH, et al. MTHFR AND ApoE genetic variants association with sudden sensorineural hearing loss. *Am J Otolaryngol.* 2019;40(2):260–264. doi:10.1016/j.amjoto.2018.10.015.
195. Teranishi M, Uchida Y, Nishio N, et al. Polymorphisms in genes involved in oxidative stress response in patients with sudden sensorineural hearing loss and Ménière's disease in a Japanese population. *DNA Cell Biol.* 2012;31(10):1555–1562. doi:10.1089/dna.2012.1631.
196. Shu J, Si Y, Yin S, et al. Association between the V Leiden G1691A mutation and sudden sensorineural hearing loss in Italian population: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273(9):2467–2472. doi:10.1007/s00405-015-3844-x.
197. Koide Y, Teranishi M, Sugiura S, et al. Association between uncoupling protein 2 gene Ala55 val polymorphism and sudden sensorineural hearing loss. *J Int Adv Otol.* 2018;14(2):166–169. doi:10.5152/iao.2018.5442.
198. Manche SK, Jangala M, Putta P, et al. Association of oxidative stress gene polymorphisms with presbycusis. *Gene.* 2016;593(2):277–283. doi:10.1016/j.gene.2016.08.029.
199. Tian G, Zhang S, Yang J. Coexistence of IL-6 -572C/G and ICAM-1 K469E polymorphisms among patients with sudden sensorineural hearing loss. *Tohoku J Exp Med.* 2018;245(1):7–12. doi:10.1620/tjem.245.7.

200. Philipp G. Sand et al. An Examination of KCNE1 Mutations and Common Variants in Chronic Tinnitus. 2010 Apr 28.
201. W H Zhou et al. Prediction of KCNQ4 gene polymorphism varies with CNE or noise exposure duration on the Risk of NIHL-Cox model analysis based on cohort study. 2020 Feb 20.
202. Sanlin Xie et al. Association of glutamate metabotropic receptor polymorphisms and sensorineural hearing loss in adults of different age groups. 2018 May 18.
203. Peipei Yu et al. Relationship between GRM7 gene polymorphisms and the susceptibility to noise-induced hearing loss. 2018 Mar.
204. Ziba Loukzadeh et al. Association of GST gene polymorphism and noise-induced hearing loss: GST gene polymorphism and NIHL. 2019 Dec 11;6(4):546-553. doi: 10.3934/publichealth.2019.4.546.
205. Salim Yuce et al. Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) I/D and Alpha-Adducin (ADD1) G460W Gene Polymorphisms in Turkish Patients with Severe Chronic Tinnitus. DOI:10.5152/iao.2016.1732.
206. Sand P. G., Langguth B., Schecklmann M., Kleinjung T. (2012b). GDNF and BDNF gene interplay in chronic tinnitus. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 3, 245–251.
207. Orenay-Boyacioglu S., Coskunoglu A., Caki Z., Cam F. S. (2016). Relationship between chronic tinnitus and glial cell line-derived neurotrophic factor gene rs3812047, rs1110149, and rs884344 polymorphisms in a Turkish Population. *Biochem. Genet.* 54, 552–563. 10.1007/s10528-016-9741-1.
208. Sand P. G., Luettich A., Kleinjung T., Hajak G., Langguth B. (2010). An Examination of KCNE1 mutations and common variants in chronic tinnitus. *Genes (Basel)* 1, 23–37. 10.3390/genes1010023.
209. Pawełczyk M., Rajkowska E. et al. (2012). Analysis of inner ear potassium recycling genes as potential factors associated with tinnitus. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 25, 356–364. 10.2478/s13382-012-0061-3.

210. Kleinjung T., Langguth B. et al. (2006). Systematic screening of the serotonin receptor 1A (5-HT1A) gene in chronic tinnitus. *J. Otol.* 1, 83–85. 10.1016/S1672-2930(06)50018-2.
211. Deniz M., Bayazit Y. A. et al. (2010). Significance of serotonin transporter gene polymorphism in tinnitus. *Otol. Neurotol.* 31, 19–24. 10.1097/MAO.0b013e3181c2dcbc.
212. Fadok V.A., Chimini G. The phagocytosis of apoptotic cells / *Semin Immunol.* - 2001. - Vol.13, No6. - P. 365-72.
213. Fink S.L., Cookson B.T. Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukariotic Cells // *Infection and Immunity.* - 2005.- Vol. 73, No4. - P. 1907 – 1916.
214. Moreira M. E. C., Barcinski M.A. Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems // *Anais da Academia Brasileira de Ciencias.* - 2004. - Vol. 76, No1. - P. 93 - 115.
215. Locksley, R.M., Killeen, N., Lenardo, M.J., 2001. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 104, 487e501.
216. Marques Fernandez, F., Planells-Ferrer, L., Gozzelino, R., Gallenkamp, K.M.O., Reix, S., Llecha-Cano, N., Lopez-Soriano, J., Yuste, V.J., Moubarak, R.S., S. Morrill, D.Z.Z. He / *Journal of Otology* 12 (2017) 151e164 161.
217. Comella, J.X., 2013. TNF α induces survival through the FLIP-L-dependent activation of the MAPK/ERK pathway. *Cell Death Dis.*
218. Riedl, S.J., Salvesen, G.S., 2007. The apoptosome: signaling platform of cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 405e413.
219. Green, D.R., Kroemer, G., 2004. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 305, 626e629.
220. Danial, N.N., 2007. BCL-2 family proteins: critical checkpoints of apoptotic cell death. *Clin. Cancer Res.* 13, 7254e7263.
221. Du, H., Wolf, J., Schafer, B., Moldoveanu, T., Chipuk, J.E., Kuwana, T., 2011. BH3 domains other than Bim and Bid can directly activate Bax/Bak. *J. Biol. Chem.* 286, 491e501.

222. Badr, E., Masoud, E., Abdou, A.G., Eldien, M.S., 2016. BCL6 mRNA expression level in invasive duct carcinoma not otherwise specified. *J. Clin. Diagn. Res.* 10, XC01eXC04.
223. Bogusz, A.M., Kovach et al. 2017. Diffuse large B-cell lymphoma with concurrent high MYC and BCL2 expression shows evidence of active B-cell receptor signaling by quantitative immunofluorescence. *PLoS One* 12 (2), e0172364. [http:// dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0172364](http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0172364).
224. Braga, L.C., Silva, L.M. et al. 2014. Epigenetic and expression analysis of TRAIL-R2 and BCL2: on the TRAIL of knowledge of apoptosis in ovarian tumors. *Arch. Gynecol. Obstet.* 289 (5), 1061e1069. <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-013-3060-0>.
225. Someya, S., Xu, J. et al. 2009. Age-related hearing loss in C57BL/6J mice is mediated by Bak-dependent mitochondrial apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 19432e19437.
226. Yamasoba, T., Lin, F.R., et al. 2013. Current concepts in age-related hearing loss: epidemiology and mechanistic pathways. *Hear Res.* 303, 30e38.
227. Alharazneh, A., Luk, L. et al. 2011. Functional hair cell mechanotransducer channels are required for aminoglycoside ototoxicity. *PLoS One* 6, e22347.
228. Coffin, A.B., Rubel, E.W., Raible, D.W., 2013. Bax, Bcl2 and p53 differentially regulate neomycin- and gentamicin-induced hair cell death in the zebra fish lateral line. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 14, 645e659.
229. Li, Y., Liu, H., Barta, C.L., Judge, P.D., Zhao, L., Zhang, W.J., Gong, S., Beisel, K.W., He, D.Z., 2016. Transcription factors expressed in mouse cochlear inner and outer hair cells. *PLoS One* 11, e0151291.
230. Luping Zhang et al. THOC1 deficiency leads to late-onset nonsyndromic hearing loss through p53-mediated hair cell apoptosis. 2020 Aug 10;16(8):e1008953. doi: 10.1371/journal.pgen.1008953.
231. Mia M. Gaudet et al. Five Polymorphisms and Breast Cancer Risk: Results from the Breast Cancer Association Consortium. *Cancer Epidemiol*

- Biomarkers Prev. 2009 May; 18(5): 1610–1616. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0745.
232. Rafael Tomoya Michita et al. The role of FAS, FAS-L, BAX, and BCL-2 gene polymorphisms in determining susceptibility to unexplained recurrent pregnancy loss. 5 October 2018.
233. Nicole Zangrilli Hoh et al. BCL2 Genotypes: Functional and Neurobehavioral Outcomes after Severe Traumatic Brain Injury. *Journal of neurotrauma* 27:1413–1427 (August 2010) DOI: 10.1089/neu.2009.1256.
234. Gregan J, Van Laer L, Lieto LD, Van Camp G, Kearsey SE. A yeast model for the study of human DFNA5, a gene mutated in nonsyndromic hearing impairment. *Biochem BiophysActa.* 2003;1638(2):179-186. [https://doi.org/10.1016/s0925-4439\(03\)00083-8](https://doi.org/10.1016/s0925-4439(03)00083-8).
235. Walsh T, Pierce SB, Lenz DR, et al. Genomic duplication and overexpression of TJP2/ZO-2 leads to altered expression of apoptosis genes in progressive nonsyndromic hearing loss DFNA51. *Am J Hum Genet.* 2010;87(1):101-109. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.05.011>.
236. Xu J, Kausalya PJ, Phua DC, Ali SM, Hossain Z, Hunziker W. Early embryonic lethality of mice lacking ZO-2, but Not ZO-3, reveals critical and nonredundant roles for individual zonula occludens proteins in mammalian development. *Mol Cell Biol.* 2008;28(5):1669-1678. <https://doi.org/10.1128/mcb.00891-07>.
237. Ahmed ZM, Yousaf R, Lee BC, et al. Functional null mutations of MSRB3 encoding methionine sulfoxide reductase are associated with human deafness DFNB74. *Am J Hum Genet.* 2011;88(1):19-29. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.11.010>.
238. Kwak GH, Kim HY. MsrB3 deficiency induces cancer cell apoptosis through p53-independent and ER stress-dependent pathways *rch Biochem Biophys.* 2017;621:1-5. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.04.001>.

239. Junhao Wu¹, Jing Ye². Programmed cell death pathways in hearing loss: A review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. DOI: 10.1111/cpr.12915.
240. Амірханова М.Р., Дєєва Ю.В., Аналіз звернень пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю до отоларингологічного відділення протягом 2015-2021 років. Отоларингологія №1-2(5) 2022; 56-61. DOI 10.37219/2528-8253-2022-1-56.
241. Амірханова М.Р., Дєєва Ю.В., Аналіз етіопатогенетичних факторів розвитку та прогресування перцептивних порушень. Отоларингологія №1-2(6) 2023; 24-29. DOI 10.37219/2528-8253-2023-1-24.
242. Amirkhanova Margaryta, Dieeva Julia, The effect of polymorphisms in the Bcl2, Bid, and Bax genes on the development of sensorineural hearing loss. Otorhinolaryngology №3(6) 2023; 29-37. DOI 10.37219/2528-8253-2023-3-29.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Амірханова М.Р., Дєєва Ю.В., Аналіз звернень пацієнтів з сенсоневральною приглухуватістю до отоларингологічного відділення протягом 2015-2021 років. Отоларингологія №1-2(5) 2022; 56-61. DOI 10.37219/2528-8253-2022-1-56.
2. Амірханова М.Р., Дєєва Ю.В., Аналіз етіопатогенетичних факторів розвитку та прогресування перцептивних порушень. Отоларингологія № 1-2(6) 2023; 24-29. DOI 10.37219/2528-8253-2023-1-24.
3. Amirkhanova Margaryta, Dieieva Yulia. The association of polymorphisms in the Bcl2, Bid, and Bax genes on the development of sensorineural hearing loss. Otorhinolaryngology №3(6) 2023; 29-37. DOI 10.37219/2528-8253-2023-3-29.