На правах рукописи

Дубинская

Наталья Викторовна

СЕНСОНЕВРАЛЬНАЯ ТУГОУХОСТЬ И РОЛЬ МЕТАБОЛИЗМА КАЛЬЦИЯ В ЕЁ ПАТОГЕНЕЗЕ

14.01.03 – болезни уха, горла и носа

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор – профессор, д.м.н. С.В. Шлык)

Научный руководитель:

Золотова Татьяна Викторовна – доктор медицинских наук, профессор ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Рымша Маргарита Андреевна, заслуженный врач РФ,
доктор медицинских наук, профессор ФГБУЗ «Клиническая больница №122 имени Л.Г. Соколова» ФМБА России.

Никитин Константин Александрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры оториноларингологии «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации».

Защита состоится 14 июня 2018 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 208.091.01 в ФГБУ «СПб НИИ ЛОР» Минздрава России по адресу: 190013, Санкт-Петербург, ул. Бронницкая, д.9

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «СПб НИИ ЛОР» Минздрава России и на сайте www.lornii.ru
Автореферат размещён на сайте: http://vac.ed.gov.ru/
Автореферат разослан _____ 2018 г.
Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук Дроздова Марина Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Рост числа больных с тугоухостью связывают с воздействием ухудшающихся факторов окружающей среды, в том числе, бытового и производственного шума, широким неконтролируемым использованием лекарственных препаратов с ототоксическим действием, неуклонным ростом сердечно-сосудистой патологии, психоэмоциональными перегрузками (Кунельская Н.Л., 2013, Крюков А.И. и др. , 2015; Косяков С.Я., Кирдеева А.И., 2017; Wong A. C. Y., 2013; Tan W.J.T., 2013). Важную роль в возникновении сенсоневральной тугоухости играет негативное действие шума на организм работников «шумоопасных» рабочих мест, в значительном числе случаев неустранимого, что приводит к социально-экономическим издержкам (Панкова В.Б. и др., 2013, Панкова В.Б., 2017). Трудности адаптации лиц с выраженными социально – значимыми дефектами в обществе приводят к хроническому стрессу, снижают качество их жизни (Бабияк В.И. и соавт., 2012).

Существует множество современных теорий этиопатогенеза заболевания, таких как оксидативный стресс, теории повреждения мембран улитки, иммуноопосредованного поражения лабиринта, нарушения обмена элементного состава организма, в частности, железа, теория микротромбооразования, полиморфизма генов системы гемостаза (Косяков С.Я., Кирдеева А.И., 2017). Приводятся результаты исследований о возможной связи возникновения тугоухости с апоптозным митохондиальным белком Bcl2, проапоптозным белком P53, белками теплового шока HSP70 (Grondin Y et al., 2015). Окислительный стресс, изменения стереоцилий, разрушение опорных клеток, глутаматная эксайтотоксичность, отек сосудистой полоски и воспалительная реакция относятся по современным данным к патофизиологическим механизмам развития СНТ (Tan W.J.T. et all., 2013), изучение которых ещё предстоит в настоящем и будущем.

Несмотря на большое количество исследований по различным вопросам сенсоневральной тугоухости, непосредственно патогенетические аспекты раскрыты все еще недостаточно. Учитывая сложность строения внутреннего уха, важны морфологические исследования с участием экспериментальных животных. В результате экспериментов по моделированию СНТ (Wang Y. et al.,2013; Tagoe T., 2014; Fernandez K.A.,2015) морфологический анализ структур внутреннего уха после интенсивного шумового воздействия выявляет повреждения стереоцилий волосковых клеток, синапсов и нейронов спирального ганглия, поддерживающих клеток спирального органа и отек сосудистой полоски, что является причиной потери слуха.

В последние годы все больше внимания уделяется роли нарушений электролитного баланса в развитии различных патологических состояний. В частности, рядом авторов изучался кальций–фосфорный метаболизм, как один из основных регуляторов гомеостаза организма (Рожинская Л.Я., 2000; Райская-Качесова О.Н., 2003; Мойса С.С., 2014).

Таким образом, отсутствие специальных исследований, посвященных комплексному изучению роли кальциевого обмена при различных формах, течении, степени тяжести сенсоневральной тугоухости, как в клинике, так и в эксперименте на животных определило цель настоящего исследования.

Степень разработанности темы исследования

На современном этапе развития науки существует множество вариантов объяснения механизмов повреждений внутреннего уха при СНТ, но единая точка зрения так и не выработана, что находит отражение в большом количестве предложенных методов лечения тугоухости, имеющих различные точки приложения (Константинова Н.П., 2001; Пальчун В.Т., 2006; Косяков С.Я., 2008; Журавский С.Г., 2009; Золотова Т.В., 2013; Кунельская Н.Л., 2013; Berretini S. et al, 1998; Choi Y.H. et al., 2014). Результаты этих методов до настоящего времени не являются удовлетворяющими ни пациентов, ни лечащих врачей. Это делает вопросы оптимизации диагностики патогенетически значимых изменений при СНТ и их эффективной коррекции актуальными в современных условиях.

Цель исследования

Изучение роли метаболизма кальция в патогенезе сенсоневральной тугоухости.

Задачи исследования

1. Выявить предикторы прогрессирования сенсоневральной тугоухости на основе изучения показателей кальциевого метаболизма у больных с различными формами и степенями сенсоневральной тугоухости.
2. Воспроизвести сенсоневральную тугоухость в эксперименте у лабораторных животных и определить при этом морфологические изменения внутреннего уха.
3. Определить особенности элементного состава нейроэпителиальных клеток спирального органа лабораторных животных с экспериментальной сенсоневральной тугоухостью без лечения и после лечения блокаторами кальциевых каналов.
4. Определить эффективность блокатора кальциевых каналов (нимодипина) у лабораторных животных с экспериментальной сенсоневральной тугоухостью.

Научная новизна исследования

В работе впервые изучены результаты комплексного обследование больных с различными формами и степенями сенсоневральной тугоухости с изучением данных, характеризующих состояние кальциевого метаболизма: показателей общего и ионизированного кальция и его регуляторов в сыворотке крови. На основании этих данных предложен (в соавт.) способ прогнозирования течения прогрессирующей сенсоневральной тугоухости «Способ прогнозирования течения сенсоневральной тугоухости» (Патент РФ № 2648534).

Разработан (в соавт.) способ моделирования сенсоневральной тугоухости (Патент РФ № 2627155), основанный на воздействии шума на организм животных – белых крыс. Получены данные о первоначально более выраженных изменениях клеток спирального ганглия, гибнущих

преимущественно по пути апоптоза. На экспериментальной модели сенсоневральной тугоухости собственной модификации впервые показано положительное влияние блокаторов кальциевых каналов на структуры слухового анализатора животных, как по показателям исследования слуха – отоакустической эмиссии, так и по данным гистологических исследований препаратов височных костей крыс, полученных после декапитации животных по окончании эксперимента. Предложено использование блокаторов кальциевых каналов, в частности нимодипина, для профилактики и лечения сенсоневральной тугоухости.

Практическая значимость работы

На основании высокоточных современных методов исследования на экспериментальной модели тугоухости у животных, а также на основании результатов многоплановых клинических исследований больных, страдающих сенсоневральной тугоухостью, показана необходимость изучения показателей кальциевого метаболизма для уточнения патогенеза и выявления индивидуальных особенностей течения заболевания. Показана эффективность использования блокаторов кальциевых каналов в лечении сенсоневральной тугоухости по данным экспериментальных исследований на животных и целесообразность их применения у больных в комлексном лечении сенсоневральной тугоухостью.

Внедрение результатов работы

Разработаны методические рекомендации для практических врачей «Значение исследования кальциевого обмена для диагностики и лечения сенсоневральной тугоухости».

Материалы диссертационного исследования внедрены в практику работы оториноларингологических отделений №1 и №2 для взрослых, оториноларингологического отделения ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», отоларингологического отделения Ростовской клинической больницы ФГБУЗ ЮОМЦ ФМБА России, оториноларингологического отделения Междорожного центра отоларингологии Дорожной клинической больницы на ст. Ростов-Главный ОАО «РЖД».

Результаты исследования используются в программах по оториноларингологии для студентов и программах последипломного образования на кафедре болезней уха, горла, носа ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Сенсоневральная тугоухость у лабораторных животных может быть воспроизведена в эксперименте при применённых условиях акустической стимуляции и иммобилизационного стрессирования.
2. Использование блокаторов кальциевых каналов (нимодипина) эффективно у лабораторных животных с экспериментальной тугоухостью и может быть рекомендовано больным для предотвращения прогрессирования сенсоневральной тугоухости.
3. Нарушение метаболизма кальция у больных с сенсоневральной тугоухостью играет роль предиктора прогрессирования тугоухости.

Апробация работы

Результаты исследований, основные положения диссертации доложены на 65-й конференции молодых ученых РостГМУ (Ростов-на-Дону, 2011), III, IV Петербургских Форумах оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2014, 2015); Proceedings XXXI World Congress of Audiology (Moscow, Russia, 2012); Первой всероссийской открытой конференции по проблемам уха в рамках 10-го семинара "Избранные вопросы отологии/отохирургии" (Москва, 2012); V Межрегиональной научно-практической конференции оториноларингологов Южного и Северо-Кавказского федеральных округов с международным участием (Ростов-на-Дону, 2012); 60-й научно - практичес-кой конференции «Молодые ученые – российской оториноларингологии» (Санкт-Петербург, 2013); заседаниях Ростовского отделения Всероссийского научного общества оториноларингологов (Ростов-на-Дону, 2014), Межрегиональной научно-практической конференции «Ринология и отиатрия – современные проблемы» (Ростов-на-Дону, 2015); на XIX Съезде оториноларингологов России (Казань, 2016); научно-практической конференции оториноларингологов Сибири и Дальнего Востока с

международным участием (Благовещенск, 2016, 2017), VI Международном Петербургском форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2017)0

Публикации результатов исследования

По результатам исследований опубликовано 36 печатных работ, в том числе 7 – в рецензируемых журналах, включенных в Перечень Высшей Аттестационной Комиссии Минобразования и науки Российской Федерации (ВАК), 1 методические рекомендации.

По теме диссертационной работы получены (в соавт.) Патенты РФ на изобретение «Способ моделирования сенсоневральной тугоухости» № 2627155, «Способ прогнозирования течения сенсоневральной тугоухости» № 2648534.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 140 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 2 глав собственных исследований, включающих эксперимент с белыми крысами по моделированию сенсоневральной тугоухости и клиническую часть по обследованию больных с сенсоневральной тугоухостью, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 103 отечественных и 73 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 44 рисунками.

Личный вклад автора

Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Материал

Работа включает **клиническое и экспериментальное иссследование**. Проведено обследование **175 больных с сенсоневральной тугоухостью**, госпитализированных в круглосуточный и дневной оториноларингологические стационары для обследования и лечения за период с 2010 по 2015 годы.

Критерии включения: взрослые в возрасте от 18 до 55 лет, поступившие в ЛОР стационар для обследования и лечения по поводу сенсоневральной тугоухости; наличие у обследуемых снижения слуха с нарушением звуковосприятия. Критерии исключения: нарушения звукопроведения; тяжёлая соматическая патология у пациентов на момент обследования, возраст до 18 лет и старше 55 лет.

Острая СНТ имела место у 80 больных, госпитализированных в сроки от 2-х до 30 суток от начала заболевания, хроническая - у 95. Возраст - от 18 до 55 лет, среди них - 52 мужчины и 123 женщины.

Распределение обследованных пациентов по возрасту и полу представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение больных по группам в зависимости от возраста и пола

Возраст	1 группа (80 больных)		2 группа (95 больных)		Контроль (42 человека)	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины
18-44 лет	18	28	13	41	10	7
44-55 лет	15	19	11	30	12	13
Итого	33	47	24	71	22	20

Преобладающее число больных оказалось в возрастной группе – старше 40 лет – 110 человек, что составило 62,86%. Группу контроля составили 42 здоровых человека (20 женщин и 22 мужчины) в возрасте от 18 до 55 лет с нормальной слуховой функцией по данным акуметрии, тональной пороговой аудиометрии, импедансометрии.

Экспериментальное исследование по моделированию сенсоневральной тугоухости проведено на 42 белых половозрелых беспородных крысах мужского пола, в возрасте 3,5-4,5 месяцев, массой тела 190 - 210 г. в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1989).

Были выделены 6 групп животных (Таблица 2): группа 1 - контрольная и 5 экспериментальных групп крыс - группы 2, 3, 4, 5, 6.

Таблица 2 – Распределение белых беспородных крыс по группам

Группы	Количество животных и характеристика групп
группа 1	8 интактных белых крыс (контроль),
группа 2	5 крыс, которых подвергали звуковому воздействию - «озвучивание»
группа 3	9 крыс, подвергали звуковому воздействию («озвучивание») и иммобилизации («стресс»), формируя «модель акутравмы», из них: 9 улиток спирального органа исследовали методом световой микроскопии, 9 улиток спирального органа исследовались после прижизненной изоляции методом сканирующей электронной микроскопии и элементного компьютерного анализа
группа 4	3 крысы, подвергали звуковому воздействию («озвучивание») и иммобилизации, формируя «модель тугоухости» без лечения, с обследованием по прошествии двух недель
группа 5	9 крыс, получали лечение одновременно со звуковым воздействием и иммобилизацией («модель»): «моделирование» и «одновременное лечение», из них 9 улиток исследовали после прижизненной изоляции методом сканирующей электронной микроскопии и элементного компьютерного анализа
группа 6	8 крыс, после окончания звукового воздействия с иммобилизацией («модель») через 2 недели получали «позднее лечение»
Итого: 6 групп	42 белых беспородных крысы

После выведения крыс из эксперимента по группам, согласно дизайну, животных декапитировали в соответствии с Хельсинской декларацией, изготавливали гистологические препараты, после чего изучали их при световой микроскопии (460 гистологических препаратов).

Методы

Больным, обратившимся в оториноларингологический стационар с предварительным диагнозом сенсоневральная тугоухость, было проведено стандартное обследование: сбор жалоб и анамнеза, осмотр ЛОР органов, включающий в себя стандартный инструментальный осмотр (фарингоскопию, риноскопию, непрямую ларингоскопию, отоскопию), а также отомикроскопию и эндоскопический осмотр полости носа и носоглотки с использованием эндоскопов «Карл Шторц» - 0° и 30°, общеклинические исследования.

Всем больным проведено аудиологическое исследование посредством субъективных (акуметрия, тональная пороговая аудиометрия) и объективных методов (импедансометрия) и их анализ. Тональная пороговая аудиометрия проводилась с помощью клинического аудиометра АС-40 фирмы «Interacoustics»

(Дания): определяли пороги слуха на частотах от 125 Гц до 8000 Гц по стандартной методике (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А.,2003). Степень снижения слуха оценивали по Международной классификации тугоухости (Wilson J., 1988), Надпороговая аудиометрия включала проведение тестов Люшера, Фоулера, SISI-тест - для определения феномена ускоренного нарастания громкости звука (ФУНГ), поскольку наличие ФУНГ является патогномоничным для поражения нейроэпителиальных структур спирального органа (Лопотко А.И. и др., 1986; Таварткиладзе Г.А., 2013). Акустическая импедансометрия - тимпанометрия и акустическая рефлексометрия проводились с использованием прибора «Автоматический импедансометр SD-30» фирмы «Siemens» (Германия).

Изучение кальциевого метаболизма у обследуемых проводилось при помощи аппаратной методики – остеоденситометрии лучевой кости на моноэргетическом костном рентгеновском денситометре DTX-200 (Osteometer Meditech, США), а так же лабораторных тестов: определение общего и ионизированного кальция, фосфора в сыворотке крови, паратгормона, остеокальцина, кальцитонина, костной щелочной фосфатазы, β-CrossLaps.

Результаты клинических, аудиологических, биохимических тестов анализировались, обрабатывались и документировались в виде таблиц и фотографий, компьютерная база данных велась в соответствии с датой исследований, фактическими данными о пациентах.

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Статистическую обработку данных проводили с расчетом средней величины исследуемых показателей (M), ошибки средней (m), стандартного отклонения (õ), медианы (Me), моды (Mo). Для статистической оценки уровня достоверности (p) различий значений параметров в группах в работе использовали t-критерий Стъюдента и критерий Chi-square (χ^2). Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05. Определение тесноты корреляционной взаимосвязи между результатами исследований проводили путём расчёта линейного коэффициента корреляции Пирсона (r), критерия Манна-Уитни

(U). В нашей работе так же использовался множественный регрессионный анализ. Для расчета прогностического коэффициента риска высоких степеней СНТ был использован метод логистической регрессии.

При проведении экспериментальной части исследования оценку слуха у крыс проводили по рефлексу Прейера, а также путём определения отоакустической эмиссии на частоте продуктов искажения (ОАЭЧПИ) и задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ). Использовали компьютерную систему регистрации на базе прибора «OtoRead» фирмы Interacoustics (Дания).

После окончания эксперимента по группам животных под наркозом производили мгновенную декапитацию в строгом соответствии с Хельсинской декларацией. Выделяли височные кости крыс, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина и после «проводки» с целью декальцинации и других этапов подготовки материала получали срезы спирального органа. Окрашивали гематоксилин–эозином и проводили исследования улиток внутреннего уха с оценкой состояния структур спирального органа методом световой микроскопии.

18 макропрепаратов подготавливали другим способом с целью последующего проведения электронной микроскопии улитки крысы и элементного анализа клеток спирального органа. Выделяли улитки «методом прижизненной изоляции улитки», с последующим погружением в сосуд с 2,5% глютаровым альдегидом. После ряда этапов специальной обработки образец просушивали на воздухе в течение 1 суток. Затем улитку монтировали на столики и напыляли углеродом в напылительной установке Polaron (VG Microtech, England). Образцы просматривали в сканирующем электронном микроскопе XL30 (Philips), оборудованном детектором Edax с ультратонким окном, определяя место нахождения нейроэпителиальных клеток, после чего проводили их микроэлементный анализ с помощью компьютерной установки. Морфологические исследования проведены на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ и Государственного

учреждения здравоохранения Ростовской области «Патологоанатомическое бюро» (ГУЗ РОПАБ).

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническое исследование

Обследовано 175 больных с сенсоневральной тугоухостью (СНТ), 123 женщины (70,3%), и 52 мужчины (29,7%), в возрасте от 18 до 55 лет, из них у 80 больных (45,7%) подтверждена острая форма заболевания, у 95 – хроническая (54,3%). Методом остеоденситометрии 113 (52 больных с острой СНТ, 61– с хронической).

Результаты тональной пороговой аудиометрии свидетельствовали о нарушении звуковосприятия у всех обследованных больных до I – IV степеней тугоухости, что подтверждалось объективными данными, полученными при импедансометрии – отсутствием или изменениями акустического рефлекса и получением тимпанограммы «Тип А» у всех больных.

При проведении остеоденситометрии лучевой кости нами было использован моноэргетический костной рентгеновский денситометр DTX-200 (Osteometer Meditech, США) с оценкой Минеральной плотности костной ткани (МПКТ) по общепринятому Т-критерию. Результаты анализа данных остеоденситометрии (Таблицы 3, 4, 5) показали, что при хронической СНТ и при повышении степени тугоухости число больных с нарушениями МПКТ по Т-критерию, соответствующими остеопатиям, возрастало, что могло свидетельствовать о нарушении кальциевого метоболизма вплоть до элементов патологического ремоделирования костной ткани.

Таблица 3 – Остеоденситометрические показатели у больных с острой и хронической сенсоневральной тугоухостью

Показатель	Область	Острая СНТ (n=53)	Хроническая СНТ (n=61)	p
МПКТ, г/см^2 (M±m)	Лучевая кость	1,128±0,07	0,814±0,06	0,04
Т-критерий Me [25,75]		**-1,4** [-2,5; -0,5]	**-2,6** [-2,2; -1,1]	
Z-критерий Me [25,75]		-0,4 [-1,7; 0,1]	-0,3 [-2,2; -0,4]	

Таблица 4 – Распределение нарушений по Т-критерию, соответствующему остеопатиям, среди больных с острой и хронической сенсоневральной тугоухостью

Изменение	Острая СНТ (n=52)		Хроническая СНТ (n=61)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Норма	44	85,0	15	25,3	χ^2M–L=62,2 p<0,0001
Остеопения	5	8,8	25	41,1	
Остеопороз	3	6,2	21	33,6	

Примечание: χ^2M-L – критерий согласия с поправкой Мантеля-Хензеля на непрерывность

При повышении степени тугоухости до III - доля больных с нормальными показателями остеоденситометрии соответствовала 16% случаев, а с нарушениями по Т-критерию, соответствующими остеопатиям (по рекомендациям ВОЗ), - 84%, а при IV степени тугоухости и глухоте доля нарушений, соответствующих остеопатиям составила 93,75% случаев.

Таблица 5 – распределение больных по Т-критерию, соответствующему остеопатиям, среди больных с тугоухостью различных степеней

Изменение	Степень тугоухости				p
	I (n=11)	II (n=35)	III (n=9)	IV и глухота (n=6)	
Норма	10(91%)	25 (72,7)	1 (16%)	1 (16,7%)	χ^2M–L =16,9 p<0,01
Остеопатия	1 (9%):	10 (27,3%):	8 (84%):	5 (83,3%):	

Примечание: χ^2M-L – критерий согласия с поправкой Мантеля-Хензеля на непрерывность

Таким образом, длительное течение заболевания и повышение степени СНТ было сопряжено с повышением доли больных с нарушением по Т-критерию, соответствующим остеопатиям.

Так при СНТ в целом, наблюдались незначительные колебания показателей кальция общего и ионизированного в сыворотке крови, при этом изменения со

стороны регуляторов кальциевого обмена – остеокальцина, кальцитонина, костной щелочной фосфатазы, маркера β-Cross-Laps - более выражены. При острой форме тугоухости выявлено повышение концентрации кальцитонина и остеокальцина , при хронической - отличительной особенностью являлось повышение уровня костной щелочной фосфатазы. При I степени СНТ наблюдалось повышение концентрации кальцитонина, остеокальцина, костной щелочной фосфатазы. С увеличением длительности заболевания и степени тугоухости нарастают признаки интенсивности остеорезорбции по маркеру β-Cross-Laps (Таблица 6).

Таблица 6 – Показатели регуляторов кальциево-фосфорного обмена крови у больных сенсоневральной тугоухостью в зависимости от степени тугоухости

(M±m)

Показатель	Степень тугоухости			
	1	2	3	4 и глухота
Кальцитонин, пг/мл	5,68±0,74	2,4±0,24*	2,68±0,42*	1,45±0,08*
Остеокальцин нг/мл	9,2±1,83	4,6±1,95*	6,1±0,77*	2,0±0,12*
КЩФ, мкг/л	45,3±1,83	37,9±1,80*	34,2±1,75*	34,4±1,93*
β Cross-Laps, нг/мл	0,63±0,02	0,66±0,03	0,65±0,04	0,75±0,03*
Паратгормон, пг/мл	45,2±2,21	46,0±3,01	45,9±2,73	47,0 ±2,74

Примечание: * - достоверное отличие показателей по сравнению с больными с 1 степенью тугоухости при $p<0,05$ (по критерию Манна-Уитни).

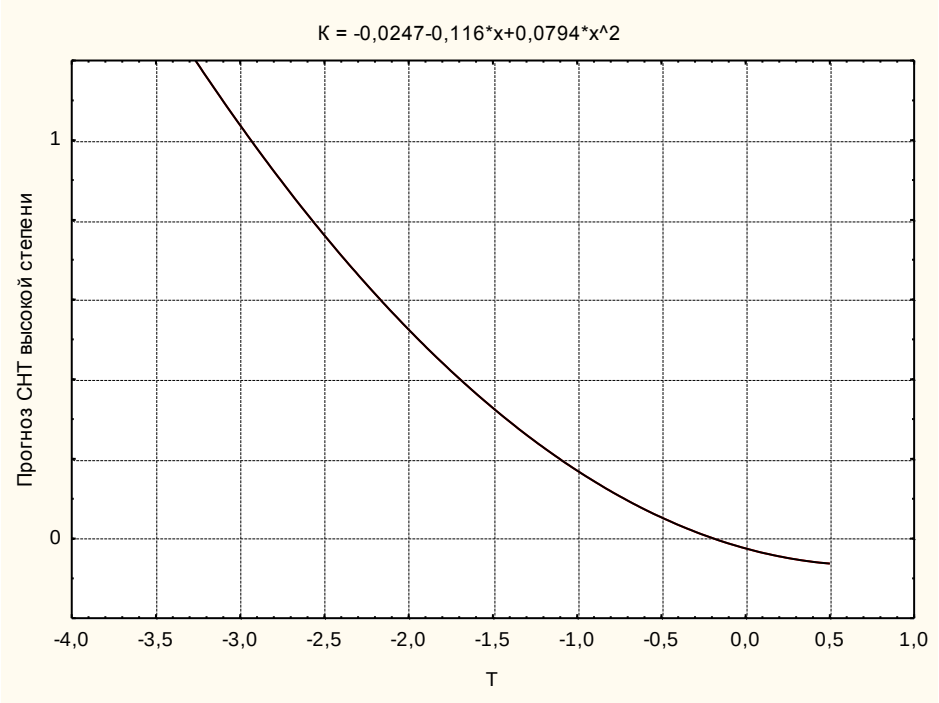
На следующем этапе при использовании нелинейного анализа был изучен отдельно вклад отклонений МПКТ костей при остеоденситометрии в прогноз развития у больного СНТ высоких классов.

Математическое выражение, описывающее зависимость имело вид:

$$K = -0,025-0,116*x+0,08*x^2,$$

где К – коэффициент прогноза СНТ высоких классов,
Х – отличие МПКТ от нормы по Т-критерию по результатам остеоденситометрии.

Зависимость между показателями иллюстрирована на рисунке 1.



K = -0,0247-0,116*x+0,0794*x^2

Рисунок 1– График зависимости между прогнозом развития СНТ высоких классов и отличием МПКТ от нормы по Т–критерию.

Согласно установленной зависимости при Т= –0,5 риск развития СНТ высоких классов составлял 5%, при уровне Т= –1 – 17,1% и уровне Т= –2 – 52,7% и Т= –2,5 – 76,5% (Таблица 7)

Для оценки чувствительности и специфичности прогностического значения отличия МПКТ от нормы по Т–критерию по результатам остеоденситометрии для развития СНТ высоких классов был проведен ROC–анализ. На рисунке 3.8 отражена ROC– кривая, характеризующая зависимость количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров либо чувствительности и специфичности для различных уровней Т–критерия в отношении развития СНТ высоких классов.

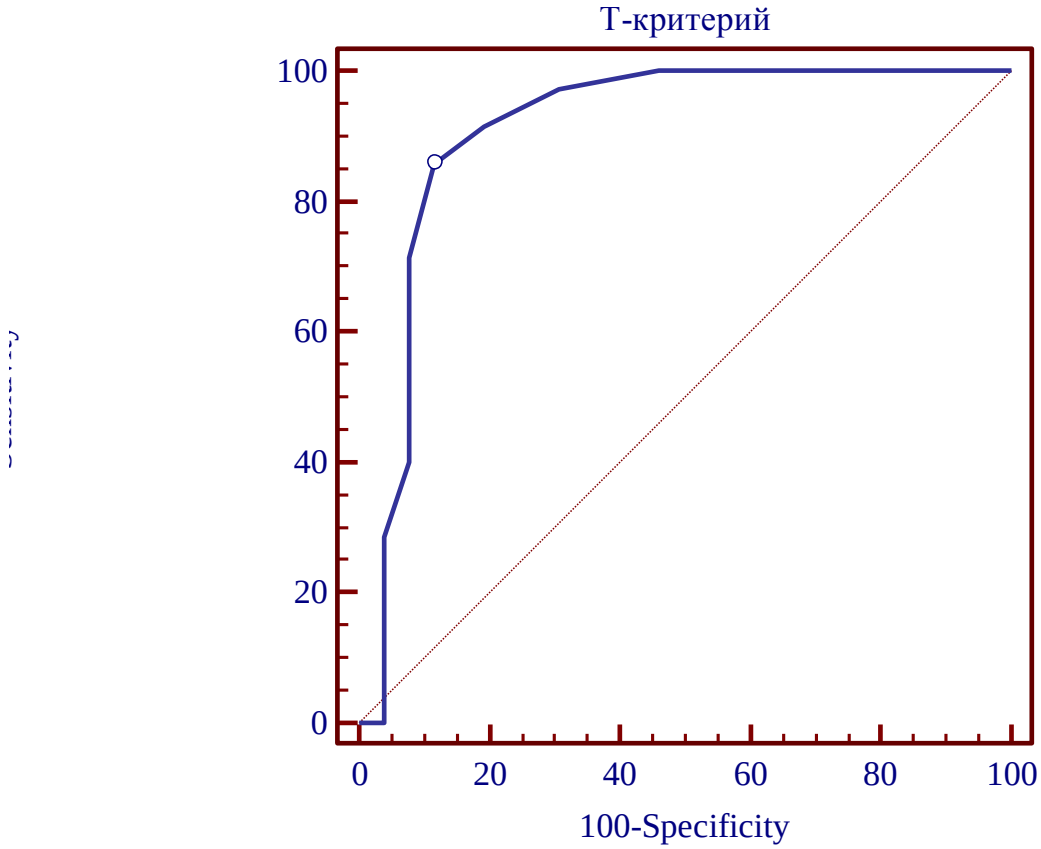


Рисунок 2– ROC-кривая остеоденситометрического уровня Т для выявления больных с высоким риском развития СНТ высоких классов.

Дифференциальной точкой разделения для Т–критерия или точкой «cut-off» было значение 2,2 (Таблица 7). При снижении Т– критерия ниже – 2,2 больные входили в группу высокого риска по развитию СНТ высоких классов с диагностической чувствительностью 94,4% и специфичностью 47,8%.

Таблица 7– Соотношение чувствительности и специфичности Т-уровня с определением диагностической точки разделения для выделения больных с высоким риском развития СНТ 3-4 степени тяжести

Т-кр	ДЧ	ДИ ДЧ	ДС	ДИ ДС
<-1	100,00	81,5 - 100,0	0,00	0,0 - 4,0
<-1,5	100,00	81,5 - 100,0	7,78	3,2 - 15,4
<-2,2*	94,44	72,7 - 99,9	47,78	33,2 - 55,4
<-2,5	94,44	72,7 - 99,9	44,44	34,0 - 55,3
<-3	88,89	65,3 - 98,6	45,56	35,0 - 56,4

Примечание: ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, ДИ – доверительный интервал

Площадь под ROC-кривой (AUC, AreaUnderCurve) имела высокое значение (AUC=0,774±0,063) со статистической значимостью p=0,0001 (z=4,36), что подтверждало прогностическую значимость Т-критерия для оценки риска развития СНТ.

Таким образом, к предикторам развития СНТ высокой степени тяжести можно отнести снижение минеральной плотности костной ткани. Разработанная модель с учетом пола, возраста, уровня МПКТ по результатам остеоденситометрии и величин остеомаркеров позволяет индивидуализировать отологический риск в отношении развития СНТ высокой степени.

Экспериментальное исследование

Экспериментальные исследования были проведены в соответствии с дизайном исследования по группам на 42 белых беспородных крысах.

Результаты оценки слуха у крыс по рефлексу Прейера, а также при исследовании отоакустической эмиссии на частоте продуктов искажения (ОАЭЧПИ) и задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ) с помощью прибора «OtoRead» (фирма Interacoustics, Дания) были следующими.

В группе 1 – контрольной у животных при звуковом воздействии вызывался живой, устойчивый рефлекс Прейера, при исследовании отоакустической эмиссии (ОАЭЧПИ, ЗВОАЭ) результат «тест прошел» имел место у всех 8 крыс.

Такие же результаты, соответствующие контролю, получены у всех подопытных крыс (100%), предварительно обследованных до начала эксперимента.

В группе 2 – из 5 опытных животных, которых подвергали воздействию шума («озвучивание»), угасание рефлекса Прейера и результат «тест не прошел» при исследовании отоакустической эмиссии (ОАЭ) имел место у 4 крыс, и у 1 – соответствовал контролю, то есть воспроизведение «модели тугоухости» соответствовало 80%.

В группе 3 – из 9 крыс, которых подвергали воздействию шума («озвучивание») и иммобилизации («стресс»), угасание рефлекса Прейера было у

9, и результат «тест не прошел» при исследовании ОАЭ - у 9 крыс, то есть у всех 9 животных была сформирована «модель тугоухости» - 100%.

В группе 4 – из 3 крыс, которых подвергали воздействию шума («озвучивание») и иммобилизации («стресс»), формируя этим «модель тугоухости» угасание рефлекса Прейера после окончания воздействия было у 3, и результат «тест не прошел» при исследовании ОАЭ - у 3 крыс, при обследовании через 2 недели результаты исследования слуха не изменились, то есть у всех 3 животных сохранялись функциональные признаки «модели тугоухости».

В группе 5 – из 9 крыс, которые получали лечение одновременно со звуковым воздействием и иммобилизацией («модель тугоухости»): угасание рефлекса Прейера после окончания воздействия было у 3, и результат «тест не прошел» при исследовании ОАЭ – 3 крыс (33,3%), а у 6 животных (66,7%) результаты исследования слуха свидетельствовали о положительных результатах «раннего лечения» и соответствовали контролю.

В группе 6 - из 8 крыс, которые получали лечение через 2 недели от начала эксперимента, то есть по окончании моделирования тугоухости воздействием шума и иммобилизационного стрессирования: угасание рефлекса Прейера после окончания воздействия было у 7, и результат «тест не прошел» при исследовании ОАЭ – 7 крыс, то есть результаты исследования слуха свидетельствовали о отрицательных результатах «позднего лечения» у большинства - 8 крыс (87,5%), лишь у 1 крысы слух улучшился до уровня контроля (12,5 %).

На рисунке 3 представлен фрагмент эксперимента при исследовании отоакустической эмиссии с помощью прибора «OtoRead» у здоровой белой беспородной крысы контрольной группы (Группа 1).

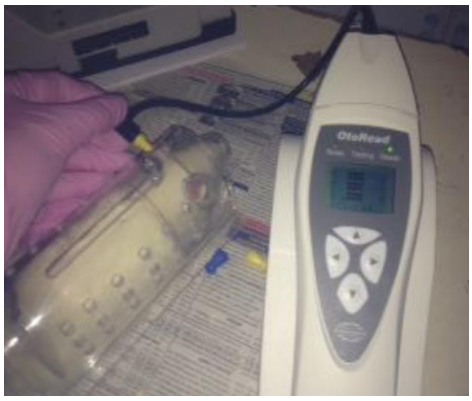


Рисунок 3. Фрагмент эксперимента во время исследования отоакустической эмиссии у здоровой белой беспородной крысы контрольной группы

На рисунке 4 представлен фрагмент эксперимента при исследовании отоакустической эмиссии левого уха белой беспородной крысы из группы животных, которым формировали «модель тугоухости» (группа 3): на экране прибора «OtoRead» высветился результат: «НЕТ», что свидетельствует о том, что тест не пройден, а, значит, о нарушении слуховой функции крысы.

Рисунок 4. Фрагмент эксперимента при исследовании отоакустической эмиссии белой беспородной крысы из группы животных, которым формировали «модель тугоухости» (группа 3): на экране прибора «OtoRead» – результат «нет»

После окончания эксперимента по группам животных под наркозом производили мгновенную декапитацию в строгом соответствии с Хельсинской декларацией. В последующем после ряда этапов подготовки готовили гистологические препараты и исследовали их методом световой микроскопии.

Проведенные гистологические исследования органа слуха показали следующее: воздействие шума 90 дБ по 2 часа в день в течение 14 суток, вызывает выраженные патологические изменения в спиральном органе – наружных волосковых клетках (НВК), вспомогательных клетках, спиральной связке, сосудистой полоске, но особенно в спиральном ганглии), которые сочетаются с положительными функциональными пробами, подтверждающими тугоухость и, следовательно, документируют возможность моделирования СНТ указанным способом при таких параметрах.

Эти изменения усиливаются сразу после «озвучивания» на фоне стрессирования животных и тем более в отдаленные (2 недели) сроки после окончания воздействия после моделирования СНТ, отражая динамику прогрессирующих патологических изменений в спиральном органе. При этом более тяжелые изменения отмечаются в спиральном ганглии при выраженном перицеллюлярном отеке и апоптозе нейроцитов. Патология наружных волосковых клеток (НВК) чаще соответствует ранним стадиям апоптоза (маргинация хроматина, подчеркнутый рельеф кариолеммы, реже гиперхромность ядра). В сосудистой полоске, спиральной связке, спиральном ганглии отмечаются признаки нарушения микроциркуляции (сладж, отек, изменение просвета сосудов). На рисунке 5 спиральный орган крысы из контрольной группы. На рисунках 6 и 7 представлены результаты гистологического исследования улитки белой беспородной крысы из группы 3 после окончания серий ежедневных шумовых воздействий и иммобилизационного стрессирования в течение двух недель («модель тугоухости») с подтверждённым функциональным нарушением слуха методом отоакустической эмиссии.

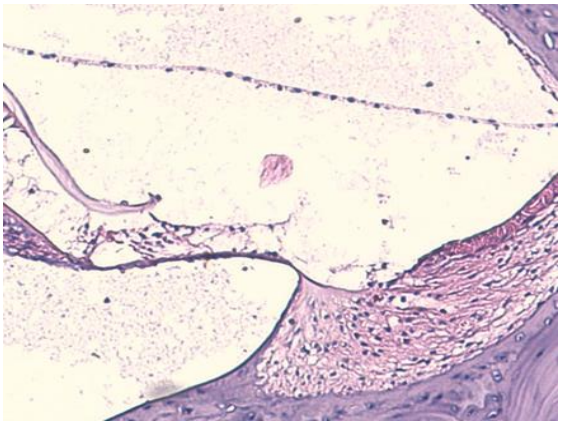


Рисунок 5. Микрофотография гистологического препарата спирального органа улитки одной из крыс контрольной группы (К). Увеличение в 100 раз.

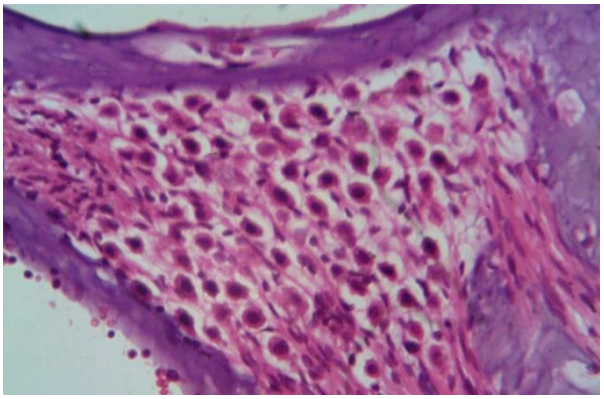


Рисунок 6. Результаты гистологического исследования улитки белой беспородной крысы из группы 3 («модель тугоухости») с нарушениями слуха после моделирования сенсоневральной тугоухости. Перицеллюлярный отек, гиперхроматоз ядер нейроцитов спирального ганглия. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение в 400 раз.

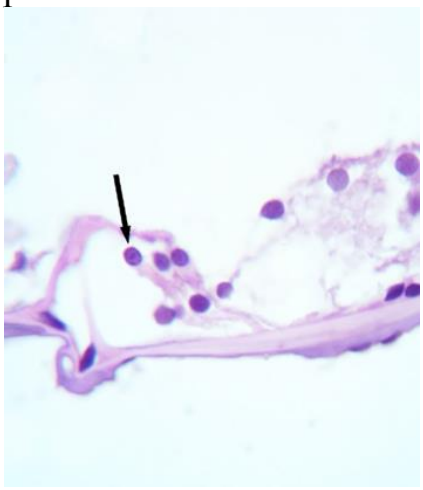


Рисунок 7. Результаты гистологического исследования улитки белой беспородной крысы из группы 3 («модель тугоухости») с нарушениями слуха после моделирования сенсоневральной тугоухости. Признаки маргинации хроматина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение в 1000 раз.

Анализ полученных результатов позволяет особо подчеркнуть: 1) более тяжелое (при данных условиях моделирования) повреждение нейроцитов спирального ганглия, при удовлетворительной сохранности (с элементами раннего апоптоза) НВК; 2) выраженные изменения клеточного и сосудистого компонентов спиральной связки (сладж, гибель фибробластов, мононуклеарная реакция в поздние сроки); 3) чрезвычайную реактивность эпителиоцитов спиральной связки в ранние и поздние сроки при всех условиях эксперимента с деструкцией их и формированием лизирующихся шаровидных эозинофильных масс.

Одновременное с моделированием СНТ применение блокатора кальциевых каналов (БКК) – нимодипина уменьшает выраженность описанных патогистологических признаков СНТ. Наблюдается сохранность клеток спирального органа, уменьшаются отек, дистрофические изменения, выраженность апоптоза, что свидетельствует о протективных свойствах нимодипина при СНТ и о возможности его использования в качестве профилактического средства (Рисунок 8).

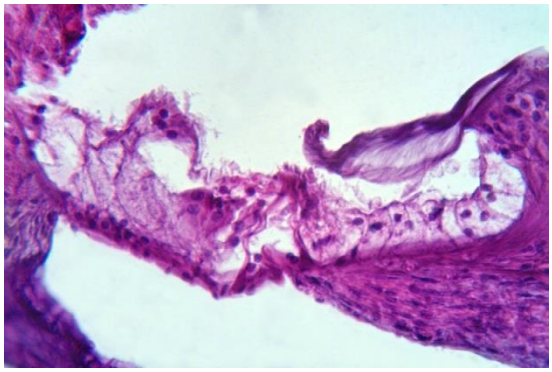


Рисунок 8. Результаты гистологического исследования улитки белой беспородной крысы из группы 5 с признаками протективных свойств нимодипина. Окраска гематоксилин– эозином. Увеличение в 100 раз.

В спиральном ганглии при неравномерно выраженном перицеллюлярном отеке одни нейроны имеют обычное строение (Рисунок 9), другие – их небольшое количество – дистрофически изменены, с гиперхромными ядрами, вакуолизированной цитоплазмой. На фоне этих ранних апоптозоморфных (с

возможностью обратного развития) патологических изменений отдельные нейроциты находятся в состояние выраженного апоптоза.

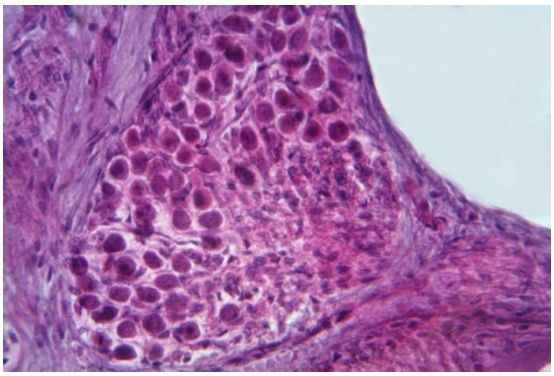


Рисунок 9 . Результаты гистологического исследования улитки крысы из группы 6 («позднее лечение»). «Модель тугоухости» и отсроченное применение блокаторов кальциевых каналов. Светлые и гиперхромные ядра нейроцитов. Окраска гематоксилин–эозином. Увеличение в 400 раз.

У животных из группы «модель тугоухости» – 9 улиток, и у животных после «раннего лечения» нимодипином – 9 улиток, выделенных после декапитации методом «прижизненной изоляции», под контролем сканирующей электронной микроскопии исследовали элементный состав волосковых клеток. Полученные результаты представлены в таблице 9.

Отмечены сдвиги в элементном составе клеток спирального органа в группе крыс «модель тугоухости» по сравнению с контролем, так, в частности, имеет место повышение доли кальция в составе нейроэпителиальных клеток. В группе животных, получавших «раннее лечение» БКК – нимодипином, имеется тенденция к уменьшению доли кальция, приближающейся к контрольному показателю (таблица 8).

Таблица 8 – Содержание микроэлементов в улитке (масс%) у экспериментальных животных в различных сериях

Элементы	1 серия «модель тугоухости»	2 серия «раннее лечение» на «модели тугоухости»	3 серия (контроль)
Na	5,93±0,28	5,37±0,24	5,51±0,35
P	24,63±3,19*	27,39±3,72*	15,74±1,28
S	16,98±1,39*	5,52±0,95º	7,09±1,46
Cl	2,08±0,27*	0,31±0,01º	0,58±0,02
K	1,66±0,38	0,85±0,05º	1,29±0,3
Ca	59,62±2,48*	51,22±2,05*	47,76±3,75

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

º - достоверные отличия по сравнению со 1-й серией при $p<0,05$.

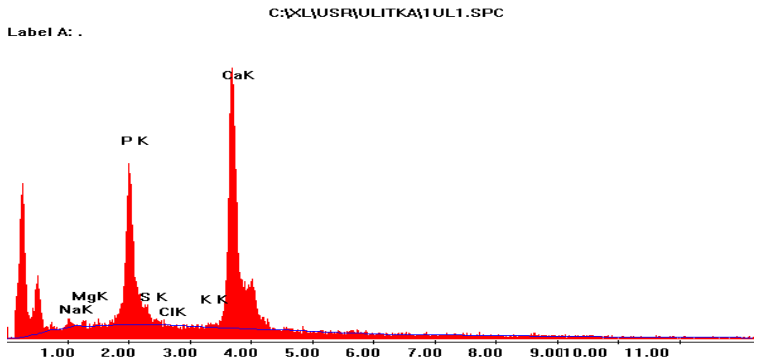


Рисунок 10. Микроэлементный состав клеток спирального органа «модель тугоухости» до лечения

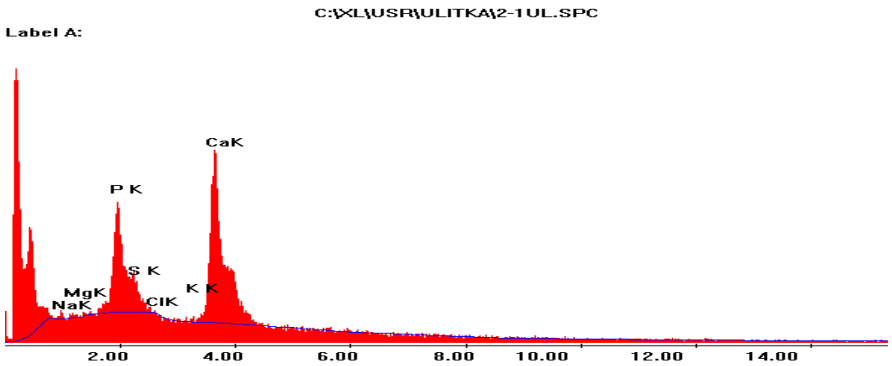


Рисунок 11. Микроэлементный состав клеток спирального органа «модель тугоухости» после лечения

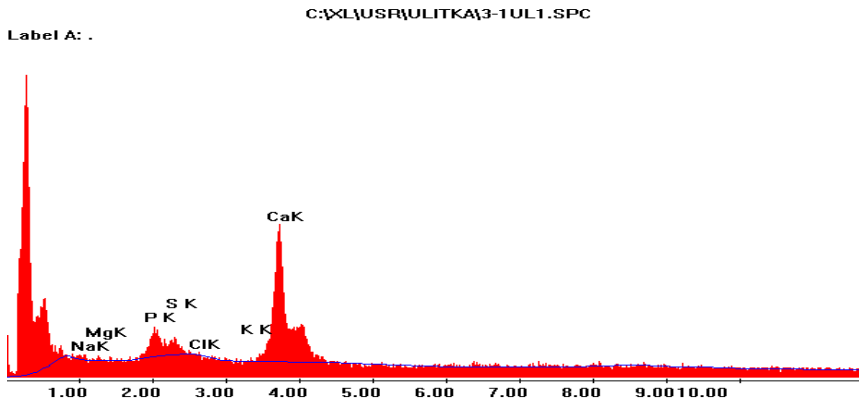


Рисунок 12. Микроэлементный состав клеток спирального органа контрольной группы крыс.

С использованием нимодипина после моделирования СНТ указанным способом уменьшается выраженность гистологических признаков повреждения спирального органа, улучшается микроциркуляция, несколько нормализуются морфофункциональные показатели нейроцитов, НВК, фибробластов, спиральной связки, наружных поддерживающих (Гензена) и пограничных (Клаудиуса) клеток, что также отражает протективные свойства нимодипина и возможность его использования при лечении СНТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многолетние наблюдения и анализ материалов, полученных при обследовании больных с сенсоневральной тугоухостью (СНТ) на кафедре болезней уха, горла носа ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ с клинической базой в оториноларингологических отделениях МБУЗ «Городская больница им. Н.А. Семашко» г. Ростова–на–Дону, свидетельствуют о неуклонном росте числа больных со сниженным слухом. Нами обследовано 175 больных с сенсоневральной тугоухостью в возрасте от 18 до 55 лет, 52 мужчины и 123 женщины, из них – 80 с острой и 95 – с хронической формой заболевания. При аудиометрическом исследовании подтверждено нарушение звуковосприятия у всех обследованных больных от I до IV степени тугоухости по Международной классификации тугоухости и тимпанограмма «тип А» при тимпанометрии.

При исследовании больных вне зависимости от стадии и степени СНТ, наблюдаются незначительные колебания показателей уровня общего и ионизированного кальция, фосфора в сыворотке крови, при этом регуляторы кальциевого обмена изменяются в большей степени. При более детальном рассмотрении в подгруппах выявлены отличия в показателях. При I степени СНТ наблюдалось повышение ($p<0,05$) концентрации кальцитонина, остеокальцина. С повышением степени тугоухости повышался маркер остеорезорбции β Cross–Laps.

Анализ результатов исследования, проведенный по критерию Манна–Уитни с $p < 0,05$, позволил определить статистически достоверные значения величин показателей Т–критерия и кальциевого обмена в сыворотке крови больных с прогрессирующим течением СНТ. Таким образом, на основании проведенных исследований был сделан вывод о том, что учёт значений, показателей кальциевого обмена позволяет с высокой достоверностью прогнозировать прогрессирующее течение СНТ.

Наши данные об изменении кальциевого метаболизма у больных с сенсоневральной тугоухостью, а также данные из литературных источников о роли кальциевых каналов и кальций–зависимых К–Na каналов в жизнедеятельности клеток головного мозга и участии ионов кальция в процессах возбуждения мембран нейронов и последующих внутриклеточных молекулярных каскадах (С.Г. Журавский, 2006) позволили предположить возможное положительное влияние препаратов блокаторов кальциевых каналов на функцию улитки, что потребовало клинического и экспериментального подтверждения.

Наш выбор дизайна исследования по моделированию тугоухости и применению препаратов из группы блокаторов кальциевых каналов базировался на нескольких исследованиях, преимущественно зарубежных авторов: J. Maurer (1993), W.Mann (1987), H.Shen (2007), свидетельствующих о меньшей степени потери слуха в экспериментальных группах животных, получавших БКК, а так же Bracco D., Chiolero R. (2000), показавших, что нимодипин хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер, имеет высокое сродство с рецепторами

кальциевых каналов нервных клеток, препятствует развитию клеточного апоптоза.

Проведенные гистологические исследования показали, что моделирование СНТ путем «озвучивания» (интенсивность шума 90 дБ по 2 часа в день, ежедневно, в течение 14 суток) на фоне иммобилизационного стрессирования экспериментальных животных сопровождается: 1) гибелью путем цитолиза эпителиоцитов, выстилающих спиральную связку и наружных опорных клеток; 2) тяжелыми дистрофическими изменениями нейроцитов спирального ганглия, апоптозом некоторых из них, реактивными изменениями глии, отечно – дегенеративными изменениями отдельных нервных волокон слухового нерва; 3) дистрофическими изменениями клеток спиральной связки, ее отеком, уменьшением клеточности; 4) сохранностью большинства волосковых клеток, единичные из которых имели ранние признаки апоптоза; 5) нарушением реологических свойств крови.

Таким образом, проведенные гистологические исследования органа слуха соотносятся с результатами прижизненных функциональных проб, свидетельствующих о тугоухости и, следовательно, документируют возможность моделирования СНТ указанным способом при таких параметрах.

Но особую значимость в настоящем исследовании имели данные о достоверном повышение доли кальция (масс%) в составе нейроэпителиальных клеток спирального органа крыс с СНТ ($p<0,05$) относительно контроля. В группе животных, получавших «одновременное» лечение блокатором кальциевых каналов нимодипином, выявлено достоверное уменьшение доли кальция ($p<0,05$) относительно группы животных со сниженным слухом – «модель СНТ», приближающейся к контрольному показателю, что можно отнести к факторам, предотвращающим повреждение или гибель клетки и ещё одним из обоснований для назначения нимодипина при СНТ.

Полученные нами в эксперименте на животных данные позволили обосновать использование блокатора кальциевых каналов нимодипина (нимотоп) в клинической практике у больных, страдающих сенсоневральной тугоухостью.

Эти результаты согласуются с рекомендациями зарубежных учёных, которые на основании многочисленных клинических наблюдений больных с СНТ пришли к выводу, что блокаторы кальциевых каналов должны быть включены в схему лечения, особенно в тех случаях, когда наиболее вероятен сосудистый генез заболевания, а так же при идиопатической СНТ (Naples, J.G., 2017). В результате нами разработаны практические рекомендации для врачей, обосновывающие назначение данной группы препаратов с определением показаний введения нимодипина при сенсоневральной тугоухости.

ВЫВОДЫ

1. К предикторам развития прогрессирующего течения сенсоневральной тугоухости относится снижение минеральной плотности костной ткани с относительно стабильными показателями кальциевого метаболизма в сыворотке крови, что подтверждается сравнительным анализом показателей.
2. Акустическое воздействие на фоне иммобилизационного стресса вызывает в эксперименте развитие сенсоневральной тугоухости у всех лабораторных животных опытной группы, что подтверждается электрофизиологическими и морфологическими методиками.
3. При экспериментальной сенсоневральной тугоухости у белых крыс сдвиги в элементном составе волосковых клеток спирального органа, определяемые рентгеноспектральным методом, сопровождаются увеличением доли кальция (по значению весовых процентов), что свидетельствует о нарушении кальциевого метаболизма внутреннего уха.
4. Применение блокаторов кальциевых каналов (нимодипина) у подопытных животных с экспериментальной сенсоневральной тугоухостью патогенетически обосновано и эффективно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанный «Способ моделирования сенсоневральной тугоухости» у животных может быть использован в научно–практических исследованиях по изучению действия и эффективности различных лекарственных препаратов.

2. В схему лечения больных с прогрессирующей сенсоневральной тугоухостью, наряду с традиционными средствами, целесообразно включать блокатор кальциевых каналов нимодипин (нимотоп) по общетерапевтической схеме: внутрь 30 (1таблетка) 3 раза в день 1-2 мес.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Состояние кальциевого обмена у больных с сенсоневральной тугоухостью // Актуальные проблемы инфекционной и неинфекционной патологии: сб. науч. работ, посвящ. 55-летию науч. деят. д.м.н. Левиной Л.Д. – Ростов н/Д, 2005. – С. 85-86.

2. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Роль нарушений обмена кальция в патогенезе сенсоневральной тугоухости // Актуальные проблемы современной оториноларингологии: материалы Всеармейской науч.-практ. конф., посвящ. 130-лет. со дня рожд. В.И. Воячека – СПб, 2006. – С. 57-58.

3. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Нарушение метаболизма кальция у больных с сенсоневральной тугоухостью // Материалы 2-го национального конгресса аудиологов. – Суздаль, 2007. – С. 104-105.

4. Золотова Т.В., Дубинская Н.В. Исследование метаболизма кальция в эксперименте и у больных сенсоневральной тугоухостью // Вестник оториноларингологии. – 2007. – № 5. – С. 59-60.

5. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Кальциевый метаболизм у больных с хронической сенсоневральной тугоухостью // Вестник оториноларингологии: Прил. (Матер. IX Всерос. науч.-практ. конф.). – 2010. – С. 76-77.

6. Дубинская Н.В. Клиническое значение определения метаболизма кальция у больных с нарушением слуховой функции // Российская оториноларингология. – 2011. – № 1(50). – С. 66-69.

7. **Дубинская Н.В.,** Джамбинова Е.О. Значение изучения нарушений звуковосприятия при сенсоневральной тугоухости, контролируемых регуляторами кальциевых каналов // Матер. 65-й Итоговой научной конференции молодых ученых РостГМУ с международным участием. – Ростов н/Д, 2011. – С. 328-329.

8. Золотова Т.В., Панченко С.Н., **Дубинская Н.В.** Электролитный баланс клеток внутреннего уха крыс при моделировании сенсоневральной тугоухости // Вестник оториноларингологии: Прил. (Материалы X Рос. конгр. оторинолар.). – 2011. – № 5. – С. 76-78.

9. Золотова Т.В., Дубинская Н.В. Исследование микроэлементного состава клеток спирального органа при экспериментальной сенсоневральной тугоухости // Российская оториноларингология. – 2011. – № 5 (54). – С. 62-66.

10. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Изучение роли микроэлементов в патогенезе сенсоневральной тугоухости // Матер. 4-го Национального конгр. аудиологов, 8-го Междунар. симп. «Современные проблемы физиологии и патологии слуха» (Суздаль, 29 нояб. – 1 дек. 2011 г.). – Суздаль, 2011. – С.79-80.

11. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.**, Лобзина Е.В. Значение изменений кальциевого метаболизма в патогенезе сенсоневральной тугоухости // Постдипломное образование в оториноларингологии: науч.-практ. журн.: Прил. (Матер. I Всерос. открытой конф. по проблемам уха в рамках 10-го семинара "Избранные вопросы отологии / отохирургии", 1-2 марта, г. Москва). – М., 2012. – С. 7.

12. Zolotova T.V., **Dubinskya N.V.** Analysis of balance disorders of calcium and other microelements in pathogenic mechanisms of experimental sensorineural hearing loss // XXXI World Congress of Audiology, April 29-May 3, 2012, Moscow, Russia. –M., 2012. – P. 138.

13. Золотова Т.В., Дубинская Н.В. Микроэлементный состав клеток спирального органа при сенсоневральной тугоухости // Медицинский вестник Юга России. – 2012. – № 2. – С. 49-52.

14. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Современные данные о значении кальциевого метаболизма в патогенезе сенсоневральной тугоухости // Материалы V Межрегиональной научно-практической конференции оториноларингологов Южного и Северо-Кавказского Федеральных округов с международным участием, 15-16 июня 2012 г. – Ростов н/Д, 2012. – С. 192-197.

15. Золотова А.Н., Лобзина Е.В., **Дубинская Н.В.** Особенности психоэмоционального состояния у больных с субъективным шумом в ушах // Психоонкология и другие вопросы психосоматической медицины: матер. науч.- практ. конф. молодых ученых. – Ростов н/Д, 2012. – С. 20-22.

16. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Патогенетические особенности сенсоневральной тугоухости в обосновании назначения блокаторов кальциевых каналов // Материалы XI Рос. конгр. оториноларинг. «Наука и практика в оториноларингологии» / под ред. В.Т. Пальчуна, А.И. Крюкова. – М., 2012. – С. 61-62.

17. Дубинская Н.В. Метаболизм кальция при сенсоневральной тугоухости // Российская оториноларингология. – 2013. – № 1(62). – С. 73-76.

18. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.**, Князева О.А. Роль ионных кальциевых каналов в патогенезе нарушений функции внутреннего уха // Сб. тр. к 90-летию основания каф. болезней уха, горла, носа РостГМУ. – Ростов н/Д, 2013. – С.46-47.

19. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Роль потенциал-зависимых кальциевых каналов в развитии тугоухости // Вестник оториноларингологии. – 2013. – №5, Прил. – С. 62-63.

20. **Дубинская Н.В.**, Студенецкая Н.В., Бачурина А.С., Сошникова Е.П. Изучение роли кальция в патогенезе сенсоневральной тугоухости // Сб. материалов 67 итоговой научной конференции молодых ученых Рост ГМУ с международным участием. – Ростов н/Д, 2013. – С. 249-250.

21. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.**, Панченко С.Н. Экспериментальное исследование содержания кальция в спиральном органе при моделировании сенсоневральной тугоухости у крыс // Материалы 5-го Национ. конгр. аудиологов 9-го Междунар. симп. «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 2013. – С. 149-150.

22. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В**., Сошникова Е.П. Патофизиологические аспекты кальциевого обмена при сенсоневральной тугоухости // Материалы 5-го Национ. конгр. аудиологов 9-го Междунар. симп. «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 2013. – С. 139-140.

23. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Физиологические предпосылки нарушений гомеостаза кальция при сенсоневральной тугоухости // Сб. статей Межрегиональной научно - практической конференции оториноларингологов. – Благовещенск, 2013. – С. 20-25.

24. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Изучение нарушений метаболизма кальция и их взаимосвязей с другими факторами патогенеза сенсоневральной тугоухости // Материалы II Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб, 2013. – С. 168-169.

25. Дубинская Н.В. Исследование метаболизма кальция при сенсоневральной тугоухости // Российская оториноларингология. – 2014. – № 1 (68). – С. 53-55.

26. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Потенциал-зависимые кальциевые каналы при сенсоневральной тугоухости // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – № 3(47). – С. 18.

27. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Перспективы использования блокаторов кальциевых каналов в лечении больных с сенсоневральной тугоухостью // Материалы III Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб., 2014. – С. 156-157.

28. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Изменение кальциевого метаболизма при сенсоневральной тугоухости // Оториноларингология. Хирургия головы и шеи (Материалы регион. науч.-практ. конф. оториноларинг. с междунар. участием, посвящ. 80-летию проф. З.Ш. Шаихова). – 2014. – № 3-4. – С. 37-38.

29. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В**., Лобзина Е.В. Возможности оптимизации лечения больных с сенсоневральной тугоухостью // Материалы науч.-практ. конфер. «Современные методы диагностики нарушений слуха и реабилитации больных с различными формами тугоухости и глухотой». – М., 2014. – С.17-18.

30. **Дубинская Н.В.**, Ивашина О.В., Склярова Н.И. Тугоухость и нарушения кальциевого обмена // Сб. матер. 2 итоговой науч. сессии молодых ученых Рост ГМУ. - Ростов н/Д, 2015. – С. 136-137.

31. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Некоторые клинико-экспериментальные данные изучения механизмов развития сенсоневральной тугоухости // Материалы IV Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб., 2015. – С.185-186.

32. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Состояние кальциевого метаболизма у больных с сенсоневральной тугоухостью по показателям денситометрии костной ткани // Детская оториноларингология. Спец. выпуск. Матер. науч.-практ. конф. «Ринология и отиатрия: современные проблемы». –Ростов н/Д, 2015. – С. 27.

33. Дубинская Н.В. Изучение механизмов развития сенсоневральной тугоухости // Российская оториноларингология. –2015. – №2 (75). – С. 25-28.

34. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В**., Склярова Н.И., Лобзина Е.В. Экспериментальное изучение влияния шумового воздействия на улитку крысы // Вестник оториноларингологии: Прил. (Материалы XIV Рос. конгр. оторинолар.). –2015. – №5. – С. 89-90.

35. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.** Состояние кальциевого метаболизма у больных с сенсоневральной тугоухостью по результатам остеоденситометрии // Сб. матер. XIX съезда оториноларингологов России. – Казань, 2016. – С. 300-301.

36. Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.**, Давыдова А.П. Содержание кальция и его регуляторов в сыворотке крови больных с сенсоневральной тугоухостью // Материалы VI Международного Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб., 2017. – С.125-126.

Патенты РФ на изобретение по теме диссертации:

Способ моделирования сенсоневральной тугоухости : пат., 2627155 Рос. Федерация : МКП 2006.01 G09B 23/28 / Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.,** Лобзина Е.В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ - № 2016133837 ; заявл. 17.08.2016 ; опубл. 03.08.2017, Бюл. № 22.

Способ прогнозирования течения сенсоневральной тугоухости: пат. 2648534 Рос. Федерация : МКП 2006.01 G01N 33/49 / Золотова Т.В., **Дубинская Н.В.,** Лобзина Е.В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ - № 2017129009 ; заявл. 14.08.2017 ; опубл. 26.03.2018, Бюл. № 9.

Список используемых сокращений

СНТ–сенсоневральная тугоухость

НВК– наружные волосковые клетки

ВВК– внутренние волосковые клетки

БКК– блокаторы кальциевых каналов

МПКТ–минеральная плотность костной ткани

Сдано в набор

Подписано в печать 2018 г.

Бумага офсетная. Ротапринт. Гарнитура

Times New Romans. Формат 60x84/16.

Объем 1.0 п.л. Тираж 100 экз. Заказ №

Отпечатано в типографии