DOI 10.31718/2077-1096.20.2.124

УДК 615.099:616-001.37

Гусейнов Н. М.¹, Фисенко В. Р.², Асланов П. Р.¹

ВЛИЯНИЕ ОТОТОКСИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И УЛИТКЕ

¹Азербайджанский государственный институт усовершенствования врачей

им. А. Алиева, г. Баку, Азербайджан

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, г. Москва, Россия

Эксперименты проведены на кошках обоего пола массой 3-3,5 кг, в свободном поведении. На волокна таламокортикальной радиации наносили прямоугольные пороговые (1,5-3в) и надпороговые (5-7в) электрические импульсы длительностью 0,1 мс, используя при этом одиночное и парное (межстимульные интервалы 20-500мс) раздражения волокон таламокортикальной радиации. Все исследованные препараты – фуросемид, стрептомицин, гентамицин, канамицин, мономицин, тобрамицин и амикацин (кроме кислоты ацетилсалициловой, которую вводили во внутрибрюшинное пространство) вводили кошкам внутримышечно 2 раза в день с интервалом в 10-12 часов. Биоэлектрические реакции коры мозга и улитки регистрировали ежедневно через 2-3 часа после очередного введения препаратов. Фуросемид снижал на 50% величину микрофонного потенциала, регистрируемого при звуковой стимуляции с частотой 10 кГц через 4 дня, с частотой 1 кГц – 5 дней, с частотой 0,5 кГц – 6 дней от начала применения. Отмена фуросемида сопровождалась восстановлением величины указанных биоэлектрических реакций до исходного уровня через 5 дней. Полученные данные свидетельствуют о возможности обратимого угнетающего действия фуросемида на ответы коры головного мозга и улитки, возникающие на звуковую стимуляцию. Все изученные антибиотики – аминогликозиды обладали способностью уменьшать величину тестирующего первичного ответа при парном электрическом раздражении волокон таламокортикальной радиации. Начальные изменения величины микрофонного потенциала и потенциала действия слухового нерва возникали через 12-24 кратного введения препаратов. В данном случае отмечали уменьшение указанных потенциалов на 20-25%. Отмена препаратов на этапе начальных изменений потенциалов, регистрируемых в улитке, не сопровождается их восстановлением в течение длительного (6 недель) периода после прекращения введения антибиотиков. Выводы. Обнаружена неодолимая скорость образования повреждений межнейронных передач при длительном применении разных антибиотиков.

Ключевые слова: антибиотики, диуретики, повреждения межнейронных передач, ототоксичность.

Введение

При тугоухости, обусловленной применением ототоксических препаратов, практически ни один из способов, даже при кохлеарной имплантации (КИ), лечение не дает эффекта. Ототоксические свойства отмечены у ряда лекарственных средств: антибиотиков группы стрептомицина, «петлевых» диуретиков, гормональных средств, салицилатов и др. [1, 2, 3]. Вместе с тем, в связи с этим возникает естественный вопрос о возможности предотвращения их нежелательного влияния на слуховой анализатор. Причина возникновения глухоты, связанной с использованием аминогликозидов, до сих пор остается окончательно невыясненной [4, 5, 6]. До настоящего времени остаются спорными вопросы локализации ототоксического действия антибиотиков. Изучение принципов развития ототоксического эффекта позволяет решить вопрос о применении лекарственных препаратов для профилактики ототоксических осложнений от длительной терапии антибиотиками и выбора тактики лечения при кохлеарной имплантации.

Цель исследования

Изучение характера изменения возбудимости слуховой зоны коры головного мозга при длительном применении антибиотиков, аминогликозидов, мочегонных средств и салицилатов.

Материал и методы исследования

Были поставлены следующие задачи: создать экспериментальную модель для изучения вопросов ототоксического действия лекарственных средств у животных в свободном поведении; изучить сравнительную чувствительность отдельных образований слухового анализатора к антибиотикам аминогликозидам, мочегонным средствам и салицилатам; оценить активность ототоксического действия аминогликозидов разных поколений.

Для исследования узловых звеньев патогенеза ототоксической острой нейросенсорной тугоухости и разработки патогенетически обоснованного метода профилактики названной патологии были проведены экспериментальные исследования на 117 кошках. Исследовали первичные ответы (ПО) слуховой зоны коры головного мозга кошек, полученные как на одиночное, так и на парное раздражение волокон таламокортикальной радиации (ТКР), наносимое с различными межстимульными интервалами (цикл восстановления ПО). Использование циклов восстановления ПО позволяет детально оценить состояние возбудимости синаптических структур, так как обработка афферентного сигнала последними связана с процессами, происходящими в более длительный период времени, чем

тот, в течение которого возникает единичный ПО. Кроме того, при раздражении ТКР доминирующую роль в генерации ПО играет, по-видимому, синаптический механизм возбуждения корковых нейронов.

Эксперименты проведены на кошках обоего пола массой 3-3,5 кг, в свободном поведении. После введения электродов в ТКР эксперименты начинали не ранее, чем через 6-8 дней после операции. На волокна ТКР наносили прямоугольные пороговые (1,5-3в) и надпороговые (5-7в) электрические импульсы длительностью 0,1 мс, используя при этом одиночное и парное (межстимульные интервалы 20-500мс) раздражения волокон ТКР. В качестве источника раздражающих импульсов применяли многоканальный стимулятор «SEN-3201» фирмы «Nikon-Kohden» (Япония). Для каждого межстимульного интервала осуществляли по 10 повторений. ПО регистрировали с помощью усреднителя «Average Det-1100» фирмы «Nikon-Kohden» (Япония). Для построения графика цикла восстановления первичных ответов вычисляли амплитуду (тестирующего) второго ответа в процентах к амплитуде первичного (кондиционирующего) ответа, которую принимали за 100%. Полученный визуальный контроль осуществляли с экрана осциллографа «Disa-Indicator» (Дания). Для изучения электрофизиологических изменений периферического отдела слухового анализатора основное внимание уделялось изменению микрофонного потенциала (МП), который обусловлен функционированием волосковых клеток улитки, а также изменения функции первого нейрона слухового анализатора – потенциал действия (ПД) слухового нерва, состоящий из двух компонентов – N1 и N2 возникающий в волокнах слухового нерва в области модиолуса (Devis J., 1957).

В качестве звукового раздражителя использовали тональные посылки на частотах 250, 500, 1000, 4000, 8000 и 10000 Гц, а также короткие звуковые сигналы (щелчки) длительностью 0,25мс, источником которых служил генератор прямоугольных импульсов. Максимальный уровень значения интенсивности достигал 110 дБ. Звуковые сигналы подавались через специальные высокочастотные телефоны (или динамиками) типа ГД-4, которые находились в свободном состоянии, на расстоянии 10 см от ушной раковины исследуемого уха. Исследования проводили в электроэкранизированной и звукозаглушенной камере.

Все исследованные препараты – фуросемид, стрептомицин, гентамицин, канамицин, мономицин, тобрамицин и амикацин (кроме кислоты ацетилсалициловой, которую вводили во внутрибрюшинное пространство) вводили кошкам внутримышечно 2 раза в день с интервалом в 10-12 часов. Биоэлектрические реакции коры мозга и улитки регистрировали ежедневно через 2-3 часа после очередного введения препаратов. Стрептомицин, канамицин и мономицин

применяли в дозе 40 мг/кг, вызывающей угнетение микрофонного ответа улитки (МОУ) и ПД слухового нерва только при длительном применении. Гентамицин, тобрамицин и амикацин вводили в меньшей (15 мг/кг) дозе.

Содержание животных и эксперименты проводились согласно правил Европейской Конвенции относительно защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных исследованиях и с другой научной целью [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 s.].

Результаты исследования и их обсуждение

Начальные изменения ПО коры головного мозга (КГМ), обусловленные звуковой стимуляцией, ацетилсалициловая кислота, вызывали через 6 дней от начала применения. По мере удлинения сроков введения препарата угнетающий эффект в отношении первичных ответов нарастал. Спустя 10 дней от начала использования кислоты ацетилсалициловой величина ПО снижалась на 40-65%. прекращение введения указанного препарата сопровождалось практически полным восстановлением величины ПО через 5-6 дней. Кислота ацетилсалициловая не изменяла величину ни тестирующего, ни кондиционирующего первичных ответов на электрическое раздражение волокон таламотортикальной радиации (ТКР). Начальные изменения величины микрофонного потенциала (МП) и потенциала действия (ПД) слухового нерва отмечались на 5-6 день применения кислоты ацетилсалициловой. Угнетающее влияние препарата к этому сроку особенно четко выявлялось в отношении величины тестирующего ПД слухового нерва при парном звуковом (щелчки) раздражении. По мере удлинения срока использования препарата изменения биоэлектрической реакции улитки нарастали. Величина Т50 для ПД слухового нерва, вызванного звуковым раздражением с частотой 10 кГц, составляла 8 дней, 1 кГц – 9 дней. Отмена кислоты ацетилсалициловой на этом этапе исследований сопровождалась восстановлением до исходного уровня всех изученных биоэлектрических реакций улитки через 5-6 дней.

Таким образом, приведенные результаты свидетельствуют о том, что длительное назначение изученного ненаркотического анальгетика сопровождается изменениями ответов улитки и слуховой зоны коры на звуковое раздражение. Весьма важным является обратимость угнетающего действия препарата на указанные биоэлектрические реакции. Первичные ответы коры головного мозга, обусловленные электрическим раздражением волокон ТКР, демонстрировали высокую устойчивость к кислоте ацетилсалициловой.

Начальные изменения первичных ответов в

первой слуховой зоне коры головного мозга регистрировали через 4 дня после начала введения фуросемида. По мере увеличения продолжительности применения указанного диуретика отмечали усиление угнетающего эффекта в отношении первичных ответов. Величина T50 для первичных ответов, вызванных звуковой стимуляцией с частотой 10 кГц, составляла 8 дней, а в случае звуковой стимуляции с частотой 2 кГц – 9 дней. ПО, возникающие на звуковые стимулы, наносимые с частотой 0,5 кГц, проявляли большую устойчивость к фуросемиду, чем ответы на звуковую стимуляцию с частотой 10 кГц и 1 кГц. Обнаружено, что спустя 5-6 дней после отмены изученного диуретика реакция КГМ на звуковые стимулы восстанавливалась до исходного уровня. Фуросемид при 10 дневном применении вызвал минимальные изменения тестирующего первичного ответа при парном электрическом раздражении волокон таламокортикальной радиации и практически не изменял величину первичных ответов на кондиционирующие электрические стимулы. При сравнительном анализе чувствительности биоэлектрических реакции улитки к фуросемиду оказалось, что раньше других уменьшается амплитуда волны N I потенциала действия слухового нерва на тестирующее звуковое (щелчки) раздражение (T50 – 3 дня). Фуросемид снижал на 50% величину микрофонного потенциала, регистрируемого при звуковой стимуляции с частотой 10 кГц через 4 дня, с частотой 1 кГц – 5 дней, с частотой 0,5 кГц – 6 дней от начала применения. Наибольшей чувствительностью к фуросемиду обладали ПД слухового нерва, возникающие при звуковой стимуляции с частотой 10 кГц (T50 – 5 дней), меньшей – с частотой 0,5 кГц (T50 – 7 дней). Отмена фуросемида сопровождалась восстановлением величины указанных биоэлектрических реакций до исходного уровня через 5 дней. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности обратимого угнетающего действия фуросемида на ответы КГМ и улитки, возникающие на звуковую стимуляцию.

Все изученные антибиотики – аминогликозиды обладали способностью уменьшать величину тестирующего первичного ответа при парном электрическом раздражении волокон ТКР. Указанные изменения начали наблюдать на 2-3 день от начала применения антибиотиков. Важно отметить, что угнетение циклов восстановления ПО не сопровождалось на первом этапе уменьшением величины ответов на одиночное раздражение волокон ТКР и звуковую стимуляцию. Более продолжительное применение препаратов приводило к нарастанию изменений тестирующих первичных ответов, а также уменьшению величины первичных ответов на одиночную электрическую стимуляцию волокон ТКР и звуковое раздражение. Обращает на себя внимание особенность изученных средств изменять первичные ответы на высокочастотное (10кГц)

звуковое раздражение в большей степени, чем на низкочастотные (0,5 кГц) стимулы.

По способности изменять биоэлектрические реакции, регистрируемые в коре головного мозга, исследованные препараты могут быть разделены на две группы. Первая из них включает в себя гентамицин и стрептомицин, вторая – мономицин, тобрамицин и амикацин. Канамицин занимает промежуточное положение среди препаратов этих групп. Интересно отметить, что отмена препаратов при начальном изменении тестирующего первичного ответа приводит к восстановлению последнего через 7-10 дней после прекращения введения антибиотиков.

Начальные изменения величины МП и ПД слухового нерва возникали через 12-24 кратного введения препаратов. В данном случае отмечали уменьшение указанных потенциалов на 20-25%. Дальнейшее применение антибиотиков приводило к нарастанию изменений ответов, регистрируемых в улитке, причем наибольшей чувствительностью к действию препаратов обладали реакции на высокочастотные звуковые раздражения.

При анализе способности исследованных средств нарушать деятельность периферического фрагмента слухового анализатора обнаружена закономерность, сходная с таковой для коры головного мозга. Наибольшей эффективностью обладают гентамицин и стрептомицин, значительно уступают по эффективности мономицин, томромицин и амикацин, а канамицин занимает промежуточное положение среди препаратов этих двух групп. Отмена препаратов на этапе начальных изменений потенциалов, регистрируемых в улитке, не сопровождается их восстановлением в течение длительного (6 недель) периода после прекращения введения антибиотиков.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что разные фрагменты слухового анализатора обладают неодинаковой чувствительностью и действию антибиотиков-аминогликозидов разных поколений. Наибольшая чувствительность к указанным препаратам отмечена для биоэлектрических реакции, формирующихся, в основном, на уровне коры головного мозга, меньшая чувствительность характерна для биоэлектрических процессов, в возникновении которых принимают участие как центральный, так и периферический фрагменты слухового нерва, которые обладают наибольшей устойчивостью к действию антибиотиков-аминогликозидов. Кроме того, для исследованных препаратов характерна неодинаковая токсичность в отношении органа слуха.

Таким образом, полученные результаты позволяют считать, что ототоксические препараты, относящиеся к разным группам лекарственных средств, обладают неодинаковым влиянием на орган слуха. Кислота ацетилсалициловая и фу-

росемид при длительном применении вызывают, в основном, нарушения биоэлектрических реакций улитки и коры головного мозга, возникающие на звуковую стимуляцию, причем, указанный эффект имеет обратимый характер. Первичные ответы, возникающие на электрическое раздражение волокон ТКР (биоэлектрические реакции, происхождение которых определяется деятельностью коры головного мозга), обладают высокой устойчивостью к указанным препаратам. Вместе с тем, антибиотики-аминогликозиды, прежде всего, угнетают реакцию коры на электрическое раздражение волокон ТКР, затем – на звуковую стимуляцию и, в последнюю очередь, ослабляют ответы улитки на звуковое раздражение. В случае отмены антибиотиков на этапе начальных изменений тестирующего ПО коры головного мозга при парном электрическом раздражении волокон ТКР приводит к восстановлению указанного ответа. Однако прекращение применения антибиотиков на этапе изменений микрофонного потенциала и потенциала действия слухового нерва не сопровождается их восстановлением. Кроме того, изученные антибиотики обладают неодинаковой токсичностью в отношении слухового анализатора.

Выводы и перспективы дальнейших исследований

Обнаружена неодинаковая скорость образования повреждений межнейронных передач при длительном применении разных антибиотиков. В связи с тем, что антибиотики-аминогликозиды обладают необратимым токсическим влиянием на деятельность слухового анализатора, представляет интерес выяснение возможности предотвращения указанного эффекта препаратов, что и является перспективным дальнейшим исследованием.

Литература

1. Rubak LP. Drug ototoxicity. *Onn Rev Pharmacol Toxicol*. 1989; 26: 79-99.
2. Pavljushina EM, Morozova SV. Diagnostika i lechenie ototoksicheskikh kohleovestibuljarnyh rasstrojstv [Diagnosis and treatment of ototoxic cochleovestibular disorders]. *RMZh*. 2014; 9: 670. [Russian]
3. Fisenko VP, Konstantinova NP, Gusejnov NM. Elektrofiziologicheskoe issledovanie ototoksicheskogo dejstviya lekarstvennyh sredstv [Electrophysiological study of the ototoxic effect of drugs]. *Simpozium «Sovremennye problemy fiziologii i patologii organov sluha»*. M; 1993. P. 77-8. [Russian]
4. Gusejnov NM, Fisenko VP. Vlijanie ototoksicheskikh antibiotikov na mezhejronnuju peredachu v sluhovoj zone kory golovnogogo mozga [The effect of ototoxic antibiotics on interneuronal transmission in the auditory area of the cerebral cortex]. *Az med zhurn*. 1990; 1: 8-10. [Russian]
5. Mizin VV, Lyashenko VP, Lukashov SM. The bioelectric type of the visual area of the cerebral cortex of rats of all ages and sexes. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018; 9(4): 514–21. doi: 10.15421/021877
6. Berrocal JR, Ramirez-Camacho R. Sudden sensorineural hearing loss, supporting the immunologic theory. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 2002; 111(11): 989-97.

Реферат

ВПЛИВ ОТОТОКСИЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА БІОЕЛЕКТРИЧНІ РЕАКЦІЇ
У КОРІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА РАВЛИКУ

Гусейнов Н.М., Фисенко В.Р., Асланов П.Р.

Ключові слова: антибіотики, діуретики, пошкодження міжнейронних передач, ототоксичність.

Експерименти проведені на кішках обох статей масою 3-3,5 кг, у вільній поведінці. На волокна таламокортикальної радіації наносили прямокутні порогові (1,5-3в) і надпорогові (5-7в) електричні імпульси тривалістю 0,1 мс, використовуючи при цьому одиночне і парне (межстимульні інтервали 20-500мс) роздратування волокон таламокортикальної радіації. Всі досліджені препарати - фуросемід, стрептоміцин, гентаміцин, канаміцин, мономіцин, тобраміцин і амікацин (крім кислоти ацетилсаліцилової, яку вводили внутрішньочеревинно) вводили кішкам внутрішньом'язово 2 рази на день з інтервалом в 10-12 годин. Біоелектричні реакції кори мозку і равлика реєстрували щодня через 2-3 години після чергового введення препаратів. Фуросемід знижував на 50% величину мікрофонного потенціалу, реєстрованого при звуковій стимуляції з частотою 10 кГц через 4 дня, з частотою 1 кГц - 5 днів, з частотою 0,5 кГц - 6 днів від початку застосування. Відміна фуросеміду супроводжувалася відновленням величини зазначених біоелектричних реакцій до вихідного рівня через 5 днів. Отримані дані свідчать про можливість оборотної гнітючої дії фуросеміду на відповіді кори головного мозку і равлика, що виникають на звукову стимуляцію. Всі вивчені антибіотики - аміноглікозиди мали здатність зменшувати величину тестуючої первинної відповіді при парному електричному подразненні волокон таламокортикальної радіації. Початкові зміни величини мікрофонного потенціалу і потенціалу дії слухового нерва виникали через 12-24 кратного введення препаратів. В даному випадку відзначали зменшення зазначених потенціалів на 20-25%. Відміна препаратів на етапі початкових змін потенціалів, що реєструються в равлику, не супроводжується їх відновленням протягом тривалого (6 тижнів) періоду після припинення введення антибіотиків. Висновки. Виявлена неоднакова швидкість утворення ушкоджень міжнейронних передач при тривалому застосуванні різних антибіотиків.

Summary

INFLUENCE OF OTOTOXIC PHARMACEUTICALS ON BIOELECTRIC RESPONSES IN CEREBRAL CORTEX AND COCHLEA

Huseynov N. M., Fisenko V. R., Aslanov P. R.

Key words: antibiotics, diuretics, damage to interneuronal transmissions, ototoxicity.

The article describes the results of the experiment aimed to find out the nature of changes in the excitability of the auditory cortex during prolonged taking of antibiotics, aminoglycosides, diuretics and salicylates. Methodology. The series of experiments was carried out on cats of both sexes weighing 3-3.5 kg, in natural behaviour. Rectangular threshold (1.5-3 V) and supra-threshold (5-7 V) electrical impulses lasting 0.1 ms were applied to the TCR fibres, using single and paired (interstimular intervals of 20-500ms) stimulation of the TCR fibres. As a source of irritating impulses, a multi-channel stimulator "SEN-3201" of the company "Nikon-Kohden" (Japan) was used. For each skeletal interval was carried out on 10 repetitions. The SOFTWARE was registered using the average Det-1100 average from Nikon-Kohden (Japan). The resulting visual control was performed from the screen of the "Disa-Indicator" oscilloscope (Denmark). The maximum level of the intensity value reached 110 dB. Sound signals were transmitted through special high-frequency phones (or speakers) of the GD-4 type, which were in a free state, at a distance of 10 cm from the ear of the test ear. All the studied pharmaceuticals (furosemide, streptomycin, gentamicin, kanamycin, monomycin, tobramycin and amikacin) except acetylsalicylic acid, which was injected intraperitoneally, were administered to cats intramuscularly 2 times a day at intervals of 10-12 hours. Bioelectric reactions of the cortex and cochlea were recorded daily 2-3 hours after the next administration of drugs. Streptomycin, kanamycin and monomycin were used at a dose of 40 mg / kg, which causes inhibition of the cochlea's MIC response (MOI) and auditory nerve PD only with long-term use. Gentamicin, tobramycin and amikacin were administered in a lower (15 mg/kg) dose. Results. Furosemide reduced by 50% the value of the microphone potential recorded during sound stimulation with a frequency of 10 kHz after 4 days, with a frequency of 1 kHz-5 days, with a frequency of 0.5 kHz-6 days from the beginning of use. The most sensitive to furosemide were auditory nerve PD, which occurred during sound stimulation at a frequency of 10 kHz (T50 – 5 days), and less – at a frequency of 0.5 kHz (T50 – 7 days). The cancellation of furosemide was accompanied by the restoration of the value of these bioelectric reactions to the initial level in 5 days. Thus, the data obtained indicate the possibility of a reversible depressing effect of furosemide on the responses of the CGM and the cochlea that occur on sound stimulation. All the studied antibiotics-aminoglycosides had the ability to reduce the value of the testing primary response when paired electrical stimulation of TCR fibres. These changes were observed 2-3 days after the start of the use of antibiotics. Initial changes in the value of MP and PD of the auditory nerve occurred after 12-24 times of drug administration. In this case, a decrease in these potentials by 20-25% was noted. Further use of antibiotics led to an increase in changes in responses registered in the cochlea, with the greatest sensitivity to the effects of drugs were reactions to high-frequency sound stimuli. When analyzing the ability of the studied tools to disrupt the activity of the peripheral fragment of the auditory analyzer, a pattern similar to that for the cerebral cortex was found. Withdrawal of drugs at the stage of initial changes in potentials registered in the cochlea is not accompanied by their recovery for a long (6 weeks) period after stopping the administration of antibiotics. Conclusions. Different rates of formation of damage to interneuronal transmissions were found during long-term use of different antibiotics.