



УДК 616.284–002:616.281

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕНТРАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЕСТИБУЛЯРНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ СРЕДНЕМ ОТИТЕ

Л. Э. Макарина-Кибак

ГУ «Республиканский научно-практический центр оториноларингологии», Минск, Беларусь
(Директор – канд. мед. наук Л. Э. Макарина-Кибак)

EXPERIMENTAL STUDY OF VESTIBULAR DYSFUNCTION CENTRAL MECHANISMS IN PATIENTS WITH OTITIS MEDIA

L. E. Makaryna-Kibak

Republican Scientific and Practical Center of Otorhinolaryngology, Minsk, Belarus

В экспериментах на белых крысах ($n = 20$) моделировали средний отит ($n = 12$) путем введения под рауш-наркозом 5 мкг липополисахарида *Escherichia coli* в 50 мкл фосфатно-бикарбонатного буферного раствора через барабанную перепонку в полость правого среднего уха. Установлено снижение фоновой электрической активности нейронов, расположенных в каудальных отделах ствола головного мозга на стороне моделирования отита. В двух опытах у крыс с искусственно инициированным отитом в каудальных отделах ствола головного мозга справа не обнаружено вестибулярных нейронов, реагирующих на угловые ускорения. У животных со спонтанно развившимся отитом ($n = 3$) установлено ослабление фоновой электрической активности вестибулярных нейронов на стороне отита. У интактных крыс ($n = 5$) не выявлено различий фоновой электрической активности вестибулярных нейронов, расположенных с обеих сторон в каудальных отделах ствола головного мозга.

Ключевые слова: средний отит, вестибулярные нейроны, электрическая активность, тестовые стимулы.

Библиография: 15 источников.

In the conducted research the authors modeled otitis media ($n = 12$) by injecting 5 mkg of lipopolysaccharide *Escherichia coli* in 50 mcl of phosphate bicarbonate buffered solution to white rats ($n = 20$) by Rausch anaesthesia through tympanum into right middle ear. The authors estimated decreasing of background electrical radiation of neurons, located in cerebral trunk on the otitis site. In two experiments the rats with modelled otitis in right middle ear had no detection of vestibular neurons, reacting to angular acceleration. The animals with idiopathic otitis ($n = 5$) detected weakening of background electrical radiation of vestibular neurons on the otitis side. Intacts animals ($n = 5$) had no detection of differences of background electrical radiation of vestibular neurons, located on both sides of cerebral trunk.

Key words: otitis media, vestibular neurons, electrical activity, test stimuli.

Bibliography: 15 sources.

Широкая распространенность острого и хронического среднего отита у лиц разных возрастных групп как в Республике Беларусь [2], так и в других странах мира [3–5, 13] свидетельствует о недостаточной фундаментальной и клинической разработке этой актуальной проблемы. В тематических статьях по данному вопросу одни специалисты акцентируют внимание на бактериальной природе данного заболевания [4], другие на генетических предпосылках и рисках развития этой патологии [5]. Затрагивается немаловажная проблема социальной значимости последствий хронического гнойного среднего отита, что проявляется в нарушении трудоспособности лиц разного возраста [2, 4]. Проблема среднего отита многофакторная и полиэтиологичная, поскольку включает вопросы структурно-функционального состояния области не только среднего уха, но и слуховой трубы, внутреннего уха, полости носа и носоглотки, височной кости, VIII и IX пар череп-

но-мозговых нервов, мозговых оболочек и каудальных отделов ствола головного мозга. В связи с этим недостаточно эффективное лечение данного заболевания сопровождается развитием в последующем множества симптомов, связанных с деструктивными и (или) дисфункциональными изменениями как в среднем ухе, так и в вышеназванных областях головы и шеи [3, 7, 8, 14]. Одним из наименее изученных вопросов в проблеме побочных эффектов среднего отита являются центральные механизмы возникновения вестибулярной дисфункции при данной патологии [3, 7, 14].

Цель исследования. Уточнить закономерности в изменении электрической активности популяций нейронов, расположенных в вестибулярных ядрах каудальных отделов ствола головного мозга, в ответ на тестовые угловые ускорения при формировании одностороннего среднего отита у экспериментальных животных.



Материалы и методы исследования. Острые эксперименты проведены на наркотизированных внутрибрюшинно (30 мг/кг нембутала и 500 мг/кг уретана) белых крысах-самцах массой 250–350 г ($n = 20$). Животных предварительно распределили на три группы. Контрольная группа ($n = 5$) – без видимых нарушений в поведении. Крысы со «спонтанным» отитом естественного происхождения ($n = 3$) совершали круговые движения, у них отмечены асимметричный гипертонус мышц шеи и туловища и изменения в области барабанной перепонки. В третьей группе животных предварительно моделировали средний отит ($n = 12$) путем введения под рауш-наркозом 5 мкг липополисахарида *Escherichia coli* в 50 мкл фосфатно-бикарбонатного буферного раствора (рН 7,4) через барабанную перепонку справа в полость среднего уха.

В день проведения острого опыта после наступления наркоза голову наркотизированной крысы фиксировали в стереотаксическом аппарате СЭЖ-5, размещенном для устранения помех и наводок в экранированной камере. После разреза по средней линии кожи и подкожной клетчатки на своде черепа осуществляли гемостаз и располагали черепные ориентиры лямбда и брегма в одной горизонтальной плоскости.

Регистрацию внеклеточной электрической активности вестибулярных нейронов осуществляли с дорсальной поверхности черепа через трепанационные отверстия диаметром около 2 мм с левой и правой сторон в области 2,3–2,8 мм каудальнее лямбды, 2,2–2,8 мм латеральнее средней линии и 5,5–8,0 мм вентральнее поверхности черепа в соответствии с данными стереотаксического атласа [10]. Оценивали визуально функциональное состояние животного и затем с помощью микроманипулятора погружали в ткань мозга изолированный стеклом вольфрамовый микроэлектрод с диаметром кончика 3–5 мкм и длиной неизолированной части кончика 20 мкм, сопротивлением 1–2 МОм. Вестибулярные нейроны идентифицировали по их ответам на угловые ускорения при поворотах специальной платформы, на которой располагался стереотаксис с фик-

сированным животным, вокруг вертикальной оси. Голову животного фиксировали в стереотаксисе таким образом, чтобы ось вращения проходила по средней линии между кончиками ушных зажимов. Это обеспечивало минимальное расстояние от отолитового аппарата до центра вращения и минимальное возбуждение рецепторов, расположенных в *sacculus* и *utricle*.

Зарегистрированную внеклеточную активность нейронов в стволе головного мозга усиливали с помощью усилителя DAM-5A и обрабатывали с помощью аналитического устройства [1], который состоит из системы, позволяющей прецизионно устанавливать уровень дискриминации с помощью яркостной отметки на осциллографе, и формирователя стандартных импульсов. Целесообразность преобразования аналоговой нейронной активности в стандартные импульсы длительностью 5–20 мс диктовалась двумя основными причинами. Во-первых, это позволяет выделить активность одного наиболее высокоамплитудного нейрона из мультинейронной активности и, таким образом, оценить ответные реакции отдельной нервной клетки. Во-вторых, это разрешает преобразовать реальный нейронный спайк, длительность которого для вестибулярных нейронов составляет от 0,5–0,7 до 5–20 мс, т. е. различается в 10–40 раз, и соответственно снизить скорость оцифровки и размер файла. На рис. 1 в качестве демонстрации представлена нейрограмма с типичным спайком вестибулярного нейрона. В статье представлены нейрограммы после перевода оригинальной аналоговой информации в цифровую и затем после преобразований с использованием программного обеспечения INPUT-OUTPUT вновь в аналоговую форму, отражающую все особенности естественных электрических процессов.

Для регистрации электрокардиограммы (второе стандартное отведение ЭКГ) на лапы животного накладывали пластинчатые электроды из нержавеющей стали. Частоту и амплитуду дыхания оценивали по экскурсии грудной клетки с помощью инфракрасного датчика, размещенного в проекции грудины.

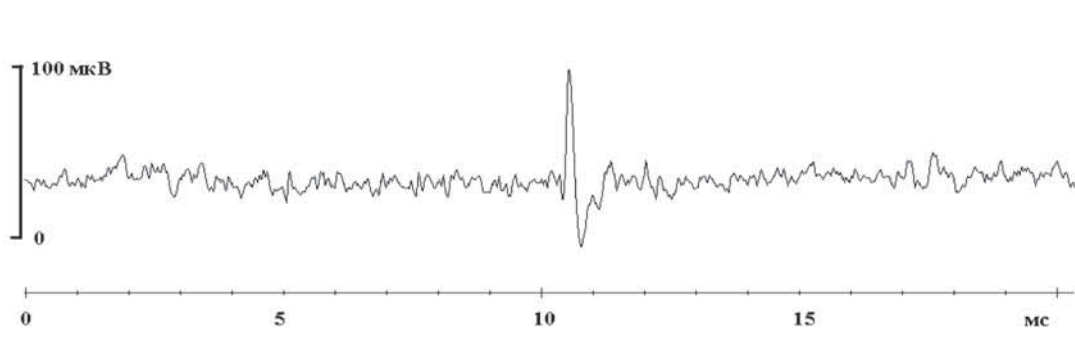


Рис. 1. Нейрограмма и спайк вестибулярного нейрона (между 10 и 11 мс).

Ректальную температуру поддерживали на физиологическом уровне (36,5–37,0 °С) с помощью электрической грелки с автоматическим сервоконтролем. Частоту сердечных сокращений (ЧСС) оценивали путем автоматизированного программного подсчета интервалов между зубцами R–R ЭКГ. Вариабельность сердечного ритма (BCP) рассчитывали как модуль разницы длительностей двух смежных кардиоинтервалов. Данные о ЧСС, экскурсии грудной клетки в момент вдоха и выдоха, электрической активности нейронов вводили в ЭВМ через 12-разрядный аналого-цифровой преобразователь, записывали и обрабатывали с помощью программы InputWin [1].

Статистическую обработку данных выполняли с использованием t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В процессе тестирования нейронов каудальных отделов ствола головного мозга на угловые ускорения обнаружены клетки типа I, реагирующие увеличением частоты разрядов при поворотах платформы с животным в ипсилатеральную сторону (от места расположения трепанационного отверстия и регистрирующего электрода) и типа II, отвечавших на идентичный тест, наоборот, угнетением электрической активности. Клетки, которые не изменяли электрической активности при угловых ускорениях, относили к типу II [6, 15]. На рис. 2 представлен фрагмент длительностью 1 с реальной записи трех процессов (ЭКГ, частоты дыхания, нейронограммы). Обращает на себя внимание характерная картина следования спайков, обусловленная горизонтальными угловыми ускорениями – поворотами платформы с животным.

На рис. 3 представлена преобразованная иллюстрация процессов, фрагмент которых отображен на рис. 2, после перевода аналоговых данных в цифровую форму и затем вновь в ана-

логовую, представленную в кумулятивном виде. Длительность фрагмента записи процессов на рис. 3 составляет 15 с.

На вторые и третьи сутки после введения липополисахарида кишечной палочки в среднее ухо у животных отмечено появление гнойных или гнойно-геморрагических выделений из слухового прохода на стороне введения липополисахарида. У одной крысы развились внутричерепные осложнения с соответствующей неврологической симптоматикой. У всех животных выявлены признаки лабиринтита разной степени выраженности в период с 4-го по 7-й день после инъекции липополисахарида в среднее ухо. Все острые опыты проводили через 7 дней после начала моделирования среднего отита. Крысы контрольной группы при визуальном осмотре выглядели функционально активными без признаков патологических изменений.

Достоверных сдвигов частоты дыхания и ЭКГ у наркотизированных крыс при проведении теста с горизонтальными угловыми ускорениями (вестибулярная стимуляция) не наблюдали. Однако в опытах с применением гальванизации лабиринтов такие изменения установлены (рис. 4). Предположено, что в момент проведения гальванизации возбуждаются рецепторы как полукружных каналов, так и преддверия (отолитовый аппарат), что усиливает поток афферентных сигналов к вестибулярным ядрам ствола головного мозга, от которых информация может достигать клеток дыхательного и сердечно-сосудистого центров, а также симпатических преганглионарных нейронов передних рогов спинного мозга [12].

В совокупности в острых опытах на крысах ($n = 20$) зарегистрированы сдвиги электрической активности 135 нейронов на вестибулярные тесты (угловые ускорения и (или) гальванизация). Принципиальным в каждом опыте было то, что электроды погружали через трепанационные

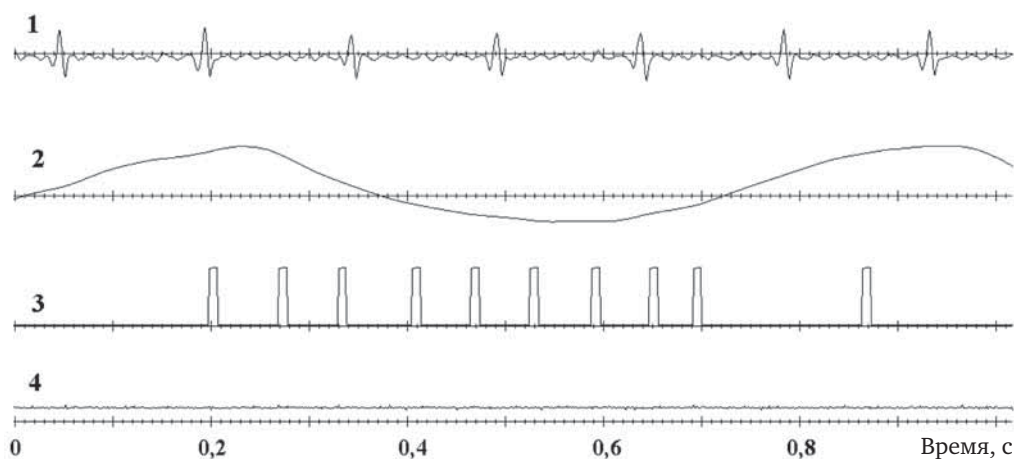


Рис. 2. Фрагмент реальной записи процессов:

1 – ЭКГ; 2 – экскурсия грудной клетки; 3 – стандартные импульсы, соответствующие спайкам вестибулярного нейрона; 4 – канал для отметок воздействий; в нижней части рисунка – шкала времени.

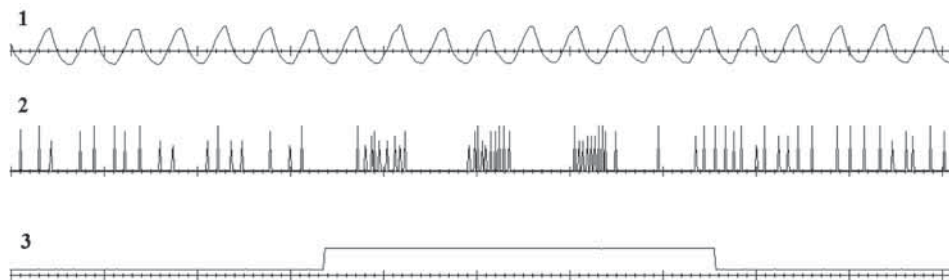


Рис. 3. Ответ вестибулярного нейрона на горизонтальные угловые ускорения: 1 – дыхательная экскурсия грудной клетки; 2 – спайки вестибулярного нейрона, преобразованные в прямоугольные импульсы; 3 – отметка вестибулярного теста – углового ускорения (повороты платформы).

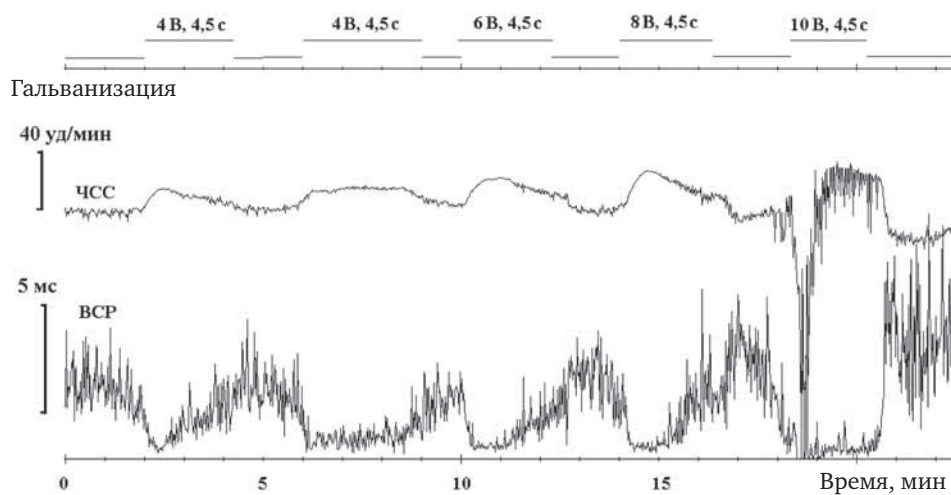


Рис. 4. Изменение числа сердечных сокращений (ЧСС) и вариабельности сердечного ритма (ВСП) при гальванизации лабиринтов с периодом 4,5 с и амплитудой 4, 6, 8 и 10 В.

отверстия не более одного раза (один трек). Такая особенность методики позволила регистрировать электрические процессы в популяциях нейронов, межклеточные контакты которых не были нарушены предыдущими треками. Все полученные данные об особенностях электрической активности клеток сопоставляли с контрольной группой животных ($n = 5$). В контроле количество зарегистрированных нейронов с фоновой электрической активностью с каждой стороны ствола головного мозга составляло в процессе прохождения одного трека 10–11 единиц. У крыс со «спонтанным» отитом ($n = 3$) число нервных клеток, электрическая активность которых зарегистрирована на пути электрода при прохождении трека, составляло на каждой стороне регистрации от 30 до 34 единиц, что свидетельствовало об активации популяций бульбарных нейронов при отите. У 10 животных с моделью одностороннего среднего отита (введение в среднее ухо липополисахарида) зарегистрирован асимметричный сдвиг числа спонтанно разряжающихся нейронов. На стороне экспериментального отита число спонтанно разряжающихся нейронов составило 15–19, а на противоположной стороне от места инъекции –

29–36. У 2 крыс через неделю после одностороннего введения в среднее ухо липополисахарида на стороне инъекции в стволе головного мозга обнаружены участки, в которых не удалось зарегистрировать электрическую активность нейронов. Итак, при одностороннем отите в стволе головного мозга нарушается фоновая электрическая активность популяций клеток, которые реагируют асимметрично и разнонаправленно на угловые ускорения. Средняя частота электрической активности вестибулярных нейронов у крыс контрольной группы составила $22,7 \pm 4,1$ имп./с. У животных со спонтанным отитом число разрядов вестибулярных клеток на стороне среднего отита равнялось $15,3 \pm 3,2$ имп./с, а на противоположной – $16,8 \pm 3,3$ имп./с, что свидетельствовало об угнетении электрической активности вестибулярных нейронов в стволе головного мозга. Более выраженное ослабление электрической активности вестибулярных нейронов на стороне моделирования среднего отита зафиксировано у крыс после инъекции липополисахарида в среднее ухо. В этом случае на стороне проявлений отита частота электрической активности вестибулярных нейронов снизилась до $14,1 \pm 2,9$ имп./с.

На противоположной стороне она составляла $19,5 \pm 3,3$ имп./с. Таким образом, в сравнении с контрольными животными выявляются асимметрия электрической активности в ипси- и контралатеральной стороне ствола головного мозга от локализации отита и уменьшение числа разрядов вестибулярных клеток в стволе головного мозга, наиболее выраженное на стороне проявления отита. Подобные асимметричные перестройки электрической активности нейронов в каудальных отделах ствола головного мозга рассматриваются специалистами как основа для нарушений контроля рефлексов положения и периодического срыва регуляции функций органов висцеральной и соматической сферы [9, 11].

Заключение. В острых опытах на наркотизированных крысах установлено снижение фоновой электрической активности популяций нейронов, расположенных в каудальных отделах ствола головного мозга, преимущественно, на стороне моделирования отита. Общее количество нейронов, протестированных на угловые ускорения, составило 135 единиц. В двух опытах у крыс с искусственно инициированным односторонним отитом в каудальных отделах ствола головного мозга не об-

наружено вестибулярных нейронов, реагирующих на угловые ускорения, что предполагает ослабление контроля статических рефлексов.

У животных со спонтанно развившимся отитом установлено падение фоновой электрической активности вестибулярных нейронов на стороне отита, особенно в сравнении с интактными крысами, у которых не выявлено различий фоновой электрической активности вестибулярных нейронов, расположенных с обеих сторон в каудальных отделах ствола головного мозга.

Предположено, что дизрегуляция активности вестибулярных нейронов в каудальных отделах ствола головного мозга после моделирования одностороннего среднего отита является основой для нарушений контроля рефлексов положения и связанного с этим срыва регуляции функций органов висцеральной и соматической сфер.

Автор выражает признательность ведущему научному сотруднику, канд. биол. наук О. А. Азеву и старшему научному сотруднику, канд. биол. наук О. Г. Тихонович за консультации методического характера при проведении данной работы, а также профессору В. А. Кульчицкому за участие в дискуссии по данной проблеме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азев О. А. Прибор для мониторинга текущей частоты разрядов отдельных нейронов // Физиол. журн. СССР. – 1991. – Т. 4, № 1. – С. 112–115.
2. Макарина-Кибак Л. Э., Колядич Ж. В., Таранова Н. М. Проблема хронического гнойного среднего отита в Республике Беларусь // Оториноларингология. Восточная Европа. – 2012. – № 2 (7). – С. 3–8.
3. Casselbrant M. L., Villardo R. J., Mandel E. M. Balance and otitis media with effusion // Int. Journ. Audiol. – 2008. – Vol. 47 (9). – P. 584–589.
4. Epidemiology of acute otitis media in children of Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis / A. Bardach [et al.] // Int. Journ. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 2011. – Vol. 75, N 9. – P. 1062–1070.
5. Genetic background and the risk of otitis media / L. Hafrién [et al.] // Int. Journ. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 2012. – Vol. 76, N 1. – P. 41–44.
6. Gernandt V. E. Response of mammalian vestibular neurones to horizontal rotation and caloric stimulation // Journ. Neurophysiol. – 1949. – Vol. 13. – P. 173–184.
7. Manzari L., Burgess A. M., Curthoys I. S. Does unilateral utricular dysfunction cause horizontal spontaneous nystagmus? // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2012. – Vol. 269, N 11. – P. 2441–2445.
8. Martin-Vaquero P., da Costa R. C., Daniels J. B. Presumptive meningoencephalitis secondary to extension of otitis media/interna caused by *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* in a cat // Journ. Feline Med. Surg. – 2011. – Vol. 13, N 8. – P. 606–609.
9. McCaslin D. L., Jacobson G. P., Gruenwald J. M. The predominant forms of vertigo in children and their associated findings on balance function testing // Otolaryngol. Clin. North. Am. – 2011. – Vol. 44, N 2. – P. 291–307.
10. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. San Diego, Academic Press, 1998. – 467 p.
11. Postnatal expression of TrkB receptor in rat vestibular nuclear neurons responsive to horizontal and vertical linear accelerations / Ma C. W. [et al.] // Journ. Comp. Neurol. – 2013. – Vol. 521, N 3. – P. 612–625.
12. Properties and axonal trajectories of posterior semicircular canal nerve-activated vestibulospinal neurons / K. Kushiro [et al.] // Exp. Brain Res. – 2008. – Vol. 191, N 3. – P. 257–264.
13. Results of air caloric and other vestibular tests in patients with chronic otitis media / I. S. Lee [et al.] // Clin. Exp. Otorhinolaryngol. – 2009. – Vol. 2, N 3. – P. 145–150.
14. Selective vestibular neurolabyrinthitis of the lateral and superior semicircular canal ampulla and ampullary nerves / Magliulo G. [et al.] // Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. – 2012. – Vol. 121, N 10. – P. 640–644.
15. Shimazu H., Precht W. Inhibition of central vestibular neurons from the contralateral labyrinth and its mediating pathway // Journ. Neurophysiol. – 1966. – Vol. 29, N 3. – P. 467–492.

Макарина-Кибак Людмила Эдуардовна – канд. мед. наук, директор Республиканского научно-практического центра оториноларингологии. Беларусь, 220004, Минск, ул. Сухая, 8; тел. 375-17-200-83-75, e-mail: rnpс@lor.by



Russian otorhinolaryngology [Rossijskaja otorinolarinologija]. 2014. N 6. P. 65–70.

L. E. Makaryna-Kibak. Jeksperimental'noe issledovanie central'nyh mehanizmov vestibuljarnoj disfunkcii pri srednem otite [Experimental study of vestibular dysfunction central mechanisms in patients with otitis media]

Makaryna-Kibak Ludmila E. – Candidate of Medicine, Director of Republican Scientific and Practical Center of Otorhinolaryngology, Belarus. 220004, Minsk, Sykhaya str., 8 phone: 375-17-200-83-75, e-mail: rnpc@lor.by

References

1. Azev O. A. Ppibop dlya monitopinga tekushhej chactoty pazpyadov ot del'nyh nejponov. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, 1991, T. 4, N 1, pp. 112–115.
2. MakarynaKibak L., Kaliadzich Zh. Taranova N. Problema hronicheskogo gnojnogo srednego otita v Respublike Belarus'. *Otorinolarinologiya Vostochnaya Evropa*, 2012, N 2 (07), pp. 3–8.
3. Casselbrant M. L., Villardo R. J., Mandel E. M. Balance and otitis media with effusion. *Int. J. Audiol.*, 2008, vol. 47, vol. 9, pp. 584–589.
4. Epidemiology of acute otitis media in children of Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis. A. Bardach [et al.]. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 2011, vol. 75, N 9, pp. 1062–1070.
5. Genetic background and the risk of otitis media. L. Hafrén [et al.]. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 2012, Vol. 76, N 1, pp. 41–44.
6. Gernandt B. E. Response of mammalian vestibular neurones to horizontal rotation and caloric stimulation. *J. Neurophysiol.*, 1949, vol. 13, pp.173–184.
7. Manzari L., Burgess A. M., Curthoys I. S. Does unilateral utricular dysfunction cause horizontal spontaneous nystagmus? *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2012, vol. 269, N 11, pp. 2441–2445.
8. Martin-Vaquero P., da Costa R. C., Daniels J. B. Presumptive meningoencephalitis secondary to extension of otitis media/interna caused by *Streptococcus equi* subspecies *zooeconomicus* in a cat. *J. Feline Med. Surg.*, 2011, vol. 13, N 8, P. 606–609.
9. McCaslin D. L., Jacobson G. P., Gruenwald J. M. The predominant forms of vertigo in children and their associated findings on balance function testing. *Otolaryngol. Clin. North. Am.*, 2011, vol. 44, N 2, pp. 291–307.
10. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego, Academic Press, 1998, 467 p.
11. Postnatal expression of TrkB receptor in rat vestibular nuclear neurons responsive to horizontal and vertical linear accelerations. Ma C.W. [et al.]. *J. Comp. Neurol.*, 2013, Vol. 521, N 3, P. 612–625.
12. Properties and axonal trajectories of posterior semicircular canal nerve-activated vestibulospinal neurons. K. Kushiro [et al.]. *Exp. Brain Res.*, 2008, Vol. 191, N 3, P. 257–264.
13. Results of air caloric and other vestibular tests in patients with chronic otitis media. I. S. Lee [et al.]. *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.*, 2009, Vol. 2, N 3, P. 145–150.
14. Selective vestibular neurolabyrinthitis of the lateral and superior semicircular canal ampulla and ampullary nerves. Magliulo G. [et al.]. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 2012, Vol. 121, N 10, P. 640–644.
15. Shimazu H., Precht W. Inhibition of central vestibular neurons from the contralateral labyrinth and its mediating pathway. *J. Neurophysiol.*, 1966, Vol. 29, N 3, P. 467–492.