



СЛУХОВЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ СТВОЛА МОЗГА МЫШИ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ШУМОВОЙ АКУСТИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Акимов А.Г., Егорова М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим параметром для оценки повреждающего действия шума на слуховую систему является суммарный слуховой вызванный потенциал (СВП), который регистрируется от поверхности головы экспериментального животного при действии звука [1; 2]. Потенциал представляет собой сложный электрический сигнал (Рис.1), компоненты которого отражают последовательное включение в обработку звука структур восходящего слухового пути, для каждой из которых типичен конкретный латентный период ответа. Это позволяет оценить вовлеченность в кодирование звукового сигнала различных центров слуха от его периферии до среднего мозга. В структуре СВП здорового животного (и человека) можно выделить как минимум пять пиков амплитуды. Выраженность первого пика отражает состояние периферического слухового аппарата, т.е. волосковых клеток улитки внутреннего уха. Второй пик соответствует активации стволовых ядер слухового нерва (т.е. комплекса кохлеарных ядер). Третий пик соответствует активности верхнеоливарного комплекса слуховых ядер. Четвертый пик проявляется при активации ядер латерального лемниска, и, наконец, пятый – слухового центра среднего мозга (задних холмов).

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование эффектов продолжительного воздействия белого шума на слуховые потенциалы ствола мозга домашней мыши для подбора параметров экспериментальной модели сенсоневральной тугоухости.

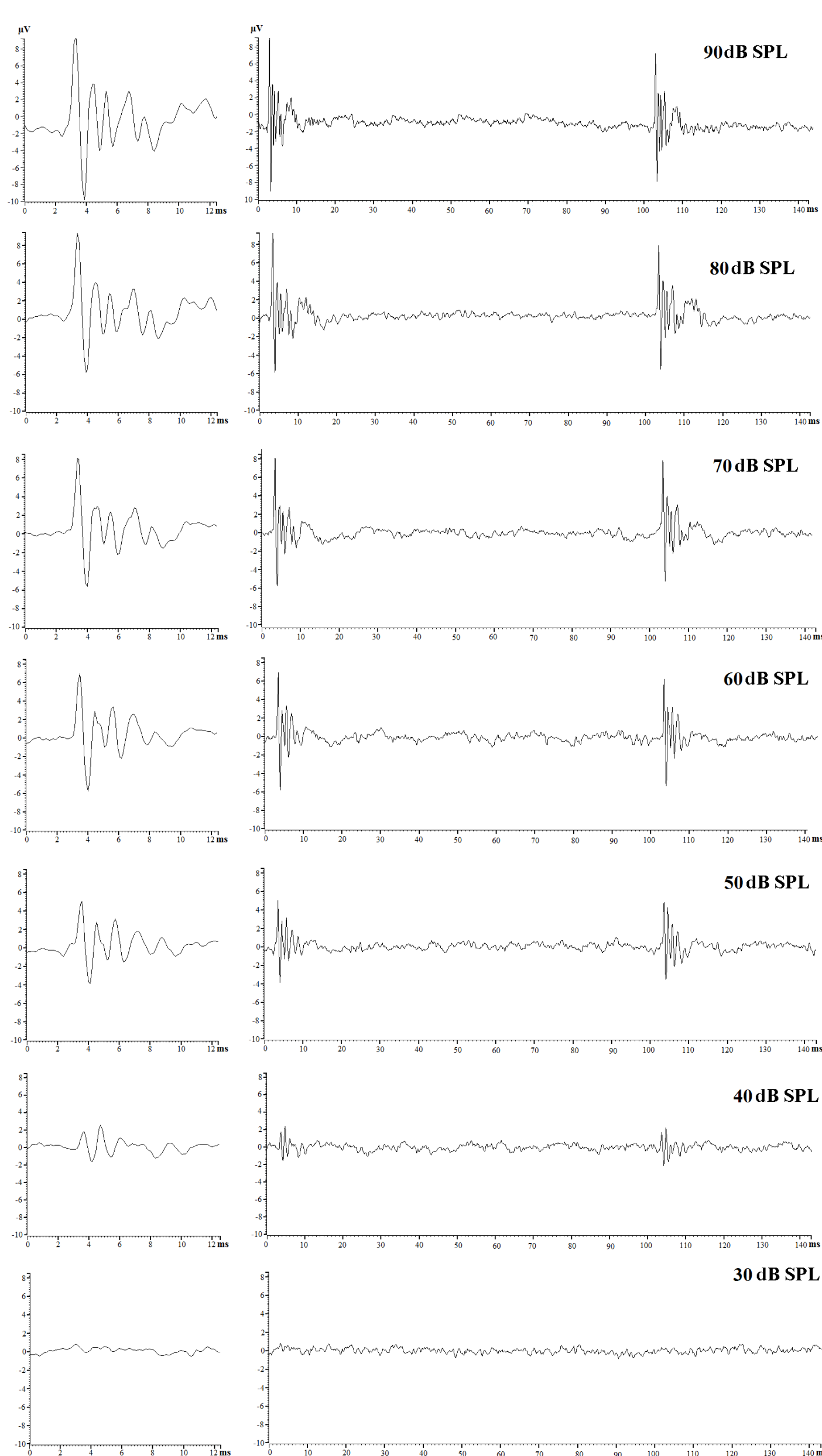


Рис. 2

Выводы

- Озвучивание мышей белым шумом уровнем 107 дБ УЗД в течение трех – шести часов приводит к повышению порогов СВП в среднем на 20 дБ. Амплитуда пиков СВП при этом уменьшается в 2 – 2.5 раза.
- Озвучивание мышей белым шумом уровнем 107 дБ УЗД в течение 14-ти часов вызывает существенную потерю слуха животных, вплоть до полной глухоты. Это свидетельствует об угнетении периферического рецепторного аппарата, а также об уменьшении количества одновременно возбужденных нейронов и, прежде всего, нейронов спирального ганглия.
- В течение двух часов после нанесения акустической травмы слух животного продолжает ухудшаться.
- Экспериментальная модель острой акустической травмы с установленными в данной работе параметрами повреждающего воздействия в сочетании с регистрацией СВП может быть использована при изучении различных нарушений слуха и тестировании потенциальных ототропекторов.

Методы

- Работа выполнена на домашних мышах (*Mus musculus*), самках гибридов F1 линий CBA и C57BL/6 в возрасте 4-12 недель весом не менее 17 г.
- Для оценки функционального состояния слуховой системы мыши сопоставляли амплитуды пиков СВП у интактных животных и после шумового воздействия. Регистрацию СВП проводили в условиях общей анестезии, поддерживаемой инъекциями смеси кетамина (кетавет, 35 мг/кг) и ксилазина (ромпун, 0.1 мг/кг) в ответ на парные звуковые щелчки в звукозаглушенной, анеоидной камере.
- Для генерации акустических щелчков была использована компьютерная система Sinutronic V1 (Albotronic, Германия). Прямоугольные импульсы длительностью 100 мс и частотой повторения 3 в секунду с выхода компьютерной системы поступали на аттенюатор и далее - на усилитель мощности (Амфитон 25У-002С) и динамический излучатель Fostex FT17Н. Звукоизлучение производилось в открытое пространство камеры на расстоянии 60 см от головы животного по средней линии.
- Регистрацию СВП производили подкожными серебряными электродами. Активный электрод закрепляли в коже головы животного в области вертекса, индифферентный – сразу за правым ухом. Клипсу заземления размещали на кончике хвоста. СВП регистрировали при помощи усилителя ДАМ-50Е WPI. Далее ответ отфильтровывали (200 Гц – 5 кГц), дополнительно усиливали в 10 раз при помощи фильтра Kemo VBF8 (UK) и выводили на интерфейс CED1401plus для дальнейшего введения данных в компьютер, суммирования вызванных потенциалов (процедура накопления, программа Spike 2.6.1) и их статистической обработки. Данные суммировали по 500 повторениям стимулов.
- Регистрацию СВП сначала производили у интактных животных. После этого проводили их озвучивание белым шумом [3; 4] уровнем 107 дБ УЗД и полосой частот 3 – 100000 Гц (шумовой генератор GRC Concord 1390-B, США) в течение 3-х – 14-ти часов. СВП вновь регистрировали непосредственно после действия шума, а также спустя 1 и 2 часа.

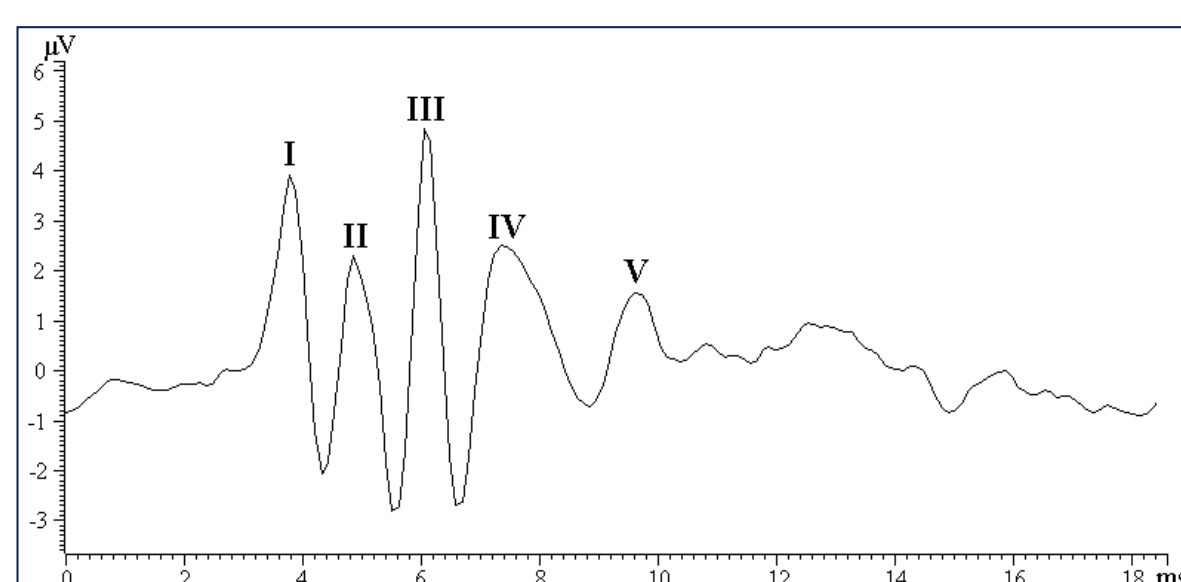


Рис. 1. Пример типичного СВП мыши. Римскими цифрами отмечены амплитудные пики. Абсцисса: время, мс, ордината: амплитуда, мкВ.

Рис. 2. Пример СВП, зарегистрированных при разных уровнях щелчка. Справа – СВП, вызванные парными щелчками, слева – первый щелчок из каждой пары изображен в большем масштабе.

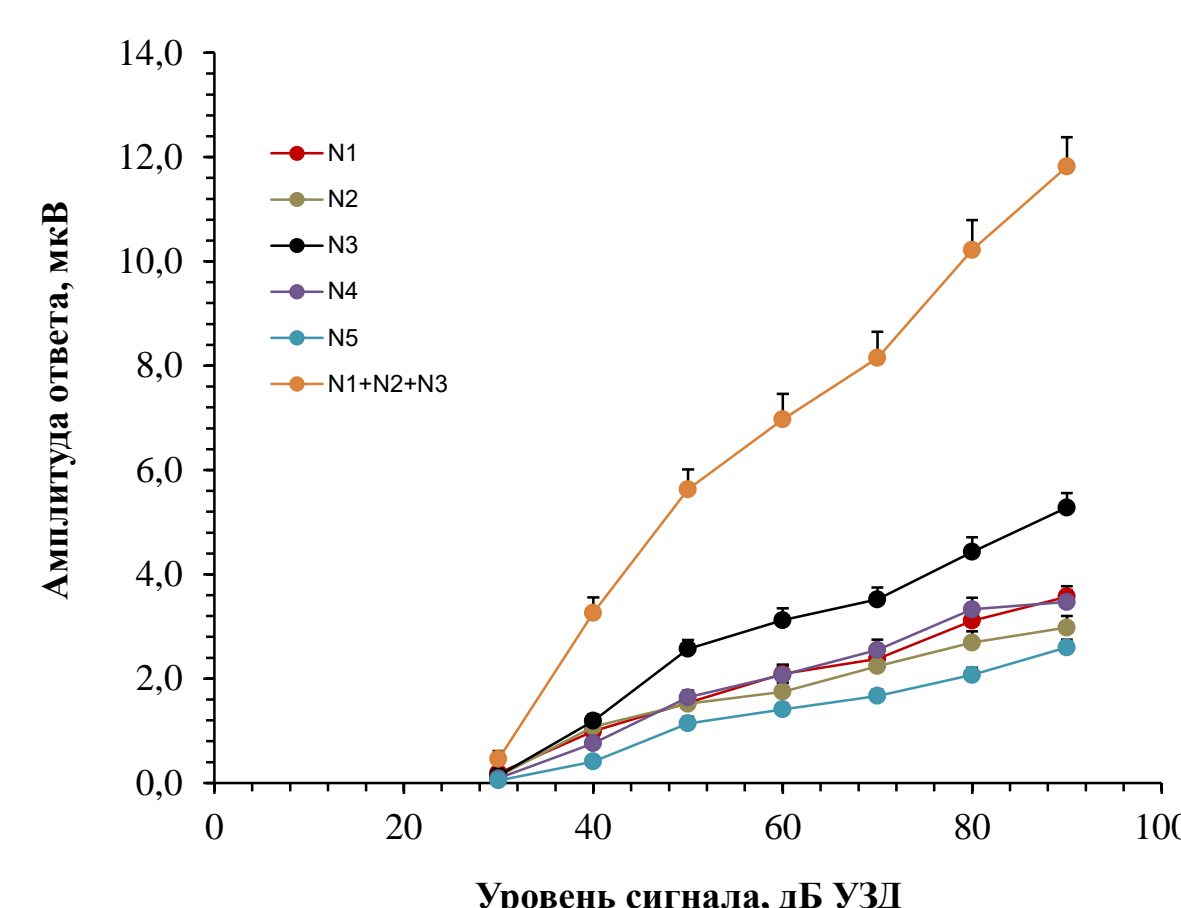


Рис. 3, а. Норма

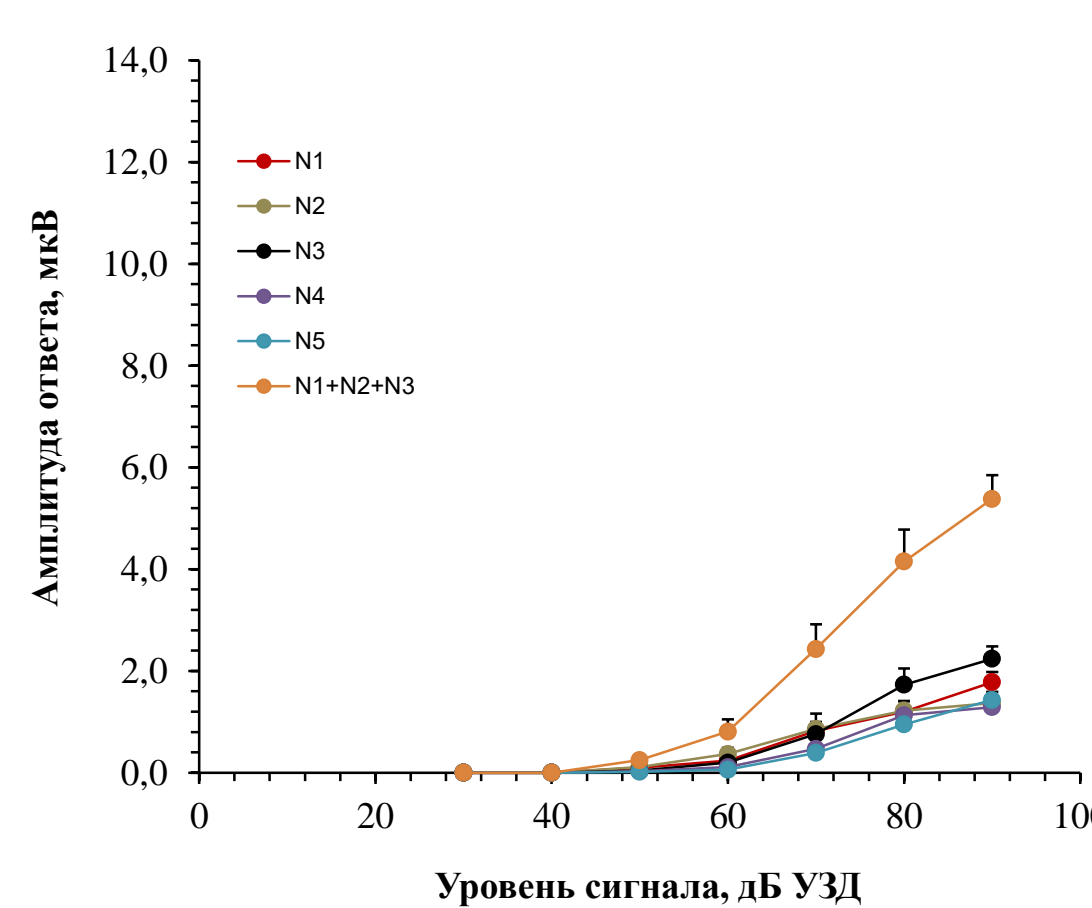


Рис. 3, б. 3 – 6 часов шума

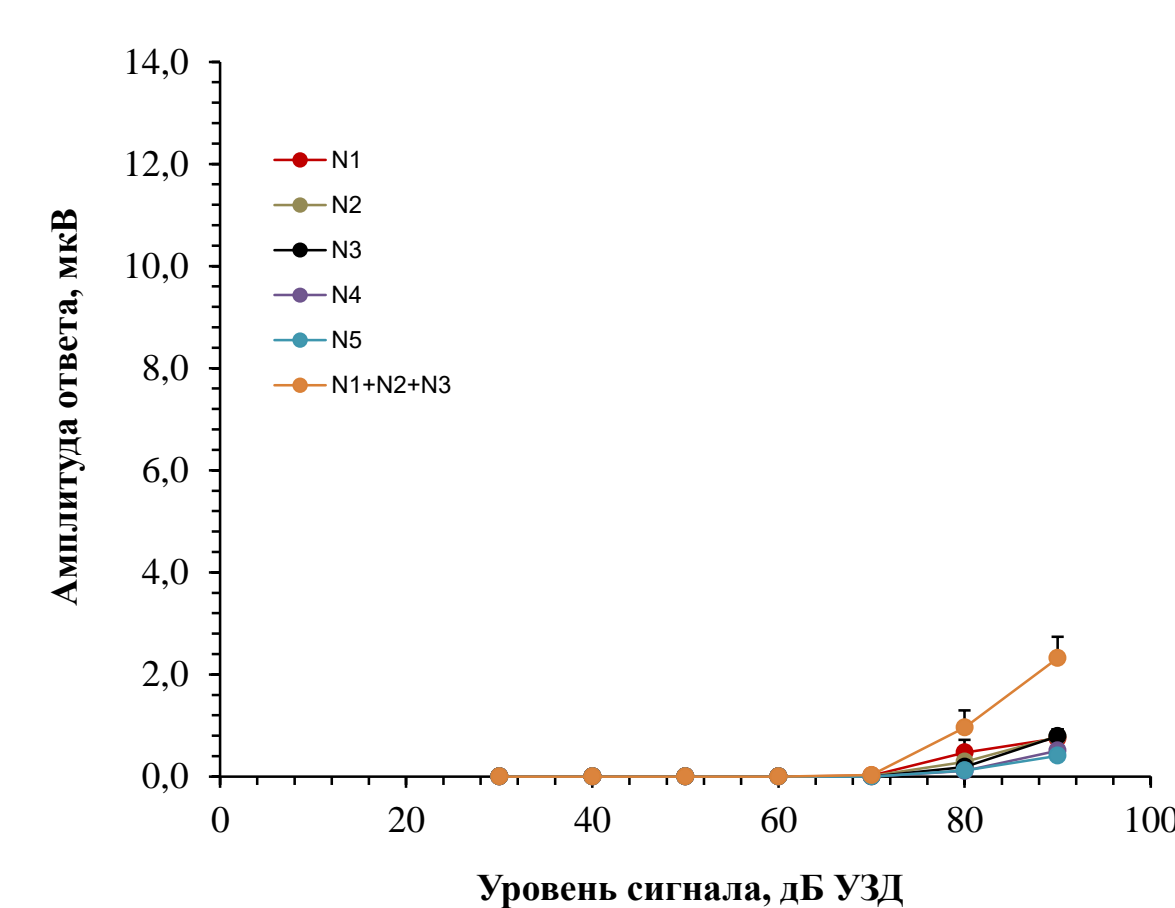


Рис. 3, в. 14 часов шума

Результаты

- При стимуляции здоровых животных парными звуковыми щелчками увеличение уровня звукового давления щелчков от 10 до 90 дБ УЗД приводило к появлению СВП и постепенному увеличению амплитуды их пяти пиков от десятых долей до единиц мкВ (Табл. 1). Стимуляция животного именно парными стимулами позволяла надежно идентифицировать ответ (рис. 2), особенно при околопороговых уровнях сигналов.
- Пороговый уровень сигнала составлял в среднем 44.7 ± 2.2 дБ УЗД ($x \pm SD$).
- Известно, что форма СВП, выражающаяся в различной проявленности пиков относительно друг друга, зависит от места расположения регистрирующих электродов [1]. Для элиминации этого фактора при оценке изменения потенциалов при шумовом воздействии вычисляли суммарный потенциал, представляющий собой сумму первого, второго и третьего пиков СВП, отражающих возбуждение рецепторов и периферических стволовых центров слуха (кохлеарных ядер и ядер верхне-оливарного комплекса). Полученные для здоровых мышей результаты представлены в табл.1.
- Озвучивание экспериментальных животных белым шумом в течение трех – шести часов приводило к повышению порогов СВП в среднем на 20 дБ (63.1 ± 11.6 ; $x \pm SD$). Амплитуда пиков СВП при этом уменьшалась более, чем в 2 раза и достоверно отличалась от соответствующих значений, полученных у здоровых мышей (тест Манна-Уитни, $p < 0.001$).
- Шумовое воздействие в течение 14-ти часов вызывало существенную потерю слуха мышей. Она проявлялась, в первую очередь, в повышении порогов СВП на 40 – 60 дБ вплоть до полной глухоты. Среднее значение порогов составляло 81.2 ± 7.1 дБ УЗД ($x \pm SD$). При одинаковых уровнях интенсивности щелчков наблюдали достоверное снижение амплитуды всех пяти пиков СВП, как по сравнению с СВП здоровых мышей, так и по сравнению с мышами, подвергавшимися шумовому воздействию в течение 3 – 6 часов (тест Манна-Уитни, $p < 0.001$, табл. 2). Амплитуда пиков СВП падала не менее, чем в 5 – 10 раз.
- После прекращения шумового воздействия пороги СВП продолжали увеличиваться. Через час они составляли в среднем 67.8 ± 12.6 дБ УЗД и 84.2 ± 3.8 дБ УЗД, а через два часа – 68.3 ± 16.3 и 89.2 ± 2.0 дБ УЗД при 3-х-6-ти часовом и при 14-ти часовом воздействии шумом соответственно ($x \pm SD$). В то же время, величина потенциала постепенно уменьшалась. Падение потенциала достигало 40% от величины, зарегистрированной сразу после действия шума.

Литература

1. Kurt S., Groszer M., Fisher S., Ehret G. // Brain Res. 2009. 1289. P. 30.
2. Scimemi P., Santarelli R., Selmo A., Mammano F. // Acta Otolaryngologica Italica. 2014. 34. P. 264.
3. Ou H.C., Bohne B.A., Harding G.W. // Hear. Res. 2000. 145. P. 111.
4. Fridberger A., Zheng J., Parthasarathi A., Ren T., Nuttall A. // J. Neurophysiol. 2002. 88 (5). P. 2341.

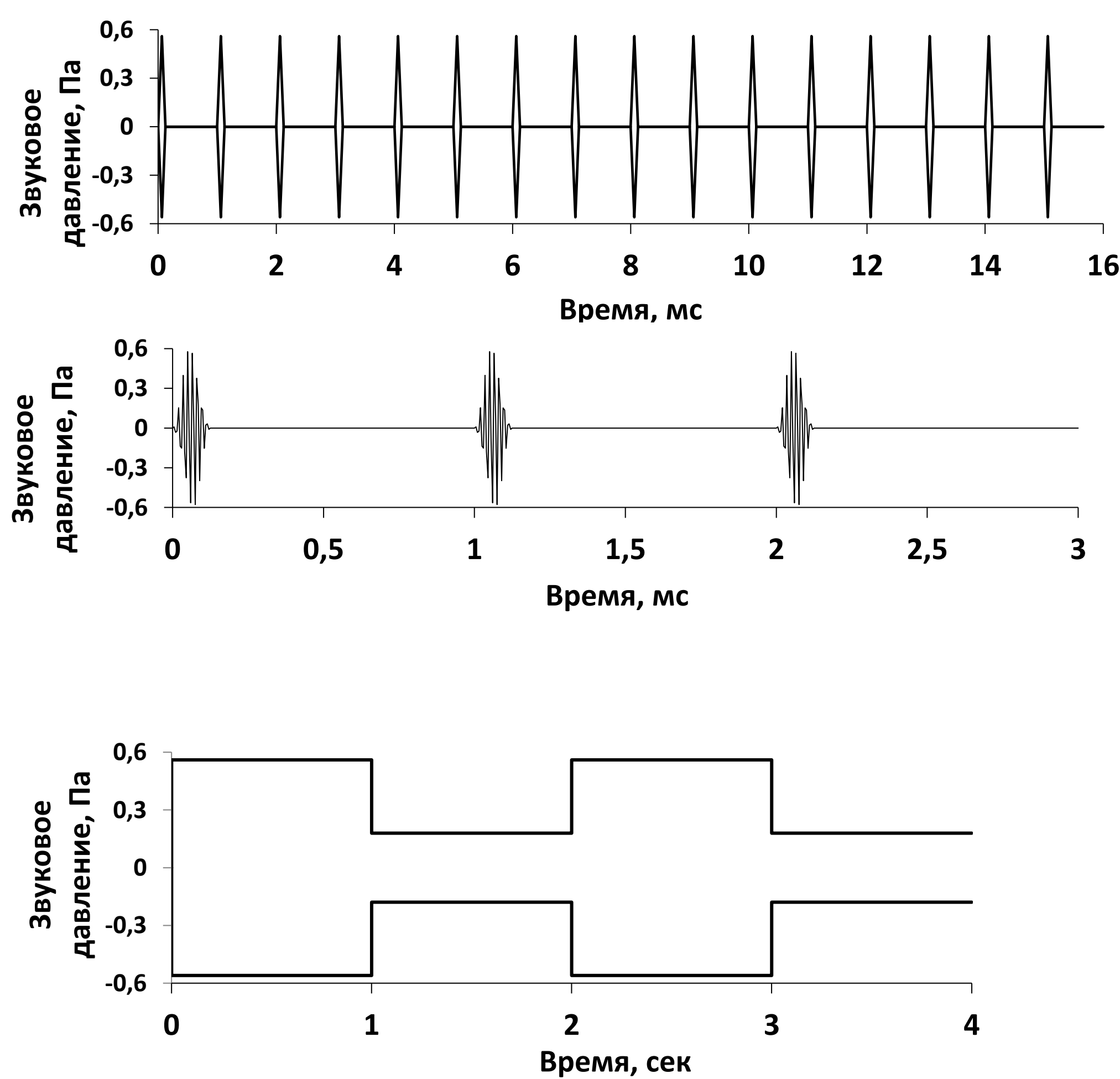
Процессы адаптации в периферических отделах слуховой системы зубатых китообразных.

Попов В.В., Нечаев Д.И., Сысуева Е.В., Супин А.Я.



Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва

Влияние длительного предъявления звукового сигнала (тональных посылок) на амплитуду потенциалов следования огибающей в слуховой системе белухи (*Delphinapterus leucas*)

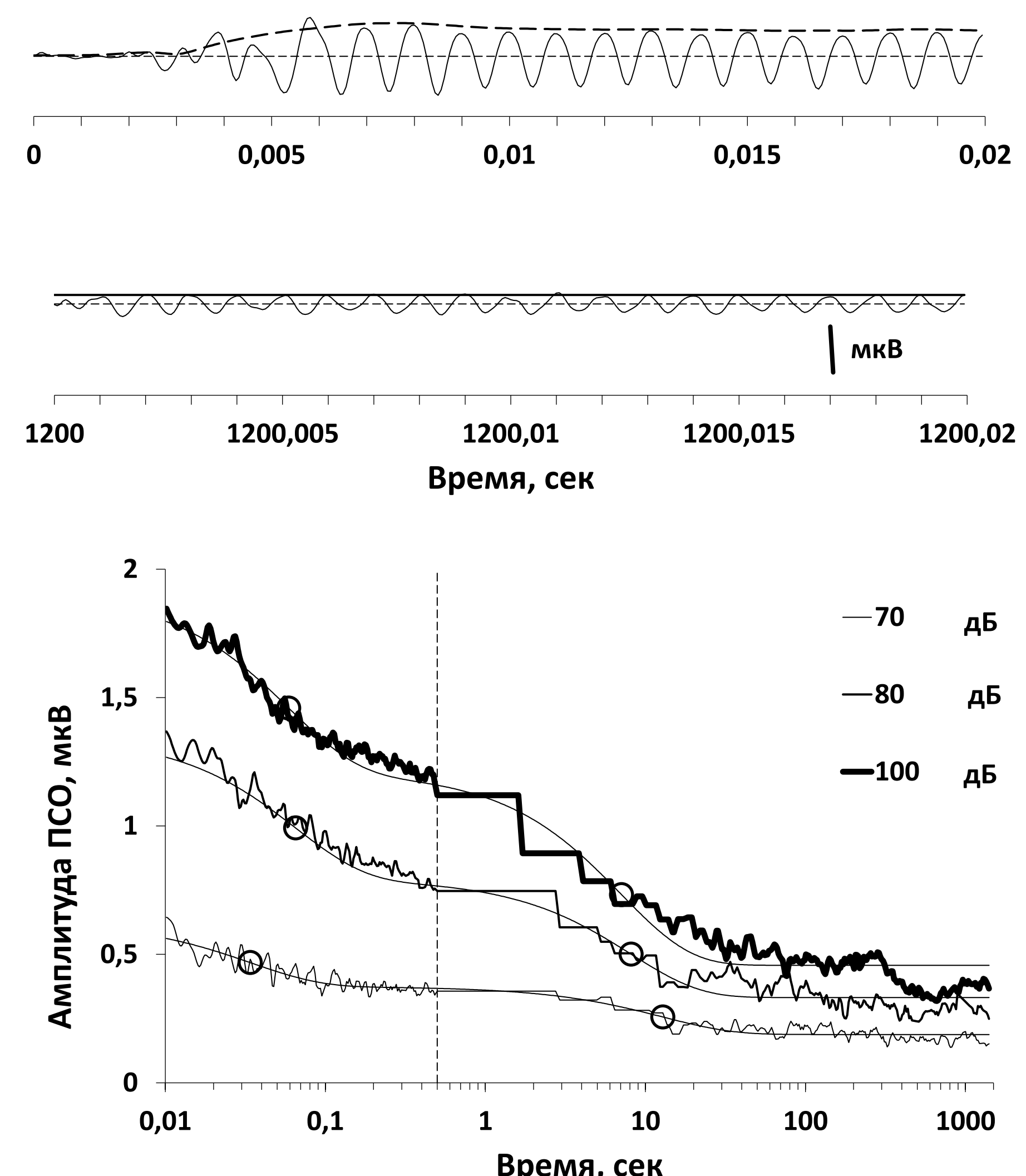


Метод

1. В качестве адаптирующих сигналов использовались последовательности тональных посылок с косинусоидальной огибающей, частотой несущей 64 кГц, следующие друг за другом с частотой 1 кГц. Для серий длительностью от 1 до 500 мс измерение амплитуды ответов осуществлялось каждую 1/16 мс. Для серий от 0.5 до 1500 сек с точностью до 1 сек.
2. Во второй серии экспериментов белухе предъявляли постоянно звучащую последовательность тональных посылок интенсивность которых каждую секунду принимала одно из двух значений. Исследовалось изменение амплитуды ответов в зависимости от направления изменения интенсивности и от величины скачка.

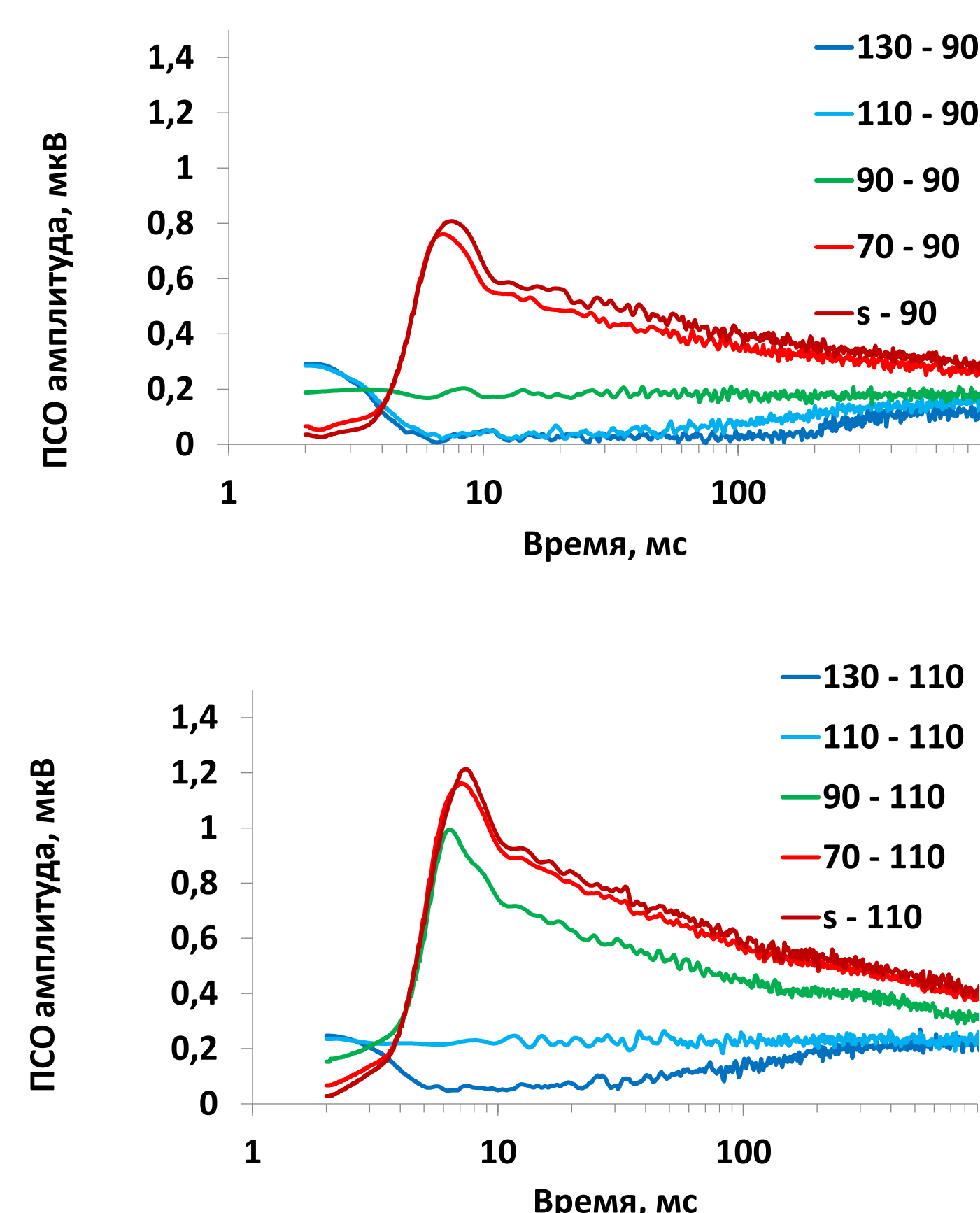
Адаптирующий сигнал вызывает в слуховой системе белухи потенциал следования огибающей (ПСО), повторяющий по форме огибающую ритмического стимула. При длительном действии адаптирующего стимула амплитуда ПСО снижается в несколько раз. На Рис. показаны фрагменты ответа в начале действия стимула (от 0 мс до 20 мс) и в его конце (от 1200 сек до 1200,02 сек).

На графиках представлена зависимость амплитуды ПСО от времени действия адаптирующего стимула частотой 64 кГц и интенсивностью 70, 80 и 100 дБ относительно 1 мкПа. Каждая кривая аппроксимирована двумя экспонентами. Временные константы обозначены кружками. Значения временных констант для «короткой» экспоненты составили от 30 до 80 мс, для «длинной» от 3.13 до 17.6 секунд.



Во втором эксперименте во время стимуляции уровень стимула либо оставался постоянным (steady-state стимуляция), либо менялся скачком вверх/вниз на 20-40 дБ. После повышения уровня стимула амплитуда ПСО резко росла, а затем медленно падала. Чем больше величина скачка, тем больше амплитуда ответа. После уменьшения интенсивности (скачка вниз) ПСО подавляется и затем медленно восстанавливается. К концу 1000 мс, амплитуда ПСО стабилизируется практически на уровне steady-state ответа. Крива восстановления амплитуды ПСО после скачка интенсивности вверх аппроксимируется экспонентой с временной константой $59,4 \pm 1,8$ (стандартная ошибка) мс. Восстановление амплитуды после скачка интенсивности вниз идет также по экспоненте с временной константой $139 \pm 9,9$ мс.

(Работа поддержана грантом РФФИ No. 18-04-00088)



Зависимость амплитуды ПСО от времени после скачка интенсивности, параметр - величина и направление скачка для тест сигналов 90 и 110 дБ. Например, 130 - 90 скачок интенсивности от 130 дБ отн. 1 мкПа к 90 дБ отн. 1 мкПа; 90-90 - без скачка интенсивности; s-90 скачок от пороговых значений до 90 дБ.



ЗВУКОВОПРОВОДЯЩАЯ СИСТЕМА ЗУБАТЫХ КИТОВ



ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)
Лаборатория сенсорных систем позвоночных
Москва, Россия



XVII школа-семинар имени академика Л.М. Бреховских «Акустика океана»
Москва, Россия

Евгения Сысуева

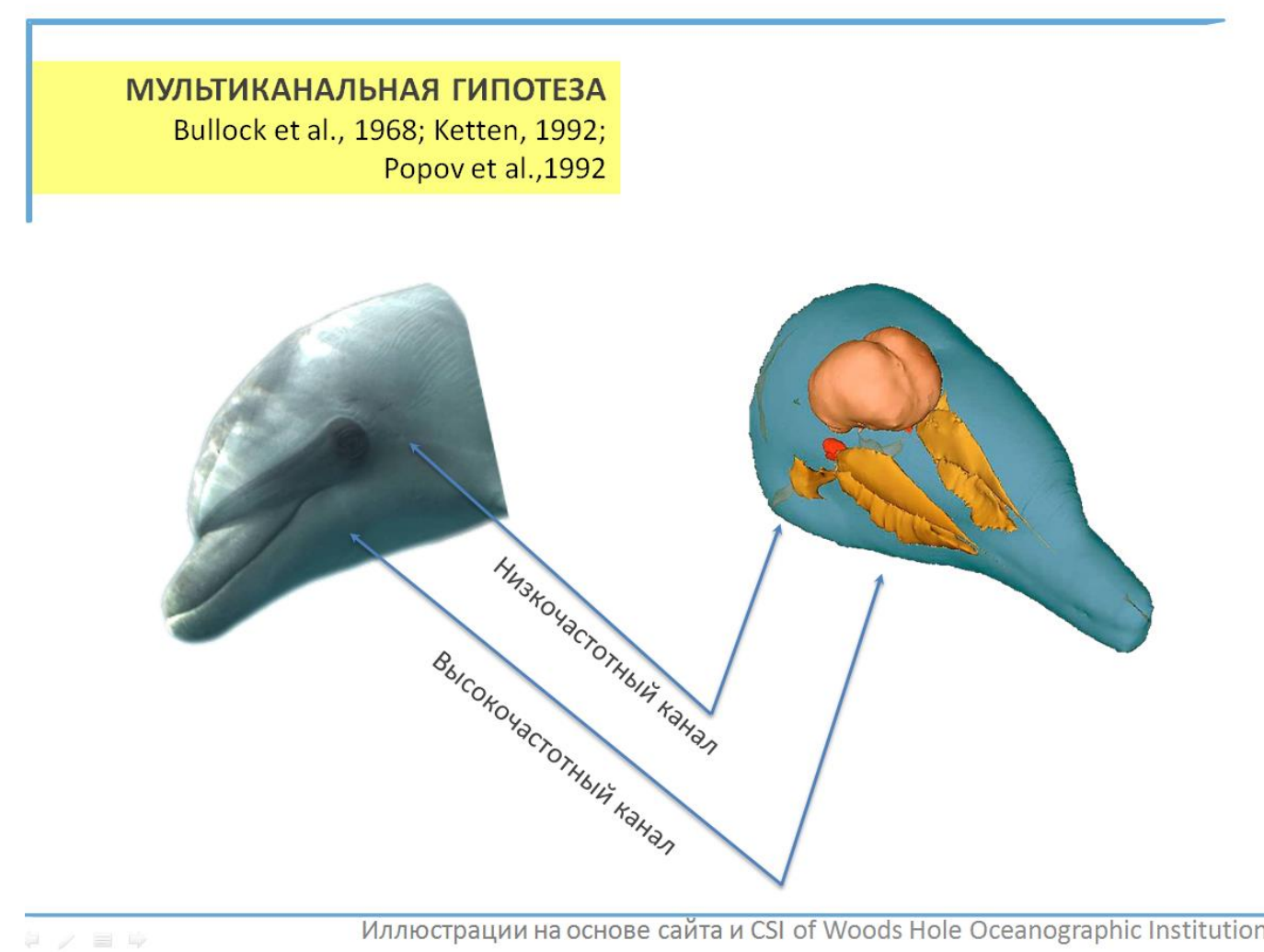
Контакты: evgeniasysueva@gmail.com

Слух является ведущей сенсорной системой у зубатых китов (дельфины, морские свиньи, кашалоты). Помимо выдающихся общих характеристик, особенным является процесс звукопроводения. За последние годы было предпринято несколько новых попыток экспериментальной проверки ведущих гипотез проведения звука к структурам улитки у представителей подотряда зубатых китов (Odontoceti). Представляет интерес сопоставить данные, полученные с помощью разных экспериментальных подходов.

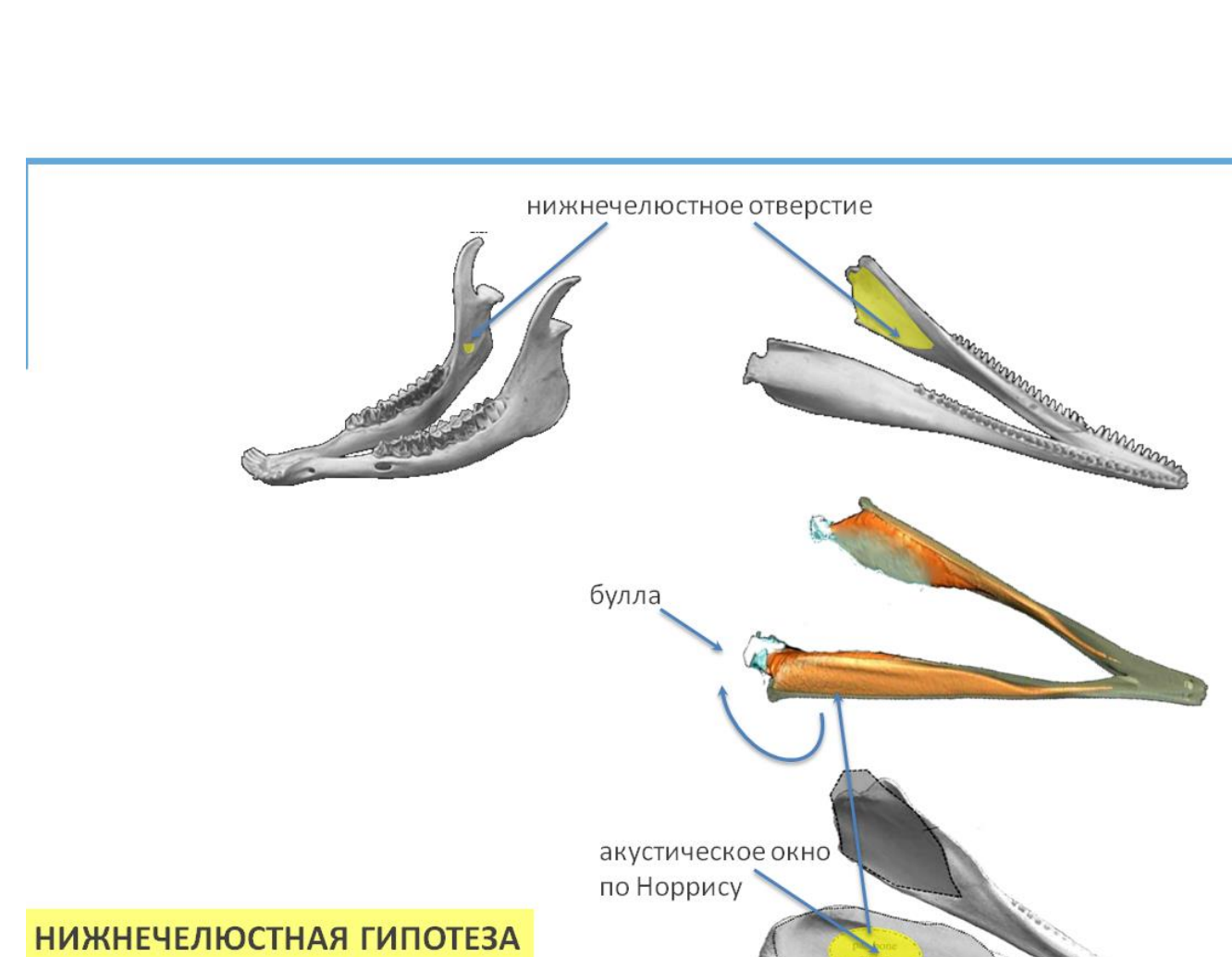
Адаптация

Современные зубатые киты лишены ушной раковины. Их слуховой проход и барабанная перепонка, скорее всего, не функциональны. Меняется форма и положение цепи косточек среднего уха. Лишь улитка осталась относительно неизменной. Истончение латеральной стенки слуховой буллы (барабанная пластинка) функционально заменила барабанную перепонку.

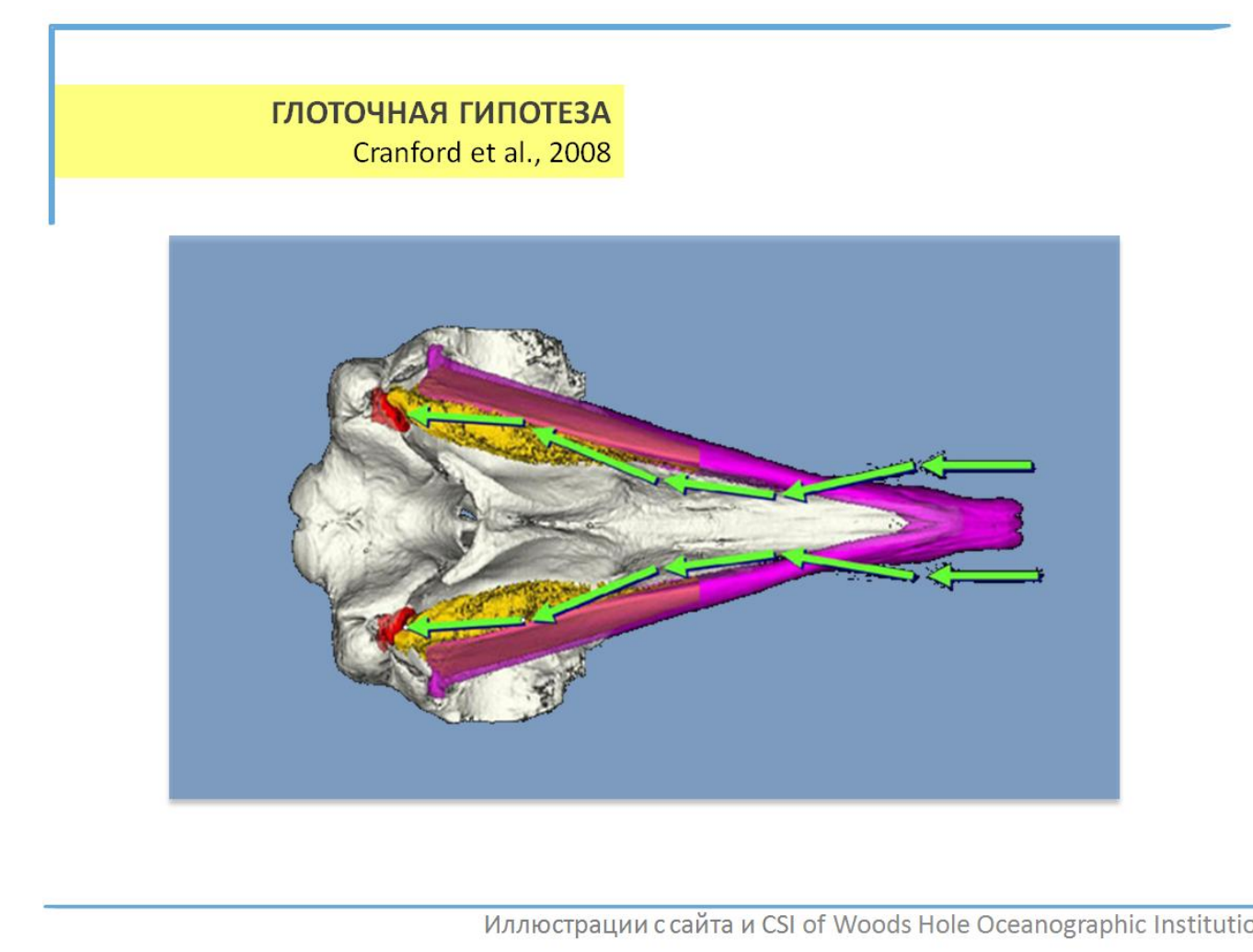
Гипотезы



МУЛЬТИКАНАЛЬНАЯ ГИПОТЕЗА
Bullock et al., 1968; Ketten, 1992; Popov et al., 1992



НИЖНЕЧЕЛЮСТНАЯ ГИПОТЕЗА
K. S. Norris (1968)



ГЛОТОЧНАЯ ГИПОТЕЗА
Cranford et al., 2008

Методы

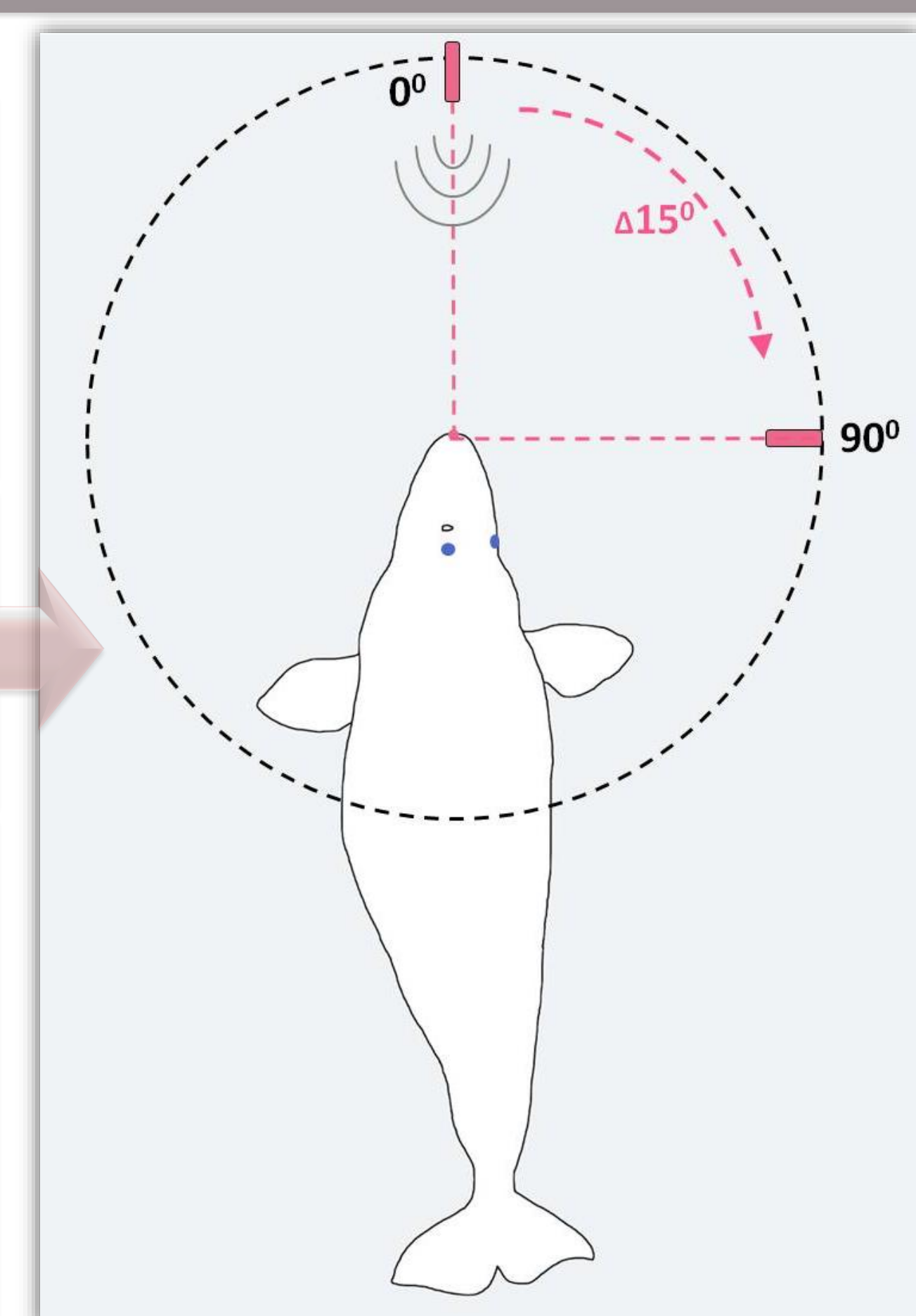


Нами были использованы три экспериментальных подхода.

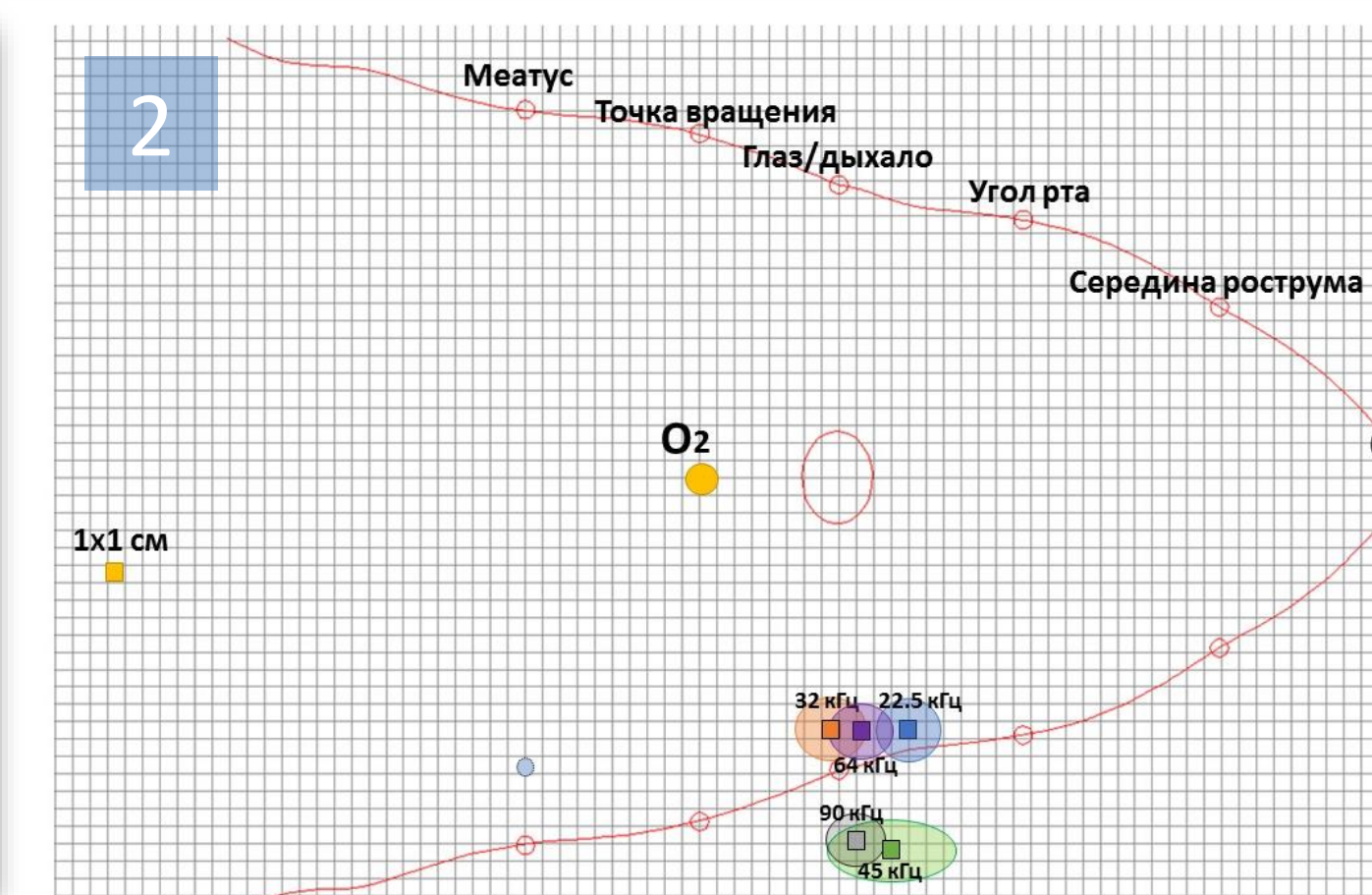
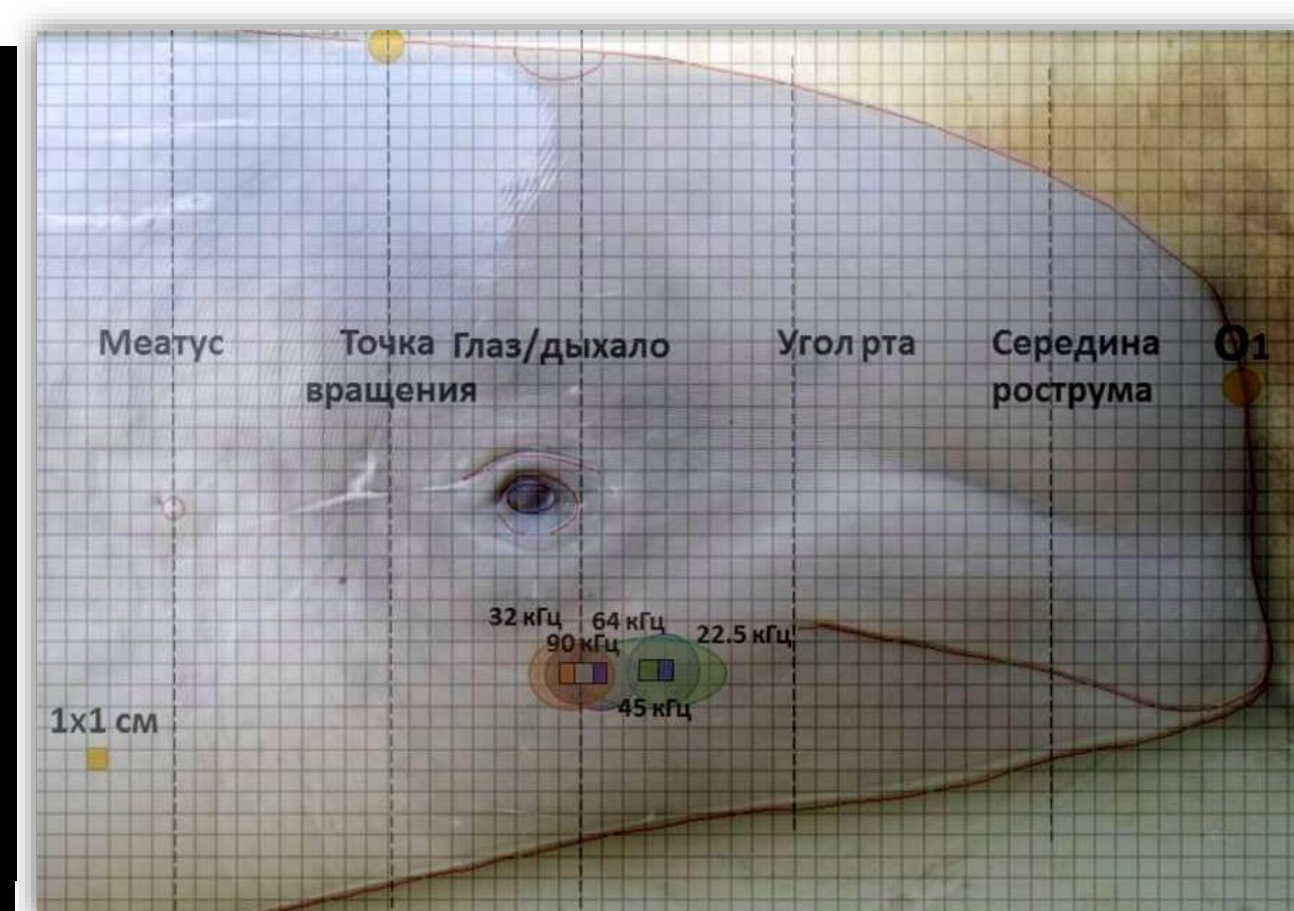
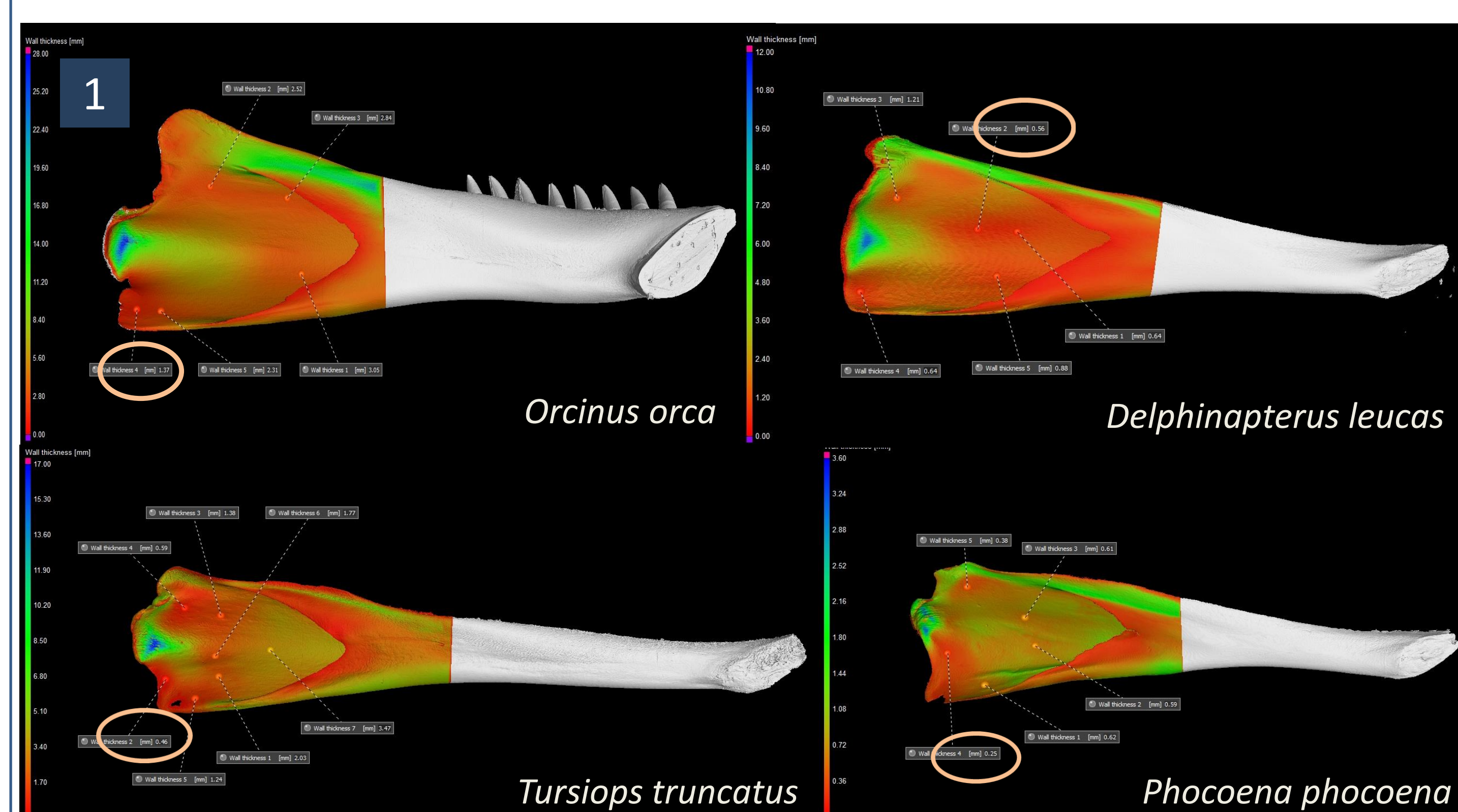
1. С помощью подводной контактной акустической стимуляции протестирована чувствительность различных областей поверхности головы белухи и афалины. Чувствительность к звуковой стимуляции определяли с помощью регистрации суммарных слуховых вызванных потенциалов (СВП). Стояла задача выделить наиболее чувствительные к акустической стимуляции области головы и сопоставить их с конкретными анатомическими структурами (см. Результаты 1, 2, 4).

2. Проведена локализация «акустических окон» путем измерения акустических задержек СВП при различных положениях источника звука относительно головы животного (от 0° до 150°). На основании этих измерений рассчитаны расстояния от источника звука до точки приема (см. Результаты 3). Используемые методы являются неинвазивными и исключают применение каких-либо хирургических вмешательств, наркоза или миорелаксантов.

Нами получены 3-D модели 17 нижних челюстей от 11 особей разных видов зубатых китов. Произведен анализ полученных моделей на предмет толщины кости проксимального участка челюстей (VGStudio Volume Graphics, sphere analysis) в области предполагаемого акустического окна. В результате была показана прямая зависимость толщины костной стенки от размера животного. Область наибольшего истончения внешней стенки нижней челюсти (акустическое окно по Норрису (Norris, 1968), «panbone») у исследованных образцов располагалась преимущественно в верхней части проксимального участка нижней челюсти или рядом с нижним углом нижней челюсти, а не по центру, как многие предполагают.



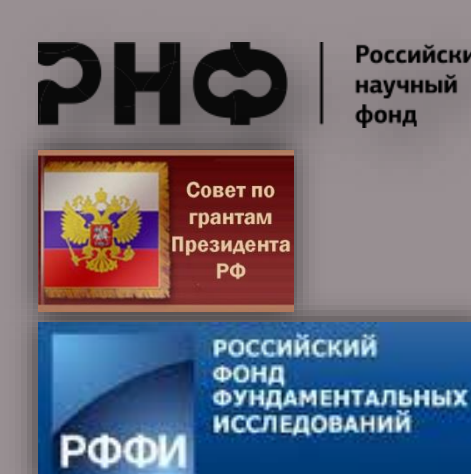
Результаты



- 1) Sysueva, Nechaev, JASA 2019, 146 (4): 2937-2937.
- 2) Popov et al., JASA 2019, 145 (6): 3578-3585.
- 3) Sysueva et al., POMA 2017, 30(1):010003.

СПИСОК ЦИТИРУЕМЫХ РАБОТ

Bullock T.H., Grinnell A.D., Ikezono E., Kameda K., Katsuki Y., Nomoto M., Sato O., Suga N., Ynagisawa K. Electrophysiological studies of central auditory mechanisms in Cetaceans // Zeitschrift für vergleichende Physiologie. 1968. V. 59. P. 117-156. Cranford T.W., Krysl P., Hildebrand J.A. Acoustic pathways revealed: simulated sound transmission and reception in Cuvier's beaked whale (Ziphius cavirostris) // Bioinspiration and Biomimetics. 2008. V. 3. P. 1-10. Ketten D.R. Cetacean ears // Hearing by whales and dolphins / Eds. W.W.L. Au, A.N. Popper, R.R. Fay. New York: Springer. 2000. P. 43-108. Norris K.S. The evolution of acoustic mechanisms in odontocetes cetaceans // Evolution and Environment / Ed. Drake E.T. New Haven: Yale Univ., 1968. P. 297-324. Popov V.V., Supin A.Ya. Electrophysiological study of the interaural intensity difference and interaural time-delay in dolphins // Marine Mammal Sensory Systems / Eds. J.A. Thomas, R.A. Kastelein, A.Ya. Supin. New-York, London: Plenum Press, 1992. P. 257-267. Sysueva E.V., Nechaev D.I. Additional data on the lower jaw morphology in odontocetes: Panbone thickness // The Journal of the Acoustical Society of America. 2019. V. 146(4): P. 2937-2937; Popov V.V., Supin A.Y., Nechaev D.I., Lemazina A.A., Sysueva E.V. Position of an acoustic window in a beluga whale: Computation based on auditory evoked potential latencies // The Journal of the Acoustical Society of America. 2019. V. 145 (6): P. 3578-3585; E.V. Sysueva, P. E. Nachtigall, T. W. Cranford, F. Pacini, J. Pawloski, C. Allum, A. Ya. Supin. Auditory sensitivity areas of head to local underwater stimulation in a bottlenose dolphin (Tursiops truncatus) // Proc. Mtgs. Acoust. 30, 010003 (2017); <https://doi.org/10.1121/2.0000814>.



БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Л.М. Мухаметову и сотрудникам Утришской морской станции за предоставление экспериментальных животных и обеспечение работ. Авторы благодарят Гавайский институт морской биологии (HIMB) за сотрудничество. Исследование поддержано грантами: РНФ № 17-74-20107; .Советом по грантам Президента РФ МК-7755-2015.4.