

ZMĚNY SLUCHOVÉ FUNKCE BĚHEM POSTNATÁLNÍHO VÝVOJE

Doktorská dizertační práce v oboru neurověd

MUDr. Daniel Groh

**Ústav experimentální medicíny AV ČR
Klinika ušní nosní a krční UK 2. LF a FN v Motole**

Školitel: Prof. MUDr. Josef Syka, DrSc.

Školitel konzultant: Doc. MUDr. Zdeněk Kabelka

Praha 2009

Velice rád bych poděkoval svému školiteli, panu profesorovi MUDr. Josefu Sykovi, DrSc. za jeho trpělivost, podporu, pochopení a laskavé vedení během celého postgraduálního studia.

Rovněž velice děkuji panu docentovi MUDr. Zdeňkovi Kabelkovi, panu RNDr. Jiřímu Popelářovi, CSc., paní RNDr. Natálii Rybalko, CSc. a panu Ing. Milanu Jilkovi za cennou podporu a pomoc v provedení klinické a experimentální části této práce a zúročení výsledků této práce v publikační činnosti.

Můj veliký dík patří rovněž panu Janu Kolářovi, panu Janu Setníčkovi a ostatním spolupracovníkům a kolegům, kteří mi pomáhali jak v praktické práci tak při tvorbě příjemného a tvůrčího pracovního prostředí. Za cenné rady děkuji svému dlouholetému učiteli panu profesorovi MUDr. Jaroslavovi Fajstavrovi, DrSc.

3.1.4. Tympanometrie.....	36
3.1.5. Histologické zpracování hlemýždě vnitřního ucha.....	36
3.1.6. Protokol pokusu.....	37
3.1.7. Statistické vyhodnocení dat.....	37
3.2. Výsledky.....	38
3.2.1. Audiogramy ABR.....	38
3.2.2. Klikem vyvolané ABR.....	39
3.2.3. Distorzní produkt otoakustických emisí.....	41
3.2.4. Ztráta vláskových buněk.....	42
3.2.5. Tympanometrie.....	44
4. KLINICKÁ ČÁST.....	46
<i>- Audiologická měření u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje a u jedinců trpících tinnitem</i>	
4.1. Materiál a metody.....	47
4.1.1. Subjekty.....	47
4.1.2. Protokoly, postupy vyšetření.....	47
4.1.2.1. Tympanometrie.....	47
4.1.2.2. Tónová audiometrie.....	48
4.1.2.3. Záznam otoakustických emisí.....	48
4.1.2.4. Charakteristika tinnitu.....	49
4.1.3. Statistické zpracování výsledků.....	49
4.2. Výsledky audiometrických vyšetření u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje.....	49
4.2.1. Audiogramy.....	49
4.2.2. TEOAE.....	50
4.2.3. DPOAE.....	52
4.2.4. SOAE.....	53
4.2.5. Závislost mezi sluchovým prahem a přítomností SOAE.....	54
4.3. Výsledky audiometrických vyšetření u jedinců trpících tinnitem.....	55
4.3.1. Audiogramy.....	57
4.3.2. TEOAE.....	58
4.3.3. DPOAE.....	60
4.3.4. SOAE.....	61
5. DISKUZE.....	63
5.1. Experimentální část.....	63
5.1.1. Změny audiogramů ABR v závislosti na věku.....	64
5.1.2. Klikem evokované ABR.....	64
5.1.3. Ztráta vláskových buněk.....	65
5.1.4. DPOAE.....	65
5.1.5. Možné mechanismy podmiňující sluchovou ztrátu vázanou na věk.....	66
5.1.6. Úloha středního ucha v přenosu zvuku.....	67
5.1.7. Změny v centrálním sluchovém systému.....	68
5.2. Klinická část.....	68
5.2.1. Tónová audiometrie u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje.....	69
5.2.2. TEOAE a DPOAE u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje.....	70

5.2.3. SOAE u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje	71
5.2.4. Tónová audiometrie a vnímání tinnitu u jedinců trpících tinnitem	72
5.2.5. TEOAE a DPOAE u jedinců trpících tinnitem.....	73
5.2.6. SOAE u jedinců trpících tinnitem.....	73
6. ZÁVĚRY.....	74
6.1. Experimentální část	74
6.2. Klinická část	74
7. SOUHRN	75
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	76
9. SEZNAM VLASTNÍCH PUBLIKACÍ.....	91
PŘÍLOHY – KOPIE VLASTNÍCH PUBLIKACÍ	

SEZNAM ZKRATEK

- ABR (auditory brainstem response) – zvukem vyvolané odpovědi mozkového kmene
- BAEP (brainstem auditory evoked potentials) – sluchové evokované potenciály mozkového kmene
- BERA (brainstem evoked response audiometry) – audiometrie evokovaných kmenových odpovědí
- CERA (cortical evoked response audiometry) – audiometrie evokovaných odpovědí sluchové kůry
- CGM – corpus geniculatum mediale
- CI – colliculus inferior
- dB HL (hearing level) – jednotka hladiny hlasitosti zvuku (na frekvenci 1 kHz odpovídají její hodnoty hodnotám v dB SPL, pro další frekvence je nutno řídit se tvarem křivek stejné hlasitosti)
- dB SL (sensation level) – jednotka hladiny hlasitosti zvuku nad individuálním sluchovým prahem
- dB SPL (sound pressure level) – jednotka hladiny intenzity zvuku $[dB SPL] = 20 \times \log(p/p_0)$, kde p_0 je referenční akustický tlak 2×10^{-5} Pa
- DPOAE (distorsion products of otoacoustic emissions) – distorzní produkty otoakustických emisí
- FFT (fast Fourier transformation) – rychlá Fourierova transformace
- GDT (gap detection threshold) – práh detekce mezery v šumu
- IHC (inner hair cell) – vnitřní vlásková buňka
- LAEP (long latency auditory evoked potentials) – sluchové evokované potenciály s dlouhou latencí, pomalé sluchové evokované potenciály
- LL – lemniscus lateralis
- LLC (long latency components) – komponenty s dlouhou latencí, pozdní korové potenciály
- LOC – laterální olivokochleární systém
- MAEP (middle latency auditory evoked potentials) – sluchové evokované potenciály se střední latencí
- MLR (middle latency response) – zvukovým podnětem vyvolané odpovědi se střední latencí
- MNTB (medial nucleus of the trapezoid body) – mediální jádro trapézového tělesa
- MOC – mediální olivokochleární systém
- NC – nucleus cochlearis
- NCD – nucleus cochlearis dorsalis
- NCV – nucleus cochlearis ventralis

NCVA – nucleus cochlearis ventralis anterior

NCVP– nucleus cochlearis ventralis posterior

MRI (magnetic resonance imaging) – zobrazení magnetickou rezonancí

OAE (otoacoustic emissions) – otoakustické emise

OHC (outer hair cell) – vnější vlásková buňka

OS – oliva superior

OSL – oliva superior lateralis

OSM – oliva superior medialis

SOAE (spontaneous otoacoustic emissions) – spontánní otoakustické emise

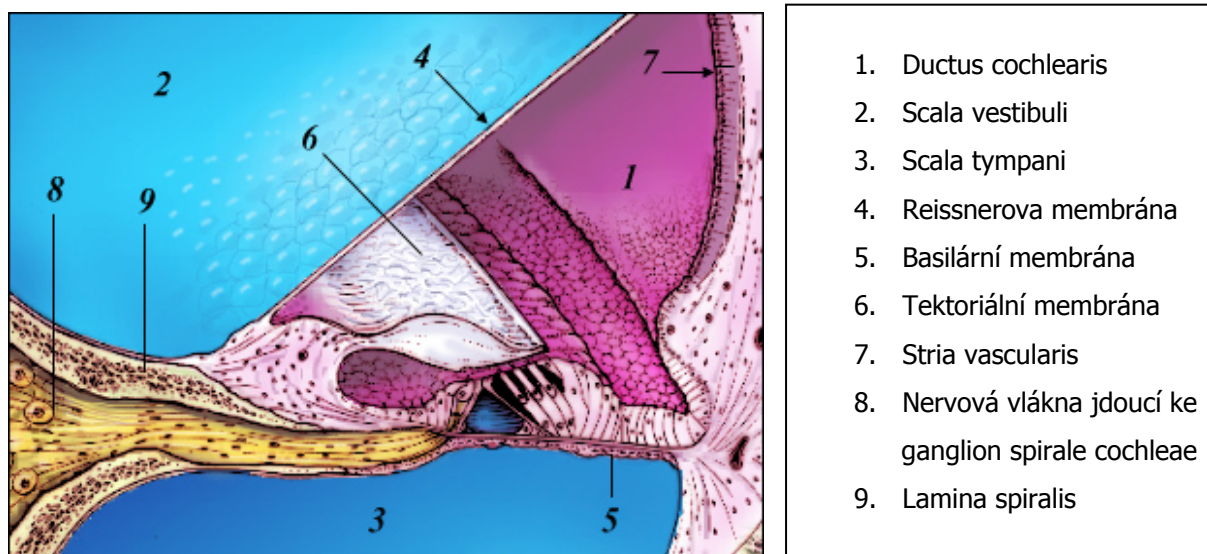
TEOAE (transient otoacoustic emissions) – transientní otoakustické emise

1. ÚVOD

1.1 Základy anatomie a fyziologie sluchového systému

1.1.1. Periferní část sluchového systému – receptory sluchového systému – vláskové buňky

Sluchový orgán u člověka, který je velmi podobný ostatním savcům, je uložený v hlemýždi vnitřního ucha, který vytváří spirálovitě stočenou trubici se 2,5 závity. Reissnerovou a bazilární membránou je rozdělen na oddíly: scala vestibuli, scala tympani (na apikálním konci jsou propojeny tzv. helicotrema) a střední scala media – ductus cochlearis – obsahující vlastní smyslový Cortiho orgán. Všechny tři části obsahují tekutinu – vnitřní a zevní část vyplňuje perilymfa, střední část endolymfa. Endolymfa je charakterizována vysokým obsahem K^+ iontů společně s pozitivním endokochleárním potenciálem. Specifické složení endolymfy je dáno činností buněk epiteliální struktury stria vascularis, tvořící laterální stěnu scala media. (obr. 1).



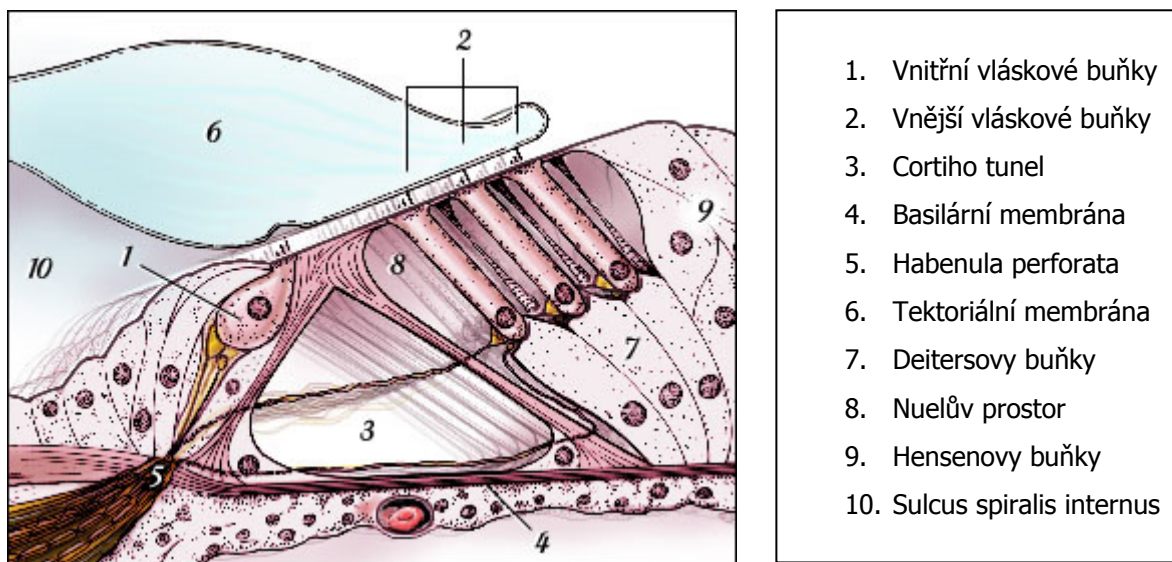
Upraveno podle www.cochlea.org, kresba S. Blatrix

Obr. 1: Průřez jedním závitem hlemýždě

Stria vascularis se skládá ze tří vrstev buněk. Do nitra jsou obráceny buňky marginální. Uvnitř marginálních buněk je pozitivní potenciál, který je přibližně o 15 mV vyšší než potenciál endokochleární (Melichar a Syka, 1987; Salt a kol., 1987; Wangemann, 2002, 2006; Nin a kol., 2008). Pozitivní potenciál je výsledkem činnosti $Na^+ - K^+$ pumpy, která je lokalizována v marginálních buňkách.

Její funkci lze blokovat například aplikací furosemidu a kyseliny etakrynové (Melichar a Syka, 1977, 1978; Syka a Melichar, 1985).

Vysoká koncentrace K^+ iontů v endolymfě a pozitivní potenciál ve scala media vytvářejí nezbytné podmínky pro funkci K^+ v excitabilitě vláskových buněk. Cortiho orgán tvořený podpůrnými a smyslovými vláskovými buňkami je umístěn na basilární membráně (obr. 2).



Upraveno podle www.cochlea.org, kresba S. Blatrix

Obr. 2: Cortiho orgán

Podpůrné buňky jsou prizmatického tvaru a často obsahují svazky tonofibril, s mechanickou a metabolickou funkcí. Vnitřní podpůrné buňky reprezentují pilířové – Cortiho buňky – ohraničující vnitřní tunel; falangeální Deitersovy buňky – obalující vláskové buňky. Zevní podpůrné buňky představují cylindrické buňky Hensenovy, kubické buňky Claudiusovy a buňky Boettcherovy.

Smyslové vláskové buňky jsou uspořádány do podélných řad. Blíže k modiolu (centrálnímu kostěnému sloupku hlemýždě) je jedna řada vnitřních vláskových buněk (u člověka je jich přibližně 3,5 tisíce), blíže k zevní stěně hlemýždě jsou 3 řady vnějších vláskových buněk (Nadol, 1988). Oba druhy vláskových buněk mají na své endokochleární straně kutikulární ploténku se stereociliemi. Apikální povrch buněk se stereociliemi je obklopen endolymfou, zatímco zbytek buněčného povrchu perilymfou.

Každá vnější vlásková buňka (OHC – outer hair cell) má asi 100 – 200 stereocilií uspořádaných do tří rovnoběžných řad (seskupených ve tvaru písmene W). Vrcholky nejdelších stereocilií jsou zakotveny v tektoriální membráně. Stěna vnějších vláskových buněk obsahuje kontraktilní proteiny – aktin, myosin a prestin. Prestin jako membránový protein je schopen

aktivním prodloužením nebo zkrácením zareagovat na změnu elektrického potenciálu nebo chemickou stimulaci (Dallas a kol., 2006, 2008; Ashmore, 2008). Při depolarizaci se buňka zkracuje asi o 3-5% své délky, při hyperpolarizaci se její délka prodlužuje. Změna v délce buněk byla pozorována i při působení střídavého napětí s frekvencí až několik kHz. Zachování jejich hybnosti je známkou normální funkce Cortiho orgánu. Každá vnitřní vlásková buňka (IHC – inner hair cell) má okolo 50 stereocilií, jejichž vrcholky nejsou zakotveny v tektoriální membráně. Excitaci vnitřních vláskových buněk vyvolá ohnutí jejich stereocilií směrem od modiolu. Ohnutí vlásků je spojeno s otevřením nespecifických mechanicky řízených iontových kanálů (stretch activated channels), umístěných na stereociliích. Do nitra buňky jimi vstupují ionty draslíku, jejichž koncentrace na povrchu stereocilií je stejně vysoká jako v celé scala media (asi 140 mmol/l). Hnací silou není v tomto případě koncentrační rozdíl, ale elektrický gradient, který činí asi 130 mV – mezi +80 mV v endolymfě a -50 mV ve vláskové buňce. Každý vlásek má jeden iontový kanál. K podrobnějšímu vysvětlení tohoto mechanismu je třeba poznamenat, že stereocilie jsou spojené jemnými filamenti, která vedou vždy z vrcholu kratšího filamenta ke straně delšího, tzv. „tip-to-side cross links“. Mechanismus excitace vláskové buňky je založen na faktu, že ohnutím stereocilií v jednom směru dojde k mechanickému otevření póru na vrcholu kratší stereocilie. Ohnutím v opačném směru dojde ke stlačení filamenta a uzavření póru, tj. k inhibici vláskové buňky.

Přesný mechanismus ohnutí stereocilií vláskových buněk není ještě plně znám. Nejlépe jej popisuje Békésyho teorie postupující vlny. Vychází z vlastností basilární membrány, která se od baze k apexu rozšiřuje a její tuhost klesá. Stupňující se rozdíly v šířce a tuhosti membrány jsou základem tonotopického uspořádání (vysoké frekvence zvukových podnětů způsobí maximální rozkmit v oblasti bazálního závitu hlemýždě, s klesající frekvencí se maximum rozkmitu posouvá apikálně). Podle některých studií však gradient mechanických vlastností basilární membrány není dostačujícím vysvětlením tonotopie hlemýždě (Naidu a Mountain, 1998). Iontové kanály basolaterální membrány vláskových buněk jsou rozdílné u vnějších a vnitřních vláskových buněk. Vnější vláskové buňky s vyšším membránovým potenciálem (-70 mV), obsahují ve své stěně jednak napětově řízené, jednak vápníkem řízené K^+ a Ca^{2+} kanály. Vnitřní vláskové buňky s nižším membránovým potenciálem (-40 mV) obsahují v basolaterální stěně dva druhy napětově řízených K^+ kanálů a v synaptické oblasti ještě Ca^{2+} kanály (Johnstone a kol., 1989)

Vnitřní vláskové buňky jsou vlastními receptorovými buňkami – až 95% aferentních vláken sluchového nervu je spojeno se synaptickou částí vnitřních vláskových buněk. Vnější vláskové buňky jsou jen minimálně aferentně spojeny s centrálním sluchovým systémem.

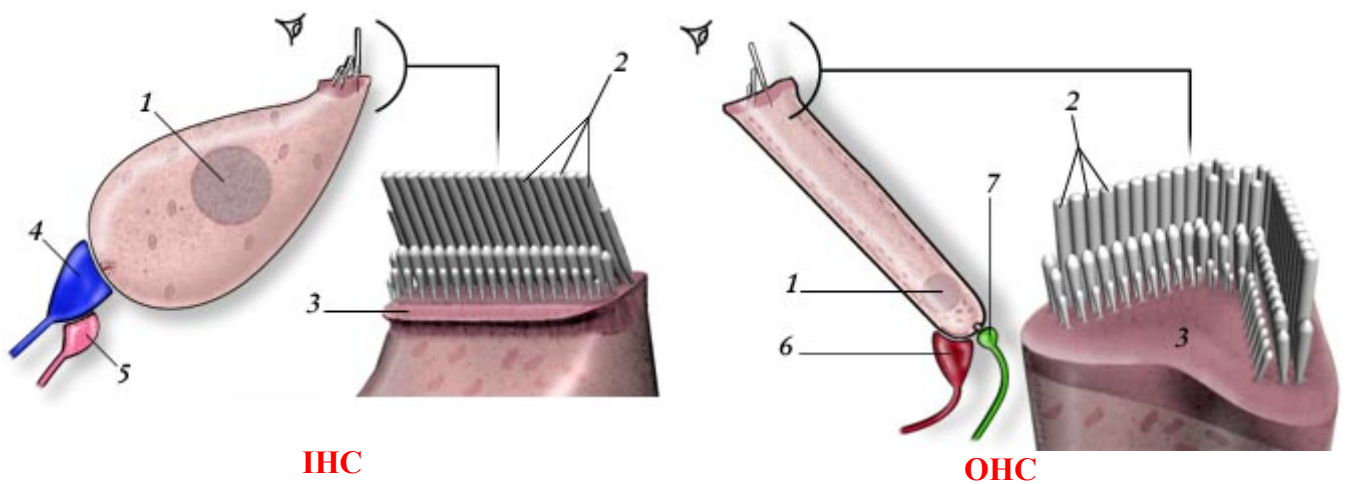
Jsou však pod značnou eferentní kontrolou sestupného olivokochleárního svazku, jehož vlákna končí na spodině vláskových buněk. Velmi zajímavá je hypotéza, že na rozlišení tónového spektra se podílí aktivní rozkmitání stereocilií vnějších vláskových buněk (Kemp, 1998; Martin a kol., 2000). Podle Kempovy hypotézy nedochází ke stimulaci vnějších vláskových buněk pomalu se šířící postupující vlnou, ale buňky samotné mají funkci naladěných rezonančních obvodů a reagují přímo na zvukové vlny, které se rychle šíří v kapalném prostředí endolymfy. Tato schopnost vnějších vláskových buněk, zesílit vibrace v endolymfě, se uplatní především za nízké intenzity zvuku, kdy zesílení vibrací způsobí pohyb stereocilií vnitřních vláskových buněk a vyvolá jejich podráždění (Braun, 1994). Důsledky aktivního pohybu vnějších vláskových buněk lze objektivně snímat citlivým mikrofonem ze zevního zvukovodu jako tzv. otoakustické emise (OAE). Nejen přijímání, ale i vyzařování akustické energie hlemýžděm bylo teoreticky studováno již v roce 1948 T. Goldem (Gold, 1948). Prakticky však bylo prokázáno v roce 1978 a dále podrobněji popsáno v roce 1998 a 2002 (Kemp, 1978, 1998, 2002). Pohyb bazilární membrány se uplatní až při vysoké intenzitě stimulu, kde může rovněž pohlcovat přebytečnou vibrační energii a zabraňovat tak poškození křehkých stereocilií, (Kemp 1998). Kempův objev nebyl hned od počátku přijat s porozuměním. Řada audiologů se domnívala, že jde o artefakt (Kim, 1980). Postupně však byla tato teze vyvrácena (Kim, 1980). „Otoakustické emise jsou tak vedlejším produktem zpětnovazebního procesu, který zvyšuje citlivost sluchového orgánu.“ (Kim, 1980). Objev otoakustických emisí se stal v audiologii nejvýznamnější událostí poslední čtvrtiny 20. století z několika pohledů:

- prokázal aktivní biofyzikální děje uvnitř hlemýždě
- osvětlil některé staré i nové poznatky fyziologie slyšení
- upřesnil z anatomického pohledu mikro a ultramikrostruktury zodpovědné za vznik otoakustických emisí.

Vnější (OHC) a vnitřní (IHC) vláskové buňky kochley se významně liší i svojí inervací.

Ze všech tří řad vnějších vláskových buněk odstupuje jen asi 5% celkového počtu aferentních nervových vláken hlemýždě. Jedná se o nemyelizovaná vlákna pseudounipolárních neuronů II. typu, která jsou bohatě rozvětvená. Na jedno vlákno tak připadá deset vnějších vláskových buněk.

Z oblasti vnitřních vláskových buněk odstupuje 95% z celkového počtu aferentních vláken. Jedná se o dendrity gangliových buněk I. typu. Každá vnitřní vlásková buňka je napojena asi na dvacet dendritů aferentních vláken (obr. 3).



1. Buněčné jádro
2. Stereocilie
3. Kutikulární ploténka
4. Radiální aferentní synapse (dendrit neuronu I. typu)
5. Laterální eferentní synapse
6. Mediální eferentní synapse
7. Spirální aferentní synapse (dendrit neuronu II. typu)

Upraveno podle www.cochlea.org, kresba S. Blatrix

Obr. 3: Vnitřní a vnější vláskové buňky

1.1.2. Centrální část sluchové dráhy

Sluchová dráha je nejvíce členitá sensorická dráha mozku - tvoří ji aferentní a eferentní systém.

Aferentní systém

Schéma aferentní dráhy ve sluchovém systému zobrazuje obr. 4. **Prvními neurony** sluchové dráhy jsou gangliové buňky v ganglion spirale cochleae (**spirálním gangliu**). Spirální ganglion se skládá z těl bipolárních neuronů I. typu a pseudounipolárních neuronů II. typu. Myelinizované dendrity neuronů I. typu tvoří synapse s laterální stěnou vnitřních vláskových buněk, axony obou typů neuronů (asi 40 tisíc nervových vláken) tvoří sluchový nerv - sluchovou část nervus vestibulocochlearis (n.VIII.), který končí v kochleárním jádře (nucleus cochlearis). Hlavním mediátorem na synapsích mezi vnitřními vláskovými buňkami a dendrity neuronů ganglion spirale cochleae je glutamát.

Přenos nervové informace mezi vlákny sluchového nervu a neurony nucleus cochlearis zajišťuje rovněž glutamát (Harada a kol., 1994; Nordang a kol., 2000).

Tonotopie hlemýždě zůstává zachována ve sluchovém nervu i v dalších jádrech sluchové dráhy - jednotlivá vlákna a neurony ve sluchových jádrech jsou aktivovány jen podněty o omezeném rozsahu frekvencí a intenzit. Frekvence tónu, na které je práh excitace nervového vlákna nejnižší, se nazývá charakteristická frekvence.

Sluchový nerv opouští pyramidu spánkové kosti přes meatus acusticus internus a v mostomozečkovém úhlu vstupuje do mozkového kmene – do ipsilaterálního **kochleárního jádra** (NC), kde se větví a část jeho vláken končí v oblasti **ventrálního kochleárního jádra** (které se dále dělí na anterior a posterior, NCVA a NCVP) a druhá část končí v **dorsálním kochleárním jádře** (NCD). Tonotopické uspořádání - vlákna sluchového nervu s nízkou charakteristickou frekvencí směřují převážně do ventrální části NCVA, NCVP a NCD, se stoupající charakteristickou frekvencí jsou inervovány oblasti dorzálnější. Z mediátorů byly imunocytochemicky potvrzeny v kochleárním jádře glutamát, aspartát a γ -aminomáselná kyselina (GABA – gamma aminobutyric acid). O acetylcholinu, jehož enzymy byly také prokázány v kochleárním jádře, se předpokládá, že pochází z kolaterál mediálního eferentního olivokochleárního svazku (Schwarz a kol., 1989; Henson a kol., 1996; Gil-Loyzaga a kol., 2000).

Aferentní projekce vystupující z kochleárního jádra směřují převážně do komplexu olivy superior (OS). Nervové dráhy jsou mnohočetné a soustřeďují se především do tří svazků: stria acustica dorsalis, stria acustica intermedia a soubor vláken a buněk vmezeřených jader zvaný corpus trapezoideum. Stria acustica dorsalis vychází z NCD a směřuje do kontralaterálního lemniscus lateralis (LL) a colliculus inferior (CI). Stria acustica intermedia vychází z NCPV a směřuje do ipsilaterální olivy superior a částečně i k jádrům kontralaterálního lemniscus lateralis. Corpus trapezoideum představuje významné spojení NCAV s nucleus olivaris superior medialis obou stran a se stejnostranným nucleus olivaris superior lateralis.

Komplex olivy superior (OS) tvoří mediální a laterální oliva superior (OSM a OSL), mediální a ventrální jádro trapézového tělesa (MNTB) a superioriorní paraolivární jádro (Obr. 4). OSM a OSL představují klíčová jádra pro binaurální slyšení. Úloha OSM spočívá především v detekci časového zpoždění zvuku o nízké frekvenci, v OSL jsou zpracovávány rozdíly v intenzitě zvuku o vyšších frekvencích (u člověka se jedná o frekvence > 2 kHz). Živočišné druhy s převážně vysokofrekvenčním rozsahem sluchu (myš, potkan, delfín, netopýr) mají mohutnější OSL a malou (nebo chybějící) OSM. Naproti tomu druhy, jejichž horní mez sluchového rozsahu je posunuta k nižším frekvencím (kam patří i člověk), mají dobře vyvinutou OSM a drobnou OSL.

Axony neuronů směřující z kochleárního jádra nebo z komplexu olivy superior do středního mozku (colliculus inferior) probíhají ve svazku nazývaném lemniscus lateralis. Excitačními mediátory jsou zde glutamát či aspartát, působí patrně na non-NMDA receptory. Z kontralaterálního kochleárního jádra je vstup inhibiční a nepřímý, neboť inhibiční axony pocházejí z mediálního jádra trapézového tělesa (MNTB). MNTB neurony jsou obklopeny obřími excitačními glutamatergními nervovými zakončeními tzv. Heldovými kalichy, nesoucími funkční GABA_A a glycinové receptory. Kromě excitačního vstupu přistupují k hlavním neuronům také inhibiční vlákna, vytvářející na jejich povrchu malá glycinergní zakončení. Synapticky uvolněná GABA a glycin aktivují pre- i postsynaptické glycinové receptory a vedou ke vzniku inhibičních postsynaptických proudů vyznačujících se extrémně krátkým trváním.

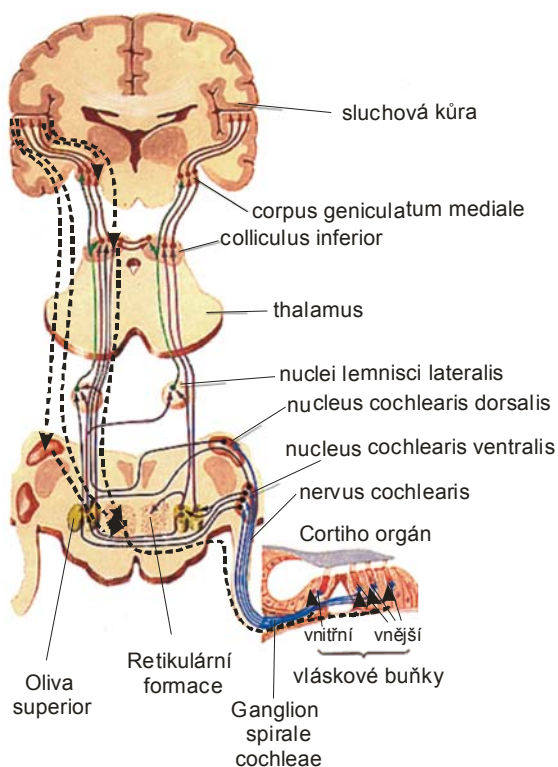
Dalším jádrem sluchové dráhy je **colliculus inferior** (Obr. 4). Colliculus inferior (CI) je rozdělen na tři hlavní podjádra - centrální jádro s typickou laminární strukturou, dorsální kůru (jádro) a laterálně a rostrálně lokalizovanou externí kůru (jádro). Většina vzestupných projekcí z jader mozkového kmene (kochleárního jádra, komplexu jader olivy superior, jader laterálního lemnisku) končí v centrálním jádře CI (Druga a Syka, 1984). Naproti tomu, v dorsálním jádře končí největší část descendentní projekce z V. vrstvy sluchové kůry (Syka a kol., 1988a; Druga a kol., 1997). Slabá korová descendentní projekce byla prokázána i v centrálním jádře (Saldaña a kol., 1996). Z centrálního jádra vycházejí aferentní vlákna do externího jádra, které má silné napojení na somatosenzorické struktury. Vnitřní a komisurální spojení CI jsou velmi komplexní a zahrnují všechna podjádra. Kromě glutamátu byl v CI prokázán imunocytochemicky difusní výskyt GABA (Caspary a kol., 1995, 2008; Ouda a kol., 2008).

Hlavním cílem aferentní projekce neuronů CI je **corpus geniculatum mediale (CGM)**, představující diencefalickou část sluchové dráhy. Obecně se dělí na tři hlavní části: ventrální, dorzální a mediální. Ventrální CGM patří k primárním oblastem sluchové dráhy, aferentní projekce sem směřují převážně z ipsilaterálního centrálního jádra CI (Syka a kol., 1980). Z ventrálního jádra CGM pokračují vlákna do tonotopicky uspořádané primární oblasti sluchové kůry AI, kde končí ve IV. vrstvě sluchové kůry. Dorzální a mediální část CGM patří k multimodálním sekundárním oblastem sluchové dráhy a směřují sem projekce z colliculus superior, tegmenta a somatosenzorické dráhy. Aferentní korové projekce z dorzální a mediální části CGM směřují do sluchových oblastí mozkové kůry mimo AI - do AII, insulárního, temporálního, posteriorního ektosylvijského a suprasylvijského okrajového pole (Winer a Lee, 2007; Lee a Winer, 2008).

Sluchová kůra savců, u člověka odpovídající Brodmanovým areám 41 (Heschlov závít) a 42, se skládá z primární části - AI (s tonotopickým uspořádáním) a z částí sekundárních, které se u jednotlivých druhů značně liší (Aitkin, 1990; Merzenich a Brugge, 1973; Woolsey a Walzl, 1982) a jsou tonotopicky uspořádané. Přímé zkoumání tonotopického uspořádání oblasti primární sluchové kůry u člověka je obtížné vzhledem k nepřístupnosti sluchové kůry, uložené v Heschlově závítu. Bylo doloženo jednak pomocí magnetoencefalografie, jednak studii pozitronové emisní tomografie (Lauter a kol., 1985; Zatorre a Belin, 2001), přesnější údaje o tonotopickém uspořádání přináší jednofotonová emisní tomografie (Ottaviani a kol., 1997). U člověka byla pomocí magnetické rezonance (hodnotící změny lokální perfuze) určena tonotopie sluchové kůry pomocí stimulace čistými tóny (Roland a kol., 1981; Talavage a kol., 2000).

Kromě tonotopického uspořádání existuje patrně ve sluchové kůře savců řada dalších map nebo projekcí. Je popsáno např. uspořádání odpovědí na různé frekvenčně a amplitudově modulované tóny (mohlo by se uplatnit při vnímání vokalizačních signálů), uspořádání vstupů z ipsi a kontralaterálního ucha (význam pro vnímání prostoru), reprezentace intenzity tónů ap. (Woolsey a Walzl, 1942; Woolsey, 1960).

Kromě těchto čistě sluchových oblastí jsou sluchové vstupy integrovány s jinými smyslovými vstupy v asociačních oblastech sluchové kůry.



Obr. 4: Schéma aferentní (plné čáry) a eferentní (čárkovaně) sluchové dráhy

Eferentní systém:

Sluchová kůra je také zdrojem descendentního (eferentního) systému (obr. 4). Mezi cílové oblasti eferentní projekce z mozkové kůry patří corpus geniculatum mediale (CGM), colliculus inferior, nucleus sagulum, nucleus ventralis corporis trapezoidei, oliva superior, nucleus cochlearis (Druga a Syka, 2001; Smith a Spirou, 2002)

K eferentní korové projekci patří kortikothalamická vlákna pyramidových buněk V. vrstvy a VI. vrstvy inervující CGM a **kortiko-kolikulární projekce z V. vrstvy sluchové kůry** končící v dorsálním jádře a externí kůře CI (Guillery, 1995; Saldana a kol., 1996; Druga a kol., 1997; Hefti a Smith, 2000). Elektrická stimulace některých oblastí CI vyvolá snížení amplitudy OAE, což svědčí o inhibiční funkci OHC (Popelář a kol., 2002).

Byla popsána i přímá vlákna ze sluchové kůry k neuronům laterální olivy superior, k neuronům mediální olivy superior, kochleárních jader a také k neuronům ventrálního jádra trapézového tělesa (Kuwabara, 1999; Schofield a Cant, 1999, Mulders a Robertson, 2000). Zvýšení či snížení odpovědi jednotlivých neuronů registrovaných v CI potkana při dočasném funkčním vyřazení sluchové kůry tetrodoxinem bylo pozorováno např. v práci Popelář a kol. (2003).

Eferentní projekce z CI dále pokračuje k **jádrům lemniscus lateralis, komplexu jader oliva superior** (Syka a kol., 1988b; Schofield a Cant, 1999) a kochleárním jádrům (Spangler a Warr, 1991).

Významnou a intenzivně studovanou součástí eferentního systému jsou olivokochleární eferentní projekce k vláskovým buňkám hlemýžďe - **mediální a laterální olivokochleární systém** (MOC a LOC, pro přehled viz Warr, 1992) nazvané podle umístění těl neuronů v oliva superior. Každý z obou systémů má zkříženou a nezkříženou projekci. Nervová zakončení LOC jsou v kontaktu s terminálními zakončeními výběžků buněk spirálního ganglia I. typu těsně pod jejich synapsí s vnitřní vláskovou buňkou. Jejich fyziologická úloha zatím není příliš jasná.

Neurony MOC tvoří synapse přímo s vnějšími vláskovými buňkami. Neurony MOC jsou u většiny druhů roztroušena ve střední a rostrální periolivární oblasti komplexu horní olivy. U potkanů, myší a morčat se většina neuronů MOC nachází ve ventrálním jádře trapézového tělesa. Přímým důsledkem stimulace MOC je cholinergní inhibice vnějších vláskových buněk. K inhibici dochází vlivem vstupu Ca^{2+} (acetylcholinovým receptorem prostupným pro ionty Ca^{2+}), což vede k otevření vápníkem řízených draslíkových kanálů a hyperpolarizaci buňky (Oliver a kol., 2000). Následná redukce pohybů bazilární membrány snižuje aktivitu vláken sluchového nervu a zužuje dynamický rozsah sluchu. Axony MOC vycházejí z dorzální strany komplexu oliva superior, zhruba 2/3 těchto vláken se kříží na spodině IV. komory, přikládají se k axonům LOC a stávají se součástí vestibulárního nervu. Při svém výstupu z mozkového

kmene vysílají MOC neurony kolaterály do oblastí CN s vysokým podílem granulárních buněk a do vestibulárního jádra. V oblasti křížení na spodině IV. komory jsou MOC a LOC vlákna snadno přístupná pro snímání aktivity i elektrickou stimulací.

Neurony MOC a jejich axony byly rovněž předmětem mnohých fyziologických studií *in vivo* a *in vitro*. Záznamy prováděné *in vivo* u koček a morčat (Robertson a Gummer, 1985; Liberman, 1988; Brown, 1989) ukazují, že MOC systém je aktivován monoaurálně (obvykle z téhož hlemýždě, který inervují), jejich odpovědi jsou pravidelné a mají vysoké prahy. I když neurony MOC jsou aktivovány pouze monoaurálně, hluk nebo tóny prezentované do druhostranného hlemýždě mohou aktivaci usnadňovat. Studie Browna a kol. (1998) ukázala, že neurony MOC mohou měnit svou dráždivost v závislosti na předcházejících podnětech. Toto zjištění by mohlo vysvětlovat, proč může mít elektrická nebo zvuková aktivace neuronů MOC protektivní účinek proti důsledkům následného vystavení hlasitému, zejména vysokofrekvenčnímu zvuku (Rajan a Johnstone, 1988; Liberman, 1991; Liberman a Gao, 1995; Rajan, 1995, 1996; Kujawa a Liberman, 1997).

Aktivace eferentních olivokochleárních vláken (kontralaterální akustickou stimulací či přímou elektrickou stimulací vláken nebo kontralaterálního okrouhlého okénka hlemýždě) mění amplitudu většiny kochleárních potenciálů a otoakustických emisí. Zatímco amplituda mikrofonního potenciálu je zvýšena, amplitudy ostatních potenciálů a otoakustických emisí jsou většinou potlačeny (Fex, 1959; Gifford a Guinan 1987; Liberman 1989; Puel a Rebillard 1990; Veuille a kol., 1991; Berlin a kol., 1993; Hood a kol., 1996; Popelář a kol., 1996, 1999, 2001). Na tomto poznatku je založena metoda pro testování funkce olivokochleárního svazku (Williams a kol., 1994; Giraud a kol., 1995).

Zatímco existuje mnoho experimentálních výsledků týkajících se funkce olivokochleárního svazku, úloha vyšších oddílů eferentního sluchového systému je mnohem méně prozkoumána. Podle současných názorů se descendentní projekce uplatňují při selektivním soustředění pozornosti, frekvenční selektivitě, kódování intenzity, lokalizace zvuku, porozumění řeči a rozeznávání tónů v šumu (Scharf a kol., 1987; Puel a kol., 1988; Rajan, 1990; Micheyl a Collet, 1996; Giraud a kol., 1997; Scates a kol., 1999; Mulders a Robertson, 2000; Popelář a kol., 2002)

1.2. Audiologické metody vyšetření sluchu u lidí

K vyšetřování sluchového systému u člověka se využívá dvou základních typů metod:

- **subjektivní metody**, které vyžadují aktivní spolupráci vyšetřovaného subjektu
- **objektivní metody**, které spočívají v uplatnění metod bez aktivní spolupráce vyšetřovaného subjektu.

Mezi zcela běžné subjektivní orientační vyšetřovací metody patří hodnocení sluchu pomocí sluchové zkoušky **řeči**, plným hlasem nebo šepotem. V audiologické praxi se stále využívá klasická **sluchová zkouška ladičkami**. Z původně většího počtu ladičkových zkoušek se používají dnes především čtyři: zkouška Weberova, Rinneho, Schwabachova a Gellého. Vyšetření ladičkami slouží v diferenciatní diagnostice percepční a převodní nedoslýchavosti (Sedláček, 1956; Syka, 1981; Novák, 1998, 2003).

1.2.1. Tónová audiometrie

K rutinním subjektivním audiometrickým vyšetřením se řadí audiometrické vyšetření tónovou audiometrií. **Tónová audiometrie** umožňuje stanovení citlivosti sluchu pro podněty určitých frekvencí, rutinně jsou užívány frekvence 125, 250, 500 Hz a 1, 2, 4, 6, 8 kHz. Je to metoda závislá na spolupráci pacienta a jeho reakcích, je tedy metodou subjektivní a behaviorální, stanovuje citlivost sluchu jen na vybraných frekvencích. V případě potřeby je vyšetření tónovou audiometrií doplněno nadprahovými testy. K těmto testům patří např. SISI test, test Luescher - Zwislocki, zkouška Langenbeckova, test prahu rozlišení intenzit a frekvencí (difference limen for intensity a difference limen for frequency). Princip těchto testů spočívá většinou v posouzení tzv. recruitment fenomenu (fenoménu vyrovnání hlasitosti) napomáhající při diferenciatní diagnostice kochleární a retrokochleární sensorineurální nedoslýchavosti.

Podrobnější vyšetření sluchových prahů může poskytnout **Békésyho audiometrie** s vysokým rozlišením – podnětem je tónový impuls, jehož frekvence se kontinuálně zvyšuje a na základě reakcí pacienta se též kontinuálně mění jeho intenzita. V klinické praxi bývá Békésyho audiometrie rutinně používána k zachycení recruitmentu a tedy kochleárního postižení. V některých studiích byl však zdůrazněn i význam testování s kontinuálně rostoucí frekvencí (tedy nejen na klasicky užívaných frekvencích) pro zachycení ohraničeného vzestupu prahu (West a Evans, 1990).

Důležitá je skutečnost, že vyšetření sluchového prahu, vychází z normalizované hodnoty prahu pro celou populaci (v tomto směru platí mezinárodní norma). Práh pro jednotlivé frekvence je vztažen k normalizované hodnotě prahu pro frekvenci 1 kHz, která činí 2×10^{-5} Pa, tj. 0 dB (Syka, 1981).

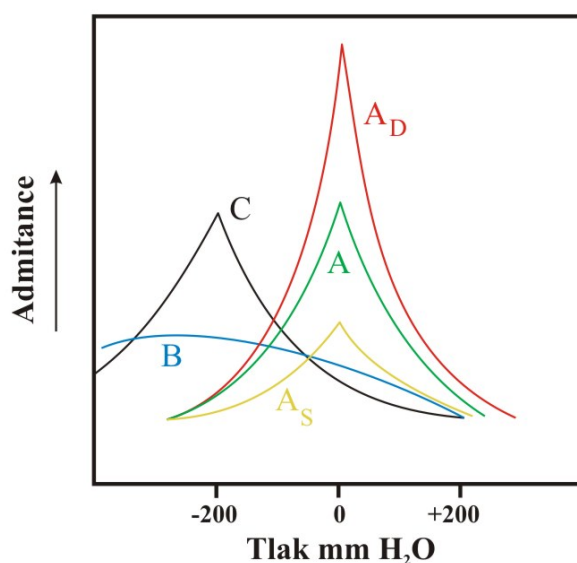
1.2.3. Slovní a řečová audiometrie

Slovní audiometrie umožňuje zhodnotit porozumění jednotlivým slovům. Vyšetřujeme srozumitelnost slov, která jsou uspořádána v sériích po desíti, tzv. dekádách. Dekády jsou foneticky vyvážené, slova jedno-, dvou- a tříslabičná jsou v nich zastoupena v poměru odpovídajícím jejich výskytu v českém jazyce (Seeman a kol., 1960). Existuje i varianta slovní audiometrie určená dětem (Novák, 1998, 2003). Při vyšetření stanovujeme práh slyšitelnosti, práh srozumitelnosti a sklon křivky závislosti srozumitelnosti na intenzitě podnětu.

Výsledky slovní audiometrie jsou často srovnávány s audiometrickými prahy na řečových frekvencích 0,5 kHz, 1 kHz a 2 kHz (Fletcher, 1929; Novák, 1998, 2003) nebo 0,25 kHz – 4 kHz (Strickland a kol., 1994).

1.2.4. Impedanční audiometrie – tympanometrie

Představuje měření **akustické admittance** za různých tlakových podmínek v zevním zvukovodu. Skládá se ze tří složek: tuhosti, hmoty a tření. **Tuhost systému** je dána objemem vzduchu v zevním zvukovodu a ve středoušní dutině, tuhostí bubínku a kloubního spojení středoušních kůstek. **Hmota** je dána hmotou středoušních kůstek, pars flaccida bubínku a perilymfou. **Tření** je způsobeno perilymfou, středoušní sliznicí, spojením středoušní dutiny se sklípkovým systémem a ligamentózním spojením sluchových kůstek. Měřený tlak je udáván v daPa (dekapascálech nebo v mm H₂O). Výsledkem měření akustické admittance je tympanometrická křivka - charakterizována vrcholem, gradientem a objemem zvukovodu. Výsledky jsou významné pro hodnocení stavu převodního systému (obr. 5).



Obr. 5: Klasifikace tympanometrických křivek podle Jerger/Liden (Jerger, 1970; Liden, 1969)

1.2.4. Vyšetření otoakustických emisí

Objektivní metodou hodnotící projevy aktivního pohybu vnějších vláskových buněk, a tím i jejich funkční stav, je snímání otoakustických emisí (OAE). Otoakustické emise jsou slabé zvuky kochleárního původu, které lze zaznamenat v zevním zvukovodu citlivým mikrofonem. Jsou s výhodou užívány jako screeningové vyšetření sluchu u novorozenců, uplatňují se v diferenciální diagnostice poruch sluchu (Kemp, 2002).

Hypotéza o existenci aktivních mechanismů uvnitř hlemýždě byla formulována Kempem koncem sedmdesátých let (Kemp 1978, 1979), kdy byly otoakustické emise chápány jako aktivně pozměněný odraz postupující vlny. Otázka do jaké míry a jakým způsobem se energie postupující vlny podílí na vzniku otoakustických emisí ještě není plně objasněna (Kemp, 1986; Rossi a kol., 1989; Fukazawa, 1992).

Intenzita otoakustických emisí je o 40-50 dB nižší než intenzita stimulujícího zvuku. OAE je však možno zaznamenat pouze v případě, že stimulující zvuk nemá vyšší intenzitu než cca 70 dB nad prahem sluchu (HL), kdy reflexně vybavený stah musculus stapedius snižuje přenos zvuku do vnitřního ucha. Otoakustické emise je možno modifikovat nervovým působením, působením některých chemických látek i působením střídavého elektrického proudu. Stimulací eferentního olivokochleárního svazku dochází k útlumu OAE. Rovněž po aplikaci ototoxicky působících antibiotik, zvláště ze skupiny aminoglykosidů a salicylátů dochází ke snížení OAE a zvýšení sluchového prahu u člověka a zvířat až o 40 dB.

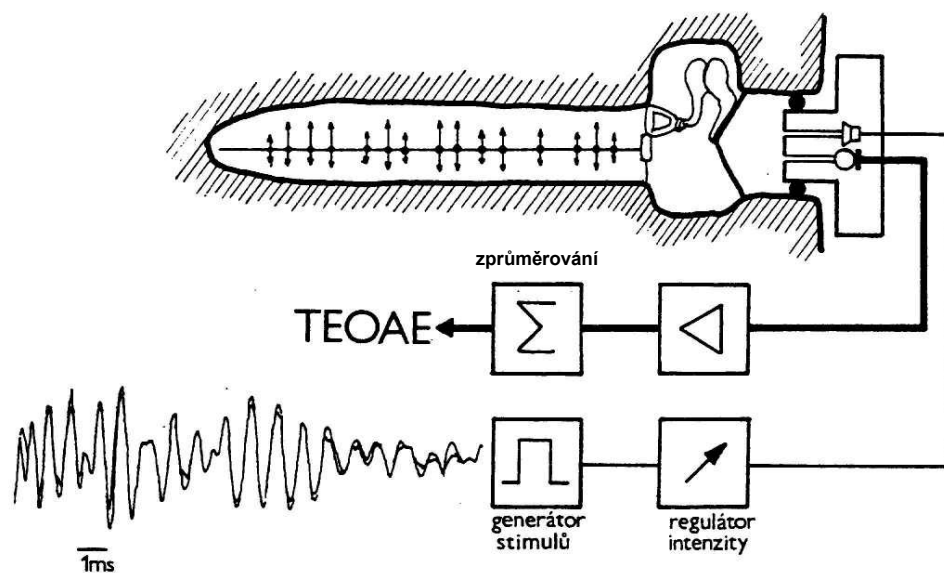
Emise, které vznikají spontánně, se nazývají *spontánní otoakustické emise* (spontaneous otoacoustic emissions, **SOAE**). SOAE jsou úzkopásmové akustické signály vznikající na základě aktivní pohyblivosti OHC (Dallmayr, 1985; Valvoda a kol., 1996; Vohr kol., 1993).

- Bývají frekvenčně velice stálé a výrazněji se nemění ani v průběhu několika let
- Jejich výskyt je spojen s fyziologickým sluchovým prahem (nebo naopak mohou být vyvolány určitým poškozením sluchu – hlukem, ototoxickými látkami)
- Lze je zaznamenat u 40 – 70% normálně slyšících lidí.
- SOAE se častěji vyskytují u žen než u mužů
- Kmitočet SOAE se u lidí pohybuje ve frekvenčním rozsahu 0,5 – 10 kHz
- Amplituda je –10 dB až 20 dB SPL.
- SOAE se vyskytují jako mono nebo multifrekvenční emise
- Lze je ovlivnit zevními vlivy, především zvukem o frekvenci blízké spontánní emisi. Dochází k jejich oslabení, vymizení, fázovému posunu, synchronizaci

Po zvukové stimulaci vznikají *evokované otoakustické emise* (evoked otoacoustic emissions, **EOAE**):

SFOAE (stimulus frequency otoacoustic emissions) – emise, vznikající synchronně s frekvencí stimulujícího tónu s nízkou hladinou intenzity. Jejich praktický význam je malý.

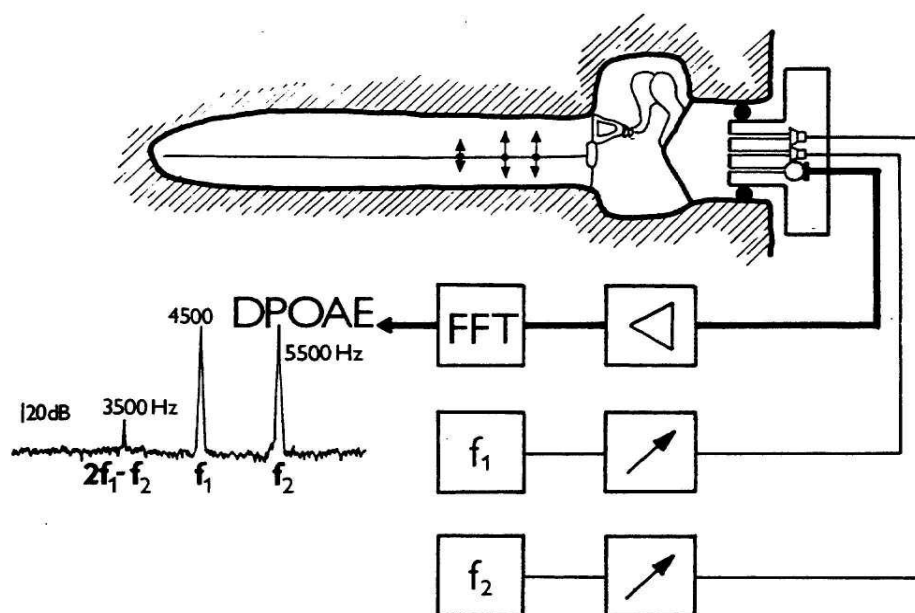
TEOAE (transiently evoked otoacoustic emissions) - transientně evokované otoakustické emise (obr. 6) – jako reakce na akustickou stimulaci krátkým podnětem, nejčastěji širokopásmovým klikem, („click – evoked OAE“) (Kemp, 1998). Protože akustický klik obsahuje široké spektrum frekvencí, mají i TEOAE komplexní charakter. Odpověď začíná několik milisekund po prezentaci stimulu (u člověka asi 2,5 ms) a má celkové trvání kolem 20 ms. Latence zaznamenávaných TEOAE vypovídají o cestě, kterou musí absolvovat zvukové vlnění k dosažení specifického místa podél ductus cochlearis a k opětovnému návratu (Gelfand, 1997). Otoakustické emise lze registrovat již v prvních hodinách po narození, maximum však kolem 3.- 4. dne života (Bonfils a kol., 1988; Bonfils a kol., 1990; Richardson a kol., 1995; Robinette a kol., 1997). U většiny novorozenců nejsou emise výbavné v kmitočtech do 1 kHz. Amplituda odpovědi je přibližně o 10 dB vyšší než u dospělých. Odpověď je prakticky v celém frekvenčním rozsahu. Po svém objeviteli se též označují jako Kempova echa (Kemp a kol., 1990).



Obr. 6: Schéma registrace TEOAE podle Kempa

DPOAE (distorsion product otoacoustic emissions) – distorzní produkty otoakustických emisí (obr. 7) jsou vyvolány simultánním působením dvou čistých tónů o různých frekvencích f_1 , f_2 (Kemp, 1998). Obecně intermodulační zkreslení dvou tónů o frekvencích f_1 a f_2 produkuje ve vnitřním uchu tzv. kombinační tóny, které je možno registrovat ve vnějším uchu.

Nejvyšší hodnoty DPOAE bývají naměřeny pokud je poměr frekvencí f_2/f_1 okolo 1,2 a použité frekvence jsou v rozsahu 1 - 4 kHz. Je rovněž výhodné, aby intenzita f_2 převyšovala f_1 o 10 – 15 dB (i když se běžně používají stejné intenzity). Nejintenzivnější naměřená DPOAE svou frekvencí odpovídá vzorci $2f_1 - f_2$ (tzv. kubický diferenční tón), nižší hodnotu mají kombinace ostatní (např. $3f_1 - 2f_2$, $2f_2 - f_1$, $3f_2 - 2f_1$). DPOAE jsou méně citlivé k normálnímu sluchovému prahu než TEOAE. Uplatňují se spíše v monitorování a výzkumu než ve screeningu sluchových vad.



Obr. 7: Schéma registrace DPOAE podle Kempa

Otoakustické emise nejsou vybavitelné v těchto případech:

1. Kochleární postižení – kongenitální, hypoxie, ototoxická antibiotická terapie atd.
2. Nefyziologický nález ve středouší – amniová tekutina, zánětlivý výpotek, hemotympanon atd. (Uziel, 1991).
3. Blokáda zevního zvukovodu – cerumen, vernix caseosa, detritus epitelíí zvukovodu, kolaps zvukovodu u některých novorozenců etc.
4. Kombinovaná nedoslýchavost.

1.2.5. Objektivní audiometrie

Objektivní audiometrie hodnotí sluch na základě snímání sluchových evokovaných odpovědí. Sluchové evokované odpovědi – akustické evokované potenciály - vznikají ve smyslových buňkách a šíří se jako nervový vzruch po sluchové dráze. Jsou definovány jako *elektrické* projevy mozkové aktivity, které mají pevný časový vztah k definovaným zvukovým stimulům (Mjoen a kol., 1981; Valvoda a Bareš, 1993; Novák, 1997). Lze je zaznamenat pomocí elektrod umístěných na povrchu hlavy.

Jejich význam spočívá v možnosti:

1. objektivně vyšetřit funkci sluchu
2. lokalizovat případnou poruchu sluchu v průběhu sluchové dráhy

Podle latence se evokované potenciály rozdělují do pěti hlavních skupin :

Skupina	Latence [ms]	Používané zkratky
1. Časné	1 - 4	ECoG
2. Rychlé	2 - 10	ABR, BAEP, BERA
3. Střední	10 - 50	MLR, MAEP
4. Pomalé	50 - 250	LAEP, CERA
5. Pozdní	nad 250	LLC

Význam zkratk je uveden v seznamu na str. 4.

Ke zvýraznění elektrických odpovědí se využívá metoda zprůměrnění. Zprůměrněním určitého množství odpovědí se zvýší poměr amplitudy odpovědi a amplitudy šumu pozadí. Velikost tohoto poměru je přímo úměrná počtu opakování.

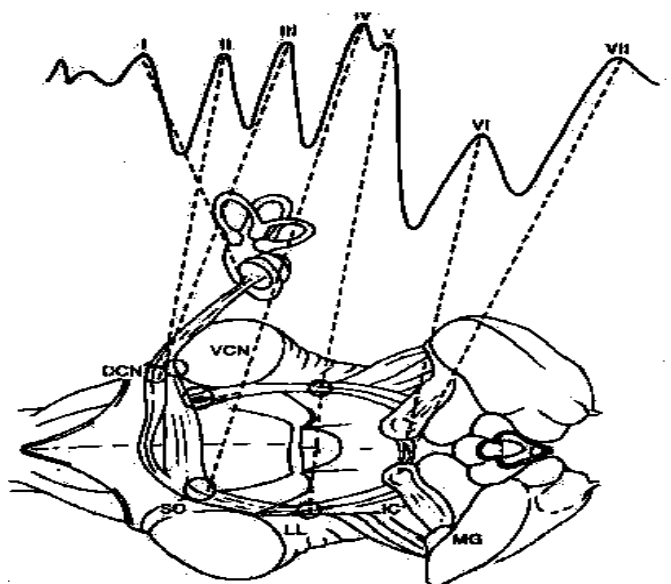
1.2.5.1. Kmenové sluchové evokované potenciály

BERA (brainstem evoked response audiometry) (Obr. 8) - snímání a hodnocení kmenových evokovaných potenciálů patří mezi rutinně užívané metody objektivní audiometrie. Širokospektrý nebo filtrovaný klik vytvořený generátorem akustických stimulů je přiváděn do stimulačního sluchátka. Akustické evokované potenciály ABR jsou snímány pomocí dvou

aktivních elektrod umístěných na obou mastoidálních výběžcích a pomocí jedné indiferentní elektrody umístěné na čele. Standardní postup užívá zprůměrnění odpovědi na 2000 podnětů (frekvence opakování 20/s, okénko 20 ms). Podnětem jsou filtrované kliky (1, 2 nebo 4 kHz, v neurologii zejména nefiltrované kliky).

Latence jednotlivých vln ABR se pohybuje v rozpětí 1,5-15 ms po doznění stimulu. Standardně je podle Jewetta a kol. (2004) hodnoceno 5 vln: I. (latence 1,5-1,9 ms) odpovídá aktivitě sluchového nervu, II. (2,8-3,0 ms) odpovídá aktivitě sluchového jádra, III. (3,5-4,1 ms) odpovídá aktivitě oliva superior, IV. a V. (4,3-5,2 a 5,1-5,9 ms) odpovídají aktivitě colliculus inferior. VI. a VII. vlna odpovídají vyšším podkorovým strukturám. V rámci BERA se nehodnotí. Pozdější studie však ukázaly, že jednotlivá jádra nepřispívají pouze do jedné vlny ABR (Starr a Hamilton, 1976; Møller a Burgess, 1986; Kaga a kol., 1997).

Hodnocení ABR záznamu kromě opakovatelnosti odpovědi a tvaru komplexu vln se provádí především podle latence a amplitudy odpovědi.



Obr. 8: Komplex vln ABR – vztah ke sluchové dráze

1.2.5.2. Korové sluchové evokované potenciály

V závislosti na délce časového okna registrace odpovědi a nastavení filtrů hodnotit následující potenciály vyvolané akustickou stimulací:

Odpovědi se střední latencí (middle latency responses) – **MLR**. Zahrnují typický komplex tří pozitivních a dvou negativních vln o celkovém trvání kolem 60 ms. První hodnocená negativita Na (latence 18-20 ms) je považována za projev aktivity v talamu (Hall a Müller, 1997), ostatní vlny jsou způsobeny aktivitou v primárních i sekundárních oblastech sluchové kůry (Yvert a kol., 2001).

Pomalé sluchové korové odpovědi – které zahrnují sekvenci: P1 (P60 či P70 dle délky latence), N1 (N100), P2 (P160) a N2 (N200). **CERA** (Cortical Evoked Responses Audiometry) - snímání korových evokovaných potenciálů, užívané zejména ve foniatrii a pedaudiologii, zvláště při vyšetření zpracování řečového signálu (Rosanowski a kol., 1996). Jako stimulus jsou používány čisté tóny, kde je kromě frekvence a intenzity definována přesně doba náběhu, doba trvání a doba doběhu. Pro speciální účely se používají podněty komplexní, slova nebo šum. Mezi sluchové korové odpovědi s dlouhou latencí jsou zařazovány: vlna P 300, komplex N 400 a P 500, T komplex a tzv. „mismatch negativity“ (MMN, která je obrazem detekce změny v podnětu).

1.3. Vyšetření sluchové funkce u experimentálních zvířat

Hodnocení sluchového systému experimentálních zvířat je možné hodnotit na základě behaviorálních a elektrofyziologických metod, tympanometrie a vyšetření otoakustických emisí.

1.3.1. Behaviorální testy

Behaviorální metody pro hodnocení sluchové funkce u zvířat jsou analogické psychoakustickým metodám používaným při vyšetřování lidí (Kelly a Masterton, 1977; Heffner a kol., 1994; Syka a kol., 1996).

Podle teorie ruského fyziologa I. P. Pavlova můžeme působit na zkoumaný subjekt podnětem a zaznamenáme jeho reakci. Podnět, který vyvolává odezvu svojí povahou, nazávisle na vůli subjektu, nazval Pavlov *podnět nepodmíněný*. Druhý podnět je zprvu neutrální, když je opakovaně podáván současně s nepodmíněným podnětem získává podnětovou účinnost. Takový podnět se nazývá *podmíněný*.

Behaviorální metody využívané pro hodnocení stavu sluchového systému u experimentálních zvířat jsou založeny jednak na registraci **nepodmíněných reflexních reakcí**, při kterých se zaznamenávají reflexy na zvuky o vysoké intenzitě (např. úleková reakce, škrbnutí ušních boltců při tzv. Preyerově reflexu, mrknutí), jednak na trénování zvířete reagovat na určitý zvuk využitím **podmíněných reakcí**. Použití podmíněných metod vyžaduje trénink zvířat na základě jejich dostatečné motivace, během kterého neutrální zvukový stimul získává signální význam. To se dosahuje negativním nebo pozitivním posílením daného stimulu. Pozitivním posílením bývá obvykle umožnění přístupu k vodě nebo k potravě u zvířat se sníženým příjmem vody nebo potravy. Negativním posílením bývá mírný elektrický šok

v případě nesprávné reakce na zvuk. Využitím podmíněných reakcí u zvířat je možné měřit sluchový práh, prahy rozlišení frekvence a intenzity zvukových podnětů, prahy detekce nebo rozlišování pauzy v šumu nebo v tónu apod. (pro přehled Syka a kol., 2002).

1.3.1.1. Behaviorální metody s pozitivním posílením

Pozitivním posílením rozumíme odměnu, za kterou se zvíře naučí na signální stimul reagovat. Zvíře vyvíjí určitou aktivitu (např. mačká na tlačítko) pokud je dostatečně motivováno dostat odměnu. K pokusu se využívají zvířata s omezeným přístupem k potravě nebo tekutinám, u kterých je dostatečná motivace pro získání odměny (Syka a kol., 1996; Syka a kol., 2002; Rybalko a Syka, 2005).

1.3.1.2. Behaviorální metody s negativním posílením

V případě **negativního posílení** je stimul spojen s trestem. Využívá se většinou mírný elektrický šok. Tento přístup je založen na metodě vyhýbání se (*avoidance*), kdy je zvíře trénováno, aby příslušně zareagovalo na zvukový stimulus, jinak je potrestáno např. elektrickým šokem (Rybalko a Syka, 2005; Wetzel a kol., 2008)

1.3.2. Impedanční audiometrie - tympanometrie

Pro vyšetření středouší u experimentálních zvířat se používají stejné tympanometry jako pro vyšetření středouší u lidí. Vzhledem k malému objemu vnějšího zvukovodu jsou však výsledky velmi variabilní, a proto se toto vyšetření používá u zvířat jen ojediněle, pouze pro specifický účel. Dle dostupných zdrojů existuje specificky u potkanů pouze jedna studie využívající měření vlastností akustické impedance středního ucha (Geal-Dor a kol., 1997).

1.3.3. Vyšetření otoakustických emisí

Podobně jako u člověka je možné otoakustické emise snímat i u experimentálních zvířat. Jednotlivé živočišné druhy se však mírně liší ve vybavitelnosti jednotlivých typů otoakustických emisí. Zatímco u některých druhů hlodavců (např. morčata, králíci) jsou výrazné TEOAE i DPOAE. U potkanů jsou TEOAE měřitelné pouze u mladých jedinců (s malou amplitudou), zatímco DPOAE jsou často výrazné a využívány k hodnocení sluchové funkce u tohoto druhu hlodavců (Khvoles a kol., 1996, 1998; Sockalingam a kol., 2000; Hatzopoulos a kol., 2002a,b, Franklin a kol., 1991; Lund a kol., 2001; Pouyaos a kol., 2002).

Podobně jako snímání ABR je i vyšetření otoakustických emisí prováděno u zvířat v lehké anestézii.

1.3.4. Elektrofyziologické metody

Hodnocení sluchu **elektrofyziologickými metodami** je téměř totožné s **elektrofyziologickými metodami** využívanými při vyšetření sluchu u lidí (Cooper a kol., 1990; Overbeck a Church, 1992).

Při záznamu vyvolaných odpovědí z mozkového kmene (ABR) jsou elektrody umístěny na povrchu hlavy, nejčastěji se používají podkožní jehličkové elektrody. ABR snímané u experimentálních zvířat mají většinou jen 5 vln (na rozdíl od 7 vln u lidí), mají kratší latenci a dominantní vlna s největší amplitudou bývá 3. vlna. Snímání ABR je využíváno hlavně pro určení sluchového práhu zvířete ve formě tzv. ABR audiogramu. Při tomto postupu jsou zvířeti zaváděny zvukové podněty buď přímo do zvukovodu zvířete nebo jsou stimuly prezentovány ve volném poli z reproduktoru umístěného před zvířetem. Zvukovými podněty bývají krátké tóny o trvání 3-5 ms s pomalu narůstající náběžnou a sestupnou hranou (1 ms). ABR jsou zaznamenávány na podněty s klesající intenzitou a práh odpovědi je určen jako poslední intenzita podnětu kdy je ještě ABR rozlišitelná od šumu. Vzhledem k širšímu frekvenčnímu rozsahu sluchu u experimentálních zvířat v porovnání s člověkem (zvláště do vysokých frekvencí) je sluchový práh zvířat hodnocen podněty dosahujícími velmi vysokých frekvencí (např. u potkanů 40-64 kHz). Pro omezení svalových artefaktů je často vyšetření ABR prováděno v lehké anestézii.

V experimentech na zvířatech se také využívá snímání střednělatentních potenciálů (MLR), které vznikají v korových a podkorových akustických strukturách mozku. MLR u experimentálních zvířat se většinou registrují z elektrody umístěné přímo na sluchové kůře mozku. U člověka se MLR snímají jen ojediněle vzhledem k velké závislosti potenciálů na úrovni bdělosti subjektu. Proto je u člověka častěji snímána dlouholatentní odpověď z mozkové kůry – CERA.

1.4. Změny sluchové funkce během postnatálního vývoje

1.4.1. U experimentálních modelů

1.4.1.1. Kmeny altriciálních zvířat užívané k výzkumu změn sluchu

Podobně jako sluch u lidí, i sluch experimentálních zvířat podléhá změnám v průběhu stárnutí (Syka, 2002). Změny pozorované v průběhu stárnutí jsou variabilní mezi jednotlivými druhy i v rámci jednoho živočišného druhu. Jedním z nejlépe popsáných modelů presbyakuze je pískomil mongolský (*Meriones unguiculatus*), jehož sluchový rozsah je srovnatelný s lidským (maximální citlivost na frekvenci okolo 4 kHz) (Mills a kol., 1997; Schmiedt a kol., 1990, 1996; Boettcher a kol., 1993, 1995; Adams a Schulte, 1997).

Pro toxikologické, neurologické a behaviorální studie (včetně studia sluchu) se používají potkani kmene Long-Evans - jsou to outbrední, černobílí potkani, zavedeni do výzkumu v roce 1915 dr. Longem a dr. Evansem jako kříženci několika bílých samic Wistar s divokým šedým samečkem. Staří potkani Long-Evans vykazují malou sluchovou ztrátu, snížení dočasných schopností zpracování (snížení schopností temporálního zpracování) a tendenci k vzestupu hodnot difference limen pro frekvenci a prahů pro detekci pauzy – gap.

Přestože délka života zvířat je většinou kratší než délka lidského života, je výzkum změn sluchu zvířat během jejich stárnutí časově náročný. K těmto věkovým studiím se proto používají rychleji stárnoucí kmeny mutantních potkanů nebo myší. Jedním z těchto experimentálních zvířat užívaným k výzkumu změn sluchové funkce během stárnutí je geneticky uniformní kmen myší C57BL/6J (C57). U tohoto kmene myší bylo prokázáno, že počátek vzniku sluchových ztrát začíná již ve věku kolem 3. měsíce (Willott, 1996a,b; Willott a kol., 1988a,b, 1993; Mc Fadden a Willott, 1994a,b; Walton a kol., 1998). Nevýhodou tohoto experimentálního modelu je však skutečnost, že sluchová křivka C57 myší je ve vztahu k lidskému audiogramu posunuta o několik oktáv výše, s maximem citlivosti okolo 16 kHz (Mikaelian, 1979; Henry a Chole, 1980).

Ve studiích specializovaných na biochemické aspekty presbyakuze jsou užíváni potkani Fischer 344 či kříženci Fischer 344 x Norway F1 (Milbrandt a kol., 1994, 1996; Palombi a Caspary, 1996a,b,c; Wong a kol., 1998). Od svého zavedení v roce 1920 je inbrední kmen potkanů F344 široce využíván jak pro studium stárnutí, tak v toxikologii a v onkologickém výzkumu. U starých zvířat se objevuje kromě jiných poruch degenerace struktur hlemýžďe spojená se zvýšením sluchového prahu (Simpson a kol., 1985; Keithley a kol., 1992).

Experimentální modely však mají pro studium presbyakuze u člověka jen omezený význam, protože neumožňují studovat problém sníženého porozumění řeči. Jsou však důležité

pro výzkum základních mechanismů vzniku a vývoje presbyakuze a pro hledání možností její prevence.

1.4.1.2. Histopatologické změny kochley v souvislosti se stárnutím

Charakteristickou morfológickou změnou u presbyakuze studované na experimentálních zvířatech je úbytek vláskových buněk (Willott, 1986; Li a Borg, 1991). Ztráta postihuje OHC i IHC (percentuální podíl poškozených OHC je vyšší) a začíná v bazálním závitě hlemýždě (v oblasti vysokých frekvencí) a progreduje podél bazilární membrány. Ztráta vláskových buněk je provázána ztrátou buněk spirálního ganglia (Willott, 1991).

Anatomické a funkční důsledky stárnutí byly popsány i u živočichů s větší průměrnou délkou života, než mají myši či potkani, - u morčat (studie do věku 5 let) a činčil (do věku 19 let). U morčat nebyl pozorován žádný významný úbytek vláskových buněk bazálního ani středního závitě hlemýždě starých zvířat (Ingham a kol., 1999), byl však zjištěn významný úbytek ve všech řadách OHC v apikálním (nízkofrekvenčním) závitě (do 20%), s maximem úbytku ve třetí řadě. Úbytek těchto buněk odpovídal zmenšení počtu gangliových buněk v oblasti apexu (Covell a Rogers, 1957). Kmenové evokované potenciály sice zaznamenaly významné zvýšení prahů (Dum a von Wedel, 1983; Ingham a kol., 1998), změny byly ale klasifikovány jako důsledky převodní sluchové ztráty (Ingham a kol., 1998). Ztráty IHC byly v mnoha případech provázány poškozením neuronů spirálních ganglií (Bohne a kol., 1990). Ztráty IHC i OHC v bazální a apikální oblasti se odrazily i v poklesu DPOAE a malým, avšak významným, zhoršením sluchové citlivosti (měřené pomocí evokovaných potenciálů), kde byly ztráty na vysokých frekvencích výraznější nežli na nízkých frekvencích (McFadden a kol., 1997).

1.4.1.3. Změny v neuronální aktivitě

Kromě kochleárních změn se na zhoršení sluchu při presbyakuzi mohou podílet též změny centrálních částí sluchového systému. Například u C57 myši byly popsány změny aktivity neuronů v CI (Willott, 1984, 1986). Tato studie byla později doplněna měřením aktivity jednotlivých neuronů a skupin neuronů v kochleárním jádře a ve sluchové kůře (Willott a kol., 1991, 1993). Ve sluchové kůře byly zjištěny principiálně podobné změny jako v CI, tj. s postupujícím věkem byla charakteristická frekvence téměř všech neuronů sluchové kůry v pásmu středních frekvencí. Naproti tomu u neuronů ventrálního jádra NC nebyla pozorována zvýšená citlivost ke středním frekvencím. Plastické změny byly tedy popsány pouze ve vyšších částech sluchového systému (centrálněji od nucleus cochlearis).

Palombi a Caspary ve svých elektrofyziologických studiích srovnávali odpovědi jednotlivých neuronů CI na kontralaterální a binaurální akustickou stimulaci ve skupinách mladých a starých potkanů Fischer 344. U starých jedinců (Palombi a Caspary, 1996a) zjistili větší procento neuronů špatně reagujících na podnět, snížení maximální frekvence akčních potenciálů, zvýšení procentuálního zastoupení neuronů reagujících na začátek podnětu („onset response units“). Naproti tomu nepozorovali žádné rozdíly ve spontánní aktivitě, latenci vrcholu prvního akčního potenciálu, dynamickém rozsahu. I přes sníženou GABA-ergní inhibici ve skupině starých potkanů (Palombi a Caspary, 1996b) se binaurální interakce hodnocená na základě odpovědí jednotlivých neuronů CI na binaurální podněty v obou skupinách významně nelišila. Obdobné výsledky byly uvedeny i pro neurony komplexu jader oliva superior (Finlayson a Caspary, 1993), což nasvědčuje tomu, že binaurální interakce nemusí být procesem stárnutí významně ovlivněna.

1.4.1.4. Změny ve výskytu mediátorů

Četné studie se zabývaly otázkou snížení GABA-ergní inhibice ve sluchovém systému během stárnutí. V CI potkanů Fischer 344 bylo popsáno snížení GABA imunoreaktivních neuronů, snížené bazální koncentrace GABA, změny GABA receptorů (Caspary a kol., 1990, 1995, 1999; Milbrandt a kol., 1994). V NC potkanů Fischer 344 byl zjištěn významný pokles vazby [³H] strychninu, což je odrazem sníženého zastoupení strychnin-senzitivních glycinových receptorů (Milbrandt a Caspary, 1995). U myši C57 a CBA byly s rostoucím věkem popsány rovněž změny kalbindinu a kalretininu v CI (Zettel a kol., 1997). U potkanů kmene Fischer 344 a kmene Long-Evans byl v colliculus inferior, sluchové kůře a zrakové kůře prokázán stárnutím způsobený pokles GAD (glutamát dekarboxylázy), klíčového enzymu pro syntézu GABA (Burianová a kol., 2008).

1.4.2. Lidský sluch a jeho změny během vývoje

Manželé Elliotovi (1960) prokázali, že u člověka začíná kochlea vnímat zvuky již po dvacátém týdnu gravidity. Johanssen (1960) registroval změny tepové frekvence embrya v reakci na tóny, vysílané přes břišní stěnu matky, nejméně 4 měsíce před porodem. A již při narození je dítě schopno rozlišovat hlas své matky (De Casper a Fifer, 1980). Na této diskriminační schopnosti se zřejmě podílí akustická zkušenost v prenatálním období.

Člověk má nejlepší sluch při narození a později se postupně zhoršuje v závislosti na dědičných a vnějších faktorech.

1.4.2.1. Vrozená těžká porucha sluchu u dětí

Vrozená ztráta sluchu má celosvětově frekvenci asi 1-1,3:1000, resp. 1:700 (Cohen a kol., 1995; Fortnum a kol., 1997). Časná porucha sluchu u dětí může být buď získaná jako následek pre- či perinatálního poškození, infekce, krvácení, ototoxických látek a nebo podmíněná geneticky. Poměr získaných a genetických příčin na vrozených nesyndromických ztrátách sluchu byl dříve udáván různými autory 1:1, resp. 50% : 50% (Cohen a kol., 1995).

Většina - až 80 % genetických forem ztrát sluchu - se řídí autosomálně recesivním (AR) typem dědičnosti (Bussoli a kol., 1998), tedy zdraví - slyšící rodiče mají jedno či více neslyšících dětí i různého pohlaví. Mnohem vzácnější jsou u ztrát sluchu autosomálně dominantní formy s 15 % a vzácné X-chromozomální se 2-5 % a mitochondriální formy - 1 % (Bussoli a kol., 1998).

Ztráta sluchu může být sdružena s jinými vadami do velkého počtu různých genetických syndromů například Waardenburgův syndrom, osteogenesis imperfecta, syndrom Treacher-Collins s autosomálně dominantním typem dědičnosti (AD), Usherův a Hurlerův syndrom s autosomálně recesivním typem dědičnosti (AR) a Alportův syndrom s X-chromozomálním typem dědičnosti. V tomto případě jde o tzv. syndromální ztrátu sluchu. Mnohem častěji se však ztráta sluchu vyskytuje bez dalších poruch u pacienta, jako tzv. nesyndromální ztráta sluchu. Pokud je ztráta sluchu přítomna již před rozvojem řeči, jde o prelinguální ztrátu sluchu, a pokud nastane porucha či ztráta sluchu až po rozvoji řeči, je označována jako postlinguální.

Pro detekci a přesné potvrzení geneticky podmíněné ztráty sluchu jsou kromě vyloučení získaných příčin nezbytná molekulárně genetická vyšetření. Časná detekce ztráty sluchu u dítěte je zásadní pro úspěšnou léčbu a volbu příslušného rehabilitačního postupu.

V současné době je známo již více než 30 různých chromozomálních lokusů zodpovědných za AR syndromové poruchy sluchu a v nich je známo 10 genů, jejichž mutace vedou k AR nesyndromové ztrátě sluchu (AR NSHL).

Až u poloviny (30-50%) pacientů s prelinguální nesyndromovou AR ztrátou sluchu lze prokázat mutace v genu GJB2, protein connexin 26 (Cx26) (Seeman a kol. 2004; Rabionet a kol., 2000; Loeffler a kol., 2001; Gabriel a kol., 2001). Tento gen leží na chromozomu 13q12 v lokusu typ ztráty sluchu je označován jako DFNB1 (Kelsell a kol., 1997).

Connexiny jsou skupinou membránových proteinů, tvořících hexamerní connexony, které vytvářejí mezibuněčná propojení charakteru kanálů, tzv. gap-junction (Paul, 1995; Bruzzone a kol., 1995). Connexiny tvoří důležitý systém intercelulární komunikace, zásadní pro výměnu malých molekul či iontů (White a kol., 1995). U savců je známo na 13 genů pro

connexiny (Kumar a kol., 1992; Kumar a kol., 1996) a mutace v některých z nich vedou i u člověka k některým ze známých onemocnění (Seeman a kol., 2000; Seeman a kol., 2004).

Cx26 hraje zřejmě důležitou roli pro recirkulaci draselných iontů z podpůrných vláskových buněk vnitřního ucha zpět do endolymfy (Spicer a kol., 1996).

Molekulárně genetická vyšetření GJB2 genu jsou u českých pacientů prováděna ve dvou fázích. V první fázi je každý pacient nejprve vyšetřen na přítomnost nejčastější mutace, tedy 35delG, která je opakovaně popisována jako nejčastější příčina geneticky podmíněné vrozené ztráty sluchu v evropské populaci (Seeman a kol., 2004; Loeffler a kol., 2001; Gabriel a kol., 2001) a v české populaci tvoří téměř 83 % všech patogenních mutací/alel (Seeman a kol., 2004).

Ve druhé fázi se u neslyšících pacientů, kteří nejsou homozygoti pro 35delG provádí sekvenování celého kódujícího úseku GJB2 genu. Spektrum a frekvence mutací v GJB2 genu v české populaci neslyšících zjistil a popsal Seeman a kol. (2004) a tyto výsledky jsou dnes využívány pro efektivní a cílenou rutinní DNA diagnostiku u pacientů s časnou nesyndromovou ztrátou sluchu v ČR.

1.4.2.2. Porucha sluchu během stárnutí (presbyakuze)

Stařecká nedoslýchavost – presbyakuze je zhoršování sluchu u starších osob během stárnutí. Na vznik a průběh presbyakuze mají vliv jak vnitřní tak vnější faktory. Z vnějších faktorů je nejvýznamnější působení hluku, působení ototoxických látek, působení infekcí. Mezi vnitřní faktory patří hlavně genetická výbava každého jedince a působení toxických metabolitů.

Pomalou progredující atrofie neuroepitelu při stárnutí organismu se pokládá za fyziologické opotřebování. Defekty neuroepitelu se nehojí mitózami smyslových buněk, ale reparativně tj. náhradou tvarově i funkčně méněcennými elementy. V histologickém obraze je zřetelná numerická atrofie nejen vláskových, ale i gangliových buněk, zejména v prvním závitě hlemýždě. Stria vascularis atrofuje a v jednotlivých buňkách se obecně zvyšuje množství lipofuscinu. Tak vzniká trvalý patologický stav. Pro vznik a vývoj patologických stavů má význam i to, že kochlea má terminální krevní zásobení; a. labyrinthi je konečná artérie bez anastomóz.

Při diabetu mellitu vede k postižení sluchového ústrojí mikroangiopatie s **poruchou mikrocirkulace**. Degenerují gangliové buňky v dolní a střední části modiolu a stria vascularis. Při kretenismu se kromě poruch ve středním uchu nalezne atrofie až úplné vymizení Cortiho orgánu. Při poruchách krevního zásobení (embolie, trombóza) záleží na lokalizaci a stupni uzávěru.

Anatomické a elektrofyziologické změny u člověka s presbyakuzí jsou podobné změnám popsaným u experimentálních zvířat (Willott, 1991). Ztráta IHC typicky postihuje bazální závit hlemýžďe, zatímco ztráta OHC postihuje rozsáhlejší oblast a šíří se až k apexu. Úbytek OHC je větší nežli úbytek IHC. Mezi další degenerativní změny patří nepravidelnosti stereocilií vláskových buněk (např. obří stereocilie).

Spolu se ztrátou vláskových buněk dochází též ke zmenšení počtu neuronů spirálního ganglia, zániku jejich dendritů i axonů sluchového nervu. Degenerace aferentního systému probíhá ve větším rozsahu nežli degenerace eferentního systému. U jedinců se závažnou ztrátou sluchu bylo popsáno významné zmenšení velikosti neuronů NCV (Moore a kol., 1994).

Výsledky elektrofyziologických studií stárnoucího sluchového systému odpovídají popsaným morfologickým změnám. Dochází k poklesu amplitudy akustického reflexu i k poklesu amplitud sluchových kmenových potenciálů (ABR), lehkému prodloužení latencí vln ABR, a v některých případech i ke zvýšení amplitud odpovědí se střední latencí (MLR) při větších intenzitách podnětu (což je pravděpodobně známkou snížené inhibice v centrálním sluchovém systému) (Woods a Claywort, 1986).

Četné studie popisují vzestup sluchového prahu progredující s věkem (Arlinger, 1990; Takeda a kol., 1992, Espmark a kol., 2002; Wang a kol., 2002). U jedinců bez poškození sluchu v důsledku patologických mechanismů nedochází s věkem k významným změnám prahů pro nižší frekvence, avšak vnímání frekvencí vysokých je významně narušeno (pro přehled viz Willott, 1991). U mužů dochází ke vzestupu sluchového prahu na vysokých frekvencích v nižším věku než u žen (Takeda a kol., 1992; Pearson a kol., 1995). U žen byly na frekvencích nad 1 kHz zaznamenány nižší sluchové prahy než u mužů, naopak na nižších frekvencích byly jejich prahy vyšší (Pearson a kol., 1995; Parving a kol., 1997).

Pro patologické změny na úrovni vláskových buněk je typický tzv. „recruitment“ fenomen (přírůstek intenzity je vnímán jako disproporčně větší přírůstek hlasitosti nežli při intaktních vláskových buňkách). Recruitment bývá přítomen jen u 20-50% jedinců s presbyakuzí (Willott, 1991). S postupující progresí sluchové ztráty dochází rovněž ke zhoršení rozlišování frekvence zvukových podnětů (Willott, 1991). Spolu se sluchovou ztrátou se snižuje i schopnost rozlišení časových parametrů, kterou lze hodnotit pomocí vyšetření detekce pauzy v akustickém signálu. Zhoršení schopností detekovat pauzu však bylo pozorováno rovněž u starších osob se zchovalým sluchem – při srovnávání skupin starších a mladých dobrovolníků s odpovídajícími sluchovými prahy byly prahy detekce pauzy ve skupině starších zhruba o 30% vyšší (Snell, 1997; Strouse a kol., 1998; Schneider a Hamstra, 1999, Mazelová a kol., 2003). Co se týče schopnosti prostorově lokalizovat zdroj zvuku na základě interaurálního časového posunu, byly ve skupině starších jedinců s klinicky normálním sluchem ke správné lokalizaci

zdroje zvuku nutné větší interaurální časové rozdíly ve srovnání s odpovídající skupinou mladých (Strouse a kol., 1998).

Schuknecht a Gacek (1993) rozlišují 4 následující typy presbyakuze:

- senzorická presbyakuze: vzniká v důsledku atrofie epitelu Cortiho orgánu se ztrátou smyslových vláskových buněk a podpůrných buněk. Proces začíná na bázi hlemýždě a pomalu postupuje směrem k apexu. Tyto změny odpovídají náhlému vzestupu sluchového prahu na vysokých frekvencích, ke kterému dochází ve vyšším věku. Prudký sklon audiogramu začíná zprvu ve frekvencích vyšších nežli jsou frekvence řeči, proto je porozumění řeči zprvu zachováno. Histologický nález atrofie se může omezovat jen na několik prvních milimetrů basálního závitů hlemýždě. V průběhu času dochází k pomalé progresi nálezu.

- metabolická (striální) presbyakuze: je důsledkem atrofie stria vascularis. To má za následek sluchovou ztrátu charakterizovanou plochou audiometrickou křivkou se zvýšením sluchových prahů na všech frekvencích, protože je postižen celý hlemýžď. Rozlišení řeči je zachováno. K takovýmto změnám dochází u lidí 30-60 letých, progredují pomalu a jejich výskyt bývá familiární, přičemž rozlišení řeči je zachováno.

- mechanická (převodní) presbyakuze: je způsobená ztluštěním a druhotným ztuhnutím basilární membrány hlemýždě. Ztluštění větší měrou postihuje bazální závit, kde je membrána úzká. To odpovídá postupně se zvyšujícímu sluchovému prahu s rostoucí frekvencí. Postižení progreduje pomalu. Práh porozumění řeči odpovídá audiometrickému prahu na řečových frekvencích.

- neurální presbyakuze: je následkem atrofie nervových buněk v ganglion spirale cochleae a jádrech v průběhu sluchové dráhy. Podle odhadů Schuknechta (Schuknecht a Gacek, 1993) dochází každých 10 let ke ztrátě asi 2100 neuronů (z celkového počtu 35000). Až do vyššího věku probíhá latentně, protože k posunu audiometrického prahu pro čisté tóny dochází až při úbytku 90% neuronů. K atrofii dochází po celé délce hlemýždě, bazální části jsou jen lehce postiženější nežli zbytek Cortiho orgánu. Proto na audiogramu nepozorujeme se stoupající frekvencí tónů prudký vzestup prahů. Výrazným klinickým projevem neurální presbyakuze je nepoměrně závažnější zhoršení v porozumění řeči než by odpovídalo konkrétním průměrným prahům pro čisté tóny (ve frekvencích běžné řeči), které lze pozorovat ještě předtím, nežli se objeví změny na tónovém audiogramu, protože pro vnímání čistých tónů je dostačující účast méně neuronů nežli pro porozumění řeči.

2. CÍLE PRÁCE

I. Studium změn sluchové funkce během postnatálního vývoje potkana

- Srovnání věkem podmíněné změny sluchových funkcí u potkanů kmene Fischer 344 (v literatuře označovaného za kmen s urychleným stárnutím sluchového systému) a u pigmentovaných potkanů kmene Long-Evans na základě měření sluchových prahů, sluchových evokovaných potenciálů, záznamu otoakustických emisí a měření středoušní admitance s cílem poznání příčin vzniku sluchové ztráty během stárnutí u potkanů kmene Fischer 344.
- Porovnání audiometrických parametrů zjištěných u obou kmenů potkanů s morfologickým stavem vnitřního ucha hodnoceným podle počtu poškozených vláskových buněk.

II. Studium změn sluchové funkce během postnatálního vývoje u člověka

- Studium změn sluchové funkce během dospívání dětí a mladistvých s cílem stanovit standard normální sluchové úrovně v jednotlivých věkových skupinách a zjistit počátek případného zhoršování sluchu v závislosti na věku.
- Studium možných změn audiometrických parametrů u dětí a mladistvých trpících tinnitem různé etiologie

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Věkem podmíněné změny sluchové funkce kochley a mozkového kmene u potkanů kmene Fischer 344 jsou shrnuty v následujících publikacích:

Popelář J, Groh D, Mazelová J, Syka J (2003) Cochlear function in young and adult Fischer F344 rats. Hear Res 186: 75-84.

Popelář J, Groh D, Pelánová J, Canlon B, Syka J (2006) Age-related changes in cochlear and brainstem auditory functions in Fischer 344 rats. Neurobiol Aging, 27: 490-500.

3.1. Materiál a metody

Akustická měření byla prováděna ve zvukotěsné a bezdozvukové místnosti. Stěny a strop uvnitř místnosti byly pokryty kužely z materiálu absorbujícího zvuk; útlum byl 55 dB na 250 Hz a 60-70 dB na frekvencích kolem 500 Hz.

3.1.1. Zvířata

Záznamy sluchových kmenových odpovědí (ABR) a otoakustických emisí byly provedeny u 23 samčích potkanů inbredního albinotického kmene Fischer 344 (F344) a u 25 potkanů kmene Long-Evans (21 samců, 4 samice). Potkani F344 byli testováni opakovaně několikrát během svého života, a to v rozmezí od jednoho do tří měsíců až do 21 měsíců věku. Vyšetření sluchové funkce u potkanů Long-Evans bylo provedeno u několika skupin zvířat v rozmezí od jednoho do 30 měsíců věku. Potkani F344 byli získáni z Charles River Deutschland (Charles River Wiga GmbH, Sulzfeld, Germany); potkani Long-Evans byli získáni ze zvěřince Fyziologického ústavu AV ČR.

3.1.2. Záznam kmenových potenciálů ABR

Měření byla provedena u potkanů v lehké anestézi po aplikaci intramuskulární injekce ketaminu (Calypsol, Gedeon Richter Ltd) v dávce 38 mg/kg tělesné hmotnosti a xylazinu (Sedazine, Fort Dodge) v dávce 5 mg/kg tělesné hmotnosti. Potkani byli umístěni na vyhřívací podložku udržující automaticky tělesnou teplotu na 38°C. Pohyby hlavy byly omezeny malým kroužkem přes nos zvířete a fixovanými zuby v držáku hlavy. ABR byly zaznamenávány u narkotizovaných zvířat ze tří nerezových jehličkovitých elektrod, umístěných v podkoží nad vertexem (pozitivní elektroda) a nad pravým a levým mastoidem zvířete (elektroda negativní a zemnicí). Signál z elektrod byl zesílen diferenciálním zesilovačem WPI DAM 60 (filtry 300 Hz – 3 kHz, zesílení 80 dB) a zpracován systémem TDT (Tucker-Davis Technologies, Gainesville, FL; 16-bit A/D převodník, vzorkovací frekvence 25 kHz) podporovaným programem BioSig.

Pro záznam ABR byly zvukové stimuly generovány TDT systémem řízeným počítačem a reprodukovány ve volném poli prostřednictvím dvou reproduktorů (hlubokotónového Tesla ARN 5614 a vysokotónového Motorola KSN-1005) umístěnými 70 cm před zvířecí hlavou. Při měření ABR byla zvířata stimulována kliky (byly generovány střídajícími se monopolárními elektrickými impulsy o trvání 100 μ s) s opakovací frekvencí 11 Hz a klesající intenzitou po 5 dB krocích. Ke stanovení sluchových prahů (ABR audiogramů) bylo použito tónových podnětů - (trvání 5 ms) v rozsahu od 1 do 32 kHz s krokem 1 oktáva. Odpovědi byly získány

zprůměrněním odpovědí na 500 zvukových podnětů. Sluchový práh na každé frekvenci byl vizuálně stanoven snižováním intenzity stimulu od nadprahové úrovně po 5 dB krocích k dosažení právě detekovatelné odpovědi.

U starších potkanů, u kterých vyšetření otoakustických emisí ukázalo rozdíly odpovědí mezi jedním a druhým uchem, byly ABR audiogramy měřeny odděleně v každém uchu zvlášť. K tomuto účelu byly zvukové podněty sice prezentovány ve volném poli, ale jedno ucho bylo maskováno širokopásmovým šumem (o intenzitě 40-50 dB SPL) zavedeným do vnějšího zvukovodu z piezoelektrického stimulátoru, takže ABR odpovědi byly vyvolány stimulací pouze vyšetřovaného ucha.

3.1.3. Záznam DPOAE

Zvířata byla vyšetřována pomocí analyzátoru otoakustických emisí ILO 96 (Otodynamics Ltd) s novorozeneckou H-sondou používající plastický adaptér k upevnění sondy v zevním zvukovodu. DPOAE byly měřeny v každém uchu zvířete zvlášť.

DPOAE na kombinační tóny $2f_1-f_2$ DPOAE byly měřeny při použití dvou primárních tónů, f_1 a f_2 (poměr $f_2/f_1 = 1,22$), o úrovních $L_1 = 60$ dB SPL a $L_2 = 50$ dB SPL. DP-gramy (funkce závislosti DPOAE na frekvenci stimulu f_2) byly zaznamenány ve frekvenčním rozsahu 1 – 6,3 kHz s krokem 4 body na oktávu.

3.1.4. Tympanometrie

K měření středoušní compliance, objemu vnějšího zvukovodu, sklonu tympanometrické křivky a středoušního tlaku byl použit ruční impedanční audiometr MT 10 (Interacoustics, Denmark). Frekvence testovacího tónu byla 226 Hz, amplituda 85 dB SPL, rozsah tlaku tympanometru od -300 do +200 daPa, rychlost pumpy 250-350 daPa/s.

3.1.5. Histologické zpracování hlemýždě vnitřního ucha

Na závěr pokusu byli potkani usmrceni předávkováním narkotika (Pentobarbital Spofa, 200 mg/kg i.p.) a akustické buly byly vypreparovány. Oválné okénko každého hlemýždě bylo perforováno a hlemýžď umístěn do fixačního roztoku (10% roztok formalinu). Před vlastní preparací byl hlemýžď opláchnut pufovacím roztokem (PBS), jemně propláchnut fixačním roztokem (PBS + 10% paraformaldehyd se solným roztokem pufovaným fosfátem, pH 7,4)

přes okrouhlé okénko. Poté byl hlemýžď vystaven působení 0,3% Triton X-100 na 10 min, opláchnut PBS a na 45 min umístěn do fluoresceinem označeného phalloidinu (TRITC, tetramethylrhodamine isothiocyanate conjugate) (1:100) (Molecular Probes, USA) a opláchnut několikrát v PBS. TRITC - konjugovaný phalloidin výrazně barví vláknitý aktin ve stereociliích a kutikulární vrstvě vláskových buněk, a proto jsou vláskové buňky snadno identifikovatelné.

Z každého hlemýždě byl vyjmut Cortiho orgán po 1/2-3/4 závitů a umístěn na mikroskopické podložní sklíčko v Citi-flour mediu, překryt krycím sklíčkem a vše slepeno neon-fluorescentním lepidlem. Vnitřní a vnější vláskové buňky byly počítány mikroskopem Zeiss Axiovert vybaveným olejovým imerzním objektivem se 40 násobným zvětšením. Množství přítomných a chybějících vláskových buněk v každém 0,25 mm řezu bylo zaznamenáno a zakresleno do kochleogramu, který zobrazuje procento poškozených vláskových buněk v závislosti na umístění na basilární membráně.

3.1.6. Protokol pokusu

Před vyšetřením byl každý potkan narkotizován, položen na vyhřívanou podložku a jeho hlava byla upevněna do držáku. Vnější a střední ucho bylo otoskopicky vyšetřeno na přítomnost cerumina, tekutin nebo infekce. Do vnějšího zvukovodu byla zavedena sonda ILO a byly naměřeny DPOAE. Posléze byla sonda ILO upevněna v protilehlém uchu a byl zopakován stejný postup. Následně byly registrovány ABR při stimulaci tóny v rozsahu frekvencí od 1 do 32 kHz. Na závěr vyšetření bylo postupně v obou uších provedeno tympanometrické měření. Anestézie byla účinná 1 hodinu a postačovala k provedení všech vyšetření.

3.1.7. Statistické vyhodnocení dat

Rozdíly ve sluchových prazích mezi věkovými skupinami na každé frekvenci byly testovány dvouvýběrovým t-testem se signifikantní úrovní jednotlivých testů upravených podle Bonferoniho korekce. K otestování rozdílů mezi ABR audiogramy a úrovněmi DPOAE mezi kmeny potkanů F344 a Long-Evans v jednotlivých frekvenčních pásmech byl použit nepárový t-test. Souvislost mezi tympanometrickými parametry, prahy ABR a hodnotami DPOAE byly testovány korelačním testem. Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno za použití softwaru GraphPad Prism 4.

3.2. Výsledky

Sluchová funkce každého potkana F344 byla opakovaně monitorována během jeho života od mládí (jednoho nebo tří měsíců věku) do stáří (21 měsíců věku). Pro histologické vyšetření kochley, byli použiti usmrcení potkani kmene F344 ve věku 22 měsíců. U potkanů Long-Evans byla sluchová funkce měřena v jednotlivých věkových skupinách zvířat starých 1, 6, 12, 24 a 30 měsíců.

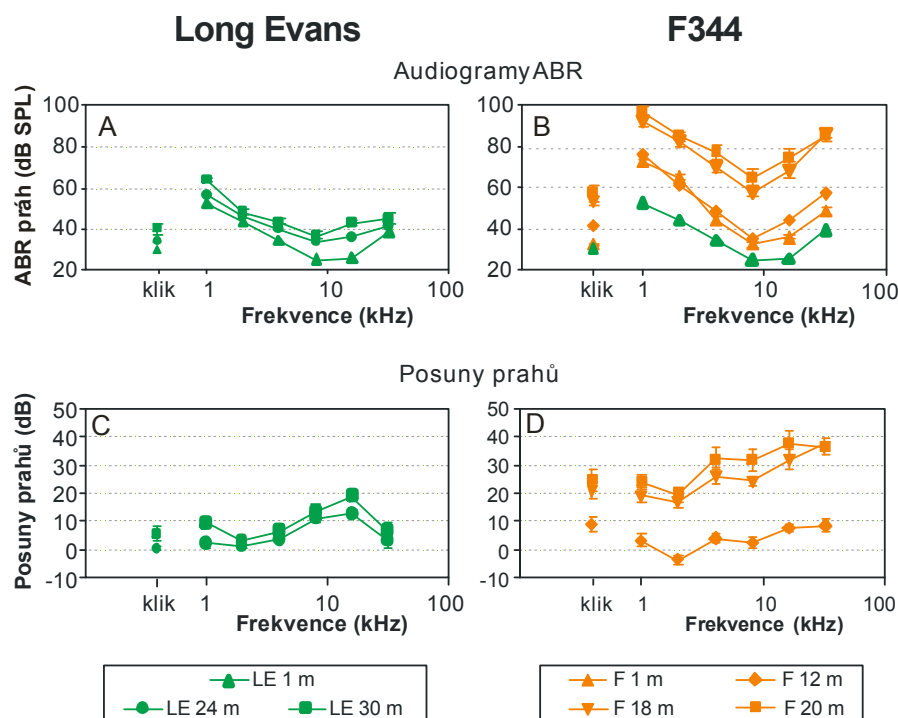
3.2.1. Audiogramy ABR

Na obrázku 9 jsou ukázány průměrné sluchové prahy (ABR audiogramy, obr. 9A, B) a posuny prahů (obr. 9C, D) u potkanů Long-Evans a F344 v závislosti na věku. Mladí, jednoměsíční, potkani Long-Evans (LE 1m, obr. 9A) vykazovali nejlepší sluch mezi 8 a 16 kHz; na nižších a vyšších frekvencích byl práh ABR vyšší. Průměrné ABR audiogramy u potkanů kmene Long-Evans ve věku 24 a 30 měsíců byly posunuty k vyšším intenzitám. Posuny prahu v závislosti na věku (obr. 9C) byly na nízkých frekvencích velmi malé (méně než 10 dB na frekvencích 1-4 kHz) a větší na vyšších frekvencích (nejvyšší hodnota 19 dB na 16 kHz u 30 měsíčních potkanů Long-Evans).

Průměrný audiogram ABR byl u jednoměsíčních potkanů F344 v porovnání s mladými potkany Long-Evans (F 1m, obr. 9B) přibližně o 20 dB vyšší na nízkých frekvencích (1-2 kHz, $p < 0,001$) a o 5 až 10 dB vyšší na středních a vysokých frekvencích (4-32 kHz, $p < 0,05$). Sluchové prahy u dospělých (12 měsíčních) potkanů F344 se výrazně zvýšily (o 5-7 dB) na vysokých frekvencích (16 kHz a 32 kHz, $p < 0,001$). U potkanů F344 starších 12 měsíců (ve věku 18 a 20 měsíců) bylo přítomno v celém frekvenčním rozsahu významné zhoršení sluchových prahů. Na obr. 9D jsou na jednotlivých frekvencích a v jednotlivých věkových kategoriích ukázány průměrné posuny prahů. U 12 měsíčních potkanů F344 se posuny prahů lišily od ± 3 dB na nižších frekvencích do téměř 10 dB mezi 16 a 32 kHz a podobaly se posunům prahů u 2 letých potkanů Long-Evans. Průměrné posuny prahů u nejstarších, 20 měsíčních potkanů F344 se však pohybovaly od 20-23 dB na nízkých frekvencích do 38 dB na frekvencích od 16 a 32 kHz.

Údaje uvedené na obr. 9B a D byly získány zvukovou stimulací z volného pole, což znamená, že představují prahové hodnoty citlivějšího ucha. Avšak u poloviny potkanů F344 starších 12 měsíců se ukázaly signifikantně významné ($p < 0,05$) oboustranné rozdíly v prazích. Byly proto testovány jednotlivé uši (tzn. zvukový podnět přicházel z volného pole, ale jedno ucho bylo maskováno širokopásmovým šumem). Oboustranné rozdíly na několika

frekvencích dosahovaly často 10-20 dB. Průměrné posuny prahů v jednotlivých uších mohou být tudíž dokonce vyšší než průměrné posuny prahů uváděné během oboustranné stimulace.



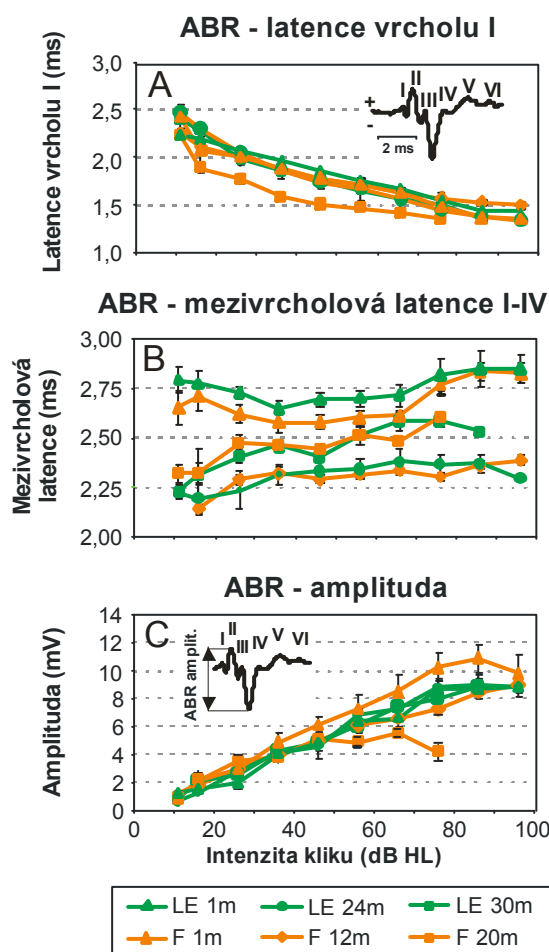
Obr. 9: Průměrné sluchové prahy (audiogramy ABR) a posuny prahů u mladých a starých potkanů kmene Long-Evans (A, C) a F344 (B, D). Průměrný audiogram ABR u jednoměsíčních potkanů kmene LE je pro srovnání zobrazen zelenou barvou v panelu B. Úsečky představují střední chybu průměru (\pm SEM).

3.2.2. Klikem vyvolané ABR

Na obr. 10 je znázorněna závislost parametrů ABR na intenzitě podnětů vzhledem k sluchovému prahu (dB HL) u jednotlivých věkových skupin potkanů. U obou kmenů potkanů F344 a Long-Evans byl tvar klikem evokovaných ABR téměř stejný (vložené schéma v obr. 10A). ABR se skládalo z pěti pozitivních vrcholů z oblasti vertexu, označených I až V.

Latence I. vrcholu zpravidla klesala se zvyšující se intenzitou podnětu (latence ABR byla snížena o 2 ms jako korekce času nutného pro šíření zvuku od reproduktoru k uchu). Průměrné křivky závislosti latence I. vrcholu na intenzitě podnětu (obr. 10A) byly téměř totožné ve všech věkových kategoriích potkanů u potkanů Long-Evans (zeleně). Průměrná křivka závislosti latence I. vrcholu na intenzitě podnětu u 20 měsíčních potkanů F344 klesala mnohem rychleji než u mladších potkanů F344. Latence I. vrcholu byla na středních nadprahových intenzitách u 20 měsíčních potkanů F344 signifikantně kratší než u mladších potkanů F344 nebo u potkanů Long-Evans jakékoliv věkové kategorie ($p < 0,001$). Mezivrcholové latence (celkové trvání odpovědi měřené mezi vrcholem I a vrcholem IV,

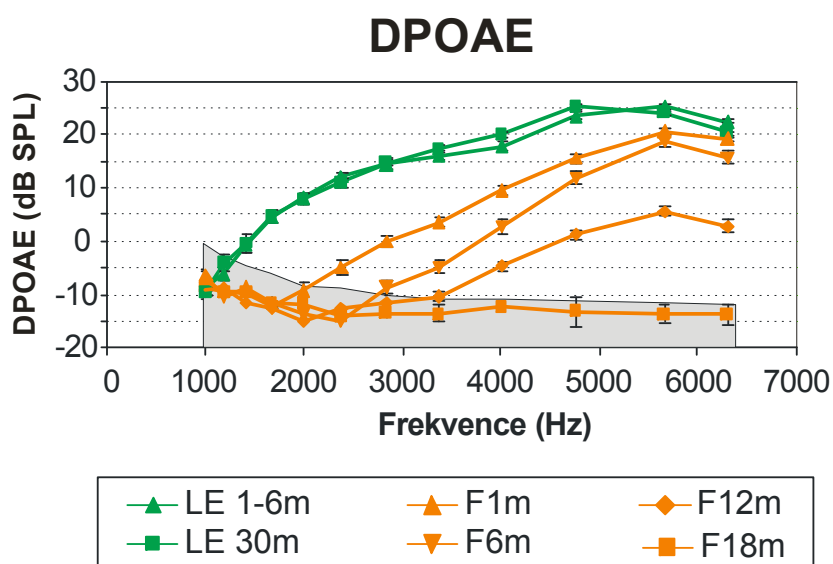
obr. 10B) u nejmladších potkanů (ve věku jednoho měsíce) kmene Long-Evans a F344 byly signifikantně delší než u starších zvířat ($p < 0,01$). Latence se však měnily s věkem rychleji u potkanů kmene F344 než u kmene Long-Evans. Mezivrcholové latence měřené u 12 měsíčních potkanů kmene F344 byly srovnatelné s hodnotami u 24 měsíčních potkanů kmene Long-Evans a mezivrcholové latence u 20 měsíčních potkanů kmene F344 byly srovnatelné s hodnotami u 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans. Amplitudy ABR byly měřeny jako rozdíl mezi pozitivními hodnotami vrcholu II a negativními hodnotami mezi vlnami III a IV (viz vložené schéma na obr. 10C). Zatímco průměrné amplitudy ABR byly u potkanů kmene Long-Evans ve všech věkových kategoriích téměř shodné, u potkanů kmene F344 klesaly maximální amplitudy ABR průběžně během jejich života (obr. 10C). U 20 měsíčních potkanů kmene F344 dosáhl průměr maximálních amplitud ABR méně než poloviny hodnot naměřených u jednoměsíčních potkanů kmene F344. Tyto výsledky ukazují, že na rozdíl od potkanů Long-Evans se u potkanů F344 objevují v průběhu stárnutí výrazné změny i v latenci a amplitudě sluchových vyvolaných odpovědí z mozkového kmene.



Obr. 10: Věkem podmíněné změny parametrů ABR u potkanů kmene Long-Evans a kmene F344 v závislosti na intenzitě kliku nad sluchovým prahem (dB HL). Úsečky představují střední chybu průměru (\pm SEM). Vložená schémata v panelech A a C ukazují tvar ABR a princip vyhodnocení amplitudy ABR.

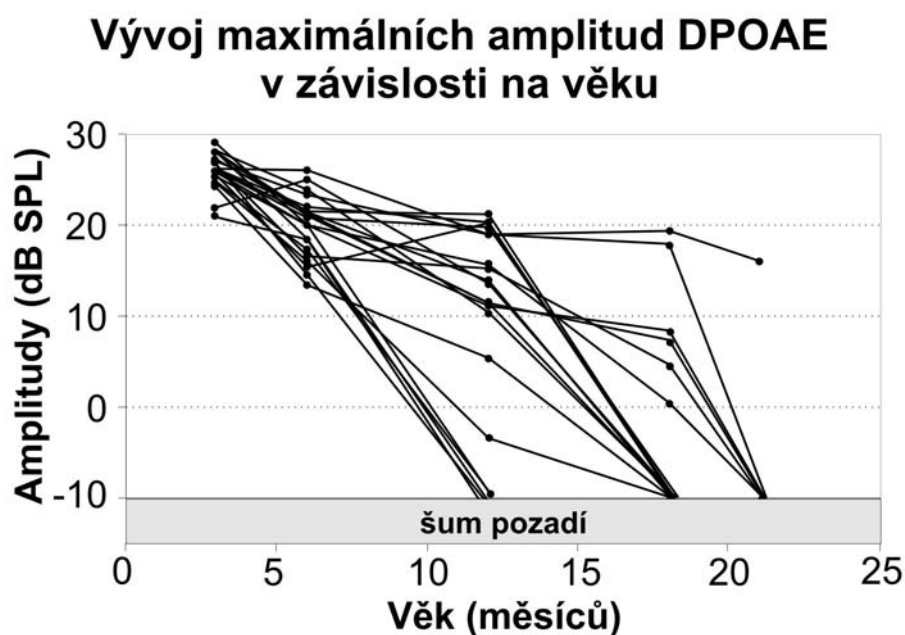
3.2.3. Distorzní produkt otoakustických emisí

Amplitudy DPOAE stoupaly u všech zvířat spolu se stoupající frekvencí podnětu. Tvar DP-gramu (závislost amplitudy DPOAE na frekvenci stimulu) byl uniformní a typický pro jednotlivé kmene potkanů. Na obr. 11 jsou zobrazeny průměrné DP-gramy u potkanů různého stáří kmene F344 a Long-Evans. Průměrné DP-gramy u potkanů kmene Long-Evans (zeleně) překročily úroveň pozadí šumu na frekvencích vyšších než 1-1,5 kHz a dosáhly plateau (s maximálními výchyly 20-30 dB SPL) obvykle na frekvenci 5,6 kHz. U potkanů kmene Long-Evans se amplitudy DPOAE vlivem stárnutí neměnily. Průměrné DP-gramy byly téměř shodné u tříměsíčních i 30 měsíčních potkanů Long-Evans. U potkanů kmene F344 amplitudy DPOAE (oranžově) při stárnutí klesaly (v protikladu k potkanům kmene Long-Evans). U tříměsíčních potkanů kmene F344 nebyly DPOAE měřitelné na frekvencích nižších než 2–2,5 kHz. Na vyšších frekvencích amplitudy rychle stoupaly a dosáhly maximálních hodnot na stejných frekvencích jak tomu bylo u potkanů kmene Long-Evans (na úrovni 22–29 dB SPL). U šestiměsíčních potkanů kmene F344 byly DPOAE měřitelné až od frekvence 2,8 kHz a amplitudy DPOAE byly snižené v celém frekvenčním rozsahu. Měření u potkanů kmene F344 ve věku 12 měsíců odhalilo v jednotlivých uších velké rozdíly amplitud DPOAE. U poloviny 12 měsíčních potkanů kmene F344 (9 z 18) byly DPOAE výbavné pouze v jednom uchu, zatímco v opačném uchu zcela chyběly. U zbývajících devíti potkanů DPOAE buď v obou uších chyběly (n = 3) nebo byly v obou uších symetrické (n = 6). Tyto změny se s věkem dále prohlubovaly a u 18 měsíčních zvířat už nebyly DPOAE měřitelné v celém frekvenčním rozsahu.



Obr. 11: Průměrné DP-gramy u různě starých potkanů kmene Long-Evans a F344. Šedé pole představuje DPOAE pozadí šumu. Úsečky představují střední chybu průměru (\pm SEM).

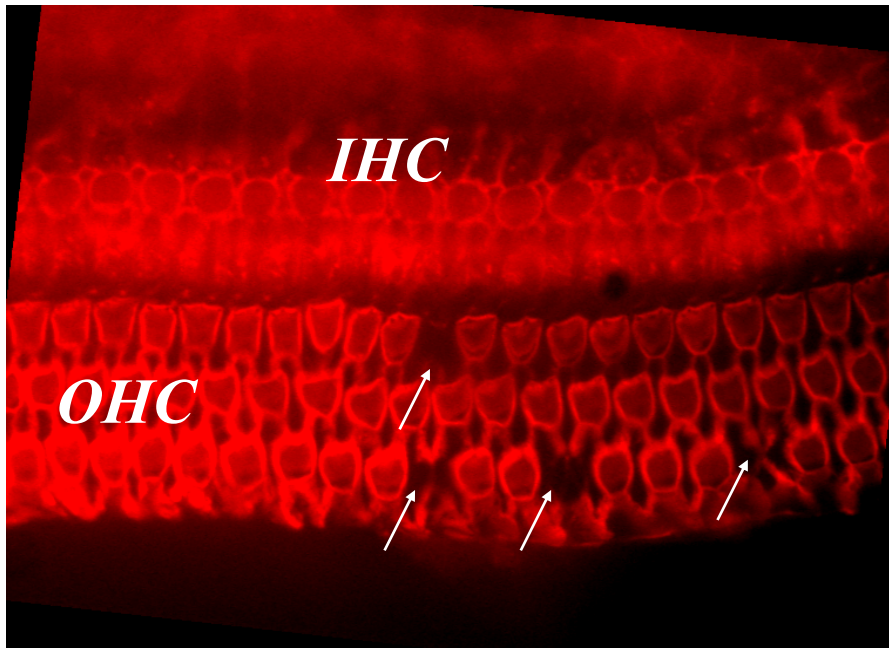
Na obr. 12 jsou zachyceny maximální amplitudy DPOAE měřené u 9 potkanů F344 (18 uší) na frekvenci 5,6 kHz. Křivky demonstrovaly časový průběh změn DPOAE v jednotlivých uších v závislosti na věku. U tříměsíčních potkanů F344 dosáhly maximální amplitudy DPOAE ve všech uších velmi rovnoměrných hodnot, v rozsahu mezi 22-29 dB SPL. U starších zvířat začaly amplitudy DPOAE klesat téměř lineárně, v jednotlivých uších s odlišným průběhem. Rychlejší pokles byl přítomen v mladém věku, dřívější vymizení DPOAE u staršího zvířete. U hodnocených zvířat nebyly měřitelné DPOAE v šesti uších ve věku 12 měsíců, ve 12 uších ve věku 18 měsíců a v 17 uších ve věku 20 měsíců. V jednom případě byly DPOAE ještě měřitelné ve 22 měsících věku a měly poměrně vysoké amplitudy.



Obr. 12: Časový průběh maximálních amplitud DPOAE v jednotlivých uších potkanů kmene F344.

3.2.4. Ztráta vláskových buněk

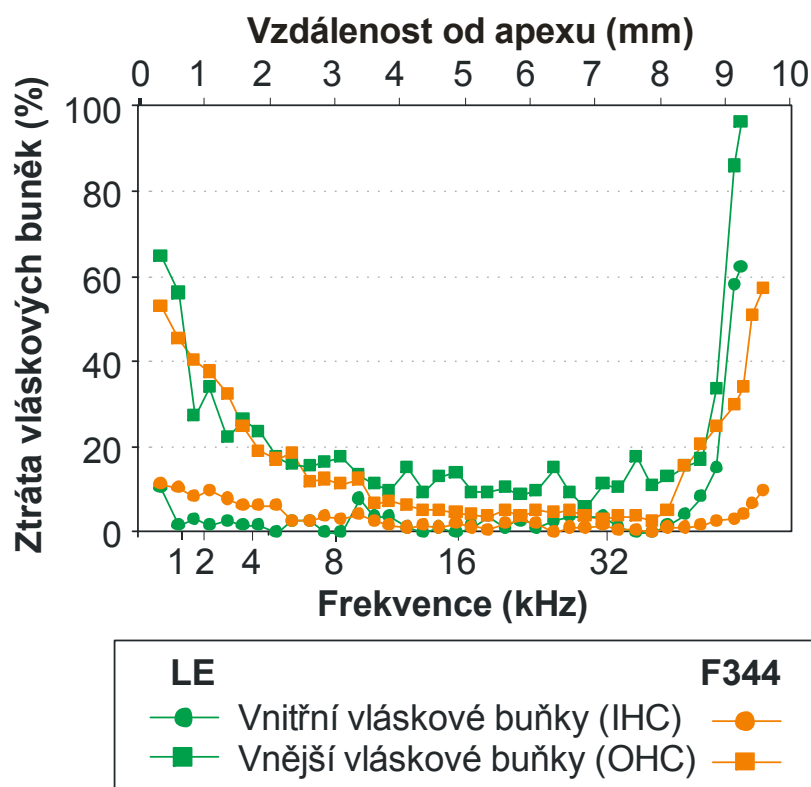
Při preparaci kochley bylo provedeno vyšetření středouší u všech zvířat. Dva jedinci s jednostranným středoušním zánětem, u kterých bylo střední ucho naplněno sekretem, nebyli zahrnuti do dalšího vyhodnocení. U ostatních nebyla zjevná patologie.



Obr. 13: Příklad histologického plošného preparátu vláskových buněk z 2. závitů hlemýždě potkana F344.

Ztráta vláskových buněk v Cortiho orgánu byla hodnocena u dvanácti uší 22 měsíčních potkanů kmene F344 a u čtyřech uší 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans. Příklad histologického plošného preparátu vláskových buněk z 2. závitů hlemýždě potkana F344 je zobrazen na obr. 13, kde je zřejmé, že IHC jsou bez poškození a počet chybějících OHC je velmi malý.

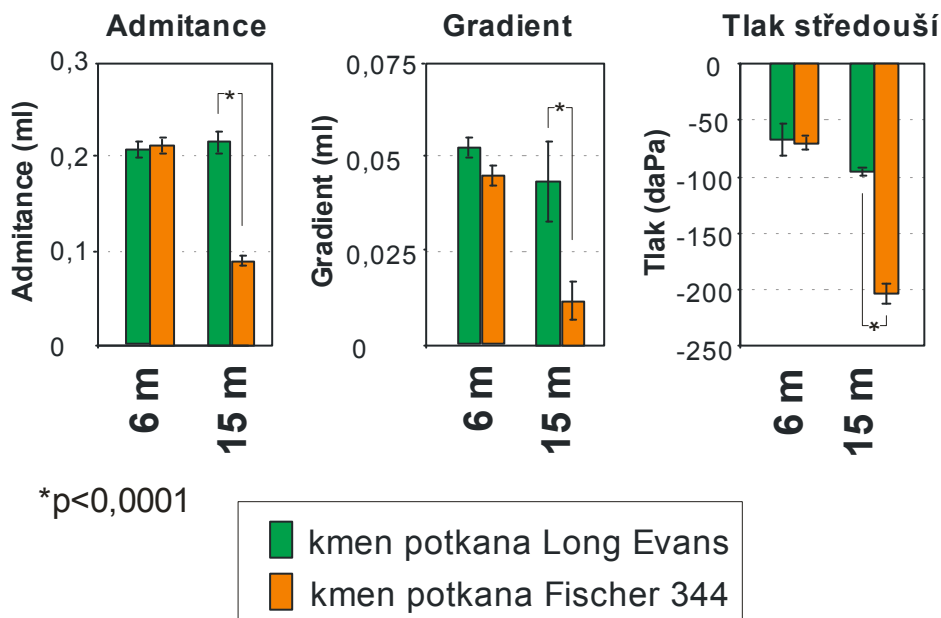
Na obr. 14 jsou data prezentována jako průměrné cytokochleogramy. U každého kmene reprezentují v těchto diagramech jednotlivé křivky procento chybějících vnitřních (IHC) a vnějších vláskových buněk (OHC) Cortiho orgánu. U 22 měsíčních potkanů kmene F344 (zobrazeno červenou barvou) byla uvedená ztráta OHC pozorována hlavně v apikálních a bazálních částech kochley (50-60%). Ve střední části kochley chybělo pouze několik OHC (méně než 10%). Počet chybějících IHC byl rovněž velmi nízký a nepřevyšoval 10%. U 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans byla ztráta OHC a IHC podobná, analogická (zobrazeno zelenou barvou). U potkanů kmene Long-Evans byl dokonce počet chybějících IHC a OHC v bazální části Cortiho orgánu větší než u potkanů kmene F344. Tyto výsledky dokumentují podobný průběh degenerace Cortiho orgánu u starých potkanů kmene Long-Evans a kmene F344 v závislosti na věku přestože jejich sluchová funkce je velmi rozdílná.



Obr. 14: Průměrné cytochromeogramy 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans (n=4) a 22 měsíčních potkanů kmene F344 (n=12) ukazující procento ztrát vláskových buněk.

3.2.5. Tympanometrie

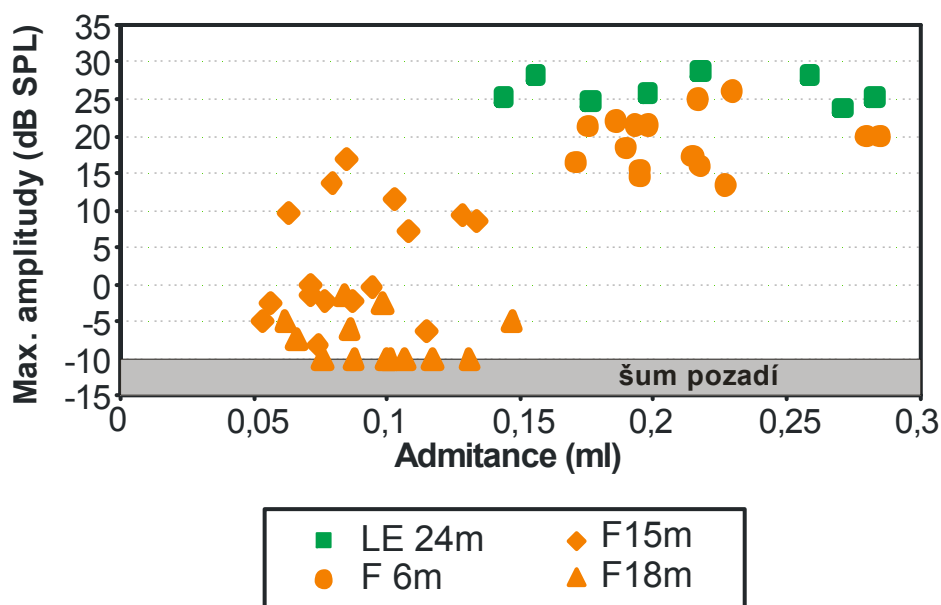
Parametry tympanometrických křivek byly stanoveny na základě tympanometrického měření u několika věkových skupin v obou uších potkanů kmene F344 a kmene Long-Evans. Na obr. 15 jsou ukázány průměrné parametry tympanometrických křivek reprezentované admitancí (středoušní poddajnost, tj. maximální hodnota tympanometrické křivky), gradientem (strmost tympanometrické křivky) a středoušním tlakem (projevující se posunem tympanometrické křivky k pozitivním nebo negativním hodnotám tlaku). Zatímco byly jednotlivé hodnoty tympanometrických záznamů u mladých, šestiměsíčních potkanů obou kmenů téměř shodné, hodnoty admitance, gradientu i středoušního tlaku u 15 měsíčních potkanů kmene F344, byly v porovnání s potkany kmene Long-Evans stejného stáří signifikantně nižší ($p < 0,0001$, nepárový t-test).



Obr. 15: Průměrná středoušní admittance, gradient tympanometrické křivky a středoušní tlak měřený u 6 měsíčních a 15 měsíčních potkanů kmene Long-Evans a kmene F344. Úsečky představují střední chybu průměru (\pm SEM).

Na obr. 16 je demonstrován těsný vztah mezi středoušní admittancí a maximální amplitudou DPOAE (měřené v jednotlivých uších obvykle na 5,6 kHz). Zatímco v porovnání s mladými zvířaty byly hodnoty středoušní admittance a maximálních amplitud DPOAE u 15 měsíčních potkanů kmene Long-Evans poměrně stálé, klesaly v jednotlivých uších potkanů kmene F344 v závislosti na věku. Korelace mezi středoušní admittancí a maximální amplitudou DPOAE je vysoce signifikantní ($p < 0,0001$), hodnoty koeficientů Pearsonovy korelace “r” pro jednotlivé tympanometrické parametry se pohybovaly v rozsahu mezi 0,63 a 0,77. Jednotlivé tympanometrické parametry korelují také se sluchovými prahy na všech frekvencích ($p < 0,0001$, $r = 0,65-0,9$).

Funkce hodnot admittance a maximálních amplitud DPOAE



Obr. 16: Závislost hodnot admittance a maximálních amplitud DPOAE v jednotlivých uších potkanů kmene Long-Evans a kmene F344.

4. KLINICKÁ ČÁST

Audiologická vyšetření u dětí a mladistvých v průběhu vývoje a u jedinců trpících tinnitem

byly prezentovány v následujících publikacích:

Groh D, Pelánová J, Jilek M, Popelář J, Kabelka Z, Syka J (2006), Changes in otoacoustic emissions and high-frequency hearing thresholds in children and adolescents. Hear Res 212: 90-98.

Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Pelánová J, Jilek M (2008), Audiologické nálezy u dětí a dospívajících trpících tinnitem různé etiologie. Otorinolaryngol chir hlavy a krku 2: 83-91.

4.1. Materiál a metody

4.1.1. Subjekty

V první části byla data získána ze vzorku 124 dětí a adolescentů ve věku 6-25 let, celkově zdravých, bez jakékoliv sluchového postižení a bez rodinné zátěže sluchovou vadou. Všichni vyšetřovaní jedinci měli normální otoskopické výsledky a tympanometrické parametry. Studovaní jedinci neužívali ototoxické léky, netrpěli ušním onemocněním. Žádný z jedinců nevedl, že by byl častěji vystaven intenzivnímu hluku při hlasité hudbě nebo při rekreačním střelení. Jedinci byli rozděleni do čtyř věkových skupin, a to: 6-10 let (skupina I, 33 jedinců - 16 žen, 17 mužů), 11-15 let (skupina II., 31 jedinců - 19 žen, 12 mužů), 16-20 let (skupina III, 30 jedinců - 19 žen, 11 mužů) a 21-25 let (skupina IV, 30 jedinců - 17 žen, 13 mužů). Způsoby měření byly schváleny etickou komisí Fakultní nemocnice v Praze - Motole.

V druhé části byla data získána vyšetřením 49 dětí a mladistvých ve věku 7-24 let, s celkově dobrým zdravotním stavem a bez rodinné zátěže pro postižení sluchu.

4.1.2. Protokoly, postupy vyšetření

K potvrzení normálního stavu středouší byla použita tympanometrie. Z vyšetřovacích metod sluchu byla zvolena tónová audiometrie pomocí čistých tónů ve frekvenčním rozmezí 0,125-16 kHz a záznam otoakustických emisí. Audiometrické vyšetření bylo provedeno v audiologické komoře a na obou uších.

4.1.2.1. Tympanometrie

K měření admitance středoušního systému (poddajnosti), objemu zvukovodu, gradientu tympanometrické křivky a středoušního tlaku byl použit impedanční audiometr MT 10 (Interacoustics, Denmark). Frekvence sondy byla 226 Hz, amplituda 85 dB SPL, kompresní rozsah -300 až +200 daPa, tlakové změny 250-350 daPa/s. Tympanometrická vyšetření u všech subjektů potvrdila tympanometrickou křivku typu "A" a normální stapediální reflexy na frekvencích 0,5 kHz, 1 kHz, 2 kHz a 4 kHz.

Objem vnějšího zvukovodu se s věkem průběžně zvětšoval až do věkové skupiny mezi 16-20 lety. V I. skupině dosáhl objem $0,75 \pm 0,18$ ml, ve II. skupině $0,84 \pm 0,21$ ml, ve III. skupině $0,96 \pm 0,19$ ml a ve IV. skupině $0,85 \pm 0,17$ ml. Statisticky významné rozdíly v průměrných objemech zvukovodů byly zjištěny mezi II. a III. skupinou ($p < 0,05$) a mezi I. a III. skupinou ($p < 0,001$, ANOVA a Tukeyho test).

4.1.2.2. Tónová audiometrie

K vyšetření tónovou audiometrií v rozšířeném frekvenčním pásmu od 125 Hz do 16 kHz byl použit klinický audiometr Madsen Orbiter 922, Version 2, kalibrovaný Českým metrologickým ústavem podle ČSN a Evropských Norem EN ISO 389-1 a EN ISO 389-5. Vyšetření bylo prováděno monoaurálně pomocí vysokofrekvenčních sluchátek Sennheiser HDA 200. Audiogramy byly měřeny po jednooktákových krocích na frekvencích od 125 Hz do 8 kHz a poté na 10 kHz, 12,5 kHz a 16 kHz; sluchové prahy byly stanoveny s přesností po 5 dB krocích.

4.1.2.3. Záznam otoakustických emisí

Otoakustické emise (OAE) byly měřeny analyzátozem otoakustických emisí ILO 96 (Otodynamics, Ltd.) při použití sondy typu B. Softwarovou podporu představoval program ILO 96 verze 5. K vyloučení rezonančních vrcholů z frekvenčního spektra stimulu byla sonda ve zvukovodu pečlivě zafixována pomocí koncovek z pěnové gumy. Byl proveden záznam všech tří typů OAE: transientní evokované otoakustické emise (TEOAE), spontánní otoakustické emise (SOAE) a distorzní produkty otoakustických emisí (DPOAE).

K vyvolání TEOAE byl použit zvukový podnět, který tvořil sekvenci složenou ze 4 širokopásmových kliků (o frekvenci 0,5–6,0 kHz, v celkové délce trvání 80 μ s a s intervalem mezi jednotlivými kliky 20 ms). První tři kliky měly stejnou polaritu a shodné amplitudy; čtvrtý klik měl opačnou polaritu a trojnásobnou amplitudu. Součtem odpovědí na všechny čtyři kliky se vyrušila lineární část TEOAE a zůstala pouze fázově závislá část TEOAE odpovědi. Každý záznam byl získán zprůměrněním 260 odpovědí, intenzita kliků byla nastavena na 80 dB SPL. Za výbavné OAE byla považována pouze měření s dosaženou reproducibilitou více jak 60%. Kromě celkové odpovědi TEOAE bylo vyhodnoceno také frekvenční spektrum TEOAE ve frekvenčních pásmech 1/3 oktávy (aby mohly být TEOAE přímo porovnány s DPOAE).

Synchronizované SOAE byly změřeny metodou popsanou Prieve a kol. (1997a) využívající systém ILO96 při synchronizaci SOAE s klikem. Stimulační kliky měly úroveň 70–80 dB SPL a opakovací frekvenci kliku 12,5 Hz. SOAE byly detekovány v časovém intervalu 60–80 ms po každém stimulu, frekvenční rozlišení FFT bylo 12,3 Hz. Za SOAE byly považovány všechny vrcholy ve frekvenčním spektru, jejíž amplituda přesahovala okolní šum alespoň o 6 dB.

Záznam byl pořízen ve frekvenčním rozsahu 0,012–6238 Hz a frekvenční rozlišení FFT bylo 12,3 Hz. Podle Wable and Colleta (1994) byly parametry SOAE měřené v období 60–80 ms po akustickém kliku přibližně stejné jako hodnoty SOAE měřené bez akustické stimulace.

$2f_1 - f_2$ DPOE byly vyvolány dvěma čistými tóny f_1 a f_2 o hladině intenzity $L_1 = 65$ dB SPL a $L_2 = 55$ dB SPL, poměr frekvencí $f_2/f_1 = 1,22$. Tóny byly prezentovány v rozsahu frekvencí f_2 od 1,0 do 6,3 kHz; byly měřeny 3 body na oktávu. Výsledky naměřené u jednotlivých subjektů byly uvedeny ve formě DP-gramů (tj. hodnoty DPOAE v závislosti na frekvenci f_2).

4.1.2.4. Charakteristika tinnitu

Frekvence a úroveň tinnitu (objektivizace tinnitu) byly stanoveny v každém uchu metodou určení prezentovaných tónů tak, aby jejich výška a intenzita souhlasily s parametry tinnitu. Tóny byly vysílány sluchátkem do opačného ucha než byl vyšetřován tinnitus.

4.1.3. Statistické zpracování výsledků

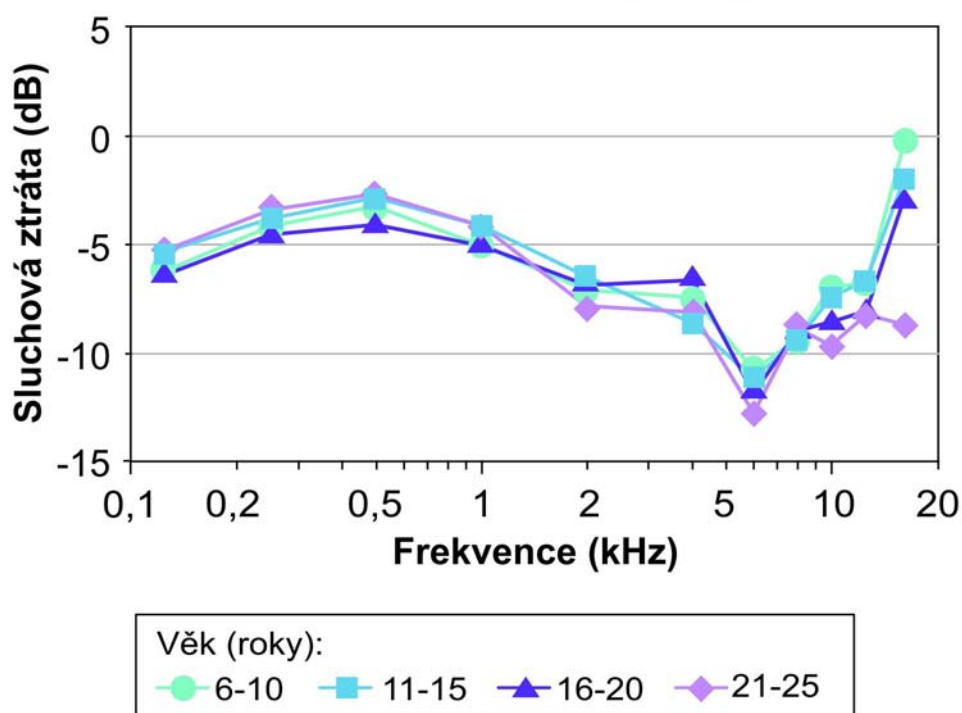
Naměřená data byla statisticky zpracována za použití testu významnosti korelačního koeficientu, lineární regrese, jednocestné analýzy rozptylu (ANOVA) s následnými testy podle Bonferroniho nebo Tukeyho nebo dvouvýběrových t-testů. Průměrné hodnoty byly vyjádřeny jako průměr \pm směrodatná odchylka (SD) nebo průměr \pm střední chyba průměru (SEM).

4.2. Výsledky audiometrických vyšetření u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje

4.2.1. Audiogramy

U jednotlivců byly sluchové prahy velmi podobné. Největší hodnota sluchové ztráty byla na frekvenci 6 kHz. Rozdíly ve sluchových prazích, patrné na tónových audiogramech, byly nejvíce závislé na věku. Průměrné audiogramy u všech čtyř věkových skupin (obr. 17) probíhaly paralelně na všech frekvencích s výjimkou 16 kHz. Zde byla popsána významně horší sluchová ztráta u adolescentů (skupina IV) ve srovnání se skupinami I, II a III ($p < 0,05$). Směrodatná odchylka průměrných hodnot sluchových ztrát na frekvencích 125 Hz–8 kHz se pohybovala v rozmezí 3,5 a 7,3 dB ve všech čtyřech skupinách. Směrodatné odchylky na frekvencích od 10 do 16 kHz byly větší v I. a IV. skupině (od 5,9 do 12,9 dB) než ve skupině II a III (od 4,8 do 7,8 dB).

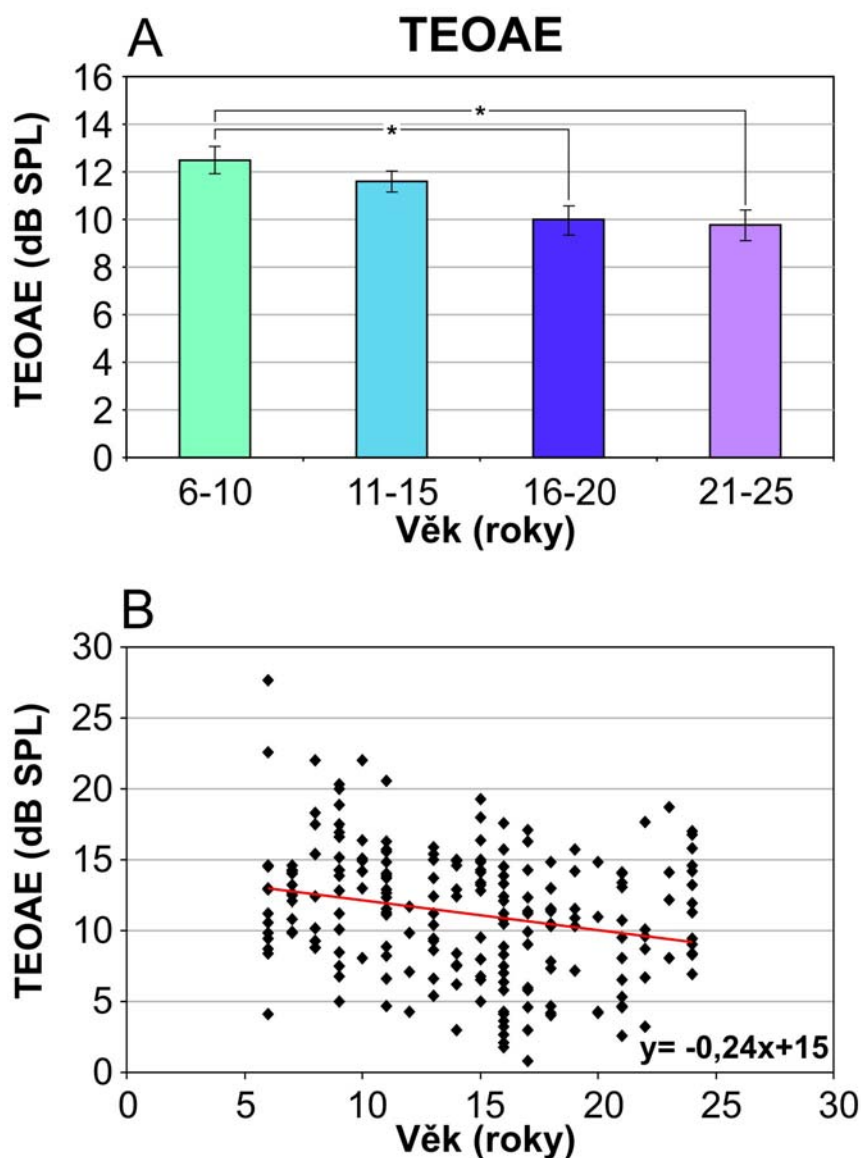
Tónové audiogramy



Obr. 17: Průměrné audiogramy v jednotlivých věkových skupinách.

4.2.2. TEOAE

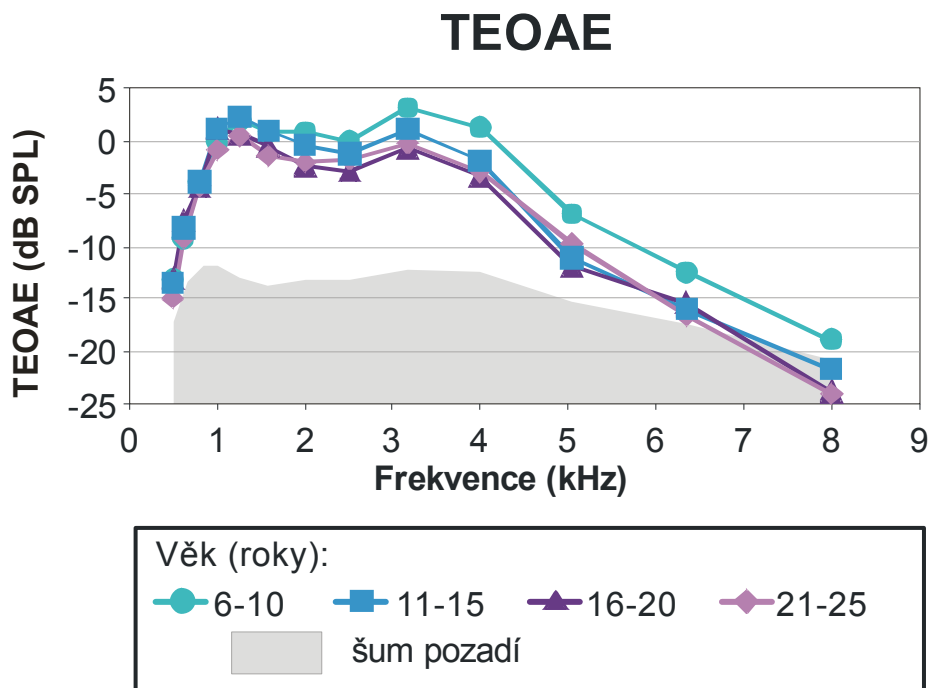
Hodnoty TEOAE v jednotlivých uších se pohybovaly v rozmezí od 0 do 28 dB SPL. Průměrné odpovědi TEOAE v jednotlivých věkových skupinách jsou zobrazeny na obr. 18A. Je zřejmé, že průměrné odpovědi TEOAE klesají s věkem. Statisticky významné rozdíly byly nalezeny mezi skupinami I a III ($p < 0,02$), II a III ($p < 0,2$), II a IV ($p < 0,04$) a I a IV ($p < 0,003$).



Obr. 18 A: Průměrné odpovědi TEOAE v jednotlivých věkových skupinách. Úsečky představují střední chybu průměru (SEM). B: Individuální hodnoty TEOAE v závislosti na věku, přímka představuje funkci lineární regrese a její rovnici.

Průměrné hodnoty TEOAE v závislosti na věku jsou zobrazeny ve formě histogramu na obr. 18A. Na obr. 18B jsou individuální hodnoty demonstrující TEOAE v závislosti na věku. Sklon přímky lineární regrese je signifikantně odlišný od 0 (tj. od horizontály, $p < 0,001$).

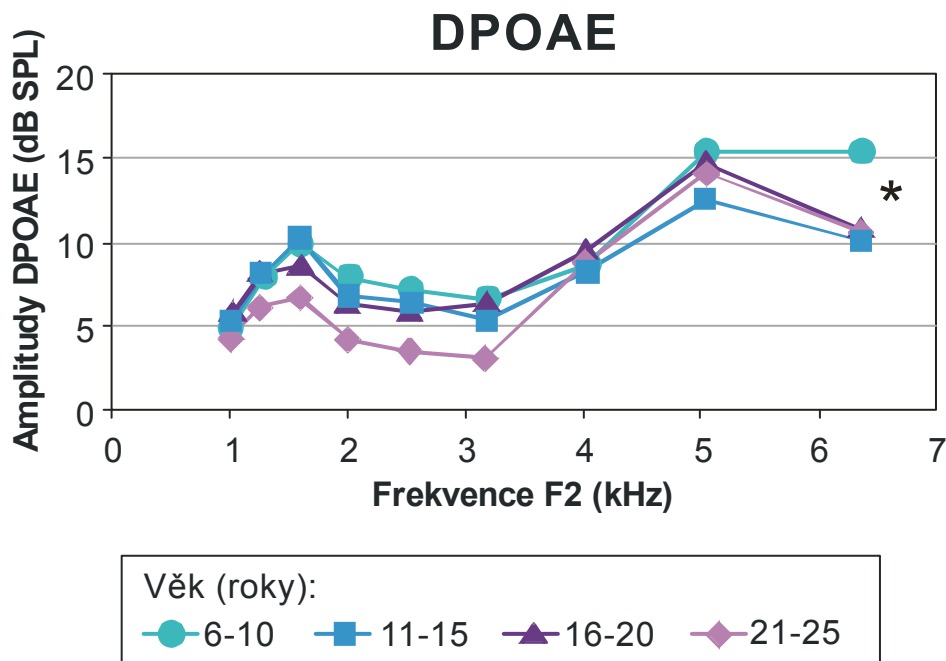
Obr. 19 demonstruje průměrné TEOAE křivky analyzované v 1/3 oktávových pásmech v jednotlivých věkových skupinách. Tyto křivky mají tvar písmene „M“ se dvěma vrcholy na 1250 a 3175 Hz. Ve skupině nejmladších jedinců jsou signifikantně lepší odpovědi TEOAE ve frekvenčním rozsahu 2520–6350 Hz než ve skupinách s nejstaršími jedinci (III a IV) ($p < 0,05$ – $0,01$). Navíc ve skupině s nejmladšími jedinci byly průměrné odpovědi TEOAE na frekvenci 8000 Hz měřitelné, zatímco ve skupinách se staršími jedinci byly TEOAE nevybavné na frekvencích vyšších než 7000 Hz.



Obr. 19: Průměrné TEOAE křivky analyzované v 1/3 oktávových pásmech v jednotlivých věkových skupinách. Šedá plocha představuje TEOAE pozadí šumu.

4.2.3 DPOAE

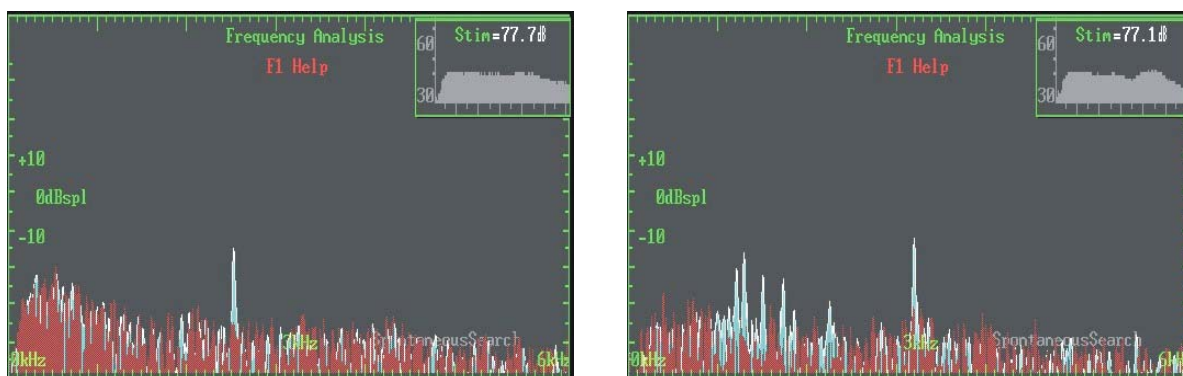
DPOAE byly přítomny u všech testovaných uší. DPOAE byly výbavné ve 100% uší přinejmenším na šesti frekvencích; v 70% uší překročily odpovědi DPOAE pozadí šumu na všech devíti hodnocených frekvencích f_2 . Průměrné DP-gramy pro jednotlivé věkové skupiny, zachycující závislost DPOAE amplitudy na frekvenci f_2 , jsou zobrazeny na obr. 20. DP-gramy mají dvě maxima na 1587 a 5042 Hz. Tvar průměrných DP-gramů je v jednotlivých věkových skupinách velmi podobný. Naměřené hodnoty DPOAE u nejstarších jedinců (skupina IV) byly stabilně nižší než u mladších dětí do 3,2 kHz, ale rozdíly nedosahují statistické významnosti ($p > 0,05$). Jediný signifikantní rozdíl mezi průměrnými hodnotami DPOAE u nejmladších dětí (skupina I) a u dětí starších věkových skupin byl nalezen na nejvyšší frekvenci f_2 (6,3 kHz) ($p < 0,05$).



Obr. 20: Průměrné DP-gramy v jednotlivých věkových skupinách. Šumové pozadí DPOAE bylo v rozsahu od -5 do -10 dB SPL.

4.2.4. SOAE

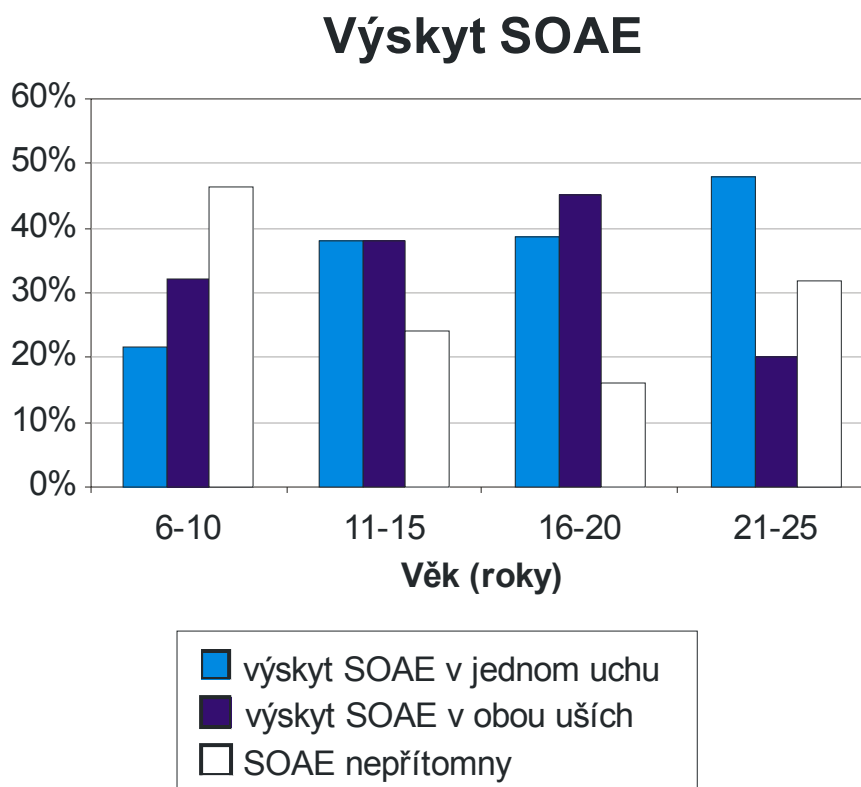
SOAE byly charakterizované jedním nebo více vrcholy ve frekvenčním spektru OAE (obr. 21).



Obr. 21: Příklady SOAE s jedním a více vrcholy ve frekvenčním spektru OAE.

SOAE byly výbavné u 71% ze všech testovaných jedinců v jednom uchu (39%) nebo v obou uších (32%). SOAE byly zjištěny u dívek v 82% a u chlapců v 58%. Jedinci, u kterých byly SOAE přítomny jen v jednom uchu, převážně v pravém, a to v 78 %. SOAE byly přítomné ve frekvenčním rozsahu 0,5–4,7 kHz. Na frekvencích od 1 do 3 kHz bylo nalezeno 68,5% vrcholů SOAE. Amplituda vrcholu dosahovala hodnot mezi 12,3 a 26,9 dB SPL.

Více než polovina subjektů ve všech čtyřech věkových skupinách měla SOAE s více vrcholy (61%, 58 z 95 uší s pozitivními SOAE). Rozložení subjektů podle přítomnosti nebo nepřítomnosti SOAE v jednotlivých věkových skupinách je zobrazeno na obr. 22. Největší výskyt SOAE byl pozorován ve věkových skupinách II a III, zatímco ve skupinách nejmladších a nejstarších jedinců (I, IV) byly SOAE nalezeny méně často.

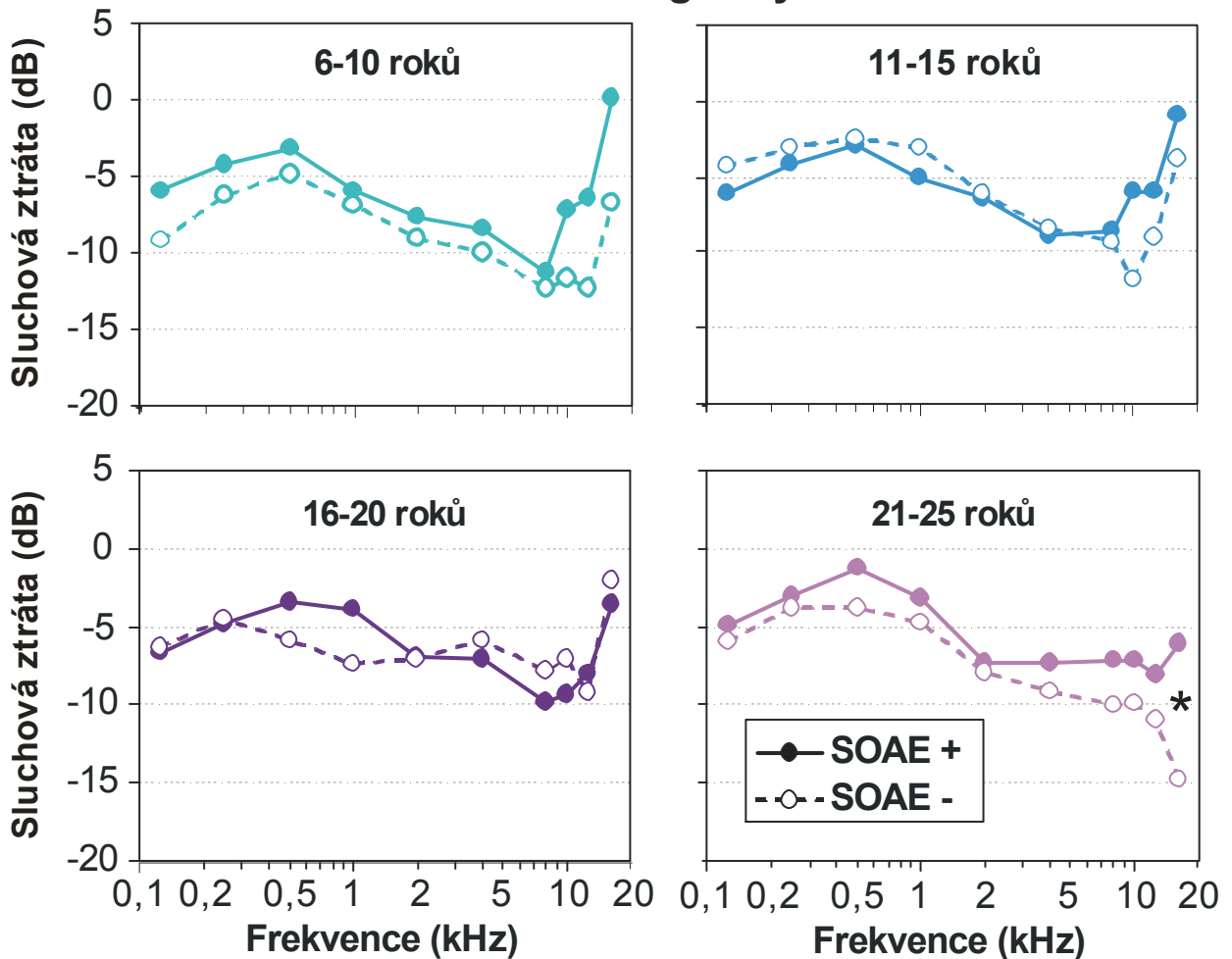


Obr. 22: Výskyt SOAE v jednotlivých věkových skupinách.

4.2.5. Závislost mezi sluchovým prahem a přítomností SOAE

Obr. 23 demonstruje, že průměrné audiogramy u dětí a dospívajících ve věku 6-10, 11-15 a 16-20 let byly podobné pro skupiny jedinců s přítomnými SOAE (SOAE +) i bez SOAE (SOAE -). U věkové skupiny 21-25 let však byla sluchová ztráta na frekvenci 16 kHz u jedinců bez SOAE signifikantně větší než u skupiny mladistvých s přítomnými SOAE ($p < 0,05$). Tento nález ukazuje, že nepřítomnost SOAE může signalizovat zhoršení sluchového prahu na 16 kHz, a tím možnost počínajícího sluchového poškození.

Audiogramy

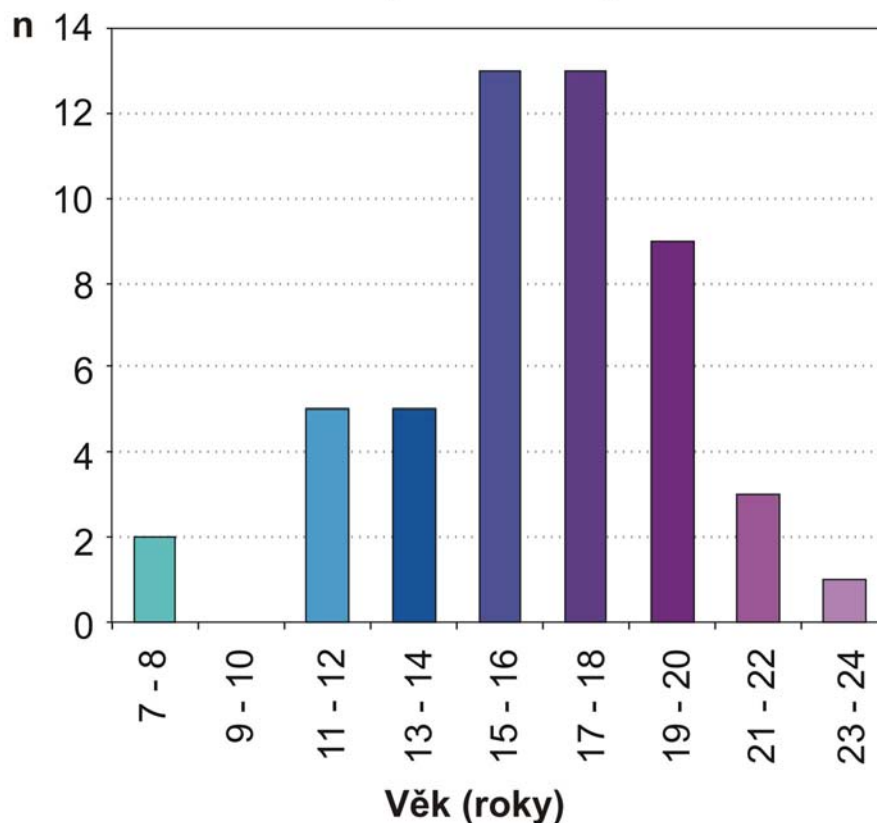


Obr. 23: Průměrné audiogramy v jednotlivých věkových skupinách podle přítomnosti (SOAE +) nebo nepřítomnosti (SOAE -) SOAE.

4.3. Výsledky audiometrických vyšetření u jedinců trpících tinnitem

Cílem této studie bylo porovnat výsledky audiometrického vyšetření u kontrolní skupiny dětí a mladistvých a u skupiny jedinců trpících tinnitem, popřípadě zjistit, zda výsledky audiometrických testů se mohou lišit u jedinců trpících tinnitem různé etiologie. Získaná data jsou výsledkem vyšetření skupiny 49 dětí a mladistvých (37 chlapců a 12 děvčat), kteří měli dlouhodobě tinnitus. Věkové rozložení vyšetřovaných jedinců je znázorněno na obrázku 24.

Rozložení pacientů podle věku



Obr. 24: Věkové rozložení vyšetřovaných jedinců

Vyšetřovaní pacienti byli rozděleni do následujících skupin dle etiologie tinnitu:

- Tinnitus byl vyvolán expozicí hluku u 9 pacientů (nejčastěji po poslechu příliš hlasité hudby nebo po výbuchu zábavné pyrotechniky). Trvalá sluchová ztráta v těchto případech prokázána nebyla. U čtyř pacientů byla percepce tinnitu oboustranná, u pěti pacientů jednostranná. Výška tinnitu u jednotlivců byla v rozsahu od 1,5 do 16 kHz.
- U devíti pacientů se tinnitus objevil po infekci (zánětu středouší nebo celkové infekci, převážně virové). Vnímání tinnitu bylo u všech až na jednoho pacienta jednostranné, v rozsahu od 1 kHz do 10 kHz.
- Jako následek poranění hlavy vznikl tinnitus u 8 pacientů. Vnímání tinnitu bylo u všech pacientů jednostranné, od 0,7 do 6 kHz.
- S častým potápěním byl spojen tinnitus u čtyř mladistvých. Vnímání tinnitu bylo u všech pacientů jednostranné ve frekvenčním rozsahu od 8 do 12,5 kHz.
- Neznámá etiologie tinnitu byla stanovena u devatenácti pacientů. Jedenáct pacientů vnímalo tinnitus oboustranně a osm pacientů jednostranně. Vnímání tinnitu u jednotlivců bylo variabilní v rozsahu od 1,5 do 10 kHz.

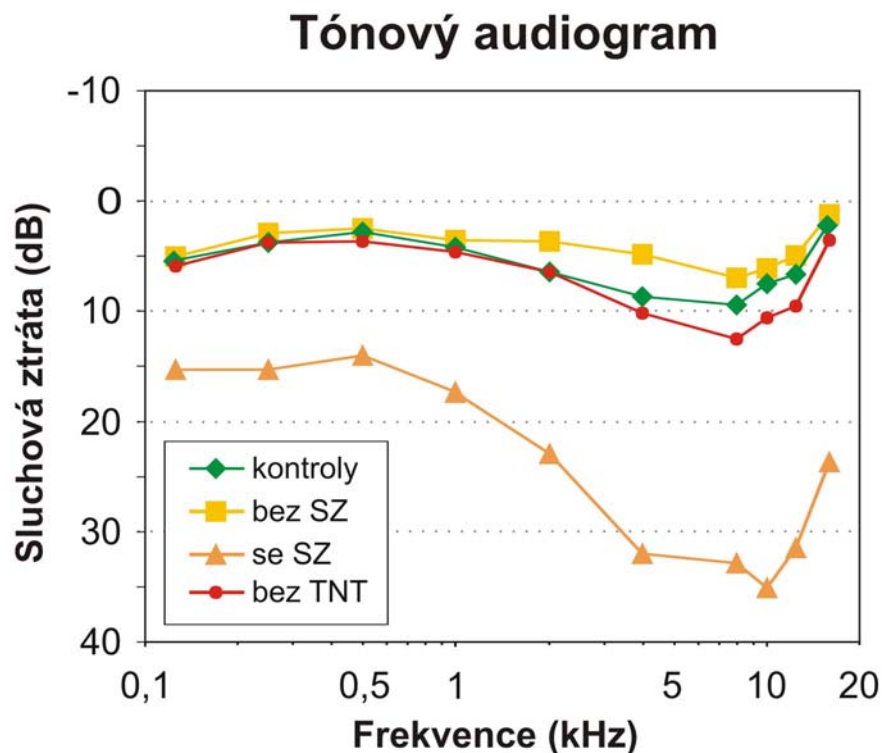
4.3.1. Audiogramy

Pacienti s tinnitem byli proto rozděleni podle velikosti sluchové ztráty do dvou skupin:

- Pacienti s tinnitem, jejichž sluchový práh byl v rámci normálního fyziologického rozmezí. 20 pacientů vnímalo tinnitus v obou uších, 19 pacientů mělo jednostranný tinnitus, tj. celkem 59 uší s tinnitem.
- Pacienti s tinnitem, jejichž sluchová ztráta přesahovala 20 dB HL alespoň na jednom uchu na jedné z frekvencí. Tři pacienti vnímali tinnitus v obou uších, 9 pacientů mělo v širším frekvenčním pásmu jednostranný tinnitus, tj. celkem 15 uší s tinnitem. Sluchová ztráta u těchto pacientů byla způsobena zraněním hlavy nebo získána postinfekčně.

U 24 pacientů s jednostranně vnímaným tinnitem byly měřeny jednotlivé parametry na druhém uchu (bez tinnitu). Výsledky audiologických testů u pacientů s tinnitem byly porovnávány s výsledky získanými u 124 stejně starých dobrovolníků kontrolní skupiny (Groh a kol., 2006).

Průměrné tónové audiogramy měřené v rozšířeném frekvenčním rozmezí od 125 Hz do 16 kHz jsou znázorněny na obrázku 25. Průměrný tónový audiogram získaný z dat pacientů s tinnitem bez sluchové ztráty (bez SZ) (v grafu znázorněny jako žluté čtverečky) je velmi podobný průměrnému tónovému audiogramu dobrovolníků kontrolní skupiny (zelené kosočtverce) i průměrnému audiogramu získanému z dat naměřených v uších bez tinnitu (bez TNT) (červená kolečka). Průměrný tónový audiogram získaný z dat pacientů trpících tinnitem a současně majících sluchovou ztrátu (se SZ) je zobrazen oranžovými trojúhelníky. V této skupině pacientů mělo 10 uší sluchovou ztrátu na vyšších frekvencích (nad 2 kHz), zatímco u 5 uší byla sluchová ztráta v celém měřeném frekvenčním rozsahu. Průměrný tónový audiogram získaný z dat těchto pacientů vykazuje výrazné sluchové ztráty.



Obr. 25: Průměrné tónové audiogramy v rozšířeném frekvenčním rozsahu od 125 Hz do 16 kHz, naměřené v jednotlivých skupinách mladých pacientů:

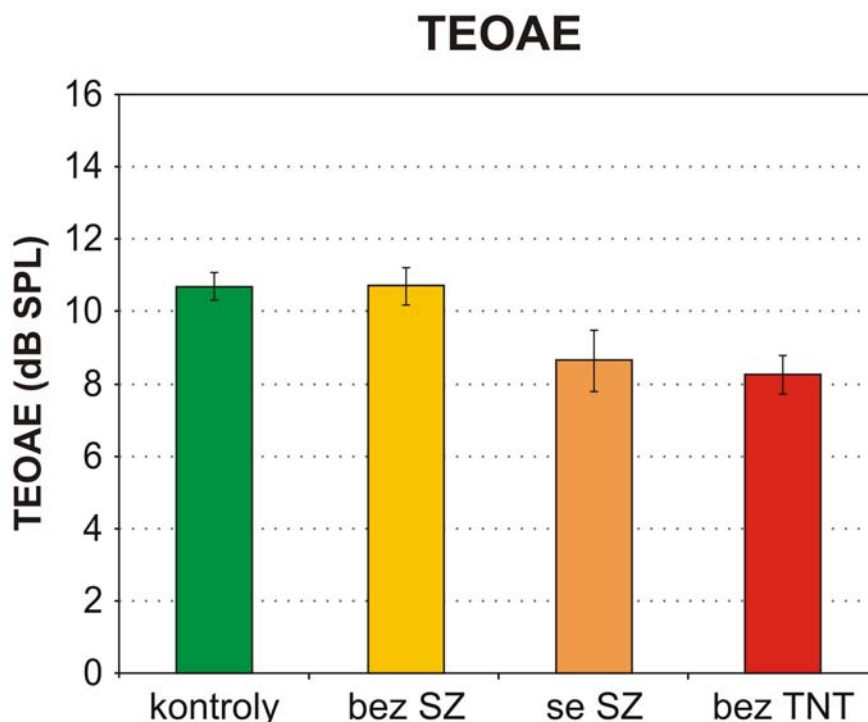
- pacienti s tinnitem bez sluchové ztráty (bez SZ, žluté plné čtverce)
- pacienti s tinnitem se sluchovou ztrátou (se SZ, oranžové plné trojúhelníky)
- uši bez vnímání tinnitu u pacientů, kteří měli prokázaný tinnitus v druhém uchu (bez TNT, červená plná kolečka)
- kontrolní skupina dobrovolníků (kontrola, zelené plné kosočtverce).

Bylo testováno, zda nesouvisí výška tinnitu se sluchovou ztrátou. Proto byly jednotlivé audiogramy rozděleny podle frekvence tinnitu a zprůměrněny. Průměrné sluchové prahy u těchto pacientů však nebyly rozdílné, což znamená, že výška tinnitu obecně neovlivnila velikost sluchové ztráty na příslušné frekvenci. Také u pacientů s normálním sluchem nebyla nalezena žádná evidentní korelace mezi frekvencí tinnitu a hodnotami tónového audiogramu.

4.3.2. TEOAE

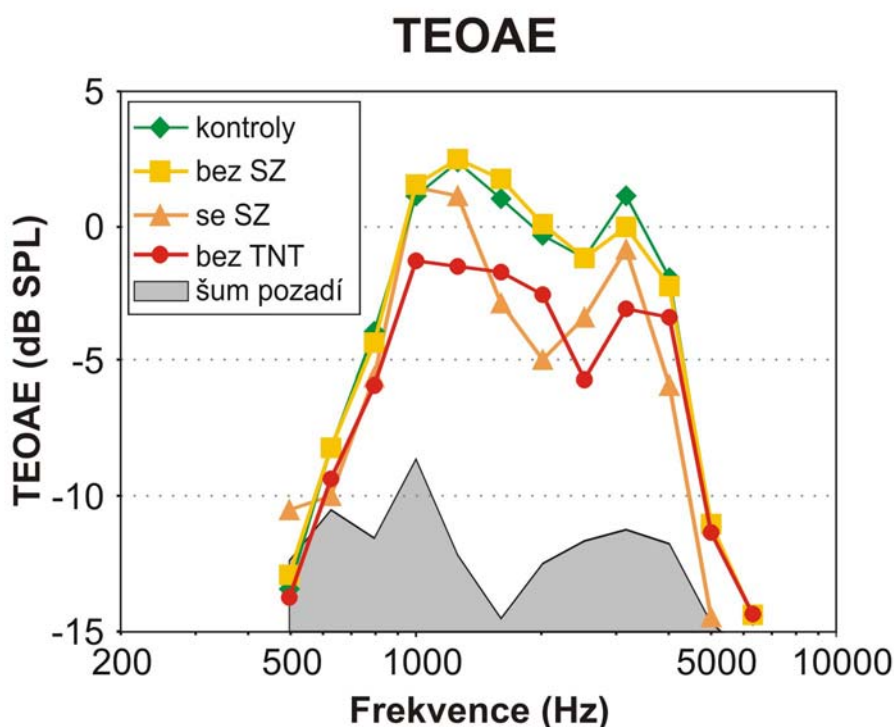
Obrázek 26 ukazuje průměrné TEOAE odpovědi zaznamenané v jednotlivých skupinách pacientů s tinnitem v porovnání s kontrolní skupinou dobrovolníků (průměr \pm SEM). U pacientů s tinnitem a bez sluchové ztráty je průměrná TEOAE odpověď téměř shodná s odpovědí u kontrolní skupiny. Nicméně, reprodukovatelné TEOAE odpovědi byly pozorovány pouze u 49 z celkového počtu 59 uší pacientů s tinnitem a bez sluchové ztráty, tj. u 83 % uší, zatímco v kontrolní skupině byly reprodukovatelné TEOAE přítomny ve všech uších.

U pacientů se sluchovou ztrátou trpících tinnitem byly výbavné TEOAE pozorovány a zprůměrněny pouze u 6 z celkového počtu 15 uší, a to jen u pacientů s vysokofrekvenční sluchovou ztrátou. Průměrná odpověď TEOAE měřená u této skupiny pacientů má tendenci být menší než u kontrolní skupiny a u pacientů bez sluchové ztráty, rozdíl však není statisticky signifikantní. U pacientů bez vnímání tinnitu byly výbavné TEOAE odpovědi změřeny u 19 z celkového počtu 24 uší. Průměrná odpověď TEOAE však není statisticky rozdílná od všech ostatních skupin pacientů.



Obr. 26: Průměrné amplitudy TEOAE v jednotlivých skupinách pacientů s tinnitem. Chybové úsečky znázorňují \pm střední chybu průměru.

Na obrázku 27 jsou znázorněny průměrné TEOAE křivky analyzované v 1/3 oktávových pásmech u jednotlivých skupin pacientů. Rozdíly mezi jednotlivými křivkami TEOAE nejsou statisticky signifikantní.



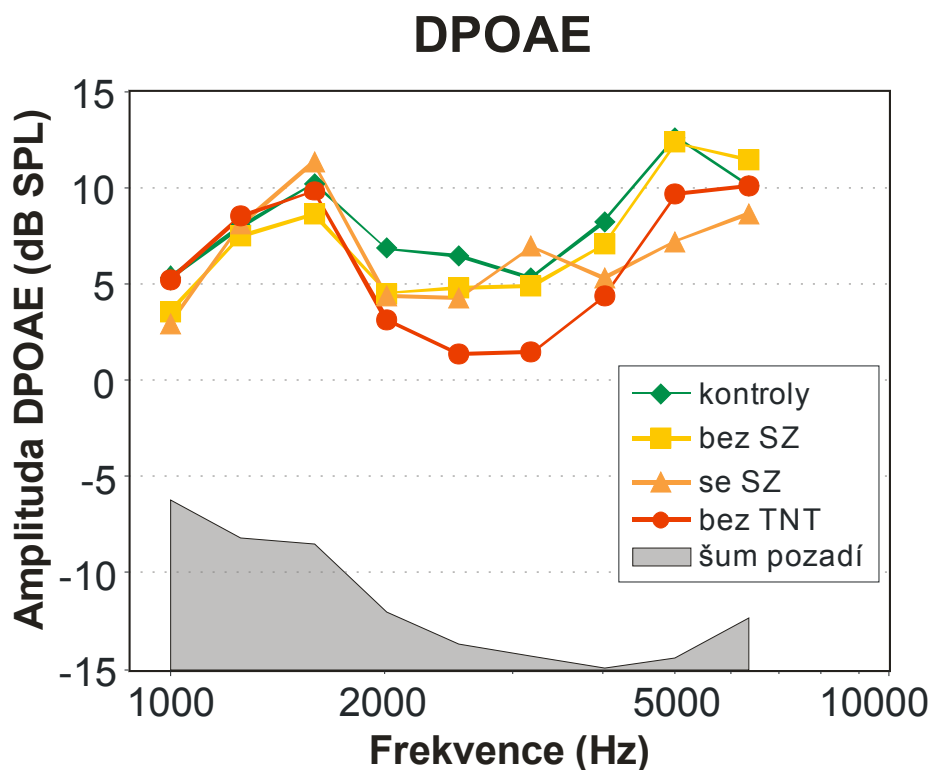
Obr. 27: Průměrná frekvenční analýza TEOAE křivek naměřených v jednotlivých skupinách pacientů:

- pacienti s tinnitem bez sluchové ztráty (bez SZ, plné žluté čtverce)
- pacienti s tinnitem se sluchovou ztrátou (se SZ, oranžové plné trojúhelníky)
- uši bez vnímání tinnitu u pacientů, kteří měli prokázány tinnitus v druhém uchu (bez TNT, plná červená kolečka)
- kontrolní skupina dobrovolníků (kontroly, zelené plné kosočtverce).

4.3.3. DPOAE

Na obrázku 28 jsou znázorněny průměrné DP-gramy pro jednotlivé skupiny pacientů s tinnitem a porovnány s kontrolní skupinou dobrovolníků. Byly analyzovány pouze DP-gramy převyšující pozadí šumu nejméně na osmi frekvencích (z celkových 9). Zatímco u skupiny pacientů bez vnímání tinnitu byly výbavné DPOAE změřeny a analyzovány ve 21 uších (z celkového počtu 24), u pacientů s normálním sluchem byly výbavné DPOAE pozorovány a zprůměrněny v 54 uších (z celkového počtu 59) a u pacientů se sluchovou ztrátou v 11 uších (z celkového počtu 15), a to pouze u subjektů s čistě nízkofrekvenční nebo vysokofrekvenční sluchovou ztrátou.

Průměrné DP-gramy ve všech třech skupinách pacientů s tinnitem a průměrný DP-gram kontrolní skupiny zdravých dobrovolníků jsou si velmi podobné. Rozdíly mezi hodnotami na jednotlivých frekvencích nejsou statisticky významné díky velkým směrodatným odchylkám (v průměru od 5 do 10 dB).



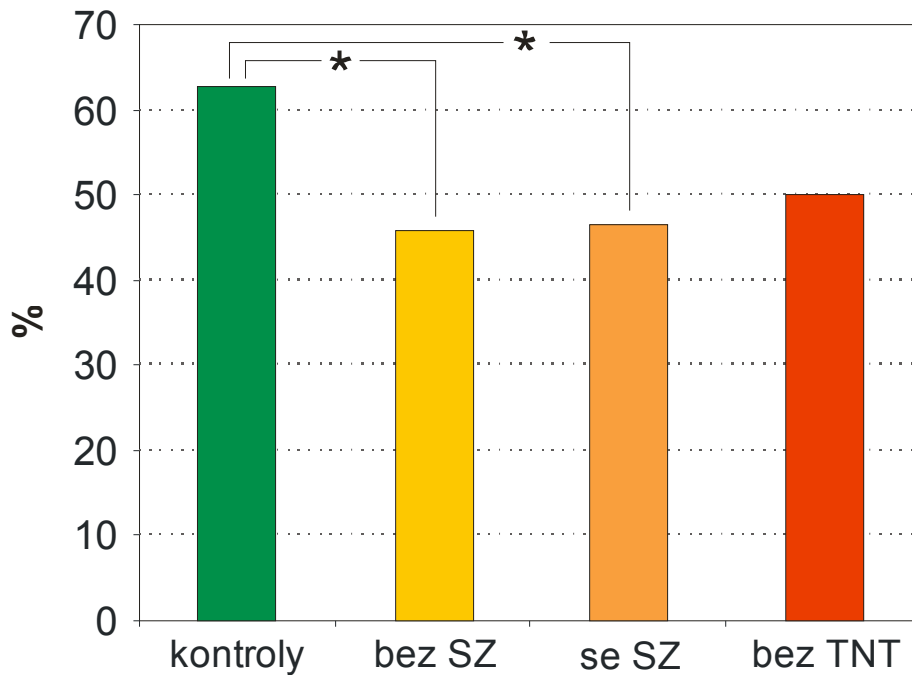
Obr. 28: DP-gramy v jednotlivých skupinách pacientů s tinnitem:

- pacienti s tinnitem bez sluchové ztráty (bez SZ, plné žluté čtverce)
- pacienti s tinnitem se sluchovou ztrátou (se SZ, plné oranžové trojúhelníky)
- uši bez vnímání tinnitu u pacientů, kteří měli prokázány tinnitus v druhém uchu (bez TNT, plná červená kolečka)
- kontrolní skupina dobrovolníků (kontroly, plné zelené kosočtverce).

4.3.4. SOAE

Významným výsledkem této studie bylo zjištění, že v celém souboru pacientů s tinnitem byla přítomnost SOAE signifikantně nižší (44,6% uší) než u kontrolní skupiny dětí a adolescentů (62,5% uší, $p < 0,02$, χ^2 test). Parametry SOAE, tj. počet vrcholů, velikost amplitudy a rozsah frekvencí jednotlivých vrcholů SOAE, však nebyly u pacientů s tinnitem a u kontrolní významně odlišné. Zatímco velikosti odpovědi evokovaných otoakustických emisí (TEOAE a DPOAE) naměřených u pacientů s tinnitem byly závislé na stupni sluchové ztráty, výskyt SOAE byl stejný ve všech třech skupinách pacientů s tinnitem (znázorněno na obrázku 29) bez ohledu na velikost odpovědi TEOAE. Naopak u 7 pacientů s tinnitem a sluchovou ztrátou byly SOAE detekovány i přesto, že u nich nebyly naměřeny TEOAE. U těchto pacientů se vrcholy SOAE objevily na frekvencích, kde byl normální sluchový práh nebo na frekvenci, na které začínala narůstat sluchová ztráta. V uších bez tinnitu byly SOAE detekovány v 50 % případů.

Výskyt SOAE



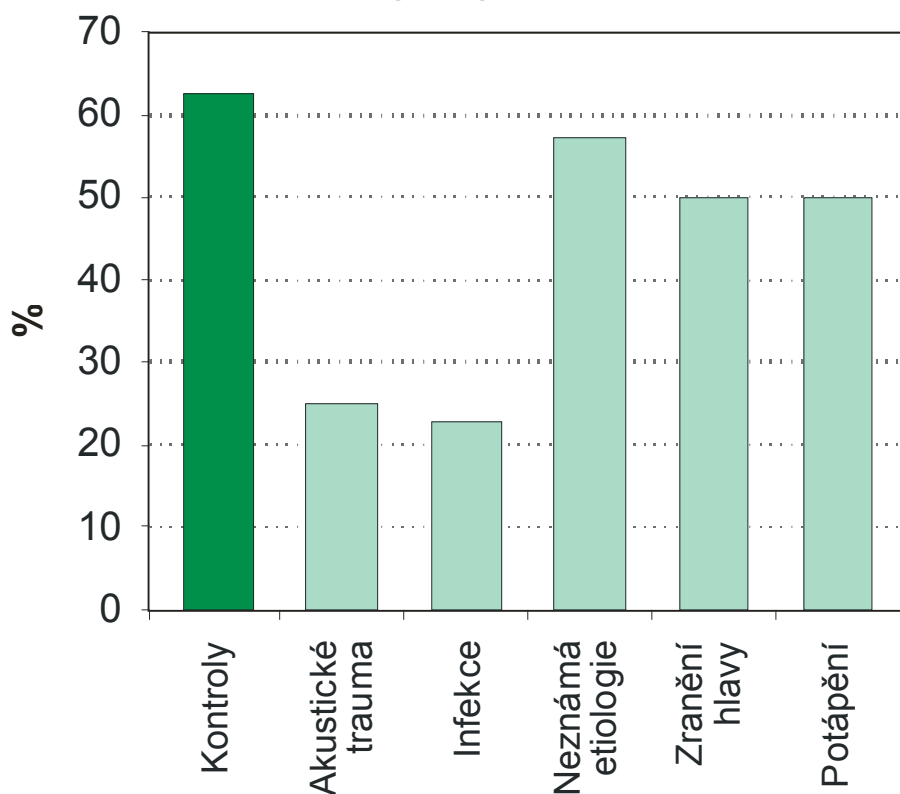
Obr. 29: Rozložení SOAE u jednotlivých skupin pacientů s tinnitem:

- pacienti s tinnitem bez sluchové ztráty (bez SZ, žlutý sloupec)
- pacienti s tinnitem se sluchovou ztrátou (se SZ, oranžový sloupec)
- uši bez vnímání tinnitu u pacientů, kteří měli jednostranný tinnitus v druhém uchu (bez TNT, červený sloupec)
- kontrolní skupina dobrovolníků (zelený sloupec)

* $p < 0,02$

Přítomnost SOAE se lišila mezi pacienty s různým zdrojem tinnitu (obr. 30). Nízká incidence SOAE byla nalezena u pacientů s tinnitem po akustickém traumatu (25%) a po celkové infekci (23%), zatímco u pacientů s neznámou etiologií se SOAE objevují u 57% uší. U pacientů se zraněním hlavy a u pacientů po potápění byly SOAE nalezeny v 50% uší. Zdá se tedy, že bez ohledu na velikost sluchové ztráty souvisí výskyt SOAE do jisté míry s původem tinnitu. Vzhledem k malému počtu pacientů v jednotlivých skupinách nebyly tyto výsledky statisticky testovány.

Výskyt SOAE



Obr. 30: Výskyt SOAE u pacientů podle původu tinnitu.

5. DISKUZE

5.1. Experimentální část

Výsledky této studie dokumentují, že v porovnání s potkany Long-Evans, dochází během života potkanů kmene F344 k rychlejšímu zhoršení sluchové funkce. U potkanů kmene F344 se během stárnutí měnilo mnoho parametrů sluchové funkce (prahy ABR, parametry klikem vyvolaných ABR, středoušní charakteristiky) výrazně rychleji než u kmene Long-Evans. Ve věku 12 až 18 měsíců života potkanů F344 byly DPOAE téměř u všech kompletně nepřítomné, zatímco u potkanů kmene Long-Evans se do věku 30 měsíců téměř neměnily. Navzdory výrazným rozdílům ve změnách sluchové funkce během stárnutí u obou kmenů potkanů se počet chybějících vláskových buněk téměř nelišil. U potkanů kmene F344 se tedy na věkem podmíněné sluchové ztrátě podílí celý komplex mechanismů.

5.1.1. Změny audiogramů ABR v závislosti na věku

Audiogramy ABR ukázaly u potkanů kmene Long-Evans jen malé, především vysokofrekvenční, změny sluchových prahů závislé na věku, vyskytující se ke konci jejich života. Relativně malou sluchovou ztrátu s více vyjádřeným posunem prahu na vysokých frekvencích uvedlo u starých potkanů kmene Long-Evans řada jiných autorů (Campo a kol., 2003; Rybalko a kol., 1998).

U potkanů kmene F344 byly věkem podmíněné změny prahů, v kontrastu k nálezům u potkanů kmene Long-Evans, komplexnější. V porovnání s potkany kmene Long-Evans, měli mladí potkani kmene F344 výrazně vyšší sluchový práh s větším posunem prahu na nízkých frekvencích (Popelář a kol., 2003).

Sluchový práh u potkanů kmene F344 výrazně vzrostl na všech frekvencích během 20 měsíců života. Výsledný posun prahu u 12 měsíčních potkanů kmene F344 byl srovnatelný s posunem prahu u 24 měsíčních potkanů kmene Long-Evans. U 20 měsíčních potkanů kmene F344 byl posun prahu signifikantně větší než u mnohem starších, 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans.

V poslední době byl u potkanů kmene F344 několika autory popsán podobný, věkem podmíněný postupující pokles sluchové citlivosti (Backoff a kol., 1994; Seidman a kol., 2000; Seidman a kol., 2002; Simpson a kol., 1985; Turner a Caspary, 2005; Bielefeld a kol., 2008). Autoři předpokládali, že nápadné, věkem podmíněné změny sluchových prahů, během relativně krátké délky života potkanů, nabízejí vhodný model zvířete pro výzkum mechanismů zdůrazňující věkem podmíněnou sluchovou ztrátu. Výsledky této studie ukázaly na složitost patologických znaků během stárnutí u kmene potkana F344. Je možné, že tyto mechanismy se vyskytují i u člověka, ale nebyly dosud prokázány.

5.1.2. Klikem evokované ABR

V této studii měli mladí potkani kmene F344 a kmene Long-Evans tvar a vlastnosti klikem evokovaných ABR velmi podobné a navíc odpovídající i dalším kmenům potkanů (Backoff a kol., 1994; Chen a Chen, 1990; Overbeck a Church, 1992). Malé rozdíly však u nich byly nalezeny u změn podmíněných věkem v parametrech klikem evokovaných ABR.

Křivka závislosti průměrné latence vlny I na intenzitě podnětu v dB HL (tj. vzhledem ke sluchovému prahu) u 20 měsíčních potkanů kmene F344 klesá rychleji než křivka získaná u mladších potkanů kmene F344 nebo u všech potkanů kmene Long-Evans. Zkrácené latence jsou uváděny u starších zvířat a jsou přičítány změnám v periferních sluchových strukturách (Chu, 1985; Harkins, 1981; Soucek a Michaels, 1990; Yamada a kol., 1979).

Tendence k prodloužení trvání odpovědi u starých potkanů kmene F344 i Long-Evans ve srovnání s mladými jedinci může být způsobena neuronovou degenerací ve vnitřním uchu a v mozkovém kmeni během stárnutí jak ji popsali např. Casey a Feldman (1988) nebo Keithley a Croskrey (1990). Průběh změn v délce trvání odpovědi (tj. intervalu mezi vrcholy jednotlivých vln, které je závislé na rychlosti šíření nervového vzruchu) v závislosti na věku byl podobný u obou kmenů potkanů. Změny v délce trvání ABR probíhaly u potkanů F344 rychleji než u kmene Long-Evans. Prodlužování latencí mezi vrcholy bylo pozorováno u potkanů kmene F344 ve věku 20 měsíců, zatímco u potkanů kmene Long-Evans ve věku 30 měsíců života. Amplitudy klikem vyvolaných ABR se snižovaly v závislosti na věku u potkanů kmene F344 na rozdíl od potkanů kmene Long-Evans, u kterých, se za života signifikantně neměnily.

5.1.3. Ztráta vláskových buněk

V Cortiho orgánu 24 měsíčních potkanů kmene Sprague-Dawley našel Crowley a kol. (1972) malou ztrátu vláskových buněk (5% vnějších vláskových buněk, 1% vnitřních vláskových buněk). U 31-33 měsíčních potkanů téhož kmene se podle Keithley a Feldmana (1982) pohybovaly ztráty vnitřních vláskových buněk v rozmezí od 1,6 do 4,2% a ztráty vnějších vláskových buněk od 2,1 do 23,3 %. Staří, 24 měsíční, potkani kmene F344 vykazovali malou ztrátu vnitřních vláskových buněk (<10%) v průběhu celé kochley a ztrátu vnějších vláskových buněk ve tvaru U s největšími ztrátami (více jak 70%) vázanými na apikální a bazální závity (Turner a Caspary, 2005). Počet chybějících vláskových buněk u 22 měsíčních potkanů kmene F344 odpovídal podobným ztrátám u 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans. Výrazně větší ztráta byla pozorována u starých myší kmene C57BL/6. V kochle 26 měsíčních myší chyběly téměř všechny vnější vláskové buňky, ztráty vnitřních vláskových buněk se postupně snižovaly od 100% blízko baze do přibližně 20 % blízko apexu (Idrizbegovic a kol., 2003; Spongr a kol., 1997).

5.1.4. DPOAE

Nejzřetelnější rozdíl mezi potkany kmene Long-Evans a kmene F344 představují změny amplitud DPOAE v závislosti na věku. U potkanů kmene Long-Evans se amplitudy DPOAE neměnily v žádné věkové skupině. To odpovídá relativně nízkému počtu chybějících vláskových buněk v Cortiho orgánu a malému posunu prahu u nejstarších, 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans.

Ve srovnání s potkany kmene Long-Evans se u potkanů kmene F344 snižovaly amplitudy DPOAE postupně během prvních měsíců jejich života a mezi 12 a 18 měsíci u nich vymizely téměř ve všech uších. Tento nálezn však kontrastuje se skutečností, že hodnoty posunu prahu u 12 měsíčních potkanů kmene F344 byly převážně shodné s hodnotami u 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans s normálními DPOAE. Také počet chybějících vnějších vláskových buněk (jako hlavního generátoru otoakustických emisí) je prakticky shodný u kmene F344 a kmene Long-Evans. Navíc u poloviny 12 měsíčních potkanů kmene F344 byly DPOAE asymetrické, tj. v jednom uchu byly přítomny, zatímco v protilehlém ne. Tyto výsledky ukazují, že přestože vláskové buňky jsou v Cortiho orgánu přítomny, jejich funkce může být narušena. Podobné nálezy popisující změny amplitud DPOAE závislé na věku u potkanů kmene F344 byly nově publikovány v práci Bielefeld a kol., (2008).

5.1.5. Možné mechanismy podmiňující sluchovou ztrátu vázanou na věk

Normální funkce kochley závisí na iontové rovnováze endolymfy. Za udržování kochleární homeostázy jsou odpovědné tkáně laterální stěny kochley - stria vascularis a ligamentum spirale. Atrofie těchto struktur u starých zvířat byla studována několika autory (Keithley a kol., 1992; Schulte a Schmiedt, 1992; Ichimiya a kol., 2000; Buckiová a kol., 2006, 2007). U starých myší a křečků uvedlo několik autorů (Hequembourg a Liberman, 2001; Lang a kol., 2003; Ohlenmiller, 2002; Schulte a Schmiedt, 1992; Spicer a Schulte, 2002) difúzně rozšířenou degeneraci fibrocytů v ligamentum spirale, což způsobuje ztrátu vláskových buněk a neuronů. Patologie fibrocytů tak může být primární příčinou definitivní degenerace smyslové buňky a sluchové ztráty.

Stárnutí ovlivňuje procesy přenosu signálu a vznik endokochleárního potenciálu (EP) u různých zvířat různě. Předchozí studie u křečka ukázaly, že endokochleární potenciál a aktivita Na, K – ATPázy v laterální stěně klesá s věkem (Gratton a kol., 1996; Schmiedt, 1996; Schulte a Schmiedt, 1992; Suryadevara a kol., 2001). U starých myší C57BL/6J a myší CD-1 ukazují studie signifikantní pokles $[K^+]^e$ (pod 30%) v kochleárních závitech a výrazný vzestup prahu s výraznými změnami v normoxickém endokochleárním potenciálu (Lang a kol., 2002; Ohlenmiller, 2002; Wu a Marcus, 2003). Ogawa a Schacht (1999) a Lautermann a kol. (1997) demonstrovali nezměněné hladiny glutathionu (části antioxidačního systému) a inositol fosfátu (systému 2. posla) v laterální stěně kochley u 24 měsíčních potkanů kmene F344.

V této studii úplně chyběly DPOAE u poloviny dospělých potkanů kmene F344 měřených ve věku 12 měsíců. Posun prahu u nich byl méně než 20 dB.

Tentýž posun prahu u 30 měsíčních potkanů kmene Long-Evans nevyvolal žádný pokles amplitudy DPOAE. Důvodem pro úbytek DPOAE u potkanů kmene F344 může být snížená funkce vnějších vláskových buněk, která může mít několik příčin. Například výrazné poškození struktury stria vascularis bylo ukázáno v práci Buckiová a kol. (2007).

5.1.6. Úloha středního ucha v přenosu zvuku

Střední ucho by mohlo být považováno za důležitý, ale dosud nepoznaný faktor, přispívající ke sluchové ztrátě u starých jedinců. Do současné doby je popsáno několik chorob ovlivňujících strukturu a funkci středního ucha, např. otoskleróza. Otoskleróza je onemocnění neznámé etiologie (v mnoha případech pouze monoaurálně), působící na struktury středního ucha, má za následek výskyt otospongiotických ložisek v kapsule labyrintu a fixaci třmínku.

Mikroskopické vyšetření středního ucha u potkana bez řezáku (zvířecí model otosklerózy, Kaniff a kol., 1990) odhalilo kostní abnormality sluchových kůstek a oválného okénka a kostní léze v inkudostapediálním skloubení. Makroskopické vyšetření starých potkanů kmene F344 neodhalilo v této studii zjevné známky spongiotických ložisek v hlemýždi nebo malformace inkudostapediálního skloubení. Nicméně mnoho metabolických změn uvedených u potkanů kmene F344 může mít za následek jinou formu středoušní dysfunkce odhalené tympanometrickým vyšetřením. Všechny parametry tympanometrického vyšetření - poddajnost (admittance), gradient tympanometrické křivky a středoušní tlak, byly u mladých potkanů kmene Long-Evans a kmene F344 převážně shodné, ale významně rozdílné byly mezi oběma kmeny ve věku 15ti měsíců – což bylo dáno změnami u potkanů kmene F344. Nižší hodnoty admittance a gradientu tympanometrické křivky ukázaly nižší impedanci středoušních struktur. Pohyblivost bubínku a dalších středoušních struktur omezuje velký podtlak ve středouší a je často způsoben dysfunkcí Eustachovy trubice, Doan a kol. (1996) a Cannuscio a kol. (2004) ukázali, že u starých myši nebo potkanů Brown-Norway může bubínek obsahovat alterovaný kolagen, ovlivňující jeho schopnost převádět akustický signál. Toto narušení struktury bubínku může vyústit v poruchu jeho převodní funkce. Poškození kolagenu během stárnutí bylo uvedeno i Seidmannem a kol. (2002). Defekt kolagenu u potkanů kmene F344, které bylo prokázáno v práci Buckiová a kol. (2006), může hrát zásadní roli ve sluchové ztrátě, vyvolávající malfunkci stria vascularis nebo změny středoušních struktur. Všechny tyto změny mohou vyústit ve značný pokles amplitudy DPOAE projevující se sluchovou ztrátou.

5.1.7. Změny v centrálním sluchovém systému

Změny hladiny GABA (kyseliny gamma aminomáselné) v různých částech mozku vlivem stárnutí jsou všeobecně známy. Ve vyšších etážích sluchového systému prokázala Burianová a kol. (2008) v závislosti na stárnutí změnu množství GAD (glutamát dekarboxylázy), klíčového enzymu pro syntézu GABA. V colliculus inferior, sluchové kůře a zrakové kůře potkanů kmene Long-Evans studovali pomocí imunohistochemických metod a analýzy Western blot konkrétně hladiny GAD65 a GAD67. Výsledky ukazují na pokles počtu GAD 65- a 67- imunoreaktivních neuronů a snížení optické denzity jejich těl v colliculus inferior a sluchové kůře v závislosti na věku. Ve zrakové kůře byl pokles u obou proteinů méně vyjádřen než v colliculus inferior či ve sluchové kůře. Podobné na věku závislé změny byly nalezeny i u kmene potkanů Fischer 344. Snížení hladin GAD 65 a 67 může vést k signifikantnímu zhoršení sluchové funkce u savců včetně člověka.

5.2. Klinická část

Klinická část studie analyzuje jednak stav sluchu ve skupině zdravých dětí a adolescentů ve věku 6–25 let a odhaluje změny, které se objevují v několika parametrech sluchové funkce v závislosti na věku. Studie se rovněž zaměřuje na skupinu dětí a mladistvých trpících tinnitem různé etiologie. Skupina dětí a mladistvých zahrnutých do této studie reprezentuje vzorek dobrovolníků vyšetřovaných na ORL klinice Fakultní nemocnice v Praze-Motole.

Výsledky ukazují, že (i) sluchový práh na 16 kHz ve skupině 21–25-ti letých je signifikantně vyšší než ve skupinách jedinců o 3 roky mladších, (ii) odpovědi TEOAE klesají s věkem a pokles je v korelaci se sluchovou ztrátou na 16 kHz, (iii) průměrné amplitudy DPOAE zůstávají stejné v jednotlivých věkových skupinách, s výjimkou signifikantně vyšších hodnot DPOAE na 6,3 kHz ve skupině nejmladších jedinců, (iv) frekvence 1. vrcholu SOAE je ve skupině nejmladších dětí vyšší ve srovnání s ostatními věkovými skupinami.

Ve studii dětí a mladistvých trpících tinnitem ukazují výsledky, že pouze 20% pacientů s tinnitem mělo sluchovou ztrátu, zatímco 80% pacientů mělo normální sluchové prahy. Vzorek dětí a mladistvých trpících sluchovou ztrátou reprezentuje skupinu pacientů, u kterých zdroj tinnitu byl spojen alespoň částečně s onemocněním ucha (postižení akustickým traumatem, infekcí středního ucha, zraněním hlavy nebo potápění).

U pacientů s normálním sluchem byl tinnitus pravděpodobně spojený s jinými nespecifickými příčinami, a to buď somatickými (hlavně s patologií páteře, míchy nebo systémovou infekcí) nebo psychickými (deprese, stres).

Skupina dětí s podobnou etiologií tinnitu je uváděna ve studii Austa (2002). Aust (2002) také připouští, že u velkého počtu dětí s porušenou centrální percepcí nebo s emočními problémy nebyly okamžitě objasněny mechanismy vzniku tzv. skrytého tinnitu.

U pacientů s tinnitem různého původu nebyly nalezeny žádné specifické rozdíly v audiogramech nebo evokovaných otoakustických emisích (TEOAE a DPOAE). Velikost odpovědí TEOAE a DPOAE byla však převážně určována stupněm sluchové ztráty.

Nejdůležitějším výsledkem této studie byla signifikantně nižší přítomnost SOAE u pacientů s tinnitem v porovnání s kontrolní skupinou dobrovolníků.

5.2.1. Tónová audiometrie u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje

Mezi jednotlivými pozorovanými subjekty byla změna ve sluchových prazích relativně malá. Větší změny byly zaznamenány, pouze na vyšších frekvencích v rozsahu od 10 do 16 kHz.

Díky individuálním změnám v procesu stárnutí a vlivu životního prostředí stoupá s věkem a s frekvencí variabilita sluchových prahů mezi jednotlivými subjekty (Fausti a kol., 1981, Stelmachowicz a kol., 1989 a Schechter a kol., 1986). Sluchové prahy v této studii se obecně shodují s normativními daty získanými v jiných studiích (Schechter a kol., 1986, Reuter a kol., 1997, Stelmachowicz a kol., 1989 a Schmuziger a kol., 2005).

Data této studie ukazují postupné snížení vysokofrekvenční citlivosti během dospívání a časné dospělosti. Schechter a kol., 1986, Stelmachowicz a kol., 1989, Trehub a kol., 1989 a Reuter a kol., 1997 prokázali na frekvenčním rozsahu 15 – 18 kHz ztrátu sluchové citlivosti začínající kolem 20 roku věku. Sluchová ztráta je obvykle vyvolána věku odpovídajícími změnami metabolismu, změnami pojivové tkáně, degenerací neuronů sluchových nervů a mechanickými změnami Cortiho orgánu, dále degenerativními změnami sluchové dráhy a mozkových center (Brizzee a kol., 1980, Trehub a kol., 1989, Schuknecht a Gacek, 1993 a Mazelová a kol., 2003). Otázkou zůstává, do jaké míry souvisí zhoršení sluchu pouze se stárnutím a do jaké míry současně s vlivem hluku a ototoxických agens. Nelze zcela vyloučit ani příležitostnou expozici hluku, přestože dotazovaní jedinci poslech hlasité hudby negovali.

5.2.2. TEOAE a DPOAE u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje

Již dříve bylo prokázáno, že se odpovědi TEOAE a DPOAE mění s věkem. Zatímco je pokles TEOAE v prvních 6 letech života rychlý, ve vyšším věku pokračuje pokles pomaleji, což odpovídá nálezům i dalších autorů (Kon a kol., 2000, Norton a Widen, 1990, Spektor a kol., 1991, Prieve, 1992 a Satoh a kol., 1998). Počáteční rychlý pokles TEOAE lze vysvětlit vývojovými změnami parametrů zevního a středního ucha. Ke zpomalení těchto změn dochází mezi 6-7 lety (Kon a kol., 2000), zatímco pokles TEOAE v pozdějším období by mohl být způsoben převážně spontánním zhoršením sluchové funkce (Bray a Kemp, 1987). V této studii měl objem zevního zvukovodu u dětí starších 6 let rostoucí tendenci kontinuálně s věkem. Maximálních hodnot bylo dosaženo ve skupině III (subjekty ve věku 16 – 20 let). Nebyla však pozorována korelace mezi objemem zvukovodu a odpovědí TEOAE (Spearman $r = -0,136$, $p < 0,075$) nebo přítomností SOAE. Jedinci s přítomnými SOAE (SOAE+) a jedinci bez přítomných SOAE (SOAE-) měli velmi podobné průměrné objemy zevního zvukovodu ($0,86 \pm 0,21$ ml u SOAE+ jedinců a $0,89 \pm 0,23$ ml u SOAE- jedinců).

Statisticky signifikantní pokles amplitud DPOAE se stoupajícím věkem byl rovněž prezentován několika autory (Brook a kol., 2001, Lonsbury-Martin a kol., 1993, Prieve a kol., 1997b a Kon a kol., 2000). V mnoha z těchto studií byli jedinci vyšetřováni v širším věkovém rozmezí - od 1 až 3 let do dospělosti. V předkládané práci byla závislost změn amplitud DPOAE na věku nalezena u skupiny I. Odpovědi DPOAE měřené na nejvyšší frekvenci f_2 (6,3 kHz) byly významně vyšší než u jiných skupin, věkově starších. Celkově se však změny odpovědí DPOAE v závislosti na věku popsané v této studii měnily méně než odpovědi TEOAE.

Věkem podmíněné změny otoakustických emisí jsou v literatuře často vysvětlovány změnami sluchových prahů na frekvencích s nejnižším sluchovým prahem (1-3 kHz) (Probst a kol., 1991, Stover a Norton, 1993 a Karlzon a kol., 1994). Tyto studie ukázaly u dětí a dospělých přítomnost a velikost poklesu OAE jako funkci sluchové ztráty. Zároveň popisují existenci statisticky signifikantní korelace mezi charakteristikami otoakustických emisí a sluchovými ztrátami na frekvencích 1000–3000 Hz. TEOAE nebyly nikdy výbavné, pokud sluchové ztráty na 500–4000 Hz překročily hodnoty 34–40 dB. DPOAE nebyly zaznamenány ve spojení se sluchovými ztrátami většími než 40–50 dB (Hoth, 1996, Collet a kol., 1993a, Collet a kol., 1993b a Wagner a Plinkert, 1999). TEOAE se zdají citlivější ke sluchovým ztrátám než DPOAE.

Sluchové ztráty na nízkých a středních frekvencích byly ve vzorku dětí a mladistvých této studie velmi podobné a nepřesahovaly 20 dB. Zatímco korelační analýza prokázala významnou závislost mezi odpověďmi TEOAE a sluchovými ztrátami na 16 kHz,

na jednotlivých dalších frekvencích nikoliv. Několik studií ukázalo, že akustické trauma může mít za následek ztrátu energie TEOAE na mnohem nižších frekvencích, než na kterých se projeví v audiogramu. El-Bez a kol., (1994) a Avan a kol., (1997) zjistili, že u dobrovolníků s normálním sluchem koreluje velikost klikem vyvolaných TEOAE s jejich průměrnými sluchovými prahy na 8–16 kHz. Podobně Murnane a Kelly (2003) prokázali, že u jedinců s vysokofrekvenční sluchovou ztrátou v porovnání s jedinci s normálním sluchem byla významně nižší úroveň TEOAE na nízkých a středních frekvencích. Současně však nebyly zaznamenány žádné významné skupinové rozdíly mezi sluchovými prahy na tónovém audiogramu v rozmezí 250–2000 Hz. Frekvenční analýza odpovědí TEOAE v 1/3 oktávových pásmech prokázala v této studii, že amplitudy TEOAE ve frekvenčním rozsahu 2000–6350 Hz byly významně vyšší ve skupině I než v dalších věkových skupinách. Amplitudy TEOAE na frekvencích pod 2000 Hz se mezi skupinami nelišily. Rozdíly v celkových odpovědích TEOAE mezi věkovými skupinami jsou částečně dány přinejmenším snížením energie TEOAE ve středních a vysokých frekvenčních pásmech. Arnold a kol. (1999) ukázali na významnou korelaci mezi úrovní DPOAE na frekvencích 4–8 kHz s průměrným prahem na frekvencích od 11,2 do 20 kHz.

Výše uvedené výsledky ukazují, že sluch na velmi vysokých frekvencích ovlivňuje TEOAE a DPOAE na výrazně nižších frekvencích. Emise jsou totiž citlivé na velmi malé změny vnějších vláskových buněk, které se ještě neprojeví na změnách sluchových prahů na tónovém audiogramu v této oblasti. Jiným možným vysvětlením může být také to, že změny v bazální části kochley ovlivňují generování nízkofrekvenčních OAE vznikajících v apikálnějších oblastech kochley.

5.2.3. SOAE u zdravých dětí a mladistvých v průběhu vývoje

Výsledky dlouhodobých studií neukázaly významné rozdíly v incidenci SOAE a četnostech jednotlivých vrcholů SOAE mezi novorozenci a dospělými (Prieve a Falter, 1995, Strickland a kol., 1985 a Burn a kol., 1992).

Někteří autoři předpokládají, že změny SOAE nejsou způsobené změnami v hlemýždi, ale vývojovými změnami v zevním nebo středním uchu. Podle výskytu, četnosti a úrovně SOAE popsanych v této studii nebyly mezi jedinci ve věku 6–25 let odhaleny zásadní zákonitosti. Nejnižší výskyt SOAE byl nalezen v nejmladší věkové skupině. Tento zdánlivě paradoxní nález může být vysvětlen horší poddajností ve středouší nejmladší věkové skupiny. Výskyt SOAE v této věkové skupině může snižovat i nízkofrekvenční šum, který zhoršuje detekci nízkofrekvenčních vrcholů. Toto vysvětlení je podporováno skutečností, že u nejmladší

skupiny se první vrchol objevil průměrně na 2,9 kHz, na rozdíl od dalších tří věkových skupin, u kterých byl první vrchol detekován v průměru asi okolo 1,5 kHz. SOAE byly přítomny v 70,8% všech testovaných dětí a mladistvých (buď v jednom nebo v obou uších), což je více než bylo nalezeno v ostatních studiích, kde počet subjektů s výbavnými spontánními otoakustickými emisemi nepřekročil 60% (Stover a Norton, 1993 a Moulin a kol., 1993). Tato práce potvrzuje nálezy i dalších studií (Moulin et al., 1993, Stover a Norton, 1993 a Sininger a Abdala, 1998), podle kterých jsou SOAE nejvíce přítomné v pravém uchu (70,7%), ve frekvenčním rozsahu 0,5–4 kHz a častěji u žen (79,3%) než u mužů (60,0%).

Zajímavým nálezem této studie je to, že incidence SOAE u dětí a mladistvých souvisí se zhoršením sluchového prahu na 16 kHz. Zatímco sluchové prahy u dětí a mladistvých (6–20 letých) byly srovnatelné u jedinců s přítomnými SOAE s jedinci bez přítomných SOAE, byla sluchová ztráta na 16 kHz významně větší u mladistvých (21–25 letých) bez SOAE než sluchová ztráta u jedinců s přítomnými SOAE. Podobné výsledky byly nedávno uvedeny Schmuzigerem a kol. (2005). Tito autoři demonstrovali, že jedinci s přítomnými SOAE měli lepší sluchovou senzitivitu v celém frekvenčním rozsahu rozšířeném o vysoké frekvence. Moulin a kol. (1991) uvedli, že přítomnost SOAE se zdá být přinejmenším na středních kmitočtech ukazatelem dobré kochleární funkce. Podle těchto autorů nebyly SOAE nikdy nalezeny, pokud sluchová ztráta na 1000 Hz přesáhla 10 dB. Podle Mazelové a kol. (2001) přechodně zmizely SOAE u několika dobrovolníků vystavených hlasité hudbě (průměrný posun prahu se rovnal 10 dB v celém frekvenčním pásmu od 1 do 5 kHz). SOAE se sníženými amplitudami zůstaly přítomné u jednotlivců s posuny prahu nepřesahující 5 dB na žádné frekvenci. Tyto výsledky dokazují, že pro tvorbu SOAE, podobně jako pro TEOAE, je nutná dobrá funkce celého hlemýždě.

5.2.4. Tónová audiometrie a vnímání tinnitu u jedinců trpících tinnitem

Barnea a kolektiv (1990) sdělili, že rozšířená vysokofrekvenční audiometrie neukázala signifikantní rozdíly mezi jedinci s tinnitem a bez tinnitu. Data prezentovaná ve výše uvedené studii byla naměřena převážně u dospělých pacientů se sluchovou ztrátou způsobenou hlukem nebo související s věkem. Sluchová ztráta u dětí a mladistvých vyšetřovaných v této studii byla převážně způsobena zraněním hlavy nebo získána po zánětu středního ucha nebo po celkové infekci. Přestože hodnoty sluchového prahu u několika pacientů se sluchovou ztrátou měly na frekvencích kolem vnímání tinnitu tendenci být horší než prahové hodnoty na ostatních frekvencích, ve většině případů nebyla nalezena zjevná korelace mezi frekvencí tinnitu a prahovými hodnotami na tónovém audiogramu jak u pacientů s normálním sluchem, tak

u většiny pacientů se sluchovou ztrátou. Frekvence a úroveň tinnitu byla měřena binaurálním měřicím postupem, tzv. objektivizací tinnitu.

5.2.5. TEOAE a DPOAE u jedinců trpících tinnitem

V naší studii nebyly u mladých pacientů v porovnání s kontrolami zjištěny žádné signifikantní rozdíly mezi průměrnými odpověďmi TEOAE a DPOAE. Emise však byly měřeny a analyzovány s krokem 3 body na oktávu, což nedovoluje porovnání DPOAE nebo TEOAE amplitudy na frekvenci přesně shodné s frekvencí tinnitu. Podobné výsledky jako v naší studii zjistili i Rosanowski a kol. (1997), kteří nepopsali žádné rozdíly mezi amplitudami TEOAE a DPOAE u mladých pacientů s tinnitem v porovnání s kontrolní skupinou dobrovolníků.

5.2.6. SOAE u jedinců trpících tinnitem

V literatuře je velmi málo dostupných údajů o incidenci SOAE u mladších jedinců trpících tinnitem. Existuje pouze několik studií popisujících incidenci SOAE u dospělých a starších jedinců trpících tinnitem. Bonfils (1989) a Rebillard a kolektiv (1987) nezjistili statisticky významné rozdíly v incidenci SOAE mezi dobrovolníky s tinnitem a dobrovolníky bez tinnitu. Prasher a kol. (2001) popisuje u pracovníků vystavených hluku přítomnost SOAE u jedinců s tinnitem v 73,1% a u jedinců bez tinnitu v 50%. Pacienti s tinnitem měli dokonce horší prahy a snížené TEOAE v porovnání s jedinci bez tinnitu. Také Kuroda (2007) popsal přítomnost SOAE u jedinců bez měřitelných TEOAE. Tyto výsledky naznačují, že vztahy mezi TEOAE a SOAE mohou být složitější, než se původně předpokládalo.

V naší studii na souboru pacientů s tinnitem byla zjištěna signifikantně nižší přítomnost SOAE než u kontrolní skupiny dětí a adolescentů. Tento výsledek může vzniknout kombinací dvou rozdílných efektů. Přítomnost tinnitu může způsobit nižší výskyt SOAE, na druhou stranu vznik sluchové ztráty může vyvolat objevení se nových SOAE popisovaných v jiných studiích (Prasher a kol., 2001).

6. ZÁVĚRY

6.1 Experimentální část

Mechanismy vzniku poruch sluchu během stárnutí byly studovány u dvou kmenů potkanů. U velmi starých potkanů kmene Long-Evans (stáří 30-36 měsíců) byl zjištěn jen mírný pokles v ABR audiogramu, žádné nebo jen malé změny v amplitudách DPOAE, žádné změny v parametrech tympanometrických měření, minimální změny v klikem evokovaných ABR a malá ztráta vláskových buněk (omezená hlavně na apikální a bazální konce Cortiho orgánu). Potkani kmene Long-Evans jsou proto vhodným experimentálním modelem pro studium mechanismů stárnutí sluchu při dobře zachované sluchové funkci. U rychle stárnoucích potkanů kmene F344 (délka života potkanů F344 nepřesahuje výrazně 24 měsíců) jsou většinou podmíněné změny sluchové funkce mnohem více zřetelné. Ztráta sluchu se u nich objevuje na konci prvního roku života a během dalších 12 měsíců se rychle prohlubuje. Během 2. roku života se výrazně zhoršuje sluchový práh (zvláště na vysokých frekvencích), dochází ke značnému poklesu amplitudy DPOAE až k jejich úplné ztrátě a významně se zhoršují parametry přenosu zvuku přes středouši. Výrazné degenerativní změny byly detekovány ve tkáni stria vascularis a u fibroblastů v lamina spiralis. Navzdory výraznému zhoršení sluchu u starých potkanů F344 je procento chybějících vláskových buněk velmi malé, srovnatelné se stavem u potkanů Long-Evans u nichž je sluchová funkce ve stáří dobře zachovaná. Výrazná sluchová ztráta, značný pokles amplitudy DPOAE a zhoršené parametry přenosu zvuku přes středouši bez výrazného úbytku vláskových buněk ukazují na účast komplexních patologických procesů během stárnutí u rychle stárnoucích potkanů kmene F344.

Další výzkum vzniku sluchových poruch u potkanů F344 během stárnutí ukáže, do jaké míry je model potkana F344 vhodný pro studium mechanismů vzniku presbyakuze u člověka a pro případnou prevenci.

Výsledky této studie ukázaly na složitost patologických znaků během stárnutí u kmene potkana F344. Je možné, že tyto mechanismy se vyskytují i u člověka, ale nebyly dosud prokázány.

6.2 Klinická část

V klinické části studie byl audiometrickými testy sledován vývoj sluchové funkce u dětí a dospívajících. Využitím vysokofrekvenční audiometrie bylo zjištěno, že zhoršení sluchu na vysokých frekvencích (16 kHz) se začíná projevovat již u jedinců ve věkové kategorii 21-25 let. Výraznější sluchová ztráta na 16 kHz byla zjištěna u jedinců,

u nichž nebyly přítomny spontánní otoakustické emise (SOAE). Amplitudy otoakustických emisí TEOAE, jejichž frekvenční spektrum leželo v rozmezí 0,5-8 kHz, se výrazně snižovaly s věkem. Vysokofrekvenční sluchová ztráta se tedy může odrazit ve snížení amplitudy TEOAE měřené na nízkých a středních frekvencích. Vyhodnocení sluchových ztrát v rozšířeném frekvenčním pásmu spolu se záznamem TEOAE a SOAE může napomoci detekci počínajících sluchových poruch v dětském věku, které nemohou být odhaleny klasickou audiometrií s frekvencí do 8 kHz.

Ve studii byly dále hodnoceny audiologické charakteristiky dětí a mladistvých trpících tinnitem různé etiologie a porovnány s obdobnými vyšetřeními u kontrolní skupiny stejně starých dobrovolníků. U jednotlivých pacientů nebyla nalezena korelace mezi původem tinnitu a výsledky audiometrických testů, tj. tónovým audiogramem a výsledky záznamu evokovaných otoakustických emisí (TEOAE a DPOAE). Byl zjištěn pouze významně nižší výskyt SOAE (44,6 % uší) u mladých pacientů s tinnitem v porovnání s 62,5% uší v kontrolní skupině dětí a mladistvých. Nicméně byla pozorována silná závislost amplitud a frekvenčních charakteristik TEOAE a DPOAE na stupni sluchové ztráty bez ohledu na zdroj tinnitu.

7. SOUHRN

- Výrazná sluchová ztráta, značný pokles amplitudy DPOAE a zhoršené parametry přenosu zvuku přes středouši bez výrazného úbytku vláskových buněk ukazují na účast komplexních patologických procesů během stárnutí u rychle stárnoucích potkanů kmene F344.
- Vzhledem k minimálním změnám amplitud DPOAE, parametrů tympanometrických měření, klikem vyvolaných ABR a malé ztrátě vláskových buněk během stárnutí jsou proto potkani kmene Long-Evans vhodným experimentálním modelem pro studium mechanismů stárnutí sluchu při dobře zachované sluchové funkci.
- Ke zhoršení sluchu na vysokých frekvencích (16 kHz) začíná docházet již u mladých lidských jedinců ve věku 21-25 let a je výraznější u uší jedinců, u nichž nebyly přítomny spontánní otoakustické emise.
- Nebyl zjištěn žádný výrazný rozdíl v běžně používaných audiometrických testech u mladých pacientů s tinnitem v porovnání s kontrolní skupinou dětí a mladistvých kromě významně sníženého výskytu SOAE u jedinců s tinnitem.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Adams JC, Schulte BA (1997) Histopatologic observations of the aging gerbil cochlea. *Hear Res* 104:101-111.
- Aitkin L (1990) *The auditory cortex*. Chapman and Hall, London, UK
- Arlinger S (1990) Audiometric profile in presbycusis. *Acta Otolaryngol Suppl* 476:85-90.
- Arnold DJ, Lonsbury-Martin BL, Martin GK (1999) High-frequency hearing influences lower-frequency distortion-product otoacoustic emissions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 125:215–222.
- Avan P, Elbez M, Bonfils P (1997) Click-evoked otoacoustic emissions and the influence of high-frequency hearing losses in humans. *J Acoust Soc Am* 101:2771–2777.
- Avan P, Buki B, Maat B, Dordain M, Wit HP (2000) Middle ear influence on otoacoustic emissions. I: noninvasive investigation of the human transmission apparatus and comparison with model results. *Hear Res* 140:189-201.
- Backoff PM, Caspary DM (1994) Age-related changes in auditory brainstem responses in Fischer 344 rats: effects of rate and intensity. *Hear Res* 73:163-172.
- Barnea G, Attias J, Gold S, Shahar A (1990) Tinnitus with normal hearing sensitivity: extended high-frequency audiometry and auditory-nerve brain-stem-evoked responses. *Audiology* 29:36-45.
- Berlin CI, Hood LJ, Wen H, Szabo P, Cecola RP, Rigby P, Jackson DF (1993) Contralateral suppression of non-linear click-evoked otoacoustic emissions. *Hear Res* 71:1-11.
- Bielefeld EC, Coling D, Chen GD, Li M, Tanaka C, Hu BH, Henderson D (2008) Age-related hearing loss in the Fischer 344/NHsd rat substrain. *Hear Res* 241:26-33.
- Boettcher FA, Mills JH, Norton LB (1993) Age-related changes in auditory evoked potentials of gerbils. I. Response amplitudes. *Hear Res* 71:137-145.
- Boettcher FA, Mills JH, Dubno JR, Schmidt RA (1995) Masking of auditory brainstem response in young and aged Mongolian gerbils. *Hear Res* 89:1-13.
- Bohne BA, Gruner MM, Harding GW (1990) Morphological correlates of aging in the chinchilla cochlea. *Hear Res* 48:79-92.
- Bonfils P, Bertrand Y, Uziel A (1988) Evoked otoacoustic emissions: normative data and presbycusis. *Audiology* 27:27-35.
- Bonfils P (1989) Spontaneous otoacoustic emissions: clinical interest. *Laryngoscope* 99:752-756.
- Bonfils P, Dumont A, Marie P (1990) Evoked otoacoustic emissions in newborn hearing screening. *Laryngoscope* 100:186-189.
- Braun M (1994) Tuned hair cells for hearing, but tuned basilar membrane for overload protection: evidence from dolphins, bats, and desert rodents. *Hear Res* 78:98-114.
- Bray PJ, Kemp D (1987) An advanced cochlear echo technique suitable for infant screening. *Br J Audiol* 21:191–204.
- Brizzee KR, Ordy JM, Hartus RT (1980) Localization of cellular changes within multimodal sensory regions in aged monkey brain: possible implications for age-related cognitive loss. *Neurobiol Aging* 1:45–52.
- Brook L, Trussell J, Histon K, Forsyth H, Pizer B (2001) Normal values for distortion product otoacoustic emissions in children: a study using primary levels previously demonstrated

- to be optimum for identification of hearing loss. *Scand Audiol Suppl* 53:37–43.
- Brown MC (1989) Morphology and response properties of single olivocochlear fibers in the guinea pig. *Hear Res* 40:93-109.
- Brown MC, Kujawa SG, Liberman MC (1998) Single olivocochlear neurons in the guinea pig-II-Response plasticity due to noise conditioning. *J Neurophysiol* 79:3088-3097.
- Bruzzone R, White TW, Paul DL (1995) Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signaling. *Eur J Biochem* 238:1-27.
- Buckiová D, Popelář J, Syka J (2006) Collagen changes in the cochlea of aged Fischer 344 rats. *Exp Gerontol* 41:296-302.
- Buckiova D, Popelář J, Syka J (2007) Aging cochleas in the F344 rat: morphological and functional changes. *Exp Gerontol* 42:629-38.
- Burianová J, Ouda L, Profant O, Syka J (2008) Age-related changes in GAD levels in the central auditory system of the rat. *Exp Gerontol* 4.
- Burns EM, Arehart KH, Campbell SL (1992) Prevalence of spontaneous otoacoustic emissions in neonates. *J Acoust Soc Am* 91:1571–1575.
- Burns EM, Campbell SL, Arehart KH (1994) Longitudinal measurements of spontaneous otoacoustic emissions in infants. *J Acoust Soc Am* 95:385–394.
- Bussoli TJ, Steel KP (1998) The molecular genetics of inherited deafness-current and future applications. *J Laryngol Otol* 112:523-30.
- Campo P, Pouyatos B, Lataye R, Morel G (2003) Is the aged rat ear more susceptible to noise or styrene damage than the young ear?. *Noise Health* 5:1-18.
- Cannuscio JF, Saunders JC, Gratton MA (2004) Middle ear transfer function: Alterations in aged rats. In *Proceedings of the 27 Midwinter Meeting Assoc Res Otolaryngol Daytona Beach 2004*:1181.
- Casey MA, Feldman ML (1988) Age-related loss of synaptic terminals in the rat medial nucleus of the trapezoid body. *Neuroscience* 24:189-94.
- Caspary DM, Raza A, Lawhorn Armour BA, Pippin N, Arneric SP (1990) Immunocytochemical and neurochemical evidence for age-related loss of FABA in the inferior colliculus: implications for neural presbycusis. *J Neurosci* 10:2363-2372.
- Caspary DM, Milbrandt JC, Helfert RH (1995) Central auditory aging: GABA changes in the inferior colliculus. *Exp Gerontol* 30:349-360.
- Caspary DM, Holder TM, Hughes LF, Milbrandt JC, McKernan RM, Naritoku DK (1999) Age-related changes in GABA(A) receptor subunit composition and function in rat auditory system. *Neuroscience* 93:307-312.
- Caspary DM, Ling L, Turner JG, Hughes LF (2008) Inhibitory neurotransmission, plasticity and aging in the mammalian central auditory system. *J Exp Biol* 211:1781-91.
- Chen TJ, Chen SS (1990) Brain stem auditory-evoked potentials in different strains of rodents. *Acta Physiol Scand* 138:529-538.
- Chu NS (1985) Age-related latency changes in the brain-stem auditory evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 62:431-6.
- Cohen MM Jr, Gorlin RJ (1995) Epidemiology, etiology and genetic patterns. In: Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM Jr, eds. *Hereditary hearing loss and its syndromes*. Oxford monographs on medical genetics. No.28. New York, Oxford University Press, 9-21.

- Coleman GL, Barthold SW, Osbaldistan GW, Foster SJ, Jonas AM (1977) Pathological changes during aging in barrier-reared Fischer 344 male rats. *J Gerontol* 32:258-278.
- Collet L, Gartner M, Veuillet E, Moulin A, Morgon A (1993) Evoked and spontaneous otoacoustic emissions: a comparison of neonates and adults. *Brain Develop* 15:249–252.
- Collet L, Levy V, Veuillet E, Truy E, Morgon A (1993) Click-evoked otoacoustic emissions and hearing threshold in sensorineural hearing loss, *Ear Hear.* 14, 141–143.
- Cooper WA Jr, Coleman JR, Newton EH (1990) Auditory brainstem responses to tonal stimuli in young and aging rats. *Hear Res* 43:171-179.
- Covell WP, Rogers JB (1957) Pathological changes in the inner ears of senile guinea pigs. *Laryngoscope* 67:118-129.
- Crowley DE, Schramm VL, Swain RE, Swanson SN (1972) Analysis of age-related changes in electric responses from the inner ear of rats. *Ann Otol* 81:739-46.
- Diloreto D, Cox C, Grover DA, Lazar E, Delcerro C, Delcerro M (1994) The influences of age, retinal topography and gender on retinal degeneration in the Fischer-344 rat. *Brain Res* 647:181-191.
- Doan DE, Erulkar JS, Saunders JC (1996) Functional changes in the aging mouse middle ear. *Hear Res* 97:174-7.
- Druga R, Syka J (1984) Projections from auditory structures to the superior colliculus in the rat. *Neurosci Lett* 45:247-252.
- Druga R, Syka J, Rajkowska G (1997) Projections of auditory cortex onto the inferior colliculus in the rat. *Physiol Res* 16:149-164.
- Druga R, Syka J (2001) Effects of auditory cortex lesions on NADPH-diaphorase staining in the inferior colliculus of rat. *Neuroreport* 12:1555-1559.
- Dum N, von Wedel H (1983) Langzeituntersuchung alterbedingter Veränderungen der Hirnstammpotentiale beim Meerschweinchen. *Laryngol Rhinol Otol* 62:378-381.
- Dum N (1983) Age-dependence of auditory threshold differences between albino and pigmented guinea pigs (*Cavia porcellus*) *Z. Säugetierkd* 48:95-99.
- El-Bez M, Avan P, Erminy M, Francois M, Bonfils P (1994) Role of the basal cochlea in the genesis of evoked acoustic oto-emissions in the subject with normal hearing. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 111:443–449.
- Espmark AK, Rosenhall U, Erlandsson S, Steen B (2002) The two faces of presbycusis: hearing impairment and psychosocial consequences. *Int J Audiol* 41:125-135.
- Fausti SA., Erickson DA, Frey RH, Rappaport BZ, Schechter MA (1981) The effects of noise upon human hearing sensitivity from 8000 to 20000 Hz. *J. Acoust Soc Am* 69: 1343–1347.
- Fex J (1959) Augmentation of cochlear microphonic by stimulation of efferent fibers to the cochlea. *Acta Otolaryngol* 50:540-541.
- Finlayson PG, Caspary DM (1993) Response properties in young and old Fischer-344 rat lateral superior olive neurons: a quantitative approach. *Neurobiol Aging* 14:127-139.
- Fletcher H (1929) *Speech and hearing in communication*. Princeton: Van Nostrand Reinhold.
- Fortnum H, Davis A (1997) Epidemiology of permanent childhood hearing impairment in Trent Region 1985-1993. *Br J Audio* 31:409-46. Erratum in: *Br J Audiol* 1998 Feb;32(1):63.

- Franklin DJ, Lonsbury-Martin BL, Stagner BB, Martin GK (1991) Altered susceptibility of 2f1-f2 acoustic-distortion products to the effects of repeated noise exposure in rabbits. *Hear Res* 53:185-208.
- Fukazawa T (1992) Evoked otoacoustic emissions in a nonlinear model of the cochlea. *Hear Res* 59:17-24.
- Gabriel H, Kupsch P, Sudendey J, Winterhager E, Jahnke K, Lautermann J (2001) Mutations in the connexin26/GJB2 gene are the most common event in non-syndromic hearing loss among the German population. *Hum Mutat* 17:521-2.
- Geal-Dor M, Khvoles R, Sohmer H (1997) Cooling induces a decrease in middle ear compliance. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 8:127-32.
- Gelfand SA (1997) *Essentials of Audiology*. Thieme New York Str. 362-363.
- Gifford ML, Guinan JJ Jr (1987) Effects of electrical stimulation of medial olivocochlear neurons on ipsilateral and contralateral cochlear responses. *Hear Res* 29:179-194.
- Gil-Loyzaga P, Bartolomé V, Vicente-Torres A, Carricondo F (2000) Serotonergic innervation of the organ of Corti. *Acta Otolaryngol* 120:128-32.
- Giraud AL, Collet L, Chery-Croze S, Magnan J, Chays A (1995) Evidence of a medial olivocochlear involvement in contralateral suppression of otoacoustic emissions in humans. *Brain Res* 705:15-23.
- Giraud AL, Wable J, Chays A, Collet L, Chéry-Croze S (1997) Influence of contralateral noise on distortion product latency in humans: is the medial olivocochlear efferent system involved?. *J Acoust Soc Am* 102:2219-27.
- Gold T (1948) Hearing II. physical basis of action of the cochlea. *Proc R Soc London Biol Sci* 135:492-498.
- Goodman DC, Ward JM, Squire RA, Chu KC, Linhart MS (1979) Neoplastic and nonneoplastic lesions in aging F3 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* :23-28.
- Groh D, Pelanová J, Jílek M, Popelář J, Kabelka Z, Syka J (2006) Changes in otoacoustic emissions and high-frequency hearing thresholds in children and adolescents. *Hear Res* 212:90-98.
- Gratton MA, Schmiedt RA, Schulte BA (1996) Age-related decreases in endocochlear potential are associated with vascular abnormalities in the stria vascularis. *Hear Res* 102:181-90.
- Guillery RW (1995) Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. *J Anat* 187:583-592.
- Hall J W, Mueller G. (1997) *Audiologists' Desk Reference, Volume I, Diagnostic Audiology, Principles, Procedures and Practices*. Singular Publishing Group, Inc. San Diego. London, 1-904 (372)
- Harada N, Han DY, Komeda M, Yamashita T (1994) Glutamate-induced intracellular Ca²⁺ elevation in isolated spiral ganglion cells of the guinea pig cochlea. *Acta Otolaryngol* 114:609-612.
- Harkins SW (1981) Effects of age and interstimulus interval on the brainstem auditory evoked potential. *Int J Neurosci* 15:107-18.
- Hatzopoulos S, Petrucelli J, Laurell G, Avan P, Finesso M, Martini A (2002a) Ototoxic effects of cisplatin in a Sprague-Dawley rat animal model as revealed by ABR and transiently evoked otoacoustic emission measurements. *Hear Res* 170:70-82.

- Hatzopoulos S, Petrucelli J, Laurell G, Finesso M, Martini A (2002b) Evaluation of anesthesia effects in a rat animal model using otoacoustic emission protocols. *Hear Res* 170: 12-21.
- Heffner HE, Heffner RS, Contos C, Ott T (1994) Audiogram of the hooded Norway rat. *Hear Res* 73:244-247.
- Hefti BJ, Smith PH (2000) Anatomy, physiology and synaptic responses of layer V. cells in rat auditory cortex: characterization and study of inhibition through intracellular GABA_A blockade. *J Neurophysiol* 83:2626-2638.
- Henry KR, Chole RA (1980) Genotypic differences in behavioral, physiological, and anatomical expressions of age-related hearing loss on the laboratory mouse. *Audiology* 19:369-383.
- Henson MM, Xie DH, Wynne RH, Wilson JL, Henson OW Jr. (1996) The course and distribution of medial efferent fibers in the cochlea of the mustached bat. *Hear Res* 102:99-115.
- Hequembourg S, Liberman MC (2001) Spiral ligament pathology: A major aspect of age-related cochlear degeneration in C57BL/6 mice. *J Assoc Res Otolaryngol* 2:118-29.
- Hood LJ, Berlin CI, Hurley A, Cecola RP, Bell B (1996) Contralateral suppression of transient-evoked otoacoustic emissions in humans. Intensity effects. *Hear Res* 37: 29-46.
- Hoth S (1996) Effect of inner hearing loss on delayed otoacoustic emissions (TEOAE) and distortion products (DPOAE). *Laryngorhinootologie* 75:709-718.
- Hunter C, Chung E, Van Woert MH (1989) Age-dependent changes in brain glycine concentration and strychnine-induced seizures in the rat. *Brain Res* 482:247-51.
- Ichimiya I, Suzuki M, Mogi G (2000) Age-related changes in the murine cochlear lateral wall. *Hear Res* 139:116-22.
- Idrizbegovic E, Bogdanovic N, Viberg A, Canlon B (2003) Auditory peripheral influences on calcium binding protein immunoreactivity in the cochlear nucleus during aging in the C57BL/6J mouse. *Hear Res* 179:33-42.
- Ingham NJ, Thornton SK, Comis SP, Withington DJ (1998) The auditory brainstem response of aged guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 118:673-680.
- Ingham NJ, Comis SD, Withington DJ (1999) Hair cell loss in the aged guinea pig cochlea. *Acta Otolaryngol* 119:42-47.
- Irvine DRF (1986) A review of the structure and function of auditory brainstem processing mechanisms. In: *Sensory Physiology*, Vol.7. (Ottoson D, ed) Springer Verlag, Berlin. 1-279.
- Ison JR (1982) Temporal acuity in auditory function in the rat: reflex inhibition by brief gaps in noise. *J Comp Physiol Psychol* 96:945-954.
- Ison JR, O'Connor K, Bowen GP, Bocirnea A (1991) Temporal resolution of gaps in noise by the rat is lost with functional decortication. *Behav Neurosci* 105:33-40.
- Jacono AA, Hu B, Kopke RD, Henderson D, Van der Water TR, Steinman HM (1998) Changes in cochlear antioxidant enzyme activity after sound conditioning and noise exposure in the chinchilla. *Hear Res* 117:31-38.
- Jerger J. (1970) Clinical experience with impedance audiometry. *Arch Otolaryngol* 92: 311-24.

- Jewett DL, Caplovitz G, Baird B, Trumpis M, Olson MP, Larson-Prior LJ (2004) The use of QSD (q-sequence deconvolution) to recover superposed, transient evoked-responses. *Clin Neurophysiol* 115:2754-75.
- Johnstone BM, Patuzzi R, Syka J, Syková E (1989) Stimulus-related potassium changes in the organ of Corti of guinea-pig. *J Physiol* 408:77-92.
- Kaga K, Shinoda Y, Suzuki JI (1997) Origin of the auditory brainstem responses in cats: whole brainstem mapping and a lesion and HRP study of the inferior colliculus. *Acta otolaryngol.* 117:197-201.
- Kaniff TE, Schneider G, Matz GJ (1990) The incisor absent rat: An animal model for the study of otosclerosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 103:406-12.
- Karlzon RK, Garcia P, Peterein JL, Mates GA (1994) Distorsion product otoacoustic emissions in the elderly. *Am J Otol* 15:596-605.
- Keithley EM, Feldman ML (1982) Hair cell counts in an age-graded series of rat cochleas. *Hear Res* 28:249-62.
- Keithley EM, Croskrey KL (1990) Spiral ganglion cell endings in the cochlear nucleus of young and old rats. *Hear Res* 49:169-77.
- Keithley EM, Ryan AF, Feldman ML (1992) Cochlear degeneration in aged rats of four strains. *Hear Res* 59:171-178.
- Kelsell DP, Dunlop J, Steves HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, Mueller RF (1997) Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature* 38:80-83.
- Kelly JB, Masterton B (1977) Auditory sensitivity of the albino rat. *J Comp Physiol Psychol* 91:930-936.
- Kemp DT (1978) Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 64:1386-91.
- Kemp DT (1979) The evoked cochlear mechanical response and the auditory microstructure - evidence for a new element in cochlear mechanics. *Scand Audiol Suppl* 9:35-47.
- Kemp S, Plaisted ID (1986) Tinnitus induced by tones. *J Speech Hear Res* 29:65-70.
- Kemp DT (1986) Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms. *Hear Res* 22:95-104.
- Kemp DT, Ryan S, Bray P (1990) A guide to the effective use of otoacoustic emissions. *Ear and hearing* 11:93-105.
- Kemp DT (1998) Otoacoustic emissions: distorted echos of the cochlea's travelling wave. In: *Otoacoustic emissions*. Ed.: Berlin CH.I., PhD, Singular Publishing Group, Inc.
- Kemp DT (2002) Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull* 63:223-241.
- Khvoles R, Freeman S, Sohmer H (1998) Development of transient evoked otoacoustic emissions in the neonatal rat. *Audiol Neurootol* 3:40-53.
- Kim J, Morest DK, Bohne BA (1997) Degeneration of axons in the brainstem of the chinchilla after auditory overstimulation. *Hear Res* 103:169-191.
- Kon K, Inagaki M, Kaga M (2000) Developmental changes of distortion product and transient evoked otoacoustic emissions in different age groups. *Brain Dev* 22:41-46.
- Kujawa SG, Liberman CM (1997) Conditioning-related protection from acoustic injury: effects of chronic deafferentation and sham surgery. *J Neurophysiol* 78:3095-3106.

- Kumar NM, Gilula NB (1992) Molecular biology and genetic of gap junction channels forming proteins. *Semin Cell Biol* 3:3-16.
- Kumar NM, Gilula NB (1996) The gap junction communication channel. *Cell* 84:381-388
- Kuroda T (2007) Clinical investigation on spontaneous otoacoustic emission (SOAE) in 447 ears. *Auris Nasus Larynx* 34:29-38.
- Kuwabara N (1999) Multiple descending projections to the ventral nucleus of the trapezoid body. *Assoc Res Otolaryngol* 22:148.
- Lang H, Schulte BA, Schmiedt RA (2002) Endocochlear potentials and compound action potential recovery: Functions in the C57BL/6J mouse. *Hear Res* 172:118-26.
- Lang H, Schulte BA, Schmiedt RA (2003) Effects of chronic furosemide treatment and age on cell division in the adult gerbil inner ear. *J Assoc Res Otolaryngol* 4:164-75.
- Lauter JL, Herscovitch P, Formby C, Raichle ME (1985) Tonotopic organization in human auditory cortex revealed by positron emission tomography. *Hear Res* 20:199-205.
- Lautermann J, Crann SA, McLaren J, Schacht J (1997) Glutathione-dependent antioxidant systems in the mammalian inner ear: Effects of aging, ototoxic drugs and noise. *Hear Res* 114:75-82.
- Lee CC, Winer JA (2008) Connections of cat auditory cortex: I. Thalamocortical system. *J Comp Neurol* 507:1879-900.
- Li HS, Borg E (1991) Age-related loss of auditory sensitivity in two mouse genotypes. *Acta Otolaryngol* 111:827-834.
- Lieberman MC (1988) Response properties of cochlear efferent neurons: monoaural vs. Binaural stimulation and the effects of noise. *J Neurophysiol* 60:1779-1798.
- Lieberman MC (1989) Rapid assessment of sound-evoked olivocochlear feedback: suppression of compound action potentials by contralateral sound. *Hear Res* 38:47-56.
- Lieberman MC, Dodds LW, Pierce S (1990) Afferent and efferent innervation of the cat cochlea: quantitative analysis with light and electron microscopy *J Comp Neurol* 301:443-460.
- Lieberman MC (1991) The olivocochlear efferent bundle and susceptibility of the inner ear to acoustic injury. *J Neurophysiol* 65:123-132.
- Lieberman MC, Gao WY (1995) Chronic cochlear de-efferentation and susceptibility to permanent acoustic injury. *Hear Res* 90:158-168.
- Lidén G, Peterson JL, Björkman G (1969) Tympanometry. A method for analysis of middle-ear function. *Acta Otolaryngol Suppl* 263:218-24.
- Loeffler J, Nekahm D, Hirst- Stadelmann, A (2001) Sensorineural hearing loss and the incidence of Cx26 mutations in Austria. *Eur. J Hum Genet* 9:226-230.
- Lonsbury-Martin BL, McCoy MJ, Whitehead ML, Martin GK (1993) Clinical testing of distortion-product otoacoustic emissions. *Ear Hear* 14:11-22.
- Lonsbury-Martin BL, Martin GK, McCoy MJ, Whitehead ML (1995) New approaches to the evaluation of the auditory system and a current analysis of otoacoustic emissions. *Otolaryngol Head Neck Surg* 112:50-63.
- Magnan P, Dancer A, Probst R, Smurzynski J, Avan P (1999) Intracochlear acoustic pressure measurements: Transfer functions of the middle ear and cochlear mechanics. *Audiol Neurootol* 4:123-8.
- Martin P, Mehta AD, Hudspeth AJ (2000) Negative hair-bundle stiffness betrays a mechanism for mechanical amplification by the hair cell. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:12026-12031.

- Mazelová J, Valvoda J, Popelář J, Syka J (2001) The influence of single exposure to amplified music on hearing of young listeners. In: D. Henderson, D. Prasher, R. Kopke, R. Salvi and R. Hamernik, Editors, *Noise Induced Hearing Loss: Basic Mechanisms, Prevention and Control*, NRN Publications, London, 365–376.
- Mazelová J, Popelář J, Syka J (2003) Auditory function in presbycusis: peripheral vs. central changes. *Exp Gerontol* 38:87–94.
- McFadden SL, Willott JF (1994a) Responses of inferior colliculus neurons in C57BL/6J mice with and without sensorineural hearing loss: effects of changing the azimuthal location of a continuous noise masker on responses to contralateral tones. *Hear Res* 78: 132–148.
- McFadden SL, Willott JF (1994b) Responses of inferior colliculus neurons in C57BL/6J mice with and without sensorineural hearing loss: effects of changing the azimuthal location of an unmasked pure-tone stimulus. *Hear Res* 78:115–131.
- McFadden SL, Campo P, Quaranta N, Henderson D (1997) Age-related decline of auditory function in the chinchilla (*Chinchilla laniger*). *Hear Res* 111:114–126.
- Melichar I, Syka J (1977) Time course of anoxia-induced K⁺ concentration changes in the cochlea measured with K⁺ specific microelectrodes. *Pflugers Arch* 372:207–13.
- Melichar I, Syka J (1978) The effects of ethacrynic acid upon the potassium concentration in guinea pig cochlear fluids. *Hear Res Oct* 1:35–41.
- Melichar I, Syka J (1987) DC potentials in different cells of the stria vascularis measured in vitro. *Hear Res* 25:23–33.
- Melichar I, Syka J (1987) Electrophysiological measurements of the stria vascularis potentials in vivo. *Hear Res* 25:35–43.
- Merzenich MM, Brugge JF (1973) Representation of the cochlear partition on the superior temporal plane of the macaque monkey. *Brain Res* 50:275–296.
- Micheyl C, Collet L (1996) Involvement of the olivocochlear bundle in the detection of tones in noise. *J Acoust Soc Am* 99:1604–1610.
- Mikaelian DO (1979) Development and degeneration of hearing in the C57/b16 mouse: relation of electrophysiologic responses from the round window and cochlear nucleus to cochlear anatomy and behavioral responses. *Laryngoscope* 34:1–15.
- Milbrandt JC, Albin RL, Caspary DM (1994) Age-related decrease in GABA_B receptor binding in Fischer 344 rat inferior colliculus. *Neurobiol Aging* 15:699–703.
- Milbrandt JC, Caspary DM (1995) Age-related reduction of [³H]strychnine binding sites in the cochlear nucleus of the Fischer 344 rat. *Neuroscience* 67:713–719.
- Milbrandt JC, Albin RL, Turgeon SM, Caspary DM (1996) GABA_A receptor binding in the aging rat inferior colliculus. *Neuroscience* 73:449–458.
- Mills JH, Boettcher FA, Dubno JR (1997) Interaction of noise-induced permanent threshold shift and age-related threshold shifts. *J Acoust Soc Am* 101:1681–1686.
- Møller AR, Burgess J (1986) Neural generators of the brain-stem auditory evoked potentials (BAEPs) in the rhesus monkey. *Electroen Clin Neurophysiol* 65:61–72.
- Mjøen S. (1981) ABR in pediatric audiology. *Scand Audiol Suppl* 13:141–6.
- Moore JK, Niparko JK, Miller MR, Linthicum FH (1994) Effect of profound hearing loss on a central auditory nucleus. *Am J Otol* 15:588–595.
- Moulin A, Collet L, Delli D, Morgan A (1991) Spontaneous otoacoustic emissions and sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol* 111:835–841.

- Moulin A , Collet L, Veuilet E, Morgan A (1993) Interrelations between acoustic distortion products, transiently evoked otoacoustic emissions and spontaneous otoacoustic emissions. *Hear Res* 65:216–233.
- Mulders WH, Robertson D (2000) Effects on cochlear responses of activation of descending pathways from the inferior colliculus. *Hear Res* 149:11-23.
- Murnane OD, Kelly JK (2003) The effects of high-frequency hearing loss on low-frequency components of the click-evoked otoacoustic emission. *J Am Acad Audiol* 14:525–533.
- Naidu RC, Mountain DC (1998) Measurements of the stiffness map challenge a basic tenet of cochlear theories. *Hear Res* 124:124-131.
- Nin F, Hibino H, Doi K, Suzuki T, Hisa Y, Kurachi Y (2008) The endocochlear potential depends on two K⁺ diffusion potentials and an electrical barrier in the stria vascularis of the inner ear. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105:1751-6.
- Norton SJ, Widen JE (1990) Evoked otoacoustic emissions in normal-hearing infants and children: emerging data and issues. *Ear Hear* 11:121–127.
- Nordang L, Cestreicher E, Arnold W, Anniko M (2000) Glutamate is the afferent neurotransmitter in the human cochlea. *Acta Otolaryngol* 120:359-362.
- Novák A (1997) Nové přístupy k diagnostice, prevenci, depistáži a rehabilitaci sluchových vad u dětí. *Otorinolaryngol* 46:19–25.
- Novák A (1998) Příručka základů klinické audiologie. Unitisk s.r.o., Praha.
- Novák A (2003) Audiologie, Praha, 2003. Unitisk s.r.o., Praha.
- Ogawa K, Schacht J (1999) Aging does not alter phosphoinositide hydrolysis in the rat cochlear lateral wall. *Auris Nasus Larynx* 26:1-4.
- Ohlemiller KK (2002) Reduction in sharpness of frequency tuning but not endocochlear potential in aging and noise-exposed BALB/cJ mice. *J Assoc Res Otolaryngol* 3: 444-56.
- Oliver D, Klonker N, Schuck J, Baukowitz T, Ruppertsberg JP, Fakler (2000) Gating of Ca²⁺ activated K⁺ channels controls fast inhibitory synaptic transmission at auditory outer hair cells. *Neuron* 26:595-601.
- Ottaviani F, Di Girolamo S, Briglia G, De Rossi G, Di Giuda D, Di Nardo W (1997) Tonotopic organization of human auditory cortex analyzed by SPET. *Audiology* 36:241-248.
- Overbeck GW, Church MW (1992) Effects of tone burst frequency and intensity on the auditory brainstem response (ABR) from albino and pigmented rats. *Hear Res* 59:129-37.
- Palombi PS, Caspary DM (1996a) Physiology of the aged Fischer 344 rat inferior colliculus: responses to contralateral monaural stimuli. *J Neurophysiol* 76:3114-3125.
- Palombi PS, Caspary DM (1996b) Responses of young and aged Fischer 344 rat inferior colliculus neurons to binaural tonal stimuli. *Hear Res* 100:59-67.
- Palombi PS, Caspary DM (1996c) Physiology of the young adult Fischer 344 rat inferior colliculus: responses to contralateral monaural stimuli. *Hear Res* 100:41-58.
- Parving A, Sørensen MB, Bech B, Christensen B, Sorensen MS (1997) hearing in the elderly >80 year of age. *Scand Audiol* 26:99-106.
- Paul DL (1995) New functions for gap junctions. *Curr Opin Cell Biol* 7:665-672.

- Pearson JD, Morrell CH, Gordon-Salant S, Brant LJ, Metter EJ, Klein LL, Fozard JL (1995) Gender differences in a longitudinal study of age-associated hearing loss. *J Acoust Soc Am* 97:1196-205.
- Popelář J, Lima da Costa D, Erre JP, Avan P, Aran JM (1996) Contralateral suppression of the ensemble background activity of the auditory nerve in awake guinea pigs: Effects of gentamicin. *Audit Neurosci* 3:425-433.
- Popelář J, Valvoda J, Syka J (1999) Acoustically and electrically evoked contralateral suppression of otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear Res* 135:61-70.
- Popelář J, Erre JP, Syka J, Aran JM (2001) Effects of contralateral acoustical stimulation on three measures of cochlear function in the guinea pig. *Hear Res* 152:128-38.
- Popelář J, Mazelová J, Syka J (2002) Effects of electrical stimulation of the inferior colliculus on 2f1—f2 distortion product otoacoustic emissions in anesthetized guinea pigs. *Hear Res* 170:116-126.
- Popelář J, Nwabueze-Ogbo FC, Syka J (2003) Changes in neuronal activity of the inferior colliculus in rat after temporal inactivation of the auditory cortex. *Physiol Res* 52: 615-28.
- Popelář J, Groh D, Mazelová J, Syka J (2003) Cochlear function in young and adult Fischer F344 rats. *Hear Res* 186:75-84.
- Popelář J, Groh D, Pelánová J, Canlon B, Syka J (2006) Age-related changes in cochlear and brainstem auditory functions in Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging* Mar 27:490-500.
- Pouyatos B, Campo P, Lataye R (2002) Use of DPOAEs for assessing hearing loss caused by styrene in the rat. *Hear Res* 165:156-164.
- Prasher D, Ceranic B, Sulkowski W, Guzek W (2001) Objective evidence for tinnitus from spontaneous emission variability. *Noise Health* 3:61-73.
- Prieve BA (1992) Otoacoustic emissions in infants and children; basic characteristics and clinical application. *Seminars Hear* 13:37–52.
- Prieve BA, Falter SR (1995) COAEs and SSOAEs in adults with increased age. *Ear Hear* 16:521–528.
- Prieve BA, Fitzgerald TS, Schulte LE (1997) Basic characteristics of click-evoked otoacoustic emissions in infants and children. *J Acoust Soc Am* 102:2860–2870.
- Prieve BA, Fitzgerald TS, Schulte LE, Kemp DT (1997) Basic characteristics of distortion product otoacoustic emissions in infants and children. *J Acoust Soc Am* 102: 2871–2879.
- Probst R, Lonsbury-Martin BL, Martin GK (1991) A review of otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 89:2027–2067.
- Puel JL, Bonfils P, Pujol R (1988) Selective attention modifies the active micromechanical properties of the cochlea. *Brain Res* 447:380-383.
- Puel JL, Rebillard G (1990) Effect of contralateral sound stimulation on the distortion product 2F1-F2: evidence that the medial efferent system is involved. *J Acoust Soc Am* 87:1630-1635.
- Rabionet R, Zelante L, Polez-Bigaz N (2000) Molecular basis of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene. *Hum Genet* 106:40-44.
- Rajan R (1990) Electrical stimulation of the inferior colliculus at low rates protects the cochlea from auditory desensitization. *Brain Res* 506:192-204.

- Rajan R (1995) Involvement of cochlear efferent pathways in protective effects elicited with binaural loud sound exposure in cats. *J Neurophysiol* 74:582-597.
- Rajan R (1996) Additivity of loud-sound-induced threshold losses in the cat under conditions of active or inactive cochlear efferent-mediated protection. *J Neurophysiol* 75: 1601-1618.
- Rajan R, Johnstone BM (1988) Binaural acoustic stimulation exercises protective effects at the cochlea that mimic the effects of electrical stimulation of an auditory efferent pathway. *Brain Res* 459:241-255.
- Rebillard G, Abbou S, Lenoir M (1987) Oto-acoustic emissions. II. Spontaneous oto-emissions: results in normal subjects or patients with tinnitus. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 104:363-368.
- Richardson MP, Williamson TJ, Lenton SW, Tarlow MJ, Rudd PT (1995) Otoacoustic emission as screening test for hearing impairment in children. *Arch Dis Child* 72: 294-297.
- Reuter W, Schonfeld U, Fischer R, Gross M (1997), Extended high-frequency audiometry in pre-school children. Preliminary results. *HNO* 45:147-152.
- Robertson D, Gummer M (1985) Physiological and morphological characterization of efferent neurones in the guinea pig cochlea. *Hear Res* 20:63-77.
- Robinette MS, Glattke TJ (1997) Otoacoustic emissions: Clinical applications. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York.
- Roland PE, Skinhoj E, Lassen NA (1981) Focal activations of human cerebral cortex during auditory discrimination. *J Neurophysiol* 49:1139-1151.
- Rosanowski F, Hoppe U, Moser M, Tigges M, Eysholdt U (1996) Speech-specific cortical potentials--methodologic aspects and initial clinical results. *Laryngorhinootologie* 75:326-329.
- Rosanowski F, Hoppe U, Pröschel U, Eysholdt U (1997) Chronic tinnitus in children and adolescents. *HNO* 45:927-32.
- Rossi G, Solero P, Rolando M, Olina M (1989) Are delayed evoked oto-acoustic emissions (DEOE) solely the outcome of an active intracochlear mechanism?. *Scand Audiol* 18:99-104.
- Rybalko N, Popelář J, Syka J (1998) Age-related changes in the hearing function in pigmented rats. In: Proceedings of the 21st Midwinter Meeting. *Assoc Res Otolaryngol* :78.
- Rybalko N, Syka J (2005) Effect of noise exposure on gap detection in rats. *Hear Res* 200: 63-72.
- Saldaña E, Feliciano M, Mugnaini E (1996) Distribution of descending projections from primary auditory neocortex to inferior colliculus mimics the topography of intracollicular projections. *J Comp Neurol* 371:15-40.
- Salt AN, Melichar I, Thalmann R (1987) Mechanisms of endocochlear potential generation by stria vascularis. *Laryngoscope* 97:984-91.
- Sass B, Rabstein LS, Madison R, Nims RM, Peters RL, Kelloff GJ (1975) Incidence of spontaneous neoplasms in F344 rats throughout natural life-span. *J Natl Cancer Inst* 54:1449-1456.
- Satoh Y, Kanzaki J, O-Uchi T, Yoshihara S (1998) Age-related changes in transiently evoked otoacoustic emissions and distortion product otoacoustic emissions in normal-hearing ears. *Auris Nasus Larynx* 25:121-130.

- Scates KW, Woods CI, Azeredo WJ (1999) Inferior colliculus stimulation and changes in 2f(1)-f(2) distortion product otoacoustic emissions in the rat. *Hear Res* 128:51-60.
- Scharf B, Quigley S, Aoki C, Peachey N, Reeve A (1987) Focused auditory attention and frequency selectivity. *Percept Psychophys* 42:215-223.
- Schechter MA, Fausti SA, Rappaport BZ, Frey RH (1986) Age categorization of high-frequency auditory threshold data. *J Acoust Soc Am* 79:767-771.
- Schmiedt RA, Mills JH, Adams JC (1990) Tuning and suppression in auditory nerve fibers of aged gerbils raised in quiet or noise. *Hear Res* 45:221-236.
- Schneider BA, Hamstra SJ (1999) Gap detection thresholds as a function of tonal duration for younger and older listeners. *J Acoust Soc Am* 106:371-380.
- Schofield BR, Cant NB (1999) Descending auditory pathways: projections from the inferior colliculus contact superior olivary cells that project bilaterally to the cochlear nuclei. *J Comp Neurol* 409:210-223.
- Schmiedt RA (1996) Effects of aging on potassium homeostasis and the endocochlear potential in the gerbil cochlea. *Hear Res* 102:125-32.
- Schmuziger N, Probst R, Smurzynski J (2005) Otoacoustic emissions and extended high-frequency hearing sensitivity in young adults. *Int J Audiol* 44:24-30.
- Schuknecht HF, Gacek MR (1993) Cochlear pathology in presbycusis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 102:1-16.
- Schulte BA, Schmiedt RA (1992) Lateral wall Na,K-ATPase and endocochlear potentials decline with age in quiet-reared gerbils. *Hear Res* 61:35-46.
- Schwarz DW, Schwarz IE, Hu K (1989) Transmitter neurochemistry of the efferent neuron system innervating the labyrinth. *J Otolaryngol* 18:28-31.
- Sedláček K (1956) *Základy audiologie*. SZN Praha, 1956
- Seeman M (1960) *Česká slovní audiometrie*. SZN Praha.
- Seeman P, Mazanec R, Hrušková Š, Čtverečková M, Rašková D, Paděrová K, Perníková I (2000) Charcot-Marie-Tooth – gonosomálně dominantní typ (CMTX1) první nálezy mutací v genu pro connexin 32 v České republice. *Čes Slov Neurol a Neurochir* 63 1996:219-225.
- Seeman P, Malíková M, Rašková D, Bendová O, Groh D, Kubálková M, Sakmaryová I., Seemanová E, Kabelka Z (2004) Spectrum and frequencies of mutations in the *GJB2* (*Cx26*) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. *Clinical Genetics* 66:152-157.
- Seidman MD, Khan MJ, Bai U, Shirwany N, Quirk WS (2000) Biologic activity of mitochondrial metabolites on aging and age-related hearing loss. *Am J Otol* 21: 161-167.
- Seidman MD, Ahmad N, Bai U (2002) Molecular mechanisms of age-related hearing loss. *Ageing Res Rev*;1:331-43
- Simpson GV, Knight RT, Brailowsky S, Prospero-Garcia O, Scabini D (1985) Altered peripheral and brainstem auditory function in aged rats. *Brain Res* 348:28-35.
- Sininger YS, Abdala C (1998) Otoacoustic emissions for the study of auditory function in infants and children. In: C.I. Berlin, Editor, *Otoacoustic Emissions: Basic Science and Clinical Applications*, Singular Publishing, London:105-125.

- Smith PH, Spirou GA (2002) From the Cochlea to the Cortex and Back. In: Integrative Functions in the Mammalian Auditory Pathway. (Oertel D, Fay RR, Popper AN, eds.) Springer-Verlag New York Inc. Str. 6-71.
- Snell KB (1997) Age-related changes in temporal gap detection. *J Acoust Soc Am*.101: 2214-2220.
- Socklingham R, Freeman S, Cherny TL, Sohmer H (2000) Effect of high-dose cisplatin on auditory brainstem responses and otoacoustic emissions in laboratory animals. *Am J Otol* 21:521-527.
- Soucek S, Michaels L (1990) Hearing Loss in the Elderly: Audiometric, Electrophysiological and Histopathological Aspects. London: Springer-Verlag, 1990.
- Spangler KM, Warr WB (1991) The descending auditory system. In: Altschuler, RA, Bobbin RP, Clopton BM, Hoffman DW (eds.). *Neurobiology of hearing: The Central Auditory System*. Raven Press:27-45.
- Spektor A, Leopard G, Kim DO, Jung MD, Smurzynski J (1991) Otoacoustic emissions in normal and hearing-impaired children and normal adults. *Laryngoscope* 101:965–976.
- Spicer SS, Schulte BA (1996) The fine structure of spiral ligamental cells relates to ion return to the stria and varies with place frequency. *Hear Res* 100:80-100.
- Spicer SS, Schulte BA (2002) Spiral ligament pathology in quiet-aged gerbils. *Hear Res* 172:172-85.
- Spongr VP, Flood DG, Frisina RD, Salvi RJ (1997) Quantitative measures of hair cell loss in CBA and C57BL/6 mice throughout their life spans. *J Acoust Soc Am*;101(6): 3546-53.
- Starr A, Hamilton AE (1976) Correlation between confirmed sites of neurological lesions and abnormalities of far-field auditory brainstem response. *Electroen Clin Neurophysiol* 41:595-608.
- Stelmachowicz PG, Bauchaine KA, Kalberer A, Jesteadt W (1989) Normative thresholds in the 8–20 kHz range as a function of age, *J. Acoust. Soc. Am.* 86:1384–1391.
- Stover L, Norton SJ. (1993) The effects of aging on otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 94:2670-2681.
- Strickland EA, Burns EM, Tubis A (1985) Incidence of spontaneous otoacoustic emissions in children and infants. *J Acoust Soc Am* 78:931–935.
- Strickland EA, Viemeister NF, Van Tasell DJ, Preminger JE (1994) Is useful speech information carried by fibers with high characteristic frequencies?. *J Acoust Soc Am* 95:497-501.
- Strouse A, Ashmead DH, Ohde RN, Grantham DW (1998) Temporal processing in the aging auditory system. *J Acoust Soc Am* 104:2385-2399.
- Syka J, Druga R, Kalinová (1980) Tonotopic organization of the auditory pathway in the rat. *Proceed 28 Int Congr Physiol Sciences* 3:726.
- Syka J, Voldřich L, Vrabec F (1981) Sluchový nerv a sluchová dráha – struktura a funkce. *Fyziologie a patofyziologie zraku a sluchu*. Avicenum zdravotnické nakladatelství:205-218.
- Syka J, Melichar I (1985) The effect of loop diuretics upon summing potentials in the guinea pig. *Hear Res* 20:267-73.

- Syka J, Popelář J, Druga R, Vlková A (1988a) Descending central auditory pathway - structure and function. In: Syka J, Masterton B (eds) Auditory Pathway - Structure and function. Plenum:279-292.
- Syka J, Robertson D, Johnstone BM (1988b) Efferent descending projections from the inferior colliculus in guinea pig. In: Syka J, Masterton B (eds) Auditory Pathway - Structure and function. Plenum Press:299-303.
- Syka J, Rybalko N, Brozek G, Jílek M (1996) Auditory frequency and intensity discrimination in pigmented rats. *Hear Res* 100:107-113.
- Syka J (2002) Plastic Changes in the Central Auditory System After Hearing Loss, Restoration of Function, and During Learning. *Physiol Rev* 82:601-636.
- Suryadevara AC, Schulte BA, Schmiedt RA, Slepecky NB (2001) Auditory nerve fibers in young and quiet-aged gerbils: Morphometric correlations with endocochlear potential. *Hear Res* 161:45-53.
- Takeda S, Morioka I, Miyashita K, Okumura A, Yoshida Y, Matsumoto K (1992) Age variation in the upper limit of hearing. *Eur J Appl Physiol* 65:403-408.
- Talavage TM, Ledden PJ, Benson RR, Rosen BR, Melcher JR (2000) Frequency-dependent responses exhibited by multiple regions in human auditory cortex. *Hear Res* 150:225-244.
- Trehub SE, Schneider BA, Morrongiello BA, Thorpe LA (1989) Developmental changes in high-frequency sensitivity. *Audiology* 28:241-249.
- Turner JG, Caspary DM (2005) Comparison of two rat models of aging. Peripheral pathology and GABA changes in the inferior colliculus. In: Syka J, Merzenich MM, editors. *Plasticity and Signal Representation in the Auditory System*. New York: Kluwer Plenum:217-225.
- Uziel A., Piron JP (1991) Evoked otoacoustic emissions from normal newborns and babies admitted to an intensive care baby. *Acta Otolaryngol Suppl Stockh* 482:85-91.
- Valvoda J, Bareš K (1993) Akustické evokované potenciály a vyšetření BERA. *Čs Otolaryng a Fon* 42:232-237.
- Valvoda J, Betka J (1996) Otoakustické emise - pokroky v poznání a vyšetřování sluchové funkce. *Otorinolaryngol* 45:8-16.
- Valvoda J, Betka J, Hroboň M, Holcát M (1996) Využití otoakustických emisí v klinické audiologii. *Otorinolaryngol* 45:16-23.
- Vohr, BR, White KR, Maxon AB, Johnson MJ (1993) Factors affecting the interpretation of transient evoked otoacoustic emission results in neonatal hearing screening. *Seminars in hearing*. Thieme Medical Publisher:57-72.
- Wable J, Collet L (1994) Can synchronized otoacoustic emissions really be attributed to SOAEs?. *Hear Res* 80:141-145.
- Wagner W, Plinkert PK (1999) The relationship between auditory threshold and evoked otoacoustic emissions. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256:177-188.
- Walton JP, Frisina RD, O'Neill WE (1998) Age-related alteration in processing of temporal sound features in the auditory midbrain of the CBA mouse. *J Neurosci* 18:2764-2776.
- Wang YF, Tu TY, Kuo BI, Li AC, Yang MJ, Shiao AS. (2002) Confirming pure-tone thresholds by auditory brainstem response in the geriatric population. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 65:164-171.
- Wangemann P (2002) K⁺ cycling and the endocochlear potential. *Hear Res* 165:1-9.

- Wangemann P(2006) Supporting sensory transduction: cochlear fluid homeostasis and the endocochlear potential. *J Physiol* 576:11-21.
- West PD, Evans EF (1990) Early detection of hearing damage in young listeners resulting from exposure to amplified music. *Br J Audiol* 24:89-103.
- Wetzel W, Ohl FW, Scheich H (2008) Global versus local processing of frequency-modulated tones in gerbils: an animal model of lateralized auditory cortex functions. *Proc Natl Acad Sci* 105:6753-8.
- White KR, Culpepper B, Maxon AB, Vohr BR, Mauk GW (1995) Transient evoked otoacoustic emission - based screening in typical nurseries: a response to Jacobson and Jacobson. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 33:17-21.
- Williams EA, Brookes GB, Prasher DK (1994) Effects of olivocochlear bundle section on otoacoustic emissions in humans: efferent effects in comparison with control subjects. *Acta Otolaryngol* 114:121-129.
- Willott JF (1984) Changes in frequency representation in the auditory system of mice with age-related hearing impairment. *Brain Res* 309:159-162.
- Willott JF (1986) Effects of aging, hearing loss, and anatomical location on thresholds of inferior colliculus neurons in C57BL/6 and CBA mice. *J Neurophysiol* 56:391-408.
- Willott JF, Parham K, Hunter KP (1988a) Response properties of inferior colliculus neurons in young and very old CBA/J mice. *Hear Res* 37:1-14.
- Willott JF, Parham K, Hunter KP (1988b) Response properties of inferior colliculus neurons in middle-aged C57 mice with presbycusis. *Hear Res* 37:15-28.
- Willott JF (1991) *Aging and the Auditory System: Anatomy, Physiology, and Psychophysics*. SanDiego, CA: Singular, 1991.
- Willott JF, Parham K, Hunter KP (1991) Comparison of the auditory sensitivity of neurons in the cochlear nucleus and inferior colliculus neurons of young and aging C57BL/6J and CBA/J mice. *Hear Res* 53:78-94.
- Willott JF, Aitkin LM, McFadden LS (1993) Plasticity of auditory cortex associated with sensorineural hearing loss in adult C57BL/6J mice. *J Comp Neurol* 329:402-411.
- Willott JF (1996) Anatomic and physiologic aging: a behavioral neuroscience perspective. *J Am Acad Audiol* 7:141-51.
- Willott JF, Bross LS (1996) Morphological changes in the anteroventral cochlear nucleus that accompany sensorineural hearing loss in DBA/2J and C57BL/6J mice. *Brain Res Dev Brain Res* 91:218-26.
- Winer JA, Lee CC (2007) The distributed auditory cortex. *Hear Res* 229:3-13.
- Wong TP, Campbell PM, Ribeiro-Da-Silva A, Cuello AC (1998) Synaptic numbers across cortical laminae and cognitive performance of the rat during ageing. *Neuroscience* 84:403-412.
- Woods DL, Claywort CC (1986) Age-related changes in human middle latency auditory evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 65:297-303.
- Woolsey CN, Walzl EM (1942) Topical projection of nerve fibers from local regions of the cochlea to the cerebral cortex of the cat. *Bull Johns Hopkins Hosp* 71:315-344.
- Woolsey CN (1960) Organization of cortical auditory system: a review and a synthesis. In: *Neural Mechanisms of the Auditory and Vestibular Systems*. Rasmussen GL, Windle WF (eds). C.C: Thomas. Springfield, IL:165-180.

- Woolsey CN, Walzl EM (1982) Cortical auditory area of *Macaca mulatta* and its relation to the second somatic sensory area (Sm II). In: Woolsey CN (ed) Cortical Sensory Organization. Vol. 3. Multiple Auditory Areas. Humana, Clinton:231-256.
- Wu T, Marcus DC (2003) Age-related changes in cochlear endolymphatic potassium and potential in CD-1 and CBA/CaJ mice. *J Assoc Res Otolaryngol* 4:353-62.
- Yamada O, Kodera K, Yagi T (1979) Cochlear processes affecting wave V latency of the auditory evoked brain stem response. A study of patients with sensory hearing loss. *Scand Audio* 8:67-70.
- Yvert B, Crouzeix A, Bertrand O, Seither-Preisler A, Pantev C (2001) Multiple supratemporal sources of magnetic and electric auditory evoked middle latency components in humans. *Cereb Cortex* 11:411-423.
- Zatorre RJ, Belin P (2001) Spectral and temporal processing in human auditory cortex. *Cereb Cortex* 11:946-953.
- Zettel ML, Frisina RD, Haider SE, O'Neill WE (1997) Age-related changes in calbindin D-28k and calretinin immunoreactivity in the inferior colliculus of CBA/CaJ and C57B1/mice. *J Comp Neurol* 386:92-110.

9. SEZNAM VLASTNÍCH PUBLIKACÍ

Publikace v impaktovaných časopisech

1. Groh D, Pelánová J, Jílek M, Popelář J, Kabelka Z, Syka J (2006) Changes in otoacoustic emissions and high-frequency hearing thresholds in children and adolescents. *Hear Res* 212:90-98.
IF = 1,586
2. Popelář J, Groh D, Pelánová J, Canlon B, Syka J (2006) Age-related changes in cochlear and brainstem auditory functions in Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging* 27:490-500.
IF = 5,516
3. Popelář J, Groh D, Mazelová J, Syka J (2003) Cochlear function in young and adult Fischer F344 rats. *Hear Res* 186:75-84.
IF = 1,586
4. Seeman P, Malíková M., Rašková D, Bendová O, Groh D, Kubálková M, Sakmaryová I, Seemanová E, Kabelka Z (2004) Spectrum and frequencies of mutations in the *GJB2* (*Cx26*) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. *Clinical Genetics*:66:152–157.
IF = 3,276
5. Seeman P, Bendová O, Rašková D, Malíková M, Groh D, Kabelka Z (2005) Double Heterozygosity with Mutations Involving both the *GJB2* and *GJB6* Genes is a Possible, but very Rare, Cause of Congenital Deafness in the Czech Population. *Annals of Human Genetics* 69:9–14.
IF = 3,192

Publikace v neimpaktovaných časopisech

1. Seeman P, Groh D, Rašková D, Lesný P, Malíková M, Seemanová E, Kabelka Z (2002) Vyšetření genu pro connexin 26 u českých pacientů s vrozenou autosomálně recesivní nesyndromovou ztrátou sluchu. *Otorinolaryng a Foniatri* 50:221–225.
2. Černý M, Zoban P, Groh D, Brabec R, Vejvalka J, Kabelka Z, Vejvalková Š, Vlk R (2003) Screening sluchu u novorozenců pomocí tranzientně evokovaných otoakustických emisí. *Čes-slov Pediatr* 58:700-704.
3. Jurovčík M, Groh D, Popelář J (2004) Současné trendy objektivní audiometrie. *Otorinolaryng a Foniatri* 53:37–38.
4. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Pelánová J, Jílek M (2008) Audiologické nálezy u dětí a dospívajících trpících tinnitem různé etiologie. *Otorinolaryngol chir hlavy a krku* 2: 83-91.

Abstrakta

1. Groh D, Popelář J, Mazelová J, Syka J (2002) Otoakustické emise u potkana. *Otologický a kochirurgický den Společnost pro otorhinolaryngologii a chirurgii hlavy a krku*.
2. Seeman P, Kubálková M, Groh D, Rašková D, Malíková M, Seemanová E, Bendová O, Kabelka Z (2002) „Molekulárně genetická vyšetření u pacientů a rodin s vrozenou autosomálně recesivní nesyndromovou ztrátou sluchu a hluchotou.“ celostátní konference DNA diagnostiky s mezinárodní účastí, Praha 13.-14.12. 2002 – Sborník abstrakt
3. Groh D.: Raná diagnostika sluchových poruch - vyzvaná přednáška u příležitosti udělení čestného doktorátu Karlovy univerzity prof. Hellbrueggemu, 30.1.2003
4. Groh D, Popelář J, Mazelová J, Syka J, Kabelka Z Otoakustické emise u laboratorních zvířat a u člověka, XII. Jihočeské ORL dny, 10.-11.4.2003, hotel Gomel, České Budějovice - Sborník abstrakt
5. Groh D, Kabelka Z, Kopřivová H, Zoban P, Černý M „Newborn hearing screening in the University Hospital Motol, Prague“, XVIII. Bienální symposium IERASG, Puerto de la Cruz, Tenerife, Španělsko 8.-12.6.2003 – Sborník abstrakt (p.194)
6. Popelář J, Groh D, Mazelová J, Syka J Hearing function in young adult Fischer 344 rats, XVIII. Bienální symposium IERASG, Puerto de la Cruz, Tenerife, Španělsko 8. - 12.6.2003 – Sborník abstrakt (p.65)
7. Jurovčík M, Myška P, Groh D, Kabelka Z, Bendová O „Auditory steady state evoked potentials compared to pure tone audiometry in children, our first results“, XVIII. bienální symposium IERASG, Puerto de la Cruz, Tenerife, Španělsko 8.-12.6.2003 Sborník abstrakt (p.186)
8. Janoušek P, Seeman P, Lesný P, Groh D, Tichý T, Topol, M, Sedlák S, Kabelka Z „Intra-operative evaluation of cochlear implant recipients with GJB2 related deafness“, XVIII. bienální symposium IERASG, Puerto de la Cruz, Tenerife, Španělsko 8.-12.6.2003 – Sborník abstrakt (p.201)

9. Seeman P, Rašková D, Malíková M, Groh D, Kubálková M, Bendová O, Kabelka Z Spectrum of Mutations in the Connexin 26 Gene among 142 Patients with Congenital Deafness in Czech Republic. Abstrakt - Genetický sjezd německy mluvících zemí Evropy - Marburgu, Německo, 1.- 4.10. 2003 - Sborník abstrakt
10. Lesný P, Seeman P, Janoušek P, Groh D, Kabelka Z „Peroperační monitorace kochleární implantace u pacientů s kongenitální hluchotou podmíněnou mutací GJB2 genu“, 66.kongres České společnosti otorhinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP s mezinárodní účastí, Pardubice 19.6.-21.6.2003 - Sborník abstrakt
11. Kabelka Z, Groh D, Boleslavská V, Vymlátílová E, Jurovčík M, Tichý T, Holmanová J „10 let kochleárních implantací v České republice u dětí – výsledky“, 66. kongres České společnosti otorhinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP s mezinárodní účastí, Pardubice 19.6.-21.6.2003 - Sborník abstrakt
12. Groh D, Kabelka Z, Lesný P, Černý M, Zoban P, Brabec R, Kopřivová H „Současný pohled na problematiku novorozeneckého screeningu sluchu“, 66. kongres České společnosti otorhinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP s mezinárodní účastí, Pardubice 19.6.-21.6.2003 - Sborník abstrakt
13. Groh D, Popelář J, Mazelová J, Syka J Hearing function in young adult Fischer 344 rats. Plasticity of the Central Auditory System and Processing of Complex Acoustic Signals, Prague 7. -10.7.2003, 47.
14. Popelář J, Groh D, Mazelová J, Syka J Age related changes of hearing function in Fischer 344 rats. Plasticity of the Central Auditory System and Processing of Complex Acoustic Signals, Prague 7. -10.7.2003, 48.
15. Seeman P, Rašková D, Malíková M, Groh D, Janoušek P, Kubálková M, Sakmaryová I, Bendová O, Kabelka Z „ Spektrum mutací v genu pro Connexin 26 (Cx 26) u 142 českých pacientů s vrozenou nesyndromovou ztrátou sluchu“ Abstrakt, Sjezd Společnosti lékařské genetiky, Plzeň,17. -19.9.2003 – Sborník abstrakt
16. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Syka J Výsledky vysokofrekvenční audiometrie a snímání otoakustických emisí u dospívajících, Otologický a kofochirurgický den 4.12. 2003; Společnost pro otorhinolaryngologii a chirurgii hlavy a krku, Olomouc, sborník není vydáván
17. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Jílek M, Syka J Vysokofrekvenční audiometrie a snímání otoakustických emisí u dětí a dospívajících, XIII. Jihočeské ORL dny, 1.- 2.4.2004, hotel Gomel, České Budějovice - Sborník abstrakt
18. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Jílek M, Syka J High-frequency audiometry and recording of otoacoustic emissions by children and teenagers, 2.-3.4.2004, Býkov – Sborník abstrakt
19. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Jílek M, Syka J Vztah tónové audiometrie a otoakustických emisí u dětí a dospívajících, 67. kongres České společnosti otolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP s mezinárodní účastí, Ústí nad Labem, 19.6.-21.6.2004 - Sborník abstrakt
20. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Pelánová J, Jílek M, Syka J Charakteristika tinnitu u dětí a dospívajících, 68. kongres České společnosti otolaryngologie a chirurgie hlavy a krku ČLS JEP s mezinárodní účastí, Brno, 16.6. – 19.6.2005 – Sborník abstrakt (p.90)

21. Popelář J, Groh D, Pelánová J, Syka J Distortion product otoacoustic emissions in adult and old Fischer 344 rats, 42nd Workshop on Inner Ear Biology, 18. – 20. September 2005 and Symposium on Terminal Differentiation: A Challenge for Regeneration 17. September 2005, Tübingen, Germany - Sborník abstrakt (p.95)
22. Janoušek P, Lesný P, Seeman P, Groh D, Grabec P, Jurovčík M, Kabelka Z Peroperative NRT values in relation to rehabilitation after cochlear implant in children with the connexin 26 gene mutation, 43nd Workshop on Inner Ear Biology, 17. – 20. September 2006 and Symposium "Hearing rehabilitation and Innovative Inner Ear Therapy" 17. September 2006, Montpellier, France – Sborník abstrakt (p.203)
23. Jurovčík M, Myška P, Vymlátilová E, Janoušek P, Groh D, Voříšková K, Kabelka Z What is the impact of residual hearing as estimated by SSEP on the cochlear implant benefit? 43nd Workshop on Inner Ear Biology, 17. – 20. September 2006 and Symposium "Hearing rehabilitation and Innovative Inner Ear Therapy" 17. September 2006, Montpellier, France – Sborník abstrakt (p.204)
24. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Pelánová J, Jílek M, Syka J Audiological characteristics of tinnitus in children and young adults, 43nd Workshop on Inner Ear Biology, 17. – 20. September 2006 and Symposium "Hearing rehabilitation and Innovative Inner Ear Therapy" 17. September 2006, Montpellier, France - Sborník abstrakt (p.206)
25. Groh D, Kabelka Z, Popelář J, Pelánová J, Jílek M, Syka J Audiological characteristics of tinnitus in children and young adults, 31.1.- 3.2.2007, Jablonné nad Orlicí - Sborník abstrakt