

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie (B1501)

Studijní obor: BBI (1501R001)



Jana Dittrichová

Využití zvířecích modelů při studiu mechanismů subjektivního tinnitu
Use of animal models in the study of the mechanisms of subjective tinnitus

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Rostislav Tureček, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 2.8.2022

.....
Jana Dittrichová

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce, panu RNDr. Rostislavu Turečkovi, Ph.D., za pomoc s výběrem tématu, odborné rady a laskavý přístup. Další poděkování patří zejména Filipovi, který mi během psaní práce dělal společníka a vždy mi dobře poradil. Také mé rodině, přátelům, hlavně Aničce za pomoc s finálním doladěním práce a Josefovi, který mi vždy pomohl udržet si klidnou mysl.

Abstrakt

Tinnitus, fantomový sluchový vjem, je jednou z hlavních audiologických poruch postihujících významnou část lidské populace. Mechanismy, které jsou základem tohoto stavu, však stále zůstávají nejasné. Zvířecí modely představují významný nástroj při zkoumání patogeneze sluchových onemocnění. Předkládaná bakalářská práce uvádí přehled nejvýznamnějších poznatků o možnostech detekce přítomnosti tinnitu u laboratorních zvířat, zejména potkanů a myší, jeho neurálních korelátů ve sluchovém systému savců a také rizikových faktorech, které vedou k jeho vzniku a udržování. Bylo zjištěno, že nejčastějšími příčinami vzniku tinnitu je sensorineurální ztráta sluchu, jež je vyvolána expozicí zvířat nadměrnému hluku nebo ototoxickým látkám, a také genetické predispozice. Tyto faktory způsobují maladadaptivní změny v centrální sluchové dráze a ty jsou pravděpodobně odpovědné za chronický průběh onemocnění. Nalezené změny zahrnují zejména hyperaktivitu neuronů sluchových jader mozkového kmene a zvýšenou synchronicitu v okruzích primární sluchové kůry. Pomocí zvířecích modelů bylo také zjištěno, že významná část pozorovaných patofyziologických změn vyplývá z oslabené GABAergní inhibice ve sluchové dráze. To naznačilo směr, jakým by se mohl vydat preklinický výzkum zaměřený na vývoj nových léčiv audiologických poruch včetně tinnitu.

Klíčová slova: tinnitus, sluch, zvířecí modely, behaviorální testy

Abstract

Tinnitus, phantom hearing sensation, is one of the major audiological disorders affecting a significant proportion of the human population. However, the mechanisms underlying this condition remain unclear. Animal models represent an important tool in the investigation of the pathogenesis of hearing diseases. The present bachelor thesis reviews the most important findings on the possibilities of detecting tinnitus in laboratory animals, especially rats and mice, its neural correlates in the mammalian auditory system, as well as the risk factors that lead to its development and maintenance. It was found that the most common causes of tinnitus are sensorineural hearing loss induced by exposure of animals to excessive noise or ototoxic agents, as well as their genetic predisposition. These factors cause maladaptive changes in the central auditory pathway that are likely responsible for the chronic course of the disease. The changes found include, in particular, hyperactivity of neurons of the auditory nuclei of the brainstem and increased synchrony in the area of the primary auditory cortex. Using animal models, it was also found that a significant proportion of the observed pathophysiological changes result from attenuated GABAergic inhibition in the auditory pathway. This suggested a direction for preclinical research aimed at developing new drugs for audiological disorders including tinnitus.

Key words: tinnitus, hearing, animal models, behavioral tests

Zkratky

A1	Primární sluchová kůra	Primary auditory cortex
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionová kyselina	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
ASR	Akustický startlový reflex	Acoustic startle reflex
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	Brain-derived neurotrophic factor
dB	Decibel	Decibel
DCN	Dorzální kochleární jádra	Dorsal cochlear nucleus
GABA	Kyselina γ -aminomáselná	γ -Aminobutyric acid
GAD	Glutamát dekarboxyláza	Glutamate decarboxylase
GDNF	Glial cell-derived neurotrophic factor	Glial cell-derived neurotrophic factor
GWAS	Celogenomová asociační studie	Genome-wide association study
Hz	Hertz	Hertz
IC	Spodní kolikulus	Inferior colliculus
IHC	Vnitřní vláskové buňky	Inner hair cells
KCTD	Potassium-channel-tetramerization-domain	Potassium channel tetramerization domain
MGN	Mediální kolínkaté jádro	Medial geniculate nucleus
MRI	Magnetická rezonance	Magnetic resonance imaging
NAc	Nucleus accumbens	Nucleus accumbens
NMDA	N-metyl-D-aspartát	N-methyl-D-aspartate
NRF2	Nukleární faktor erythroid 2-related faktor 2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

OHC	Vnější vláskové buňky	Outer hair cells
PPI	Prepulzní inhibice	Prepulse inhibition
PET	Pozitronová emisní tomografie	Positron emission tomography
SPL	Hladina akustického tlaku	Sound pressure level
VCN	Ventrální kochleární jádra	Ventral cochler nucleus
vmPFC	Ventromedial prefrontal cortex	Ventromedial prefrontal cortex

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Sluch	2
2.1	Periferní sluchový systém.....	2
2.2	Sluchová dráha	3
3	Neurální koreláty tinnitu u člověka.....	5
4	Zvířecí modely	6
4.1	Farmakologický model.....	7
4.2	Akustické trauma.....	8
4.3	Genetické predispozice vzniku tinnitu	10
5	Metody pro detekci tinnitu u zvířat.....	11
5.1	Behaviorální metody	11
5.1.1	Startle.....	12
5.1.1.1	Prepulzní inhibice.....	12
5.1.2	Podmiňování.....	14
5.1.2.1	Paradigma olizovací suprese (lick suppression paradigm).....	15
5.1.2.2	Páková metoda	15
6	Mechanismus tinnitu u zvířat.....	15
7	Závěr	19
8	Použitá literatura	21

1 Úvod

Tinnitus je vědomé vnímání fantomového zvuku, který je slyšet v uchu nebo v hlavě bez fyzického zdroje vně nebo uvnitř těla. Na rozdíl od méně častého objektivního tinnitu, který je definován jako zvuky vycházející ze samotného těla, například tepenné nebo žilní šelesty, vzniká převažující subjektivní tinnitus v důsledku dysfunkce sluchového nebo jiného s ním spojeného systému a nevyžaduje žádné akustické signály (Carlin et al. 1997; Schleuning 1991). Zvuky mohou mít celou řadu podob, jako je hučení, pískání, syčení nebo třeba bzučení. Mohou se vyskytovat o různé intenzitě a frekvenci, buď v jednom nebo v obou uších. Tinnitus, který odezní do pár dní až týdnů se označuje jako akutní. Pokud přetrvá, je označován jako tinnitus chronický (Tunkel et al. 2014). Příčin jeho vzniku je mnoho, jedná se o komplexní symptom, který může být způsoben akustickým traumatem, problémy s krční páteří, vysokým krevním tlakem, psychickými potížemi, a nebo se může projevovat jako vedlejší příznak jiného onemocnění a stále častěji se diskutuje o jeho genetických predispozicích (Shargorodsky et al. 2010; Levine 1999; Hinton et al. 2006; Cederroth et al. 2019).

Tinnitus postihuje významnou část, zejména stárnoucí populace, a přesto stále neexistuje jeho spolehlivá a účinná léčba. Častokrát se jedná jen o zmírnění nebo potlačení příznaků. Ve většině případů si musí lidé na výskyt tinnitu zvyknout celoživotně, bohužel jeho přetrvání pak výrazně a negativně ovlivňuje kvalitu jejich života. Důvod tohoto nedostatku spočívá v samotné povaze tinnitu, který vyplývá z maladaptivní plasticity zpracování senzorické informace v centrální nervové soustavě (Shore et al. 2016). Pochopení těchto mechanismů je proto nezbytné pro vývoj terapie, která by zvrátila plastické změny a alespoň částečně obnovila normální sluchové funkce. Získání vhledu s vysokým rozlišením, který je nezbytný k definování neurálních obvodů a buněčných mechanismů, jež jsou základem kódování zvuků v lidském sluchovém systému, je v současné době prakticky nemožné. Laboratorní hlodavci se však ukázali jako vhodný zvířecí model lidských sluchových funkcí a jejich poruch. Pomocí těchto modelů bylo objeveno mnoho neurálních korelátů a mechanismů vnímání a zpracování akustické informace v normálním a poškozeném sluchovém systému (Kaltenbach 2011).

Cílem této práce je shrnutí dosud známých mechanismů tinnitu, popis základních zvířecích modelů a metodických přístupů využívaných při jejich studiu. V první části práce bude popsán sluchový systém člověka, aby další aspekty spojené s bakalářskou prací byly lépe

pochopitelné. Ve druhé části se práce zaměří na koreláty tinnitu u člověka, k jakým pozorovatelným změnám dochází a jak je možné je u člověka detekovat. Ve třetí a čtvrté části se podívá na zvířecí modely, tedy jakým způsobem se tinnitus u zvířat vyvolává a následně jaké metody je možné použít pro detekci tinnitu u těchto zvířat. V poslední části budou shrnuty důležité a zatím zjištěné poznatky o mechanismech chronického tinnitu, které bylo možné pochopit právě díky zvířecím modelům.

2 Sluch

Sluch je jeden z našich nejdůležitějších smyslů. Je zodpovědný za vedení a zpracování zvuků z okolí, přicházejících v podobě podélných kmitajících částic okolního prostředí. Sluchový systém rozdělujeme na periferní a centrální (Pocock et al. 2018).

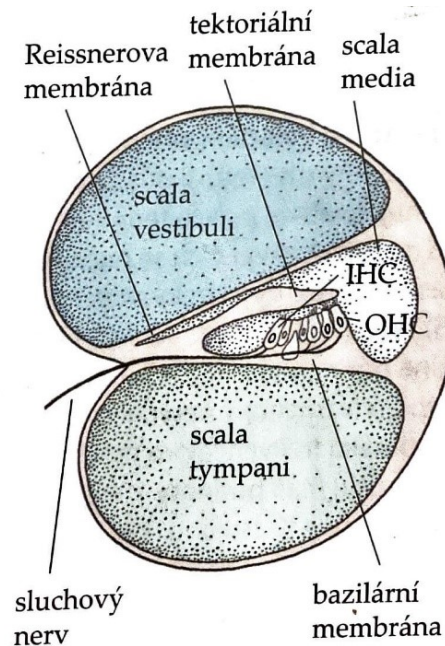
2.1 Periferní sluchový systém

První část, na kterou kmitající částice zvuku narazí, je boltce. Za boltcem následuje zevní zvukovod, trubice směřující ke středoušní dutině, kde se nachází bubínek. Jedná se o tenkou membránu, která je rozkmitávána přicházející zvukovou vlnou a představuje poslední část zevního ucha. (Kandel et al. 2021).

Druhou částí periferního sluchového systému je ucho střední. Vibrující bubínek přenáší kmity na tři sluchové kůstky, kladívko, kovádlíku a třmínek, které se nachází ve středoušní bubínkové dutině (Kandel et al. 2021). Kůstky, jsou fixovány pomocí pružných vazů a prostřednictvím oválného okénka dále vyvolávají vlnění tekutin vnitřního ucha. Součástí středního ucha je také Eustachova sluchová trubice, která spojuje střední ucho s nosohltanem a slouží k vyrovnávání atmosférického tlaku (Pocock et al. 2018).

Posledním úsekem periferního sluchového orgánu je ucho vnitřní, které obsahuje kochleární aparát (Obrázek 1). Kochlea je tvořena stočenými kanálky obsahujícími extracelulární tekutiny a Cortiho orgán. Receptorovými buňkami Cortiho orgánu jsou sensorické vláskové buňky, nasedající na bazilární membránu a nesoucí stereocilie připojující se k tektonální membráně. Díky pohybu membrán dochází ke změně elektrického potenciálu uvnitř vláskových buněk a tím k převodu mechanické energie zvukových vln na elektrický signál. Vnitřní vláskové buňky (IHC, z anglického „Inner hair cells“) uvolňují mediátor, glutamát, který následně excituje aferentní vlákna sluchového nervu a vzniká nervový signál, který je přenášen sluchovým nervem do centrální sluchové dráhy. Vnější vláskové buňky

(OHC, z anglického „Outer hair cells“) fungují především jako zesilovač přicházejícího zvuku (Nicholls 2013; Anniko 2010).

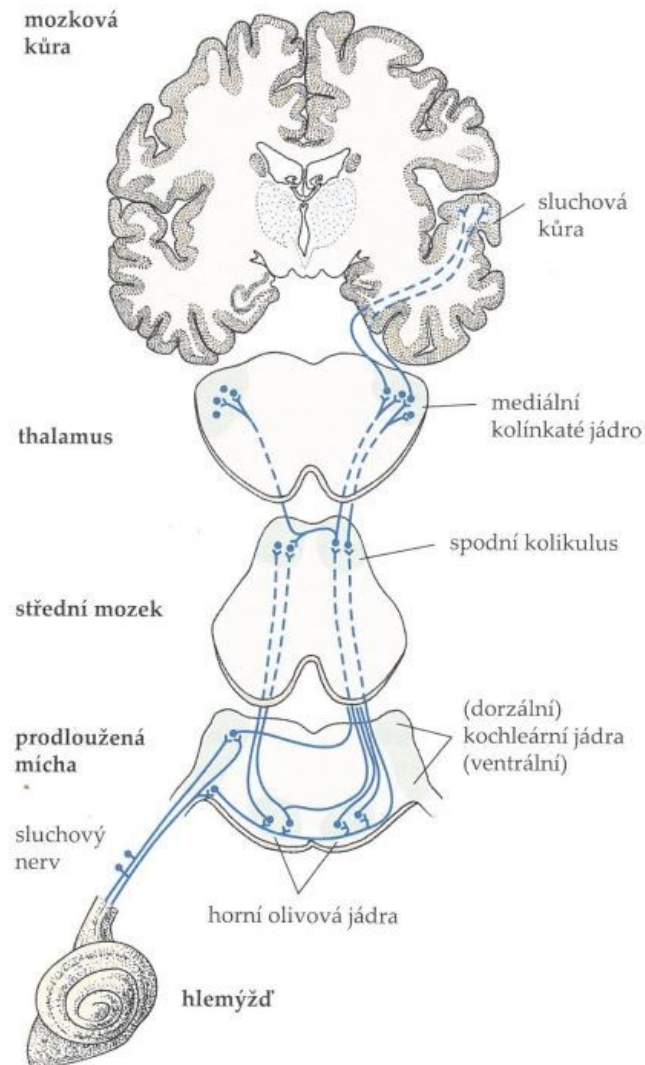


Obrázek 1 – Řez kochleárním aparátem, který obsahuje oddělené části. Nahoře scala vestibuli, která obsahuje perilymfu. Pohybem perilymfy, která je rozvlněna narážením sluchových kůstek na oválné okénko je rozkmitána Reissnerova membrána, endolymfa prostředního oddílu scala media a tím i membrána bazilární, která odděluje scala media od poslední části scala tympani. Rozkmitaná endolymfa ve scala media zapříčiní změnu u bazilární membrány. Díky rozvlnění membrány bazilární, dochází k posunu tektorální membrány ve scala media a ke dráždění stereocilií (výběžků) vláskových buněk Cortiho orgánu (Nicholls 2013).

2.2 Sluchová dráha

Po přenosu zvuku vnějším, středním a vnitřním uchem, pokračují signály sluchovou dráhou z Cortiho orgánu až do mozkové kůry (Obrázek 2), kde jsou finálně zpracovány. Po stimulaci IHC dochází k jejich interakci s primárními aferentními neurony sluchové dráhy. Ty jsou tvořeny bipolárními buňkami spirálního ganglia, které svými dendrity interagují s vláskovými buňkami a jejich axony dávají vznik osmému sluchově-rovnovážnému hlavovému nervu. Sluchový nerv přivádí senzorké signály do mozkového kmene, kde vstupují do dorzálního kochleárního jádra (DCN „Dorsal cochlear nucleus“) a ventrálního kochleárního jádra (VCN, z anglického „Ventral cochlear nucleus“) a následně do jader komplexu superior. V mozkovém kmene dochází k prvnímu zpracování kochleárních signálů, jejich integraci se signály přijatými multimodálními vstupy a předání těchto signálů do vzestupných sluchových drah (Cant a Oliver 2018). Sluchová jádra kmene tak hrají roli v procesech, jako je reprezentace frekvence,

kódování intenzity a času, lokalizace zdrojů zvuku a filtrace zvuků generovaných vlastním přičiněním apod. (Trussell a Oertel 2018).



Obrázek 2 – Sluchová dráha: Vizuální zobrazení 4 nejdůležitějších částí sluchové dráhy, vedoucí od kochleárního aparátu až do primární sluchové kůry (Nicholls 2013).

Projekce neuronů z jader sluchového kmene se spojují cestou v lemniscus lateralis a končí ve středním mozku ve spodním kolikulu (IC, z latinského „inferior colliculus“) (Nicholls 2013). Tato oblast, jež spojuje sluchové oblasti zadního a předního mozku, je tvořena tonotopicky uspořádaným centrálním jádrem, které je obklopeno laterální, dorzální a rostrální kůrou (Cant a Oliver 2018). Všeobecně je předpokládáno, že mikroobvody centrálního jádra slouží k integraci vzestupných sluchových informací a vytváření de novo kódovacích vlastností,

zatímco kortikální mikroobvody IC jsou odpovědné za integraci multimodálních informací a detekci neobvyklých vlastností zvukových podnětů (Ito a Malmierca 2018). Předzpracované sluchové informace jsou vysílané projekčními neurony IC do zevní části thalamu, konkrétně do medial geniculate nucleus (MGN, česky mediální kolínkaté jádro), kde jsou přeměrovány do primární sluchové kůry (A1, z anglického „The primary auditory cortex“) nacházející se na spánkovém laloku. Končí zde aferentní vlákna a probíhá zde finální zpracování a uvědomování zvuků přicházejících z periferie a nižších částí sluchové dráhy (Felten et al. 2016; Nicholls 2013).

3 Neurální koreláty tinnitu u člověka

Neurální koreláty tinnitu, tedy změny na úrovni nervového systému, které korelují s přítomností tinnitu u člověka, je možné sledovat pouze pomocí neinvazivních metod, které jsou schopné odhalit elektrofyziologické či morfologické změny. U postižených pacientů tyto metody představují jednu z mála možností diagnostiky a rovněž pomáhají při sledování změn centrálního nervového systému. Možnosti, jak u člověka sledovat tyto změny a zaměřit se na jejich hlubší studium, jsou omezené. Získané poznatky o neurálních korelátech tinnitu u lidí udávají budoucí směr zaměření studia tinnitu u zvířat.

Běžně využívaná neinvazivní zobrazovací technika je magnetická rezonance (MRI, z anglického „Magnetic resonance imaging“). Při zobrazování struktur mozku je používána difúzní (dMRI) či funkční (fMRI) metoda. Funkční MRI se zaměřuje na časovou spojitost zvýšené mozkové aktivity společně se změnami v průtoku krve (Nicholls 2013). Pomocí této metody byla odhalena abnormální zvýšená neurální aktivita lokalizovaná v levé části A1, která korespondovala s přítomností chronického tinnitu. Spontánní měřitelná aktivita s největší pravděpodobností pramenila z neurální plasticity, která je způsobena zvýšenou neurální aktivitou v částech sluchové dráhy a limbického systému (Cai et al. 2019). Difúzní MRI je citlivá na vodu a její difúzi v tkáních, umožňuje tak sledování anatomických drah různých oblastí těla. V případě sledování tinnitu pak představuje možnost, jak pozorovat některé části sluchové dráhy a jejich společnou interakci. Při porovnání pacientů s prokázaným tinnitem a kontrolních pacientů bez tinnitu jsou patrné změny síly spojení sluchových drah mezi A1 a amygdalou. Amygdala představuje část limbického systému, který se primárně podílí na emočním chování a v oblasti výzkumu tinnitu představuje velmi důležitou roli (Lanting 2010). Pomocí fMRI bylo dále pozorováno další množství strukturních změn. Na pravé straně

sluchového thalamu, MGN, byly pozorovány změny ve zvyšujícím se obsahu šedé hmoty (Mühlau et al. 2006). Jiné studie zase naznačily zvýšenou aktivaci a spontánní aktivitu neuronů u IC u subjektů s tinnitem (Melcher et al. 2000).

O něco méně využívanou zobrazovací metodou u sledování změn tinnitu je pozitronová emisní tomografie (PET, z anglického „Positron emission tomography“). PET při pozorování mozku prostorově mapuje oblasti nervové aktivity, díky průtoku krve, v závislosti na obsahu kyslíku a glukózy. Při PET je injekčně vpraven radioaktivní indikátor, který se akumuluje v aktivních oblastech mozku. PET zobrazuje ochotu tkáně vychytávat daná radiofarmaka, která jsou často založena na glukóze. Primárním účelem a zároveň pozitivem této metody je schopnost odhalení řady nádorů. (Kandel et al. 2021). Výsledky u PET jsou často velmi podobné jako u fMRI, s tím rozdílem, že PET má omezenou možnost vizualizace a omezuje se jen na oblast sluchové kůry. U tinnitových pacientů byla pomocí PET studií objevena zvýšená metabolická aktivita v levé části A1, v Brodmannově oblasti 41 (Langguth et al. 2006). Tento poznatek z neinvazivní zobrazovací metody nám přináší informace o tom, že lateralizace tinnitu nesouvisí s pravolevou lokalizací zvýšené aktivity mozkové kůry (Middleton a Tzounopoulos 2012).

Metody elektro-encefalogramu a magnet-encefalogramu umožňují mapování změn mozkové aktivity na základě změn elektrických potenciálů a magnetických polí. Pomocí metod magnet-encefalogramu byly zjištěny abnormality ve snížené neurální aktivitě vln alfa a zvýšenou neurální aktivitu u vln delta, v tonotopických změnách v oblastech A1 (Weisz et al. 2005). U elektro-encefalogramu studie objevují zvýšenou aktivitu v emočních a paměťových oblastech parahipokampálních sítí (Vanneste et al. 2010).

4 Zvířecí modely

Zvířecí modely představují možné způsoby, jak navodit tinnitus u zvířat. Tyto modely nám otevírají možnost k pochopení mechanismů tinnitu, jelikož provádění podobných metod je u lidí z etického hlediska nemožné. Důležitým aspektem je indukce, která by kromě vytvoření tinnitu neměla přinášet větší množství dalších patofyziologických změn, které by mohly negativně ovlivnit výzkum. Výběr modelu se odvíjí od existujících kladů a záporů, zaměření dané studie a jejího účelu. Ve výzkumu sluchu a tinnitu jsou nejčastěji využívanými zvířaty hlodavci, především se jedná o potkany, myši, činčily či morčata. Nicméně majorita vědeckých studií je zaměřena na potkany a myši.

4.1 Farmakologický model

První možností vyvolání tinnitu je cesta farmakologická. Nejčastěji používanými látkami na vyvolání tinnitu u laboratorních zvířat jsou salicyláty. Tyto ototoxické látky poškozují periferní a centrální sluchový systém (Ganesan et al. 2018), mohou vyvolat přechodný tinnitus, zhoršené vnímání zvuků nebo ztrátu sluchu jako takovou (Bauer et al. 1999; Sun et al. 2009). Vyvolávají fantomové zvuky, které jsou podobné jako u tinnitu chronického, ale jejich mechanismus se může značně lišit od tinnitu získaného například akustickým traumatem či stářím. Toto je při používání salicylátů a jemu podobných látek nutné brát v potaz. Salicyláty nejčastěji způsobí příznaky do několika minut a odezní do pár hodin po aplikaci, většinou se uvádí do 72 hodin od poslední aplikace. Konečná délka účinku pak ale záleží na dávkování (Myers a Bernstein 1965). Jelikož jsou salicyláty běžně užívanou látkou v léčích proti bolesti, jako je například Aspirin, jejich účinek vyvolání je vnímán až po požití vyšších dávek. Ukazuje se, že dávkování pro indukci tinnitu je nutné nastavit vysoko, u potkanů zhruba kolem 250 mg/kg, aby bylo možné dosáhnout žádoucího účinku (Sun et al. 2009). Podání salicylátů zkoumaným subjektům může být injekčně, orálně nebo aplikováno lokálně přímo do ucha nebo jiné části sluchové dráhy (Panford-Walsh et al. 2008). Dávkování salicylátů a způsob aplikace je závislé na účelu studie, poněvadž salicyláty vyvolávají účinky velmi rychle, setrvává otázka, jak se odlišují účinky akutního a chronického dávkování. Během studia tinnitu je třeba brát v potaz, že akutní dávkování salicylátů a změny jimi způsobené nám ukazují možné části nervové soustavy, které mohou, ale nemusí hrát roli při mechanismu tinnitu chronického (Stolzberg et al. 2012).

Účinkují jak v periferním, tak centrálním nervovém systému. V periferní sluchové části ovlivňují převážně OHC ve vnitřním uchu. OHC mají schopnost se natahovat a narážet na bazilární membránu, kterou dovedou deformovat, díky čemuž je přicházející zvuková vlna zesilována pro lepší slyšitelnost (Mammano a Ashmore 1993). Vnější vláskové buňky se vlivem depolarizace zkracují a zpětně prodlužují díky repolarizaci. Tato schopnost je označována jako elektromotilita. Během zvukového podnětu, elektromotilita napomáhá OHC zvýšit amplitudu vibrací bazilární přepážky (bazilární membrány a Cortiho orgánu) a tím zvýšit výchylku stereocilií IHC (Nicholls 2013). Salicyláty snižují elektromotilitu OHC, která se projeví změnou v amplitudě otoakustických emisí. Pomocí oslabování elektromotility OHC je zesilování přichozícího akustického podnětu omezováno (Kujawa et al. 1992; Tunstall et al. 1995). Tím může docházet k dočasnému, úplnému nebo částečnému ohluchnutí a následně k projevení šelestů (Tunstall et al. 1995).

Další změny v kochleární oblasti se mohou týkat nezvykle zvýšené aktivity NMDA (N-metyl-D-aspartát) receptorů na postsynaptických membránách primárních aferentních drah. Zde salicyláty, ovlivňují metabolismus fosfolipidů, který zapříčiňuje excitotoxicitu vyvolanou NMDA receptory, která se může projevit jako tinnitus (Guitton et al. 2003). Naopak v centrálním nervovém systému představují salicyláty hrozbu v ovlivnění aktivity neurotransmiterů kyseliny γ -aminomáselné (GABA, z anglického „ γ -Aminobutyric acid“), která představuje jeden z hlavních inhibičních neurotransmiterů v centrální nervové soustavě (Wang et al. 2006; Kandel et al. 2021). V IC vysoké dávkování salicylátů způsobuje blokaci vápníkových kanálů, což se může projevit menším uvolňováním právě neurotransmiteru GABA (Liu et al. 2005).

Salicyláty jsou primárně používanou látkou na indukci tinnitu u zvířat, ale existují i jiné, méně používané ototoxické látky, které mají podobné účinky na nervový sluchový systém. Krom salicylátů je možné na indukci použít například chinin, antimalarikum, u kterého byl prokázán podobný efekt účinku (Jastreboff et al. 1991). Dále jsou používány látky chemoterapeutické, využívané k léčbě rakoviny, carboplatina či cisplatina (Bauer et al. 2008).

4.2 Akustické trauma

Jednou z nejběžnějších příčin vzniku tinnitu u lidí je nadměrné vystavování se hlasitému zvuku, jednorázově nebo opakovaně. Akustické trauma u zvířat představuje možnost navození experimentálního tinnitu velmi podobnému tomu u lidí. Vyvolání tinnitu touto metodou je spojené s částečnou nebo úplnou hluchotou. Na rozdíl od farmakologického modelu, kde příznaky většinou vymizí, intenzivnější poškození hlukem je velmi často nevratné. Účinky přetrvávají či vymizí jen částečně a zanechávají nevratné změny. Akustické trauma je velmi často používanou metodou, která otevírá možnost k pochopení mechanismů chronického tinnitu. Poškození zvukem s sebou nese řadu změn, které ovlivňují jak periferní, tak centrální nervový systém, ale hlavním místem poškození jsou vláskové buňky vnitřního ucha (Kujawa a Liberman 2009).

Akustické trauma je vyvoláno vystavením zvířete hlasitému a intenzivnímu zvuku. Napříč studiemi se ale tato metodika značně odlišuje. Je důležité brát na zřetel všechny parametry, které se podílejí na této metodě. Prvním parametrem je jaký druh zvířete je třeba ohlušit. Různé druhy zvířat se od sebe odlišují svým sluchovým rozsahem, pokud by bylo ohlušování pro všechny druhy jednotné, docházelo by k odlišným výsledkům. U člověka se

udávaný sluchový rozsah pohybuje v rozmezí mezi frekvencemi 20 Hz do 20 kHz. Aby bylo možné porovnávat rozdíly v sluchovém rozhraní napříč druhy, byla stanovena hranice pro člověka na 60 dB hladiny akustického tlaku (SPL, z anglického „Sound pressure level“) v intervalu od 31 Hz do 17,6 kHz (Jackson et al. 1999). U potkanů se při stejné SPL pohybuje v rozmezí od 530 Hz do 70 kHz (Heffner et al. 1994). Myši mají sluchový rozsah při 60 dB SPL od 2300 Hz do 85,5 kHz (Heffner a Heffner 2007).

Druhým podstatným parametrem je věk ohlušovaného zvířete. Věk u myši, u kterých je vyvoláno akustické trauma, by neměl přesahovat 16 měsíců. V této době se razantně začínají posouvat sluchové prahy do vyšších částí a začíná postupná ztráta sluchu (Hunter a Willott 1987). Počáteční věk pro započítání studií jsou zhruba 3 měsíce stáří, kdy se posuny sluchových prahů začínají postupně měnit (Turner et al. 2012), sluchové ústrojí myši je již dostatečně vyvinuté a myš je považována za dospělou (Fox 2007).

Experimentální protokol vyvolání akustického traumatu se pak odlišuje napříč studiemi. Záleží, čeho se chce touto metodou dosáhnout. Zda se jedná o vyvolání čisté ztráty sluchu nebo se studie zaměřuje jen na tinnitus. Expozice hluku se nejčastěji provádí po dobu 1 až 2 hodin (Bauer a Brozoski 2001). Zvíře je uvedeno do anestézie, aby bylo zabráněno nadbytečnému stresu. Anestezie ale může mít i negativní vliv na výsledek experimentu, u některých případů bylo prokázáno, že používání některých anestetik během akustického traumatu může ochraňovat před vytvořením potenciálního tinnitu, ztráty sluchu nebo zkrátit dobu trvání tinnitu akutního. To bylo prokázáno například u látky izofluranu (Norman et al. 2012). Tento fakt by mohl negativně ovlivnit účel této metody. Proto běžně používaným typem anestezie u laboratorních zvířat je kombinace ketaminu a xylazínu (Turner et al. 2006; Longenecker a Galazyuk 2016).

Metoda akustického traumatu se na rozdíl od užívání salicylátů může zaměřit na studium jednostranného tinnitu, kdy je během indukce možné exponovat hluku pouze jedno ucho a druhé zachovat zdravé. Nicméně v testu mezerové prepulzní inhibice, která je popsána v následující kapitole, jednostranná expozice zvířete neovlivňuje detekci tiché mezery při testování na tinnitus (Turner et al. 2006).

Samotné ohlušování je prováděno úzkopásmovým šumem o různých frekvencích a různé intenzitě. V několika klasických studiích zaměřených na výzkum tinnitu bylo akustické trauma vyvoláno expozicí potkanů jednu oktávu širokému šumu centrovanému na 16 kHz o intenzitě 116 dB SPL, v uzavřeném a odhlučném boxu (Turner et al. 2012; 2006). V jiné

studii Longenecker a Galazyuk, vyvolávali akustické trauma úzkopásmovým šumem se středem na 12,5 kHz o intenzitě 116 dB SPL (Longenecker a Galazyuk 2016). Po akustickém traumatu se předpokládá okamžité objevení akutního tinnitu, které může být doprovázeno dočasným nebo trvalým posunem sluchových prahů. Přetrvání tinnitu po dobu následujících měsíců se pak označuje jako tinnitus chronický, a právě ten představuje oblast zájmu většiny výzkumných prací (Turner et al. 2012).

Akustické trauma vede kromě tinnitu k celé řadě dalších změn sluchového systému. Na sluchové periférii je provázeno poškozením senzorických buněk Cortiho orgánu, IHC i OHC. U IHC jsou pozorovatelné úbytky ribbonových glutamátergních synapsí, které vedou k deaferentaci vláskových buněk (Singer et al. 2013). Tyto změny se projevují posunem sluchových prahů, tedy zhoršením sluchu či jeho úplnou ztrátou, které tak často provázejí přítomnost tinnitu (Nordmann et al. 2000; Savastano 2008). Další změny se objevují na úrovni DCN, kde je patrná zvýšená spontánní aktivita neuronů, která se dá změřit jak ihned po vystavení hlasitému zvuku, tak i několik týdnů poté (Kaltenbach et al. 2000). Podobné změny byly pozorovány u zvířat po ohlušení i v jiných oblastech, jako IC (Ma et al. 2006), MGN (Kalappa et al. 2014) a sluchová kůra (Llano et al. 2012).

4.3 Genetické predispozice vzniku tinnitu

Značnou dobu byl tinnitus považován za důsledek environmentálních faktorů pouze s malým genetickým podílem (Cederroth et al. 2017). Hromadící se zjištění však otevírají možnost, že určité formy tinnitu jsou více geneticky podmíněné než jiné. Nedávná celogenomová asociační studie (GWAS, z anglického „Genome-wide association study“) identifikovala některé metabolické dráhy, které se potenciálně podílejí na vzniku tinnitu (Gilles et al. 2017). Tři nejvýznamnější z nich se týkaly reakce na oxidativní stres zprostředkované nukleárním faktorem NRF2 (erythroid 2-related factor 2), reakce na stres z endoplazmatického retikula a signální dráhy zprostředkované příjmem serotoninu. U jedinců s diagnózou chronického tinnitu byla rovněž zkoumána řada kandidátních genů, a to buď na základě srovnání případů a kontrol nebo systematického screeningu mutací. Pozitivní nálezy se objevily u genů, které kódují neurotrofické faktory GDNF (glial cell-derived neurotrophic factor) a BDNF (brain-derived neurotrophic factor). Bylo zjištěno, že genotypy těchto faktorů, které hrají klíčovou roli v raném vývoji centrální sluchové dráhy a vnitřního ucha, společně předpovídaly závažnost tinnitu u žen, avšak ne u mužů (Sand et al. 2012b).

Geny pro napětím řízené iontové kanály, zejména draslíkové kanály, které se podílejí na přenosu signálu v kochle i sluchové dráze, byly intenzivně testovány na výskyt variant korelujících s přítomností tinnitu (Sand et al. 2010). Důvodem je to, že množství prací identifikovalo neuronální hyperaktivitu na různých úrovních centrální sluchové dráhy jako neurální korelát chronického tinnitu (Kaltenbach 2011) a léky, které zvyšují inhibiční synaptický přenos nebo blokují excitační neurotransmisi, by se tak staly kandidáty na léčbu tinnitu. Stávající výzkum však zatím jasnou souvislost mezi tinnitem a geny pro napětím řízené iontové kanály neprokázal. Naopak jedna ze 14 variací genu KCTD12, který kóduje pomocnou podjednotku inhibičních GABA-B receptorů, tzv. tetramerizační doménu draslíkového kanálu 12 (Schwenk et al. 2010), vykazovala významně vyšší frekvenci výskytu u pacientů s chronickým tinnitem (Sand et al. 2012a). Tyto nálezy naznačily, že KCTD12 může působit jako modifikátor rizika vzniku tinnitu a geneticky modifikované myši postrádající KCTD12 by mohly sloužit jako genetický model pro výzkum mechanismů vzniku této poruchy (Turecek et al. 2014). Podobně v genu COCH, kódujícím protein kochlin, exprimovaný v kochle a vestibulárním aparátu byla identifikována mutace, která korelovala s výskytem bilaterální senzorineurální poruchy sluchu a tinnitu (Gallant et al. 2013).

Zatím provedené práce tak naznačují, že individuální náchylnost k chronickému tinnitu je dána souhrou genetických a environmentálních faktorů. Identifikace genetických faktorů by mohla přinést důležité poznatky o patogenezi tinnitu, usnadnit pochopení průběhu onemocnění a závažnosti zátěže pacientů a umožnit nové diagnostické strategie.

5 Metody pro detekci tinnitu u zvířat

Tinnitus je obecně těžko měřitelný, jelikož se jedná o subjektivní fantomový zvuk, který není patrný pro okolí. U lidí probíhá interpretace a diagnostika tinnitu na základě vlastní výpovědi, což u zvířecích subjektů možné není. Proto byly vyvinuty behaviorální metody, které nám s detekcí pomáhají.

5.1 Behaviorální metody

Behaviorální testy používané při výzkumu tinnitu, představují velmi důležitou část studia. Jsou založeny na reálných zvukových vjemech, které jsou maskovány subjektivním tinnitem zvířete. Tinnitus tímto ovlivňuje již předem naučenou behaviorální reakci na vnější stimul a tím se předpokládá přítomnost tinnitu u zkoumaného zvířete.

5.1.1 Startle

Startle neboli úleková reakce je rychlá a impulzivní reakce na nějaký nečekaný a intenzivní podmět, kterou bychom zařadili mezi nepodmíněné behaviorální metody. Podmět může být vizuální, akustický nebo třeba dotykový. Tento stimul způsobuje úlek, který je spjat s rychlou odezvou, která je doprovázena stažením svalů, zavřením očí, či zvýšením srdeční tepové frekvence (Landis a Hunt 1939). V neurofyzilogii, především ve výzkumu tinnitu, je nejběžněji používaným typem akustický startlový reflex (ASR, z anglického „Acoustic startle reflex“), kde je intenzivním podmětem zvuk (Prosser a Hunter 1936).

Startlový reflexní oblouk u myši představuje poměrně jednoduchou a rychlou dráhu, která nevyžaduje nutně přítomnost vyšších nervových center. Prodleva úlekové reakce je krátká a její lokalizace zasahuje jen do oblastí mozkového kmene. Reflexní dráha začíná v aferentních nervových kochleárních zakončeních, kde dále pokračuje do neuronů kochleárního jádra. Odtud pokračuje dále do kaudální části pontu retikulárních jader, z kterých se převádí do motoneuronů, které inervují svalová vlákna a zahajují svalovou kontrakci, která se projeví jako úleková reakce (Gómez-Nieto et al. 2020).

Měření úlekové reakce na myších či potkanech probíhá v odhlučněných, uzavřených komorách, které jsou pro tuto metodu speciálně upraveny. Samotné zvíře je uvnitř komory uzavřeno v malé, kovové klínce, tak aby byl volný pohyb zvířete omezen na minimum a nedocházelo k negativnímu ovlivňování výsledků měření. Klec je uložena na snímací piezoelektrické desce, jež detekuje veškeré pohyby a otřesy a prostřednictvím převodníku je předává do počítače. Záznam a následná analýza naměřených dat probíhá prostřednictvím programovacího balíku Matlab (Rybalko et al. 2015).

Před samotným pokusem je důležité poskytnout zvířeti čas na adaptaci novému prostředí, ve kterém měření probíhá, ideálně 5 až 15 minut. Po této době se následně aplikuje několik startlových stimulů v náhodných časových intervalech z důvodu další habituace zvířete. U myši a potkanů je k vyvolání ASR třeba nastavit intenzitu stimulu minimálně na 80 dB SPL. Na intenzitě se zpravidla měření začíná, a poté se parametry upravují na základě prvního výsledku (Willott 2001).

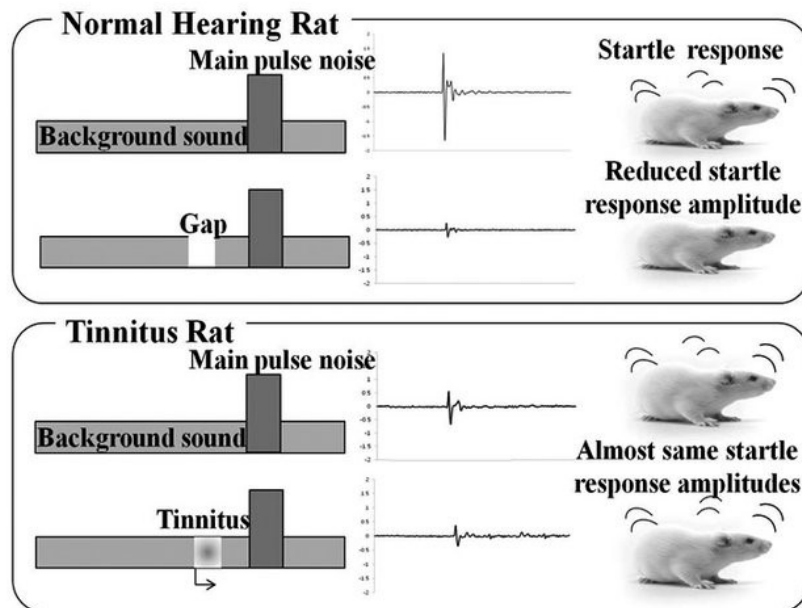
5.1.1.1 Prepulzní inhibice

Podtypem startlové úlekové reakce je prepulzní inhibice (PPI, z anglického „Prepulse inhibition“), která se zakládá na použití méně intenzivnějšího prestimulu (prepulzu), který má

za úkol inhibovat reakci na hlavní zvukový podmět s porovnáním v měření bez prepulzní inhibice. Tato reakce ukazuje nepodmíněný reflex, který vypovídá o správném fungování vyšších nervových center. Prepulz redukuje úlekovou amplitudu a tím vypovídá o schopnosti nervové soustavy se zvládnout dočasně adaptovat na silný podmět, když je méně intenzivnější podmět přítomen (Hoffman a Fleshler 1963).

Příkladem PPI je metoda detekce pauzy v šumu (Gap detection) (Obrázek 3). U této metody není prestimulem zvuk, ale představuje ho krátká a tichá mezera. Metoda detekce pauzy v šumu je využívána především při detekci tinnitu u laboratorních zvířat. Měření se provádí na stejné aparatuře jako úleková reflexe a je prováděno před a po vyvolání tinnitu, nejčastěji akustickým traumatem. Turner a kolektiv ve své práci používají širokopásmový šum, o středové frekvenci 10 kHz nebo 16 kHz, který sám o sobě startlovou reakci nepotlačuje. Pokud je však tento šum přerušen 50 ms trvající pauzou aplikovanou 50 ms před startlovým stimulem, dochází u normálně slyšících zvířat k asi 50% inhibici úlekové reakce. Délka pauzy se může lišit na základě typu studie a druhu zkoumaného zvířete. Pokud pauza v šumu není zvířetem evidována, inhibiční reakce je snížena, a předpokládá se, že subjekt se vyznačuje přítomností tinnitu. Předpokládaným důvodem je to, že subjektivní tinnitus zaplní mezeru vlastním fantomovým zvukem. Míra snížení inhibiční reakce u tinnitem postiženého zvířete také závisí na frekvenci šumu, tj. její podobnosti s frekvencí fantomového zvuku subjektivního tinnitu daného jedince (zpravidla 12–16 kHz). Je důležité připodobnit zvuk v pozadí, co nejvíce předpokládanému zvuku tinnitu. Celková délka měření se pohybuje kolem 40 minut, přičemž by měření nemělo trvat déle než 1 hodinu, kdy už zvíře bude natolik vyčerpané, že by výsledky mohly být negativně ovlivněny (Turner et al. 2006).

Tato behaviorální metoda je výhodná převážně proto, že zde není nutná dlouhá tréninková příprava, která u jiných metod může zabrat až několik týdnů. Zároveň je možné tuto metodu používat opakovaně za předpokladu, že se dané zvíře mezi měřeními nechá dostatečně odpočinout (Turner et al. 2006).



Obrázek 3-Startlová a gap detekce u zdravě slyšící myši v porovnání s myši trpící tinnitem. Je patrné, že zdravě slyšící myš inhibuje úlekovou reakci u gap detekce, ale myš s tinnitem má podobnou reakci jako na běžný úlekový podmět (Jeon et al. 2013).

Měření prepulzní inhibice může být komplikováno také tím, že akustické trauma může vést k úplné ztrátě sluchu, kdy zvíře nebude vykazovat reakci na startlový podmět nebo jen reakci velice sníženou (Rybalko et al. 2015). Dále může vést i k jiným audiologickým poruchám jako je např. hyperakuze (přecitlivělé vnímání intenzivních zvuků), která se velmi často vyskytuje společně s tinnitem. Hyperakuze se projeví u gap detekce nadměrnou amplitudou úlekové reakce na startlový podmět (Chen et al. 2013).

5.1.2 Podmiňování

Podmiňovací behaviorální metody představují druhou skupinu možností, jak umožnit detekci tinnitu u zvířat. Metody jsou založeny na principech učení. Hlavní myšlenkou je učení založené na vnímání podmětu-stimulu, díky kterému je vyvolána adekvátní reakce. Pokud jsou reakce posilovány, například odměnou nebo trestem, dochází k učení. Behaviorální metody je možné rozdělit dle typů reakcí na dvě skupiny, na nepodmíněné a podmíněné. Nepodmíněné metody nejsou nijak předem naučené, dochází k reflexům na základě nějakého intenzivního podmětu a příkladem je startlová úleková reakce, která je popsána v podkapitole výše (Weiner 2013). Na druhé straně máme reakce podmíněné. Tyto metody představují možnost, jak detekovat tinnitus u zvířat, kterým je před ohlušením poskytnuta dostatečně dlouhá behaviorální příprava. Podmiňovací metody na rozdíl od úlekové metody, vyžadují časově náročné trénování a učení

a jedná se o těžší úkony, které potřebují spoluúčast vyšších částí nervové soustavy (Weiner 2013).

5.1.2.1 Paradigma olizovací suprese (lick suppression paradigm)

Výzkumná skupina Jastreboffa a kolegů vyvinula behaviorální metodu paradigma olizovací suprese, která je založena na potlačení olizování vody. Technika učí zvířata pít vodu pouze v přítomnosti zvuku, nejčastěji šumu. V momentě, kdy je zvukový stimul vypnut, jsou zvířata trénována na přerušeni pití vody pomocí averzivního stimulu elektrického šoku aplikovaného do nohy na konci tichého intervalu. Po dosažení vysoké úspěšnosti při provádění této úlohy je u zvířat navozen tinnitus, buď salicylátovou cestou či akustickým traumatem. Tato zvířata pak nevykazují inhibici pití vody během tiché pauzy nebo je jejich reakce na tichou pauzu výrazně pomalejší. Předpokládá se, že fantomový zvuk zvířete vyplní tichou periodu a zvíře si není schopno uvědomit její přítomnost. (Jastreboff et al. 1988).

5.1.2.2 Páková metoda

Druhou podmiňovací metodou je metoda od výzkumné skupiny Sederholma a Swedberga. Zvířata jsou cvičena na rozpoznání dvou odlišných pák. První páka má být stlačena v přítomnosti tónu, páka druhá pokud je tón vypnut. Správná odpověď je následně odměněna potravou. Ta zvířata, která měla tinnitus, prokazovala četnější stlačení pák označených tónem než pák tichých. Metoda je výrazně šetrnější než paradigma olizovací suprese, jelikož nevyžaduje využití elektrického šoku a zvířata za správné stlačení odměňuje. Mimo jiné metoda zamezuje matoucím faktorům jako je hyperakuze nebo zhoršený sluch (Sederholm a Swedberg 2013).

6 Mechanismus tinnitu u zvířat

Tinnitus je komplexní symptom, který je tématem neustálého zkoumání a jehož příčiny stále nejsou známy. S velkou pravděpodobností se nejedná o jednu změnu ve sluchovém systému, ale je souhrou několika různých příčin, které mohou mít původ jak v periferním, tak centrálním sluchovém nervovém systému, na buněčné a molekulární úrovni. Všeobecně se předpokládá, že vznik tinnitu je spojen s poškozením sluchové periferie (vnější, střední a vnitřní ucho) a udržování tinnitu v dlouhodobém stavu, vychází z následných změn v centrálním nervovém systému (Eggermont a Roberts 2015).

Poškození či narušení sluchové periferie, v oblastech vnitřního ucha, převážně sensorických buněk IHC a OHC, vyvolává řadu plastických změn dále v ascendentních částech sluchové dráhy (Eggermont a Roberts 2015). Poškození sensorických buněk je nejčastěji způsobováno akustickým traumatem. Dochází při tom ke zvýšení sluchových prahů, přičemž posun může být trvalý nebo jen dočasný. To může mít za následek vznik tinnitu nebo vznik hyperakuze (Liberman a Dodds 1984). Jak již bylo zmíněno v podkapitole „Akustické trauma“, příliš hlasitý zvuk má za následek deficit ribbonových synapsí u IHC (Singer et al. 2013). Úbytek těchto synapsí je reakcí na otoky aferentních zakončení na IHC, způsobené nadměrnou glutamátovou excitotoxicitou (Robertson 1983). Druhý typ sensorických buněk kochleárního aparátu, OHC, vykazuje po akustickém traumatu zvýšenou excitabilitu aferentních zakončení druhého typu. Ta je dána uzavřením draslíkových kanálů typu KCNQ a následně může vést k nadměrné přecitlivělosti na intenzivní zvuky (hyperakuze), která často sprovází tinnitus (Liu et al. 2015).

Změny u vláskových buněk, se mohou týkat i nezvykle zvýšené aktivity NMDA receptorů. V kochleárním aparátu je přenos mezi buňkami vnitřního ucha a primárními aferenty zprostředkován glutamátovými receptory podtypu AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionová kyselina) a NMDA, nacházejících se na postsynaptické membráně aferentních vláken. Dle studie Guitton a kol., která zkoumala vliv salicylátů indukujících tinnitus v korelaci s kochleárními receptory, bylo zjištěno, že salicyláty ovlivňují enzym cyklooxygenázu. Salicylát a jemu podobné látky inhibují aktivitu tohoto enzymu a tím nedochází k přeměňování kyseliny arachidonové, která svou přítomností zvyšuje pravděpodobnost otevření NMDA receptorů. Tím salicylát zapříčiní nezvykle zvýšenou aktivitu NMDA receptorů, která vyústí v excitotoxicitu, která se může projevit jako tinnitus. Bylo prokázáno, že podání NMDA antagonistů, subjektům, kterým byl vyvolán tinnitus salicyláty, vede zpětně k jeho potlačení. To představuje potenciální možnost v léčbě tinnitu nebo jiných možných onemocněních, které vykazují spojitost s nadměrnými změnami u NMDA receptorů (Guitton et al. 2003; Puel et al. 1994).

Ve sluchové dráze je tinnitus provázen řadou změn projevujících se pravděpodobně ve všech jejích částech. Brozoski a Bauer ukázali, že DCN hraje důležitou roli při iniciaci tinnitu, ale mnohem menší při jeho následném udržování. U myši, kterým byla DCN odebrána před akustickým traumatem, nebyl tinnitus prokázán. Naopak tinnitus přetrvával u behaviorálně prokázaných tinnitových subjektů, kterým byla DCN odstraněna až po traumatu. Zároveň po indukci tinnitu, v oblastech DCN dochází k abnormální neurální aktivitě, která koreluje

s vnímáním tinnitu (Brozoski a Bauer 2005). Zvýšená hyperaktivita buněk DCN byla pozorovatelná jak pár dnů po vystavení, tak i delší dobu poté (až do 180 dní) (Kaltenbach et al. 2000). Především tinnitus způsobený akustickým traumatem zvyšuje aktivitu hlavních projekčních neuronů DCN, tzv. fusiformních buněk (Pilati et al. 2012). U těchto buněk byla také objevena menší aktivita napěťově řízených kanálů třídy KCNQ, u kterých při posunu napěťové závislosti dochází ke snížení pravděpodobnosti jejich otevření během podprahových membránových potenciálů. Snížení aktivity těchto KCNQ kanálů následně vede ke zvýšení frekvence akčních potenciálů u fusiformních buněk (Li et al. 2013). Mezi další s tinnitem spojené změny v DCN patří snížení glycinergní (Brozoski et al. 2002) a GABAergní inhibice na fusiformních buňkách (Middleton et al. 2011). Tyto změny se následně projevují hyperaktivitou buněk DCN, která může vyústit v tinnitovou percepci (Brozoski et al. 2002; Middleton et al. 2011).

V další části sluchové dráhy, byly objeveny změny na úrovni IC. Tato oblast IC přijímá signály z oblasti kochleárních jader a ty dále zpracovává a předává směrem do vyšších center nervové soustavy. Změny, které byly popsány na úrovni IC, se ale napříč studiemi odlišují. Některé výzkumy zaznamenaly zvýšenou neurální aktivitu po akustickém ohlušení (Ma et al. 2006), podobně jako u DCN, vyvolanou narušením normálního inhibičního GABAergního přenosu (Bauer et al. 2000; Liu et al. 2005). Na druhé straně některé studie žádnou změnu u GABAergního přenosu a zvýšenou neurální aktivitu v oblastech IC nezaznamenaly (Brozoski et al. 2012). U zvířat po akustickém traumatu, u kterých byla inhibice GABAergního přenosu pozorovatelná, byly objeveny nízké hladiny glutamát dekarboxylázy 65 (GAD, z anglického „Glutamate decarboxylase“). GAD jsou enzymy způsobující přeměnu glutamátu na inhibiční neurotransmitter GABA (Kandel et al. 2021). Nižší hladiny těchto enzymů se pak projeví jako oslabení inhibičního signálu, které vede ke zvýšené hyperaktivitě v IC u zvířat s behaviorálně potvrzeným tinnitem vyvolaným ohlušením (Milbrandt et al. 2000). Změny v inhibičním přenosu zprostředkovaným neurotransmitterem GABA se objevují i ve studiích zaměřených na použití salicylátů. U tinnitu vyvolaným salicyláty byla objevena zvýšená neurální aktivita IC. Změny se objevují u napěťově řízených vápníkových kanálů typu L v buňkách IC. Tyto kanály jsou zodpovědné za zprostředkování vápníkových proudů do buňky, které pak zahajují souhrn dalších intracelulárních kaskádových signálů, jako je regulace uvolňování neurotransmiterů (Kandel et al. 2021). Salicyláty způsobují zeslabení toku iontů vápníku těmito kanály, což následně ovlivňuje množství uvolňování inhibičního neurotransmiteru GABA. Předpokládá se, že projevující se tinnitus pak může vznikat

v důsledku snížené či ztracené GABAergní inhibice. To se projevuje jako zvýšená neurální aktivita buněk v oblasti IC (Liu et al. 2005).

Talamická oblast, především MGB, přijímá informace od IC a ty dále posílá do oblastí sluchové kůry. Neurony MGB u zvířat, u kterých byl behaviorálně prokázán tinnitus, také ukazují objevující se zvýšenou spontánní aktivitu neuronů (Kalappa et al. 2014).

V případě sluchové kůry bylo navrženo několik různých mechanismů, které mohou představovat souvislost s percepcí tinnitu. Jedná se o změny v tonotopických mapách sluchové kůry. Tonotopické mapy představují místa v nervovém systému, která zpracovávají rozdílné zvukové frekvence zvuku (Nicholls 2013). Změny na úrovních tonotopických map s největší pravděpodobností nepředstavují příčinu tinnitu, ale spíše změny, které se vyvíjí až po jeho vzniku a napomáhají v jeho následném udržování. Změny, které povedou k tonotopickým reorganizacím sluchové kůry, mohou být způsobeny díky poškození periferie a vznikem funkčních změn v těchto oblastech, samotná reorganizace kůry pak může přispívat k udržování tinnitu (Engineer et al. 2011). Nicméně téma kortikální reorganizace a její spojitost s tinnitem je stále téma, které bude třeba ve studiích rozebrat hlouběji. Napříč výzkumnými týmy se totiž výsledky značně odlišují. Některé studie objevily korelaci mezi přítomností tinnitu a sníženou regulací GAD₆₅ hladin enzymů ve sluchové kůře, ale reorganizace kůry byla způsobena pouze sluchovou ztrátou (Miyakawa et al. 2019). Na druhé straně se pak jiné studie přiklání ke korelaci tonotopických reorganizací sluchové kůry u tinnitových subjektů (Mühlnickel et al. 1998). Změny v neurální plasticitě sluchové kůry jsou pak pozorovány v šedé kůře mozkové. Dle Boyen et al., 2013 dochází ke zvýšení obsahu šedé hmoty v levé části A1, spánkové a limbické oblasti. Ke snížení obsahu šedé hmoty pak dochází v čelní a týlní části mozku. Zvýšený obsah šedé kůry především v oblastech levé části A1 a ostatních nesluchových oblastí představují místo zájmu dalšího obsáhlejšího výzkumu, který by byl schopen pochopit tinnitové mechanismy v těchto oblastech (Boyen et al. 2013). Další změny související s přítomností tinnitu jsou zvýšení spontánních frekvencí akčních potenciálů, objevující se u zvířat vystavené akustickému traumatu, v oblastech A1 (Basura et al. 2015; Llano et al. 2012). U tinnitových zvířat se vyskytuje i zvýšená neurální synchronizace, která se objevuje ihned po zvukové indukci. (Noreña a Eggermont 2003) V místech, kde dochází k přestavbě tonotopických oblastí, se zvýšená synchronizace objevuje také (Komiya a Eggermont 2000). Není ale jistá korelace mezi synchronizací a pouze sluchovým postižením nebo i výskytem samotného tinnitu (Engineer et al. 2011).

Mimo sluchovou dráhu se výzkumy zaměřují na oblast limbického systému. Limbický systém představuje místo několika struktur podílejících se na činnosti mnoha složitých funkcí (Nieuwenhuys et al. 2008). Na jeho fungování mají velký vliv psychické stavy, jako jsou úzkosti a deprese, které jsou často u lidí spojovány s příčinou tinnitu (Bhatt et al. 2017). Limbický systém obsahuje struktury jako jsou nucleus accumbens (NAc) a ventromedial prefrontal cortex (vmPFC). Předpokládá se, že tyto struktury hrají dominantní roli při percepci chronického tinnitu. Ve vmPFC u tinnitových subjektů je pozorováno snížení obsahu šedé hmoty. Pokud by došlo ke snížení šedé hmoty vmPFC (Leaver et al. 2011), mohlo by docházet k menšímu snížení inhibice MGB. Tento fakt by se následně mohl projevit větším vnímáním fantomových zvuků tinnitu. Zároveň struktury NAc zase naopak přijímají modulační vstupy z jiných částí limbického systému, které by mohly poskytovat mechanismus samotného vnímání tinnitu (Rauschecker et al. 2015).

7 Závěr

Zvířecí modely umožňují odhalení a pochopení molekulárních a buněčných mechanismů subjektivního tinnitu. Jejich vývoj vychází z rizikových faktorů, o kterých se předpokládá, že hrají důležitou úlohu v patogenezi tinnitu u člověka. Hlavní model využívající vliv akustického traumatu je nejvíce připodobňován chronickému tinnitu člověka. Druhý model umožňuje vyvolání reverzibilního tinnitu pomocí ototoxických látek, především salicylátů, které jsou součástí běžně používaných léků proti bolesti. K těmto modelům se v posledních letech přidává i geneticky podmíněný tinnitus, jehož pochopení bude vyžadovat ještě řadu studií, ale mohl by otevřít nové možnosti výzkumu a přinést nové diagnostické strategie. Při použití modelů je nutné brát zřetel na všechny jejich aspekty a během interpretace zjištěných výsledků je adekvátně zohlednit.

Nicméně snaha o navození tinnitu u zvířecích modelů je jen prvním krokem výzkumu a k následnému podrobnému studiu tinnitu je nezbytná behaviorální interpretace, která potvrzuje funkčnost použitého modelu. Behaviorální metody, jako je startlová prepulzní inhibice či metody podmiňovací, jsou založeny na maskování reálných zvukových vjemů subjektivním tinnitem a odhalují možný tinnitus u laboratorních zvířat.

Množství patofyziologických změn bylo odhaleno právě díky zvířecím modelům a behaviorálním metodám. Víme, že tinnitus je v mnoha případech iniciován poškozením periferního sluchového systému a následnou sensorineurální sluchovou ztrátou, což vede

k vyústění maladaptivní plasticitě v jednotlivých částech centrální sluchové dráhy. Jednou z hlavních pozorovatelných změn je zvýšená excitabilita a hyperaktivita neuronů v oblastech sluchové dráhy, jako jsou DCN, IC, MGN nebo sluchová kůra. Tinnitus je také spojen s morfologickými změnami, jako je úbytek ribbonových synapsí vláskových buněk díky glutamátové excitotoxicitě. Již zmíněná neurální hyperaktivita se objevuje u buněk DCN, díky narušení glycinergní a GABAergické inhibice. Neurální zvýšená aktivita IC je zapříčiněná sníženou GABAergní inhibicí, korelující s nízkými hladinami enzymů GAD₆₅. Ve finální části sluchové dráhy se objevují změny v tonotopické reorganizaci korespondující s poškozením sluchové periferie, dále změny v objemu sluchové kůry či zvýšená neurální synchronizace tonotopických oblastí. V nesluchovéch oblastech byly změny objeveny v limbickém systému, kde byl u zvířat s tinnitem objeven úbytek šedé kůry ve strukturách vmPFC.

Výzkum mechanismů tinnitu s využitím laboratorních zvířat je a pravděpodobně i dlouho bude předmětem zájmu mnoha neurofyziologických laboratoří po celém světě. Budoucí výzkumy, zaměřené na hlubší porozumění komplexních procesů vedoucím k tinnitu, by mohly otevřít možnosti nových léčebných a diagnostických nástrojů této audiologické poruchy.

8 Použitá literatura

Sekundární citace jsou označeny hvězdičkou *

ANNIKO, M., ed., 2010. *Otorhinolaryngology, head and neck surgery*. Heidelberg: Springer. European manual of medicine. ISBN 978-3-540-42940-1.

BASURA, G. J., S. D. KOEHLER a S. E. SHORE, 2015. Bimodal stimulus timing-dependent plasticity in primary auditory cortex is altered after noise exposure with and without tinnitus. *Journal of Neurophysiology*. 114(6), 3064–3075. Dostupné z: doi:10.1152/jn.00319.2015

BAUER, C. A. a T. J. BROZOSKI, 2001. Assessing Tinnitus and Prospective Tinnitus Therapeutics Using a Psychophysical Animal Model. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*. 2(1), 54–64. Dostupné z: doi:10.1007/s101620010030

BAUER, C. A., J.G. TURNER, D. M. CASPARY, K. S. MYERS a T. J. BROZOSKI, 2008. Tinnitus and inferior colliculus activity in chinchillas related to three distinct patterns of cochlear trauma. *Journal of Neuroscience Research*. 86(11), 2564–2578. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.21699

BAUER, C.A, T.J BROZOSKI, T.M HOLDER a D.M CASPARY, 2000. Effects of chronic salicylate on GABAergic activity in rat inferior colliculus. *Hearing Research*. 147(1–2), 175–182. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5955(00)00130-1

BAUER, C.A., T.J. BROZOSKI, R. ROJAS, J. BOLEY a M. WYDER, 1999. Behavioral Model of Chronic Tinnitus in Rats. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 121(4), 457–462. Dostupné z: doi:10.1016/S0194-5998(99)70237-8

BHATT, J. M., N. BHATTACHARYYA a H. W. LIN, 2017. Relationships between tinnitus and the prevalence of anxiety and depression: Tinnitus and Mood Disorders. *The Laryngoscope*. 127(2), 466–469. Dostupné z: doi:10.1002/lary.26107

BOYEN, K., D. R. M. LANGERS, E. DE KLEINE a P. VAN DIJK, 2013. Gray matter in the brain: Differences associated with tinnitus and hearing loss. *Hearing Research*. 295, 67–78. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2012.02.010

BROZOSKI, T. J. a C. A. BAUER, 2005. The effect of dorsal cochlear nucleus ablation on tinnitus in rats. *Hearing Research*. 206(1–2), 227–236. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2004.12.013

BROZOSKI, T. J., C. A. BAUER a D. M. CASPARY, 2002. Elevated Fusiform Cell Activity in the Dorsal Cochlear Nucleus of Chinchillas with Psychophysical Evidence of Tinnitus. *The Journal of Neuroscience*. 22(6), 2383–2390. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.22-06-02383.2002

BROZOSKI, T., B. ODINTSOV a C. BAUER, 2012. Gamma-aminobutyric acid and glutamic acid levels in the auditory pathway of rats with chronic tinnitus: a direct determination using high resolution point-resolved proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS). *Frontiers in Systems Neuroscience*. 6. Dostupné z: doi:10.3389/fnsys.2012.00009

CAI, W.-W., Z.-C. LI, Q.-T. YANG a T. ZHANG, 2019. Abnormal Spontaneous Neural Activity of the Central Auditory System Changes the Functional Connectivity in the Tinnitus Brain: A Resting-State Functional MRI Study. *Frontiers in Neuroscience*. 13, 1314. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2019.01314

CANT, N. B. a D. L. OLIVER, 2018. Overview of Auditory Projection Pathways and Intrinsic Microcircuits. In: D. L. OLIVER, N. B. CANT, R. R. FAY a A. N. POPPER, ed. *The Mammalian Auditory Pathways*. Cham: Springer International Publishing, Springer Handbook of Auditory Research, s. 7–39. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-71798-2_2

CARLIN, R. E., D. J. MCGRAW a C. B. ANDERSON, 1997. Objective tinnitus resulting from internal carotid artery stenosis. *Journal of Vascular Surgery*. 25(3), 581–583. Dostupné z: doi:10.1016/S0741-5214(97)70272-6

*CEDERROTH, C. R., A. K. KÄHLER, P. F. SULLIVAN a Jose A. LOPEZ-ESCAMEZ, 2017. Genetics of Tinnitus: Time to Biobank Phantom Sounds. *Frontiers in Genetics*. 8, 110. Dostupné z: doi:10.3389/fgene.2017.00110

CEDERROTH, C. R., M. PIROUZIFARD, N. TRPCHEVSKA, E. IDRIZBEGOVIC, B. CANLON, J. SUNDQUIST, K. SUNDQUIST a B. ZÖLLER, 2019. Association of Genetic vs Environmental Factors in Swedish Adoptees With Clinically Significant Tinnitus. *JAMA otolaryngology-- head & neck surgery*. 145(3), 222–229. Dostupné z: doi:10.1001/jamaoto.2018.3852

*EGGERMONT, J. J. a Larry E. ROBERTS, 2015. Tinnitus: animal models and findings in humans. *Cell and Tissue Research*. 361(1), 311–336. Dostupné z: doi:10.1007/s00441-014-1992-8

ENGINEER, N. D., J. R. RILEY, J. D. SEALE, W. A. VRANA, J. A. SHETAKE, S. P. SUDANAGUNTA, M. S. BORLAND a M. P. KILGARD, 2011. Reversing pathological neural activity using targeted plasticity. *Nature*. 470(7332), 101–104. Dostupné z: doi:10.1038/nature09656

FELTEN, D. L., M. K. O'BANION, M. S. MAIDA a F. H. NETTER, 2016. *Netter's atlas of neuroscience*. 3rd edition. Philadelphia, PA: Elsevier. ISBN 978-0-323-26511-9.

FOX, J. G., ed., 2007. *The mouse in biomedical research*. 2nd ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier, AP. American College of Laboratory Animal Medicine series. ISBN 978-0-12-369454-6.

GALLANT, E., L. FRANCEY, H. FETTING, M. KAUR, H. HAKONARSON, D. CLARK, M. DEVOTO a I. D. KRANTZ, 2013. Novel COCH mutation in a family with autosomal dominant late onset sensorineural hearing impairment and tinnitus. *American Journal of Otolaryngology*. 34(3), 230–235. Dostupné z: doi:10.1016/j.amjoto.2012.11.002

GILLES, A., G. VAN CAMP, P. VAN DE HEYNING a E. FRANSEN, 2017. A Pilot Genome-Wide Association Study Identifies Potential Metabolic Pathways Involved in Tinnitus. *Frontiers in Neuroscience*. 11, 71. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2017.00071

*GÓMEZ-NIETO, R., S. HORMIGO a D. E. LÓPEZ, 2020. Prepulse Inhibition of the Auditory Startle Reflex Assessment as a Hallmark of Brainstem Sensorimotor Gating Mechanisms. *Brain Sciences*. 10(9), 639. Dostupné z: doi:10.3390/brainsci10090639

GUITTON, M. J., J. CASTON, J. RUEL, R. M. JOHNSON, R. PUJOL a J.-L. PUEL, 2003. Salicylate Induces Tinnitus through Activation of Cochlear NMDA Receptors. *The Journal of Neuroscience*. 23(9), 3944–3952. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.23-09-03944.2003

*HEFFNER, H. E. a R. S. HEFFNER, 2007. Hearing ranges of laboratory animals. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*. 46(1), 20–22.

HEFFNER, H. E., R. S. HEFFNER, C. CONTOS a T. OTT, 1994. Audiogram of the hooded Norway rat. *Hearing Research*. 73, 244–248.

HINTON, D. E., D. CHHEAN, V. PICH, S. G. HOFMANN a D. H. BARLOW, 2006. Tinnitus among Cambodian refugees: relationship to PTSD severity. *Journal of Traumatic Stress*. 19(4), 541–546. Dostupné z: doi:10.1002/jts.20138

HOFFMAN, H. S. a M. FLESHLER, 1963. Startle Reaction: Modification by Background Acoustic Stimulation. *Science*. 141(3584), 928–930. Dostupné z: doi:10.1126/science.141.3584.928

HUNTER, K. P. a J. F. WILLOTT, 1987. Aging and the auditory brainstem response in mice with severe or minimal presbycusis. *Hearing Research*. 30(2–3), 207–218. Dostupné z: doi:10.1016/0378-5955(87)90137-7

CHEN, G., C. LEE, S. A. SANDRIDGE, H. M. BUTLER, N. F. MANZOOR a J. A. KALTENBACH, 2013. Behavioral Evidence for Possible Simultaneous Induction of Hyperacusis and Tinnitus Following Intense Sound Exposure. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*. 14(3), 413–424. Dostupné z: doi:10.1007/s10162-013-0375-2

ITO, T. a M. S. MALMIERCA, 2018. Neurons, Connections, and Microcircuits of the Inferior Colliculus. In: D. L. OLIVER, N. B. CANT, R. R. FAY a Arthur N. POPPER, ed. *The Mammalian Auditory Pathways*. Cham: Springer International Publishing, Springer Handbook of Auditory Research, s. 127–167. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-71798-2_6

JACKSON, L. L., R. S. HEFFNER a H. E. HEFFNER, 1999. Free-field audiogram of the Japanese macaque. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 106(5), 3017–3023. Dostupné z: doi:10.1121/1.428121

JASTREBOFF, P. J., J. F. BRENNAN, J. K. COLEMAN a C. T. SASAKI, 1988. Phantom auditory sensation in rats: An animal model for tinnitus. *Behavioral Neuroscience*. 102(6), 811–822. Dostupné z: doi:10.1037/0735-7044.102.6.811

JASTREBOFF, P. J., J. F. BRENNAN a C. T. SASAKI, 1991. Quinine-Induced Tinnitus in Rats. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 117(10), 1162–1166. Dostupné z: doi:10.1001/archotol.1991.01870220110020

JEON, P., J.-Y. JUNG, S.-H. LEE a I. PARK, 2013. An Implementation of a GPIAS Measurement System for Animal Tinnitus Detection and Study on Effect of Starting Point of Stimulus Background Sound on Startle Response. *Journal of Sensor Science and Technology*. 22(6), 410–414. Dostupné z: doi:10.5369/JSST.2013.22.6.410

KALAPPA, B. I., T. J. BROZOSKI, J. G. TURNER a D. M. CASPARY, 2014. Single unit hyperactivity and bursting in the auditory thalamus of awake rats directly correlates with behavioural evidence of tinnitus. *The Journal of Physiology*. 592(22), 5065–5078. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.2014.278572

*KALTENBACH, J. A., 2011. Tinnitus: Models and mechanisms. *Hearing Research*. 276(1–2), 52–60. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2010.12.003

KALTENBACH, J. A., J. ZHANG a C. E. AFMAN, 2000. Plasticity of spontaneous neural activity in the dorsal cochlear nucleus after intense sound exposure. *Hearing Research*. 147(1–2), 282–292. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5955(00)00138-6

KANDEL, E. R., J. KOESTER, S. MACK a S. SIEGELBAUM, ed., 2021. *Principles of neural science*. Sixth edition. New York: McGraw Hill. ISBN 978-1-259-64223-4.

KOMIYA, H. a J. J. EGGERMONT, 2000. Spontaneous Firing Activity of Cortical Neurons in Adult Cats with Reorganized Tonotopic Map Following Pure-tone Trauma. *Acta Oto-Laryngologica*. 120(6), 750–756. Dostupné z: doi:10.1080/000164800750000298

KUJAWA, S. G., M. FALLON a R. P. BOBBIN, 1992. Intracochlear salicylate reduces low-intensity acoustic and cochlear microphonic distortion products. *Hearing Research*. 64(1), 73–80. Dostupné z: doi:10.1016/0378-5955(92)90169-N

KUJAWA, S. G. a M. C. LIBERMAN, 2009. Adding Insult to Injury: Cochlear Nerve Degeneration after „Temporary” Noise-Induced Hearing Loss. *Journal of Neuroscience*. 29(45), 14077–14085. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.2845-09.2009

LANDIS, C. a W. A. HUNT, 1939. The Startle Pattern. *Journal of Mental Science*. 85(357), 808–809. Dostupné z: doi:10.1192/bjp.85.357.808-b

LANGGUTH, B., P. EICHHAMMER, A. KREUTZER, P. MAENNER, J. MARIENHAGEN, T. KLEINJUNG, P. SAND a G. HAJAK, 2006. The impact of auditory cortex activity on characterizing and treating patients with chronic tinnitus – first results from a PET study. *Acta Oto-Laryngologica*. 126(sup556), 84–88. Dostupné z: doi:10.1080/03655230600895317

LANTING, C.P., 2010. *Functional magnetic resonance imaging of tinnitus*. Groningen. Bibliotheek der Rijksuniversiteit Groningen. ISBN: 9789036742580.

LEAVER, A. M., L. RENIER, M. A. CHEVILLET, S. MORGAN, H. J. KIM a J. P. RAUSCHECKER, 2011. Dysregulation of Limbic and Auditory Networks in Tinnitus. *Neuron*. 69(1), 33–43. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuron.2010.12.002

LEVINE, R. A., 1999. Somatic (craniocervical) tinnitus and the dorsal cochlear nucleus hypothesis. *American Journal of Otolaryngology*. 20(6), 351–362. Dostupné z: doi:10.1016/S0196-0709(99)90074-1

LI, Shuang, V. CHOI a T. TZOUNOPOULOS, 2013. Pathogenic plasticity of Kv7.2/3 channel activity is essential for the induction of tinnitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110(24), 9980–9985. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1302770110

LIBERMAN, M. C. a L. W. DODDS, 1984. Single-neuron labeling and chronic cochlear pathology. III. Stereocilia damage and alterations of threshold tuning curves. *Hearing Research*. 16(1), 55–74. Dostupné z: doi:10.1016/0378-5955(84)90025-X

LIU, C., E. GLOWATZKI a P. A. FUCHS, 2015. Unmyelinated type II afferent neurons report cochlear damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112(47), 14723–14727. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1515228112

LIU, Y., X. LI, C. MA, J. LIU a H. LU, 2005. Salicylate blocks L-type calcium channels in rat inferior colliculus neurons. *Hearing Research*. 205(1–2), 271–276. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2005.03.028

LLANO, D. A., J. TURNER a D. M. CASPARY, 2012. Diminished Cortical Inhibition in an Aging Mouse Model of Chronic Tinnitus. *Journal of Neuroscience*. 32(46), 16141–16148. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.2499-12.2012

LONGENECKER, R. J. a Alexander V. GALAZYUK, 2016. Variable Effects of Acoustic Trauma on Behavioral and Neural Correlates of Tinnitus In Individual Animals. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 10. Dostupné z: doi:10.3389/fnbeh.2016.00207

MA, W.-L. D., H. HIDAKA a B. J. MAY, 2006. Spontaneous activity in the inferior colliculus of CBA/J mice after manipulations that induce tinnitus. *Hearing Research*. 212(1–2), 9–21. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2005.10.003

MAMMANO, F. a J. F. ASHMORE, 1993. Reverse transduction measured in the isolated cochlea by laser Michelson interferometry. *Nature*. 365(6449), 838–841. Dostupné z: doi:10.1038/365838a0

MELCHER, J. R., I. S. SIGALOVSKY, J. J. GUINAN a R. A. LEVINE, 2000. Lateralized Tinnitus Studied With Functional Magnetic Resonance Imaging: Abnormal Inferior Colliculus Activation. *Journal of Neurophysiology*. 83(2), 1058–1072. Dostupné z: doi:10.1152/jn.2000.83.2.1058

MIDDLETON, J., T. KIRITANI, C. PEDERSEN, J. G. TURNER, G. SHEPHERD a T. TZOUNOPOULOS, 2011. Mice with behavioral evidence of tinnitus exhibit dorsal cochlear nucleus hyperactivity because of decreased GABAergic inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(18), 7601–7606. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1100223108

*MIDDLETON, J. W. a T. TZOUNOPOULOS, 2012. Imaging the neural correlates of tinnitus: a comparison between animal models and human studies. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 6. Dostupné z: doi:10.3389/fnsys.2012.00035

MILBRANDT, J. C., T. M. HOLDER, M. C. WILSON, R. J. SALVI a D. M. CASPARY, 2000. GAD levels and muscimol binding in rat inferior colliculus following acoustic trauma. *Hearing Research*. 147(1–2), 251–260. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5955(00)00135-0

MIYAKAWA, A., W. WANG, S.-J. CHO, D. LI, S. YANG a S. BAO, 2019. Tinnitus Correlates with Downregulation of Cortical Glutamate Decarboxylase 65 Expression But Not Auditory Cortical Map Reorganization. *The Journal of Neuroscience*. 39(50), 9989–10001. Dostupné z: doi:10.1523/JNEUROSCI.1117-19.2019

MÜHLAU, M., J. P. RAUSCHECKER, E. OESTREICHER, C. GASER, M. RÖTTINGER, A. M. WOHLSCHLÄGER, F. SIMON, T. ETGEN, B. CONRAD a D. SANDER, 2006. Structural Brain Changes in Tinnitus. *Cerebral Cortex*. 16(9), 1283–1288. Dostupné z: doi:10.1093/cercor/bhj070

MÜHLNICKEL, W., T. ELBERT, E. TAUB a H. FLOR, 1998. Reorganization of auditory cortex in tinnitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 95(17), 10340–10343. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.95.17.10340

MYERS, E. N. a J. M. BERNSTEIN, 1965. Salicylate Ototoxicity: A Clinical and Experimental Study. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 82(5), 483–493. Dostupné z: doi:10.1001/archotol.1965.00760010485006

NIEUWENHUYNS, R., J. VOOGD a C. VAN HUIJZEN, 2008. *The human central nervous system*. 4th ed. New York: Springer. ISBN 978-3-540-34684-5.

NICHOLLS, J. G., 2013. *Od neuronu k mozku*. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-2155-7.

NORDMANN, A. S., B. A. BOHNE a G. W. HARDING, 2000. Histopathological differences between temporary and permanent threshold shift. *Hearing Research*. 139(1–2), 13–30. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5955(99)00163-X

NOREÑA, A. J. a J. J. EGGERMONT, 2003. Changes in spontaneous neural activity immediately after an acoustic trauma: implications for neural correlates of tinnitus. *Hearing Research*. 183(1–2), 137–153. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5955(03)00225-9

NORMAN, M., K. TOMSCHA a M. WEHR, 2012. Isoflurane blocks temporary tinnitus. *Hearing Research*. 290(1–2), 64–71. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2012.03.015

PANFORD-WALSH, R., W. SINGER, L. RÜTTIGER, S. HADJAB, J. TAN, H.-S. GEISLER, U. ZIMMERMANN, I. KÖPSCHALL, K. ROHBOCK, A. VIELJANS, E. OESTREICHER a M. KNIPPER, 2008. Midazolam Reverses Salicylate-Induced Changes in Brain-Derived Neurotrophic Factor and Arg3.1 Expression: Implications for Tinnitus Perception and Auditory Plasticity. *Molecular Pharmacology*. 74(3), 595–604. Dostupné z: doi:10.1124/mol.108.046375

PILATI, N., C. LARGE, I. D. FORSYTHE a M. HAMANN, 2012. Acoustic over-exposure triggers burst firing in dorsal cochlear nucleus fusiform cells. *Hearing Research*. 283(1–2), 98–106. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2011.10.008

POCOCK, G., C. D. RICHARDS a D. A. RICHARDS, 2018. *Human physiology*. Fifth edition. Oxford: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-873722-3.

PROSSER, C. L. a W. S. HUNTER, 1936. The extinction of startle responses and spinal reflexes in the white rat. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 117(4), 609–618. Dostupné z: doi:10.1152/ajplegacy.1936.117.4.609

PUEL, J.-L., R. PUJOL, F. TRIBILLAC, S. LADRECH a M. EYBALIN, 1994. Excitatory amino acid antagonists protect cochlear auditory neurons from excitotoxicity. *The Journal of Comparative Neurology*. 341(2), 241–256. Dostupné z: doi:10.1002/cne.903410209

RAUSCHECKER, J. P., E. S. MAY, A. MAUDOUX a M. PLONER, 2015. Frontostriatal Gating of Tinnitus and Chronic Pain. *Trends in Cognitive Sciences*. 19(10), 567–578. Dostupné z: doi:10.1016/j.tics.2015.08.002

ROBERTSON, D., 1983. Functional significance of dendritic swelling after loud sounds in the guinea pig cochlea. 9(3), 263–278. Dostupné z: doi:10.1016/0378-5955(83)90031-X

RYBALKO, N., T. CHUMAK, Z. BUREŠ, J. POPELÁŘ, D. ŠUTA a J. SYKA, 2015. Development of the acoustic startle response in rats and its change after early acoustic trauma. *Behavioural Brain Research*. 286, 212–221. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbr.2015.02.046

SAND, P. G., B. LANGGUTH, J. ITZHACKI, A. BAUER, S. GEIS, Z. E. CÁRDENAS-CONEJO, V. PIMENTEL a T. KLEINJUNG, 2012a. Resequencing of the auxiliary GABA(B) receptor subunit gene KCTD12 in chronic tinnitus. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 6, 41. Dostupné z: doi:10.3389/fnsys.2012.00041

SAND, P. G., B. LANGGUTH, M. SCHECKLMANN a T. KLEINJUNG, 2012b. GDNF and BDNF gene interplay in chronic tinnitus. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*. 3(3), 245–251.

SAND, P. G., A. LUETTICH, T. KLEINJUNG, G. HAJAK a B. LANGGUTH, 2010. An Examination of KCNE1 Mutations and Common Variants in Chronic Tinnitus. *Genes*. 1(1), 23–37. Dostupné z: doi:10.3390/genes1010023

SAVASTANO, M., 2008. Tinnitus with or without hearing loss: are its characteristics different? *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 265(11), 1295–1300. Dostupné z: doi:10.1007/s00405-008-0630-z

SEDERHOLM, F. a M. D. B. SWEDBERG, 2013. Establishment of auditory discrimination and detection of tinnitus induced by salicylic acid and intense tone exposure in the rat. *Brain Research*. 1510, 48–62. Dostupné z: doi:10.1016/j.brainres.2013.03.013

SHARGORODSKY, J., G. C. CURHAN a W. R. FARWELL, 2010. Prevalence and Characteristics of Tinnitus among US Adults. *The American Journal of Medicine*. 123(8), 711–718. Dostupné z: doi:10.1016/j.amjmed.2010.02.015

*SHORE, S. E., L. E. ROBERTS a Berthold LANGGUTH, 2016. Maladaptive plasticity in tinnitus--triggers, mechanisms and treatment. *Nature Reviews. Neurology*. 12(3), 150–160. Dostupné z: doi:10.1038/nrneurol.2016.12

SCHLEUNING, A. J., 1991. Management of the patient with tinnitus. *The Medical Clinics of North America*. 75(6), 1225–1237. Dostupné z: doi:10.1016/s0025-7125(16)30383-2

SCHWENK, J., M. METZ, G. ZOLLES, R. TURECEK, T. FRITZIUS, W. BILDL, E. TARUSAWA, A. KULIK, A. UNGER, K. IVANKOVA, R. SEDDIK, J. Y. TIAO, M. RAJALU, J. TROJANOVA, V. ROHDE, M. GASSMANN, U. SCHULTE, B. FAKLER a B. BETTLER, 2010. Native GABA(B) receptors are heteromultimers with a family of auxiliary subunits. *Nature*. 465(7295), 231–235. Dostupné z: doi:10.1038/nature08964

SINGER, W., A. ZUCCOTTI, M. JAUMANN, S.-C. LEE, R. PANFORD-WALSH, H. XIONG, U. ZIMMERMANN, C. FRANZ, H.-S. GEISLER, I. KÖPSCHALL, K. ROHBOCK, K. VARAKINA, S. VERPOORTEN, T. REINBOTHE, T. SCHIMMANG, L. RÜTTIGER a

M. KNIPPER, 2013. Noise-Induced Inner Hair Cell Ribbon Loss Disturbs Central Arc Mobilization: A Novel Molecular Paradigm for Understanding Tinnitus. *Molecular Neurobiology*. 47(1), 261–279. Dostupné z: doi:10.1007/s12035-012-8372-8

*STOLZBERG, D., R. J. SALVI a B. L. ALLMAN, 2012. Salicylate toxicity model of tinnitus. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 6. Dostupné z: doi:10.3389/fnsys.2012.00028

SUN, W., J. LU, D. STOLZBERG, L. GRAY, A. DENG, E. LOBARINAS a R. J. SALVI, 2009. Salicylate increases the gain of the central auditory system. *Neuroscience*. 159(1), 325–334. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuroscience.2008.12.024

TRUSSELL, L. O. a D. OERTEL, 2018. Microcircuits of the Dorsal Cochlear Nucleus. In: D. L. OLIVER, N. B. CANT, R. R. FAY a A. N. POPPER, ed. *The Mammalian Auditory Pathways*. Cham: Springer International Publishing, Springer Handbook of Auditory Research, s. 73–99. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-71798-2_4

TUNKEL, D. E., C. A. BAUER, G. H. SUN, R. M. ROSENFELD, S. S. CHANDRASEKHAR, E. R. CUNNINGHAM, S. M. ARCHER, B. W. BLAKLEY, J. M. CARTER, E. C. GRANIERI, J. A. HENRY, D. HOLLINGSWORTH, F. A. KHAN, S. MITCHELL, A. MONFARED, C. W. NEWMAN, F. S. OMOLE, C. D. PHILLIPS, S. K. ROBINSON, M. B. TAW, R. S. TYLER, R. WAGUESPACK a E. J. WHAMOND, 2014. Clinical practice guideline: tinnitus executive summary. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery: Official Journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 151(4), 533–541. Dostupné z: doi:10.1177/0194599814547475

TUNSTALL, M. J., J. E. GALE a J. F. ASHMORE, 1995. Action of salicylate on membrane capacitance of outer hair cells from the guinea-pig cochlea. *The Journal of Physiology*. 485(3), 739–752. Dostupné z: doi:10.1113/jphysiol.1995.sp020765

TURECEK, R., J. SCHWENK, T. FRITZIUS, K. IVANKOVA, G. ZOLLES, L. ADELINGER, V. JACQUIER, V. BESSEYRIAS, M. GASSMANN, U. SCHULTE, B. FAKLER a B. BETTLER, 2014. Auxiliary GABAB receptor subunits uncouple G protein $\beta\gamma$ subunits from effector channels to induce desensitization. *Neuron*. 82(5), 1032–1044. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuron.2014.04.015

TURNER, J. G., T. J. BROZOSKI, C. A. BAUER, J. L. PARRISH, K. MYERS, L. F. HUGHES a D. M. CASPARY, 2006. Gap detection deficits in rats with tinnitus: A potential novel screening tool. *Behavioral Neuroscience*. 120(1), 188–195. Dostupné z: doi:10.1037/0735-7044.120.1.188

TURNER, J., D. LARSEN, L. HUGHES, D. MOECHARS a S. SHORE, 2012. Time course of tinnitus development following noise exposure in mice. *Journal of Neuroscience Research*. 90(7), 1480–1488. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.22827

VANNESTE, S., M. PLAZIER, E. van DER LOO, P. V. DE HEYNING, M. CONGEDO a D. DE RIDDER, 2010. The neural correlates of tinnitus-related distress. *NeuroImage*. 52(2), 470–480. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuroimage.2010.04.029

WANG, H.-T., B. LUO, K.-Q. ZHOU, T.-L. XU a L. CHEN, 2006. Sodium salicylate reduces inhibitory postsynaptic currents in neurons of rat auditory cortex. *Hearing Research*. 215(1–2), 77–83. Dostupné z: doi:10.1016/j.heares.2006.03.004

WEINER, I. B., ed., 2013. *Handbook of psychology*. 2nd ed. Hoboken, N.J: Wiley. ISBN 978-0-470-61904-9.

WEISZ, N., S. MORATTI, M. MEINZER, K. DOHRMANN a T. ELBERT, 2005. Tinnitus Perception and Distress Is Related to Abnormal Spontaneous Brain Activity as Measured by Magnetoencephalography. *PLoS Medicine*. 2(6), e153. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pmed.0020153

*WILLOTT, J. F., 2001. Animal Models of Presbycusis and the Aging Auditory System. In: *Functional Neurobiology of Aging*. B.m.: Elsevier, s. 605–621. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012351830-9/50044-5