

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**  
**Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku**  
Přednosta: prof. MUDr. Viktor Chrobok, Ph.D., CSc.

# Využití autologního materiálu ve středoušní chirurgii

Dizertační práce

**MUDr. Lukáš Školoudík**  
Hradec Králové, 2012

## ***Poděkování***

### **Děkuji za pomoc při tvorbě práce:**

Doc. MUDr. J. Vokurkovi, CSc. (Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN Motol, Praha) za podporu během celého období experimentální práce a pomoc při zpracování získaných výsledků.

Prof. MUDr. V. Chrobokovi (Klinika otorinolaryngologie FN a LF UK v Hradci Králové) za pomoc a cenné rady při tvorbě závěrečné práce.

MUDr. J. Lacovi, PhD. (Fingerlandův ústav patologie FN a LF UK v Hradci Králové) za pomoc se zpracováním histologických materiálů a vytvořením obrazové dokumentace.

Prof. MUDr. I. Hybáškoví, DrSc. za pomoc při tvorbě metodiky experimentu na zvířeti a podklady ke zpracování fyziologie středouší.

MUDr. K. Zborayové, PhD. a MUDr. D. Kalfeřtovi (Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN a LF UK v Hradci Králové) za pomoc při experimentu na zvířeti.

Pracovníkům vivária Lékařské fakulty UK v Hradci Králové za spolupráci při experimentu na zvířeti.

RNDr. E. Čermákové (Oddělení výpočetní techniky, LF v Hradci Králové) za pomoc se statistickým zpracováním údajů.

# Obsah

Seznam použitých zkratk	6
-------------------------	---

## 1. Teoretická část

### 1.1 Anatomie, histologie a funkce převodního systému

1.1.1 Anatomie středoušní dutiny	8
----------------------------------	---

1.1.1.1 Dutina bubínková	8
--------------------------	---

1.1.1.2 Pneumatický systém spánkové kosti	10
---	----

1.1.1.3 Sluchová trubice	11
--------------------------	----

1.1.1.4 Středoušní kůstky	12
---------------------------	----

#### 1.1.2 Histologie středoušní dutiny

1.1.2.1 Metodika histologického zpracování spánkové kosti	17
---	----

1.1.2.2 Bubínek	17
-----------------	----

1.1.2.3 Středoušní sliznice	18
-----------------------------	----

1.1.2.4 Středoušní kůstky	18
---------------------------	----

1.1.2.5 Sluchová trubice	20
--------------------------	----

#### 1.1.3 Funkce převodního systému

1.1.3.1 Bubínek	21
-----------------	----

1.1.3.2 Vzdušnost středouší	22
-----------------------------	----

1.1.3.3 Velikost středoušní dutiny	23
------------------------------------	----

1.1.3.4 Středoušní kůstky	23
---------------------------	----

1.1.3.5 Labyrintová okénka	24
----------------------------	----

### 1.2 Autologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému

1.2.1 Svalová fascie	28
----------------------	----

1.2.2 Tuková tkáň	30
-------------------	----

1.2.3 Perichondrium	30
---------------------	----

1.2.4 Chrupavka	31
-----------------	----

1.2.5 Kost	36
------------	----

1.2.6 Cévní stěna	37
-------------------	----

1.2.7 Kůže	38
------------	----

1.2.8 Svalový lalok	39
---------------------	----

### 1.3 Homologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému

.....	40
-------	----

<b>1.4 Syntetické materiály využívané při rekonstrukci převodního systému</b>	41
<b>2. Klinická a experimentální studie</b>	
2.1 Úvod	45
2.2 Cíle studie	46
<b>2.3 Klinická studie</b>	
2.3.1 Úvod	47
2.3.2 Definice cholesteatomu	47
2.3.3 Soubor pacientů, materiál a metodika	49
2.3.4 Výsledky	50
<b>2.4 Experimentální studie</b>	
2.4.1 Úvod	56
2.4.2 Materiál a metodika	
2.4.2.1 Výběr experimentálního zvířete	56
2.4.2.2 Volba anestezie	56
2.4.2.3 Volba operačního přístupu	57
2.4.2.4 Operační výkon	58
2.4.2.5 Histologické zpracování	61
2.4.3 Výsledky	
2.4.3.1 Středouší morčete	62
2.4.3.2 Klinické nálezy po implantaci středoušních kůstek	65
2.4.3.3 Histologické nálezy po implantaci středoušních kůstek	71
<b>3. Diskuze</b>	
3.1 Klinická studie	
3.1.1 Vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám	76
3.1.2 Metody ošetření středoušních kůstek	78
3.2 Experimentální studie	
3.2.1 Výběr experimentálního zvířete	80
3.2.2 Anatomie spánkové kosti morčete	81
3.2.3 Operační výkon	83
3.2.4 Klinické a histologické nálezy po implantaci	83

<b>4. Závěr</b>	
4.1 Naplnění hlavních cílů studií .....	86
4.2 Naplnění dílčích cílů studií .....	87
<b>5. Literatura</b> .....	89

## Seznam zkratek:

a. – arteria, tepna

ABG – air bone gap, kostně vzdušný rozdíl, kochleární rezerva, rozdíl prahu slyšení kostního a vzdušného

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – oxid hlinitý

autokl. - autoklávování

CAT – Combined Approach Tympanoplasty, kombinace transkanálního a transkortikálního přístupu

CT – počítačová tomografie

EDTA – kyselina ethylendiamintetraoctová

FLEX HA – kompozitní materiál, hydroxyapatit a silikon

HAPEX – polymer hydroxyapatitu a polyetylenu

H0 – nulová hypotéza

H1 – alternativní hypotéza

ICWT – Intact Canal Wall technique, operační technika zachovávající stěnu zvukovodu

Ki-67 – nukleární antigen exprimovaný v aktivní části buněčného cyklu

lig. - ligamentum

m.- musculus, sval

mech. - mechanický

n.VII – VII. hlavový nerv, nervus facialis, lícní nerv

MIB 1 – protilátka proti nukleární antigenu Ki-67

OMS – otitis media secretorica

PORP – Partial Ossicular Replacement Prosthesis, částečná středoušní protéza, náhrada kladívka a kovádlinky

PTFE – polytetrafluoroetylen, teflon

TORP – Total Ossicular Replacement Prosthesis, totální středoušní protéza, náhrada kompletního řetězu kůstek

# **1. Teoretická část**

## 1.1 Anatomie, histologie a funkce středního ucha

### 1.1.1 Anatomie středoušní dutiny

Středoušní dutina je tvořena dutinou bubínkovou, pneumatickým systémem spánkové kosti a sluchovou trubicí.

#### 1.1.1.1 Dutina bubínková

Dutina bubínková je štěrbinou spánkové kosti, která je širší ve svém rozměru vertikálním a předozadním, užší v rozměru lateromediálním. V lateromediálním směru je dutina nejužší v centrální části, kde vzdálenost promontoria (bazálního závitu hlemýždě) od bubínku je pouze 2 mm, zatímco v horní části se rozšiřuje na 6 mm a v hypotympanu na 4 mm. Ve vertikálním a anteroposteriorním směru měří dutina bubínková kolem 15 mm.

Laterální stěnu bubínkové dutiny tvoří bubínek, os tympanicum a část šupiny spánkové kosti označované klinicky jako scutum. Mediální stěnu tvoří struktury vnitřního ucha a kanál lícního nervu. Spodinu dutiny bubínkové odděluje od jugulárního bulbu pouze tenká lamela kosti, její nepravidelnosti jsou podmíněny variabilní pneumatizací. Strop bubínkové dutiny (tegmen tympani) odděluje středoušní dutinu od nitrolebni. Až v 6 % bývají nalezeny dehiscence v tegmen tympani (1), které mohou být cestou přestupu infekce ze středouší do nitrolebni dutiny.

Bubínkovou dutinu lze rozdělit v rovině vertikální na epitympanum (nad úrovní horní stěny zvukovodu), mezotympanum (v úrovni bubínku) a hypotympanum (pod úrovní horní stěny zvukovodu). Dále rozlišujeme protympanum (přední tympanum) a retrotympanum (zadní tympanum).

*Epitympanum (atticus)* je dutina nadbubínková. Jedná se o část bubínkové dutiny nad úrovní horního okraje bubínku. V epitympanu se nacházejí středoušní kůstky (hlavička kladívka, tělo a krátký výběžek kovadlinky), jejich ligamenta (lig. incudis posterius, lig. incudomallei laterale, lig. mallei anterius) a slizniční řasy (plica incudomallearis lateralis, plica ligamenti incudis posterius, plica m. tensor tympani). Hlavička kladívka rozděluje epitympanum na menší přední a prostornější zadní část. Jako samostatný prostor nadbubínkové dutiny bývá označován Prussakov prostor, který je klinicky významný v patogenezi atikálního



cholesteatomu. Tento prostor je ohraničen mediálně hlavičkou a krčkem kladívka, laterálně scutem, strop tvoří ligamentum mallei posterius a plica incudomallearis, dno tvoří řasa lig. mallei lateralis (2, 3).

*Mezotympanum* je střední částí bubínkové dutiny. Od epitympana je odděleno mezoepitympanální (interatikotympanickou) bariérou. Bariéru tvoří hlavička kladívka, tělo a krátký výběžek kovádky, jejich ligamenta a slizniční řasy plica m. tensoris tympani a plica incudomallearis (3, 4). Otvor v této bariéře (isthmus tympani) zajišťuje komunikaci mezi mezotympanem a mediálním atikem a tím umožňuje ventilaci epitympana. Druhá možná cesta ventilace mezi mezotympanem a epitympanem je přes fossa incudis posteriorně od lig. incudis posterius (isthmus tympani posterius).

*Hypotympanum* je dolní částí bubínkové dutiny pod úrovní anulu bubínku. Je tvořena tympanickou kostí a mediálně kostí skalní. Anteromediálně má hypotympanum úzký vztah ke karotickému kanálu. Poloha a tvar spodiny hypotympana jsou podmíněny polohou jugulárního bulbu a individuální pneumatizací spánkové kosti.

*Protympanum* tvoří přední část mezotympana. Nachází se zde tympanické ústí sluchové trubice. Mediální stěnu tvoří kostěný kanál a. carotis interna.

*Retrotympanum* je zadní částí bubínkové dutiny. Fossa incudis ohraničuje retrotympanum shora a dorzálně, mediálně se nachází otická kapsula a inferiorně pokračuje na spodinu bubínkové dutiny. Nachází se zde kanál lícního nervu, šlacha třmínkového svalu a klinicky významné prohlubně recessus facialis a sinus tympani. Sinus tympani je jednou ze tří prohlubní mediální stěny mezotympana, dalšími jsou jamky oválného a okrouhlého okénka labyrintu. Sinus tympani se nachází mediálně od valu n. VII, od oválného okénka jej odděluje kostěná hrana označovaná jako ponticulus, od okrouhlého okénka subiculum. Klinicky významný je tento prostor v chirurgii cholesteatomu. Cholesteatom v sinus tympani není dostupný přímému pohledu z přední ani ze zadní tympanotomie. K vizualizaci se využívá zrcadlo nebo andoskop, k odstranění pak lomený nástroj dosahující 3-4 mm za úhel lomu. Laterálně od sinus tympani se nachází recessus facialis. Jedná se o prohlubeň v zadní stěně retrotympana, mediálně se nachází n. VII, laterálně anulus tympanicus a chorda tympani. Recessus facialis je přístupovou cestou do mezotympana při operacích zavřenou technikou (Canal wall up, ICWT, CAT).

### 1.1.1.2 Pneumatický systém spánkové kosti

Rozsah pneumatizace spánkové kosti je individuálně variabilní. Je závislý na vrozené dispozici, prodělaných středoušních zánětech a funkci sluchové trubice (5, 6).

Mimo dutinu bubínkou rozlišujeme další čtyři pneumatizované části spánkové kosti (a-d).

#### *a) Mastoidní oblast*

Po narození je mastoidní pneumatizace tvořena jen jednou dutinou označovanou jako antrum mastoideum. Dutina je propojena s epitympanem přes aditus ad antrum. Po prvním roce života se postupně vytvářejí další sklípky navzájem oddělené kostěnými subsepty. Vyvíjí se centrální a periferní mastoidní trať sklípků. Centrální trať je dle své polohy nazývána intersinofaciální a nachází se mezi mastoidním úsekem n. VII a esovitým splavem. Periferní sklípky dělíme dle jejich lokalizace na tegmentální, sinodurální, perisinuozní, faciální a hrotové nacházející se v hrotu mastoidního výběžku. Individuální variabilitu pneumatizace v mastoidní oblasti dokládá Zuckerkandlův soubor 250 lidských temporálních kostí, studovaných anatomicky, kde byla pouze ve 37 % vytvořena kompletní mastoidní pneumatizace, v 43 % částečná skleroza spánkové kosti a ve 20 % byla na místech diploické kosti prokázána kompletně sklerotická kost (7). Rozdílný stupeň mastoidní pneumatizace ukazuje Obr. 1.

#### *b) Perilabyrintální oblast*

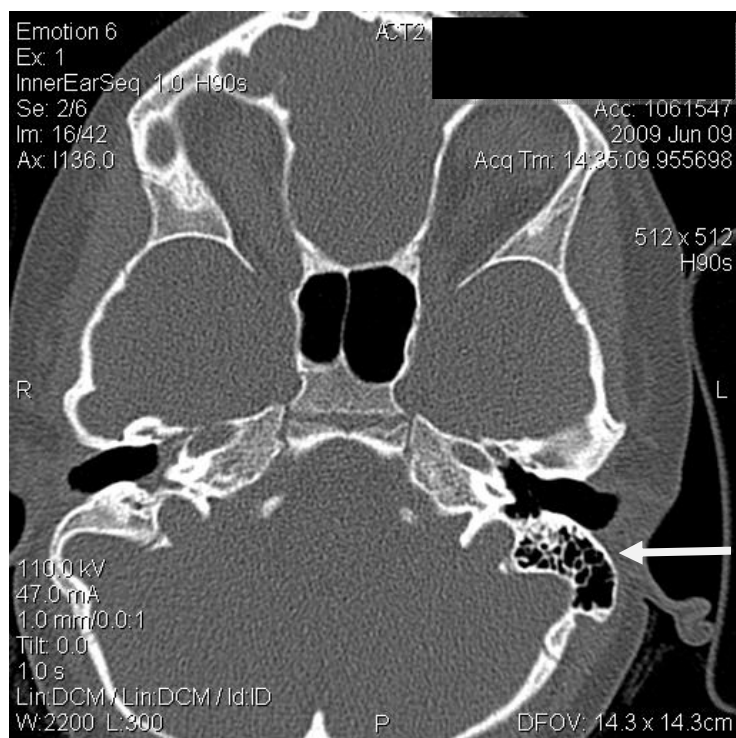
Perilabyrintální oblast pneumatizace spánkové kosti je tvořena supralabyrintálními a infralabyrintálními sklípky nacházejícími se nad a pod labyrintem, vzácně také sklípky translabyrintální jdoucí arkádou horního polokruhovitěho kanálku.

#### *c) Oblast hrotu pyramidy*

Pneumatizace hrotu pyramidy je tvořena sklípky peritubárními a apikálními. Peritubární sklípky se nacházejí kolem kostěné části sluchové trubice a leží anterolaterálně od karotického kanálu. Apikální sklípky leží v hrotu pyramidy anteromediálně od karotického kanálu. Zatímco peritubární pneumatizace je vyvinuta velmi často, apikální oblast obvykle pneumatizovaná nebývá.

#### d) Další oblasti pneumatizace

Mimo výše uvedených oblastí může pneumatizace pokračovat do oblasti zygomatické kosti, squamózní oblasti, okcipitální kosti či styloidního výběžku.



**Obr. 1** CT spánkové kosti se stranově rozdílnou pneumatizací v důsledku chronického středoušního zánětu vpravo. Šipka směřuje k bohatě vyvinuté mastoidní pneumatizaci vlevo, zatímco vpravo je sklerotická diploická kost.

#### 1.1.1.3 Sluchová trubice

Sluchová trubice umožňuje propojení bubínkové dutiny s nosohltanem. Směřuje z protympana ventromediálně k boční stěně nosohltanu. Její délka u dospělého člověka je 31 až 39 mm (8, 9). Sestává z části kostěné a části chrupavčité.

Kostěná část tvoří posterolaterální 1/3 trubice. Nachází se laterálně od kanálu a. carotis interna. Tenká kostěná stěna mezi těmito strukturami je dehiscenční průběhem karotikotympanických arterií. Tympanické ústí sluchové trubice je na přední stěně středoušní

dutiny ve vzdálenosti 4-6 mm od spodiny bubínkové dutiny. Zde je lumen trojúhelníkovité, průměru 3-5 mm. Sluchová trubice se ve svém průběhu zúžuje od tympanického ústí směrem k části chrupavčité. Nejužší místo je označováno jako istmus a nachází se na přechodu kostěné a chrupavčité části, kde je vertikální rozměr zúžen na 2-3 mm a horizontální průměr je od 1 do 1,5 mm.

Chrupavčitá část sluchové trubice je tvořena větší mediální a menší laterální chrupavčitou lamelou. Obě chrupavčité lamely spojuje salpingofaryngeální fascie. Histologický obraz chrupavky sluchové trubice se mění s věkem. Zatímco u novorozenců nacházíme čistě hyalinní chrupavku, u dospělých přibývá elastická komponenta, která je koncentrována především v místě spojení mediální a laterální lamely. Faryngeální ústí sluchové trubice se nachází u dospělého člověka 15mm pod úrovní tympanického ústí. Jeho rozměr ve vertikální rovině je 4-8 mm. Zadní část faryngeálního ústí tvoří torus tubarius.

Sliznice sluchové trubice je kryta cylindrickým řasinkovým epitelem s pohárkovými buňkami v lamina propria, které se nacházejí především v blízkosti hltanového ústí. Pod bazální membránou nacházíme vrstvu lymfoidní tkáně, jejíž tloušťka se mění s věkem. Nejhlubší vrstva sliznice je tvořena tuboalveolárními žlázkami. V okolí hltanového ústí sluchové trubice se nachází nakupení lymfatické tkáně označované jako Gerlachova tubární tonzila.

#### **1.1.1.4 Středoušní kůstky**

Řetězec středoušních kůstek je tvořený kladívkem, kovadlinkou a třmínkem. Středoušní kůstky zajišťují přenos zvukové energie z bubínku na tekutiny vnitřního ucha.

##### **Kladívko**

Kladívko (Obr. 2) tvoří laterální část řetězu kůstek. Kladívko je tvořeno hlavičkou, krčkem, manubriem, krátkým (laterálním) výběžkem a dlouhým (předním) výběžkem.

*Dlouhý výběžek* (processus longus) je označován také jako processus anterior, processus gracilis či processus Foliant. Je to tenký výběžek kosti směřující od krčku kladívka do petrotympanické fisury (fissura Glaserian). Podél dlouhého výběžku probíhá chorda tympani, která petrotympanickou fisurou opouští bubínkovou dutinu. Doposud nebyl vysvětlen význam dlouhého výběžku kladívka. Nemá pravděpodobně vliv na přenos zvukové energie. Jsou známy případy fraktury či částečné resorbce u normálně slyšícího ucha (10). Dlouhý výběžek

je fixován ke stěně petrotympanické fisury předním maleárním ligamentem (ligamentum mallei anterioris).

*Krátký výběžek* kladívka (processus brevis) je označován také jako processus lateralis. Svou chrupavčitou částí je fixován k pars tensa bubínku.

*Manubrium* kladívka je svou distální částí zanořeno do pars propria bubínku, čímž je vytvořeno velmi pevné spojení (umbo). Střední část manubria mezi umbo a krátkým výběžkem je mediálně prohnutá. V této části je manubrium spojeno s bubínkem jen slizniční řasou plica mallearis. Manubrium probíhá obvykle středem bubínku a rozděluje ho tak na přední a zadní polovinu. V některých případech však může být manubrium anteponováno, což může způsobit obtíže při chirurgických výkonech, zvláště pokud je přední pozice manubria spojena s předklenutím přední stěny zvukovodu.

*Hlavička* kladívka se nachází v epitympanu. Přední strana hlavičky kladívka rozděluje epitympanum na prostornou zadní a malou přední část. Hlavička kladívka se nachází velmi blízko přední a horní stěny epitympana, kde je oddělena od okolní kosti jen velmi tenkou vrstvou fibrózní tkáně.

Kladívko je ukotveno ve své pozici ligamenty, kloubním spojením s kovádkou, šlachou m. tensor tympani a bubínkem.

Kladívko má pět ligament. *Lig. mallei anterioris* a *lig. mallei posterioris* vytvářejí osu rotace. *Lig. mallei anterioris* probíhá podél dlouhého výběžku kladívka a fixuje hlavičku kladívka ke stěně petrotympanické fisury. *Lig. mallei posterioris* směřuje od krčku kladívka ke scutu. Další tři ligamenta leží mimo osu rotace a mají závěsnou funkci. Chrání kladívko před dislokací při náhlých změnách tlaku v bubínkové dutině a také chrání systém středoušních kůstek při nízkofrekvenčním stimulu vysoké intenzity. *Lig. suspensorium anterioris* spojuje hlavičku kladívka s přední stěnou epitympana. *Lig. suspensorium lateralis* spojuje krček kladívka s kostěnou hranicí sulcus tympanicus (Rivini). *Lig. suspensorium superius* přemostňuje prostor mezi hlavičkou kladívka a tegmen tympani.

Šlacha m. tensor tympani směřuje laterálně od processus cochleariformis ke krčku a manubriu kladívka a některá vlákna dosahují před manubriem až k bubínku. Funkcí tohoto svalu je tah manubria mediálně, čímž dojde ke snížení poddajnosti (compliance) bubínku. U celistvého bubínku je tah svalu vyrovnáván elasticitou pars propria bubínku. U větších perforací bubínku však tahem svalu dochází k posunu periferní části manubria kladívka mediálně označovanému jako medializace manubria. V některých případech se může medializované manubrium dotýkat promontoria (bazálního závitů hlemýždě), což negativně

ovlivňuje sluch po myringoplastice. Přerušením šlachy m.tensor tympani je možno v těchto případech dosáhnout zpět fyziologického postavení manubria kladívka.

### **Kovadlinka**

Kovadlinka (Obr. 2) je největší středoušní kůstka. Je tvořena tělem, krátkým výběžkem, dlouhým výběžkem a processus lenticularis.

*Tělo* kovadlinky se nachází v epitympanu. Je kloubně spojeno s hlavičkou kladívka sedlovým kloubem. Kloubní pouzdro je po stranách zesíleno mediálním a laterálním inkudomaleárním ligamentem.

*Krátký výběžek* (processus brevis) vybíhá z těla kovadlinky směrem posteriorním do fossa incudis.

*Dlouhý výběžek* (processus longus) směřuje paralelně s manubriem do mezotympana. V příčném průřezu je dlouhý výběžek cirkulární, zatímco manubrium kladívka je v průřezu ovoidní. Dlouhý výběžek je funkčně důležitou částí převodního systému, přenáší energii z těla kovadlinky na třmínek. Tato část kovadlinky je však velmi citlivá k osteitické resorpci při chronickém středoušním zánětu.

*Processus lenticularis* je označení pro distální část dlouhého výběžku. Svou konvexní plochou je kloubně spojen s konkávní plochou hlavičky třmínku. Embryologicky processus lenticularis nepatří ke crus longus a tělu kovadlinky. Jeho vývoj je spojen se suprastrukturou třmínku, včetně krevního zásobení. Luxace inkudostapediálního skloubení proto může vést k dystrofii výběžku.

Kovadlinka je ukotvena ve svém postavení třemi ligamenty. *Lig. incudis posterius* směřuje od krátkého výběžku k mediální a laterální stěně fossa incudis. Mezi touto mediální a laterální porcí ligamenta se nachází komunikace mezi mezotympanem a epitympanem nazývaná istmus tympani posterior. Širší komunikací mezi mezotympanem a epitympanem je istmus tympani anterior nacházející se mediálně od krátkého výběžku a těla kovadlinky. *Lig. incudomallearis medialis* a *lig. incudomallearis lateralis* zesilují po stranách kloubní pouzdro inkudomaleárního kloubu.

### **Třmínek**

Třmínek je nejmenší středoušní kůstka. Je tvořen hlavičkou, předním a zadním raménkem a ploténkou. Hlavičku a raménka označujeme jako suprastruktury třmínku.

*Hlavička* třmínku je na svém vrcholu konkávní (fovea) a tvoří zde kloubní spojení s processus lenticularis kovádky. Na nekonstantní processus muscularis se upíná šlacha m. stapedius.

*Raménka* třmínku spojují hlavičku s ploténkou. Zadní raménko je silnější a více prohnuté než přední, nicméně vnitřní exkavace ramének je individuálně variabilní. Na horní část zadního raménka se upíná šlacha m. stapedius. Místo úponu je variabilní od hlavičky třmínku po horní třetinu zadního raménka (11).

*Ploténka* třmínku je zasazena v oválném okénku. Tvar, tloušťka a prohnutí ploténky není konstantní (10, 11). Na laterální ploše se nachází nekonstantní crista stapedis. Vestibulární plocha ploténky je plochá, mírně konvexní, vzácně může být i konkávní.

Během fetálního vývoje probíhá skrz blastem třmínku arteria stapedia. Perzistence a. stapedia po narození je velmi vzácná, nicméně při stapedektomii je nutno s možností této anomálie počítat.



**Obr. 2 Kladívko a kovádlina odstraněné ze středouší.** Kladívko je zbavené dlouhého výběžku.

## **Kloubní spojení středoušních kůstek**

Spojení kladívka s kovádkou a kovádky s třmínkem je zajištěno pravými klouby, jejichž artikulační plochy jsou tvořeny chrupavkou. Klouby mají pouzdro tvořené vazivovými vlákny vycházejícími z periostu kůstky. Klouby středoušních kůstek jsou sice dostatečně pevné vůči nadměrné zvukové energii, avšak přímým poraněním při operačním výkonu či fraktuře spánkové kosti dochází snadno k rozkloubení kůstek.

*Inkudomaleární skloubení* (articulatio incudomallearis) je kloub sedlovitý. Kloubní pouzdro je tvořeno 3 vrstvami: synoviální membránou, slizniční vrstvou přecházející na středoušní sliznici a vazivovými vlákny, která jsou po stranách zesílena mediálním a laterálním inkudomaleárním ligamentem. Kloubní chrupavka je bilaminární. Hlubší vrstvu představuje formace enchondrální kosti, která je přímou kostní transformací chrupavčité matrix. Povrchová vrstva je tvořena primitivní chrupavkou vzniklou ze synoviální membrány. Pohyby v sedlovitém kloubu jsou jen nepatrné. Kloub se může sekundárně měnit v syndesmózu či synchrondrózu.

*Inkudostapediální skloubení* (articulatio incudostapedialis) je kulový kloub. Kloubní plochy tvoří konkavita (fovea) hlavičky třmínku a konvexita processus lenticularis kovádky. Kloub obvykle nemá interartikulární disk (10, 12). Fibrózní vlákna kloubního pouzdra jsou delší než u inkudomaleárního kloubu. Vazivová vlákna zadní část kloubního pouzdra mohou přecházet do šlachy m. stapedius, proto kontrakce m. stapedius způsobuje tah nejen suprastruktur třmínku, ale také dlouhého výběžku kovádky.

Spojení mezi ploténkou třmínku a oválným okénkem skalní kosti je označováno jako *stapediovestibulární skloubení* (articulatio stapediovestibularis), avšak nejedná se o pravý kloub. Jedná se o syndesmózu (syndesmosis tympanostapedialis). Ligamentum anulare baseos stapedis udržuje ploténku v oválném okénku, periferní vazivová vlákna se zanořují do periostu a endostu. Wolff a Bellucci (12) popisují vazivová vlákna jdoucí z endosteální vrstvy ploténky k periostu labyrintu a posteroinferiorně pokračují do ligamentum spirale cochlae. Ve stapediovestibulárním spojení byly popsány prostory, které ale pravděpodobně nejsou intraartikulárními prostory v pravém slova smyslu. Bolz a Lim (13) prokázali přítomnost takových prostor v 70 % dospělých temporálních kostí, avšak tyto prostory nebyly nalezeny u dětí. Tyto prostory tedy reprezentují pravděpodobně burzy v adventicii vznikající v důsledku tření, tlaku a traumatizace syndesmózy.



## 1.1.2 Histologie středoušní dutiny

### 1.1.2.1 Metodika histologického zpracování spánkové kosti

První zmínky o histologických vyšetřeních separovaných částí spánkových kostí jsou z roku 1893, kdy Politzer popsal patologické změny u středoušních zánětů, labyrintitidy a otosklerózy. V prvních dvou dekádách 20. století byly vytvořeny sbírky spánkových kostí na několika evropských pracovištích (Würzburg, Hamburg a Zurich). Rozvoj otologické mikrochirurgie v 50. letech minulého století znamenal také velký rozvoj histopatologických vyšetření spánkové kosti, nové metodiky ve zpracování a vyšetřování patologických stavů.

Středoušní kůstky či části spánkové kosti odebrané k histologickému vyšetření pro světelnou mikroskopii jsou standardně fixovány v 10% formolu. K dekalifikaci jsou nejčastěji používány kyseliny nebo chláty. Dekalifikace kyselinou je rychlejší, ale s častějšími artefakty. Kompletní dekalifikaci 5% kyselinou trichloroctovou dosáhneme za 30-40 dní, zatímco chláty (EDTA) dosáhnou kompletní dekalifikace až za 6-9 měsíců. Výskyt artefaktů u kyselinové metody je kolem 20 %, zatímco u chelátové techniky artefakty pozorovány nebývají.

Velký přínos v rychlosti zpracování při nízkém výskytu artefaktů přinesla elektrolýza kosti. Tato metoda umožňuje dekalifikaci kosti během několika dnů v závislosti na velikosti kosti a její mineralizaci. Elektrolýza umožňuje histologické zpracování i velmi drobných fragmentů kosti.

### 1.1.2.2. Bubínek

Pars tensa bubíku je histologicky tvořena 3 vrstvami. Zevní epidermální vrstva přechází na bubínek ze stěny zvukovodu, je tvořena vrstevnatým dlaždicobuněčným epitelem. Střední vrstva je tvořena kolagenním vazivem. V laterální části této vrstvy jsou kolagenní vlákna uspořádána radiálně, v mediální části cirkulárně. Vnitřní vrstva bubíku je tvořena jednovrstevným kubickým epitelem, který přechází na stěnu středoušní dutiny.

Pars flaccida má odlišnou stavbu střední vazivové vrstvy. Vazivová vrstva je výrazně redukována, je tvořena nepravidelně uspořádanými kolagenními a elastickými vlákny. Histologická stavba vysvětluje menší pevnost pars flaccida bubíku a s tím související častější retrakční kapsy v této oblasti.

### 1.1.2.3 Středoušní sliznice

Vlastní středoušní dutina je vystlána jednovrstevným plochým nebo kubickým epitelem. U novorozenců bývá patrný na některých místech středoušní dutiny víceřadý kubický epitel. Dlaždicobuněčný epitel se fyziologicky nachází ve středoušní dutině pouze v období nitroděložního vývoje plodu. Drobná ložiska vrstevnatého dlaždicobuněčného epitelu označovaná jako epidermoidní formace byla pozorována v období od 10. do 33. týdne gestačního vývoje plodu, pak zanikají (14-17). Perzistence epidermoidních formací je považována za možný základ vrozeného cholesteatomu (14-16).

Následkem zánětu dochází k přeměně středoušní sliznice. Vyvíjí se ostrůvky cylindrického epitelu s řasinkami. Nedochozí k tvorbě pravých sekrečních žláz, ale k pseudoglandulární a cystické přeměně. Klkovitě zprohýbaná sliznice mění v záhybech cylindrické buňky v pohárkové a tato jejich akumulace může imponovat jako primitivní žláзка. Nejedná se o metaplazii ve smyslu degradace epitelu, ale naopak jde o projevení kvalit epitelu v okamžiku nutné obrany. Tato pseudoglandulární přeměna je typickým nálezem u dětí s chronickou sekretorickou otitidou, ale také ji nalézáme po akutním středoušním zánětu, který je zakončen hlenovitou, často čirou sekrecí. Dlaždicobuněčná metaplazie středoušního epitelu nebyla doposud prokázána.

Stěny sklípků mastoidního výběžku jsou tvořeny tenkou lamelární kostí krytou periostem a sliznicí stejného typu jako v dutině bubínkové. Sliznice však není zcela shodná v celém rozsahu pneumatizace. Čím více je sliznice vzdálena od ústí sluchové trubice, tím více se projevuje sterilita prostředí a omezená pohotovost k zánětlivé reakci.

### 1.1.2.4 Středoušní kůstky

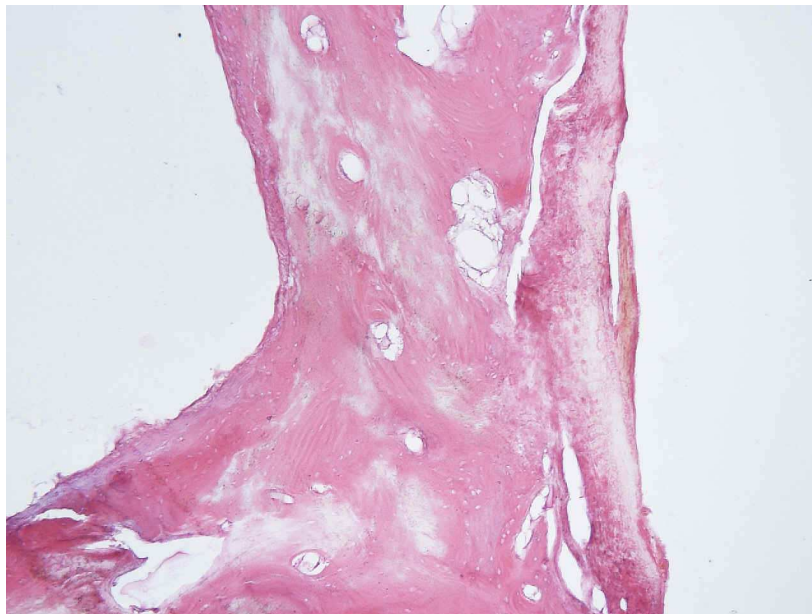
Středoušní kůstky nemají jednotnou histologickou stavbu. Zatímco kladívko a kovadlinka se svou stavbou podobají dlouhým kostem, třmínek se od těchto kůstek liší.

Ploténka třmínku je tvořena na své vestibulární ploše tenkou horizontální lamelou chrupavky, která přechází na povrch stapedovestibulární synchondrózy (anulus fibrosus). Tato chrupavčitá vrstva je krytá jednovrstevným plochým epitelem přecházejícím na stěnu vestibula (perilymfatický prostor). Zevně na chrupavčitou vrstvu naléhá tenká vrstva kostěná, která je zevně pokrytá středoušní sliznicí. Raménka třmínku jsou kompletně tvořena periostální kostí. Hlavička třmínku je tvořena enchondrální kostí s vrstvou chrupavky v inkudostapediálním skloubení. Mezi raménky třmínku může ve výjimečných případech

probíhat perzistující stapediální arterie jako rudiment z fetálního vývoje, která je větví z arteria carotis interna.

Kladívko a kovadlinka jsou tvořeny na povrchu periostální kostí a uvnitř kostí enchondrální. Obě vrstvy jsou tvořeny dobře formovanými Haverskými systémy. Rukojeť kladívka v místě fixace k bubínku (umbo) nemá zevní periostální vrstvu, ta je nahrazena chrupavčitou vrstvou zanořenou do střední vazivové vrstvy bubínku. Krátký výběžek kovadlinky má na svém vrcholu neosifikující chrupavku. Chrupavka také kryje kloubní povrch kladívka a kovadlinky. Histologický řez kovadlinkou s dřevnými a cévními prostory ukazuje Obr. 3.

U novorozenců má kladívko i kovadlinka rozsáhlé dřevné prostory, které mohou perzistovat do dospělosti. Také dlouhý výběžek kovadlinky často mívá větší dřevné prostory, které mohou vysvětlovat menší mechanickou pevnost výběžku při chirurgických výkonech a častou osteitickou resorpci při chronickém středoušním zánětu.



**Obr. 3 Histologický řez kovadlinkou.**

Kůstka je dekalifikovaná, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 200x.

### 1.1.2.5 Sluchová trubice

Sluchová trubice je kryta cylindrickým řasinkovým epitelem respiračního typu. Obsahuje pohárkové buňky, v podslizničním vazivu chrupavčité části jsou seromucinózní žlázy. Nakupení lymfatické tkáně ve sliznici sluchové trubice při jejím nosohltanovém ústí je označováno jako Gerlachova tonzila. Nejedná se pouze o lymfocytární vrstvu, ale o skutečně organizované folikly lymfocytů.

Anteromediální 2/3 sluchové trubice jsou tvořeny dvěma chrupavčitými lamelami spojenými fascií. U novorozenců nacházíme čistě hyalinní chrupavku, v dospělosti přibývá elastická komponenta, která je koncentrována především v místě spojení mediální a laterální lamely.

Posterolaterální 1/3 sluchová trubice je kostěná. Probíhá v těsné blízkosti karotického kanálu, kde je odděluje jen 1 mm tenká lamela kosti, která bývá často dehiscentní. Tenká kost odděluje sluchovou trubici od semicanalis musculi tensoris tympani a slípků pneumatického systému spánkové kosti.

### 1.1.3 Funkce převodního systému

Převodní systém středního ucha je tvořen bubínkem, kladívkem, kovadlinkou a třmínkem. Funkcí převodního systému je převod mechanického vlnění ze zvukovodu do vnitřního ucha. Jedná se o akustický transformátor, který mění mechanické vlnění ze vzdušného prostředí zvukovodu ve vlnění v tekutém prostředí labyrintu. Při dopadu zvukového impulzu přímo na okénka labyrintu dochází díky interferenci a rozdílu impedance vzdušného a kapalného prostředí k odrazu 99,9 % energie a na vlnění tekutin vnitřního ucha se převádí pouze 0,1 % dopadající energie. Převodní systém středního ucha tento převod značně zefektivní. Na zesílení mechanického vlnění má vliv především poměr ploch bubínku a třmínku (1:17), selektivní přenos energie pouze na oválné okénko labyrintu, méně pak pákový mechanismus řetězu kůstek. Tak se mění zvukové vlnění ze vzdušného vedení o velké amplitudě a malém tlaku na vlnění v tekutém prostředí o malé amplitudě a velkém tlaku.

Teoretické modely středouší dokazují, že lidské ucho není optimálním akustickým transformátorem. V optimálním případě by mohl být přenos zvuku z bubínku na oválné okénko labyrintu zlepšen o 36 dB. Tyto energetické ztráty jsou frekvenčně specifické. Nejefektivnější je převodní systém na frekvenci 1 kHz, kdy jsou ztráty oproti teoretickému modelu 3 dB, v nízkých frekvencích narůstají na 10 dB, vyšší ztráty jsou ve frekvencích vysokých (18).

Přenos mechanického vlnění převodním systémem středouší ovlivňují tyto faktory:

- bubínek,
- vzdušnost středouší,
- velikost středoušní dutiny,
- středoušní kůstky,
- labyrintová okénka.

#### 1.1.3.1 Bubínek

Přenos mechanického vlnění je ovlivněn celistvostí bubínku, strukturou bubínku, úponem bubínku na manubrium kladívka, předním tympanomeatálním úhlem. Pars flaccida je akusticky málo významná a navíc pracuje v obrácené fázi. Perforace v této oblasti ovlivňují sluch jen minimálně. Pars tensa bubínku není postavena kolmo k dlouhé ose zvukovodu, proto mechanické vlny prostupující zvukovodem dopadají nejdříve na zadní čtverce, postupují

směrem k umbo a manubriu a od manubria směrem k přednímu obvodu bubínku, kde se při úponu v pretympanickém recesu vytrácí. Bubínek nevíbruje po celé ploše stejně. Pohyby přední části bubínku jsou obvykle menší než v zadní části a jejich fáze je jiná. Asymetrické rozložení vibrací po obou stranách manubria kladívka vytváří rotační komponentu jeho pohybu.

Strukturální změny bubínku ve smyslu atrofie či naopak ztluštění a kalcifikací vedou ke změnám hmoty a tuhosti bubínku, dochází ke změnám vibrací jednotlivých částí bubínku a ztrátám v přenosu vlnění ze zvukovodu na manubrium kladívka. Při perforaci bubínku se uplatňuje mimo redukce plochy bubínku také negativní efekt odrazu vlnění ve středouší a následně interference s vlněním dopadajícím přímo na bubínek.

Pro správný přenos mechanického vlnění na bubínek je důležitý volný ostrý přední tympanomeatální úhel. Jizvnaté změny s otupením úhlu (bulging), který svírá přední stěna zvukovodu s rovinou bubínku negativně ovlivňují přenos mechanického vlnění na středoušní kůstky. Tyto změny vznikají následkem chronického zánětu zvukovodu a bubínku, ale mohou být také následkem operačního výkonu (myringoplastiky).

### **1.1.3.2 Vzdušnost středouší**

Vzdušné středouší patří mezi základní předpoklady správného převodu mechanického vlnění. Středoušní dutina je ventilovaná přes sluchovou trubici, která vyrovnává tlak ve středouší na úroveň atmosférického tlaku. V případě poruchy funkce sluchové trubice dochází k podtlaku, méně často k přetlaku ve středoušní dutině. Tento tlakový gradient mezi středouším a zvukovodem zvyšuje impedanci převodního systému. Sluchové ztráty jsou větší při podtlaku v porovnání s přetlakem (19). Tento nálezný pozorovaný na zvířecích modelech dosud nebyl uspokojivě vysvětlen.

Při déletrvající dysfunkci sluchové trubice dochází k exsudaci tekutiny do středouší. Výskyt sekretu ve středouší (chronická sekretorická otitida, OMS) je typický pro dětský věk v důsledku nevyzrálosti chrupavčité části sluchové trubice, prodělaných akutních středoušních zánětů a výskytu adenoidních vegetací (20-24). Téměř 90 % dětí má v předškolním věku intermitentně sekret ve středouší (21), nejčastěji mezi 6. měsícem a 4. rokem věku (22). Prevalence OMS u pětiletých dětí je 15-40 % (21,23,24). Velikost převodní nedoslýchavosti je závislá na hustotě kapaliny, narůstá s viskozitou sekretu. Sekrece ve středouší patří mezi nejčastější příčiny převodní nedoslýchavosti v dětském věku.

### 1.1.3.3 Velikost středoušní dutiny

Na velikosti středoušní dutiny závisí frekvenční pásmo rezonance. Změna dimenzí zvukovodu a středoušní dutiny vede ke změnám jejich akustických vlastností ucha. V experimentu bylo prokázáno, že okluzí aditu a tím také vyřazení rezonančních dutin za ním, dochází k zesílení přenosu zvuku až o 5,6 dB (30).

### 1.1.3.4 Středoušní kůstky

Asymetrické vibrace v předních a zadních kvadrantech bubínku vyvolávají trojrozměrný pohyb kladívka. Kladívko vytváří klouzavý pohyb v inkudomaleárním skloubení a tím dochází k převažujícímu pohybu kovádky ve směru dolů a nahoru. V podobném směru klouže i inkudostapediální kloub, který je uložen v sagitální rovině díky processus lenticularis. Třmínek funguje při běžných podnětech jako píst. Při vysokých intenzitách zvuku se však pohyb třmínku mění v kývavý podél příčné osy ploténky. S tím souvisí frekvenčně variabilní velikost páky řetězu sluchových kůstek.

Ztráty v přenosu mechanického vlnění vznikají následkem poruchy fixace bubínku k manubriu kladívka, fixací hlavičky kladívka v atiku, poruchou inkudostapediálního spojení a fixací třmínku.

Bubínek je pevně fixován k manubriu kladívka v periferní části označované jako umbo. Umbo kladívka je zanořeno do pars propria bubínku, čímž je vytvořeno velmi pevné spojení. Porušení spojení či fraktura periferní řásti manubria vede k převodní nedoslýchavosti. Střední část manubria mezi umbo a krátkým výběžkem je mediálně prohnutá. V této části je manubrium spojeno s bubínkem jen slizniční řasou plica mallearis. Spojení této střední části manubria s bubínkem není funkčně významné. Při chirurgickém výkonu lze snadno střední část manubria oddělit od bubínku a protézka zavěšená na tuto část kladívka nemusí být vůbec v kontaktu s pars propria bubínku (10).

V místě přední a horní stěny epitympana je hlavička kladívka často oddělena jen velmi tenkou vrstvou fibrózní tkáně. V těchto místech bývá nejčastěji popisována ankylóza kladívka (10, 25-29). Gulya a Schuknecht (10) prokázali ankylózu kladívka v 15 případech z 1200 kadaverů spánkové kosti bez známek jiné abnormality středoušní dutiny.

Nejfragilnější částí celého řetězu kůstek je dlouhý výběžek kovádky a inkudostapediální skloubení. Dlouhý výběžek kovádky je nejčastějším místem osteolytické resorpce při chronickém středoušním zánětu (10).

Vliv zkrácení převodního systému na sluch byl studován u spontánních tympanoplastik (30-34). Spontánní tympanoplastika vzniká vlivem reparativních a produktivních pochodů v průběhu chronického středoušního zánětu. Studie ukázaly, že spontánně vytvořené funkční struktury mají v průměru lepší sluch než chirurgicky vytvořené (31-34). Z hlediska převodního systému jsou spontánní tympanoplastiky dvojího typu. Prvním typem je kolumelizace, což odpovídá myringostapedopexi, méně často myringoinkudopexi. Při zkrácení převodního systému byl v experimentu prokázán zisk až 7 dB proti normálnímu sluchu, v praxi se tento sluchový zisk však nepotvrdil. Ztráty v tónovém audiogramu se u spontánních tympanoplastik prvního typu pohybují v průměru mezi 15 - 20 dB (31). Druhým typem je ekranizace. Kompletní eliminace řetězu kůstek při vytvoření zbytkové bubínkové dutiny kryjící okrouhlé okénko jsou ztráty v řečových frekvencích v průměru 30 dB (31).

Častou příčinou převodní nedoslýchavosti je fixace třmínku v oválném okénku. Jedná se o predilekční místo otosklerotické kostní přestavby. Fixace třmínku může být i vrozenou anomálií nebo méně často následkem chronického středoušního zánětu.

Změny v inkudomaleárním a inkudostapediálním skloubení nemají žádný nebo jen minimální vliv na sluch (35-37). Etholm a Belal (37) popsali tři stupně degenerativních změn středoušních kloubů. U prvního stupně nacházíme roztřepení, vakuolizaci a rozvláknění kloubní chrupavky. U druhého stupně již dochází k zúžení kloubního prostoru a kalcifikaci kloubní chrupavky s hyalinními depozity v kloubním pouzdře a disku. U třetího stupně je již zcela oblitérován kloubní prostor s kalcifikací kloubní chrupavky, pouzdra a disku.

### **1.1.3.5 Labyrintová okénka**

Volný pohyb ploténky třmínku a membrány okrouhlého okénka jsou důležitým předpokladem pro správný přenos zvuku. Okluze oválného okénka znehybněním třmínku při otoskleróze patří k nejčastějším příčinám převodní nedoslýchavosti u žen středního věku. Méně častou příčinou fixace třmínku jsou vrozené vývojové vady (38-41) či chronický středoušní zánět. Třmínek může být sublúxován i luxován v oválném okénku úrazem nebo při operačním výkonu ve středouši.

Okrouhlé okénko je postaveno téměř v horizontální rovině v hloubi své jamky. Poloha ho chrání před přímým poraněním. Okrouhlé okénko je poddajnou částí kostěného labyrintu, umožňující pohyby tekutin vnitřního ucha při pohybu ploténky třmínku. Jeho vrozená oblitérace vede k převodní nedoslýchavosti (25). Okénko je tvořeno zevní slizniční vrstvou,



tenkou střední vazivovou vrstvou a vnitřní vrstvou plochého jednořadého epitelu (42-43). Tenké vrstvy tvoří dostatečnou bariéru vůči přestupu bakteriálních exotoxinů a chemických látek. Okrouhlé okénko je proto považováno za bránu vstupu toxinů ze středouší do vnitřního ucha vedoucí k percepční nedoslýchavosti.

## 1.2 Autologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému

Použití autologního materiálu k operaci ušního bubínku bylo prezentováno již v roce 1878 Berholdem (44). K zakrytí defektu v bubínku byl použit kožní štěp. Operaci Berthold nazval myringoplastikou. Z dnešního pohledu bychom jeho techniku popsali jako over-lay nebo premyringickou myringoplastiku. Berthold operoval dvoudobě. V první době připravil operační pole okrvavením okraje perforace, odstranil epitel z okrajů a perforaci přelepil protézou (lepící náplastí). Po 3 dnech byla protéza odstraněna, odebrán kožní štěp z předloktí a překryta perforace bubínku premyringicky. Ve stejném roce provedl obdobnou operaci Ely, ovšem publikoval svou první operaci až o rok později. Ely prováděl jednodobé operace. Používal také autologní kožní štěpy, k přípravě pole vždy odstranil větší část původního bubínku. Toto byly první kroky ve středoušní chirurgii. Operace byly prováděny pouze v úrovni bubínku a chirurgicky se nezasahovalo do středouší. Další zmínky o chirurgické léčbě perforace ušního bubínku jsou z roku 1883, kdy Tangermann provedl myringoplastiku obdobnou technikou jako Berthold se zakrytím defektu kožním štěpem. Vzhledem k tomu, že operace nebyla úspěšná, techniku modifikoval. Místo kožního štěpu odebral z malé kožní incize podkožní tkáň, kterou překryl perforaci bubínku po předchozím okrvavení okrajů perforace. Na závěr operace provedl tamponádu zvukovodu. K tamponádě použil bavlnu s masťou obsahující oxid rtuť. Tamponáda měla za cíl fixaci štěpu ve správné poloze a zároveň měla snížit riziko zánětu. Při operaci osvětloval operační pole konkávním zrcadlem. První techniky myringoplastiky nebyly zavedeny do běžné praxe a po dobu téměř 70 let o dalších operacích bubínku nejsou žádné literární údaje.

Velký rozvoj středoušní chirurgie přinesla 50. léta 20. století. Zavedení operačního mikroskopu umožnilo přístup do středouší a byly popsány první operace ve středoušní dutině. V roce 1952 Wullstein a Zöllner prezentovali základní koncept středoušní rekonstrukční chirurgie a prvně byl použit termín tympanoplastika (44). Tympanoplastika byla definována jako chirurgická rekonstrukce bubínku a převodního systému středního ucha. Zatímco Zöllner používal při rekonstrukci bubínku kožní laloky, Wullstein používal volný kožní štěp, později v kombinaci s fascií, kdy kožní štěp byl použit jako zevní kryt štěpu fasciálního. Pro riziko vzniku cholesteatomu byly kožní štěpy ve středoušní chirurgii postupně nahrazeny jinými autologními tkáněmi.

První zmínky o využití chrupavky ve středoušní chirurgii jsou z roku 1956, kdy Jansen (45) publikoval použití chrupavčitého štěpu k rekonstrukci převodního systému při chybění suprastruktur třmínku. V roce 1963 byla prvně publikována myringoplastika chrupavčítým štěpem Salenem (46) a Jansenem (47). Chrupavka se stala běžně používaným materiálem k rekonstrukci bubínku, ale i řetězu kůstek. Dlouhodobé studie však prokázaly biomechanické změny chrupavky po implantaci, což způsobuje nestabilitu a sluchové ztráty při rekonstrukci řetězu kůstek (48,49). Chrupavka tak zůstává materiálem užívaným především k rekonstrukci bubínku a stěny zvukovodu.

Temporální fascie byla prvně využita k myringoplastice až v roce 1960 Hermannem (50). Postupem času se fascie stala nejpoužívanějším materiálem pro myringoplastiku.

Použití středoušní kůstky k rekonstrukci převodního systému bylo prvně publikováno v roce 1957, kdy Hall a Rytzner (51) představili techniku stapedoplastiky s využitím autologního třmínku při operaci otosklerózy. House a kol. (52) publikovali použití kovadlinky k rekonstrukci převodního systému. Kladívko a kovadlinka se začaly používat k transpozici a interpozici v defektním řetězu kůstek (53-57). Byla popsána i technika kombinace alopplastického materiálu (teflon) a autologní středoušní kůstky. Alopplastický materiál byl v kontaktu s hlavičkou třmínku a na tuto protézu bylo nasazeno tělo kovadlinky nebo hlavička kladívka, která byla v kontaktu s bubínkem (58).

V současnosti je při tympanoplastikách používán následující autologní materiál:

#### I. tkáň používané při rekonstrukci bubínku

- a) svalová fascie
- b) tuková tkáň
- c) perichondrium
- d) chrupavka

#### II. tkáň používané při rekonstrukci stěny zvukovodu a trepanační mastoidní dutiny

- a) chrupavka
- b) kostní štěp
- c) kožní štěp
- d) svalový lalok
- e) tuková tkáň

### III. tkáně používané při rekonstrukci řetězu kůstek

- a) středoušní kůstka
- b) kostní štěp

### IV. tkáně používané k překrytí okénka labyrintu

- a) svalová fascie
- b) tuková tkáň
- c) perichondrium
- d) stěna cévy

#### 1.2.1 Svalová fascie

Fascie je označení pro pojivovou tkáň, která obaluje jednotlivé orgány, svaly nebo svalové skupiny. Fascie je tvořena buňkami a mezibuněčnou hmotou. Buněčnou složku tvoří fibroblasty, tukové buňky, mezenchymové buňky, makrofágy a plazmatické buňky. Mezibuněčná hmota je tvořena vlákny a základní substancí. Základní substance mezibuněčné hmoty váže velké množství tekutin, vlákna dodávají tkáni pevnost. Rozlišujeme vlákna kolagenní (pevná), elastická (pružná) a retikulární (řídká, spojují ostatní součásti). Kombinace kolagenních a elastických vláken je předpokladem pro elasticitu pojivové tkáně, která má tendenci s věkem klesat. Vzájemný poměr vláken uvnitř konkrétní fascie je ovlivněn jejím funkčním určením. Povrchové fascie jsou více roztažitelné než ty hluboké, které jsou hutnější. Hladký obal fascie umožňuje sousedním strukturám vzájemný klouzavý pohyb.

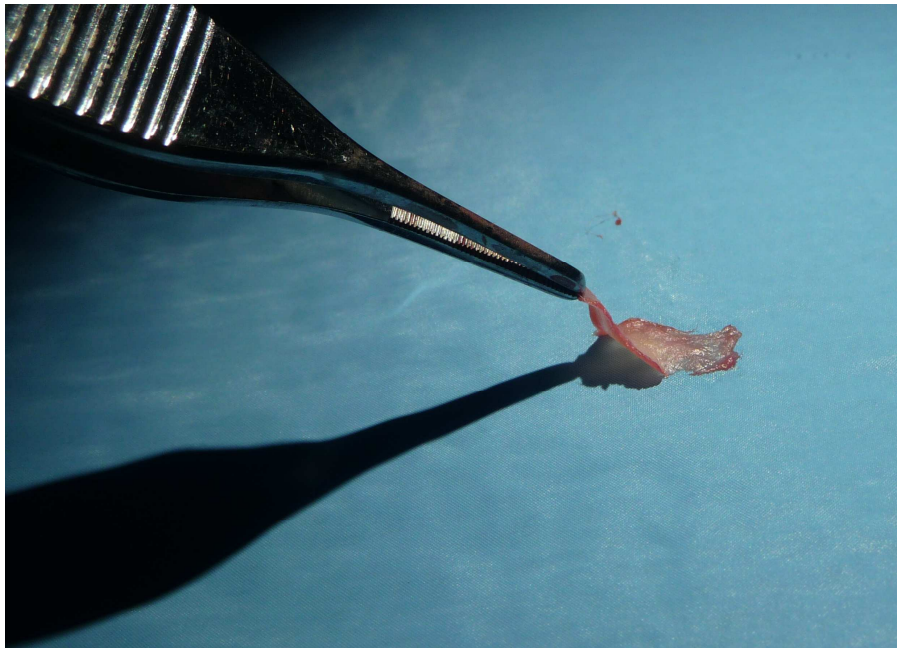
Ve středoušní chirurgii je využívána svalová fascie. Vzhledem ke snadné dostupnosti z operačního pole je téměř výhradně používaná fascie m. temporalis (Obr. 4). Anatomicky se jedná o aponeurózu svalu.

Temporální fascii odebíráme obvykle z endaurálního či retroaurikulárního přístupu. V případě endomeatálního přístupu je nutno vést přídatný řez, obvykle v temporální krajině. Po oddělení podkožní tukové tkáně od povrchové fascie temporálního svalu nařízneme fascii skalpelem v potřebném rozsahu a raspatoriem či nůžkami oddělíme fascii od svalu. Pokud postupujeme přísně po povrchu fascie, nebývá výkon doprovázen významnějším krvácením. Vysušení odebraného štěpu nám umožní jednodušší manipulaci při přenosu fascie na cílové

místo. Sudhoff a Hildmann (59) nedoporučují vysušení fascie pro riziko resorbce intercelulárních kolagenních vláken s následným vznikem atrofických jizev v místě implantované fascie.

Svalová fascie je nejčastěji používaná k rekonstrukci bubínku. Fascii ukládáme obvykle retromyringicky (underlay), méně často premyringicky (onlay, overlay) po odstranění zevní epidermální vrstvy bubínku. Úspěšnost myringoplastiky při použití svalové fascie se pohybuje mezi 70 – 90 % (49, 60-64). Je závislá na velikosti perforace a funkci sluchové trubice, proto u subtotálních defektů bubínku, u významně troficky změněného zbytku bubínku a v případě známé dysfunkce sluchové trubice je dávana přednost chondroperichondrálním štěpům (65-71). Akustické vlastnosti svalové fascie se blíží vlastnostem blanky bubínku.

Svalová fascie je také využívána ke krytí obnažené kosti trepanační dutiny po sanačních operacích, k překrytí oválného okénka po stapedektomii či k překrytí úchyty třmínkové protézy na dlouhém výběžku kovádlinky.



**Obr. 4 Fascie z m.temporalis připravena k underlay myringoplastice.**

### 1.2.2 Tuková tkáň

Tuková tkáň patří mezi tkáně pojivové. Ve středoušní chirurgii je využívána bílá tuková tkáň. Je pro ni charakteristické střídání tuku v buňkách, adipocytech. Adipocyty obsahují velkou tukovou vakuolu, tvořenou tukovou kapénkou obklopenou prstencem cytoplasmy, jádro je umístěno na periférii buňky. Mezi adipocyty se nacházejí retikulární vlákna a kapiláry.

Tukovou tkáň odebíráme z podkoží v místě operačního pole. V případě potřeby většího množství tukové tkáně při obliteracích trepanační dutiny je nutno odebrat tukovou tkáň z přídatného řezu v místě bohatém na tukovou tkáň. Pro tento účel bývá často volena oblast umbilikální.

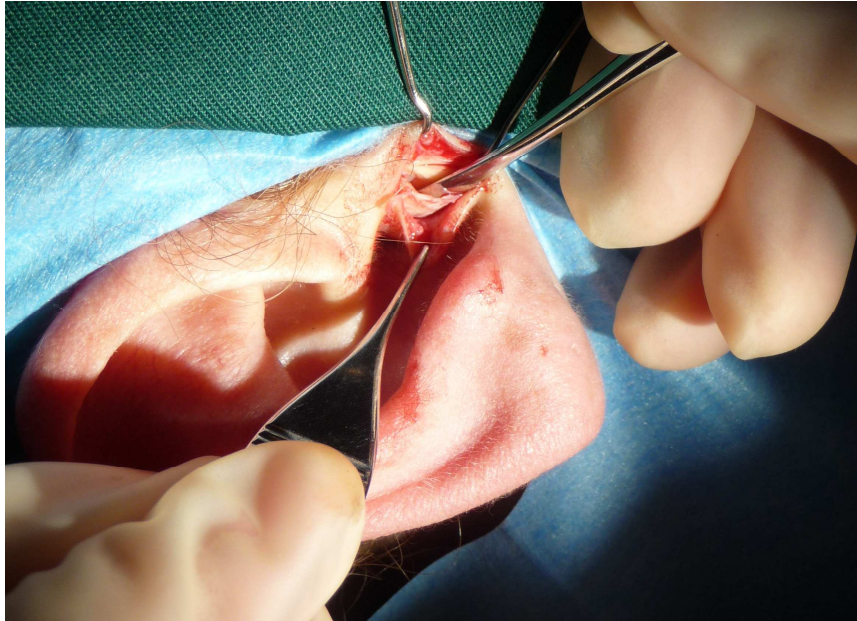
Tuková tkáň je využívána ve středoušní chirurgii vzácně. Malé množství tukové tkáně je možno použít k zacelení drobného defektu blanky bubínku (72-75). Větší množství tukové tkáně je potřeba na obliteraci trepanační dutiny spánkové kosti. Kompletní tympanomastoidní obliterace tukem je indikována u pacientů s chronickým středoušním zánětem s těžkou sluchovou ztrátou, neúspěšně léčených konzervativními postupy. Podle svého protagonisty je operace známa pod názvem *Rambo operation* (76,77).

### 1.2.3 Perichondrium

Perichondrium je vrstva tuhého kolagenního vaziva nacházejícího se na povrchu chrupavky. Je bohaté na kolagen a fibroblasty. Skládá se ze zevní a vnitřní vrstvy. Zevní vrstvu tvoří tuhé kolagenní vazivo, tato vrstva zpevňuje chrupavku. Vnitřní vrstva je tvořena řídkým kolagenním vazivem, obsahuje progenitorové buňky a zajišťuje výživu a růst chrupavky. Zatímco chrupavka je tkáň bez cévního a nervového zásobení, perichondrium je bohatě prokrvené, inervované, s lymfatickou drenáží. Perichondrium zajišťuje spojení chrupavky s okolními tkáněmi, samotná chrupavka zbavená perichondria k okolním tkáním neadheruje.

Ve středoušní chirurgii se využívá perichondrium odebrané z ušního boltce. Perichondrium odebíráme nejčastěji z oblasti tragu. Využíváme buď endaurální řez nebo samostatný krátký řez na dorzomediální ploše tragu (Obr. 5). Snadnější je odběr perichondria z konkávní plochy tragu, kde neadherují k perichondriu svalová vlákna. Při retroaurikulárním přístupu se odebírá perichondrium z cavum conchae, kde však perichondrium více adheruje k chrupavce a obtížněji se odděluje v porovnání s perichondriem tragu.

Obdobně jako fascie je i perichondrium využíváno především k myringoplastikám. Prvně bylo publikováno použití perichondria při rekonstrukci bubínku již v roce 1960 (Goodwill 67). Akustické vlastnosti a pooperační výsledky jsou velmi podobné svalové fascii (61, 72, 78, 79). Častěji je perichondrium používáno spolu s chrupavkou ve formě prstencových či ostrůvkových chondroperichondrálních štěpů.



**Obr. 5 Odběr perichondria tragu pravého ušního boltce.**

#### **1.2.4 Chrupavka**

Chrupavka je pojivová tkáň tvořená chondrocyty, chondroblasty a mezibuněčnou hmotou. Mezibuněčná hmota má složku vláknitou, podmiňující pevnost a pružnost chrupavky, a složku amorfní. Na stavbě mezibuněčné hmoty se podílí kolagen, kyselina hyaluronová, proteoglykany a glykoproteiny, elastická chrupavka obsahuje také elastin. Chondrocyty vznikají z okrajových fibroblastů a je pro ně charakteristická minimální proliferační aktivita. Na přechodu perichondria a chrupavky se nacházejí chondroblasty, které zajišťují růst chrupavky.

Chrupavka není zásobena cévami. Pokud obsahuje cévy, tak chrupavkou pouze procházejí, ale nevyživují ji. Chrupavka také nemá inervaci. Povrch chrupavky tvoří perichondrium, které zajišťuje výživu, růst chrupavky a také její fixaci k okolním tkáním.

Rozlišujeme základní tři typy chrupavky: hyalinní, elastickou a vazivovou. Hyalinní chrupavka je velmi pevná, tvrdá, hladká, průhledná, kryje povrchy kostí a kloubů. Elastická chrupavka je tkáň ohebná a pružná, nacházíme ji například v cestách dýchacích (epiglottis, prstence průdušek). Vazivová chrupavka je velmi mechanicky odolná, tvoří např. meziobratlové disky.

Pro účely středoušní chirurgie se používá chrupavka elastická. Chrupavčitý štěp se dnes odebírá téměř výhradně z ušního boltce, ale v minulosti byla využívána i chrupavka nosního septa (80-87). Chrupavčitý štěp se odebírá nejčastěji z tragu a z cavum conchae, méně často z crus anterior helicis či z fossa triangularis.

Chrupavka z tragu ušního boltce (Obr. 6) patří mezi nejčastěji používané chrupavčité štěpy. Její výhodou jsou příznivý tvar chrupavky a snadný přístup k odběru štěpu. Chrupavka je dostupná z endaurálního řezu mezi tragem a crus anterior helicis. Často je k odběru chrupavky veden samostatný kožní řez na posteromediální ploše tragu 3–5 mm pod vrcholem tragu. Tento řez je kosmeticky příznivý a umožňuje přístup k celé tragální chrupavce. Chrupavka tragu je mírně prohnutá konvexitou anterolaterálně. Perichondrium je na konkavitě snadno oddělitelné od podkoží, zatímco na konvexní ploše aderují svalová vlákna. Pokud je chrupavka příliš silná, je možno ji seříznout skalpelem na tenčí štěp. Při přípravě chondroperichondrálního štěpu k myringoplastice se obvykle ponechává perichondrium na konkavitě chrupavky, z konvexity se odstraní. To umožní přípravu štěpu s perichondriem zevně přecházejícím na stěnu zvukovodu. Pro fixaci štěpu k manubriu kladívka je nutno odstranit klín chrupavky na rozhraní předního a zadního horního kvadrantu. V tomto místě je pak štěp tvořen jen perichondriem.

Z crus anterior helicis je možno odebrat malý a tenký chrupavčitý štěp s perichondriem. Štěp je dostupný z endaurálního řezu.

Z cavum conchae je možno odebrat velký chrupavčitý štěp. Chrupavka se odebírá z kožního řezu vedeného na posteromediální ploše boltce v úrovni cavum conchae. Pro myringoplastiku nemá chrupavka tak příznivý tvar ve srovnání s chrupavkou tragu, také perichondrium se od chrupavky odděluje obtížněji.

Chrupavka z fossa triangularis bývá využívána velmi vzácně. Odebírá se také z posteromediálního řezu. Je nutno respektovat tvar chrupavky z crus anterior a crus posterior anthelicis.





**Obr. 6 Chrupavka tragu ušního boltce**

Odebranou chrupavku je možno použít ve formě palisád či jako chondroperichondrální ostrůvkové a prstencové štěpy. Palisády jsou úzké proužky chrupavky, které jsou obvykle z jedné strany zbavené perichondria. Touto stranou je palisáda orientována směrem do středouší. Odstraněné perichondrium snižuje riziko nežádoucích adhezí k mediální stěně bubínkové dutiny. Na zevní straně se perichondrium ponechává k fixaci palisád mezi sebou a k okolním tkáním. Rozšíření chrupavčitých štěpů do běžné praxe dokládá Hermann (81), který publikoval soubor 13 000 operovaných pacientů s využitím chrupavčitých palisád k rekonstrukci bubínku a mastoidní trepanační dutiny.

Ostrůvkové chondroperichondrální štěpy se používají k rekonstrukci bubínku i mastoidní trepanační dutiny po sanačních operacích. Při přípravě štěpu k myringoplastice odstraňujeme perichondrium ze strany orientované do bubínkové dutiny, nízká afinita středoušní sliznice k chrupavce zamezí nežádoucím srůstům. Na zevním povrchu se ponechává perichondrium přesahující rozměry chrupavky, což umožňuje ukotvení štěpu ke stěnám zvukovodu. Pro fixaci štěpu k manubriu kladívka je nutno odstranit klín chrupavky na rozhraní předního a zadního horního kvadrantu. V tomto místě je pak štěp tvořen jen perichondriem (Obr. 7).

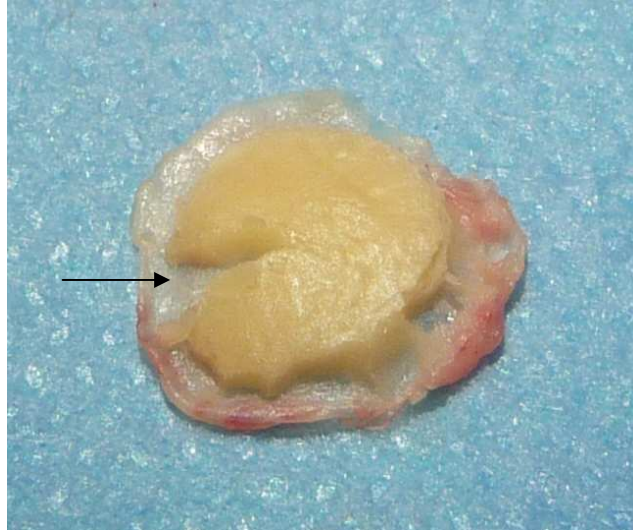
Modifikací ostrůvkového štěpu je prstencový chondroperichondrální štěp. Je ponechán jen obvodový chrupavčitý prstenec, plocha bubínku je tvořena perichondriem. Dochází ke snížení tuhosti štěpu při zachování nízkého rizika odhojení štěpu (60, 64, 84,85).

Chrupavčitý štěp po replantaci mění své mechanicko – akustické vlastnosti. Chrupavka měkne a zmenší svůj objem (48, 88, 89), což je výhodné pro myringoplastiku. Pevnost chondroperichondrálního štěpu zajišťuje vyšší procento úspěšnosti myringoplastiky v porovnání s fascií. Pohybuje se v rozmezí 91 – 100 % (65-67, 69-71). Pooperační sluchové zisky s odstupem jednoho roku od operace jsou u chrupavčitých štěpů zcela srovnatelné s fascií a perichondriem (60, 62, 65-66, 85). Pooperační kostně vzdušný rozdíl pod 10 dB je dosažen ve 44-87 % operovaných pacientů (62, 64, 67). U prstencových štěpů jsou prokázány lepší sluchové zisky 3 měsíce po operaci, avšak po 1 roce se v důsledku změn bioakustických vlastností chrupavky rozdíl mezi ostrůvkovým a prstencovým štěpem vyrovnávají. Porovnání kostněvzdušného rozdílu u chrupavčitého, perichondrálního a fasciového štěpu ukazuje tabulka 1.

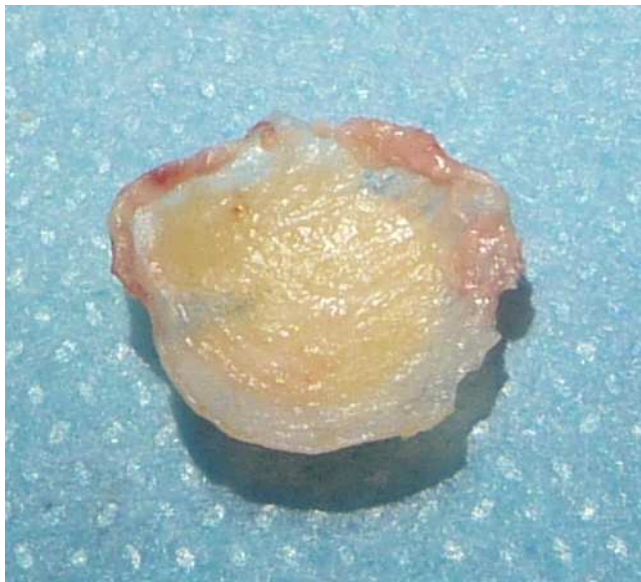
Biomechanické změny chrupavčitého štěpu po implantaci nejsou výhodné pro rekonstrukci řetězu kůstek. Dlouhodobé studie prokázaly nevhodnost chrupavky pro osikuloplastiky (48, 88). Chrupavka dnes zůstává materiálem užívaným především k rekonstrukci bubínku a stěny zvukovodu.

**Tab. 1 Porovnání průměrného kostně vzdušného rozdílu (ABG) 3 měsíce a 1 rok po myringoplastice při použití různých autologních štěpů (88)**

	<i>ABG 3 měs. po operaci (v závorce výsledky operací u subtotálních perforací)</i>	<i>ABG 1 rok po operaci (v závorce výsledky operací u subtotálních perforací)</i>
<i>Temporální fascie</i>	8 dB (9 dB)	6 dB (11 dB)
<i>Perichondrium (tragus)</i>	8 dB (10 dB)	7 dB (13 dB)
<i>Chondroperichondrální štěp</i>	11 dB (18 dB)	8 dB (12 dB)



**Obr. 7a Ostrůvkový chondroperichondální štěp.** Pohled na mediální část štěpu směřující do středouší, šipka ukazuje výřez v chrupavce pro manubrium kladívka.



**Obr. 7b Ostrůvkový chondroperichondální štěp.** Pohled na laterální část štěpu směřující do zvukovodu, celý laterální povrch je kryt perichondriem, které přesahuje laterálně obvod chrupavčitého ostrůvku

### 1.2.5 Kost

Kost je pojivová tkáň, pro kterou je typická mineralizace mezibuněčné hmoty. Mezibuněčná hmota má složku vláknitou, tvořenou kolagenními vlákny, a složku amorfni, tvořenou proteoglykany. Anorganické látky tvoří kolem 50 % suché váhy kostní matrix. Jedná se o ionty kalciové a fosfátové vyskytující se ve formě hydroxyapatitu, dále ionty magnézia, kalia, natria, ionty citrátové a uhličitanové. Mezibuněčnou hmotu produkují osteoblasty. Osteoblast se postupně obklopuje vyprodukovanou mezibuněčnou hmotou a mění se v osteocyt. Odbourávání kostní tkáně zajišťují osteoklasty, které produkují kyselou fosfatázu a kolagenázu, resorbují kostní tkáň a tím umožňují přestavbu kosti.

Rozlišujeme dva typy kostní tkáně. Hutná kostní tkáň (compacta, corticalis) je na povrchu kosti. Typická je přítomnost osteonů (Haverských systémů). Osteon ve tvaru válce probíhá rovnoběžně s povrchem kosti a uprostřed se nachází Haversův kanálek s cévami a nervem. Stěnu osteonu tvoří trubicové lamely s osteofyty (lamelární kost). Lamely jsou tvořeny kolagenními vlákny a mineralizovanou amorfni mezibuněčnou hmotou. Houbovitá kostní tkáň (spongiosa, kostní trámčina) je umístěna uvnitř kosti.

Na povrchu je kost kryta periostem, který kromě fibroblastů, elastických a kolagenních vláken obsahuje cévní pleteně a nervová zakončení.

Uvnitř kosti se nachází kostní dřev. Hemopoetická červená kostní dřev se nachází uvnitř všech kostí mladých jedinců. Později je ve většině kostí nahrazena žlutou kostní dřeví obsahující tukovou tkáň. Ve stáří dochází k degeneraci žluté kostní dřevě na šedou.

Spánková kost je kost pneumatizovaná, do jejíž spongiozy se vchlipuje sliznice středoušní dutiny. Veškeré dutiny pneumatického systému zůstávají propojeny s původní dutinou bubínkovou.

Kladívko a kovadlinka se podobají dlouhým kostem. U novorozenců mají rozsáhlé dřevové prostory, které jsou postupně nahrazovány kostní tkání, ale částečně perzistují do dospělosti. Dlouhý výběžek kovadlinky mívá často větší dřevové prostory, které mohou vysvětlovat menší mechanickou pevnost výběžku a častější usuraci při chronickém středoušním zánětu.

Kostní tkáň je používána k rekonstrukci defektu středoušních kůstek. Nejčastěji je využívána autologní středoušní kůstka, která je dostupná v operačním poli, má vhodné biomechanické vlastnosti a je dlouhodobě stabilní po transpozici či interpozici (52, 55, 56, 58, 81). K tomuto účelu je využíváno kladívko nebo kovadlinka (obr. 8). Třmínek byl v minulosti používán k autologním stapedoplastikám (53, 54), dnes je však nahrazován aloplastickými protézami.

Méně často je používána interpozice kostního štěpu odebraného z planum mastoideum nebo kostěné části zvukovodu. Nevýhodou těchto kostních štěpů proti středoušní kůstce je častá resorbce kosti a tím dlouhodobá nestabilita převodního systému.



**Obr. 8 Kovadlinka.** Kůstka je upravena diamantovou frézou, připravena k osikuloplastice

### 1.2.6 Cévní stěna

Cévní stěna je složena ze tří vrstev: tunica intima, tunica media a tunica adventitia. Tunica intima je tvořena vrstvou endotelových buněk nasedajících na bazální membránu a vrstvou subendotelovou, která obsahuje řídké kolagenní vazivo. Tunica media obsahuje hladké svalové buňky, retikulární a elastická vlákna. Tunica adventitia je tvořena kolagenním vazivem, fibroblasty, adipocyty a ve větších cévách i hladkými svalovými buňkami.

Ve středoušní chirurgii je využívána jen žilní stěna, která je tenčí, má méně svalových vláken a je poddajnější než stěna tepny. Nejčastěji se odebírá venózní štěp z předloktí.

Cévní stěna je používána k zakrytí defektu oválného okénka labyrintu jako prevence perilymfatické píštěle při operaci otosklerozy. Je popsána i technika myringoplastiky s využitím cévního štěpu s dobrými krátkodobými výsledky, avšak tunica media cévní stěny po replantaci podléhá atrofii a během několika měsíců dochází k dehiscenci bubínku v místě štěpu (90, 91).

### 1.2.7 Kůže

Kůže je tvořena epidermální vrstvou, dermis a podkožním vazivem.

Povrchová epidermální vrstva obsahuje převážně keratinocyty, které tvoří až 95 % celkového buněčného objemu epidermis. Dalšími buňkami jsou melanocyty, Langerhansovy a Merkelovy buňky. Neobsahuje cévy, je vyživována pouze difúzí z dermis. Histologicky můžeme epidermis rozdělit do několika vrstev. Na povrchu se nachází stratum corneum, vrstva odumřelých plně keratinisovaných buněk o tloušťce 0,01- 0,04 mm, která tvoří ochrannou bariéru. Pod ní se nachází tenká eozinofilní vrstva, výrazně redukovaná v oblasti zevního zvukovodu, kterou nazýváme stratum lucidum. Třetí vrstvu, která stejně jako předchozí dvě není mitoticky aktivní, nazýváme stratum granulosum. Je tvořena 3-5 řadami plochých buněk se zrny keratohyalinu. Mitoticky aktivní částí epidermis jsou až vnitřní vrstvy stratum spinosum a basale. Stratum spinosum je tvořena buňkami s vysokým stupněm proteosyntézy s dobře vyvinutými spojovacími komplexy. Stratum basale je tvořeno jednou vrstvou mitoticky velmi aktivních kmenových buněk, které se postupně diferencují v buňky vyšších vrstev epidermis.

Dermis je oddělena od epidermis bazální membránou. Je tvořena pojivovou tkání, obsahuje cévy, nervová zakončení, vlasové folikuly, potní a mazové žlázy. Z dermis jsou difúzí zásobovány bazální vrstvy epidermis, která neobsahuje cévy.

Ve středoušní chirurgii používáme obvykle tenké epidermální štěpy, méně často meatální kožní laloky a myokutánní laloky.

Kožní štěp je historicky prvním autologním materiálem použitým k rekonstrukci bubínku. Pro riziko vzniku sekundárního cholesteatomu byl postupně při myringoplastikách nahrazen fascií, perichondriem a chrupavkou.

Kožní štěpy k epidermizaci trepanační dutiny po radikální operaci pro cholesteatom se používaly již od 40. let minulého století (Fillatov). Tenké epidermální štěpy jsou užívány dodnes k plastice mastoidní trepanační dutiny po operacích cholesteatomu otevřenou technikou.

Tenké epidermální štěpy jsou využívány ke krytí kožních defektů zvukovodu. V padesátých letech minulého století byly kožní štěpy hojně užívány při operacích vrozené atrézie zvukovodu. Velký počet těchto operací souvisel s výskytem atrézií u dětí matek užívajících Thalidomid. Vzhledem k neuspokojivým výsledkům a rozvoji implantovaných kostních sluchadel je dnes tato indikace na ústupu. Tenké epidermální štěpy jsou častěji využívány při

operacích získaných stenóz zvukovodu, kdy jsou epidermální štěpy transplantovány na zevní povrch skarifikovaného bubínku a obnažené kosti zvukovodu.

Stopkaté meatální kožní laloky jsou používány k podpoře fasciálních či chrupavčitých štěpů. Jsou kladeny vždy zevně na fascii či chrupavku ke snížení rizika vzniku sekundárního cholesteatomu (92, 93). Degenerativními změnami kožních laloků se zabýval Hybášek (93). Dochází k hyperplazii mazových žláz, což vede k nežádoucím změnám povrchu kožního laloku. Za optimální je považován rotovaný kožní lalok z kostěné části zvukovodu, kde jsou minimální kožní adnexa.

Myokutánní laloky se využívají k obliteraci trepanační dutiny po operacích cholesteatomu otevřenou technikou (94).

### **1.2.8 Svalový lalok**

Ve středoušní chirurgii je používán svalový lalok m. temporalis.

Histologicky se jedná o kosterní sval tvořený svalovými vlákny spojenými ve snopce, které jsou kryté silným vazivovým obalem. Sval je na povrchu krytý pevnou a pružnou vazivovou fascií.

Svalový lalok je vhodným materiálem ke zmenšení mastoidální trepanační dutiny při operaci cholesteatomu otevřenou technikou. Před rotací svalového laloku je nutné odstranit veškerou zánětem postiženou sliznici mastoidálních sklípků. Svalový lalok je mobilizován retroaurikulárně. Původní technika rotovaného svalového laloku se stopkou meatálně (anteriorně) publikovaná T. Palvou (95) byla následně modifikována s vytvořením stopky superiorně či inferiorně (96-98). Hlavní nevýhodou je postupná atrofie svalového laloku a tím zmenšení jeho objemu a častá dlouhodobá pooperační sekrece.

Mimo laloky myofasciální a myoperiostální jsou používány i laloky myokutánní s orientací kůže směrem do zvukovodu (94).

### 1.3 Homologní materiály využívané při rekonstrukci převodního systému

Homologní materiály se začaly ve středoušní chirurgii používat od 60. let minulého století, kdy House publikoval interpozici homologní středoušní kůstky při defektu kovádky (99) a Glasscock použil homologní blanku bubínku k myringoplastice (100). Na pracovištích disponujících tkáňovou bankou se začaly využívat při tympanoplastikách homologní kůstky a chrupavka (101-103), pro účely myringoplastiky byly testovány homologní fasciální štěpy (104-106), dura mater (107), periumbilikální fascie (108), venózní štěpy (106, 109), srdeční chlopeč (110), perikard (106) a skléra (111).

Nevýhodou těchto štěpů však byla jejich nižší biokompatibilita ve srovnání s autologním materiálem, vyšší náklady spojené se zpracováním materiálu a také horší dostupnost s nutností vazby na tkáňovou banku. Výsledky homologních myringoplastik nebyly lepší než při použití autologního štěpu. Pouze u homologní skléry bylo dosaženo úspěšnosti nad 90 % (111). Závažným důvodem, který vedl k ústupu od homologních štěpů, bylo riziko přenosů infekčních chorob, především AIDS a prionových infekcí. Tyto obavy, ať už více či méně opodstatněné, a s nimi spojené medicínsko-právní důsledky, vedly k opuštění techniky homologních štěpů ve středoušní chirurgii ve většině zemí.

Rizika homologních štěpů byla eliminována až novými technologiemi acelulárních štěpů. Tyto materiály nejsou antigenní a nenesou riziko přenosu infekčního onemocnění. Ve středoušní chirurgii je testována acelulární lidská dermis (allograft), acelulární sliznice, intestinální submukoza (112-114). Úspěšnost myringoplastik při použití acelulárních štěpů je srovnatelná s autologními štěpy, ale jejich cena je významně vyšší. Acelulární štěpy proto nebyly zavedeny do běžné praxe.



## 1.4. Syntetické materiály používané při rekonstrukci převodního systému

První zmínky o použití aloplastického materiálu v rekonstrukční středoušní chirurgii jsou z roku 1952, kdy Wulstein použil protézu z vinyl-akrylátu (Palavit) k akustickému přenosu mezi bubínkem a mobilní ploténkou třmínku (115). Pro špatné výsledky byl tento materiál brzy opuštěn.

V roce 1958 publikovali Shea a Austin použití polyetylenové protézy při náhradě třmínku (116). V následujících letech však byly prezentovány závažné komplikace polyetylenových protézek (117,118). Bylo prokázáno riziko pooperačního poškození labyrintu až u 15 % operovaných pacientů a na zvířecím modelu byly histologicky prokázány zánětlivé reakce v oblasti oválného okénka a labyrintu (119).

V roce 1962 Austin zveřejnil první výsledky osikuloplastik s použitím protézy z polytetrafluoroetylenu. Polytetrafluoroetylen (PTFE) je komerčně rozšířen pod obchodním názvem teflon. Na zvířecím modelu byla prokázána vysoká biokompatibilita teflonu, který se ve středouší opouzdří sliznicí (119,120). Materiál se prosadil především ve třmínkové chirurgii. Tvarová paměť materiálu umožňuje zavěšení protézy na dlouhém výběžku kovadlinky bez nutnosti manuální fixace operátorem. V ČSSR byla vyráběna kompozitní středoušní protéza z platinového drátu a teflonu (Rubena Náchod). Protéza nebyla úspěšná především pro velmi tenký vlasový drátek a poddajnost teflonu. Teflon byl využíván také při osikuloplastikách, avšak pro vyšší riziko vyloučení protézy přes membránu bubínku byl v této indikaci nahrazen jinými materiály (121,122).

V roce 1969 Palva prvně publikoval použití kovových středoušních protéz (123). Zatímco ve třmínkové chirurgii se tento materiál stal velmi oblíbeným, pro osikuloplastiky je méně vhodný s vyšším rizikem spontánního vyloučení ze středouší (121,122). Výsledky tympanoplastických operací pro chronický středoušní zánět s použitím kovových protézek byly natolik neuspokojivé, že byl v roce 1971 zveřejněn konsensus, dle kterého nebyly doporučeny solidní plastické a kovové materiály pro chirurgickou léčbu chronického středoušního zánětu (124).

Zájem o aloplastické materiály ve středoušní chirurgii byl opět obnoven po uvedení Proplastové a Plastiporové protézy na trh. Obě tyto protézy zavedl do středoušní chirurgie Shae (125,126). Proplast je kompozitní vysoce porézní protéza z teflonu a karbonu, prvně použitá v roce 1974. Plastipore je také vysoce porézní polyetylen prvně použitý ve středoušní chirurgii v roce 1976. Plastipore se stal materiálem pro první celosvětově komerčně

vyráběnou středoušní protézu. Vysoce porézní hlavice měla umožňovat prorůstání epiteliální vrstvy bubínku do pórů protéžky, proto nebyla doporučována interpozice autologní tkáně. Dlouhodobé výsledky však byly i u této protézy neuspokojivé. Při kontaktu protézy s bubínkem je riziko vyloučení protézy ze středouší 12 – 30 % (127,128). Na základě neuspokojivých výsledků byla operační technika modifikována. Interpozicí chrupavčitého disku mezi bubínek a protéžku bylo redukováno riziko vyloučení protéžky pod 10 % (129-131).

Keramické protézy  $Al_2O_3$  byly uvedeny do klinické praxe v roce 1979 (132). Výsledky operací při použití tohoto materiálu byly srovnatelné s protézami Plastipore (133). Také u keramických protéz byla doporučena interpozice chrupavky. Při použití protéžky TORP bylo doporučeno krýt ploténku třmínku perichondriem ke snížení rizika perforace ploténky.

V osmdesátých letech 20. století byl zaveden do středoušní chirurgie Ceravital. Prvně byl použit Reckem v roce 1983 (134). Jedná se o sklokeramický bioaktivní materiál. Při kontaktu s bubínkem bylo doporučeno pokrýt hlavičku protézy autologní kostní drtí. Přestože krátkodobé pooperační výsledky byly příznivé (135,136), dlouhodobé studie prokázaly vysoké procento absorpce materiálu (36 %) a pouze 16 % implantovaných uší mělo dlouhodobě dobrý sluch (137). Pro neuspokojivé dlouhodobé výsledky byla ukončena výroba těchto středoušních protéz.

Mezi nejúspěšnější aloplastické materiály ve středoušní chirurgii patří hydroxyapatit. Prvně publikoval klinické výsledky použití těchto protéz Grote v roce 1981 (138). Jedná se o bioaktivní keramický materiál podobný kostní minerální matrix. Materiál má velmi dobrou biokompatibilitu. Riziko odhojení této protézy je pod 10 % (139, 140). Také sluchové zisky při použití tohoto materiálu jsou uspokojivé, Grote uvádí kostně vzdušný rozdíl pod 20 dB u 84 % protéz typu PORP a u 64 % protéz typu TORP. Pro jednodušší manipulaci se začaly vyrábět kompozitní protézy využívající biokompatibilitu hydroxyapatitu k výrobě pouze hlavičky protéžky, zbytek protéžky byl zhotoven z materiálu příznivějšího k úpravě délky protéžky (Plastipore, ocel, PTFE, FLEX HA, HAPEX).

V osmdesátých letech 20. století byly testovány také další materiály pro středoušní chirurgii, jako je Bioglass nebo karbon. Nebyly však úspěšné a nerozšířily se do běžné otolaryngologické praxe.

Za revoluční aloplastický materiál lze považovat titan, který se brzy po zavedení do praxe stal a dodnes je nejrozšířenějším aloplastickým materiálem ve středoušní chirurgii. Titan byl zaveden do medicínské praxe v sedmdesátých letech Branemarkem. První osikuloplastika s použitím titanové protéžky byla publikována v roce 1993 (141). Materiál má velmi dobrou

biokompatibilitu, umožňuje tvarovou rozmanitost a pevnost. Titan umožňuje výrobu velmi tenké protézy, což je výhodné k zavádění a fixaci ve středouší. Riziko odhojení této protézky je pod 5 % (141-143).

V českých zemích se rozšířily středoušní protézy z kostního cementu Palacos R. Chemicky se jedná o metylmetakrylát-methylmetakrylátový kopolymer. Medicínské zkušenosti jsou již déle než 35 let. Výhodou materiálu je nízká cena a dobrá biokompatibilita, avšak oproti titanu umožňuje menší tvarovou variabilitu, protézy jsou masivnější a obtížnější je také manipulace s protézou.

Zavádění aloplastických materiálů ve středoušní chirurgii shrnuje časová tabulka 2.

**Tab. 2 Aloplastické materiály ve středoušní chirurgii.**

<i>Aloplastické materiály</i>											
<i>Vinyl-acrylát</i> <i>(Wullstein)</i>		<i>PTFE</i> <i>(Austin)</i>		<i>Proplast</i> <i>(Shea)</i>		<i>Al2O3 keramika</i> <i>(Jahnke,Plester)</i>		<i>Ceravital</i> <i>(Reck)</i>		<i>Carbon</i> <i>(Podoshin)</i>	
1952	1958	1962	1969	1974	1976	1979	1981	1983	1986	1988	1993
<i>Polyethylen</i> <i>(Shea)</i>		<i>Ocel</i> <i>(Palva)</i>		<i>Plastipore</i> <i>(Shea)</i>		<i>Hydroxyapatit</i> <i>(Grote)</i>		<i>Bioglass</i> <i>(Merwin)</i>		<i>Titan</i>	

## **2. Klinická a experimentální studie**

## 2.1 Úvod

Autologní materiál je velmi často využíván při rekonstrukci převodního systému. Při myringoplastikách je autologní materiál zlatým standardem a zcela vytlačil homologní i aloplastický materiál. Při rekonstrukci řetězu středoušních kůstek (osikuloplastikách) je využíván autologní i aloplastický materiál. Hlavními výhodami autologního materiálu jsou biokompatibilita, dlouhodobá stabilita s dobrými sluchovými zisky a také cena materiálu. Pro tento účel je využívána nejčastěji středoušní kůstka, která nabízí dlouhodobě stabilní štěp, který je možno interponovat mezi defektní části převodního systému. Výjimkou jsou pacienti s cholesteatomem, kdy použití středoušní kůstky je považováno za zvýšení rizika recidivy cholesteatomu z perzistujících zbytků cholesteatomu infiltrujících středoušní kůstku. Postižení středoušní kůstky cholesteatomem je popsáno v mnoha pracích (144-152). V české literatuře prvně publikoval histologii středoušních kůstek u pacientů s cholesteatomem Navrátil a kol. v roce 1964 (147). Dnes je všeobecně akceptováno riziko perzistence cholesteatomu na povrchu středoušních kůstek u uší s cholesteatomem. Můžeme však toto riziko eliminovat ošetřením kůstek a připravit tak bezpečný kostní štěp pro autologní osikuloplastiku?

## **2.2 Cíle studie:**

### **2.2.1 Hlavní cíle studie:**

1. Posouzení vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám.
2. Nalezení metody ošetření středoušních kůstek, která by minimalizovala riziko perzistence cholesteatomu ve středoušních kůstkách a připravila by tak kůstku pro autologní osikuloplastiku.

### **2.2.2 Dílčí cíle studie:**

1. Posouzení rozdílu v destrukci kladívka a kovádky cholesteatomem.
2. Posouzení rozdílu v agresivitě juvenilního cholesteatomu a cholesteatomu dospělých ke středoušním kůstkám.
3. Posouzení změn ve středoušních kůstkách po termickém ošetření (autoklávování).

## 2.3 Klinická studie

### 2.3.1 Úvod

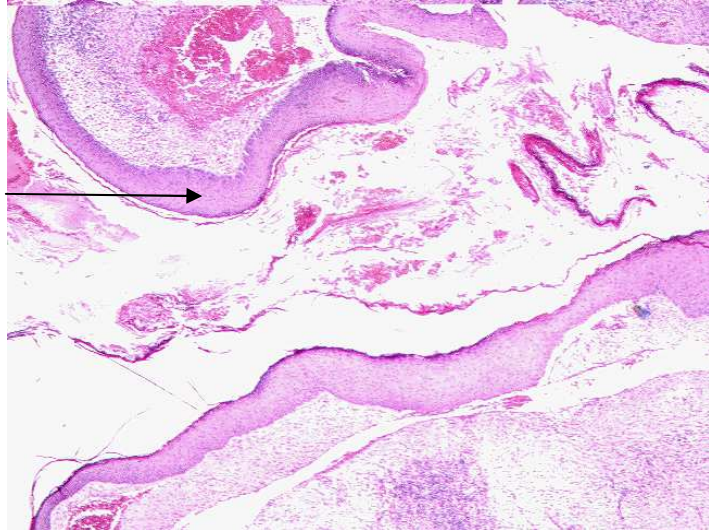
V klinické části je studován vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám. Na základě histologických nálezů cholesteatomem postižených středoušních kůstek jsou navrženy a testovány metody ošetření středoušní kůstky k eliminaci zbytků cholesteatomu. Pro výběr metody ošetření středoušní kůstky jsou zvolena následující kritéria:

- snadná dostupnost metody buď přímo na operačním sále, nebo v jeho blízkosti,
- nízká cena,
- rychlost ošetření umožňující jednodobou sanační i rekonstrukční část operace.

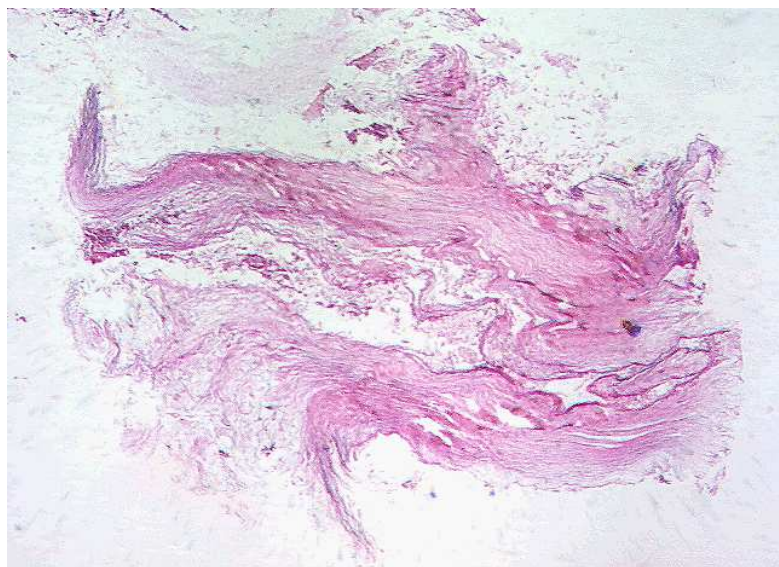
### 2.3.2 Definice cholesteatomu

Cholesteatom je definován přítomností rohovějícího vrstevnatého dlaždicobuněčného epitelu (epidermis) ve středoušní dutině nebo spánkové kosti. Vzácné jsou cholesteatomy nacházející se intrakraniálně (epidermoid).

Jedná se o epidermoidní cystu, jejíž vak tvoří matrix cholesteatomu. Histologicky je matrix cholesteatomu tvořená vrstvou dobře diferencovaného vrstevnatého dlaždicobuněčného epitelu podobného kožní epidermis (Obr. 9). Na dlaždicobuněčný epitel navazuje vrstva plochého epitelu odpovídajícímu epitelu středoušní sliznice a vnitřní stěny bubínku. Vrstevnatý dlaždicobuněčný epitel je tvořen jednou až třemi řadami bazálních buněk a pěti až šesti řadami spinózních buněk s mezibuněčnými můstky. Dlaždicobuněčný epitel produkuje koncentrické vrstvy keratinu, které vyplňují vak cholesteatomu (Obr. 10). Amorfni hmota uvnitř vaku je mikroskopicky tvořena odumřelými bezjadernými buňkami. Makroskopicky je dobře identifikovatelná díky své perleťově šedé barvě. Jako perimatrix označujeme zevní vrstvu zánětlivé granulační tkáně, která způsobuje otitidu a postupnou destrukci okolní kosti. U kongenitálních cholesteatomů i některých cholesteatomů vznikajících z retrakčních kapes nemusí být zánětlivá složka s granulacemi vyjádřena a dutina cholesteatomu se vytváří především tlakem matrix cholesteatomu.



**Obr. 9 Histologický řez vakem cholesteatomu.** Šipka směřuje k dlaždicobuněčnému vrstevnatému epitelu vaku cholesteatomu. Barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x.



**Obr. 10 Histologický obraz koncentricky uspořádaných rohových hmot cholesteatomu.** Barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x.



### 2.3.3 Soubor pacientů, materiál a metodika

Do studie byli zařazeni pacienti splňující následující kritéria:

- chronický středoušní zánět s cholesteatomem,
- klinické známky cholesteatomu na povrchu středoušních kůstek,
- operace cholesteatomu na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN Hradec Králové v letech 2006 až 2011.

Ve sledovaném období bylo vyšetřeno 80 středoušních kůstek získaných od 46 pacientů. Mezi operovanými pacienty převažují muži (59 %) nad ženami, věkový průměr je 37 let, median 43 let. Nejmladší pacient je pětiletý chlapec, nejstarší je 73letá žena.

Středoušní kůstky byly vyšetřeny operačním mikroskopem, byly změřeny rozměry hlavičky kladívka, těla a krátkého výběžku kovadlinky. Na základě výsledků měření byly kůstky rozděleny do dvou skupin dle intenzity postižení:

- Stupeň I (lehká destrukce kůstky):  
kladívko: velikost hlavičky > 2 mm v největším rozměru,  
kovadlinka: velikost těla s krátkým výběžkem > 3 mm v největším rozměru.
- Stupeň II (těžká destrukce kůstky):  
kladívko: velikost hlavičky < 2 mm v největším rozměru,  
kovadlinka: velikost těla s krátkým výběžkem < 3 mm v největším rozměru.

Prvních 15 středoušních kůstek odstraněných při operaci cholesteatomu bylo histologicky zpracováno ke studiu hloubky invaze cholesteatomu. Středoušní kůstky byly fixovány v 10% formaldehydu a následně dekalcifikovány elektrolýzou pomocí zařízení Sakura TDE 30 Decalcifier System. Tkáňové bloky byly standardně barveny hematoxylinem a eosinem a histologicky vyšetřeny světelným mikroskopem.

Na základě histologických nálezů byly stanoveny metody ošetření středoušních kůstek k eliminaci cholesteatomu.

První metodou je mechanické ošetření kůstky. Měkké tkáně jsou z povrchu středoušní kůstky odstraněny studeným nástrojem (špicí). Následně je celý povrch středoušní kůstky ošetřen diamantovou frézou pod kontrolou operačního mikroskopu.

Druhou metodou je kombinace mechanického a termického ošetření. Povrch středoušní kůstky je ošetřen diamantovou frézou a následně je kůstka autoklávována po dobu 4 minut při teplotě 134 ° C.

Veškerá ošetření středoušních kůstek byla provedena jedním chirurgem.

Středoušní kůstky zbavené cholesteatomu výše popsanými metodami byly decalcifikovány elektrolýzou Sakura TDE 30 Decalcifier System, tkáňové bloky barvené hematoxylinem a eosinem byly histologicky vyšetřeny světelným mikroskopem.

Studie byla schválena Etickou komisí při Fakultní nemocnici Hradec Králové.

Výsledky byly statisticky zpracovány s použitím Fisherova přesného testu (Fisher Exact Test).

### 2.3.4 Výsledky

Soubor osmdesáti středoušních kůstek tvoří 43 kladívek a 37 kovadlinek. Destrukce II. stupně byla prokázána u 24 kůstek. Byly sledovány následující závislosti:

#### 1. Výskyt těžké destrukce u kladívka a kovadlinky:

Těžká destrukce byla častěji pozorována u kovadlinky. Kovadlinka byla těžce destruovaná ve 46 % případů, zatímco kladívko jen v 16 %. Tento rozdíl ve výskytu destrukce II. stupně je statisticky významný ( $p=0,0065$ ). Těžká destrukce kladívka se zachovalou kovadlinkou pozorována nebyla. Ve všech případech destrukci kladívka II. stupně doprovázela i destrukce kovadlinky stejného stupně či úplné chybění kovadlinky (Tab. 3).

**Tab. 3** Statistické zpracování stupně destrukce u kladívka a kovadlinky.

<i>Test shody dvou proporcí</i>								
A	B	C	D	N1 (A+C)	N2 (B+D)	M1 (A+B)	M2 (C+D)	N (N1+N2)
destrukce kovadlinky II.st.	destrukce kladívka II.st.	destrukce kovadlinky I.st.	destrukce kladívka I.st.	17	7	20	36	37
				43	37	24	56	80
<i>Rozložení dat</i>								
Kůstka	Počet kůstek	Destrukce		% zastoupení				
		II. stupně	I. stupně	II. stupně	I. stupně			
Kovadlinka	37.0	17.0	20.0	0.4595	0.5405			
Kladívko	43.0	7.0	36.0	0.1628	0.8372			
Celkem	80.0	24.0	56.0	0.3000	0.7000			
<i>Interval spolehlivosti (P1-P2)</i>								
Metoda	Hodnota	Hranice spolehlivosti: dolní 95%				horní 95%		
Farrington & Manning test	0.2967	0.0968				0.4812		
<i>Oboustranný test nulové hypotézy (H0: P1 = P2 versus H1: P1 &lt;&gt; P2 )</i>								
Název testu	Test statistického rozložení dat	Hladina významnosti	Přijetí alternativní hypotézy H1 na 5% hladině významnosti					
Fisher's Exact	Hypergeometrický	0.0065	Ano					

## 2. Výskyt těžké destrukce kůstek u dětí a dospělých

U pacientů mladších 18 let byla prokázána destrukce II. stupně ve 38 % vyšetřených kůstek, u pacientů starších 18 let ve 39 %. Rozdíl ve výskytu těžké destrukce kůstek u dětí a dospělých není statisticky významný ( $p=0,303$ , Tab. 4).

**Tab. 4** Statistické zpracování stupně destrukce středoušních kůstek u dětí a dospělých pacientů.

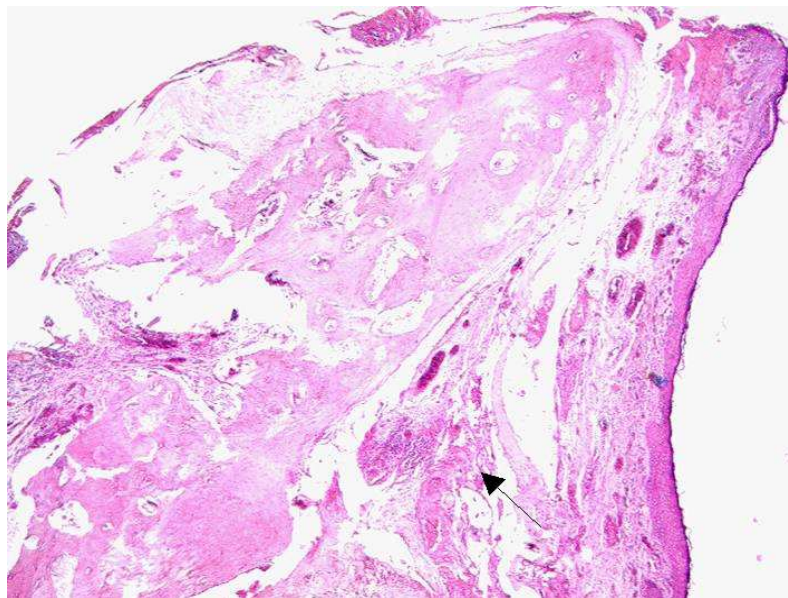
<i>Test shody dvou proporcí</i>								
				N1	N2	M1	M2	N
A	B	C	D	(A+C)	(B+D)	(A+B)	(C+D)	(N1+N2)
děti	dospělí	děti	dospělí					
destrukce II.st.	destrukce II.st.	destrukce I.st.	destrukce I.st.					
6	11	10	17	16	28	17	27	44
<i>Rozložení dat</i>								
		Počet kůstek	Destrukce		% zastoupení			
			II. stupně	I. stupně	II. stupně	I. stupně		
Děti		16.0	6.0	10.0	0.3750	0.6250		
Dospělí		28.0	11.0	17.0	0.3929	0.6071		
Celkem		44.0	17.0	27.0	0.3864	0.6136		
<i>Interval spolehlivosti (P1-P2)</i>								
Metoda		Hodnota		Dolní 95%		Horní 95%		
		hranice spolehlivosti						
Farrington & Manning test		-0.0179		-0.2935		0.2776		
<i>Oboustranný test nulové hypotézy (H0: P1 = P2 versus H1: P1 &lt;&gt; P2 )</i>								
Název testu	Test statistického rozložení dat		Hladina významnosti	Přijetí alternativní hypotézy H1 na 5% hladině významnosti				
Fisher's Exact	Hypergeometrický		0.303227	Ne				

### 3. Lymfocytární infiltrace dřevných prostor kůstky

Lymfocytární infiltrace dřevných prostor středoušních kůstek byla pozorována v pěti případech, 3krát bylo postiženo kladívko, 2krát kovadlinka. Statistické porovnání četnosti lymfocytární infiltrace kovadlinky a kladívka není uvedeno pro malý počet takto postižených kůstek.

### 4. Vztah cholesteatomu ke středoušní kůstce

Vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám byl studován u 15 kůstek, 7 kladívek a 8 kovadlinek. U šesti kůstek byla pozorována těžká destrukce II. stupně. Histologické vyšetření potvrdilo přítomnost cholesteatomu na povrchu všech 15 středoušních kůstek. Dlaždicobuněčný epitel se nachází vždy na povrchu kosti, avšak bylo prokázáno podrůstání cholesteatomu pod tenkou povrchovou kostěnou lamelu (Obr. 11). Nebyla pozorována hlubší infiltrace cholesteatomu do vaskulárních a dřevných prostor.



**Obr. 11** Histologický řez tělem kovadlinky. Šipka ukazuje podrůstání cholesteatomu pod tenkou kostěnou povrchovou lamelu. Kůstka je dekalifikovaná, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x.

Metody odstranění cholesteatomu ze středoušních kůstek byly testovány na 65 kůstkách postižených cholesteatomem.

### 1. Mechanické ošetření

Mechanicky bylo ošetřeno 31 středoušních kůstek, 17 kladívek a 14 kovadlinek. Po odstranění měkkých tkání byl celý povrch kosti vyfrézován diamantovou frézou pod kontrolou operačního mikroskopu. Histologickým vyšetřením takto ošetřených kůstek jsme prokázali kompletní odstranění cholesteatomu u 30 z 31 kůstek (97 %). Reziduální dlaždicobuněčný epitel byl prokázán na povrchu 1 kůstky. Jednalo se o těžce destruované kladívko (Obr. 12).



**Obr. 12** Histologický řez hlavičkou kladívka po mechanickém ošetření. Šipka směřuje k reziduu dlaždicobuněčného epitelu po ošetření. Kůstka je dekalifikovaná, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x.

### 2. Kombinace mechanického a termického ošetření

Druhou metodou je kombinace mechanického a termického ošetření. Povrch 34 středoušních kůstek, 19 kladívek a 15 kovadlinek, byl vyfrézován diamantovou frézou pod

kontrolou mikroskopu a následně termicky devitalizován autoklávováním po dobu 4 min. při teplotě 134 °C. Destrukci II. stupně jsme prokázali u 7 kůstek (hodnoceno před frézováním kůstek). Kombinací mechanického ošetření s následným autoklávováním byl zcela eliminován cholesteatom ve všech vyšetřených kůstkách. Kůstky si zachovaly svou strukturu lamelární kosti, nebyla zaznamenána lymfocytární infiltrace dřevných prostor (Obr. 13).

Statistickým zpracováním výskytu reziduální choroby (Tab. 3) nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi ošetřením mechanickým a kombinací mechanického ošetření s autoklávováním ( $p=0,4769$ ).

**Tab. 3 Porovnání mechanického (mech.) ošetření a kombinace mechanického ošetření s autoklávováním (mech.+ autokl.) středoušních kůstek.**

<i>Test shody dvou proporcí</i>								
A	B	C	D	N1	N2	M1	M2	N
	(N1+N2)			(A+C)	(B+D)	(A+B)	(C+D)	
<i>mech.+autokl.</i>	<i>mech.</i>	<i>mech.+autokl.</i>	<i>mech.</i>					
<i>úspěšně</i>	<i>úspěšně</i>	<i>neúspěšně</i>	<i>neúspěšně</i>					
34	30	0	1	34	31	64	1	65
<b>Rozložení dat</b>								
	Počet kůstek	Úspěšně	Neúspěšně	% zastoupení ošetření úspěšného				
<i>Metoda ošetření neúspěšného</i>								
<i>mech.+autokl.</i>	34.0	34.0	0.0	1.0000	0.0000			
<i>mech.</i>	31.0	30.0	1.0	0.9677	0.0323			
<i>celkem</i>	65.0	64.0	1.0	0.9846	0.0154			
<b>Interval spolehlivosti (P1-P2)</b>								
<i>Metoda</i>	<i>Hodnota</i>	<i>Dolní 95% hranice spolehlivosti</i>	<i>Horní 95% hranice spolehlivosti</i>					
<i>Farrington &amp; Manning test</i>	0.0323	-0.0710	0.1619					
<b>Oboustranný test nulové hypotézy (H0: P1 = P2 versus H1: P1 &lt;&gt; P2 )</b>								
<i>Název testu</i>	<i>Test statistického rozložení dat</i>	<i>Hladina významnosti</i>	<i>Přijetí alternativní hypotézy H1 na 5% hladině významnosti</i>					
<i>Fisher's Exact</i>	<i>Hypergeometrický</i>	0.4769	Ne					



**Obr. 13** Histologický řez tělem kovadlinky po mechanickém ošetření a autoklávování.

Povrch kovadlinky je zbaven epitelu, dřevné prostory jsou bez lymfocytární infiltrace.

Kůstka je dekalifikována, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x.

Zastoupení kůstek v jednotlivých skupinách, stupeň destrukce, lymfocytární infilraci dřevných prostor a průkaz cholesteatomu po ošetření středoušních kůstek shrnuje tabulka 4.

**Tab. 4** Sledované parametry v jednotlivých skupinách ošetření kůstek.

<i>Ošetření kůstek</i>	<i>Počet kůstek</i>	<i>Kladívko / kovadlinka</i>	<i>Destrukce I. st. / II. st.</i>	<i>Lymfocytární infiltrace dřene</i>	<i>Cholesteatom</i>
<i>Žádné</i>	15	7 / 8	9 / 6	2	15
<i>Mechanické</i>	31	17 / 14	24 / 7	3	1
<i>Mechanické a termické</i>	34	19 / 15	27 / 7	0	0

## **2.4 Experimentální část studie**

### **2.4.1 Úvod**

V klinické části studie jsme zkoumali vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám a testovali dvě metody ošetření středoušních klůstek k eliminaci reziduálního cholesteatomu. Zatímco mechanické ošetření středoušní kůstky patří mezi standardní procesy úpravy autologního materiálu před implantací, autoklávování je metodou ve středoušní chirurgii nepoužívanou. Proto jsme se rozhodli sledovat vliv autoklávování na stabilitu středoušních klůstek a jejich integraci do středouší v experimentu na zvířeti.

### **2.4.2 Materiál a metodika**

#### **2.4.2.1 Experimentální zvíře**

Pro experiment na středoušních kůstkách bylo zvoleno morče. Do projektu bylo zařazeno 18 samic hmotnosti 380 – 420g. Dvě experimentální zvířata byla určena pro zavedení metodiky, volbu optimálního operačního přístupu, standardizaci anestezie i samotného operačního výkonu. Dalších 16 zvířat bylo určeno k operačnímu výkonu s reimplantací kladívko-kovadlinkového komplexu do tympanické buly. S odstupem 30 dnů (+/- 2 dny) po operaci bylo experimentální zvíře usmrceno éterem a provedena explorace středoušní buly, odstraněn kladívko-kovadlinkový komplex, dekalifikován a histologicky zpracován.

Studie je schválena dle § 11 vyhlášky č. 207/2004 sb., o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat Odbornou komisí Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové č. 19951/2009-30.

#### **2.4.2.2 Anestezie**

Operační výkon byl proveden v celkové anestezii. Volili jsme disociativní anestezii se zachováním spontánní ventilace a reflexní činnosti operovaného zvířete. Použili jsme ketamin (Calypsol) v dávce 0,1ml/100g hmotnosti morčete podaný intramuskulárně v kombinaci xylazinem (Xylazine) v dávce 0,025ml/100g hmotnosti morčete podaným



intramuskulárně. Při zavádění metody se osvědčilo ředění intramuskulární injekce fyziologickým roztokem v poměru 1:1. Tím došlo k prodloužení účinku anestetika v důsledku prodlouženého vstřebávání účinné látky.

V případě nedostatečného účinku intramuskulární injekce z důvodu prodlouženého operačního výkonu nebyla další dávka opakována pro riziko úmrtí morčete, ale byla dána přednost inhalačnímu podání éteru inhalační maskou na dobu nutnou pro dokončení operačního výkonu.

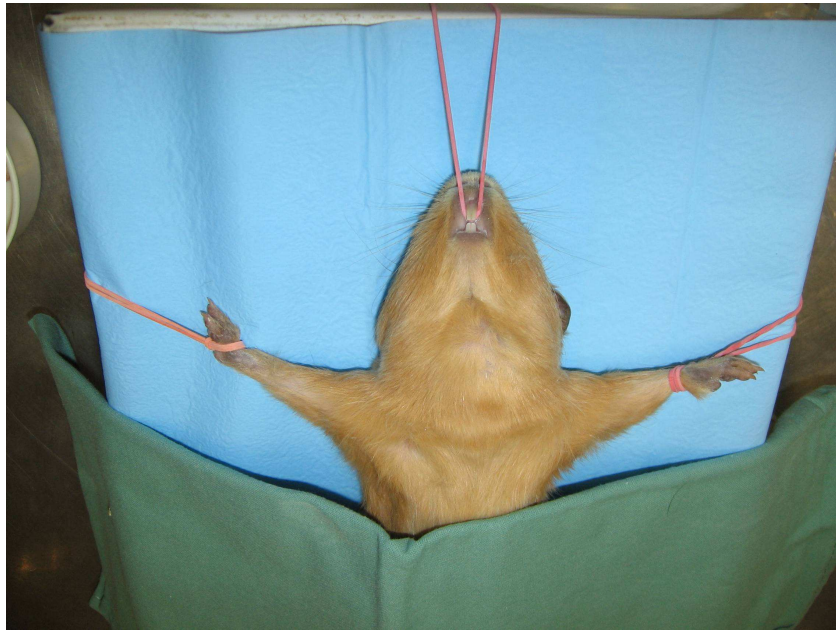
### **2.4.2.3 Volba operačního přístupu**

Při zavádění metodiky byla středoušní dutina otevřena ze zadního i předního přístupu na prvních dvou morčatech.

Při zadním přístupu experimentální zvíře leží na břiše a končetiny jsou fixovány v extenzi k operační plošině. Řez byl veden za ušním boltcem. Postupem přes měkké tkáně byla obnažena spánková kost s šetřením zevního zvukovodu jako orientační strukturou disekce. Palpací byla identifikována bula a následně otevřena ručním vrtákem. Tím byl získán přístup do zadní (mastoideální) části buly. Zadní část je oddělená od přední části buly kostní lamelou, což neumožňuje přímý pohled na středoušní kůstky. Pro přístup ke kladívkokovadlinkovému komplexu je nutno odstranit kostěnou bariéru mezi oběma prostory spánkové kosti a dále část kostěného zvukovodu.

Při předním přístupu leží experimentální zvíře na zádech, hlava je v záklonu fixována k operační plošině, končetiny jsou fixované v extenzi (Obr. 14). Řez je veden kraniokaudálně, mediálně od úhlu čelisti. Měkkými tkáněmi longitudinálně mezi svaly je proniknuto na tympanickou bulu, ze které je odstraněna svalová vrstva. Bula je otevřena ručním vrtákem. Pro dostatečný přístup k bubínku a středoušním kůstkám je vytvořen otvor v dorzální stěně buly rozměru 3 x 3 mm. Tím je získán přístup do přední (bubínkové) části buly, kde je v epitympanální části uložen inkudomaleární komplex. Tímto přístupem je dobře identifikovatelný bubínek, manubrium kladívka, středoušní kůstky a kochlea.

Pro náš experiment jsme zvolili přední přístup. Přestože je tento přístup časově náročnější, pro přístup k bubínku a středoušním kůstkám je vhodnější, umožňuje manipulaci ve středouší potřebnou k odstranění a zpětné implantaci kladívko-kovadlinkového komplexu.



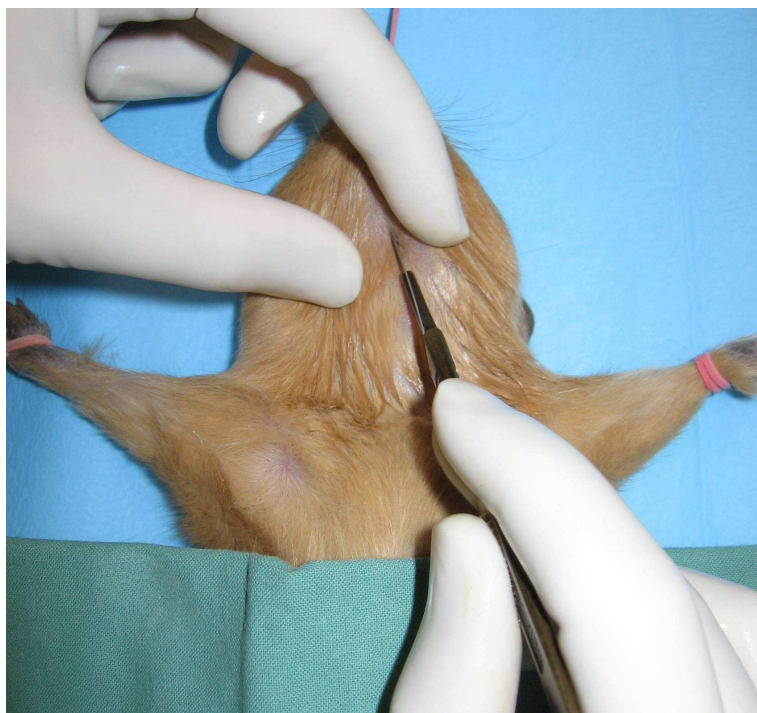
**Obr. 14** Poloha experimentálního zvířete při operaci.

#### **2.4.2.4 Operační výkon**

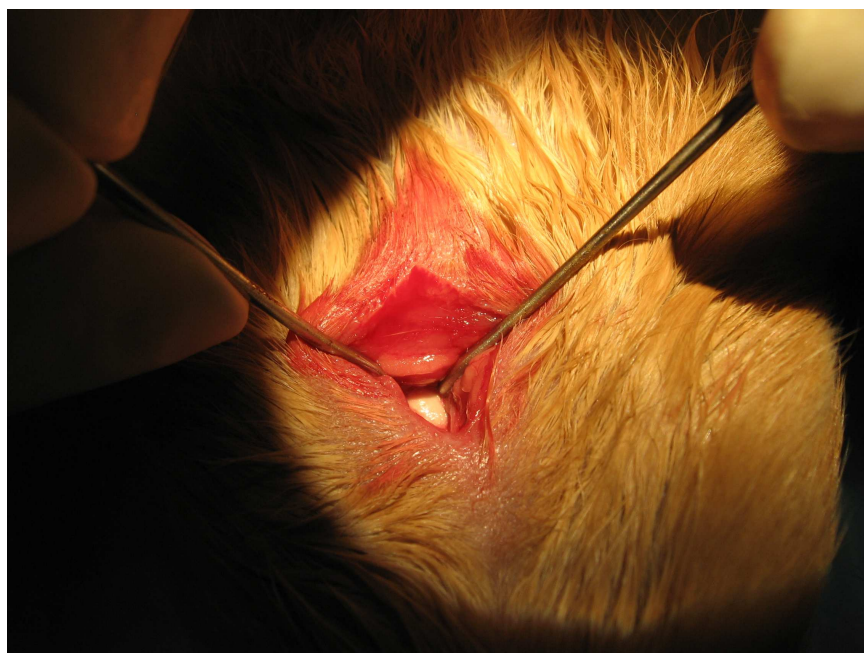
V celkové anestezii bylo experimentální zvíře fixováno na operačním stole v poloze na hřbetě s extenzí končetin a hlavičky. Po vyhojení operačního pole byl veden kožní řez na krku v místě odpovídajícím tympanické bule (Obr. 15). Pod kontrolou operačního mikroskopu bylo proniknuto měkkými tkáněmi na kost tympanické buly (Obr. 16). Perforátorem byla otevřena bule v takovém rozsahu, aby byl vizualizován bubínek, středoušní kůstky a kochlea (Obr. 17).

Z mediální strany byla provedena perforace bubínku se zachováním přilehlé části bubínku na manubriu kladívka. Byla snesena kostěná přepážka kryjící hlavičku kladívka a tělo kovadlinky, rozklouben dlouhý výběžek kovadlinky od suprastruktur třmínku a celý kladívkokovadlinkový komplex byl odstraněn. (Obr. 18).

Kladívko-kovadlinkový komplex i s přilehlou částí bubínku byl autoklávován při teplotě 134 ° C po dobu 4 minut. Následně byl kostěný komplex implantován zpět do tympanické buly morčete. Kostěný defekt buly ani perforace bubínku nebyla zacelena plastikou. Operační pole bylo propláchnuto framykoinem (Pamycon) a v jedné vrstvě byla provedena sutura rány (Obr. 19).



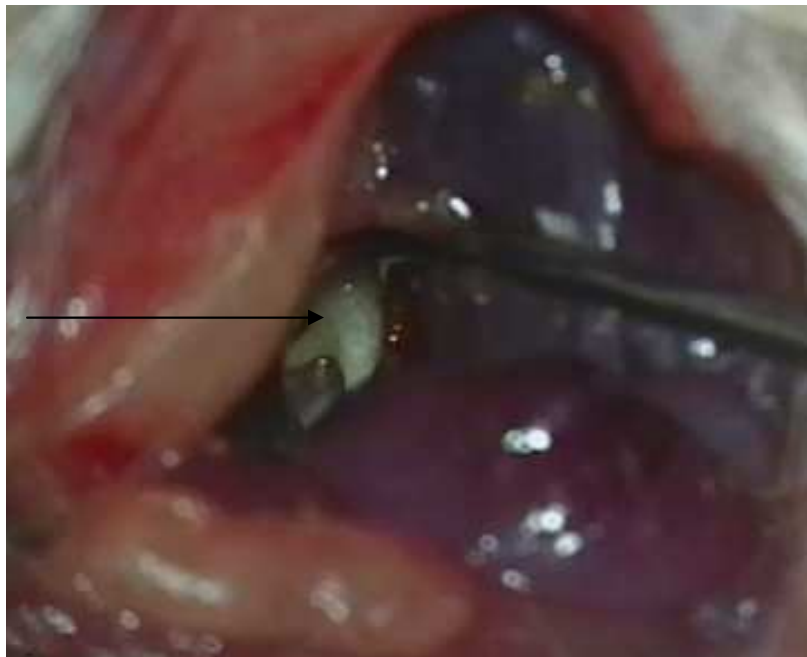
**Obr. 16** Kožní řez v místě odpovídající tympanické bule.



**Obr. 17** Obnažena tympanická bula vlevo.



**Obr. 18** Pohled na bubínek a k němu fixované manubrium kladívka.



**Obr. 19** Vynětí kladívko-kovadlinkového komplexu. Šipka ukazuje odstraňované kůstky.



**Obr. 20 Sutura operační rány.**

#### **2.4.2.5 Histologické vyšetření**

Odběr kladívkokovadlinkového komplexu pro histologické vyšetření bylo provedeno 30 dnů ( $\pm 2$  dny) po implantaci. Kostěný komplex byl fixován v 10% formaldehydu a následně dekalcifikován elektrolýzou v systému Sakura TDE 30 Decalcifier System. Tkáňové bloky byly standardně barveny hematoxylinem a eosinem a histologicky vyšetřeny světelným mikroskopem.

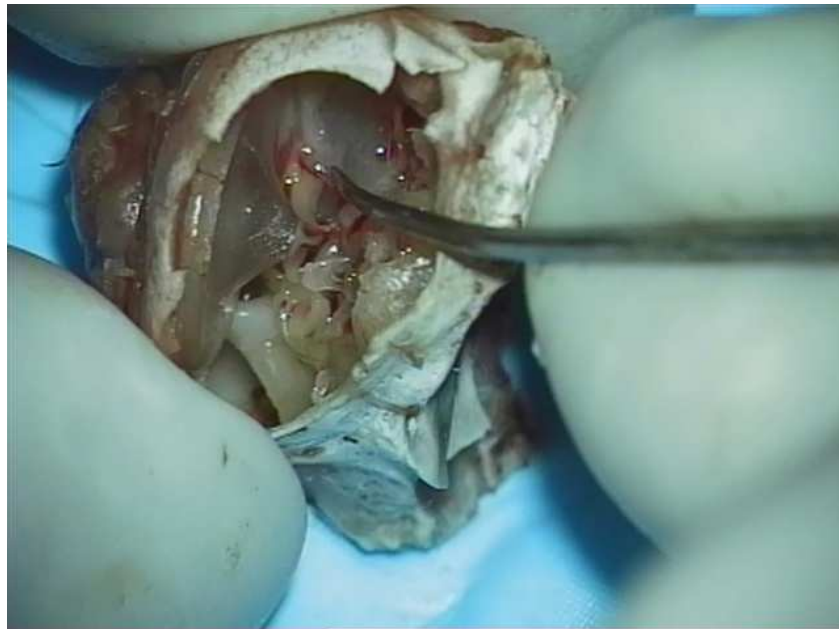
#### **2.4.3 Výsledky**

Operace všech 16 experimentálních zvířat proběhla bez komplikací. V pooperačním období se nevyskytla ranná infekce, pooperační krvácení, známky poruchy vestibulární funkce, nebyl zaznamenán ušní výtok či celkové známky infekce.

### 2.4.3.1 Středouší morčete

Volbou předního přístupu otevíráme pneumatický systém spánkové kosti ze spodní stěny, což nám umožňuje dostatečný přístup k přední (bubínkové) části buly. Standardně jsme otevřeli tympanickou bulu kostěným otvorem velikosti 3 x 3 mm, který je dostatečný k přístupu na středoušní kůstky a blanku bubínku.

Přední bubínková část buly je oddělena od zadní (dorzální buly) kostěnou přepážkou. Dorzální bula netvoří jednotnou dutinu, ale bývá oddělena tenkými subsepty na dvě či více dutin. Větší přední část buly tvoří vlastní dutinu bubínkovou. Má tvar lichoběžníku s tenkou kostěnou stěnou. Její rozměry jsou dorzoventrálně 8 mm, lateromediálně 5 mm a anteroposteriorně 9 mm. V horní části tympanické buly se za tenkou kostěnou přepážkou nachází hlavička kladívka a tělo kovádlinky. Toto tenké subseptum jsme našli u všech operovaných morčat (Obr. 21).



**Obr. 21** Pohled do tympanické buly morčete. Hrot nástroje ukazuje na kostěné septum kryjící kladívko-kovádlinkový komplex.

Odstraněním kostěného subsepta získáme přístup k hlavičce kladívka a k tělu kovádlinky, které jsou pevně fixované v jeden celek. Toto pevné spojení kladívka a kovádlinky jsme pozorovali u všech experimentálních zvířat. Při operačním výkonu nelze jednotlivé kůstky separovat, je nutno uvolnit celý inkudomaleární komplex (Obr. 22).

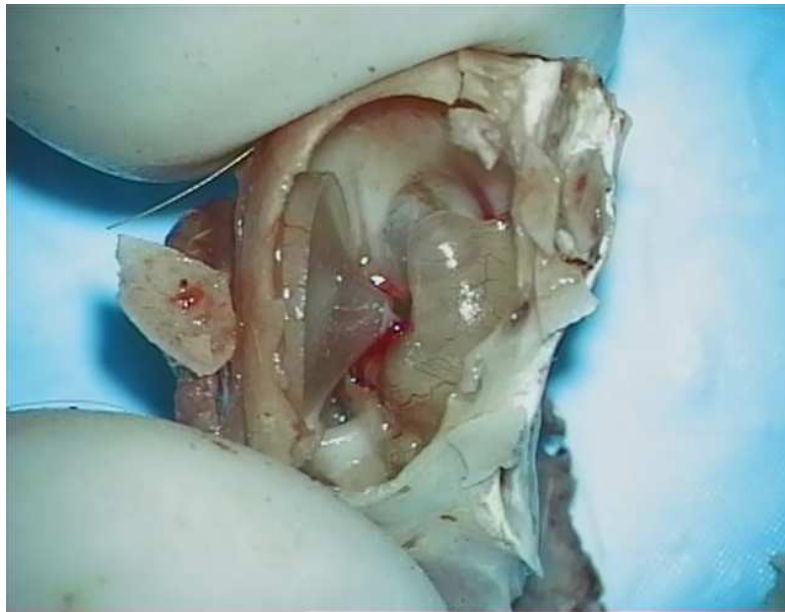


**Obr. 22 Kladívkokovádlinkový komplex.** Šipka ukazuje místo pevného spojení kladívka a kovádlinky synchondrózu.

Pevně spojený komplex hlavičky kladívka a těla kovádlivky měří v průměru 3 x 1 mm, manubrium kladívka 2,5 mm, dlouhý výběžek kovádlinky 1 mm. Inkudomaleární komplex je zavěšen dorzálním ligamentem, upínajícím se na krátký výběžek kovádlinky, dále silným kraniálním a méně silnými ligamenty směřujícími mediálně a laterálně. Dlouhý výběžek kovádlinky je kloubně spojen s hlavičkou třmínku. Suprastruktury třmínku měří v průměru 1,3 mm. Ploténka třmínku je vsazena do oválného okénka labyrintu.

Bubínek je zasazen do tympanického prstence (Obr. 23). Tympanický prstenec je cylindrického tvaru o rozměrech v 4,8 x 5,4 mm a tvoří stěny zevního zvukovodu. K bubínku je pevně fixováno velmi tenké manubrium kladívka. Manubrium kladívka je velmi fragilní a při pokusu o separaci od bubínku se láme. Pro náš experiment nebylo potřeba oddělovat bubínek od manubria kladívka. Ponechání části dlaždicobuněčného epitelu bubínku na

manubriu kladívka bylo žádoucí. Byla proto provedena centrální perforace bubínku s ponecháním centrální části bubínku fixované v oblasti umbo. Tento postup umožnil odstranění celé kůstky i s dlaždicobuněčným epitelem bubínku. Arteficiálně vzniklá perforace bubínku nebyla kryta plastikou.



**Obr. 23** Pohled na bubínek, tympanický prstenec, manubrium kladívka, závitý kochley.

Přední operační přístup nám umožňuje velmi dobrý přístup k závitům kochley. Kochlea výrazně prominuje do tympanické buly z mediální stěny. Inferiorně od kostěného valu lícního nervu lze na mediální stěně buly identifikovat vkleslinu okrouhlého okénka, oválné okénko je kryté ploténkou třmínku. Posteriozně od této oblasti se nachází prominence zadního polokruhovitěho kanálku vnitřního ucha. Na rozdíl od člověka má kochlea morčete 4 závitů. Její dlouhá osa směřuje laterálně a rostrálně. Vrchol kochley je uložen volně v tympanické bule bez kontaktu s okolními strukturami (Obr. 24).





**Obr. 24** Pohled na závitý kochley v tympanické buly. Hrot nástroje ukazuje na vrchol kochley, který ční volně do dutiny tympanické buly.

#### **2.4.3.2 Klinické nálezy po implantaci středoušních kůstek**

Při revizi tympanické buly 30 dnů ( $\pm 2$  dny) po implantaci jsme hodnotili:

- reakci středoušní sliznice na autoklávané kůstky,
- výskyt cholesteatomu po implantaci autoklávaného dlaždicobuněčného epitelu bubínku,
- reparační změny bubínku a kosti tympanické buly.

#### Reakce středoušní sliznice na autoklávané středoušní kůstky

Středouší morčete 30 dnů ( $\pm 2$  dny) po implantaci autoklávané středoušní kůstky bylo bez známek hnisavého zánětu u všech experimentálních zvířat (Obr. 25). Středoušní dutina byla vystlaná klidnou sliznicí, nebyla zaznamenána sekrece ani hypertrofie sliznice.

Inkudomaleární komplex byl přihojen u všech 16 experimentálních zvířat v místě implantace. Nebyl zaznamenán rozpad kostního štěpu či jeho zjevné odhojení.

U 12 z 16 implantovaných středoušních kůstek (75 %) bylo prokázáno přerůstání okolní středoušní sliznice na implantovanou středoušní kůstku. U 8 z 16 implantovaných kůstek

(50 %) došlo k pevnému srůstu kůstky k okolní kosti a k histologickému vyšetření bylo nutno inkudomaleární komplex od kostěné stěny odlomit.



**Obr. 25** Pohled do tympanické buly 30 dnů po implantaci autoklávovaného inkudomaleárního komplexu. Hrot nástroje ukazuje místo implantace.

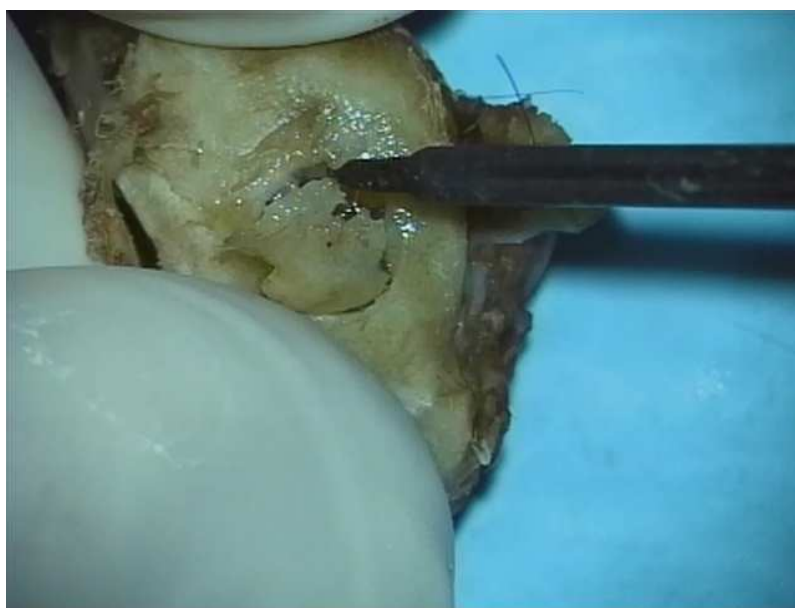
#### Výskyt cholesteatomu po implantaci autoklávovaného dlaždicobuněčného epitelu bubínku

Při operačním výkonu byl implantován do středouší morčete autoklávovaný dlaždicobuněčný epitel části bubínku fixovaného k manubriu kladívka. S odstupem 30 dnů ( $\pm$  2 dny) byla tympanická bula morčete systematicky vyšetřena k vyloučení známek cholesteatomu. Operačním mikroskopem byla revidována oblast implantace, následně byl odstraněn implantovaný inkudomaleární komplex a byla provedena inspekce celé tympanické buly. Znamky cholesteatomu nebyly pozorovány u žádného s vyšetřených zvířat. Inkudomaleární komplex byl pak vyšetřen histologicky k vyloučení mikroskopického zbytku vitálního dlaždicobuněčného epitelu (viz kapitola 2.4.3.3).

### Reparační změny bubínku a kosti tympanické buly

Při operačním výkonu byl vytvořen otvor ve spodní kostěné stěně tympanické buly o rozměru 3 x 3 mm. Za 30 dnů ( $\pm 2$  dny) jsme hodnotili překrytí defektu kosti membránou či kompletní zacelení defektu novotvořenou kostí.

U 8 z 16 operovaných zvířat (50 %) byl defekt v tympanické bule překryt pouze měkou tkání, u stejného počtu zvířat bylo prokázáno kompletní překrytí defektu novotvořenou kostí (Obr. 26).



**Obr. 26 Odlomení novotvořené kosti perforátorem při exploraci tympanické buly 30 dnů po operaci.**

Při odběru inkudomaleárního komplexu byla vytvořena centrální perforace bubínku. V pooperačním období nedošlo k rozvoji akutního středoušního zánětu u žádného z operovaných zvířat. S odstupem 30 dnů ( $\pm 2$  dny) od operace jsme hodnotili spontánní zhojení perforace bubínku. Perforace byla zhojena u 8 z 16 operovaných zvířat (50 %) s nálezem celistvého bubínku a vzdušného středouší. U morčat s perzistující perforací bubínku bylo středouší suché, s klidnou sliznicí.

Statistické zpracování závislosti výskytu reparativních a adhezivních změn ve středouší

- závislost mezi zacelením bubínku a zacelením otvoru v tympanické bule novotvořenou kostí (Tab. 5).

**Tab. 5 Zacelení bubínku a překrytí defektu tympanické buly novotvořenou kostí.**

<b>Test hypotézy nezávislosti v kontingenční tabulce</b>			
	<i>Bubínek</i>	<i>Bubínek</i>	
<i>Bula</i>	<i>celistvý</i>	<i>s perforací</i>	<i>Celkem</i>
<i>s defektem</i>	2	6	8
<i>kryto kostí</i>	6	2	8
<i>Celkem</i>	8	8	16
<b>Výskyt sledovaného znaku v %</b>			
	<i>Bubínek</i>	<i>Bubínek</i>	
<i>Bula</i>	<i>celistvý</i>	<i>s defektem</i>	<i>celkem</i>
<i>s defektem</i>	25.0	75.0	100.0
<i>kryto kostí</i>	75.0	25.0	100.0
<i>Celkem</i>	50.0	50.0	100.0
<b>Fisher's Exact Test</b>			
	<i>P1</i>	<i>P2</i>	
<i>Rozdělení</i>	0.250000	0.750000	
<i>Rozdíl (D0 = P1-P2)</i>	-0.500000		
<i>Koeficient korelace</i>	-0.500000		
<b>Hypotéza</b>			
<i>Hypotéza</i>	<i>Proband</i>	<i>Ty testu</i>	
<i>H0: P1=P2</i>			
<i>Ha: P1&lt;P2</i>	0.065967	<i>Jednostranný</i>	
<i>Ha: P1&gt;P2</i>	0.994949	<i>Jednostranný</i>	
<i>Ha: P1&lt;&gt;P2</i>	0.131935	<i>Oboustranný</i>	

Ke spontánnímu zacelení bubínku došlo u 8 z 16 operovaných zvířat (50 %). U 6 z 8 experimentálních zvířat se zaceleným bubínkem byl defekt v tympanické bule překryt novotvořenou kostní tkání. Nebyla prokázána statisticky signifikantní závislost mezi zacelením bubínku a zacelením otvoru v tympanické bule novotvořenou kostí ( $p=0,132$ ).

2. závislost mezi zacelením perforace bubínku a pevnou fixací inkudomaleárního komplexu ke stěně tympanické buly (Tab. 6).

**Tab. 6** Statistické zpracování závislosti zacelení bubínku a fixace implantovaného inkudomaleárního komplexu k okolní kosti.

<b>Test hypotézy nezávislosti v kontingenční tabulce</b>			
	<i>Bubínek</i>	<i>Bubínek</i>	
<i>Kůstky</i>	<i>celistvý</i>	<i>s perforací</i>	<i>Celkem</i>
<i>fixované</i>	2	6	8
<i>nefixované</i>	6	2	8
<i>Celkem</i>	8	8	16
<b>Výskyt sledovaného znaku v %</b>			
	<i>Bubínek</i>	<i>Bubínek</i>	
<i>Kůstky</i>	<i>celistvý</i>	<i>s defektem</i>	<i>celkem</i>
<i>sfixované</i>	25.0	75.0	100.0
<i>nefixované</i>	75.0	25.0	100.0
<i>Celkem</i>	50.0	50.0	100.0
<b>Fisher's Exact Test</b>			
	<i>P1</i>	<i>P2</i>	
<i>Rozdělení</i>	0.250000	0.750000	
<i>Rozdíl (D0 = P1-P2)</i>	-0.500000		
<i>Koeficient korelace</i>	-0.500000		
<b>Hypotéza</b>			
<i>Proband</i>	<i>Typ testu</i>		
<i>H0: P1=P2</i>			
<i>Ha: P1&lt;P2</i>	0.065967	<i>Jednostranný</i>	
<i>Ha: P1&gt;P2</i>	0.994949	<i>Jednostranný</i>	
<i>Ha: P1&lt;&gt;P2</i>	0.131935	<i>Oboustranný</i>	

. U 8 z 16 implantovaných kůstek (50 %) došlo k pevnému srůstu kůstky k okolní kosti, z toho u 2 uší byl bubínek celistvý, u 6 uší přetrvávala perforace bubínku. Nebyla prokázána statisticky signifikantní závislost mezi zacelením bubínku a pevnou fixací kůstek k okolní kosti ( $p=0,132$ ).

3. závislost mezi perzistující perforací bubínku a výskytem srůstů ve středoušní dutině (Tab. 7).

**Tab. 7** Statistické zpracování závislosti zacelení perforace bubínku a výskytu srůstů ve středouší.

<b>Test hypotézy nezávislosti v kontingenční tabulce</b>			
	<i>Bubínek</i>	<i>Bubínek</i>	
<i>Srůstý</i>	<i>celistvý</i>	<i>s perforací</i>	<i>Celkem</i>
<i>ano</i>	4	4	8
<i>ne</i>	4	4	8
<i>Celkem</i>	8	8	16
<b>Výskyt sledovaného znaku v %</b>			
	<i>Bubínek</i>	<i>Bubínek</i>	
<i>Srůstý</i>	<i>celistvý</i>	<i>s perforací</i>	<i>Celkem</i>
<i>ano</i>	50.0	50.0	100.0
<i>ne</i>	50.0	50.0	100.0
<i>Celkem</i>	50.0	50.0	100.0
<b>Fisher's Exact Test</b>			
		<i>P1</i>	<i>P2</i>
<i>Rozdělení</i>		0.500000	0.500000
<i>Rozdíl (D0 = P1-P2)</i>		0.000000	
<i>Koeficient koelace</i>		0.000000	
<b>Hypotéza</b>			
	<i>Proband</i>	<i>Typ testu</i>	
<i>H0: P1=P2</i>			
<i>Ha: P1&lt;P2</i>	0.690365	<i>Jednostranný</i>	
<i>Ha: P1&gt;P2</i>	0.690365	<i>Jednostranný</i>	
<i>Ha: P1&lt;&gt;P2</i>	1.000000	<i>Oboustranný</i>	

Srůstý ve středouší byly pozorovány u 4 experimentálních zvířat s perforací buínku a 4 zvířat se zaceleným bubínkem. Nebyla prokázána statisticky signifikantní závislost mezi perforací bubínku a výskytem srůstů ve středouší ( $p=1,0$ ).

### 2.4.3.3 Histologické nálezy po implantaci středoušních kůstek

Dekalcifikací spánkové kosti a následnými histologickými řezy v příslušných rovinách jsme získali podrobnější informace o anatomii středouší morčete.

Řez spánkovou kostí na obr. 27 ukazuje poměr přední bubínkové části k dorzální bule oddělené kostěnou přepážkou. Větší přední část buly tvoří vlastní dutinu bubínkovou s tenkou kostěnou stěnou. Na mediální stěně dutiny prominují do středouší závit kochley. Na obr. 28 je řez dlouhou osou kochley. Kochlea má 4 závitů, jejíž osa směřuje laterálně a rostrálně do středoušní dutiny. Vrchol kochley je uložen volně v tympanické bule bez kontaktu s okolními strukturami.

Středoušní dutina je vystlaná plochým až kubickým jednovrstevným epitelem. Neprokládali jsme řasinkový epitel ani dlaždicobuněčný epitel ve středoušní dutině vyšetřených spánkových kostí.

V otvoru spojujícím ventrální a dorzální bulu se nachází hlavička kladívka a tělo kovadlinky. Kůstky jsou srostlé synchrondrózou v jeden celek (kladívko-kovadlinkový komplex, Obr. 29).

Histologickým vyšetřením implantovaného autoklávovaného kladívko-kovadlinkového komplexu nebyly zjištěny změny v anorganické struktuře kosti. Kost si zachovává lamelární strukturu, jsou zachovány Haverské systémy kostní tkáně.

U všech 16 experimentálních zvířat byl autoklávováním devitalizován dlaždicobuněčný epitel na povrchu kladívka (ponechaná část bubínku fixovaného k manubriu). Histologické vyšetření 30 dní po implantaci neprokázalo výskyt dlaždicobuněčného epitelu na povrchu středoušních kůstek. Na povrch kůstek přerůstá plochý až kubický epitel středoušní sliznice (Obr. 30).

Autoklávováním dochází ke zjevnému úbytku vitálních osteocytů a vyprázdnění části dřevných prostor. Nedochozí však k úplné devitalizaci kosti. Část osteocytů zůstává vitálních, v jejím okolí jsou zachovány cévy. Byl zaznamenán i proces osteoneogeneze. Vitální osteocyty zaujímající více než 5 % kostní hmoty byly prokázány v 7 z 16 vyšetřených kůstek (44 %). Ve 3 případech byla prokázána na periferii kůstky novotvorba nezralé pletivové kosti (Obr. 31). U všech 16 kůstek byly přítomny vitální chondrocyty v místě inkudomaleární synchrondrózy (Obr. 32).

Dřevné prostory kladívka a kovadlinky jsou protáhlé, oválné, ve většině případů prázdné, bez hemopoetické tkáně. U 4 z 16 vyšetřených kostních komplexů (25 %) byly prokázány fibroblasty a kapiláry, nebyla však prokázána hemopoetická tkáň.

Cévní prostory kůstek jsou drobné, protáhlé či okrouhlé. U všech vyšetřených vzorků byly přítomny v cévních prostorech erytrocyty.

Histologické nálezy autoklávovaných středoušních kůstek 30 dnů po implantaci do středouší shrnuje tabulka 8.

**Tab. 8 Výskyt sledovaných parametrů u autoklávovaných středoušních kůstek 30 dnů po implantaci do středouší morčete.**

<i>Parametr</i>	<i>Počet inkudomaleárních komplexů</i>	<i>Relativní četnost výskytu (jednotky %)</i>
<i>Vitální osteocyty &gt; 5 %</i>	<b>7</b>	<b>44</b>
<i>Vitální chondrocyty</i>	<b>16</b>	<b>100</b>
<i>Osteoneogeneze</i>	<b>3</b>	<b>19</b>
<i>Dlaždicobuněčný epitel</i>	<b>0</b>	<b>0</b>
<i>Dřeňové prostory s kapilárami</i>	<b>4</b>	<b>25</b>
<i>Erytrocyty v cévních prostorech</i>	<b>16</b>	<b>100</b>
<i>Celkem</i>	<b>16</b>	<b>100</b>





**Obr. 27 Histologický řez tympanickou a dorzální bulou morčete.**

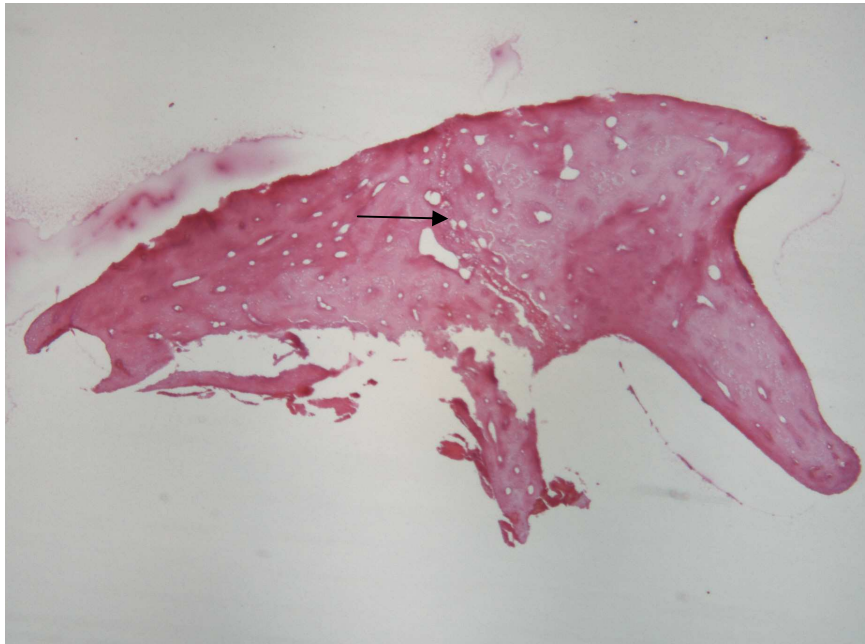
a - tympanická bula, b - kostěná přepážka, c - kochlea, d - dorzální bula.

Spánková kost je dekalciﬁkovaná, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 100 x.



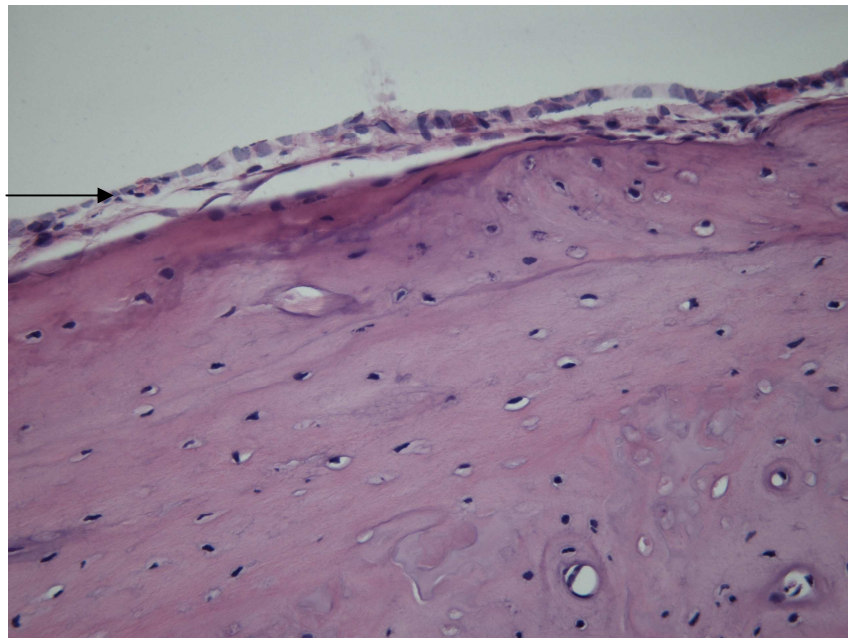
**Obr. 28 Histologický řez kochleou morčete.**

Na řezu jsou zachyceny 4 závitů prominující do tympanické buly, kost je dekalciﬁkovaná, barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 200 x.



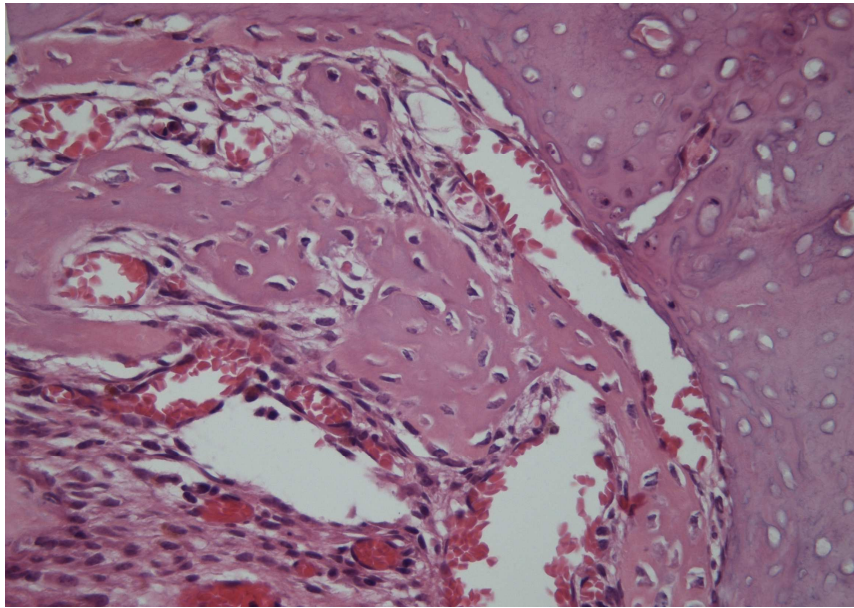
**Obr. 29 Histologický řez kladívko-kovadlinkovým komplexem.**

Šipka ukazuje inkudomaleární synchondrózu. Kůstky jsou dekalcifikovány, barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 200 x.

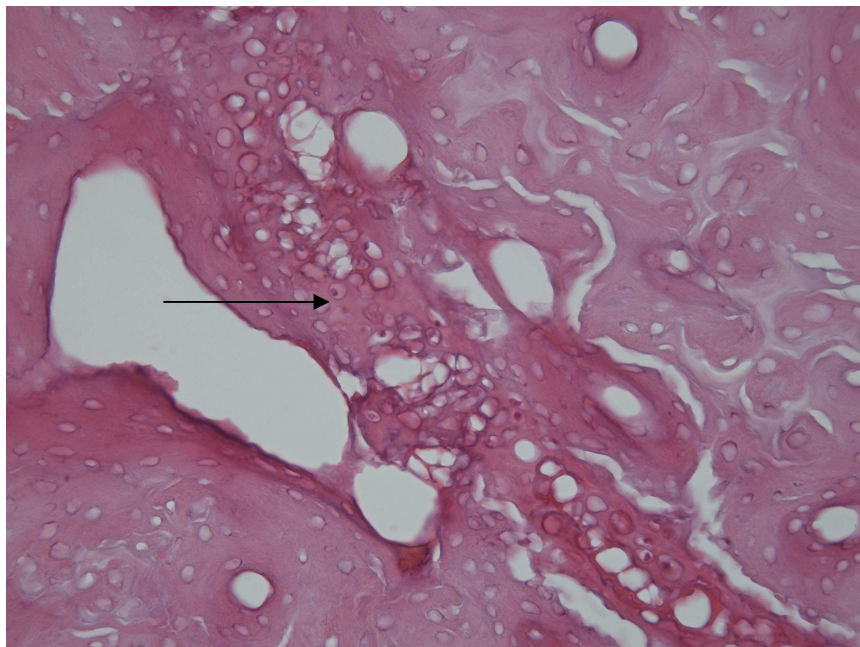


**Obr. 30 29 Povrch kovadlinky.**

Šipka ukazuje na kubický epitel, který se nachází na povrchu středoušní kůstky. Kůstka je dekalcifikovaná, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 400 x.



**Obr. 31 Osteoneogeneze v autoklávované středoušní kůstce.**  
(Dekalcifikace, barvení hematoxylinem a eozinem, zvětšení 400 x)



**Obr. 32 Kladívko-kovadli nková synchondróza.**  
Šipka směřuje k vitálním chondrocytům. Kůstka je dekalifikovaná, barvena hematoxylinem a eozinem, zvětšení 400 x.

### **3. Diskuze**

#### **3.1 Klinická studie**

Autologní středoušní kůstky jsou využívány k rekonstrukci převodního systému pro jejich biokompatibilitu, snadnou dostupnost, dlouhodobou stabilitu a nízkou cenu v porovnání s aloplastickým materiálem. Autologní středoušní kůstky si zachovávají svůj tvar, velikost a strukturální integritu po dlouhou dobu po replantaci do středouší. Studie prokázaly stabilitu tohoto materiálu i po době delší než 25 let (157-159). Vitalita kůstky není podmínkou dlouhodobé funkční stability. Studie ukazují, že nevitální středoušní kůstky si zachovávají svou morfologickou strukturu a přenos zvukové energie je stejný jako u kůstek vitálních (157-159).

U pacientů s cholesteatomem je však nutno brát v úvahu riziko reziduální choroby ve středoušních kůstkách. Postižení středoušních kůstek u pacientů s cholesteatomem je popsáno v mnoha histologických studiích (144-152). V české literatuře byly prvně publikovány nálezy na středoušních kůstkách u pacientů s cholesteatomem Návratilem a kol. v roce 1964 (147). Dnes je všeobecně uznáváno riziko postižení středoušních kůstek cholesteatomem, a proto u pacientů s cholesteatomem je dávána přednost aloplastickému materiálu před autologní středoušní kůstkou. Nicméně hlubší invaze cholesteatomu do vaskulárních a dřevných prostor středoušní kůstky nikdy nebyla prokázána.

##### **3.1.1 Vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám**

V první skupině vyšetřovaných kůstek jsme se zaměřili na vztah cholesteatomu ke středoušním kůstkám. Ve shodě s literaturou (144-151) jsme nenalezli případ hlubší invaze cholesteatomu. Cholesteatom aroduje středoušní kůstku od povrchu. Nicméně byl prokázán případ podrůstání cholesteatomu pod tenkou povrchovou kostní lamelu (Obr. 11). Po mechanickém ošetření povrchu takovéto kůstky pouze studenými nástroji bez použití frézy by velmi pravděpodobně zůstalo reziduum cholesteatomu právě pod povrchovou kostní lamelou. Proto jsme při volbě mechanického ošetření kůstky vždy frézovali celý povrch kůstky pod kontrolou mikroskopu.

Destrukci kovádky a kladívka cholesteatomem jsme rozdělili do dvou stupňů dle velikosti rezidua kůstky. I. stupeň destrukce je lehká aroze kůstky, kdy hlavička kladívka

zůstává větší než 2 mm v průměru a tělo kovadlinky s krátkým výběžkem více než 3 mm. Tyto kůstky jsou dobře využitelné k rekonstrukci převodního systému.

U těžkého stupně destrukce (II. stupeň) je velikost hlavičky kladívka redukována pod 2 mm a velikost těla kovadlinky s krátkým výběžkem pod 3 mm v největším rozměru. Vzhledem k nutnosti další úpravy povrchu a tvaru kůstky se takto destruované kůstky již obvykle nehodí k rekonstrukci řetězu kůstek.

Ve studii jsme porovnávali destrukci kladívka a kovadlinky cholesteatomem. Těžká destrukce II. stupně byla statisticky významně častější u kovadlinky. Těžká destrukce kladívka byla vždy doprovázena destrukcí kovadlinky stejného stupně či jejím úplným chyběním. Tyto nálezy mohou být vysvětleny menší odolností kovadlinky vůči cholesteatomu nebo lokalizací cholesteatomu, který nejdříve postihuje tělo kovadlinky a až později hlavičku kladívka. Histologické nálezy neprokázaly významnější rozdíly ve stavbě kosti kovadlinky a kladívka. U kovadlinky mohou perzistovat větší dřevňové prostory, avšak ty by neměly mít vliv na arozi povrchu těla kovadlinky. Větší dřevňové prostory však mohou perzistovat i v oblasti dlouhého výběžku kovadlinky. U tohoto tenkého a dlouhého výběžku je odděluje od povrchu kosti poměrně tenká lamela kosti, což může být příčinou časté destrukce dlouhého výběžku u chronického středoušního zánětu.

Vyšší výskyt těžké destrukce těla kovadlinky ve srovnání s hlavičkou kladívka může být způsoben lokalizací cholesteatomu. Cholesteatom s nástěnou perforací v zadním horním kvadrantu se predilekčně šíří po zadní stěně bubínkové dutiny do sinus facialis, dosahuje dlouhého výběžku kovadlinky, postupně dochází k usuraci scuta a šíření retrakce do atiku na tělo kovadlinky a hlavičku kladívka. Cholesteatom z retrakce v pars flaccida se šíří na krček kladívka, hlavičku kladívka a tělo kovadlinky. Růst cholesteatomu sleduje fyziologické prostory ventilace atiku. Šíří se posteriorně do aditus ad antrum kolem krátkého výběžku kovadlinky, do antra laterálně, mediálně a superiorně od kladívka a kovadlinky. Predilekční šíření cholesteatomu směrem posteriorním na oblast těla a krátkého výběžku kovadlinky může vysvětlit častější destrukci kovadlinky ve srovnání s hlavičkou kladívka.

Stále kontroverzní zůstává otázka, zda se cholesteatom dětského věku chová odlišně od cholesteatomu u dospělých. Mnoho prací dokládá častější recidivy cholesteatomu v dětském věku ve srovnání s dospělými (161-166, Tab. 9). Důvod častějších recidiv není zcela jasný. Jedním z důvodů může být rozsah pneumatizace spánkové kosti. U dospělých vede dlouhotrvající chronický středoušní zánět ke sklerotickým změnám mastoidního výběžku s výrazným snížením pneumatizace spánkové kosti. U dětí se často šíří cholesteatom do bohatě vyvinuté pneumatizace s obtížnější eradikací choroby z periferních mastoidních

sklípků (164). Některé práce podporují teorii vyšší lokální agresivity dětského cholesteatomu (165,166). Zvýšená hladina růstových faktorů v dětském věku může stimulovat cholesteatom k vyšší proliferační aktivitě. U dětského cholesteatomu byla prokázána zvýšená hladina protilátek MIB 1 proti nukleárnímu antigenu Ki-67, který je exprimován v aktivní části buněčného cyklu (165). Také byla popsána silnější vrstva epiteliální matrix ve srovnání s cholesteatomem dospělých pacientů (166). Matrix cholesteatomu produkuje metaloproteinázy, které mohou být odpovědné za vyšší agresivitu cholesteatomu. V naší studii jsme srovnávali četnost výskytu těžkého stupně destrukce u dětí do 18 let věku a dospělých. Nebylo prokázáno agresivnější chování cholesteatomu dětského věku ke středoušním kůstkám. Rozdíl ve výskytu těžké destrukce kůstek u dětí a dospělých není statisticky významný ( $p=0,303$ ).

**Tab. 9** Výskyt recidivy cholesteatomu po operaci v dětském věku a u dospělých

Recidiva cholesteatomu (relativní četnost)		
<i>Autor</i>	děti	dospělí
<b><i>Glasscock</i></b>	23%	12%
<b><i>Sanna</i></b>	11%	6%
<b><i>Schuring</i></b>	21%	12%
<b><i>De Corso</i></b>	27%	7%

### 3.1.2 Metody ošetření středoušních kůstek

V literatuře jsou publikovány 3 způsoby ošetření středoušních kůstek postižených cholesteatomem (144-146, 148, 153).

První metodou je pouhé snesení měkkých tkání z povrchu kůstky studenými nástroji. Tento způsob ošetření středoušních kůstek přináší riziko perzistence cholesteatomu (dlaždicobuněčného epitelu) na povrchu kůstky až v 64 % případů (144, 148). Histologické

nálezů v první skupině kůstek prokázaly podrůstání cholesteatomu pod povrchovou kostní lamelu, což může vysvětlovat ponechání rezidua cholesteatomu. Proto jsme tento způsob ošetření z naší studie vyloučili.

Druhou metodou je mechanické snesení měkkých tkání s následným frézováním celého povrchu kůstky diamantovou frézou pod kontrolou mikroskopu. Tímto postupem je možno výrazně zredukovat riziko reziduální choroby (145, 148), nicméně rizikové zůstávají těžce destruované kůstky (144, 148, 153) obtížně frézou ošetřitelné. V naší studii jsme touto metodou úspěšně zbavili cholesteatomu 97 % středoušních kůstek. Reziduum cholesteatomu bylo prokázáno v případě těžce destruované kůstky.

Třetím postupem ošetření středoušních kůstek je autoklávování. Autokláv je přístroj konstruovaný pro reakce probíhající za vysokého tlaku a teploty. Autoklávování je možno využít k extrakorporální devitalizaci kosti a následné reimplantaci. Metoda je využívána k devitalizaci tumorem postižené kosti nebo k povrchové sterilizaci (154-156,160). Zatímco k devitalizaci tumoru dlouhých kostí je doporučováno autoklávování po dobu 15 min. při teplotě 134 ° C, k povrchové devitalizaci je doporučována kratší doba nebo nižší teplota autoklávování.

K povrchové devitalizaci (sterilizaci) tkání a mikroorganismů je užíváno několik pracovních protokolů:

- teplota 115 ° C po dobu 30 minut
- teplota 121 ° C po dobu 15 minut
- teplota 134 ° C po dobu 4 minuty.

Tyto standardní protokoly zajišťují stejnou účinnost devitalizace, liší se však vlivem na fyzikální vlastnosti kosti. Vliv autoklávování na fyzikální vlastnosti kostní tkáně byl studován v několika studiích (154-156). Tyto studie prokazují negativní vliv délky autoklávování na fyzikální vlastnosti kosti, zatímco vzestup teploty při procesu autoklávování má vliv jen minimální. Proto je doporučeno při přípravě kosti k následné reimplantaci užití vyšší teploty a kratšího času.

Dostupná data o autoklávování středoušních kůstek jsou limitovaná. Byly publikovány pouze 2 práce studující efekt autoklávování na eliminaci cholesteatomu z povrchu středoušních kůstek (145,146). V obou případech se jedná o delší protokoly autoklávování po dobu 20 minut při teplotě 134 ° C.

V naší studii jsme zvolili protokol autoklávování po dobu 4 minut při teplotě 134 ° C. Protokol by měl zajistit dostatečnou povrchovou devitalizaci kosti s minimálním vlivem na její fyzikální vlastnosti. Zvolený protokol díky krátkému času umožňuje ošetření středoušních

kůstek u jednodobého sanačně rekonstrukčního výkonu bez významnějšího prodloužení doby operace.

Kombinací mechanického ošetření a autoklávování středoušní kůstky jsme ve všech případech zcela eliminovali cholesteatom z povrchu středoušní kůstky. Touto metodou jsme eliminovali cholesteatom u těžce destruovaných kůstek. Klinická část studie však nemůže posoudit reakci středoušní sliznice na autoklávované středoušní kůstky a změny ve středoušních kůstkách s časovým odstupem po implantaci do středouší. Tyto otázky měla zodpovědět experimentální část studie, ve které jsme implantovali autoklávované kůstky do středoušní dutiny experimentálního zvířete.

## **3.2 Experimentální studie**

### **3.2.1 Výběr experimentálního zvířete**

Při výběru experimentálního zvířete jsme zohlednili následující parametry:

- podobnost středouší experimentálního zvířete s lidským,
- snadnost operačního přístupu do středouší,
- dostupnost středoušních kůstek k vynětí a opětovné reimplantaci,
- tolerance celkové anestezie,
- dostupnost zvířete,
- cena zvířete.

Těmto kritériím vyhovuje morče a potkan. Potkan má nižší morbiditu i mortalitu při operacích v celkové anestezii. Jeho středoušní struktury jsou velmi podobné středouší lidskému, avšak lícni nerv probíhá více superficiálně a anterostrálně v porovnání s uchem morčecím či lidským (167,168). Středoušní kůstky jsou tenčí a drobnější a zcela skryty v epitympanu. Další nevýhodou pro středoušní chirurgii je průběh větve karotické tepny podél bazálního závitů kochley a mezi raménky třmínku. Proto je potkan zcela nevhodný pro třmínkovou chirurgii.

Morče má při porovnání s potkanem vyšší morbiditu i mortalitu při operacích v celkové anestezii. Průběh lícniho nervu i umístění středoušních kůstek je však podobnější lidskému středouší. Středoušní kůstky jsou větší ve srovnání s potkanem, což umožňuje snadnější manipulaci při chirurgickém výkonu. Oproti lidskému uchu i uchu potkana dochází u morčete ke srůstu kladívka a kovádlíky do jednoho kostěného komplexu. Tento anatomický celek lze



pozorovat již ve stáří dvou měsíců a při váze 180 g (169). Kochlea je větší a přístupnější k chirurgické intervenci. U morčat je také popisován častější výskyt středoušního zánětu (168,169).

Při porovnání všech „pro“ a „proti“ bylo pro experiment na středoušních kůstkách vybráno morče, především pro větší rozměry středoušních kůstek a výrazně nižší riziko poškození větve karotické tepny při manipulaci s kůstkami. Pro experiment byly zvoleny samičky o hmotnosti 380 – 420 g.

### **3.2.2 Anatomie spánkové kosti morčete**

Dokonalá znalost anatomie středouší experimentálního zvířete je nezbytná k volbě metodiky experimentální práce, zvolení správné přístupové cesty do středouší a snížení morbidity a mortality experimentálního zvířete.

Spánková kost tvoří postero-inferiorní část lebky morčete. Spánková kost hraničí kaudálně s okcipitální kostí, dorzálně s kostí parietální a rostrálně s kostí čelní, klínovou, patrovou a s horní čelistí. U dospělých jedinců je spánková kost tvořena čtyřmi částmi: squamozní, petrózní, tympanickou a mastoidální.

Středoušní dutina se nachází v tympanické části spánkové kosti. Pneumatizovaná dutina spánkové kosti je rozdělena kostěnou přepážkou na dvě části. Terminologie však není jednotná. Hybášek (169) rozlišuje dutinu bubínkovou a bulu, Albuquerque (168) rozděluje středouší morčete na přední a zadní sinus, Wysocki (172) na tympanickou a dorzální bulu.

Na základě anatomických poznatků při operacích morčat se v naší práci přikláníme k označení tympanická bula a dorzální bula. Jedná se jednu dutinu (bulu), která je oddělena kostěnou přepážkou na dvě části. Zadní část (dorzální bula) je menší. Netvoří jednotnou dutinu, ale bývá rozdělena na dvě či více dutin neúplně oddělených tenkými subsepty. Na spodní stěně dorzální buly jsou dvě prominence, které jsou podmíněné polokruhovitými kanálky kostěného labyrintu. Vnitřní stěny dorzální buly tvoří část lební baze. Větší přední část buly (tympanická bula) tvoří vlastní dutinu bubínkovou. Má tvar lichoběžníku s tenkou kostěnou stěnou. Obě tyto části jsou téměř zcela separované. V otvoru spojujícím oba prostory se nachází hlavička kladívka a tělo kovádky vytvářející inkudomaleární komplex. Vstup do dorzální buly je mediálně ohraničen kostěným valem lícního nervu a laterálně stěnou tympanické buly.

Tympanický prstenec je cylindrického tvaru a tvoří stěny zevního zvukovodu. Do tympanického prstence je vsazen bubínek. Dle měření, provedených na materiálu fixovaném

ve formolu, je rozměr bubínku v ose vedené kladívkem 4,88 mm až 5,27 mm, kolmice na tuto osu je dlouhá 5,28 mm až 5,44 mm (169-171). Tloušťka bubínku je při okraji průměrně 25  $\mu\text{m}$ , uprostřed mezi anulem a úponem kladívka 5  $\mu\text{m}$ . Bubínek je tvořen ze tří vrstev. Zevní epidermální vrstva je tvořena jednou až dvěma vrstvami dlaždicobuněčného epitelu a přechází plynule na stěnu zvukovodu. Vnitřní vrstva bubínku je tvořena jednovrstevným plochým epitelem, který přechází na stěny středoušní dutiny. Střední vazivová část bubínku je tvořena třemi typy kolagenních vláken (174). Radiálně uspořádaná vlákna mají průměr 3,0-4,0  $\mu\text{m}$  a vycházejí z anulus fibrocartilagineus bubínku, jejich denzita se snižuje v místě přechodu bubínku v anulus. Cirkulární vlákna mají průměr 2,0  $\mu\text{m}$  a spojují se s vlákny radiálními. Šikmo probíhající vlákna jsou nejtenší, průměru 0,8-1,2  $\mu\text{m}$  a mísí se se silnějšími cirkulárními vlákny. V centrální části bubínku téměř veškerá kolagenní vlákna probíhají radiálně. Tato radiálně běžící vlákna jsou spojena s manubriem kladívka a zajišťují pevné spojení manubria s bubínkem. Uspořádání kolagenních vláken má vliv na vibrace bubínku. Nižší amplituda vibrací je v místech vyšší denzity kolagenních vláken (174,175). V místech s přítomností šikmých vláken dochází ke snížení amplitudy vibrací.

K bubínku je pevně fixováno manubrium kladívka. Manubrium je velmi tenké a při tlaku na hlavičku kladívka se snadno láme. Hlavička kladívka již ve stáří dvou měsíců morčete (odpovídá hmotnosti 180 g) pevně srůstá s tělem kovadlinky a vytváří inkudomaleární komplex. Tento pevně spojený komplex hlavičky kladívka a těla kovadlinky měří v průměru 3 x 1 mm, manubrium kladívka 2,5 mm, dlouhý výběžek kovadlinky 1 mm. Tento komplex je zavěšen dorzálním ligamentem upínajícím se na krátký výběžek kovadlinky. Dále je komplex uchycen silným kraniálním ligamentem a méně silnými ligamenty směřujícími mediálně a laterálně. Dlouhý výběžek kovadlinky je kloubně spojen s hlavičkou třmínku. Ploténka třmínku kryje oválné okénko a je velikosti 0,7 x 1,2 mm, výška třmínku je v průměru 1,3 mm.

Na mediální stěně středoušní dutiny výrazně prominují do středoušní závití kochley. Na rozdíl o člověka má kochlea morčete 4 závití. Při předním přístupu do tympanické buly jsou závití kochley dobře přístupné. Její dlouhá osa směřuje laterálně a rostrálně. Vrchol kochley je uložen volně v tympanické bule bez kontaktu s okolními strukturami. Inferiorně od kostěného valu lícního nervu lze na mediální stěně buly identifikovat vkleslinu okrouhlého okénka, oválné okénko je kryté ploténkou třmínku. Posteriorně od této oblasti se nachází prominence zadního polokruhovitého kanálku vnitřního ucha.

Středoušní dutina je vystlaná plochým až kubickým jednovrstevným epitelem. V důsledku středoušních zánětů dochází k metaplazii plochého epitelu v řasinkový s hlenotvornými žlázkami. U žádného z experimentálních zvířat v naší studii jsme řasinkový epitel ve středouši

neprokázali, což je v souladu s klinickými nálezy klidné středoušní sliznice bez známek zánětu po implantaci středoušní kůstky.

### **3.2.3 Operační výkon**

Při zavádění metodiky byla středoušní dutina otevřena ze zadního i předního přístupu. Zadní přístup při poloze zvířete na břicho je svou technikou podobný retroaurikulárnímu přístupu při středoušních operacích člověka, proto je zadní přístup středoušním chirurgům bližší. Touto přístupovou cestou však otevíráme dorzální (mastoideální) část buly. Dorzální bula je oddělena od tympanické buly kostní lamelou, což neumožňuje přímý pohled na středoušní kůstky. Pro přístup ke kladívkokovadlinkovému komplexu je nutno odstranit kostěnou bariéru mezi oběma prostory spánkové kosti a dále část kostěného zvukovodu.

Na základě zkušeností s oběma přístupy jsme pro naši studii dali přednost přístupu přednímu, který je sice pro středoušního chirurga neobvyklý, ale umožňuje přímý pohled do tympanické buly. Přední přístup doporučujeme pro výkony na středoušních kůstkách, bubínku a vnitřním uchu morčete.

### **3.2.4 Klinické a histologické nálezy po implantaci autoklávované středoušní kůstky**

Autoklávováním středoušní kůstky při teplotě 134 ° C po dobu 4 minut dochází k povrchové devitalizaci kosti. V naší experimentální studii jsme na povrchu kladívka ponechali část bubínku s dlaždicobuněčným epitelem, který byl po autoklávování implantován zpět do středouší. Při exploraci středouší 30 dnů po implantaci středoušní kůstky jsme systematicky vyšetřili tympanickou bulu a inkudomaleární komplex k vyloučení implantace dlaždicobuněčného epitelu a vývoje cholesteatomu. Vyšetření tympanické buly operačním mikroskopem ani histologické vyšetření inkudomaleárního komplexu neprokázaly žádné známky cholesteatomu. Nálezy jsou v souladu se závěry z klinické části studie, kdy mechanické ošetření kůstky s následným autoklávováním zcela eliminovalo cholesteatom (dlaždicobuněčný epitel) z povrchu kůstky.

Dobu 30 dnů považujeme za dostatečnou k implantaci dlaždicobuněčného epitelu s event. vývojem cholesteatomu. Wolfman a Chale prokázali v experimentu na hlodavci (pískomil mongolský) vývoj cholesteatomu do 4 týdnů po obstrukci sluchové trubice u 50 % experimentálních zvířat (177).

Autoklávování po dobu 4 minut při teplotě 134 ° C devitalizuje povrch kůstky, ale nedochází ke kompletní devitalizaci celé kosti. Ve všech 16 případech jsme zaznamenali vitální chondrocyty v oblasti inkudomaleární sychondrózy. Dochází k úbytku osteocytů, ale nedochází ke kompletní devitalizaci kůstky. Vitální osteocyty zaujímající více než 5 % kostní hmoty byly prokázány u 44 % vyšetřených kůstek. Po 30 dnech po implantaci již byly pozorovány známky osteoneogeneze.

U experimentálního zvířete jsme pozorovali velice čilou osteoneogenezi. Za 30 dnů bylo prokázáno překrytí kostěného defektu tympanické buly o rozměrech 3 x 3 mm novotvořenou kostí. Tento nálezn nabízí otázku, zda i v případě vitálních osteocytů ve středoušních kůstkách se nejedná o osteoneogenezi z okolní kostní tkáně vrůstající do středoušní kůstky. Tuto možnost považujeme za nepravděpodobnou vzhledem k histologickým nálezům vitálních osteocytů uvnitř kůstky. Nález vitálních chondrocytů potvrzuje, že se nejedná o vrůstání okolních struktur, ale o zachování částečné vitality kůstky.

Pro účel rekonstrukce řetězu kůstek je důležité především zachování pevnosti kosti, jejího tvaru a integrace do středouší bez nežádoucí reakce měkkých tkání proti štěpu.

Autoklávovaná středoušní kůstka tyto předpoklady splňuje. Při exploraci středouší byl implantovaný kostní štěp vždy fixován v místě implantace, bez známek nežádoucí reakce měkkých tkání proti štěpu. Na povrch středoušní kůstky přerůstá epitel středoušní dutiny. To je znakem integrace středoušní kůstky do středouší. V literatuře byly obdobné nálezy popsány u neautoklávovaných lidských středoušních kůstek interponovaných při osikuloplastikách (157). Interponované kůstky vykazovaly dlouhodobou stabilitu přenosu zvukové energie. Všechny vyšetřené středoušní kůstky si zachovávají svoji strukturu lamelární kosti. Nebyl zaznamenán rozpad kosti či známky odhojení štěpu.

Důležitými faktory ovlivňujícími funkčnost štěpu a riziko jeho resorpce je rozvoj chronického středoušního zánětu a vzdušnost středouší po operaci. Těmto faktorům je přikládán větší význam než viabilitě středoušní kůstky. U kostěných štěpů obsahujících méně než 5 % viabilní tkáně byl prokázán obdobný přenos zvukové energie jako u kůstek viabilních se zachováním své integrity i po 25 letech po operaci (157).

Při odběru středoušní kůstky jsme vytvořili centrální perforaci bubínku. Přestože nebyla podávána experimentálním zvířatům antibiotika, nebyl zaznamenán v pooperačním období hnisavý středoušní záunět. K zacelení perforace bubínku došlo v 50 % případů. Sledovali jsme závislost reparativního procesu bubínku a kostní osteoneogeneze. Statistickým zpracováním dat jsme neprokázali závislost hojení kostěného defektu tympanické buly a perforace bubínku.

Rovněž nebyla prokázána závislost mezi zacelením bubínku a pevnou fixací implantovaného inkudomaleárního komplexu ke stěně buly.

## **4. Závěr**

Autolognímu materiálu je v kofochirurgii ve většině indikací dávána přednost před materiálem aloplastickým či homologním. Výjimečné postavení při volbě materiálu k rekonstrukci převodního systému mají pacienti s cholesteatomem. U těchto pacientů není doporučováno využití autologní středoušní kůstky v rekonstrukční fázi operace pro riziko reziduální choroby ve středoušní kůstce. Klinická a experimentální část studie řeší otázku vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám a možnosti jejich ošetření k minimalizaci rizika reziduální choroby a přípravy kůstky k autologní osikuloplastice.

### **4.1 Naplnění hlavních cílů studií:**

#### **4.1.1 Posouzení vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám**

Při studiu vztahu cholesteatomu ke středoušním kůstkám jsme prokázali, že cholesteatom se šíří po povrchu středoušní kůstky, způsobuje povrchovou osteolýzu, dochází však také k podrůstání čepů cholesteatomu pod tenkou povrchovou kostní lamelu. Nebyla prokázána hlubší invaze cholesteatomu do vaskulárních či dřevných prostor. Pouhé mechanické ošetření povrchu středoušní kůstky studenými nástroji bez použití frézy proto považujeme za nedostatečné - neeliminuje riziko perzistence rezidua cholesteatomu pod povrchovou kostní lamelou.

#### **4.1.2 Nalezení metody ošetření středoušních kůstek, která by minimalizovala riziko perzistence cholesteatomu ve středoušních kůstkách a připravila by tak kůstku pro autologní osikuloplastiku**

Na základě histologických nálezů cholesteatomu na povrchu středoušních kůstek jsme zvolili dvě metody k eliminaci cholesteatomu. Obě tyto metody splňují kritéria snadné dostupnosti, rychlosti ošetření umožňující jednodobou sanačně-rekonstrukční operaci a také kritérium nízké ceny ošetření.

První metodou je mechanické odstranění cholesteatomu s vyfrézováním povrchu kůstky diamantovou frézou pod kontrolou operačního mikroskopu. Tato metoda je účinná především u méně destruovaných kůstek, u kterých jsme tímto ošetřením vždy cholesteatom kompletně

odstranili. U středoušních kůstek s těžkou destrukcí tato metoda v jednom případě selhala. Proto u těžce destruovaných kůstek pouhé mechanické ošetření považujeme za nedostatečné.

Druhou testovanou metodou je kombinace mechanického ošetření středoušní kůstky s vyfrézováním jejího povrchu a následné termické ošetření autoklávováním po dobu 4 minut při teplotě 134°C. Touto druhou metodou jsme uspěli ve všech případech. Nebyly nalezeny žádné známky perzistence cholesteatomu v ošetřených kůstkách. Metoda se jeví jako spolehlivá i u těžce destruovaných středoušních kůstek.

## **4.2 Naplnění dílčích cílů studií:**

### **4.2.1 Posouzení rozdílu v destrukci kladívka a kovadlinky cholesteatomem**

Byl prokázán statisticky významný rozdíl v postižení kladívka a kovadlinky cholesteatomem. Cholesteatom častěji arodjuje kovadlinku. Těžká destrukce těla kovadlivky je statisticky signifikantně častější než těžká destrukce hlavičky kladívka. Destrukce kladívka II. stupně byla doprovázená vždy destrukcí kovadlinky stejného stupně či úplným chyběním kovadlinky.

### **4.2.2 Posouzení rozdílu v agresivitě juvenilního cholesteatomu a cholesteatomu dospělých ke středoušním kůstkám**

Nebyl prokázán rozdíl v tíži postižení středoušních kůstek u juvenilního cholesteatomu v porovnání s cholesteatomem dospělých.

### **4.2.3 Posouzení změn ve středoušních kůstkách po termickém ošetření (autoklávování).**

Změny autoklávovaných středoušních kůstek a reakce středoušní sliznice na jejich implantaci byly studovány v experimentu na zvířeti (morčeti). Pooperační nálezy prokázaly, že autoklávováním při teplotě 134°C po dobu 4 minut dochází k povrchové devitalizaci, dostatečné k eliminaci dlaždicobuněčného epitelu na povrchu středoušní kůstky. Autoklávováním nedochází ke změnám ve struktuře kosti. Kůstky si zachovávají svoji integritu, pevnost a lamelární strukturu. Dochází ke snížení počtu vitálních osteocytů, ale nedochází k úplné devitalizaci kosti. Po 30 dnech od implantace již byly pozorovány známky osteoneogeneze. Autoklávované kůstky se integrují do středouší, povrch kůstky přerůstá

středoušním epitelem, nebyly zaznamenány nežádoucí reakce měkkých tkání proti štěpu. Nebyl zaznamenán případ rozpadu či odhojení středoušní kůstky ze středouší. U všech experimentálních zvířat byla implantace středoušní kůstky úspěšná bez známek odhojení či rozpadu autoklávované středoušní kůstky.



## Literatura:

1. **Jahrsdoerfer, R.A., Richtsmeier, W.J., Cantrell, R.W.:** Spontaneous CSF otorrhea. Arch Otolaryngol., 107, 1981, s. 257-261.
2. **Chrobok, V., Šimáková, E., Northrop, C.:** Klinická anatomie nadbubínkové dutiny (literární přehled). Otorinolayng. a Foniát. /Prague/, 55, 2006, s. 217-224.
3. **Chrobok, V., Šimáková, E., Pollak, A., Northrop, C.:** Anatomie, embryonální vývoj a klinický význam Prussakova prostoru (literární přehled). Choroby hlavy a krku, 2, 2004, s. 47-52.
4. **Chrobok, V., Pellant, A., Profant, M. a kol.:** Cholesteatom. Tobiáš, 2008, 315 s.
5. **Hug, J.E., Pfaltz, C.R.:** Temporal bone pneumatization. A planimetric study. Arch Otorhinolaryngol., 233, 1981; s. 145-156.
6. **Allam, A.F.:** Pneumatization of the temporal bone. Ann Otol Rhinol Laryngol, 78, 1969, s. 49-56.
7. **Zuckermandl, E.:** Zur Anatomie des Warzenfortsatzes. Monatschr Ohrenheilk, 13, 1879, s. 49-62.
8. **Proctor, B.:** Embryology and anatomy of the Eustachim tube. Arch Otolaryngol., 86, 1967, s. 503-514.
9. **Proctor, B.:** Anatomy of the eustachian tube. Arch Otolaryngol., 97, 1973; s. 2-8.
10. **Gulya, A.J.:** Gulya and Schuknecht's Anatomy of the Temporal Bone with Surgical Implications. Third Edition, Informa Healthcare USA, 2007, 356 s.
11. **Anson, B.J., Donaldson, J.A.:** Surgical Anatomy of the Temporal Bone. Third Edition, Philadelphia: WB Saunders Co., 1981, 546 s.
12. **Wolff, D., Bellucci, R.J.:** The human ossicular ligaments. Ann Otol Rhinol Laryngol, 65, 1956, s. 895-910.
13. **Bolz, E.A., Lim, D.J.:** Morphology of the stapediovestibular joint. Acta Otolaryngol., 73, 1972, s. 10-17.
14. **Michaels, L.:** An epidermoid formation in the developing middle ear: possible source of cholesteatoma. J Otolaryngol., 15, 1986, s. 169-174.
15. **Lee, T.S., Liang, J. N., Michaels, L., Wright, A.:** The epidermoid formation and its affinity to congenital cholesteatoma. Clinical Otolaryngology & Allied Sciences, 23, 1998, s. 449-454.

16. **Chrobok, V., Šimáková, E., Liang, J.N.:** Epidermoidní ložiska (formace) ve středoušní dutině (histologická studie). *Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/*, 51, 2002, s. 167-171.
17. **Chrobok, V., Pellant, A., Šimáková, E., Pollak, A., Pokorný, K.:** Cholesteatom za celistvým bubínkem – vrozený nebo získaný? *Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/*, 52, 2003, s. 59-65.
18. **Rosowski, J.J.:** The effects of external- and middle-ear filtering on auditory threshold and noise-induced hearing loss. *J Acoust Soc Am*, 90, 1991, s. 124–135.
19. **Miller, A.R.:** *Hearing: Anatomy, physiology and disorders of the auditory system.* Elsevier, 2006, s. 22-39.
20. **Školoudík, L., Vokurka, J., Kalfert, D., Rybníkář, T., Čelakovský, P.:** Adenoidní vegetace a chronická sekretorická otitida. *Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/*, 59, 2010, s. 62-66.
21. **Tos, M.:** Epidemiology and natural history of secretory otitis. *Am J Otol.*, 5, 1984, s. 459-462.
22. **Paradise, J.L., Rockette, H.E., Colborn, D.K., et al.:** Otitis media in 2253 Pittsburgh area infants: prevalence and risk factors during the first two years of life. *Pediatrics.*, 99, 1997, s. 318-333.
23. **Casselbrant, M.L., Brostoff, L.M., Cantekin, E.I., et al.:** Otitis media with effusion in preschool children. *Laryngoscope*, 95, 1985, s. 428-436.
24. **Fielau-Nikolajsen, M.:** Epidemiology of secretory otitis media. A descriptive cohort study. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 92, 1983, s. 172-177.
25. **Wolff, D., Bellucci, R.J.:** The human ossicular ligaments. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 65, 1956, s. 895.
26. **Davies, D.G.:** Malleus fixation. *J Laryngol Otol*, 82, 1968, s. 331-351.
27. **Goodhill, V.:** External conductive hypacusis and the fixed malleus syndrome. *Acta Otolaryngol.*, 217, 1966, s. 31-39.
28. **Goodhill, V.:** The fixed malleus syndrome. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 70, 1966, s. 370-380.
29. **Guilford, F.R., Anson, B.J.:** Osseous fixation of the malleus. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 71, 1967, s. 398-407.
30. **Goode, R.L.:** Changing tin ear into gold – How far have we come ? *UniMedia Leipzig und Dresden*, 1997, s. 259-265.

31. **Hybášek, I.:** Spontánní tympanoplastiky – padesát roků od jejich poznání. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 57, 2008, s. 79-82.
32. **Dawes, P.J.D.:** Myringostapedopexy:surgical expectation. Laryng. Otol., 117, 3003, s. 182-185.
33. **Droppa, J., Orich, L.:** Spontánne kolumelizácie při chronickom zápale stredného ucha. Čs. Otolaryngol., 28, 1979, s. 329-332.
34. **Kotyza, F.:** Tympanoplastiky. Státní zdravotní nakladatelství, Praha, 1968, s. 256
35. **Gussen, R.:** The human incudomalleal joint. Chondroid articular cartilage and degenerative arthritis. ArthRheum, 14, 1971, s. 465-474.
36. **Bolz, E.A., Lim, D.J.:** Morphology of the stapediovestibular joint. Acta Otolaryngol., 73, 1972, s. 10-17.
37. **Etholm, B., Belal, A.Jr.:** Senile changes in the middle ear joints. Ann Otol Rhinol Laryngol, 83, 1974, s. 49-54.
38. **Školoudík, L., Kalfeřt, D., Růžička, J., Kopřiva, J.:** Branchio-oto-renální syndrom. Otorinolaryng. a Foniatic. /Prague/, 60, 2011, s. 99-102.
39. **Chang, E.H., Menezes, J.R., Meyer, N.C.:** Branchio-oto.renal syndrome: the mutation spectrum in EYA1 and its phenotypic consequences. Hum Mutat., 23, 2004, s. 582-589.
40. **Chen, A., Francis, M., Ni, L.:** Phenotypic manifestation of branchio-oto-renal syndrome. Am J Med Genet., 58, 1995, s. 365-377.
41. **Kemperman, M.H., Koch S.M., Joosten, F.B., Kumar S., Hyugen, P.L., Cremers C.W.:** Inner ear anomalies are frequent but nonobligatory features of the branchio-oto-renal syndrome. Arch Otolaryngol Head Neck Surg., 128, 2002, s. 1033-1038
42. **Kawabata, I., Paparella, M.M.:** Fine structure of the round window membrane. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1971, s. 80-83.
43. **Schachern, P.A., Paparella, M.M., Duvall, A.J., Choo, Y.B.:** The human round window membrane. Arch Otolaryngol 1984; 110-115.
44. **Mudry, A.:** History of myringoplasty and tympanoplasty type I. Otolaryngol Head Neck Surg., 139, 2008, s. 613-614.
45. **Jansen, C.:** Über radikaloperation und tympanoplastik. S-B Fortbild Arztek OB, 2, 1958, s. 18-25.
46. **Salen, B.:** Myringoplasty using septum cartilage. Acta Otolaryngol., suppl.188, 1963, s. 82-91.
47. **Jansen C.:** Cartilage tympanoplasty. Laryngoscope, 13, 1963, 1288-1302.

48. **Smyth, G.D.L., Kerr, A.G., Hassard, T.H.:** Homograft materials in tympanoplasty. *Otolaryngol Clin North Am*, 10, 1977, s. 563–580.
49. **Goldenberg, R.A., Emmet, J.R.:** Current Use of Implants in Middle Ear Surgery. *Otol Neurotol.*, 22, 2001, s. 145–152.
50. **Hermann, H.:** Tympanic membrane plastic with tempovalis fascia. *Hals Nus Ohren*, 9, 1960, s. 136-141.
51. **Hall, A., Rytzner, C.:** Stapedectomy and autotransplantation of ossicles. *Acta Otolaryngol.*, 47, 1957, s. 318–324.
52. **House, W.F., Patterson, M.E., Linthicum, F.H.:** Incus homografts in chronic ear surgery. *Arch Otolaryngol.*, 84, 1966, s. 148–153.
53. **Sheehy, J.L.:** Ossicular problems in tympanoplasty. *Arch Otolaryngol.*, 81, 1965, s. 115–122.
54. **Guilford, F.:** Repositioning of the incus. *Laryngoscope*, 75, 1965, s. 236–242.
55. **Armstrong, B.W.:** Experiences with the ossicular chain. *Ann Otol*, 78, 1969, s. 939–950.
56. **Wehrs, R.E.:** Hearing results in tympanoplasty. *Laryngoscope*, 95, 1985, s. 1301–1306.
57. **Goldenberg, R.A., Emmet, J.R.:** Current use of implants in middle ear surgery. *Otol Neurotol.*, 22, 2001, s. 145-152.
58. **Schuring, A.G., Lippy, W.H.:** Semibiologic middle ear prostheses: ossicular cup and ossicles columnella. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 90, 1982, s. 628–633.
59. **Hildmann, H., Sudhoff, H.:** *Middle Ear Surgery*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006, s. 88-90.
60. **Ozbek, C., Ciftci, O., Tuna, E., Yazkan, O., Ozdem, C.:** A comparison of cartilage palisades and fascia in type I tympanoplasty in children: anatomic and functional results. *Otol Neurotol.*, 29, 2008, s. 679–683.
61. **Buckingham, R.A.:** Fascia and perichondrium atrophy in tympanoplasty and recurrent middle ear atelectasis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 101, 1992, s. 755–758.
62. **Milewski, C.:** Composite graft tympanoplasty in the treatment of ears with advanced middle ear pathology. *Laryngoscope*, 203, 1993, s. 1352–1356.
63. **Zhang, Z.G., Huang, Q.H., Zheng, Y.Q., Sun, W., Chen, Y.B., Si, Y.:** Three Autologous Substitutes for Myringoplasty: A Comparative Study. *Otol Neurotol.*, 32, 2011, s. 1234-1238 .

64. **Albirmawy, O.A.:** Comparison between cartilage–perichondrium composite ‘ring’ graft and temporalis fascia in type one tympanoplasty in children. *J Laryngol Otol.*, 124, 2010, s. 967–974.
65. **Dornhoffer, J.:** Hearing results with cartilage tympanoplasty. *Laryngoscope*, 107, 1997, s. 1094–1099.
66. **Gerber, M.J., Mason, J.C., Lambert, R.R.:** Hearing results after primary cartilage tympanoplasty. *Laryngoscope*, 110, 2000, s. 1994–1999.
67. **Duckert, L.G., Müller, J., Mkielski, K.H., Helms, J.:** Composite autograft ‘shield’ reconstruction of remnant tympanic membranes. *Am J Otol*, 16, 1995, s. 21–26.
68. **Cavaliere, M., Mottola, G., Rondinelli, M., Iemma, M.:** Tragal cartilage in tympanoplasty: anatomic and functional results in 306 cases. *Acta Otorhinolaryngol Ital*, 29, 2009, s. 27–32.
69. **Adkins, W.Y.:** Composite autograft of tympanoplasty and tympanomastoid surgery. *Laryngoscope*, 100, 1990, s. 244–247.
70. **Uzun, C., Caye-Thomasen, P., Anderson, J., Tos, M.:** A tympanometric comparison of tympanoplasty with cartilage palisades or fascia after surgery for tensa cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 113, 2003, s. 1751–1757.
71. **Anderson, J., Caye-Thomasen, P., Tos, M.:** A comparison of cartilage palisades and fascia in tympanoplasty after surgery for sinus or tensa retraction cholesteatoma in children. *Otol Neurotol.*, 25, 2004, s. 856–63.
72. **Dursun, E., Dogru, S., Gungor, A.:** Comparison of paper-patch, fat, and perichondrium myringoplasty in repair of small tympanic membrane perforations. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 138, 2008, s. 353–356.
73. **Fiorino, F., Barbieri, F.:** Fat graft myringoplasty after unsuccessful tympanic membrane repair. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol.*, 264, 2007, s. 1125–1128.
74. **Landsberg, R., Fishman, G., DeRowe, A.:** Fat graft myringoplasty: results of a long-term follow-up. *J. Otolaryngol.*, 35, 2006, s. 44–47.
75. **Ozgursoy, O.B., Yorulmaz, I.:** Fat graft myringoplasty: a cost-effective but underused procedure. *J. Laryngol. Otol*, 119, 2005, s. 277–279.
76. **Kos, M.I., Chavaillaz, O., Guyot, J.P.:** Obliteration of the tympanomastoid cavity: long term results of the Rambo operation. Kos MI, Chavaillaz O, Guyot JP. *J Laryngol Otol.*, 120, 2006, s. 1014-1018.
77. **Bartels, L.J., Sheehy, J.L.:** Total obliteration of the mastoid, middle ear, and external auditory canal. A review of 27 cases. *Laryngoscope*, 91, 1981s. 1100-1108.

78. **Goodhill, V.:** Tragal perichondrium and cartilage in tympanoplasty. *Arch Otolaryngol.*, 85, 1967, s. 480-491.
79. **Williamson, P.A., Thomasm D.M., Beasley, P.:** Posterior tragal perichondrium harvesting for myringoplasty. *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.*, 24, 1999, s. 252–254.
80. **Salen, B.:** Myringoplasty using septum cartilage. *Acta Otolaryngol.*, suppl.188, 1963, s. 82–91.
81. **Heermann, J.:** Autograft tragal and conchal palisade cartilage and perichondrium in tympanomastoid reconstruction. *Ear Nose Throat J*, 71, 1992, s. 344–349.
82. **Atef, A., Talaat, N., Moseleh, M., Safwat, S.:** Effect of the thickness of the cartilage disk on the hearing results after perichondrium/cartilage island flap tympanoplasty. *ORL*, 69, 2007, s. 207–211.
83. **Page, C., Charlet, L., Strunski, V.:** Cartilage tympanoplasty: postoperative functional results. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 265, 2008, s. 1196–1198.
84. **Gamra, O.B., Mbarek, C., Khammassi, K., Methlouthi, N., Quini, H., Hariga, I.:** Cartilage graft in type I tympanoplasty: audiological and otological outcome. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 265, 2008, s. 739–742.
85. **Dornhoffer, J.:** Cartilage tympanoplasty. *Otolaryngol Clin North Am*, 39, 2006, s. 1161–1176.
86. **Dornhoffer, J.:** Cartilage tympanoplasty: indications, technique, and outcomes in a 1,000-patient series. *Laryngoscope*, 112, 2003, s. 1944–1956.
87. **Amedee, R.G., Mann, W.J., Riechelman, H.:** Cartilage palisade tympanoplasty. *Am J Otol*, 10, 1989, s. 447–450.
88. **Yung, M.:** Cartilage tympanoplasty: literature review. *J Laryngol Otol.*, 122, 2008, s. 663-672.
89. **Klačanský, J.:** Cartilage myringoplasty. *Laryngoscope*, 119, 2009, s. 2175–2177.
90. **Valenzuela, C.:** Myringoplasty. Experience with vein graft technics. *Int. Surg.*, 47, 1967, s. 87–96.
91. **Ritzer, F.M.:** Overlay Versus Underlay Tympanoplasty. Part I: Historical Review of the Literature. *Laryngoscope*, 107, 1997, s. 1-25.
92. **Raghavan, U., Malki, D.S., Mahmoud, N.A.:** Myringoplasty: update on onlay pedicle skin flap and temporalis fascia sandwich graft. *J Laryngol Otol.*, 114, 2000, s. 174–177.
93. **Hybášek, I.:** Někteřá pozorování pozdních degenerativních změn kožních štěpů ve středouší. *Čs. Otolaryngol.*, 17, 1968, s. 185-187.

94. **Farrrior, J.B.:** Postauricular myocutaneous flap in otologic surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 118, 1998, s. 743-736.
95. **Palva, T., Mäkinen, J.:** The meatally based musculoperiosteal flap in cavity obliteration. *Arch Otolaryngol.*, 105, 1979, s. 377-380.
96. **Singh, V., Atlas, M.:** Obliteration of the persistently discharging mastoid cavity using the middle temporal artery flap. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 137, 2007, s. 433-438.
97. **Kim, C.W., Oh, J.I., Choi, K.Y., Park, S.M., Park, M.I.:** A technique for concurrent procedure of mastoid obliteration and meatoplasty after canal wall down mastoidectomy. *Auris Nasus Larynx*. 2012 Feb 7, /Epub ahead of print/.
98. **Birzgalis, A.R., Farrington, W.T., O'Keefe, L.:** Reconstruction of discharging mastoid cavities using the temporalis myofascial flap. *Clin Otolaryngol Allied Sci.*, 19, 1994, s. 70-72.
99. **House, W.F., Patterson, M.E., Linthicum, F.H.:** Incus homografts in chronic ear surgery. *Arch Otolaryngol.*, 84, 1966, s. 148-53.
100. **Brandow, E.:** Homograft tympanic membrane transplant in myringoplasty. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 73, 1969, s. 825-835.
101. **Smyth, G.D.L., Kerr, A.G., Hassard, T.H.:** Homograft materials in tympanoplasty. *Otolaryngol Clin North Am*, 10, 1977, s. 563-580.
102. **Lesinski, S.G.:** Availability of homograft otologic tissue. *Otolaryngol Clin North Am*, 10, 1977, s. 613-616.
103. **Alford, B.R., McFarlane, J.R., Neely, J.G.:** Homograft replacement of the tympanic membrane. *Laryngoscope*, 86, 1976, s. 199-208.
104. **Sarac, S., Gürsel, B.:** Use of homograft dehydrated temporal fascia in tympanoplasty. *Otol Neurotol.*, 23, 2002, s. 416-421.
105. **Supiyaphun, P., Sawetranastien, S., Kerekanjanarong, V., Hirunwiwatkul, P.:** Homograft myringoplasty-controlled button technique: a preliminary report. *J Med Assoc Thai*, 79, 1996, s. 161-165.
106. **Hordijk, G.J., Rietema, S.J.:** Tympanic membrane grafting with fascia, pericardium and vein. *J Laryngol Otol.*, 96, 1982, s. 43-47.
107. **Yetiser, S., Tosun, F., Satar, B.:** Revision myringoplasty with solvent-dehydrated human dura mater (Tutoplast). *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 124, 2001, s. 518-521.
108. **Ajulo, S.O., Myatt, H.M., Alusi, G.:** Peri-umbilical superficial fascial graft myringoplasty – a simple alternative. *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.*, 18, 1993, s. 433-435.

109. **Mitchell, J.F.:** Myringoplasty by homogenous vein graft. *J Laryngol Otol.*, 81, 1967, s. 339–346.
110. **Cornish, C.B., Scott, P.J.:** Freeze dried heart valves as tympanic grafts. *Arch Otolaryngol.*, 88, 1968, s. 350–356.
111. **Thawley, S.E.:** Use of sclera in tympanic membrane reconstruction. *South Med J.*, 75, 1982, s. 396-398.
112. **Vos, J.D., Latev, M.D., Labadie, R.F.:** Use of AlloDerm in type I tympanoplasty: a comparison with native tissue grafts. *Laryngoscope*, 115, 2005, s. 1599–1602.
113. **Fishman, A.J., Marrinan, M.S., Huang, T.C., Kanowitz, S.J.:** Total tympanic membráně reconstruction: AlloDerm versus temporalis fascia. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 132, 2005, s. 906-915.
114. **Fayad, J.N., Bairo, T., Parisier, S.C.:** Preliminary results with the use of AlloDerm in chronic otitis media. *Laryngoscope*, 113, 2003, s. 1228-1230.
115. **Wullstein, H.L.:** Operationen am Mittelohr mit Hilfe des freien Spaltlappen-Transplantates. *Arch Otorhinolaryngol.*, 161, 1952, s. 422-435.
116. **Shea, J.J.:** Tympanoplasty in chronic right otitis media: a case report. *Memphis Med*, 33, 1958, 271-275.
117. **Hayden, G.D.:** Results with polyethylene T-strut in the restoration of hearing. *Laryngoscope*, 71, 1961, 5054-5061.
118. **House, H.P.:** Polyethylen in middle ear surgery. *Arch Otolaryngol.*, 71, 1960, s. 926-931.
119. **Withers, B.T., Hatfield, S.E., Richmond, R.W.:** Dru mand middle ear grafts in cats. *Laryngoscope*, 73, 1963, s. 1022-1043.
120. **Goldman, D.J., Nalebuff, J., Druss, J.G.:** Experimental observations on prosthetic materials in stapedial surgery with special reference to the use of Teflon. *Laryngoscope*, 72, 1962, s. 169-181.
121. **Guilford, F.R.:** Tympanoplasty: Use of prosthesis in conduction mechanism. *Arch Otolaryngol.*, 80, 1964, s. 80-86.
122. **Jobe, R., Iverson, R., Vistnes, L.:** Bone deformation beneath alloplastic implants. *Plast Reconstr Surg*, 51, 1973, s. 169-173.
123. **Palva, T., Palva, A., Karja, J.:** Results with 2- or 3-legged wire columellization in chronic ear surgery. *Ann Otol*, 80, 1971, s. 760-765.
124. **Palva, T., Palva, A., Karja, J.:** Ossicular reconstruction in chronic ear surgery. *Arch Otolaryngol.*, 98, 1973, s. 340-348.



125. **Shea, J.J., Homsy, C.A.:** The use of Proplast in otologic surgery. *Laryngoscope*, 84, 1974, s. 1835-1845.
126. **Shea, J.J.:** Plastipore total ossicular replacement prosthesis. *Laryngoscope*, 86, 1976, s. 239-240.
127. **Smyth, G.D.L.:** TORPs – How have They fared after five years? *J Laryngol Otol*, 97, 1983, s. 991-993.
128. **Portmann, M., Bebear, J.P., Bagot D'Arc, M., Vazel, P., Paiva, A.:** Comparative study of different ossicular prostheses in tympanoplasty (Proplast, Plastipore, Ceravital). Analysis of clinical results, histopathological and hearing in the long term (250 cases). *Biomaterials in Otology*. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1984, s. 177-186.
129. **Slater, P.W., Rizer, F.M., Schuring, A.G., Lippy, W.H.:** Practical use of total and partial ossicular replacement prostheses in ossiculoplasty. *Laryngoscope*, 107, 1997, s. 1193-1198.
130. **Brackmann, D.E., Sheehy, J.L., Luxford, W.M.:** TORPs and PORPs in tympanoplasty: A review of 1042 operations. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 92, 1984, s. 32-37.
131. **House, J.W., Teufert, K.B.:** Extrusion rate and hearing results in ossicular reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 125, 2001, s. 135-141.
132. **Jahnke, K., Plester, D., Heimke, G.:** Aluminiumoxide-Keramik, ein Bioinertes Material für die Mittelohrchirurgie. *Arch Otorhinolaryngol.*, 223, 1979, s. 373-376.
133. **Yamamoto, E.:** Long-term observation on pramic ossicular replacement prosthesis. *Laryngoscope*, 98, 1988, s. 402-404.
134. **Reck, R.:** Bioactive glass ceramic: a new material in tympanoplasty. *Laryngoscope*, 93, 1983, s. 196-199.
135. **Mangham, C.A., Lindeman, R.C.:** Ceravital versus Plastipore in tympanoplasty: a randomised prospective trial. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 99, 1990, s. 112-116.
136. **Blayney, A.W., Bebear, J.P., Williams, K.R., Portmann, M.:** Ceravital in ossiculoplasty: experimental studies and early clinical results. *J Laryngol Otol.*, 100, 1986, 1359-1366.
137. **Brewis, C., Orrell, J., Yung, M.W.:** Ceravital revisited: Lessons to be learned. *Otol Neurotol.*, 24, 2003, s. 20-23.
138. **Grote, J.:** Tympanoplasty with calcium phosphate. *Arch Otolaryngol.*, 110, 1984, s. 197-199.

139. **Wehrs, R.E.:** Incus interposition and ossiculoplasty with hydroxiapatite prostheses. *Otolaryngol Clin N Am*, 27, 1994, s. 677-688.
140. **Shinohara, T., Gyo, K., Saiki, T., Yanagihara, N.:** Ossiculoplasty using hydroxyapatite prostheses: long-term results. *Clin Otolaryngol*, 25, 2000, s. 287-292.
141. **Dalchow, C.V., Grun, D., Stupp, H.F.:** Reconstruction of the ossicular chain with titanium implants. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 125, 2001, s. 628-630.
142. **Wang, X., Song, J., Wang, H.:** Results of tympanoplasty with titanium prosthesis. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 121, 1999, s. 606-609.
143. **Zenner, H.P., Stegmaier, A., Lehner, R., Baumann, I., Zimmermann, R.:** Open Tubingen titanium prostheses for ossiculoplasty: a prospective clinical trial. *Otol Neurotol.*, 22, 2001, s. 582-589.
144. **Dornhoffer, J.L., Colvin, G.B., North, P.:** Evidence of residual disease in ossicles of patients undergoing cholesteatoma removal. *Acta Otolaryngol.*, 119, 1999, s. 89-92.
145. **El Seifi, A., Fouad, B.:** Autograft ossiculoplasty in cholesteatoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.*, 54, 1992, s. 324-327.
146. **Miman, M.C., Aydin, N.E., Oncel, S., Ozturan, O., Erdem, T.:** Autoclaving the ossicles provides safe autografts in cholesteatoma. *Auris Nasus Larynx*, 29, 2002, s. 133-139.
147. **Navratil, J., Kotrle, M.:** Morphological changes of the auditory ossicles in chronic otitis. *Čs. Otolaryng.*, 13, 1964, s. 305-308.
148. **Ng, S.K., Yip, W.W., Suen, M., Abdullah, V.J., van Hasselt, C.A.:** Autograft ossiculoplasty in cholesteatoma surgery: is it feasible? *Laryngoscope*, 113, 2003, s. 843-847.
149. **Quaranta, A., Bartoli, R., Lozupone, E., Resta, L., Iurato, S.:** Cholesteatoma in children: histopathologic findings in middle ear ossicles. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.*, 57, 1995, s. 296-298.
150. **Rupa, V., Krishnaswami, H., Job, A.:** Autograft ossicle selection in cholesteatomatous ear disease: histopathological considerations. *J Laryngol Otol.*, 111, 1997, s. 807-809.
151. **Sadé, J.:** Epithelial invasion of intraossicular spaces. *J Laryngol Otol.*, 86, 1972, s. 15-21.
152. **Školoudík, L., Vokurka, J., Šimáková, E.:** Mechanical treatment and autoclaving of middle ear ossicles from cholesteatomatous ears. *Cent. Eur. J. Med.*, 7, 2012, s. 194-197.

153. **Vartiainen, E., Karjalainen, S.:** Autologous ossicle and cortical bone in ossicular reconstruction. *Clin Otolaryngol Allied Sci.*, 10, 1985, s. 307-310.
154. **Actis, A.B., Obwegeser, J.A., Rupérez, C.:** Influence of different sterilization procedures and partial demineralization of screws made of bone on their mechanical properties. *J Biomater Appl.*, 18, 2004, s. 193-207.
155. **Inokuchi, T., Ninomiya, H., Hironaka, R., Yoshida, S., Araki, M., Sano, K.:** Studies on heat treatment for immediate reimplantation of resected bone. *J Craniomaxillofac Surg.*, 19, 1991, s. 31-39.
156. **Köhler, P., Kreicbergs, A., Strömberg, L.:** Physical properties of autoclaved bone. Torsion test of rabbit diaphyseal bone. *Acta Orthop Scand.*, 57, 1986, s. 141-145.
157. **Bahmad, F., Merchant, S.N.:** Histopathology of ossicular grafts and implants in chronic otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 116, 2007, s. 181-191.
158. **Mills, R.P., Cree, I.A.:** Histological fate of cortical bone autografts in middle ears. *Clin Otolaryngol Allied Sci.*, 20, 1995, s. 365-367.
159. **Merchant, S.N., Nadol, J.B. Jr.:** Histopathology of ossicular implants. *Otolaryngol Clin Nrh Am.*, 27, 1994, s. 813-833.
160. **Böhm, P., Stihler, J.:** Intraosseous temperature during autoclaving. *J Bone Joint Surg Br.*, 77, 1995, s. 649-653.
161. **Glasscock, M.E., Dickins, J.R., Wiet, R.:** Cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 91, 1981, s. 1743–1753.
162. **Sanna, M., Zini, C., Gamoletti, R.:** The surgical management of childhood cholesteatoma. *J Laryngol Otol.*, 101, 1987, s. 1221–1226.
163. **De Corso, E., Marchese, M.R., Scarano, E., Paludetti, G.:** Aural acquired cholesteatoma in children: surgical findings, recurrence and functional results. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*, 70, 2006, s. 1269-1273.
164. **Preciado, D.A.:** Biology of cholesteatoma: special considerations in pediatric patients. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*, 76, 2012, s. 319-321.
165. **Bujia, J., Holly, A., Antoli-Candela, F., Tapia, M.G., Kastenbauer, E.:** Immunobiological peculiarities of cholesteatoma in children: quantification of epithelial proliferation by MIB1. *Laryngoscope*, 106, 1996, s. 865–868.
166. **Dornelles, C.C., da Costa, S.S., Meurer, L., Rosito, L.P., da Silva, A.R., Alves, S.L.:** Comparison of acquired cholesteatoma between pediatric and adult patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*, 266, 2009, s. 1553–1561.

167. **Judkins, R.F., Hongyan, L.:** Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 117, 1997, s. 438-447.
168. **Albuquerque, A.A.S., Rossato, M., de Oliveira, J.A.A., Hyppolito, M.A.:** Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research. *Braz J Otorhinolaryngol*, 75, 2009, s. 43-49.
169. **Hybášek, I.:** Příspěvek ke studiu tympanosklerózy. Doktorská disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, 1978, s. 32-55.
170. **Hybášek, I.:** Osteogenesis ve spánkové kosti morčete vyvolaná pokusným zánětem. *Čs. Otolaryngol.*, 21, 1972, s. 155-157.
171. **Hybášek, I.:** Vliv pokusného zánětu na bubínek morčete. *Čs. Otolaryngol.*, 33, 1984, s. 209-213.
172. **Vysocki, J.:** Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone. *Hearing Research*, 199, 2005, s. 103-110.
173. **Yoshihumi, U.:** The attachment structure of the guinea pig tympanic membrane. *Auris Nasus Larynx*, 27, 2000, s. 45-50.
174. **Owada, I.:** Fibrous structure of the tympanic membrane in vertebrates. *J Otorhinolaryngol Soc Jpn*, 62, 1959, s. 28-42.
175. **Amin, S., Tucker, A.S.:** Joint formativ in the middle ear: Lessons from the mouse and guinea pig. *Dev Dyn.*, 235, 2006, s. 1326-1333.
176. **Adamczyk, M., Appelton, C.M., Parell, G.J., Antonelli, P.J.:** Stapedectomy in the guinea pig. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 121, 1999, s. 581-584.
177. **Wolfman, D.E., Chole, R.A.:** Experimental retraction pocket cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 95, 1986, s. 639-644.

Zpracováno dle ČSN ISO690, 010197.