

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Studijní program: Gerontologie



**MUDr. Pavel Chrbolka**

***Vztah protrombogenních faktorů k poruchám sluchu s tinnitem***

***Relationship between prothrombogenic factors and hearing loss with tinnitus***

**Disertační práce**

Školitel: prof. MUDr. Štefan Alušík, CSc.

Praha, 2017

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 28.4.2017

MUDr. Pavel Chrbolka

Podpis:

**Identifikační záznam:**

CHRBOLKA, Pavel. Vztah protrombogenních faktorů k poruchám sluchu s tinnitem  
(Relationship between prothrombogenic factors and hearing loss with tinnitus).

Praha, 2017. Počet stran 103.

Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 1.lékařská fakulta, Geriatrická klinika  
1.LF UK a VFN.

Školitel: prof. MUDr. Štefan Alušík, CSc.

*Poděkování:*

*Velké poděkování bych rád vyjádřil mému školiteli, panu prof. MUDr. Štefanu Alušíkovi, CSc. za jeho velkou pomoc a podporu, bez níž by tato práce nemohla být vytvořena. Velký dík též patří doc. MUDr. Zoltánu Paluchovi, Ph.D., MBA za jeho pomoc, podporu a cenné rady. V neposlední řadě děkuji svým blízkým za podporu a dodání síly.*

## Obsah

Použité zkratky .....	7
Abstrakt (CZ).....	9
Abstrakt (AJ) .....	10
1. Úvod .....	11
1.1 Anatomie a fyziologie sluchového ústrojí .....	11
1.2 Historie léčby tinnitu .....	13
1.3 Základní rozdělení tinnitu.....	14
1.4 Incidence, epidemiologické údaje .....	15
1.5 Rizikové faktory .....	16
1.6 Vliv ototoxických faktorů.....	16
1.7 Asociace s jinými chorobami .....	18
2. Etiopatogeneza tinnitu .....	19
2.1 Vztah prokrvení vnitřního ucha k poruchám sluchu a tinnitu .....	21
2.2 Vývoj a stárnutí sluchového ústrojí .....	22
3. Mikrocirkulace, tromboxany a tinnitus .....	24
3.1 Tromboxany .....	24
3.2 Laboratorní metody vyšetřování agregability destiček .....	26
4. Neurosteroidy a tinnitus .....	28
4.1 Charakteristika neurosteroidů.....	28
4.2 Vztah neurosteroidů k tinnitu .....	30
5. Diagnostický přístup k pacientům s tinnitem .....	31
5.1 Anamnéza .....	31
5.2 Fyzikální vyšetření .....	31
5.3 Audiologické vyšetření.....	32
5.4 Paraklinická vyšetření .....	32
6. Terapie tinnitu .....	34
7. Hypotézy a cíle práce .....	40
8. Materiál a metodika .....	41
8.1 Charakteristika studie .....	41
8.2 Zařazovací kritéria .....	41
8.3 Vylučovací kritéria .....	41
8.4 Strategie vyšetřování, sledované ukazatele .....	42
8.4.1 Klinické parametry .....	42
8.4.2 Audiometrické a tympanometrické vyšetřování, maskování tinnitu .....	43

8.4.3	Laboratorní parametry .....	44
8.4.4	Zobrazovací metody a evokované potenciály .....	47
8.5	Statistické metody .....	48
9.	Charakteristika souboru .....	50
10.	Výsledky .....	52
10.1	Hladiny 11-dehydrotromboxanu B <sub>2</sub> .....	52
10.2	Analýza krevních obrazů .....	53
10.3	Analýza biochemických ukazatelů .....	57
10.4	Analýza koagulačních parametrů .....	64
10.5	Analýza hladin neurosteroidů u pacientů s tinnitem .....	67
11.	Diskuse .....	75
11.1	Protrombogenní faktory ve vztahu k patogenezi tinnitu .....	75
11.2	Porovnání výsledků s koagulačními parametry (PT, INR, fibrinogen) .....	77
11.3	Vztah hladin neurosteroidů k tinnitu .....	78
12.	Závěr .....	81
	Souhrn .....	84
	Úvod .....	84
	Metodika .....	84
	Výsledky .....	85
	Závěr .....	85
	Summary .....	87
	Introduction .....	87
	Methodology .....	87
	Results .....	88
	Conclusion .....	88
	Reference .....	90

## Použité zkratky

11-dTxB <sub>2</sub>	...	11-dehydrotromboxan B <sub>2</sub>
ADP	...	adenosindifosfát
ALT	...	alaninaminotransferáza
AST	...	aspartátaminotransferáza
BAEP	...	brainstem evoked acoustical potentials
BERA	...	brainstem evoked responses audiometry
BMI	...	body mass index
cAMP	...	cyklický adenosinmonofosfát
CNS	...	centrální nervový systém
CRP	...	C-reaktivní protein
CT	...	počítačová tomografie
dB	...	decibely
DIC	...	diseminovaná intravaskulární koagulace
DHEA	...	dehydroepiandrosteron
EGb761	...	ginkgo biloba extrakt
GABA	...	kyselina gama-aminomáselná

GAD	...	glutamic-acid-dekarboxyláza
GC-MS	...	plynová chromatografie – hmotová spektrometrie
GMT	...	glutamyltransferáza
INR	...	international normalized ratio
kHz	...	kilohertz
MKN	...	mezinárodní klasifikace nemocí
MR	...	magnetická rezonance
NMDA	...	N-metyl-D-aspartát
OPLS	...	optimized potentials for liquid simulations
ORL	...	otorinolaryngologie
PAF	...	platelet activating factor
PGH <sub>2</sub>	...	prostaglandin H <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub>	...	prostacyklin
PT	...	protrombinový čas
SSRI	...	selektivní inhibitor zpětného vychytávání serotoninu
THDOC	...	tetrahydrodeoxykortikosteron
TxA <sub>2</sub>	...	tromboxan A <sub>2</sub>



## Abstrakt (CZ)

Tinnitus, neboli ušní šelest, není chápán jako samostatná choroba, nýbrž jde o symptom provázející různá onemocnění. Na vzniku tinnitu se podílí různé rizikové faktory. Vztah tinnitu k prokrvení ucha je popisován ve vztahu k porušené mikrocirkulaci, která hraje klíčovou roli pro správnou funkci vnitřního ucha a proto jsme sledovali protrombogenní faktory, které mohou mít vztah ke vzniku tinnitu.

Ze souboru 853 pacientů s tinnitem jsme vyloučili pacienty s organickými příčinami potíží, s poruchou sluchu, komorbiditami kardiovaskulárními či jinými, dále pacienti užívající ototoxické léky a pacienti s patologickými laboratorními hodnotami. Tímto byl získán homogenní soubor 40 pacientů bez prokázané organické příčiny a bez přidružených chorob či vlivu ototoxické medikace. Adekvátně tomu byla vytvořena kontrolní skupina dle věku a pohlaví. Celkem tedy do detailního zkoumání bylo zařazeno 80 pacientů.

Markerem agregace destiček byla koncentrace 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>. Z výsledků lze vyvodit statisticky významný závěr, že u pacientů s tinnitem jsou zaznamenány vyšší hodnoty 11-dehydrotromboxanu-B<sub>2</sub> a to  $2,02 \pm 1,81$  ng/ml ve srovnání s kontrolní skupinou, kde je koncentrace  $1,32 \pm 1,33$  ng/ml.

Zpracováním hodnot běžných parametrů srážení krve jako jsou protrombinový čas, INR a hladina fibrinogenu nevyplývalo, že by zde byly statisticky významné rozdíly. Průměrné hodnoty protrombinového času u pacientů s tinnitem jsou  $12,95 \pm 0,72$  sekund oproti hodnotám  $12,62 \pm 0,94$  sekund v kontrolní skupině. Hodnoty INR v souboru pacientů s tinnitem jsou  $0,997 \pm 0,07$  oproti hodnotám  $1,021 \pm 0,12$  v kontrolní skupině a hodnoty fibrinogenu jsou  $3,337 \pm 1,06$  g/l ve skupině pacientů s tinnitem oproti  $3,012 \pm 1,16$  g/l v kontrolní skupině.

Dále jsme sledovali vztah hladin neurosteroidů k tinnitu. Jasný vztah k tinnitu na hladinách statistické významnosti  $p < 0,05$  a někdy i  $p < 0,01$  byl zjištěn u hladin pregnenolonu, progesteronu, konjugovaného allopregnanolonu, isopregnanolonu a 5-alfa-pregnan-3-beta,20-alfa-diol. Metodou vícerozměrné regrese je nejvýznamnější vztah u konjugovaného isopregnanolonu a konjugovaného pregnenolonu. Sledovali jsme i vztah k frekvenční charakteristice tinnitu, kde je statisticky významný vztah k androstendiolu, kortizolu a konjugovanému isopregnanolonu.

Klíčová slova : tinnitus – porucha sluchu - tromboxany – neurosteroidy

## Abstrakt (AJ)

Tinnitus is not seen as a separate disease, but in terms of symptoms accompanying various diseases. The emergence of tinnitus is involved in a variety of risk factors. Relationship between tinnitus and blood flow of the ear is described in a relation to impaired microcirculation, which plays a key role in the proper function of the inner ear and therefore we evaluated the relationship prothrombogenic factors for tinnitus.

From the original group of 853 patients we excluded patients with organic cause problems. We excluded patients with hearing impairment, cardiovascular and other comorbidities and also patients taking ototoxic drugs or patients with laboratory abnormalities. Then we have a homogenous group of 40 patients without the evidence of an organic cause of tinnitus and without associated diseases and the effect of ototoxic medications. On this basis there has been created a control group matched by the age and sex.

In our group as the main marker of prothrombogenic state was used a level of 11-dehydrothromboxan B<sub>2</sub>. Patients with tinnitus have significantly higher values of 11-dehydrothromboxane-B<sub>2</sub>. The average concentration in tinnitus patients was 2.02±1.81 ng/ml compared to 1.32±1.33 ng/ml in the control group.

At the same time we evaluated other coagulation parameters. We checked prothrombin time, INR and levels of fibrinogen. The average values of prothrombin time in patients with tinnitus are 12.95±0.72 sec. versus 12.62 ± 0.94 sec. in the control group. The average INR are 0.997±0.07 versus 1.021±0.12 in the control group. Fibrinogen values are 3.337±1.06 g/l compared to 3.012±1.16 g/l in the control group. After statistical processing of these values we can say that there are no statistically significant differences.

We also monitored the levels of neurosteroids. The clear relationship to tinnitus was at statistically significance level of  $p < 0.05$  and sometimes  $p < 0.01$  was found, mainly in levels of pregnenolone, progesterone, allopregnanolone conjugated, isopregnanolone and 5-alpha-pregnan-3-beta-20-alpha-diol. Using multivariate regression showed the important relationship with conjugated isopregnanolone and conjugated pregnenolone. We followed the relationship of the frequency characteristics of tinnitus which is statistically significant with relationship to androstenedione, cortisol and conjugated isopregnanolone.

Key words : tinnitus – hearing impairment - thromboxans – neurosteroids

## 1. Úvod

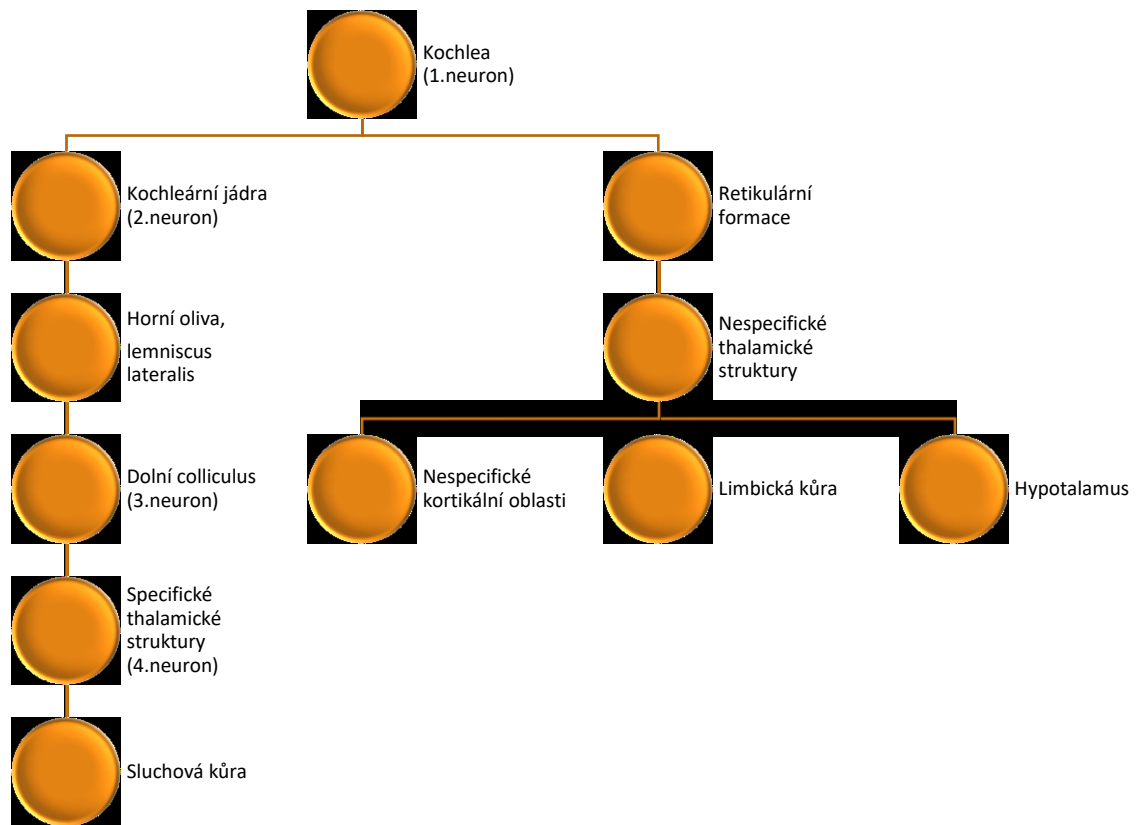
Tinnitus (lat. tinnio – cinkat, tinnire – znít, zvonit), neboli ušní šelest, není chápán jako samostatná choroba, nýbrž jde o symptom provázející různá onemocnění. Obvykle chápeme tinnitus jako vnímání různých zvuků bez adekvátního akustického stimulu. Výjimkou jsou pouze nepříliš časté podtypy objektivního tinnitu, kdy lze akustický stimulus vysledovat. Poruchy sluchu s tinnitem představují velmi častý problém s vysokou prevalencí i incidencí.

Tinnitus bývá různého charakteru, intenzity a bývá celá řada vyvolávajících příčin. Jedná se o poměrně časté onemocnění, jehož prevalence stoupá s věkem a mnohdy významně snižuje kvalitu života, přičemž ve vystupňovaných formách může vést až k suicidálnímu jednání.

### 1.1 Anatomie a fyziologie sluchového ústrojí

Sluchové ústrojí sestává z periferní a centrální části. Periferní část je tvořena zevním, středním a vnitřním uchem, odkud dále pokračuje vestibulokochleární nerv do centrální části, která je tvořena sluchovou dráhou a příslušnými centry. (Hybášek, 1999)

Ze zevního ucha jsou směřovány zvukové vlny do zevního zvukovodu a dále k bubínku. Střední ucho je dutina ve spánkové kosti, kde jsou sluchové kůstky a dva svaly m.tensor tympani a m.stapedius. Vnitřní ucho je tvořeno ze dvou v sobě uložených částí, kostěného a blanitého labyrintu. Blanitý labyrint je v kostěném labyrintu obklopený perilymfou a sám je naplněn endolymfou. Je tvořený utrikulem, sakulem, třemi polokruhovitými kanálky a kochleárním duktem. Kochleární část labyrintu je rozdělena basilární a Reissnerovou membránou do tří komor. Horní scala vestibuli a dolní scala tympani obsahují perilymfu a jsou propojeny malým otvorem na vrcholu hlemýždě, který je označován jako helicotrema. Na bázi hlemýždě končí scala vestibuli na oválném okénku, kde končí třmínek. Scala tympani je ukončena okrouhlým okénkem. Scala media a střední komora hlemýždě, které obsahují endolymfu, jsou součástí blanitého labyrintu a nekomunikují se zbylými částmi.



Obrázek 1. Orientační schéma sluchového dráhy.

Na bazilární membráně je Cortiho orgán s vláskovými buňkami, což představuje vlastní sluchové ústrojí. Výběžky vláskových buněk pronikají přes retikulární membránu, která se opírá o Cortiho pilíře. Člověk mívá průměrně kolem 20 000 zevních vláskových buněk a 3500 vnitřních vláskových buněk. Axony neuronů, které inervují vláskové buňky, tvoří sluchovou část statoakustického nervu a končí v dorsálním a ventrálním nukleus cochlearis prodloužené míchy. Sluchová dráha je čtyřneuronová, prvním neuronem je ganglion spirale corti. Druhým neuronem jsou buňky v ncl.cochlearis ventralis a ncl. cochlearis dorsalis a dále směřují přes lemniscus lateralis do dolního čtverohrbolí. Třetím neuronem jsou neurity buněk colliculi inferiores, které přes brachia dolních hrbolků končí v corpora geniculata medialis. Čtvrtým neuronem jsou vlákna gangliových buněk corpus geniculatum mediale, které tvoří tractus geniculo-corticalis a končí v primární kortikální oblasti okrsky 51, 41 a 42 temporálních laloků podle Brodmanna. Na všech úrovních přepojování a i dále v korové oblasti je tonotopické uspořádání.

K základním neurotransmiterům sluchové dráhy patří L-glutamát, GABA, acetylcholin, dopamin, noradrenalin, serotonin a opioidní neuropeptidy. Hlavními receptory ascendentního systému jsou glutamátové receptory, které se dále dělí na ionotropní a metabotropní. Iotropní receptory jsou glutamátem aktivované iontové kanály, které zvyšují influx natria a kalcia do nervového vlákna a zvyšují eflux kaliových iontů do extracelulárního prostoru. Metabotropní receptory jsou funkčně vázány s G-proteinem a jejich aktivace vede k nastartování nebo útlumu specifických metabolických procesů uvnitř nervové buňky a výsledkem je dlouhodobější změna funkce. Nejvýznamnější inhibiční receptor sluchové dráhy je receptor  $GABA_A$ , jehož aktivace vede k hyperpolarizaci a tudíž k poklesu dráždivosti. Nejvýznamnější aktivátor sluchové dráhy je v oblasti kmene a sluchového kortexu alfa-7-nikotinový receptor.

Zvuk je chápán jako vlnění neboli podélné vibrace molekul zevního prostředí. Tyto zvukové vlny jsou předávány jako tlakové změny na bubínek. Následně dochází ke konverzi těchto vln na akční potenciál sluchového nervu. Bubínková membrána působí jako rezonátor, který opakuje zvukové kmitání. Pohyby bubínku se předávají na sluchové kůstky, které působí jako pákový systém a mění rezonanční vibrace na pohyby třmínku, které vedou k sérii postupujících vln v perilymfě scala vestibuli. Vlna stoupá hlemýžděm a v závislosti na její frekvenci po dosažení svého maxima prudce klesá. V hlemýždi je tonotopické uspořádání a vlny vysokých frekvencí dosahují maxima u baze hlemýždě a naopak vlny nízkofrekvenční vrcholí u apexu. (Ganong, 2005) Pro tonotopickou organizaci kochley hrají hlavní roli zevní vláskové buňky, jejichž délka roste od baze k vrcholu kochley. (Trojan, 1996) Pro správnou tvorbu akčního potenciálu je nezbytné uložení vláskových buněk, kdy jejich výběžky se nachází v endolymfě, zatímco baze jsou omývány perilymfou.

## 1.2 Historie léčby tinnitu

Nejstarší písemné zprávy o výskytu a léčbě tinnitu a chorob ušních pocházejí z Ebersova papýru ze středního Egypta (1650-1532 př.n.l.). Ve spisech Corpus Hippocraticum je poprvé tinnitus dáván do souvislosti s poruchami cév v mozku a jejich pulsování. Vědec Aristoteles (384-322 př.n.l.) popisuje v textech *Problemata Physica* maskování tinnitu zevním akustickým stimulem.

Andreas Vesalius (1543) poprvé detailně popisuje střední ucho včetně kůstek. K dalším poznatkům významně přispěli Du Verney, Valsalva, Morgagni, Scarpa a Rivius, který popsal

svalový šelest ve středním uchu. Subjektivní tinnitus je popsán v 19. století v práci Jeana Marca Gasparda Itarda „Traité des maladies de l'oreille et de l'audition“.

Dále je nutné zmínit práce Toynbeeho „Diseases of the Ear“ (1860) a práce německých autorů M.Franka a E. Schmaltha, kteří spojují tinnitus s hypakusí, diplakusí, hyperakusí a vertigem.



Obrázek 2. Naslouchátko používané u nedoslýchavosti.

Koncem 19. a následně ve 20. století vznikají specializovaná centra, která se zabývají touto problematikou. V r. 1947 je Saltzmannem a Ersnerem referováno o maskování tinnitu pomocí sluchadel. V současné době jsou v popředí klinické studie zabývající se intratympanální aplikací látek z různých léčebných skupin, jako jsou například látky ze skupin anestetik, kortikoidů a mnohé další. Jednoznačný konsensus v léčbě však v současné době není.

### 1.3 Základní rozdělení tinnitu

V základním pohledu rozlišujeme tinnitus objektivní a subjektivní. Objektivní tinnitus je obvykle dáván do souvislosti s cévními anomáliemi anebo může být patogeneticky spojen s dysfunkcí Eustachovy tuby. Tinnitus vaskulárního původu je většinou pravidelný a synchronní se srdečním tepem. Postižení může být jak na úrovni karotického systému, tak i v oblasti

vertebrobasilárního tepenného systému. Intenzita potíží je proměnlivá při stlačení přívodné tepny. Tato skupina je verifikovatelná (tinnitus je slyšitelný) a obvykle lze tyto stavy řešit kauzálně. (Jastreboff PJ., 1990)

Druhou skupinou, daleko čtenější je subjektivní typ tinnitu. Tato skupina je pestřejší, zahrnující trvalé či proměnlivé potíže, s konstantní či proměnlivou intenzitou, mající povahu od čistých tónů přes různé šumy až po obtěžující hluky vnímané pacientem. Nejednou je intenzita potíží ovlivněná psychickým rozpoložením daného jedince. (Han et al., 2009)

<b>Tinnitus – objektivní typ</b>	<b>Tinnitus – subjektivní typ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Vaskulární etiologie</b> (arteriovenosní malformace, vaskulární tumory atd.)</li> <li>- <b>Mechanický typ</b> (dysfunkce Eustachovy trubky, myoklonus měkkého patra, myoklonus m. stapedius a m. tensor tympani)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Idiopatická forma</b></li> <li>- <b>Ušní choroby</b></li> <li>- <b>Neurologické choroby</b> (roztroušená skleróza, vestibulární schwannom)</li> <li>- <b>Ototoxické faktory</b></li> <li>- <b>Metabolické choroby</b></li> <li>- <b>Poruchy temporomandibulárního kloubení</b></li> </ul>

Tabulka 1. Základní rozdělení tinnitu

Dalším pohledem na rozdělení tinnitu je délka trvání potíží. Rozlišujeme akutní tinnitus, který mnohdy navazuje na expozici nadměrnému hluku a nejednou bývá spojen s percepční poruchou sluchu. Při nedostatečné či pozdně realizované léčbě může přecházet do chronicity. O chronické formě tinnitu hovoříme při délce trvání potíží 6 měsíců a více. O ireverzibilitě potíží s ohledem na délku jejich trvání se literární údaje různí, obvykle uváděné údaje jsou 2 roky trvání potíží. Chronicita však není vždy odvislá od efektu terapie. (Møller, 2007)

#### 1.4 Incidence, epidemiologické údaje

V civilizovaných zemích jsou uváděné hodnoty postižení u subjektivního tinnitu různé, pohybují se mezi 8 až 15% populace. Populační studie sledující poruchy sluchu u dospělých pacientů mezi 48 až 92 lety věku udávají prevalenci 8,2% (na počátku studie) s incidencí 5,7% během pětiletého sledování. Prevalence stoupá s věkem. (Daniell et al., 1998; Shargorodsky

et al., 2010) Nejčastěji se tinnitus objevuje mezi 40. až 70. rokem života a vyskytuje se přibližně se stejnou prevalencí u mužů a žen. Tinnitus bývá uváděn jako třetí nejčastější symptom po bolestech hlavy a závratích, které přivádí nemocné k lékařům. Zhruba tři čtvrtiny pacientů mají současně různě těžkou poruchu sluchu.

### 1.5 Rizikové faktory

Z rizikových faktorů pro vznik tinnitu jsou jednak obecně kardiovaskulární rizikové faktory, dále expozice nadměrnému hluku, psychická kondice daného jedince a poruchy sluchu obecně. Z kardiovaskulárních rizik jsou s vyšší incidencí tinnitu spojeny zvýšené hodnoty body mass indexu (BMI), nikotinismus, hypertenze, diabetes mellitus a dyslipidémie. Expozice hluku je též dávána do souvislosti s vyšší incidencí tinnitu. Psychická stránka jedince je jasně asociována s tinnitem, především u pacientů s depresemi jsou potíže častější. Údaje vychází ze studie s více než 14 tisíci respondenty a průměrnou prevalencí tinnitu v jednotlivých podskupinách kolem 25,3%. (Daniell et al., 1998, 2002; Shargorodsky et al., 2010)

<b>Rizikové faktory pro tinnitus</b>	<b>Incidence u běžné populace</b>	<b>Incidence u pacientů s rizikem</b>
Kardiovaskulární rizika	21-24 %	28-32 %
Expozice hluku	24 %	39 %
Psychická alterace, deprese	19 %	38 %
Poruchy sluchu	20 %	30-37 %

Tabulka 2. Rizikové faktory pro vznik tinnitu

### 1.6 Vliv ototoxických faktorů

Významnou mírou k rozvoji tinnitu přispívá vliv ototoxických faktorů. Ototoxický účinek mají některá antibiotika, salicyláty, kličková diuretika a cytostatika. Obvykle způsobují



jak percepční nedoslýchavost, tak i tinnitus. Účinek je velmi závislý na dávce a individuální senzitivitě jedince. (Cianfrone et al., 2011)

Z antibiotik se jedná především o aminoglykosidy (streptomycin, gentamycin, neomycin), které se váží na NMDA (N-methyl-D-aspartátové) receptory v kochlece, což jsou glutamátém řízené iontové kanály umožňující excitační neurotransmisi, ale současně však zprostředkovávají poškození neuronů mechanismem excitotoxicity. Vzhledem k úzkému terapeutickému oknu aminoglykosidů a k relativně vysoké korelaci mezi plazmatickými koncentracemi a antibiotickým účinkem se doporučuje terapeutické monitorování plazmatických koncentrací. Účelem je úprava dávkovacího schématu a individualizace terapie, tj. úprava velikosti dávky a intervalu mezi podáními pro konkrétního pacienta. V posledních letech se doporučuje podávání aminoglykosidů 1x denně. Předpokládanou výhodou je zesílený postantibiotický účinek a snížení toxicity. Dále se zmiňuje nežádoucí vliv volných kyslíkových radikálů, jejichž produkce se při užívání těchto antibiotik zvyšuje. Významné a dosud nedoceněné místo mezi scavengery volných radikálů zaujímá N-acetylcystein. Tato látka je dosud klinicky používána jako mukolytikum. Bylo však zjištěno, že má výrazné antioxidační vlastnosti. Slouží především jako prekursor pro tvorbu glutathionu i stimulator enzymů vedoucích k regeneraci glutathionu – uvolňuje nezbytný cystein. N-acetylcystein je také modulátorem glutamatergního systému. Z experimentálních i klinických prací vyplývají následující vlastnosti N-acetylcysteinu – zvýšení antioxidační aktivity, zvýšení imunity, působení proti stárnutí organismu (zejména neuroprotektivní působení) a zlepšení kognitivních funkcí včetně paměti. (Selimoglu E., 2007)

Cytostatika, zejména deriváty platiny, bleomycin a vinkristin způsobují pokles percepčního prahu ve vyšších frekvencích a může docházet k rozvoji tinnitu. Obvykle bývají potíže při dávkách větších než 60 mg/m<sup>2</sup> tělesného povrchu. Kličková diuretika (furosemid) a acetazolamid mají též ototoxický efekt, hlavně při vysokém dávkování. (Jurajda et al., 2012)

Salicyláty - na rozdíl od jiných ototoxických faktorů, nevedou k jednoznačnému poškození sluchových struktur, ale ovlivňují a mění jejich výkonnost. Ovlivňují elektromotilitu zevních vláskových buněk (reverzibilně) a mohou redukovat spontánní otoakustické emise. Salicyláty mohou ovlivňovat spontánní aktivitu colliculus inferior a sluchové kůry. Hlavní souvislost mezi podáváním salicylátů a rozvojem tinnitu je stále směřována na ovlivnění zevních vláskových buněk. Inhibice cyklooxygenázy vede ke genezi tinnitu cestou aktivace kochleárních NMDA receptorů. (Mazurek et al., 2010; Guitton M. et al., 2003)

## 1.7 Asociace s jinými chorobami

Tinnitus je častým symptomem provázejícím řadu různých chorobných stavů. Otologická onemocnění zahrnují problémy na úrovni zvukovodu (obturující cerumen), dále problematika středoušní patologie (mesotitidy, otoskleróza) až po poruchy sluchu ve vztahu k vnitřnímu uchu (Meniérova choroba či jiné kochleární poruchy). Neurologická onemocnění manifestující se mimo jiné tinnitem jsou roztroušená skleróza, whiplash injury, traumata hlavy či vestibulární schwannom (neurinom akustiku). Infekční příčiny vzniku tinnitu jsou jednak meningitidy, meningoencefalitidy, Lymeská nemoc či lues. Též je potřeba vyloučit metabolická onemocnění, jako jsou poruchy štítné žlázy, diabetes či deficit zinku. (Crummer et al., 2004)

## 2. Etiopatogeneza tinnitu

Dnešní pohled na etiopatogenezu tinnitu zahrnuje jednak teorie související s periferním sluchovým systémem a dále teorie spjaté s centrálním nervovým systémem odpovědným za zpracování sluchových vjemů.

Za vznikem subjektivních šelestů mohou stát patologické nálezy v oblasti zevního zvukovodu, středouší, v oblasti vnitřního ucha či dále v oblasti centrálního nervového systému. Ve zvukovodu uzávěr ceruminem, cizím tělesem či exostózami může způsobovat tinnitus. V oblasti středouší nejčastěji zánětlivá onemocnění spojená s retinovaným sekretem ve středouší též může být příčinou vnímání různých zvuků. Dále je nutné zmínit otosklerózu, jakožto dědičné onemocnění spojené se sklerotizací kapsuly labyrintu, kdy dochází k fixaci třmínku.

Nejčastěji jsou však teorie etiopatogenezy tinnitu vztahovány na vnitřní ucho. Elektromotilita vláskových buněk je odpovědná za vytváření mechanického vlnění o velmi malé intenzitě, přičemž toto vlnění je detekovatelné a tyto akustické signály jsou popisovány jako spontánní otoakustické emise. Za normálních okolností jde o neslyšitelné zvuky, které však mohou být teoretickým zdrojem tinnitu.

Ve vztahu k perifernímu sluchovému aparátu je nejčastěji zmiňována tzv. „diskordantní teorie“, která hovoří o porušené funkci zevních vláskových buněk a normální funkci vnitřních vláskových buněk. Intenzivní hluk či jiné ototoxické faktory vedou k přednostní destrukci zevních vláskových buněk. Za normálních okolností jsou v kontaktu s tektoriální membránou zevní vláskové buňky, zatímco cilie vnitřních vláskových buněk k membrana tectoria nedosahují. Při destrukci zevních vláskových buněk se mohou dostat vnitřní vláskové buňky do kontaktu s touto membránou, což způsobí jejich depolarizaci a následně porucha funkce zevních vláskových buněk vede k desinhibici neuronů v nucleus cochlearis dorsalis a tudíž spontánní aktivita je vyšší při stimulaci přímo z vnitřních vláskových buněk. (Byung et al., 2009)

K vysvětlení, proč může být zachován normální sluch současně s tinnitem, je dáno faktem, že částečné poškození zevních vláskových buněk (do 30%) není ještě spojeno s poruchou sluchu. Zevní vláskové buňky působí především jako zesilovač akustického signálu.

Desinhibiční hypotéza popisuje, že na každé etáži sluchové dráhy se vyskytuje několik zpětnovazebných regulačních mechanismů ovlivňujících přenos vzruchů. Obvykle v případě nadměrné aferentace z nižších etází dochází k inhibici spojů, zatímco k facilitaci dochází při

snížené až chybějící aferentaci. Hyperexcitace v oblasti presynaptických zakončení a zároveň pokles aktivity inhibičních spojů eferentního systému sluchové dráhy vede ke spontánní neuronální aktivitě projevující se tinnitem. Nejpravděpodobnějším místem vzniku spontánní neuronální aktivity je oblast presynaptických nervových zakončení, kde facilitační synapse zvětšují permeabilitu pro kalciové ionty a tím jejich intracelulární influx. Překročí-li koncentrace kalciových iontů v presynaptickém zakončení určitou mez, dojde k aktivaci synaptických tělísek a jejich vyprázdnění do synaptické štěrbině, což vede ke spontánní aktivitě. (Rottenberg, 2006)

Vztah centrálního nervového systému ke genezi tinnitu je popisován též několika teoriemi. Redukce inhibice na úrovni nucleus cochlearis dorsalis vede ke zvýšení aktivity a tím výraznější stimulaci sluchového kortexu cestou sluchové dráhy. Tzv. „auditory-plasticity-theory“ hovoří o vztahu poškozené kochley k desinhibici a zesílení neuronální aktivity centrálního nervového systému, kdy chybí aferentace z periferního sluchového aparátu. Jedná se o analogní situaci fantomových bolestí po amputaci končetiny. Tinnitus může být generován ve sluchovém kortexu temporálního laloku a v colliculus inferior.

Další možná geneze tinnitu je dávana do souvislosti s poškozením různých nervových struktur při zachované funkčnosti sluchového aparátu i sluchové dráhy, ale dochází k atypickým synapsím (tzv. „crosstalk-theory“) resultujícím buď v blokování či naopak stimulaci sluchové dráhy. Komprese a s ní související poškozování myelinové pochvy též může vést ke crosstalk synapsím a vzniku tinnitu, což může být u vestibulárního schwannomu či u neurovaskulárního konfliktu. (Møller, 1984)

Vztah k mimoušním strukturám je zmiňován ve skupině tzv. oto-somatického tinnitu. Příkladem je kraniocervikální tinnitus, kdy může dojít k ovlivnění funkce nucleus cochlearis dorsalis přepojením vstupů ze somatosensorických jader, která přijímají informace z hlavových nervů jako jsou n. trigeminus, facialis, vagus a glossofaryngeus.

Často je tinnitus vztahován k psychickému rozpoložení jedince. Psychologický model (Hallam, Jakes, Hinchcliffe, 1988) je založený na vztahu autonomního nervového systému, který může vyvolávat vjem tinnitu při stresové reakci. Současně zpětně tinnitus přes svůj negativní emoční vliv vede k emocionálnímu stresu, čímž se uzavírá zpětný okruh. Podle Kulky (2006) hrají sluchové dráhy podřadnou roli a upřednostňuje úlohu limbického systému a autonomního nervového systému, které vedou podněty ke sluchové kůře, avšak změněné, zesílené či jinak deformované a ty jsou následně vědomě vnímány jako tinnitus. Vztah k limbickým strukturám je popisován i dále, kdy zejména anxiety, deprese a negativní psychické rozpoložení jsou spojeny s vyšší incidencí tinnitu. (Levine RA, 1999)

## 2.1 Vztah prokrvení vnitřního ucha k poruchám sluchu a tinnitu

Poruchy sluchu jsou obecně v populaci velmi časté a tinnitus představuje jeden ze základních problémů, který stále v současné době nemá ani uspokojivě vysvětlenou etiopatogenezu a ani neexistuje optimální léčebné schéma přinášející vyléčení. Prevalence poruch sluchu v populaci ve věkové skupině nad 65 let představuje více než 30% postižených jedinců, ve věkové skupině nad 75 let dokonce více než 35%. S věkem prevalence narůstá a stupňuje se tíže poruchy.

Ve vyšším věku sledujeme zvýšenou tendenci k agregaci krevních destiček a současně snížení fibrinolytické aktivity, obecně je tedy větší výskyt tromboembolických komplikací a stoupá tendence ke srážení krve.

Mezi obecné hlavní důvody zhoršování sluchu patří:

- Hereditární podklad
- Vliv hlukové zátěže
  - environmentální hluk
  - komunální hluk
  - profesionální zátěž
- Vliv ototoxických faktorů
  - expozice různým látkám včetně ototoxických léků
  - hlavní riziková léčiva jsou aminoglykosidy, kličková diuretika, ASA, cytostatika
  - profesionální zátěž
- Význam prokrvení smyslových orgánů

Změny prokrvení smyslových orgánů jsou se stoupajícím věkem výraznější a jsou spojeny především s následujícími vlivy:

- Aterosklerotické změny v karotickém a vertebrobasilárním povodí, až s možností vzniku hemodynamicky významné poruchy prokrvení

- Kardiovaskulární problematika u jedinců vyšší věkové kategorie je charakterizovatelná poklesem minutového srdečního objemu, rozvojem srdečního selhávání, arytmií, hypertenze
- Změny autoregulačních mechanismů v centrálním nervovém systému
- Hypertenzní encefalopatie opět podporuje alteraci autoregulačních okruhů
- Změny reologických vlastností krve
- Dehydratace

Současně ve vyšším věku dochází u pacientů ke změnám hemostatických mechanismů. Se zvyšujícím se věkem narůstá prokoagulační aktivita, zatímco aktivita antikoagulační zůstává na stejné úrovni či narůstá jen velmi pomalu. Ve vyšším věku jsou zvýšené hladiny faktorů VII, VIII a IX a snížená hladina proteinu C (studie MONICA). Za prokoagulační faktor je považována přítomnost aterosklerotických změn (dnes jsou aterosklerotické změny chápány jako chronický zánětlivý proces), narůstá sérová koncentrace fibrinogenu a hyperkoagulační tendence jsou podporovány obleněným krevním proudem, často s akcentací při hypohydrataci. (Topinková et al., 2005)

Všechny výše uvedené změny přispívají významným dílem k možné souvislosti s rozvojem poruch sluchu, neboť zde prokrvení hraje významnou úlohu a ve vyšším věku jsou jak poruchy sluchu častější, tak i změny v prokrvení jsou významnější.

## 2.2 Vývoj a stárnutí sluchového ústrojí

Ontogeneze sensorických systémů obecně je zásadně ovlivněna ranou sensorickou zkušeností. Bohatost podnětů či naopak jejich absence udává a ovlivňuje další vývoj. Přicházející podněty během kritické periody mění elektrofyziologické charakteristiky neuronů smyslové dráhy, jejich počet, plasticitu synapsí a funkční zapojení. (Hubel & Wiesel, 1962)

Věkem podmíněná ztráta sluchu (presbyacuse) je nejčastějším typem postižení sluchového ústrojí. (Gates et al., 2005; Syka, 2002) Změny jsou sledovány jak v periferní, tak i centrální části sluchového systému. Postupné změny a procesy v centrální zpracování akustických vjemů je spojováno především se zhoršením zpracování komplexních zvukových podnětů, jako je například právě lidská řeč.

Během stárnutí sledujeme výrazné změny v oblasti colliculus inferior, corpus geniculatum mediale a v oblasti sluchové kůry. V colliculus inferior sledujeme snižování počtu diskovitých neuronů, zmenšuje se plocha synaptických spojů, mění se koncentrace neuropřenašečů a

receptorového vybavení. (Ouda et al., 2012) Změny v corpus geniculatum mediale jsou spojeny s úbytkem neuronů, ale současně s vzestupem zastoupení NMDA receptorů a exprese serotoninu a GAD67. (Shim et al., 2012) Hlavním neurochemickým znakem stárnoucí primární sluchové kůry je narušení inhibičních systémů, za nímž stojí úbytek funkce GABA. (Ling et al., 2005)

### 3. Mikrocirkulace, tromboxany a tinnitus

Tinnitus je nespecifický symptom, který může vznikat v důsledku dysfunkce sluchového systému. Předpokládá se, že v patogenezi tinnitu může mít právě porucha mikrocirkulace ucha či jiných částí centrálního nervového systému velký význam. (Nakashima et al., 2003; Mahrmodian et al., 2013). Na regulaci mikrocirkulace se podílí celá řada faktorů a právě pro zachování správné funkce vnitřního ucha je adekvátní mikrocirkulace klíčová. (Xiaorui S., 2011)

Kochlea je primárně zásobena krví z arteria labyrinthi, která je větví arteria cerebelli anterior inferior. Kochleární perfúze je funkčně odvislá od kochleárního perfusního tlaku, který je počítán jako rozdíl mezi arteriálním tlakem a tlakem ve vnitřním uchu. Řada otologických chorob (hydrops, hlukem indukované poruchy sluchu, presbyakuse a další) jsou právě dávány do souvislosti s alterací perfúze vnitřního ucha. (Nakashima et al., 2003)

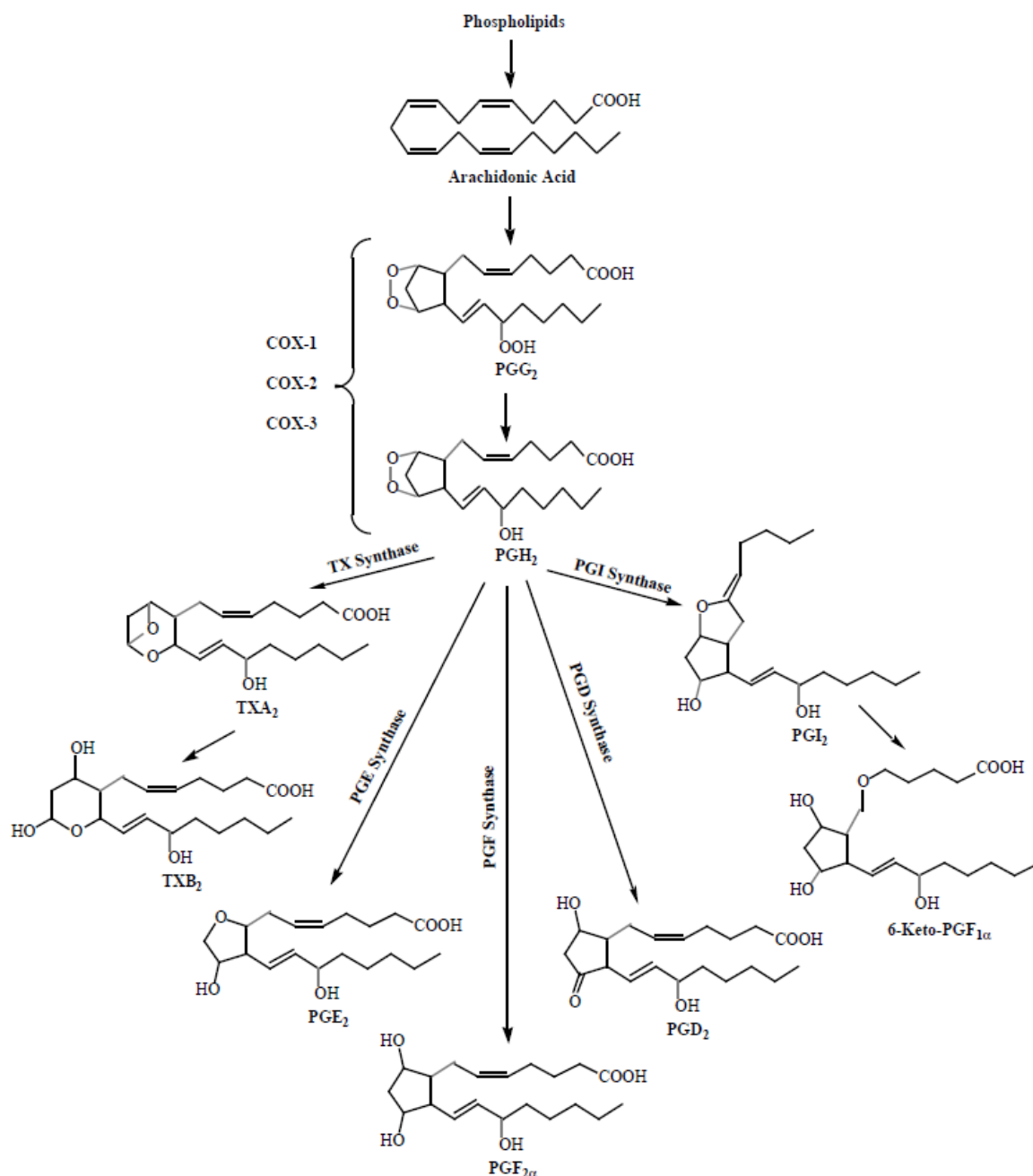
Na vzájemném vztahu prokrvení ucha a tinnitu jsou založeny i léčebné metody. Například hyperbarická oxygenoterapie, využívající schopnosti krve při vyšším atmosférickém tlaku dopravit do tkání vyšší množství kyslíku. Vnitřní ucho, které je značně prokrvené a nervově bohatě inervované, má velkou spotřebu kyslíku. U tinnitu mnohdy dochází i po dlouhém trvání potíží po opakované expozici v hyperbarické komoře ke zlepšení.

#### 3.1 Tromboxany

Za normálních okolností je endotel cév trombocytorezistentní, zabraňující přilnutí (adhezi) destiček. Porušením cévní stěny se však obnažují subendoteliální vrstvy a dochází k adhezenci trombocytů na tyto struktury. Následuje aktivace destiček a agregace, což je popisováno jako primární fáze trombózy. Agregací rozumíme vzájemné shlukování a spojování destiček, na kterou navazuje uvolnění trombocytárního sekretu. Aktivace destiček je spojena nejen s uvolněním zásobních granul, ale i se aktivizuje syntéza dalších látek, jako jsou právě prostaglandiny, tromboxany a jejich prekurzory endoperoxidy. Postupně se tvoří mikroprostředí pro aktivaci okolních destiček. Většina buněčných reakcí v destičkách je regulována cyklickým adenosinmonofosfem (cAMP) a vápníkem ( $Ca^{++}$ ). Stimulace destiček ADP, trombinem, kolagenem a dalšími vlivy je spojena s aktivací enzymů fosfatidylinozitolu a fosfolipázy  $A_2$ , které následně uvolňují z fosfolipidových elementů buněčných membrán trombocytů kyselinu fosfatidovou a kyselinu arachidonovou. Kyselina arachidonová je



následně substrátem pro lipooxygenázu a cyklooxygenázu, jejichž cestou se tvoří leukotrieny, prostaglandiny, prostacykliny a tromboxany. Přímým prekurzorem tromboxanu A<sub>2</sub> je PGH<sub>2</sub>.



Obrázek 3. Metabolismus prostanoidů. (Claria, 2003)

Tromboxany jsou syntézovány v krevních destičkách a po uvolnění způsobují vasokonstrikci a agregaci destiček. Prostacykliny PGI<sub>2</sub> jsou naopak produkovány cévní stěnou a jsou účinnými inhibitory agregace destiček, mají tedy antagonistický účinek. Tromboxany v tomto ohledu chápeme jako důležité markery agregace destiček, neboť odráží jejich aktivitu. Tromboxany spadají do metabolických drah kyseliny arachidonové a jedná se o metabolismus tzv. eikosanoidů. Eikosanoidy představují několik skupin látek, které se odvozují z eikosaenové mastné kyseliny. Prostaglandiny a tromboxany jsou lokální hormony, které jsou rychle syntézovány podle potřeby a působí obvykle v okolí místa syntézy.

Tromboxan A<sub>2</sub> je velmi nestabilní sloučeninou, metabolizuje se na tromboxan B<sub>2</sub> a následně z něho vzniká 11-dehydrotromboxan B<sub>2</sub>, který je již stabilním metabolitem. Z organismu je tento metabolit vylučován převážně renální cestou. (Claria, 2003)

Tromboxan A<sub>2</sub> produkováný aktivovanými trombocyty způsobuje vasokonstrikci a agregaci destiček. Pacienti s nedostatečně suprimovanými hodnotami tromboxanu mají zvýšené riziko vzniku kardiovaskulárních příhod. (Eikelboom et al., 2002) V experimentu na zvířatech inhibitor tromboxan syntázy i antagonist receptoru tromboxanu A<sub>2</sub> významně prodlužovaly čas potřebný k úplnému potlačení kochleárního akčního potenciálu v porovnání s kontrolní skupinou. (Umemura et al., 1993) V našem sledování nás zajímala otázka, jsou-li u pacientů s tinnitem vyšší hodnoty 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>, což je stabilní metabolit tromboxanu A<sub>2</sub>.

### 3.2 Laboratorní metody vyšetřování agregability destiček

Laboratorní metody vyšetřující agregabilitu destiček in vitro jsou metody agregometrické a testy PFA.

Poprvé destičkové funkce testoval Duke v roce 1910 stanovením krvácivosti, která byla až do 90.let minulého století široce používána. Stanovení krvácivosti je nejjednodušší, ale nespecifické, málo senzitivní a závislé na řadě různých faktorů.

Průtoková cytometrie s použitím značených protilátek se užívá k detekci destičkových povrchových glykoproteinových receptorů. Nejčastěji je tato metoda používána při měření membránového destičkového selektinu a stanovuje se tím aktivita destiček.

Agregometrické metody na optickém podkladě, popsané G. Bornem v r. 1962 jsou náročné na čas, s možným ovlivněním celou řadou faktorů či typem použitého agonisty a

laboratorní výsledky jsou obtížně porovnatelné, metoda není standardizována. (Hankey et al., 2006; Sanderson et al., 2005) Užívaly se zejména v hematologii v diagnostice vrozených a získaných poruch destičkových funkcí. Další metody jsou turbidimetrické, které kontinuálně registrují změny transmise vzorků, ke kterým dochází vlivem tvorby agregátu. Luminiscenční metody umožní hodnocení agregace i sekreční reakce. Impedanční metody sledují změny v impedanci v návaznosti na agregační reakci.

Obecným omezením agregometrických metod je použití plasmy bohaté na trombocyty. Důsledkem přípravy vzorků tak může být zkreslení výsledků a materiál nemusí představovat reprezentativní vzorky. Navíc reakce trombocytů v prostředí *in vitro* a *in vivo* je odlišná. Další možností je vyšetření agregability destiček pomocí Platelet Function Analyseru (PFA-100). Podstatou vyšetření je uzavírání definovaného otvoru v analyzátoru zátkou tvořenou agregací destiček za určitou časovou jednotku. Mnohdy však tyto výsledky nekorelují s výsledky agregometrie.

VerifyNow<sup>TM</sup> byla vyvinuta jako poloautomatická metoda spočívající v měření aglutinace fibrinogenem potažených částic po přidání induktoru. Měří absorpci světelného paprsku vzorku poté, co se aktivované destičky shlukují s fibrinogenem na mikropartikulích a tím se mění opacita vzorku.

Podle mnohých literárních údajů je uvažováno jako o nejpřesnější metodě detekce agregability destiček sledování koncentrací tromboxanu A<sub>2</sub>, resp. jeho metabolitů tromboxanu B<sub>2</sub> a 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>. Přímé stanovení TxA<sub>2</sub> v séru je ztíženo krátkým biologickým poločasem. (Davi et al., 1990; Bruno et al., 2004; Hart et al., 2003) Další možností je sledování močových koncentrací, což se však následně ukázalo, že tyto koncentrace jsou ovlivněny významným faktem, že až 30% močových metabolitů pochází z extra-trombocytárních zdrojů a současně tento podíl je odvislý od jiných okolností, jako jsou například zánětlivé procesy. (Eikelboom et al., 2008) Naproti tomu vyšetření sérových koncentrací je považováno v dnešní době za nejspecifičtější test. Jsou užívány především pro hodnocení antiagregačních účinků aspirinu a současně je též jedinou metodou uznávanou EMA pro testování účinků různých druhů aspirinů (např. s pomalým uvolňováním, generické přípravky atd.) (Cattaneo M., 2007) Současně na našem domovském pracovišti jsou dlouhodobé zkušenosti se sledováním jak metabolitů tromboxanů v moči, tak i v plasmě. (Paluch et al., 2007; Sadílková et al., 2012, 2013)

## 4. Neurosteroidy a tinnitus

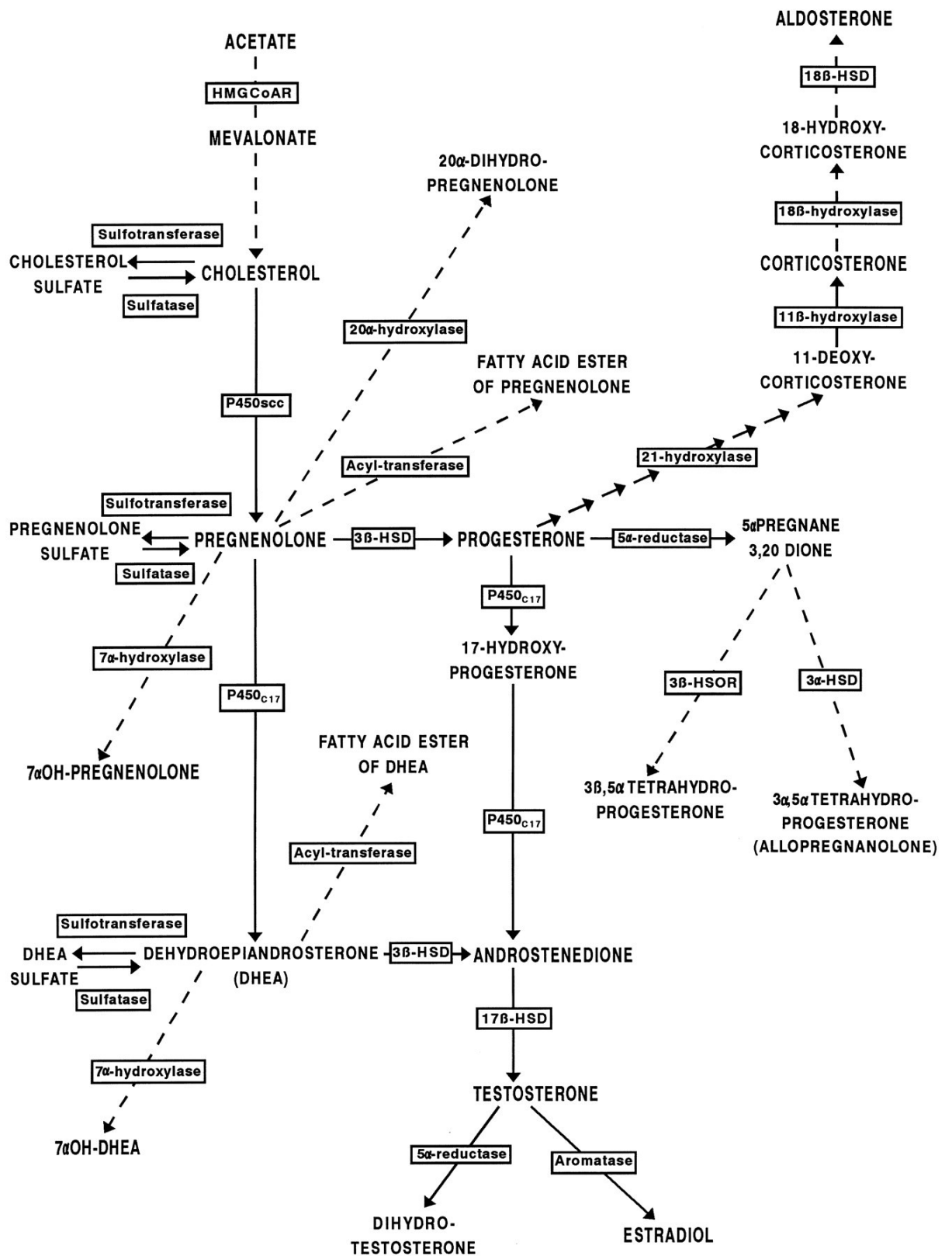
### 4.1 Charakteristika neurosteroidů

Neurosteroidy chápeme jako skupinu neuroaktivních steroidů, které se tvoří a působí v centrálním nervovém systému a současně mají schopnost se v nervovém systému akumulovat. (Baulieu et al., 1981) Navíc jsou neurosteroidy částečně nezávislé na sekreci steroidogenních žláz. Tvoří se buď de novo z cholesterolu a nebo z prekurzorů, které překonaly hematoencefalickou bariéru. Do skupiny enzymů, které jsou pro tvorbu nejdůležitějších neurosteroidů rozhodující, patří hydroxysteroidní dehydrogenázy, 5 $\alpha$ -reduktáza, sulfatáza, sulfotransferáza a 7-hydroxyláza. Bylo prokázáno, že de novo syntéza pregnenolonu, tedy prekurzoru veškerých neurosteroidů probíhá v oligodendrocytech, ale ne v neuronech a astrocytech, kde dochází až k jejich metabolismu. (Brown et al., 2000)

Neurosteroidy mají na rozdíl od steroidů vznikajících v klasických steroidogenních tkáních kromě účinků genomových, tedy pomalých, pomocí vazby na jaderné receptory, především účinky nengenomové, rychlé, pomocí vazby na receptory neurotransmiterové, ovlivňující propustnost iontových kanálů.

V souvislostech s neurosteroidy jsou studovány různé vztahy k chorobám, například pokusy na zvířatech dokazují, že plazmatické koncentrace allopregnanolonu a tetrahydrodeoxykortikosteron (THDOC) se při akutním stresu zvyšují, zatímco nízké hladiny obou steroidů se nacházejí při stresu chronickém. (Barbaccia et al., 1996; Dong et al., 2001) Dále bývají neurosteroidy studovány ve vztahu k různým druhům depresí. Jednoznačné závěry však stále chybí, abychom mohli specifikovat vztah mezi patofyziologií deprese a neurosteroidy. (Reddy, D.S., 2003)

Ve skupině neurosteroidů je nejdůležitějším představitelem dehydroepiandrosteron (DHEA). Ve formě svého sulfátu je vedle cholesterolu nejhojnější cirkulující steroid, přítomný v krvi v mikromolárních koncentracích. Hlavním zdrojem je kůra nadledvin, tvoří se ale také v mozku, kde se nachází ve velkém množství. Koncentrace DHEA výrazně klesají s věkem u mužů i u žen a snížené hladiny jsou obvykle asociovány s degenerativními změnami ve stáří a dále pak s poruchami imunitního a nervového systému. (Kalimi et al., 2000)



Obrázek 4. Biochemické cesty neurosteroidogeneze (Ayikoe et al., 1999)

## 4.2 Vztah neurosteroidů k tinnitu

Neurosteroidy syntézované v centrálním nervovém systému mají řadu účinků a vztah k paměti, chování a neuroprotekcí. Neurosteroidy, jako jsou pregnenolon a dexametason byly užívány v klinické praxi pro léčbu chorob vnitřního ucha, především u senzorineurálních poruch sluchu, u Meniérových chorob a tinnitu. (Sakata et al., 1997)

Neurosteroidy mají též protektivní efekt na kochleu při expozici nadměrnému hluku. Způsob či mechanismus účinku neurosteroidů při protektivním vlivu na sluchové orgány stále není objasněn. Jedna z hypotéz je, že hrají roli přes stria vascularis, kdy steroidy ovlivňují sekreci draslíku do endolymfy. (Lee et al., 2002)

Vztah neurosteroidů k tinnitu lze též zmínit v souvislosti s pozitivním účinkem antidepressiv u pacientů s tinnitem, kdy jejich užití vede ke zmírnění potíží (či snížení intenzity vnímání potíží). Tato souvislost je právě dávana do souvislostí se změnami hladin neurosteroidů. (Weaver et al., 1997)

Neurosteroidy jsme zařadili do našeho vyšetřovacího schématu z důvodů, že intenzita potíží u tinnitu velmi úzce souvisí s psychickým stavem jedince, kdy při psychické alteraci (především ve smyslu deprese) jsou potíže daleko intenzivnější. Populační studie udávají významný rozdíl v prevalenci tinnitu cca 19% u běžné populace oproti 39,5% u depresivních pacientů. (Shargorodsky et al., 2010). Neurosteroidy se dají využívat jako marker stresu a deprese a současně lze u nich zmínit účinek antiagregační a protizánětlivý, což lze vztáhnout pro téma vztahu trombogenních faktorů k tinnitu. (Figuroa et al., 2009) Experimentálně je potvrzeno, že neurosteroidy ovlivňují koagulační aktivitu, jak ve smyslu prokoagulačním, tak i opačně. V literatuře je popsáno, že progesteron může zvyšovat hladiny koagulačních faktorů. (Kato et al., 2005, Herkert et al., 2001, Schindler, 2003). Allopregnanolon naopak působí antikoagulačně a je zmiňován ve vztahu k trombotické mozkové příhodě. (VanLandingham et al., 2008).

## 5. Diagnostický přístup k pacientům s tinnitem

### 5.1 Anamnéza

Základními vstupními údaji jsou anamnestické informace. Zabýváme se vznikem potíží, zda-li jde o postupně progredující obtíže či o náhlý vznik vázaný na hlasitý zvuk (akutrauma) či vzniku potíží předcházel úraz. Zjišťujeme, jde-li o potíže jednostranné či oboustranné. Jednostrannost potíží může být způsobena ceruminem, zánětlivými onemocněními, případně asymetrická percepční porucha sluchu s tinnitem budí podezření na vestibulární schwannom (neurinom akustiku).

Z časového hlediska obvykle setrvalý tinnitus provází úbytek sluchu, epizodické potíže se vyskytují u Meniérovy choroby, pulsující tinnitus bývá cévního původu. Z hlediska frekvenční charakteristiky bývá obvyklé, že hluboké vrčivé zvuky bývají u Meniérovy choroby, vysoké zvuky spíše u percepčních poruch sluchu. Pátráme po současném výskytu závratí a expozici ototoxickým lékům.

### 5.2 Fyzikální vyšetření

Nezbytností u všech pacientů je komplexní vyšetření otorinolaryngologem. Základním vyšetřením je otomikroskopické vyšetření ucha, kde vyloučíme základní možné patologické příčiny potíží (cerumen, zánět, perforace...). Pokračujeme vyšetřením funkcí hlavových nervů, auskultací krku a kompresí stejnostranné jugulární žíly, přičemž tinnitus vaskulárního původu mění při kompresi svojí intenzitu. Orientační neurologické vyšetření v ambulanci otolaryngologa by mělo být následováno komplexním neurologickým vyšetřením u specialisty, protože tinnitus může být prvoprojevem závažných neurologických onemocnění, jako jsou především roztroušená skleróza či vestibulární schwannom.

V rámci komplexního vyšetření na ORL pracovišti je potřeba vyšetřit i oblast nosohltanu endoskopem, neboť porucha funkce Eustachovy tuby, která v nosohltanu ústí, může být též příčinou potíží. Pátráme po konstantnosti a intenzitě tinnitu a závislosti na poloze hlavy. Dále zjišťujeme komorbidity, jakými jsou vysoký krevní tlak, oběhové poruchy, metabolické poruchy a traumata.

### 5.3 Audiologické vyšetření

Další část vyšetření tvoří specifické testy zaměřené na diagnostiku percepčních a převodních poruch sluchu. Tradičně se používají ladičkové zkoušky, nejrozšířenějšími jsou Weberova a Rinneho zkouška. Všichni nemocní musí být vyšetřeni audiometricky, protože korelace mezi subjektivními vjemy a skutečnými akustickými vlastnostmi bývá malá. (Meyerhoff et al., 1991). Dále vyšetřujeme tympanometrii, která odhalí výpotek ve středouší a zhodnotí compliance bubínku, třmínkové reflexy a slovní audiometrii. Od výsledků standardních vyšetření se odvíjí indikace náročnějších vyšetřovacích metod.

Součástí vyšetření je hodnocení tinnitu pomocí maskování. Zkouší se různé sluchové podněty, které se porovnávají s frekvenční charakteristikou zvuků a odhaduje se intenzita. Zjišťuje se minimální maskovací intenzita, kdy je zaznamenána hlasitost zvuku nezbytného k překrytí tinnitu a dále residuální inhibice, tedy dosažení poklesu intenzity či vymizení tinnitu po expozici zvuku stejné frekvence a intenzity, jakou má tinnitus. Tato měření poskytnou informaci, jak účinně lze tinnitus maskovat zevními zvuky např. v rámci terapie. Dalšími vyšetřovacími metodami pro vyšetření sluchu jsou evokované potenciály, které již nejsou ovlivněny subjektivními vlivy pacienta.

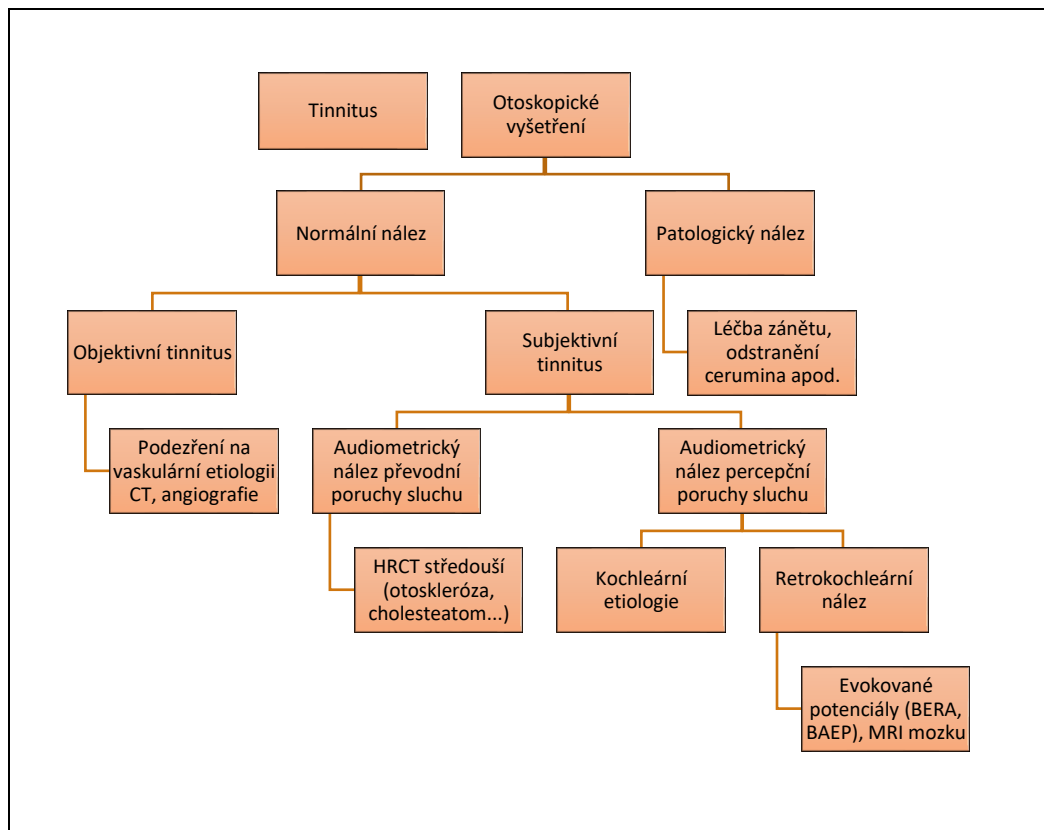
### 5.4 Paraklinická vyšetření

Při podezření na interní choroby je obvyklé laboratorní vyšetření zahrnující vyšetření krevního obrazu, základní biochemické ukazatele, hormony štítné žlázy, případně dle anamnestických údajů můžeme potřebná vyšetření rozšířit. (Schleuning AJ, 1991)

U nemocných s jednostrannými potížemi či při podezření na vážnější onemocnění indikujeme zobrazovací metodu. Obvykle se provádí CT vyšetření mozku s aplikací kontrastní látky, nebo MR mozku, která má ještě vyšší výpovědní hodnotu. (Weissman et al., 2000)

Posouzení osového myoskeletálního segmentu je též významné pro pacienty s tinnitem. Mozkový kmen a oblast labyrintu je dominantně zásobena z vertebrobasilárního povodí a mnohdy se mohou cílenými fyzioterapeutickými opatřeními ovlivnit chronické formy potíží, což přispěje ke zkvalitnění života postiženého jedince.





Tabulka 3. Schéma diagnostického algoritmu

## 6. Terapie tinnitu

Léčba tinnitu je značně komplikovaná, zdlouhavá a neexistuje univerzální schéma. Terapie akutního tinnitu bývá obvykle součástí péče o pacienty s náhle vzniklou poruchou sluchu. Zahrnuje bolus kortikoidů, vasodilatancia, vitaminoterapii, event. hyperbarickou oxygenoterapii. Terapie chronických forem potíží je značně komplikovanější. Zahrnuje obvykle kombinace farmakoterapie s fyzikální léčbou, rehabilitací a jiné doplňkové metody.

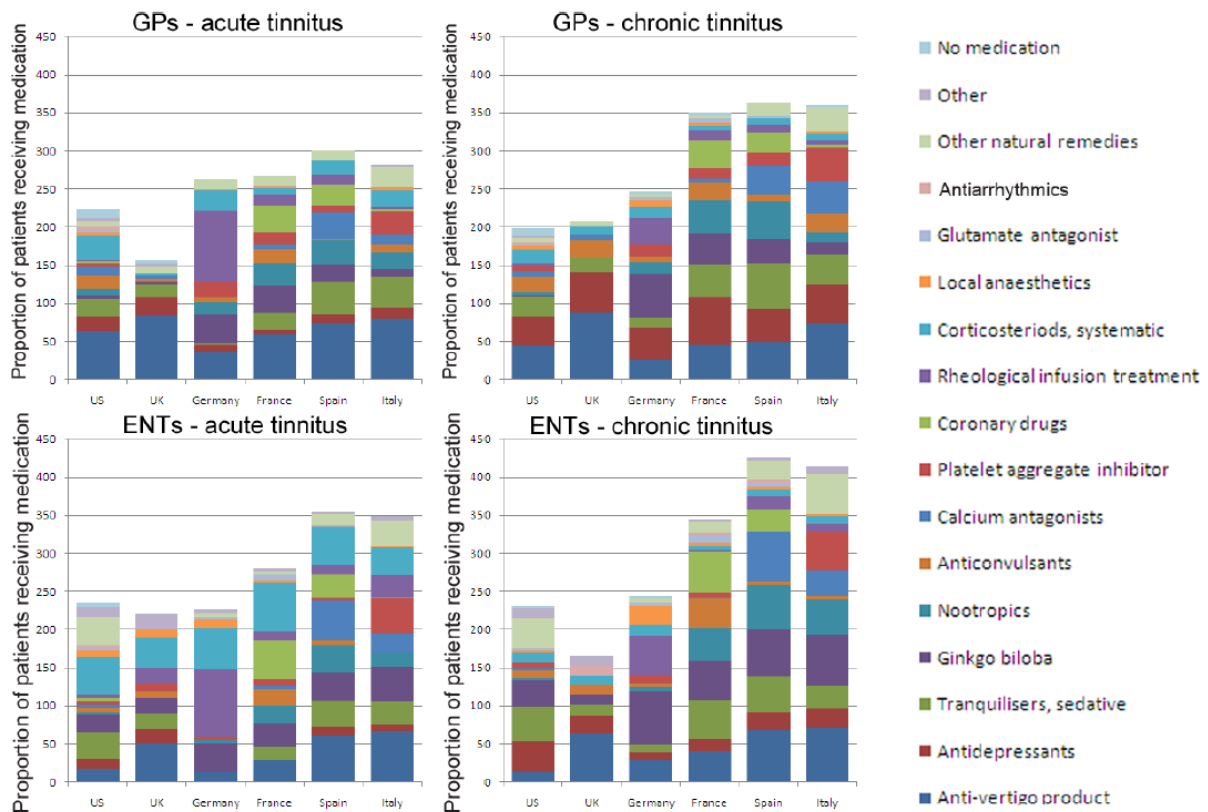
Častým lékem volby bývají extrakty jinanu dvoulaločného (EGb 761 - Ginkgo biloba). Tyto látky mají polymodální vliv na metabolismus buněk. Léčebné účinky výtažků z ginkgo biloba jsou známy především z dobrého efektu při terapii demencí, poruch duševní výkonnosti, poruch periferního prokrvení a mikrocirkulace a respiračních onemocnění. Definovaný alkoholový extrakt EGb 761 obsahuje zhruba 40 identifikovatelných látek (směs flavonoidových glykosidů, ginkoflavonové glykosidy, bilobalid a další). Aktivní látky působí různými mechanismy, které nezdědka nejsou dosud objasněny. Extrakt má vazoregulační, reologické, antiedémové účinky a působí pozitivně na intracelulární metabolismus v nervové tkáni. V cholinergním systému CNS indukuje EGb 761 zvýšení syntézy acetylcholinu a jeho uvolňování a zvýšení počtu cholinergních receptorů, jenž je ve stáří snížen. Vazoregulační účinky se vyznačují především vazodilatačním působením v oblasti arteriol, experimentálně snižuje arteriální spasmus a podporuje tonus venózní stěny. Extrakt zvyšuje kapilární rezistenci a snižuje kapilární hyperpermeabilitu, čímž dochází k antiedémovému účinku. Reologický efekt není omezen na erythrocyty, extrakty mají antiagregační účinek též na trombocyty (PAF inhibiční efekt). Účinek na intracelulární metabolismus je vysvětlován zvýšením poměru ATP a laktátu na kortikální úrovni, zlepšenou utilizací kyslíku a glukózy, inhibičním účinkem na lipoperoxidaci buněčných membrán a produkci a přítomnost volných kyslíkových a hydroxylových radikálů. Scavengerový efekt a stabilizace buněčných membrán se podílejí na výše popsaných účincích. V rámci hodnocení efektu terapie můžeme sledovat audiometrické zlepšení bez výraznějšího subjektivního korelátu (pacient si stále stěžuje na potíže stejné intenzity i přes jasné zlepšení nálezu). Toto bývá popisováno jako tzv. imprinting tinnitu a jde o teorie podporované neurofyzikálním výzkumem. Při kombinaci s dalšími léčebnými metodami (př. laser terapie) je vhodné zahájení podávání přípravků s ginkgo minimálně 3 týdny před vlastní laserovou expozicí. (Hilton MP, 2013; Tziridis et al., 2014; Roland et al., 2012)

Betahistin patří mezi vazodilatačné působící derivát histaminu, jehož mechanismus účinku není do všech detailů znám. Po jeho podání se cirkulace krve uvnitř vnitřního ucha

zlepšuje pravděpodobně pomocí relaxace prekapilárních sfinkterů mikrocirkulace ve vnitřním uchu. Farmakologické studie ukazují, že betahistin má slabý agonistický účinek na H1 receptory a významný antagonistický účinek na H3 receptory histaminu v CNS a autonomním nervovém systému. Betahistin má také inhibiční účinek na vzruchovou aktivitu neuronů v laterálním a mediálním vestibulárním jádru. Význam tohoto účinku však není zcela znám. Terapeutické indikace jsou Meniérova choroba s vertigem, poruchou sluchu a tinnitem a symptomatická léčba vestibulárního vertiga. (Orhan et al., 2013)

Antidepresiva v léčbě tinnitu mají též svojí nezastupitelnou úlohu, především pro chronické formy potíží. Výzkumy potvrzují, že pacienti s tinnitem mají vyšší incidenci depresí a anxiousních poruch. Stejná medikace, kterou užívají pacienti s depresemi může pomoci též pacientům s tinnitem. V roce 1993 prezentovali Mark Sullivan a Wayne Katon se svým týmem spolupracovníků výsledky velké, dvojitě zaslepené a placebem kontrolované studie s použitím tricyklických antidepresiv (nortriptylin). Výsledky studie potvrzují účinnost antidepresiv ve smyslu snížení intenzity tinnitu. Postupem doby se uplatňují především novější druhy antidepresiv ze skupiny SSRI, jejichž mechanismus účinku je fokusován na mozkový metabolismus serotoninu a jež mohou mít pozitivní vliv na tinnitus. Jejich užití je obvykle rezervováno pro chronické formy potíží. (Baldo et al., 2012)

Nootropika byla první skupinou léků vyvinutou specificky pro symptomatickou léčbu organického mozkového poškození. Nootropika lze charakterizovat jako léky, které mají příznivé účinky na metabolismus buněk centrálního nervového systému a pozitivně působí na vigilitu. Příznivý vliv nootropik na mozkový metabolismus je založen jednak na zlepšení dostupnosti a utilizace glukózy v mozku, nootropika urychlují metabolismus proteinů, nukleových kyselin a polysacharidů a současně interagují s neuronálními membránami a facilitují v nich metabolismus fosfolipidů. Nootropika mají obecné užití u poruch paměti, incipientních demencí, kvantitativních poruch vědomí, dále poúrazové stavy, stavy po encefalitidách a současně mají pozitivní vliv na zmírnění tinnitu a lze je tedy zařadit do léčebného schématu. (Hahn et al., 2008)



Obrázek 5. Proporcionální zastoupení různých farmak pro léčbu tinnitu, rozdíly mezi jednotlivými zeměmi při léčbě akutních a chronických forem, separátně odděleno pro praktické lékaře (GP) a ORL specialisty (ENT). (Převzato z Hall et al., Treatment options for subjective tinnitus: Self reports from a sample of general practitioners and ENT physicians within Europe and the USA. BMC Health Services Research 2011, 11:302)

Dle studií sledujících užívání různých léčiv při terapii tinnitu vychází jako nejčastěji používaná léčiva pro akutní formy tinnitu přípravky s ginkgo biloba, anti-vertiginózní léčiva, vazodilatační infuze, kortikosteroidy, trankvilizéry, blokátory vápníkových kanálů, léky s protidestičkovým účinkem či nootropika. Pro chronické formy tinnitu jsou používány opět léky s anti-vertiginózním účinkem, oproti použití u akutních forem mají větší zastoupení antidepressiva, naopak u chronických forem jsou méně užívané kortikosteroidy; dalšími léčivy kromě ginkgo biloba jsou trankvilizéry, protidestičková léčiva, blokátory vápníkových kanálů, nootropika, vzácněji antiarytmika či antagonisté glutamátových receptorů. Častost použití různých léčiv se liší dle jednotlivých evropských zemí či v USA, což ukazuje připojený obrázek. (Hall et al., 2011)

Z dalších léčebných a podpůrných metod lze zmínit neinvazivní laser, rehabilitaci a akupunkturu. Výhodná se zdá být kombinace EGb 761 s použitím soft-laser terapie. Laserová terapie, využívající elektromagnetické vlnění má efekt analgetický (pokles dráždivosti periferního nervového systému), protizánětlivý (aktivace imunokompetentních buněk) a stimulační (aktivace enzymů dýchacího řetězce a umocňuje antioxidační účinky). Po ozáření laserem získávají buňky další energii pro svoji rychlejší obnovu a zesiluje se jejich obranný mechanismus. Doposud neexistuje obecné platné schéma aplikace laserové terapie. Pacienti obvykle absolvují nejméně 10 laserových expozicí, terapie bývá přibližně 3týdenní. Trvání jedné expozice je 10 minut, přičemž prvních pět minut kontinuálním paprskem a druhých pět minut pulsatorickým. Cílená oblast je mastoid a hlemýžď cestou přes zevní zvukovod. Vlnové délky použitého laserového záření jsou různé (650 nm, 830 nm, atd.), srovnávací studie s jasným závěrem terapeutického efektu dle vlnové délky však chybí. (Hahn et al, 2012)

Hyperbarická oxygenoterapie je doplňkovou léčbou hlavně u akutních poruch sluchu provázených tinnitem. Další důležitou léčebnou metodou je tzv. tinnitus retraining therapy (TRT), jež využívá plasticity mozkové kůry. Vychází z podstaty, že tinnitus není hlasitý vjem, ale mozek jej tak vnímá. Cílem je naučit mozek vnímat tento zvuk méně intenzivně. Tato léčba zahrnuje konzultace, relaxace, psychologická sezení apod. U pacientů s lehčí formou nedoslýchavosti ve středních a vyšších frekvencích lze též využít tzv. tinnitus masker, což je přístroj generující speciální tón či šum, který má za cíl vytvořit adaptaci na tento stav a přehlušit vlastní tinnitus. (Jalilvand et al., 2015)

Assessment of Eight Quality Criteria, Overall Quality Rating, and Effect Size for Each of the 28 Studies.

Reference	Study Design*	Blinding†	Outcome Measures‡	Compliance§	Controls¶	Similarity Between Groups‡	Potential Bias‡	External Validity**	Study Quality	Cohen's <i>d</i> Effect Size (Variable)
Information/education										
Henry et al. (2007) <sup>17</sup>	2	0	2	1	2	2	2	1	Moderate	—
Kaldo et al. (2007) <sup>22</sup>	2	0	2	2	1	2	2	1	Moderate	0.52 (TRQ)
Malouff et al. (2010) <sup>23</sup>	1	0	2	1	1	1	2	1	Moderate	0.25 (TRQ)
Relaxation therapy										
Biesinger et al. (2010) <sup>25</sup>	1	0	2	2	1	1	1	1	Moderate	0.43 (TBF-12)
Ireland et al. (1985) <sup>27</sup>	2	0	1	0	1	1	1	1	Low	0.05 (BDI)
Weise et al. (2008) <sup>29</sup>	2	0	2	1	1	2	2	2	Moderate	1.63 (TQ)
Cognitive behavioral therapy										
Abbott et al. (2009) <sup>31</sup>	1	0	2	2	2	1	1	0	Moderate	0.21 (TRQ)
Andersson et al. (2002) <sup>30</sup>	2	0	2	2	1	1	2	2	Moderate	0.45 (TRQ)
Andersson et al. (2005) <sup>34</sup>	2	0	2	1	1	2	2	1	Moderate	0.65 (TRQ)
Henry and Wilson (1996) <sup>19††</sup>	2	0	2	1	2	1	1	1	Moderate	0.37 (TRQ)
Henry and Wilson (1998) <sup>36</sup>	1	0	2	1	2	0	1	1	Low	0.6 (TRQ)
Kaldo et al. (2008) <sup>32</sup>	2	0	2	1	1	2	1	1	Moderate	-0.18 (TRQ)
Kröner-Herwig et al. (1995) <sup>37</sup>	2	0	2	1	1	2	1	1	Moderate	—
Kröner-Herwig et al. (2003) <sup>39††</sup>	2	0	2	1	2	1	2	1	Moderate	0.67 (TQ)
Rief et al. (2005) <sup>42</sup>	2	0	2	1	1	2	1	2	Moderate	0.58 (TQ)
Robinson et al. (2008) <sup>38</sup>	2	1	2	2	1	1	2	2	High	—
Zachriat and Kröner-Herwig (2004) <sup>41§§</sup>	1	0	2	1	2	2	1	1	Moderate	0.66 (TQ)
Sound enrichment										
Davis et al. (2008) <sup>43</sup>	0	0	2	1	2	1	0	1	Low	—
Herraiz et al. (2010) <sup>45</sup>	2	0	2	2	1	2	2	1	Moderate	0.44 (THI)
Stephens and Corcoran (1985) <sup>24</sup>	1	0	1	0	2	1	2	1	Low	—
Tinnitus retraining therapy										
Caffier et al. (2006) <sup>47</sup>	2	0	2	0	1	1	1	1	Low	—
Seydel et al. (2010) <sup>48</sup>	2	0	2	0	1	1	1	1	Low	—
Antidepressants										
Robinson et al. (2005) <sup>49</sup>	2	2	2	2	2	2	1	2	High	0.09 (THQ)
Sullivan et al. (1993) <sup>50</sup>	1	2	2	1	2	1	2	1	Moderate	0.88 (HAM-D)
Zöger et al. (2006) <sup>52</sup>	1	2	2	2	2	2	1	2	High	0.35 (HAM-D)
Anxiolytics										
Jalali et al. (2009) <sup>56</sup>	2	2	2	1	1	1	2	2	High	0.07 (THI)
Night sedation										
Neri et al. (2009) <sup>57</sup>	2	0	2	2	1	1	1	1	Moderate	—
Rosenberg et al. (1998) <sup>58</sup>	2	2	2	2	2	2	1	1	High	—

\*Study design: fully randomized (score 2) or stratified (score 1).

†Blinding of participants (score 1) and investigators (score 1).

‡Validated questionnaire measures (score 2 if appropriate, 1 if weak).

§Compliance measures (score 1) and reporting (score 1).

¶Quality of control condition (score 2 if well-controlled intervention, score 1 for waiting-list control).

‡Similarity of groups: baseline tinnitus severity (score 2 if no significant differences, 1 if minor differences or under-reported, 0 if groups not matched).

‡Bias related to funding (score 2 if stated and no evidence of bias, 1 if academic with no statement of funding source).

\*\*External validity representative a clinical population (score 1); power calculation was conducted (score 1).

††Also examined education.

‡‡Also examined education and relaxation.

§§Also examined TRT.

TRQ = Tinnitus Reaction Questionnaire, TBF-12 = Tinnitus Handicap Inventory-12, BDI = Beck Depression Inventory, TQ = Tinnitus Questionnaire (Goebel-Hiller); THI = Tinnitus Handicap Inventory, THQ = Tinnitus Handicap Questionnaire, HAM-D = Hamilton Depression Scale.

Tabulka 4. Přehled klinických studií pojednávajících o jednotlivých modalitách léčby tinnitu (převzato z Hoare et al., 2011)

Co se akupunktury a jejího použití u tinnitu týče, tak lze tuto léčebnou metodu chápat jako doplňkovou, avšak podle dostupných informací z klinických studií, jednoznačný efekt většinou nebyl zcela potvrzen, o čemž vypovídá přehled v tabulce č. 5.

**Key Data of 6 Randomized Controlled Trials (RCTs) on the Efficacy of Acupuncture for Tinnitus\***

Study	No. of Subjects (No. Receiving Acupuncture)	Design	Intervention (No. of Sessions)	Control	Main Outcome Measure	Main Results	Jadad Score	Follow-up	Statistics
Hansen et al, <sup>12</sup> 1982	17 (17)	RCT, CO, SB, EB	Manual acupuncture (6)	Sham (subcutaneous insertion)	Diary (better, normal, or worse)	NS	4	No	ANOVA
Marks et al, <sup>13</sup> 1984	14 (14)	RCT, CO, SB, EB	Electroacupuncture (2)	Sham (pricking)	VAS (loudness) and verbal description	NS, patients reported subjective benefit	3	No	$\chi^2$ Test
Podoshin et al, <sup>6</sup> 1991	58 (10)	RCT	Electroacupuncture (10), biofeedback, and cinnarizine	Placebo, biofeedback and placebo, and cinnarizine	Subjective disturbance rating (0-4)	Biofeedback > acupuncture > cinnarizine or placebo controls	2	No	t Test
Axelsson et al, <sup>14</sup> 1994	20 (20)	RCT, CO, SB	Manual acupuncture (15)	Sham electroacupuncture	VAS (annoyance, loudness, and awareness)	NS, patients reported subjective benefit	1	No	Not stated
Furugard et al, <sup>7</sup> 1998	22 (22)	RCT, CO	Manual acupuncture (15)	Routine physiotherapy	VAS (annoyance, loudness, and awareness) and NHP	Significant improvement, but returned to pretreatment levels at 1-year follow-up	1	1 y	Not stated
Vilholm et al, <sup>15</sup> 1998	54 (29)	RCT, SB, EB	Manual acupuncture (25)	Sham (random points)	VAS (annoyance, loudness, and awareness)	NS	3	No	ANOVA

Tabulka č. 5 – Přehled randomizovaných klinických studií hodnotících efekt akupunktury pro léčbu tinnitu. (Převzato z Park et al., 2000)

Mezi preventivní opatření, která sníží riziko rozvoje tinnitu, patří obecně boj proti hluku a důsledné užívání ochranných pomůcek u pracovníků pobývajících v hlučném prostředí. Dále je důležité vyloučení ototoxických látek, alkoholu a obecně včasné zahájení léčby onemocnění ORL oblasti. Ve vztahu k tinnitu je důležité zmínit i vliv stresových faktorů, které se významně spolupodílí na rozvoji potíží a tudíž vyvarování se nepříznivých vlivů na psychiku patří mezi preventivní opatření.

## 7. Hypotézy a cíle práce

Primárním cílem naší práce bylo sledování pacientů s tinnitem bez zjištěné organické příčiny a hodnocení protrombogenních faktorů u těchto pacientů.

Cílem práce je zjištění, zda-li:

- 1. u pacientů s tinnitem je zvýšená aktivita destiček hodnocená stanovením plasmatických koncentrací 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>**
- 2. porovnání hladin 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub> s ostatními koagulačními parametry a vyslovení závěru, existuje-li korelace s těmito ukazateli**
- 3. existuje-li u pacientů s tinnitem vztah k hladinám neurosteroidů, především pak k takovým metabolitům, které mají vztah k regulaci perfúze v oblasti centrálního nervového systému či přímo vztah k protrombogenní účinkům**



## 8. Materiál a metodika

### 8.1 Charakteristika studie

Schéma studie je longitudinální, prospektivní kohortová studie se skupinou pacientů s tinnitem bez zjištěné organické příčiny, včetně vyloučené non-vaskulární etiologie (Meniérova choroba, akustické trauma apod.) a vyloučených komorbidit, které by mohly ovlivňovat výsledky sledování, stejně jako vyloučené užívání medikace, která ovlivňuje sledované výsledky.

Pacienti byly vybráni a do studie zařazeni na ORL oddělení Thomayerovy nemocnice v Praze od 1.1.2010 do 31.12.2013. Základní vstupní diagnóza s MKN kódem H931 – Tinnitus. Celkový počet pacientů ve studii před vyřazením subjektů, kteří nesplňují potřebná kritéria je 853 (n=853).

### 8.2 Zařazovací kritéria

Do studie byly zařazeni všichni pacienti, kteří byli léčeni pro tinnitus. Z těchto pacientů jsou důsledně vybíráni pouze ti, kteří splňují hlavní zařazovací kritéria:

- Tinnitus bez organické příčiny
- Dolní věková hranice od 18 let, horní věková hranice není omezena
- Spolupracující pacienti, schopni podstoupit a spolupracovat při vyšetření

### 8.3 Vylučovací kritéria

Ze studie jsou jednoznačně vyloučeni pacienti, kteří mají potvrzenou organickou příčinu potíží. Z vylučovacích kritérií jsou sledovány tyto podmínky:

- Organická příčiny tinnitu
- Nevaskulární příčiny tinnitu (Meniérova choroba, akustické trauma a další otologická onemocnění)
- Poruchy sluchu převodní či percepční s prahem slyšení na více než 40dB

- Komorbidity, které mohou ovlivňovat výsledky
  - Pacienti se zánětlivými onemocněními
  - Kardiovaskulární onemocnění obecně
  - Diabetes mellitus
  - Nádorová onemocnění
  - Renální dysfunkce
  - Psychiatrická onemocnění
  - Neurologická onemocnění (roztřesená skleróza, vestibulární schwannom)
- Těhotenství
- Užívání ototoxických léků
- Užívání léků ovlivňujících srážení krve
- Užívání léků ze skupiny SSRI (zpětné vychytávání serotoninu) a statiny
- Pacienti s patologickými hodnotami trombocytů, erytrocytů a plasmatickým kreatininem mimo referenční rozmezí
- Abusus alkoholu či jiných návykových látek

## 8.4 Strategie vyšetřování, sledované ukazatele

### 8.4.1 Klinické parametry

Všichni pacienti podstoupili komplexní vyšetření u internisty a lékaře ORL odbornosti. Vyšetření zahrnovalo anamnestické šetření stran délky trvání potíží a charakteristiky tinnitu (vysoké či hluboké tóny), prodělaná onemocnění a současně či dříve užívané léky. Klinické vyšetření sestávalo z otomikroskopie, epifaryngoskopie a následně kompletního audiometrického vyšetření včetně maskování tinnitu a tympanometrie.

Otomikroskopickým vyšetřením zhodnotíme především oblast zevního zvukovodu a boltce, kde pátráme po různých patologických změnách, obturaci zvukovodu ceruminem, zánětlivých změnách či jiné patologii. Dále hodnotíme oblast bubínku, což je jemná blanka oddělující středoušní dutinu. Tímto způsobem jsme schopni zhodnotit diferencovanost bubínku, přítomnost retinovaného obsahu ve středouši a další patologické změny. Všichni pacienti v naší skupině s tinnitem mají normální otoskopický nález.

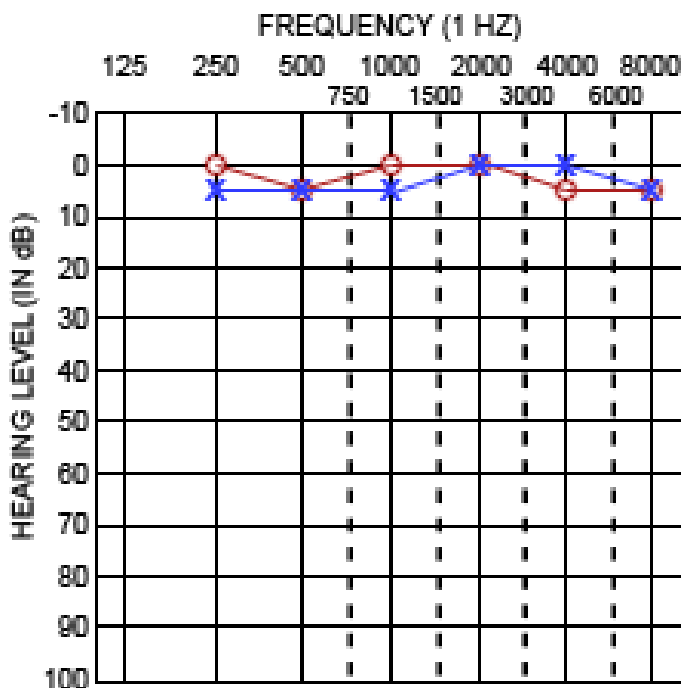
Epifaryngoskopickým vyšetřením hodnotíme endoskopem oblast nosní dutiny a především pak oblast nosohltanu, neboť zde jsou ústí Eustachových tub, která při obstrukci mohou být příčinou problémů spojených s poruchami provzdušnění středouší. Naši pacienti musí mít nosohltan a ústí tub oboustranně volná.

#### 8.4.2 Audiometrické a tympanometrické vyšetřování, maskování tinnitu

Cílem audiometrického vyšetření je stanovení prahu sluchu pro čisté tóny vzdušným a kostním vedením. Dále se pomocí speciálních testů určuje, jedná-li se o poruchu převodní či percepční a u percepční nedoslýchavosti se diagnostikuje kochleární či suprakochleární postižení.

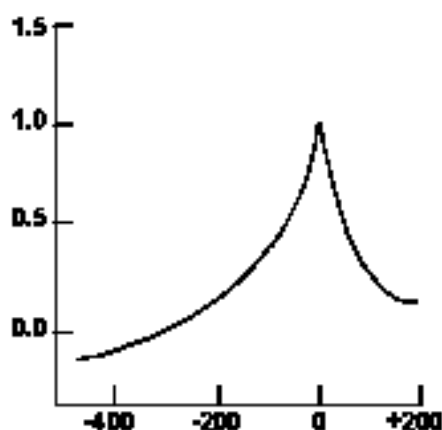
Audiometrické vyšetření sluchu čistými tóny je metoda subjektivní a jsme odkázáni na fakt, že pacient musí sám signalizovat, že daný tón slyší. Vyšetřování se provádí za specifických podmínek a především musí být splněn požadavek na tichou komoru s krátkým dozvukem a upravenou pohltivostí zvuku stěnami.

Všichni zařazení pacienti nemohou mít percepční či převodní poruchu sluchu s prahem slyšení na více než 40dB, neboť je obecně známo, že výraznější tinnitus je obecně u těžších forem poruch sluchu intenzivnější.



Obrázek 6. Audiogram s normálním nálezem

Tympanometrie představuje měření akustické admitance za různých tlakových podmínek v zevním zvukovodu. Měřící sonda je hermeticky umístěna ve zvukovodu a sleduje se výsledek tlakových změn na bubínek. Jde o závislost tlaku vyjádřeného v dekapascalech na admitanci vyjádřenou obvykle v mililitrech.



Obrázek 7. Tympanogram s normálním nálezem (A křivka)

Vyšetřování ušních šelestů spočívá obvykle ve srovnávání šelestu s určitou výškou a intenzitou tónu, který aplikujeme do opačného ucha. Pokud nemá šelest tonální charakter, je vhodné použít třetinooktávový šum. Na frekvencích, které se blíží frekvenci šelestu je práh maskován. Šelesty, které vznikají suprakochleárně lze maskovat obvykle velmi obtížně anebo je nelze maskovat vůbec. Může naopak dojít k jejich zesílení, protože neadekvátní podněty dráždí nervová vlákna a šelest je možné maskovat jen vysokou intenzitou. (Novák et al., 1998)

#### 8.4.3 Laboratorní parametry

Všem pacientům byla odebrána žilní krev a prováděná laboratorní vyšetření zahrnovala krevní obraz včetně diferenciálního rozpočtu, standardní biochemické ukazatele (ALT, AST, kreatinin, urea, GMT, CRP), koagulační parametry (protrombinový čas, INR a fibrinogen) a koncentraci 11-dehydrotromboxanu B2. Dále se sledovaly plazmatické koncentrace vybraných neurosteroidů.

Krev se odebírala metodou venepunkce z antekubitální žíly do doporučených plastových zkumavek (Vacutainer). Rutinní laboratorní parametry jako jsou kreatinin, urea,

žaterní testy a další byly stanoveny metodou absorpční spektrofotometrie, C-reaktivní protein se stanovoval metodou imunoturbidimetrickou.

Protrombinový čas, též zvaný Quickův test udává rychlost přeměny trombinu na trombin v důsledku působení tkáňového tromboplastinu (koagulační faktor III). Tento test odráží funkci vnější a společné cesty koagulační kaskády a provádí se tak, že do dekalcifikované plasmy se přidává tkáňový tromboplastin spolu s přebytkem vápenatých iontů, čímž se aktivuje vnější a poté společná cesta koagulace. Výsledky testu se obvykle uvádí indexem INR (international normalized ratio).

$$INR = (t_P/t_N)^{ISI}$$

$t_P$  - čas srážení krve u pacienta

$t_N$  - čas srážení normální plazmy

$ISI$  - ISI použitého tromboplastinu

Jde o poměr koagulačního času vyšetřovaného vzorku a koagulačního času kontrolní plasmy. Fyziologická hodnota INR se pohybuje v rozmezí 0,8-1,2, fyziologické hodnoty protrombinového času jsou 12-15 sekund. Při zvýšené srážlivosti krve je INR nižší, při prodloužené srážlivosti se INR zvyšuje.

Stanovení plasmatických koncentrací fibrinogenu, které mají fyziologické hodnoty obvykle mezi 3-5g/l, je dalším sledovaným parametrem u pacientů s tinnitem. Jedná se o plasmatický protein tvořený v játrech a v  $\alpha$ -granulích krevních destiček. Jde o symetrický dimer složený ze tří párů řetězců. Během koagulace je působením proteolytického enzymu trombinu odštěpen fibrinopeptid A a vzniká monomer fibrinu. Poté trombin odštěpí fibrinpeptid B a dochází k polymerizaci monomerů fibrinu. Při elektroforéze plasmy se pohybuje mezi  $\beta$ - a  $\gamma$ -globuliny. (Racek et al., 1999) Plasmatická koncentrace fibrinogenu stoupá při akutní zánětlivé reakci (protein akutní fáze). Koncentrace klesají při nedostatečné tvorbě u těžkých hepatopatií nebo při jeho zvýšené spotřebě, jako například při DIC. Fibrinogen je rizikovým faktorem aterosklerózy. Metody pro stanovení fibrinogenu využívají enzymové přeměny protrombinu na trombin, který převádí fibrinogen na fibrin a sleduje se doba potřebná ke koagulaci (trombinový čas) nebo dochází k reakci s biuretovým činidlem. K detekci koagulace lze též použít turbidimetrické metody.

Vzorky pro stanovení koncentrace 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub> byly po odběru do zkumavky s heparinem inkubovány při 37 stupních Celsia po dobu 1 hodiny. Poté byly vzorky centrifugovány po dobu 7 minut na 878g k oddělení plasmy. Plasmatické koncentrace tromboxanů byly měřeny dle doporučení výrobce metodou enzymové immunoassay (EIA) s užitím kitů Cayman Chemicals, Tallin, Estonia a Neogen, Lexington, KY, USA.

Stanovení hladin neurosteroidů je komplikovanější. Byly využity systémy GCMS-TQ8040 Shimadzu (Kjóto, Japonsko) sestávající z plynového chromatografu s automatickým řízením toku a systém AOC-20s s nastavitelným napětím 10 – 195 voltů. Analýza byla provedena v režimu Q3-SIM. K analýzám byla použita kapilární kolona se sloupcem RESTEK Rxi (průměr 0,25 mm, délka 15 m, filmová tloušťka 0,1 μm). Pro měření výsledků bylo nastaveno elektronové napětí 70V a proud na 160 μA. Teploty v injekčním portu byly dodrženy na 220, 300 a 310° C. Analýzy byly provedeny v neděleném režimu s konstantní lineární rychlostí nosného plynu (He), která byla 60 cm/s. Vzorky byly aplikovány vysokotlakým injektorem při tlaku 200 kPa a udržovány za 1 min. Detektor napětí byl nastaven na 1,4 kV.

### *Steroidní analýza*

Celkem bylo analyzováno 46 analytů zahrnujících skupinu jaterních funkcí, 26 nekonjugovaných steroidů a 20 konjugovaných steroidů. Steroidní metabolom v mateřské cirkulaci zahrnuje koncentrace C21 Δ<sup>5</sup> steroidy, C19 Δ<sup>5</sup> steroidy, C21 Δ<sup>4</sup> steroidy, C19 Δ<sup>4</sup> steroidy, estrogeny, C21 5α/β-redukované steroidy a C19 5α/β-redukované steroidy. Většina steroidů byla stanovena metodou GC-MS dle dříve publikované metody (Hill et al., 2010, 2011), avšak 17-hydroxyprogesteron a kortizol byly kvantifikovány pomocí RIA souprav od firmy Immunotech (Marseille, Francie).

### *GC-MS analýza*

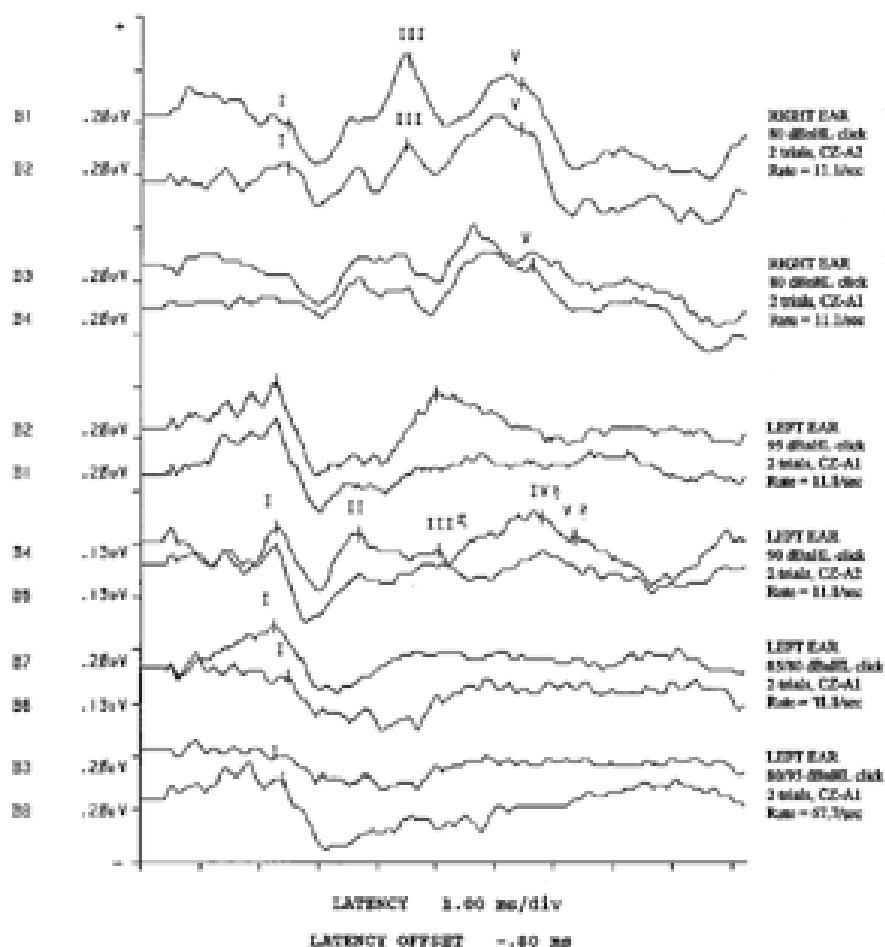
Příprava vzorku k analýze GC-MS je následující: nekonjugované steroidy jsou extrahovány z 1 ml séra diethyletherem (3 ml). Po vymražení vodné fáze je éterová fáze slita a vysušena při teplotě 37° C. Lipidy z extraktu ze sušiny diethyletheru jsou odděleny směsí methanol voda 4:1 (1 ml) a pentanu (1 ml). Pentanová fáze se nepoužije a polární fáze je vakuově odstředěná při teplotě 60° C (2 h). Suchý odparek z polární fáze je derivatizován roztokem methoxylaminu

v pyridinu (2 %) na oxo skupiny (60° C, 1 h). Směs po první derivatizaci se vysuší v proudu dusíku a suchá residua reagují se Sylon B (99 % bis (trimethylsilyl)-trifluoracetamidu a 1 % chlorsilanu) a tvoří trimethylsilyl deriváty na hydroxylových skupinách (TMS-MOX deriváty) (90° C, 1 h). Nakonec směs po druhém derivatizačním kroku se vysuší v proudu dusíku a suchý odparek je rozpuštěn v 20 µl isooktanu a 1 µL tohoto roztoku je použit k analýze GC-MS. Steroidní konjugáty zbývající v polárním zbytku po extrakci jsou analyzovány takto: polární zbytky jsou vysušeny ve vakuové odstředivce při teplotě 37° C (5 h) a suché zbytky jsou byly hydrolyzovány. Hydrolyzované vzorky jsou opět vysušeny ve vakuové odstředivce při teplotě 37° C (5 h). Vysušená residua jsou rekonstituovány v 1 ml chromatografické vody a pak dále zpracovávány stejným způsobem jako volné steroidy. Oproti přípravě vzorků volných steroidů jsou residua po druhém derivatizačním kroku rozpuštěna v 200 µl isooktanu namísto 20 µl isooktanu. Před dalším zpracováním jsou původní vzorky a polární fáze po extrakci diethyletherem, které byly použity pro kvantifikaci steroidní konjugátů, byl přidán 17 $\alpha$ -estradiolu (jako vnitřní standard) k dosažení koncentrace 1 a 10 ng/mL. Vnitřní standard byl zaznamenán na efektivnost  $m/z = 231, 285$  a  $416$ .

#### 8.4.4 Zobrazovací metody a evokované potenciály

K vyloučení patologie v cerebellopontinní oblasti bylo užíváno CT zobrazení či magnetická rezonance. Současně se provádělo rentgenové vyšetření se zaměřením na krční páteř a atlantookcipitální skloubení.

Pro diagnostiku kmenových lézí je využívána metodika stanovení sluchového prahu evokovanými potenciály. Jedná se především o metodu BAEP (brainstem evoked acoustical potentials) či BERA (brainstem evoked responses audiometry), kdy se sleduje odpověď na definované akustické stimuly. Hodnotí se latence a amplituda jednotlivých vln.



Obrázek 8. BERA záznam (evokované potenciály)

## 8.5 Statistické metody

Statistické metody použité v této práci zahrnovaly jak kvalitativní, tak i kvantitativní parametry. Prezentované výsledky jsou jako průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky u kvantitativních veličin a jako procento u kvalitativních znaků. Pro veličiny, které nemají Gaussovo rozložení (např. CRP a 11-dehydrotromboxan B2) byla provedena logaritmická transformace. Ke statistickému zhodnocení jsme v našich souborech použili statistické Wilcoxon / Kruskal-Wallis testy, ChiSquare aproximace, parametrické a neparametrické testy v případech, kdy hodnoty distribuce nekorrespondují s Gaussovským rozložením. Dále byly použity metody vícerozměrné regrese a model OPLS. Signifikantní výsledky jsou na hladině významnosti  $p < 0.05$ .

Statistické metody použité k hodnocení hladin neurosteroidů jsou následující. K odhadu asociace mezi intenzitou a frekvencí tinnitu na jedné straně a steroidním metabolitem na



straně druhé jsme použili jednak Spearmanovy korelační koeficienty při respektování negausovského rozdělení dat a dále metodu vícerozměrné regrese s redukcí dimenzionality známé jako model axonometrické latentní struktury (OPLS). Tato efektivnější metoda současně hodnotí vztahy mezi steroidy a intenzitou tinnitu. OPLS je schopna vyrovnat se s problémem těžké multikolinearity – vysoké vzájemné korelace a interakce v matici prediktorů, zatímco obyčejná vícenásobná regrese není schopna tyto údaje vyhodnotit. Multikolinearita v OPLS je příznivá, neboť to zvyšuje předvídatelnost modelu.

Variabilita sdílená mezi steroidy a intenzitou tinnitu byla oddělena v prediktivní komponentu a ortogonální složky jsou sdíleny v rámci vysoké interkorelace u steroidů nezávisle na intenzitě tinnitu. Ačkoliv jsou ortogonální složky nutné pro vytváření modelů OPLS, nebyly zajímavé z hlediska interpretace. OPLS dokáže identifikovat nejlepší prediktory stejně jako nejlepší kombinaci prediktorů ve vztahu k tinnitu. Po standardizaci proměnných OPLS modelu lze vyjádřit následovně:

$$X = T_p P_p^T + T_o P_o^T + E \quad (1)$$

$$Y = T_p P_p^T + F \quad (2)$$

$\mathbf{X}$  je matice s prediktory a subjekty,  $\mathbf{Y}$  je vektor závislé proměnné a subjektů;  $\mathbf{T}_p$  je vektor skóre z jednosložkové prediktivní komponenty a subjekty extrahované z  $\mathbf{Y}$ ;  $\mathbf{T}_o$  je vektor skóre z ortogonálních komponent a subjekty extrahované z  $\mathbf{X}$ ;  $\mathbf{P}_p$  je vektor komponent získaných pro prediktivní komponenty extrahované z  $\mathbf{Y}$ ;  $\mathbf{P}_o$  je vektor komponent získaný pro ortogonální komponenty extrahované  $\mathbf{X}$  a nezávisle proměnných a  $\mathbf{E}$  a  $\mathbf{F}$  jsou chybové podmínky.

Relevantní prediktory byly vybrány s využitím variabilní statistické významnosti (VIP). Statistický software SIMCA-P v.12.0 z Umetrics AB (Umeå, Švédsko), který byl použitý pro OPLS analýzu, umožňuje hledání počtu příslušných komponent, detekci vícerozměrných nehomogenit a testování vícerozměrného normálního rozdělení a homoscedasticity (konstantní rozptyl).

## 9. Charakteristika souboru

Vstupně bylo do souboru začleněno celkem 853 pacientů s diagnózou tinnitus. Z těchto pacientů však následně byly vyloučeni všichni, kteří nesplňují vstupní a vylučující kritéria pro účast ve studii. Charakteristika souboru je podrobně uvedena v následujících tabulkách.

Počet pacientů	n=853	
Věk (roky)	55,28 ± 17,4	Medián 57 let
Počet žen	398	46,6%
Počet mužů	455	53,3%

Tabulka 6. Charakteristika souboru pacientů

Ze vstupního souboru pacientů s tinnitem byly vyloučeni všichni, kteří nesplňují požadovaná kritéria. U těchto pacientů bylo nejčastějším onemocněním manifestujícím se mimo jiné tinnitem především Meniérova choroba (32%) a dále interní choroby včetně pacientů užívajících buď více než 3 různá farmaka a nebo léky, které tinnitus mohou ovlivňovat. Jedná se o vasoaktivní léky, EGb 761, betahistin a dále jsou vyloučeni pacienti užívající antikoagulačně či antiagregačně působící léky, aby nebyly sledované výsledky těmito léky ovlivněny. Těchto pacientů bylo v souboru téměř 39%. Z ostatních vyloučených chorob diagnostikovaných u našich pacientů lze zmínit diagnózu akutrauma, užívání ototoxických léků, především pak cytostatik v rámci léčby nádorových onemocnění. Současně jsme zachytili u několika pacientů demyelinizaci s následně potvrzenou roztroušenou sklerózou. Též jsme se opakovaně setkali s diagnózou lymské nemoci či s nálezy vestibulárního schwannomu. Celkem pro naši studii nebylo vhodných 813 pacientů z původních 853, tudíž 95,3% pacientů jsme vyřadili v rámci diagnostické procedury.

<b>Vyloučené choroby</b>	<b>n=813</b>	<b>95,3%</b>
Meniérova choroba	281 pacientů	32%
Akustické trauma	64 pacientů	7,5%
Barotrauma	4 pacienti	0,49%
Roztroušená skleróza	9 pacientů	1,1%
Vestibulární schwannom	2 pacienti	0,2%
Lymská choroba	28 pacientů	3,28%
Meningoencefalitida	16 pacientů	1,8%
Ototoxické faktory	77 pacientů	9,0%
Interní komorbidity*; farmaka**	332 pacientů	38,9%

\* **Interní komorbidity** (ischemická choroba srdeční, ischemická choroba dolních končetin, poruchy koagulace, tromboembolická choroba)

\*\* **Farmaka** (více než 3 farmaka, vasoaktivní léky, EGb 761, betahistin, antikoagulancia a antiagregancia, statiny, SSRI)

#### Tabulka 7. Shrnutí vylučujících kritérií

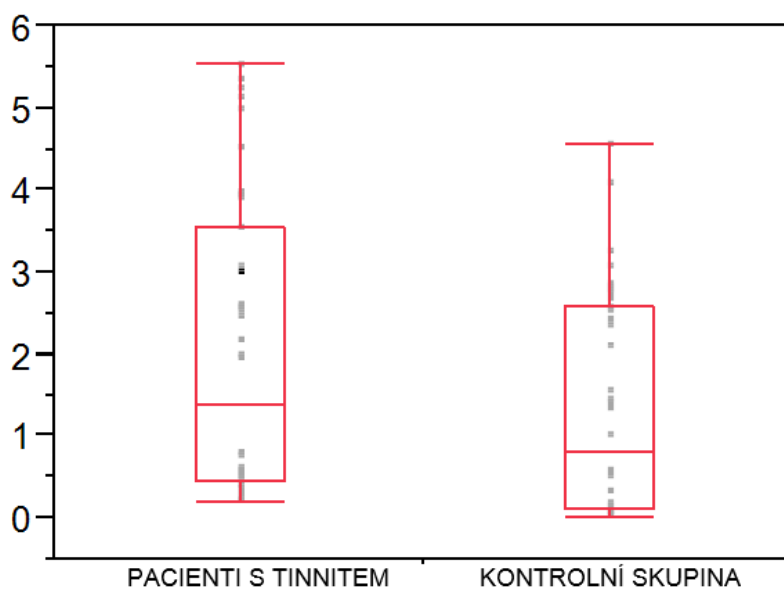
Touto filtrací jsme získali homogenní soubor 40 pacientů, kteří splňují požadavky na tinnitus bez prokázané organické příčiny a bez přidružených chorob či vlivu ototoxické medikace. Soubor, u kterého jsme stanovili sledované parametry sestává ze 40 pacientů s tinnitem a 40 pacientů v kontrolní skupině vytvořené adekvátně dle věku a pohlaví. Proporcionální zastoupení je 70% mužů (n=56) a 30% žen (n=24). Věkové složení souboru je 50,86 let s mediánem 53 let. Celkem jsme tedy sledovali 80 pacientů.

## 10. Výsledky

### 10.1 Hladiny 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>

V souboru našich pacientů jsme zaznamenali statisticky významně vyšší hodnoty 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub> u pacientů s tinnitem. Průměrná koncentrace u pacientů s tinnitem byla  $2,0234 \pm 1,809$  ng/ml, oproti kontrolní skupině, kde změřená koncentrace odpovídá hladině  $1,324 \pm 1,334$  ng/ml.

11-dTxB2 (ng/ml)



Graf 1. Porovnání skupiny pacientů s tinnitem s kontrolní skupinou.

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus patients	0.89	0.43125	1.3655	3.553	5.521	0.189	0.43125
Control group	0.013	0.11725	0.8085	2.5565	4.547	0.013	0.11725

Tabulka 8. Propočítání koncentrací na percentuální úrovni 11-dTxB2.

Level	Number	Mean	SD	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus patients	40	1.73776	1.79457	0.29112	1.1479	2.3276
Control group	40	1.28213	1.3±3711	0.21691	0.8426	1.7216

Tabulka 9. Statistická data 11-dTxB<sub>2</sub> s odchylkami.

### Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

#### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
5,9737	1	0,0145*

Tabulka 10. Hladina významnosti koncentrací 11-dTxB<sub>2</sub>.

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že zvýšená koncentrace 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub> u pacientů s tinnitem je se statistickou významností  $p=0,0145$ .

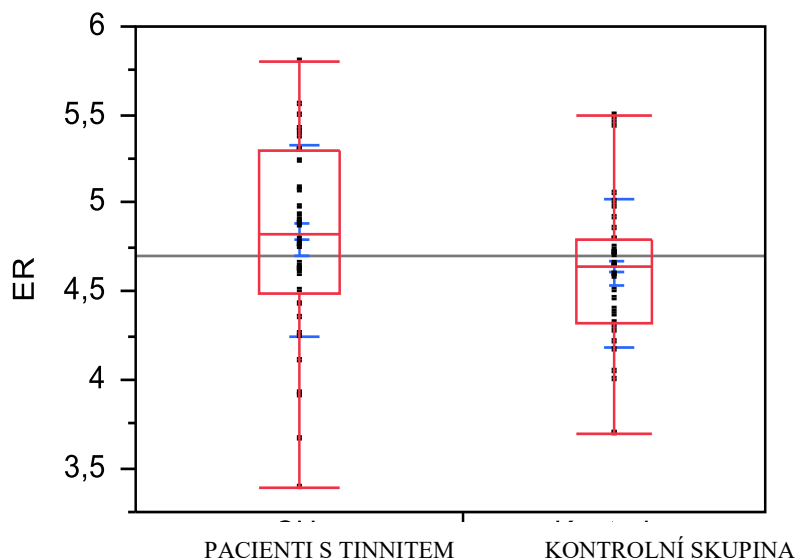
## 10.2 Analýza krevních obrazů

Dále byl u všech pacientů vyhodnocen krevní obraz, zejména hodnoty erytrocytů, leukocytů a trombocytů. Naměřené hodnoty se zásadně ve skupině pacientů s tinnitem a v kontrolní skupině neliší.

	Pacienti s tinnitem (průměr)	Kontrolní skupina (průměr)
Erytrocyty	4,788±0,53	4,604±0,41
Leukocyty	6,989±1,28	6,617±1,64
Trombocyty	236,078±50,83	247,828±48,47

Tabulka 11. Výsledky hodnot krevních obrazů

## Analýza erytrocytů



Graf 2. Porovnání hodnot erytrocytů u pacientů s tinnitem a s kontrolní skupinou

### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus	3,38	3,918	4,4825	4,83	5,29	5,427	5,8
Kontrola	3,69	4,03	4,32	4,64	4,79	5,202	5,49

### Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus	40	4,78895	0,546289	0,08862	4,6094	4,9685
Kontrola	40	4,60457	0,422926	0,07149	4,4593	4,7499

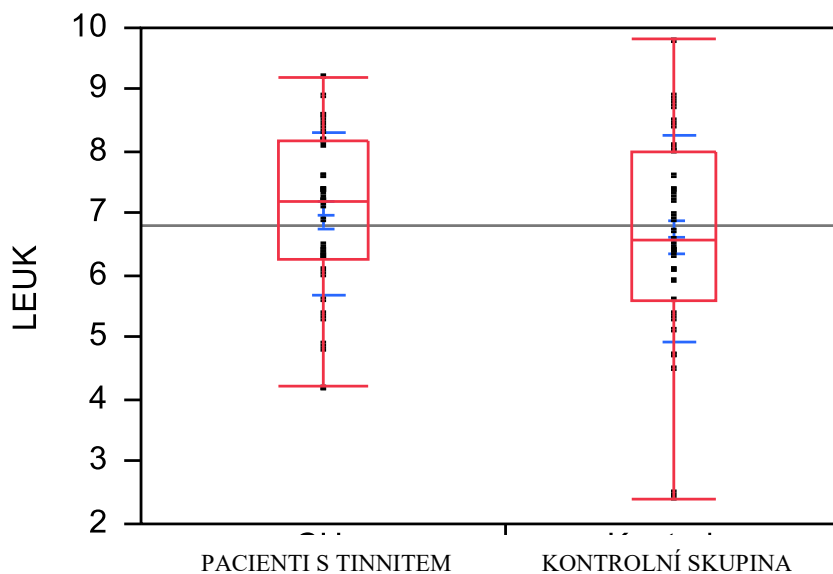
### t Test

Kontrola-CH

Difference	-0,18438	t Ratio	-1,61933
Std Err Dif	0,11386	DF	69,0175
Upper CL Dif	0,04277	Prob >  t	<b>0,1099</b>
Lower CL Dif	-0,41152	Prob > t	0,9450
Confidence	0,95	Prob < t	0,0550

Tabulka 12. Statistické zpracování hodnot erytrocytů

## Analýza leukocytů



Graf 3. Porovnání hodnot leukocytů u pacientů s tinnitem a s kontrolní skupinou

### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus	4,2	4,89	6,25	7,2	8,2	8,6	9,2
Kontrola	2,4	4,62	5,6	6,6	8	8,74	9,8

### Means and Std Deviations

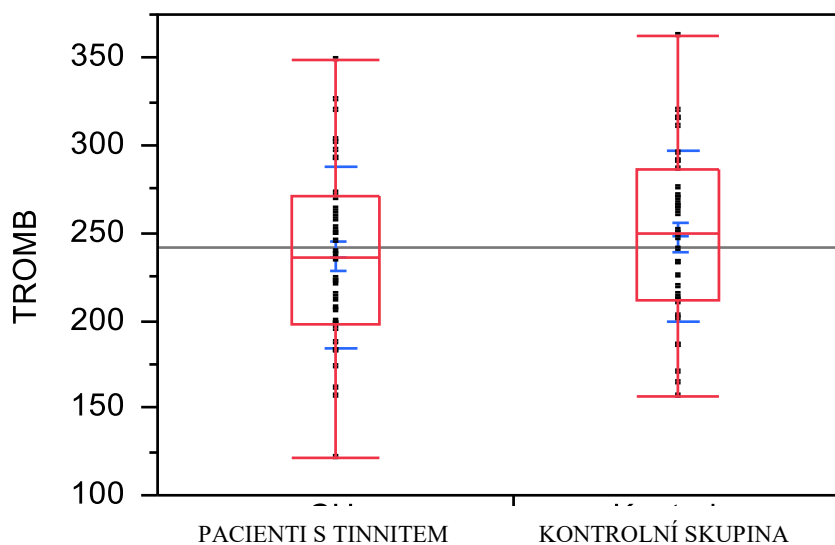
Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus	40	6,98921	1,30661	0,21196	6,5597	7,4187
Kontrola	40	6,61714	1,67024	0,28232	6,0434	7,1909

### t Test

Difference	-0,3721	t Ratio	-1,05392
Std Err Dif	0,3530	DF	64,34548
Upper CL Dif	0,3331	Prob >  t	0,2959
Lower CL Dif	-1,0773	Prob > t	0,8521
Confidence	0,95	Prob < t	0,1479

Tabulka 13. Statistické zpracování hodnot leukocytů

## Analýza trombocytů



Graf 4. Porovnání hodnot trombocytů u pacientů s tinnitem a s kontrolní skupinou

### Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus	122	172,7	198	236	270,75	304,7	349
Kontrola	156	180	211	250	286	316	363

### Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus	40	236,079	51,5172	8,3572	219,15	253,01
Kontrola	40	247,829	49,1830	8,3134	230,93	264,72

### t Test

Difference	11,750	t Ratio	0,996748
Std Err Dif	11,788	DF	70,90273
Upper CL Dif	35,255	Prob >  t	0,3223
Lower CL Dif	-11,755	Prob > t	0,1611
Confidence	0,95	Prob < t	0,8389

Tabulka 14. Statistické zpracování hodnot trombocytů



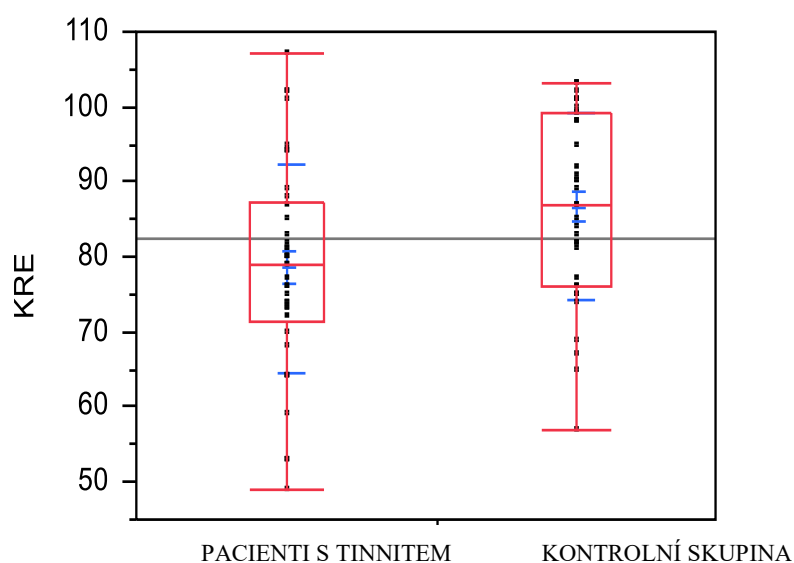
### 10.3 Analýza biochemických ukazatelů

U všech pacientů s tinnitem a v kontrolní skupině byly stanoveny základní biochemické ukazatele, jako jsou kreatinin, urea, AST, ALT, GMT a CRP. V zásadě jsme nenašli statisticky významně odlišné hodnoty u pacientů s tinnitem ve srovnání s kontrolní skupinou.

	Pacienti s tinnitem (průměr)	Kontrolní skupina (průměr)
Kreatinin	78,5±13,64	86,68±12,15
Urea	5,19±1,40	5,828±1,87
AST	0,44±0,1	0,47±0,16
ALT	0,47±0,25	0,50±0,19
GMT	0,83±1,01	0,76±1,12
CRP	4,56±1,43	4,74±2,32

Tabulka 15. Analýza biochemických ukazatelů

#### Analýza hladin kreatininu



Graf 5. Porovnání hodnot kreatininu u pacientů s tinnitem a s kontrolní skupinou

## Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus	49	58,4	71,5	79	87,25	101,1	107
Kontrola	57	68,2	76	87	99	101,4	103

## Means and Std Deviations

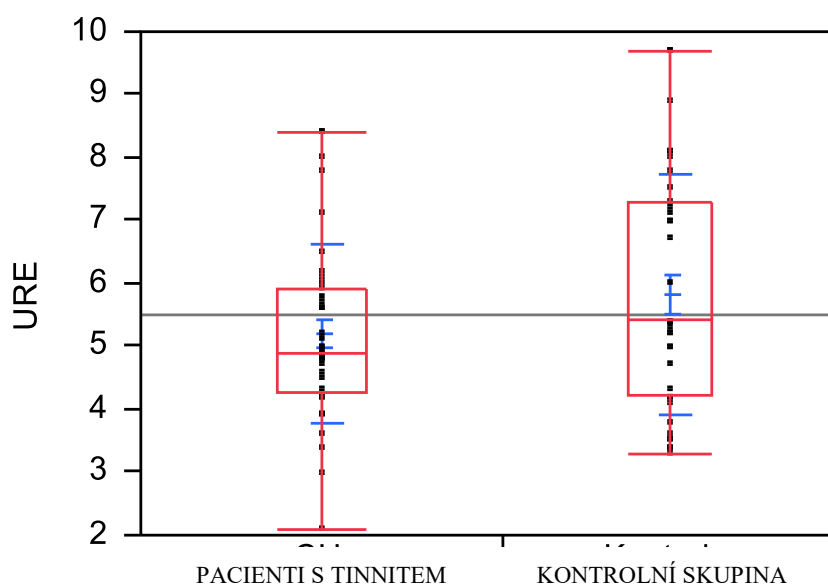
Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus	40	78,5000	13,8305	2,2436	73,954	83,046
Kontrola	40	86,6857	12,3307	2,0843	82,450	90,921

## t Test

Difference	8,1857	t Ratio	2,673024
Std Err Dif	3,0623	DF	70,93046
Upper CL Dif	14,2920	Prob >  t	0,0093*
Lower CL Dif	2,0795	Prob > t	0,0047*
Confidence	0,95	Prob < t	0,9953

Tabulka 16. Statistické zpracování hodnot kreatininu

## Analýza hladin urey



Graf 6. Porovnání hodnot urey u pacientů s tinnitem a s kontrolní skupinou

## Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus	2,1	3,58	4,275	4,9	5,925	7,82	8,4
Kontrola	3,3	3,46	4,2	5,4	7,3	8,42	9,7

## Means and Std Deviations

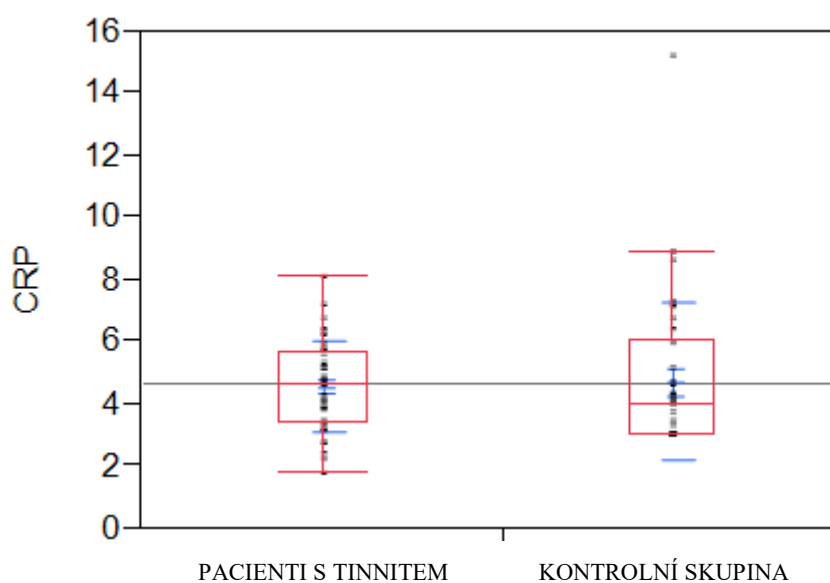
Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus	40	5,19737	1,41946	0,23027	4,7308	5,6639
Kontrola	40	5,82857	1,90457	0,32193	5,1743	6,4828

## t Test

Difference	0,6312	t Ratio	1,594728
Std Err Dif	0,3958	DF	62,62567
Upper CL Dif	1,4223	Prob >  t	0,1158
Lower CL Dif	-0,1598	Prob > t	0,0579
Confidence	0,95	Prob < t	0,9421

Tabulka 17. Statistické zpracování hodnot urey

## Analýza hladin CRP



Graf 7. Porovnání hodnot CRP u pacientů s tinnitem a s kontrolní skupinou

## Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Tinnitus	1,8	2,761	3,4	4,6	5,65	6,44	8,1
Kontrola	3	3	3	4	6	7,82	15,2

## Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Tinnitus	40	4,56053	1,45034	0,23528	4,0838	5,0372
Kontrola	40	4,73143	2,53026	0,42769	3,8623	5,6006

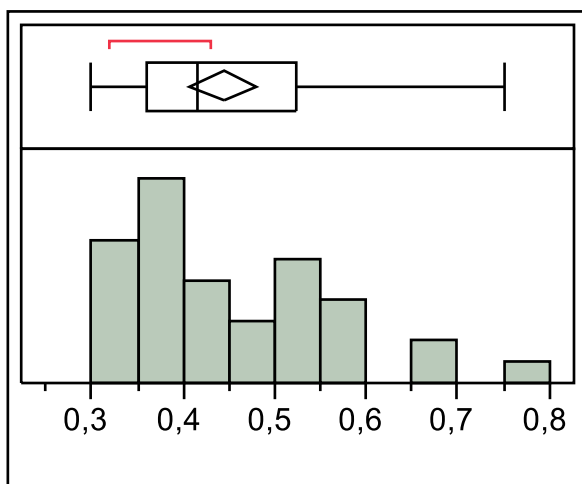
## Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

### 1-way Test, ChiSquare Approximation

ChiSquare	DF	Prob>ChiSq
0,7284	1	0,3934

Tabulka 18. Statistické zpracování hodnot CRP

## AST



Graf 8. Hodnoty AST

## Quantiles

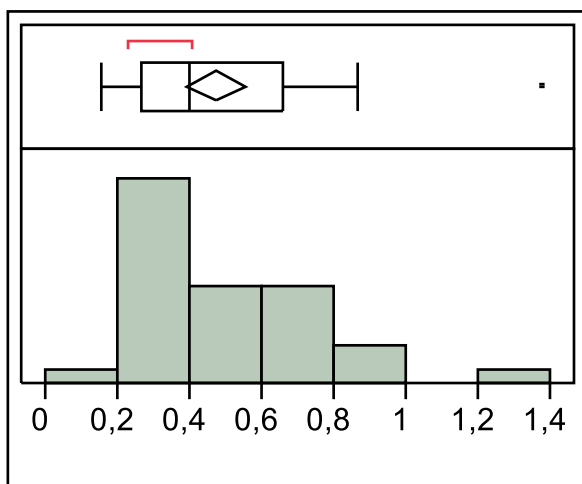
100.0%	maximum	0,75
75.0%	quartile	0,525
50.0%	median	0,415
25.0%	quartile	0,36
0.0%	minimum	0,3

## Summary Statistics

Mean	0,4444737
Std Dev	0,1107639
Std Err Mean	0,0179683
Upper 95% Mean	0,4808809
Lower 95% Mean	0,4080665
N	40

Tabulka 19. Statistické zpracování hodnot AST

## ALT



Graf 9. Hodnoty ALT

## Quantiles

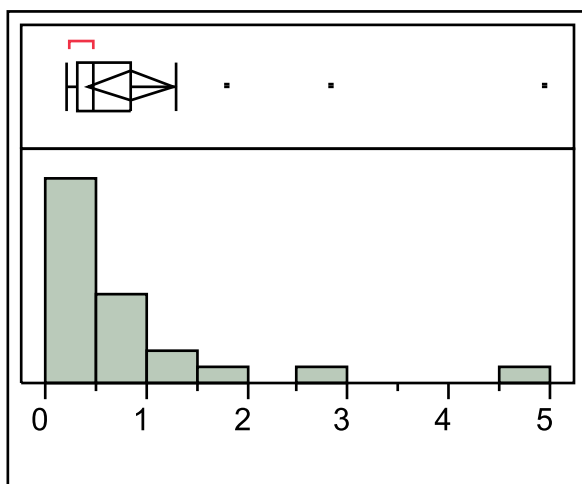
100.0%	maximum	1,38
75.0%	quartile	0,66
50.0%	median	0,4
25.0%	quartile	0,2675
0.0%	minimum	0,15

## Summary Statistics

Mean	0,4723684
Std Dev	0,2557917
Std Err Mean	0,0414949
Upper 95% Mean	0,556445
Lower 95% Mean	0,3882918
N	40

Tabulka 20. Statistické zpracování hodnot ALT

## GMT



Graf 10. Hodnoty GMT

## Quantiles

100.0%	maximum	4,96
75.0%	quartile	0,845
50.0%	median	0,46
25.0%	quartile	0,3
0.0%	minimum	0,2

## Summary Statistics

Mean	0,8392
Std Dev	1,0380949
Std Err Mean	0,207619
Upper 95% Mean	1,2677045
Lower 95% Mean	0,4106955
N	40

Tabulka 21. Statistické zpracování hodnot GMT

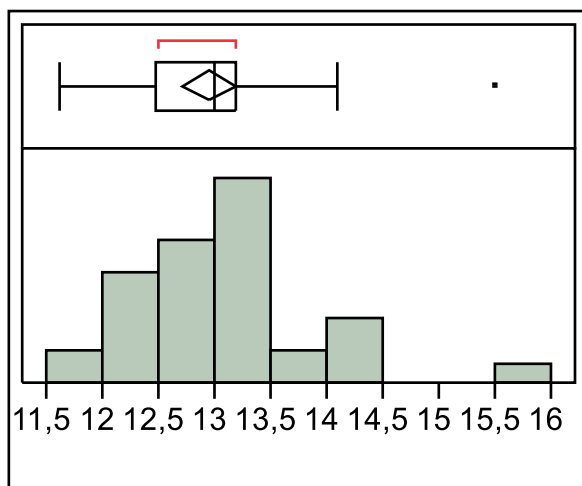
## 10.4 Analýza koagulačních parametrů

U všech našich pacientů jsme sledovali běžně vyšetřované koagulační parametry. Do statistického zpracování jsme použili hodnoty protrombinového času (PT), hodnoty INR a fibrinogen.

	<b>Pacienti s tinnitem (průměr)</b>	<b>Kontrolní skupina (průměr)</b>
PT (s)	12,95±0,72	12,62±0,94
INR	0,9978±0,07	1,021±0,12
Fibrinogen	3,337±1,06	3,012±1,16

Tabulka 22. Koagulační parametry

### PT (s)



Graf 11. Hodnoty protrombinového času (s)

### Quantiles

100.0%	maximum	15,5
75.0%	quartile	13,2
50.0%	median	13



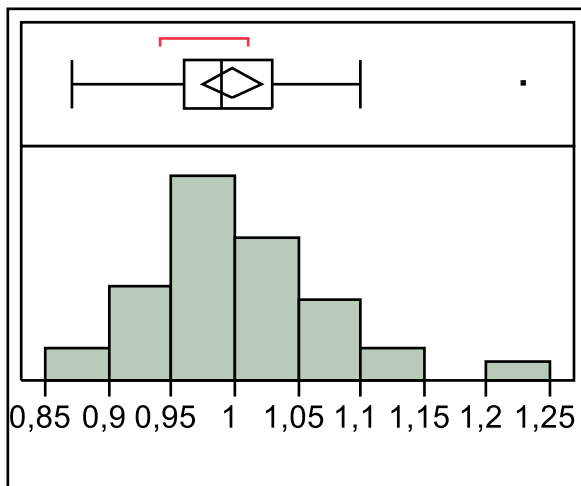
25.0%	quartile	12,475
0.0%	minimum	11,6

### Summary Statistics

Mean	12,957895
Std Dev	0,7310236
Std Err Mean	0,1185877
Upper 95% Mean	13,198176
Lower 95% Mean	12,717613
N	38

Tabulka 23. Statistické zpracování hodnot PT (s)

### INR



Graf 12. Hodnoty INR

### Quantiles

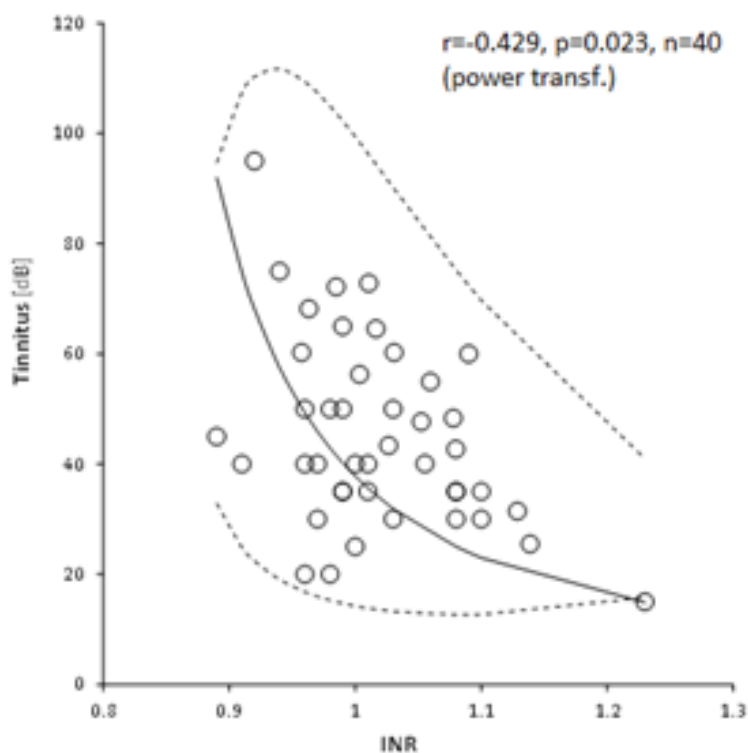
100.0%	maximum	1,23
75.0%	quartile	1,03
50.0%	median	0,99
25.0%	quartile	0,96
0.0%	minimum	0,87

## Summary Statistics

Mean	0,9978947
Std Dev	0,0714013
Std Err Mean	0,0115828
Upper 95% Mean	1,0213638
Lower 95% Mean	0,9744257
N	38

Tabulka 24. Statistické zpracování hodnot INR

Logaritmickou transformací jsme zpracovali vztah mezi intenzitou tinnitu a hodnotami INR, které jsme naměřili u pacientů v našem souboru. Z výsledků zobrazených na grafu č. 13 se ukazuje vztah mezi intenzitou tinnitu a hodnotami INR. Lehce vyšší tendence ke srážení krve (tedy nižší hodnoty INR) je obecně u všech našich pacientů, kteří mají tinnitus, ale výsledky nejsou za hranicí statistické významnosti.



Graf 13. Korelace mezi tinnitem (dB) a hladinami INR (\* $p < 0.05$ )

<b>Faktor</b>	<b>Tinnitus (dB)</b>	<b>Tinnitus (kHz)</b>
11-dTxB2	0,265	-0,254
Fibrinogen	0,082	-0,418
INR	-0,380	0,223

Tabulka 25. Spearmanovy korelační koeficienty mezi intenzitou tinnitus (dB) a frekvencí (kHz) ve vztahu k prothrombogenním faktorům na hladině významnosti (\* $p < 0.05$ )

### 10.5 Analýza hladin neurosteroidů u pacientů s tinnitem

Neurosteroidy představují velkou skupinu různých látek, které mají různé funkce a účinnost. Společným znakem neurosteroidů je fakt, že společnou vstupní látkou pro jejich syntézu je cholesterol. V našem souboru nás zajímal především pregnenolon, konjugovaný pregnenolon, progesteron, konjugovaný allopregnanolon, konjugovaný isopregnanolon a konjugovaný  $5\alpha$ -pregnan- $3\beta,20\alpha$ -diol. Ostatní stanovované neurosteroidy jsou uvedené v tabulce.

Z výsledků lze vyvodit závěr, že cirkulující neuroaktivní steroidy s neuroprotektivním a imunomodulačním účinkem negativně korelují s tinnitem. Tinnitus může mít jeden či více patogenetických mechanismů vzniku a vztah k centrálnímu nervovému systému a k neurotransmiterům je velmi úzký, neboť receptory mohou hrát důležitou roli v patogenezi. Neuroaktivní steroidy mají významnou schopnost pozitivně či negativně ovlivňovat funkci různých receptorů. Hlavní excitační transmitter je glutamát, jehož zvýšená hladina na jakémkoliv místě sluchové dráhy působí excitotoxicky a dochází ke zvýšené expresi NMDA receptorů, což může vést ke vzniku a udržování tinnitu. Za hlavní inhibiční neurotransmitter je považována kyselina gamma-aminomáselná. Neurosteroidy mohou ovlivnit fungování řady dalších neurotransmiterů.

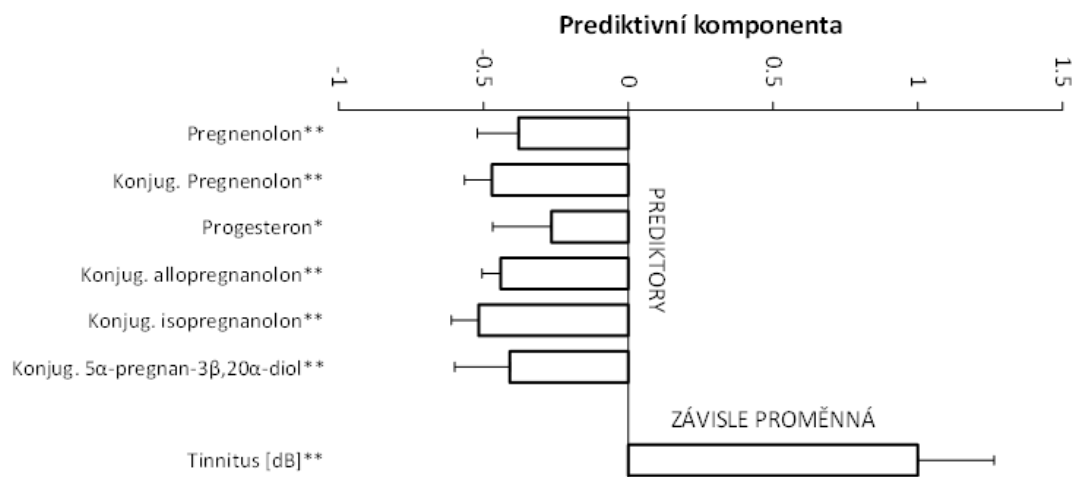
Po analýze vzorků studijní skupiny bylo určeno, že vhodná skupina pro stanovení neurosteroidů sestává z 12 žen, z toho 4 ženy menstrující a 8 žen po menopauze ( $55.2 \pm 16,5$

let, průměr ± SD) a 16 dospělých mužů (52,5 ± 19,2 let, průměr ± SD). Fáze menstruačního cyklu u žen byla zkontrolována stanovením hladiny cirkulujícího progesteronu (< 7 nmol/l). I zde studijní skupina zahrnuje pacienty bez důkazů pro organickou příčinu tinnitu a bez jiné předpokládané etiologie vzniku tinnitu. Pacienti nemají ani vážné interní komorbidity, které by mohly ovlivnit výsledky.

		<b>Prediktivní komponenta</b>		
<b>Proměnná</b>		Komponentní váha	t-statistika	R <sup>a</sup>
Relevantní prediktory (matice X)	Pregnenolon	-0.379	-5.04	-0.656 **
	Konjug. Pregnenolon	-0.471	-9.37	-0.815 **
	Progesteron	-0.266	-2.49	-0.460 *
	Konjug. allopregnanolon	-0.440	-12.81	-0.762 **
	Konjug. isopregnanolon	-0.517	-10.41	-0.895 **
	Konjug. 5α-pregnan-3β,20α-diol	-0.409	-4.08	-0.708 **
(matice Y) Tinnitus [dB]		1.000	7.18	0.629 **
<b>Vysvětlená variabilita</b>		39.6% (31.5%, po cross-validaci)		

<sup>a</sup> R...Komponentní váha vyjádřená jako korelační koeficient s prediktivní komponentou; NS...nevýznamné, \*p<0.05, \*\*p<0.01

Tabulka 26. Vztahy mezi tinnitem (dB) a steroidy v séru spolu s dalšími ukazateli, hodnocené modelem OPLS

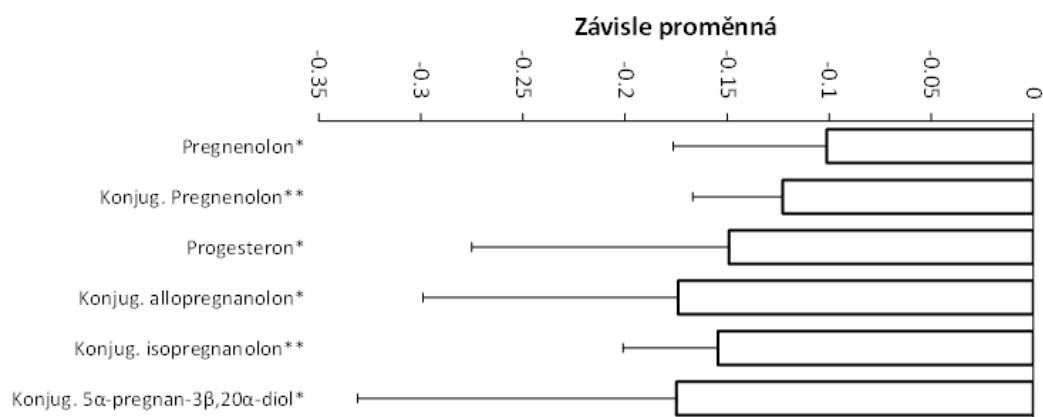


Graf 14. Vztahy mezi tinnitem (dB) a steroidy v séru spolu s dalšími ukazateli, hodnocené modelem OPLS

Proměnná		Prediktivní komponenta	
		Regresní koeficient	t-statistika
Relevantní prediktory (matice X)	Pregnenolon	-0.101	-2.55 *
	Konjug. Pregnenolon	-0.123	-5.27 **
	Progesteron	-0.149	-2.24 *
	Konjug. allopregnanolon	-0.174	-2.64 *
	Konjug. isopregnanolon	-0.154	-6.29 **
	Konjug. 5α-pregnan-3β,20α-diol	-0.175	-2.12 *
<b>Vysvětlená variabilita</b>		39.6% (31.5%, po cross-validaci)	

<sup>a</sup> R...Komponentní váha vyjádřená jako korelační koeficient s prediktivní komponentou; NS...nevýznamné, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

Tabulka 27. Vztahy mezi tinnitem (dB) a steroidy v séru spolu s dalšími ukazateli, hodnocené vícerozměrnou regresí



Graf 15. Vztahy mezi tinnitem (dB) a steroidy v séru spolu s dalšími ukazateli, hodnocené vícerozměrnou regresí

Hodnocený parametr		Hodnocený parameter	
Tinnitus [dB]	38 (30, 50)	Allopregnanolone	0.25 (0.15, 0.37)
Tinnitus [kHz]	1 (1, 2.5)	Allopregnanolone sulfate	7.3 (4.6, 14)
Pregnenolone	1.4 (0.77, 1.7)	Isopregnanolone	0.19 (0.1, 0.29)
Pregnenolone sulfate	140 (85, 240)	Isopregnanolone sulfate	11 (7.1, 16)
20 $\alpha$ -Dihydropregnenolone	2.3 (1, 3.2)	Pregnanolone	0.17 (0.099, 0.21)
20 $\alpha$ -Dihydropregnenolone sulfate	1200 (820, 2000)	Conjugated pregnanolone	28 (21, 40)
16 $\alpha$ -Hydroxypregnenolone	0.23 (0.19, 0.34)	Epipregnanolone	0.15 (0.09, 0.21)
Dehydroepiandrosterone (DHEA)	8 (5.2, 13)	Conjugated epipregnanolone	2.5 (1.6, 4.6)
DHEA sulfate	1600 (920, 2700)	Conjugated 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol	59 (30, 86)
7 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA	0.49 (0.35, 0.79)	Conjugated 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol	220 (110, 330)
7 $\beta$ -Hydroxy-DHEA	0.43 (0.3, 0.57)	Conjugated 5 $\beta$ -pregnan-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol	23 (16, 30)
16 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA	0.098 (0.056, 0.19)	Conjugated 5 $\beta$ -pregnan-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol	43 (25, 70)
16 $\alpha$ -hydroxy-DHEA sulfate	2.2 (1.5, 3.7)	Androsterone	0.37 (0.23, 0.68)
Androstenediol	1.2 (0.74, 1.9)	Androsterone sulfate	790 (620, 1700)
Androstenediol sulfate	1400 (710, 3100)	Epiandrosterone	0.6 (0.34, 0.94)

5-Androsten-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol	0.14 (0.077, 0.2)	Epiandrosterone sulfate	340 (220, 630)
5-Androsten-3 $\beta$ ,7 $\beta$ ,17 $\beta$ -triol	0.11 (0.081, 0.17)	Etiocholanolone	0.2 (0.12, 0.33)
Progesterone	1.8 (1, 2.8)	Etiocholanolone sulfate	49 (41, 79)
17-Hydroxyprogesterone	3.7 (2.2, 5.9)	Epitiocholanolone	0.045 (0.021, 0.099)
Cortisol	480 (380, 610)	Epitiocholanolone sulfate	49 (41, 79)
20 $\alpha$ -Dihydroprogesterone	1.1 (0.71, 1.8)	5 $\alpha$ -Androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	0.21 (0.12, 0.3)
16 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone	0.82 (0.61, 1.1)	Conjugated 5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	89 (44, 150)
Androstenedione	3.4 (2.8, 4.4)	Conjugated 5 $\alpha$ -androstan-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol	170 (84, 290)
Estradiol	0.13 (0.079, 0.19)	Conjugated 5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	14 (9.8, 21)

Tabulka 28. Souhrnná tabulka (hodnoty steroidů jsou v nmol/l)

Steroid	Tinnitus [dB]	Tinnitus [kHz]	Steroid	Tinnitus [dB]	Tinnitus [kHz]
Věk	-0.240	-0.151	Estradiol	-0.005	0.098
Pregnenolon	-0.178	-0.359	Allopregnanolon	0.050	-0.193
Konjugovaný pregnenolon	-0.277	-0.292	Konjugovaný allopregnanolon	-0.391*	-0.328
20α-Dihydropregnenolon	-0.063	-0.191	Isopregnanolon	-0.110	-0.291
Konjugovaný 20α-dihydropregnenolon	-0.190	-0.040	Konjugovaný isopregnanolon	-0.407*	-0.384*
16α-Hydroxypregnenolon	-0.133	-0.342	Pregnanolon	0.180	0.011
Dehydroepiandrosteron (DHEA)	-0.137	-0.353	Konjugovaný pregnanolon	-0.073	-0.248
Konjugovaný DHEA	-0.079	-0.068	Epipregnanolon	0.017	-0.200
7α-Hydroxy-DHEA	-0.261	-0.321	Konjugovaný epipregnanolon	-0.285	-0.258
7-oxo-DHEA	-0.198	-0.156	Konjugovaný 5α-pregnan-3α,20α-diol	0.027	0.027
7β-Hydroxy-DHEA	-0.132	-0.220	Konjugovaný 5α-pregnan-3β,20α-diol	0.082	0.191
16α-Hydroxy-DHEA	-0.057	-0.303	Konjugovaný 5β-pregnan-3α,20α-diol	-0.065	-0.200
Konjugovaný 16α-hydroxy-DHEA	0.142	-0.243	Konjugovaný 5β-pregnan-3β,20α-diol	-0.192	-0.231
Androstendiol	-0.113	-0.478*	Androsteron	-0.127	-0.242
Konjugovaný androstendiol	-0.194	0.209	Konjugovaný androsteron	0.002	0.075
5-Androsten-3β,7α,17β-triol	-0.153	-0.129	Epiandrosteron	-0.157	-0.267
5-Androsten-3β,7β,17β-triol	-0.157	-0.239	Konjugovaný epiandrosteron	-0.088	-0.074
Progesteron	-0.389*	-0.331	Etiocholanolon	-0.218	-0.231
17-Hydroxyprogesteron	0.023	0.013	Konjugovaný etiocholanolon	-0.158	0.094
Kortizol	-0.355	-0.417*	Epietiocholanolon	-0.198	-0.010
20α-Dihydroprogesteron	-0.215	-0.359	Konjugovaný epietiocholanolon	-0.158	0.094
16α-Hydroxyprogesteron	0.018	-0.129	5α-Androstan-3α,17β-diol	-0.012	-0.082
Androstendion	-0.075	-0.239	Konjugovaný 5α-androstan-3α,17β-diol	-0.010	-0.039
Testosteron	0.400	-0.158	Konjugovaný 5α-androstan-3β,17β-diol	-0.216	0.161
Estron	-0.102	-0.168	Konjugovaný 5β-androstan-3α,17β-diol	0.194	0.045

Tabulka 29. Spearmanovy korelační koeficienty intenzity (dB) a frekvence tinnitu (kHz) se steroidy (\*p<0.05)



		<b>Predictive component</b>		
<b>Predictors</b>		<b>Component loadings</b>	<b>t-statistics</b>	<b>R<sup>a</sup></b>
Relevant predictors (matrix X)	Pregnenolone	0.312	13.75	0.771**
	Pregnenolone sulfate	0.273	4.25	0.740**
	16 $\alpha$ -Hydroxypregnenolone	0.312	11.95	0.845**
	Dehydroepiandrosterone (DHEA)	0.303	7.61	0.822**
	7 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA	0.303	11.57	0.822**
	Androstenediol	0.279	7.04	0.757**
	Progesterone	0.213	2.65	0.577*
	Cortisol	0.232	5.46	0.628**
	20 $\alpha$ -Dihydroprogesterone	0.230	6.25	0.634**
	Androstenedione	0.284	9.84	0.771**
	Allopregnanolone sulfate	0.264	4.63	0.727**
	Isopregnanolone	0.181	6.63	0.491**
	Isopregnanolone sulfate	0.313	5.02	0.863**
	Androsterone	0.257	7.40	0.696**
	Epiandrosterone	0.195	4.21	0.529**
(matrix Y)	Tinnitus [dB]	-0.554	-2.25	-0.377*
	Tinnitus [kHz]	-0.833	-4.44	-0.554**

**Explained variability**

22.2% (12.9%, after a cross-validation)

<sup>a</sup>R...Component loadings expressed as correlation coefficients with predictive components; NS...not significant, \* $p < 0.05$ ,

\*\* $p < 0.01$

Tabulka 30. Vzájemné vztahy mezi tinnitem a cirkulujícími steroidy hodnoceno modelem OPLS.

Stanovili jsme široké spektrum cirkulujících steroidů, včetně mnoha neuroaktivních a dalších bioaktivních látek, které mohou potenciálně ovlivnit vznik tinnitu. Jsou to především pregnenolon a jeho sulfát, DHEA, 7-alfa-hydroxy-DHEA, androstendiol, progesteron, kortizol, 20-alfa-dihydroprogesterone, androstendion, allopregnanolon sulfát, isopregnanolon, androsteron a epiandrosteron. Z těchto ukazatelů je jednoznačně významný vztah pro intenzitu tinnitu, většinou na úrovni významnosti  $p < 0,01$ . Signifikantní Spearmanova korelace byla nižší při porovnání signifikantních komponent použitých pro prediktivní komponentu (viz tabulka 30) kvůli nižší statistické síle samostatných korelací oproti současnému hodnocení OPLS, které má výhodu multikolinearity se steroidy v matici s prediktory a současně i mezi intenzitou a frekvencí tinnitu v matici vázaných proměnných. I v případě, že v matici predikovaných ukazatelů byly dva indexy (intenzita a frekvence tinnitu), vztahy mezi tinnitem a steroidy vysvětlilo jedinou významnou prediktivní součástí. Vztah k frekvenci tinnitu byl statisticky významnější (t-statistika=-4,44,  $p < 0,01$ ) než k intenzitě tinnitu (t-statistika=-2,25,  $p < 0,05$ ).

Ze steroidů má nejvýznamnější vztah pregnenolon, který je první substancí v metabolických drahách steroidů. Omezenou výpovědní hodnotu mají koncentrace isopregnanolon sulfátu, které ukazují větší míru variability a menší signifikantnost (větší míra nevysvětlené variability).

Jak vyplývá z výsledků, tak jsme prokázali na hladinách statistické významnosti, že koncentrace cirkulujících steroidů negativně korelují jak s intenzitou, tak i s frekvencí tinnitu.

## 11. Diskuse

### 11.1 Protrombogenní faktory ve vztahu k patogenezi tinnitu

V souboru našich pacientů jsme vyšetřili celkem 80 jedinců, rozdělených do skupiny pacientů s tinnitem a kontrolní skupiny. Vycházeli jsme z předpokladu možného vztahu mezi perfúzí smyslových orgánů, konkrétně v našem případě sluchového ústrojí a přilehlých struktur centrálního nervového systému a rozvojem tinnitu. Tento základní předpoklad vychází z doposud prezentovaných studií, kde je jednak tinnitus chápán jako multifaktoriálně podmíněný symptom, mající mimo jiné možný vztah právě k prokrvení vnitřního ucha.

Tinnitus v obecném pojetí je symptomem se vzrůstající prevalencí ve vyšším věku, kdy dochází k řadě změn právě ve srážení krve a insuficientní perfúzi smyslových orgánů. Vyšší věk je spojován se zvýšenou tendencí ke vzniku tromboembolických komplikací, zvyšuje se tendence k agregaci krevních destiček a klesá fibrinolytická aktivita. Kombinace faktorů, s nimiž se ve vyšším věku setkáváme, jako jsou aterosklerotické změny, snížený minutový srdeční objem, srdeční selhávání, arytmie, hypertenze a změny v autoregulačních mechanismech obvykle vedou k poruše krevního zásobení jednotlivých struktur centrálního nervového systému. Současně výše zmíněné změny bývají ještě akcentovány častou hypohydratací a změnami reologických vlastností krve. Současně s věkem obvykle stoupá prokoagulační aktivita, zatímco antikoagulační reakce zůstávají obvykle stejné intenzity či jejich intenzita roste jen velmi pomalu.

Na možné souvislosti mezi dysfunkcí sluchového aparátu a poruchou krevního zásobení na úrovni mikrocirkulace je možné nalézt různé studie, především se touto problematikou zabývá Nakashima et al. (2003) a Mahmoudian et al. (2013). Bez plnohodnotného zásobení sluchového ústrojí krví a tedy plně funkční mikrocirkulace je klíčová pro správnou funkci sluchového ústrojí. (Xiaouri S., 2011) Změny ve vedení nervových vzruchů ve sluchovém ústrojí a sluchových drahách popisuje Umemura et al. (1993), kdy se sledují kochleární akční potenciály v experimentu a porovnávají se nálezy s kontrolní skupinou při užívání inhibitorů tromboxan syntházy či antagonistů receptorů pro tromboxany. Z jejich sledování vyplývá, že potlačování kochleárních potenciálů je daleko pomalejší při užívání antitromboticky působících látek. Z dalších studií je deklarováno, že transientní okluze cévního zásobení sluchového ústrojí u guinejského prasete vede během krátké doby (v řádu minut) k poruše funkce až ireverzibilním změnám a degeneraci kochley. Apikální část kochley je zranitelnější (ztráta sluchu v nižších

frekvencích) a současně vestibulární ústrojí je o něco více resistantní vůči těmto negativním vlivům. (Kim et al., 2009)

Na základě těchto poznatků jsme vyslovili hypotézu, že u pacientů s poruchou sluchu s tinnitem může být vyšší hladina trombogenních faktorů a toto jsme chtěli ověřit při porovnání nálezů s kontrolní skupinou. Jako hlavní ukazatel aktivity destiček jsme zvolili 11-dehydrotromboxan  $B_2$ , který je produkován aktivovanými trombocyty, působí jako vasokonstriktor a stimuluje destičkovou agregaci. Tromboxany jsou tudíž chápány jako marker destičkové aktivity. Vzhledem k tomu, že tromboxan  $A_2$  je nestabilním metabolitem, sledujeme proto jeho hydrolyzát 11-dehydrotromboxan  $B_2$ .

Do souboru byli zařazeni pouze pacienti, kteří nemají žádnou jinou prokazatelnou možnou příčinu potíží. Z původního vstupního souboru 853 pacientů s tinnitem jsme byli nuceni vyloučit více než 95% pacientů, kteří měli různé jiné choroby či potíže, které mohly ovlivňovat námi sledované výsledky. Vyloučili jsme pacienty s Meniérovou chorobou, akutrauma, barotrauma, neurologická onemocnění jako jsou roztroušená skleróza a vestibulární schwannom (dříve zvaný neurinom akustiku), infekční onemocnění, interní onemocnění, farmaka mající vztah k námi sledovaným ukazatelům a ototoxické faktory. Zbylo 40 pacientů s tinnitem primárního charakteru bez prokázané možné jiné patogenetické příčiny. Na tomto podkladě byla vytvořena adekvátně věku a pohlaví stejně početná kontrolní skupina.

Z výsledků námi provedených vyšetření se potvrzuje vztah mezi tinnitem a vyššími hladinami tromboxanů, konkrétně 11-dehydrotromboxanu  $B_2$ . Metody stanovování hladin tromboxanů se však mohou odlišovat dle metodiky zpracování analytů či dle používaných antiagregancií, velký význam má též teplota vzorku a skladovací teplota. Optimální pro stanovování plasmatických koncentrací 11-dTx $B_2$  je stanovení metodou enzymové immunoassay po hodinové inkubaci při 37°C (Sadílková et al., 2013) V poslední době je preferováno přímé vyšetřování hladiny tromboxanu v séru, především pak u pacientů užívajících antiagregancia. (Cattaneo, 2013) Výsledky hladin tromboxanů v našem souboru by neměly být ovlivňovány současně užívanými léky, neboť polypragmazie či léky ovlivňující krevní srážlivost byly jedním z vylučujících kritérií. Vyloučení jsou i pacienti užívající statiny a inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI), neboť tyto léky snižují hladiny tromboxanů. (Blinden et al., 2014) Anamnesticky byli pacienti dotazováni, zda-li svévolně neužívají volně dostupné léky ze skupiny nesteroidních protizánětlivých léků.

Současně v našem souboru sledujeme, že z původního věkového průměru 55,28 let (medián 57 let) u vstupního souboru pacientů je nakonec věkový průměr 50,86 let (medián 53 let) u sledovaného souboru s vyloučenými faktory, které mohou ovlivňovat výsledky. Je to

vysvětlitelné tím, že čím vyšší věk u pacienta je, tím je větší koincidence jiných chorob či užívání více léků a proto většina pacientů z vyšších věkových skupin je pro naše sledování častěji vyřazována. (Topinková et al., 2005)

V našem souboru jsme našli statisticky významný vztah mezi tinnitem a zvýšenou trombogenní aktivitou, kdy sledujeme vyšší koncentrace 11-dTxB<sub>2</sub> u pacientů s tinnitem ve srovnání s kontrolní skupinou. (p=0,0145)

V naší práci jsme zjistili korelaci mezi tinnitem a zvýšenou koncentrací 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub> v plasmě, což podporuje hypotézu, že porucha mikrocirkulace má důležitou roli v patogenezi tinnitu. Všichni pacienti s tinnitem, kteří byli zařazeni do studie, mají vyšší hladiny 11-dTxB<sub>2</sub> ve srovnání s kontrolní skupinou. Je jasné, že změny v perfúzi sensorických orgánů a v tomto případě jde o vnitřní ucho, jsou vztaženy k potížím, v našem případě k tinnitu.

Data získaná v našem souboru nejsou ovlivňovány sekundárními faktory, neboť komorbidity a další možné faktory výše jmenované jsou vyloučené.

Řada autorů ukazuje na možný protektivní vliv nesteroidních antiflogistik na kochleární poškození, reportovaných v řadě zvířecích studií. Kromě protizánětlivého účinku nesteroidních antirevmatik se mohl uplatňovat i jejich antiagregační efekt způsobený reverzibilní inhibicí COX-1 v trombocytech. (Brien 1993, Cazals 2000, Lamm, Arnold 1998, Kopke et al. 2000). Ve studiích je popsán účinek quinacrinu (inhibitor fosfolipázy A<sub>2</sub>), který zlepšuje kochleární ischemicko-reperfusní poškození a tedy poškození sluchového ústrojí, avšak též s neznámým mechanismem účinku. (Tabuchi et al., 2000). Jak je zde tedy popsáno, tak protektivní efekt inhibitorů cyklooxygenázy, lipoxygenázy a fosfolipázy A<sub>2</sub> je popsán v různých typech kochleárního poškození. (Hirose et al., 2007). Další studie na metabolické kaskádě arachidonové kyseliny mohou ukázat informace, které dovolí pochopit mechanismus jejich účinku.

## 11.2 Porovnání výsledků s koagulačními parametry (PT, INR, fibrinogen)

V souboru našich pacientů jsme nesledovali pouze 11-dehydrotromboxan B<sub>2</sub>, který sice v tomto souboru chápeme jako hlavní marker destičkové aktivity, ale současně jsme u všech pacientů stanovili další běžné ukazatele hodnotící koagulační funkce. Jedná se o ukazatele protrombinový čas, INR a hladiny fibrinogenu. Z našich výsledků vyplývá, že u pacientů

s tinnitem jsou vyšší hladiny 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub> a cílem práce je zjištění, jsou-li změny i v ostatních ukazatelích, které hodnotí procesy srážení krve.

V souboru pacientů se nabízela úvaha, že čím výsledky hodnotící srážení krve budou svědčit pro vyšší tendenci ke srážení, tím budou potíže s tinnitem výraznější. Průměrné hodnoty protrombinového času naměřeného ve skupině pacientů s tinnitem jsou 12,95±0,72 sekund oproti hodnotám 12,62±0,94 sekund v kontrolní skupině. Průměrné hodnoty INR v souboru pacientů s tinnitem byly 0,997±0,07 oproti hodnotám 1,021±0,12 v kontrolní skupině. Naměřené hodnoty fibrinogenu jsou 3,337±1,06 g/l oproti 3,012±1,16 g/l v kontrolní skupině. Tyto výsledky nemají ve srovnání skupiny pacientů s tinnitem s kontrolní skupinou statisticky významný rozdíl a tudíž v našem souboru jsme nenašli vztah mezi intenzitou tinnitu a běžnými laboratorními parametry hodnotícími koagulační systém.

Vztah protrombogenních ukazatelů k frekvenční charakteristice tinnitu též nemá jednoznačný charakter, z některých hodnot by šlo obecně usuzovat, že čím vyšší tendence ke srážení krve, tím byla v souboru zaznamenána nižší frekvence tinnitu, tedy vnímání hlubších tónů. Opět však toto naše pozorování není na hladině statistické významnosti.

Laboratorní ukazatele hodnotící celý koagulační systém jsou obecného charakteru a ve své podstatě neodráží stav mikrocirkulace vnitřního ucha. Koagulační parametry jsou ovlivněny řadou faktorů, neboť se jedná o komplexní systém vzájemně provázaných reakcí. Fibrinogen a další faktory jsou produkovány v játrech a uvolňování do krevního oběhu je dle aktuální potřeby. Při tkáňovém poranění či alterace nesmáčivosti cévní stěny dochází k postupné aktivaci jednotlivých koagulačních faktorů.

Fibrinogen současně patří mezi reaktanty akutní fáze, což znamená, že hodnoty prudce narůstají v případech zánětů či tkáňového poškození. Jde však o nespecifický jev, který nedokáže odhalit lokalizaci poruchy a obvykle jde o dočasný stav, kdy se k hodnoty vrací k normálu po odeznění vyvolávající příčiny. Vyšší hodnoty též sledujeme u atak ischemické choroby srdeční a u cévní mozkové příhody. Zvyšování hladiny fibrinogenu je obecně rizikové pro tvorbu dalších krevních sraženin, které zvyšují rizika rozvoje kardiovaskulárních chorob.

### 11.3 Vztah hladin neurosteroidů k tinnitu

Neurosteroidy představují v nervovém systému rozmanitou skupinu látek, které mají celou řadu účinků, z nichž mnohé nejsou v současné době ještě plně objasněny. Obecně se

jejich účinek vztahuje k paměti, chování či neuroprotektivní působení. Neurosteroidy však jsou zmiňovány i ve vztahu k poruchám sluchu a dokonce byly i užívány léčebně. (Sakata et al., 1997) Neurosteroidy mohou mít velmi úzký vztah k tinnitu a jejich studium je v současné době moderním trendem v oblasti tinnitologie. Současně mají neurosteroidy vztah k ovlivnění mikrocirkulace, kromě jejich účinků antiflogistických, antioxidačních a antiagregačních. Způsob či mechanismus jejich účinku však není doposud podrobně objasněn. Důležitou úlohu v patogenezi tinnitu mají neurotransmitery a jejich receptory. Neurosteroidy mají výraznou schopnost ovlivňovat či modulovat funkci receptorů a to jak ve smyslu zvýšení, tak snížení aktivity, případně i obojí účinky. (Vyklíček, 2015) Neurosteroidy jsou užívány jako marker stresu a jejich hladiny se mění při depresích, které jsou obecně častější právě u pacientů s tinnitem. Studie pojednávající o vztahu tinnitu k depresím a změnám emočního stavu například popisuje změny v hladinách norepinefrinu, epinefrinu, metabolitů serotoninu, 5-hydroxyindolacetátu a kortizolu. (Kim et al., 2014) Současně antidepresiva patří u pacientů s tinnitem k běžně užívaným léčivům, podávaným pacientům ať se symptomy deprese či bez nich. Z meta-analýzy doposud provedených studií, které o této problematice pojednávají, však jednoznačné závěry vyvodit nelze. (Baldo et al., 2012) Současně byly prováděny studie na hodnocení neuroanatomických změn u pacientů s tinnitem a též nebyly zaznamenány jasné morfologické změny u pacientů s tinnitem. (Adjajian et al., 2014) Vztah neurosteroidů k antiagregačním a protizánětlivým účinkům je obecně též vztažen k možnému protrombogennímu působení. Popisuje se současně účinek androsteronu na perfúzní tlak a vaskulární resistenci. (Figueroa et al., 2009) Neurosteroidy též působí jako silné imunomodulátory. (Schuld et al., 2000; Auci et al., 2009; Hennebert et al., 2007) Na patofyziologii stresu, úzkosti, deprese a dalších psychiatrických problémech se steroidní látky též podílí. Tinnitus v této souvislosti lze uvést jako faktor, který působí nepohodlí pacienta. Jsou studie zaměřené na změněné hladiny noradrenalinu, adrenalinu, serotoninu, metabolitu 5-hydroxyindolacetátu a kortizolu. (Kim et al., 2014).

V našem souboru jsme stanovili celé spektrum neurosteroidů, které mohou mít vliv a vztah k tinnitu. Jedná se o látky stanovené v cirkulaci, přičemž hodnoty a koncentrace neurosteroidů korelovali s hodnotami v hypokampu. (Marx et al., 2006) Sérové koncentrace DHEA těsně korelují s hodnotami v likvoru (Kancheva et al., 2011) a koncentrace DHEA v likvoru korelují s koncentracemi v temporální korové oblasti a stejně je tomu tak i u koncentrací pregnenolonu. (Naylor et al., 2008). Z námi sledovaných látek se jednalo především o pregnenolon, progesteron, konjugované allopregnanolon, isopregnanolon a 5-alfa-pregnan-3-beta,20-alfa-diol. Z těchto ukazatelů, které po zhodnocení modelem OPLS, mají

všechny statisticky významný vztah k tinnitu, většinou na hladinách významnosti  $p < 0,01$ . Blíže viz tabulka s výsledky. S podobnými výsledky jsme se setkali i při zpracování metodou vícerozměrné regrese, která též jasně potvrzuje vztah k tinnitu. Nejvýznamnější vztahy jsou zaznamenány u hladiny konjugovaného pregnenolonu a konjugovaného isopregnanolonu u pacientů s tinnitem. Pacienti s tinnitem mají významně snížené koncentrace pregnenolonu, progesteronu, allopregnanolonu a jiných. Pregnanolonové metabolity (allopregnanolon, pregnanolon, epipregnanolon a další) sulfatované v C-3 pozici mají inhibiční efekt na GABA receptory a ionotropní glutamátové receptory. Syka et al. zjistili u krys vystavených akutnímu hluku zvýšení doby latence u odpovědi zaznamenávaných ze sluchové oblasti mozkové kůry, což bylo vysvětlováno možným poškozením GABA inhibičního systému. (Syka, Rybalko, 2000) V současné době nejsou k dispozici podrobnější literární zdroje o vztahu těchto látek k tinnitu. Z našeho souboru jsme stanovili i další látky ze skupiny neurosteroidů. Zde se ve srovnání s kontrolní skupinou ukázalo, že statisticky významné rozdíly ve vztahu k intenzitě tinnitu jsou u progesteronu, konjugovaného allopregnanolonu a konjugovaného isopregnanolonu. Ze vztahu mezi frekvenční charakteristikou tinnitu a neurosteroidy lze zmínit statisticky významný vztah k androstendiolu, kortizolu a konjugovanému isopregnanolonu. I zde nejsou výsledky ovlivněny sekundárními faktory a jde čistě o skupinu pacientů s primárním tinnitem bez organické příčiny. Hlavní androgeny jako jsou testosteron a dihydrotestosteron nebyly do hodnocení zahrnuty. Stejně tak studijní skupina nezahrnuje ženy v luteální fázi menstruačního cyklu, neboť gonadální produkce progesteronu je dominantní. Proto se liší počet pacientů, u kterých jsme stanovili 11-dTxB2 a počet pacientů, u kterých jsme zkoumali hladiny neurosteroidů. Hlavním výsledkem je zjištění významného a konsistentního vztahu s negativní korelací mezi steroidy a tinnitem. Na straně druhé je však potřeba zmínit, že některé studie (Syka et al., 2000, Sripada et al., 2014) ukazují, že akutní hluk zvyšuje latenci pro odpověď zaznamenanou ze sluchové kůry, což může souviset s inhibičním GABA systémem a také prokazuje, že podání allopregnanolonu a DHEA snižuje propojení mezi amygdalou a okolními strukturami mozku. Blíží patofyziologické aspekty však nejsou objasněny. (Sripada RK et al., 2014).

Zda-li budou výše uvedené výsledky podkladem pro další zkoumání včetně možného léčebného využití je otázka budoucího výzkumu.



## 12. Závěr

Vyšetřili jsme klinický soubor pacientů s tinnitem (n=853), z něhož byla vybrána sourodá skupina pacientů, u nichž nebyla prokázána organická příčina tinnitu. Vyloučeni byli všichni pacienti s nevaskulárními poruchami sluchu, tedy s Meniérovou chorobou, akutraumatem a dalšími otologickými onemocněními, všichni pacienti s poruchou sluchu s prahem slyšení na více než 40dB, vyloučeni byli též pacienti se zánětlivými onemocněními, kardiovaskulárními chorobami, diabetem mellitem, nádorovými onemocněními, pacienti s renální dysfunkcí, s psychiatrickým onemocněním a s neurologickými chorobami, jako jsou roztroušená skleróza a vestibulární schwannom. Ze vstupního souboru jsme též vyloučili pacienty užívající ototoxické léky, dále léky ovlivňující srážení krve, léky ze skupiny SSRI a statiny. Též byli vyloučeni všichni pacienti s patologickými laboratorními hodnotami. Následně po zohlednění všech vylučujících kritérií zbyl soubor pacientů (n=40), na jehož základě byla vytvořena kontrolní skupina, adekvátně přiřazená podle věku a pohlaví. Celkově jsme tedy vyšetřili 80 pacientů.

Primárně naším zájmem je hodnocení protrombogenních faktorů, neboť je zde předpoklad, že adekvátní stav mikrocirkulace ve smyslových orgánech hraje velkou etiopatogenetickou roli. Na vzájemném vztahu prokrvení ucha a tinnitu jsou založeny i léčebné metody, ať už farmakologické či například hyperbarická oxygenoterapie.

V našem souboru jsme jako hlavní marker protrombogenního stavu použili hladiny 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>, který je stabilním metabolitem vznikajícím z tromboxanu A<sub>2</sub>. Tromboxany jsou látky syntézované v krevních destičkách a mají jako hlavní úlohu vasokonstrikci a agregaci destiček. V experimentálních pracích je potvrzeno, že inhibitory tromboxan syntázy i antagonisté receptoru tromboxanu A<sub>2</sub> významně prodlužují čas potřebný k potlačení kochleárního akčního potenciálu a právě proto nás zajímalo, zda-li jsou u pacientů s tinnitem vyšší hodnoty 11-dTxB<sub>2</sub>.

Z výsledků lze vyvodit statisticky významný závěr, že u pacientů s tinnitem jsou zaznamenány vyšší hodnoty 11-dehydrotromboxanu-B<sub>2</sub>. Průměrná koncentrace u pacientů s tinnitem byla 2,02±1,81 ng/ml ve srovnání s kontrolní skupinou, kde koncentrace odpovídá hodnotě 1,32±1,33 ng/ml. Statistické zhodnocení Wilcoxon/Kruskal-Wallis testováním je na hladině významnosti p=0,0145, tedy odpovídá p<0,05.

Současně jsme hodnotili další koagulační parametry u pacientů s tinnitem a opět byly hodnoty porovnány a statisticky zpracovány. Sledovali jsme protrombinový čas, INR a hladinu

fibrinogenu. Cílem bylo zjištění, zda-li jsou změny i v ostatních ukazatelích, které hodnotí procesy krevní srážlivosti. Průměrné hodnoty protrombinového času u pacientů s tinnitem jsou  $12,95 \pm 0,72$  sekund oproti hodnotám  $12,62 \pm 0,94$  sekund v kontrolní skupině. Průměrné hodnoty INR v souboru pacientů s tinnitem jsou  $0,997 \pm 0,07$  oproti hodnotám  $1,021 \pm 0,12$  v kontrolní skupině. Hodnoty fibrinogenu jsou  $3,337 \pm 1,06$  g/l ve skupině pacientů s tinnitem oproti  $3,012 \pm 1,16$  g/l v kontrolní skupině. Po statistickém zpracování nejsou v těchto hodnotách zaznamenány statisticky významné rozdíly a tudíž nelze konstatovat, že by existoval vztah mezi tinnitem a změněnými laboratorními hodnotami, které hodnotí krevní srážlivost. Tyto výsledky jsou vysvětlitelné faktem, že laboratorní ukazatele hodnotí celý koagulační systém a jsou obecného charakteru, přičemž neodráží stav mikrocirkulace vnitřního ucha, navíc jde o hodnoty ovlivněné celou řadou dalších faktorů.

Dále jsme sledovali vztah hladin neurosteroidů k tinnitu. Neurosteroidy jsou moderním tématem, kterým se zabývá mnoho autorů a obecně jsou jejich účinky vztahovány k paměti, chování či je zmiňováno jejich neuroprotektivní působení. Jsou však i zmiňovány ve vztahu k poruchám sluchu a k tinnitu. Jednak jsou chápány jako marker stresové reakce a jejich hladiny se mění u depresí, které jsou u pacientů s tinnitem časté a současně antidepresiva hrají velkou roli v léčebné snaze o zmírnění tinnitu. Je i zmiňován možný vztah neurosteroidů k antiagregačním a protizánětlivým účinkům, některé neurosteroidy též ovlivňují perfúzní tlak a vaskulární resistenci.

V našem souboru jsme stanovili celé spektrum neurosteroidů a výsledky jsme zpracovali jak metodou OPLS, tak i metodou vícerozměrné regrese. Jasný vztah k tinnitu na hladinách statistické významnosti  $p < 0,05$  a někdy i  $p < 0,01$  byl zjištěn u hladin pregnenolonu, progesteronu, konjugovaného allopregnanolonu, isopregnanolonu a 5-alfa-pregnan-3-beta,20-alfa-diol. Metodou vícerozměrné regrese je nejvýznamnější vztah u konjugovaného isopregnanolonu a konjugovaného pregnenolonu. Sledovali jsme i vztah k frekvenční charakteristice tinnitu, kde je statisticky významný vztah k androstendiolu, kortizolu a konjugovanému isopregnanolonu. Zde jde o výsledky, které nemají v současném literárním přehledu korelát a jde pravděpodobně o jednu z možných cest dalšího výzkumu klinickými studii.

Závěrem lze konstatovat, že u pacientů s tinnitem je zaznamenán statisticky významný vztah k hladinám 11-dehydro-tromboxanu- $B_2$ , který chápeme jako důležitý marker destičkové aktivity, tedy trombogenního stavu. Z tohoto závěru lze vyvodit potvrzení, že v rámci léčebných strategií u pacientů s tinnitem, kde se uplatňují různé léčebné modalitty, mají své právoplatné opodstatnění léčiva, která podporují prokrvení smyslových orgánů, v našem

případě vnitřního ucha a zlepšením mikrocirkulace vedou ke zmírnění potíží. Používají se různé látky, počínaje často používanými extrakty jinanu dvoulaločného, dále betahistin, který relaxací prekapilárních sfinkterů zlepšuje mikrocirkulaci vnitřního ucha a další vasodilatancia, mnohdy v kombinaci s jinými léčebnými metodami.

Tinnitus představuje problém, který do dnešního dne nemá jednoznačně popsanou etiopatogenezu a současně neexistuje univerzální léčebné schéma, které by bylo účinné u všech pacientů.

## Souhrn

### Úvod

Tinnitus (lat. tinnio – cinkat, tinnire – znít, zvonit), neboli ušní šelest, není chápán jako samostatná choroba, nýbrž jde o symptom provázející různá onemocnění. Prevalence tinnitu stoupá s věkem a mnohdy významně snižuje kvalitu života a nejednou vede až k suicidálnímu jednání. V základu rozdělujeme tinnitus na objektivní a subjektivní. Objektivní tinnitus je dáván do souvislosti s cévními anomáliemi anebo s dysfunkcí Eustachovy tuby. Tato skupina je verifikovatelná a obvykle lze tyto stavy řešit kauzálně, představují však vzácnější typy těchto potíží. Naproti tomu subjektivní tinnitus je daleko častější a rozmanitější. Dle délky trvání potíží můžeme tinnitus rozdělit na akutní a chronický. Na vzniku tinnitu se podílí různé rizikové faktory jako jsou ototoxické látky, expozice hluku, poruchy sluchu a psychická alterace. Tinnitus může být asociován s dalšími chorobami, především ušními či neurologickými. Vztah tinnitu k prokrvení ucha je popisován ve vztahu k porušené mikrocirkulaci, která hraje klíčovou roli pro správnou funkci vnitřního ucha a proto jsme hodnotili vztah protrombogenních faktorů k tinnitu. Sledovali jsme především koncentrace tromboxanů, dále pak neurosteroidů a dalších faktorů.

### Metodika

Ze souboru 853 pacientů s tinnitem jsme vyloučili pacienty s organickými příčinami potíží, vyloučení byli pacienti s poruchou sluchu, komorbiditami kardiovaskulárními či jinými, dále byli vyloučeni pacienti užívající ototoxické léky a pacienti s patologickými laboratorními hodnotami.

Ze vstupního souboru bylo vyloučeno přes 95% pacientů, kteří nesplnili vstupní a vylučovací kritéria. Tímto byl získán homogenní soubor 40 pacientů bez prokázané organické příčiny a bez přidružených chorob či vlivu ototoxické medikace. Na tomto základě byla vytvořena kontrolní skupina adekvátně dle věku a pohlaví. Celkem tedy do detailního zkoumání bylo zařazeno 80 pacientů.

Všichni pacienti absolvovali kompletní audiologická vyšetření (audiometrie, tympanometrie, maskování tinnitu), laboratorní vyšetření (krevní obraz, obvyklé biochemické ukazatele a koagulační parametry, koncentrace 11-dTxB2 a koncentrace vybraných neurosteroidů). Použité zobrazovací metody byly především s cílem vyloučení patologie

v cerebellopontinní oblasti či jiné organické příčiny. Pro diagnostiku kmenových lézí byly použity evokované potenciály.

## Výsledky

V našem souboru jsme jako sledovaný marker agregace destiček použili koncentrace 11-dehydrotromboxanu B<sub>2</sub>, který je stabilním metabolitem vznikajícím z tromboxanu A<sub>2</sub>. Z výsledků lze vyvodit statisticky významný závěr, kdy u pacientů s tinnitem jsou zaznamenány vyšší hodnoty 11-dehydrotromboxanu-B<sub>2</sub>. Průměrná koncentrace u pacientů s tinnitem byla 2,02±1,81 ng/ml ve srovnání s kontrolní skupinou, kde je koncentrace 1,32±1,33 ng/ml. Statistické zhodnocení Wilcoxon/Kruskal-Wallis testováním je na hladině významnosti p=0,0145 a odpovídá tedy p<0,05.

Současně jsme hodnotili další koagulační parametry. Sledovali jsme protrombinový čas, INR a hladinu fibrinogenu. Průměrné hodnoty protrombinového času u pacientů s tinnitem jsou 12,95±0,72 sekund oproti hodnotám 12,62±0,94 sekund v kontrolní skupině. Průměrné hodnoty INR v souboru pacientů s tinnitem jsou 0,997±0,07 oproti hodnotám 1,021±0,12 v kontrolní skupině. Hodnoty fibrinogenu jsou 3,337±1,06 g/l ve skupině pacientů s tinnitem oproti 3,012±1,16 g/l v kontrolní skupině. Po zpracování výsledků nejsou v těchto hodnotách zaznamenány statisticky významné rozdíly a tudíž nelze konstatovat, že by existoval vztah mezi tinnitem a změněnými laboratorními hodnotami, které běžně hodnotí krevní srážlivost.

Dále jsme sledovali vztah hladin neurosteroidů k tinnitu. Jasný vztah k tinnitu na hladinách statistické významnosti p<0,05 a někdy i p<0,01 byl zjištěn u hladin pregnenolonu, progesteronu, konjugovaného allopregnanolonu, isopregnanolonu a 5-alfa-pregnan-3-beta,20-alfa-diol. Metodou vícerozměrné regrese je nejvýznamnější vztah u konjugovaného isopregnanolonu a konjugovaného pregnenolonu. Sledovali jsme i vztah k frekvenční charakteristice tinnitu, kde je statisticky významný vztah k androstendiolu, kortizolu a konjugovanému isopregnanolonu.

## Závěr

Závěrem lze konstatovat, že u pacientů s tinnitem je zaznamenán statisticky významný vztah k hladinám 11-dehydro-tromboxanu-B<sub>2</sub>, který chápeme jako důležitý marker agregace destiček. Z tohoto závěru lze vyvodit potvrzení, že v rámci léčebných strategií u pacientů

s tinnitem, kde se uplatňují různé léčebné modalitty, mají své právoplatné opodstatnění léčiva, která podporují prokrvení smyslových orgánů, v našem případě vnitřního ucha a zlepšením mikrocirkulace tedy vedou ke zmírnění potíží, neboť porucha agregace by mohla ovlivňovat mikrocirkulaci. Z ostatních výsledků lze dále konstatovat, že jsme nezaznamenali statisticky významný rozdíl v laboratorních hodnotách hodnotících koagulační systém u pacientů s tinnitem ve srovnání s kontrolní skupinou. Dále jsme stanovili koncentrace neurosteroidů, neboť v experimentech ovlivňují koagulaci jak ve smyslu prokoagulačním, tak i opačném a zjistili jsme, že existuje statisticky významný vztah tinnitu k hladinám neurosteroidů, především k pregnenolonu, progesteronu, konjugovanému allopregnanolonu, 5-alfa-pregnan-3-beta,20-alfa-diolu.

## Summary

### Introduction

Tinnitus (lat. tinnio - clink, tinnire - sounds, ringing) is not seen as a separate disease, but in terms of symptoms accompanying various diseases. Tinnitus prevalence increases with the age, and often significantly reduces the quality of life, often leading to a suicidal negotiation. Basically tinnitus can be divided into objective and subjective. The objective tinnitus has been associated with vascular anomalies or dysfunction of the Eustachian tube. This group is verifiable and we can usually solve these states causally. The second group - subjective tinnitus is much more common and diverse. Tinnitus can be also divided according to the duration into acute and chronic. The emergence of tinnitus is involved in a variety of risk factors, ototoxic substances, noise exposure, hearing disorders and psychological alterations. Tinnitus may also be associated with other diseases, especially neurological or ear. Relationship between tinnitus and blood flow of the ear is described in a relation to impaired microcirculation, which plays a key role in the proper function of the inner ear and therefore we evaluated the relationship prothrombogenic factors for tinnitus. We monitored the levels of thromboxane, neurosteroids and other coagulation factors.

### Methodology

From the original group of 853 patients we excluded patients with organic cause problems. We excluded patients with hearing impairment, cardiovascular and other comorbidities and also patients taking ototoxic drugs or patients with laboratory abnormalities. From the input file were excluded over 95% of patients who did not fulfill the inclusion and exclusion criteria. Then we have a homogenous group of 40 patients without the evidence of an organic cause of tinnitus and without associated diseases and the effect of ototoxic medications. On this basis there has been created a control group matched by the age and sex. All patients have a complete audiological assessment (audiometry, tympanometry, tinnitus masking), laboratory tests (blood count, routine biochemical markers, coagulation parameters, concentration of 11-dTxB<sub>2</sub> and levels of selected neurosteroids) and CT scan or MRI to rule out

pathology in cerebellopontine area and for diagnosing stem lesions were made evoked potentials.

## Results

In our group as the main marker of prothrombogenic state was used a level of 11-dehydrothromboxan B<sub>2</sub>, which is a stable metabolite of thromboxane A<sub>2</sub>. Patients with tinnitus have significantly higher values of 11-dehydrothromboxane-B<sub>2</sub>. The average concentration in tinnitus patients was 2.02±1.81 ng/ml compared to 1.32±1.33 ng/ml in the control group. Statistical evaluation Wilcoxon / Kruskal-Wallis testing has a significance level of p=0.0145, thus corresponds to p<0.05.

At the same time we evaluated other coagulation parameters. We checked prothrombin time, INR and levels of fibrinogen. The average values of prothrombin time in patients with tinnitus are 12.95±0.72 sec. versus 12.62 ± 0.94 sec. in the control group. The average INR in the group of patients with tinnitus are 0.997±0.07 versus 1.021±0.12 in the control group. Fibrinogen values are 3.337±1.06 g/l in the group of patients with tinnitus compared to 3.012±1.16 g/l in the control group. After statistical processing of these values we can say that there are no statistically significant differences and therefore we cannot conclude that there was a relationship between tinnitus and altered laboratory exams of blood clotting.

We also monitored the levels of neurosteroids with the relation to tinnitus. The clear relationship to tinnitus was at statistically significance level of p <0.05 and sometimes p <0.01 was found, mainly in levels of pregnenolone, progesterone, allopregnanolone conjugated, isopregnanolone and 5-alpha-pregnan-3-beta-20-alpha-diol. Using multivariate regression showed the important relationship with conjugated isopregnanolone and conjugated pregnenolone. We followed the relationship of the frequency characteristics of tinnitus which is statistically significant with relationship to androstenedione, cortisol and conjugated isopregnanolone.

## Conclusion

We can conclude that patients with tinnitus have a statistically significant relationship to levels of 11-dehydro-thromboxane-B<sub>2</sub> which we used as an important marker of



protrombogenic state. This conclusion confirms that a part of treatment strategies for patients with tinnitus have a rightful justification of drugs which promote blood circulation in the inner ear and the improvement of microcirculation leading to alleviate the condition. From other results we can also say that we have not experienced a statistically significant difference in the values of the laboratory evaluation of the coagulation system in tinnitus patients compared with the control group. Furthermore we found that there was a statistically significant relationship to levels of neurosteroids, especially for pregnenolone, progesterone, conjugated allopregnanolone and 5-alpha-pregnan-3-beta-20-alpha-diol.

## Reference

- Abu-Hayyeh S, Papacleovoulou G, Lovgren-Sandblom A, Tahir M, Oduwole O, Jamaludin NA, Ravat S, Nikolova V, Chambers J, Selden C, Rees M, Marschall HU, Parker MG, Williamson C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy levels of sulfated progesterone metabolites inhibit farnesoid X receptor resulting in a cholestatic phenotype, *Hepatology* 57(2) (2013) 716-726.
- Adjajian P, Hall DA, Palmer AR, Allan TW, Langers DR. Neuroanatomical abnormalities in chronic tinnitus in the human brain. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014 Sep;45:119-33. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.05.013. Epub 2014 Jun 2.
- Auci DL, Reading CL, Frincke JM. 7-Hydroxy androstene steroids and a novel synthetic analogue with reduced side effects as a potential agent to treat autoimmune diseases, *Autoimmunity reviews* 8(5) (2009) 369-372.
- Ayikoe G. Mensah-Nyagan, Jean-Luc Do-Rego, Delphine Beaujean, Van Luu-The, Georges Pelletier, Hubert Vaudry : Neurosteroids: Expression of Steroidogenic Enzymes and Regulation of Steroid Biosynthesis in the Central Nervous System. *Pharmacological Reviews* March 1, 1999 vol. 51 no. 1, p. 63-82
- Baldo P, Doree C, Molin P, McFerran D, Cecco S. Antidepressants for patients with tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Sep 12;9:CD003853. doi: 10.1002/14651858.CD003853.pub3. Review.
- Baldo P, Doree C, Molin P, McFerran D, Cecco S. Antidepressants for patients with tinnitus, *The Cochrane database of systematic reviews*(9) (2012) CD003853.
- Barbaccia, M.L., Roscetti, G., Trabucchi, M. et al.: Time dependent changes in rat brain neuroactive steroid concentrations and GABA<sub>A</sub> receptor function after acute stress. *Neuroendocrinology*, 1996, 63, p.166-172
- Bauer CA, Brozoski TJ, Holder TM, Caspary DM. Effects of chronic salicylate on GABAergic activity in rat inferior colliculus. *Hear Res.* 2000 Sep;147(1-2):175-82.
- Baulieu EE, Fuxe K, Gustafsson JA, Wetterberg L. *Steroid Hormone Regulation of the Brain*, 1981.

- Baulieu, E.E.: In: Fuxe, K., Gustafson, J.A., Wetterberg, L. (eds) *Steroid Hormone Regulation of the Brain*. Oxford, Wenner-Green Center International Symposium Series, Pergamon Press, 1981, 34, s.3-14
- Blinden K., Singla A., Gesheff M., Toth P., Tabrizchi A., Ens G., Guyer K., Singh M., Franzese C., Stapleton D., Tantry U., Grubel P. Statin therapy and thromboxane generation in patients with coronary artery disease treated with high-dose aspirin. *Tromb Haemost.* 2014; 112:323-31
- Brochu M, Belanger A, Dupont A, Cusan L, Labrie F. Effects of flutamide and aminoglutethimide on plasma 5 alpha-reduced steroid glucuronide concentrations in castrated patients with cancer of the prostate, *J Steroid Biochem* 28(6) (1987) 619-622.
- Brochu M, Belanger A. Comparative study of plasma steroid and steroid glucuronide levels in normal men and in men with benign prostatic hyperplasia, *The Prostate* 11(1) (1987) 33-40.
- Brown, R. C., Cascio, C., Papadopoulos V.: Pathways of neurosteroid biosynthesis in cell lines from human brain: Regulation of dehydroepiandrosterone formation by oxidative stress and b-amyloid peptide. *J. Neurochem.* 2000, 74, p. 847-859
- Bruno A., McConnel J.P., Cohen S.N., Tietjen G.E., Wallis R.A., Gorelick P.B., Bang N.U.: Serial urinary 11-dehydrothromboxane B2, Aspirin dose and vascular events in blacks after recent cerebral infarction. *Stroke* 2004; 35: 727-30.
- Byung In Han, Ho Won Lee, Tae You Kim, Jun Seong Lim, Kyoung Sik Shin. Tinnitus: Characteristics, Causes, Mechanisms, and Treatments. *J Clin Neurol.* 2009 Mar; 5(1): 11–19.
- Cattaneo M. High on-treatment platelet reactivity – definition and measurement. *Thromb Haemost.* 2013;109:792-8
- Cattaneo M. Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection. *J Thromb Haemost* 2007;5(suppl1):230-23
- Cazals Y. (2000). Auditory sensori-neural alterations induced by salicylate. *Prog. Neurobiol.* 62: 583–631.

- Cianfrone G, Pentangelo D, Cianfrone F, Mazzei F, Turchetta R, Orlando MP, Altissimi G. Pharmacological drugs inducing ototoxicity, vestibular symptoms and tinnitus: a reasoned and updated guide. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011 Jun;15(6):601-36.
- Claria J. Cyclooxygenase-2 Biology. *Current Pharmaceutical Design*, 2003, 9, 2177-2190
- Coelho CB, Sanchez TG, Tyler RS. Tinnitus in children and associated risk factors, *Progress in brain research* 166 (2007) 179-191.
- Crummer RW, Hassan GA. Diagnostic approach to tinnitus. *Am Fam Physician.* 2004 Jan 1;69(1):120-6.
- Czech C, Berndt P, Busch K, Schmitz O, Wiemer J, Most V, Hampel H, Kastler J, Senn H. Metabolite profiling of Alzheimer's disease cerebrospinal fluid, *PloS one* 7(2) (2012) e31501.
- Daniell WE, Fulton-Kehoe D, Cohen M, Swan SS, Franklin GM, Increased reporting of occupational hearing loss: workers' compensation in Washington State, 1984-1998, *American journal of industrial medicine* 42(6) (2002) 502-510.
- Daniell WE, Fulton-Kehoe D, Smith-Weller T, Franklin GM. Occupational hearing loss in Washington state, 1984-1991: II. Morbidity and associated costs. *Am J Ind Med.* 1998;33:529–536.
- Daniell WE, Swan SS, McDaniel MM, Stebbins JG, Seixas NS, Morgan MS. Noise exposure and hearing conservation practices in an industry with high incidence of workers' compensation claims for hearing loss. *Am J Ind Med.* 2002 Oct;42(4):309-17.
- Daniell, W. E., Fulton-Kehoe, D., Smith-Weller, T., & Franklin, G. M. (1998). Occupational hearing loss in Washington state, 1984–1991: I. statewide and industry-specific incidence. *American journal of industrial medicine*, 33(6), 519-528.
- Davi G., Catalano I., Averna M., Notarbartolo A., Strano A., Ciabattini G., Patrono C. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322: 1769-74.

- Dehennin L, Peres G. Plasma and urinary markers of oral testosterone misuse by healthy men in presence of masking epitestosterone administration, *International journal of sports medicine* 17(5) (1996) 315-319.
- Derek J Hoare, Victoria L Kowalkowski, Sujin Kang and Deborah A Hall. Systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials examining tinnitus management *Laryngoscope*. 2011 Jul; 121(7): 1555–1564.
- Dong, E., Matsumoto, K., Uzunova, V. et al.: Brain 5 $\alpha$ -dihydroprogesterone and allopregnanolone synthesis in a mouse model of protracted social isolation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, p.2849-2854
- Eikelboom JW, Hankey GJ, Thom J et al. Clopidogrel for high atherothrombotic risk and ischemic stabilization, management and avoidance (CHARISMA) investigators. Incomplete inhibition of thromboxane biosynthesis by acetylsalicylic acid: determinants and effect on cardiovascular risk. *Circulation* 2008;118:1705-1712
- Eikelboom JW, Hirch J, Weith JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105:1650-5
- Figueroa L, Díaz F, Camacho A, Díaz E, Marvín R. Activity induced by androsterone and hemisuccinate of androsterone on perfusion pressure and vascular resistance. *Biomedica*. 2009 Dec;29(4):625-34.
- Ganong WF. *Přehled lékařské fyziologie*. Galén, 2005, Praha.
- Gates GA, Mills JH. Presbycusis. *Lancet*, 2005, 366:1111-1120
- Ghosh C, Marchi N, Desai NK, Puvenna V, Hossain M, Gonzalez-Martinez J, Alexopoulos AV, Janigro D. Cellular localization and functional significance of CYP3A4 in the human epileptic brain, *Epilepsia* 52(3) (2011) 562-571.
- Guennoun R, Labombarda F, Gonzalez Deniselle MC, Liere P, De Nicola AF, Schumacher M. Progesterone and allopregnanolone in the central nervous system: response to injury and implication for neuroprotection, *J Steroid Biochem Mol Biol* 146 (2015) 48-61.

- Guitton MJ, Caston J, Ruel J, Johnson RM, Pujol R, Puel JL. Salicylate induces tinnitus through activation of cochlear NMDA receptors. *J Neurosci*. 2003 May 1;23(9):3944-52.
- Hahn A, Radkova L, Achiemere G, Klement V, Alpini D, Strouhal J. Multimodal therapy for chronic tinnitus. *Int Tinnitus J*. 2008;14(1):69-72.
- Hahn A, Schalek P, Sejna I, Rosina J. Combined tinnitus therapy with laser and EGb 761: further experiences. *Int Tinnitus J*. 2012;17(1):47-50.
- Hall DA, Láinez MJ, Newman CW, Sanchez TG, Egler M, Tennigkeit F, Koch M, Langguth B. Treatment options for subjective tinnitus: self reports from a sample of general practitioners and ENT physicians within Europe and the USA. *BMC Health Serv Res*. 2011 Nov 4;11:302. doi: 10.1186/1472-6963-11-302.
- Han BI, Lee HW, Kim TY, Lim JS, Shin KS. Tinnitus: characteristics, causes, mechanisms, and treatments. *J Clin Neurol*. 2009 Mar;5(1):11-9. Epub 2009 Mar 31.
- Hankey G.J., Eikelboom J.W.: Aspirin resistance. *Lancet* 2006; 367: 606-17.
- Hart R.G., Leonard A.D., Talbert R.L., Pearce L.A., Cornell E., Bovill E., Feinberg W.M. Aspirin dosage and thromboxane synthesis in patients with vascular disease. *Pharmacotherapy* 2003; 23: 579-84.
- Havlikova H, Hill M, Hampl R, Starka L. Sex- and age-related changes in epitestosterone in relation to pregnenolone sulfate and testosterone in normal subjects, *J Clin Endocrinol Metab* 87(5) (2002) 2225-2231.
- Heffner HE, Harrington IA. Tinnitus in hamsters following exposure to intense sound. *Hear Res*. 2002 Aug;170(1-2):83-95.
- Hennebert O, Chalbot S, Alran S, Morfin R. Dehydroepiandrosterone 7alpha-hydroxylation in human tissues: possible interference with type 1 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase-mediated processes, *J Steroid Biochem Mol Biol* 104(3-5) (2007) 326-333.
- Herkert, O., Kuhl, H., Busse, R., & Schini-Kerth, V. B. (2000). The progestin levonorgestrel induces endothelium-independent relaxation of rabbit jugular vein via

inhibition of calcium entry and protein kinase C: role of cyclic AMP. *British journal of pharmacology*, 130(8), 1911-1918.

- Hill M, J. Zarubova, P. Marusic, J. Vrbikova, Velikova M, Kancheva R, Kancheva L, Kubatova J, Duskova M, Zamrazilova L, Kazihnitkova H, Simunkova K, Starka L. Effects of valproate and carbamazepine monotherapy on neuroactive steroids, their precursors and metabolites in adult men with epilepsy, *J Steroid Biochem Mol Biol* 122(4) (2010) 239-252.
- Hill M, Parizek A, Kancheva R, Duskova M, Velikova M, Kriz L, Klimkova M, Paskova A, Zizka Z, Matucha P, Meloun M, Starka L. Steroid metabolome in plasma from the umbilical artery, umbilical vein, maternal cubital vein and in amniotic fluid in normal and preterm labor, *J Steroid Biochem Mol Biol* 121(3-5) (2010) 594-610.
- Hill M, Vrbikova J, Zarubova J, Kancheva R, Velikova M, Kancheva L, Kubatova J, Duskova M, Marusic P, Parizek A, Starka L. The steroid metabolome in lamotrigine-treated women with epilepsy, *Steroids* 76(12) (2011) 1351-1357.
- Hilton MP, Zimmermann EF, Hunt WT. Ginkgo biloba for tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Mar 28;3:CD003852. doi: 10.1002/14651858.CD003852.pub3. Review.
- Hirose Y, Tabuchi K, Oikawa K, Murashita H, Sakai S, Hara A. The effects of the glucocorticoid receptor antagonist RU486 and phospholipase A2 inhibitor quinacrine on acoustic injury of the mouse cochlea. *Neurosci. Lett.* 2007. **413**: 63–67.
- Hoare, D. J., Kowalkowski, V. L., Kang, S., & Hall, D. A. (2011). Systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials examining tinnitus management. *The Laryngoscope*, 121(7), 1555-1564.
- Hoshino T, Tabuchi K, Hara A. (2010). Effects of NSAIDs on the Inner Ear: Possible involvement in Cochlear Protection; *Pharmaceuticals*. **3**: 1286-1295.
- Hubel DH, Wiesel TN. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. 1962. *J Physiol* 160:106-154
- Hybášek I. Ušní, nosní a krční lékařství. Galén, 1999, Praha.
- Jalilvand H, Pourbakht A, Haghani H. Hearing aid or tinnitus masker: which one is the best treatment for blast-induced tinnitus? The results of a long-term study on 974

- patients. *Audiol Neurootol*. 2015;20(3):195-201. doi: 10.1159/000377617. Epub 2015 Apr 25.
- Jastreboff PJ. Phantom auditory perception (tinnitus): mechanisms of generation and perception. *Neurosci Res*. 1990;8:221–254.
  - Jurajda M., Talach T., Kostřica R., Lakomý R., Kocák I., Cvanová M. Genetické pozadí ototoxicity cisplatin. *Klin Onkol* 2012; 25 (3):184-187
  - Kalimi , M., Regelson, W.: In: Dehydroepiandrosterone (DHEA), biochemical, physiological and clinical aspects. New York and Berlin, Walter de Gruyter, 2000
  - Kancheva R, Hill M, Novak Z Chrastina J, Kancheva L, Starka L. Neuroactive steroids in periphery and cerebrospinal fluid, *Neuroscience* 191 (2011) 22-27.
  - Kancheva R, Hill M, Novak Z, Chrastina J, Velikova M, Kancheva L, Riha I, Starka L. Peripheral neuroactive steroids may be as good as the steroids in the cerebrospinal fluid for the diagnostics of CNS disturbances, *J Steroid Biochem Mol Biol* 119(1-2) (2010) 35-44.
  - Kancheva R, Hill M, Novak Z, Chrastina J, Kancheva L, Starka L. Neuroactive steroids in periphery and cerebrospinal fluids. *Neuroscience* 2011;191:22-7
  - Kancheva R, Hill M, Novak Z, Chrastina J, Veliková M, Kancheva L et al. Peripheral neuroactive steroids may be as good as the steroids in the cerebrospinal fluid for the diagnostic of CNS disturbances. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;119:35-44
  - Kato S, Pinto M, Carvajal A, Espinoza N, Monso C, Sadarangani A, Villalon M, Brosens JJ, White JO, Richer JK, Horwitz KB, Owen GI. Progesterone increases tissue factor gene expression, procoagulant activity, and invasion in the breast cancer cell line ZR-75-1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Feb;90(2):1181-8. Epub 2004 Nov 23.
  - Kim DK, Chung DY, Bae SC, Park KH, Yeo SW, Park SN. Diagnostic value and clinical significance of stress hormones in patients with tinnitus, *Eur Arch Otorhinolaryngol* 271(11) (2014) 2915-2921.
  - Kim DK, Chung DY, Bae SC, Park KH, Yeo SW, Park SN. Diagnostic value and clinical significance of stress hormones in patients with tinnitus. *Eur Arch*



Otorhinolaryngol. 2014 Nov;271(11):2915-21. doi: 10.1007/s00405-013-2785-5.  
Epub 2013 Oct 26.

- Kim Ji Soo, Hyung Lee. Inner Ear Dysfunction Due to Vertebrobasilar Ischemic Stroke, *Semin Neurol.* 2009; 29(5):534-540
- Kopke RD, Weisskopf PA, Boone JL, Jackson RL, Wester DC, Hoffer ME et al. (2000). Reduction of noise-induced hearing loss using L-NAC and salicylate in the chinchilla. *Hear. Res.* **149**: 138–146.
- Kriz L, Bicikova M, Hill M, Hampl R. Steroid sulfatase and sulfuryl transferase activity in monkey brain tissue, *Steroids* 70(14) (2005) 960-969.
- Kriz L, Bicikova M, Mohapl M, Hill M, Cerny I, Hampl R. Steroid sulfatase and sulfuryl transferase activities in human brain tumors, *J Steroid Biochem Mol Biol* 109(1-2) (2008) 31-39.
- Kulka J. Systémová teorie činností. 2006. 2. vydání. Brno, ARCANA
- Labrie F, Belanger A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging, *J Clin Endocrinol Metab* 82(8) (1997) 2396-2402.
- Lamm K, Arnold W (1998). The effect of prednisolone and non-steroidal anti-inflammatory agents on the normal and noise-damaged guinea pig inner ear. *Hear. Res.* **115**: 149–161.
- Lee JH, Marcus DC. Nongenomic effects of corticosteroids on ion transport by stria vascularis. *Audiol Neurootol*, 2002, 7:100-106
- Levine RA. Somatic (craniocervial) tinnitus and the dorsal cochlear nucleus hypothesis. *Am J Otolaryngol*, 1999, 20:351-362
- Ling LL, Hughes LF, Caspary DM. Age-related loss of the GABA synthetic enzyme glutamic acid decarboxylase in rat primary auditory cortex. *Neuroscience.* 2005; 132:1103-1113
- Madsen R, Lundstedt T, Trygg J. Chemometrics in metabolomics--a review in human disease diagnosis, *Analytica chimica acta* 659(1-2) (2010) 23-33.

- Mahmoudian S, Farhadi M, Gholami S, Saddadi F, Jalesi M, Karimian AR, Darbeheshti M, Momtaz S, Fardin S. Correlation between brain cortex metabolic and perfusion functions in subjective idiopathic tinnitus. *Int Tinnitus J.* 2013;18(1):20-8. doi: 10.5935/0946-5448.20130004.
- Marx CE, Shampine LJ, Duncan GE, VanDoren MJ, Grobin AC, Massing MW, Madison RD, Bradford DW, Butterfield MI, Lieberman JA, Morrow AL. Clozapine markedly elevates pregnenolone in rat hippocampus, cerebral cortex, and serum: candidate mechanism for superior efficacy?, *Pharmacol Biochem Behav* 84(4) (2006) 598-608.
- Mazurek B., Szczepek, A. Molecular Basis of Salicylate - Induced Tinnitus. *Tinnitus Today*; Spring2010, Vol. 35 Issue 1, p8-22
- Melcangi RC, Giatti S, Calabrese D, Pesaresi M, Cermenati G, Mitro N, Viviani B, Garcia-Segura LM, Caruso D. Levels and actions of progesterone and its metabolites in the nervous system during physiological and pathological conditions, *Progress in neurobiology* 113 (2014) 56-69.
- Meng LJ, Reyes H, Axelson M, Palma J, Hernandez I, Ribalta J, Sjoval J. Progesterone metabolites and bile acids in serum of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy: effect of ursodeoxycholic acid therapy, *Hepatology* 26(6) (1997) 1573-1579.
- Mensah-Nyagan AG, Do-Rego JL, Beaujean D, Luu-The V, Pelletier G, Vaudry H. Neurosteroids: expression of steroidogenic enzymes and regulation of steroid biosynthesis in the central nervous system, *Pharmacological reviews* 51(1) (1999) 63-81.
- Meyerhoff WL, Cooper JL. Tinnitus. In: Paparella MM (ed). *Otolaryngology*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders. 1991:1169-75.
- Miller KK, Cai J, Ripp SL, Pierce WM, Jr., Rushmore TH, Prough RH. Stereo- and regioselectivity account for the diversity of dehydroepiandrosterone (DHEA) metabolites produced by liver microsomal cytochromes P450, *Drug Metab Dispos* 32(3) (2004) 305-313.
- Møller AR. Tinnitus: presence and future. *Prog Brain Res.* 2007;166:3-16. Review.

- Møller, AR. Pathophysiology of tinnitus. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1984, 93:39-44
- Morfin R, Starka L. Neurosteroid 7-hydroxylation products in the brain, *Int Rev Neurobiol* 46 (2001) 79-95.
- Nakashima T, Naganawa S, Sone M, Tominaga M, Hayashi H, Yamamoto H, Liu X, Nuttall AL. Disorders of cochlear blood flow. *Brain Res Brain Res Rev.* 2003 Sep;43(1):17-28.
- Naylor JC, Hulette C, Steffens DC, Shampine LJ, Ervin JF, Payne VM, Massing MW, Kilts JD, Strauss JL, Calhoun PS, Calnaido RP, Blazer DG, Lieberman JA, Madison RD, Marx CE. Cerebrospinal fluid dehydroepiandrosterone levels are correlated with brain dehydroepiandrosterone levels, elevated in Alzheimer's disease, and related to neuropathological disease stage, *J Clin Endocrinol Metab* 93(8) (2008) 3173-3178.
- Naylor JC, Hulette CM, Steffens DC, Shampine LJ, Ervin JF, Payne VM, Massing MW, Kilts JD, Strauss JL, Calhoun PS, Calnaido RP, Blazer DG, Lieberman JA, Madison RD, Marx CE. Cerebrospinal fluid dehydroepiandrosterone levels are correlated with brain dehydroepiandrosterone levels, elevated in Alzheimer's disease, and related to neuropathological disease stage. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:3173–8.
- Novák et al. Příručka základů klinické audiologie. Praha, 1998
- Orhan I, Aydın S, Altın G, Yılmaz F. An efficacy comparison of betahistin, trimetazidine and ginkgo biloba extract in patients with tinnitus. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg.* 2013 May-Jun;23(3):143-7. doi: 10.5606/kbbihtisas.2013.03064. Turkish.
- Ouda L., Syka J. Immunocytochemical profiles of inferior colliculus neurons in the rat and their changes with aging. *Front Neural Circuits* 2012. 6:68
- Paluch Z, Jedlicková V, Skibová J, Adamek T, Alušík Š. The effectiveness of antiplatelet treatment with aspirin in polymorbid patients. *Int Angiol* 2007;26:206-2012
- Parizek A, Hill M, Duskova M, Vitek L, Velikova M, Kancheva R, Simjak P, Koucky M, Kokrdova Z, Adamcova K, Cerny A, Hajek Z, Starka L. A Comprehensive Evaluation of Steroid Metabolism in Women with Intrahepatic Cholestasis of

- Pregnancy, PloS one 11(8) (2016) e0159203.
- Park J, White AR, Ernst E. Efficacy of acupuncture as a treatment for tinnitus: a systematic review. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2000 Apr;126(4):489-92.
  - Racek J et al. Klinická biochemie. První vydání. Galén (Praha) – Karolinum, 1999. s. 65
  - Reddy DS. Pharmacology of endogenous neuroactive steroids, Crit Rev Neurobiol 15(3-4) (2003) 197-234.
  - Reddy, D.S.: Pharmacology of endogenous neuroactive steroids. Crit. Rev. Neurobiol., 2003, 15, p.197-234
  - Roland PD, Nergård CS. Ginkgo biloba--effect, adverse events and drug interaction. Tidsskr Nor Laegeforen. 2012 Apr 30;132(8):956-9. doi: 10.4045/tidsskr.11.0780. Norwegian. Erratum in: Tidsskr Nor Laegeforen. 2012 Jun 12;132(11):1319.
  - Rottenberg J. Architektonika descendentního systému sluchové dráhy a její možný význam v patogenezi tinnitu. Brno, 2007. Disertační práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce Miroslav Novotný.
  - Sadílková L, Paluch Z, Mottlová J, Bednar F, Alušík Š. The effect of pre-analytical phase variables on plasma thromboxane A2 measurements in humans. Int J Lab Hematol 2013;35:92-100
  - Sadílková L, Paluch Z, Mottlová J, Bednar F, Alušík Š. The purification is not crucial in EIA measurements of thromboxane B2 and 11-dehydrothromboxane in human plasma. Clin Lab 2012;58:177-83
  - Sakata E, Ito Y, Itoh A. Clinical Experiences of Steroid Targeting Therapy to Inner Ear for Control of Tinnitus, The international tinnitus journal 3(2) (1997) 117-121.
  - Sakata E, Ito Y, Itoh A. Clinical Experiences of Steroid Targeting Therapy to Inner Ear for Control of Tinnitus. Int Tinnitus J, 1997, 3: 117-121
  - Sanchez-Guijo A, Oji V, Hartmann MF, Traupe H, Wudy SA. Simultaneous quantification of cholesterol sulfate, androgen sulfates, and progestagen sulfates in human serum by LC-MS/MS, J Lipid Res 56(9) (2015) 1843-1851.

- Sanderson S., Emery J., Baglin T., Kinmonth A.L.: Narrative Review: aspirin resistance and its clinical implications. *Ann. Intern. Med.* 2005; 142: 370-80.
- Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini JR, Schweppe KW and Thijssen JH (2003) Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 46(Suppl. 1), S7–S16
- Schleuning AJ 2d. Management of the patient with tinnitus. *Med Clin North Am* 1991; 75:1225-37
- Schuld A, Mullington J, Friess E, Hermann DM, Galanos C, Holsboer F, Pollmacher T. Changes in dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA-sulfate plasma levels during experimental endotoxemia in healthy volunteers, *J Clin Endocrinol Metab* 85(12) (2000) 4624-4629.
- Selimoglu E., Aminoglycoside-induced ototoxicity. *Curr Pharm Des.* 2007;13(1):119-26.
- Semaan MT, Megerian CA. Contemporary perspectives on the pathophysiology of Meniere's disease: implications for treatment, *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery* 18(5) (2010) 392-398.
- Shargorodsky J, Curhan GC, Farwell WR. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am J Med.* 2010 Aug;123(8):711-8.
- Shim HJ, Lee LH, Huh Y, Lee SY, Yeo SG. Age-related changes in the expression of NMDA, serotonin and GAD in the central auditory system of the rat. *Acta Otolaryngol* 2012; 132:44-50
- Sripada RK, Welsh RC, Marx CE, Liberzon I. The neurosteroids allopregnanolone and dehydroepiandrosterone modulate resting-state amygdala connectivity, *Human brain mapping* 35(7) (2014) 3249-3261.
- Stevens JC, Hines RN, Gu C, Koukouritaki SB, Manro JR, Tandler PJ, Zaya MJ. Developmental expression of the major human hepatic CYP3A enzymes, *J Pharmacol Exp Ther* 307(2) (2003) 573-582.
- Sulcova J, Hill M, Hampl R, Starka L. Age and sex related differences in serum levels of unconjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects, *J*

Endocrinol 154(1) (1997) 57-62.

- Sun W. Neurotransmitter modulation relates with tinnitus signal generation and management, *J Otology* 2 (2007) 2.
- Syka J, Rybalko N. Threshold shifts and enhancement of cortical evoked responses after noise exposure in rats, *Hearing research* 139(1-2) (2000) 59-68.
- Syka J. Plastic changes in the central auditory system after hearing loss, restoration of function and during learning. 2002. *Physiol Rev.* 82:601-636
- Tabuchi K, Ito Z, Tsuji S, Wada T, Takahashi K, Hara A, Kusakari J (2000). The contribution of phospholipase A2 to the cochlear dysfunction induced by transient ischemia. *Hear. Res.* 144: 1–7.
- Tokushige K, Hashimoto E, Kodama K, Tobari M, Matsushita N, Kogiso T, Taniai M, Torii N, Shiratori K, Nishizaki Y, Ohga T, Ohashi Y, Sato T. Serum metabolomic profile and potential biomarkers for severity of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease, *Journal of gastroenterology* 48(12) (2013) 1392-1400.
- Topinková et al. *Geriatric pro praxi*; Galén; 2005
- Trojan S. et al. : *Lékařská fyziologie*. Grada-Avicenum, Praha 1996, 2. vydání.
- Trygg J, Holmes E, Lundstedt T. Chemometrics in metabonomics, *J Proteome Res* 6(2) (2007) 469-479.
- Trygg J, Wold S. Orthogonal projections to latent structure, *J Chemometrics* 16 (2002) 119-128.
- Tziridis K, Korn S, Ahlf S, Schulze H. Protective effects of Ginkgo biloba extract EGb 761 against noise trauma-induced hearing loss and tinnitus development. *Neural Plast.* 2014;2014:427298. doi: 10.1155/2014/427298. Epub 2014 Jun 17.
- Umemura K, Asai Y, Nakashima M. Role of thromboxane A2 in a microcirculation disorder of the rat inner ear. *Eur Arch Otolaryngol* 1993; 250:342-344
- VanLandingham WJ, Cekic M, Cutler SM, Hoffman SW, Washington ER, Johnson SJ, Miller D, Stein DG. Progesterone and its metabolite allopregnanolone differentially regulate hemostatic proteins after traumatic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2008, 1786-1794

- Vyklicky V, Krausova B, Cerny J, Balik A, Zapotocky M, Novotny M, Lichnerova K, Smejkalova T, Kaniakova M, Korinek M, Petrovic M, Kacer P, Horak M, Chodounska H, Vyklicky L. Block of NMDA receptor channels by endogenous neurosteroids: implications for the agonist induced conformational states of the channel vestibule, *Scientific reports* 5 (2015) 10935.
- Weaver CE Jr, Marek P., Park-Chung M et al., Neuroprotective activity of a new class of steroidal inhibitors of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:10450-10454, 1997
- Weissman JL, Hirsch BE. Imaging of tinnitus: a review. *Radiology* 2000; 216:342-349
- Xiaorui Shi. Physiopathology of the cochlear microcirculation. *Hear Res* 2011; 282:10-24