

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ANTROPOLOGIE A GENETIKY ČLOVĚKA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**VLIV HLUKU NA SLUCHOVÝ SYSTÉM
POTKANA**

Vypracovala: Bc. Jolana Grécová

Vedoucí práce: RNDr. Jiří Popelář, CSc.

Garant: RNDr. Blanka Vacková, CSc.

Září 2006

Především bych ráda poděkovala svému školiteli, RNDr. Jiřimu Popelářovi, CSc za jeho odborné a trpělivé vedení při psaní této diplomové práce.

Rovněž děkuji RNDr. Natalii Rybalko, CSc za podporu a pomoc v provedení experimentální části této práce, prof. MUDr. Josefu Sykovi, DrSc. za poskytnutí cenných připomínek, Mgr. Janě Burianové a Janu Setničkovi za pomoc při zpracování výsledků a celému oddělení neurofyziologie sluchu ÚEM AVČR, kteří vytvářeli příjemné prostředí v pracovním kolektivu.

Mé poděkování patří také MUDr. Blance Vackové za ochotný přístup a poskytnutí důležitých rad. V neposlední řadě patří mé díky i mému příteli za pomoc a podporu při zpracovávání této práce.

„Prohlašuji, že jsem tuto práci zpracovala samostatně a že jsem vyznačila prameny, z nichž jsem pro svou práci čerpala způsobem ve vědecké práci obvyklým.“

V Praze dne

.....

podpis diplomanta

SEZNAM ZKRATEK

- ABR, auditory brainstem responses – akustickým podnětem vyvolané odpovědi mozkového kmene
- BERA, brainstem evoked response audiometry – objektivní audiometrie, hodnocení kmenových evokovaných potenciálů
- CERA, cortical evoked response audiometry – akustickým podnětem vyvolané odpovědi sluchové kůry
- CGM – corpus geniculatum mediale
- CI – colliculus inferior
- dB SL (sensation level) – hladina hlasitosti zvuku nad individuálním sluchovým prahem
- dB SPL (sound pressure level) – hladina intenzity zvuku $[\text{dB SPL}] = 20 \cdot \log(P/P_0)$, kde P_0 je základní akustický tlak ($2 \cdot 10^{-5}$ Pa).
- DPOAE – otoakustické emise distorzního produktu
- GDT, gap detection threshold – práh pro detekci pauzy ve zvukovém podnětu
- IHC, inner hair cell – vnitřní vlásková buňka
- MLR, middle-latency responses – akustickým podnětem vyvolané odpovědi se střední latencí
- NC – nucleus cochlearis
- DCN – nucleus cochlearis dorsalis
- VCN – nucleus cochlearis ventralis
- AVCN – nucleus cochlearis ventralis anterior
- PVCN – nucleus cochlearis ventralis posterior
- NMR – nukleární magnetická rezonance
- OAE – otoakustické emise
- OHC, outer hair cell – vnější vlásková buňka
- OS – oliva superior
- OSL – oliva superior lateralis
- OSM – oliva superior medialis
- PET – pozitronová emisní tomografie
- PTS, permanent threshold shift – stálý vzestup sluchového prahu
- RF – retikulární formace
- SFR, spontaneous firing rates – úroveň spontánní nervové aktivity
- SOAE – spontánní otoakustické emise
- SK – sluchová kůra
- SSEP, steady state evoked potentials – akustickým podnětem vyvolané odpovědi thalamu
- TEOAE – tranzientní (klikem vyvolané) otoakustické emise
- TTS, temporary threshold shift – dočasný vzestup sluchového prahu

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	3
2.1. Sluchová dráha – struktura a funkce.....	3
2.1.1. Aferentní systém.....	3
2.1.2. Eferentní systém:	8
2.2. Speciální audiometrické metody.....	8
2.2.1. Objektivní audiometrie (electrical response audiometry, ERA).....	8
2.2.2. Elektrokochleografie.....	9
2.2.3. SSEP (Steady State Evoked Potentials).....	9
2.2.4. Otoakustické emise.....	10
2.2.5. Kmenové vyvolané odpovědi (auditory brain stem response, ABR)	11
2.2.6. Korové vyvolané odpovědi.....	11
2.3. Testování sluchu u laboratorních zvířat.....	12
2.3.1. Elektrofyziologický záznam sluchových vyvolaných odpovědí	12
2.3.2. Behaviorální sluchové testy.....	13
2.3.2.1. Rozlišení časových parametrů – detekce pauzy ve zvukovém signálu (gap detection treshold, GDT)	13
2.4. Hluk	15
2.4.1. Definice hluku	15
2.4.2. Vliv hluku na periferní sluchový systém.....	16
2.4.2.1. Přejídný a trvalý posun sluchového prahu	16
2.4.3. Změny v centrálním sluchovém systému	19
2.4.3.1. Vliv intenzivního hluku na sluchový práh a sluchové vyvolané odpovědi u laboratorních zvířat.....	20
2.4.3.2. Tinnitus.....	21
2.4.3.3. Diagnostika tinnitu u laboratorních zvířat	22
3. CÍLE PRÁCE	24
4. MATERIÁL A METODY.....	25
4.1. Testovaná zvířata.....	25
4.2. Záznam vyvolaných odpovědí ABR a MLR z implantovaných elektrod.....	25
4.2.1. Chirurgická implantace elektrod.....	25
4.2.2. Snímání kmenových (ABR) a korových evokovaných potenciálů se střední latencí (MLR)	26
4.2.3. Akustická stimulace.....	27
4.2.4. Snímání sluchových vyvolaných odpovědí	28
4.2.5. Hodnocení sluchového prahu zvířete na podkladě snímání ABR	29
4.2.6. Hodnocení odpovědi MLR	30
4.2.7. Testování a hodnocení registrovaných potenciálů se střední latencí (MLR) a kmenových potenciálů (ABR).....	31
4.2.8. Hluková expozice	32
1. hluková expozice	32

2. hluková expozice	33
5. VÝSLEDKY	34
5.1. Sluchové prahy	34
5.1.1. Účinek 1. hlukové expozice o intenzitě 118 dB SPL	34
5.1.2. Účinek 2. hlukové expozice o intenzitě 122 dB SPL	35
5.2. Změny amplitud středně latentních korových evokovaných potenciálů (MLR) v závislosti na hlukové zátěži	36
5.3. Změny amplitud kmenových evokovaných potenciálů (ABR) v závislosti na hlukové zátěži	39
5.4. Změny amplitudy MLR v závislosti na velikosti posunu prahů.....	39
6. DISKUSE	41
6.1. Posun sluchového prahu po hlukové expozici.....	41
6.2. Změny amplitud MLR po hlukové expozici.....	41
6.3. Změny hodnot GDT.....	43
7. ZÁVĚR	45
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	48

1. ÚVOD

Úloha sluchového systému u savců spočívá ve schopnosti informovat subjekt o zvukových podnětech okolního prostředí a o druhově-specifických zvukových komunikačních signálech. Tato funkce se pro člověka stala stěžejní, neboť jedním z jeho hlavních rysů je schopnost naučit se a používat řeč. Je to právě ztráta sluchových receptorů v dětství, ať už zděděná nebo získaná, která zabraňuje normálnímu vývoji řeči a zanechává dítě hluché a němé.

Ztráta sluchu způsobená patologickými procesy ve vnitřním uchu a ve sluchové dráze je předmětem mnoha klinických a experimentálních studií. Stoupající hladina hluku v prostředí, ve kterém žijeme, a současně vzrůstající výskyt léků s druhotnými ototoxickými účinky, jednoznačně zvyšuje pozornost soustředěnou na problém sensorineurální ztráty sluchu.

Přestože počátky experimentálních studií zabývajících se ztrátou sluchu způsobenou hlukem či léky mohou být datovány až do 19. století, teprve za posledních 40 let lze pozorovat evidentní pokrok v porozumění patologických a patofysiologických pochodů ve vnitřním uchu. Je bezpochyby, že tento progres by nebyl možný bez pochopení ultrastruktur vnitřního ucha a jejich funkce díky novým technikám, které výzkum umožňují.

Změny ve sluchovém systému po hlukové expozici jsou obvykle prezentovány jako výsledek mechanického poškození kochleárních struktur. Nicméně, změny ve sluchovém ústrojí způsobené akustickým traumatem se jednoznačně dotýkají vyšších oddílů sluchové dráhy, jak demonstrují některé studie zaměřené na mechanismy plastických změn centrálních částí sluchového systému po částečném nebo kompletním poranění vnitřního ucha. Poranění kochleárních struktur může vyvolat nejen funkční, ale i morfologickou přestavbu sluchových jader (Syka a kol., 1994). Mechanismy plastických změn ve sluchovém systému, které jsou způsobeny hlukem, a které se objevují v průběhu stárnutí, jsou studovány na laboratorních zvířatech pomocí behaviorálních testů, histochemických a imunohistochemických metod, elektrofyziologických měření a záznamu otoakustických emisí.

Velmi častým průvodním jevem sluchových poruch je ušní šelest, tzv. tinnitus. Jde o zvukový vjem, pro nějž neexistuje zvukový zdroj v zevním prostředí. Tinnitus

bývá velmi často spojován se zvýšenou úrovní nervové aktivity ve sluchových centrech (Novotný a Hahn, 1997).

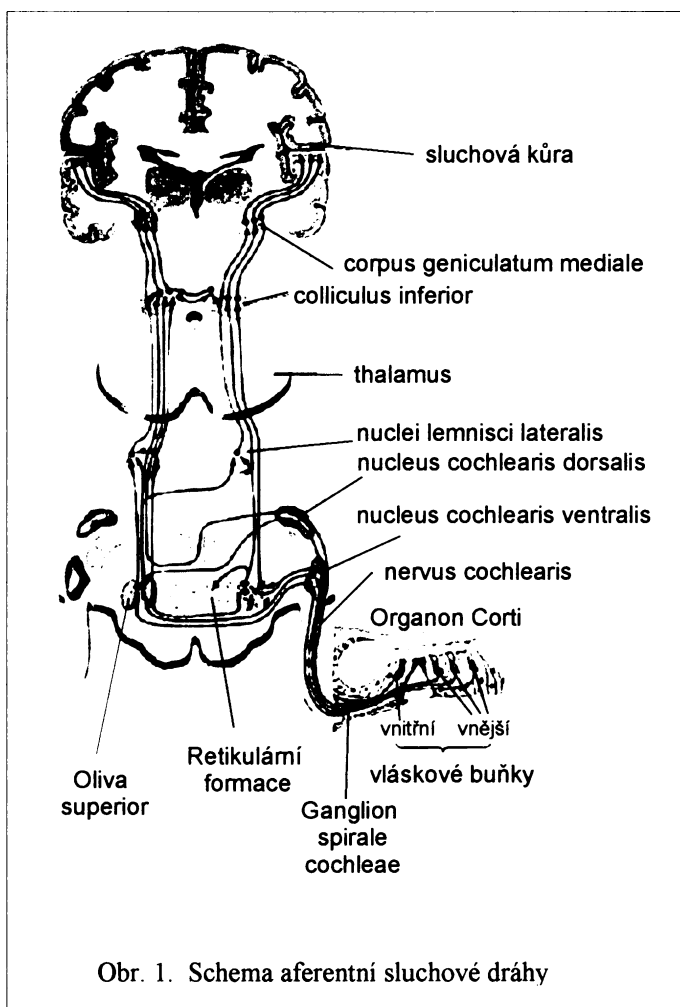
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Sluchová dráha – struktura a funkce

2.1.1. Aferentní systém

Sluchový nerv a kochleární jádro

Morfologie sluchové dráhy je schematicky znázorněna na obr. 1. Vlákná sluchového nervu jsou tvořena centrálními výběžky bipolárních buněk **spirálního ganglia**, které je uloženo uvnitř kostěného modiolu hlemýždě. Spirální ganglion obsahuje těla bipolárních neuronů I. typu (kterých je převážná většina) i pseudounipolárních neuronů II. typu. Jejich axony tvoří sluchový nerv (nervus cochlearis, sluchovou část n. VIII.), který končí výhradně v kochleárním jádře. Na každou vnitřní vláskovou buňku nasedá několik vláken sluchového nervu. Myelinizovaná vlákna I. typu, která tvoří synapse s laterální



Obr. 1. Schema aferentní sluchové dráhy

stěnou vnitřních vláskových buněk, vykazují vysokou spontánní aktivitu; vlákna, která jsou v kontaktu se stěnou přivrácenou k modiolu, mají nízkou či střední spontánní aktivitu. Každá vlásková buňka tedy dodává impulsy neuronům ganglion spirale s vysokou, střední i nízkou spontánní aktivitou, jejichž prahy se vzájemně liší (Syka, 1981).

Hlavním nervovým mediátorem mezi vnitřními vláskovými buňkami a dendrity neuronů ganglion spirale, jakož i mezi vlákny sluchového nervu a neurony kochleárního jádra (*nucleus cochlearis*, NC) je glutamová kyselina.

Počet vláken **sluchového nervu** je odvozen od druhu, např. člověk a makak má asi 30 tisíc nervových vláken, kočka zhruba 50 tisíc, morče a potkan 24 tisíc (Syka, 1981). Aktivita vláken sluchového nervu je určena intenzitou zvukového podnětu a frekvencí. **Intenzita zvukového podnětu** se odráží v latenci, odpovědi a v počtu potenciálů odpovědi. Zvýšené intenzitě podnětu odpovídá zkrácení latence, zvýšení počtu vyslaných potenciálů a zapojení většího počtu vláken. Intenzitní rozsah lidského sluchu je vymezen sluchovým prahem, který je odlišný pro různé frekvence.

Frekvenční rozlišení zvuků je dáno jednak principem tonotopie (tzn. že určitou frekvencí je maximálně podrážděna určitá část Cortiho orgánu a s ní spojená nervová vlákna). jednak se frekvence podnětu odrazí v periodách mezi akčními potenciály vlákna sluchového nervu (Syka, 1981; Havránek a kol., 1990). Frekvenční rozsah lidského sluchu mladého člověka je 16 Hz–20 kHz, přičemž nejcitlivější je lidský sluch ve frekvenční oblasti okolo 1-2 kHz. Pro srovnání, frekvenční rozsah sluchu potkana je přibližně 800 Hz až 65 kHz, s nejvyšší senzitivitou mezi 8 a 32 kHz (Syka a Rybalko, 2000).

Aferentní vlákna sluchového nervu opouští pyramidu spánkové kosti skrze meatus acusticus internus a v mostomozečkovém úhlu vstupují do mozkového kmene – do komplexu **kochleárního jádra (*nucleus cochlearis*, CN)**, které je uloženo v laterální části prodloužené míchy na spodině čtvrté komory mozkové. Jádro je morfologicky rozděleno na část ventrální (VCN), která má tři pododdíly - anteroventrální (AVCN), posteroventrální (PVCN) a intersticiální, a část dorzální (DCN). Vzestupná vlákna sluchového nervu směřují do AVCN, sestupná pak inervují PVCN a DCN. Také zde je zachováno tonotopické uspořádání - vlákna sluchového nervu s nízkou charakteristickou frekvencí směřují převážně do ventrální části AVCN, PVCN a DCN, se stoupající charakteristickou frekvencí jsou inervovány oblasti dorzálnější.

Dráhy vystupující z kochleárního jádra jsou mnohočetné a soustřeďují se především do tří svazků: *stria acustica dorsalis*, *stria acustica intermedia* a *corpus trapezoideum*. ***Stria acustica dorsalis*** vychází z DCN a směřuje do druhostranného

nc. lemniscus lateralis a colliculus inferior. **Stria acustica intermedia** spojuje PVCN se stejnostranným nc. olivaris superior a zčásti s druhostranným lemniscus lateralis. Poslední svazek **corpus trapezoidem** představuje významné oboustranné spojení AVCN s nc. olivaris superior medialis a se stejnostranným nc. olivaris superior lateralis (Syka, 1981).

Nucleus olivaris superior

Komplex jader olivy superior (OS), uložený ve spodní části prodloužené míchy, tvoří mediální a laterální oliva superior (OSM a OSL), mediální a ventrální jádro trapézového tělesa a superiorní paraolivární jádro. OSM a OSL představují klíčová jádra pro binaurální slyšení. Úloha OSM spočívá především v detekci časového zpoždění zvuku o nízké frekvenci, v OSL jsou zpracovávány rozdíly v intenzitě zvuku o vyšších frekvencích (u člověka se jedná o frekvence > 2 kHz). Převážná část OSL reaguje na střední a vysoké frekvence, zatímco na nízké frekvence (pod 4 kHz) reaguje více než polovina neuronů OSM. Živočišné druhy s převážně vysokofrekvenčním rozsahem sluchu (myš, potkan, delfin, netopýr) mají mohutnější OSL a malou (nebo chybějící) OSM, zatímco druhy, jejichž horní hranice sluchového rozsahu je posunuta k nižším frekvencím (člověk), mají dobře vyvinutou OSM a drobnou OSL.

Některé spoje jader olivy superior bývají označovány jako funkční okruhy. Náleží sem součásti aferentního systému (projekce do colliculus inferior, k jádrům lemniscus lateralis a do corpus geniculatum mediale thalami), eferentní vlákna (směřující k vláskovým buňkám hlemýždě) a dráhy středoušních reflexů. Projekce z OSL do colliculus inferior (CI) jsou oboustranné, projekce z OSM jsou pouze ipsilaterální.

Buňky kochleárních jader a komplexu olivy superior vytváří se svými axony druhý neuron sluchové dráhy, jdoucí kranálně mozkovým kmenem jako lemniscus lateralis, který směřuje do colliculi inferiores tekta středního mozku. Některá vlákna zde vysílají kolaterály a tvoří synapse s neurony jader laterálního lemnisku, s nucleus lemnisci lateralis ventralis a nucleus lemnisci lateralis dorsalis (pro přehled Syka, 1981).

Colliculus inferior

Dalším jádrem sluchové dráhy je colliculus inferior (CI), uložený již ve středním mozku. Toto jádro je význačné pro analýzu frekvencí a mechanismu prostorového slyšení (Havránek a kol., 1990). Rozdělení CI do několika částí závisí na živočišném druhu. U člověka je známá existence centrálního jádra a dále byla popsána kůra colliculus inferior, laterální zóna a dorzomediální jádro. Naproti tomu se colliculus inferior u laboratorních zvířat, např. u potkana, myši fretky, morčete a kočky, rozlišuje na tři menší podjádra: centrální jádro, externí jádro a pericentrální jádro, jejichž funkční úloha je zřejmě odlišná. Do centrálního jádra CI vstupují vlákna z druhostranného kochleárního jádra a z ipsilaterálního OSM. Vlákna z OSL se rozdělují a v téměř stejném počtu vcházejí do stejnostranného i druhostranného CI. (Syka, 1981). Vstupují sem vlákna z druhostranného kochleárního jádra a z nc. olivaris superior medialis. Vlákna z nc. olivaris superior lateralis se rozdělují v téměř stejném počtu do stejnostranného i druhostranného colliculus inferior. Externí jádro dostává aferenci přes centrální jádro a spojení s nucleus gracilis a nucleus cuneatus přináší informace ze somatosenzorického systému.

Vystupující axony buněk převážně z centrální části CI končí ve ventrální části stejnostranného corpus geniculatum mediale. Kromě uvedených spojení existují ještě početná vlákna eferentních drah ze sluchové kůry do colliculus inferior, spoje interkolikulární a bohaté spoje CI se strukturami vně sluchové dráhy.

Corpus geniculatum mediale

Hlavním cílem aferentní projekce neuronů CI je corpus geniculatum mediale (CGM), které je součástí mezimozku. CGM se obecně dělí na tři hlavní části: ventrální, dorzální a mediální. Ventrální část CGM je v mnohém podobná centrálnímu jádru CI a dělí se na pars lateralis a pars ovoidea, obě charakterizované laminárním uspořádáním neuronů, které odráží tonotopické uspořádání. Ventrální CGM patří k primárním oblastem sluchové dráhy, aferentní projekce sem směřují převážně z ipsilaterálního centrálního jádra CI, které je též tonotopicky uspořádáno (Syka, 1981). Ventrální CGM je přímo spojeno s tonotopicky uspořádanou primární oblastí sluchové kůry (A I). Dorzální a mediální část CGM patří k sekundárním oblastem sluchové dráhy a směřují sem projekce z oblasti CI ležící mimo centrální jádro a z mimosluchových oblastí

(tegmenta a somatosenzorické dráhy). Aferentní korové projekce z dorzální a mediální části CGM směřují do tzv. sekundárních oblastí sluchové kůry (A II).

Sluchová kůra

Sluchová kůra (SK) člověka a primátů se nachází v temporální oblasti mozkové kůry a odpovídá Brodmanovým areám 41 (Heschlův závit) a 42. Sluchová kůra savců se skládá z primární části - AI (s tonotopickým uspořádáním) a z částí sekundárních, které jsou u jednotlivých druhů značně odlišné.

Na základě morfologické klasifikace byla u potkanů popsána primární (Te1) a sekundární sluchová kůra (Te2 a Te3). Nejčastěji se morfologické a fyziologické pokusy provádí u kočky, protože její SK je nejlépe dostupná. Základní součástí SK u kočky tvoří oblasti: AI, primární sluchová oblast, která dostává vlákna z ventrální části CGM, dále AII oblast a oblast EP, označená podle ektosylvijské zadní brázdy (Syka, 1981).

U primátů bylo doloženo tonotopické uspořádání v oblasti AI. U člověka byla pomocí nukleární magnetické rezonance (hodnotící změny lokální perfuze, NMR) určena oblast sluchové kůry aktivovaná čistými tóny. Tonotopické uspořádání oblasti primární sluchové kůry u člověka bylo doloženo dále studii pozitronové emisní tomografie (PET), přesnější údaje o tonotopickém uspořádání přináší jednofotonová emisní tomografie (Syka, 1981).

Sluchová kůra se svým histologickým uspořádáním příliš neliší od kůry zrakové; je šestivrstevná a vlákna, která přichází z nižších oddílů sluchové dráhy, jsou zakončena ve čtvrté vrstvě. Vychází odtud axony, které jsou součástí eferentních drah, a vstupují především do corpus geniculatum mediale a do colliculus inferior.

V oblasti lamina quadrigemina (tectum mesencephali) se odpojují od specifické sluchové dráhy četná vlákna, která vedou nespécifická podráždění do retikulární formace (RF), kde se komplexně zpracovávají podněty nejrůznějšího druhu jak z vnějšího, tak z vnitřního prostředí. Prostřednictvím vzestupné části RF dochází k ovlivnění nespécifických korových oblastí, a naopak k převodu podráždění do mnoha dalších podkorových struktur.

Ascendentní vlákna z RF mohou excitovat či inhibovat vznik vzruchů již na úrovni 1. neuronu, u sluchu zřejmě i na úrovni receptorů. Pod jejich vlivem se

nachází i vegetativní a nervový systém. Z toho vyplývá, že prostřednictvím RF za přítomnosti či nepřítomnosti korové kontroly (zkušenost, představivost, předvídání) dochází k rozsáhlému ovlivnění funkcí organismu v oblasti vegetativní, humorální, motorické a senzorické. Složitost korových mechanismů je tedy předpokladem pro vznik a rozvoj pestrého obrazu projevů působení hluku na lidský organismus, který se díky korovým mechanismům rozvíjí (Havránek a kol., 1990).

2.1.2. Eferentní systém:

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

2.2. **Speciální audiometrické metody**

2.2.1. Objektivní audiometrie (electrical response audiometry, ERA)

Základem pro aplikaci metod objektivní audiometrie byl rozvoj elektrofyziologie sluchu, a to především **metody záznamu vyvolaných odpovědí (evokovaných potenciálů)**. Sluchový evokovaný potenciál je elektrická odpověď, která vzniká podrážděním sluchového receptoru, ze kterého se šíří do sluchové dráhy. V běžném EEG se sluchový potenciál projeví jen nepatrnou výchylkou, která se v početných vlnách ztrácí. Pomocí počítače a opakovaných stimulací získáme charakteristickou křivku pro jednotlivé úseky sluchové dráhy.

Na základě znalostí o latenci a amplitudě evokovaných potenciálů a optimálním místě snímání, lze dnes **selektivně vyšetřovat jednotlivé etáže sluchové dráhy**, viz. Tab.1. Odpovědi lze snímat z vnitřního ucha (elektrokochleografie), z mozkového kmene (BERA) a ze sluchové kůry (CERA a SSEP). Snímání a hodnocení kmenových evokovaných potenciálů (brainstem evoked response audiometry, BERA) a korových evokovaných potenciálů (cortical evoked response audiometry, CERA), užívané hojně ve foniatrii a audiologii, společně s elektrokochleografií a moderní metodou pro frekvenčně specifické měření středně latentních korových odpovědí (Steady State

Evoked Potentials, SSEP), patří k základním elektrofyziologickým metodám objektivní audiometrie.

2.2.2. Elektrokochleografie

Elektrokochleografie snímá ze sluchového nervu akční potenciály jako synchronizovaný akční potenciál jednotlivých nervových vláken vyvolaný krátkým zvukovým podnětem. Potenciály se mohou zaznamenávat jednak z elektrody uložené přímo na promontoriu kostěného hlemýždě, kdy jsou naměřené amplitudy odpovědi maximální, jednak z elektrody uložené ve zvukovodu poblíž bubínku (snímání z elektrody zde umístěné je však méně účinné). Elektroda indiferentní je umístěna např. na ušním boltci.

V elektrokochleografii se hodnotí **tvar vlny, latence a amplituda**. **Tvar vlny** je závislý na uložení elektrody. **Latence** je závislá na intenzitě a frekvenci podnětu (na rozdíl od kmenových potenciálů, kde je závislá jen na intenzitě) a prodlužuje se s klesající intenzitou a s klesající frekvencí. **Amplituda** je závislá na intenzitě podnětu a se vzrůstající intenzitou zvuku roste dvoufázově. Latence první negativní odpovědi (N1) v elektrokochleogramu činí pouze kolem 1 ms a zhruba v oblasti intenzit zvuku, kde leží práh pro činnost vnitřních vláskových buněk, se objevuje druhá negativní odpověď (N2). N2 tedy vzniká činností vnitřních vláskových buněk. Elektrokochleografie se v klinice hojně používá spolu s vyšetřením otoakustických emisí, k posouzení stavu kochley před indikací ke kochleární implantaci.

2.2.3. SSEP (Steady State Evoked Potentials)

Při vyšetření sluchu u malých dětí (zhruba do 3 let, kdy není možné využít tónovou audiometrii do sluchátek nebo slovní audiometrii ve volném poli) se hodnotí **SSEP (Steady State Evoked Potentials)**. Snímané evokované potenciály se řadí mezi odpovědi středních latencí s místem vzniku odpovědi na úrovni thalamu. Jsou odezvou na zvukový stimul ve frekvenčním spektru 0,5, 1, 2 a 4 kHz. Výsledky vyšetření se vynášejí do SSEP grafu. Ze stanovených frekvenčních prahových křivek lze odvodit tzv. odhadovaný audiogram (estimated audiogram), který nás informuje, jak by vypadal tónový audiogram, kdyby dítě bylo schopné audiometrického vyšetření. Vyšetřované osobě se zavádí plynule modulovaný tón proměnné frekvence a hladin zvuku pomocí

zvukovodových sluchátek. Z vyšetření u pacientů, kdy jim bylo provedeno vyšetření pomocí ustálených evokovaných potenciálů (SSEP) i vyšetření pomocí tónového audiogramu, bylo zjištěno, že výsledky spolu výrazně korelují (Jurovčík, 1999; Myška, 2004).

2.2.4. Otoakustické emise

Objektivní metodou hodnotící projevy aktivního pohybu vnějších vláskových buněk, a tím i jejich kochleární funkce, je snímání otoakustických emisí (OAE). Jedná se o akustické signály, které jsou generovány normální kochleou, a lze je zachytit pomocí citlivého mikrofónu v zevním zvukovodu jednak bez přítomnosti vnějšího podnětu (spontánní emise, SOAE) nebo jako odpověď na akustické podněty (transientní OAE – TEOAE, OAE distorzního produktu – DPOAE).

Dnes jsou OAE nezbytnou součástí diferenciální diagnostiky poruch sluchu, a protože jsou přítomny ihned po narození, používají se k preventivnímu vyšetření sluchových vad (Kemp, 2002).

Velmi zjednodušeně lze rozdělit sluchové evokované odpovědi dle časové linie:

tab. 1	Latence	Místo vzniku	Klinická metoda
Název			
První CAP	0 – 4 ms	Kochlea a začátek sluchového nervu	Elektrokochleografie
Časné ABR	Do 10 ms	Sluchový nerv, mozkový kmen	BERA
Střední SSEP, MLR	10-80 ms	Thalamus, primární sluchová kůra + myogenní složka	SSEP
		Sluchová dráha + retikulární formace	
Pomalé korové	50-300 ms	Primární sluchová kůra , gyrus temporalis superior	CERA – bdělý stav
Pozdní korové	250 – 600 ms	Projekční a asociační sluchová oblast	CERA - spánek

Standardní postup užívá zprůměrnění odpovědí na 2000 podnětů (frekvence opakování 20/s, okénko 20 ms). Podnětem jsou filtrované kliky (1, 2 nebo 4 kHz, v neurologii jsou užívány zejména nefiltrované kliky).

V závislosti na délce časového rozsahu registrace odpovědí lze hodnotit následující potenciály vyvolané akustickou stimulací:

2.2.5. Kmenové vyvolané odpovědi (auditory brain stem response, ABR)

Snímáním kmenových nebo raných vyvolaných odpovědí získáváme informace o přenosu signálu v jednotlivých etážích sluchové dráhy v mozkovém kmeni. Snímací elektroda je umístěna v místě tzv. vertexu na temeni lebky, proto se někdy označují jako odpovědi snímané ze vzdáleného místa (far-field technique) (Syka, 1981).

Kmenové odpovědi patří ke krátce latentním odpovědím; proběhnou v rozpětí 1,5-15 ms po doznění stimulu. Amplituda kmenových potenciálů nepřevyšuje 0,5 μ V.

Standardně je hodnoceno 5 vln, které vznikají průběhem nervového vzruchu sluchovým nervem a mozkovým kmenem: I (latence 1,5-1,9 ms) odpovídá aktivitě sluchového nervu, II (2,8-3,0 ms) odpovídá aktivitě sluchového jádra, III (3,5-4,1 ms) odpovídá aktivitě oliva superior, IV a V (4,3-5,2 a 5,1-5,9 ms) odpovídají aktivitě colliculus inferior. Vlna V je nejstabilnější a nejlépe vybavná a podle ní se zpravidla určuje předpokládaný sluchový práh. Hodnotí se jednak latence jednotlivých vln ve srovnání s normativními daty (zpravidla má každá laboratoř vlastní), jednak intervaly mezi jednotlivými vlnami. Nejčastěji se měří interval I-V, který je u normálních jedinců ve většině laboratoří stanoven na 4 ms, dále interval I-III a III – V. Porovnávají se rozdíly latencí jednotlivých vln, které za normálních okolností vykazují značnou shodu.

2.2.6. Korové vyvolané odpovědi

⇒ Odpovědi se střední latencí (middle latency responses, MLR), která činí 15-60 ms, zahrnují typický komplex tří pozitivních a dvou negativních vln. První hodnocená negativita Na (18-20 ms) je považována za projev aktivity v talamu a dále pozitivní vlna Pa (30ms) způsobená společně s ostatními vlnami aktivitou v primárních i sekundárních oblastech sluchové kůry.

⇒ Pomalé sluchové korové odpovědi s latencí v rozpětí 50-250 ms, které po doznění stimulu zahrnují sekvenci: P1 (P60 či P70 dle délky latence), N1 (N100), P2 (P160) a N2 (N200).

⇒ Pozdní sluchové korové odpovědi s dlouhou latencí zahrnují: vlna P 300, komplex N 400 a P500, T komplex a tzv. „mismatch negativity“ (MMN, která je obrazem detekce změny v podnětu) (Syka, 1981).

2.3. Testování sluchu u laboratorních zvířat

Pro hodnocení sluchu u laboratorních zvířat se používají audiologické testy podobné těm, které se používají pro vyšetření sluchu u člověka. Mezi objektivní testy patří elektrofyziologická měření vyvolaných sluchových odpovědí a snímání otoakustických emisí, analogií psychoakustických testů u lidí jsou behaviorální metody, které hodnotí reakce zvířat na zvukové podněty na základě vypracování podmíněných reakcí.

2.3.1. Elektrofyziologický záznam sluchových vyvolaných odpovědí

Snímání sluchových vyvolaných odpovědí u zvířat je založeno na podobném principu jako elektrofyziologické metody používané u lidí. Některé rozdíly mezi klinickým použitím u lidí a experimentálním záznamem u zvířat existují:

⇒ U zvířat je možné zavést elektrody blíže ke strukturám, které generují evokované potenciály (pod kůži, implantace přímo do mozkových sluchových center). Tím se sníží impedance snímacích elektrod a amplituda odpovědí je mnohem větší, takže není potřeba velkého počtu stimulací ke zprůměrnění.

⇒ U většiny zvířat je nutno snímat odpovědi v lehké narkóze nebo použít sedativa.

⇒ Odpovědi zaznamenané u lidí a zvířat mají podobný tvar, ale evokované potenciály snímané u zvířat mají většinou kratší latenci a kratší dobu trvání vzhledem k menším rozměrům hlavy, a tím i kratším nervovým dráhám.

2.3.2. Behaviorální sluchové testy

U laboratorních zvířat se používají behaviorální sluchové testy pro vyšetřování schopnosti rozlišování specifických parametrů zvuku a jejich změn v patologických situacích. Nejčastěji se hodnotí schopnost rozlišovat drobné rozdíly ve frekvenci, intenzitě či trvání podnětu. Pro hodnocení rozlišování časových parametrů zvuku je často používán test na detekci krátké pauzy (gap) v kontinuálním zvukovém podnětu.

2.3.2.1. Rozlišení časových parametrů – detekce pauzy ve zvukovém signálu (gap detection treshold, GDT)

Jedním z neopomenutelných aspektů schopnosti porozumět řeči je rozlišování časových parametrů. Jedná se o schopnost zaregistrovat drobnou pauzu v akustickém podnětu, což v rámci komunikace znamená rozlišit časovou strukturu řeči. Vhodným způsobem hodnocení rozlišování časových parametrů je test schopnosti detekce pauzy ve zvukovém signálu a jeho prahu (gap detection treshold, GDT). GDT hodnotí schopnost subjektu reagovat na krátké pauzy ve zvukovém signálu. Nejnižší práh pro detekci pauzy (GDT) u zdravého člověka byl naměřen 2-3 ms za použití zvuku o intenzitě 30-40 dB SL a frekvenčním rozsahu 5-6 kHz (Plomp, 1964; Syka a kol., 2002). Klinická pozorování dokumentují změny schopnosti rozlišení časových parametrů jednak u pacientů s kochleární poruchou, jednak u pacientů s centrálním poškozením mozku (úrazy mozkových hemisfér, přední temporální lobektomie).

Schopnost detekce pauzy závisí, jak ukázala řada experimentů, na frekvenčním spektru a intenzitě akustického podnětu, který pauzu obsahuje, a kterým může být širokopásmový šum, úzkopásmový šum nebo čistý tón. Práh detekce může být ovlivněn i časovým postavením pauz v kontinuálním signálu.

Prahy detekce pauzy ve zvukovém signálu byly behaviorálními metodami studovány rovněž u četných živočišných druhů s cílem objasnit patologické změny ve schopnostech rozlišení časových parametrů a zjistit účast jednotlivých struktur sluchového systému v úloze časového rozlišení pauzy ve zvukovém podnětu (Kelly a kol., 1996; Syka a kol., 2002; Rybalko a Syka, 2005).

Test GDT je využíván k detekci výskytu subjektivního šumu, tzv. tinnitu, způsobeného zvýšenou nervovou aktivitou v centrální části sluchového systému po hlukové expozici o vysoké intenzitě. Test spočívá v tom, že se zvířata naučí

reagovat na vypnutí kontinuálního zvukového podnětu (tj. naučí se reagovat na tichý interval v podnětu). Následně jsou vystavena hlasitému šumu nebo jim jsou podána farmaka, která u člověka způsobují tinnitus, a poté se otestuje jejich reakce na přítomnost tichých intervalů ve zvukovém podnětu. Podle výsledku testování je určeno, zda testovaná zvířata slyší zvuk i v případě přerušení zvukového podnětu (Jastreboff a kol., 1988; Brennan a kol., 1996). Pokud zvířata nejsou schopna rozpoznat interval pauzy v šumu, lze předpokládat, že je tento interval maskován subjektivně vnímaným kontinuálním akustickým signálem – tinnitem, který může zhoršovat schopnost detekce pauzy v šumu.

2.4. Hluk

2.4.1. Definice hluku

„Hluk je každý zvuk, který vyvolává nepříjemný nebo rušivý vjem nebo který má škodlivý účinek. Hluk je tedy definován z hlediska subjektivního vnímání, nikoliv objektivně např. na základě akustického tlaku“ (Syka, 1981).

Definice ČSN 01 1600 „Akustika. Názvy a definice“ nám říká, že hluk je jakýkoliv zvuk, který vyvolává nepříjemný nebo rušivý vjem nebo má škodlivý účinek (Havránek, 1990).

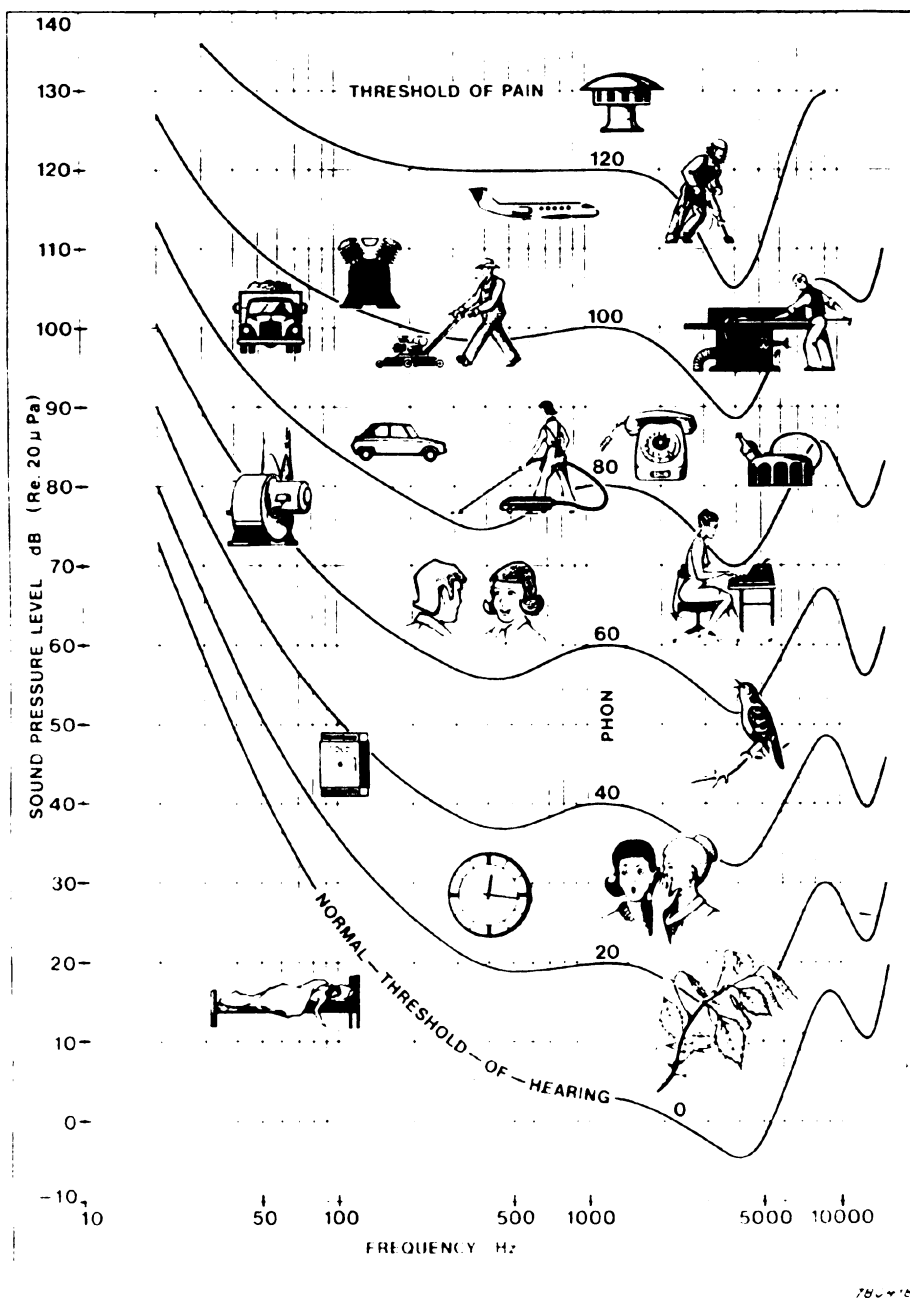
Důležitými faktory, které mají význam při posuzování vlivu hluku na lidský organismus, jsou:

➤ **Subjektivní hlasitost hluku**

Je možno ji posuzovat podle křivek stejné hlasitosti, v závislosti na frekvenčním obsahu hluku. Zde však narážíme na obtíže, protože hluk obvykle nemá kontinuální frekvenční pásmo, jednotlivé složky hluku se vzájemně maskují a většina moderních průmyslových a dopravních hluků obsahuje značné množství impulsních krátkodobých zvuků, které se vyskytují nepravidelně. Proto je z technického hlediska měření akustického tlaku impulsního hluku obtížné.

➤ **Faktor času**

Zejména v technických provozech musí hygienická pravidla počítat s kumulativním účinkem hluku a určit maximální přípustné meze pobytu v hlučném prostředí.



Obr. 2: Zdroje a hladiny hluku v životním prostředí

2.4.2. Vliv hluku na periferní sluchový systém

2.4.2.1. Přechodný a trvalý posun sluchového prahu

Obvyklou charakteristickou změnou způsobenou vlivem hluku na sluchový systém je **posun sluchového prahu**. Posun sluchového prahu je v závislosti

na **intenzitě, frekvenčním spektru a jeho trvání** buď přechodný (temporary treshold shift, TTS) nebo trvalý (permanent treshold shift, PTS).

Již krátká expozice vysokých intenzit hluku (120 dB SPL) vyvolá ve vnitřním uchu patologické ireverzibilní změny, jakými jsou ztráty vnějších a vnitřních vláskových buněk, a způsobí tak **trvalé zvýšení prahu (PTS)**.

Krátká expozice hluku s relativně nízkými intenzitami (např. 100 dB SPL / 1 min), způsobí ztrátu sluchu, která je pouze přechodná (**přechodný posun prahu, TPS**) a sluchový práh se po několika dnech obnoví. Přechodné zvýšení prahu je značné, pokud působí hluk ve frekvenčním rozsahu 2000 – 6000 Hz. Čím vyšší intenzita a delší trvání hluku, tím větší je TTS. Největší TTS se zpravidla objevuje asi o polovinu oktávy výše, nežli je pásmo působícího hluku. Nejnižší intenzita, která je schopna způsobit TTS, se uvádí pro širokopásmový šum okolo 75 – 80 dB SPL. TTS dosahuje nejvyšších hodnot 2 minuty po hlukové expozici, pak v čase klesá. Regenerace původního sluchového prahu je otázkou několika hodin, pokud není vzestup sluchového prahu > 40 dB. Pokud se posun sluchového prahu přiblíží hodnotě 40 dB, je pravděpodobné, že návrat k původním hodnotám sluchového prahu bude neúplný (výsledkem bude PTS) a nebo bude probíhat opožděně.

Zatímco intenzita hluku 60 dB vyvolá jen nepatrné změny sluchového prahu i po dlouhodobé zátěži, vliv hluku o intenzitě 120 dB již po 5 minutách vede k přechodnému zvýšení prahu o 40 dB a přibližuje se tak k hranici akustického traumatu. Akustické trauma je mechanické poškození vnitřního ucha nepřiměřenou pohybovou energií zvuku o náhlém průběhu, kdy dochází k destrukci orgánů vnitřního ucha, a to především Cortiho orgánu a bazilární membrány. U člověka se jedná o akustický tlak 130 dB (Syka, 1981).

Zatímco primárním důvodem vzniku trvalého posunu prahu je ztráta OHC a IHC v blanitém labyrintu vnitřního ucha, mechanismus TTS je stále předmětem zkoumání.

Nabízí se několik hypotéz mechanismu přechodného posunu sluchového prahu:

1. Mechanismus dráždění vláskových buněk spočívá v posuvném systému tří membrán: bazilární, tektoriální a retikulární. Akustická stimulace způsobí vzájemný posun tektoriální a retikulární membrány (shearing) způsobený pohybem bazilární

membrány. Mezi retikulární a tektoriální membránou jsou uloženy smyslové receptory vláskových buněk (stereocilií); vzájemným pohybem membrán se otevřou příslušné iontové kanály a vlásková buňka je podrážděna. Hluk může způsobovat změny mechanických vlastností stereocilií a následně pak i vodivosti vláskových buněk. Několik studií skutečně poukazuje na změny ve smyslových zakončeních apikálních pólů vláskových buněk (Miller a kol., 1985; Saunders a kol., 1986a).

Rozvoj několika nových metod pro měření mikromechanických a elektrických parametrů odpovědí vláskových buněk na akustické podněty umožnil bližší výzkum základních mechanismů TTS. Tuhost (stiffness) vláskových buněk má stěžejní vliv na vychýlení jejich smyslových zakončení. Nadměrná hluková zátěž vede ke snížení tuhosti stereocilií všech vláskových buněk, zejména pak u 1. řady vnějších vláskových buněk (OHC1) (Saunders et al. 1986a, b; Saunders and Flock 1986). Ztráta tuhosti stereocilií má pak stěžejní dopad na funkci IHC a OHC. Stereocilie a apikální membrány vláskových buněk se nachází v místě lokalizace iontových kanálů propustných pro draslík. Následkem koncentračního rozdílu draslíku na membránách vláskových buněk a přítomností rozdílového potenciálu 120-160 mV, je sklon sluchových receptorů částečně uskutečňován draslíkovými ionty proudícími podél jejich elektrického gradientu. Pohyb draslíkových iontů ve vláskových buňkách je uskutečňován směrem od apikální membrány skrze bazolaterální membránu do extracelulárního prostoru. Po nadměrné akustické zátěži dochází ke snížené průchodnosti iontových kanálů pro draslík, který se pak hromadí v extracelulárním prostoru Cortiho orgánu. Akumulace draslíku v extracelulárním prostoru depolarizuje vláskové buňky. Lze tak předpokládat, že procesy vedoucí k poškození mikromechanismů uvnitř stereocilií výše popsané Saundersem a Flockem (1986) jsou zodpovědné za blokádu iontových kanálů pro draslík a mají za následek úbytek proudění draslíku. (pro přehled Syka, 1989).

2. V patologických procesech dočasně zvýšeného prahu hrají potenciální roli ionty kalcia, jejichž výrazný vzestup byl objeven v cytoplazmě OHC po hlukové zátěži.

Podobně zvýšená propustnost endolymfo-perilymfatické bariéry pro draslíkové a sodíkové ionty po expozici hluku by mohla být součástí mechanismů vzniku TTS (Syka, 2002).

3. Poslední zde uvedený mechanismus vzniku TTS je ve spojení se změnami na synapsích IHC a periferních dendritů primárních neuronů sluchové dráhy, tj. neuronů buněk spirálního ganglia. Akustické trauma způsobuje nadměrné uvolnění glutamátu do synaptické štěrbině, který je však pro primární neurony sluchové dráhy toxický. Poškození dendritů spojených s vnitřními vláskovými buňkami vede k narušení synaptických spojení. Poškození dendritů pak může způsobit nadměrné uvolnění neurotransmiterů glutamátu z vnitřních vláskových buněk. Nadbytek glutamátu v extracelulární oblasti pod IHC by mohl vést ke změnám permeability v postsynaptických membránách dendritů. Výsledná osmotická nerovnováha může způsobit průnik vody do dendritů, následně způsobit jejich otok a nakonec rozpadnutí membrány (pro přehled Syka, 2002).

2.4.3. Změny v centrálním sluchovém systému

Ztráta vláskových buněk v hlemýždi po nadměrné zvukové stimulaci souvisí s degenerací vláken sluchového nervu. Jak vyplývá z mnoha studií, poškození terminálních zakončení neuronů ve ventrálním kochleárním jádře koreluje s lokalizací ztráty IHC v hlemýždi. Jedná se o proces dystrofie, který je podmíněn ztrátou vláskových buněk a vláken sluchového nervu; každé vlákno je spojeno jen s určitou částí Cortiho orgánu (princip kochleotopie). Někdy však nemusí být výskyt dystrofovaných nervových vláken (nejčastěji v AVCN) v souladu s kochleotopií. Pak by se dalo předpokládat, že se jedná o excitotoxické procesy podobné výše zmíněným, ke kterým dochází na synapsích mezi IHC a dendrity primárních neuronů sluchové dráhy.

Dopad expozice hluku na centrální sluchový systém se opět odvíjí od intenzity zvukového podnětu, obsahu frekvencí a délce trvání expozice. Charakteristickými ukazateli periferní sensorineurální ztráty sluchu v důsledku hlukové zátěže jsou posun prahu, abnormální zvýšení hlasitosti a narušené porozumění řeči. Posuny prahů (ať už přechodné, nebo dočasné) korespondují se stupněm dysfunkce vláskových buněk ve vnitřním uchu a lze je hodnotit prostřednictvím odpovědí vyvolaných z mozkového kmene (ABR) nebo ze sluchové kůry (MLR). V případě sluchového nervu a kochleárního jádra se amplitudy vyvolaných odpovědí po hlukové zátěži zmenšují.

Zatímco bylo pozorováno, že hodnoty amplitud nervových odpovědí vyvolaných ze sluchové kůry se po hlukové zátěži paradoxně zvyšují.

2.4.3.1. Vliv intenzivního hluku na sluchový práh a sluchové vyvolané odpovědi u laboratorních zvířat

Posuny prahů nervových vyvolaných odpovědí po hlukové zátěži je možné sledovat na všech úrovních sluchové dráhy. Bylo zjištěno, že po hlukové zátěži dochází ke zvýšení nervové aktivity v CN a CI (Kaltenbach a kol., 1998, Salvi a kol., 1990).

Po ohlušení intenzivním hlukem lze u laboratorních zvířat naměřit výrazně vyšší amplitudy středně latentních odpovědí (MLR) vyvolaných ze sluchové kůry. Hodnoty amplitud odpovědí vyvolaných z nižších oddílů sluchové dráhy (ze sluchového nervu a z mozkového kmene, ABR) vykazují po hlukové expozici podstatně nižší úroveň ve srovnání s amplitudami před ohlušením (Popelář a kol., 1987; Syka, 2002). Přítomnost zvýšených amplitud MLR byla prokázána i u člověka (Gerken, 1998).

Velmi náchylné k hluku jsou sluchové receptory v období vývoje, jak bylo dokázáno u potkaních mláďat v průběhu prvních 6-7 týdnů po narození. Nadměrná citlivost sluchových neuronů ve stádiu vývoje se projevila na zvýšených posunech prahů a zvýšených amplitudách MLR (Rybalko a Syka, 2001).

Zvýšení amplitud odpovědí vyvolaných z vyšších etází sluchové dráhy bylo pozorováno u mnoha živočišných druhů (Saunders a kol., 1972; Bock a Saunders, 1977; Gerken a kol., 1986; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol., 1990, 1999; Syka a kol., 1994). Předpokládá se, že původ zvýšení amplitud MLR po hlukové zátěži je centrálního původu (Chaloupka, 1968; Bock a Saunders, 1976; Salvi a kol., 1990, 1992; Popelář a kol., 1987; Gerken, 1993; Syka a kol., 1994; Szczeplaniak a Møller, 1996) a mechanismus jejich vzniku spočívá ve změnách rovnováhy mezi inhibičními a excitačními vlivy neuronů vyšších oddílů sluchové dráhy (Saunders a kol., 1972; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol., 1990, 1999; Syka a kol., 1994; Syka a Rybalko, 2000; Rybalko a Syka, 2001). Podle literárních údajů se centrální sluchový systém snaží vyvážit snížený vstup zvukových podnětů nadměrným zvýšením jeho citlivosti ke zvukovým podnětům (Salvi a kol., 1999; Popelář a kol., 1997; Syka a Rybalko, 2001; Rybalko a Syka, 2001; Rybalko a Syka 2005).

Jedním z předpokládaných mechanismů nadměrné aktivity neuronů SK je vyčerpání inhibičního mediátoru GABA (kys. aminomáselná), dané hlukovou expozicí, a následné snížení inhibičního vlivu ve sluchové kůře. Tuto skutečnost lze mapovat pomocí imunohistochemického stanovení výskytu syntetizujícího enzymu GABA, tj. dekarboxylázy kyseliny glutamové (GAD), ve sluchové kůře i jiných oddílech sluchové dráhy (Ouda a kol., 2006).

Výsledky některých studií uvádí, že zvýšená aktivita neuronů ve sluchovém systému by mohla hrát významnou roli v otázce subjektivního šelestu, tzv. tinnitu. (Saunders a kol., 1972; Bock a Saunders, 1977; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol., 1990, 1999; Syka a kol., 1994; Gerken, 1996; Gerken a kol., 2001; Kaltenbach a kol., 2004; Rybalko a Syka, 2005)

2.4.3.2. Tinnitus

Termín tinnitus je odvozen z latinského slova tinnere, které znamená zvonění, cinkání nebo šelest. Jde o zvukové vjemy, pro něž neexistuje zvukový zdroj v zevním prostředí (Novotný a kol., 1997). Dělí se na objektivní, např. při aneuryzmatu a. carotis, při stahu nitroušních svalů, atd. a subjektivní.

V případě subjektivního tinnitu se jedná o nefyziologickou percepci zvuků, které pacient vnímá nezávisle na vnějším zdroji. Je to porucha sluchového vnímání vznikající v kterékoliv části sluchového orgánu, tj. od kochleárního receptoru, přes sluchové dráhy až po jejich konečnou projekci v temporálním laloku.

Více než 15% lidské populace trpí přechodnou nebo stálou přítomností těchto subjektivních šelestů. Častou příčinou subjektivních šelestů bývá hluková expozice, stárnutí (presbyakuse), ale mohou to být také vedlejší účinky některých ototoxických léků (např. salicyláty nebo chinin). Nicméně, tinnitus má ve většině případů původ v centrálním sluchovém systému nebo ve strukturách mozku, které s centrálním sluchovým systémem souvisejí. Například u pacientů s akustickým neurinomem přetrvává tinnitus i po přerušení sluchového nervu, a lze jej přirovnat k fantómové bolesti, objevující se u pacientů po amputaci končetin. Ve prospěch centrálního původu několika typů tinnitu hovoří také výsledky studií, které využily pro výzkum tinnitu magnetoencefalografie a pozitronové emisní tomografie (PET) (Syka, 2002).

Výzkum tinnitu, ať už jeho diagnostiky nebo léčby, je z velké části odkázán na experimentální modely laboratorních zvířat, kdy je přítomnost tinnitu vyvolána podáním ototoxických léků či hlukovou expozicí.

Předpokládá se, že tinnitus je ve spojení se zvýšenou spontánní nervovou aktivitou sluchových vláken (Saunders a kol., 1972; Bock a Saunders, 1977; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol., 1990, 1999; Syka a kol., 1994;). Tato skutečnost byla ověřována podáváním vysokých dávek salicylátu, které zvyšují úroveň spontánní aktivity sluchových nervových vláken (Eggermont a Roberts, 2004). Nízké dávky salicylátu však úroveň spontánní aktivity sluchových nervových vláken (spontaneous firing rates, SFR) nezvyšovaly, přestože přítomnost tinnitu lze behaviorálně prokázat již po aplikaci nízkých dávek salicylátu. Stejně tak i u jiných ototoxických léků, které podmiňují vznik tinnitu, byl potvrzen inhibiční vliv na spontánní aktivitu sluchových nervových vláken. Podobný pokles SFR byl zaznamenán po hlukové expozici. Snížená úroveň SFR po hlukové expozici nebo účinkem ototoxických léků poukazuje na centrální příčinu tinnitu, vztahující se pravděpodobně ke změnám rovnováhy mezi excitačními a inhibičními procesy probíhajícími ve sluchových strukturách centrálního nervového systému (Eggermont a Roberts , 2004).

Zvýšená úroveň citlivosti sluchového systému u lidí s tinnitem, spojená se ztrátou sluchu, vedla k teoretickému předpokladu, podle kterého by poškození periferních struktur sluchového systému mohlo způsobovat frekvenčně specifický pokles inhibice ve sluchové kůře.

Gerken (2001) popsal u skupiny lidí s přítomností tinnitu výskyt zvýšených amplitud MLR, které se u normálně slyšící skupiny neobjevily.

2.4.3.3. Diagnostika tinnitu u laboratorních zvířat

Diagnostika tinnitu u laboratorních zvířat je velmi obtížná. Kromě elektrofyziologických metod, tzn. registrace zvýšené nervové aktivity, je možno využít **behaviorálního testu pro detekci pauzy v kontinuálním zvukovém podnětu a sledování změn prahů pro detekci pauzy v šumu (gap detection threshold, GDT)** (Syka a Rybalko, 2000).

Po ohlušení intenzivním šumem lze porovnávat změny prahových hodnot GDT a amplitudy MLR se změnami sluchového prahu. Pokud by u zvířat s výrazně

zvýšeným prahem GDT byla zároveň přítomna i zvýšená amplituda MLR, dalo by se předpokládat, že zvýšená amplituda MLR indikuje přítomnost tinnitu u potkanů (Syka a kol., 2002).

3. CÍLE PRÁCE

Výhoda experimentálních modelů při sledování změn sluchu způsobených vlivem intenzivního hluku spočívá mimo jiné v možnosti radikálního přístupu v modelování patologických situací, jakou je v tomto případě ohlušení bílým šumem vysoké intenzity.

V průběhu pokusů, kdy jsme sledovali vliv hluku na sluch potkana, jsme se zaměřili na:

1. Sledování vlivu hluku na sluchový práh potkana;
 - ⇒ Hodnocení posunu sluchového prahu na různých frekvencích v závislosti na intenzitě hlukové expozice u zdravých dospělých potkanů kmene Long-Evans elektrofyziologickou metodou snímání vyvolaných potenciálů kmenových (ABR) a středně latentních korových (MLR).
 - ⇒ Sledování návratu sluchového prahu na různých frekvencích v závislosti na intenzitě hlukové expozice.
2. Hodnocení specifického účinku hluku na centrální část sluchové dráhy prostřednictvím hodnocení amplitud vyvolaných odpovědí z mozkového kmene (ABR) a středně latentních korových odpovědí (MLR);
3. Ověření hypotézy, že zvýšení amplitudy MLR závisí na intenzitě hluku a koreluje s velikostí posunu sluchového prahu.
 - ⇒ Použití dvou odlišných intenzit hluku (118 a 122 dB SPL) u každého zvířete v rámci sledování rozdílných posunů sluchových prahů a pozorování závislosti změn amplitud MLR při rozdílných posunech sluchových prahů.
4. Porovnání výsledků získaných behaviorálními metodami zaměřenými na výzkum specifických účinků hluku na centrální část sluchového systému se změnami hodnot MLR po hlukové expozici.

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Testovaná zvířata

Do pokusu bylo zařazeno 6 potkaních samic a 4 samci kmene Long-Evans (LE) ve věku 2 měsíců o hmotnosti 130-140g. Kmen Long-Evans, kterému se jinak říká Hooded rats (kapucíni) pro jejich černobílou pigmentaci srsti, zavedli do experimentální práce v roce 1915 Long a Evans jako kmen vzniklý křížením bílých samic kmene Wistar a divokých šedých samců.

Schéma pokusů bylo schváleno Etickou komisí Ústavu experimentální medicíny AVČR. Se zvířaty bylo zacházeno v souladu s Helsinskou deklarací. Veškerá manipulace se zvířaty probíhala pod dozorem zkušeného školitele.

4.2. Záznam vyvolaných odpovědí ABR a MLR z implantovaných elektrod

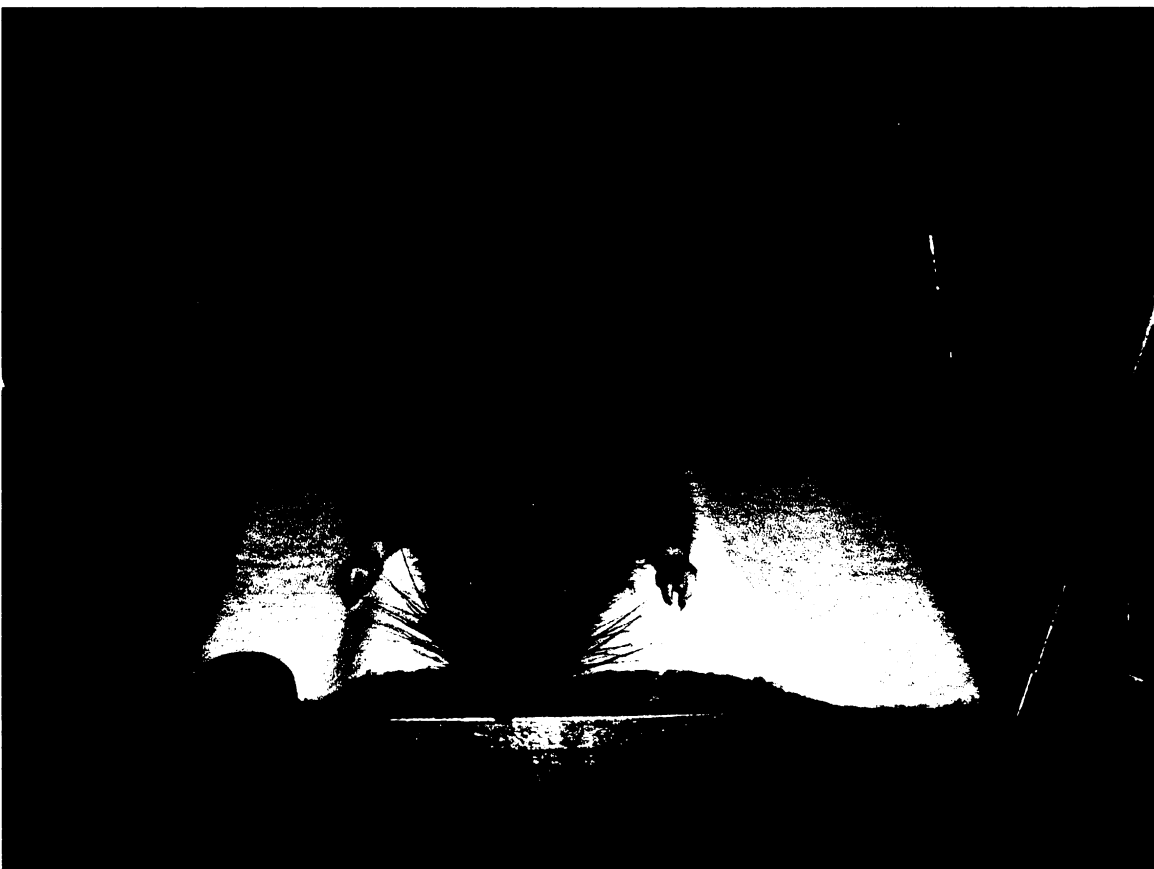
4.2.1. Chirurgická implantace elektrod

Implantace elektrod pro snímání sluchových vyvolaných odpovědí byla provedena v celkové anestezii směsí ketamin (Calypsol) a xylazin (Sedazine, Fort Dodge Inc.) v poměru 3:1, která byla aplikována intramuskulárně (i.m.) v dávce 0,1 ml/100g tělesné hmotnosti, což odpovídá dávce 38 mg/kg ketaminu a 5 mg/kg xylazinu. Po odstranění měkkých tkání na vrcholu lebky potkana byl vrtáčkem vyvrtán drobný otvor ve spánkové kosti nad oblastí sluchové kůry vlevo, kterým byla na povrch kůry přiložena teflonem potažená Pt-Ir kuličková elektroda (průměr kuličky 0.5 mm) pro snímání MLR. Vodič elektrody byl přiletován k jednomu kontaktu konektoru, který byl dvěma nerezovými ocelovými šroubky a akrylátovou pryskyřicí připevněn k lebce zvířete. Jeden šroubek sloužil kromě fixace i pro snímání ABR, druhý šroubek byl použit jako referenční zemní elektroda. Šroubky použité pro snímání ABR a jako referenční elektroda byly propojeny s druhým a třetím kontaktem konektoru. Následně byla řezná rána ošetřena lokálně antibiotiky a zašita. Pro snížení pooperační bolesti bylo zvířeti jednorázově aplikováno analgetikum Eunalgit v dávce 5mg/kg i.m.. Po operaci bylo zvíře ponecháno v teplé místnosti s dostatečným přístupem k vodě.

4.2.2. Snímání kmenových (ABR) a korových evokovaných potenciálů se střední latencí (MLR)

Sluchové vyvolané potenciály MLR a ABR byly snímány v lehkém zklidnění testovaných potkanů sedativem Domitor v dávce 0,3 mg/kg, aplikace i.m., jeden týden po implantaci elektrody, před hlukovou expozicí. Postexpoziční registrace potenciálů probíhala v období 8 týdnů.

Záznam potenciálů probíhal ve zvukově izolované a bezdozvukové komoře. Během měření bylo zvíře umístěno na vyhřívané desce s automaticky regulovanou teplotou 38 °Celsia (obr.3).



Obr.3: Pohled na potkana v průběhu snímání evokovaných potenciálů v izolované a bezdozvukové komoře; zvíře je umístěno na vyhřívané desce s automaticky regulovanou teplotou 38 °Celsia.

4.2.3. Akustická stimulace

Sluchové nervové odpovědi byly vyvolány krátkými zvukovými podněty, které byly prezentovány z reproduktorové soustavy SEAS Millenium umístěné 70 cm před zvířetem (stimulace ve volném poli, obr.4). Reproduktorová soustava obsahovala tři reproduktory, jejich frekvenční charakteristika byla velmi plochá (odchyly nepřesahovaly ± 5 dB) v rozmezí frekvencí 200 Hz až 30 kHz a hodnoty akustického tlaku byly nižší o 10 dB v rozmezí frekvencí 30-50 kHz.



Obr.4: Pohled na reproduktorovou soustavu SEAS Millenium, ze které byly prezentovány zvukové podněty pro vyvolání sluchových nervových odpovědí.

Zvukové podněty, kterými byly krátké tóny o trvání 3 ms s náběžnou a sestupnou hranou 1 ms, byly generovány zařízením RP2 systému TDT (Tucker Davis Technologies, Florida, USA; obr.5) a programem SigGen. Po zesílení výkonovým zesilovačem byl zvuk přiveden na svorky reproduktorové soustavy.



Obr.5: Zařízení systému TDT (Tucker Davis Technologies, Florida, USA) pro generování krátkých zvukových podnětů je používáno pro stimulaci sluchového systému zvířete a pro vyhodnocování sluchových vyvolaných odpovědí.

4.2.4. Snímání sluchových vyvolaných odpovědí

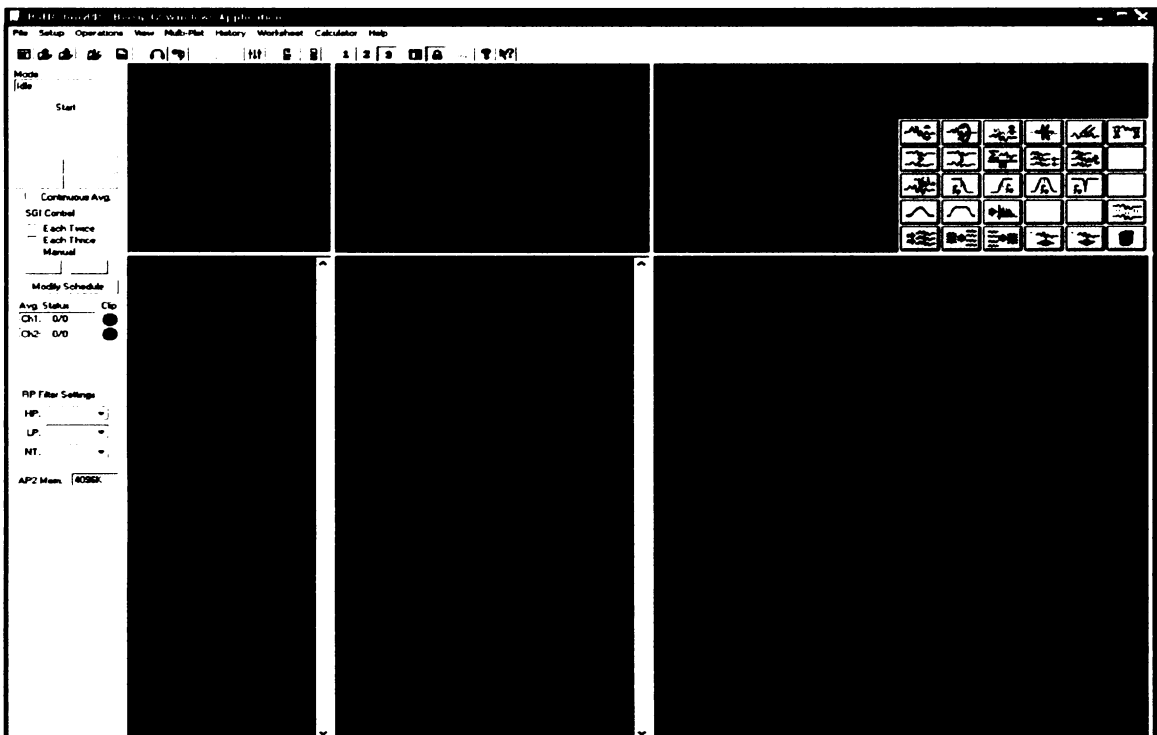
Sluchové vyvolané odpovědi ABR a MLR byly registrovány z implantovaných elektrod zvířete postupně. Nejdříve byly propojovacím kabelem spojeny kontakty konektoru pro snímání ABR a referenční elektrody a byly zaregistrovány odpovědi ABR. Poté byly propojeny kontakty konektoru pro snímání MLR a referenční elektrody a zaznamenány odpovědi MLR. Odpovědi byly zesíleny 10x zesilovačem TDT a zavedeny do procesoru TDT Pentusa, kde byly dále zesíleny, filtrovány a digitalizovány vzorkovací frekvencí 25 kHz. Zvuková stimulace a vlastní zprůměrnování odpovědí bylo řízeno programem TDT Biosig. Displej programu na obrazovce počítače je znázorněn na obr.6.

Pro snímání ABR byly potenciály filtrovány v rozmezí 300 Hz – 3 kHz, zvukové podněty byly prezentovány s opakovací frekvencí 10Hz, odpověď byla měřena v období 20 ms po stimulaci. Odpovědi ABR byly registrovány na frekvencích 1, 4, 8,

12, 16, 25, 32 a 40 kHz, na každé frekvenci byly zaznamenány odpovědi na intenzitách klesajících od maximální hodnoty 100 dB SPL k minimální hodnotě 0 dB SPL. Každý záznam byl získán zprůměrněním odpovědi na 300 opakování podnětů.

Pro snímání MLR byl signál filtrován v rozmezí 10 Hz – 300 Hz, zvukové podněty byly prezentovány 2krát za sekundu, odpověď byla měřena v období 100 ms po stimulaci. Odpovědi MLR byly měřeny na frekvencích 1, 8 a 16 kHz při klesající intenzitě na každé frekvenci.

U obou typů potenciálů byla intenzita podnětů snižována po krocích 5 dB attenuátorem AP4 TDT v rozmezí 0-100 dB.

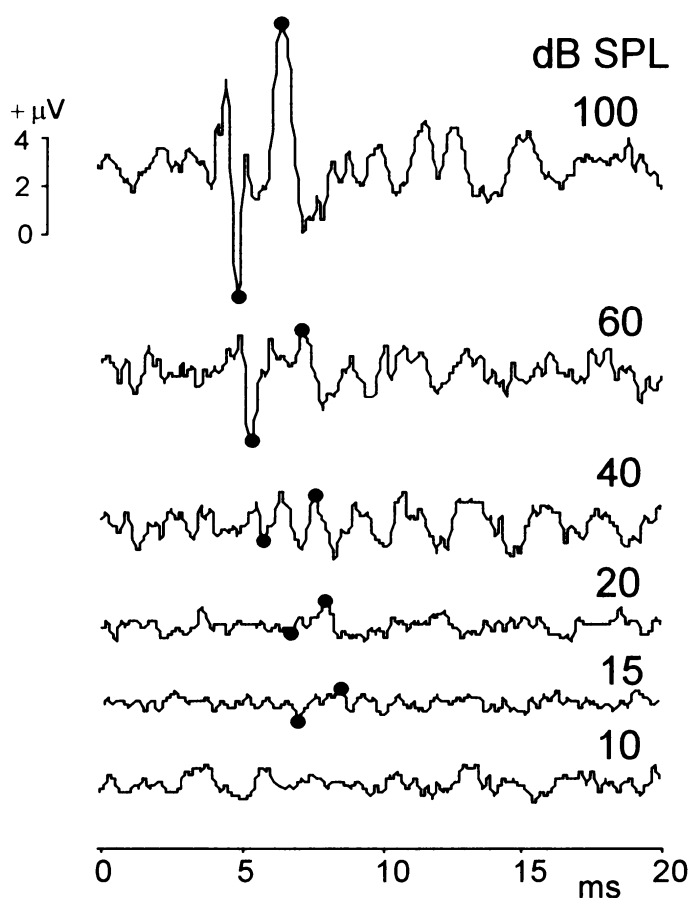


Obr.6: Vyvolané odpovědi byly zpracovány systémem Tucker Davis Technologies (TDT) (12-bitový A/D konvertor, vzorkovací frekvence 20 kHz) pomocí programu TDT BioSig.

4.2.5. Hodnocení sluchového prahu zvířete na podkladě snímání ABR

V průběhu stimulace jednotlivými tóny byla intenzita tónového podnětu snižována po krocích 5-10 dB a byl sledován výskyt dominantních vrcholů ABR v očekávaném časovém okně signálu. Typický příklad záznamu ABR na frekvenci 8 kHz u jednoho zvířete je zobrazen na obr.7, dominantní vrcholy (negativní

a pozitivní) jsou označeny červenými tečkami. Při postupném snižování intenzity podnětů klesala i amplituda vrcholů ABR až odpověď zanikla v šumu. Nejnižší intenzita podnětů, při níž ještě bylo možno detekovat vrcholy ABR, byla stanovena jako práh odpovědi na dané frekvenci. Na uvedeném příkladě na obr.7 je tato hodnota 15 dB SPL na frekvenci 8 kHz. Tímto způsobem byly u každého zvířete určeny prahy odpovědi na jednotlivých frekvencích a spojnice jednotlivých bodů určovala sluchový práh zvířete.

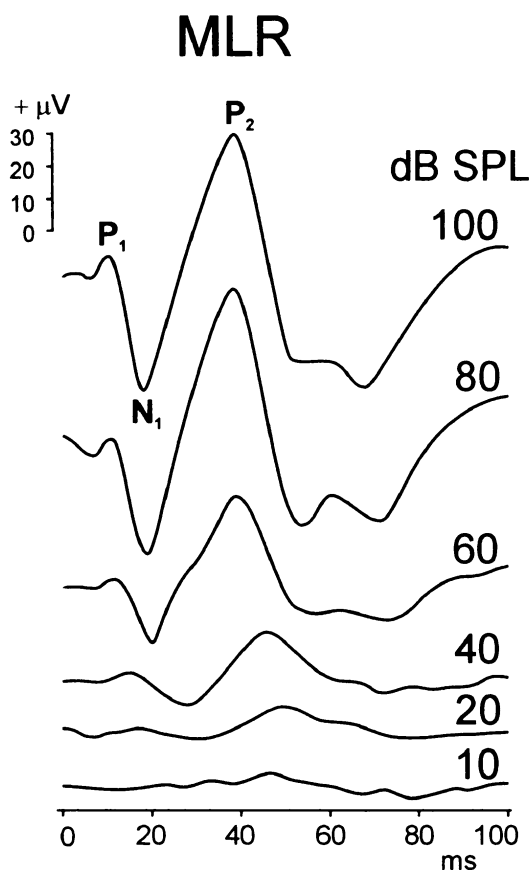


Obr.7: Příklad potenciálu ABR při snižující se intenzitě tónu o frekvenci 8 kHz; způsob určení prahu dle dominantních vrcholů (viz. červené body); čísla uvedená vpravo udávají intenzitu podnětu v dB SPL.

4.2.6. Hodnocení odpovědi MLR

Podobně jako u vyvolaných odpovědi ABR, byly stanoveny i prahy vyvolaných odpovědi MLR na těchto třech frekvencích. Tyto údaje však sloužily pouze

pro kontrolu prahů určených na základě snímání ABR. Hlavním účelem záznamu MLR bylo měření amplitud odpovědí a jejich závislosti na intenzitě podnětů. Amplitudy MLR byly měřeny jako špičkové hodnoty potenciálu mezi negativním vrcholem N1 a pozitivním vrcholem P2 (viz obr.8)



Obr.8: Příklad potenciálu MLR při snižující se intenzitě tónu o frekvenci 8 kHz; způsob určení prahu dle dominantních vrcholů (P1, N1, P2); čísla uvedená vpravo udávají intenzitu podnětu v dB SPL.

4.2.7. Testování a hodnocení registrovaných potenciálů se střední latencí (MLR) a kmenových potenciálů (ABR)

Potkani byli testováni v lehkém zklidnění sedativem Domitor v dávce 0,3 mg/kg, aplikace i.m.. Anestezie byla nezbytná pro zajištění klidu zvířete při měření a pro vyloučení svalových artefaktů. Po nástupu anestezie bylo zvíře přeneseno na vyhřívanou ploténku s automaticky regulovanou teplotou (38°C).

Prahy MLR před hlukovou expozicí a po hlukové expozici byly stanoveny pro klik a na frekvencích 1, 8 a 16 kHz jako minimální intenzita podnětu, pro kterou byla opakovaně zjištěna odchylka od izoelektrické linie. Pro klik a pro frekvenci 8 kHz, na které je úroveň sluchové sensitivity potkana nejvyšší a tudíž i posun sluchového prahu je na této frekvenci nejvýraznější, byly stanoveny závislosti amplitudy MLR na intenzitě v rámci každého měření před ohlušením, po hlukové expozici o intenzitě 118 dB SPL a 122 dB SPL. Bylo provedeno rovněž srovnání velikostí amplitud odpovědí na podnět stejné intenzity před ohlušením a po obou hlukových expozicích. Hodnocena byla amplituda mezi vrcholy pozitivní komponenty MLR s latencí okolo 20 ms a negativní komponenty s latencí cca 25 ms. Bylo provedeno relativní srovnání závislosti amplitud MLR (hodnoty amplitud před expozicí: 100 %) na posunech prahů u jednotlivých zvířat.

4.2.8. Hluková expozice

Pro vyvolání rozdílných posunů sluchového prahu byly potkani vystaveni dvakrát hlukové expozici o rozdílné intenzitě šumu.

1. hluková expozice

Zvířata, u nichž byl stanoven sluchový práh a amplitudy MLR, byla vystavena hlukové expozici **širokopásmovým šumem o intenzitě 118 dB SPL po dobu 60 minut**. Zvířata byla exponována hluku ve speciálním boxu v bdělém stavu. Ohlušovaná zvířata byla uzavřena jednotlivě v malé drátěné kleci (13x6x6 cm) a umístěna v bezdozvukovém boxu (vnitřních rozměrů 24x24x34 cm) vybaveném reproduktorem (B&C Speakers DE700) ve vzdálenosti 20 cm od přední stěny drátěné klece. Zvukové pole ve 4 bodech v oblasti klece bylo změřeno pomocí zesilovače Brüel &Kjaer 2606, předzesilovače 2619 a mikrofonu 4133, kde se hodnoty vzájemně nelišily o více než $\pm 1,5$ dB SPL.

Registrace vyvolaných potenciálů MLR a ABR probíhala 1. den, 3/4dny, 10/11d dní a 16/17 dní po skončení hlukové expozice.

2. hluková expozice

21 dnů po 1. hlukové zátěži, kdy u potkanů došlo k plnému nebo částečnému návratu sluchových prahů na pre-expoziční úroveň, byla zvířata opět vystavena širokopásmovému šumu o intenzitě 122 dB SPL po dobu 60 minut v bdělém stavu. Registrace vyvolaných potenciálů MLR a ABR probíhala 1 den, 2 dny, 7 dní, 14 dní a v některých případech i 22 dní po 2. ohlušení.

5. VÝSLEDKY

5.1. Sluchové prahy

Spektrum morfologických a fyziologických změn způsobených nadměrnou hlukovou zátěží je široké, obvykle se však vliv intenzivního hluku nejvíce odráží na **posunu sluchového prahu**. Porucha sluchu způsobená intenzivním hlukem se vyznačuje poklesem sluchu na všech frekvencích, pokles sluchu bývá však výraznější na vyšších frekvencích.

Jak bylo popsáno v metodice, sluchové prahy potkanů byly měřeny před a po hlukové expozici prostřednictvím evokovaných kmenových (ABR) a středně latentních korových (MLR) potenciálů. Průměrné sluchové prahy vykazovaly téměř stejné hodnoty, ať už byly získané prostřednictvím MLR nebo ABR.

Průměrné sluchové prahy získané snímáním a hodnocením **kmenových evokovaných potenciálů** („auditory brainstem response“, **ABR**) před hlukovou expozicí a v jednotlivých intervalech po hlukové expozici jsou znázorněny u 5 potkanů kmene Long-Evans (LE) na obr.9.

Nejvyšší sensitivita sluchu potkana se nachází ve frekvenčním rozsahu 8 - 32 kHz, proto dosahuje sluchový práh nejnižších hodnot na 8 - 16 kHz. Průměrné sluchové prahy před hlukovou expozicí činily na 8 kHz $15 \pm 7,01$ (S.D.) dB, na 16 kHz $18 \pm 5,5$ dB, na 32 kHz $25 \pm 3,2$ (S.D.) dB. Nejvyšší sluchové prahy se u potkana naopak nachází na nízkých frekvencích; průměrný sluchový práh na 1 kHz byl naměřen 37 ± 2 dB. Průměrné hodnoty posunu sluchových prahů včetně směrodatných odchylek jsou uvedeny v tab.2.

5.1.1. Účinek 1. hlukové expozice o intenzitě 118 dB SPL

Hluková expozice bílým šumem o intenzitě 118 dB SPL vyvolala u potkanů signifikantní posun sluchového prahu na frekvencích nejvyšší sluchové sensitivity potkanů (8 - 40 kHz) ($p < 0,001$; ANOVA), na nízkých frekvencích 1 a 4 kHz se ukázal posun sluchového prahu statisticky nevýznamný.

V průběhu 18 dnů po hlukové expozici sluchové prahy postupně klesaly a vracely se k původním hodnotám. K úplnému návratu sluchových prahů došlo

po 1. ohlušení pouze na nízkých frekvencích (1 a 4 kHz), na vyšších zůstal práh mírně zvýšený. Zvýšené prahové hodnoty však statisticky významné nebyly a lze předpokládat, že by v průběhu dalších dnů došlo k jejich návratu na předchozí úroveň (pro přehled tab.2 a obr.9).

5.1.2. Účinek 2. hlukové expozice o intenzitě 122 dB SPL

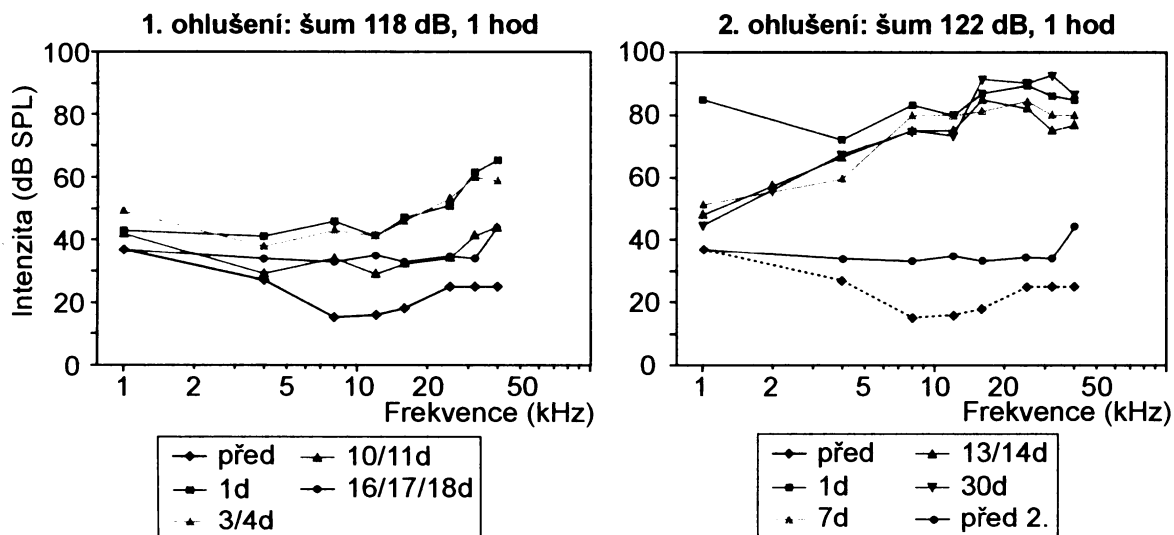
Hluková zátěž o intenzitě 122 dB SPL způsobila u všech zvířat velice výrazný posun prahu na všech frekvencích v rámci hodnoceného frekvenčního spektra

Sluchové prahy jednotlivých zvířat se vrátily k původním hodnotám pouze na frekvenci 1 kHz, zatímco na všech ostatních frekvencích zůstaly zvýšené ještě 30 dní po hlukové expozici; u 3 potkanů, kteří byli měřeni ještě 2-3 měsíce po 2. hlukové zátěži, zůstaly prahy na vyšších frekvencích trvale zvýšené (PTS) (viz. tab.2 a obr.9).

čas měř.	1kHz	S.D.	4kHz	S.D.	8kHz	S.D.	12kHz	S.D.	16kHz	S.D.	25kHz	S.D.	32kHz	S.D.	40kHz	S.D.
před ohl	37	2	27	2,4	15	7,1	16	5,8	18	5,5	25	5,1	25	3,2	25	6,6
1. ohl																
1d_po	43	4,5	41	12	46	9,7	38,3	6,2	47	14	50,75	9,6	61,3	6,5	65,3	7,4
3/4d_po	49	4,9	38	9,2	43	6,8	43,8	12,4	46	13	53	12	60	3,2	59	3,2
10/11d_po	42	3,7	25	3,7	34	13	28,8	14,7	32	13	34	9,8			44	8,9
16/17/18d_po	37	4,9	34	0	33	11	32,5	2,5	33	13	34,5	18	34	10	44	11
2. ohl																
1d_po	85	14	72	12	83	2,4	80	0	87	5,8	89,5	7,5	86	4,9	85	5,8
2d_po	83	11	75,7	8,5	81,3	8,9	80	4,1	85,5	4,3	85,33	6,2	83,3	8,5	82,3	6,2
6/7d_po	51,3	4,7	59,5	4,5	80	0	71,7	4,7	81,33	4,7	84,5	2,5	80	5,5	80	5,8
13/14d_po	48	5	66,5	13	75	5	85	0	84,67	2,4	82		75	3,5	76,5	2,5
30d_po	44,7	10	64	16	75	11	73,3	13,1	91,33	2,4	90,33	9,4	92,5	2,5	86,5	2,5
60d_po	33	0	39	0	45	0	50	0	63	0	60	0	80	0	79	0

Tab.2: Hodnoty průměrných sluchových prahů na jednotlivých frekvencích a jejich směrodatných odchylek před hlukovou expozicí a po obou hlukových expozicích.

Průměrné sluchové prahy



Obr.9: Průměrné sluchové prahy potkanů před hlukovou expozicí a po 1. a 2. hlukové expozici.

5.2. Změny amplitud středně latentních korových evokovaných potenciálů (MLR) v závislosti na hlukové zátěži

Změny ve sluchovém systému způsobené nadměrnou hlukovou zátěží se odehrávají také na úrovni vyšších oddílů sluchové dráhy. Předmětem této práce bylo sledovat účinek dvou rozdílných intenzit hluku na všech testovaných zvířatech a pozorovat tak změny amplitud MLR při různých posunech sluchového prahu. Amplitudy MLR vykazují po hlukové expozici specifické převýšení (enhancement). Předpokládá se, že příčina převýšení amplitudy MLR spočívá ve zvýšené spontánní nervové aktivitě ve sluchové kůře a podkorových centrech (Saunders a kol., 1972; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol., 1990, 1999; Syka a kol., 1994; Syka a Rybalko, 2000).

Obr.10 znázorňuje závislosti amplitudy MLR na intenzitě podnětu u 3 zvířat před hlukovou expozicí a po hlukové expozici. Můžeme pozorovat změny amplitud MLR, které byly vyvolány stimulací tónovým podnětem o frekvenci 8 kHz.

Obr. 10A ukazuje, že hodinové působení bílého šumu o intenzitě 118 dB SPL vedlo u potkana 11A k malému posunu sluchového prahu, který nepřesáhl 20 dB (1. den po ohlušení), přičemž velikost amplitudy MLR na vysokých intenzitách (60-100

dB) se zdvojnásobila (ze 150 μ V na 350 μ V). K návratu sluchového prahu došlo 4. den po ohlušení, stejně tak amplituda se v průběhu postexpoziční doby vrátila téměř na původní hodnotu.

Vliv 2. hlukové expozice o intenzitě 122 dB SPL na sluchový systém potkana 11A (viz. obr.10B) se lišil od předchozího působení. K posunu prahu došlo 2. den po ohlušení až o 75 dB a tento posun zůstal nezměněn po dalších 7 dní. Amplituda MLR dosáhla maximální hodnoty 7. den po ohlušení. Maximum amplitudy MLR však nepřevýšilo hodnotu, které dosáhla amplituda po 1. hlukové expozici, tj. 350 μ V.

U potkana 11C na obr.10C 1. hlukové expozice způsobila vzestup sluchového prahu o 50 dB měřitelný 1. den po ohlušení. Hodnota amplitudy MLR dosáhla maxima 2. den po ohlušení 525 μ V (235 μ V před ohlušením). Sluchový práh potkana zůstal ještě po 18. dnech zvýšený (o 30 dB), zatímco hodnota amplitudy se vrátila na původní hodnotu.

Po 2. typu hlukové expozice (viz. Obr.10D) byl u potkana zaznamenán výrazný vzestup sluchového prahu měřitelný 2. den po ohlušení (o 70 dB). Převýšení amplitudy MLR dosáhlo maximální hodnoty až 7. den po ohlušení (téměř 580 μ V). Sluchový práh zvířete zůstal zvýšený ještě 60 dní po ohlušení (o 40 dB), lze tedy předpokládat trvalý posun prahu (PTS). Taktéž amplituda MLR vykazovala převýšení ještě 60. dní po ohlušení.

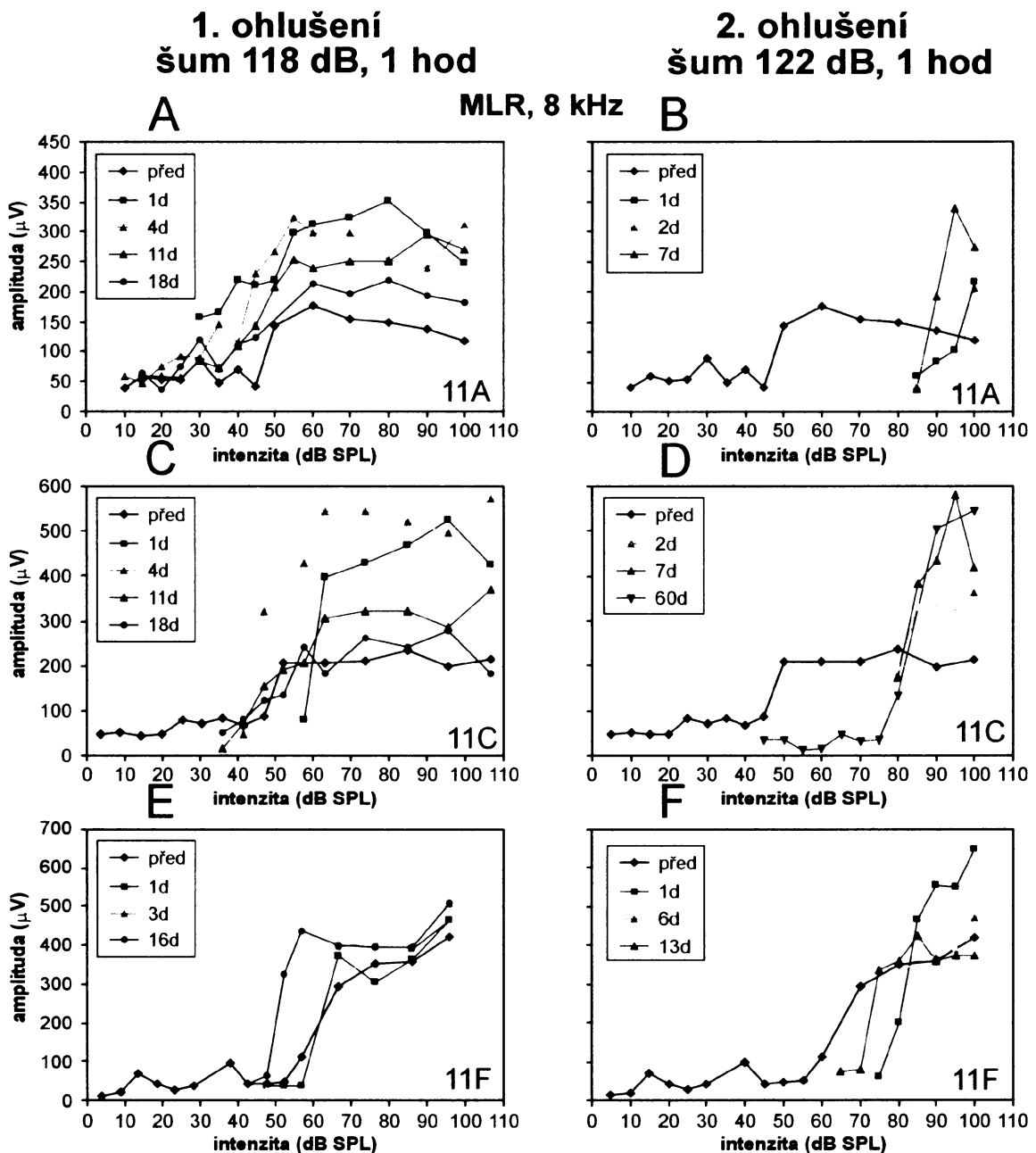
Účinky hluku odlišné od předchozích můžeme sledovat u potkana 11 F na obr.10E. Dočasný posun sluchového prahu u potkana činil den po 1. hlukové zátěži 45 dB, přičemž amplituda MLR vystoupila 3. den z původních 420 μ V na 507 μ V. V průběhu 16. dnů po expozici hlukem zůstal práh stále zvýšený o 40 dB, stejně tak i amplituda MLR.

Po 2. hlukové expozici zaznamenal sluchový práh potkana výrazný posun (o 75 dB; obr.10F. Hodnota amplitudy vystoupila na 650 μ V 1. den po 2. ohlušení.

Vzhledem k velikému posunu zůstal sluchový práh potkana trvale zvýšený, zatímco amplituda MLR se vrátila v průběhu 13. dnů na původní hodnotu.

Jak hluková expozice o intenzitě 118 SPL, tak expozice o intenzitě 122 dB SPL, vyvolaly změny amplitud MLR, které byly rozdílné u jednotlivých zvířat, přestože podstoupili stejnou hlukovou zátěž za stejných podmínek. Hodnoty amplitud MLR snímaných na úrovni prahových intenzit po hlukové expozici byly podobné hodnotám

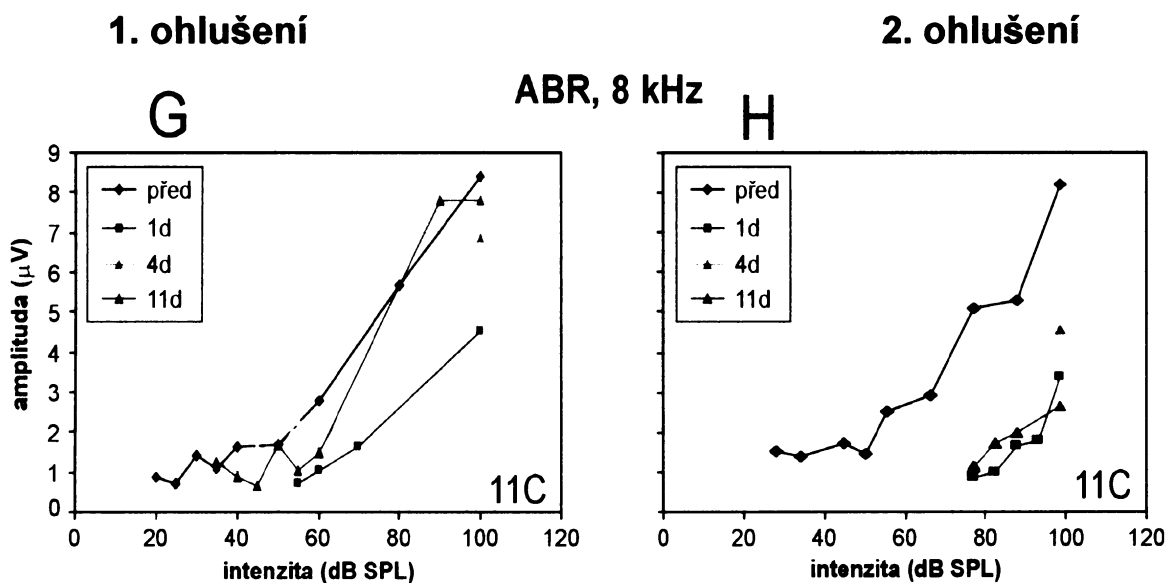
preexpozici. Převýšení amplitudy MLR se výrazně projevilo na vyšších intenzitách zvukového podnětu. Časový průběh hodnocených parametrů byl taktéž odlišný pro jednotlivá zvířata.



Obr.10: Obrázek znázorňuje u pokusných zvířat (11A, 11C a 11F) změny amplitud MLR v závislosti na intenzitě zvukového podnětu po 1. a 2. hlukové expozici pro frekvenci 8 kHz; změny amplitud v závislosti na intenzitě zvukového podnětu naměřené v jednotlivých časových intervalech před ohlušením a po ohlušení jsou znázorněny rozdílnými barvami.

5.3. Změny amplitud kmenových evokovaných potenciálů (ABR) v závislosti na hlukové zátěži

Typický příklad závislosti amplitud ABR na intenzitě zvukového podnětu u potkana 11C po 1. a 2. hlukové expozici o intenzitě 118 a 122 dB SPL je znázorněn na obr.11. Z grafů je patrné, že se změny amplitud ABR po hlukové zátěži výrazně liší od výše uvedených změn amplitud MLR. Amplitudy ABR se po hlukové expozici u tohoto i ostatních potkanů zmenšily, a to úměrně k intenzitě hluku.



Obr.11: Změny amplitud ABR v závislosti na intenzitě zvukového po 1. a 2. hlukové expozici u potkana 11C pro frekvenci 8 kHz; změny amplitud v závislosti na intenzitě zvukového podnětu naměřené v jednotlivých časových intervalech před ohlušením a po ohlušení jsou znázorněny rozdílnými barvami.

5.4. Změny amplitudy MLR v závislosti na velikosti posunu prahů

Změny amplitudy MLR u jednotlivých potkanů (vyvolaných na tónový podnět o frekvenci 8 kHz) v závislosti na velikosti posunu prahu (na 8 kHz) po hlukové zátěži o intenzitě 118 a 122 dB SPL jsou zobrazeny na obr.12. Přestože hluková zátěž byla stejná pro všechny potkany, výsledky zde uvedené vypovídají o rozdílné interindividuální citlivosti k hluku. Zatímco rozsah posunu prahu závisel na intenzitě hluku a se zvyšující se intenzitou hluku se u všech uvedených zvířat zvětšoval, změny amplitudy MLR naopak s intenzitou zvuku nekorelovaly.

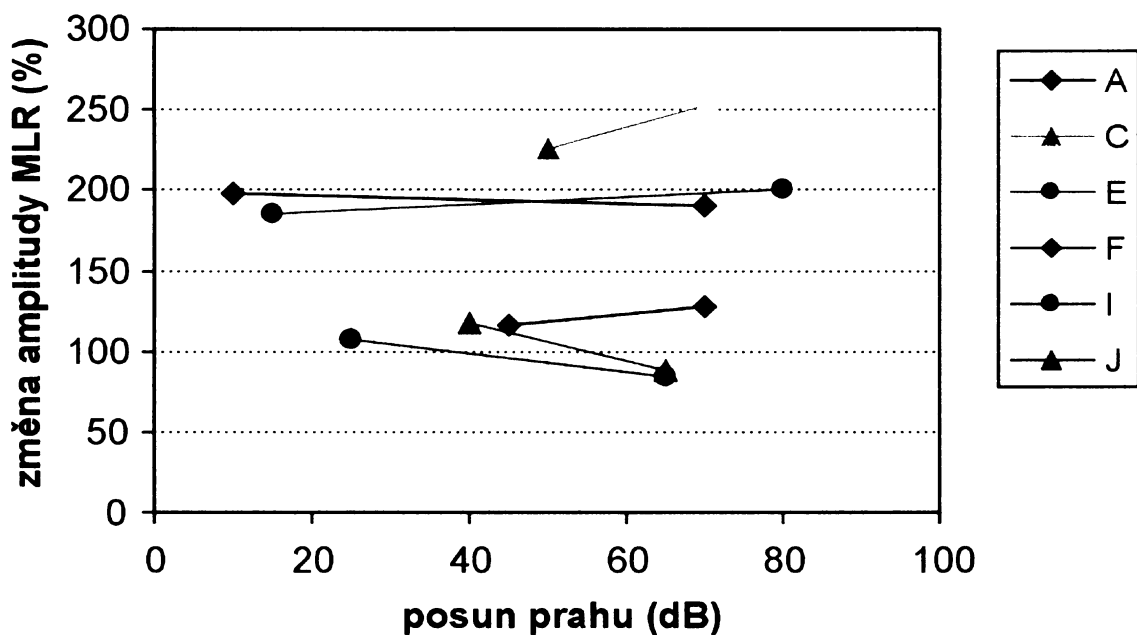
Například u potkana E byl zaznamenán minimální posun prahu o 15 dB a převýšení amplitudy činilo po 1. hlukové expozici 187 % preexpoziční úrovně.

2. hluková expozice vedla k výraznému vzestupu sluchového prahu zvířete (o 80 dB), převýšení amplitudy MLR však zůstalo téměř shodné s předchozím (200 % pre-expoziční úrovně).

Taktéž u potkana A byl rozdíl posunů prahů v rámci dvou hlukových expozic výrazný (10 a 70 dB), převýšení amplitudy MLR po obou hlukových expozicích bylo téměř totožné (200 %),

Z obr.12 vyplývá, že změna amplitudy MLR nezávisí na posunu sluchového prahu po hlukové zátěži, ale je zřejmě závislá na individuální citlivosti k hluku každého z potkanů.

Závislost změny amplitudy MLR na velikosti posunu prahu



Obr.12: Závislost změny amplitudy MLR na velikosti posunu sluchového prahu po 1. a 2. hlukové expozici pro frekvenci 8 kHz u jednotlivých zvířat; symboly na úsečkách označují změny po 1. a 2. hlukové expozici.

6. DISKUSE

6.1. Posun sluchového prahu po hlukové expozici

Výsledky práce ukazují, že 1 hodina hlukové expozice bílým šumem o intenzitě 118 dB SPL způsobila u zdravých potkanů pouze dočasný posun prahu (TTS). Podobný účinek hluku o intenzitě 105-120 dB SPL/1 hod na sluchový práh potkana pozorovali Syka a Rybalko (2000) nebo Lenoir a kol. (1979), který sledoval změny sluchového prahu u dospělých potkanů po expozici bílým šumem o intenzitě 120 dB SPL/30 min. Hluková expozice bílým šumem o intenzitě 122 dB SPL způsobila u potkanů trvalý posun sluchového prahu na všech vyšších frekvencích, pouze na frekvenci 1 kHz se sluchový práh vrátil na původní úroveň. Hluková expozice bílého šumu vyvolala maximální posun prahu na vyšších frekvencích, což bylo v souladu s jinými literárními údaji (Lenoir a kol., 1979; Borg, 1982). Rozdílné posuny průměrných sluchových prahů na měřených frekvencích a variabilita v posunech prahů mezi jednotlivými zvířaty po 1. a 2. hlukové expozici poukázaly na fakt, že rozsah ztráty sluchu závisel na intenzitě hluku a na frekvenčním spektru sluchové sensitivity jednotlivých potkanů. Rozptyl posunu sluchových prahů mezi jednotlivými zvířaty byl enormní, což bylo zřejmě dáno individuální citlivostí sluchového systému k hluku.

6.2. Změny amplitud MLR po hlukové expozici

Zjištění, že expozice intenzivního hluku ovlivňuje nervové děje ve sluchové kůře a vyvolává převýšení amplitudy (MLR), zatímco se amplitudy ABR výrazně snižují, se v podstatě shodovalo s předchozími výsledky získanými na oddělení neurofyziologie sluchu v ÚEM AVČR (Popelář a kol., 1987; Syka a kol., 1994; Syka a Rybalko, 2000).

V této práci bylo maximální převýšení amplitudy MLR (250 %) naměřeno 7. den po 2. hlukové expozici (122 dB SPL), podobně i u ostatních zvířat, kdy se amplituda MLR vyšplhala na maximální hodnotu až několikátý den po hlukové zátěži. Jak uvádí Syka a Rybalko (2000), jedním z důvodů časového prodlení výskytu převýšení amplitudy MLR po hlukové expozici by mohl být zúžený rozsah intenzit v důsledku výrazného posunu sluchového prahu potkanů. Nicméně, i v případě nízk-

frekvenčních podnětů (na této úrovni byl posun prahu zanedbatelný), se převýšení neobjevilo okamžitě po ohlušení, což svědčí ve prospěch skutečně biologických důvodů pro zpožděný výskyt převýšení amplitudy MLR (Syka a Rybalko, 2000).

Zatímco rozsah posunu prahů na jednotlivých frekvencích závisel na intenzitě hlukové expozice a frekvenčním spektru sensitivity potkana, široká variabilita výskytu převýšení MLR mezi zvířaty a rozdílnost ve velikosti změn amplitud MLR po 1. a 2. ohlušení, která nebyla úměrná intenzitě hluku, poukázala na odlišné parametry zodpovědné za vznik převýšení amplitud MLR než jsou ty zodpovědné za posun sluchového prahu.

Stejně tak návrat původních hodnot sluchových prahů a preexpozičních hodnot amplitud MLR byl časově odlišný. Mechanismy postexpozičních změn, jakými jsou posuny prahů, se odehrávají na jiné úrovni sluchové dráhy než mechanismy podílející se na vzniku převýšení amplitudy MLR. Jak uvádí Syka (2002), posuny sluchového prahu se odehrávají na kochleární úrovni, zatímco převýšení amplitudy vyvolaných odpovědí ze sluchové kůry by mohlo být odrazem poruchy centrálního sluchového systému (Chaloupka, 1968; Bock a Saunders, 1976; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol, 1990, 1992; Gerken, 1993; Syka a kol., 1994; Szczepaniak a Møller, 1996; Syka a Rybalko, 2000). Mnoho autorů uvádí, že zvýšení amplitudy MLR je centrálního původu a odráží změny v rovnováze mezi excitačním a inhibičním systémem sluchové kůry, způsobené například vyčerpáním inhibičních neurotransmiterů v průběhu hlukové expozice (Gerken a kol., 1986; Willott a Lu, 1982; Saunders a kol., 1972; Popelář a kol., 1987; Salvi a kol, 1990, 1992; Syka a kol., 1994; Syka a Rybalko, 2000; Rybalko a Syka, 2001). Po ohlušení dochází k omezenému vstupu zvukových podnětů a předpokládá se, že sluchový systém kompenzuje snížené vnímání zvuku nadměrnou sensitivitou prostřednictvím potlačení inhibice. Důsledkem toho je zvýšená spontánní a vyvolaná nervová aktivita ve sluchové kůře (Syka a Rybalko, 2000; Rybalko a Syka, 2001).

Výše uvedené studie však sledovaly změny amplitud MLR po jednorázové expozici hlukem. Hlavní význam této práce spočíval v použití dvou rozdílných intenzit hlukové expozice (118 dB SPL a 122 dB SPL). Tím bylo umožněno porovnání změn amplitud MLR při rozdílných posunech prahu. Výsledné změny hodnot amplitud MLR po 1. hlukové expozici se výrazně nelišily od hodnot amplitud MLR snímaných

po 2. hlukové expozici. Z toho vyplývá, že změny amplitud MLR nejsou podmíněné intenzitou hlukové zátěže, a nevýrazný rozdíl ve změnách velikostí amplitud po 1. a 2. hlukové expozici by mohl souviset s individuální kapacitou nervové úrovně centrálního sluchového systému každého z potkanů. Pokud byly hodnoty amplitudy MLR vysoké již před ohlušením, velikost amplitudy po ohlušení se příliš nezměnila (např. potkan 11F obr.10E). V opačném případě, změny amplitud MLR, které se vyznačovaly před 1. ohlušením nízkými maximálními hodnotami, zaznamenaly po ohlušení výraznější vzestup maximálních hodnot (např. potkan 11C, obr.10).

6.3. Změny hodnot GDT

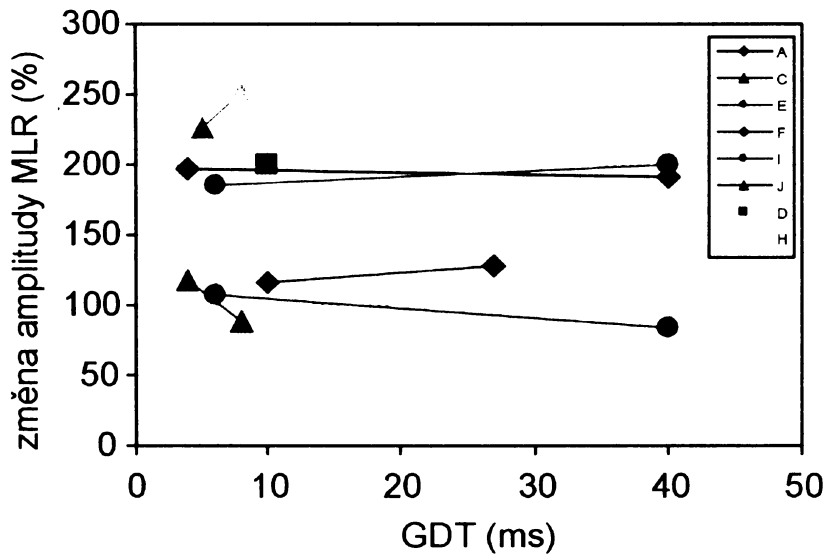
Hluková expozice může vyvolat kromě zvýšení sluchového prahu i jiné sluchové poruchy, např. tinnitus (Kemp a Plaisted, 1986; Chermak a Dengerink, 1987; Bauer a Brozski, 2001, Syka 2002). Přítomnost tinnitu lze u zvířat hodnotit behaviorálními testy, například prostřednictvím testu GDT (viz lit. část).

Zvýšená úroveň nervové citlivosti u lidí s výskytem tinnitu, spojená se ztrátou sluchu, vedla k předpokladu, že ztráty sluchu způsobené poškozením periferních struktur vedou ke snížené inhibici ve sluchové kůře (Gerken, 1996). Např. Gerken a kol. (2001) popsal výskyt zvýšených amplitud MLR u skupiny s přítomností tinnitu (56 %), zatímco u normálně slyšící skupiny se zvýšené amplitudy MLR neobjevily. Stupeň zvýšené nervové aktivity by pak mohl odpovídat behaviorální detekci tinnitu a zvýšení amplitud MLR by tudíž mohlo být ukazatelem přítomnosti tinnitu (Gerken, 1996; Gerken a kol., 2001; Kaltenbach a kol., 2004; Rybalko a Syka, 2005).

U potkanů po 1. a 2. ohlušení byly zaznamenány zvýšené amplitudy MLR, které vykazovaly výraznou interindividuální variabilitu. Na obr.13 můžeme pozorovat závislost změn amplitud MLR na změnách hodnot GDT (Horáková, 2006). Z obrázků vyplývá, že zvýšení MLR amplitud nekorelovala se zhoršenými hodnotami GDT. Například u potkana 11C (obr.13) jsme pozorovali po 2. ohlušení (122 dB SPL) přítomnost zvýšené amplitudy MLR o 250 % preexpoziční úrovně, přičemž hodnoty GDT se po 2. hlukové expozici zhoršily jen minimálně (10 ms; hodnota GDT před ohlušením byla 2 ms). Naopak u potkana 11I (obr.13) byl zaznamenán po 2. ohlušení vzestup hodnot GDT až na 40 ms, zatímco výskyt zvýšených amplitud však pozorován nebyl.

Statistické hodnocení velikosti posunu GDT a sluchových prahů neprokázalo přímou korelaci mezi oběma parametry, ale statisticky významná korelace byla prokázána mezi zvětšením GDT a intenzitou ohlušování (Horáková, 2006).

Závislost změny amplitudy MLR na hodnotách GDT



Obr.13: Závislost změny amplitud MLR na hodnotách GDT po 1. a 2. hlukové expozici u jednotlivých zvířat; symboly určují změny způsobené 1. a 2. hlukovou expozicí..

7. ZÁVĚR

V předkládané diplomové práci byl sledován vliv hluku na sluchový systém dospělých potkanů kmene Long Evans. Změny funkce sluchového systému po **hlukové expozici dvěma rozdílným intenzitám** (118 dB SPL a 122 dB SPL) byly sledovány prostřednictvím evokovaných potenciálů vyvolaných z mozkového kmene (ABR) a středně latentních potenciálů vyvolaných ze sluchové kůry (MLR). Sluchové vyvolané odpovědi ABR a MLR byly registrovány z implantovaných elektrod zvířete. Nejprve byly stanoveny kontrolní hodnoty sluchových prahů prostřednictvím registrace ABR na jednotlivých frekvencích (1, 4, 8, 16, 25, 32 a 40 kHz) a hodnoty amplitud MLR vyvolané na krátký tónový podnět (na frekvencích 1, 8, 16 kHz).

Zvířata, u nichž byl stanoven sluchový práh a amplitudy MLR, byla vystavena **hlukové expozici širokopásmovým šumem o intenzitě 118 dB SPL po dobu 60 minut**. Po ohlušení byl u všech potkanů zaznamenán signifikantní vzestup prahů na frekvencích nejvyšší sluchové sensitivity potkanů (8-40 kHz). Na nízkých frekvencích 1 a 4 kHz se ukázal posun sluchového prahu statisticky nevýznamný. Po 18. dnech se hodnoty prahů na nižších frekvencích opět navrátily k výchozím hodnotám, hodnoty prahů na vyšších frekvencích zůstaly mírně zvýšené. Zvýšené prahové hodnoty měřitelné ještě 18. den po 1. ohlušení však statisticky významné nebyly a lze předpokládat, že by v průběhu dalších dnů došlo k jejich návratu na předchozí úroveň.

21 dnů po 1. hlukové zátěži, kdy u potkanů došlo k plnému nebo významnému návratu sluchových prahů na preexpoziční úroveň, byla zvířata opět vystavena **širokopásmovému šumu o intenzitě 122 dB SPL po dobu 60 minut**. Hluková zátěž o intenzitě 122 dB SPL způsobila u všech zvířat velice výrazný posun prahu na všech frekvencích v rámci hodnoceného frekvenčního spektra

Sluchové prahy jednotlivých zvířat se vrátily k původním hodnotám pouze na frekvenci 1 kHz, na všech ostatních frekvencích zůstaly trvale zvýšené ještě 2-3 měsíce po skončení 2. hlukové expozice.

Rozptyl posunu sluchových prahů mezi jednotlivými zvířaty byl výrazný, což bylo zřejmě dáno rozdílnou citlivostí na hluk charakteristickou pro každého z potkanů.

Po 1. i 2. hlukové expozici byly u všech testovaných zvířat zaznamenány **změny úrovně nervové aktivity** ve sluchové kůře, které se projeví jako **zvýšené** amplitudy MLR. Přestože byla hluková zátěž stejná pro všechna zvířata, změny amplitud MLR, vyvolané na vyšších intenzitách podnětu, vykazovaly výraznou variabilitu v maximálních hodnotách amplitud a v jejich časovém průběhu. Tato interindividuální variabilita nekorelovala s intenzitou hlukové expozice, a byla nejspíš odrazem rozdílné citlivosti sluchového systému jednotlivých zvířat vůči intenzivnímu hluku.

Vliv dvou rozdílných intenzit hlukové expozice na sluchový systém potkana umožnil porovnání změn amplitudy MLR při rozdílných posunech sluchového prahu. Výsledky ukázaly, že zatímco se posun sluchového prahu v rámci dvou rozdílných intenzit hluku výrazně lišil, změny amplitud MLR po obou typech hlukové expozice nebyly významně odlišné. Příčinou nevýrazného rozdílu maximálních hodnot amplitud MLR po 1. a po 2. ohlušení by mohla být kapacita nervové úrovně centrálního sluchového systému charakteristická pro každého z potkanů.

Přítomnost změn amplitud MLR, které se v rámci vlivu dvou různých intenzit hluku příliš nelišily, a tudíž nekorelovaly s posuny sluchových prahů, poukázala na odlišné parametry zodpovědné za změny amplitud MLR než jsou ty, zodpovědné za posun sluchového prahu. Ve prospěch rozdílných mechanismů podílejících se na vzniku postexpozičních změn sluchových prahů a na změnách úrovně amplitud MLR, svědčí i časový rozdíl návratu sluchových prahů a amplitud MLR k výchozím hodnotám.

Posledním úkolem této práce bylo porovnání výše uvedených změn amplitud MLR, získaných prostřednictvím elektrofyziologických metod, s výsledky výzkumu specifických účinků hluku na centrální část sluchového systému potkanů získaných prostřednictvím behaviorálního testování schopnosti detekce pauzy ve zvukovém signálu a jeho prahu (gap detection threshold, GDT) (pro přehled Horáková, 2006). Změny hodnot GDT po 1. a 2. hlukové expozici se změnami amplitud MLR nekorelovaly, a nevýrazný rozdíl ve změnách amplitud MLR v rámci dvou ohlušení byl zcela nezávislý na zhoršených hodnotách GDT po 1. a po 2. ohlušení.

Výsledky této práce budou využity pro další výzkum vlivu hluku na centrální sluchový systém na oddělení neurofyziologie sluchu ÚEM AVČR a v nejbližší době budou prezentovány na konferencích:

1. Inner Ear Biology Workshop, Montpellier, 16.-20.9.2006, (Rybalko N, Grecova J, Popelar J, Syka J: Relationship between noise-induced hearing loss, enhanced amplitudes of cortical evoked responses and gap detection threshold changes).

2. Shangai Internatioanl Conference on Physiological Biophysic – Audition and Vision, November 3-7. 2006, (J.Popelar, N.Rybalko, J.Grecova, O.Profant, J. Syka: Neural and behavioral correlates of noise induced hearing loss in rats).

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Bauer CA, Brozoski TJ (2001) Assessing tinnitus and prospective tinnitus therapeutics using a psychophysical animal model. *J Assoc Res Otolaryngol* 2: 54-64.
- Bock GR, Saunders JC (1976) Effects of low and high frequency noise bands in producing a physiologic correlate of loudness recruitment in mice. *Trans Am Acad Ophthal Otol* 82: 338-342.
- Borg E (1982) Noise induced hearing loss in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Hear. Res.* 8: 117-130.
- Brennan JF, Brown CA, Jastreboff PJ (1996) Salicylate-induced changes in auditory thresholds of adolescent and adult rats. *Dev Psychobiol* 29: 69-86.
- Druga R, Syka J (2001) Effects of auditory cortex lesions on NADPH-diaphorase staining in the interior colliculus of rat. *Neuroreport* 12: 1555-1559.
- Eggermont JJ, Larry ER (2004) The Neuroscience of Tinnitus. *Trends in Neurosciences*. Vol.27, No.11: 676-682.
- Gerken GM, Simhadri-Sumithra R, Bhat VKH (1986) Increase in central auditory responsiveness during tone stimulation or following loss. In: Salvi RJ, Henderson D, Hamernik RP, Colletti V (Eds.), *Basic and Applied Aspects of Noise-Induced Hearing Loss*. Plenum Press, New York: 195-211.
- Gerken GM (1993) Alteration of central auditory processing of brief stimuli; A review and a neural model. *J Acoust Soc Am* 93: 2038-2049
- Gerken GM (1996) Central tinnitus and lateral inhibition: an auditory brainstem model. *Hear Res* 97: 75-83.
- Gerken GM, Hesle PS, Wiorowski JJ (2001) auditory evoked response in control subjects and in patients with problem-tinnitus. *Hear Res* 57: 52-64
- Havránek J (1990) *Hluk a zdraví*. Avicenum zdravotnické nakladatelství, Praha. Str. 12 - 7.
- Chaloupka Z (1968) Effect of noise on cortical evoked potentials in rats. *Act Nerv Super* 10: 207-208
- Chermak GD, Dengerink JE (1987) Characteristics of temporary noise-induced tinnitus in male and female subjects. *Scand Audio* 16: 67-73.
- Jastreboff PJ, Brennan JF, Sasaki CT (1988) An animal model for tinnitus. *Laryngoscope* 98: 280-286.
- Jurovčík M (1999) Sluchové evokované potenciály u dětí.
- Kaltenbach JA, Godfrey DA, Neumann JB, McCaslin DL, Afman CE, Zhang J (1998) Changes in spontaneous neural activity in the dorsal cochlear nucleus following exposure to intense sound: relation to threshold shift. *Hear Res* 124: 78-84
- Kaltenbach JA, Zacharek MA, Zhang J, Frederick S (2004) Activity in the dorsal cochlear nucleus of hamster previously tested for tinnitus following intense tone exposure. *Neurosci. Lett.* 355:121-125
- Kelly JB, Rooney BJ, Phillips DP (1996) Effects of bilateral auditory cortical lesions on gap-detection thresholds in the ferret (*Mustela putorius*). *Behav Neurosci* 110: 542-550.
- Kemp S, Plaisted ID (1986) Tinnitus induced by tones. *J Speech Hear Res* 29(1): 65-70.
- Kemp DT (2002) Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull* 63: 223-241.

- Lenoir M, Bock GR, Pujol R (1979). Supra-normal susceptibility to acoustic trauma of the rat pup cochlea. *J Physiol (Paris)* 75: 521-524.
- Mazelová J (2003) Vliv hluku na sluchový systém a změny sluchu ve stáří. Doktorandská disertační práce z oboru neurovědy. ÚEM AVČR.
- Miller J, Canon B, Flock A (1985) High intensity noise effect on stereocilia mechanics. *Assoc Res Otolaryngol* 8: 50.
- Myška P (2004) Vyšetřování sluchu u dětí v raném i pozdějším věku. *Vox paediatric* 9: 18-19.
- Novotný M, Hahn A (1997) *Závratě - diagnostika a léčba*. Aesophus Verlag, Stuttgart: 158.
- Ouda L, Druga R, Syka J (1964) Changes in glutamate decarboxylase immunoreactivity in the rat central auditory system following noise exposure.
- Plomp R (1964) Rate of decay of auditory sensation. *J Acoust Soc Am* 36:227-282.
- Popelář J, Syka J, Berndt H (1987) Effect of noise on auditory evoked responses in awake guinea pig. *Hear Res* 26: 239-247.
- Rybalko N, Syka J (2001) Susceptibility to noise exposure during postnatal development in rats. *Hear Res* 155: 32-40.
- Rybalko N, Syka J (2005) Effect of noise exposure on gap detection in rats. *Hear Res* 200: 63-72.
- Salvi RJ, Saunders SS, Gratton MA, Arehole S, Powers N (1990) Enhanced evoked response amplitudes in the inferior colliculus of the chinchilla following acoustic trauma. *Hear Res* 50: 245-258.
- Salvi RJ (1999) Evidence of hyperactivity in the central auditory pathway following cochlear damage. *Proceedings of the 2nd Symposium on Molecular mechanism in Central Auditory Function and Plasticity*, Park City, UT: 52.
- Saunders JC, Bock GR, James R, Chen CS (1972) Effects of priming for audiogenic seizure on auditory evoked response in the cochlear nucleus and inferior colliculus of BALB-c mice. *Exp Neurol* 37: 388-394.
- Saunders JC, Dear SP, Flock A (1986a) Growth of threshold shift in hair-cell stereocilia following overstimulation. *Hear Res* 23:245-255.
- Saunders JC, Dear SP, Flock A (1986b) Changes in stereocilia micromechanics following overstimulation in metabolically blocked hair cells. *Hear Res* 24:217-225.
- Saunders JC, Flock A (1986) Recovery of threshold shift in hair cell stereocilia following exposure to intense stimulation. *Hear Res* 23: 233-243
- Syka J (1981) *Fyziologie a patofyziologie zraku a sluchu*. Avicenum zdravotnické nakladatelství, Praha. Str. 161-262.
- Syka J (1989) Experimental Models of Sensorineural Hearing Loss – Effects of Noise and Ototoxic Drugs on Hearing. In: *Sensory Physiology* 9, str.97-170. Ottoson D (ed), Springer-Verlag.
- Syka J (2002) Plastic Changes in the Central Auditory System After Hearing Loss, Restoration of Function, and During Learning. *Physiol. Rev.* 82: 601-636.
- Syka J, Rybalko N, Popelář J (1994) Enhancement of the auditory cortex evoked responses in awake guinea pigs after noise exposure. *Hear Res* 78: 158-168.
- Syka J, Rybalko N (2000) Threshold shifts and enhancement of cortical evoked responses after noise exposure in rats. *Hear Res* 139:59-68.
- Syka J, Rybalko N, Mazelová J, Druga R (2002) Gap detection threshold in the rat before and after auditory cortex ablation.

Szczepaniak WS, Moller AR (1996) Evidence of neuronal plasticity within the colliculus after noise exposure: a study of evoked potentials in the rat. EEG Clin. Neurophysiol. 100: 158-164

Willot JF, Lu SM (1982) Noise-induced hearing loss can alter neural coding and increase excitability in the central nervous system. Science 216: 1331-1334.