

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ANTROPOLOGIE A GENETIKY ČLOVĚKA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**DETEKCE PAUZY V ŠUMU U POTKANA ZA NORMÁLNÍCH
PODMÍNEK A PO AKUSTICKÉM TRAUMATU**

Vypracovala: Bc. Markéta Horáková

Vedoucí práce: RNDr. Natalia Rybalko, CSc.

Garant: RNDr. Blanka Vacková, CSc.

Září 2006

Především bych ráda poděkovala své školitelce, RNDr. Natalii Rybalko, CSc za její odborné a trpělivé vedení při psaní této diplomové práce.

Rovněž děkuji RNDr. Jiřímu Popelářovi, CSc. za podporu a pomoc v provedení experimentální části této práce, prof. MUDr. Josefu Sykovi, DrSc. za poskytnutí cenných připomínek, Janu Setničkovi za pomoc při zpracování výsledků a celému oddělení neurofyzologie 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 a mé rodině za 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 11.9.2006



.....
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
- 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
- GDDL, gap duration difference limen – práh diskriminace trvání pauzy
- IHC, inner hair cell – vnitřní vlásková buňka
- MLR, middle-latency responses – akustickým podnětem vyvolané odpovědi se střední latencí
- DCN – nucleus cochlearis dorsalis
- OAE – otoakustické emise
- OHC, outer hair cell – vnější vlásková buňka
- PTS, permanent threshold shift – stálý vzestup sluchového prahu
- SOAE – spontánní otoakustické emise
- TEOAE – tranzientní (klikem vyvolané) otoakustické emise
- TTS, temporary threshold shift – dočasný vzestup sluchového prahu

OBSAH

1. Úvod	1
2. Teoretická část	2
2. 1. Struktura a funkce sluchového systému	2
2. 2. Sluchové receptory	3
2. 3. Základní parametry sluchové funkce	4
2. 4. Vyšetření sluchu u člověka	4
2. 4. 1. Metody subjektivní audiometrie	5
2. 4. 2. Metody objektivní audiometrie	7
2. 5. Vyšetření sluchu u experimentálních zvířat	8
2. 5. 1. Elektrofyziologické metody	8
2. 5. 2. Behaviorální metody	9
2. 5. 2. 1. Podmiňovací behaviorální metody s pozitivním posílením	10
2. 5. 2. 2. Podmiňovací behaviorální metody s negativním posílením	11
2. 6. Studium časového rozlišení behaviorálními metodami	12
2. 6. 1. Detekce pauzy v šumu (Gap detection)	12
2. 6. 1. 1. Práh detekce pauzy v šumu – GDT (Gap Detection Threshold)	12
2. 6. 1. 2. Podněty pro stanovení GDT	13
2. 6. 1. 3. Parametry podnětu ovlivňující hodnoty GDT	13
2. 6. 2. Diskriminace dvou pauz o různém trvání v šumu (Gap discrimination)	13
2. 7. Potkan jako experimentální subjekt	14
2. 8. Vliv hluku na člověka	15
2. 8. 1. Celkové účinky hluku na organismus	15
2. 8. 2. Nepříznivé účinky hluku na sluchový orgán	16
2. 8. 2. 1. Posun sluchového prahu (Threshold Shift)	17
2. 8. 2. 2. Tinnitus	18
3. Cíle	21
4. Materiál a metody	23
4. 1. Testovaná zvířata	23
4. 2. Behaviorální aparát	23
4. 3. Proces trénování a testování detekce pauzy v šumu	25
4. 3. 1. 1. Fáze experimentu : Trénink detekce pauzy v šum	26
4. 3. 2. 2. Fáze experimentu : Testování prahu pauzy v šumu – GDT	26
4. 4. Stimuly a akustická stimulace	28
4. 5. Hodnocení výkonu	29
4. 6. Hluková expozice	31
5. Výsledky	33
5. 1. Trénink detekce pauzy v šumu u laboratorních potkanů	33
5. 2. Stanovení prahových hodnot pro detekci pauzy v šumu (GDT)	39
5. 3. Účinek 1. hlukové expozice o intenzitě 118 dB SPL	39
5. 4. Účinek 2. hlukové expozice o intenzitě 122 dB SPL	43
6. Diskuse	51
7. Závěr	55
8. Citace	58

1. ÚVOD

Sluch patří mezi základní smysly člověka. Pro člověka má sluch obrovský význam nejen po stránce vnímání zvuků, ale zároveň i pro prostorovou orientaci a především umožňuje dorozumívání a styk s ostatními lidmi. Sluch a porozumění lidské řeči je jednou ze základních schopností člověka, která je předpokladem plnohodnotné integrace jednotlivce ve společnosti. Sluch slouží k rozvíjení myšlenkového a citového života a poskytuje estetické zážitky. Sluchový systém je těsně spojen s řečí a řečová funkce je jednou z nejdůležitějších. Poznání sluchové funkce mozku nám otevírá cestu k poznání řečové funkce a k poznání složitých, tzv. kognitivních funkcí. Studium sluchu a faktorů, které jej ovlivňují, představuje jednu z mnoha oblastí vědního světa, které jsou stále zájmem usilovného bádání vedoucím ke snaze dokonale porozumět mechanismům sluchového systému (Syka, 1981).

Funkce sluchového systému se hodnotí prostřednictvím vyšetřovacích metod.

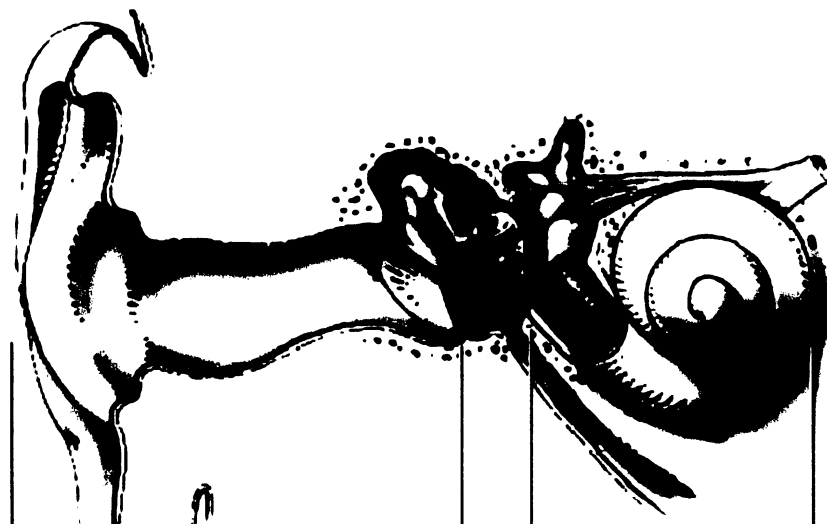
Pro studium funkce sluchového systému se využívají dva hlavní přístupy. První přístup, psychoakustický, předpokládá výpověď subjektu o zvukovém vjemu a patří mezi metody subjektivní. Tento přístup se uplatňuje při studiu sluchu u člověka. Jeho analogií je psychofyzické hodnocení sluchu u zvířat pomocí metod behaviorálních.

Druhý přístup je založen na objektivním posouzení stavu sluchu na základě registrace elektrofyzilogických reakcí na akustické stimuly (registrace korových a kmenových potenciálů). Tyto metody jsou vhodné především při vyšetření sluchu u malých dětí, kdy je obtížné navázat kontakt a získat informaci o subjektivním vjemu, u lidí s kombinovanými defekty (například poruchami sluchu spojenými s mentálním postižením) a v případech agravace nedoslýchavosti nebo simulace hluchoty. Objektivní hodnocení sluchu se často používá v experimentech na zvířatech.

Vyšetřování sluchu za normálního stavu dovoluje zjistit normativní charakteristiky sluchového systému, které jsou důležité pro zjištění patologie sluchu a jeho zhodnocení. Naše znalosti o fungování sluchového systému i o základních sluchových funkcích jsou v značné míře postaveny na analýze klinických případů a experimentech na zvířatech, které umožňují modelování různých forem patologie sluchu.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2. 1. Struktura a funkce sluchového systému



Obr. : Schéma vnějšího, středního a vnitřního ucha

Sluchový orgán slouží k vnímání zvuků ve slyšitelném pásmu. Slyšení je odraz zvuků ve vědomí, tj. ve funkčně nejvyšších oblastech centrální nervové soustavy. Zvuk je v podstatě kmitání, které je sluchový orgán schopen registrovat. Podnětem pro sluch jsou zvukové vlny, tj. podélné kmitání molekul vzduchu. Zvuková vlna, neboli miniaturní změna tlaku vzduchu, je zachycena ušním boltcem a vedena zvukovodem k ušnímu bubínku. Bubínek se vlnou uvede do nepatrných mechanických vibrací. Za bubínkem se nacházejí sluchové kůstky – kladívko, kovadlinka a třmínek. Tyto kůstky zachycují vibrace a vedou je dál do hlemýždě (kochley). Prostřednictvím komplikovaného systému vzájemných protipohybů a síly nepatrných svalů ve středním uchu mohou být tyto vibrace u silných zvuků zeslabeny. Nepatrné vibrace bubínku se přivádějí pohyby třmínku na oválné okénko kochley, která je naplněna tekutinou. Tato tekutina je uvedena do vlnovitého pohybu – krátké vlny pro vysoké tóny a dlouhé vlny pro hluboké tóny. Mechanické vibrace se tímto přeměnily na vlny tekutiny. V hlemýždi se nacházejí smyslové buňky, tzv. vláskové. Tyto buňky fungují jako detektory pohybu. Vždy podle vlnové délky se tyto smyslové buňky maximálně podráždí a převádějí

mechanickou energii těchto vln na elektrickou. Vysoké frekvence dráždí buňky při vchodu hlemýždě (tj. v bazálním závitě hlemýždě), nízké frekvence na vrcholu hlemýždě (apexu). Elektrická energie, jež byla převedena vnitřními vláskovými buňkami z mechanické energie, se převádí do mozku nervovými drahami. V mozku probíhají nervové dráhy různými jádry, kde se nervový signál zpracovává. Ve spánkovém laloku mozkové kůry leží nejvyšší sluchové centrum, kde nervové impulsy identifikujeme jako zvukový vjem. Nervová cesta od vnitřního ucha až k mozku se označuje jako sluchová dráha. (Thora a Goebel, 2002)

2. 2. Sluchové receptory

Vlastním sluchovým smyslovým orgánem člověka je Cortiho orgán uložený v hlemýždi vnitřního ucha. Spirálovitě stočená trubice kostěného hlemýždě je rozdělena membránami blanitého hlemýždě (Reissnerovou a bazilární membránou) na scala vestibuli a scala tympani vyplněné perilymfou, uvnitř blanitého hlemýždě je scala media obsahující endolymfu. Na bazilární membráně je uložen **Cortiho orgán**, který obsahuje specializované sluchové receptory – **vnitřní a vnější vláskové buňky** (IHC, inner hair cell; OHC, outer hair cell). Vlásokové buňky jsou uspořádány do podélných řad. Blíže k modiolu (centrálnímu kostěnému sloupku hlemýždě) je jedna řada vnitřních vláskových buněk (u člověka je jich přibližně 3,5 tisíce), blíže k zevní stěně hlemýždě jsou 3 řady vnějších vláskových buněk (okolo 12 tisíc buněk). Zvukové vlny, které jsou prostřednictvím bubínku a sluchových kůstek převedeny do tekutého prostředí hlemýžde dráždí podle své vlnové délky smyslové buňky v závislosti na umístění podél bazilární membrány. **Vnější vláskové buňky** zvyšují citlivost sluchu, tj. slouží k tomu, aby zvuková vlna mohla lépe nebo hůře přejít na **vnitřní vláskové buňky**. Vlásokové buňky mohou být poškozeny různým způsobem (léky, infekčním onemocněním), z čehož nejčastější poškození je poškození hlukem. Této problematice se podrobněji věnuji v kapitole Patologie sluchového systému. (pro přehled Thora, Goebel, 2002)

2. 3. Základní parametry sluchové funkce

K základním charakteristikám sluchu patří **sluchový práh, rozlišení intenzitních, frekvenčních, časových parametrů** zvukových stimulů

1. Sluchový práh

Sluchový práh je definován jako minimální intenzita zvuku při určité frekvenci, kterou je subjekt s normálním sluchem schopen vnímat. Frekvenční rozsah sluchu člověka je 16Hz – 20 kHz. Lidský sluch je nejcitlivější ve frekvenční oblasti 1-5 kHz, která je zároveň i frekvenční oblastí lidské řeči (Syka, 1981). Frekvenční rozsah sluchu zvířat se liší od rozsahu člověka a je značně determinován způsobem jejich života.

2. Rozlišovací frekvenční práh

Práh rozlišení frekvencí, neboli *difference limen* pro frekvenci, je minimální postřehnutelná změna ve frekvenci tónu, kterou subjekt ještě vnímá (Syka a kol., 1996).

3. Rozlišení časových parametrů

Nejčastěji používanou metodou posouzení rozlišování časových parametrů sluchových podnětů je test **detekce pauzy v šumu**, neboli *gap detekce*, který hodnotí schopnost detekovat krátké přerušení (tichý interval trvající několik milisekund) ve zvukovém signálu.

Dalším testem časového rozlišení ve sluchovém systému je vedle hodnocení schopnosti detekce pauzy v šumu také **diskriminace pauz o různé délce trvání** (Syka a kol., 1996).

2. 4. Vyšetření sluchu u člověka - Audiometrie

I když se zdá zcela logické a metodicky výhodné zkoumat funkci sluchového systému především na základě vnímání čistých tónů, jsou čisté tóny ve skutečnosti pro ucho nepřirozenými podněty, s nimiž se sluchový systém setkává jen výjimečně. Když odmyslíme šumy, které jsou významným zdrojem prostorové informace v každodenním životě, jsou to především zvuky lidské řeči, jež jsou svým složením značně rozdílné od

čistých tónů. I hudba je složena ve většině případů z komplexu tónů, který se v nejjednodušším případě skládá ze základního tónu a tónů harmonických. Schopnost rozlišování časových a frekvenčních parametrů zvuku hraje důležitou roli ve vnímání akustických signálů, jako je řeč nebo hudba (Syka, 1981).

Řeč se skládá z komplexních akustických stimulů měnící se ve frekvenci, intenzitě a čase. Schopnost vnímání řeči je převážně determinovaná schopností rozlišování frekvenčních a časových parametrů komplexních akustických stimulů. V běžném životě člověka schopnost rozlišení časových parametrů akustických stimulů znamená možnost postřehnout drobná přerušení v toku řeči, jako např. určení časové prodlevy hlásek, samohlásek, fonem a mezer mezi slovy.

Proto komplexní vyšetřování sluchu zahrnuje tónovou audiometrii, testování schopností časového a frekvenčního rozlišení ve sluchovém systému a řečovou audiometrii.

K vyšetřování sluchového systému se využívá dvou základních přístupů :

Metody subjektivní audiometrie, která vyžaduje aktivní spolupráci vyšetřovaného subjektu

Metody objektivní audiometrie, která spočívá v uplatnění metod elektrofyziologických bez aktivní spolupráce vyšetřovaného subjektu

2. 4. 1. Metody subjektivní audiometrie

- předpokládají výpověď pacienta o zvukovém vjemu, který byl stimulací vyvolán

- **Sluchová zkouška řeči**

Mezi běžné orientační vyšetřovací metody patří hodnocení sluchu pomocí řeči, které provádí lékař v nehlukné prostorné místnosti, alespoň 6m dlouhé, plným hlasem nebo šepem, s použitím slov obsahujících hlásky s nízkými, středními a vysokými formanty (Syka, 1981).

- **Sluchová zkouška ladičkami**

Zkouška sluchu ladičkami je klasická zkouška, která je v audiologické praxi stále využívána vedle rutinního audiometrického vyšetření sluchu. Z původně většího počtu ladičkových zkoušek se používají dnes především dvě : zkouška Weberova a Rinneho. Vyšetření ladičkami slouží k rozlišení percepční a převodní nedoslýchavosti (Syka, 1981).

- **Prahová audiometrie - tónová, slovní**

1. Tónová audiometrie

Tónová audiometrie umožňuje stanovení citlivosti sluchu pro podněty určitých frekvencí, rutinně jsou užívány frekvence 125, 250, 500 Hz a 1, 2, 4, 6, 8 kHz. Je to metoda závislá na spolupráci pacienta a jeho reakcích, je tedy metodou subjektivní a behaviorální, stanovuje citlivost sluchu jen na vybraných frekvencích (pro které musí být užívaný audiometr zkalibrován).

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

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

2. Slovní audiometrie

Slovní audiometrie umožňuje zhodnotit porozumění jednotlivým slovům. V zahraničí se kromě slovní audiometrie často používá řečová audiometrie, kdy podnětem mohou být celé věty či jednotlivé slabiky. V české slovní audiometrii vyšetřujeme srozumitelnost slov, které jsou uspořádány v seriích po desíti, tzv. dekádách. Dekády jsou foneticky vyvážené, slova jedno-, dvou- a třísylabná jsou v nich

zastoupena v poměru odpovídajícím jejich výskytu v českém jazyce (Seeman a kol., 1960), nejvíce jsou zastoupeny frekvence běžné řeči, tj. 0.5 – 2 kHz. Existuje i varianta slovní audiometrie určená dětem (dítě pouze ukazuje předměty, jejichž názvy slyší (Novák, 1998). Při vyšetření stanovujeme práh slyšitelnosti (kdy vyšetřovaný nerozumí, ale detekuje z 50% přítomnost slov), práh srozumitelnosti (Speech reception threshold, SRT, kdy vyšetřovaný správně určí 50% prezentovaných slov). Hodnotíme také sklon křivky závislosti srozumitelnosti na intenzitě podnětu a zda bylo dosaženo 100% srozumitelnosti.

2. 4. 2. Metody objektivní audiometrie

- nevyžadují aktivní účast vyšetřovaného subjektu
- spočívají především ve využití elektrofyziologických metod záznamu sluchu

- **Otoakustické emise**

Otoakustické emise (OAE, otoacoustic emissions) jsou velmi slabé zvuky, které jsou produkovány vibracemi v hlemýždi, a které lze objektivně zaznamenat v zevním zvukovodu (Kollár, 1992).

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

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

Otoakustické emise lze vyvolat jako odpověď na akustické podněty (transientní OAE – TEOAE a OAE distorzního produktu – DPOAE), mohou však být zaznamenány i bez akustické stimulace (spontánní OAE – SOAE).

- **Snímání kmenových a korových evokovaných potenciálů**

Prostřednictvím elektrofyziologických metod se zaznamenávají změny elektrické aktivity mozku. Mezi rutinně užívané metody objektivní audiometrie patří snímání a hodnocení **kmenových evokovaných potenciálů** (**brainstem evoked response audiometry** – **BERA**, viz např. Jewett, 1994), které spolu s **elektrokochleografií** (používanou před zavedením vyšetření otoakustických emisí k posouzení stavu kochley před indikací ke kochleární implantaci) a **CERA** (snímání **korových evokovaných potenciálů**, užívané zejména ve foniatrii a audiologii, viz např. Rosanowski a kol., 1996) patří k elektrofyziologickým metodám vyšetření sluchového systému.

Dnes je možné selektivně vyšetřovat téměř všechny úrovně sluchové dráhy na základě znalostí o latenci a amplitudě odpovědi a optimálním místě snímání.

Vyšetření sluchu za normálního stavu nám dovoluje zjistit normativní charakteristiky sluchového systému a zhodnotit je. Podle stanovených normativních charakteristik hodnotíme stav sluchu, zaměříme se na poškození sluchového systému a odhalíme jaké změny se odehrály. Významnou roli hrají při studiu sluchu pokusy na zvířatech.

Pokusy na zvířatech, jako např. morčatech, potkanech, myších, nám pomáhají pochopit jak funguje sluchový systém. Především slouží k modelování různých mechanismů vedoucích k patologii. To nám umožňuje pochopit patologický stav i celkové fungování sluchového systému.

2. 5. Vyšetření sluchu u experimentálních zvířat

Existují dva hlavní přístupy v hodnocení sluchového systému experimentálních zvířat – **elektrofyziologický a behaviorální**.

2. 5. 1. Elektrofyziologické metody

Hodnocení sluchu **elektrofyziologickými metodami** je totožné s již zmíněnými **objektivními metodami** využívanými při vyšetření sluchu u lidí. Jedná se především o záznam evokovaných potenciálů snímaných z mozkového kmene nebo ze sluchové

kůry. Pro vyloučení svalových artefaktů a pro umožnění zvukové stimulace se sluchové vyvolané odpovědi snímají u zvířat za celkové anestezie.

Druhým přístupem ve stanovení sluchu u zvířat je **přístup behaviorální**, který je analogický k **přístupu psychoakustickému** u lidí a vyžaduje bdělý stav subjektů.

2. 5. 2. Behaviorální metody

Behaviorální metody studují obecné principy učení živočichů. Ze studií vyplývá, že některé jednoduché formy učení lze pozorovat u všech organismů, např. **podmiňování**, jiné formy učení se vyskytují jen u některých živočišných druhů. Tento přístup se zaměřuje na učení podle vzorce **podnět (stimul) - S a reakce – R**, kdy působíme na zkoumaný subjekt podnětem a zaznamenáme jeho reakci. Jestliže je možno reakci upravovat posilováním, dochází k učení. Posilování se děje formou odměny za správné chování, nebo trestu za chování nesprávné. Chování není pro behaviorismus psychickou a fyzickou činností, ale reakcí lidského nebo zvířecího organismu na okolní prostředí. Behaviorální metody vycházejí ze dvou základních psychologických teorií.

Z teorie *klasického podmiňování* ruského psychologa I. P. Pavlova, která je založena na spojení dvou podnětů. Podnět, který vyvolává odezvu svojí povahou, nazval Pavlov *podnět nepodmíněný*. Druhý podnět je zprvu neutrální, když je opakovaně podán současně s nepodmíněným podnětem způsobí, že získává podnětovou účinnost. Takový podnět se nazývá *podmíněný*.

podnět (hlad) – reakce (nasycení)

Podle teorie *operantního podmiňování* amerického psychologa B. F. Skinnera. vytváří organismus spontánní chování, které není vyvoláno rozlišitelnými podněty. Takové prvky chování nazval *operanty*. Klíčovým pojmem je *zpevnění*. Pozitivním zpevněním je odměna, negativním zpevněním je odstranění nepříjemného podnětu. Je-li operant zpevněn, pravděpodobnost dalšího výskytu takového chování vzrůstá. Zpevňující činitel nahrazuje roli podnětu a zpevněné chování odpovídá podmíněné odezvě.

podnět – reakce – následek (odměna, trest)

Behaviorální metody využívané při akustických experimentech na zvířatech spočívají jednak na vyvolaných **nepodmíněných reflexních reakcích**, při kterých se zaznamenávají reflexy na hlasité zvuky o vysoké intenzitě (např. úleková reakce, škubnutí ušních boltců při tzv. Preyerově reflexu, mrknutí) a nebo v trénování zvířete reagovat na zvuk využitím **podmíněných reakcích**, kdy se registrují reakce na neutrální akustické stimuly, které se využívají při měření sluchového prahu. Tento stimul se studuje na základě podmíněných reakcí, které vyžadují dostatečnou motivaci zvířete. Té se dosahuje negativním, nebo pozitivním posílením daného stimulu. Při podmíněných reakcích je signální stimul asociován s negativním nebo pozitivním posílením.

2. 5. 2. 1. Podmiňovací behaviorální metody s pozitivním posílením

Pozitivním posílením rozumíme odměnu, za kterou se zvíře naučí na signální stimul reagovat. Zvíře odvádí práci (např. mačká na tlačítko) pokud je dostatečně motivováno dostat odměnu. K pokusu se tak využívá hladových nebo žíznivých zvířat, u kterých je dostatečná motivace pro získání odměny zaručena jejich stavem .

Behaviorální metoda využívající podmínek operantního podmiňování s pozitivním posílením spočívá v trénování hladových potkanů reagovat na akustický signál. Tato metoda byla využívána v laboratoři neurofyzologie sluchu v ÚEM AVČR jako nástroj pro určování sluchových prahu (Syka a kol, 2002, Rybalko a Syka, 2005, Syka a kol., 1996). Laboratorní zvířata měla během experimentu volný přístup k vodě, ale omezený přístup k tuhé stravě. Během pokusu byl hladový potkan umístěn do tzv. Skinnerova boxu se dvěma páčkami a automatickým krmítkem. Experiment spočíval v natrénování zvířete stisknout startovací páčku a vyčkat na zvukový stimul, jehož registraci muselo zvíře potvrdit stisknutím druhé páčky. Po stisknutí startovací páčky se testovací stimul ozval po různě dlouhém intervalu (jeho délka byla řízena počítačovým programem). Pokud potkan stiskl v průběhu testovacího stimulu druhou páčku, získal jako odměnu peletu. Tato reakce byla hodnocena jako správná a zvíře bylo odměněno peletou. Jestliže potkan zmáčkl druhou páčku před nebo po podnětu, nebo ji nezmáčkl vůbec, odměnu nedostal a po trestné pauze musel celý postup opakovat.

Z literárních údajů vyplývá, že trénink zvířat potřebný pro detekci akustického stimulu trval 2-4 týdny. V první fázi byl potkan cvičen jít po zmáčknutí druhé páčky k okénku automatického krmítka, otevřít ho a tak získat peletu. V další fázi tréninku se zvířata postupně naučila, že odměnu dostanou jen tehdy, když stisknou první páčku, vyčkají až zazní zvukový podnět a potom zmáčknou druhou páčku. Po natrénování zvířat správně reagovat na zvukový stimul byla jeho délka zkracována až na prahovou hodnotu, kterou bylo zvíře ještě schopno detekovat .

2. 5. 2. 2. Podmiňovací behaviorální metody s negativním posílením

V případě **negativního posílení** je stimul spojen s trestem. Využívá se většinou mírný elektrický šok. Tento přístup je založen na metodě vyhýbání se „*avoidance*“, kdy je zvíře trénováno vyhnout se reakci na zvukový stimulus, po kterém by následoval elektrický šok. Zde se rovněž využívá hladových či vyžízněných zvířat, která pijí při stimulech bezpečných a na stimul signální – např. pauzu v šumu, činnost přeruší.

Behaviorální metoda využívající podmínek podmiňování s negativním posílením spočívá v trénování žíznivých potkanů reagovat na akustický signál. Potkani jsou trénováni po zaznění testovaného zvukového signálu přestat pít. Pro docílení takové reakce je zvukový signál spojen s mírným elektrickým šokem, který je spuštěn v případě, že zvíře na zvukový stimul nezareaguje (viz. Materiál a Metody).

Podmíněné reakce jsou citlivější než reakce nepodmíněné, neboť zvíře je na úkol pečlivě trénováno. Navíc nám tyto reakce poskytují možnost studovat jak detekci zvuku, tak i diskriminaci různých parametrů zvuku. Podmíněné metody jsou na druhou stranu náročnější na čas, neboť před samotným testováním sluchu je nutné období tréninku, které je nezbytné pro natrénování zvířete naučit ho reagovat na stimul. Naproti tomu většina testů, které využívají nepodmíněné reflexy, jsou omezené pouze k určení schopnosti slyšet hlasité zvuky.

Základním programem jakéhokoli sluchového testu je, že zvíře provádí jasně srozumitelnou odpověď, když zazní stimul a odlišnou odpověď v případě, že se stimul neobjeví, nebo se objeví stimul rozdílný. I když je možné určit odpověď subjektu na základě přímého pozorování, je vhodnější využívat během experimentu automatického monitorovacího systému odpovědí, které bude veškeré reakce zvířete zaznamenávat

s maximální přesností. Pro docílení bezchybného testování subjektů je nutné zajistit takové podmínky, které vyloučí působení jakýchkoli vedlejších podnětů ovlivňujících výkon. Může se jednat o nevyhovující akustické prostředí, které může výkon zvířete snížit, či vliv náhodných reakcí, nebo přizpůsobení se zvířete opakujícímu se rytmu stimulů, které naopak výkon zvýší bez ohledu na odpovídající schopnosti subjektu.

Zvířata by měla na stimuly odpovídat jasně a jakákoliv odchylka či změna v testování by se neměla negativně projevit na jejich výkonu.

Jednou z možností využívanou při testování sluchu behaviorální metodou je **metoda detekce pauzy v šumu** (Syka a kol., 2002).

2. 6. Studium časového rozlišení behaviorálními metodami

2. 6. 1. Detekce pauzy v šumu (*Gap detection*)

Detekce pauzy (anglicky „*gap*“) v šumu nám udává schopnost časového rozlišení (*temporal resolution*) ve sluchovém systému. Snížené časové rozlišení a snížené rozlišení frekvenční může zhoršovat porozumění řeči. Schopnost registrace pauzy v šumu a určení prahu pro detekci pauzy v šumu je většinou studována metodou operantního podmiňování (Rybalko a Syka, 2005, Syka a kol., 2002).

2. 6. 1. 1. Práh detekce pauzy v šumu – GDT (*Gap Detection Threshold*)

Práh pauzy v šumu, neboli **GDT**, je minimální pauza, kterou je subjekt schopen ve zvukovém signálu detekovat. Pokud dojde ke zvýšení prahu GDT, je porušena schopnost rozlišovat **časové parametry** zvuku a vzniká porucha ve vnímání řeči. Měření GDT se využívá v klinické praxi a na zvířecích modelech při studiu **časového rozlišování** ve sluchovém systému. Jedná se o účelný nástroj pro hodnocení frekvenčních a časových parametrů sluchu. Odhad GDT u člověka i zvířat je předmětem mnoha studií prováděných u klinických případů a experimentů na zvířatech počínaje prací Plompa (1964). Prahy detekce pauzy ve zvukovém signálu byly behaviorálními metodami studovány rovněž u četných živočišných druhů. Výsledky behaviorálních testů schopností *gap* detekce u experimentálních zvířat nám udávají hodnoty 2 ms u CBA myši, u činčil v rozsahu od 2,6 ms do 3 ms, kolem 10 ms u fretky a 2,5 ms u

ptáků. Nejnižší GDT u potkanů, měřené za optimálních podmínek (v širokopásmovém šumu o intenzitě kolem 40 dB SPL) metodou operantního podmiňování, se pohybovaly kolem 1,6 ms (Syka a kol., 2002).

Informace o normativních parametrech GDT jsou důležité pro odhalení patologie v časovém rozlišování a pro zhodnocení různorodosti takového postižení. Studie porušené detekce pauzy v šumu, zjištěné buď v klinických případech nebo experimentálně vyvolané u zvířat, nám dovolují získat potřebné informace pro porozumění příčin poruchy časového rozlišení.

2. 6. 1. 2. Podněty pro stanovení GDT

Akustickým podnětem, ve kterém se vyskytují pauzy, je obvykle kontinuální signál. Záleží na spektru pozadí, ve kterém pauza vzniká. Může se jednat o širokopásmový šum, úzkopásmový šum nebo čistý tón. Snad nejčastěji je užíván širokopásmový šum. Měření v optimálních parametrech pozadí odpovídá šum nad 50 dB SPL (Syka a kol., 2002).

2. 6. 1. 3. Parametry podnětu ovlivňující hodnoty GDT

Četné studie dokumentují, že GDT závisí na frekvenčním spektru a intenzitě kontinuálního šumu do kterého jsou pauzy vloženy (Penner, 1977; Tyler a kol., 1982; Green a Forrest, 1989). Optimálního rozlišení dosáhneme u lidí zvukovými podněty o intenzitě nejméně 30-40 dB SPL na frekvencích od 5 – 6 kHz (Fitzgibbons, 1983). Minimální GDT u člověka byl zaznamenán při těchto parametrech a trval 2-3 ms (Plomp, 1964, Fitzgibbons, 1983). Při nižších frekvencích a intenzitách jsou prahy detekce pauzy vyšší.

U potkana byly zjištěny hodnoty GDT $1,6 \pm 0,1$ ms při detekci pauzy v kontinuálním šumu a $2,8 \pm 0,2$ ms při detekci pauzy v nízkofrekvenčním šumu o intenzitě 70 dB SPL (Rybalko a Syka, 2005).

2. 6. 2. Diskriminace dvou pauz o různém trvání v šumu (*Gap discrimination*)

Metoda diskriminace dvou různě dlouhých pauz v šumu je využívána k posouzení schopnosti rozlišovat pauzy s různou délkou trvání. Tato schopnost je důležitá pro

vnímání řeči, neboť jak bylo uvedeno výše, slovní projev je charakteristický svými rapidními změnami v oblasti kolísání časových parametrů, intenzity a frekvence. Pro hodnocení schopnosti k diskriminaci trvání pauzy se stanoví **práh diskriminace trvání pauzy** (neboli *gap duration difference limen- GDDL*). GDDL se definuje jako minimální změna postřehnutelná subjektem v délce pauzy (Syka a kol., 1996, Talwar a Gerstein, 1998). Úkol spočívá v natrénování subjektů rozlišovat mezery o délkách 15 ms a 60ms a posléze stanovit GDDL zkracováním délky pauzy z původních 60 ms až na prahově rozeznatelnou hodnotu rozdílu mezi oběma pauzami.

2. 7. Potkan jako experimentální subjekt

Potkan je adekvátní subjekt vhodný pro behaviorální pokusy. Má relativně malé rozměry, jeho chov je finančně nenáročný, dobře se učí a je neagresivní. Co se týká sluchu, jeho sluchový rozsah je však ve srovnání s člověkem posunut do oblasti vysokých frekvencí

Člověk je schopen vnímat zvuky o kmitočtu 16 Hz až 20 kHz. Všechno nad 20 kHz nazýváme ultrazvuk. Proto mají potkani z našeho pohledu schopnost slyšet „ultrazvukově“, jelikož jsou schopni vnímat zvuky v rozmezí 500 Hz až 60 kHz. Zvuky o frekvenci 30 – 50 kHz vydávají potkani mláďata když chtějí přivolat matku nebo po nich matka šlape. Krátké zvuky o vysoké frekvenci vydávají potkani, jsou-li v nějaké příjemné situaci (např. před krmením). Přijímání a vyluzování zvuků hraje roli také v sexuálním chování.

Z literárních údajů je známo, že laboratorní potkani začínají slyšet ve věku 12 dní po narození a jejich sluchová dráha je morfologicky i funkčně dozrálá v období 6 ti týdnů po narození (Lenor a kol., 1980, Roth a Bruns, 1992, Blatchley a kol., 1987). Z předchozích experimentů se však zjistilo, že mladí potkani do věku 5-6 týdnů jsou výrazně citlivější k účinkům hluku než dospělí jedinci (Rybalko a Syka, 2001).

Při porovnání sluchových charakteristik člověka a potkana je zřejmé, jak jsou tyto parametry ovlivněny schopností k vnímání vysokých frekvencí.

2. 8. Vliv hluku na člověka

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.

Faktor subjektivní hlasitosti je tak důležitým faktorem při posuzování vlivu hluku na lidský organismus. Je možné ho posuzovat podle křivek stejné hlasitosti, v závislosti na frekvenčním obsahu hluku. Hluk nemá kontinuální frekvenční pásmo a jednotlivé složky hluku se navzájem maskují. Většina hluků, zejména moderních průmyslových a dopravních hluků obsahuje značné množství impulsních krátkodobých zvuků, které se vyskytují nepravidelně, což se jeví jako problém při stanovování akustického tlaku impulsního hluku. Dalším důležitým faktorem, který má význam při posuzování vlivu hluku na lidský organismus, je faktor času a při dlouhodobém pobytu v hlučném prostředí je nutné počítat s kumulativním účinkem hluku (Syka, 1981).

2. 8. 1. Celkové účinky hluku na organismus

Hluk se stal závažným zdravotním problémem civilizované společnosti, neboť rušivě zasahuje do mnohých oblastí našeho života. Hluk působí na všechny orgánové systémy prostřednictvím centrálního nervového systému. Negativně ovlivňuje psychickou i fyzickou kondici člověka, působí přes mozková centra na komplex žláz s vnitřní sekrecí a centra pro řízení autonomních reakcí. Hluk vyvolává aktivaci organismu až úlekovou reakci a stav vzrušení. Při nadměrném vlivu hluku na organismus mohou vznikat :

- funkční poruchy v aktivaci centrálního nervového systému, vyvolávající vegetativní, hormonální nebo biochemické reakce a poruchy spánku;
- funkční poruchy motorických funkcí, jako je změna zrakového pole a poruchy koordinace pohybu vedoucí k vyšší úrazovosti;
- funkční poruchy emocionální rovnováhy.

Vegetativní poruchy, vzniklé na základě akustického traumatu, jsou zpravidla změny reverzibilního rázu. Při dlouhotrvajícím a opakujícím se porušení neurovegetativního systému a regeneračních funkcí organismu mohou nastat závažné změny. Reakce nejsou závislé na subjektivním vnímání hluku. V psychické oblasti je

vliv hluku nejsložitější. U neurotických osobností může zhoršit rovnováhu nervové soustavy ve smyslu zvýšené dráždivost, nespavosti, bolestí hlavy, snížení pozornosti a paměti. Je jednoznačně prokázáno, že expozice hluku vyvolává akutní zvýšení tepové frekvence a krevního tlaku. Dlouhodobá expozice nadměrnému hluku je spojena i s rizikem kardiovaskulárních onemocnění.

2. 8. 2. Nepříznivé účinky hluku na sluchový orgán

V popředí zájmu vědeckých lékařských studií je škodlivý účinek hluku na sluchový orgán. Dosud je to nejprokazatelnější ukazatel škodlivosti hluku na zdraví člověka, který dokážeme zároveň i kvantitativně posoudit. Sluchový orgán patří mezi nejdůležitější smyslové orgány. Velmi citlivě reaguje na zvukové podněty a jakmile intenzita zvuku v blízkosti sluchového orgánu převyšuje kritickou hladinu 85 dB, snadno se poškodí. Škodlivost působení hluku na sluch je závislá na obou základních fyzikálních parametrech, tj. hladině hluku a frekvenčním složení. Pro poškození sluchu je pravděpodobně rozhodující *hladina hluku a délka expozice*. Hluk vysokých hladin a frekvencí byl na základě těchto zjištění označen pro riziková hlučná pracoviště za *profesionální škodlivinu* a prokazatelné poškození sluchu provozním hlučím se odškodňuje jako *nemoc z povolání*. Kromě fyzikálních faktorů je poškození sluchu ještě závislé na individuální citlivosti a psychogenních faktorech, celkové životosprávě, režimu práce a odpočinku, celkové délce expozice v hlučném prostředí.

Při zatížení sluchového orgánu dochází k **adaptačním jevům**, které se projevují snížením citlivosti sluchu. Pod obrazem návyku může být škodlivé působení zastřeno a pomalu vznikající chorobné změny mohou zůstat dlouho nepoznány. **Adaptace** je rychle vznikající a mizející přizpůsobení citlivosti sluchového orgánu na odpovídající sluchový podnět.

Déle trvající zvýšení sluchového prahu po předchozím zatěžování intenzivním hlučím nazýváme **únavou sluchu**. Po skončení zvukového podnětu přetrvává únava v závislosti na její velikosti v době od 1/2 minuty až po několik hodin.

Je-li člověk vystaven působení dvou zvuků nestejně hlasitosti dochází ke snížení vnímání zvuku slabšího, tento jev se nazývá **maskování**.

Při kumulaci únavy se doba jejího odeznění prodlužuje na několik hodin až dní. Taková situace hraničí s vyčerpáním adaptačních mechanismů a označujeme ji jako

přetížení sluchu. Vážnou známkou přetížení jsou šelesty, pískání v uších nebo šumy. Při delší expozici pak může dojít až k poruše činnosti a k zániku smyslových buněk a vznik **chronického akustického traumatu.** Tzv. **akustické trauma** je poškození sluchu, při kterém velmi hlasitý, krátký zvuk, jako exploze nebo výstřel, ale rovněž trvalý hluk nebo hlasitá hudba který může způsobit trvalou a neléčitelnou nedoslýchavost.

2. 8. 2. 1. Posun sluchového prahu – Threshold Shift

Pokud jsme vystaveni po určitou dobu expozici silného zvuku, následně se nám sníží citlivost sluchu. Důsledky působení nadměrného hluku jsou obvykle posuzovány podle změn audiometrického prahu. Toto snížení citlivosti sluchu může být dočasné a normální citlivost se může navrátit po několika minutách nebo hodinách. Tento fenomén se proto označuje jako dočasný posun sluchového prahu (*Temporary Threshold Shift – TTS*). Pokud k TTS fenoménu dochází znovu a znovu, posun se stává trvalým (*Permanent Threshold Shift – PTS*), a značí zničení vláskových buněk ve vnitřním uchu. Obecně platí, že hluk o vyšších frekvencích vyvolává větší vzestup prahu nežli hluk o nižších frekvencích odpovídající intenzity. 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, klesá s frekvencí hluku od zhruba 77 dB SPL na oktávovém pásmu 250 Hz, k 65 dB SPL na oktávovém pásmu 4 kHz. TTS dosahuje nejvyšších hodnot těsně (2 minuty) po hlukové expozici (TTS_2), pak v čase klesá, regenerace původního sluchového prahu by měla nastat (pokud TTS_2 nedosáhne zhruba 40 dB) do 16 hodin. Pokud se TTS_2 přiblíží hodnotě 40 dB, je pravděpodobné, že návrat k původním hodnotám sluchového prahu bude neúplný a výsledkem akustické traumy bude PTS, a nebo bude návrat k původním hodnotám prahu probíhat opožděně (Syka a Rybalko, 2000).

Histologickým podkladem posunů prahu, kromě mechanického poškození vláskových buněk, zejména jejich stereocilií, což vede ke změně jejich mikromechanických vlastností (Saunders a kol., 1986), je pravděpodobně akutní destrukce nervových zakončení na spodině IHC a přerušení kontaktu IHC – synapse. K poškození dendritů dochází v důsledku nadměrného uvolnění glutamátu

(neurotransmitteru na synapsích IHC – aferentní neuron) a/nebo poruchy jeho zpětného vychytávání ze synaptické štěrbiny. V závislosti na stupni postižení lze zaznamenat regeneraci dendritů a znovuvytvoření synapsí a tudíž i obnovení funkce, nebo může dojít až k odumření neuronu (Puel a Pujol, 1998; Puel a kol., 1998).

2. 8. 2. 2. Tinnitus

Častým průvodním jevem sluchových poruch způsobených hlukem je vedle posunu sluchového prahu i vznik velmi nepříjemného subjektivního šelestu, zvaný tinnitus (Kemp a Plaisted, 1986, Chermak a Dengerink, 1987, Bauer a Brozowski, 2001).

Termín tinnitus je odvozen z latinského slova tinnere, které znamená zvonění, cinkání nebo šelest. Tinnitus je možné definovat jako zvonění v uších, které není vyvoláno vnější příčinou.

Latinské sloveso "tinnire" znamená zníti.

Toto slovo však v medicíně není chápáno jako vnímání příjemných zvuků kolem nás. Je součástí široké škály zvuků (pískavé, hučivé, šumivé, pravidelné, nepravidelné), které některým z nás dokážou pořádně znepříjemnit život.

Tinnitus je vjem zvuku v jednom uchu, v obou uších nebo v hlavě, u kterého neexistuje zevní zdroj. Může být vnímán jako zvonění, bzučení, syčení, pískání, tepání, dunění, hučení, zvuk cikád či jako jiný zvuk. Tinnitus může být vnímán jako jednoduchý zvuk nebo jako množství různých zvuků. Tinnitus jako takový nelze zaznamenat a nepůsobí bolest. Je velmi často obtížné pro toho, kdo nemá zkušenosti, uvědomit si devastující podstatu těžkého tinnitu. Množství lidí trpících tinnitem, zvláště v tichém prostředí, je veliké. Udává se, že 15–30 % populace má zkušenost s touto obtíží. Skutečně vážnou zátěží je pro 2 % populace, zásadní zásah do života představuje u 0,1 až 0,5 % osob.

Tinnitus lze podle závažnosti postižení rozčlenit do tří tříd:

- **tinnitus 1. stupně** je lehkou formou tohoto postižení, kterou trpí nejvíce lidí, a se kterou v běžném životě mohou bez větších problémů žít.
- **tinnitus 2. stupně** je natolik obtěžující, že se u většiny osob projevují problémy s usínáním

- **tinnitus 3. stupně** způsobuje postiženým osobám každodenně neustálé problémy. Tinnitus se dostal hluboce do jejich podvědomí a způsobuje problémy soustředění a těžké poruchy spánku. Z toho vyplývají potíže v pracovním a společenském životě.

Příčiny vzniku tinnitu

U **primárního tinnitu** je příčina lokalizována do oblasti vnitřního ucha, sluchových drah či center v mozku.

Sekundární tinnitus má jinou lokalizaci příčiny, například v zevním zvukovodu (mazová zátka), Eustachově trubici, ve středouší (opakované středoušní záněty) či v krční pateři. Na vzniku tinnitu se mohou podílet též metabolická onemocnění (diabetes, poruchy metabolismu lipidů), endokrinologická onemocnění (štítná žláza) či hormonální změny (menopauza, těhotenství).

Nejčastější příčinou vzniku ušních šelestů je však nadměrné přechodné zatížení hlukem (třesk, návštěva diskotéky či rockového koncertu), či dlouhodobý pobyt v hlučném prostředí!

Mechanismus vzniku tinnitu

Původ tinnitu je stále předmětem zkoumání. Tinnitus lze u experimentálních zvířat uměle vyvolat intenzivním hlukem nebo účinkem léků. Se záměrem porozumět patologickým mechanismům tinnitu se zkoumá, které části mozku jsou u těchto zvířat aktivní. Překvapivě se ukázalo, že sluchový nerv těsně za uchem nevykazoval žádnou nebo skoro žádnou aktivitu, ovšem ve vyšších mozkových centrech se vyskytovaly zvýšená aktivita, která vedla dál do sluchové kůry. U těchto zvířat přicházelo z uší na sluchový nerv méně signálů, což byl následek cíleného poškození vláskových buněk sluchového orgánu ve vnitřním uchu.

Jak bylo uvedeno, *vláskové buňky* jsou vlastní smyslové orgány ve vnitřním uchu a fungují jako detektory pohybu. Jsou seřazeny v hlemýždi-celkem jich je 15 tisíc v každém uchu. Existují dva různé typy vláskových buněk, vnější a vnitřní, přičemž jsou to ty vnitřní, které jsou při poškození hlukem jsou vlastními receptorovými buňkami. Vnější vláskové buňky regulují citlivost sluchu a vnitřní předávají signál dál do mozku. Při poškození smyslových buněk následkem akustického traumatu dochází ke zvýšené vnímavosti zvukových podnětům. Poškození může být buď dočasné, nebo

trvalé, přičemž vnější řady buňek jsou obzvláště citlivé. Pokud dojde k lokalizované lézi vláskových buněk v Cortiho orgánu, sluchový práh se zvýší na frekvenci, za jejíž rozlišení jsou zodpovědné poškozené buňky (princip kochleotopie). Při poškození hlukem silný zvukový impuls „zlomí“ vláskovou vnitřní buňku, a ta přestane plnit svou funkci. Nedoslýchavost začíná zejména ve vysokých frekvencích (Thora, Goebel, 2002).

Tinnitus se může objevit téměř ihned po ohlušení (Atherley a kol., 1968). Byl formulován názor, že akutně vzniklý tinnitus by mohl být způsoben oslabením inhibice (které bylo pozorováno u neuronů v colliculu inferior, CI a nucleus cochlearis dorsalis, NCD), proto by se mohly uplatnit dosud inhibované existující neurální okruhy centrálních částí sluchového systému (Salvi a kol., 2000). Tomuto názoru odpovídá i časný nástup zvýšené neuronální aktivity (Salvi, 1990; Syka a kol., 1994; Syka a Rybalko, 2000).

V jiných případech však k rozvoji tinnitu dochází postupně. Též výsledky některých studií zabývajících se poškozením kochleárních struktur hlasitým šumem (Popelář a kol., 1987; Syka a Rybalko, 2000) dokládají nárůst hyperaktivity v evokovaných potenciálech sluchové kůry. Neurochemické a neuroanatomické studie se snaží objasnit potenciální mechanismy postupného vzniku pozorované hyperaktivity (Abbott a kol., 1999; Potashner a kol., 1997; Sie a Rubel, 1992; Suneja a kol., 1998).

Jednou z možností hodnocení přítomnosti tinnitu je behaviorální testování detekce pauzy v šumu. Po vystavení zvířat hlasitému šumu, je následně testována jejich reakce na přítomnost tichých intervalů ve zvukovém podnětu. Podle výsledků 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 pauzy v šumu je možné, že je tento interval maskován subjektivně vnímaným zvukem – tinnitem.

3. CÍLE

Jak bylo uvedeno v předchozí části práce, tinnitus je subjektivní vnímání zvuku v nepřítomnosti reálného zvukového podnětu. V poslední době se při zjišťování přítomnosti tinnitu osvědčila jak v klinické praxi, tak i v experimentech na zvířatech, metoda testování schopnosti detekce pauzy v šumu (Bauer a Brozski, 2001). Při tinnitu je pauza v šumu maskována subjektivně vnímaným zvukem a práh pauzy v šumu (GDT) je zvýšen. Tím pádem může být zhoršení GDT indikátorem přítomnosti tinnitu. Cílem této práce bylo hodnocení schopnosti detekce pauzy v šumu u potkanů před a po ohlušení šumem o vysoké intenzitě na základě měření GDT za použití behaviorální podmiňovací metody s negativním posílením.

Následujícím úkolem bylo porovnávání změn GDT se změnami sluchových prahů po akustickém traumatu a určení jejich vzájemné korelace. V rámci paralelně probíhající studie byly sluchové prahy u experimentálních potkanů měřeny pomocí elektrofyziologických metod prostřednictvím snímání evokovaných potenciálů (pro přehled Grécová, 2006). Použití elektrofyziologických metod je velmi přínosné při studiu sluchu u ohlušených zvířat. Registrace korových evokovaných potenciálů (*middle latency response*, MLR) umožňuje monitorování periferních patologických změn na úrovni kochley, které se projevují zvýšením sluchových prahů (prostřednictvím určování prahu vzniku MLR), a také hodnocení změn neuronální aktivity sluchové kůry (podle změn amplitud MLR). V předcházejících studiích provedených v laboratoři neurofyziologie sluchu ÚEM AVČR, bylo prokázáno, že u zvířat ohlušených šumem vysoké intenzity jsou behaviorální projevy tinnitu (zhoršení GDT) často doprovázeny zvýšením amplitudy MLR (Syka a Rybalko, 2000). Tato data jsou v souladu s literárními údaji, které demonstrují souvislosti zvýšení spontánní nebo evokované aktivity sluchové kůry s přítomností tinnitu (Heffner a Harrington, 2002, Jastreboff a Brennan, 1994). Zvýšení spontánní nebo evokované aktivity sluchové kůry se považuje za projev plasticity sluchové kůry za patologických okolností spojených se změnami sensorického vstupu (Talwar a kol., 2001, Moore a kol., 2001). Vznik tinnitu po akustickém traumatu je většinou také spojován s patofyziologickými změnami ve sluchových centrech na vyšších úrovních sluchového systému. Z toho důvodu je

odpověď na otázku, zda může být zvýšení amplitudy MLR po akustickém traumatu manifestací přítomnosti tinnitu, velice přínosná.

Byly stanoveny následující úkoly :

1/ S použitím metodiky negativního podmiňování natrénovat potkany detekci pauzy v kontinuálním šumu.

2/ Porovnat proces tréninku detekce pauzy v šumu u dospělých (stáří 2-3 měsíce) a mladých (26 denních) potkanů.

3/ Porovnat proces tréninku detekce pauzy v šumu s procesem tréninku rozlišení trvání pauzy v šumu na dospělých potkanech kmene Long Evans. (Pro porovnání byly použity výsledky experimentu paralelně probíhající studie rozlišování dvou pauz v šumu o různém trvání , prováděné v laboratoři neurofyzologie sluchu (Mičík, 2006))

4/ Určit prahové hodnoty detekce pauzy v šumu (GDT) u natrénovaných potkanů kmene Long Evans.

5/ Studovat změnu GDT po experimentálně navozeném akustickém traumatu; opakované ohlušení zvířat šumem o intenzitě 118 dB SPL a 122dB SPL.

6/ Porovnat výsledky behaviorální studie s výsledky elektrofyziologické studie paralelně prováděné na stejných pokusných zvířatech (Grécová, 2006)

4. MATERIÁL A METODY

4. 1. Testovaná zvířata

Pokusy byly provedené na 22 laboratorních zvířatech. Do experimentu detekce pauzy v šumu bylo zařazeno 12 dospělých pigmentovaných potkanů kmene Long Evans (LE), (nazývaných také kapucíni - *hooded rats* - pro jejich specifickou pigmentaci), ve věku 2-4 měsíců o hmotnosti 200-300 g. Další skupinu podstoupivší trénink detekce pauzy v šumu tvořilo 10 mladých potkanů kmene Long Evans (stáří 26 dnů na počátku tréninku), o váze 130-150 g. Ze skupiny natrénovaných potkanů bylo 9 jedinců vystaveno opakované jednorodinové hlukové expozici širokopásmovým šumem, nejprve o intenzitě 118 dB SPL a o měsíc později o intenzitě 122 dB SPL.

Zvířata bez primární patologie byla uchovávána ve standardních laboratorních podmínkách, 3-4 potkani v jedné kleci s volným přístupem k tuhé stravě, ale s omezeným přístupem k vodě. Dva dny před začátkem výcviku byl potkanům kompletně zamezen přístup k vodě a později jim byla voda poskytnuta pouze během tréninkového nebo testovacího procesu.

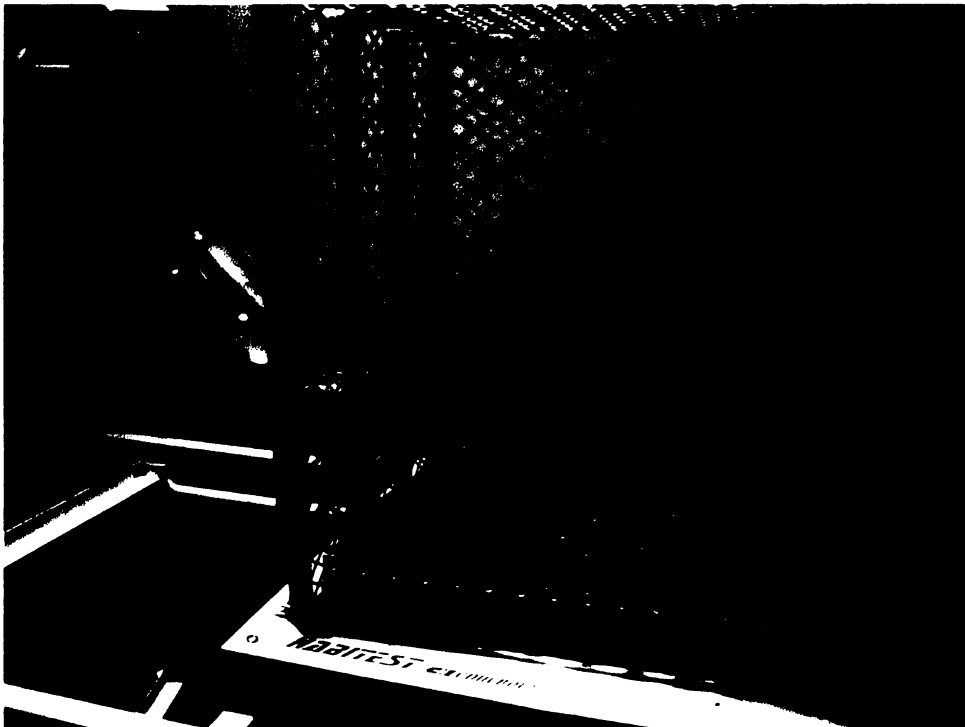
Použití zvířat bylo schváleno Etickou komisí Ústavu experimentální medicíny AVČR. Se zvířaty bylo zacházeno v souladu s Helsinskou deklarací.

4. 2. Behaviorální aparát

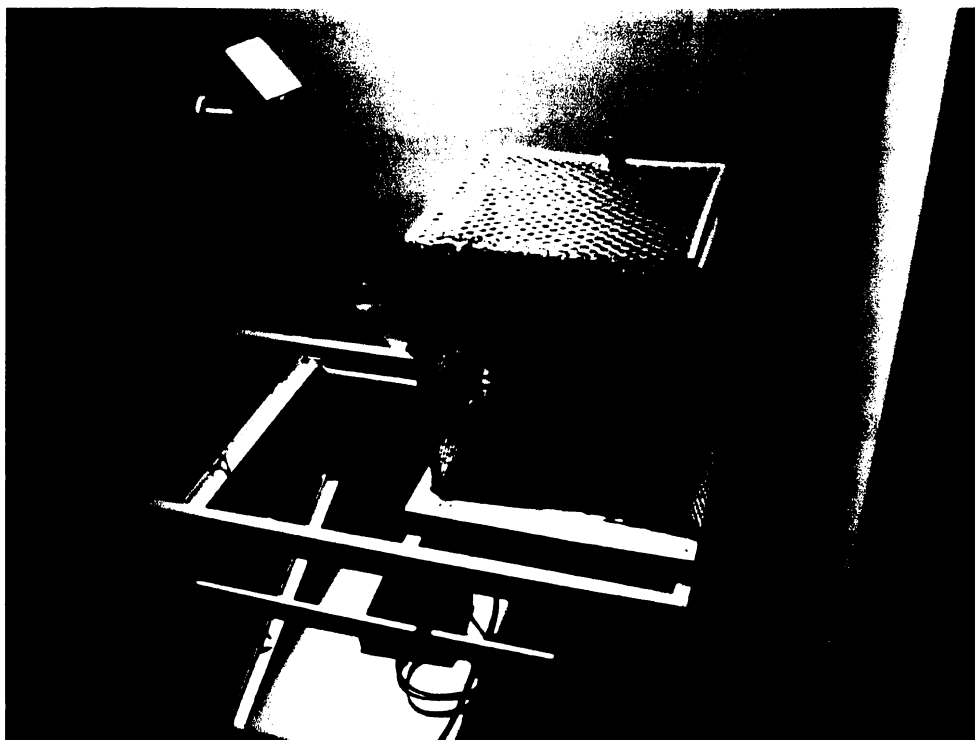
Trénování a testování probíhalo v testovací kleci (Coulbourn, model H10-11R-TC, 50×30×50 cm) umístěné ve zvukotěsné místnosti. Původní plastové stěny klece byly nahrazeny vodivou mříží, která zajišťovala podmínky homogenního sluchového pole. Klec byla vybavena pitným zařízením, „optickým licometrem“ (Coulbourn, model H24-01R) sloužícím k automatické detekci lízání a šokovou podlážkou (Coulbourn, model H10-11R-TC-SF) připojenou k přesně regulovatelnému zdroji elektrických pulsů (Coulbourn, H13-16), který byl schopný vyvolat elektrický šok přesně nastavený na určitou hladinu (100-300 μ A). Velikost šoku byla během prvních tří tréninků individuálně přizpůsobena pro každé jednotlivé zvíře, tak aby bylo dosaženo spolehlivé vyhýbavé odpovědi, která spočívala v odtáhnutí se od výtokové trubičky, jakmile zazní varovný stimul. Výtoková trubička vyčnívala v přední části klece, 7 cm nad podlážkou a

50 cm od reproduktoru, umístěného mimo klec. Akustické stimuly vycházely z reproduktoru umístěného 50 cm od stěny klece, na které bylo připevněno pitné zařízení. V blízkosti klece se nacházela videokamera, která snímala subjekt a zajišťovala tak visuální monitorování jeho chování během experimentu.

Přístroje pro vytváření stimulů a zaznamenávání získaných odpovědí byl součástí TDT 3 systému připojeného na PC. Software kontroloval stimuly a zaznamenával průběh pokusu. PC, TDT 3 systém, zdroj elektrických podnětů a videomonitor byly umístěny mimo zvukotěsnou místnost.



Obr. : Pohled na testovací box s experimentálním potkanem



Obr. : Pohled na testovací soustavu (testovací box s pitným zařízením, reproduktor a videokamera)

4. 3. Proces trénování a testování detekce pauzy v šumu

První fáze experimentu spočívala v trénování zvířat v **detekci pauzy v šumu** (*gap detection*). Detekce pauzy byla založena na využití podmínek behaviorálního podmiňování s negativním posílením. Zvířata musela přestat pít, jakmile se v kontinuálním šumu objevila pauza. V případě, že zvíře na testovaný stimul nezareagovalo, byl stimul spojen s mírným elektrickým šokem. Po ukončení tréninku bylo u potkanů provedeno měření **prahu pauzy v šumu GDT** (*gap detection threshold*), tj. rozeznání minimálního trvání pauzy v kontinuálním šumu. Po stanovení hodnot prahu byla zvířata vystavena po dobu 1 hodiny širokopásmovému šumu o intenzitě 118 dB SPL a během následujícího měsíce byl sledován posun prahových hodnot vyvolaných hlukovou expozicí. Za měsíc po první hlukové expozici byli potkani podruhé ohlášeni širokopásmovým šumem o intenzitě 122 dB SPL a další měsíc probíhalo monitorování jejich detekce pauzy v šumu.

Paralelně s behaviorálním testováním GDT byly u stejných zvířat registrovány MLR potenciály, u kterých byly analyzovány prahy vzniku a amplitudy (Grécová, 2006).

4. 3. 1. 1.Fáze experimentu :Trénink detekce pauzy v šumu

Během experimentu byli potkani nejprve zařazeni do tréninku detekce pauzy v šumu. Tato první fáze experimentu spočívala v trénování zvířat reagovat požadovaným způsobem-vyhnutím, na varovný stimul -pauzu v šumu . Do tréninku detekce pauzy v šumu bylo zapojeno 22 dospělých potkanů kmene Long Evans různého věku. Zvířata byla rozdělena do dvou skupin podle věku. Skupina mladých potkanů byla na počátku experimentu ve věku 4 týdnů a druhá skupina byla stáří 2-4 měsíců.

V počátečním tréninku byla testovaným stimulem **pauza v kontinuálním šumu o trvání 40 ms**, která byla zároveň i varovným signálem pro potkana. Pauza byla spojena s následným šokovým stimulem. Po zaznění varovného stimulu muselo zvíře přestat pít, jinak dostalo mírnou elektrickou ránu.

Vyžízňený subjekt musel nejprve přivyknout prostředí testovací klece, a poté, co se dostal do kontaktu s pítkem a začal pít, se automaticky spustila stimulace. Intenzita elektrického stimulu byla během prvního dne individuálně upravena pro každé zvíře takovým způsobem, aby u zvířete nebyla potlačena motivace k pití a stresový faktor nebyl příliš silným. Pokud by byl elektrický šok příliš veliký, zvíře by bylo traumatizováno a vyhýbalo by se automaticky po zaznění jakéhokoli stimulu. V opačném případě, kdyby byl elektrický šok velmi mírný, by ho zvíře ignorovalo a pokračovalo by v pití i přes šokovou stimulaci.

V každé experimentální sérii byl hodnocen výkon zvířete. Jakmile jeho hodnoty dosahovaly stabilní úrovně a další prodlužování tréninku nepřinášelo žádné zlepšení , byl trénink ukončen.

4. 3. 2. 2. Fáze experimentu : Testování prahu pauzy v šumu – GDT

Měření **GDT** bylo provedeno u 20 mladých pigmentovaných potkanů kmene Long Evans (LE) ve věku dvou měsíců, kteří prošli fází tréninku a naučili se detekovat pauzu o trvání 40ms.

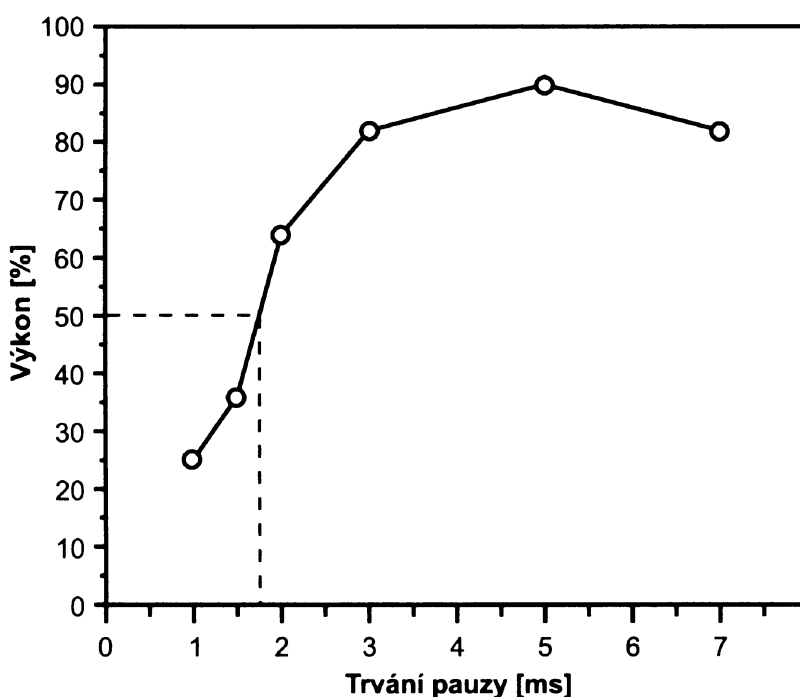
Práh pro detekci pauzy byl určován metodou postupného **snížování délky pauzy**. Jakmile se potkan naučila detekovat varovný signál a jeho výkon dosáhnul

stabilní hodnoty, mohla se postupně snižovat délku trvání signálu na 20, 10, 6, 4, 2, 1 ms, až do doby, kdy testovaný subjekt poprvé přestal na výskyt pauzy reagovat.

Při zmenšování pauzy dochází u zvířete nejprve k zhoršování výkonu, a po naučení reagovat na zkrácené trvání stimulu k jeho opětovnému zlepšování (v případě, že je zvíře schopno pauzu v šumu rozeznat). Práh detekce pauzy v šumu byl definován jako **minimální trvání pauzy**, kterou byl pokusný subjekt schopen vnímat. V okamžiku, kdy dosáhneme minimální hodnoty a zvíře již nerozliší pauzu v šumu o kratší délce, můžeme z dosažených výsledků stanovit práh detekce pauzy (GDT) - ten odpovídá nejkratší délce trvání zvukového stimulu při 50ti % výkonu. Práh se u zdravých potkanů obvykle pohybuje v rozmezí 1,6 – 2,2 ms .

Na obr. 1 je graficky znázorněno stanovení prahu pauzy v šumu. Na ose x je vyjádřeno **trvání pauzy** (v ms) a na ose y je hodnota **výkonu** (v %).

Příklad hodnocení prahu detekce pauzy na základě psychometrické funkce



Obr. 1 : Graf znázorňující stanovení prahu pauzy v šumu

4. 4. Stimuly a akustická stimulace

Schopnost detekovat pauzu byla zjišťována u normálně slyšících potkanů za využití **kontinuálního širokopásmového šumu (500-30kHz) o intenzitě 80 dB SPL**. Po ohlušení byla intenzita nosného šumu zvýšena na 95-115 dB SPL podle reakce testovaného subjektu při zapínání šumu. Jako testovací stimul byly využívány pauzy v sériích po 5ti – separovaných 150 ms intervaly a s časy náběhu do 20 μ s. Pauzy začleněné do kontinuálního šumu vznikaly v soustavě TDT 3 systému, který se sestával z časového procesoru (RP2), dvou atenuátorů (PA5) a „headphone driver“ (HB7). Akustické stimuly vycházely ze zesilovače SEAS T 25 CF 002-06. Zvýšená pohyblivost hlavy zvířete v průběhu akustické stimulace byla minimalizována díky konstrukčnímu provedení zařízení, které upravovalo pozici zvířete během experimentu a zaručovalo snímání subjektu během lízání. Pauza byla generována pouze v případě, že bylo zvíře v kontaktu s pítkem. Akustická kalibrace byla provedena za použití $\frac{1}{2}$ palcového kondenzátorového mikrofону Brüel & Kjaer 4133, předzesilovače 2619 a 2606 měřicího zesilovače. Mikrofon byl umístěn v nejvhodnější poloze proti stěně s pitným zařízením blízko hlavy zvířete.

Jedna experimentální série se zpravidla sestávala ze 154 jednotlivých zkoušek, které byly vytvářeny náhodným výběrem za kontroly počítače a to v poměru 1: 1,8 varovných stimulů k bezpečným. Za bezpečný stimul byl v našem případě považován kontinuální šum, neobsahující pauzy, do kterého byly varovné stimuly-pauzy určené pro detekci vloženy. Varovný (šokový) stimul nesměl být nikdy následován dalším varovným stimulem. Každý stimul začínal pouze v případě, že bylo zvíře v kontaktu s pítkem. Detekce kontaktu s pítkem byla zajišťována optickým likometrem, který monitoroval lízání přerušením laserového paprsku.

Jedna testovací série trvala asi 20 min. Během této doby zvíře vypilo až 20ml vody a zareagovalo zpravidla na 120-154 stimulů.

Reakce zvířete byly automaticky zaznamenávány počítačovým programem a vyhodnocovány za aktivní spolupráce testujícího pracovníka.



Obr. : Pohled na laboratorní místnost vedle zvukotěsné místnosti s příslušnou aparaturou zabezpečující experiment

4. 5. Hodnocení výkonu

Schopnost detekovat akustický stimul se vyjadřuje **výkonem detekce akustického stimulu** (*DP, Detection performance*). Výkon subjektu v rozpoznání akustického podnětu je vypočítán z hodnot poměrů správných a nesprávných odpovědí,

které jsou zaznamenávané v okamžiku testování subjektu a vyhodnocované po skončení pokusné série.

Ukončení pítí po výskytu pauzy v šumu (varovného stimulu) je automaticky hodnoceno jako *úspěšná odpověď* (**Hit response**) a přerušení pítí bez přítomnosti pauzy v šumu je hodnoceno jako *planý poplach* (**False alarm response**). Z těchto hodnot vypočítaný „**Hit Rate**“ (**H**) nám udává poměr správných odpovědí (*Hit response*) k počtu varovných stimulů a „**False Alarm Rate**“ (**F**) je vypočítán na základě počtu náhodných odpovědí (*Fals alarm response*) bez přítomnosti varovného stimulu.

Výkon se vypočítal podle rovnice: $H - H \times F$ (Heffner a Heffner, 1988). Tímto výpočtem eliminujeme počet náhodných reakcí na výskyt pauzy. Schopnost detekovat pauzu v šumu, byla určena hodnotou **výkonu** a vyjádřena v %.

Skóre této hodnoty se může pohybovat v rozmezí od 100% (**perfektní výkon**, kdy **H**, hodnota *úspěšných odpovědí* dosáhla 100% a **F**, hodnota *planých poplachů* se rovnala 0) k 0% (**náhodný výkon**, kdy zvíře nebylo schopno rozlišit mezi stimuly a **H** a **F** hodnoty byly podobné).

Hodnoty **H** a **F** a **výkonu** zaznamenány v různých experimentálních sériích byly analyzovány a porovnávány. Trénink byl považován za dokončený, jakmile hodnota výkonu dosáhla optimální úrovně a další prodlužování tréninkového období už nepřinášelo zlepšení ve výkonu zvířete. **Finální výkon** (**FV**) byl stanoven jako hlavní výkon z posledních 4 tréninkových sérií.

File Edit View Insert Tools Desktop Window Help

STATUS
off

Coulbourn Cage Control / Gap in Noise

No. of Shock Stimuli: of each type
Ratio Reward vs. Shock: for each shock stimulus

Attenuation: dB
Gap: ms
Animal ID:

1 YES	1 YES	1 YES	1 YES	1	1	0	0
1 YES	1 YES	1 YES	1 YES	0	0	1	1
0 NC	0 NO	0 NO	0 NO	1	1	1	0
1 YES	1 YES	1 YES	1 YES	0	1	0	1
0 YES	1 YES	1 YES	1 YES	1	0	1	1
1 YES	0 NO	1 YES	0 NO	0	1	0	0
1 YES	1 YES	0 NO	1 YES	1	0	1	1
1 YES	1 YES	1 YES	0 NO	1	1	1	0
0 NO	1 YES	1 YES	1	0	0	0	1
1 YES	0 NO	0 NO	0	1	1	1	1
0 NC	1 YES	1 YES	1	0	1	1	0
1 YES	1 YES	0 NO	1	1	0	1	1
1 YES	0 NO	1 YES	1	1	1	1	1
0 NC	1 YES	1 YES	0	0	1	0	0
1 YES	0 NO	0 NO	1	1	0	1	1
0 NC	1 YES	1 YES	1	0	1	1	1
1 YES	1 YES	1 YES	0	1	0	0	0
1 YES	1 YES	0 NO	1	0	1	1	1
1 YES	0 NO	1 YES	1	1	0	1	1
0 NC	1 YES	0 NO	0	1	1	1	1

Statistics of 68 responses			
Stimulus	Response		
	YES	NO	H F
0	1	22	0.96
1	44	0	0

Performance (H-F) 0.96
Performance (H-FH) 0.96

Output File gap06Sep08.dat Correct/Save

Obr. Schematické zobrazení posloupností prezentovaných stimulů a registrovaných odpovědí v experimentální sérii; dole na schématu je znázorněno automatické hodnocení „Hit rate“, „False Alarm Rate“ a výkonu pokusného potkana v každé sérii.

4. 6. Hluková expozice

1. hluková expozice

Po ukončení druhé fáze experimentu, stanovení prahových hodnot GDT, byla zvířata vystavena **hlukové expozici širokopásmovým šumem** v rozmezí 0,8-20 kHz a o **intenzitě 118 dB SPL po dobu 60ti minut**. Zvířata byla ohlušována za bdělého stavu uvnitř drátěné klece (o rozměrech 13×6×6 cm) ve speciálním bezdozvukovém boxu (o rozměrech 24×24×34 cm) vybaveném reproduktorem (B&C Speakers DE700), který byl umístěn ve vzdálenosti 20 cm od přední drátěné klece. Akustická kalibrace byla zajišťována pomocí zesilovače Brüel & Kjaer 2606, předzesilovače 2619 a mikrofону

4133. Hodnoty zvukového pole v oblasti klece se vzájemně nelišily o více než $\pm 1,5$ dB SPL.

Post-expoziční prahové hodnoty GDT byly stanoveny 1., 3., 7., 10., 16., a 28. den po ohlušení.

2. hluková expozice

Tři týdny po první hlukové zátěži, kdy se hodnoty GDT u ohlušených potkanů ustálily na téměř preexpozičních hodnotách, byla zvířata opět vystavena širokopásmovému šumu o intenzitě 122 dB SPL po dobu 60 minut. Testování prahových hodnot GDT probíhalo 1., 3., 7., 10., 16., a 28. den po skončení 2. hlukové expozice.

5. VÝSLEDKY

5. 1. Trénink detekce pauzy v šumu u laboratorních potkanů

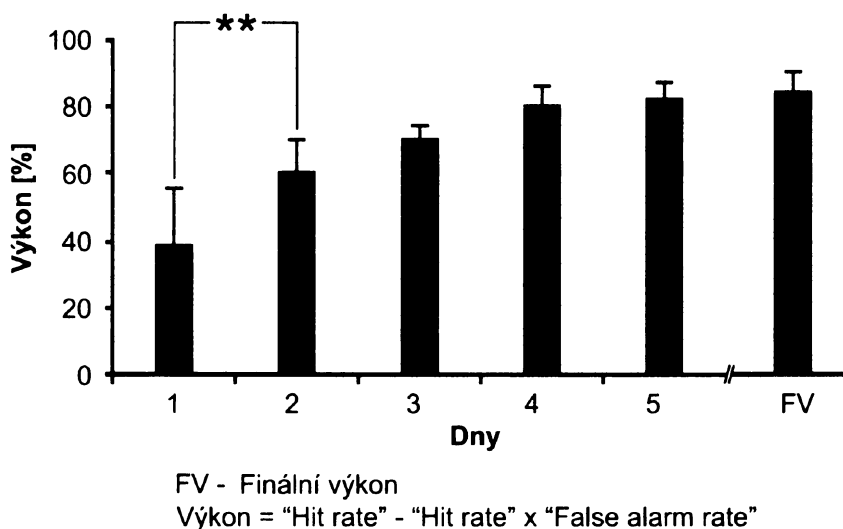
Schopnost **detekovat pauzu v šumu** je rozhodující pro schopnost rozlišovat časové parametry akustických stimulů. Jednou z metod využívanou k hodnocení schopnosti detekce pauzy v šumu u experimentálních zvířat je **metoda behaviorálního podmiňování s negativním posílením** mírným elektrickým šokem. S využitím této metody jsme u kontrolní skupiny 22 potkanů kmene Long Evans hodnotili jejich schopnost detekce pauzy (o trvání 40 ms) v kontinuálním širokopásmovém šumu.

Pozorování tréninku prokázalo, že většina potkanů je schopna detekovat pauzu v šumu během 2-3 dnů. Z výsledků našeho experimentu je patrný určitý rozdíl mezi jednotlivými potkany. Někteří jedinci jsou schopni vykonávat úkol již během první experimentální série a naopak u jiných je potřebná doba tréninku delší. Během tréninku docházelo ke zlepšení výkonu detekovat pauzu v šumu. Střední hodnota **Finálního Výkonu (FV)** detekce pauzy v šumu činila $84 \pm 4,7\%$.

Obr. 2 prezentuje postupné zlepšování výkonu během tréninku. Výkon je vypočítán jako poměr správných odpovědí „*Hit rate*“ k nesprávným „*False alarm rate*“ (viz. Materiál a metody).

Finální výkon (FV) byl stanoven jako hlavní výkon z posledních 4 tréninkových sérií.

Zlepšení výkonu během detekce pauzy v šumu



Obr. 2: Zlepšení výkonu během detekce pauzy v šumu

Porovnání doby tréninku u mladých a dospělých potkanů kmene Long Evans

Jak již bylo zmíněno, sluchová kůra potkanů dozrává postupně během prvních dvou měsíců po narození. Na rozdíl od člověka není sluchový systém zralý hned po narození, ale vývoj se dokončuje ještě za raného života zvířat.

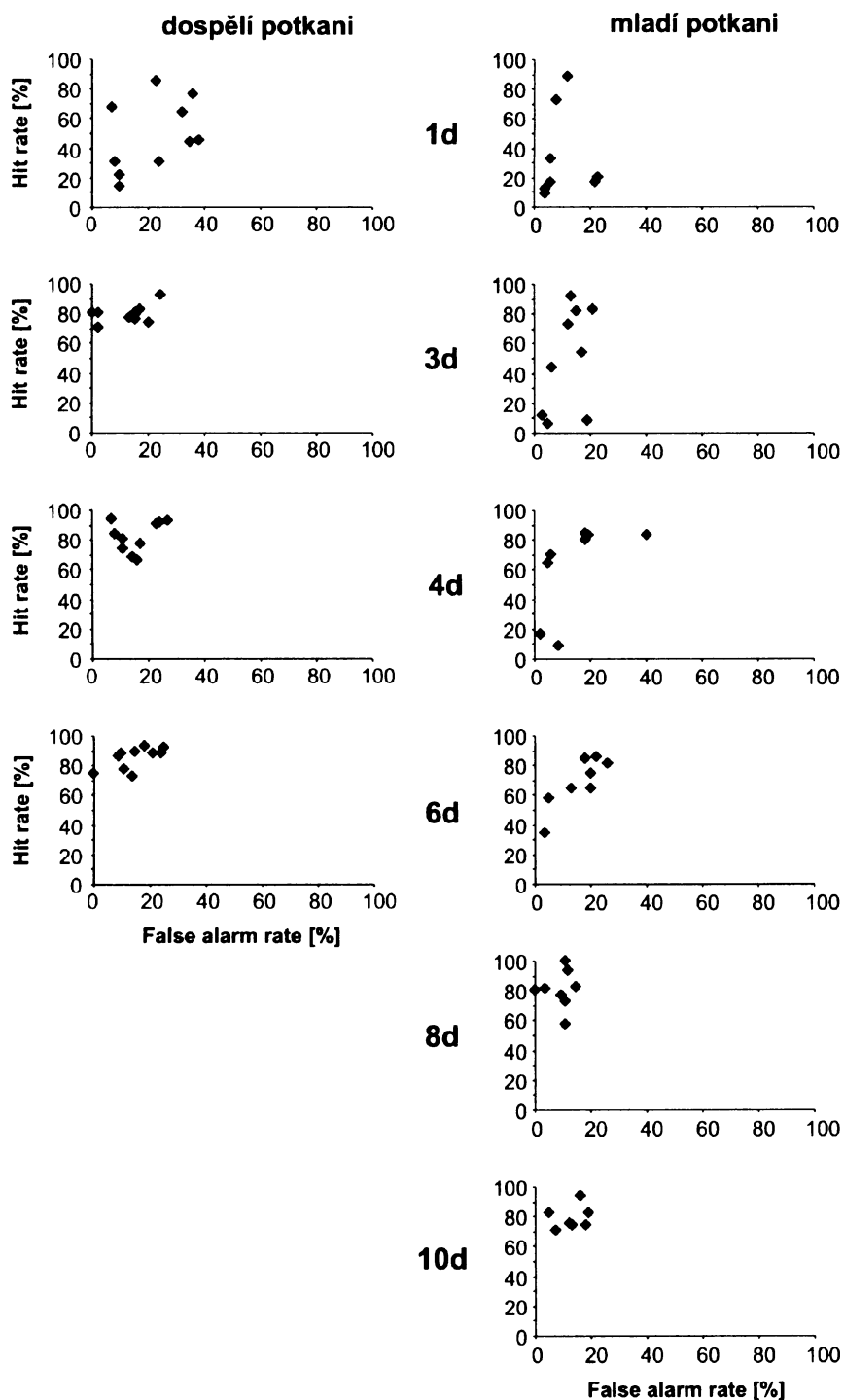
Do experimentu detekce pauzy v šumu jsme zařadili 12 dospělých pigmentovaných potkanů ve věku 2-4 měsíců a 10 mladých 4 týdenních potkanů kmene Long Evans. Většina ze skupiny dospělých potkanů dosáhla optimálních hodnot výkonu již po třech dnech trénování. Potkani byli po této době schopni detekovat pauzu v šumu o délce 40ms s optimálním výkonem. Skupina mladých 4 týdenních zvířat vykazovala určitou různorodost v dosažených výsledcích. Někteří jedinci dosáhli optimálního výkonu během prvních tří dnů, ale u všech jedinců skupiny se hodnoty výkonu ustálily až po 10 dnech.

Tato heterogenita ve výsledcích je zřejmě dána různou zralostí jejich nervového systému. Předpokládáme tedy, že se u této skupiny zvířat, mohla relativní nezralost sluchového i nervového systému odrazit na jejich výkonu schopnosti detekce pauzy během tréninkového období. Jedinci, kteří dosáhli optimálního výkonu během prvních tří dnů, tak vykazovali určitou zralost sluchového a nervového systému. Skutečnost, že

všechna zvířata mladší skupiny dosáhla stejných finálních hodnoty tréninku může být do značné míry ovlivněna dozríváním mladých potkanů během tréninku.

Obr. 3 demonstruje grafy znázorňující trénink detekce pauzy v šumu u obou skupin potkanů. Každý graf odpovídá jednomu testovacímu dni. Body v těchto grafech prezentují výkon dosažený každým potkanem v jednotlivé experimentální sérii. Hodnota **Výkonu** je dána velikostí **H** (*Hit rate*) vyjádřenou na ose y a hodnotou **F** (*False alarm rate*) vyjádřenou na ose x. Výkon dosažený na konci tréninku se odráží v dosažení vysokých hodnot *Hit rate* při nízkých *False alarm rate*. Zlepšováním schopností detekovat pauzu se zvyšují hodnoty **H** a snižují hodnoty **F**. Z grafického hlediska se zlepšení výkonu během tréninku jeví jako postupná koncentrace referenčních bodů v levém horním rohu.

Porovnávání výkonu během tréninku u potkanů různého věku



Obr. 3: Porovnávání výkonu během tréninku u potkanů různého věku

Porovnání doby tréninku detekce pauzy v šumu s dobou tréninku diskriminace dvou pauz o různé délce trvání (60 a 15 ms)

Jak již bylo zmíněno v úvodu mé práce, jednou z metod hodnocení schopnosti rozlišovat časové parametry zvuku je testování **rozlišování dvou pauz o různé délce trvání**.

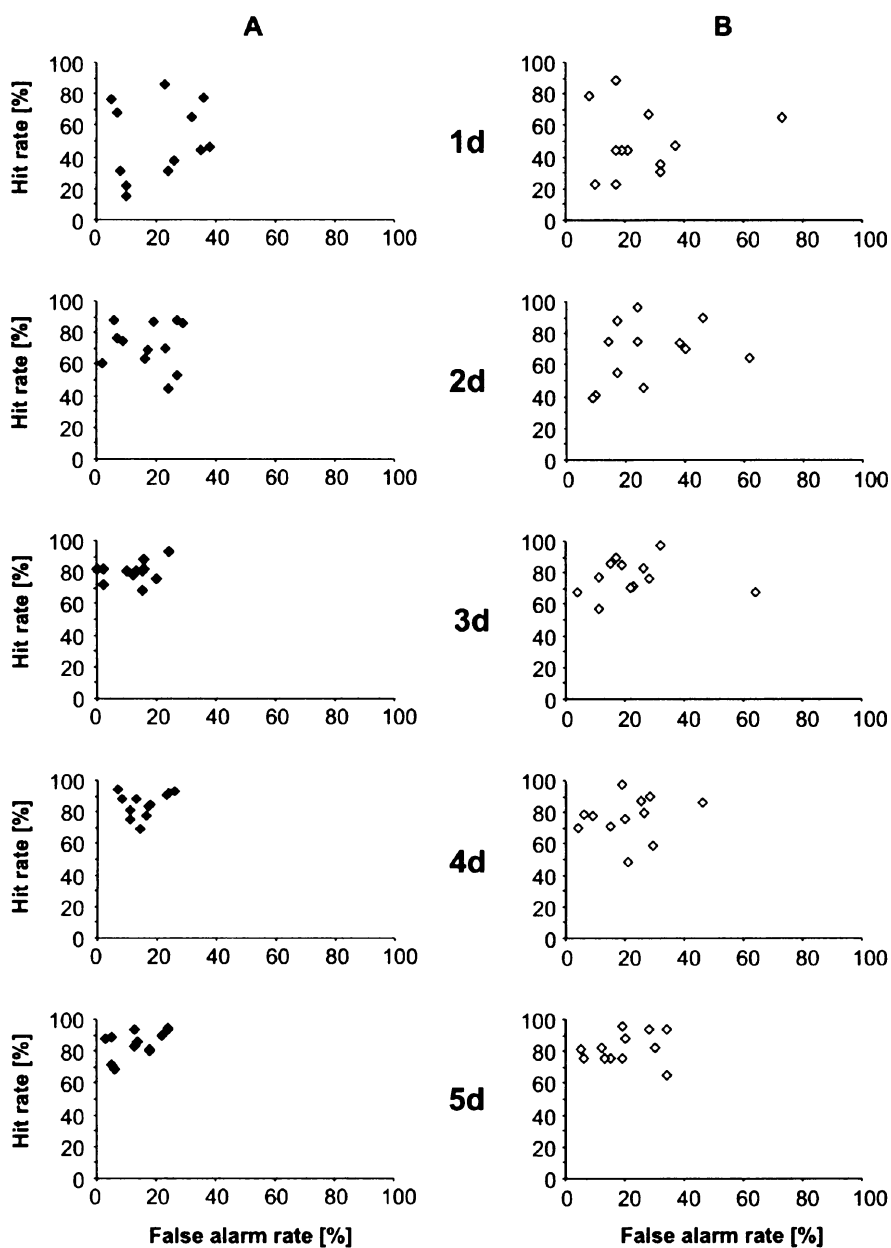
Současně se studií **detekce pauzy v šumu (o délce trvání 40 ms)** probíhalo u skupiny 12 dospělých potkanů kmene Long Evans testování **diskriminace dvou pauz o délkách 60 ms a 15 ms** (Mičík, 2006). Potkani byli trénováni za využití stejné metody, tj. v podmínkách behaviorálního podmiňování s negativním posílením. Výskyt delší pauzy v šumu byl stimulem varovným, na který byli žízniví potkani trénováni přestat pít (v opačném případě následoval mírný elektrický šok) a kratší stimul představoval bezpečný podnět, během kterého mohli potkani pokračovat v pití. Jedním z úkolů prováděných pokusů bylo porovnání doby tréninku, která byla nutná pro naučení potkanů vykonávat výše zmíněné úkoly.

Kontrolní experiment potvrdil, že většina pokusných potkanů byla schopna detekovat pauzu v šumu 2-3 den a někteří jedinci se naučili detekovat pauzu již první tréninkový den. Úkol rozlišování dvou pauz různé délky trvání vyžadoval delší dobu tréninku. Zpravidla se jednalo o 3-5 dní potřebných pro nácvik rozlišení dlouhé a krátké pauzy, aby **finální výkon** většiny zvířat dosáhl optimálních hodnot.

Obr. 4 demonstruje, že tréninkové období pro detekci pauzy v šumu vyžaduje méně času než pro rozlišování dvou pauz různé délky trvání. Finální hodnoty výkonu při tréninku detekce pauzy byly signifikantně vyšší ($p < 0,05$, nepárový t-test) než při tréninku diskriminace dvou pauz a činily $84 \pm 4,7$ ms a $76,3 \pm 9$. Tyto rozdíly byly definovány nižším počtem **False alarm** reakcí během i na konci tréninku u většiny potkanů při detekci pauzy v porovnání s rozlišením trvání dvou pauz, což svědčí o nižší úrovni složitosti úkolu detekce pauzy v šumu.

Je zřejmé, že tyto behaviorální úkoly představují různé hladiny obtížnosti pro experimentální zvířata.

Porovnávání tréninku detekce pauzy v šumu (A)
a rozlišování trvání pauzy v šumu (B)



Obr. 4: Porovnávání tréninku detekce pauzy v šumu a rozlišování trvání pauzy v šumu

5. 2. Stanovení prahových hodnot pro detekci pauzy v šumu (GDT)

Měření **prahových hodnot** schopnosti **detekce pauzy v šumu (GDT)** slouží k hodnocení úrovně časového rozlišení ve sluchovém systému. Jak již bylo zdůrazněno, hodnoty normativních parametrů GDT jsou důležité pro odhalení míry patologie způsobené nadměrným hlukem. Vystavení intenzivní hlukové expozici může způsobit poškození sluchu, které se nejvíce odráží v posunu sluchového prahu. Podle stupně poškození, se snížení citlivosti sluchu může projevit v mírnějším případě jako dočasný posun sluchového prahu (TTS) a v případě nevratného poškození sluchu se jedná o trvalý posun sluchového prahu (PTS).

Prahy detekce pauzy v šumu byly měřeny po skončení doby tréninku u skupiny 12 zdravých potkanů kmene Long Evans. Z této skupiny bylo 9 jedinců vystaveno hlukové expozici a jejich prahové hodnoty byly porovnány s hodnotami naměřenými po akustickém traumatu.

Průměrné hodnoty prahů **GDT** u kontrolní skupiny laboratorních potkanů kmene Long Evans činily $1,9 \pm 0,2$ ms (průměr \pm směrodatná odchylka).

5. 3. Účinek 1. hlukové expozice o intenzitě 118 dB SPL

Vliv na schopnost detekce pauzy v šumu

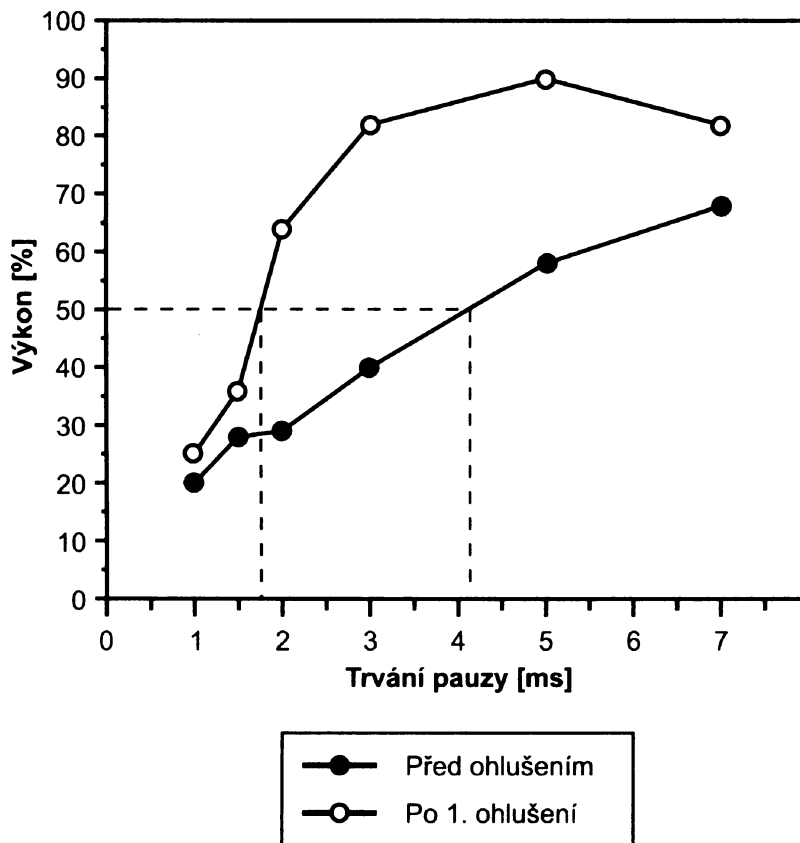
Hluková expozice širokopásmovým šumem o intenzitě 118 dB SPL po dobu 1 hodiny způsobila u potkanů dočasné zhoršení schopnosti detekce pauzy v šumu.

Na obr. 5 je uveden příklad změny prahu detekce pauzy v šumu po ohlušení v porovnání s kontrolním záznamem.

Časový průběh změn GDT po prvním ohlušení u skupiny potkanů je zobrazen na obr. 6 (horní graf). Druhý den po ohlušení se prahy GDT pohybovaly v rozmezí 4-10 ms a průměrná prahová hodnota se rovnala $6,1 \pm 2,1$ ms. Během týdne byl pozorován návrat k původním hodnotám (7. den průměrná prahová hodnota činila $2,4 \pm 0,6$ ms). K úplnému návratu prahu došlo v průběhu tří týdnů po ohlušení. 16. den se hodnoty

GDT téměř u všech potkanů (7 z 9) navrátili na původní úroveň před ohlušením. Výsledkem 1. ohlušení byl dočasný posun prahů detekce pauzy v šumu .

Příklad hodnocení prahu detekce pauzy na základě psychometrické funkce



Obr. 5: Hodnocení prahu detekce pauzy v šumu před ohlušením a po vystavení hlukové expozici

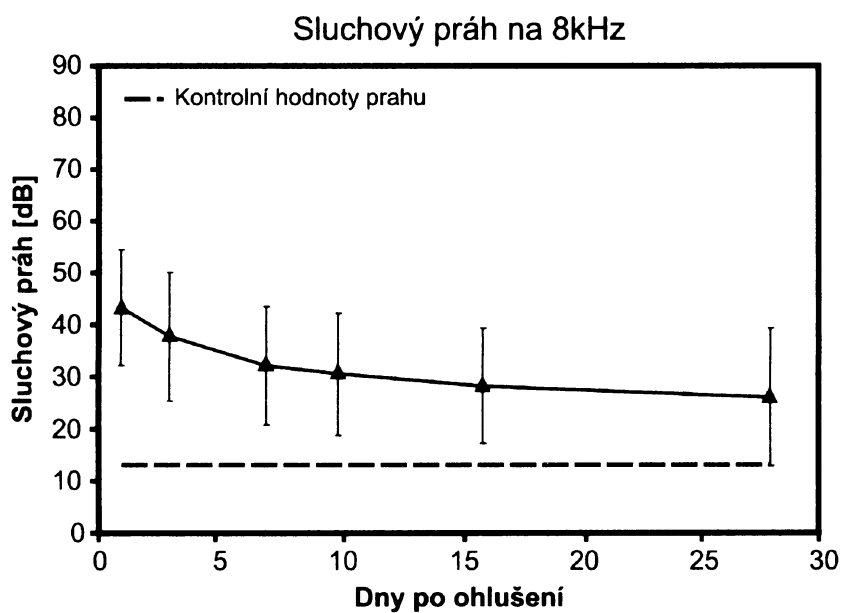
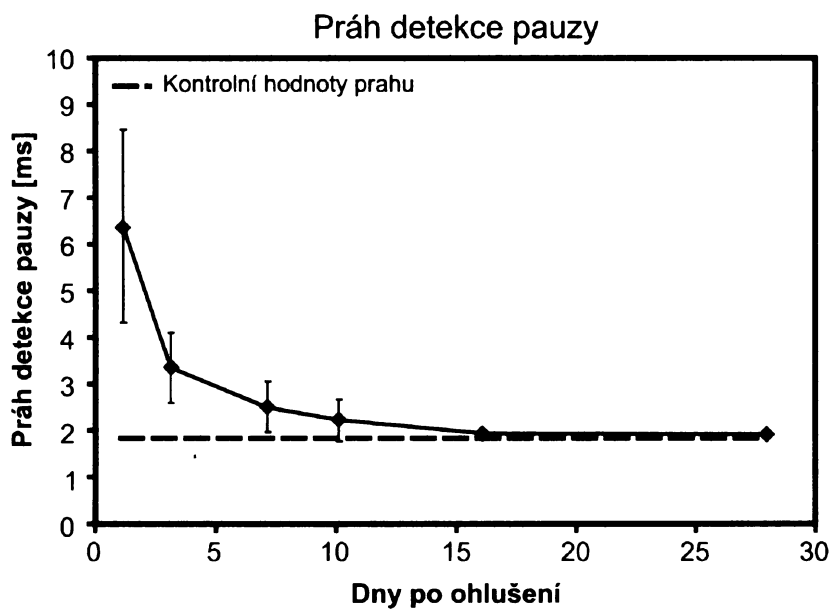
Porovnání dynamiky změn GDT se změnami sluchových prahů

Výsledky měření prahů GDT byly porovnány se změnami sluchových prahů stanovenými před a po hlukové expozici prostřednictvím snímání sluchových evokovaných potenciálů. Hluková expozice o intenzitě 118 dB SPL vyvolala zhoršení prahů v celém rozsahu sluchu, přičemž větší postižení se vyskytovalo na vyšších frekvencích (pro přehled Grécová, 2006).

Jelikož je známo, že schopnost detekce pauzy v šumu do značné míry závisí na vnímání vysokých frekvencí (Heffner a kol., 1994, Syka a Rybalko, 2000), zaměřili jsme se na porovnávání dynamiky změn GDT se změnami sluchového prahu na frekvenci 8 kHz, které byly zjištěny pomocí registrace MLR (Grécová, 2006).

Stejně jako u GDT bylo po ohlušení pozorováno i zhoršení sluchových prahů. Dynamika návratů sluchových prahů k původním hodnotám byla podobná dynamice zlepšení schopnosti detekovat pauzu v šumu. K největšímu poklesu sluchových prahů došlo v průběhu prvního týdne po ohlušení, během měsíce bylo pozorováno další zlepšení, ale plný návrat sluchových prahů na frekvenci 8 kHz nebyl dosažen. (viz obr.6 (dolní graf))

1. ohlušení, (118dB SPL, 1h)



Obr. 6: Dynamika změn GDT a sluchových prahů po 1. ohlušení

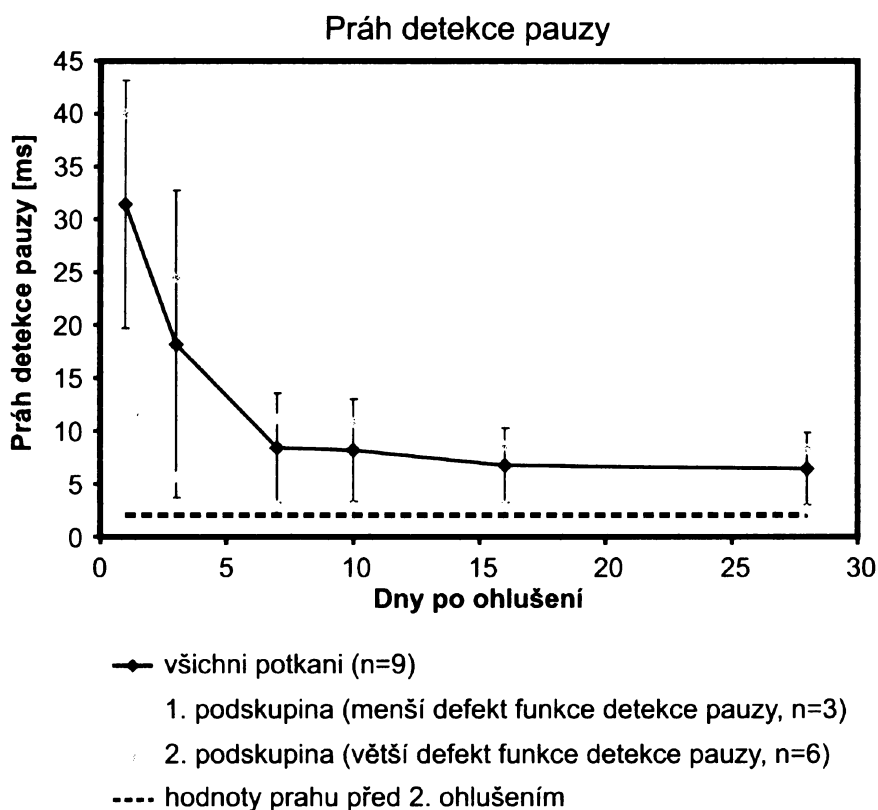
5. 4. Účinek 2. hlukové expozice o intenzitě 122 dB SPL

Vliv na schopnost detekce pauzy v šumu

Hluková expozice širokopásmovým šumem o intenzitě 122 dB SPL po dobu 1 hodiny způsobila u všech zvířat výrazné zhoršení schopnosti detekce pauzy v šumu a značný posun prahů GDT.

Časový průběh změn GDT po 2. ohlušení je zobrazen na obr. 7 (silnou čarou s plnými symboly). Druhý den po ohlušení se hodnoty GDT pohybovaly v rozmezí od 15 ms do 40 ms a průměrná prahová hodnota byla stanovena na $31,4 \pm 11,7$ ms. Za týden po hlukové expozici bylo pozorováno značné zlepšení GDT. Mírné zlepšení bylo zaznamenáno během dalších 3 týdnů, ale původních prahových hodnot již u většiny zvířat nebylo dosaženo. Průměrné hodnoty GDT za měsíc po ohlušení byly $6,4 \pm 3,4$ ms. Výsledkem 2. hlukové expozice byl u většiny zvířat trvalý posun hodnot GDT. (viz. obr. 7)

2. ohlušení, (122dB SPL, 1h)



Obr. 7 : Dynamika změn GDT po 2. ohlušení (světlemodré křivky znázorňují GDT po ohlušení u potkanů s menším a větším deficitem funkce detekce pauzy v šumu)

U skupiny zvířat byla po 2. hlukové expozici patrná značná variabilita ve výsledcích. V závislosti na velikosti posunu GDT jsme celou skupinu rozdělili na dvě podskupiny.

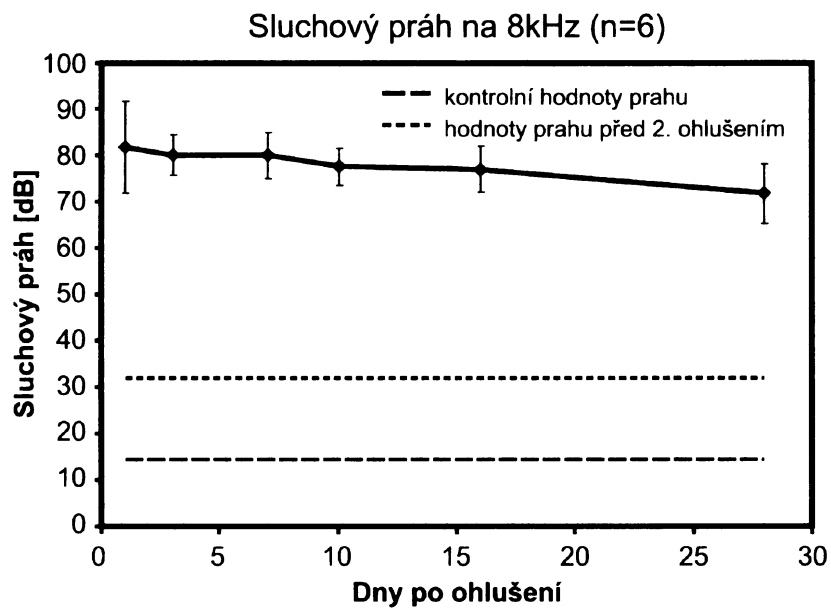
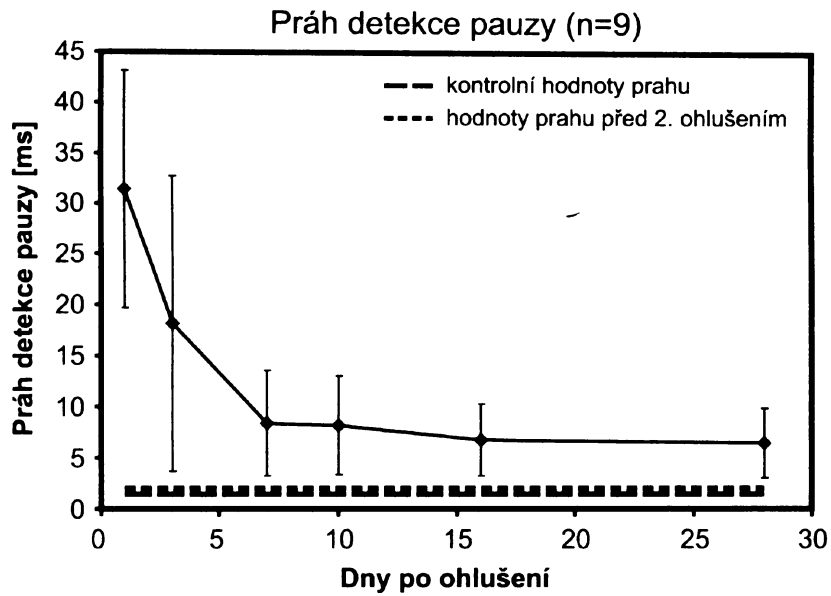
U **1. podskupiny**, kterou tvořili 3 potkani, byl posun prahu menší než byla střední prahová hodnota (v průměru dosahoval $14,3 \pm 8,4$ ms) a k návratu k původním hodnotám došlo během následujících dvou týdnů (viz. světlemodrá křivka s prázdnými symboly na obr. 7).

U **2. podskupiny** potkanů, čítající 6 jedinců, byl posun prahů GDT značný (střední prahová hodnota dosahovala $40 \pm 3,3$ ms). V průběhu následujících 30 dní nedošlo k návratu na jejich původní prahové hodnoty a GDT zůstaly zřetelně zvýšené (viz. světlemodrá křivka s plnými symboly na obr. 7).

Porovnání dynamiky změn GDT se změnami sluchových prahů

Sluchové prahy měřené na frekvenci 8 kHz vykazovaly po druhé hlukové expozici výrazné zvýšení prahových hodnot (pro přehled Grécová, 2006). Dynamika jejich návratu se však podstatně lišila od dynamiky návratu prahů GDT, neboť během následujících 30 dní nedošlo k žádnému výraznému posunu sluchového prahu na 8 kHz směrem k prahovým hodnotám, zatímco hodnoty GDT výrazně klesly během 1. týdne po ohlušení. (viz. obr. 8)

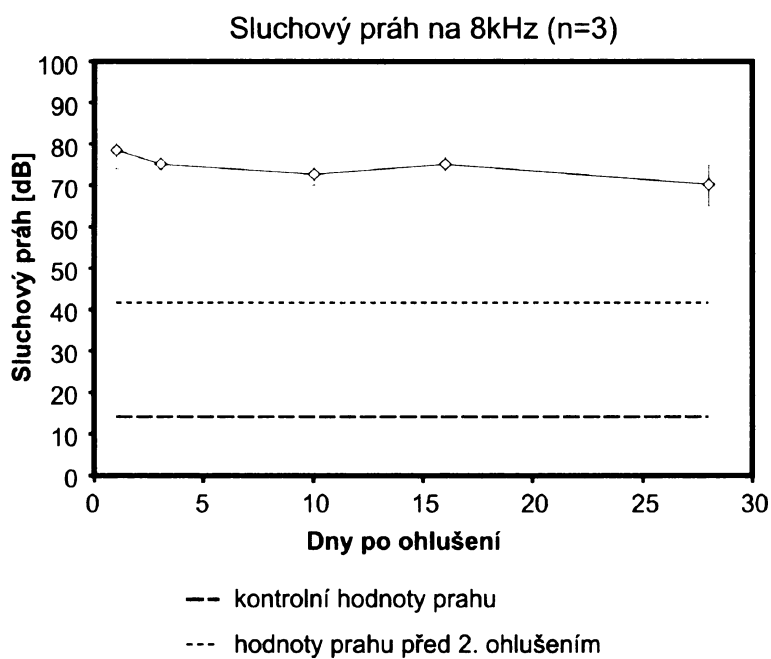
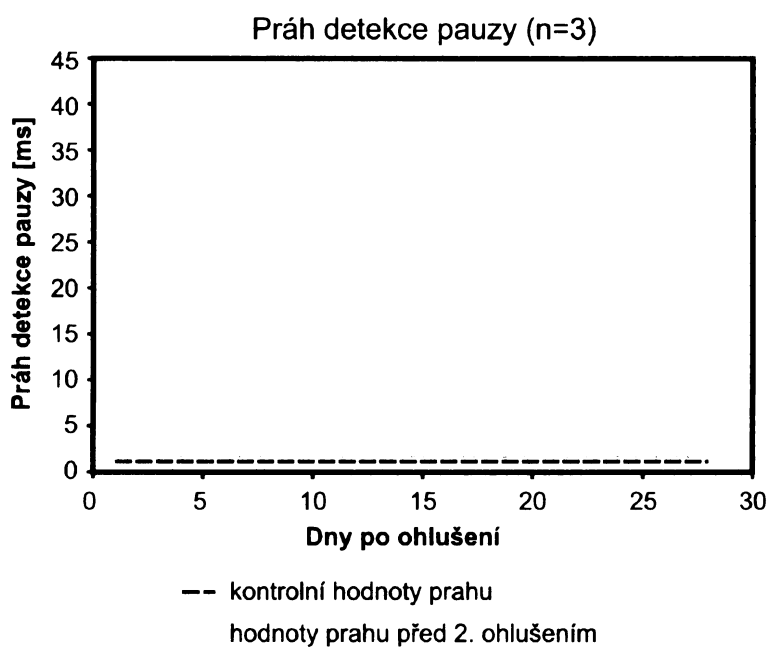
2. ohlušení, (122dB SPL, 1h)



Obr. 8 : Dynamika změn GDT a sluchových prahů po 2. ohlušení

Potkani **1. podskupiny**, u nichž byl posun GDT menší než byla střední prahová hodnota a došlo k jeho rychlému návratu během následujících dvou týdnů, měli horší sluchové prahy před 2. ohlušením (tj. výraznější posun sluchového prahu na 8 kHz po 1. ohlušení, viz. obr. 9).

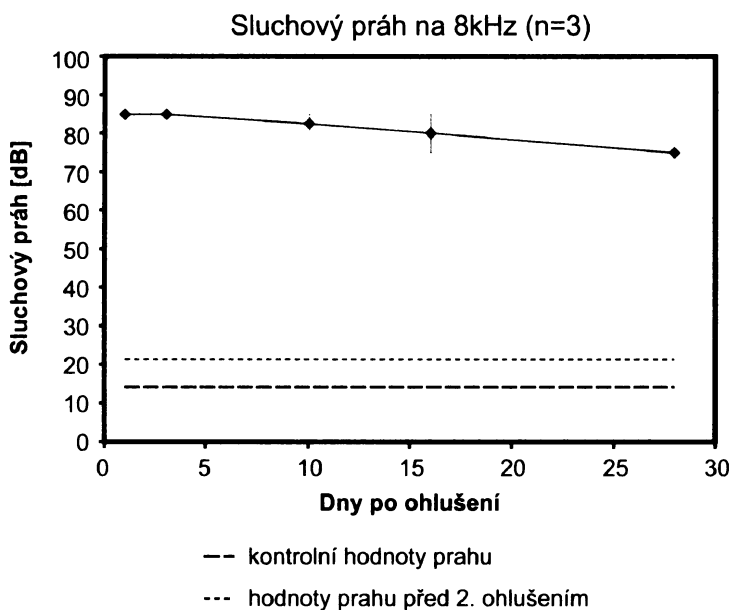
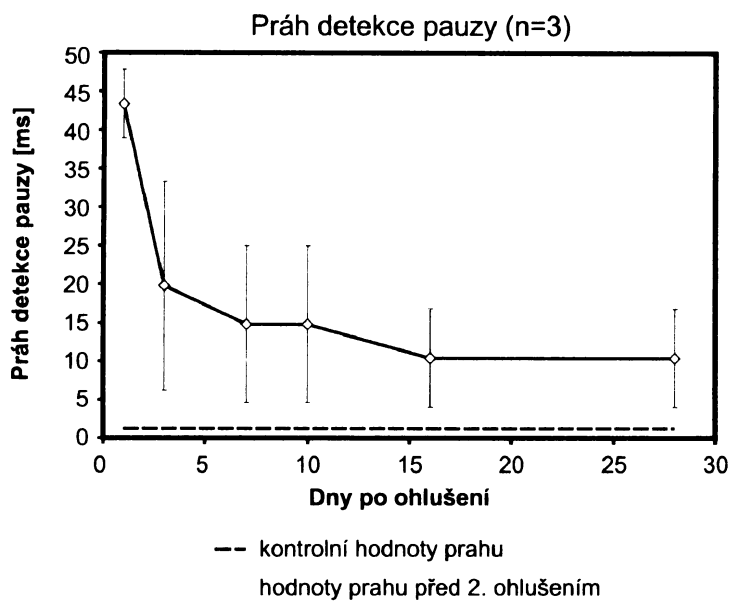
2. ohlušení, (122dB SPL, 1h)
 menší defekt funkce detekce pauzy v šumu
 (1. podskupina)



Obr. 9 : Dynamika změn GDT a sluchových práhů u skupiny s menším deficitem funkce detekce pauzy v šumu

U potkanů 2. **podskupiny**, u kterých byl posun GDT výraznější než byla střední prahová hodnota a hodnoty GDT se vrátily jen částečně, byly sluchové prahy na 8 kHz před 2. ohlušením lepší (tj. menší posun sluchového prahu na 8 kHz po 1. ohlušení, viz. obr. 10).

2. ohlušení, (122dB SPL, 1h)
větší deficit funkce detekce pauzy v šumu
(2. podskupina)



Obr. 10 : Dynamika změn GDT a sluchových prahů u skupiny s větším deficitem funkce detekce pauzy v šumu

Přestože byly výsledné prahy na 8 kHz po 2. ohlušení stejné jak u 1., tak i u 2. podskupiny, schopnost detekce pauzy v šumu byla obou podskupin rozdílná.

6. DISKUSE

Měření prahu pauzy v šumu provedené v této práci behaviorální metodou s negativním posílením u skupiny normálně slyšících potkanů kmene Long Evans prokázalo, že průměrné hodnoty prahu ve skupině zvířat byly $1,9 \pm 0,2$ ms. V dřívějších experimentech laboratoře neurofyziologie sluchu se měření prahu pauzy v šumu u laboratorních zvířat provádělo pomocí metody operantního podmiňování s pozitivním posílením. Tato metoda spočívala v trénování hladových zvířat reagovat na pauzu v šumu zmáčknutím tlačítka. Odměnou za správnou reakci zvířete na zaznění pauzy byla strava v podobě pelety. Prahové hodnoty detekce pauzy naměřené za těchto okolností byly $1,6 \pm 0,1$ ms (Syka a kol., 2002, Rybalko a Syka, 2005). Tyto hodnoty se od hodnot naměřených v našem experimentu výrazně nelišily, přesto byl zásadní rozdíl zaznamenán, a to v potřebné době tréninku před měřením GDT. Zatímco značná většina potkanů trénovaných metodou s negativním posílením dosahovala optimálních hodnot výkonu během 2-3 dnů, trénink zvířat metodou pozitivního posílení trval 2-4 týdny (Syka a kol., 2002, Rybalko a Syka, 2005).

Můžeme konstatovat, že behaviorální metoda negativního posílování při tréninku využívaná v našem experimentu v pokusech na zvířatech je z hlediska časové náročnosti perspektivnější.

Využitím metody behaviorálního podmiňování s negativním posílením byla u skupiny potkanů kmene Long Evans paralelně s detekcí pauzy v šumu studována schopnost k rozlišení pauz různého trvání (pro přehled Mičík, 2006). Po porovnání doby tréninku a finálních hodnot výkonu dosažených u obou úkolů můžeme konstatovat, že tyto behaviorální úkoly představují různé hladiny obtížnosti, ve kterých je úkol detekce pauzy jednodušší ve srovnání s úkolem rozlišování trvání pauzy. Porovnání výsledků současných experimentů s dřívější studií prováděnou v laboratoři neurofyziologie sluchu, kde byli laboratorní potkani trénováni rozlišovat frekvenčně modulované tóny, ukazuje, že úkoly rozlišení a detekce pauzy v šumu jsou o hodně jednodušší, než úloha rozlišení frekvenčně modulovaných zvuků, na jejíž splnění potkani potřebovali minimálně 2 týdny, přičemž finální hodnoty Výkonu na konci tréninku zpravidla nepřevyšovaly 65% (Rybalko a kol., 2006).

Výsledky námi provedené studie prokázaly, že hodinová expozice bílým šumem o intenzitě 118 dB vyvolala deficit ve schopnosti detekovat pauzu v šumu. Průměrná hodnota posunu prahů v experimentální skupině zvířat byla $6,1 \pm 0,1$ ms. Vzhledem k velikosti posunu prahu se jednalo o homogenní skupinu. Během týdne po ohlušení jsme zaznamenali podstatné zlepšení ve schopnosti ohlušených zvířat detekovat pauzu v šumu a k úplnému návratu hodnot GDT k původním hodnotám došlo za další 2 týdny. Výsledky získané v této studii jsou podobné výsledkům z dřívějších studií, ve kterých byla použita hodinová expozice šumu o intenzitě 110 dB SPL a 115 dB SPL (Rybalko a Syka, 2005) a ukazují, že ohlušení šumem o intenzitě 110 dB SPL a 118 dB SPL vyvolává podobný efekt. Porovnání výsledků naší studie s paralelně proběhlou studií měření sluchových prahů pomocí elektrofyziologických metod prokázalo, že posun prahů detekce pauzy v šumu byl doprovázen posunem sluchových prahů. Časový průběh i dynamika návratu hodnot obou parametrů k původním prahovým hodnotám byla podobná.

Z předchozích studií je známo, že prahy detekce pauzy se zvyšují se zmenšením intenzity nosného šumu. GDT se v závislosti na změně intenzity šumu (při přiblížení intenzity šumu k prahovým hodnotám) mohou měnit v rozmezí 10 ms. Relativně malý posun sluchových prahů, který zůstal u většiny zvířat na vysokých frekvencích (prahy na frekvenci 8 kHz se pohybovaly v rozmezí 20-40 dB) nemohl podstatně ovlivnit GDT, neboť prahy GDT byly měřeny na intenzitě 80 dB SPL, tj. na značně nadprahové hodnotě intenzity nosného šumu. Skutečnosti, že v naší studii byl posun prahu po 1. ohlušení jen dočasný, nepřevyšující 10 ms, a k normalizaci funkce detekce pauzy v šumu docházelo současně s návratem sluchových prahů, ukazují, že změny GDT byly způsobeny spíše zhoršením sluchu než přítomností tinnitu. Přesto dočasné vyskytnutí tinnitu u ohlušených zvířat nemůžeme za těchto okolností vyloučit.

Opakované ohlušení šumem o intenzitě 122 dB SPL bylo provedeno za měsíc po prvním ohlušení, kdy se prahy detekce pauzy v šumu navrátily k původním hodnotám. Hodinová expozice šumem 122 dB vyvolala značný deficit ve schopnosti detekce pauzy v šumu (průměrná hodnota byla $6,4 \pm 3,4$ ms). Po 2. ohlušení byly pozorovány velké individuální rozdíly v experimentální skupině ohledně posunu prahu detekce pauzy v šumu. Rozptyl hodnot ve skupině byl od 8-50 ms. Rozdíly mezi potkany se projevíly i ohledně dynamiky zotavení funkcí. U 3 z 9 zvířat byl během následujících 2 týdnů

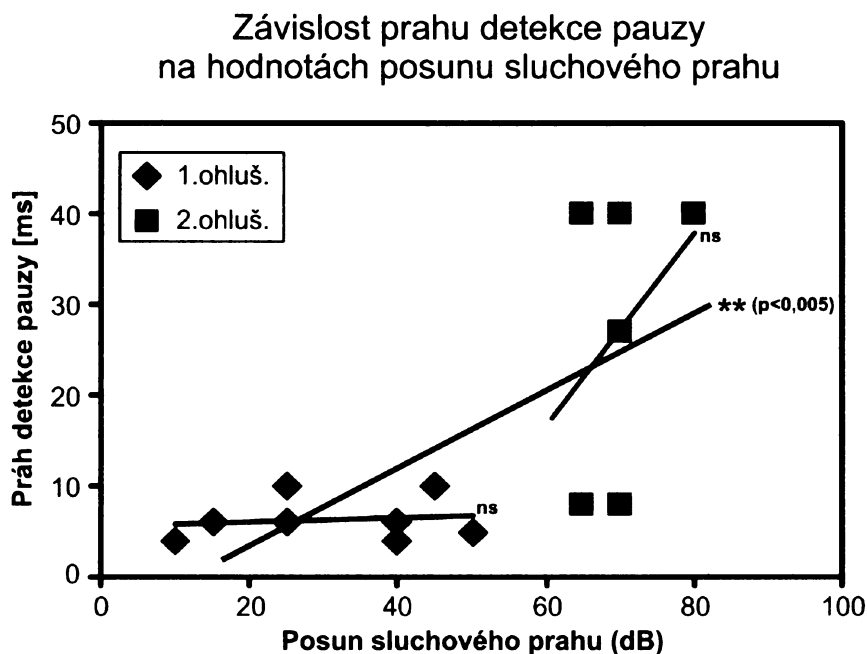
zaznamenán plný (nebo téměř plný) návrat k původním hodnotám, u 6 z 9 se prahy nevrátily ani za měsíc po hlukové expozici k původním hodnotám (při největším posunu prahů během prvních dvou týdnů)..

Proto byli potkani rozděleni na 2 podskupiny. Hlavním kritériem při rozdělení potkanů do dvou podskupin bylo zotavení funkcí detekce pauzy v šumu po 2. ohlušení. Návrat prahu detekce pauzy v šumu k hodnotě 3 ms byl považován za normalizaci funkce.

Porovnání výsledků změn GDT se změnami sluchových prahů po 2. ohlušení prokázalo, že zvýšení prahů měřených na intenzitě 8 kHz bylo u obou skupin skoro stejně veliké (mezi 80-85 dB SPL) (Grécová, 2006).

Při vyšším rozdílu posunu GDT v zápětí po ohlušení, nebyla u obou podskupin zřejmá závislost s posunem sluchového prahu, který byl jednotný u celé skupiny zvířat.

Ten fakt, že při výrazných změnách GDT během 1. týdne po ohlušení byly zaznamenány jen malé, nebo žádné změny sluchového prahu na vysokých frekvencích, ještě jednou potvrzuje nesouvislost prahů GDT a sluchových prahů. Statistické hodnocení velikosti posunu GDT a sluchových prahů (nejzřetelnější po 2. ohlušení) neprokázalo přímou korelaci mezi oběma parametry (viz. obr. 11).



Obr. 11 : Znázornění korelace prahu detekce pauzy v šumu a hodnot posunu sluchového prahu po ohlušení

Statisticky významná korelace byla prokázána mezi hodnotami GDT a intenzity ohlušování. Větší intenzita ohlušování vyvolávala větší posun prahů detekce pauzy v šumu. Na základě analýzy výsledků po 2. ohlušení, se můžeme domnívat, že u části zvířat (1. skupiny) opakované ohlušování vyvolalo dočasný (akutní) tinnitus a u 2. skupiny dlouhodobý tinnitus. Jedna z příčin různého efektu 2. ohlušení může být ta, že skupiny nebyly rovnocenné vzhledem k hodnotám sluchových prahů před 2. ohlušení.

Můžeme předpokládat, že různý deficit schopnosti k detekci pauzy v šumu po 2. ohlušení byl definován:

- a) různou individuální odolností zvířat k šumové expozici stejných parametrů
- b) různou mírou poškození sluchu po 1. ohlušení

Hodnocení změn amplitudy MLR neprokázalo korelaci se změnami GDT. U značného počtu zvířat, u kterých bylo pozorováno zhoršení prahu detekce pauzy v šumu, nebyl velký posun prahu doprovázen změnami amplitudy. Jednoznačná přítomnost tinnitu se tak nedá posuzovat podle změn amplitudy.

7. ZÁVĚR

V předkládané diplomové práci byla provedena studie schopnosti detekovat pauzu v šumu a následný vliv hluku na sluchový systém potkanů kmene Long Evans. Zároveň byla sledována souvislost mezi schopností rozlišovat časové parametry zvuku a posunem sluchových prahů u skupiny dospělých potkanů kmene Long Evans po ohlušení širokopásmovým šumem dvou různých intenzit (118dB SPL a 122 dB SPL). Schopnost rozlišovat časové parametry zvuku byla hodnocena pomocí behaviorálního testování detekce pauzy v šumu za podmínek negativního posílení testovaného stimulu. Nejprve byl sledován trénink na detekci pauzy v šumu (v této fázi byla testovacím stimulem pauza o délce 40 ms) u skupiny potkanů kmene Long Evans. V paralelně probíhající studii byla jiná skupina experimentálních potkanů trénována pro rozlišování dvou pauz o různé délce trvání (15ms a 60ms) (pro přehled Mičík, 2006). Po porovnání doby tréninku a finálních hodnot výkonu dosažených u obou úkolů můžeme konstatovat, že tyto behaviorální úkoly představují různé hladiny obtížnosti, přičemž je úkol detekce pauzy v šumu jednodušší v porovnání s úkolem rozlišování trvání pauzy. Při porovnání výsledků dvou skupin různě starých potkanů jsme dospěli k závěru, že důležitým faktorem ovlivňujícím výsledky tréninku (výkon potkanů v různých sériích během tréninku) a schopnost detekce pauzy v šumu je věk potkanů. Porovnání schopnosti detekce pauzy v šumu u mladých (ve věku 4 týdnů) a dospělých potkanů (starší 2 měsíců) prokázalo, že všichni dospělí potkani zvládli úkol po 3-4 dnech tréninku, zatímco mladá zvířata potřebovala k natrénování až 10 dní. Jestliže vezmeme v úvahu literární údaje, které svědčí o tom, že sluchový systém potkanů dozrává postupně během prvních dvou měsíců po narození, můžeme předpokládat, že u některých jedinců skupiny mladých potkanů, mohla nezralost jejich sluchového i nervového systému ovlivnit schopnost detekovat pauzu v šumu.

Po ukončení tréninku bylo u potkanů provedeno měření prahu detekce pauzy v šumu. Poté byla skupina dospělých potkanů (9 jedinců), u nichž byl stanoven práh detekce pauzy v šumu (GDT), vystavena hlukové expozici širokopásmovým šumem o intenzitě 118 dB SPL po dobu 60 minut. Při sledování vlivu ohlušení na schopnost detekce pauzy bylo u všech zvířat vystavených expozici širokopásmovému šumu vysoké intenzity pozorováno zhoršení GDT (průměrný práh činil $6,1 \pm 0,1$ ms). Zvětšení

prahu detekce pauzy v šumu bylo přechodné a k návratu na původní hodnoty došlo během 3 týdnů po ohlušení, přičemž u všech sledovaných zvířat byl pokles nejrychlejší v prvním týdnu po hlukové expozici. Paralelně s měřením posunu GDT byl u stejné skupiny potkanů měřen sluchový práh prostřednictvím elektrofyziologické metody snímání evokovaných korových potenciálů (pro přehled Grécová, 2006). Po ohlušení byl u všech potkanů zaznamenán vzestup sluchového prahu na všech frekvencích s výrazným posunem na vyšších frekvencích. Jelikož je známo, že schopnost detekce pauzy v šumu do značné míry závisí na vnímání vysokých frekvencí, zaměřili jsme se na porovnávání dynamiky změn GDT se změnami sluchového prahu na frekvenci 8 kHz. Při porovnání obou parametrů, bylo zřejmé, že posun GDT byl doprovázen posunem sluchových prahů. Časový průběh i dynamika návratu hodnot obou parametrů k původním prahovým hodnotám byla podobná. Na základě těchto údajů byl vyvozen závěr, že změny GDT byly způsobeny spíše zhoršením sluchu než přítomností tinnitu. Přesto dočasný výskyt tinnitu u ohlušených zvířat za těchto okolností nemohl být vyloučen.

Tři týdny po 1. hlukové zátěži, kdy u potkanů došlo k návratu prahů detekce pauzy v šumu 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 skupiny zvířat větší deficit schopnosti detekce pauzy v šumu. Po 2. ohlušení byly v rámci posunů GDT pozorovány velké individuální rozdíly mezi jednotlivými zvířaty, přičemž rozptyl posunů GDT byl značný a dynamika návratu k původním hodnotám byla rozdílná. U 3 z 9 zvířat byl během následujících 2 týdnů zaznamenán úplný (nebo téměř úplný) návrat k původním hodnotám; u 6 z 9 potkanů zůstaly sluchové prahy zvýšené ještě měsíc po ohlušení. Proto byli potkani rozděleni na 2 podskupiny. Porovnání výsledků změn GDT se změnami sluchových prahů po 2. ohlušení ukázalo, že vzestup sluchových prahů měřených na frekvenci 8 kHz byl pro obě skupiny téměř stejně veliký (mezi 80-85 dB SPL) (Grécová, 2006).

Při vyšším rozdílu posunů GDT ihned po ohlušení nebyla v rámci obou podskupin pozorována závislost posunů GDT na posunu sluchového prahu, který byl jednotný pro celou skupinu zvířat. Na základě analýzy výsledků získaných po 2. ohlušení se můžeme domnívat, že u části zvířat (1. skupiny) opakované ohlušování vyvolalo dočasný (akutní) tinnitus a u 2. skupiny dlouhodobý tinnitus. Lze

předpokládat, že různý deficit schopnosti detekce pauzy v šumu po 2. ohlušení byl definován jednak různou individuální odolností zvířat k hlukové expozici stejných parametrů, a jednak různou mírou poškození sluchu po 1. ohlušení.

Na základě dosažených výsledků nebyla prokázána závislost zhoršení prahu detekce pauzy v šumu na posunech sluchových prahů. Přímá souvislost byla naproti tomu zaznamenána mezi zvětšením GDT a intenzitou ohlušování, neboť větší intenzita ohlušování vyvolávala větší posun prahů detekce pauzy v šumu.

Výsledky prezentované práce jsou v souladu s literárními údaji, které ukazují, že po ohlušení může kromě zvýšení sluchového prahu dojít i k jiným poruchám, jako je například výskyt tinnitu (Kemp a Plaisted, 1986, Chermak a Dengerink, 1987, Bauer a Brozowski, 2001). Používání behaviorální metody měření prahu detekce pauzy v šumu na experimentálních zvířatech je velmi perspektivní pro další zkoumání fenoménu tinnitu a studium jeho patofyziologických mechanismů.

Výsledky této práce budou využity pro další výzkum fyziologické charakteristiky sluchu u potkanů na oddělení neurofyziologie sluchu ÚEM AVČR a v nejbližší době budou použity při prezentacích na konferencích Inner Ear Biology Workshop v Montpellier (16.-20.9.2006) a Shanghai Internatioanl Conference on Physiological Biophysic – Audition and Vision (Shanghai 3.-7.11. 2006).

8. CITACE

- Atherley GR, Hempstock TI, Noble WG (1968) Study of tinnitus induced temporarily by noise. *J Acoust Soc Am* 44:1503-1506.
- Blatchley, B.J., Cooper, W.A., Coleman, J.R. (1987) Development of auditory brainstem response to tone pip stimuli in the rat. *Brain Res.* 429, 75-84.
- Bauer, C.A., Brozoski, T.J., (2001) Assessing tinnitus and prospective tinnitus therapeutics using a psychophysical animal model. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 2, 54-64.
- Fitzgibbons PJ (1983) Temporal gap detection in noise as a function of frequency, bandwidth, and level. *J Acoust Soc Am* 74:67-72.
- Fukazawa T (1992) Evoked otoacoustic emissions in a nonlinear model of the cochlea. *Hear Res* 59:17-24.
- Green DM, Forrest TG (1989) Temporal gaps in noise and sinusoids. *J Acoust Soc Am* 86: 961-970.
- Heffner HE, Harrington IA (2002) Tinnitus in hamsters following exposure to intense sound. *Hear Res* 170:83-95.
- Heffner HE, Heffner RS, Contos C, Ott T (1994) Audiogram of the hooded Norway rat. *Hear Res* 73:244-247.
- Heffner RS, Heffner HE (1988) Sound localization in a predatory rodent, the northern grasshopper mouse. *J Comp Psychol* 102:66-72.
- Chermak GD, Dengerink JE (1987) Characteristics of temporary noise-induced tinnitus in male and female subjects. *Scand Audio* 16:67-73.
- Jastreboff, P.J., Brennan, J.F., (1994) Evaluating the loudness of phantom auditory perception (tinnitus) in rats. *Audiology* 33, 202-217.
- Jewett DL (1994) A Janus-eyed look at the history of the auditory brainstem response as I know it. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 34:41-48.
- Kemp DT (1978) Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 64:1386-91.

- Kemp DT (1979) The evoked cochlear mechanical response and the auditory microstructure - evidence for a new element in cochlear mechanics. *Scand Audiol Suppl* 9:35-47.
- Kemp DT (1986) Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms. *Hear Res* 22:95-104.
- Kemp DT (2002) Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull* 63:223-241.
- Kemp S, Plaisted ID (1986) Tinnitus induced by tones. *J Speech Hear Res* 29 (1): 65-70.
- Kollár A (1992) Otoakustické emise a jejich klinické využití. *Kvarta, Praha, Str.* 3- 28
- Lenoir, M., Shnerson, A., Pujol, R., (1980) Cochlear receptor development in the rat with emphasis on synaptogenesis. *Anat. Embryol.* 160, 253-262.
- Moore DR, Rothholtz V, King AJ (2001) Hearing: cortical activation does matter. *Curr Biol* 11:R782-784. Review.
- Penner M (1977) Detection of temporal gaps in noise as a measure of the decay of auditory sensation. *J Acoust Soc Am* 61:552-557.
- Popelář, J., Syka, J., Berndt, H., (1987) Effect of noise on auditory evoked responses in awake guinea pigs. *Hear. Res.* 26, 239-247.
- Plomp R (1964) Rate of decay of auditory sensation. *J Acoust Soc Am* 36:227-282.
- Potashner SJ, Suneja SK, Benson CG (1997) Regulation of D-aspartate release and uptake in adult brain stem auditory nuclei after unilateral middle ear ossicle removal and cochlear ablation. *Exp Neurol* 148: 222-235.
- Puel JL, Pujol R (1998) Noise-induced hearing loss: current physiological investigations. In: *Biological effects of noise.* Prasher D and Luxon L (Eds.) Whurr Publishers Ltd, London: 17-21.
- Rosanowski F, Hoppe U, Moser M, Tigges M, Eysholdt U (1996) Speech-specific cortical potentials--methodologic aspects and initial clinical results. *Laryngorhinotologie* 75:326-329.
- Rossi G, Solero P, Rolando M, Olina M (1989) Are delayed evoked oto-acoustic emissions (DEOE) solely the outcome of an active intracochlear mechanism? *Scand Audiol* 18:99-104.

- Roth, B., Bruns, V., 1992. Postnatal development of the rat organ of Corti. II. Hair cell receptors and their supporting elements. *Anat. Embryol.* 185, 571-581
- 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.
- Rybalko N, Šuta D (2006) Effect of auditory cortex lesions on the discrimination of frequency-modulated tones in rats. *Eur J Neurosci.* 23(6):1614-22.
- 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, Wang J, Ding D (2000) Auditory plasticity and hyperactivity following cochlear damage. *Hearing Res* 147: 261-274.
- 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.
- Sie KC, Rubel EW (1992) Rapid changes in protein synthesis and cell size in the cochlear nucleus following eighth nerve activity blockade or cochlea ablation. *J Comp Neurol* 320: 501-508.
- Suneja SK, Benson CG, Potashner SJ (1998) Glycine receptors in adult guinea pig brain stem auditory nuclei: Regulation after unilateral cochlear ablation. *Exp Neurol* 154: 473-488.
- Syka J (1981) *Fyziologie a patofyziologie zraku a sluchu.* Avicenum zdravotnické nakladatelství, Praha. Str. 161-262.
- Syka J, Rybalko N, Brožek G, Jilek M (1996) Auditory frequency and intensity discrimination in pigmented rats. *Hearing Research* 100, 107-113,
- Syka J, Rybalko N (2000) Threshold shifts and enhancement of cortical evoked responses after noise exposure in rats. *Hearing Res.* 139: 59-68.
- Syka J, Rybalko N, Mazelova J, Druga J (2002) Gap detection threshold in the rat before and after auditory cortex ablation. *Hear. Res.* 172: 151-159

Talwar SK, Musial PG, Gerstein GL (2001) Role of mammalian auditory cortex in the perception of elementary sound properties. *J Neurophysiol* 85:2350-2358.