

Neurofyziologie a patofyziologie sluchu

Jiří Popelář

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Oddělení neurofyziologie sluchu, Praha

Osnova přednášky

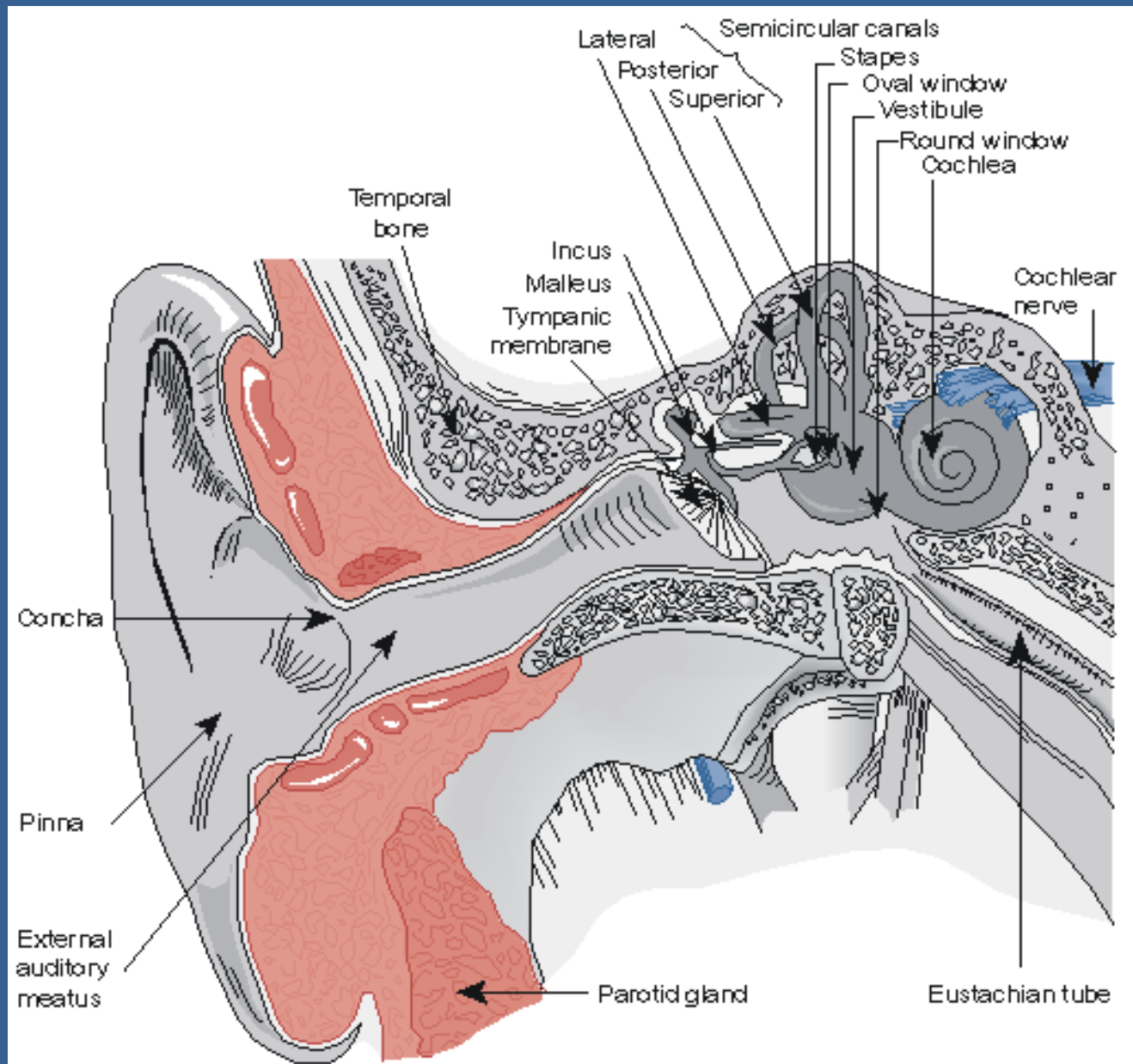
1. Struktura a funkce vnitřního ucha
2. Vzestupná sluchová dráha, tonotopie
3. Testování sluchu – sluchový práh, otoakustické emise, behaviorální testy
4. Sestupná sluchová dráha - struktura a funkce
5. Patofyziologie sluchového systému – presbykuze, tinnitus

Sluch

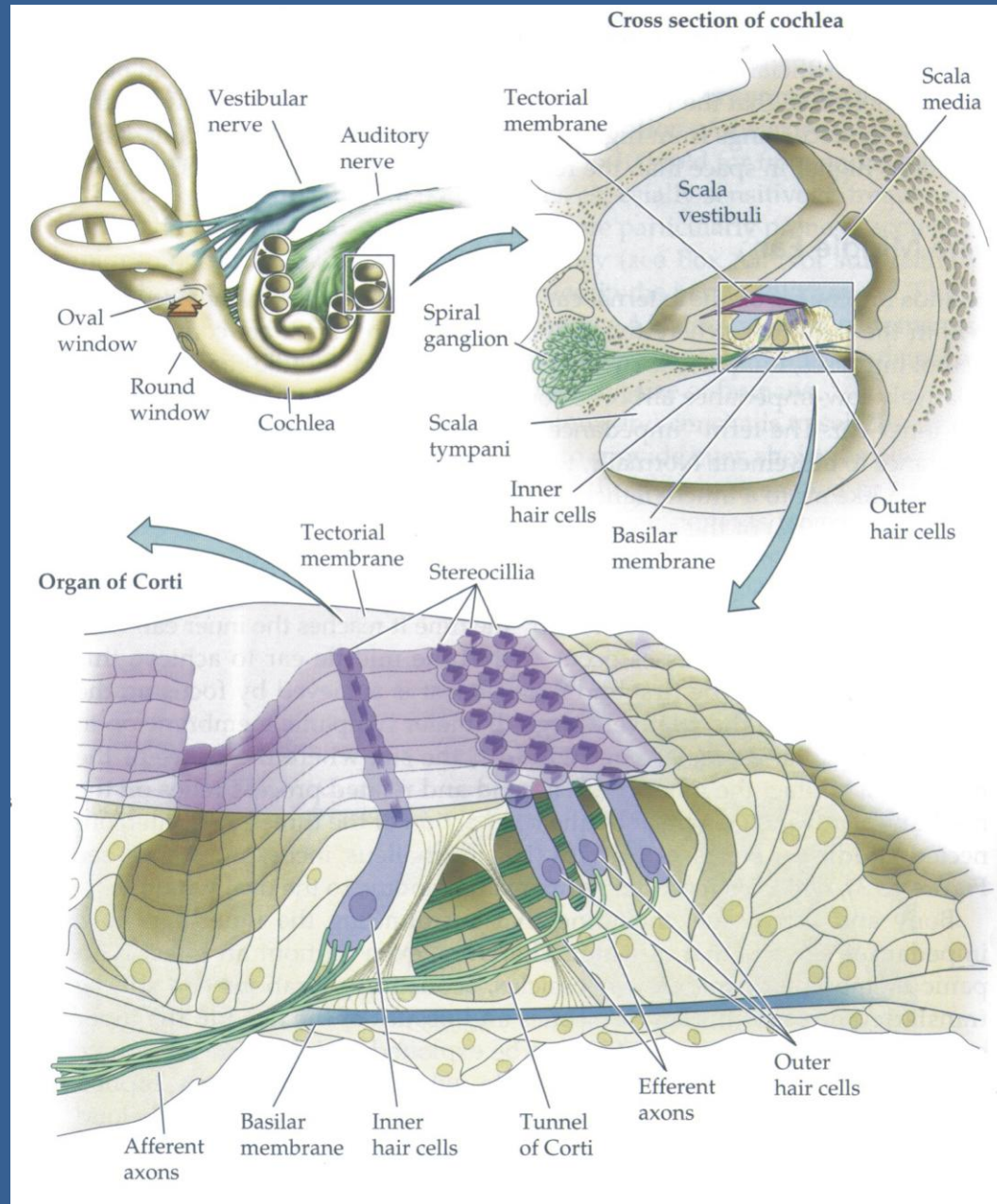
- Nástroj lidské komunikace
- Lokalizace zdroje zvuku v prostoru
- Koordinace postoje a pohybu těla vzhledem ke zdroji zvuku v prostoru

1. **Struktura a funkce vnitřního ucha**
2. Vzestupná sluchová dráha, tonotopie
3. Testování sluchu – sluchový práh, otoakustické emise, behaviorální testy
4. Sestupná sluchová dráha - struktura a funkce
5. Patofyziologie sluchového systému – presbykuze, tinnitus

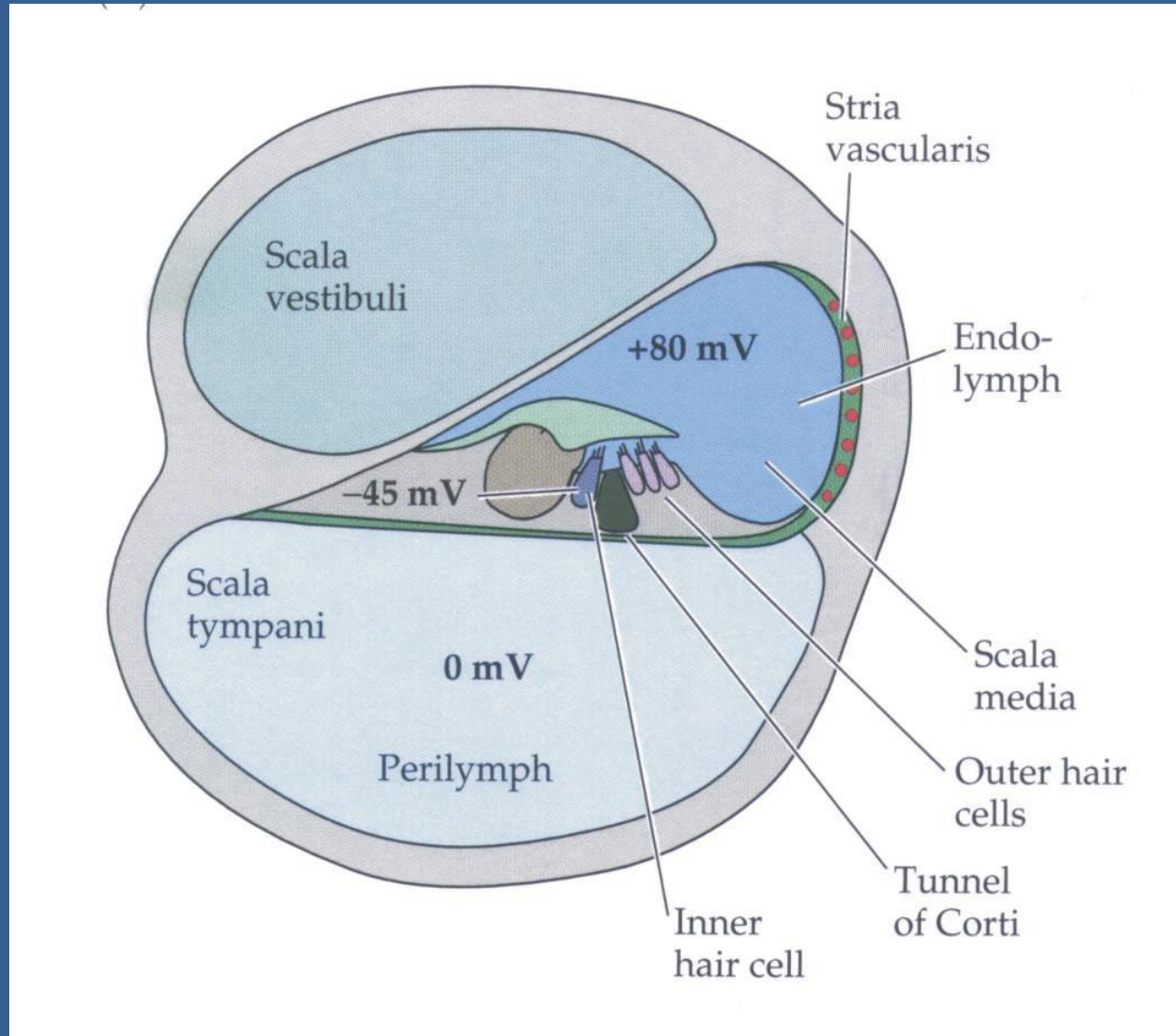
Statoakustické ústrojí

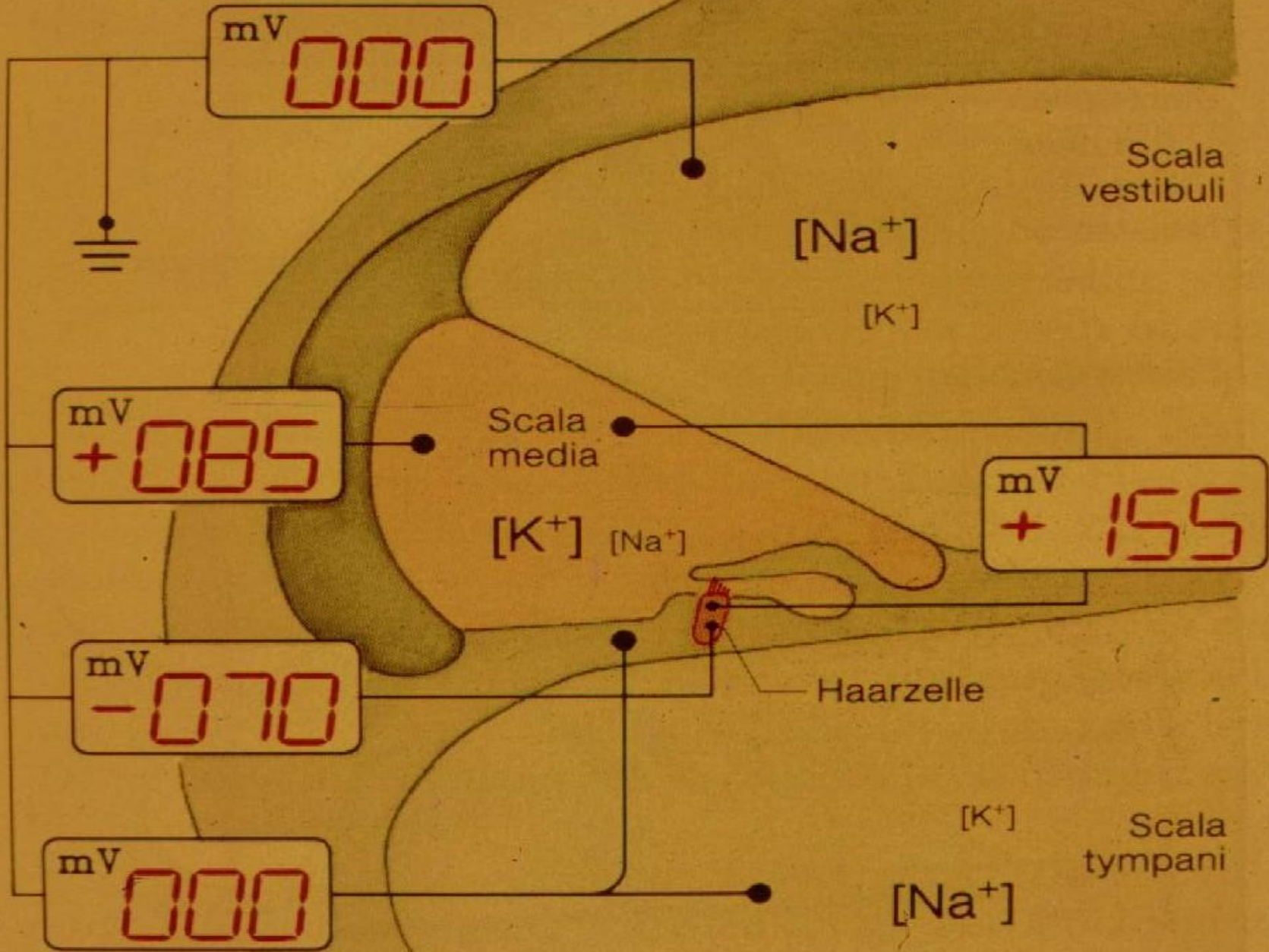


Průřez hlemýžděm, Cortiho orgán

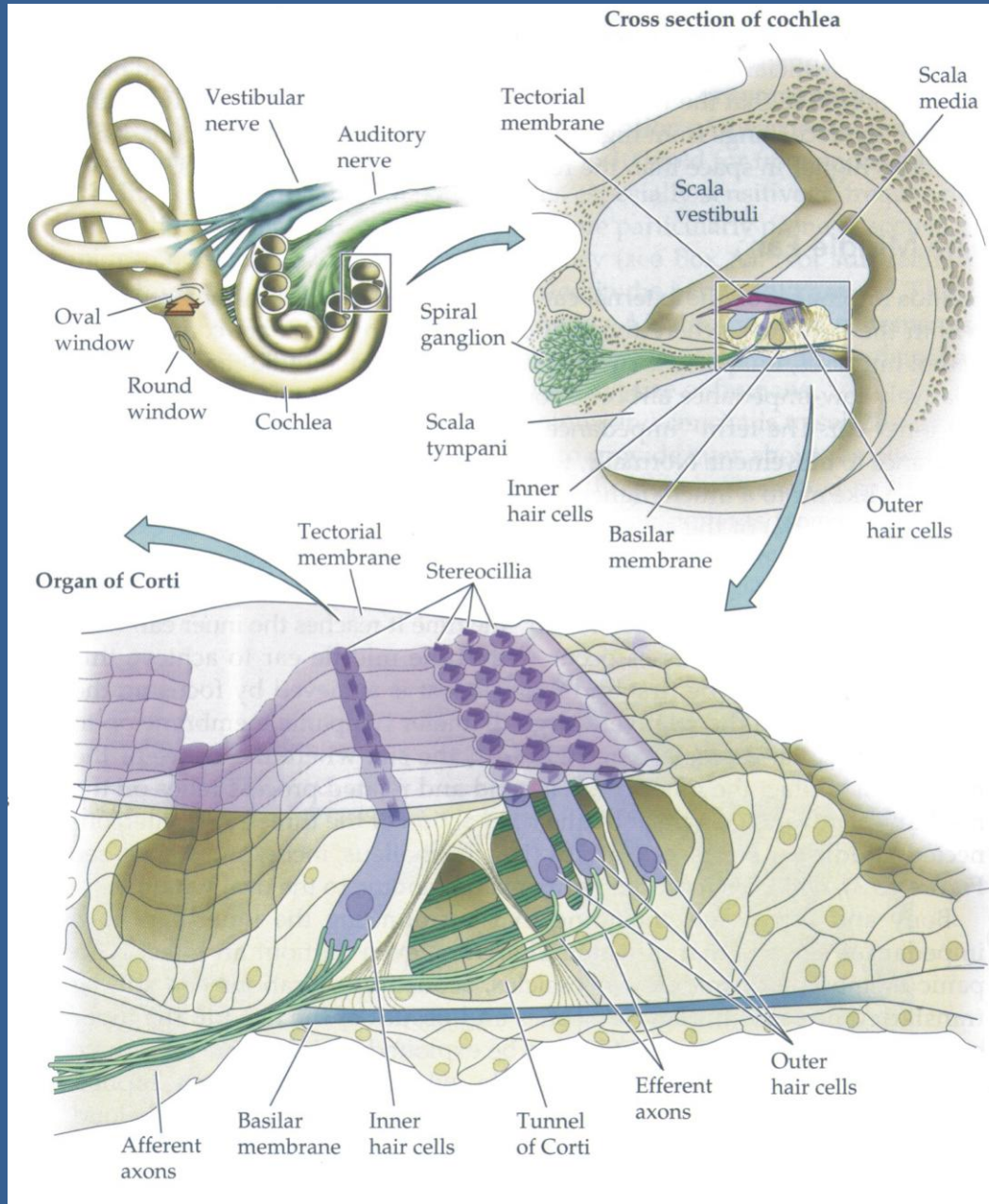


Průřez Cortiho orgánem, elektrické potenciály



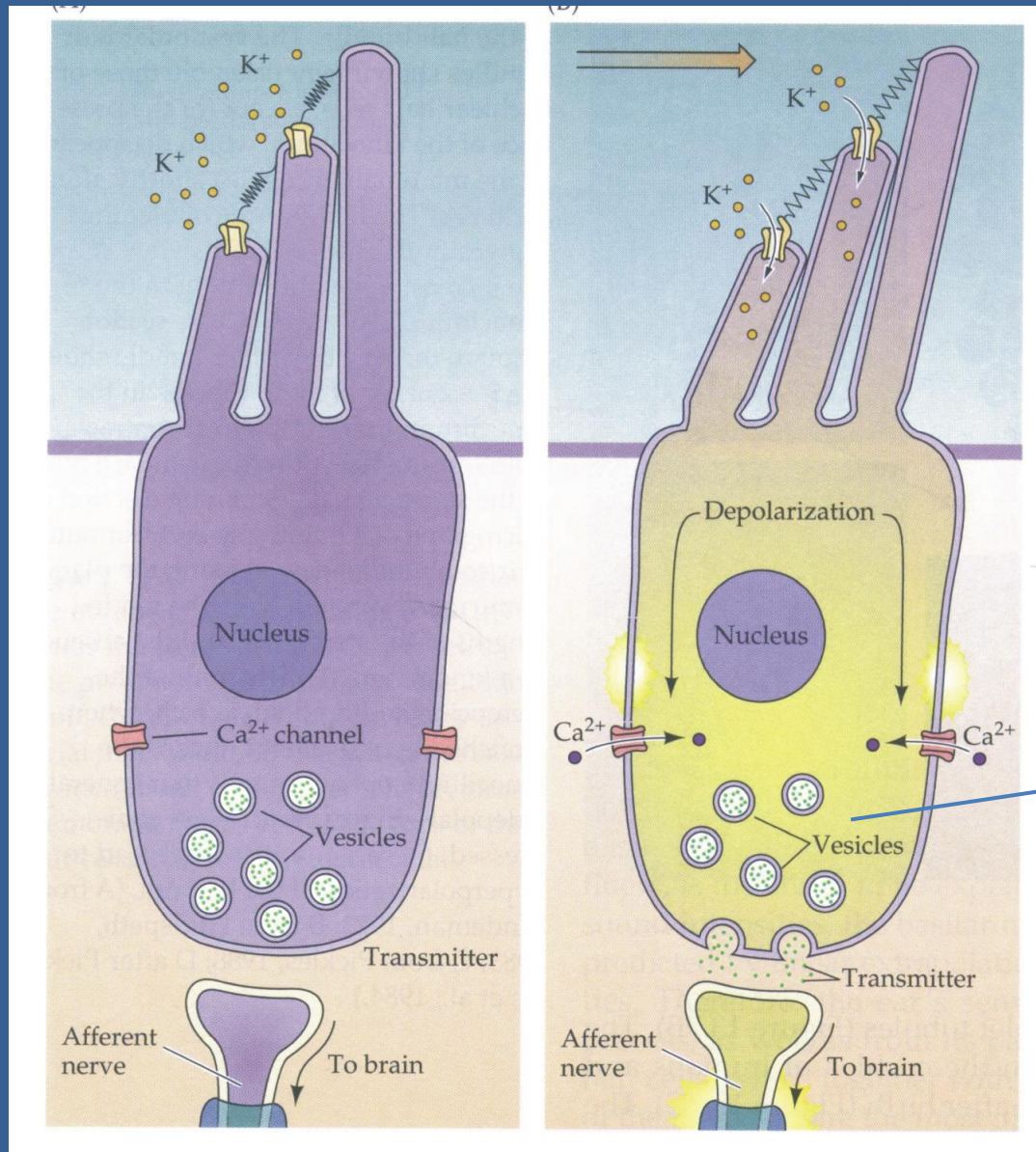


Průřez hlemýžděm, Cortiho orgán



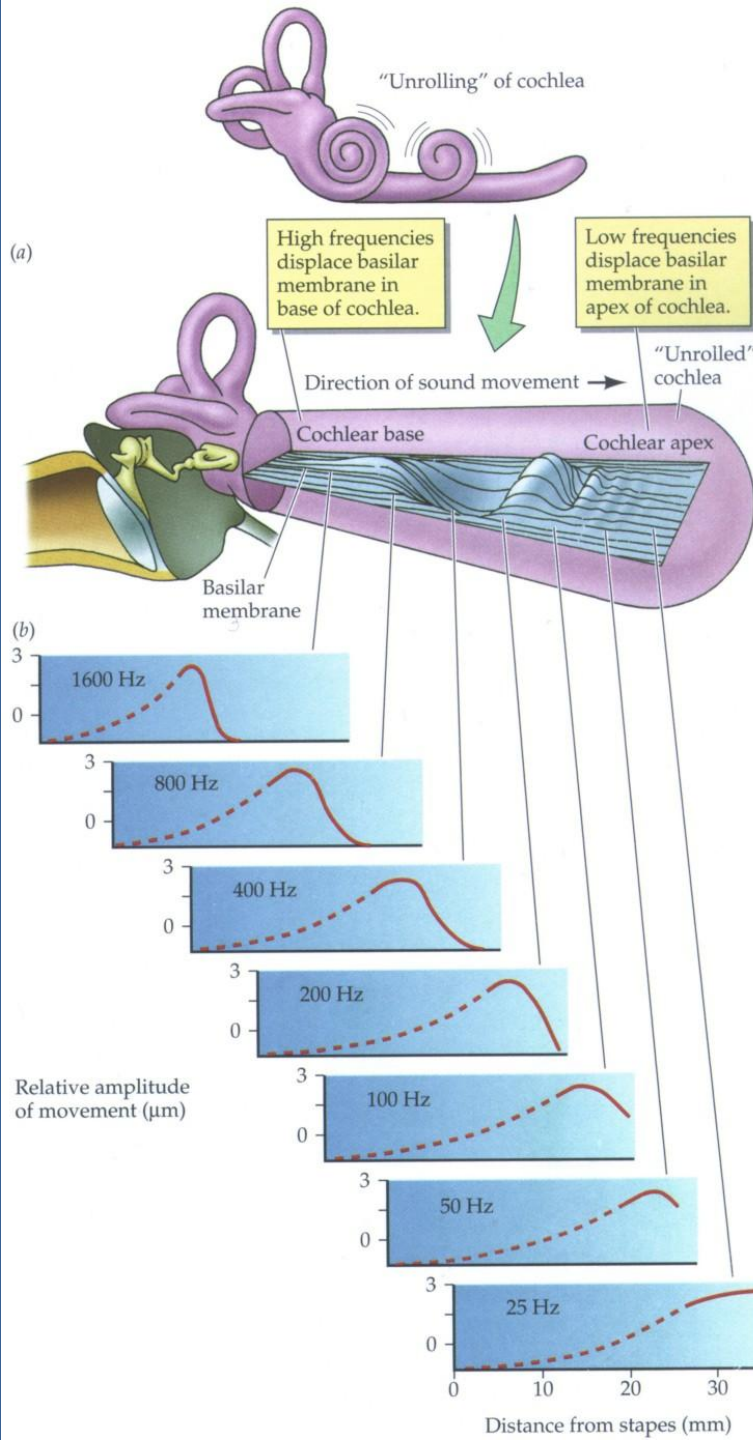
Schematický model Cortiho orgánu

Hyperpolarizace a depolarizace vláskové buňky



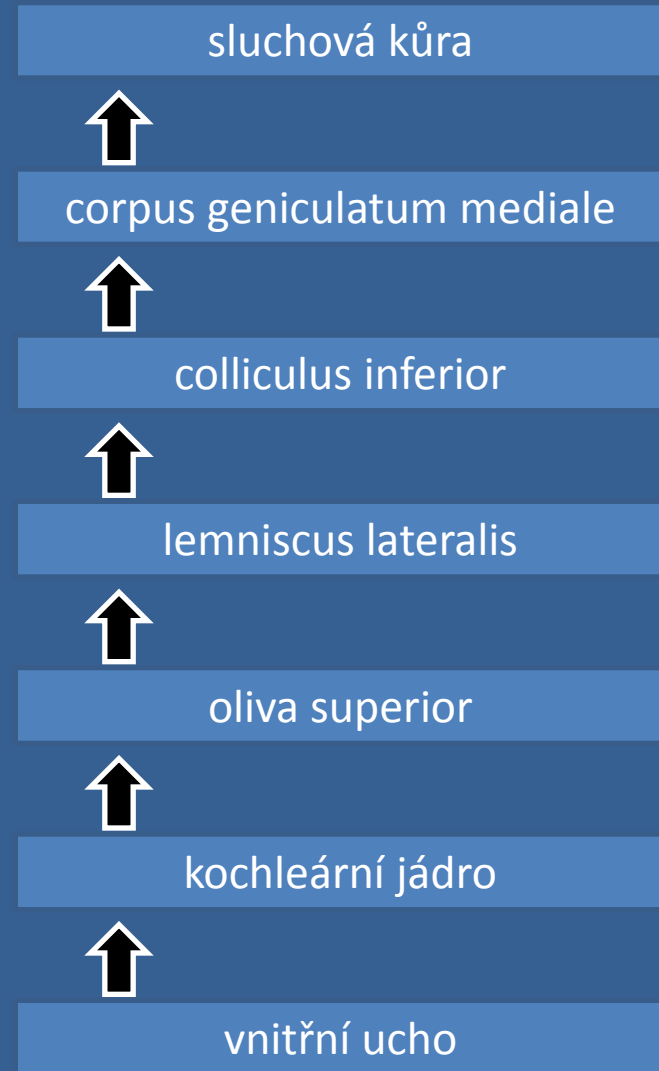
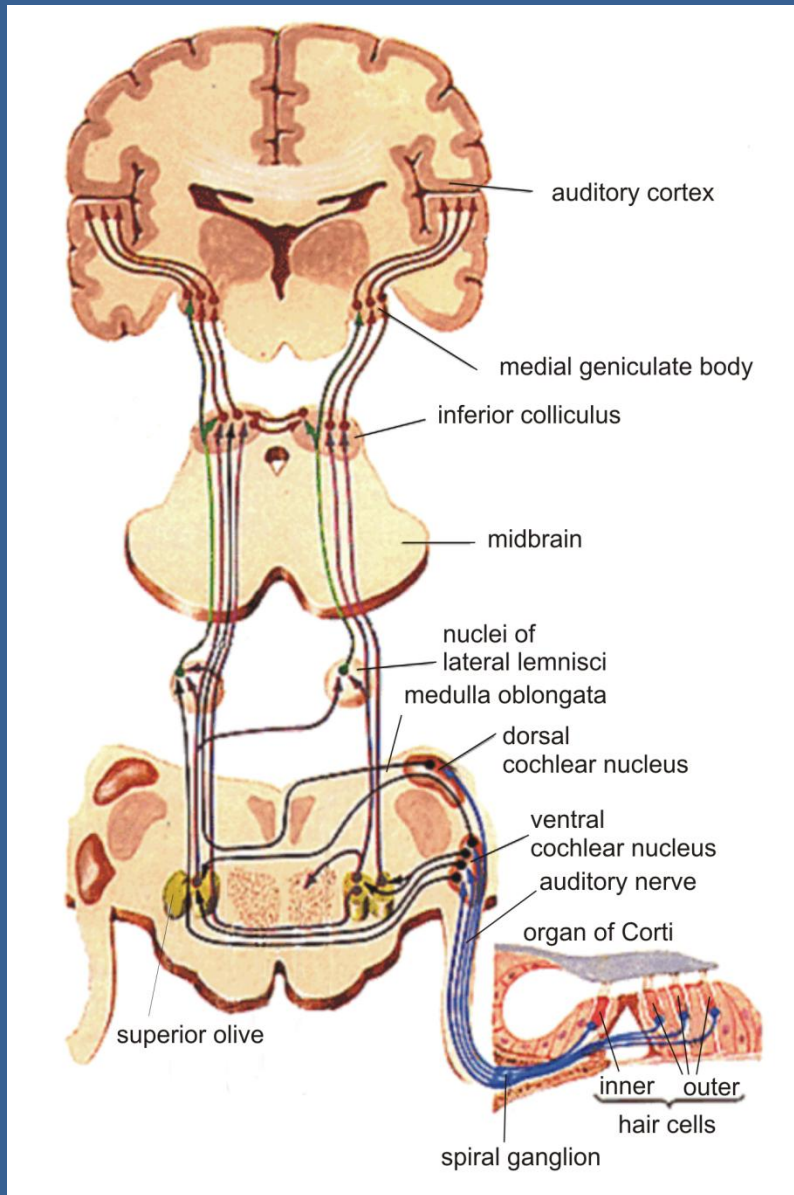
Mediátor = glutamát

Tonotopie hlemýždě



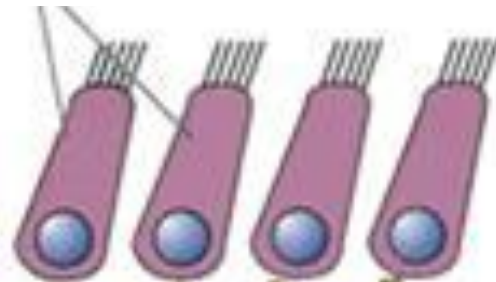
1. Struktura a funkce vnitřního ucha
2. **Vzestupná sluchová dráha, tonotopie**
3. Testování sluchu – sluchový práh, otoakustické emise, behaviorální testy
4. Sestupná sluchová dráha - struktura a funkce
5. Patofyziologie sluchového systému – presbykuze, tinnitus

Aferentní sluchová dráha



Inervace vláskových buněk

Vnější vláskové buňky = 10 000-12 000



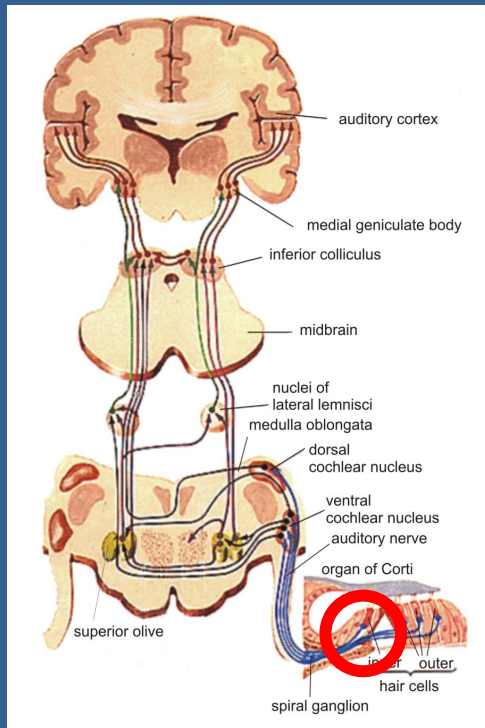
Vnitřní
vláskové
buňky = 3 500



Ganglion
spirale

10 000-50
000
nervových
vláken

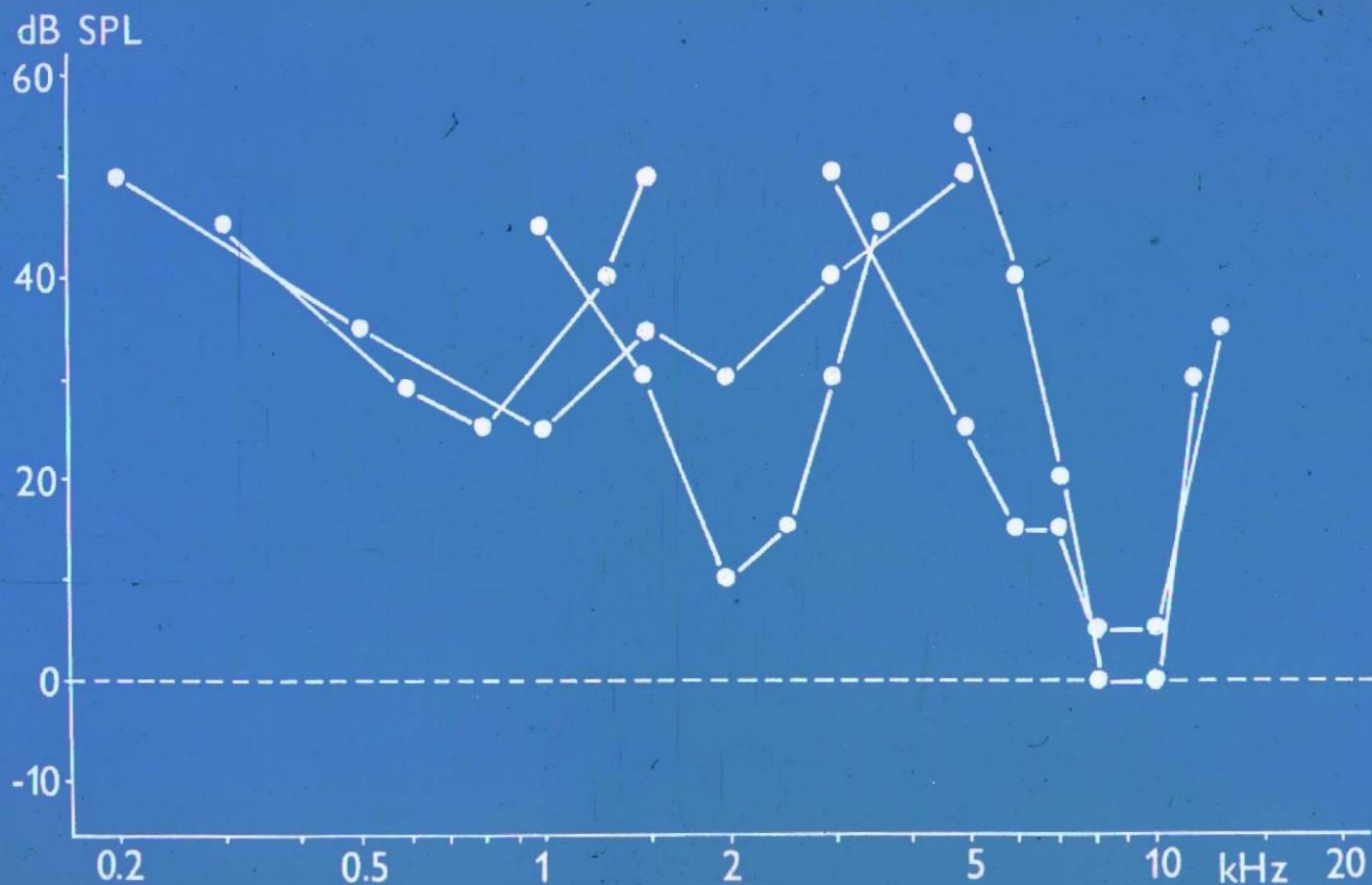
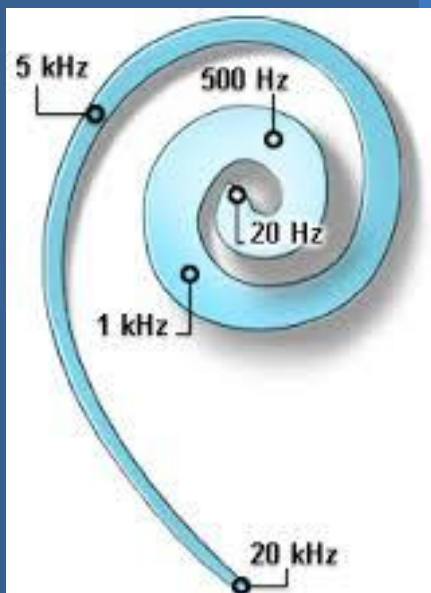
Sluchový
nerv



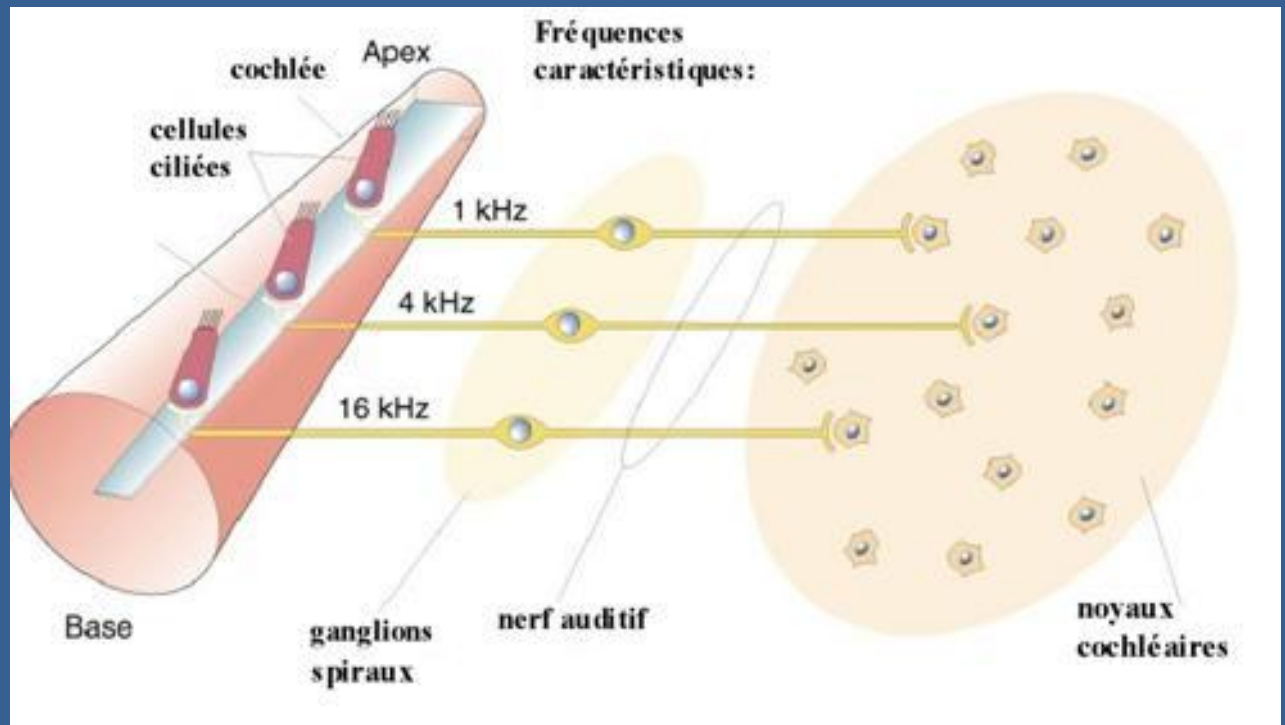
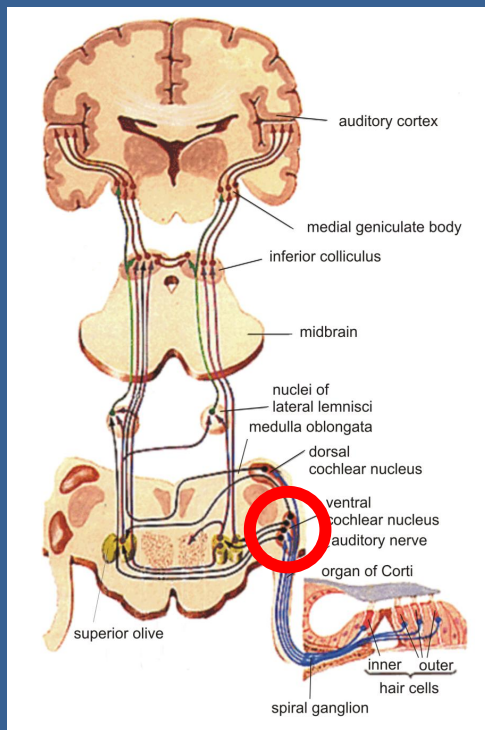
Tonotopie v CNS

prahové frekvenční křivky jednotlivých neuronů

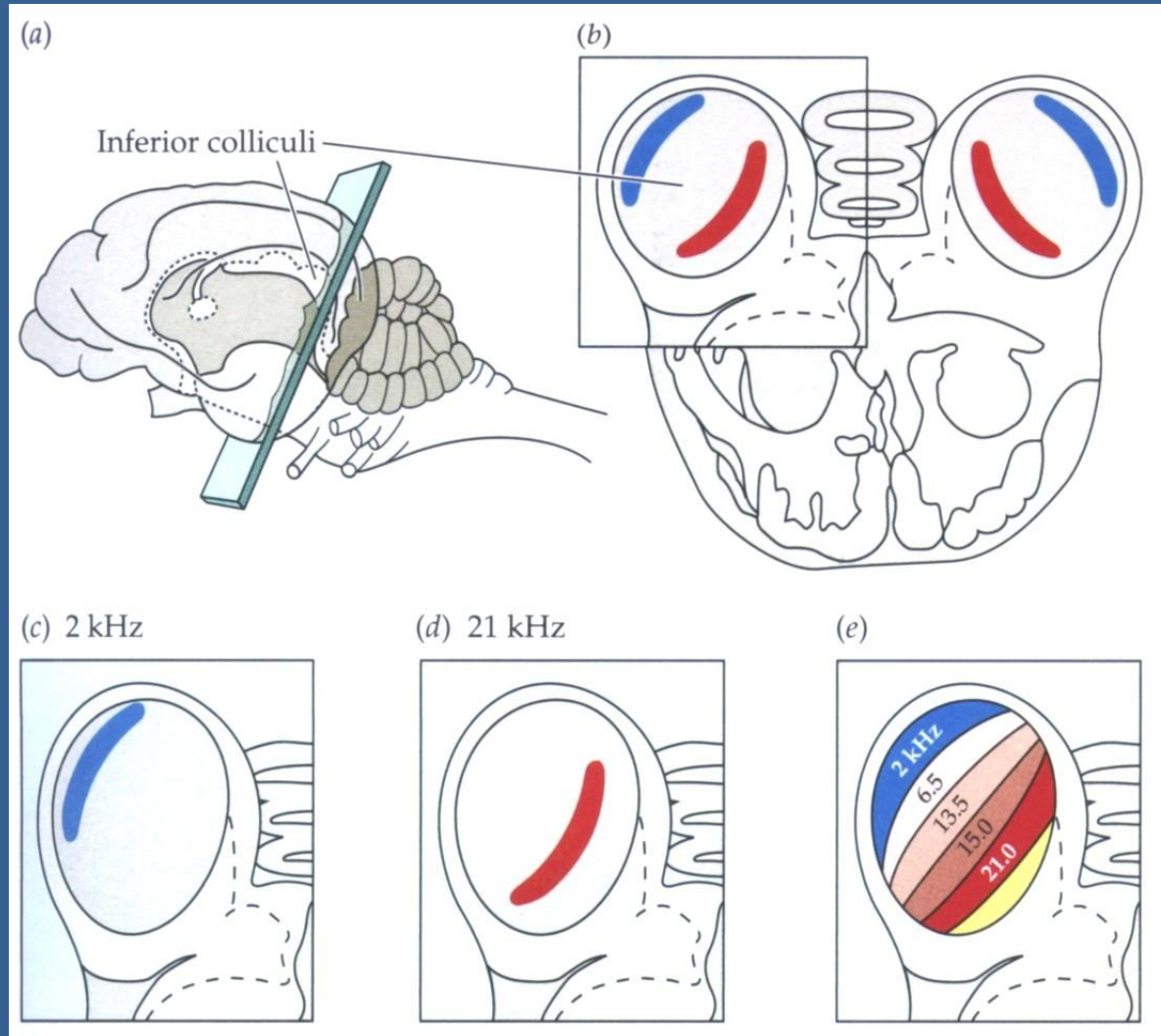
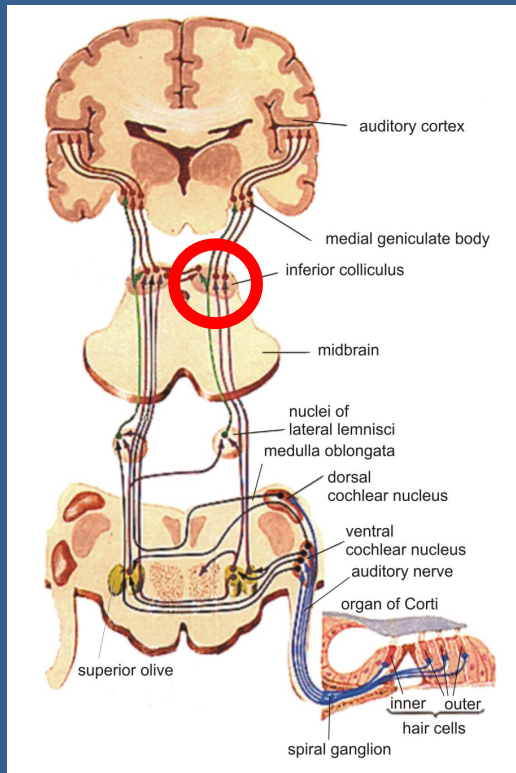
kochlea



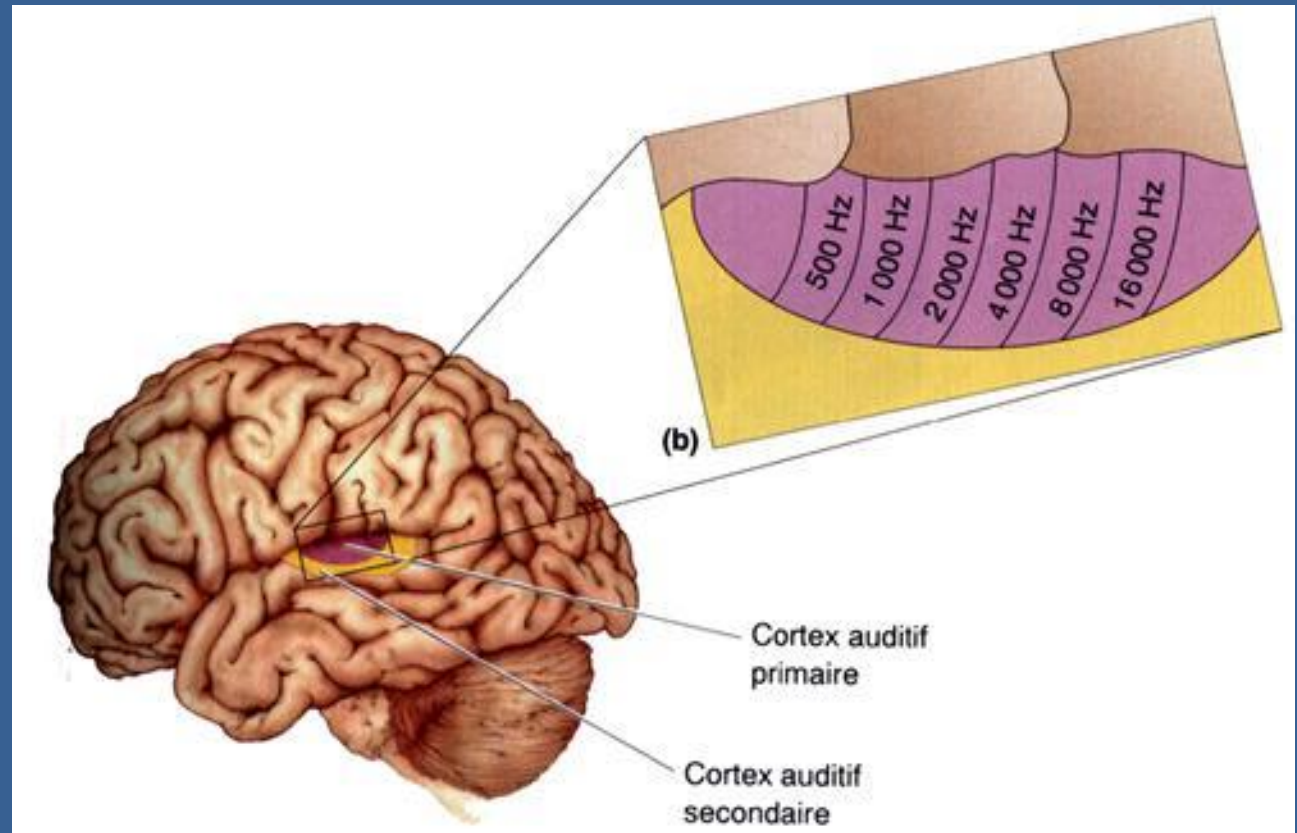
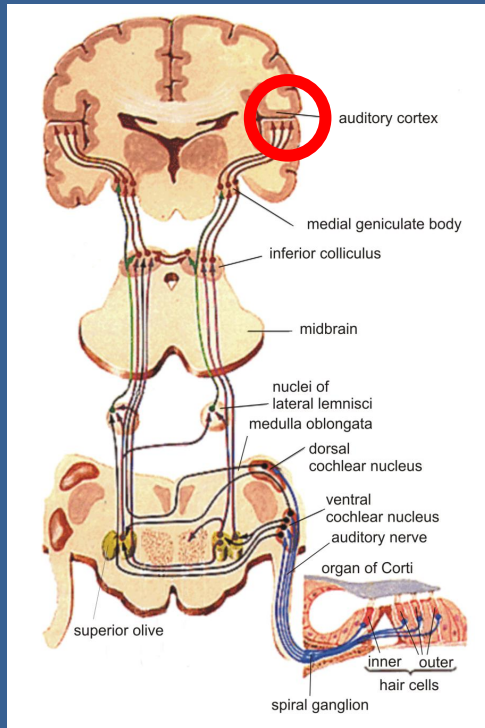
Tonotopie kochleárního jádra



Tonotopie jádra colliculus inferior



Tonotopie sluchové kůry



1. Struktura a funkce vnitřního ucha
2. Vzestupná sluchová dráha, tonotopie
3. Testování sluchu – sluchový práh, otoakustické emise, behaviorální testy
4. Sestupná sluchová dráha - struktura a funkce
5. Patofyziologie sluchového systému – presbykuze, tinnitus

Testování sluchu

Audiometrie: tónový audiogram
snímání otoakustických emisí

Testování sluchu u zvířat:
behaviorální testy
snímání otoakustických emisí
záznam vyvolaných odpovědí

Měření zvuku

Zvuk: vzniká mechanickým chvěním molekul vzduchu a projevuje se jako malé změny atmosférického tlaku, které se podélně šíří prostředím

Intensita zvuku: změna atmosférického tlaku, měří se v Pa

atmosférický tlak 100 000 Pa

silný zvuk 1 Pa

sluchový práh 0,00002 Pa

Logaritmická jednotka dB: $[\text{dB}] = 20 \log_{10} \frac{p}{p_0}$

Pokud je $p_0 = 0,00002 \text{ Pa}$  dB SPL (sound pressure level)

Typické hodnoty akustického tlaku

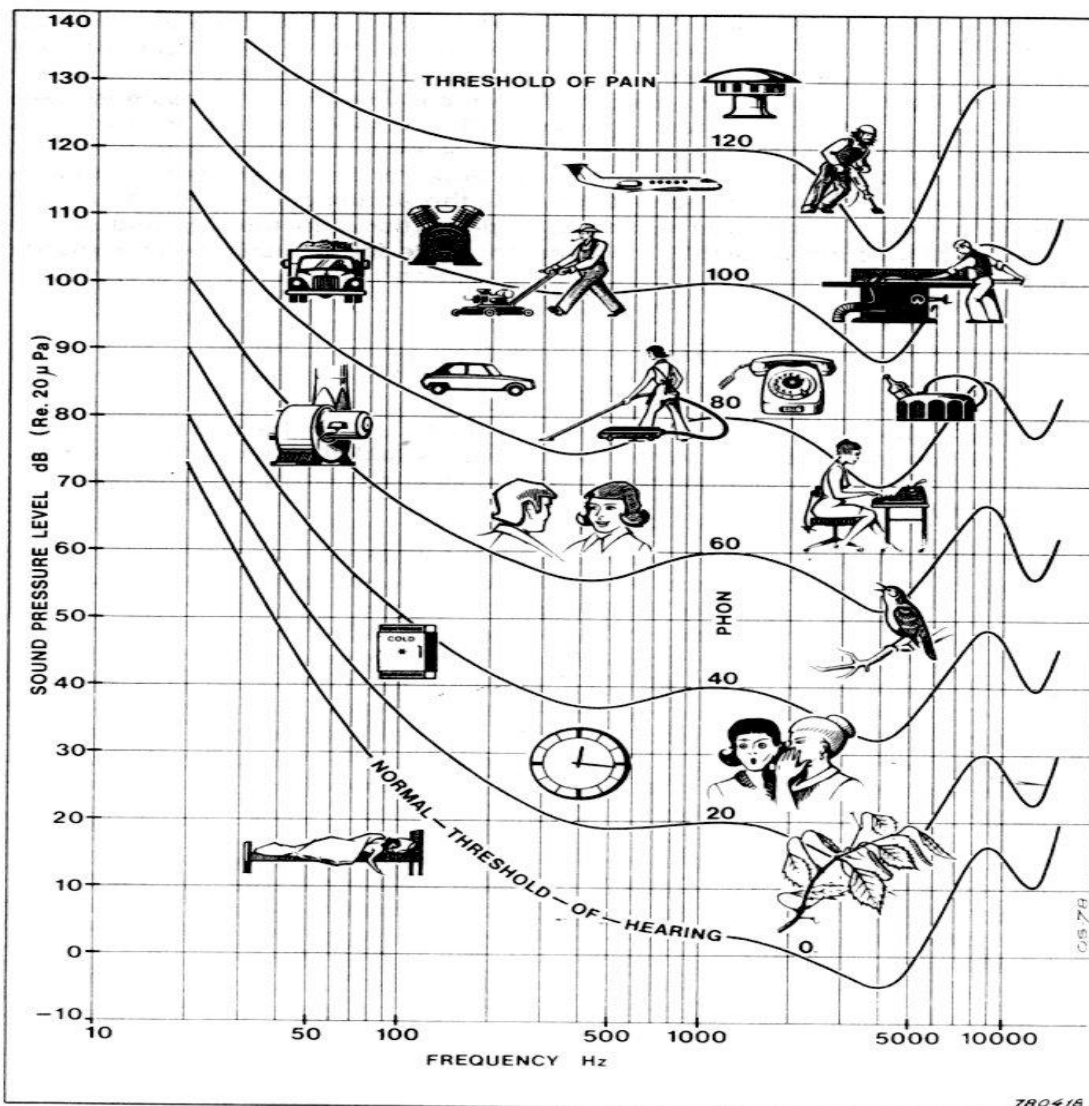
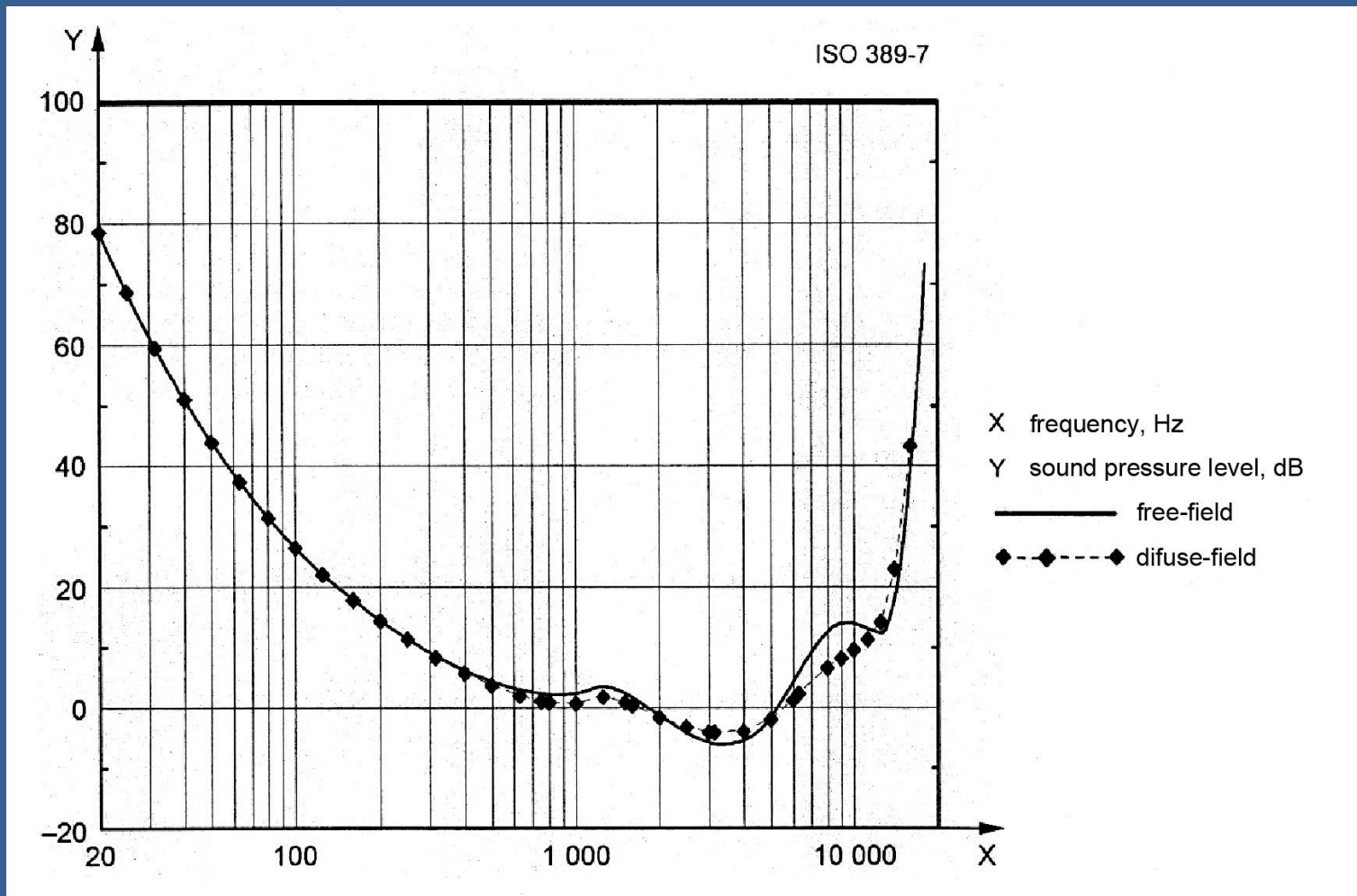


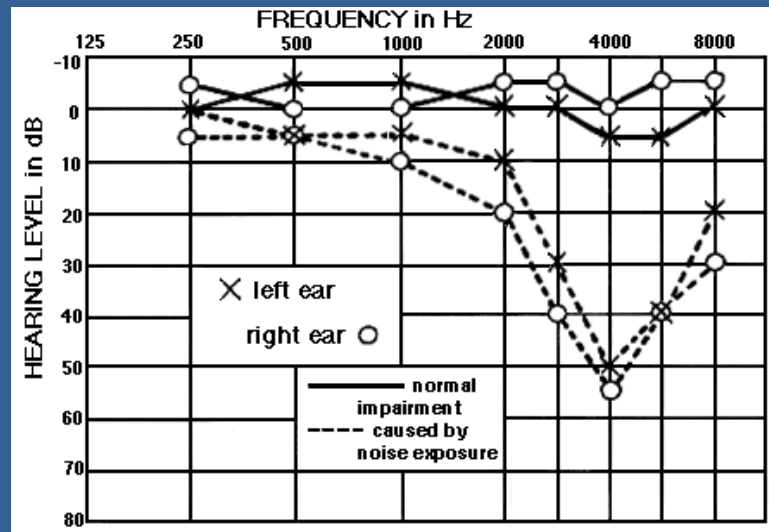
Fig. 2. 20. Typical sound pressure levels of common noise sources



Sluchový práh člověka

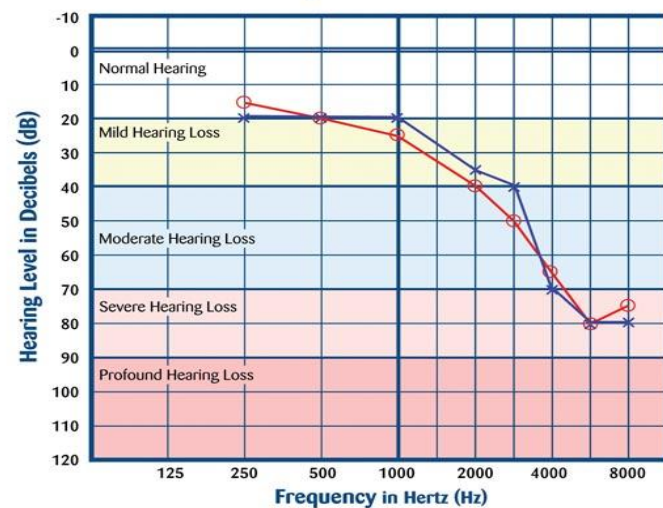


Tónový audiogram



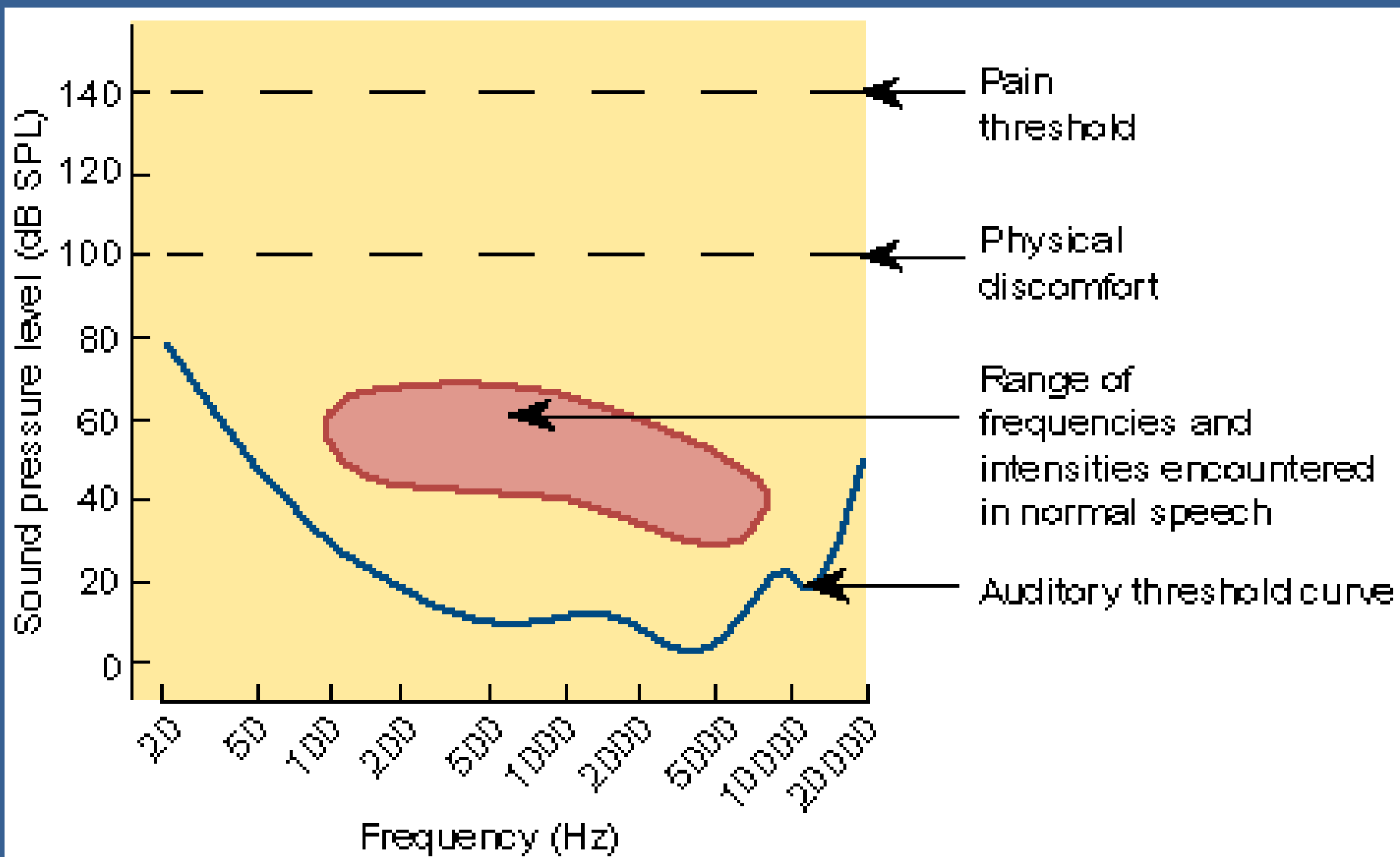
AUDIOGRAM

Left Ear × Right Ear ○



* An example presbycusis (sloping high-frequency hearing loss) synonymous with the ageing process.

Sluchový práh člověka

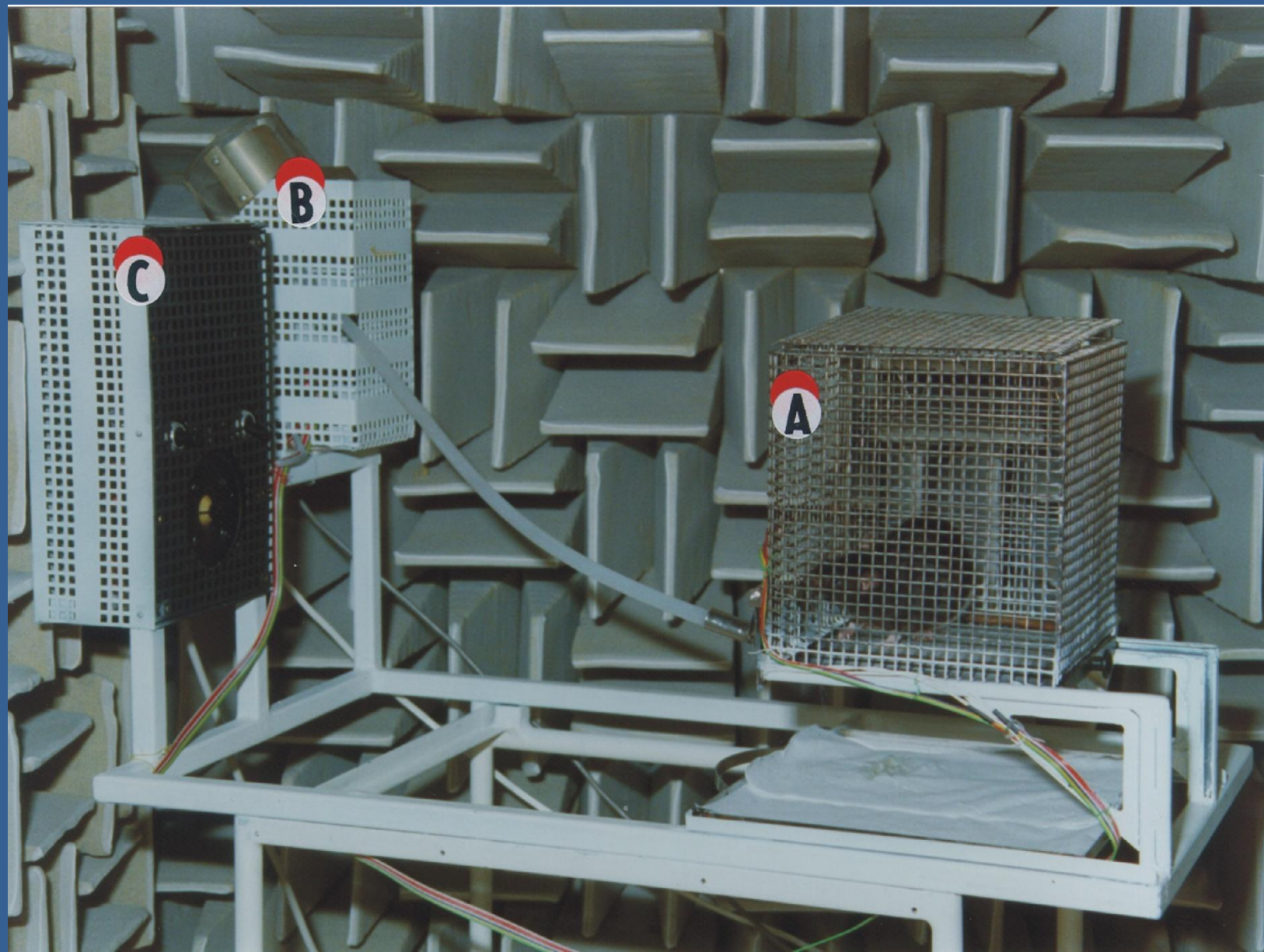


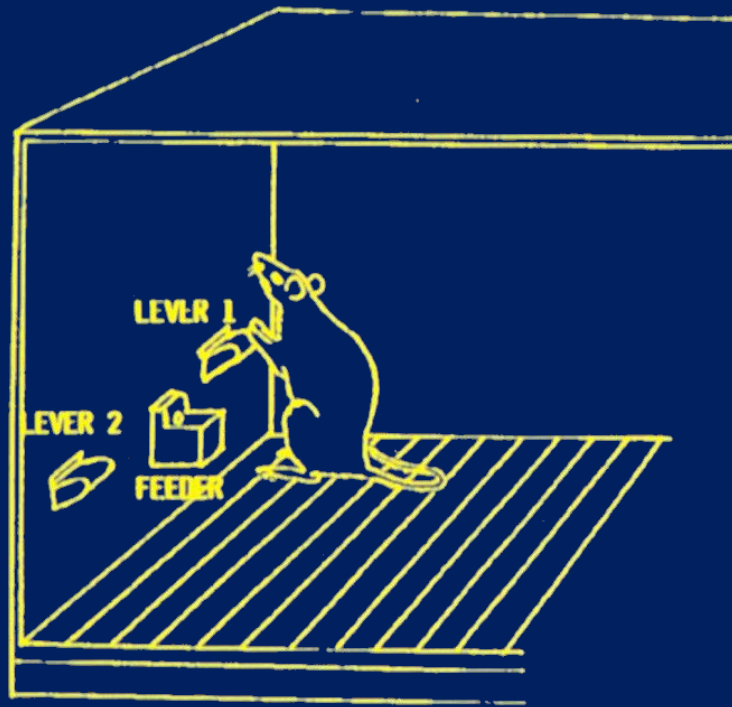
Testování sluchu u zvířat

Behaviorální testy:

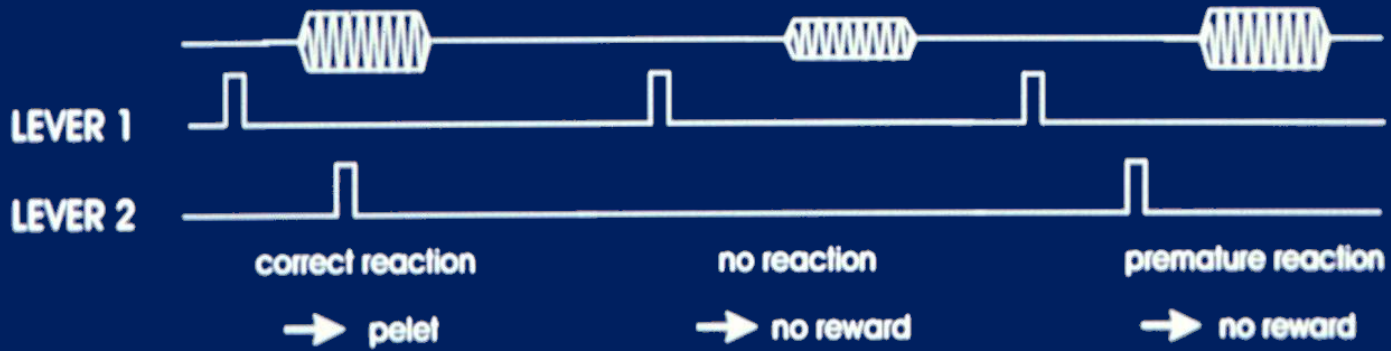
- založené na podmíněných reflexech
- založené na nepodmíněných reflexech

Operantní podmiňování

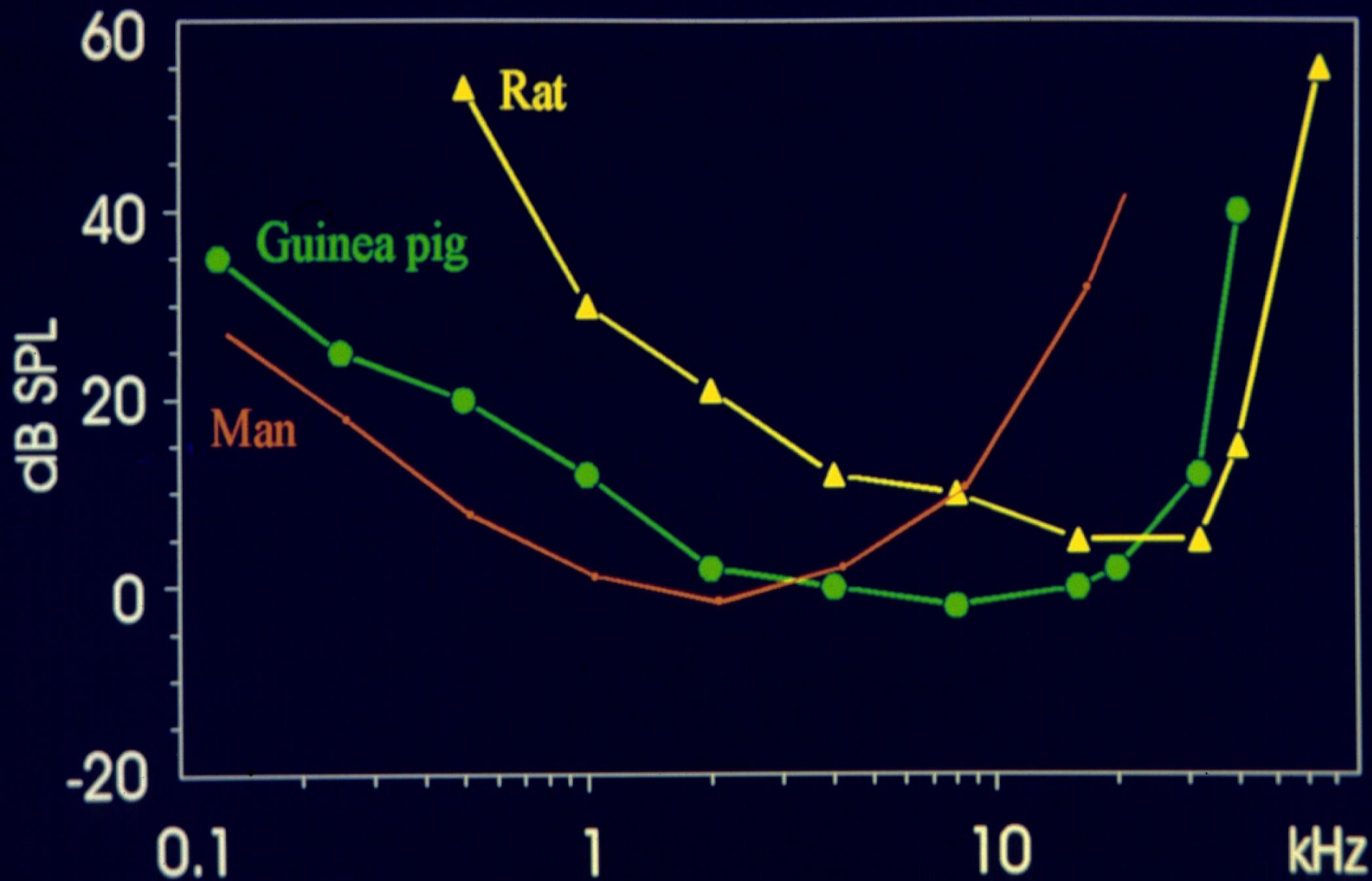


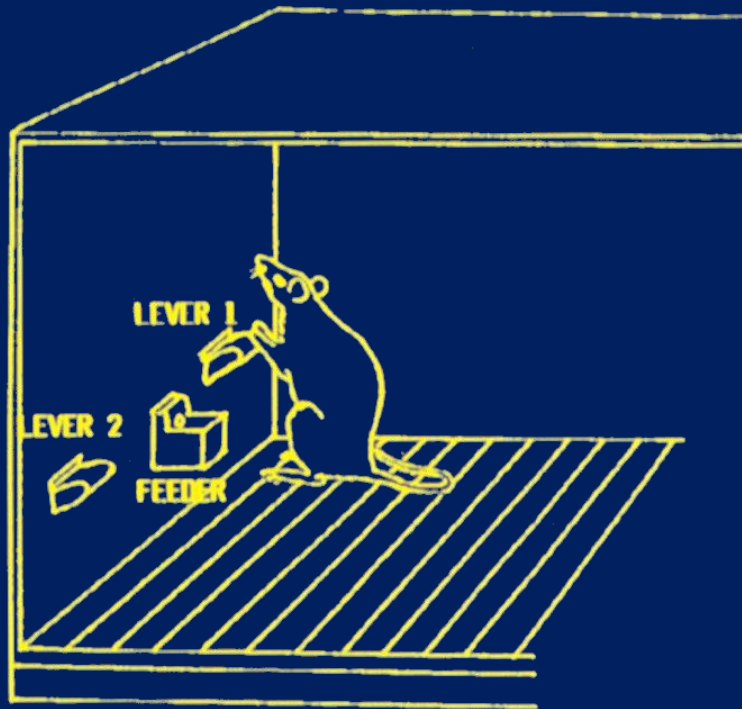


Hearing threshold

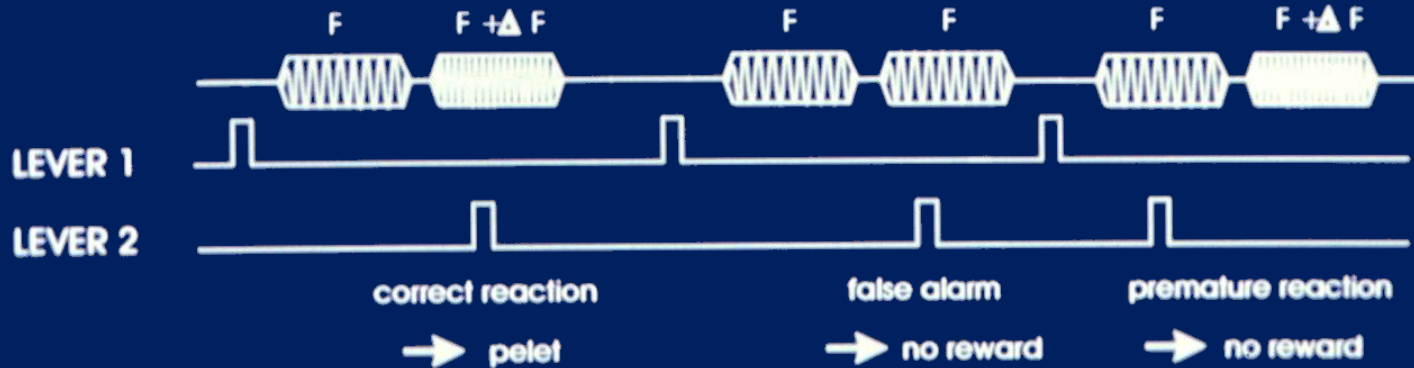


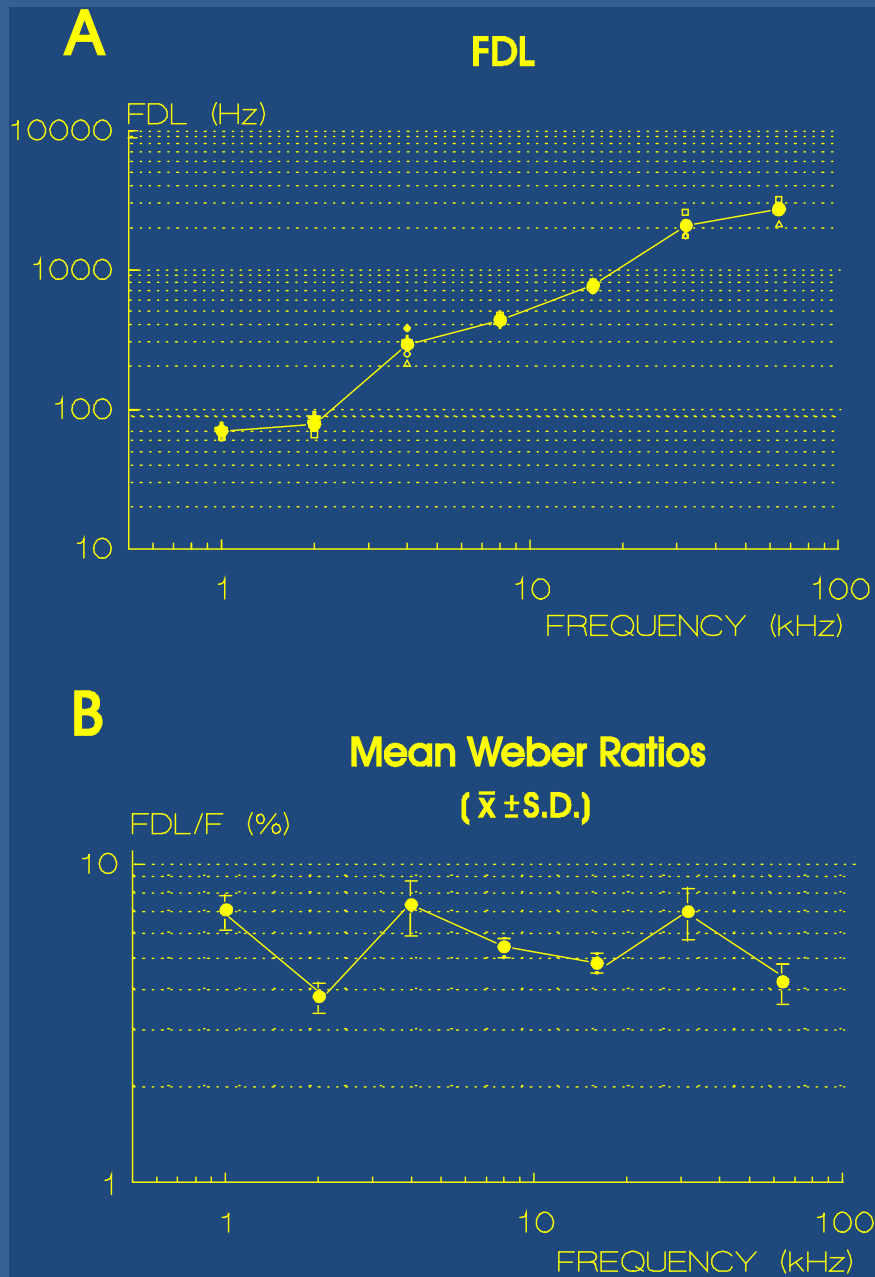
Sluchové prahy



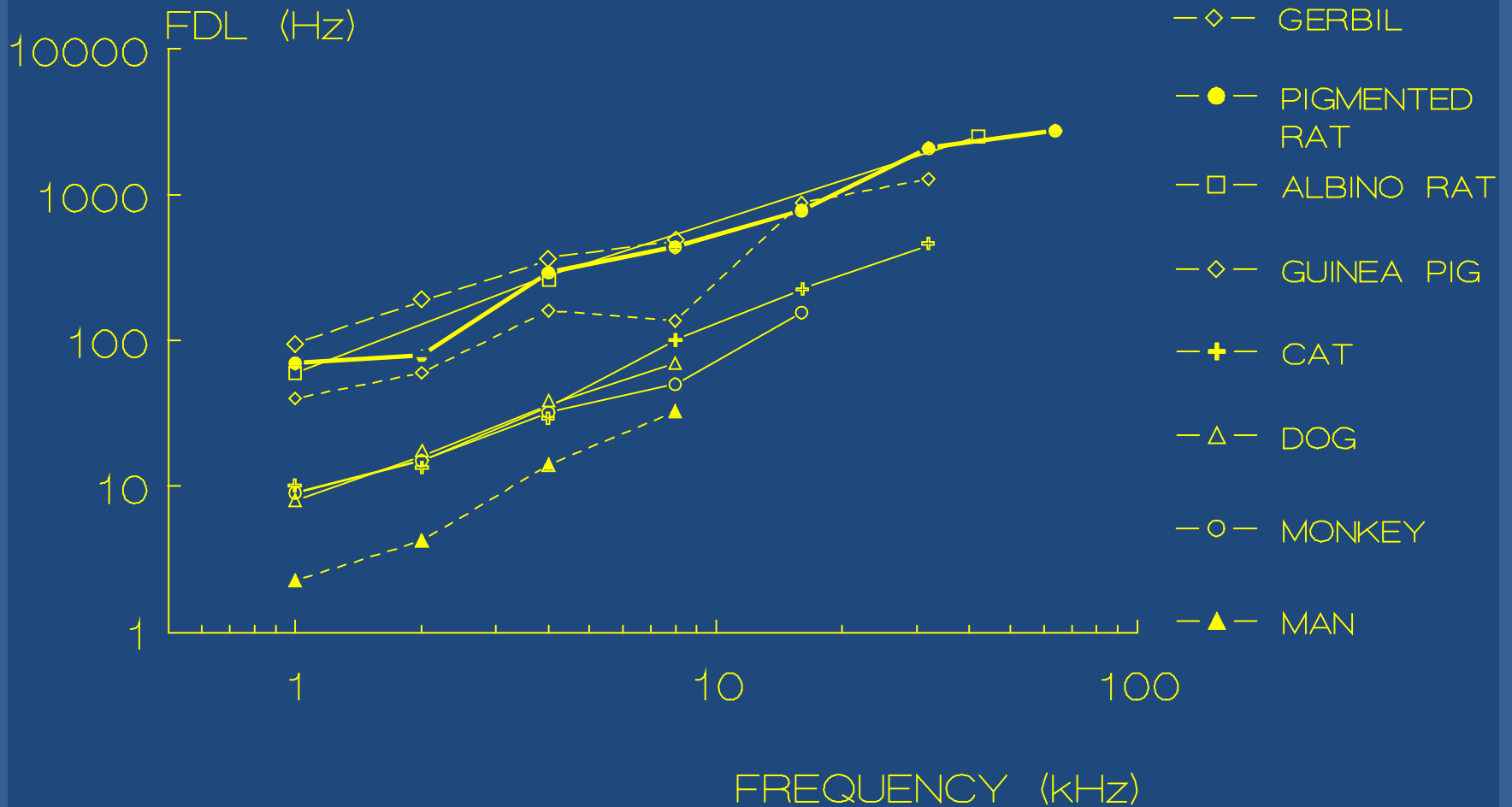


Frequency difference limen

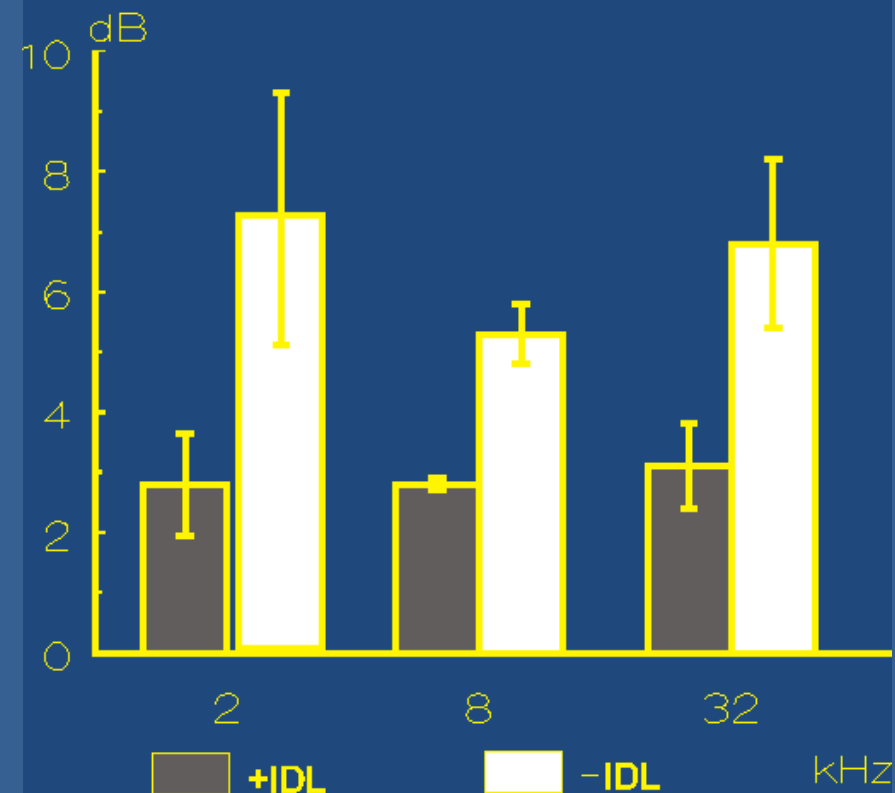




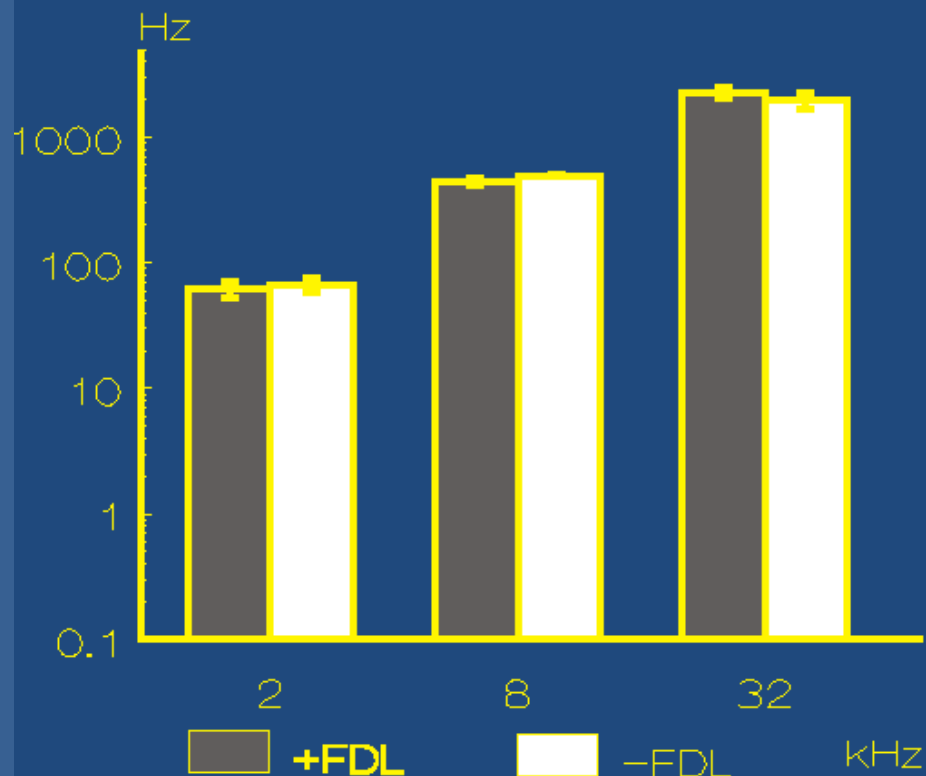
COMPARISON OF FDLs IN DIFFERENT SPECIES

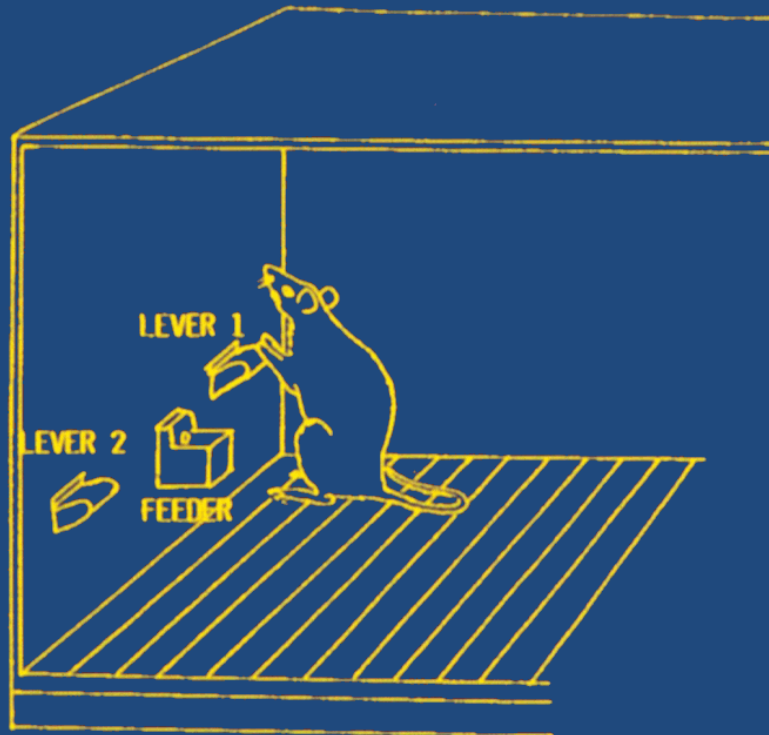


MEAN VALUES of +IDLs and - IDLs

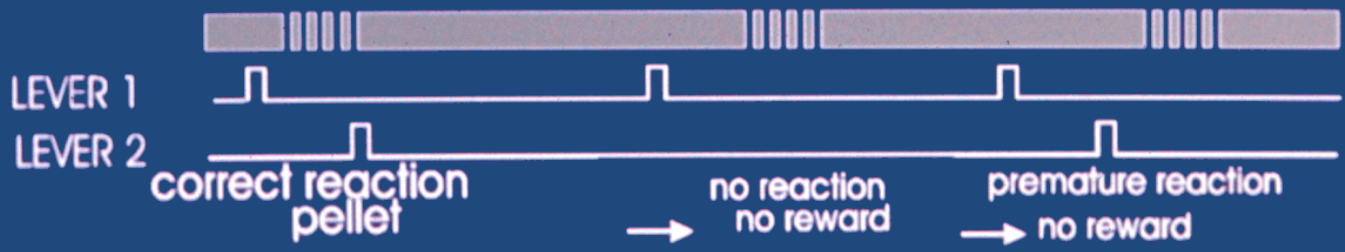


MEAN VALUES of + FDLs and - FDLs





Gap detection threshold

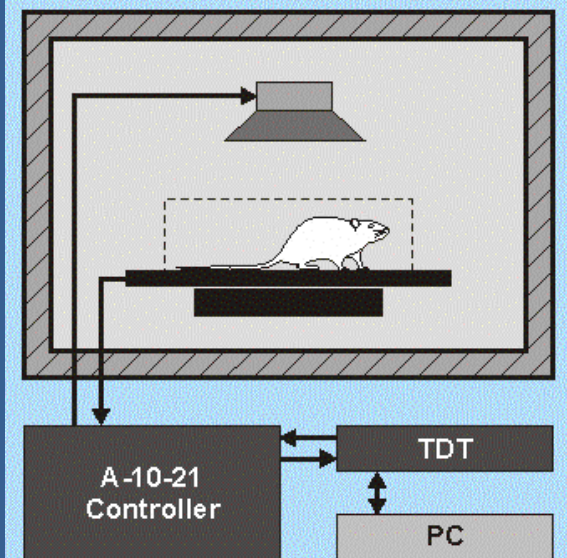


Behaviorální systém IntelliCage (TSE)

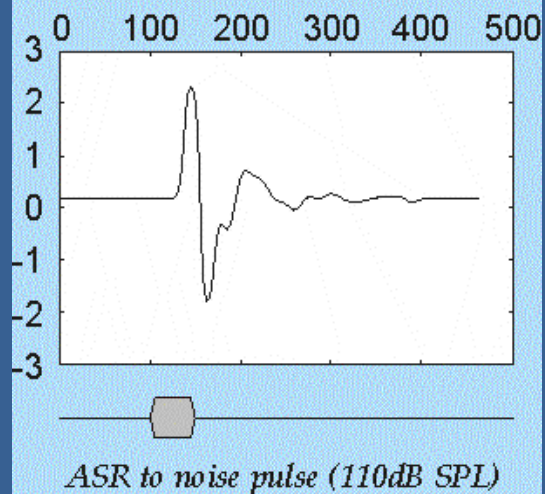


Měření nepodmíněné reakce – úleková reakce

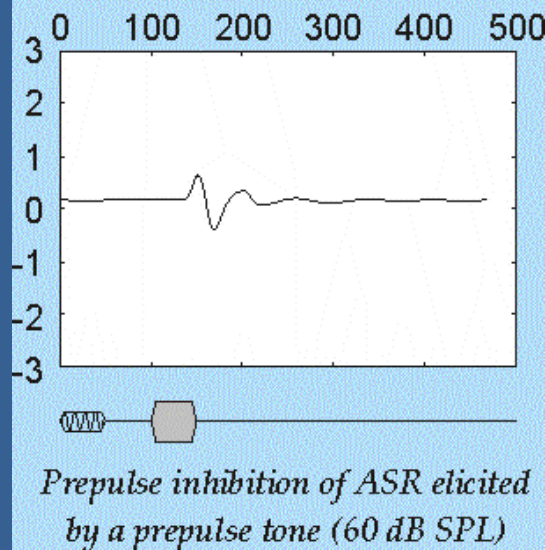
Scheme of the testing apparatus



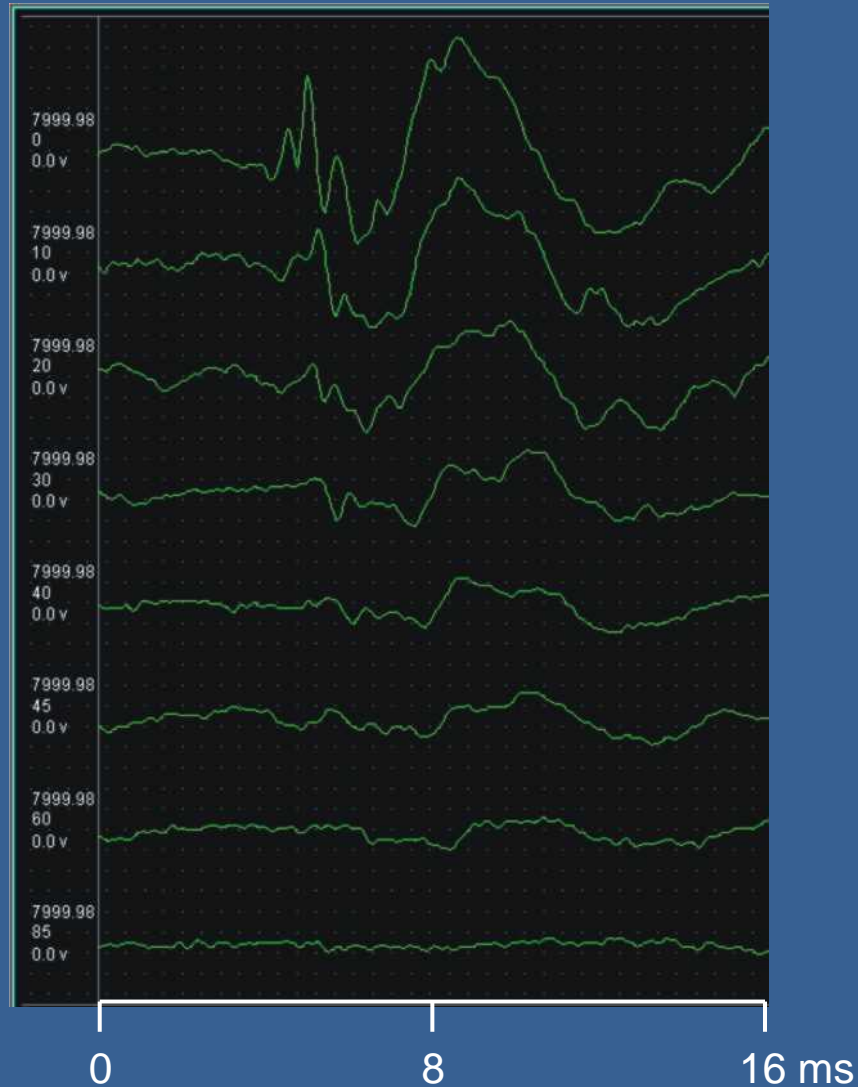
Acoustic startle reflex (ASR)



Prepulse inhibition of ASR



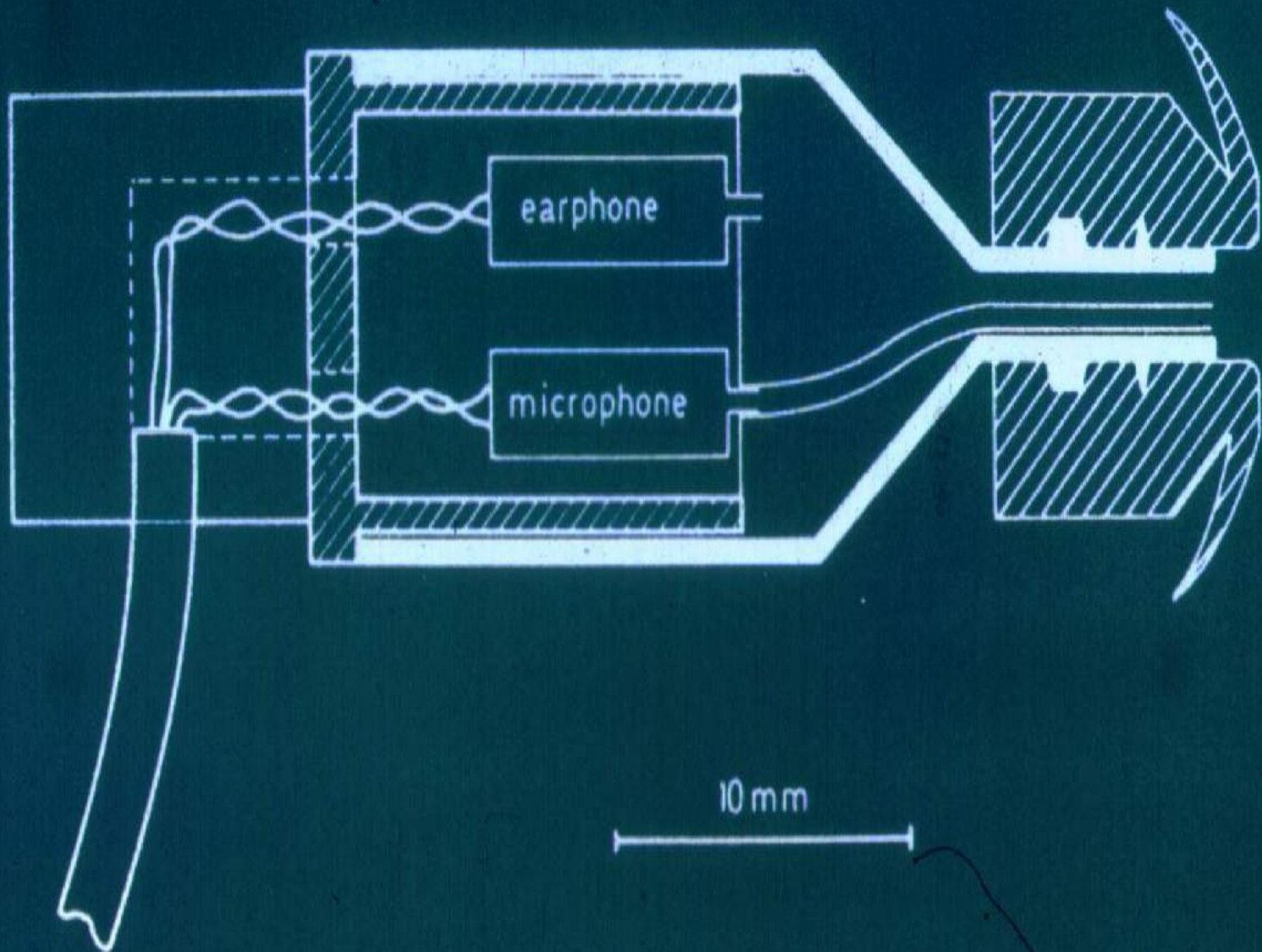
Určení sluchového prahu na základě snímání sluchových vyvolaných odpovědí z mozkového kmene (ABR)



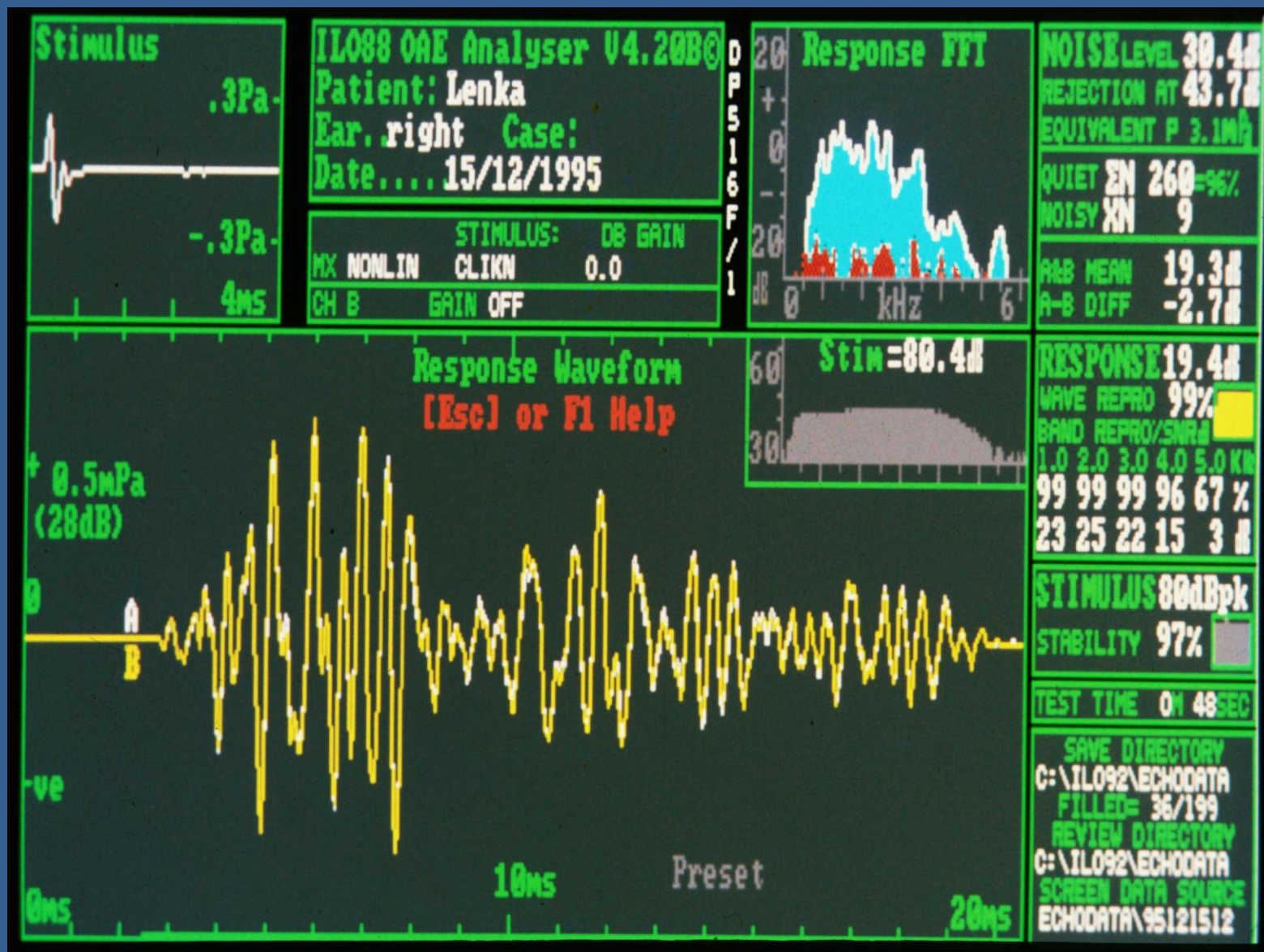
Otoakustické emise

(velmi slabé zvuky měřené citlivým mikrofonem v zevním zvukovodu)

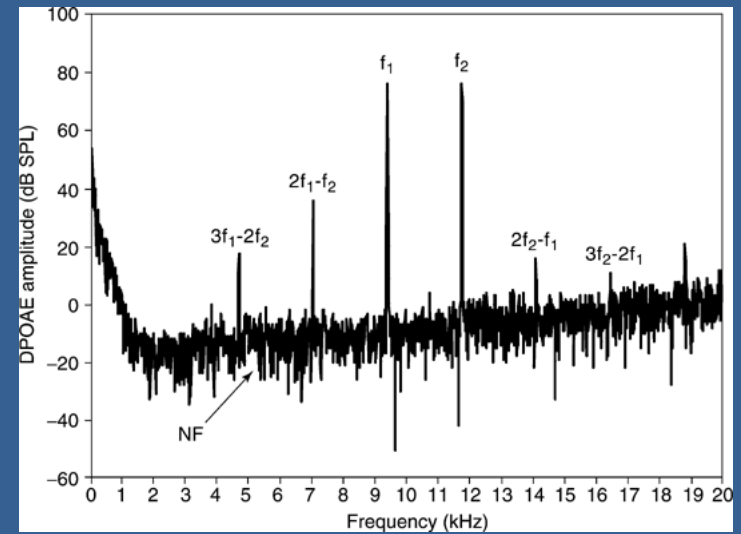
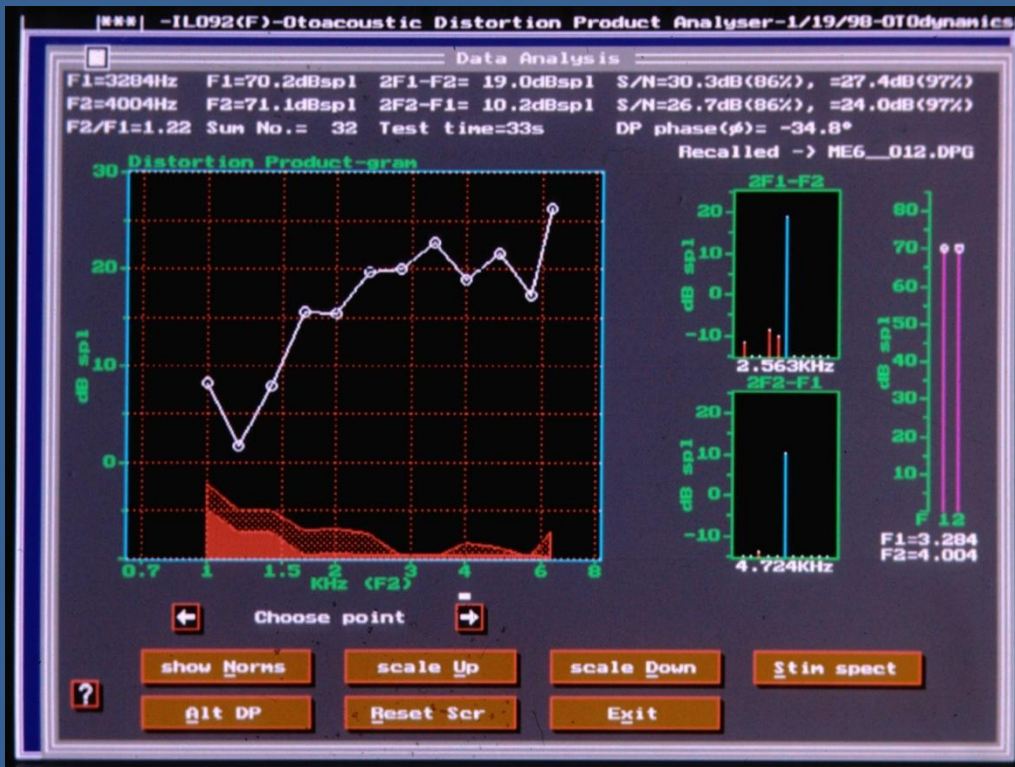
- Tranzientní vyvolané otoakustické emise TEOAE
- Distorzní produkty otoakustických emisí DPOAE
- Spontánní otoakustické emise SOAE



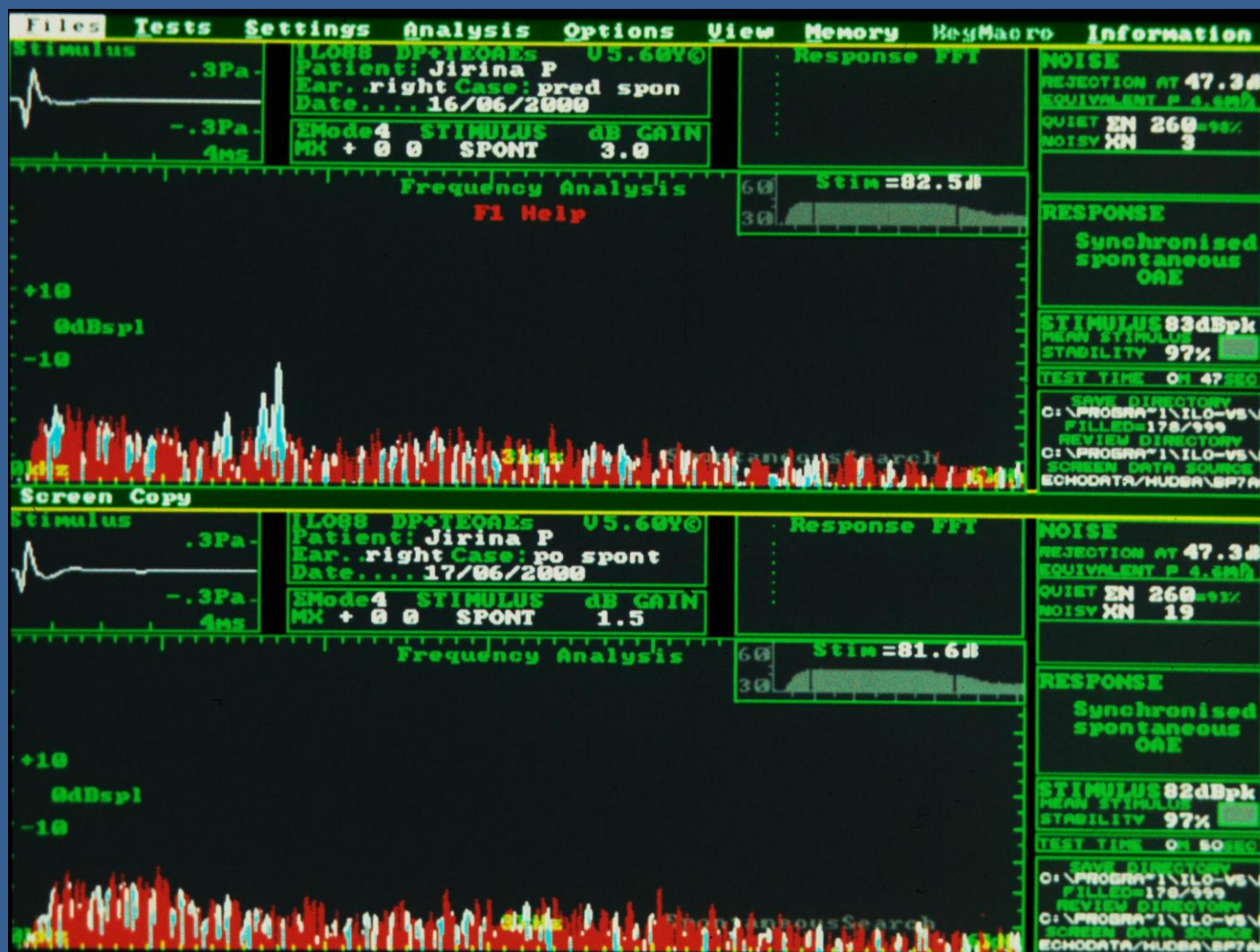
Tranzientní otoakustické emise TEOAE



Distorzní produkty otoakustických emisí DPOAE

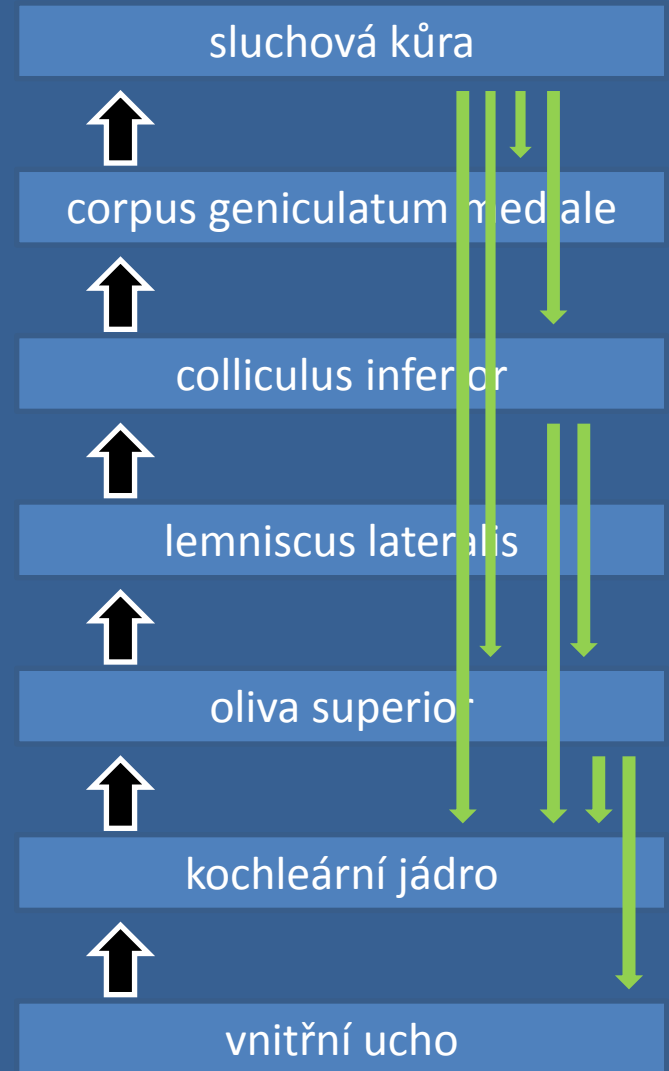
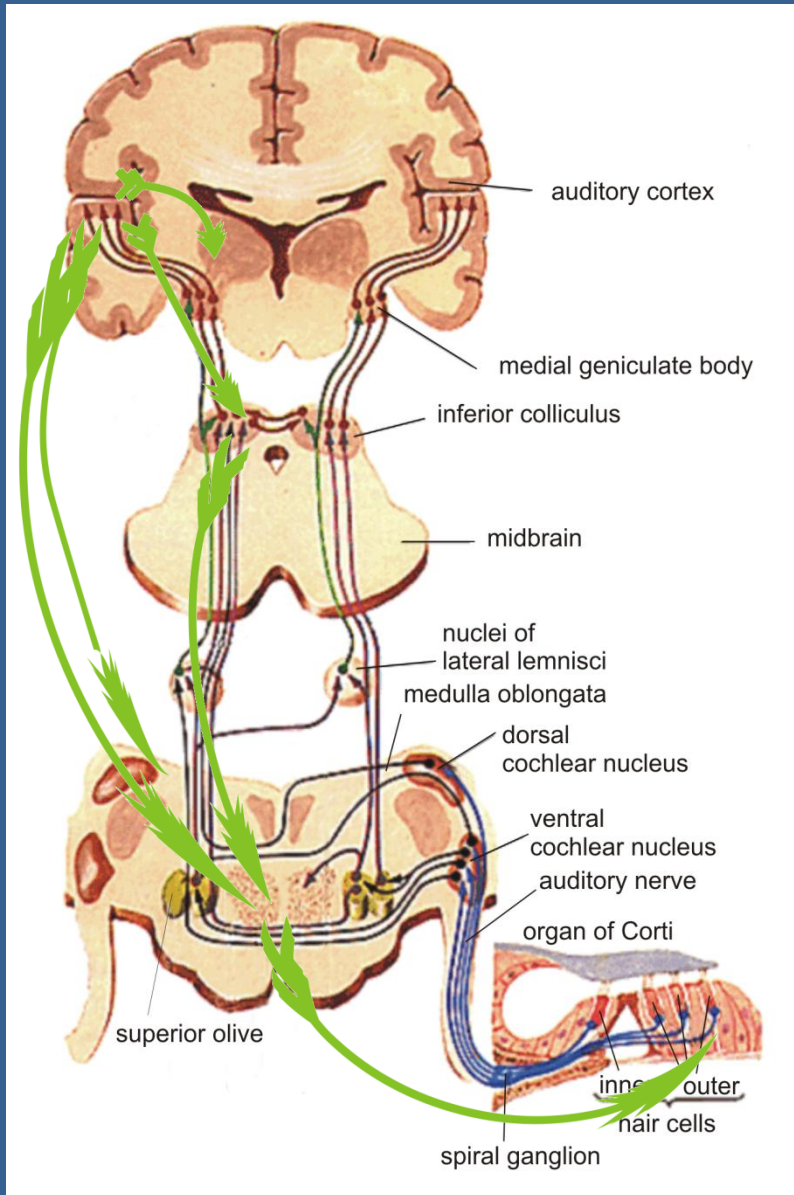


Spontánní otoakustické emise



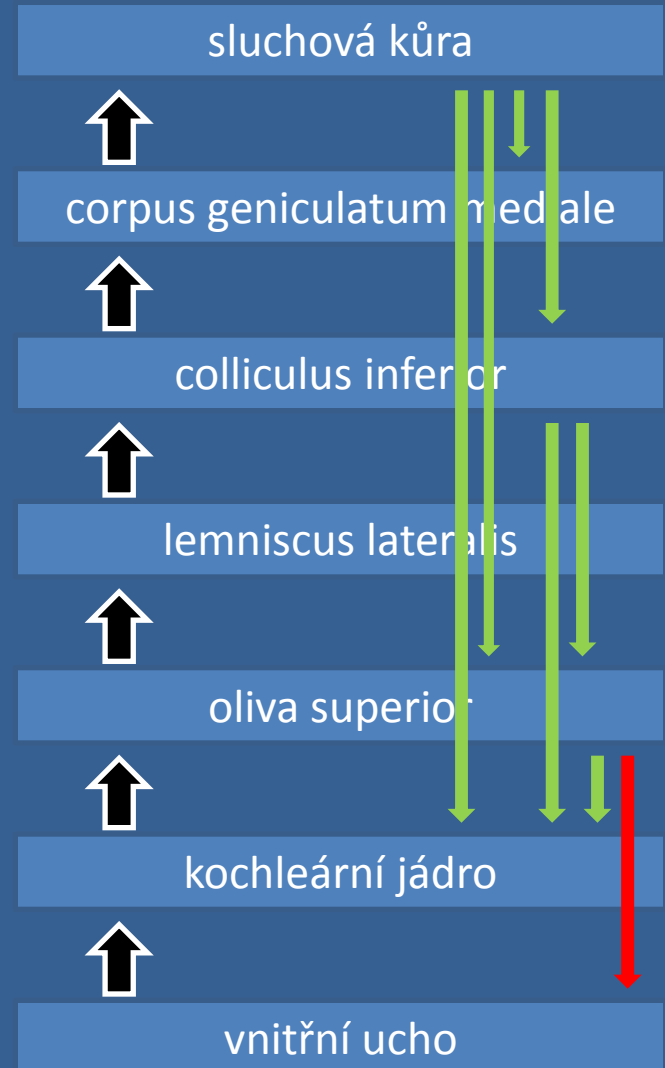
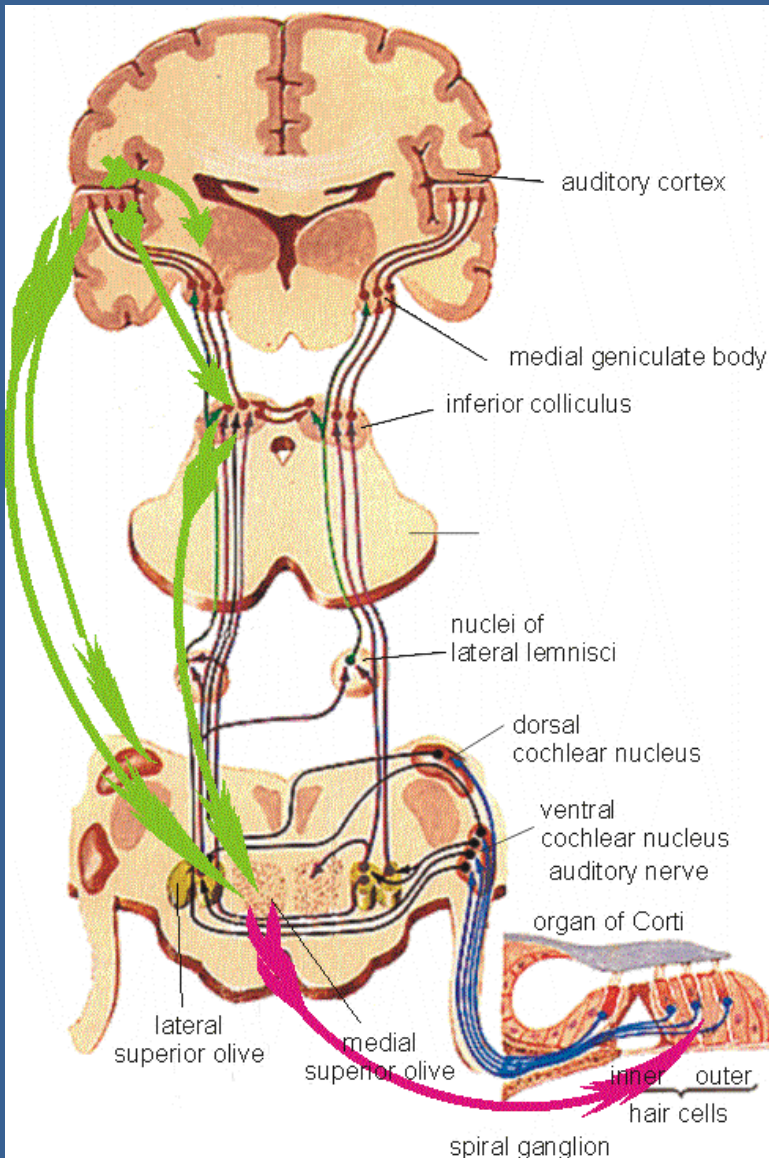
1. Struktura a funkce vnitřního ucha
2. Vzestupná sluchová dráha, tonotopie
3. Testování sluchu – sluchový práh, otoakustické emise, behaviorální testy
4. **Sestupná sluchová dráha - struktura a funkce**
5. Patofyziologie sluchového systému – presbykuze, tinnitus

Eferentní sluchové dráhy

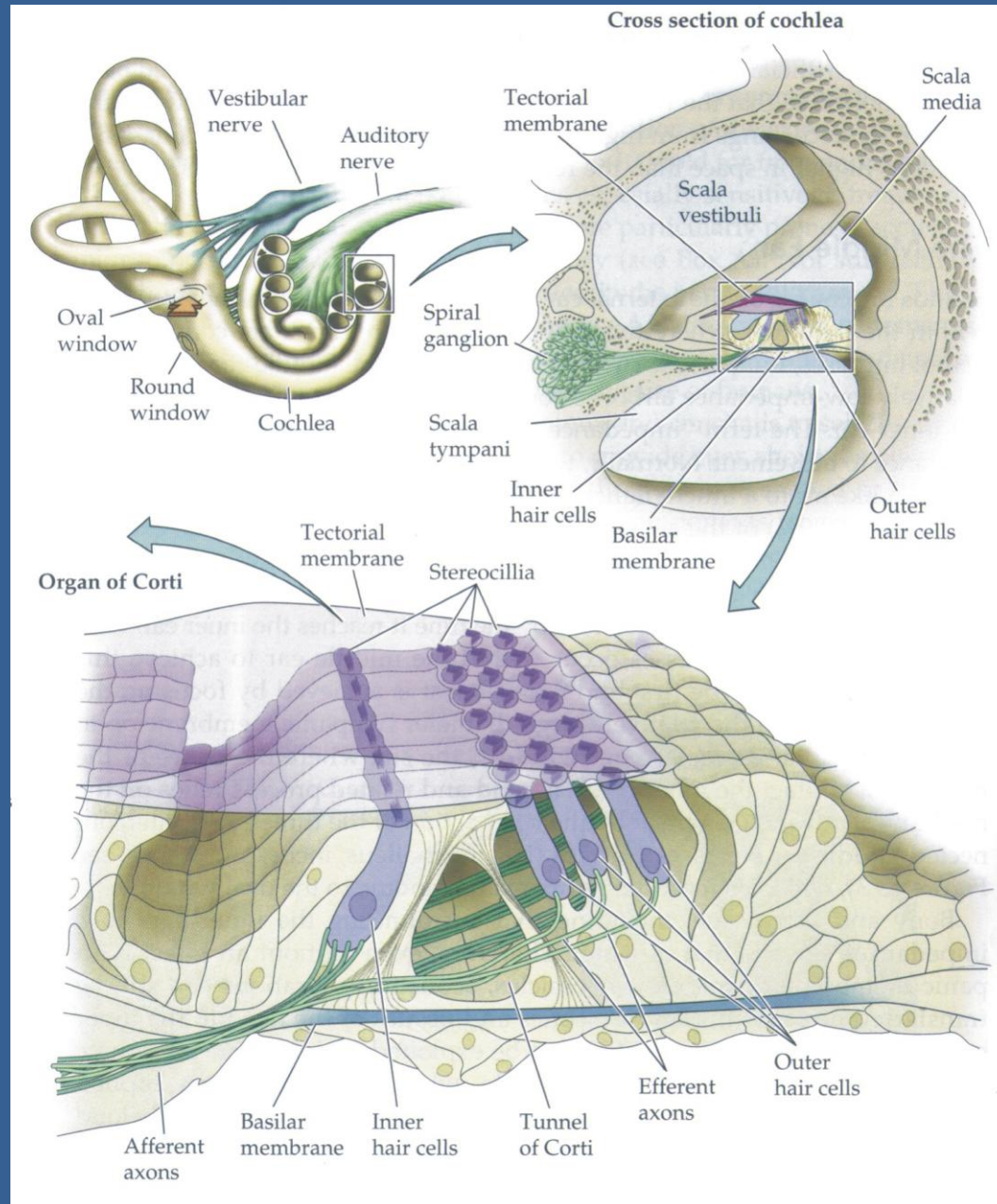


olivokochleární svazek

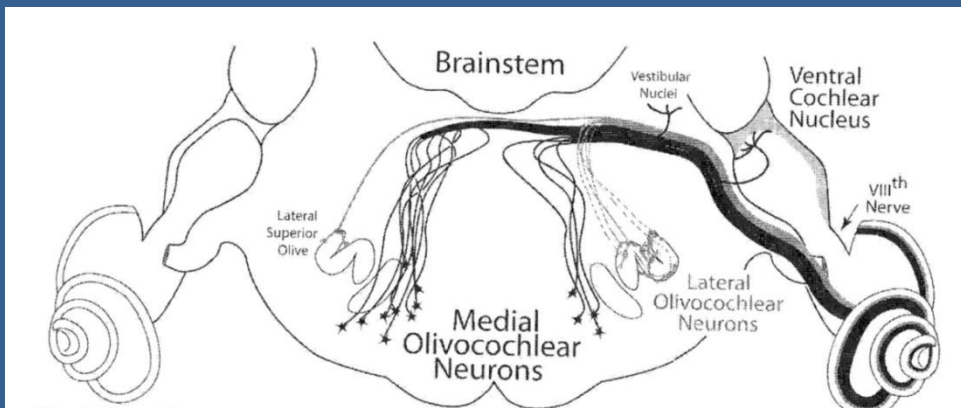
Rasmussen 1946, 1953



Průřez hlemýžděm, Cortiho orgán



Olivo-kochleární neurony



kontralaterální
kochlea

ipsilaterální
kochlea

MOC = myelinizovaná vlákna

LOC = nemyelinizovaná vlákna

Mediátory:

MOC i LOC acetylcholin (ACh)

Ostatní mediátory:

dekarboxyláza kyseliny glutamové (GAD)

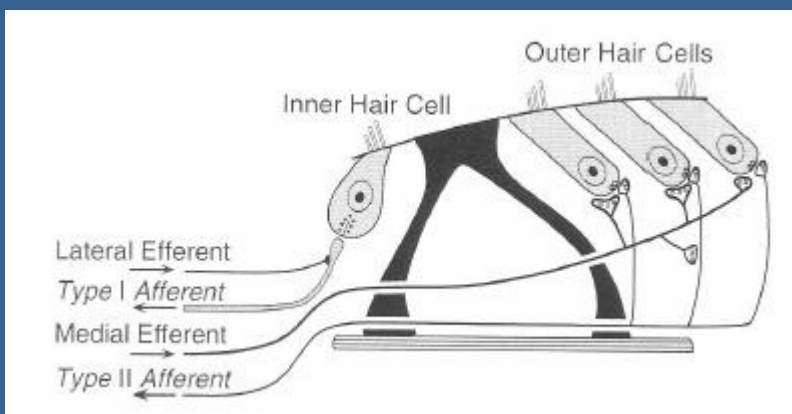
calcitonin gene-related peptide (CGRP)

dopamin

serotonin

GABA

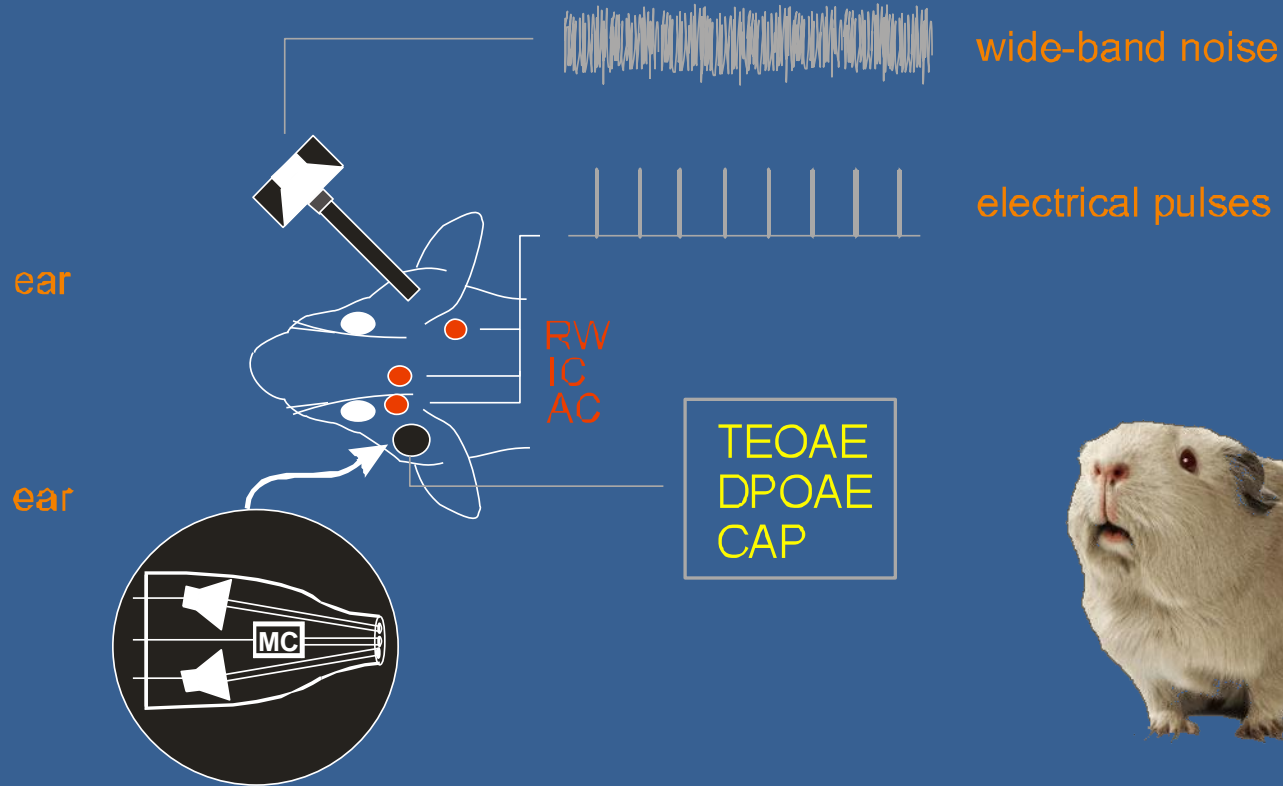
Subjekt	Celkový počet OC neuronů	LOC %	MOC %
křeček	350		
myš	470	65	35
kočka	1400	65	35
morče	2350	50	50
netopýr		100	0
člověk	1400	70	30



Aferentní vlákna typu I = 10 000 – 50 000

Kontralaterální suprese

metoda pro testování funkce olivo-kochleárního systému



Ipsilaterální ucho

Otoakustické emise:

transientní otoakustické emise **TEOAE**

distorzní produkty otoakustických emisí **DPOAE**

Vyvolaná odpověď:

sumární akční potenciál sluchového nervu **CAP**

kontralaterální ucho

Stimulace:

širokopásmovým šumem

elektrické dráždění kochley (implantovaná elektroda u okrouhlého okénka)

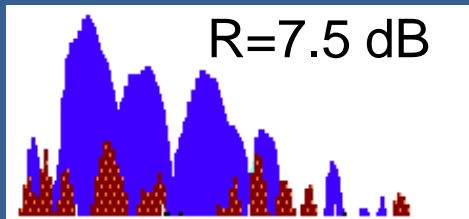
Kontralaterální suprese

TEOAE

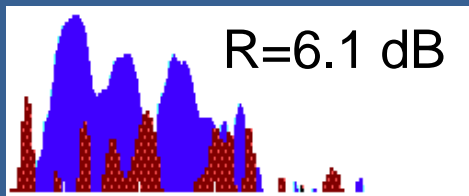
DPOAE

CAP

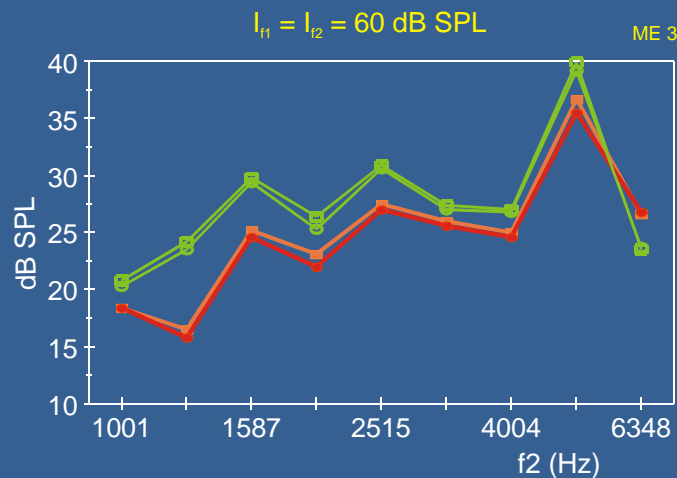
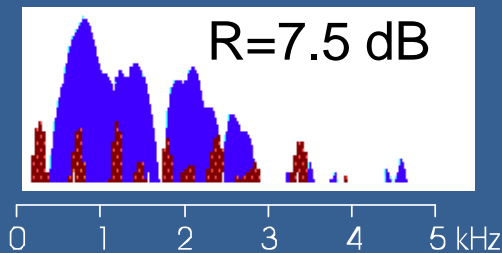
Kontrola



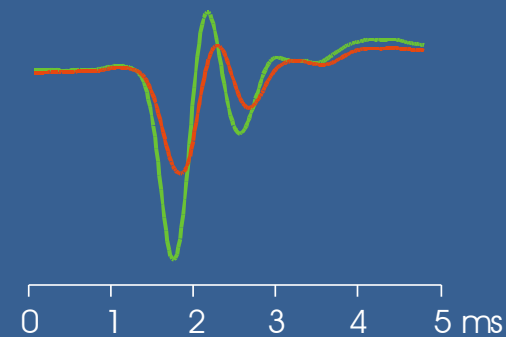
Během prezentace BBN
(56 dB SPL) do kontra ucha



Kontrola 2



Popelář et al.: Hear. Res. 135, 61-70, 1999



Popelář et al.: Hear. Res. 152, 128-138, 2001

Stimulace kontralaterálního ucha širokopásmovým šumem (BBN) nebo elektrickým drážděním potlačí aktivitu registrovanou v ipsilaterálním uchu (TEOAE, DPOAE, CAP)

Popelář et al., Hear. Res. 1999

Funkce MOC a LOC

Aktivace MOC:

-zvýšený průnik Ca^{2+} do OHC, rychlejší vyplavování

hyperpolarizace OHC

- snížení endokochleárního potenciálu (EP)

snížení kochleárního zesílení

snížení citlivosti OHC

Ochrana sluchového systému před poškozením při

vysokých intenzitách zvuku

Inaktivace LOC (efekty málo známé):

– porušení inhibičního vlivu dopaminu na LOC synap

excitotoxicity na OHC

akustickém traumatu

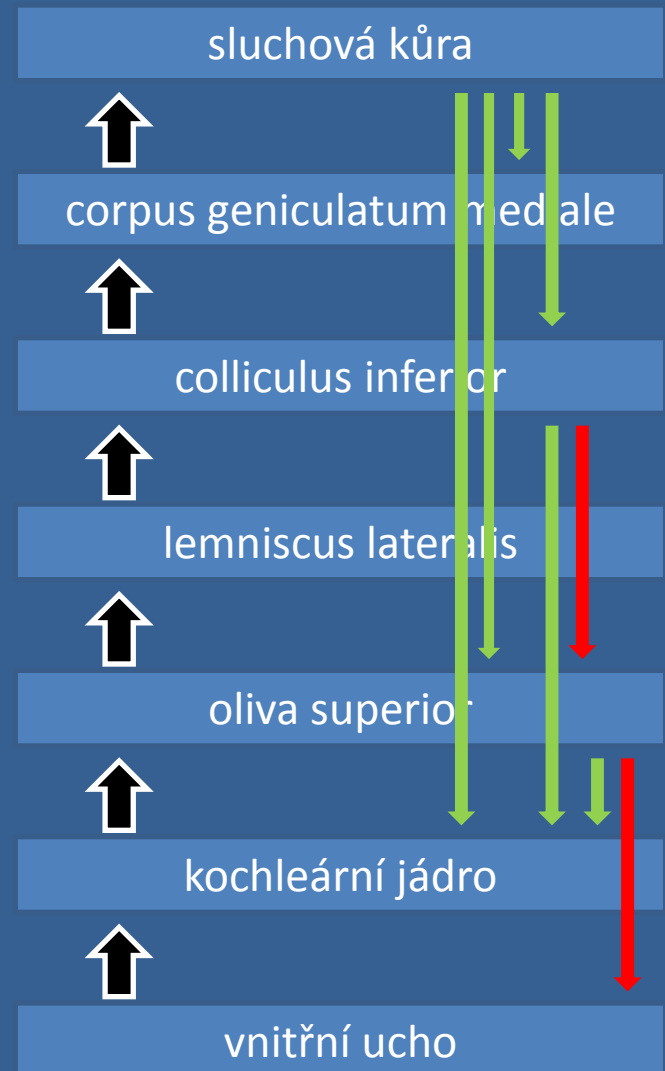
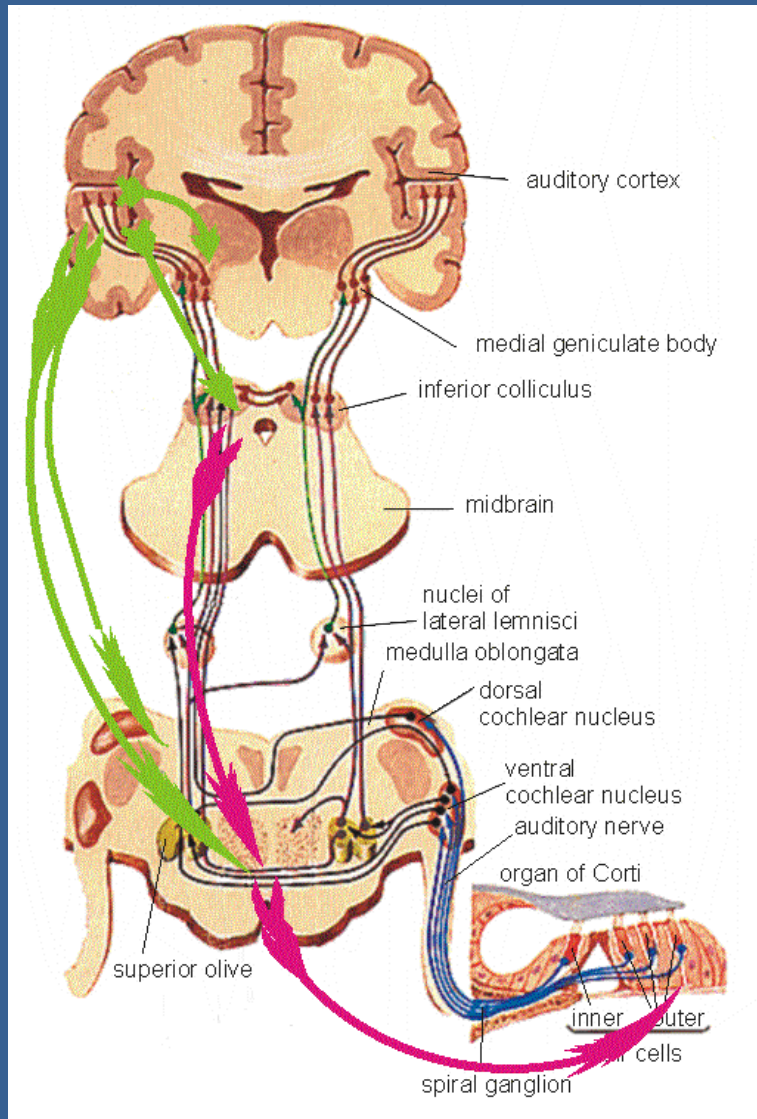
vznik

po

(Ruel et al., 2001)

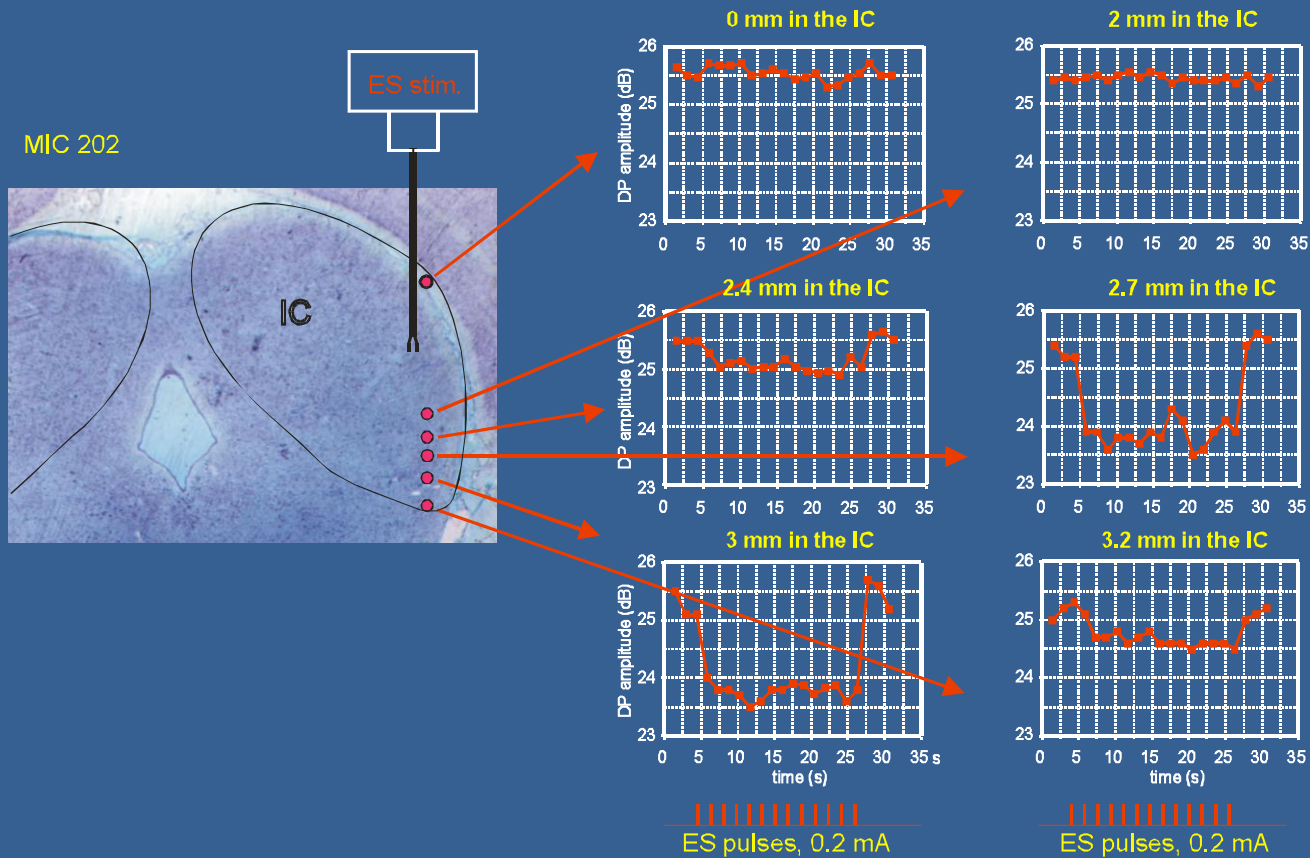
Snížení účinků akustického traumatu (Darrow et al.)

Colliculo-kochleární dráhy



Elektrická stimulace colliculus inferior (IC)

(DPOAE : F1/F2 = 2002/2417 Hz, 60/60 dB SPL)

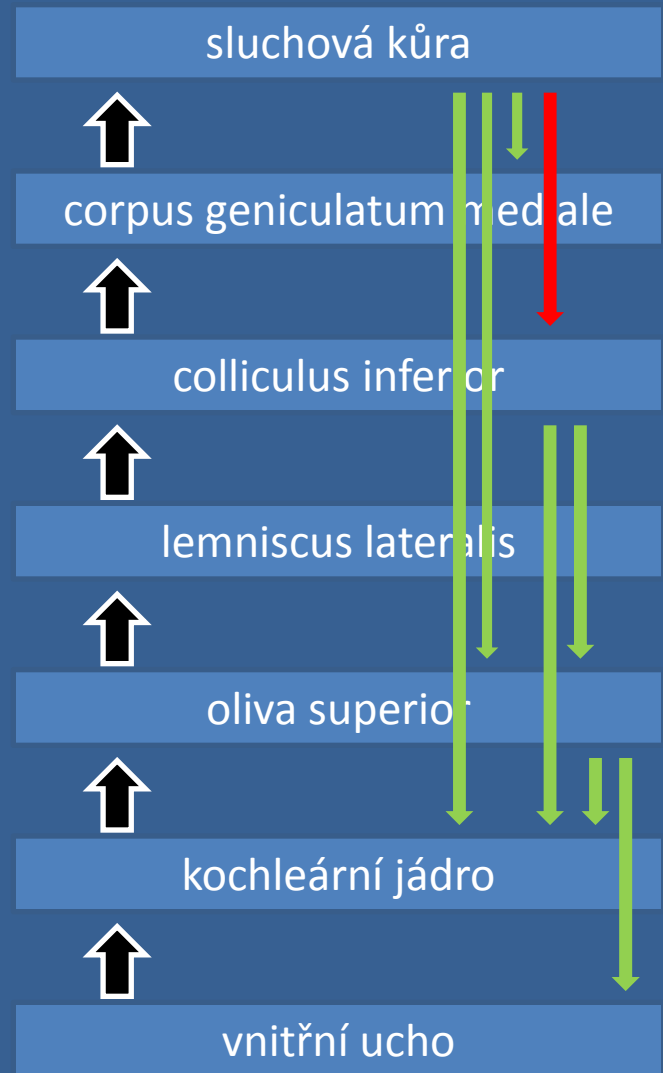
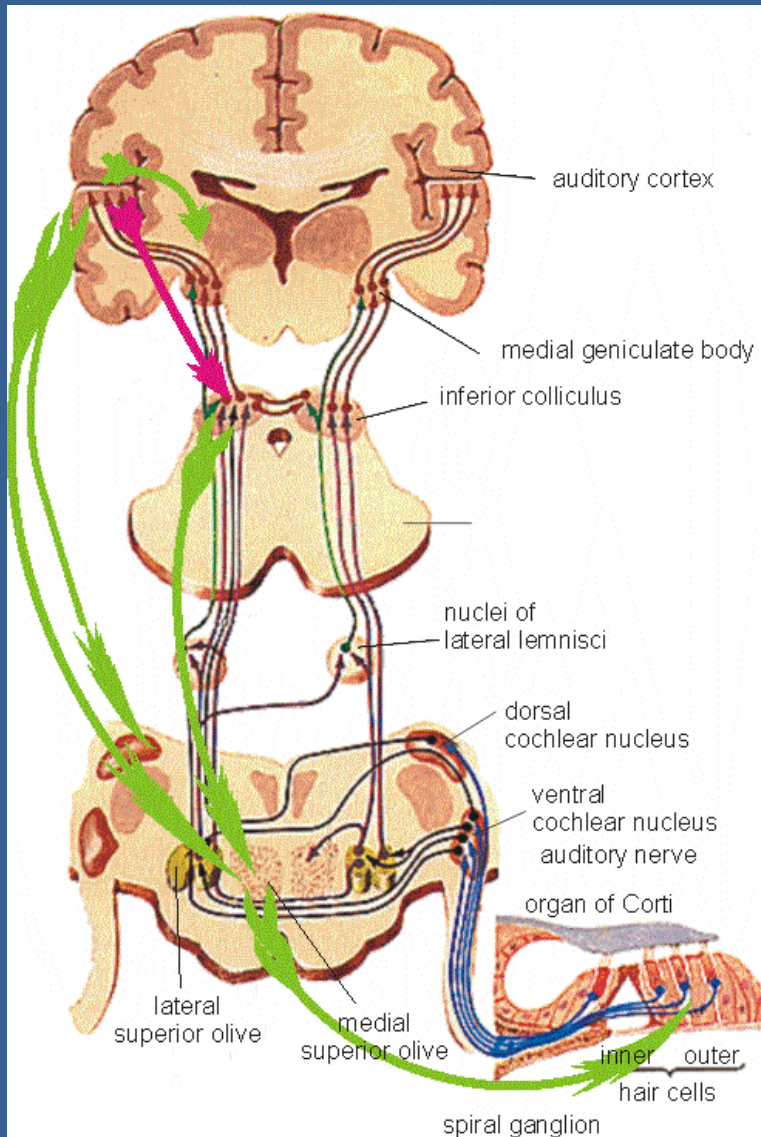


Popelář et al., Hear. Res. 2002

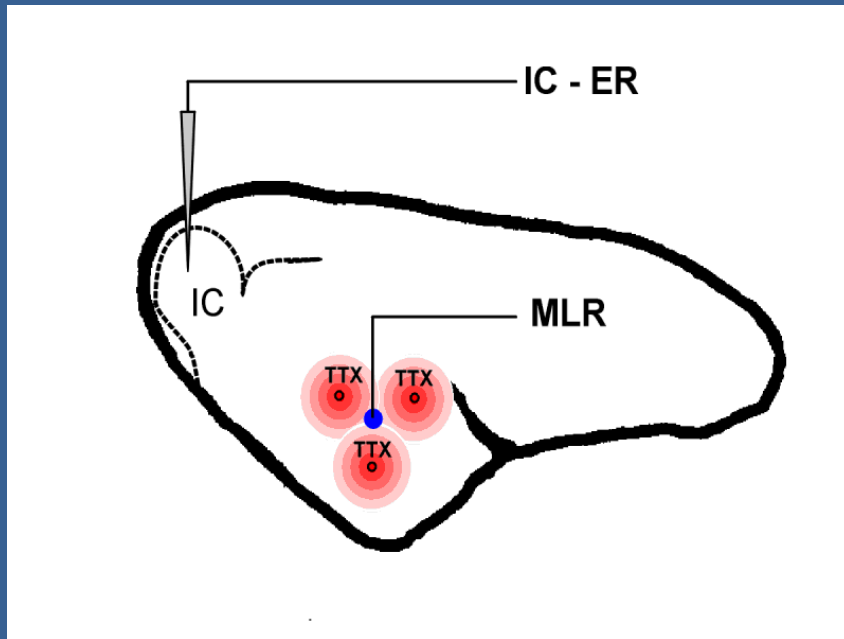
Elektrická stimulace colliculus inferior (IC), zvláště jeho ventrální části, potlačí DPOAE v kontralaterálním uchu.

Podobný inhibiční efekt jako při stimulaci kontralaterálního ucha.

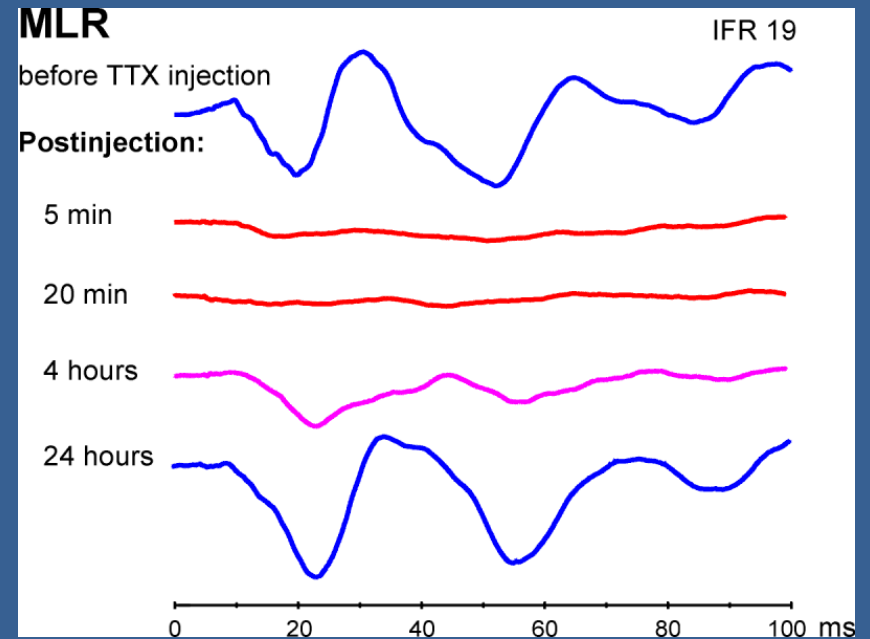
Kortico-tektální dráha



Kortico-tektální dráha

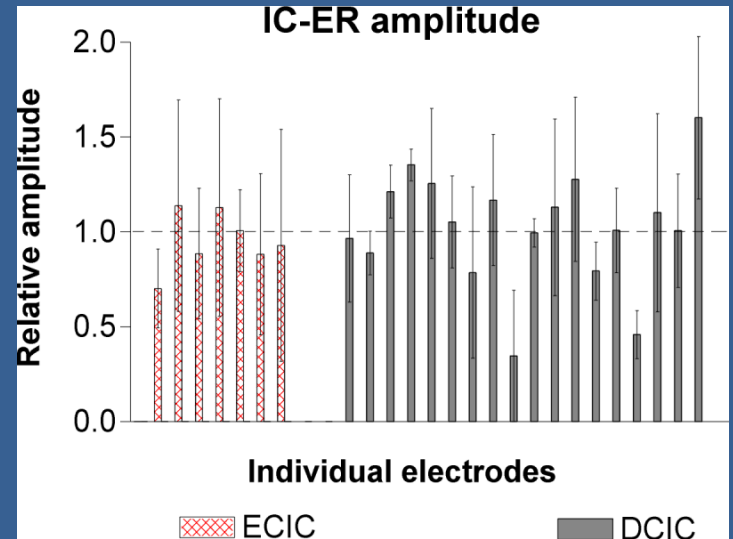
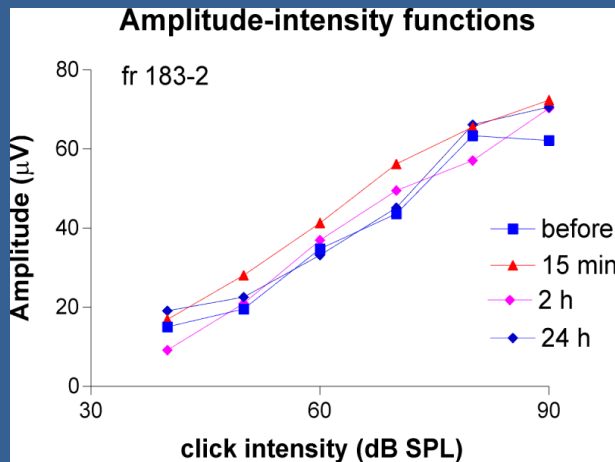
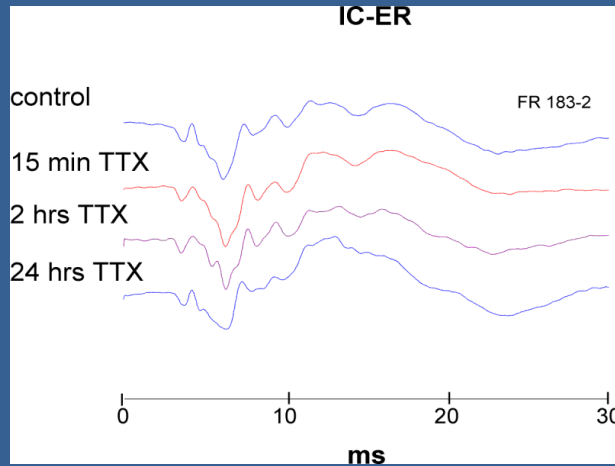
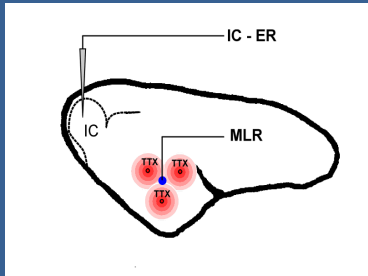


Funkční vyřazení sluchové kůry potkana bylo provedeno aplikací tetrodoxinu (TTX).



Funkční vyřazení sluchové kůry aplikací tetrodoxinu (TTX) bylo potvrzeno snímáním vyvolaných odpovědí (MLR).

Kortico-tektální dráha



U většiny potkanů se amplituda vyvolané odpovědi z CI zvětšila (48%), u části zvířat se zmenšila (32%), u 20% potkanů aplikace TTX na sluchovou kůru neměla vliv na amplitudu vyvolané odpovědi z CI.

Injekce TTX do sluchové kůry změnila amplitudu MLR.

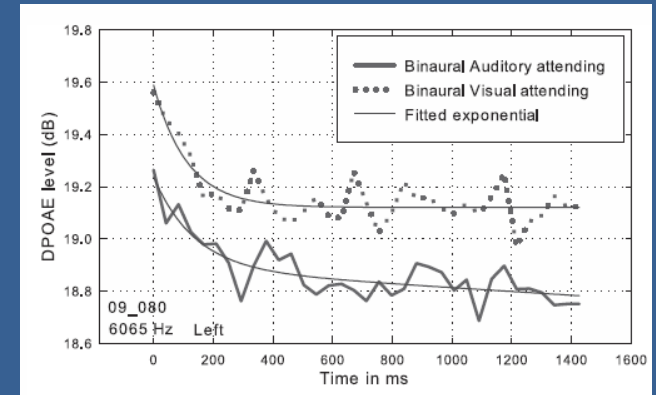
Funkce kortiko-tektální dráhy:

Výsledky naznačují, že sluchová kůra má tonický inhibiční vliv na neurony v podkorových jádrech. Při funkční inaktivaci sluchové dráhy se tato inhibice oslabí, což má za následek zvýšení amplitudy vyvolaných odpovědí z jádra colliculus inferior.

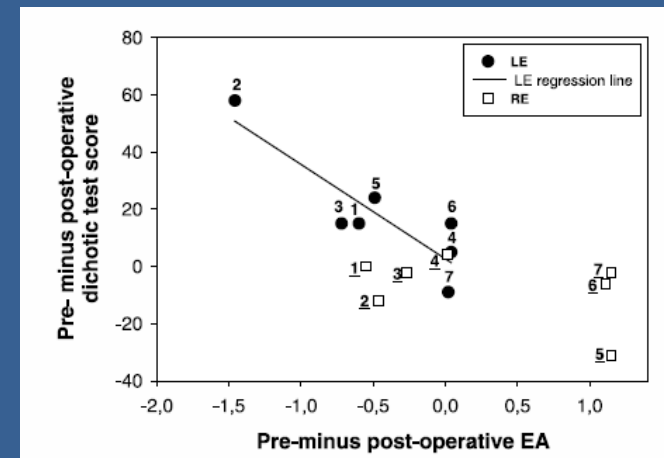
Úloha sluchové kůry v eferentním systému:

Funkční stav sluchové kůry ovlivňuje aktivitu vláskových buněk vnitřního ucha

-soustředění pozornosti na jiný podnět (zrakový podnět, zvukový podnět) ovlivňuje amplitudu CAP a DPOAE (Delano et al., 2007; Srinivasan et al., 2012).



- inaktivace sluchové kůry ovlivňuje kochleární aktivitu (čínčila CM a CAP - Leon et al. 2012; člověk DPOAE – Perrot et al., 2006; Khalifa et al., 2001)



Funkce eferentního systému:

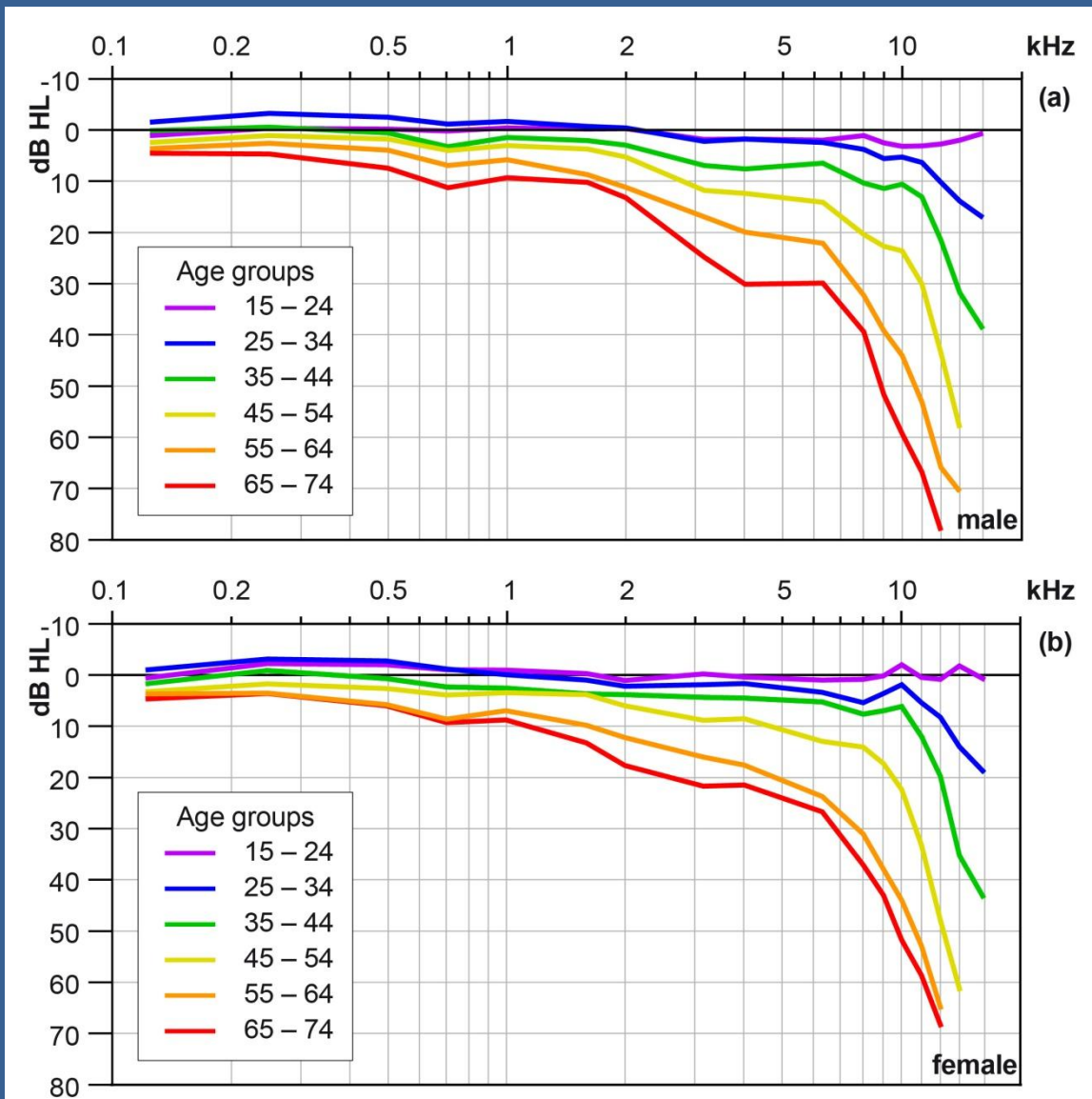
- působí protektivně proti účinkům hluku
- zlepšuje detekci komplexních zvuků v šumu, řeči, biologicky důležitých zvuků v šumu, potlačení maskování (Kawase a Liberman, 1993; Micheyl et al., 1995; Kirk a Smith, 2003)
- upravuje citlivost sluchu během pozornosti na jiné podněty

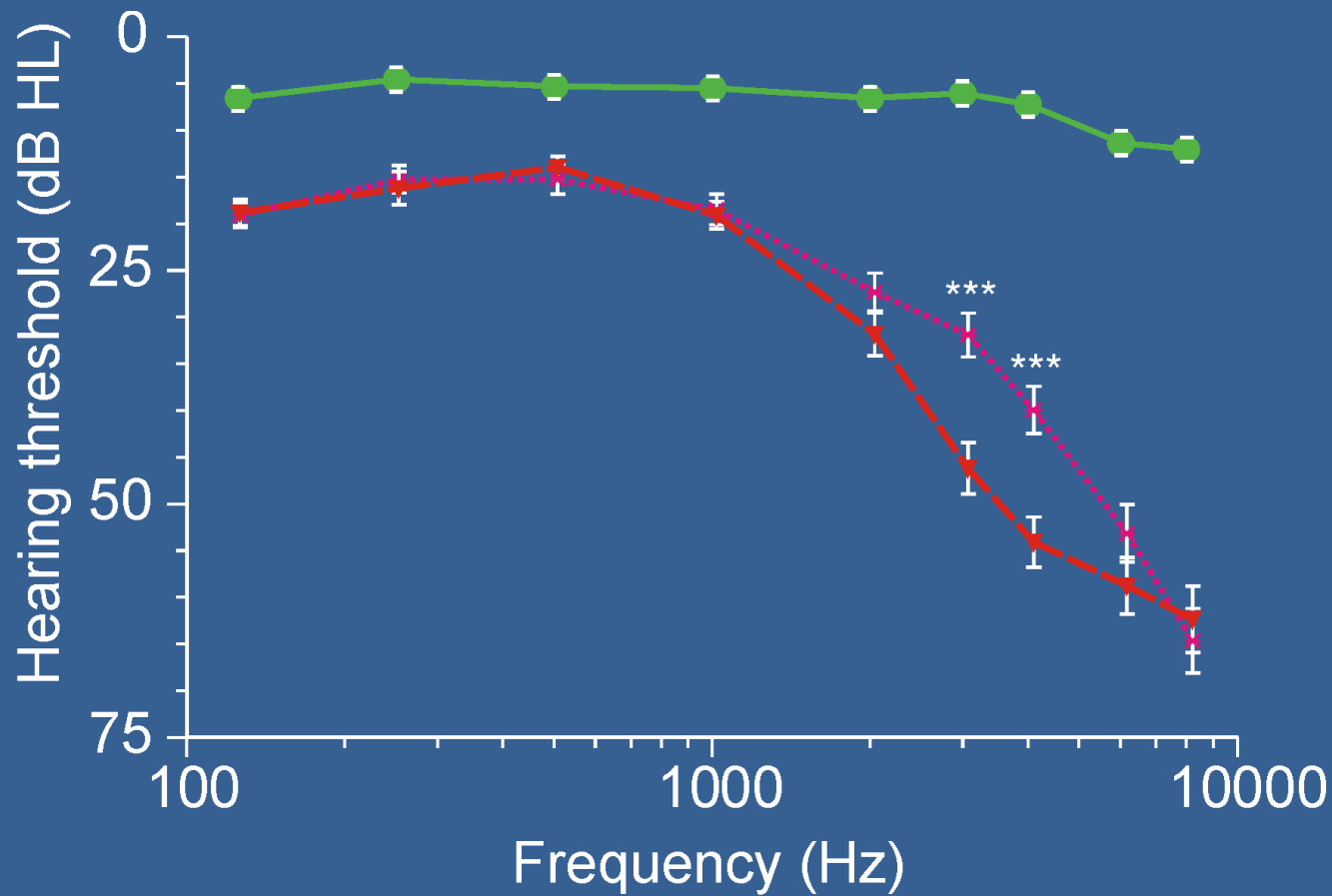
1. Struktura a funkce vnitřního ucha
2. Vzestupná sluchová dráha, tonotopie
3. Testování sluchu – sluchový práh, otoakustické emise, behaviorální testy
4. Sestupná sluchová dráha - struktura a funkce
5. **Patofyziologie sluchového systému – presbykuze, tinnitus**

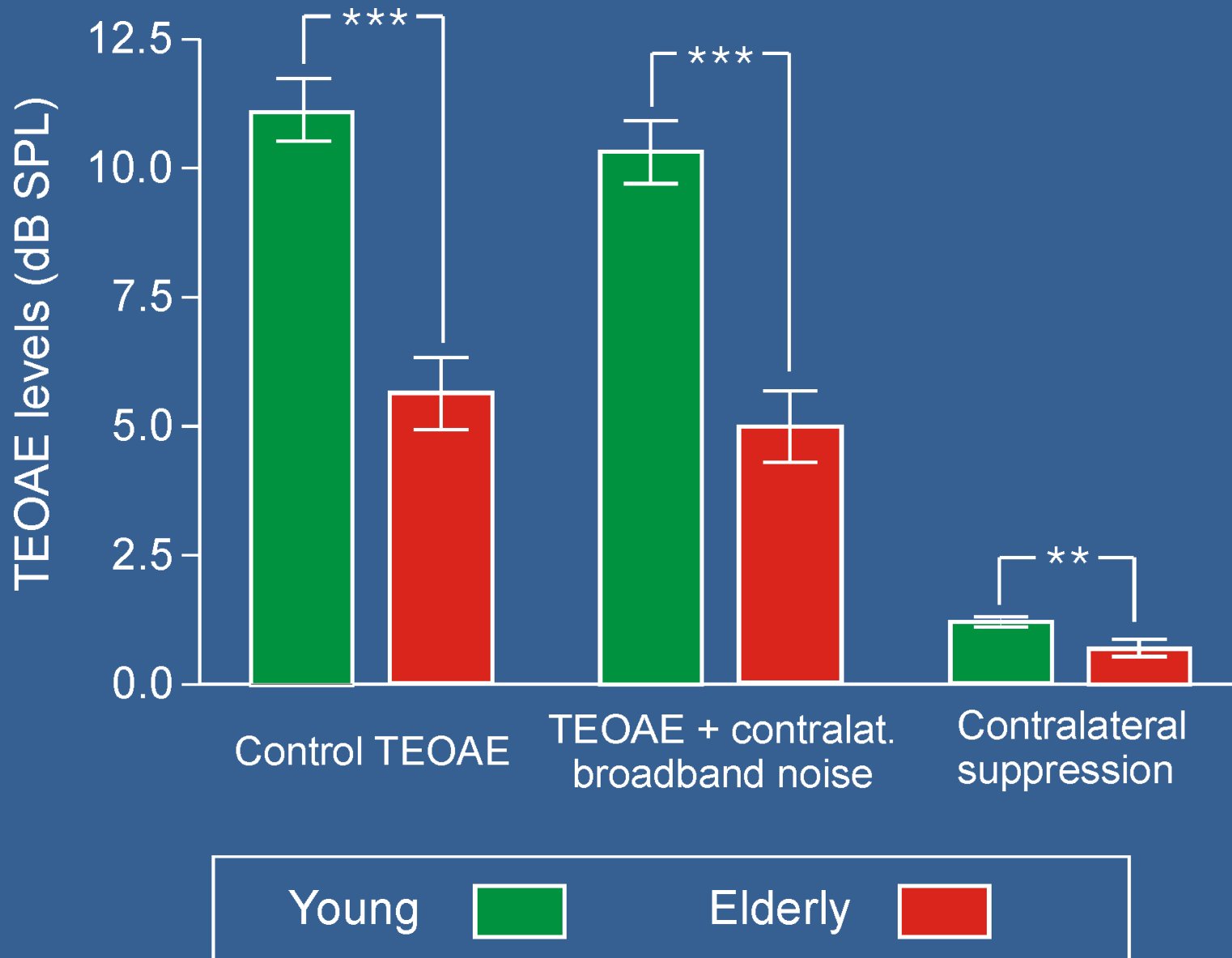
Spontánní postupné zhoršování sluchové funkce během stárnutí – presbykuze

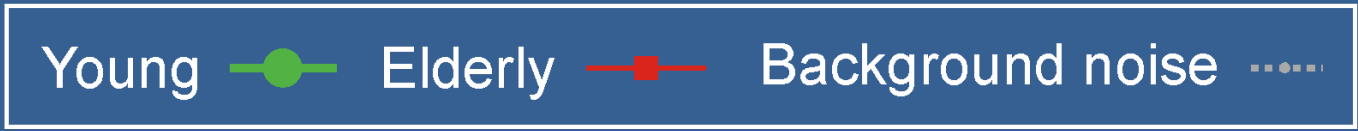
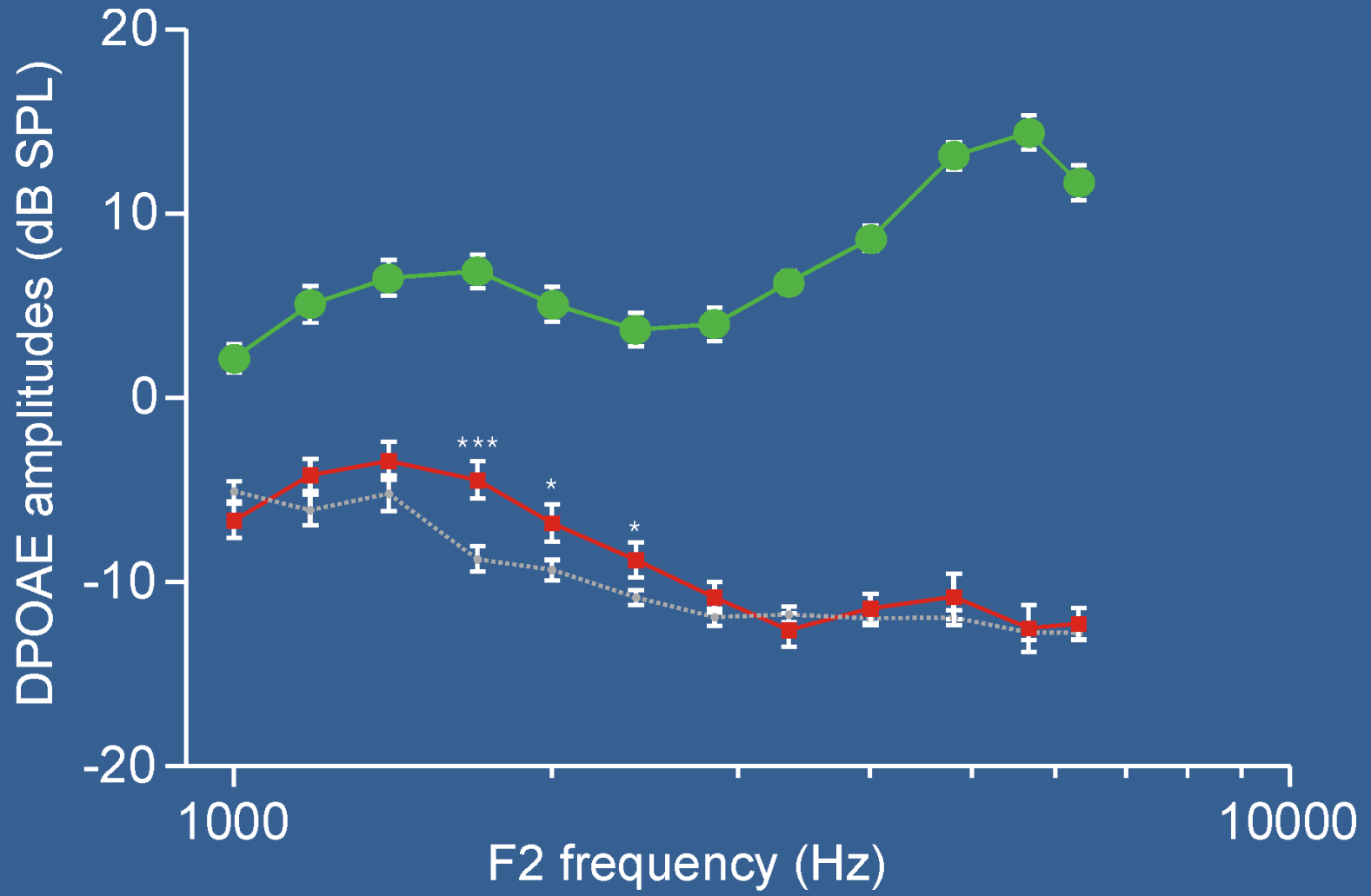
- působení vnitřních (genetických) faktorů
- působení vnějších vlivů

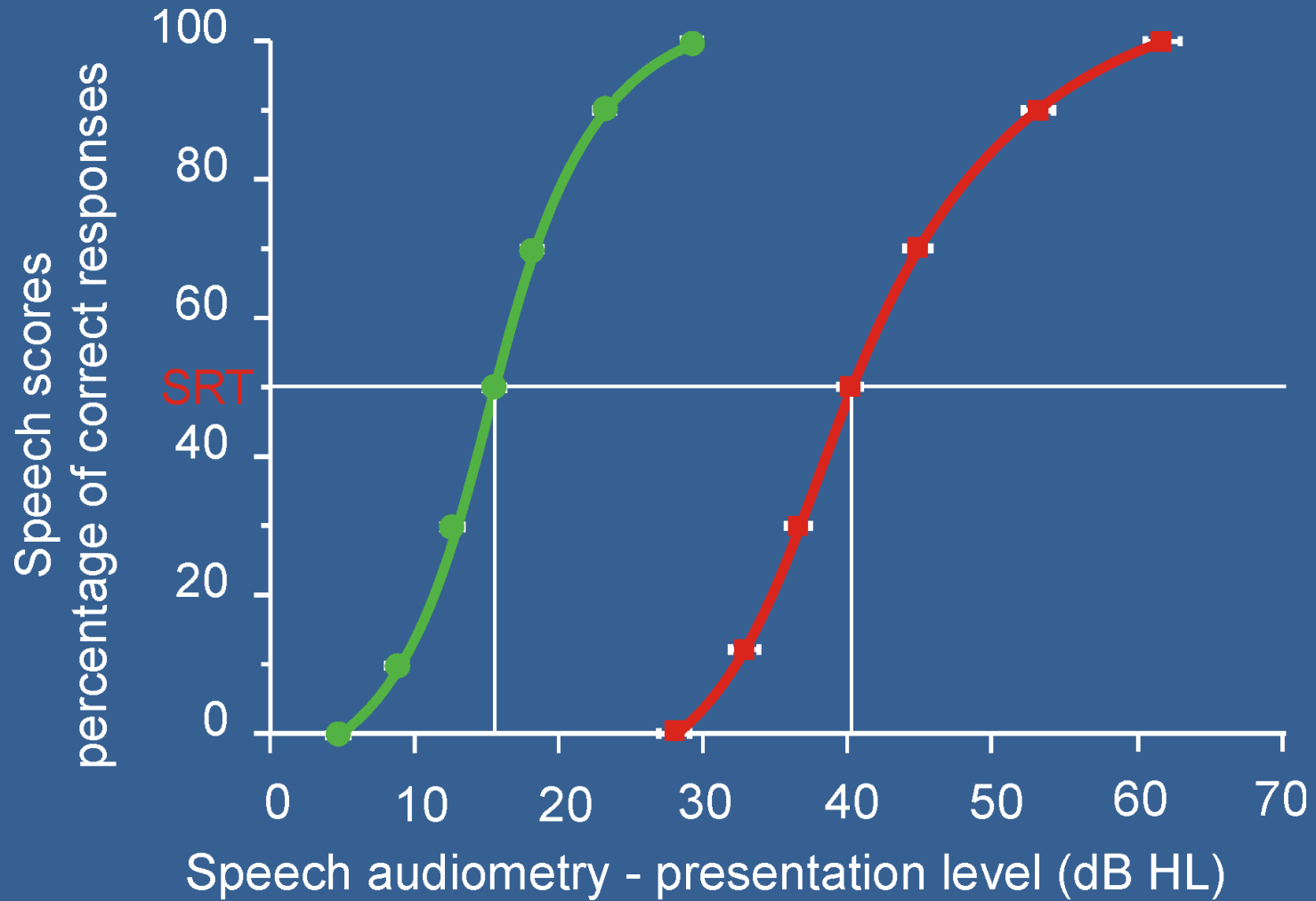
Průměrné audiogramy u různých věkových skupin mužů a žen

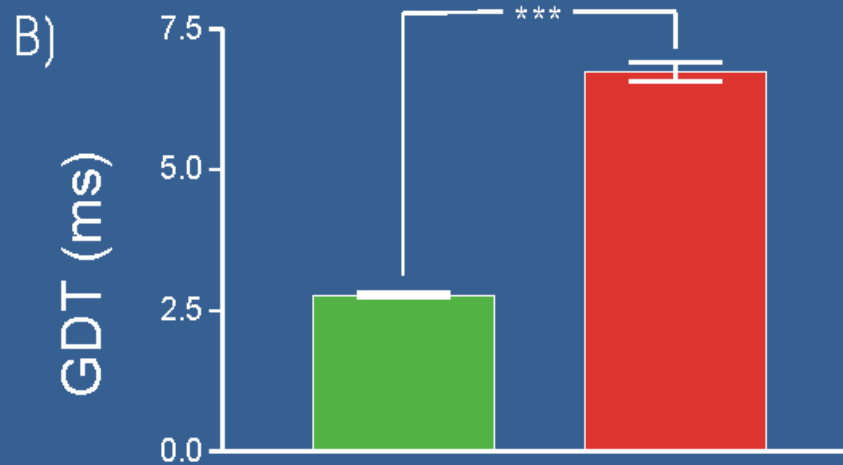
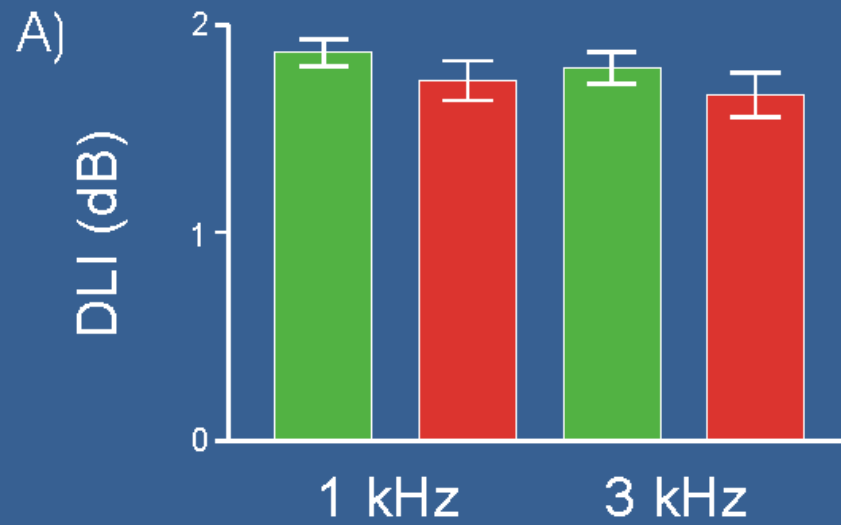












Young



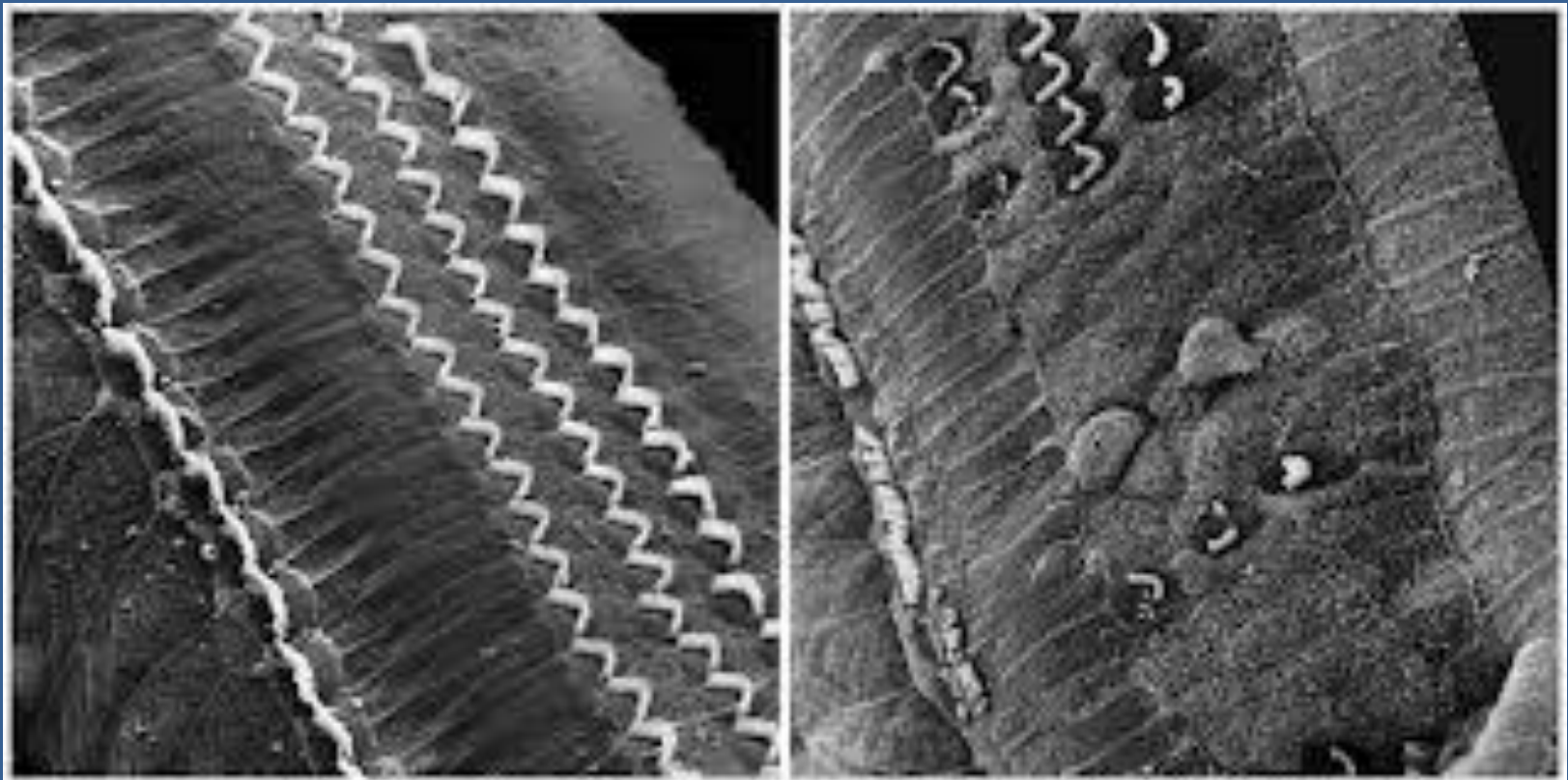
Elderly



Sluchová ztráta u presbyakuze je ve většině případů způsobena úbytkem vláskových buněk (sensorineurální porucha)

normální stav IHC a OHC

velký úbytek IHC a OHC



Ztráta sluchu v důsledku mutace GJB2 genu pro connexin 26

Přibližně 1-2 děti z 1000 se narodí jako neslyšící

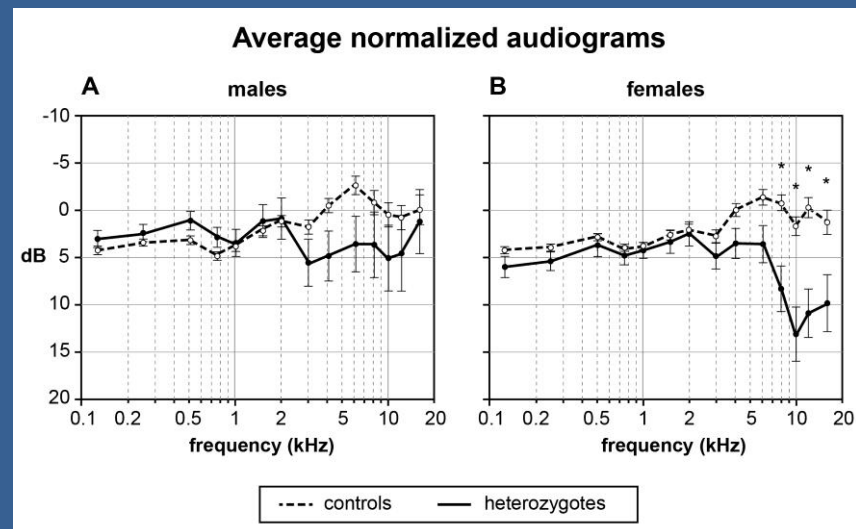
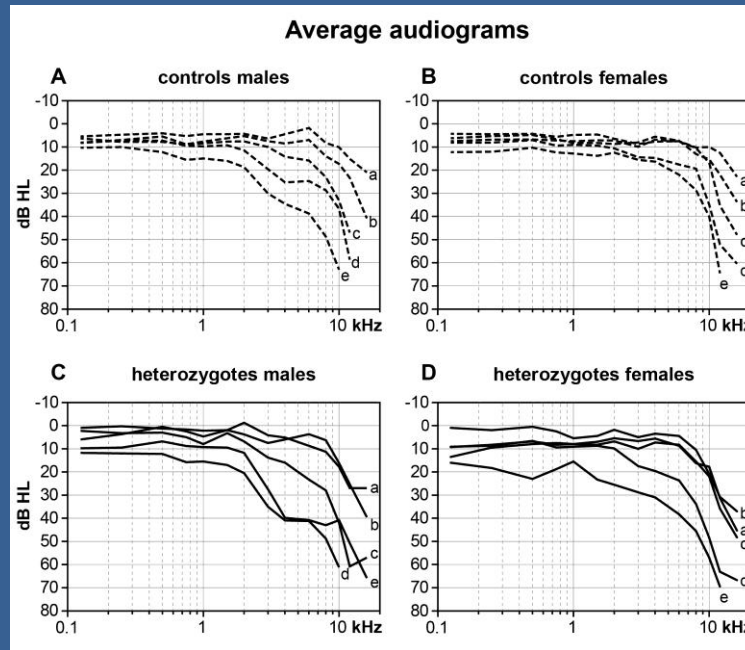
Celkem je dnes známo 35 genů způsobujících ztrátu sluchu

Téměř v 50 % případů vrozené ztráty sluchu se jedná o mutaci genu GJB2, který kóduje syntézu proteinu mezerového spoje (gap junction) connexinu 26.

Connexin 26 je přítomen ve vnitřním uchu v podpůrných buňkách Cortiho orgánu, ve fibrocytech ligamenta spirale a ve stria vascularis

Connexin 26 je zapojen do recyklace draslíkových iontů z vláskových buněk zpět do endolymfy

Průměrné audiogramy u heterozygotních nosičů mutace GJB2 a kontrol



Spontánní postupné zhoršování sluchové funkce během stárnutí – presbykuze

- působení vnitřních (genetických) faktorů
- působení vnějších vlivů

Možnosti prevence proti sluchové ztrátě během stárnutí a po hlukové zátěži

Antioxidanty – odstranění ROS/RNS

- reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) jsou nestabilní, s krátkou dobou trvání. Jsou důležité pro normální funkci buněk, ale v nadbytku poškozují buněčné tuky, proteiny, DNA a aktivují apoptózu.
- **Endogenní antioxidanty** – glutathione (GSH), největší výskyt ve stria vascularis, spirální ligamentum a vestibulární orgán.

Zvýšení GSH aplikací N-acetylcysteinu (NAC) (prekursor GSH) nebo D-methioninu (prekursor NAC) – snížil se PTS u morčat a činčily, ale neovlivnil TTS u člověka a hlodavců. Nejvyšší zvýšení ROS/RNS 7-10 dní po hluku – možno působit i se zpožděním (před a 1-3 dny efektivní, 5 dnů po hluku už nemá účinek)

GSH snižuje ototoxický účinek cisplatinu a aminoglykosidových antibiotik.

- **Exogenní antioxidanty** –

- GSH/glutathione monoethyl ester (GSHE), rasveratrol, allopurinol, superoxide dismutase-polyethylene glycol, U74389F, vitaminy C, A a E, salicylát a další.

Ostatní způsoby prevence

Vasodilatace (ROS způsobují vasokonstrikci)

- vasodilatační látky: betahistidin, HES (hydroxyethyl starch) + prednisolon, hořčík,

Aplikace neurotrofních faktorů (BDNF, FGF, NT3) – regulují Ca homeostázu a ovlivňují kaskádu procesů při buněčné smrti

Glukokortikoidy – regulují Ca homeostázu

... a další látky zasahující do apoptózy

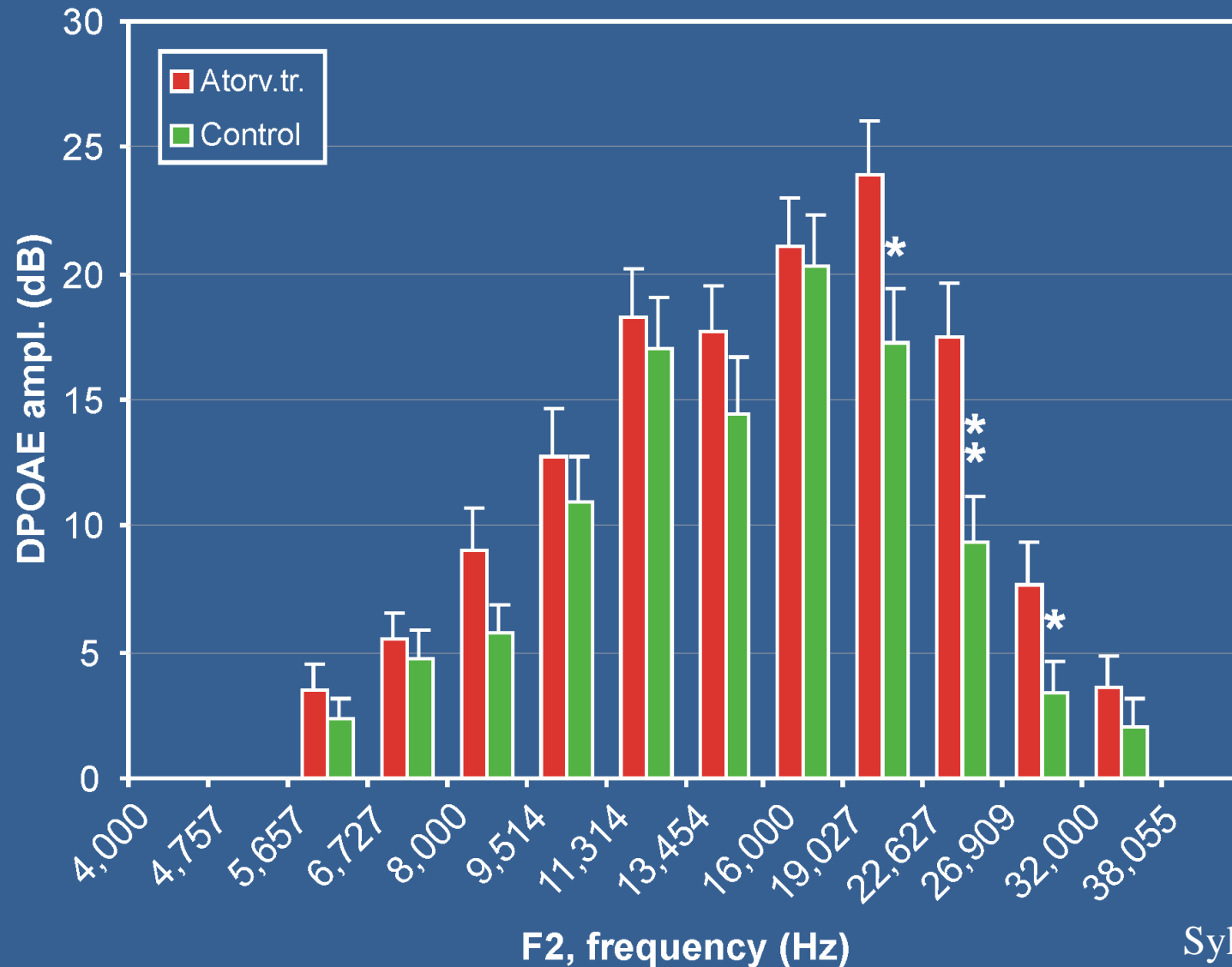
Látky s protektivním účinkem proti sluchové ztrátě testované u potkanů

Class	Compound	Effective dose	ROA	Comments	Refs
Antioxidants					
GSH prodrug	Allopurinol	50–100 mg/kg	i.p.	TTS reduction	[35,36,64]
	ALCAR	100 mg/kg	i.p.	PTS reduction; limited study	[65]
	Edavarone	17 mM	local	PTS reduction	[66]
	lipoic acid	50–200 mg/kg	i.p., p.o.	TTS and PTS reduction	[67]
	Resveratrol	430 µg/kg	p.o.	TTS and PTS reduction; limited study; extensive pretreatment	[68]
	R-PIA	50 mM	local	PTS reduction; limited study	[69]
	α-tocopherol	10–50 mg/kg	i.p.	TTS and PTS reduction	[70]
	Methionine	200 mg/kg	i.p.	PTS reduction	[13,71]
	Monoethylester	50–150 mM	local	TTS and PTS reduction	[69]
	NAC	325 mg/kg	i.p.	TTS and PTS reduction; Ph-III NIHL completed	[65]
OTC	735 mg/kg	i.p.	Limited PTS protection	[72]	
Antioxidant enzymes					
GPx	Ebselen/SPI-1005	4–30 mg/kg	p.o.	TTS and PTS reduction; acute stroke studies halted; NIHL Ph I/II upcoming	[41–43,54]
SOD	SOD-PEG	2000 µg	i.m.	Limited study; TTS reduction; potential for SOD paradox	[35,64]
Calcineurin inhibitors					
	Cyclosporin A	10 µg/ml	local	TTS and PTS reduction; limited study	[73]
	FK506	1–10 µg/ml	local	TTS and PTS reduction; limited study	[73]
Diuretics					
	Mannitol	15 mg/kg	i.p.	Limited study; PTS reduction	[74]
Glucocorticoids					
	Dexamethasone	100 ng/ml	local	Limited study; PTS reduction is U- shaped	[75]
Growth factors					
	aFGF	1000 ng/ml	local	PTS reduction; limited study	[76]
	GDNF	100 ng/ml	local	PTS reduction; higher dose was ototoxic	[77,74]
Iron chelators					
	Deferoxamine	100 mg/kg	s.c.	Limited study; PTS reduction; clinically observed ototoxicity	[74]
JNK Inhibitors					
	CEP-1347	1 mg/kg	s.c.	PTS reduction, limited study; Parkinson's Disease studies halted	[39]
	D-JNKI-1	1–100 µM	local	TTS and PTS reduction	[40]
Magnesium					
	Mg	4 g in humans	p.o.	TTS and PTS reduction; efficacy correlates with Mg deficiency versus treatment	[14,61,62]
NMDA antagonists					
	Carbamathione	5.6 mg/kg	i.p.	PTS reduction; limited study	[65]
	Caroverine	1.6–12.8 mg/ml	local	PTS reduction; transient block of sound transduction	[78]
	MK-801	1 mg/kg	i.p.	PTS reduction; limited study	[32,79]
	PD 174494	10 mg/kg	i.p.	Limited PTS protection	[32]
NOS inhibitors					
	L-NAME	1 mg/kg	i.p.	Limited study; some ototoxicity seen at higher frequencies	[32]

Abbreviations: ROA, route of administration; i.p., intraperitoneal; p.o., oral; i.m., intramuscular; s.c., subcutaneous.

Atorvastatin zpomaluje vznik sluchové ztráty u myši

Otoacoustic emissions - distortion products



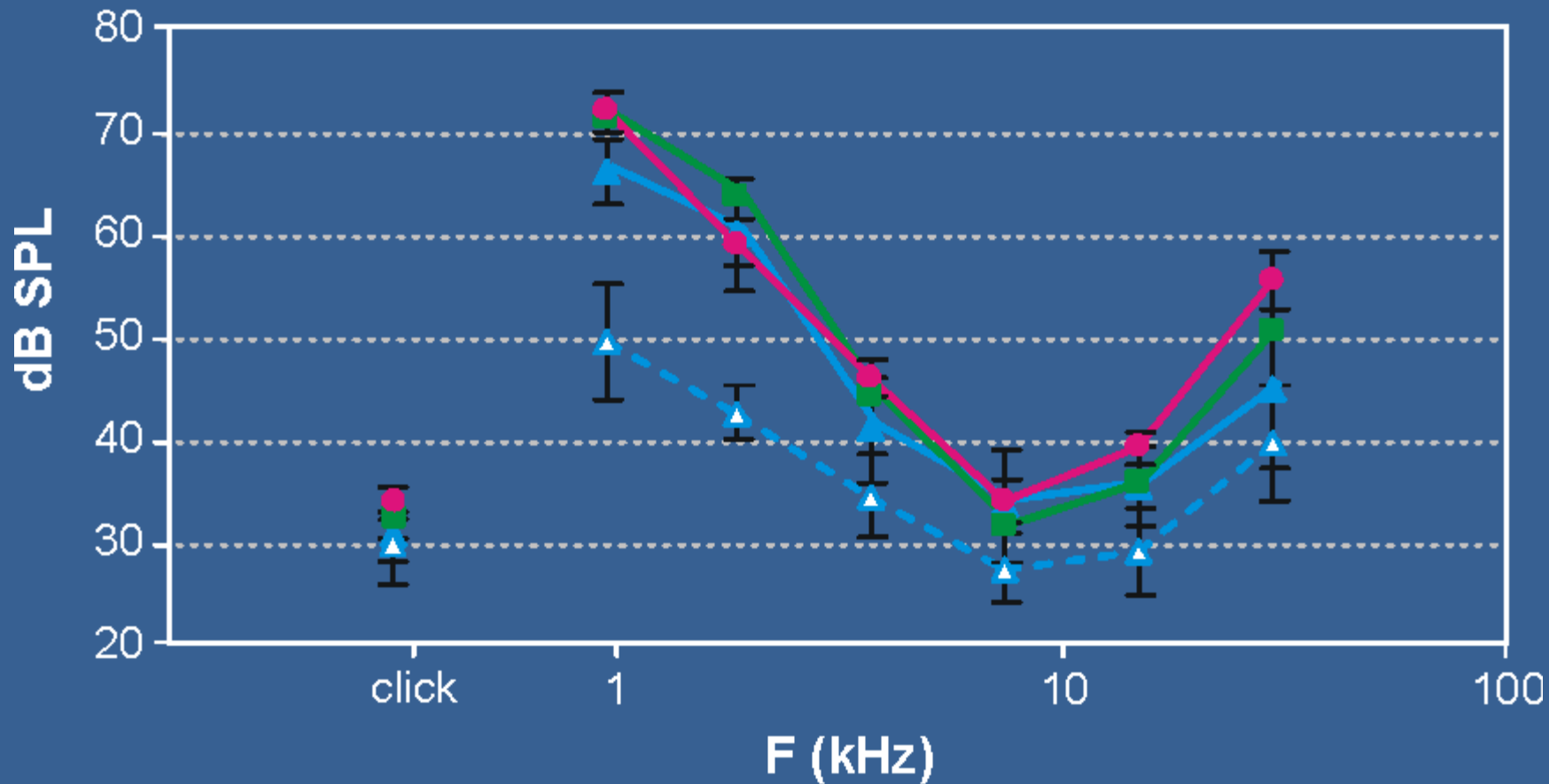
Zhoršování sluchu během stárnutí u potkana

Long Evans (LE) – outbrední kmen potkana, pigmentovaný, minimální zhoršení sluchového prahu až do 3 let věku. (Rybalko et al., 1998).



Fischer 344 (F344) – inbrední kmen potkana, často používaný pro výzkum nádorů. Rychle stárnoucí kmen, po 1. roce se sluch rychle zhoršuje, dožívá se 2 let.

Prahy LE + F344



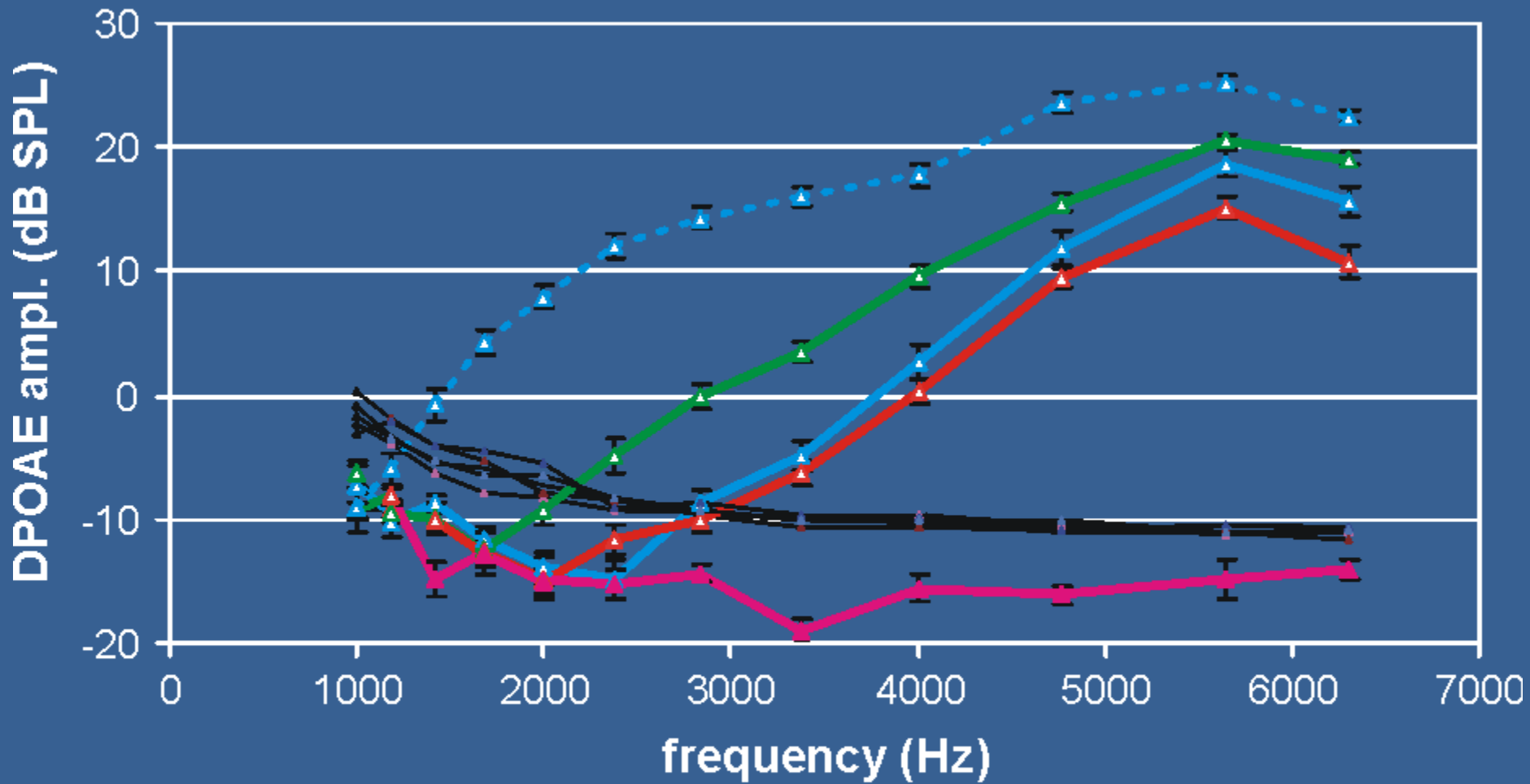
---▲--- LE 1-6 m

—■— F 1 m

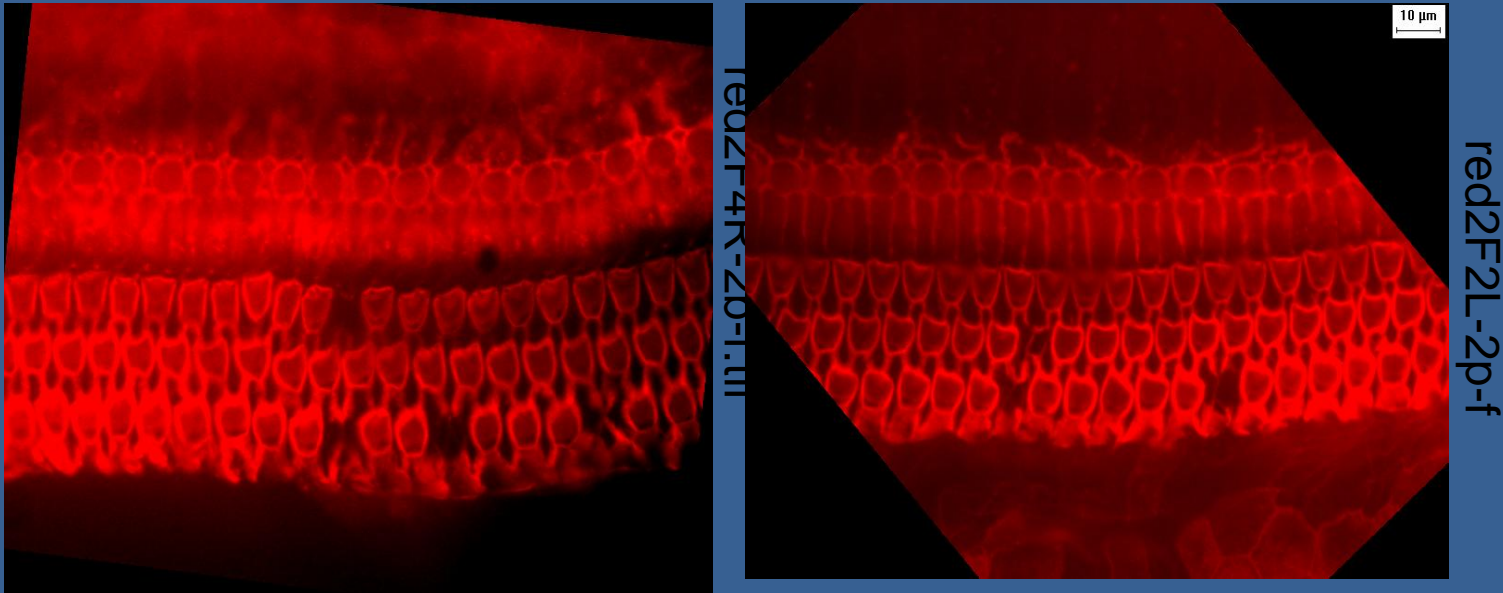
—▲— F 6 m

—●— F 12 m

DPOAE - F344

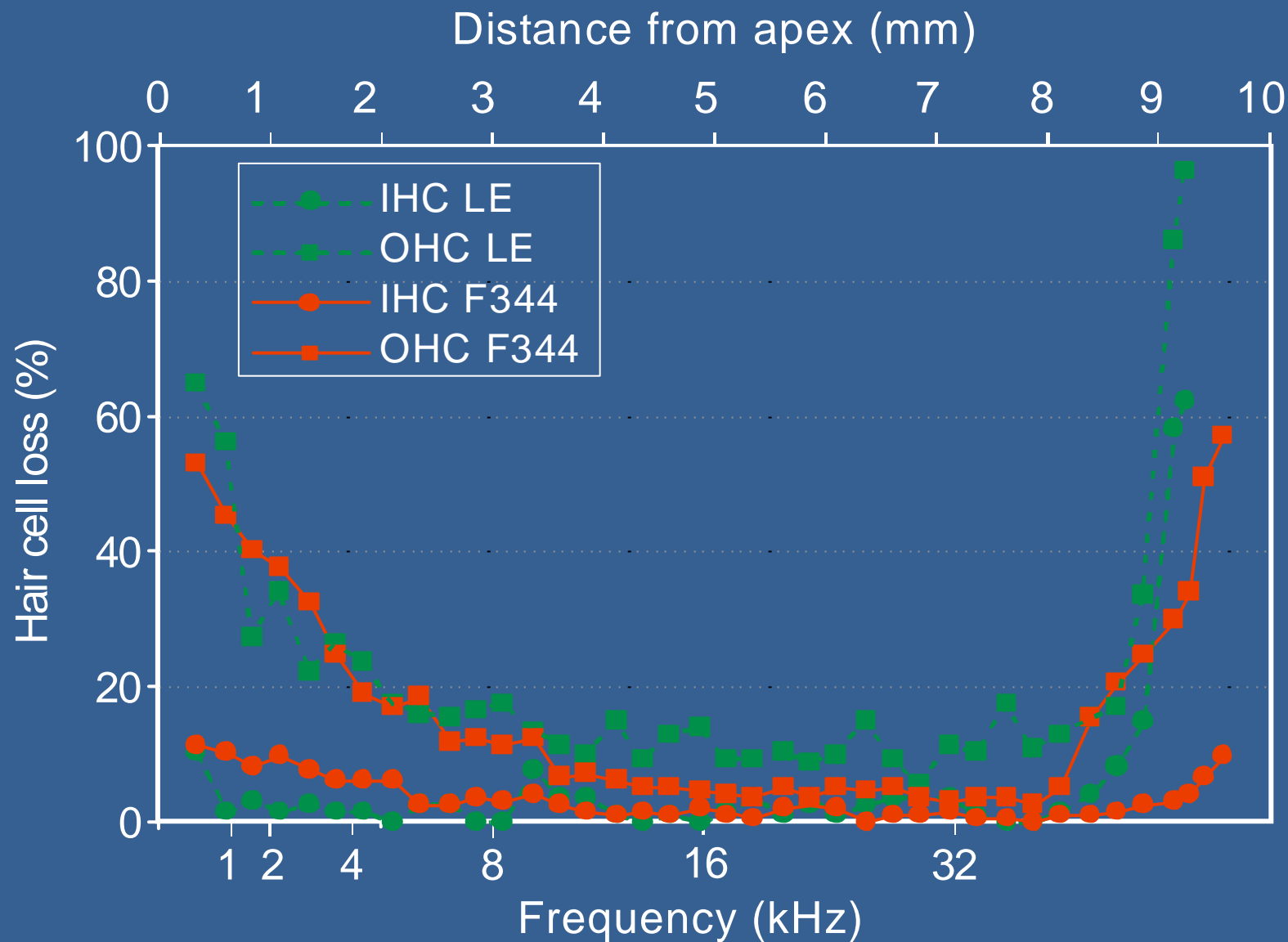


Vláskové buňky u starých F344 a Long Evans potkanů

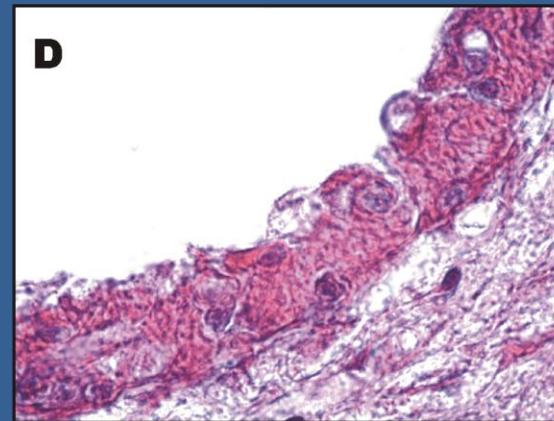
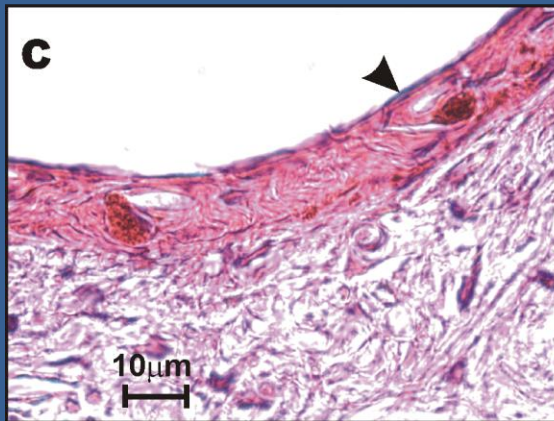
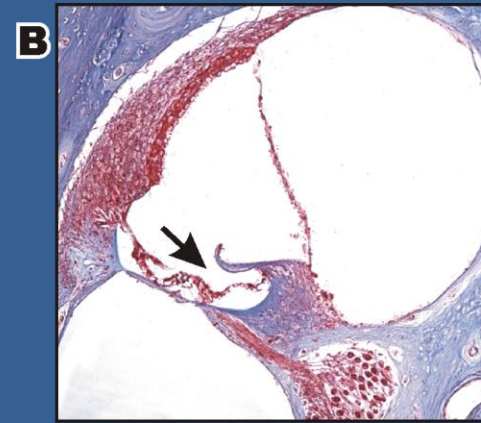
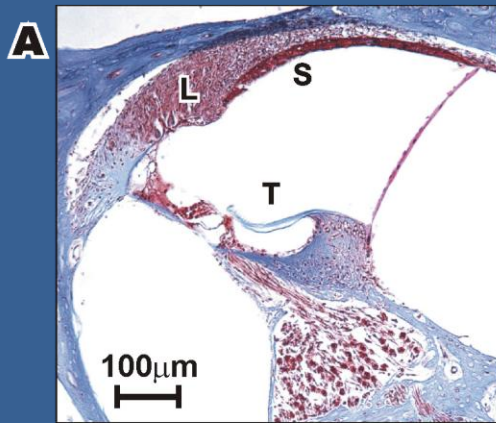


Počet chybějících vláskových buněk u starých F344 a LE potkanů byl přibližně stejný, přestože sluchový práh a DPOAE starých F344 potkanů byly výrazně horší.

Průměrný cytokochleogram 30-měsíčních LE a 22-měsíčních F344



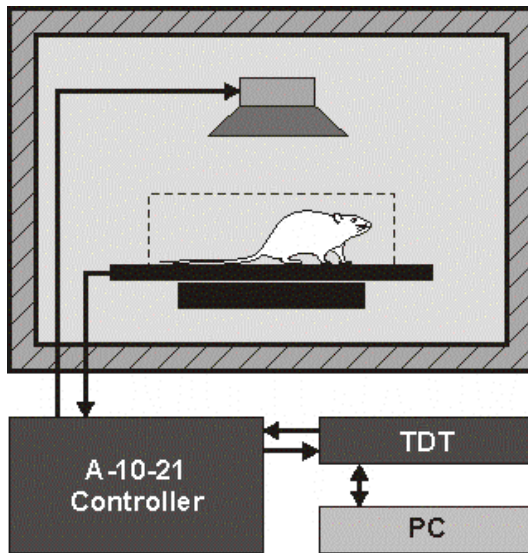
Kochley starých Long Evans (A,C) a F344 (B,D)



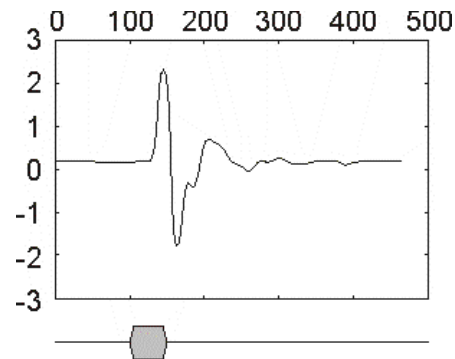
U starých F344 potkanů byl poškozen Cortiho orgán a stria vascularis, což naznačuje, že vláskové buňky nebyly funkční, přestože byly fyzicky přítomné.

Princip registrace úlekové reakce a její prepulsní inhibice

Schéma měřící aparatury

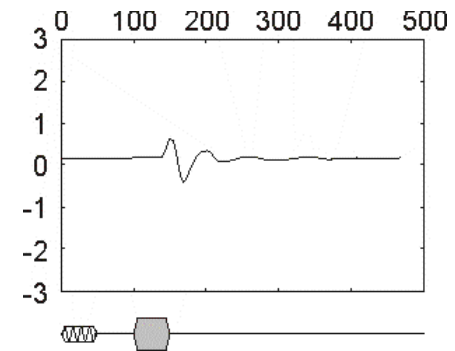


Úleková reakce



puls 110 dB SPL

Prepulsní inhibice úlekové reakce

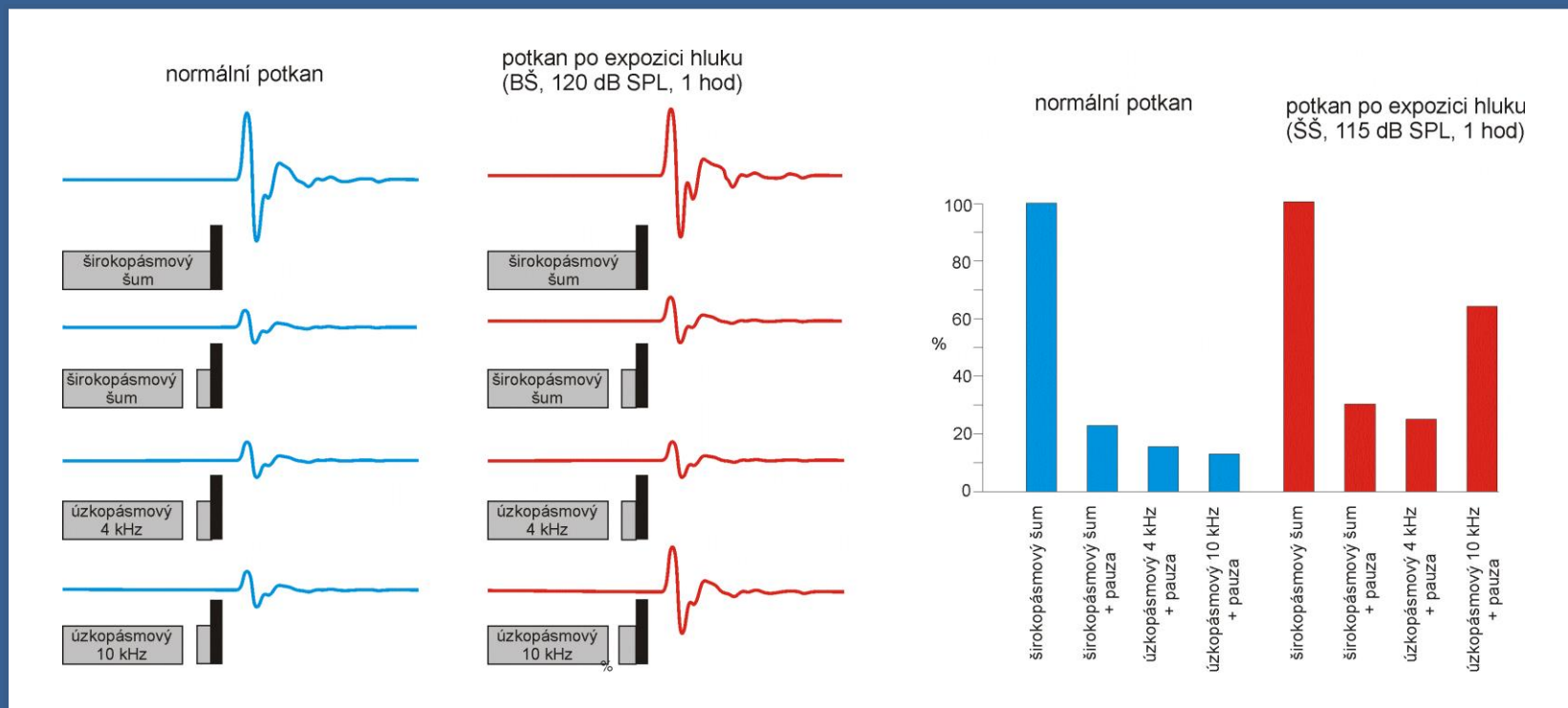


prepulsní tón
60 dB SPL

puls 110 dB SPL

- pokusný subjekt se nachází v malé kleci, umístěné na platformě akcelerometru, který registruje změnu tlaku na platformu
- akustické podněty jsou prezentovány reproduktorem
- stimulace a sběr dat je řízena PC pomocí specializovaného softwaru

Detekce tinnitu u potkana po expozici hluku



- amplituda úlekové reakce u normálního kontrolního potkana byla výrazně potlačena pauzou ve všech typech šumu
- amplituda úlekové reakce u potkana po expozici hluku byla potlačena jen při použití pauzy v širokopásmovém a úzkopásmovém šumu 4 kHz, ale byla mnohem méně potlačena při použití pauzy v úzkopásmovém šumu 10 kHz.



vysokofrekvenční tinnitus u potkana

Děkuji za pozornost