

Etiopatogeneza niedosłuchów u pacjentów oddziałów intensywnej terapii

Etiopathogenesis of hearing impairment in Neonatal Intensive Care Unit patients

GRAŻYNA NIEDZIŁSKA, MICHAŁ KOTOWSKI, ARTUR NIEDZIŁSKI

Katedra i Klinika Otolaryngologii Dziecięcej, Foniatrii i Audiologii AM, Lublin

Pacjenci Oddziałów Intensywnej Terapii (OIT) są często obarczeni czynnikami ryzyka uszkodzenia narządu słuchu związanymi z przebiegiem ciąży, porodem lub chorobami w okresie niemowlęcym. Czynniki ryzyka wystąpienia głuchoty postępującej o opóźnionym początku, które dotyczą w szczególności pacjentów OIT są ostra niewydolność oddechowa, mechaniczna wentylacja o wysokiej częstotliwości i przetrwałe nadciśnienie płucne. Upośledzenie słyszenia jest najczęściej spowodowane utratą komórek słuchowych zewnętrznych. Przyczyny mogą być różne i obejmują hałas (inkubatora), leki ototoksyczne stosowane w leczeniu sepsy (aminoglikozydy), infekcje. Antybiotyki aminoglikozydowe mają potencjał ototoksyczny z preferencją do komórek słuchowych zewnętrznych. Molekuły aminoglikozydów silnie oddziałują z ujemnie naładowanymi fosfolipidowymi receptorami błon. Kompleksy antybiotyków aminoglikozydowych z polifosfoinozytami mają hamujący wpływ na receptory błon komórkowych, blokując kanały wapniowe i prowadząc do uszkodzenia narządu Cortiego. Antybiotyki aminoglikozydowe mogą chelatować żelazo, tworząc kompleks o właściwościach oksydacyjnych, zwiększając produkcję wolnych rodników. Powszechnie znaną przyczyną powstawania niedosłuchu jest niedotlenienie. W procesie tym odgrywać może rolę śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF). Ekspresja VEGF wzrasta w odpowiedzi na hypoksję, jest również zwiększana poprzez aktywowane onkogeny i szereg cytokin. W pracy omówiono najczęstsze przyczyny uszkodzeń słuchu u pacjentów oddziałów intensywnej terapii oraz patofizjologię tych uszkodzeń.

Słowa kluczowe: etiopatogeneza, niedosłuch odbiorczy, stres oksydacyjny, apoptoza

The Neonatal Intensive Care Unit (NICU) patients are often at a higher risk for hearing disorders connected with the pathologies during the pregnancy, delivery and perinatal diseases. Severe respiratory failure, high-frequency mechanical ventilation and persistent pulmonary hypertension are the risk factors for delayed-onset progressive hearing loss.

Hearing impairment is usually caused by the loss of outer hair cells (OHCs) due to variety of factors that generate oxidative stress, such as incubator noise, infection or administration of ototoxic drugs in case of sepsis.

Aminoglycoside antibiotics have ototoxic potential with the preference for the outer hair cells. The molecules of aminoglycosides strongly interact with negatively charged membrane phospholipid receptors. Complexes between aminoglycoside antibiotics and polyphosphoinositides show several inhibitory effects on the cell membrane receptors, blocking the calcium channels and causing lesions of the organ of Corti. Aminoglycoside antibiotics can chelate iron, forming a complex with oxidative properties and may provoke the formation of free radicals.

Hypoxia is a widely known causative factor of hearing loss. Vascular endothelial growth factor (VEGF) may play a role in that process. The expression of VEGF is increased in response to hypoxia, but is also augmented by activated oncogenes and a variety of other cytokines.

Key words: etiopathogenesis, perceptive hearing loss, oxidative stress, apoptosis

Nadesłano: 20.01.2006
Oddano do druku: 30.05.2006

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Grażyna Niedzińska
Katedra i Klinika Otolaryngologii Dziecięcej, Foniatrii i Audiologii AM
20-093 Lublin, ul. Witolda Chodźki 2
tel/fax +48817416173 ped-ork@pdk.lublin.pl

W 1994 r. *Joint Committee of Infant Hearing (JCIH)* podał listę dziesięciu czynników ryzyka, które identyfikują te dzieci, które są w największym stopniu narażone na zaburzenia słuchu [1]. Są to: głuchota w wywiadzie rodzinnym, wrodzone infekcje, anomalie czaszkowo-twarzowe, niska masa urodzeniowa, hiperbilirubinemia, leczenie ototoksyczne, bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, niski Apgar, mechaniczna wentylacja powyżej 5 dni, cechy fizyczne świadczące o zespole skojarzonym z utratą słuchu.

Do dodatkowych czynników ryzyka zaliczane są: niewydolność oddechowa, pobyt w oddziale intensywnej opieki (OIT), poród przedwczesny, hipoksja, krwawienie śródczaszkowe.

Częstość

W porównaniu z normalną populacją noworodków, byli pacjenci OIT są z natury na wyższym poziomie ryzyka wystąpienia głuchoty odbiorczej; ryzyko to jest określane jako 10-20 razy większe niż w normalnej populacji [2]. Wydaje się też logiczne, że ryzyko powstania niedosłuchu postępującego o opóźnionym początku jest większe a może być przeoczone w rutynowym badaniu skryningowym [3]. Częstość występowania głuchoty odbiorczej postępującej nie jest znana, ale niektóre badania donoszą o wskaźniku 2-6% spośród dzieci zdiagnozowanych uprzednio jako głuchota odbiorcza [4].

Etiologia

Etiologiczne czynniki postępującej głuchoty odbiorczej są zarówno wrodzone jak i nabyte i obejmują: czynniki genetyczne, anatomiczne, infekcyjne, autoimmunologiczne i ototoksyczne [4, 5]. Szczególnym obciążeniem dla grupy pacjentów OIT wydaje się być niewydolność oddechowa, mechaniczna wentylacja o wysokiej częstości, nadciśnienie płucne w powiązaniu z postępującą głuchotą odbiorczą o opóźnionym początku [6-8]. Głuchota odbiorcza u pacjentów z nadciśnieniem płucnym jest szacowana na 20-50%, występuje obustronnie dotyczy wysokich częstotliwości, czasami ma charakter postępujący [6].

Leki ototoksyczne – są pewne dowody, że u dzieci urodzonych przedwcześnie istnieje większa podatność na ich działanie. Wielu autorów jednakże wierzy, że noworodki są mniej podatne na działanie ototoksyczne niż dorośli i starsze dzieci [9, 10]. Dodatkowo wykazano, że u pacjentów mających pewne mutacje mitochondrialne szkodliwe są nawet dawki subterapeutyczne [4]. Nie ma żadnych badań dotyczących odległych skutków audiologicznych u dzieci, które otrzyły krótkie leczenie antybiotykami ototoksycznymi OIT w związku z sepsą.

Nagromadzenie tak dużej liczby czynników ryzyka uszkodzenia narządu słuchu u byłych pacjentów OIT wskazuje na konieczność prowadzenia długoterminowej kontroli audiologicznej w tej grupie dzieci.

Wiele wirusów od dawna jest uważanych za uszkadzające struktury ucha wewnętrznego np. wirus świnki, ospy wietrznej, odry, różyczki CMV, opryszczki, adenowirusy. Infekcje wirusowe i bakteryjne są wiodącymi infekcjami prowadzącymi do głuchoty. Dowiedziono również, iż istnieje korelacja pomiędzy rosnącymi war-

tościami CRP a nagłą głuchotą obustronną [11-14]. Ryzyko postępującej głuchoty występuje przy zakażeniu wirusem cytomegalii (CMV). Infekcja CMV jest dobrze udokumentowanym czynnikiem sprawczym głuchoty postępującej o opóźnionym początku; jest najczęstszą przyczyną wrodzonych głuchot pochodzenia infekcyjnego [15, 16]. Głuchota w następstwie zakażenia wirusem cytomegalii dotyczy 0,4-2,3% żywych urodzeń [15].

Występowanie niskiej urodzeniowej masy ciała nie ujawniło statystycznej różnicy w populacji dzieci zdrowych i pacjentów OIT. Związek pomiędzy niską masą ciała a głuchotą jest kontrowersyjny. Niektóre badania nie ujawniły takiej zależności [17-21], podczas gdy inne donosiły o jej silnym związku [22]. Dzieci z niską masą urodzeniową mają generalnie wiele czynników mogących skutkować uszkodzeniem mózgu a więc i słuchu. Tymi czynnikami są: niedojrzałość, podawanie leków ototoksycznych, hałas inkubatora, powikłania okołoporodowe jak hipoksja, kwasica itp.

Coraz więcej wątpliwości pozostawia punktacja APGAR jako markera asfiksji, wobec powyższego niska jest również jego wartość jako markera niedosłuchu. Połączenie asfiksji i dystrofii wewnątrzmacicznej (*intra-uterine growth retardation* – IUGR) jest uważana za poważniejszy czynnik powstania niedosłuchu niż niedotlenienie i niska masa urodzeniowa [23]. Jest to logiczne, bowiem badania wykazały, że krótkotrwała hipoksja ślimaka prowadzi do zmian odwracalnych, natomiast przedłużające się niedotlenienie prowadzi do zmian nieodwracalnych [24-26].

Patofizjologia uszkodzeń

Upośledzenie słyszenia jest często spowodowane utratą komórek słuchowych zewnętrznych spowodowaną różnymi czynnikami powodującymi stres oksydacyjny. Czynniki takimi może być hałas inkubatora, leki ototoksyczne, infekcje; czynniki te indukują apoptozę. W uchu wewnętrznym apoptoza może być indukowana zarówno w komórkach słuchowych jak i w neuronach zwoju spiralnego. Uraz pod postacią braku neurotropiny, ekspozycji na substancje ototoksyczne, czy hipoksję/ischemię prowadzi do stresu oksydacyjnego, który następnie prowadzi do apoptozy [27].

Wolne rodniki tlenowe (*reactive oxygen species* – ROS) tworzą się jako produkty przygodne licznych szlaków metabolicznych i te molekuly mogą same w sobie powodować uszkodzenie komórki poprzez reakcje z białkami komórkowymi, lipidami i DNA. Reakcja ROS z błonami plazmatycznymi powoduje powstanie produktów peroksydacji fosfolipidów błonowych takich jak 4-hydroksynonental (HNE), aldehydowy produkt peroksydacji lipidów, który jest wysoce reaktywny i prowadzi do

uszkodzenia komórki lub do jej śmierci. Komórki zabezpieczają się przed stresem oksydacyjnym poprzez system obrony antyoksydacyjnej, który wykorzystuje wymiatacze wolnych rodników takie jak „*thiol tripeptide glutathion*” (GSH) oraz enzymy: dysmutazę ponadtlenkową, katalazy, peroksydazę glutationową, które zachowują właściwy status redox w białkach komórkowych. Glutation działa redukując białka oksydowane przez ROS i jest odpowiedzialny za detoksykację HNE.

W ostatnim dziesięcioleciu wykryto proteazy biorące istotny udział w procesie apoptozy; należą do nich kaspazy i kalpainsy. Kaspazy (*caspases*) są cysteinowymi proteazami, które odgrywają istotną rolę w procesie apoptozy. Inhibicja kaspaz chroni neurony przed apoptozą wywołaną stresem oksydacyjnym [28-30]. Ze względu na fakt tak powszechnego i istotnego udziału kaspaz w apoptozie staje się kuszącym celem wprowadzanie jej inhibitorów. Kalpainsy (*calpains*) są proteinami aktywowanymi wapniem. Substratami dla calpain są białka cytoszkieletu, białka związane z błonami np. ATP-aza oraz inne cytoplazmatyczne i jądrowe białka (np. kinazy białkowe, p-53). Kalpainsy mogą działać w licznych modelach apoptozy indukowanej niedotlenieniem. Podkreśla się ich udział w modelach apoptozy indukowanej udarem, działaniem środków cytotoksycznych oraz napromienianiem [31].

C-Jun N-końcowa kinaza (*c-Jun-terminal kinase* – JNK) jest kinazą białkową aktywowaną stresem, biorącą udział w neuronalnej śmierci komórki. Fosforylacja kinaz JNK prowadzi do aktywacji czynnika transkrypcyjnego c-Jun. Sygnalizacja JNK poprzedza uwolnienie cytochromu c i aktywację kaspaz. Badania doświadczalne wykazały, że aplikacja do schodów bębenka czynnika blokującego drogę sygnału (D-HNK-1) całkowicie zabezpiecza komórki rzęsate przed śmiercią indukowaną neomycyną [32].

Rodniki tlenu azotu odgrywają ważną rolę w ślimaku jako wewnątrz i zewnątrzkomórkowy przekaźnik, ale również dyskutowano ich rolę jako czynnika inicjującego patofizjologiczne procesy zależne od ilości wytworzonych rodników NO. W kontekście zmian patologicznych nadmierny napływ jonów Ca^{2+} poprzez uszkodzone kanały wapniowe może prowadzić do aktywacji kalmoduliny, która z kolei aktywuje eNOS i /lub nNOS (sródbłonkowa i neuronalna izoforma syntetaz NO) prowadząc do wzrostu NO w postsynaptycznych dendrytach komórek słuchowych wewnętrznych [33]. Nadmiar NO może łączyć się z anionem nadtlenkowym tworząc peroksynitraty powodując różne uszkodzenia lipidów, białek oraz cytoszkieletu komórek rzęsatych [34]. Wzrost koncentracji NO został zaobserwowany po ekspozycji na hałas w komórkach słuchowych, komórkach Deitersa, Hensena oraz w aferentnych i eferentnych włóknach nerwowych [35, 36]. Wzrost eNOS

po ostrym urazie akustycznym jest dyskutowany jako możliwy mechanizm cytoprotekcyjny [37].

Apoptoza w neuronach słuchowych może być indukowana „wycofaniem” neurotropiny (NT). W narządzie słuchu neurotropiny są potrzebne do przetrwania neuronów ślimaka. Neurotropina-3 (NT-3) i BDNF (*brain-derived neurotropic factor*) są produkowane przez komórki rzęsate wewnętrzne ślimaka i rozszerzają swoje działanie w sposób autokryny i parakryny [38]. Gdy komórki są uszkodzone przez czynnik toksyczny pojawia się degeneracja neuronów w zwoju spiralnym a zapobiega jej perfuzja neurotropiny (BDNF i/lub NT-3 do schodów bębenka, sugerując ich rolę w podtrzymaniu neuronów słuchowych [39]. Czynnikiem wzrostu nerwów (*nerve growth factor* – NGF) jest jednym z najlepiej poznanych czynników neurotropowych. Stres oksydacyjny zaś jest jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za śmierć komórek indukowaną brakiem neurotropiny. Dugan i wsp. (1997) odkryli, że brak NGF powodował wzrost produkcji ROS zarówno w hodowlach komórek zwoju szyjnego górnego jak i linii komórek (GT-1) CUN [40]. Wzrost wolnych rodników został zahamowany poprzez podanie NGF, antyoksydant ten i wymiatacz wolnych rodników był również w stanie blokować apoptozę indukowaną brakiem neurotropiny. Inhibitory kaspaz są również zdolne blokować apoptozę indukowaną „wycofywaniem” neurotropiny w neuronach. Bcl-2 jest czynnikiem transkrypcyjnym, który może kontrolować szlak apoptozy poprzez hamowanie uwalniania cytochromu c przez mitochondria. Nadekspresja bcl-2 daje efekt zabezpieczenia przed apoptozą neuronów [31].

W uchu wewnętrznym takie czynniki jak brak neurotropiny, uraz akustyczny, hipoksja/ischemia, antybiotyki indukują apoptozę zarówno w komórkach rzęsatych, jak i w neuronach zwoju spiralnego poprzez szlaki metaboliczne prowadzące do stresu oksydacyjnego z produkcją wolnych rodników i aktywacją proteaz apoptycznych takich jak kaspazy i kalpainsy. Szlaki te mają liczne miejsca, w których inhibicja mogłaby ochronić komórki przed zaprogramowaną śmiercią. Aby uniknąć apoptozy indukowanej stresem oksydacyjnym istnieją strategie ochrony, obejmują one: prewencję powstawania ROS albo przez wiązanie toksyn lub uzupełnianie brakujących czynników neurotropowych w przypadku braku neurotropiny; odwracanie peroksydacji lipidów, dodawanie egzogennych wymiataczy wolnych rodników, enzymów antyoksydacyjnych i molekuł w celu zabezpieczenia przed interakcjami ROS z białkami komórkowymi, lipidami i DNA, wzrost endogennego systemu antyoksydacyjnego. Aktywacja kaspaz i calpain może być zahamowana poprzez dodanie egzogennych inhibitorów proteaz lub użycie terapii genowej do regulacji (wzrostu) produktów genów antyapoptycznych takich jak Bcl-2.

Mechanizm uszkodzenia ucha wewnętrznego przez infekcje wirusowe pozostaje nadal niewyjaśniony. W literaturze amerykańskiej jest dyskutowana infekcja wirusowa prążka naczyniowego, narządu Cortiego lub komórek zwoju spiralnego; w Europie natomiast jest faworyzowana geniza naczyniowa z zastępczą perfuzją w uchu wewnętrznym. Mimo, że obie hipotezy są popierane przez różne strategie terapeutyczne, ich wpływ na samoistne wyleczenie nadal pozostaje niewyjaśniony.

Jak wiadomo podczas zapalenia naczyń na tle wirusowym krążące immunoglobuliny są deponowane okołonaczyniowo, co prowadzi do miejscowego spadku przepływu i hipoksji tkanek. Również w chorobach autoimmunologicznych, zapalenie okołonaczyniowe jest powszechne a śródbłonek odgrywa główną rolę w początkowych stadiach choroby. Komórki endothelium promują zapalenie naczyń poprzez wydzielanie prozapalnych cytokin (IL-1, IL-6, TNF-alfa) oraz ekspresję molekuł adhezyjnych. Podczas trwania tych immunopatologicznych mechanizmów dochodzi do stenozy lub zamknięcia naczynia a w konsekwencji do nekrozy na tle niedokrwiennej [41].

Zupełnie inny mechanizm uszkodzenia ucha wewnętrznego występuje podczas infekcji wywołanej *Streptococcus pneumoniae*. W powstawaniu głuchoty odbiorczej związanej z tą infekcją pośredniczy egzotoksyna – pneumolizyna, która indukuje poważne uszkodzenia komórek słuchowych począwszy od dezorganizacji stereocyliów po całkowitą utratę komórek. Pneumolizyna wybiórczo uszkadza komórki słuchowe wewnętrzne. Toksyna powoduje przemieszczanie się wapnia do wnętrza komórki przez pory przez nią wytworzone. Wiązanie pneumolizyny z błoną plazmatyczną komórki słuchowej prowadzi do jej śmierci. Zwiększenie wapnia zewnątrzkomórkowego redukuje toksyczność wobec komórki poprzez zabezpieczenie jej przed wiązaniem pneumolizyny do błon komórkowych [42].

Ekspozycja na hałas prowadzi do uszkodzenia ucha wewnętrznego na poziomie molekularnym bowiem uszkodzeniu podlegają komórki słuchowe zewnętrzne, wewnętrzne oraz synapsy [43, 44] w wyniku wzrostu stężenia wolnych rodników. Brak równowagi pomiędzy ROS a molekułami cytoprotekcyjnymi takimi jak białka szoku cieplnego, antyoksydanty powoduje stres i uszkodzenie tkanki. Ta zależność sugeruje, że subletalne poziomy różnych stresów mogą indukować podwyższone poziomy składników ochronnych, tak, że tkanki w sytuacji wyższego poziomu stresu lepiej go tolerują. W oparciu o tę koncepcję Yoshida i wsp. w 1999 r. zastosowali stres termiczny w badaniach doświadczalnych u myszy narażonych na hałas. W swoich badaniach uzyskali potwierdzenie protekcyjnego działania stresu termicznego na narząd słuchu [45]. Ekspozycja na hałas może powodować produkcję przeciwciał przeciwko białkom szoku cieplnego (Hsps), co może mieć znaczenie w pro-

gnozowaniu chorób autoimmunologicznych ucha wewnętrznego. Używając metody immunoblotingu zbadano obecność przeciwciał przeciwko Hsp60 i Hsp70 i zanalizowano ich związek z utratą słuchu indukowaną hałasem. Badania wykazały podwyższony poziom anty-Hsp 70 powiązany z niedosłuchem indukowanym hałasem na wysokich częstotliwościach, podwyższony poziom w surowicy anty-Hsp 60 był związany z niedosłuchem na niskich częstotliwościach. Wyniki te sugerują, że produkcja przeciwciał przeciwko białkom szoku cieplnego może odgrywać rolę w patogenezie niedosłuchu wywołanego hałasem [46].

Aktywny proces ślimakowy jest związany z elektro-ruchomością komórek słuchowych zewnętrznych (OHC); warunkiem elektro-ruchomości OHC jest nieuszkodzony szkielet błonowy komórki i wystarczające dostarczenie energii. Obserwowano rozpad F-aktyny (główny składnik szkieletu błonowego OHC) po ekspozycji na hałas. Genowa ekspresja beta-aktyny może być odpowiedzią na indukowany hałasem rozpad aktyny obserwowany zarówno w komórkach rzęsatych jak i podporowych [47, 48]. Wywołane hałasem uszkodzenie aktyny w płycie oskórkowej i stereocyliach komórek słuchowych rzęsatych może powracać do normy po krótkiej ekspozycji na hałas [49]. Uszkodzenie aktyny w bocznej ścianie OHC może nie zostać naprawione i powodować trwałą utratę ruchomości OHC.

Hipoksja potęguje zmiany wywołane przez hałas [50]. Asfiksja jest praktycznie zawsze włączana do czynników okołoporodowych uszkodzenia słuchu. Jednakże Borg (1997) uważa, że ucho wewnętrzne jest mniej podatne na asfiksję niż mózg, co być może wyjaśnia dlaczego tak wiele dzieci cierpiących na asfiksję zachowuje prawidłowe funkcje słuchowe [51]. Kaga M. i wsp. (2005) twierdzą, że u noworodków bariera krew-błędnik oraz krew-mózg są niedojrzałe a komórki słuchowe zewnętrzne są podatne na hipoksję. Prawdopodobnie długotrwałe niedotlenienie prowadzi do uszkodzenia komórek słuchowych [52].

Badania Picciotti i wsp. (2004) wykazały, że w odpowiedzi na anoksję wzrasta ekspresja śródbłonkowego naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF). VEGF jest specyficznym dla komórek endotelialnych mitogenem o kluczowych funkcjach w metabolizmie naczyniowym; ma istotny wpływ na przepuszczalność naczyń, migrację komórek śródbłonka, tworzenie i relaksację naczyń oraz apoptozę. Zmniejszona waskularyzacja i dysfunkcja śródbłonka może być istotnym mechanizmem patogenetycznym w wielu zaburzeniach otologicznych, z utratą słuchu włącznie [53]. Uważa się, że brak równowagi w układzie krążenia odpowiada za przejściową anoksję ślimaka. Ucho wewnętrzne wydaje się być bardzo wrażliwe na zmiany naczyniowe z powodu zaopatrzenia w krew pochodzące z tętnicy końcowej, uzależnienia od prążka naczyniowego, który najprawdopodobniej bywa

wciągany w zmiany metaboliczne [54] oraz jest zależny od stanu płynów ucha wewnętrznego. Uważa się, że przepływ krwi przez ucho jest funkcją ślimakowego przepływu perfuzyjnego, które jest obliczane jako różnica między ciśnieniem tętniczym a ciśnieniem płynów ucha wewnętrznego. Spadek przepływu ślimakowego spowodowany spadkiem ciśnienia tętniczego został jasno wykazany przez Hulcrantz i wsp. [55] oraz Maas [56] sugerujących zależność krążenia w uchu wewnętrznym od zmian w napięciu układu współczulnego indukowane przez stałe zmniejszanie ciśnienia przez hipotensję samą w sobie [57].

Narząd Cortiego dysponuje najmniejszą ilością komórek zmysłowych w porównaniu do innych narządów zmysłu. Upośledzenie słyszenia jest związane z utratą komórek słuchowych spowodowane różnymi czynnikami powodującymi stres oksydacyjny. U ssaków komórki słuchowe są produkowane tylko w okresie embriogenezy [58] i nie regenerują się, jeśli raz zostaną utracone w życiu pozamiacicznym. Aktualnie nie ma efektywnej terapii leczenia ślimaka i odwrócenia tego stanu. Dlatego zapobieganie śmierci komórek indukowanej stresem oksydacyjnym byłoby wielką wartością terapeutyczną.

Piśmiennictwo

- Kountakis S, Skoulas I, Phillips D i wsp. Risk Factors for Hearing Loss in Neonates: A Prospective Study. *Am J Otolaryngol* 2002; 23(3): 133-137.
- Thompson DC, McPhillips H, Davis RL i wsp. Universal newborn hearing screening: summary of evidence, *J. Am. Med. Assoc.* 2001; 286: 2000-2010.
- Yoon PJ, Price M, Gallagher K i wsp. The need for long-term audiologic follow-up of neonatal intensive care unit (NICU) graduates. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1993; 27: 215-227.
- Kenna MA, Sculerati N. Progressive sensorineural hearing loss in children: diagnosis and management. (w) *Advances in Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. Meyers EN (red.). Mosby, 1999; 13: 23-42.
- Joint Committee on Infant Hearing, 1994 Position Statement. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 113: 191-196.
- Hutchin ME, Gilmer C, Yarbrough WG. Delayed-onset sensorineural hearing loss in a 3-year-old survivor of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126: 1014-1017.
- Lasky RE, Wiorek L, Becker TR. Hearing loss in survivors of neonatal extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) and high-frequency oscillatory (HFO) therapy. *J Am Acad Audiol* 1998; 9: 47-58.
- Robertson CM, Tyebkhan JM, Hagler ME, Cheung PY i wsp. Late-onset, progressive sensorineural hearing loss after severe neonatal respiratory failure. *Otol Neurotol* 2002; 23(3): 353-356.
- McCracken GH. Aminoglycoside toxicity in infants and children, *Am J Med* 1986; 80(6): 172-178.
- Henley CM, Rybak LP. Developmental ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26(5): 857-871.
- Schattner A, Halperin D, Wolf D i wsp. Enteroviruses and sudden deafness. *CMAJ* 2003; 168.
- Peltora H, Luhtala K, Valmari P. C-reactive protein as a detection of organic complications during recovery from childhood purulent meningitis. *J Pediatr* 1984; 104: 869-72.
- Dias LR, Alves RM, Farhat CK. C-reactive protein follow-up of children with acute bacterial meningitis. *Braz J Infect Dis* 1999; 3:15-22.
- Yoshikawa S, Ikeda K, Kudo T i wsp. The effects of hypoxia, premature birth, infection, ototoxic drugs, circulatory system and congenital disease on neonatal hearing loss. *Auris Nasus Larynx* 2004; 31: 361-368.
- Williamson WD, Demmler GJ, Percy AK i wsp. Progressive hearing loss in infants with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1992; 90: 862-866.
- Fowler KB, McCollister FP, Dahle AJ i wsp. Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 1997; 130: 624-630.
- Kountakis SE, Psifidis A, Chang CJ, Stiernberg CM. Risk factors associated with hearing loss in neonates. *Am J Otol* 1997; 18(2): 90-93.
- Vohr BR, Widen JE, Cone-Wesson B i wsp. Identification of neonatal hearing impairment: characteristics of infants in the neonatal intensive care unit and well-baby nursery. *Ear Hear* 2000; 21(5): 373-382.
- Barbara CW, Betty RV, Yvonne SS i wsp. Identification of neonatal hearing impairment: infants with hearing loss. *Ear Hear* 2000; 21(5): 488-507.
- Hermann BS, Thornton AR, Joseph JM. Automated infant hearing screening using the ABR: development and validation. *Am J Audiol* 1995; 4(2): 6-14.
- Oghalai JS, Chen L, Brennan ML i wsp. Neonatal hearing loss in the Indigent. *Laryngoscope* 2002; 112: 281-286.
- Naarden KV. Decoufle. Relative and attributable risks for moderate to profound bilateral sensorineural hearing impairment associated with lower birth weight in children 3 to 10 years old. *Pediatrics* 1999; 104(4): 905-910.
- Mencher LS, Mencher GT. Neonatal asphyxia, definitive markers and hearing loss. *Audiology* 1999; 38(6): 291-295.
- Gafni M, Sohmer H. Intermediate endocochlear potential levels induced by hypoxia. *Acta Otolaryngol* 1976; 82: 354-358.
- Nuttall A, Lawrence M. Endocochlear potential and scala media oxygen tension during partial anoxia. *Am J Otolaryngol* 1980; 1: 147-153.
- Sohmer H, Freeman S, Malachie S. Multi-modality evoked potentials in hypoxemia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989; 73: 328-333.
- Lautermann J, Crann SA, McLaren J i wsp. Glutathione-dependent antioxidant systems in the mammalian inner ear: Effects of aging, ototoxic drugs and noise. *Hear Res* 1997; 114: 75-82.
- Fraser A, McCarthy N, Evans GI. Biochemistry of cell death. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6: 71-80.

29. Schulz JB, Bremen D, Reed JC i wsp. Cooperative interception of neuronal apoptosis by BCL-2 and BAC-1 expression: Prevention of caspase activation and reduced production of reactive oxygen species. *J Neurochem* 1997; 69: 2975-2086.
30. Gorman AM, Orrenius S, Ceccatelli S. Apoptosis in neuronal cells: Role of caspase. *Neuroreport* 1998; 9: 49-55.
31. Lefebvre PP, Malgrange B, Lallemand F i wsp. Mechanisms of cell death in the injured auditory system: Otoprotective strategies. *Audiol Neurootol* 2002; 7: 165-170.
32. Wang J, Van De Water TR, Bonny C i wsp. A peptide inhibitor of c-Jun N-terminal kinase protects against both aminoglycoside and acoustic trauma-induced auditory hair cell death and hearing loss. *J Neurosci* 2003; 23(24): 8596-8607.
33. Kopke R, Allen KA, Henderson D i wsp. A radical demise. Toxins and trauma share common pathways in hair cell death. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 962: 171-191.
34. Fessenden JD, Coling DE, Schacht J. Detection and characterization of nitric oxide synthase in the mammalian cochlea. *Brain Res* 1994; 668: 9-15.
35. Shi X, Ren T, Nuttall AL. The electrochemical and fluorescence detection of nitric oxide in the cochlea and its increase following loud sound. *Hear Res* 2002; 164: 49-58.
36. Shi X, Dai AL, Nuttall AL. Altered expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the cochlea. *Hear Res* 2003; 177: 43-52.
37. Heinrich UR, Selivanova O, Feltens R i wsp. Endothelial nitric oxide synthase upregulation in the guinea pig organ of Corti after acute noise trauma. *Brain Res* 2005; 1047: 85-96.
38. Garrido JJ, Alonso MT, Lim F i wsp. Defining responsiveness of avian cochlear neurons to brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor by HSV-1 mediated gene transfer. *J Neurochem* 1998; 70: 2336-2346.
39. Staecker H, Gabaizadeh R, Federoff H i wsp. Brain-derived neurotrophic factor gene therapy prevents spiral ganglion degeneration after their cell loss. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 119: 7-13.
40. Dugan LL, Creedon DJ, Johnson EM Jr i wsp. Rapid suppression of free radical formation by nerve growth factor involves the mitogen-activated protein kinase pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 4086-4091.
41. Gloddek B, Lamm K, Arnold W. Pharmacological influence on inner ear endothelial cells in relation to the pathogenesis of sensorineural hearing loss. *Adv Otorhinolaryngol* 2002; 59:75-83.
42. Beurg M, Hafidi A, Skinner L i wsp. The mechanism of pneumolysin-induced cochlear hair cell death. *J Physiol* 2005; [Epub ahead of print].
43. Puel JL, Ruel J, Gervais-d'Aldin C i wsp. Excitotoxicity and repair of cochlear synapses after noise trauma induced hearing loss. *Neuroreport* 1998; 9: 2109-2114.
44. Pujol R, Puel JL. Excitotoxicity, synaptic repair, and functional recovery in the mammalian cochlea: A review of recent findings. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884: 249-254.
45. Yoshida N, Kristiansen A, Liberman MC. Heat stress and protection from permanent acoustic injury in mice. *J Neurosci* 1999; 19: 10116-10124.
46. Yang M, Zheng J, Yang Q i wsp. Frequency-specific association of antibodies against heat shock proteins 60 and 70 with noise-induced hearing loss in Chinese workers. *Cell Stress Chaperones* 2004; 9(2): 207-213.
47. Hu BH, Henderson D. Changes in F-actin labeling in the outer hair cell and the Deiters cell in the chinchilla cochlea following noise exposure. *Hear Res* 1997; 110(1-2): 209-218.
48. Hu B, Henderson D, Nicotera T. F-actin cleavage in apoptotic outer hair cells in chinchilla cochleas exposed to intense noise. *Hear Res* 2002; 172(1-2): 1-9.
49. Schneider ME, Belyantseva IA, Azevedo RB i wsp. Rapid renewal of auditory hair bundles. *Nature* 2002; 418(6900): 837-838.
50. Chen G, Liu Y. Mechanisms of noise-induced hearing loss potentiation by hypoxia. *Hear Res* 2005; 200: 1-9
51. Borg E. Perinatal asphyxia, hypoxia, ischemia and hearing loss. An overview. *Scand Audiol* 1997; 26: 77-91.
52. Kaga K, Suzuki M, Koyama S. Neonatal asphyxia and hyperbilirubinemia, *JOHNS* 2000; 16: 1695-1699.
53. Picciotti P, Torsello A, Wolf FI i wsp. Age-dependent modifications of expression level of VEGF and its receptors in the inner ear. *Exp Gerontol* 2004; 39(8): 1253-1258.
54. Satar B, Ozkaptan Y, Seluck S i wsp. Ultrastructural effects of hypercholesterolemia in the cochlea. *Otol Neurotol* 2001; 22: 786-789.
55. Hulcrantz E, Linder J, Angelborg C. Sympathetic effects on cochlear blood flow at different blood pressure levels. *INSERM* 1977; 68: 71-78.
56. Maas B. Autonomic nervous system and hearing. *Adv Otorhinolaryngol* 1981; 27: 14-25.
57. Pirroda A, Ferri GG, Montana T i wsp. Hypotension as an isolated factor may not be sufficient to provoke hearing impairment. *J Laryngol Otol* 2004; 118: 941-945.
58. Ruben RJ. Development of the inner ear of the mouse: a radioautographic study of terminal mitosis. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1967; 220:1-44.