

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Ušní maz

Veronika Buřičová

Bakalářská práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Veronika Buřičová**
Osobní číslo: **C17147**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Ušní maz**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literárními údaji o ušním mazu u člověka. Prostudujte literární údaje o významu ušního mazu a o vztahu ušního mazu s mastnými kyselinami.
2. Popište dostupnou vyšetřovací a diagnostickou metodiku pro stanovení mastných kyselin v ušním mazu.
3. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvodte závěry o využití ušního mazu pro predikci onemocnění.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Martina Špryncová**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlášení

Prohlašuji: Práci s názvem Ušní maz jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 12. 7. 2021

Veronika Buřičová

Poděkování

Ráda bych poděkovala paní Ing. Martině Špryncové za vedení a připomínky této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, příteli a blízkým přátelům za podporu a trpělivost během mého studia.

Anotace

Bakalářská práce je rozdělena do několika hlavních kapitol. První kapitola popisuje vnější, střední a vnitřní ucho. Další kapitola se zabývá mastnými kyselinami a metodami vhodnými pro hodnocení složení ušního mazu. Práce navazuje na informace o samotném ušním mazu – zejména o jeho produkci, fenotypech, funkcích, mikrobiologii a složení ušního mazu. Závěrem rešerše je zmínka o patologii, kterou způsobuje nadměrné nebo nedostatečné množství ušního mazu.

Annotation

The bachelor thesis is divided into several chapters. The first chapter describes the outer ear, the middle ear and the inner ear. The next chapter deals with fatty acids and the methods suitable for evaluating the composition of ear wax. The thesis continues with the information about ear wax itself – especially its production, phenotypes, functions, microbiology and the ear wax composition. Finally, there is a mention of the pathology that is caused by excessive or insufficient amounts of ear wax.

Title

Earwax

Klíčová slova

Ucho, mastné kyseliny, ušní maz, *cerumen*, TLC

Keywords

Ear, fatty acids, earwax, *cerumen*, TLC

Obsah

0	Úvod.....	10
1	Ucho.....	11
1.1	Vnější ucho	11
1.1.1	Ušní boltec	12
1.1.2	Zevní zvukovod.....	12
1.1.3	Bubínek	14
1.2	Střední ucho	15
1.3	Vnitřní ucho	16
2	Mastné kyseliny	18
2.1	Mastné kyseliny jako součást lipidů	18
2.2	Nasycené mastné kyseliny	19
2.3	Nenasycené mastné kyseliny.....	21
2.3.1	Mononenasycené.....	22
2.3.2	Polynenasycené.....	23
3	Chromatografie	24
3.1	Tenkvrstvá chromatografie	24
3.2	Plynová chromatografie	25
3.2.1	Plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie	27
4	Ušní maz	29
4.1	Produkce ušního mazu	29
4.2	Fenotypy ušního mazu	30
4.3	Funkce ušního mazu.....	32
4.4	Mikrobiologie ušního mazu	32
4.5	Složení ušního mazu	35
4.6	Patologie způsobené ušním mazem	39
5	Závěr	42
6	Literatura.....	43

Seznam obrázků

Obrázek 1 – Anatomie vnějšího ucha	11
Obrázek 2 – Schéma horizontálního řezu zevního zvukovodu.....	13
Obrázek 3 – Anatomie středního ucha.....	15
Obrázek 4 – Anatomie vnitřního ucha	16
Obrázek 5 – Ukázka strukturního vzorce pro kyselinu α -linolenovou a arachidonovou	18
Obrázek 6 – Vzorec kyseliny palmitové.....	21
Obrázek 7 – Vzorec kyseliny stearové	21
Obrázek 8 – Popis tenkovrstvé chromatografie	25
Obrázek 9 – Schéma plynového chromatografu.....	27
Obrázek 10 – Suchý typ ušního mazu	30
Obrázek 11 – Vlhký typ ušního mazu	31

Seznam tabulek

Tabulka 1 – Přehled nasycených mastných kyselin s počtem uhlíků	20
Tabulka 2 – Přehled nenasyčených mastných kyselin se vzorcem.....	22
Tabulka 3 – Výsledky vykultivovaných kmenů v ušním mazu a zevním zvukovodu	33
Tabulka 4 – Hodnoty lipidů v séru naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie.....	36
Tabulka 5 – Hodnoty lipidů v ušním mazu naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie	36
Tabulka 6 – Hodnoty složek lipidů závislých na pohlaví a věku naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie	38
Tabulka 7 – Hodnoty složek lipidů závislých na menstruačním cyklu naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie	38

Seznam zkratek

ALA	kyselina α -linolenová
CC	sloupcová chromatografie
EFA	esenciální mastné kyseliny
FA	mastné kyseliny
GC	plynová chromatografie
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě
HPLC	kapalinová chromatografie
LA	kyselina linolová
LCFA	mastné kyseliny s dlouhým uhlíkovým řetězcem
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
MCFA	mastné kyseliny se středním uhlíkovým řetězcem
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
PCR	polymerázová řetězová reakce
PTA	audiometrie s čistým tónem
PTLC	přípravná tenkovrstvá chromatografie
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
SCFA	mastné kyseliny s krátkým uhlíkovým řetězcem
TLC	tenkovrstvá chromatografie
VLCFA	mastné kyseliny s velmi dlouhým uhlíkovým řetězcem

1 Úvod

Ucho je sluchový orgán savců. Slouží k vnímání jednoho z 5 základních smyslů – tedy sluchu. Má ochranou a samočisticí vlastnost, díky které se nečistoty vylučují směrem ven. Může trpět různými chorobami, např. častými záněty středního ucha, především u dětí. V zevním zvukovodu se odehrává celá řada fyziologických a patofyziologických stavů. Zvukovod obsahuje mazové žlázy, které produkují ušní maz, také nazývaný latinským názvem *cerumen*. Ušní maz zdravého jedince je přirozenou součástí lidského života, avšak může způsobovat problémy z nedostatku či nadbytku.

Cílem této bakalářské práce je poskytnout obecné informace o ušním mazu, zaměřeni se na jeho složení a také onemocnění, které by mohlo způsobit.

V první kapitole je obecně popsáno ucho. Vnější ucho se zabývá anatomii ušního boltce, zevního zvukovodu a bubínku. Dále se tato kapitola obecně věnuje anatomii středního a vnitřního ucha.

Druhá kapitola se zabývá mastnými kyselinami. V úvodu této kapitoly se zmiňuje zařazení do lipidů. Dále je vyjádřeno rozdělení mastných kyselin na nasycené a nenasycené. Nenasycené mastné kyseliny se dále rozdělují na mononenasycené a polynenasycené.

Ve třetí kapitole jsou uváděny metody jako je tenkovrstvá chromatografie a plynová chromatografie, které se využívají pro separaci látek. Tenkovrstvá chromatografie se používá především pro kvalitativní analýzu ušního mazu, plynová jak pro kvalitativní, tak i kvantitativní. Následně je zmíněno spojení techniky plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

Největší část zaujímá poslední kapitola, která se věnuje samotnému ušnímu mazu. Na začátku se zabývá vyprodukovanému množstvím a fenotypem, který se rozlišuje na suchý a vlhký typ. Dále je popsána funkce, kterou má ušní maz. Následně se věnuje množení mikroorganismů v zevním zvukovodu a ušním mazu. Především se tato kapitola zabývá složením a nakonec patologií, kterou může ušní maz způsobit.

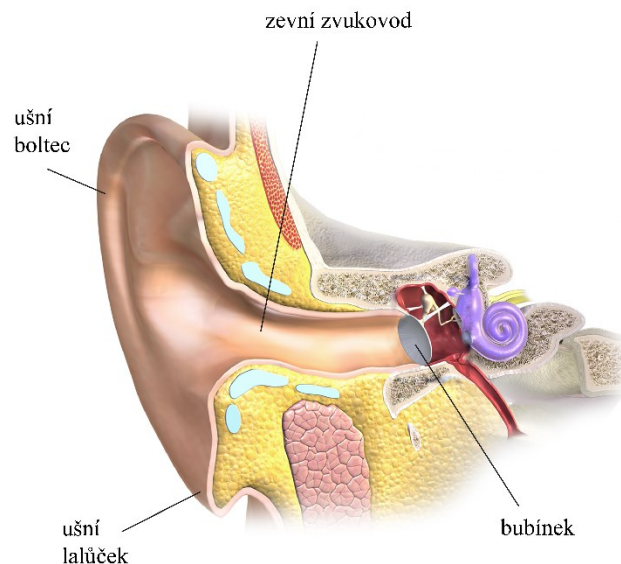
2 Ucho

Ucho je sluchový párový orgán, jedná se o sluchové a rovnovážné ústrojí neboli analyzátor. Analyzátor je tvořen ze dvou částí, a to části periferní a centrální. Periferní část se skládá z ucha vnějšího, středního a vnitřního, též se do téhle části řadí i sluchově rovnovážný nerv. Druhá část, jež je nazývána částí centrální, obsahuje sluchovou a rovnovážnou dráhu s náležitými centry. [1] Rovnovážný percepční systém přímo ve vnitřním uchu akceptuje gravitační a pohybové podněty. Funkce sluchového orgánu jsou: zachycování zvuků, jejich úprava, převod a úsek s vlastním orgánem pro přijímání podnětů. [2]

Ucho je nejcitlivější z mechanoreceptorů, reaguje na tlak způsobený menšími částicemi prostředí. Hodnota energie se registruje okolo $5 \cdot 10^{-23}$ J. Zvukové vlny jsou lidským uchem zachyceny ve frekvenci 16–20 000 Hz, nejvíce citlivé pro tóny v okruhu asi 1 000–3 000 Hz, tedy pro slovo mluvené. [3] Od 40 do 60 dB bývá hlasitost zvuků příjemná, od 100 dB nepříjemná, nad 120 dB provází bolest [1]. Lidské ucho rozeznává zhruba 400 000 různých druhů zvuků [3].

2.1 Vnější ucho

Vnější ucho (*auris externa*) se skládá z ušního boltce (*auricula*), zevního zvukovodu (*meatus acusticus externus*) a jeho zakončením je bubínek (*membrana tympani*) [2]. Popis vnějšího ucha ukazuje obrázek 1.



Obrázek 1 – Anatomie vnějšího ucha; upraveno a převzato: [4]

2.1.1 Ušní boltec

Funkcí ušního boltce je zaregistrování zvuku (akustické energie) [5]. Boltec se nachází mezi kloubem čelisti a mastoideálním výstupkem podél hlavy [6]. Má plochý tvar s charakteristickými vyvýšenými a vkleslými částmi. V úhlu 20–40° je připojený ze strany k hlavě. Tvar boltce včetně jeho reliéfu bývá proměnlivý. Boltec se charakterizuje několika rysy – *helix*, *antihelix*, *auriculae*, *tragus*, *antitragus*, *incisura intertragica*, *lobulus auriculae*. Vnější zavínutý okraj boltce nese označení *helix*. *Antihelix* je val rozprostírající se podél *helixu*. V horní části se *antihelix* rozděluje na dvě ramena. Prostor mezi rameny má výplň zvanou vkleslina. Tou vchází boltec do vnějšího zvukovodu. Před začátkem vnějšího zvukovodu se nachází *tragus* (plochý hrbolek), který uzavírá konchu z přední strany. Zezadu konchu lemují *antitragus* (malý hrbolek). Oba hrbolky jsou od sebe odděleny zářezem. Latinským názvem *lobulus auriculae* se rozumí ušní lalůček vyplněný vazivem. Tvar lalůčku bývá individuální, co se týče velikosti srůstu s okolím. [2]

Tvar boltce se podmiňuje chrupavkou [2,5], pokrytou tenkou kůží. Na přední straně je kůže boltce pevně přirostlá, na zadní straně pohyblivá. [6] Oproti boltci je chrupavka zakončena nad lalůčkem ucha. Na chrupavce se nachází hrbolek, okem neviditelný, na pohmat však citelný. Mezi ní a kůží jsou svaly boltce, dělené na vnější a vlastní. [2]

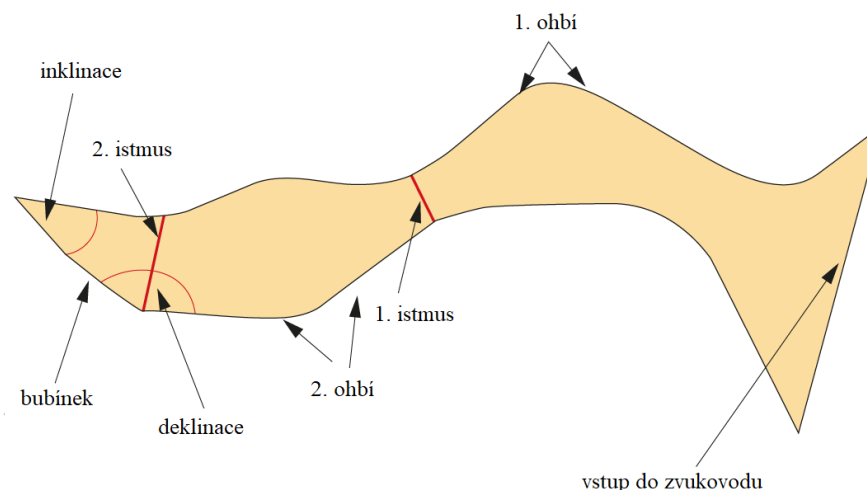
2.1.2 Zevní zvukovod

Zevní zvukovod se vyznačuje nepravidelnou trubicí začínající *cavum conchae*, která pokračuje ke středoušní dutině. Mezi středoušní dutinou a zvukovodem je bubínek. Zvukovod má vnější a vnitřní část. Podklad vnější části tvoří chrupavka zvukovodu. Vnitřní úsek obsahuje kostěnou část, jejímž základem je *pars tympanicum* kosti spánkové. [2] Chrupavčitá a kostěná část společně vytváří tupý úhel, čímž se ochrání bubínek před přímým zraněním [6].

V horizontální úrovni se vyvíjí zvukovod do esovitého tvaru. U dospělé osoby je délka přední stěny zvukovodu v průměru 27,7 mm (pohybuje se od 20 do 34,8 mm), ta se měří na čelní straně stěny zvukovodu od vnějšího lemu *tragu* směrem k *anulus tympanicus*. Zadní stěna, měřená od krajní strany *cavum conchae* směrem k *anulus tympanicus*, je dlouhá v průměru 25 mm (pohybuje se od 17 do 32 mm). [7]

Zevní zvukovod je sestaven ze dvou ohbí a dvou fyziologických zúžení. Na hranici chrupavčité a kostěné části se nalézá první zúžení (*istmus meatus acustici externi*). Jeho delší osa má v průměru 8,2 mm, ta kratší 5,7 mm. Druhý *istmus* je podmíněn předklenutím čelní strany zvukovodu přestupující na pretympánický reces (ohraničený prostor). Obě zúžení mají významnou roli při zachycení cizího tělesa případně *cerumina*. Akustické vlastnosti zvukovodu

jsou zejména způsobeny druhým zúžením (při využití sluchadla). Ostrý úhel (inklinace) svírá přední stranu bubínku a přední část zvukovodu. Opačně je to u zadních částí, které svírá tupý úhel (deklinace). [7] Obě zúžení a ohbí znázorňuje obrázek 2.



Obrázek 2 – Schéma horizontálního řezu zevního zvukovodu, převzato: [7]

Zvukovod bývá prokrven a inervován. Nervy mají senzitivní citlivost a směřují buď k bloudivému nervu, nebo jako *nervus auriculotemporalis* k *nervus mandibularis*, což se označuje jako větev nervu trojklaného. [2]

2.1.2.1 Histologie zevního zvukovodu

Celý zevní zvukovod je pokrytý kůží, které chybí podkožní stratum i papily. Kůže není pohyblivá, ale napevno přichycena k perichondriu a periostu. Touto stavbou se rozlišuje od kůže jiných částí těla. Kostěná a chrupavčitá část se také odlišuje histologickou strukturou, kdy v chrupavčité části je širší kůže (1–2 mm) oproti kostěné (0,1–0,2 mm). Na bubínku se nachází 5–10 vrstev buněk zrohovatělé pokožky, šířky asi 0,05 mm. Ve zvukovodu chrupavčité části jsou obsaženy kožní adnexa, naopak v kostěné se nenacházejí. Mezi kožní adnexa patří chloupky (*tragi*) s mazovými (sebaceózními) žlázkami a sekreční (modifikovaná apokrinní, ceruminózní) žláza [7]

V zevním zvukovodu se nachází přibližně 1–2 tisíce sekrečních žlázek. Jde o tubulární žlázy, které vchází do blízkosti váčku vlasu, na povrchu kůže bývají velmi málo. Ve stěně žlázy se nalézají sekreční a myoepiteliální vrstva buňky. Vnitřní vrstva stěny obsahuje buňky, které jsou válcovitého tvaru. Uvnitř cytoplazmy se nacházejí sekreční organely. Sekreční buňky eliminují svoji náplň do *lumen* ekrinním typem sekrece. Plná sekreční organela se stane součástí buňky a její sekret je uvolněn na povrch. Vnější vrstvu tvoří myoepiteliální buňky protáhlého

tvaru a zahrnují v hojném zastoupení myofilamenta. Buňky se stahují, tím se tubuly stlačují a dochází k vypuzení sekretu ze žlázy. [7]

Tragi se vyskytují především u mužů a poté hlavně u starších osob. Jsou považovány za jeden z pohlavních sekundárních znaků. Směrem ke vstupu do zvukovodu se počet chloupků zvyšuje. Volná část chloupků vystupuje ven a na začátku vchodu se vzájemně prolínají. Vytvoří se uspořádání, které znesnadňuje vniknutí nečistot a tělesa do *lumina* zvukovodu. Mazové žlázy jsou vakovitého tvaru, obsahující vícečetné lalůčky, pronikající stejným místem do váčku chloupku. Na rozdíl od modifikovaných apokrinních žlázek se tyto sebaceózní žlázy nacházejí více na povrchu. [7]

2.1.2.2 Fyziologie a mikrobiologie zevního zvukovodu

Zevní zvukovod se účastní vedení procházejícího zvuku, který pokračuje k membráně bubínku. Je to funkce sluchová. Zvukovod také brání, aby vytvořené infekce a další nežádoucí vlivy z cizího prostředí, přecházely do středního a vnitřního ucha. Spolu s boltcem vytvářejí funkci zvukové antény, která převádí na membránu bubínku vlny zvuku. Další úlohou je schopnost samočištění, která s pomocí pohybového přenosu vnějších vrstev epitelu usnadňuje zachovávat jeho *lumen* prázdné. Dále zvukovod ochraňuje bubínek a stěny před infekcí a zánětem pomocí ušního mazu a před úrazem a vstupem cizích těles s podporou chloupků. [7]

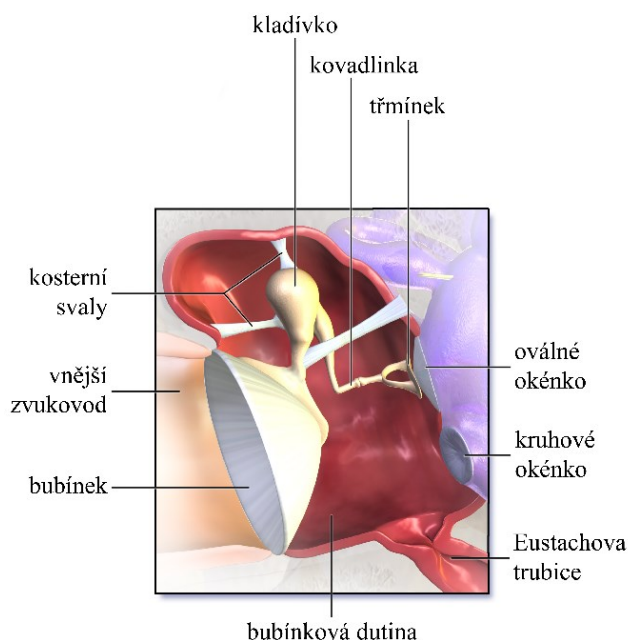
V oboru mikrobiologie pomocí kultivace lze zjistit u zdravých osob mnoho mikroorganismů. Nejvíce jsou vykultivovány koaguláza negativní stafylokoky, dále *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Candida albicans*. Tyto mikroby se většinou vyskytují u vnějšího zánětu (externí otitida). Jelikož byly nalezeny i u zdravých jedinců, tak se o nich nemluví jako o patogenech, ale jako o potenciálních patogenech. [7]

2.1.3 Bubínek

Bubínek je tenká membrána s růžově šedavějším zabarvením, oddělující zevní zvukovod od středoušní dutiny. Má mělký nálevkovitý tvar. Bubínek se skládá z vrstev kožního vrstevnatého dlaždicového epitelu na vnější ploše bubínku a slizničního povrchu středoušní plochy bubínku pokrytou jednovrstevným epitelem. Mezi těmito vrstvami se nalézá vrstva vaziva, která obsahuje vnější vrstvu s paprscitě uspořádanými vazivovými vlákny, a vnitřní vrstva soustředně probíhajících vazivových vláken. [2]

2.2 Střední ucho

Střední ucho (*auris media*) se skládá ze středoušní dutiny (*cavitas tympanica*), ve které se nacházejí tři sluchové kůstky (*ossicula auditus*), z nichž vede sluchová trubice (*tuba auditiva*) směrem k nosohltanu [2]. Popis středního ucha ukazuje obrázek 3.



Obrázek 3 – Anatomie středního ucha; upraveno a převzato: [4]

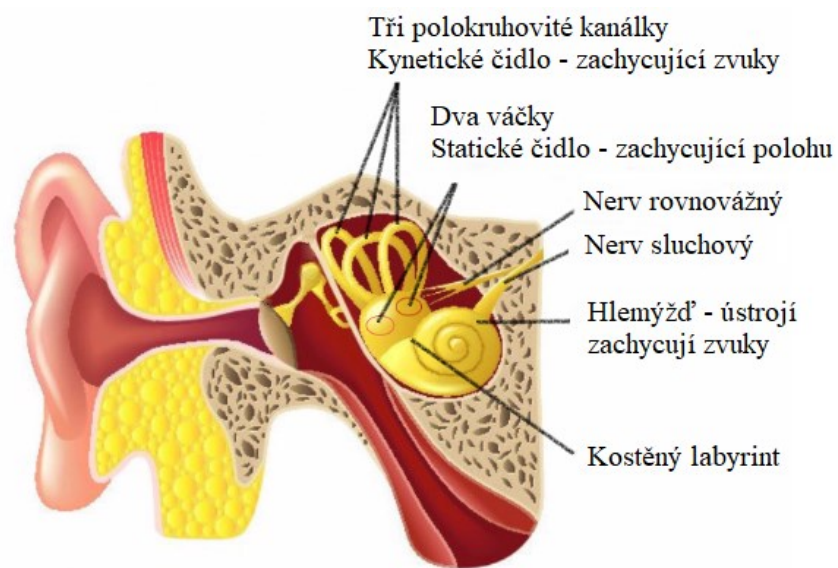
Střední ucho je systém vzduchem vyplněných dutin, vystlaných sliznicí a začíná bubínkem [6]. Vyrovnávání atmosférického tlaku, který je v nosohltanu, a tlaku ve středoušní dutině zajišťuje sluchová trubice (Eustachova trubice) [2]. Eustachova trubice je z jedné třetiny tvořena kostěnou částí a ze dvou třetin chrupavkou. *Isthmus* se tvoří spojením kostěné a chrupavčité části, nejčastější prostor pro tubulární záněty. Mezi vnějším a vnitřním uchem se lokalizuje středoušní dutina, která má umístění ve skalní kosti. Bubínek se nachází v laterální stěně středouší. Středoušní dutina bývá vyplněná řasinkovým epitelem, s ojedinělým zastoupením submukózních žlázek a pohárkových buněk. Pohárkové buňky a žlázy se hromadí při chronickém podtlaku ve středouší, dochází pak k edému, transsudaci a exsudaci. Chronická sekretorická otitida, která vede k převodnímu typu nedoslýchavosti, je způsobena dlouhodobým výskytem tekutiny ve středním uchu. Následně to může vést k trvalým anatomickým změnám. [6]

Středoušní dutina je nejprostornější ze středoušních prostor a obsahuje tři sluchové kůstky, kladívko, kovadlinku a třmínek. Tyto tři kůstky jsou spojené v pohyblivý řetězec, který po příchodu zvuku způsobuje chvění bubínku a přenáší ho do perilymfatického prostoru,

labyrintu vnitřního ucha a na jeho náplň – perilymfu. Kladívko (*malleus*) se skládá ze zaoblené hlavice, krátkého krčku a zužující části rukojeti, která je srostlá s bubínkem. Kovadlinka (*incus*) se nachází mezi kladívkem a třmínkem. Tělo kovadlinky má sedlovitou kloubní plochu pro spojení s hlavicí kladívka. Kulovitá hlavice třmínku (*stapes*) je spojena s raménkem kovadlinky. [2]

2.3 Vnitřní ucho

Po vnějším a středním uchu pokračuje ucho vnitřní (*auris interna*). Popis vnitřního ucha zobrazuje obrázek 4.



Obrázek 4 – Anatomie vnitřního ucha; upraveno a převzato: [8]

Vnitřní ucho se nachází v kosti skalní. Obsahuje kanálky a kostěné dutiny, latinsky zvané *labyrinthus osseus* neboli kostěný labyrint, jehož stěny jsou vytvořeny z vláknité kosti. [2] Blanitý labyrint se nalézá uvnitř kostěného. Dutiny mezi kostěným pouzdem a blanitým labyrintem mají prostory vyplněné *perilymfou*. Uvnitř uzavřených dutin blanitého labyrintu je obsah zvaný *endolymfa*. Ve spoji subarachnoideálního a perilymfatického prostoru dochází lehce k prostupu infekce oběma směry. [1]

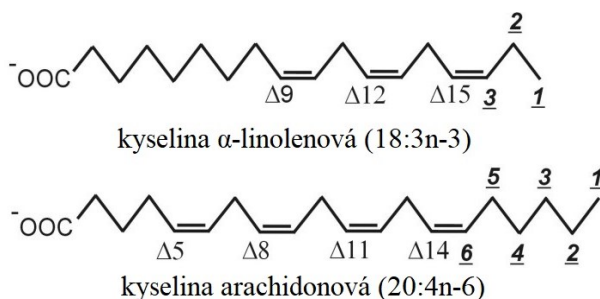
Labyrinthus osseus má hlavní tři části: *vestibulum*, tři polokruhové kanálky a hlemýžď (*cochlea*). *Vestibulum* se podobá vejčitému tvaru, v němž je uložen jeden elipsovitý váček *utricleus* a jeden kulový váček *sacculus*. Na vestibulu jsou připojené tři polokruhové kanálky, které vycházejí z vestibula a zase do něj zpátky vcházejí. [2] *Cochlea* má dva a půl závitů a obdobný tvar jako ulita plže. [5]

Vlastní sluchový orgán – vláskové buňky se nalézají na basální membráně [1]. Mají vcelku sjednocenou stavbu, kde na vršku vyčnívají kutikuly a z nich vystupují stereocilie [6]. Tyto smyslové buňky spolu s koncem sluchového nervu představují Cortiho orgán (*organum spirale*) [5]. Cortiho orgán zajišťuje převedení vln zvuků na nervové vzruchy. Obsahuje asi 20 000 vláskových buněk ze 3–4 vnějších řad (zesilovači zvuku) a asi 4 000 z jedné vnitřní řady (vlastní receptor). [1] Vnější řada obsahuje eferentní neurony, na rozdíl od vnitřní, která má většinou aferentní neurony [6].

3 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (FA – z anglického názvu fatty acids) jsou důležitou složkou lipidů a společně s bílkovinami a sacharidy tvoří základní stavební kameny živé hmoty [9]. Nachází se v rostlinách, zvířatech a mikroorganismech. Mastná kyselina se zpravidla skládá z přímého řetězce o sudém počtu atomů uhlíku. Na jednom konci řetězce jsou po celé délce atomy vodíku a na druhém konci řetězce karboxylová skupina (COOH). Právě tato karboxylová skupina z ní dělá kyselinu (karboxylovou kyselinu). Jsou-li všechny vazby uhlík-uhlík jednoduché, kyselina se označuje jako nasycená. Má-li být některá z vazeb dvojná nebo trojná, tak je kyselina nenasyčená a bývá reaktivnější. [10] Mastné kyseliny se tedy dělí na nasycené a nenasyčené [10,11]. Několik mastných kyselin má rozvětvené řetězce, jiné obsahují struktury kruhů (např. prostaglandiny). Běžně se objevují v kombinaci s glycerolem (alkoholem) ve formě triglyceridů. [10] Také existují esenciální mastné kyseliny, které tělo nemůže vyrobit. Mezi esenciální mastné kyseliny patří kyselina linoleová a kyselina α -linolenová, potřebné pro normální růst a vývoj. [11]

FA se mnohdy vyjadřují vzorcem CN:pn-x. CN představuje uhlíkové číslo, které značí celkové množství uhlíkových atomů. Pro písmeno p je určeno počet dvojných vazeb a poloze 1. dvojných vazeb od methylové skupiny (n) patří písmeno x. [9] Ukázku strukturních vzorců znázorňuje obrázek 5.



Obrázek 5 – Ukázka strukturního vzorce pro kyselinu α -linolenovou a arachidonovou; upraveno a převzato: [9]

3.1 Mastné kyseliny jako součást lipidů

Lipidy mají jedinečné strukturní a biologické vlastnosti [12]. Je to třída živin složená primárně z atomů uhlíku, vodíku a kyslíku [11]. Zahrnují ketolátky, mastné kyseliny, triacylglyceroly, fosfolipidy, sfingolipidy, eikosanoidy, cholesterol, žlučové soli, steroidní hormony a vitamíny rozpustné v tucích [13]. Fungují jako zásobník energie a tvoří hlavní složku biologických membrán (plazmatické membrány, membrány intracelulárních organel a lipidových transportérů) [12]. Hrají významnou roli při vlastním trávení (žlučové soli)

a účastní se řady signálních a regulačních procesů (steroidní hormony a eikosanoidy). Složky buněčných membrán vytváří převážně cholesterol a fosfolipidy. Mezi hlavní zdroje energie patří mastné kyseliny, triacylglyceroly a ketolátky. [13] Lipidy přenášejí vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E a K) v celém těle a mají funkčně důležitou roli při přípravě značného množství potravinářských výrobků. Tuky a oleje se přirozeně nacházejí v mnoha potravinách (mléčné výrobky, maso, ryby a ořechy). [11] Lipidy jako bioaktivní molekuly mají význam v imunitním systému těla, které působí proti virovým a bakteriálním infekcím [12].

Mastné kyseliny tvoří základní chemickou strukturu lipidů. 100 mg tuku nebo oleje poskytne přibližně 95 mg mastných kyselin. Fyzikální i chemické vlastnosti tuků a olejů bývají do značné míry ovlivněny typy a podíly složek FA a způsobem jejich umístění na molekule glycerolu. [11]

3.2 Nasycené mastné kyseliny

Z chemického hlediska obsahují nasycené mastné kyseliny v alifatickém řetězci pouze jednoduché vazby uhlíku a všechny ostatní dostupné vazby jsou převzaty atomy vodíku. Jsou chemicky nejméně reaktivní. Bod tání se zvyšuje s délkou řetězce. Např. kyselina kaprinová a nasycené mastné kyseliny s delším řetězcem jsou při pokojové teplotě tuhé. Nasycené FA mají důležitou roli jako zdroje energie a složky, které tvoří buněčné membrány. Nejsou „nezbytné“, protože lidské tělo dokáže syntetizovat vlastní nasycené FA. Při nadměrné konzumaci nasycených FA bývá zvýšená celková hladina cholesterolu v séru. [11]

Nasycené mastné kyseliny se nacházejí převážně v másle, margarínu, kokosových a palmových olejích, stejně jako v potravinách živočišného původu. FA obsahující 4 až 14 atomů uhlíku se vyskytují v mléčném tuku a v některých rostlinných olejích. Například tuk z kravského mléka obsahuje kyselinu máselnou na úrovni přibližně 4 %. V aditivách jsou v malých množstvích přítomny také FA obsahující 6 až 12 atomů uhlíku. [11]

Podle délky uhlíkového řetězce se dělí nasycené mastné kyseliny na SCFA (s krátkým řetězcem), MCFA (se středním řetězcem), LCFA (s dlouhým řetězcem) a VLCFA (s velmi dlouhým řetězcem). Kyselina octová, propionová a máselná patří mezi SCFA. Tyto kyseliny se tvoří v tlustém střevě v proximální části za průběhu fermentace vlákniny a jsou rychle vstřebávány. Kyselina octová a zčásti i propionová se resorbují portální cirkulací, následně transportují do jater, kde se metabolizují na mastné kyseliny (octová) a glukózu (propionová). SCFA podporují ve střevě vstřebávání vody, sodíku a chloridů; podporují množení a obnovu buněk; podporují tvorbu gastrointestinálních hormonů (gastrin); snižují kyselost obsahu tlustého střeva, a díky tomu zabraňují růstu saprofytických bakterií a hnilobnému rozkladu.

Mezi MFCA patří kyselina kapronová, kaprylová a kaprinová, které se přímo resorbují a transportují portální žílou. Triglyceridy s MCFA jako tukové emulze jsou používány z důvodu kratšího biologického poločasu jako nutriční podpora a využity při léčbě obezity. Skupině LCFA náleží kyselina laurová, myristová, palmitová a stearová. Tyto kyseliny mají významný trombogenní a aterogenní potenciál. Při pravidelném příjmu LCFA se zvyšuje převážně hladina cholesterolu v lipoproteinu o nízké hustotě (LDL), což je dáno do souvislosti se zvýšeným úmrtím na ischemickou chorobu srdeční. Antiaterogenní účinek má kyselina stearová, která zvyšuje koncentraci HDL cholesterolu a neutrálně působí na koncentraci LDL cholesterolu. Zároveň tato kyselina má nejvyšší trombogenní účinek. Ve skupině VLCFA je kyselina arachová, behenová, lignocerová, cerotová, montanová a melisová. Tyto kyseliny mají měřitelnou hodnotu v krevním séru u vrozených metabolických poruch (např. Zellwegerův syndrom). [9] Jednotlivé vybrané nasycené FA jsou podle počtu uhlíků vypsány v tabulce 1.

Tabulka 1: Přehled nasycených mastných kyselin s počtem uhlíků; převzato a upraveno: [14]

Zkratka	Název skupiny	Počet uhlíků	Název mastné kyseliny
SCFA	S krátkým řetězcem	C2	Octová
		C3	Propionová
		C4	Máselná
MCFA	Se středním řetězcem	C8	Kaprylová
		C10	Kaprinová
		C12	Laurová
LCFA	S dlouhým řetězcem	C14	Myristová
		C16	Palmitová
		C18	Stearová
VLCFA	S velmi dlouhým řetězcem	C20	Arachová
		C22	Behenová
		C24	Lignocerová
		C26	Cerotová
		C28	Montanová
		C30	Melisová

Kyselina palmitová patří mezi nejrozšířenější nasycené mastné kyseliny. Nachází se téměř ve všech rostlinných olejích, stejně jako v rybích olejích a tělesném tuku suchozemských živočichů. Palmový olej, sádlo a lůj bývají běžnými zdroji kyseliny palmitové. Kyselina stearová je v porovnání s palmitovou méně častá. Jedná se však o hlavní složku kakaového másla. Tato mastná kyselina může vzniknout hydrogenací mastných kyselin s 18

uhlíkovými atomovými řetězci (olejová, linolová a linoleová kyselina). [11] Strukturální vzorec kyseliny palmitové ukazuje obrázek 6.



Obrázek 6 – Vzorec kyseliny palmitové; upraveno a převzato: [9]

Kyselina stearová, nazývaná oktadekanová kyselina, jedna z nejběžnějších mastných kyselin s dlouhým řetězcem. Nachází se v kombinované formě v přírodních živočišných a rostlinných tucích. Komerční „kyselina stearová“ je směs přibližně stejného množství kyseliny stearové a kyseliny palmitové a malého množství kyseliny olejové. Využívá se při výrobě svíček, kosmetiky, holicích mýdel, maziv a léčiv. V přírodě se kyselina stearová vyskytuje především jako směs triglyceridů neboli tuků s jinými kyselinami s dlouhým řetězcem a jako ester mastného alkoholu. Bývá mnohem hojnější v živočišném tuku než v rostlinném. Z alkalické hydrolyzy nebo saponifikace tuků vznikají mýdla, což jsou sodné nebo draselné soli mastných kyselin. Čistá kyselina stearová se z této směsi získává obtížně krystalizací, vakuovou destilací nebo chromatografií kyselin nebo vhodných derivátů. Bývá to bezbarvá, voskovitá pevná látka a téměř nerozpustná ve vodě. [15] Strukturální vzorec kyseliny stearové zobrazuje obrázek 7.



Obrázek 7 – Vzorec kyseliny stearové; upraveno a převzato: [9]

3.3 Nenasycené mastné kyseliny

Mastné kyseliny obsahující jednu nebo více dvojných vazeb uhlík-uhlík se nazývají „nenasycené“ [11]. Vzhledem ke sníženému nasycení vodíkovými vazbami jsou struktury slabší, a proto jsou obvykle kapalné (olej) při pokojové teplotě. Nenasycené tuky se vyskytují spíše v zelenině než v rybách. Jsou důležitým zdrojem kalorií, a tudíž i energie do lidského těla. Existují dva hlavní druhy nenasycených tuků: mononenasycené (MUFA – z anglického názvu monounsaturated fatty acids) a polynenasycené (PUFA – anglickým názvem polyunsaturated fatty acids). [16] V tabulce 2 jsou podle vzorce přehledně vypsány MUFA a PUFA, které budou podrobně zmíněny v dalších dvou podkapitolách.

Tabulka 2: Přehled nenasyčených mastných kyselin se vzorcem; převzato a upraveno: [14]

Zkratka	Název skupiny	Vzorec	Název mastné kyseliny
MUFA	Mononenasyčené mastné kyseliny	18:1 n-9	Olejová
		18:1 n-9 t	Elaidová
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny	18:2 n-6	Linolová
		18:3 n-6	γ -Linolenová
		18:3 n-3	α -Linolenová
		20:3 n-6	Dihomo- γ -linolenová
		20:4 n-6	Arachidonová
		20:5 n-3	Eikosapentaenová
		22:5 n-3	Dokosapentaenová
		22:6 n-3	Dokosahexaenová

3.3.1 Mononenasyčené

Pokud mastné kyseliny obsahují v alifatickém řetězci dvojnou vazbu uhlík-uhlík, nazývají se mononenasyčené. Obecně jsou tyto tuky tekuté při pokojové teplotě, ale začnou tuhnout při teplotě chladničky. MUFA jsou syntetizovány v lidském těle. [11] Jsou považovány za nejzdravější typy tuků, protože snižují celkový cholesterol, LDL cholesterol a triglyceridy (množství tuku v krvi). Dělí se podle umístění dvojně vazby. V *cis*-konfiguraci jsou hlavními zástupci kyselina olejová, vakcenová a palmitoolejová. Kyselina myristoolejová, gondoová, eruková a nervonová mají endogenní původ a jen minimální zastoupení. Naopak kyselina gadolová, eruková a cetolová jsou exogenního původu. [17] Příklady zdrojů MUFA: olivový, řepkový olej, avokádo, arašídý, ořechy a semena. [11]

Kyselina olejová je nejrozšířenější ze všech mastných kyselin. Do určité míry se zřejmě vyskytuje ve všech olejích a tucích. V olivovém, palmovém, arašídovém a slunečnicovém oleji se jedná o hlavní kyselinu získanou saponifikací. Tato kyselina, stejně jako ostatní mastné kyseliny, není ve volném stavu. Běžně se objevuje jako ester glycerolu (glycerid nebo jako ester alkoholu s dlouhým řetězcem). Kyselina olejová je pevná látka s nízkým bodem tání. Jsou známy dvě krystalické formy (α a β -forma). Jedná se o karboxylovou kyselinu s dlouhým řetězcem, její molekula obsahuje jednu dvojnou vazbu mezi C9 a C10 s *cis*-konfigurací. [18]

Mezi zástupce mastných kyselin s *trans*-konfigurací patří kyselina elaidová a *trans*-vakcenová. Mají vyšší aterogenní účinek než nasycené mastné kyseliny. Pro kyselinu elaidovou jsou převážně zdrojem pokrmové ztužené tuky a margarín. Mléčné výrobky a máslo obsahují kyselinu *trans*-vakcenovou. *Trans*-mononenasyčené FA mají přibližně dvakrát větší účinek pro snížení HDL cholesterolu, a naopak zvýšení LDL cholesterolu než nasycené FA. [17]

3.3.2 Polynenasycené

Primární PUFA obsahují dvě až šest dvojných vazeb, typicky v *cis*-konfiguraci, které jsou nekonjugované a oddělené od sebe methylenovými (CH₂) skupinami. V rostlinách počet dvojných vazeb v mastných kyselinách málokdy překročí tři, ačkoli řasy a živočišné (rybí) FA mohou obsahovat až šest dvojných vazeb. Tyto PUFA jsou obvykle kapalné při pokojové teplotě. [19] Endogenní skupinu n-9 organismus syntetizuje při defektu esenciálních PUFA [9]. Esenciální mastné kyseliny (EFA) předcházejí příznakům deficitu a nemohou být syntetizovány člověkem. Tyto FA mají velmi odlišné biochemické role [20]. Jsou velmi důležité pro zdravou pokožku a rozvoj tělních buněk [16]. PUFA většinou exogenního původu mohou být klasifikovány do dvou hlavních skupin označených jako n-3 a n-6. [9; 19] Mají značný antitrombotický i antiaterogenní účinek. Kyselina linolová (n-6) (LA) je mateřskou kyselinou a mezi její metabolické produkty patří γ -linolenová, dihomo- γ -linolenová a arachidonová kyselina. Menší zastoupení této skupiny mají adrenová a dokosapentaenová kyselina. Do skupiny n-3 patří mateřská kyselina α -linolenová (ALA). Její hlavní metabolické produkty se nazývají eikosapentaenová a dokosaheptaenová kyselina, v malém zastoupení potom kyselina dokosapentaenová. [9]

Mastné kyseliny n-3 a n-6 jsou přítomny ve většině rostlinných, živočišných a komoditních olejů a tuků [19]. Mezi převládající zdroje n-3 mastných kyselin patří rostlinné oleje a ryby. Rostlinné oleje jsou hlavním zdrojem ALA. Zejména ALA se nachází v chloroplastu zelené listové zeleniny (špenát), v semenech lnu, lněných semen, vlašských ořechů a dalších. V rybách se především vyskytuje kyselina eikosapentaenová a kyselina dokosaheptaenová. Skupina n-6 mastné kyseliny je obsažena hlavně v zelenině. Nejdůležitější ve skupině n-6, LA se nalézá ve velkém množství v kukuřičném, světlicovém, slunečnicovém a sójovém oleji. [20]

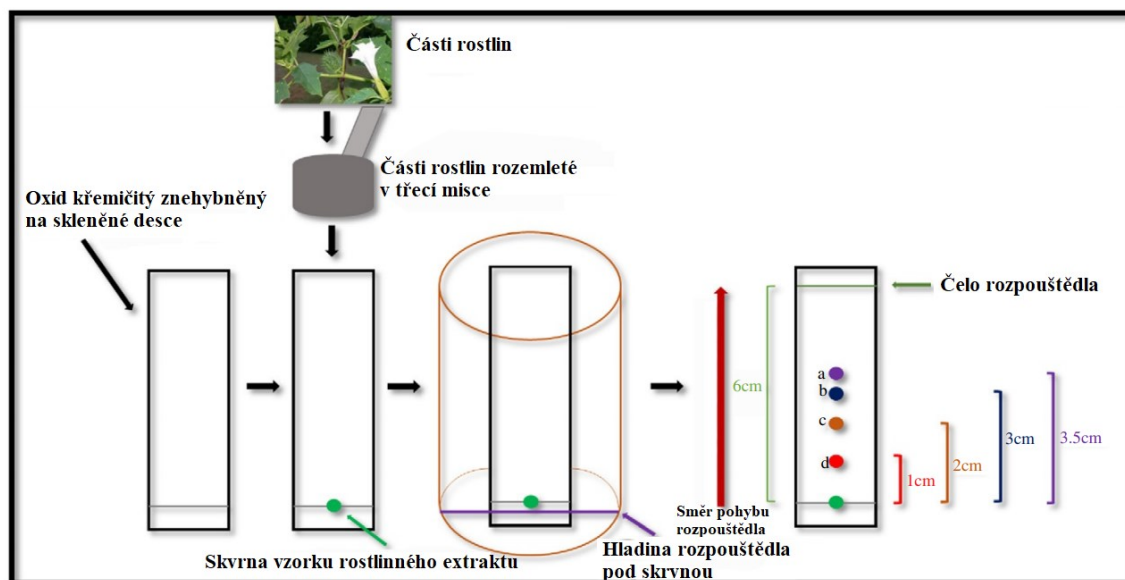
4 Chromatografie

Chromatografie je technika pro separaci složek nebo rozpuštěných látek. Směs na základě relativního množství každé rozpuštěné látky se rozděluje mezi mobilní fázi (pohyblivý proud tekutiny) a spojitou stacionární fázi. Mobilní fáze může být buď kapalná nebo plynná, zatímco stacionární fáze je buď pevná nebo kapalná. Chromatografie má řadu aplikací v biologických a chemických oblastech. Je široce používána v biochemickém výzkumu pro separaci a identifikaci chemických sloučenin biologického původu. V ropném průmyslu se tato technika používá k analýze složitých směsí uhlovodíků. [21] Následující podkapitoly se zabývají metodami, které se nejvíce využívaly na studie zabývající se složením ušního mazu jako tenkovrstvá chromatografie a plynová chromatografie.

4.1 Tenkovrstvá chromatografie

Tato technika, která se stala standardním analytickým nástrojem v potravinářských a farmaceutických laboratořích, je zvláště užitečná pro oddělení složek přirozeně se vyskytujících látek. Tyto přirozeně se vyskytující látky se nazývají lipidy a nacházejí se ve zvířecích a rostlinných tkáních. U vonných a těkavých složek rostlin a květin jsou to látky nesoucí název terpeny. [22] Tenkovrstvá chromatografie (TLC) je založena na principu separace. Komponenty se oddělují na základě relativní afinity sloučenin ke stacionární a mobilní fázi. Sloučeniny podléhají kapilárnímu působení, to znamená, že putují po povrchu stacionární fáze pod vlivem mobilní fáze. Sloučeniny s vyšší afinitou ke stacionární fázi cestují pomalu, zatímco ostatní cestují rychleji, což vede k oddělení složek ve směsi. Vzorek se nanese na start a poté se měří vzdálenost od startu až po čelo rozpouštědla. Jakmile se komponenty oddělí, tak mohou být jednotlivě vizualizovány jako skvrny na příslušné úrovni vzdálenosti, kterou urazily na desce. Mobilní fáze se skládá z rozpouštědla nebo směsi rozpouštědel. Použitá mobilní fáze by měla být bez částic, chemicky inertní se stacionární fází a s nejvyšší čistotou pro správný vývoj TLC skvrn. Pro tuto metodu se používají TLC desky a komory. Povrch desek bývá potažen tenkou vrstvou stacionární fáze, které jsou tepelně stabilní a chemicky inertní. Komora udržuje rovnoměrné prostředí uvnitř TLC desky pro správný vývoj skvrn a také zabraňuje odpařování rozpouštědel. Zároveň udržuje celý proces bez prachu. Pro kvantifikaci a statistickou analýzu se používá retenční faktor (R_f), který je definován jako poměr vzdálenosti vzlínavé jednotlivé složky k celkové vzdálenosti vzlínavého rozpouštědla. Komponenty s nižší hodnotou R_f se považují za polární (tj. méně rozpustné) a naopak. [23]

Podle obrázku 8 níže rozpouštědlo vzlínalo 6 cm, složka „a“ 3,5 cm, složka „b“ 3 cm, složka „c“ 2 cm a složka „d“ 1 cm. Po výpočtu všech R_f , které se spočítaly podle následujících vzorců: pro složku „a“ – $R_f = \frac{a}{\text{rozpouštědlo}}$, pro složku „b“ – $R_f = \frac{b}{\text{rozpouštědlo}}$, pro složku „c“ – $R_f = \frac{c}{\text{rozpouštědlo}}$ a pro složku „d“ – $R_f = \frac{d}{\text{rozpouštědlo}}$ bylo zjištěno, že nejvíce polární komponentou je „d“ a nejméně polární komponentou „a“. [23]



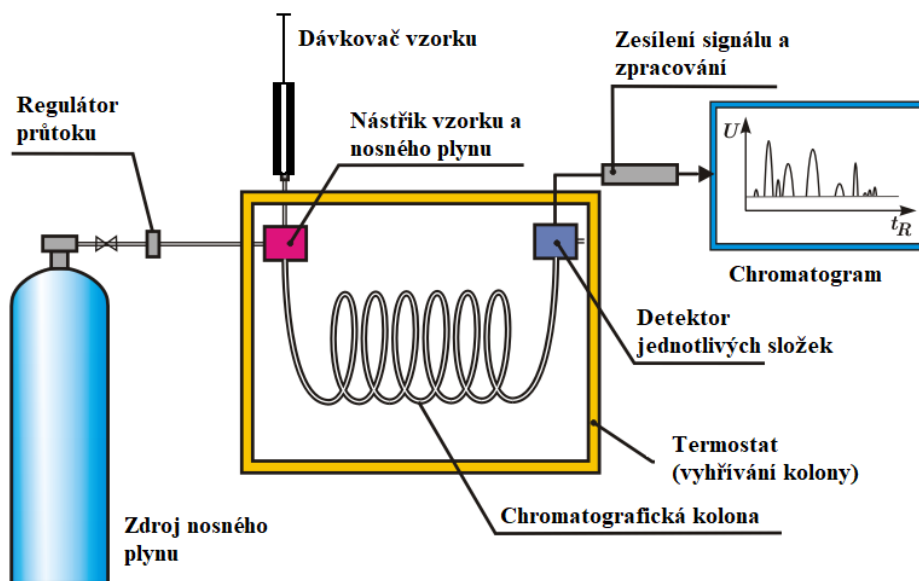
Obrázek 8 – Popis tenkovrstvé chromatografie; upraveno a převzato: [23]

4.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je pro svou jednoduchost, citlivost a účinnost při oddělování složek směsí jedním z nejdůležitějších nástrojů v chemii. Je široce používána pro kvantitativní a kvalitativní analýzu směsí a pro čištění sloučenin. GC se používá k automatickému monitorování průmyslových procesů, kdy proudy plynu jsou pravidelně analyzovány a k potlačení nežádoucích odchylek se provádějí manuální nebo automatické reakce. GC je také užitečná při analýze látek znečišťujících ovzduší, alkoholu v krvi, esenciálních olejů a potravinářských výrobků. [24] Plynová chromatografie se používá k oddělení plynů, par těkavých sloučenin nesených v plynové matici, kapalin a pevných látek. Vzorky pevných látek se obvykle rozpouští ve vhodném rozpouštědle a zachází se s nimi jako s kapalnými vzorky. Nerozpustné pevné látky lze analyzovat nepřímou separací produktů rozkladu generovaných řízenou pyrolýzou. Sloučeniny v plynné fázi se často oddělí po zahuštění na pevných sorbentech a následném rychlém zahřátí, aby se uvolnily organické páry do kolony. [25]

GC separace je adynamický proces zahrnující sérii rozdělení vzorku mezi dvě fáze, mobilní a stacionární. Komponenty s různými varnými body, polaritou a adsorpčními vlastnostmi lze tedy účinně oddělit na základě rozdílu mezi jejich distribučními konstantami. GC využívá kolonovou separaci k oddělení složek v plynné fázi. [26] K zavádění vzorku se používají mikrostríkačky nebo v dnešní době už asi nejběžnější autosamplery. Běžně se používají pro zavádění kapalných vzorků do plynového chromatografu. Typická mikrostríkačka se skládá z kalibrovaného skleněného válce s těsně přiléhajícím kovovým pístem, který se používá k dávkování zvoleného objemu vzorku. Jehla mikrostríkačky propíchne septum u GC a pístem se vstříkne požadovaný objem. Pro vstřikování plynů a par jsou k dispozici plynotěsné injekční stríkačky, některé s ventilovým mechanismem uzavírajícím průchod jehly. [25] Vzorková směs se vnese do nosného plynu, obvykle dusíku, helia nebo vodíku. Poté se smíchá nosný plyn se vzorkem. Tato směs je vháněna do chromatografické kolony, kde je ukotvena stacionární fáze. [26] Mezi kolony se řadí kolony náplňové a kapilární. Nejvíce vyráběnými kolonami jsou kapilární. Vyrábějí se z taveného křemene a jsou to otevřené trubice s rozměry kapilárního měřítka. Obvykle měří 10 – 100 m a mají 0,1 – 0,53 mm ve vnitřním průměru. Stacionární kapalná fáze je potažena na vnitřním povrchu stěny kapiláry, s typickými tloušťkami 0,1 – 5 μm . [27] Při správné teplotě se složky vzorku rozdělí a poté se eluují z kolony v pořadí v závislosti na jejich relativních tlacích par a afinitách pro stacionární fázi. Po této separaci GC se oddělené složky přivedou do detektoru, [26] který snímá páry rozpuštěných látek v mobilní fázi, jak vystupují z kolony [21]. Výsledkem měření je chromatografický záznam, který nám ukazuje rozdělené složky [26]. Mezi detektory patří např. detektor plamenové ionizace, tepelné vodivosti, elektronového záchytu a plamenový fotometrický detektor. Detektory plamenové ionizace a tepelné vodivosti reagují na téměř všechny organické sloučeniny a jsou příkladem obecných univerzálních detektorů. Jiné detektory reagují pouze na určitý heteroatom (např. plamenový fotometrický detektor). Nebo reagují pouze na strukturální charakteristiku související s vazebnou energií dvou nebo více atomů ve sloučenině (např. detektor elektronového záchytu). [28] Detektory tepelné vodivosti porovnávají schopnost vedení tepla výstupního proudu tepla s referenčním proudem čistého nosného plynu. Alternativním typem detektoru je plamenově ionizační detektor, ve kterém je proud plynu smíchán s vodíkem a spalován. Když jsou přítomny organické látky, v plameni vznikají pozitivní ionty a elektrony. Ionty se shromažďují na elektrodách a vytvářejí malý, měřitelný proud. Plamenový ionizační detektor je vysoce citlivý na uhlovodíky, ale nezjistí nosné plyny (dusík, oxid uhličitý, oxid uhelnatý, oxid siřičitý a voda). V detektoru elektronového záchytu, se v potenciálním poli vytváří proud elektronů z radioaktivního zdroje.

Materiály v proudu plynu obsahující atomy určitých typů zachycují elektrony z proudu a měřitelně snižují proud. Nejdůležitější ze zachycujících atomů jsou halogeny (fluor, chlor, brom a jod). Plamenový fotometrický detektor měří intenzitu světla pomocí fotometrického obvodu. Rozpuštěné látky obsahující halogeny, síru nebo fosfor lze spalovat za vzniku iontových látek obsahujících tyto prvky a ionty snímané elektrochemickými prostředky. [21] Schéma popsané metody je uvedeno na obrázku 9.



Obrázek 9 – Schéma plynového chromatografu; upraveno a převzato: [29]

4.2.1 Plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie

Spojením technik plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS), kdy obě používají vzorek v plynné fázi, bylo poprvé dosaženo v roce 1957. Od té doby se GC/MS vyvinula v jednu z nejcitlivějších a nejselektivnějších analytických metod pro separaci, identifikaci a kvantifikaci složek komplexních organických směsí. Poskytuje dvojrozměrnou identifikaci zahrnující jak retenční čas GC, tak hmotnostní spektrum pro každou složku směsi. Tento duální přístup je zvláště užitečný pro diferenciaci izomerů, kde dobrá separace GC často kompenzuje obtíže, ke kterým dochází v důsledku neurčitých hmotnostních spekter. Naopak hmotnostní spektrum umožňuje přiřazení strukturálních vlastností sloučenině produkující vrchol GC a často poskytuje jednoznačné strukturální přiřazení. Tato metoda se omezuje na analýzu těch sloučenin, které mohou být těkavé a bez tepelného rozkladu. Mnoho sloučenin, které tento požadavek zpočátku nesplňují, lze úspěšně zvládnout po chemické derivatizaci. Za brzký úspěch ve vývoji této tzv. dělené techniky vděčíme především obecné kompatibilitě mezi těmito

dvěma metodami, pokud jde o velikost vzorku. Jediným zásadním rozdílem je, že výstup z plynového chromatografického sloupce je spíše při nízkém než atmosférickém tlaku. Moderní systémy nicméně poskytují vynikající výkon GC a MS bez významného kompromisu chování obou technik. [30]

Přístrojové vybavení se v zásadě skládá ze tří složek, plynového chromatografu, hmotnostního spektrometru a datového systému. Datový systém lze použít jak pro sběr a zpracování dat, tak pro ovládání přístroje. Moderní systémy obvykle používají kapilární kolony vyrobené s polyimidem potaženého křemene, které jsou propojeny přímo s hmotnostním spektrometrem. Kromě výše uvedeného vybavení mohou být přístroje GC/MS vybaveny také dalšími funkcemi, jako je autosampler, infračervený spektrometr nebo detektor plamenné ionizace. [30] Autosamplery automatizují proces nástřiku vzorků, kdy velkou výhodou je přesnost a absence manuální chyby. [31]

5 Ušní maz

Ušní maz se produkuje u všech lidí většinou v různém množství. Vytváří se smícháním produktů žlázek, chloupků, epitelii a nečistotami. Je rozdělen na dva typy: suchý a vlhký. Jeho funkce je ochránit zvukovod před vnějšími vlivy a podílet se na samočištění. Roste v něm fyziologicky řada mikroorganismů a tvoří se z několika složek, např. lipidů. [7] Více o tvorbě, typech, funkci, složení, mikrobiologii a také patologii ušního mazu v následujících kapitolách.

5.1 Produkce ušního mazu

Ušní maz (*cerumen*) se tvoří mísením produktů žlázek (sebaceozních a modifikovaných apokrinních) v zevním zvukovodu s odpadanými chlupy (*tragi*), oloupanými epitelii a vnesenými nečistotami, které se dostaly do zvukovodu (např. prach). Za týden se vyprodukuje přibližně 1 – 2 mg *cerumina*. Vznik ušního mazu je proměnlivý, během několika dní se mění a jeho tvorba také závisí na fyzickém současném stavu organismu. *Cerumen* se vyskytuje u různých osob v rozličném množství. Mění se od minimálního množství, až po úplnou zátku (obturující *cerumen*). Výskyt ušního mazu se zvyšuje u podráždění nervových vláken, pitocinu (stimulující hladké svaly), hormonů (adrenalin a noradrenalin) a nějakých emočních stavů (bolest, obava a úzkost). Tvorba se zvyšuje také po mechanické stimulaci stěny zvukovodu (např. škrábání, čištění vatičkami a výrazné žvýkání). V průběhu tohoto podráždění se zvyšuje vylučování vnitřku žlázek. Dalšími faktory, které způsobují více *cerumina*, jsou následující: mentální retardace, ušní maz vlhkého typu, jedinci po zlomeném druhém krčním obratli. Faktory, které nemají vliv na množství *cerumina*: pohlaví, věk, prašnost v prostoru práce, frekvence čištění uší, výskyt exostóz, vysoký krevní tlak, zvýšený cholesterol a kardiologické potíže. [7]

Cipriani a spol. (1990) vydali studii [32] o rychlosti produkce a složení *cerumenu* ovlivněném pohlavím a sezónou. Vzorky se odebraly v lednu, květnu, červenci a listopadu. Pouze byl zaznamenán menší pokles v listopadu u triglyceridů. U mužů a žen bylo zjištěné podobné množství ušního mazu, stejně tak se vyprodukovalo shodné množství v levém a pravém uchu. U této studie se tedy vyzkoumalo, že ušní maz není ovlivňován pohlavím ani sezónou. [32]

Autoři Pokorný a Meloun ve výzkumu [33] závislost ušního mazu na anatomických poměrech zvukovodu zjistili, že množství *cerumenu* je výrazně větší u starších jedinců ve věku 31-40 let věku. Dále bylo zvýšené množství u vlhké formy *cerumenu* tuhé konzistence s chloupky, které se nacházely v jeho struktuře. Jedinci, kteří měli užší zvukovody s méně chloupky, byli náchylnější k nahromadění mazu. Oproti tomu osobám s více chloupky

ve zvukovodu a suchou formou *cerumina* nebo měkkým a mazlavým mazem by mělo docházet k menšímu výskytu velkého nahromadění ušního mazu nebo k úplnému uzávěru. Dále se také výzkum zabýval dalšími faktory jako je přítomnost exostóz a osteomů, kde bylo zjištěno, že neovlivňují množství *cerumenu* ve zvukovodu. [33]

5.2 Fenotypy ušního mazu

Lidský ušní maz je vlastnost jednoho genu [34]. Jedná se o suchý a vlhký typ [7,34]. Tento rys je připisován sekrečním produktům ceruminózních apokrinálních žláz [34].

Základní formy *cerumina* se dají rozlišit podle makroskopického charakteristického vzhledu. Ušní maz suchého typu je křehký, nelepivý, nemazlavý, vyskytující se v různých šedavých barvách (světle šedá, nažloutlá až šedohnědá). Sloupává se do slabých plátků a malých granulek. Tento typ je svým vzhledem srovnáván s rýžovými otrubami. [7] Ušní maz suchého typu znázorňuje obrázek 10.



Obrázek 10 – Suchý typ ušního mazu; převzato: [35]

Ušní maz vlhkého typu vytváří lepkavou a mazlavou konzistenci. Je světle až zlatavě hnědý. V průběhu času ve zvukovodu přítomný vlhký maz tmavne, díky nedostatku vody a následkem působení oxidace a enzymů bakterií, až zcela k černé barvě. I v tomto stavu je jeho lepkavá forma typická. Svým charakterem bývá srovnáván s medem. [7] Ušní maz vlhkého typu ukazuje obrázek 11.



Obrázek 11 – Vlhký typ ušního mazu; převzato: [36]

Vzhled se dědí autozomálně dominantně. Alela vlhkého ušního mazu je dominantní (W) oproti suchému (w). [7] Charakteristika ušního mazu se v životě výrazněji nemění a lze ji rozpoznat brzy po narození [37]. Četnosti mokrých a suchých typů se liší podle národnostních skupin. Vlhká forma se často objevuje u bělochů a Afroameričanů. Suchá forma je běžná u asijských a domorodých Američanů a má střední častost u populací ve východní Evropě, na Blízkém východě, na tichomořských ostrovech a v Jižní Africe. Ve vlhkém typu se nacházejí lipidové kapénky a pigmentové granule v cytoplazmě sekrečních buněk oproti suchému, kde jsou tyto složky vzácné. [34]

Ceruminózní žláza je apokrinní žláza, stejně jako podpažní a prsní. Gen kódující typ ušního mazu by tak mohl řídit vývoj apokrinních žláz a povahu jejich sekrečních produktů. Díky tomu se zabývali Tomita Hiroaki a spol. (2002) mapováním lokusu vlhkého a suchého ušního mazu na pericentromerní oblast chromozomu 16. [34] Po zjištění, že v jedné rodině má 6 osob paroxysmální kinesigenní choreoatetózu (porucha s autozomálně dominantní dědičností) a všichni s touto nemocí mají vlhký ušní maz, se provedla analýza 92 osob z osmi japonských rodin segregujících *cerumenový* dimorfismus. Vlhká forma byla potvrzena po seškrábání a pozorování ušního mazu. Pro tuto analýzu se použilo 11 mikrosatelitových markerů pro pokrytí oblasti na základě společné segregace typu ušního mazu a paroxysmální

kinesigenní choreoatetézy, která mapuje na pericentromerní oblast chromozomu 16. Dále byly použity PCR sety primerů značených Cy5 pro zesílení DNA, metoda elektroforézy pro produkty PCR v automatizovaném DNA sekvenceru. A nakonec pomocí Fragment Manager se analyzovala konečná data pro stanovení alelotypů. Gen ušního mazu byl zařazen v oblasti ~7.42-cM mezi lokusy D16S3093 a D16S3080 chromozomu 16p11.2-16q12.1. Oblast, do které byl lokus mapován, se nacházel v oblasti spojené s paroxysmální kinesigenní choreoatetózou. Tato studie pro identifikaci lokusu ušního mazu by mohla pomoci k dalším antropogenetickým studiím vývoje apokrinní žlázy. [34]

5.3 Funkce ušního mazu

Funkce bývá ochranná a čistící. Ušní maz je protlačován směrem k vnějšímu ústí zvukovodu a během toho odtrhává nečistoty, čímž se zajišťuje volný průchod zvukovodu. Nakonec ušní maz vypadává ven ze zvukovodu. Z bubínku přes kostěnou část zvukovodu až do chrupavčité se posouvá *cerumen* díky pohybu epidermálních buněk. Nejdříve dojde k uvolnění horní vrstvy buněk vlivem pohybu kloubu čelisti. Lipidy obsažené v ušním mazu mají vodoodpudivý povrch, a také zastávají funkci přírodního změkčovadla, která tvoří vláčnou kůži. Z tohoto důvodu se jedná především o funkci ochrannou, zamezující vzniku menších poranění kůže. [37] Lipidy v ušním mazu působí též antibakteriálně. Vzniká „hydrofobní“ potah, který zamezuje přichycení bakterií a virům na vnější část kůže zvukovodu. [7]

5.4 Mikrobiologie ušního mazu

Prostředí zevního zvukovodu je téměř stále s nedostatkem světla. V tomto prostředí se nachází *ceruminum*, který je vhodný pro množení a růst mikroorganismů. [38]

Autoři Karel Pokorný a Ludmila Poustecká (2007) vydali studii [38] zabývající se kolonizací mikrobů zdravého zvukovodu. Studie byla zaměřena na metody aerobní, mykologické a mikroaerofilní kultivace. Vzorky ušního mazu a ze stěru zvukovodu byly za bezpečnostních podmínek odebrány 50 jedincům s fyziologickým otoskopickým nálezem bez vzniklého zánětu za poslední rok. Poté se zpracovaly na oddělení Mikrobiologie. Ve výsledku se dohromady vykultivovalo 65 mikroorganismů ze zvukovodu a 64 z *cerumina*. Nejvíce kultivovaným kmenem byl *Staphylococcus epidermidis* s počtem 28 v zevním zvukovodu a 20 v ušním mazu. S menším počtem se pak vyskytly kmeny *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus auricularis* a další. [38] Podrobný přehled vykultivovaných kmenů v ušním mazu a zvukovodu je uveden v tabulce 3.

Tabulka 3: Výsledky vykultivovaných kmenů v ušním mazu a zevním zvukovodu; převzato a upraveno: [38]

Kmeny v ušním mazu	Množství	Kmeny v zevním zvukovodu	Množství
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	28
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6
<i>Staphylococcus auricularis</i>	4	<i>Staphylococcus capitis ssp. ureolyticus</i>	4
<i>Staphylococcus capitis ssp. ureolyticus</i>	4	<i>Bacillus cereus</i>	3
viridující streptokoky	3	<i>Staphylococcus auricularis</i>	2
<i>Bacillus cereus</i>	3	<i>Staphylococcus hominis</i>	2
<i>Staphylococcus warneri</i>	3	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2
<i>Corynebacterium sp.</i>	2	<i>Staphylococcus warneri</i>	2
<i>Candida albicans</i>	2	Viridující streptokoky	2
<i>Staphylococcus caprae</i>	2	Beta hemolytické str. sk.C	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	<i>Brevibacterium epidermidis</i>	1
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Micrococcus lylae</i>	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	1
<i>Brevibacterium epidermidis</i>	1	<i>Candida parapsilosis</i>	1
<i>Enterobacter sp.</i>	1	Celkový počet	65
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1		
<i>Candida parapsilosis</i>	1		
Celkový počet	64		

Ve studii [39] autoři Stroman a spol. (2020) izolovali a charakterizovali bakterie a plísně ze zdravého ucha a ušního mazu. Celkem se vykultivovalo 164 druhů kmenu. 147 vzorků ze zevního zvukovodu poskytlo 310 organismů, včetně 7 hub, z 302 bakterií bylo 96 % grampozitivních, stafylokoky tvořily 63 %, koryneformy (při mikroskopickém pozorování tvar podobný korynebakteriím) představovaly 19 %, bakterie podobné streptokokům 7 %. 148 vzorků *cerumenu* poskytlo 314 organismů, včetně 23 hub, z 291 bakterií bylo 99 % grampozitivních, stafylokoky tvořily 63 %, koryneformy představovaly 22 % a bakterie podobné streptokokům 10 %. Patnáct gramnegativních organismů bylo izolováno ze zevního zvukovodu i *cerumenu*, včetně čtyř kmenů *Pseudomonas aeruginosa*. Sedmnáct vzorků ze zevního zvukovodu a šestnáct vzorků ušního mazu nevykazovalo žádný růst. [39]

Campos a spol. (1998) se zaměřili na identifikaci a kvantifikaci flóry lidského ušního mazu [40]. Sterilním ušním hákem se odebral *cerumen* a vzorky se nasázely na sterilní Petriho destičky. Pro zjištění identifikace mikroorganismů byl použit krevní, Macconkey a čokoládový agar a pro množství mikrobů trypton sójový agar. V případě plísně *Candida* se provedl

filamentační test. Ze vzorků *cerumenu* se průměrně získal počet 106 mikroorganismů na 1 ml suspenze. Nejvíce izolovanými mikroorganismy byly *Staphylococcus epidermidis* a *Corynebacterium spp.* V menších počtech pak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus saprophyticum*, *Candida albicans* a *Pseudomonas aeruginosa*. Průměrný počet oproti ostatním studiím byl vyšší, to by mohlo souviset s podmínkami a dobou, kdy zůstal *cerumen* v zevním zvukovodu. [40]

Campos a spol. (2000) vydali studii [41], kde zjišťovali vliv vlhkého lidského ušního mazu na růst běžných patogenních bakterií ucha. *Cerumenové* vzorky byly aplikovány na bakteriální kultury. Před a po aplikaci vzorků byly spočítány bakterie. Testovalo se na kulturách *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas Aeruginosa* a *Serratia marcescenc*. V této studii se prokázalo zvýšení mikrobiálního růstu u téměř 70 procentech případů. Naopak při snížení bylo dosaženo 31 procent. Největší průměrný nárůst byl u bakterie *E. coli*, největší pokles u *S. marcescens* a nejnižší pokles růstu u *P. aeruginosa*. [41]

Autoři Lum a spol. (2009) se zabývali antibakteriálními a antimykotickými vlastnostmi lidského *cerumenu*. Bylo prokázáno, že potenciální antimikrobiální účinky *cerumenu* se prokázaly u kmenů *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa* a *Candida albicans*, protože u nich docházelo ke sníženému růstu, zatímco u *Escherichia coli* byl růst zvýšený. [42]

Singh a spol. (2012) také zjišťovali antibakteriální a antimykotické vlastnosti lidského *cerumenu* [43]. Ze 120 odebraných vzorků bylo použito 60 sterilních pomocí sterilní sondy Jobson Horne Probe. Bakteriální kmeny byly kultivovány na živném agaru a kmen *Candida* byla pěstována na SDA (Sabouroudův agar s dextrózou). Ze získaných údajů se zjistilo, že sterilní vzorky lidského *cerumenu* mohou inhibovat kmeny *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* a také oproti předchozí studii i *Escherichia coli*. [43]

Výzkumem [39] autora Naz (2020) bylo hodnocení antimikrobiální aktivity *cerumenu* a antibiotik proti patogenním bakteriím izolovaných ze vzorků hnisu ucha. Pomocí sterilních tamponů se celkem odebralo 50 vzorků od infikovaných pacientů, které byly analyzovány pomocí čistých kultivačních technik. Celkem se získaly 4 bakteriální izoláty, s největší dominancí kmenu *Pseudomonas spp.*, poté následoval kmen *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* a *Proteus spp.* Ve srovnání antibiotik jsou kmeny *Pseudomonas spp.* a *Staphylococcus spp.* nejcitlivější na klindamycin z 94,73 %, naopak u ciprofloxacinu a ampicilinu vykazují rezistenci. U kmenů *Escherichia coli* a *Proteus spp.* se prokázalo, že jsou nejcitlivější na ciprofloxacin z 92,8 až 95,21 %. Maximální *cerumenová* antibakteriální aktivita byla pozorována u kmenu *Pseudomonas spp.* a *Staphylococcus spp.*, kdy první zmíněný kmen

odpovídal 90 % účinnosti clindamycinu a druhý 60 % účinnosti amoxicilinu. Naopak nejmenší antibakteriální aktivita se projevila proti *Escherichia coli* z 36 % a *Proteus spp.* z 22 %. [39]

5.5 Složení ušního mazu

Autoři Karel Pokorný, Alexander Čegan, Jiří Skalický a Milan Meloun (2007) publikovali klinickou studii zabývající se složkami ušního mazu [44]. V této studii je popsána aplikovaná metoda, tenkovrstvá chromatografie (TLC), a analyticky poprvé určeny jednotlivé frakce *cerumina*. Jednotlivé frakce byly odděleny díky tenkovrstvé chromatografii za zvyšujícího se retardačního faktoru na fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu. Již dříve publikované postupy byly v této studii ověřeny u šesti osob. Materiál se odebral pacientům umístěných na klinickém oddělení Otorinolaryngologie. Vzorky patřily mužům s vlhkou formou ušního mazu, přičemž byli vyřazeni pacienti s patologií v místě vnějšího a středního ucha. Patologií se rozumí např. záněty a nádory ve středním uchu a v zevním zvukovodu. Dále se tam mohou vyskytovat exostózy apod. Bez výplachu a aplikace ceruminolytik byl ušní maz vyjmut háčkem nebo štětičkou. Vzorek krve se odebral ráno nalačno do standardní zkumavky pro zpracování na biochemii. Poté bylo složení lipidů *cerumina* a krevního séra srovnáno ze zjištěných hodnot. Vzorky potřebné pro metodu TLC byly převezeny na Katedru biologických a biochemických věd Univerzity Pardubice. Při metodě TLC je vyšetřování lipidů v krevním sérum odlišné od rozdělení jednotlivých frakcí.

Vlhká forma ušního mazu ve vzorcích obsahovala 55 % extrahovatelných lipidů. Hmotnost odparku séra byla v průměru 2,51 mg (1,23 váhových procent). Hmotnost odparku mazu byla v průměru 1,38 mg (55 váhových procent) z 2,5 mg ušního mazu, které se navázilo k prozkoumání. Výsledkem srovnání hodnot jsou komplexní lipidy krevního séra v průměru o 35,9 % vyšší než v ušním mazu (4,51 g/l v séru a 6,13 g/l v ušním mazu). Výsledkem porovnání v postavení jednotlivých frakcí na celkových lipidech ušního mazu a séra je, že v *ceruminu* jsou značně zastoupeny fosfolipidy (18,2 % v ušním mazu oproti 12,8 % séra) a volné mastné kyseliny (6,63 % ušního mazu oproti 4,34 % séra). Opačně je tomu u diacylglycerolů, kdy jsou více u séra (14,96 % séra oproti 9,64 % v ušním mazu). Podobně jsou na tom estery cholesterolu a triacylglyceroly. [44] Podrobný přehled výsledků uvádí tabulka 4 a 5.

Tabulka 4: Hodnoty lipidů v séru naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie; převzato a upraveno: [44]

Stanovení séra		Číslo						Průměr
		1	2	3	4	5	6	
Fosfolipidy	g/l	0,570	0,570	0,680	0,430	0,639	0,513	0,567
Diacylglyceroly	g/l	0,660	0,681	0,618	0,560	0,744	0,682	0,658
Volné mastné kyseliny	g/l	0,136	0,126	0,241	0,198	0,136	0,320	0,193
Triacylglyceroly	g/l	0,974	1,026	2,252	0,848	1,194	1,278	1,262
Estery cholesterolu	g/l	1,928	1,833	1,194	0,974	2,242	2,797	1,828

Tabulka 5: Hodnoty lipidů v ušním mazu naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie; Převezato a upraveno: [44]

Stanovení mazu		Číslo						Průměr
		1	2	3	4	5	6	
Fosfolipidy	g/l	1,498	2,022	0,649	0,555	0,943	0,987	1,109
Diacylglyceroly	g/l	0,471	0,629	0,534	0,440	0,982	0,528	0,597
Volné mastné kyseliny	g/l	0,283	0,430	0,262	0,630	0,210	0,470	0,381
Triacylglyceroly	g/l	0,576	0,880	2,063	1,592	2,671	1,775	1,593
Estery cholesterolu	g/l	2,493	2,596	1,812	1,446	3,274	3,058	2,447

Bortz a spol. (1990) se zabývali složením lipidů ušního mazu [45]. Lipidy byly extrahovány z vlhkého *cerumenu*. K určení složení se použila kvantitativní tenkovrstvá chromatografie. Vzorky byly odebrány od bělochů bez anamnézy kožního onemocnění, dále vysušeny ve vakuu, zváženy a extrahovány chloroformem/methanolem. V této studii se zjistilo, že celkový obsah lipidů byl 52 % na základě suché tělesné hmotnosti a lipidová frakce se skládala z mastných kyselin (22,7 %), cholesterolu (20,9 %), ceramidů (18,6 %), esterů cholesterolu (9,6 %), esterů vosku (9,3 %), skvalenu (6,4 %), triacylglycerolů (3,0 %), síranu cholesterolu (2,0 %) a několika neidentifikovaných polárních složek (7,5 %). [45]

Inaba a spol. (1987) zkoumali rozdíl mezi suchým a vlhkým typem ušního mazu pomocí analýzy složení lipidů [46]. Byla použita metoda TLC. V suché formě mazu byly nalezeny: cholesterol, volné mastné kyseliny, skvalen, sterylestery, voskové estery, triglyceridy. Skvalen, triglyceridy, volné mastné kyseliny a cholesterol tvořily hlavní prokazatelné frakce ve vlhkém ušním mazu. Na fotografii chromatogramu publikovaném Inabou a spol. výsledky ukazují rozdíl v množství jednotlivých složek lipidů obsažených ve vlhkém a suchém typu *ceruminu*. [46]

Okuda a spol. (1991) zjišťovali organické složení *cerumina* [47]. V této době studie tvrdila, že není možné s přesností kvantifikovat látky, které tvoří ušní maz, a to z důvodu

přítomnosti cizích látek, které byly určeny jako komplikující faktor při analýze. Pro identifikaci látek byla použita kombinace analytické techniky plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Hlavní organické složky *cerumenu* byly mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, nasycené i nenasycené, skvalen, cholesterol a alkoholy [47].

Stránský a spol. (2011) vydali studii nepolární lipidové složky lidského ušního mazu [48]. Vzorek byl odebírán dvakrát týdně z uší zdravého 65. letého muže po dobu 1 roku (asi 200 odběrů, přibližně 6,6 mg za každý odběr). Celkem bylo identifikováno asi tisíc sloučenin. Pomocí sloupcové chromatografie (CC) na silikagelu byl *cerumen* rozdělen do těchto přesně definovaných skupin sloučenin: alifatické uhlovodíky, skvalen, estery vosku a cholesterolu, triacylglyceroly, volné mastné kyseliny, volné mastné alkoholy, monoacylglyceroly, volný cholesterol, volné steroly a volné hydroxykyseliny. Tyto sloučeniny byly poté analyzovány odděleně a identifikovány metodami GC a GC-MS. Rozvětvené a nenasycené uhlovodíky se nacházely v malém množství a nebyly podrobně analyzovány. Skvalen tvoří téměř 1 % *cerumenu*. Celkem bylo identifikováno asi 550 esterů, ale jejich obsah nebyl uveden, protože zřídka překročil plochu 1 %. U triacylglycerolů se pro podrobnější analýzu použila vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) a celkem bylo zjištěno více než 200 triacylglycerolů s více než 120 přítomnými ve významném množství. Volné mastné kyseliny, volné alkoholy a malé množství monoacylglycerolů se nacházelo ve směsi. Pro separaci monoacylglycerolů se použila přípravná tenkovrstvá chromatografie (PTLC). Směs byla esterifikována a methylestery mastných kyselin se následně pomocí PTLC oddělily od volných alkoholů. Volné mastné kyseliny tvoří sadu lichých a sudých homologů (C12:0 až C34:0) se dvěma maximy při C16:0 (19 %) a při C24:0 (5,3 %). Volné alkoholy tvoří homologickou řadu nasycených (14,9 %) a nenasycených (14,9 %) alkoholů v rozmezí C12-C31. Obsah nenasycených alkoholů je nižší než obsah alkoholů z esterů vosku. Na základě analýzy byly také prokázány volné steroly, volný cholesterol a volné hydroxykyseliny. Výtěžek hydroxykyselin byl nízký. Ušní maz je velmi složitá směs sloučenin. Polární lipidy tvoří asi 30 % *cerumenu*. Zbývající sloučeniny (60 %) představují vysoce polární frakci, která nemůže být z kolony eluována ani směsí chloroformového methanolu. [48]

Cílem výzkumu autorů Kocer a spol. (2008) bylo zjistit změny v lipidovém složení *cerumenu* na změnách věku, pohlaví a fází menstruačního cyklu [49]. Vzorky byly odebrány mužům a ženám ve věku od 4 do 60 let a porovnány ve skupinách: 1 – 10 let, 11 – 18 let, 19 – 40 let, 40 let a více. Dále se vzorky porovnaly ve třech fázích menstruačního cyklu. K oddělení a identifikaci byly použity vysoce výkonné tenkovrstvé chromatografické desky. Mezi věkem jednoho roku až deset let se zjistily nejvyšší hodnoty pro estery vosku

a cholesterolu, maximálních hodnot skvalenu a triglyceridů se dosáhlo v pubertě. Muži oproti ženám měli ve věku 19 – 40 let významně vyšší procento obsahu skvalenu, naopak obsah cholesterolu byl nižší. Pokud jde o vzorky odebrané v různých stádiích menstruačního cyklu od žen ve věku 19 – 40 let, tak výsledek je následující: ve fázi folikulární byly vyšší hladiny cholesterolu a skvalenu a výrazně nižší obsah volných mastných kyselin ve srovnání se vzorky odebranými ve fázi luteálního nebo menstruačního cyklu. Tato studie tedy zjistila, že lipidové složky *cerumenu* se liší podle věku, pohlaví a menstruační fáze. [49] Podrobnější výsledky znázorňuje tabulka 6 a 7.

Tabulka 6: Hodnoty složek lipidů závislých na pohlaví a věku naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie; převzato a upraveno: [49]

Složky lipidů		Věková skupina mužů (roky)				Věková skupina žen (roky)			
		1-10	11-18	19-40	>40	1-10	11-18	19-40	>40
Skvalen	%	4,92	9,34	9,36	7,78	4,98	9,34	7,25	7,24
Estery vosku a cholesterolu	%	41,32	34,36	33,32	32,99	45,24	34,13	32,04	34,18
Triacylglyceroly	%	13,2	20,24	18,46	16,91	14,02	22,13	19,73	18,09
Volné mastné kyseliny	%	15,97	15,36	20,92	21,5	13,48	14,08	20,53	19,18
Cholesterol	%	24,56	20,78	18,33	20,78	22,29	20,32	20,49	21,29

Tabulka 7: Hodnoty složek lipidů závislých na menstruačním cyklu naměřené pomocí tenkovrstvé chromatografie; převzato a upraveno: [49]

Složky lipidů		Fáze		
		Menstruační	Folikulární	Luteální
Skvalen	%	6,78	7,58	7,4
Estery vosku a cholesterolu	%	32,76	31,96	31,44
Triacylglyceroly	%	19,73	19,62	19,85
Volné mastné kyseliny	%	21,87	18,56	21,15
Cholesterol	%	18,85	22,26	20,3

Burkhart a spol. (2001) vydali studii [50] zabývající se složením *cerumenu* pomocí metody bleskové pyrolýzy s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií. Shromážděné vzorky ušního mazu byly pomocí deoxycholátu frakcionovány na zbytky a supernatanty. Vzorek byl odebrán pacientovi s diagnózou impakce *cerumenu*. Supernatant se skládal z jednoduchých aromatických uhlovodíků, uhlovodíků s rovným řetězcem C5-C17 a složitou směsí sloučenin předběžně identifikovaných jako diterpenoidy a steroidy, zejména cholesterol. Zbytek naopak produkoval jednoduché aromatické sloučeniny (včetně benzenů, fenolů a benzonitrilů), C5 – C25 uhlovodíky s lineárním řetězcem, větší relativní množství dusíkatých sloučenin, fenolu a méně důležité diterpenoidy. [50]

5.6 Patologie způsobené ušním mazem

Nahromadění ušního mazu může dojít k takovým rozměrům, že způsobí úplný uzávěr zvukovodu, tomuto jevu se říká mazová zátka nebo latinským názvem *cerumen obturans* [5]. Úplný uzávěr občas vznikne u kojenců z nadměrné hygieny, kdy matka zatlačuje při čištění ušní maz zpátky do kostěné části. Následně maz zasychá a tvrdne. V dospělém věku vzniká mazová zátka z nadbytku *cerumenu* díky prашnému prostředí nebo zúžení zvukovodu exostózami. [51] Na druhou stranu hodně ušního mazu se může velmi často objevit u osob bez klinických potíží [7]. Pokud se zmenšující průsvit zvukovodu ucpe při koupání nebo mytí kapkou vody, následuje většinou náhlá převodní nedoslýchavost. Projeví se jako pocity zalehnutí nebo šumění v uchu. Občas osoba slyší zesílené vlastní zvuky a výjimečně dochází k závratím. Při vyšetření metodou otoskopie se vidí hnědá obturující masa různorodé konzistence, která zastiňuje pohled na bubínek. Do léčby se zahrnuje výplach zvukovodu nebo odstranění pomocí nástrojů [51]. Pokud dojde k oboustranné nedoslýchavosti z důvodu úplného uzávěru zvukovodu ušním mazem, dochází ke ztížení komunikace s okolím [7]. Zatuhlý *cerumen* může způsobit reflex, který se nazývá Arnoldův (kašlací) reflex, kdy *cerumen* dráždí citlivou jemnou kůži zvukovodu a vyvolává pocit plného ucha a různou intenzitu tlaku až bolest. Mohou se projevovat i vegetativní příznaky (např. nevolnost, zvracení, pocení, průjem a bušení srdce). Podobně tomu je i s horším zacházením pomocí nástroje, kterým se čistí ucho. Potíž nastává při přenesení dráždění z větve ucha bloudivého nervu (latinským názvem *nervus vagus*), který zásobuje část zadní stěny zvukovodu a také přilehlý bubínek. Proto u některých osob při vyplachování ucha je pozorován dráždivý kašel, dávení až zvracení a občas srdeční zástava. [52]

Naopak může docházet i ke sníženému množství ušního mazu. Jelikož obsahuje lipidové látky, které jsou důležité pro promazání kůže a díky tomu ji udržují vláčné, tak se nedostatek může projevit jako svědění. Také lehce dochází ke zranitelnosti kůže zvukovodu, což má za následek snadnější rozvoj infekce a opakované záněty zvukovodu. [52]

Autoři Adegbiyi a spol (2014) se zaměřili na stanovení klinické prezentace, vnímání ušního mazu mezi Nigrijci a jejich predispozičních faktorů [53]. Studie byla provedena na pacientech s diagnózou impakce *cerumenu*. Výzkum proběhl během jednoho roku. Impakce se diagnostikovala u 437 pacientů a prevalence se zjistila u 20,1 %. Mezi časté projevy patřily: ztráta sluchu (63,3 %), bolest ucha (61,3 %) a tinnitus (53,5 %). Jednostranné ucpání zvukovodu ušním mazem oproti oboustrannému se projevilo častěji a pravé ucho bylo zasaženo více než levé. Dále převládalo u skupiny 0 – 10 let (27,2 %) a skupiny nad 61 let (17,6 %). Opakující

impakce se zjistila u 66,1 %. Přibližně 87,4 % osob věřilo, že *cerumen* je způsoben špínou nebo prachem a pouze 20 %, že má ochrannou funkci v uchu. Nejvíce predispozičními faktory bylo samočištění ucha. [53]

Subha a Raman (2006) vydali studii [54] zabývající se ztrátou sluchu ovlivněnou impakcí *cerumenu*. Pacienti podstoupili ušní vyšetření na ORL metodou přímá otoskopie, případně mikroskopie a audiometrie s čistým tónem (PTA – pod anglickým názvem pure tone audiometry) během jednoho roku. Pro studii byly vybráni ti pacienti, kterým nebyla vidět tympanická membrána díky nahromadění ušního mazu. To splňovalo 80 osob, z toho 51 mělo jednostrannou a 29 oboustrannou blokádu. Ucpání *cerumenem* způsobilo významnou míru vodivé ztráty sluchu, o čemž svědčí zlepšení sluchu o 11 až 20 dB u 50,5 % pacientů a zlepšení o 21 až 30 dB u 29,4 % pacientů po odstranění ušního mazu. Ve studii nezjistili žádnou významnou korelaci mezi impakcí *cerumenu* a proměnnými, jako je věk, pohlaví, etnická příslušnost nebo postižená strana. Do etnické příslušnosti byly zahrnuty tři skupiny – Malajci, Číňané a Indové. U pohlaví by to nemělo být překvapující, protože chemické složení u obou pohlaví je stejné. Nakonec se tato studie zabývala vztahem délky mazové zátky a stupněm vodivé ztráty, kde opět nebyla žádná výrazná korelace. [54]

Sugiura a spol. (2014) ve studii [55] měli za cíl posoudit, jaký vliv má impakce *cerumenu* a odstranění mazu na kognitivní schopnosti starších pacientů s poruchou paměti v Japonsku. Byly použity metody PTA a MMSE (Mini-Mental State Examination). Skupina „případy“ se skládala z pacientů, kteří měli impakci v uchu, na které lépe slyšeli. „Kontrolní“ skupinou byli pacienti, kteří buď neměli impakci anebo měli, ale v uchu, na které hůře slyšeli. Sluchové a kognitivní funkce byly porovnány mezi zmíněnými skupinami poté, co jim byl odstraněn ušní maz. Hodnocení sluchu po odstranění *cerumenu* vedlo ke statisticky významnému zlepšení. Výrazné zlepšení se také konalo u kognitivních funkcí. Rutinní vyšetření zvukovodu tedy může prospět starším dospělým s poruchami paměti. [55]

Cílem výzkumu autorů Crandell a Roeser (1993) bylo zjistit, jak častá je nadměrná impakce *cerumenu* u jedinců s mentální retardací pomocí longitudinálního vyšetřování [56]. Longitudinální vyšetření je druh korelační výzkumné studie, která zahrnuje zkoumání proměnných po delší dobu. Tyto studie mohou probíhat po dobu týdnů, měsíců nebo dokonce let. V některých případech několik desetiletí. [57] Pro tento výzkum [56] byla vybrána doba 12ti let. Sledovala se impakce *cerumenu* a s ním i související vodivá ztráta sluchu. Výsledky ukázaly výrazně vyšší výskyt nadměrného ušního mazu a ucpání mazem s přidruženou vodivou ztrátou sluchu u dospělých s mentální retardací (28 %) než v běžné dospělé populaci (2 % až

6 %). Navíc bylo zjištěno, že dochází velmi často k opakujícímu se uzávěru zvukovodu *cerumenem* u mentálně retardované populace. [56]

Ping a spol. (2017) vydali studii [58] pod názvem Epidemiologie impakce *cerumenu* mezi městskými školními dětmi ve Wu-chanu v Číně. Zevní zvukovod se dětem vyšetřil pomocí elektrootoskopu v letech 2005, 2006 a 2012. Dále se zjistil věk, pohlaví a fenotyp ušního mazu. Míra prevalence byla postupně pro každý rok 17,2 %, 15,4 %, respektive 10 %. Prevalence tedy byla v roce 2012 významně nižší než v letech 2005 nebo 2006. V roce 2005 činila impakce suchého *cerumenu* 22,2 % z celkového suchého *cerumenu*, zatímco impakce vlhkého *cerumenu* představovalo pouze 5 % z celkového vlhkého *cerumenu*. Konečným výsledkem bylo, že prevalence u dětí mateřských škol ve Wu-chanu je vyšší než 10 % a děti se suchým ušním mazem jsou náchylnější k ucpání zvukovodu mazem. [58]

6 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo teoreticky popsat význam ušního mazu. Dále byly popsány dostupné vyšetřovací metody pro stanovení složení ušního mazu.

Na začátku této práce byla obecně popsána teorie ucha, které se rozděluje na vnější, střední a vnitřní ucho. Zaměření nejvíce padlo na vnější ucho, kde se nalézá zevní zvukovod, ve kterém se tvoří ušní maz. Dále byla popsána anatomie, histologie, fyziologie a mikrobiologie zevního zvukovodu.

Cílem práce bylo dovědět se, jaká metoda se nejčastěji používá na zjištění složení ušního mazu, především lipidů. Výsledky studií nám ukazují, že nejvíce se využívá metoda tenkovrstvé chromatografie, dále plynové chromatografie a spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Ze studií vyplývá, že ušní maz obsahuje přibližně 55 % lipidů. Zjištěné složky lipidů byly následující: fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly, cholesterol, estery cholesterolu, ceramidy, estery vosku, skvalen, síran cholesterolu, steryestery a triglyceridy.

Tato práce se také zabývala kolonizací mikroorganismů ve zdravém zevním zvukovodu a samotném *cerumenu*. Ze studií se zjistilo, že nejvíce vyizolovanými kmeny jsou stafylokoky (např. *Staphylococcus epidermidis*). V některých studiích bylo prokázáno, že ušní maz má potenciální antimikrobiální a antimykotické vlastnosti.

Na závěr této práce byla zkoumána patologie ušního mazu. Nahromadění ušního mazu může způsobit impakci zevního zvukovodu, která následně zapříčiňuje bolest ucha, tinnitus či nedoslýchavost, a ta má za následek zhoršení kognitivních funkcí.

7 Literatura

1. HYBÁŠEK, I. *Ušní, nosní a krční lékařství*. Praha: Galén, Karolinum, 1999, 220 s. ISBN 80-7262-017-7.
2. ČIHÁK, R. *Anatomie 3.2.*, upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2004, 692 s. ISBN 80-247-1132-X.
3. RICHTEROVÁ, K. a P. SACHOVÁ, E. MRÁZKOVÁ, ed. *Nedoslychavost a možnosti léčby z pohledu otorinolaryngologa: Pratické lékařství: Aktuální farmakoterapie* [online]. 2010, **6**(2), s. 74-78 [cit. 2020-05-18]. Dostupné z: <https://www.solen.cz/savepdfs/lek/2010/02/04.pdf>
4. BLAUS, B. *The Middle Ear*. [obrázek] [online]. 2013. In: *Wikimedia Commons*. 2013 [cit. 2021-03-31]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blausen_0330_EarAnatomy_MiddleEar.png
5. ASTL, J. *Otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku: pro bakaláře, obor ošetřovatelství*. 2., nezměn. vyd. Praha: Karolinum, 2012, 138 s. ISBN 978-80-246-2053-4.
6. HAHN, A. a kol. *Otorinolaryngologie a foniatrie v současné praxi*. 2., doplněné a aktualizované vydání. Praha: Grada Publishing, 2018, 440 s. ISBN 978-80-271-0572-4.
7. MEJZLÍK, J. a K. POKORNÝ, V. CHROBOK, ed. *Zevní zvukovod*. 1. vyd. Havlíčkův Brod: TOBIÁŠ, 2007, 280 s. ISBN 978-80-7311-092-5.
8. Vnitřní ucho. In: *Metaboli Med: Meniérova choroba* [obrázek] [online]. [cit. 2021-03-05]. Dostupné z: <http://metabolimed.cz/menierova-choroba>
9. TVRZICKÁ, E., B. STAŇKOVÁ, M. VECKA a A. ŽÁK. *Mastné kyseliny 1. Výskyt a biologický význam*. *Čas. Lék. čes.* [online]. 2009, **148**, s. 16-24 [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/casopis-lekaru-ceskych/2009-1/mastne-kyseliny-1-vyskyt-a-biologicky-vyznam-2636>
10. AUGUSTYN A., A. MCKENNA, A. TIKKANEN a kol. *Fatty acid*. *Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/fatty-acid>
11. MOGHADASIAN, M. H. a F. SHAHIDI. *Fatty Acids*. *International Encyclopedia of Public Health* [online]. Elsevier, 2017, s. 114-122 [cit. 2021-04-12]. ISBN 9780128037089. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-803678-5.00157-0

12. LYDIC, T. A. a Y-H. GOO. *Lipidomics unveils the complexity of the lipidome in metabolic diseases. Clinical and Translational Medicine* [online]. 2018, 7(1) [cit. 2021-04-13]. ISSN 2001-1326. Dostupné z: doi:10.1186/s40169-018-0182-9
13. JASSAL, B., M.E. GILLESPIE, G. GOPINATHRAO a kol. *Metabolism of lipids. Reactome* [online]. [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <https://reactome.org/content/detail/R-HSA-556833>
14. GROFOVÁ, Z. *Mastné kyseliny. Med. Pro Praxi* [online]. 2010, 7(10), s. 388-390 [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/08/10.pdf>
15. AUGUSTYN A., A. MCKENNA, A. TIKKANEN a kol. *Stearic acid. Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/stearic-acid>
16. AENLLE, L. *Unsaturated fat. Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/unsaturated-fat>
17. ŽÁK, A. a kol. *Ateroskleróza: nové pohledy*. Praha: Grada, 2011, 200 s. ISBN 978-80-247-3052-3.
18. AUGUSTYN A., A. MCKENNA, A. TIKKANEN a kol. *Oleic acid. Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/oleic-acid>
19. KENAR, J. A., B. R. MOSER a G. R. LIST. *Naturally Occurring Fatty Acids. Fatty Acids* [online]. Elsevier, 2017, s. 23-82 [cit. 2021-04-16]. ISBN 9780128095218. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-809521-8.00002-7
20. BENATTI, P., G. PELUSO, R. NICOLAI a M. CALVANI. *Polyunsaturated Fatty Acids: Biochemical, Nutritional and Epigenetic Properties. Journal of the American College of Nutrition* [online]. 2004, 23(4), s. 281-302 [cit. 2021-04-16]. ISSN 0731-5724. Dostupné z: doi:10.1080/07315724.2004.10719371
21. KELLER, R. A. a J. C. GIDDINGS. *Chromatography. Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-5-2]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/chromatography>
22. AUGUSTYN, A., A. ZEIDAN, A. ZELAZKO a kol. *Thin-layer chromatography. Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-5-2]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/thin-layer-chromatography>
23. MASOODI, K. Z., S. M. LONE a R. S. RASOOL. *Thin layer chromatography (TLC). Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology* [online].

- Elsevier, 2021, s. 143-146 [cit. 2021-5-2]. ISBN 9780128244494. Dostupné z:
doi:10.1016/B978-0-12-824449-4.00025-6
24. AUGUSTYN, A., A. ZEIDAN a A. ZELAZKO. *Gas chromatography. Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2021-5-5]. Dostupné z:
<https://www.britannica.com/science/gas-chromatography>
25. POOLE, C. F. *Gas Chromatography | Instrumentation* ☆. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [online]. Elsevier, 2018, [cit. 2021-5-6]. ISBN 9780124095472. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.14353-7
26. HAN, Y., Y. ZHANG a H. LIU. *Gas Chromatography: Principles* ☆. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2021-5-5]. ISBN 9780124095472. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.14348-3
27. MCNAIR, H. M., J. M. MILLER a N. H. SNOW. *Basic Gas Chromatography*. Wiley, 2019, 265 s. ISBN 9781119450795. ISSN 9781119450795. Dostupné z:
doi:10.1002/9781119450795
28. POOLE, C.F. *Detectors* ☆. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [online]. Elsevier, 2016 [cit. 2021-5-6]. ISBN 9780124095472. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.11719-6
29. DUBAJ. *Schéma plynového chromatografu*. In: *Wikimedia Commons* [obrázek] [online]. 2006 [cit. 2021-5-5]. Dostupné z:
<https://sk.wikipedia.org/wiki/S%C3%BAbor:SchemaGC.png>
30. HARVEY, D. J. *Gas Chromatography/Mass Spectrometry* ☆. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2021-5-5]. ISBN 9780124095472. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.14103-4
31. TIPLER, A. *Sample Introduction Methods. Gas Chromatography* [online]. Elsevier, 2012, s. 187-219 [cit. 2021-5-6]. ISBN 9780123855404. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-385540-4.00008-0
32. CIPRIANI, C., PHARD, G. TABORELLI a kol. *Production Rate and Composition of Cerumen. The Laryngoscope* [online]. 1990, **100**(3), s. 275-276 [cit. 2020-10-28]. ISSN 0023-852X. Dostupné z: doi:10.1288/00005537-199003000-00012

33. POKORNÝ, K. a M. MELOUN. *Závislost množství ušního mazu na anatomických poměrech ve zvukovodu. Otorinolaryngologie a foniatrie* [online]. Praha, 2009, **58**(1), s. 19-28 [cit. 2021-5-9]. Dostupné z:
<https://www.prolekare.cz/casopisy/otorinolaryngologie-foniatrie/2009-1/zavislost-mnozstvi-usniho-mazu-na-anatomickych-pomerech-ve-zvukovodu-3889>
34. TOMITA, H., K. YAMADA, M. GHADAMI a kol. *Mapping of the wet/dry earwax locus to the pericentromeric region of chromosome 16. The Lancet* [online]. 2002, **359**(9322), s. 2000-2002 [cit. 2021-03-10]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(02)08835-9
35. KELVINC. *Dry earwax* [obrázek] [online]. 2007. In: *Wikimedia Commons* [cit. 2020-03-18]. Dostupné z:
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Dry_earwax_cropped.jpg
36. HUNDEIKER, U. *Cerumen* [obrázek] [online]. 2009. In: *Wikimedia Commons*. [cit. 2020-03-18]. Dostupné z:
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:OhrenSchmalzBrocken.jpg?fbclid=IwAR37N7X8CeQmgFSPCEeGW0hRe8Y8OB_Wu1MJxqKj0o_iotQgtSfXHATxxzE
37. POKORNÝ, K., A. PELLANT a J. ŠKVRŇÁKOVÁ. *Ušní maz známý i neznámý, Sestra* [online]. 2007, **17**(5), s. 24 [cit. 2020-03-18]. ISSN: 1210-0404. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/sestra/usni-maz-znamy-i-neznamy-305672>
38. POKORNÝ, K. a L. POUSTECKÁ. *Mikrobiální osídlení zdravého zevního zvukovodu. Otorinolaryngologie a foniatrie* [online]. Praha, 2007, **56**(1), s. 7-10 [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/otorinolaryngologie-foniatrie/2007-1/mikrobialni-osidleni-zdraveho-zevniho-zvukovodu-1606>
39. STROMAN, D. W., P. S. ROLAND, J. D. DOHAR a W. BURT. *Microbiology of Normal External Auditory Canal. The Laryngoscope* [online]. 2001, **111**(11), s. 2054-2059 [cit. 2021-5-1]. ISSN 0023-852X. Dostupné z: doi:10.1097/00005537-200111000-00035
40. CAMPOS, A., A. ARIAS, L. BETANCOR a kol. *Study of common aerobic flora of human cerumen, The journal of Laryngology & otology* [online]. 1998, **112**(7), s. 613-616 [cit. 2021-03-17]. ISSN 0022-2151. Dostupné z:
doi:10.1017/S002221510014126X
41. CAMPOS, A., L. BETANCOR, A. ARIAS a kol. *Influence of human wet cerumen on the growth of common and pathogenic bacteria of the ear. The Journal of Laryngology*

- & *Otology* [online]. 2000, **114**(12), s. 925-927 [cit. 2021-03-20]. ISSN 0022-2151. Dostupné z: doi:10.1258/0022215001904635
42. LUM, C. L., S. JEYANTHI, N. PREPAGERAN a kol. *Antibacterial and antifungal properties of human cerumen. The Journal of Laryngology & Otology* [online]. 2009, **123**(4), s. 375-378 [cit. 2021-03-20]. ISSN 0022-2151. Dostupné z: doi:10.1017/S0022215108003307
43. SINGH, R., K. KOSARAJU, I. BAIRY a kol. *A study of antibacterial and antifungal properties of human cerumen. Indian Journal of Otology* [online]. 2012, **18**(4), s. 189-192 [cit. 2021-5-1]. ISSN 0971-7749. Dostupné z: doi:10.4103/0971-7749.104796
44. NAZ, I. *The Assessment of antimicrobial activity of cerumen (earwax) and antibiotics against pathogenic bacteria isolated from ear pus samples. Microbiology Research* [online]. 2020, **11**(1), s. 5-10 [cit. 2021-5-1]. ISSN 2036-7481. Dostupné z: doi:10.4081/mr.2020.8565
45. POKORNÝ, K. a kol. *Lipidová složka ušního mazu: metodika kvalitativní a kvantitativní analýzy. Otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku* [online]. 2007, **1**(1), s. 37-42 [cit. 2020-10-28]. Dostupné z: <https://meloun.upce.cz/docs/publication/187.pdf>
46. BORTZ, J. T., P. W. WERTZ a D. T. DOWNING. *Composition of cerumen lipids. Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 1990, **23**(5), 845-849 s. [cit. 2020-10-28]. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1016/0190-9622(90)70301-W
47. INABA, M., T. H. CHUNG, J. Ch. KIM, Y. Ch. CHOI a J. H. KIM. *Lipid Composition of Ear Wax in Hircismus. Yonsei Medical Journal* [online]. 1987, **28**(1), s. 49-51 [cit. 2020-10-28]. ISSN 0513-5796. Dostupné z: doi:10.3349/ymj.1987.28.1.49
48. OKUDA, I, B BINGHAM, P STONEY a M HAWKE. *The organic composition of earwax. The Journal of Otolaryngology* [online]. 1991, **20**(3), s. 212-215 [cit. 2021-03-31]. PMID: 1870171. Dostupné z: <https://europepmc.org/article/med/1870171>
49. STRÁNSKÝ, K., I. VALTEROVÁ, E. KOFROŇOVÁ a kol. *Non-Polar Lipid Components of Human Cerumen. Lipids* [online]. 2011, **46**(8), s. 781-788 [cit. 2021-03-31]. ISSN 0024-4201. Dostupné z: doi:10.1007/s11745-011-3564-y
50. BURKHART, C. N., M. A. KRUGE, C. G. BURKHART a C. BLACK. *Cerumen Composition by Flash Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Otology &*

- Neurotology [online]. 2001, **22**(6), s. 715-722 [cit. 2021-5-1]. ISSN 1531-7129. Dostupné z: doi:10.1097/00129492-200111000-00002
51. KOÇER, M., T. GÜLDÜR, M. AKARÇAY, M a kol. *Investigation of age, sex and menstrual stage variation in human cerumen lipid composition by high performance thin layer chromatography. The Journal of Laryngology & Otology* [online]. 2008, **122**(9), s. 881-886 [cit. 2021-04-02]. ISSN 0022-2151. Dostupné z: doi:10.1017/S0022215107000783
52. HYBÁŠEK, I. a J. VOKURKA. *Otorinolaryngologie*. Praha: Karolinum, 2006, 426 s. ISBN 80-246-1019-1.
53. ADEGBIJI, W. A., B. S. ALABI, O.A. OLAJUYIN a C.C. NWAWOLO. *Earwax impaction: Symptoms, predisposing factors and perception among Nigerians. Journal of Family Medicine and Primary Care* [online]. 2014, **3**(4) [cit. 2021-4-24]. ISSN 2249-4863. Dostupné z: doi:10.4103/2249-4863.148116
54. POKORNÝ, K., A. PELLANT a J. ŠKVRŇÁKOVÁ. *Potíže způsobené nadbytkem či nedostatkem ušního mazu. Sestra* [online]. 2007 [cit. 2021-5-1]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/sestra/potize-zpusobene-nadbytkem-ci-nedostatkem-usniho-mazu-305673>
55. SUBHA, S. T. a R. RAMAN. *Role of Impacted Cerumen in Hearing Loss. Ear, Nose & Throat Journal* [online]. 2006, **85**(10), s. 650-653 [cit. 2021-4-26]. ISSN 0145-5613. Dostupné z: doi:10.1177/014556130608501011
56. SUGIURA, S., M. YASUE, T. SAKURAI a kol. *Effect of cerumen impaction on hearing and cognitive functions in Japanese older adults with cognitive impairment* [online]. 2014, **14**, s. 56-61 [cit. 2021-4-27]. ISSN 14441586. Dostupné z: doi:10.1111/ggi.12251
57. CRANDELL, C. C. a R. J. ROESER. *Incidence of excessive/impacted cerumen in individuals with mental retardation: a longitudinal investigation* [online]. 1993, **97**(5), s. 568-74 [cit. 2021-4-30]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3799737/>
58. CHERRY, K. *The Pros and Cons of Longitudinal Research. Verywell Mind* [online]. 2020 [cit. 2021-4-30]. Dostupné z: <https://www.verywellmind.com/what-is-longitudinal-research-2795335>