

· 基础研究 ·

次声暴露对豚鼠听力影响的实验研究

金娟 刘静 牟翔 陈景藻

【摘要】目的 探讨以听觉脑干反应 (ABR) 和畸变产物耳声发射 (DPOAE) 为检测指标检测次声作用后对豚鼠听觉的影响。**方法** 暴露条件为 16 Hz、90 dB 及 16 Hz、130 dB。在次声舱里暴露 2 h/次, 1 次/1 d, 分别于 1, 7, 14, 21, 28 d 后分组检测豚鼠 ABR 和 DPOAE。**结果** 次声暴露后, 豚鼠 ABR 反应阈有不同程度的升高。16 Hz、90 dB 次声暴露 1, 28 d 组 ABR 听觉反应阈与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。16 Hz、130 dB 次声暴露 14, 21, 28 d 组动物 ABR 听觉反应阈与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。16 Hz、90 dB 次声暴露后, 各时间点豚鼠 DPOAE 的幅值在各频率点差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。16 Hz、130 dB 作用 21 d 组和 28 d 组 DPOAE 的幅值在各频率点差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论** 进一步揭示了次声对豚鼠听觉的作用机制和量效关系, 为全面研究次声对听觉系统的作用效果和防护标准问题奠定了一定基础。

【关键词】 次声; 听觉系统; 听觉脑干反应; 畸变产物耳声发射; 豚鼠

Effects of infrasound on the auditory function of guinea pigs JIN Juan, LIU Jing, MU Xiang, CHEN Jing-zao.
Department of Physiotherapy, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China
Corresponding author: CHEN Jing-zao, Email: cssysj@fmmu.edu.cn

【Abstract】Objective To observe the effects of exposure to infrasound on auditory function of guinea pigs as reflected by the brain stem response (ABR) and distortion product otoacoustic emission (DPOAE). **Methods** Seventy-two Guinea pigs were used in this study, of them, 12 served as controls and 60 were divided into 2 experimental subgroups. ABR and DPOAE were detected after exposure to infrasound stimulation at 16 Hz, 90 dB or 16 Hz, 130 dB for 2 hours a day for 1, 7, 14, 21 and 28 days. **Results** The threshold of ABR after exposed to infrasound at 16 Hz, 90 dB in 1 day and 28 days was higher than the controls ($P < 0.05$). The same change was observed at 16 Hz, 130 dB on 14, 21 and 28 days ($P < 0.01$). The DPOAE was not different between the experimental and the control groups after exposed to infrasound with 16 Hz, 90 dB ($P > 0.05$), but significant difference was observed with 16 Hz 130 dB infrasound exposure on the 21st and, 28th days when compared with the controls ($P < 0.05$). **Conclusion** Exposure to infrasound has significant impact on auditory function of the guinea pigs, which is dose-dependent.

【Key words】 Infrasound; Auditory system; Auditory brainstem response; Distortion product otoacoustic emission; Guinea pig

次声是频率为 0.000 1 ~ 20 Hz 的声波, 在工业、建筑业、交通运输业、军事部门及航天工业等活动中均可有次声存在。目前的研究已明确次声对生物体各系统均可产生影响^[1]。次声对听觉系统的作用效应是受关注的主要课题之一。流行病学调查显示, 人暴露于一定强度次声后可以出现耳痛、耳鸣及中耳压迫感等症^[2,3]。已有报道证明, 一定强度的次声可对中耳、听阈、前庭功能及半规管、耳蜗、听皮质造成损伤^[2,3]。国内报道受次声 (16 Hz、135 dB) 作用 3 h 的 32 只豚鼠中, 4 只鼓膜、中耳黏膜、鼓膜张肌有充血、出

血, 4 只豚鼠的鼓膜穿孔或破裂, 2 只豚鼠的 2 只镫骨局部脱位, 3 只鼓膜出现皱褶或塌陷, 失去紧张感^[4]。关于次声对听觉系统作用效应的量效关系问题, 尚缺乏进一步的实验研究。本实验采用听觉脑干反应 (auditory brainstem response, ABR) 和畸变产物耳声发射 (distortion product otoacoustic emission, DPOAE) 为评价指标, 观察 16 Hz、90 dB 和 16 Hz、130 dB 次声不同时间作用后对豚鼠听觉的影响。

材料与方法

一、动物及分组

健康成年白色豚鼠 (第四军医大学实验动物中心提供) 72 只, 体重为 250 ~ 350 g, 雌雄不限。实验前检

基金项目: 军队指令性课题 (011071)

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学西京医院理疗科

通讯作者: 陈景藻, Email: cssysj@fmmu.edu.cn

查豚鼠外耳道和鼓膜情况,选择外耳道无炎症、鼓膜标志清楚及耳廓反射灵敏的豚鼠,在安静的环境下分笼适应性饲养 1 周,温度控制在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的范围内,暴露于自然光条件下,给予充足的饮水、摄食。将动物随机分为 12 组,其中 2 组为对照组,每组 6 只。实验组共有 10 组,即分别用 16 Hz、90 dB 与 16 Hz、130 dB 的次声,每天作用 2 h,作用 1, 7, 14, 21, 28 d 组,每组 6 只。

二、次声压力舱系统和次声暴露

次声压力舱系统由本校与中国科学院声学研究所、航天工业总公司 41 所合作研制。该系统体积为 1.92 m^3 ,由超低频信号发生器(1110B 型,北京强度环境研究所)、功率放大器(7101 型,航天工业总公司 702 所)、连接三个直径为 50 cm 的电动扬声器(YD500-8XA,南京电声器材公司)组成。次声频率与声压级水平被传声器(1425 型,丹麦 B&K 公司)接受后传至超低频信号数据采集系统分析处理后由计算机显示。实验组次声暴露条件如前述。对照组动物也置于次声舱中,每天 2 h,分别作用 1, 7, 14, 21, 28 d,但无次声输出。

三、听觉电生理检测

检测前豚鼠腹腔注射速眠新(吉牧防便字[1990]47 号,长春农牧大学兽医研究所)腹腔内麻醉(0.8 ml/kg 体重)后,将动物固定于可加热的实验板上,维持豚鼠肛温在 $38.0 \sim 38.5^\circ\text{C}$,采用听觉电生理检测仪(Biologic, Traveler Express E, USA)和耳声发射仪(Capella, Madsen, Danmark),在每天次声暴露 2 h,分别暴露 1, 7, 14, 21, 28 d 后,对实验组及对照组豚鼠进行听觉电生理检测。

1. 豚鼠 ABR 听觉反应阈:记录电极置于耳廓后缘皮下,参考电极置于头顶中央皮下,地电极放于鼻尖中央皮下。豚鼠 ABR 实验参数:单耳给声刺激,刺激声强度为 $10 \sim 80\text{ dB}$,通频带为低通 $3\,000\text{ Hz}$,高通 100 Hz ,叠加 1 024 次,分析时间为 10 ms ,刺激声为交替短声(click),刺激频率为 13 次/s ,以 ABR III 波为基准检测反应阈,测定次声暴露后豚鼠的反应听阈。

2. 耳声发射的测定:检测环境噪声 40 dB 以下,将探头放置在豚鼠外耳道外 $1/3$ 处,待探头测试程序启动,显示探头放置合适后开始进行测试。取 $0.5, 0.7, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 8.0\text{ kHz}$ 作为测试和分析的频率,分别是 f_1 和 f_2 ,频率比为 $f_2/f_1 = 1.22$,初始测试声强为 65 dB 、 55 dB 声压级的,叠加 300 次, DPOAE 的幅值大于本底噪音 3 dB 作为检出反应的判断标准。

四、统计学分析

使用 SPSS 10.0 版统计软件对数据进行统计,数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,实验各组间差异采用一般线性模型方差分析,组间两两比较采用 SNK 法软件分析处理。

结 果

一、次声暴露对豚鼠一般状况的影响

豚鼠在 16 Hz、90 dB 与 16 Hz、130 dB 次声暴露 2 h 后由次声舱中取出,16 Hz、90 dB 组豚鼠第 1 次次声暴露后表现为倦怠、全身出汗、呼吸急促、心率加快、急于饮水及活动减少,此后继续次声暴露,上述症状逐渐减轻。16 Hz、130 dB 组豚鼠随暴露时间的延长,上述症状逐渐加重。对照组豚鼠无明显变化,行动如常。所有实验组和对照组豚鼠均无死亡。

二、次声暴露对豚鼠 ABR 听觉反应阈的影响

豚鼠的 ABR 以波 III 最为明显,所以将波 III 的出现作为 ABR 听阈的检测指标。16 Hz、90 dB 组豚鼠次声暴露后第 1 天 ABR 听阈升高,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),此后逐渐恢复,7, 14, 21 d 组豚鼠 ABR 听阈较对照组略有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$);28 d 组豚鼠 ABR 听阈升高,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。16 Hz、130 dB 次声暴露 1, 7, 14 d 组豚鼠 ABR 听阈较对照组略有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。21, 28 d 组豚鼠 ABR 听阈升高,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

三、次声暴露对豚鼠 ABR 波 III 潜伏期的影响

16 Hz、90 dB 组次声暴露第 1 天 ABR 波 III 潜伏期同对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),此后逐渐恢复,7, 14, 21 d 组豚鼠 ABR 波 III 潜伏期较对照组略有延长,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。28 d 组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。16 Hz、130 dB 次声暴露 1, 7 d 组豚鼠 ABR 波 III 潜伏期较对照组略有延长,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。14 d 开始 ABR 波 III 潜伏期延长($P < 0.05$),21, 28 d 组豚鼠同对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

四、次声暴露对豚鼠 DPAOE 图(DP-gram)幅值与本底噪声差值的影响

对照组和 16 Hz、90 dB 各时间点组次声暴露后,豚鼠各个频率本底噪声差值均未见明显改变($P > 0.05$)。16 Hz、130 dB 次声暴露 1, 7, 14 d 组豚鼠各个频率 SNR 值有下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。16 Hz、130 dB 次声暴露 21 d、28 d 组与对照组比较,低频($0.5 \sim 2.0\text{ kHz}$)差异有统计学意义($P < 0.01$),而高频($3.0 \sim 8.0\text{ kHz}$)中的部分频率差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3, 4。

表 1 次声暴露对 ABR 波Ⅲ阈值的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	ABR 波Ⅲ听阈 (dB nHL)					
		0 d	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
对照组	6	17.4 ± 2.6	16.8 ± 3.5	16.5 ± 3.4	17.9 ± 4.1	17.6 ± 2.8	17.2 ± 2.9
16 Hz、90 dB 组	6	16.9 ± 3.9	36.4 ± 5.6 ^a	21.4 ± 6.8	22.6 ± 7.2	24.1 ± 7.5	34.8 ± 8.6 ^a
16 Hz、130 dB 组	6	17.2 ± 3.4	19.2 ± 4.3	18.6 ± 4.7	19.6 ± 5.8	42.5 ± 7.9 ^b	46.3 ± 8.4 ^b

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 表 2 次声暴露对 ABR 波Ⅲ潜伏期的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	ABR 波Ⅲ听阈 (dB nHL)					
		0 d	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
对照组	6	2.61 ± 0.14	2.60 ± 0.08	2.65 ± 0.12	2.61 ± 0.04	2.64 ± 0.05	2.67 ± 0.08
16 Hz、90 dB 组	6	2.64 ± 0.09	2.86 ± 0.21 ^a	2.70 ± 0.09	2.68 ± 0.12	2.72 ± 0.14	2.84 ± 0.12 ^a
16 Hz、130 dB 组	6	2.61 ± 0.11	2.61 ± 0.12	2.69 ± 0.05	2.80 ± 0.22 ^a	2.93 ± 0.19 ^b	3.01 ± 0.23 ^b

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 表 3 次声暴露 21 d 组和对照组 DPOAE 的 DP-gram 幅值比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	频率 (kHz)						
		0.5	0.7	1.0	2.0	3.0	4.0	8.0
对照组	6	9.0 ± 3.0	14.9 ± 2.1	18.6 ± 3.1	20.4 ± 3.3	17.4 ± 4.2	16.1 ± 4.3	18.0 ± 4.6
16 Hz、90 dB 组	6	8.5 ± 5.7	12.4 ± 5.3	15.0 ± 7.6	18.9 ± 6.2	16.7 ± 5.9	16.2 ± 6.7	17.6 ± 7.8
16 Hz、130 dB 组	6	3.6 ± 6.4 ^b	5.3 ± 4.8 ^b	6.8 ± 5.6 ^b	13.2 ± 4.9 ^a	12.4 ± 6.2 ^a	15.2 ± 6.7	14.2 ± 7.8 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 表 4 次声暴露 28 d 组和对照组 DPOAE 的 DP-gram 幅值比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	频率 (kHz)						
		0.5	0.7	1.0	2.0	3.0	4.0	8.0
对照组	6	8.6 ± 3.4	14.8 ± 2.5	17.9 ± 3.4	21.4 ± 4.1	16.9 ± 4.8	17.5 ± 4.7	18.0 ± 4.2
16 Hz、90 dB 组	6	7.6 ± 5.7	12.4 ± 5.3	15.6 ± 7.6	18.0 ± 8.2	17.1 ± 5.9	16.9 ± 8.7	16.0 ± 7.8
16 Hz、130 dB 组	6	1.2 ± 6.7 ^b	1.8 ± 5.9 ^b	2.4 ± 5.6 ^a	2.8 ± 5.2 ^a	6.1 ± 5.9 ^a	9.2 ± 6.7	5.0 ± 7.8 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

讨 论

次声是一种物理弹性机械纵波,它通过各种介质(气体、液体、固体等)的分子向四周传播,它传播远、衰减小、防护难^[1]。有关次声对听觉影响的研究发现,2~15 Hz、113~115 dB 次声作用 40 min,受试者不出现暂时性听阈位移;当次声声压级水平高于 137 dB 时,作用 3 min 即发生 10 dB 暂时性听阈位移现象^[5]。次声的声压级水平与作用方式对听阈的影响较大。张术等^[2,6]观察了豚鼠在 8 Hz、125 dB 的次声每天暴露 2 h 的条件下听阈及耳蜗毛细胞的变化,发现次声暴露 30 d 的豚鼠听力降低,并出现以外毛细胞为主的损伤表现。冯勃等^[7]研究发现,将豚鼠置于 8 Hz、135 dB 次声声场中连续暴露 90 min,各前庭终器超微结构呈现不同程度的损伤,还发现强次声波可导致豚鼠耳蜗外毛细胞功能明显减退。强次声暴露可能同时引起豚鼠听器的毛细胞和听神经的损伤和 Corti 超微结构的不同程度损伤,从而引起听力学特征性改变^[8]。但关于次声暴露后豚鼠听力变化规律,听力损伤程度与声压级水平和次声暴露时间的关系尚需进一步阐明。

本实验采用 ABR 和 DPOAE 为评价指标,检测次声暴露后对豚鼠听觉的影响。ABR 在评价听觉和脑干

通路的完整功能方面已成为常规听力学和神经学的重要检测手段之一^[9,10],广泛应用于临床。本实验发现,次声对豚鼠听力影响与次声的声压级水平有关,16 Hz、90 dB 次声暴露对豚鼠的听力影响有一定的特点,在暴露第 1 天引起潜伏期延长和听阈升高,虽然与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),但是由于潜伏期延长和听阈升高是非兴奋的表现,根据实验的一般规律,我们认为该数据是异常数据,应予以舍弃。此后随着次声作用时间的增加,即次声暴露 7, 14, 21 d,每天 2 h,豚鼠产生适应性,听力逐渐恢复;次声暴露 28 d,累积一定强度克服了适应性,又开始出现听力改变,潜伏期延长,听阈升高,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。16 Hz、130 dB 次声暴露,1 d 和 7 d 组潜伏期延长,听阈升高,但差异无统计学意义,系因强次声波刺激后,易产生抑制;随暴露时间延长,实验组的 14, 21, 28 d 组豚鼠的潜伏期逐渐延长,听阈升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),分析是因为累积效应所致。目前的研究认为,次声主要引起组织器官、细胞、细胞器及生物大分子的共振反应^[11,12]。生物体各部分及结构均有一定的固有振动频带,当生物体暴露于次声场时,诱发生物体组织结构发生共振,引起细胞、分子结构发生改变,进而影响生物体内的理化过程

和功能状况。次声对听力的损害,因共振机制而有多层次、全方位的特点^[4]。因此次声不仅能通过耳听器,还可通过生物共振机制可直接作用于中枢听觉系统^[13]。

1978 年 Kemp^[14] 在正常人外耳道记录到耳声发射以来,DPOAE 已广泛应用于耳科学的基础和临床研究。DPOAE 属波形固定的耳声发射,具有良好的频率特异性,通过 DP-gram 幅值可了解相对应频率处耳蜗,特别是外毛细胞的功能状态^[15]。研究表明,耳声发射反映耳蜗内主动性机械活动。当耳蜗同时受到两个不同频率的纯音作用时,由于耳蜗的非线性调制作用可使行波在基底膜上一定部位的运行发生障碍,引起一定频率能量的逆行折返,形成调制 DPOAE^[16]。DPOAE 能够直接反映耳蜗外毛细胞的生理功能,并具有频率特性,可用于观察耳蜗不同频率区域的功能状态^[17],是一种较好的听功能检测方法。有实验证实,在外毛细胞排列紊乱、数量减少或缺失时,耳声发射反应会下降或消失,如果外毛细胞发育正常而内毛细胞的数量仅是正常数量的 20% 时,畸变产物耳声发射的反应幅值也将受到影响,外毛细胞的主要功能是接受来自皮质中枢的信息,对中枢传出的指令做出反应,因此外毛细胞与耳的主动性行为——耳声发射有关^[15,16]。也有学者观察到,豚鼠螺旋神经节内具有对次声敏感的神经元,这些神经元有较高的平均自主放电频率(115imp/s),通过细胞内注射辣根过氧化酶的方法,在螺旋神经节记录到对次声敏感的传入神经纤维,并发现这些纤维支配着耳蜗基底膜顶端 90 ~ 950 μm 区域内的毛细胞,即外毛细胞^[18]。本实验 DPOAE 检测结果显示,16 Hz、90 dB 组次声波暴露后,豚鼠各个频率 SNR 值在各时间点均未见明显改变,豚鼠内耳毛细胞未出现损伤。16 Hz、130 dB 次声暴露 1, 7, 14 d 组豚鼠各个频率 SNR 值有下降。16 Hz、130 dB 次声暴露 21, 28 d 组与对照组比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。DPOAE 在低频和中频出现明显降低,在实验 28 d 组幅值低于本底噪音 3 dB,证明低频和中频区豚鼠外毛细胞受到损伤,具有典型的累积损伤效应。

本实验首次利用 ABR 和 DPOAE 两个指标对次声作用后豚鼠听觉的变化进行了检测,证实了次声可以通过耳传音系统致耳蜗损伤,以及次声对豚鼠听觉作用的量效累积,为进一步研究次声的作用机制和次声

卫生防护标准问题奠定了一定基础。

参 考 文 献

- [1] 陈景藻. 次声的产生及生物学效应. 国外医学物理医学与康复学分册, 1999, 19: 9-14.
- [2] 张术, 黄维国, 刘顺利, 等. 慢性次声暴露对豚鼠听阈及耳蜗毛细胞的影响. 陕西医学, 1997, 27: 253-254.
- [3] 邢晓辉, 陈景藻. 次声刺激诱导大鼠听中枢 FOS 蛋白的表达. 中华物理医学杂志, 1998, 20: 165-167.
- [4] 赵乃坤, 杜维霞, 刘秀敏, 等. 次声对动物生物效应的研究. 中华劳动卫生职业病杂志, 1993, 11: 338-340.
- [5] Mohr GC, Cole JN, Guild E, et al. Effects of low frequency and infrasonic noise on man. *Aerosp Med*, 1965, 36: 817-824.
- [6] 张术, 黄维国, 邱建华, 等. 慢性次声暴露对豚鼠耳蜗毛细胞听毛形态学的影响. 第四军医大学学报, 2002, 23: 1742-1744.
- [7] 冯勃, 姜泗长, 杨伟炎, 等. 强次声波对豚鼠听功能的影响. 中国公共卫生, 2001, 17: 22-23.
- [8] 冯勃, 姜泗长, 杨伟炎, 等. 强次声波对豚鼠 Corti 器超微结构的损伤. 中华耳科杂志, 2006, 4: 65-68.
- [9] Stapells DR. Auditory brainstem response assessment of infants and children. *Seminars in Hearing*, 1989, 10: 229-250.
- [10] 郭连生, 戚以胜, 唐小青, 等. 早产儿听神经通路的发育神经生物学特性. 生物物理学报, 1992, 4: 669-674.
- [11] 妙中启子. 超低周波空气振动对关实验研究. 日本耳鼻喉科学会学报, 1989, 92: 1399-1408.
- [12] Batanov GV. Characteristics of etiology of immediate hypersensitivity in condition of exposure to infrasound. *Radiats Biol Radioecol*, 1995, 35: 78-82.
- [13] Орошев АС. Воздействие физико-химических факторов внешней среды на организм и поддержание гомеостаза. Сб. науч. тр, 1988: 97-100.
- [14] Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am*, 1978, 64: 1386-1391.
- [15] Whitehead ML, Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Evidence for two discrete sources of 2f1-f2 distortion-product otoacoustic emission in rabbit. II: Differential physiological vulnerability. *J Acoust Soc Am*, 1992, 92: 2662-2682.
- [16] Kemp DT. Otoacoustic emissions traveling waves and cochlear mechanisms. *Hear Res*, 1986, 22: 95-104.
- [17] Hu BH, McFadden SL, Salvi, et al. Intracochlear infusion of buthionine sulfoximine potentiates carboplatin ototoxicity emissions in chinchilla. *Hear Res*, 1999, 128: 125-134.
- [18] Schermuly L, Klinke R. Infrasound sensitive neurones in the pigeon cochlear ganglion. *J Comp Physiol [A]*, 1990, 166: 355-363.

(修回日期: 2007-01-17)

(本文编辑: 松 明)