

• 实验研究 •

双侧耳蜗切除术致听力剥夺大鼠的 听性脑干反应改变*

韩海霞¹ 徐鸥¹ 黄河银² 王玉杏¹ 路虹¹

[摘要] 目的:通过比较大鼠在双侧耳蜗切除术后不同时间点听性脑干反应(ABR)的变化,探讨 ABR 在测试听力剥夺大鼠模型中的应用价值。方法:选取 2 周龄 SD 大鼠 40 只,随机分为实验组 4 组(2 周组、4 周组、6 周组、8 周组)和对照组 4 组,每组 5 只(10 耳)。实验组动物在双侧耳蜗损毁术后不同时间点与其对照组行 ABR 检测,记录 ABR 阈值及各波潜伏期和波间期。结果:实验组 ABR 反应阈明显升高,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$),各波潜伏期和波间期明显延长($P < 0.01$);实验 2 周组、4 周组与 6 周组和 8 周组相比,ABR 反应阈的差异也有统计学意义($P < 0.01$)。结论:双侧耳蜗切除术可导致大鼠 ABR 反应阈明显增高,各波潜伏期和波间期明显延长;听力剥夺效果从术后 4 周开始越发明显。

[关键词] 大鼠;听力剥夺;听性脑干反应

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.07.010

[中图分类号] R764.04 **[文献标志码]** A

Change of auditory brainstem response in hearing deprivation rat model induced by bilateral cochlears ablation

HAN Haixia¹ XU Ou¹ HUANG Heyin² WANG Yuxing¹ LU Hong¹

(¹Department of Otolaryngology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050000, China; ²Department of Otolaryngology, Sichuan Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Chengdu)

Corresponding author: LU Hong, E-mail: wx_900804@163.com

Abstract Objective: To observe the change of auditory brainstem response (ABR) in hearing deprivation rat model induced by bilateral cochlears ablation at different time points. **Method:** Forty SD rats were randomly divided into four experiment groups including 2-week group, 4-week group, 6-week group, 8-week group and four control groups with 5 rats ($n = 10$) in each group. Then bilateral cochlears ablation was applied to experiment groups. The threshold value of ABR was measured at different time and latentperiod of each wave was compared. **Result:** The threshold of ABR in experiment group was elevated significantly. The latentperiod of each wave was prolonged significantly ($P < 0.01$). In experiment group, the threshold value of ABR in 2-week and 4-week group was significantly greater than that in 6-week group and 8-week group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Bilateral cochlears ablation surgery could elevate the threshold of ABR and latentperiod of each wave prolonged. The effect of hearing deprivation became apparent after surgery for 4 weeks.

Key words rat; hearing deprivation; auditory brainstem response

据世界卫生组织估算,2005 年全球共有 6.4 亿不同程度的听力障碍患者。2011 年中国首届国际听力康复大会指出,听力障碍患者在我国约占 2 780 万,居各类残疾人群之首,其中还不包括大量迟发型听力障碍的儿童。面对如此严峻的国际形势,大量学者借助听力剥夺的动物模型,对听力障

碍进行了长期的研究。听力剥夺是指因为药物致聋、噪声致聋和双侧耳蜗损毁致聋等方法引起听觉外周器官在结构和(或)功能上的改变,进而再逐级影响听觉中枢的间接性退变^[1]。学者们借助听力剥夺模型,可将相关研究领域延伸至神经核团、神经递质、神经投射、基因调控和神经元细胞凋亡蛋白酶等若干方面^[2],进而研究听中枢结构和功能的可塑性变化。因此,如何全面评估该类动物模型的听力,对整个研究领域的进行和拓展都非常重要。本文旨在通过观察听力剥夺后大鼠 ABR 的表现,探讨 ABR 对听力剥夺大鼠模型在听力评估方面的可行性和实用性。

* 基金项目:河北省自然科学基金资助项目(No: C2011206036);河北省卫生厅医学科学研究重点课题计划资助项目(No:20110375)

¹ 河北医科大学第二医院耳鼻咽喉科(石家庄,050000)

² 四川省中西医结合医院耳鼻咽喉科

通信作者:路虹, E-mail: wx_900804@163.com

1 资料与方法

1.1 分组和造模^[3]

选取 40 例 2 周龄的 SPF 级 SD 大鼠,随机分为 4 个实验组(分别为 2 周组、4 周组、6 周组、8 周组)和 4 个对照组,每组各 5 只(10 耳)。按 8 ml/kg 给予动物 5% 水合氯醛溶液行腹腔注射麻醉,固定大鼠,取侧卧位,沿耳后沟作长约 1.5 cm 的弧形切口。采用解剖显微镜,逐层分离组织,暴露听泡,在听泡表面前中 1/3 处钻孔,显露耳蜗;在鼓岬隆起的最高处钻孔,当出现落空感后停止操作,可见透明的淋巴液溢出;用钩针伸入钻孔处并适度旋转,即可绞毁蜗轴和骨螺旋板;将一小块明胶海绵放置于术腔鼓室内,贯穿缝合切口;再将大鼠置于安静而黑暗的环境中保温复苏,术后 1 周拆线^[4]。

1.2 ABR 听力测试方法

ABR 听力测试在造模手术后以不同时间点分组进行,实验组和对照组同时测试。测试方法:按 8 ml/kg 给予动物 5% 水合氯醛溶液行腹腔注射,麻醉满意后,在鼻尖、鼻背、额顶、双侧耳廓背面备皮,彻底去除体毛,完整暴露皮肤;再进入隔声屏蔽室内,将记录电极贴于大鼠额顶正中,参考电极贴于耳廓背面,接地电极贴于鼻尖鼻背处,同时将耳机妥善固定于离外耳道口 1 cm 处;ABR 测试仪为美国 Nicolet 诱发电位仪,将极性选择为交替波,用滤波短声刺激,带通滤波 0.1~3.0 kHz,刻度 0.5 μV,速率 21.1 s,增益 50 k,脉冲宽 0.1 ms,扫描时间 10 ms,叠加 1000 次;刺激声强度从 95 dB SPL 开始,以每 5 dB SPL 的递减级别来观察波 V 的改变,以能引出可重复记录到波 V 的最小声强作为 ABR 的反应阈^[5],同时记录 80 dB SPL 时各波的潜伏期和波间期。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验前后的 ABR 反应阈比较用

配对 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

造模手术后第 2 天,大鼠能饮水进食,直线爬行,抬头居中,拎尾悬空能保持平衡,但对对照组相比,实验组大鼠的活动减少,反应迟缓,耳廓反射消失。各组 ABR 反应阈、各波潜伏期和波间期测试结果见表 1。

3 讨论

在生理情况下,耳蜗、传入神经系统及传出神经系统共同构成了听觉传导通路的有机体。传入神经系统将声信号上传至各级神经元进行信息处理并产生听觉;传出神经系统通过调节耳蜗的机械状态来增强其在噪声中提取信号的能力^[6]。而 ABR 作为一种客观的系统的听力学检查手段,可对此信号提取能力做出客观的量化的反映。由于不受主观作用限制,且能在睡眠中顺利完成,ABR 已被广泛应用于基础动物实验的听力评估中,它是一种科学的有效的监测这种代偿机制作用大小的指标^[7]。

在病理情况下,通过双侧耳蜗切除术导致大鼠听力剥夺以后,传入神经系统接受到的听信号明显减少,势必造成听觉中枢信号处理速度在 4 个由低到高的梯级神经元上发生延迟,而这种延迟变化势必产生“多米诺骨牌”效应,并且会随着时间的推移越来越重^[8]。具体反映在 ABR 上,即是量化以后的各个波值均会在潜伏期和波间期出现不同程度的延长。Liu 等^[9]通过反复注射水杨酸钠的方法观察大鼠 ABR 的反应阈改变,结果发现多次接受注射的那一组大鼠在 ABR 上明显表现为各波波幅下降;不仅如此,研究者们还发现随着水杨酸钠注射时间的继续延长,各波潜伏期不断延长,反应阈不断上升,直到最后出现无法引出的状况。这一点和本实验的 8 周组结果相同,因为严重的失代偿反应已经造成了不可逆的病理改变。

表 1 各组 ABR 反应阈、各波潜伏期和波间期的测试结果

$\bar{x} \pm s$

组别	潜伏期/ms			波间期/ms			反应阈/dB SPL
	I	III	V	I~III	III~V	I~V	
实验组							
2 周组	1.98±0.13 ¹⁾	2.85±0.16 ¹⁾	4.02±0.19 ¹⁾	1.04±0.16 ¹⁾	2.11±0.41 ¹⁾	3.87±0.23 ¹⁾	85.1±1.72 ¹⁾
4 周组	2.07±0.16 ¹⁾	3.01±0.14 ¹⁾	5.35±0.22 ¹⁾	1.33±0.27 ¹⁾	2.28±0.15 ¹⁾	4.19±0.20 ¹⁾	86.3±0.98 ¹⁾
6 周组	2.50±0.16 ¹⁾	4.66±0.22 ¹⁾	7.23±0.17 ¹⁾	2.16±0.31 ¹⁾	2.57±0.16 ¹⁾	4.73±0.22 ¹⁾	90.9±1.49 ¹⁾²⁾
8 周组	未引出	未引出	未引出	未引出	未引出	未引出	96.5±0.90 ¹⁾²⁾
对照组							
2 周组	0.82±0.10	1.80±0.77	2.74±0.15	0.99±0.11	0.94±0.21	1.90±0.65	12.9±2.57
4 周组	0.92±0.10	2.02±0.10	2.94±0.14	1.11±0.26	0.92±0.18	2.02±0.31	13.3±2.46
6 周组	0.84±0.11	1.92±0.02	2.83±0.21	1.01±0.13	0.93±0.12	1.97±0.03	12.5±2.61
8 周组	0.87±0.08	1.99±0.14	2.90±0.14	1.07±0.22	0.94±0.19	1.91±0.15	13.3±2.47

与对照组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与实验组比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

在本次实验中,ABR 反应阈在 2 周组和 4 周组间没有差异,可能是因为在大鼠听力剥夺后的早期,虽然外周听器的细胞数量急剧减少,但传入神经系统会以减少传入信号的方式将损害信息传递给听觉中枢^[10],后者为了使外周听器适应损伤后的病理状态,会导致自身和外周都发生结构和功能的可塑性变化,从而在一定时间内产生相应的代偿机制^[11],导致听觉中枢的凋亡程度并非很大。这一点和李孟等^[12]的研究结论相符。他们着眼于 1 个月之内的大鼠听中枢突触素的表达情况,发现突触素在术后会因为出芽而短暂增高,以第 3 天为最,然后会因为轴突末梢找不到靶器官逐渐下降至第 2 周;此时,突触终末重获新生,免疫活性逐渐增强,虽然到第 3 周为最强,却又因为失代偿作用逐渐下降至第 4 周,这个结论直接说明了突触素在 2 周以前的活性表达是相对较高的,从而导致“去抑制—邻取代—突触轴”的代偿进行过程是相对较快的^[13-14],并由此产生了相对较强的听觉中枢可塑性,才使得本次实验的 ABR 反应阈值在 2 周组和 4 周组间的差异无统计学意义。

从 ABR 反应阈可以看出,4 周、6 周和 8 周组间均存在差异性,这是因为听力剥夺导致听觉中枢发生凋亡,凋亡程度因得不到补偿而越来越大^[15],并最终会持续到术后 4 个月。这一点已经得到张萌等^[3]的证实,他们借助⁹⁹Tc^m-Annexin V 活体细胞凋亡显像仪研究了大鼠蜗核神经元在第 4 个月时的凋亡情况,发现实验组的苏木精-伊红染色细胞计数明显减少并且表现出凋亡的特征性改变,从而证明了凋亡在术后较长时间的持续存在。

综上所述,ABR 在听力监测与评估中具有重要意义,且 ABR 检测操作简单,无创伤,客观实用,不受动物智能和意识形态的影响,在与听力相关的基础动物实验中具有非常重要的应用价值。

参考文献

- [1] CHANCE S A, CASANOVA M F, SWITALA A E, et al. Auditory cortex asymmetry, altered minicolumn spacing and absence of ageing effects in schizophrenia [J]. *Brain*, 2008, 131: 3178-3192.
- [2] FRANKLIN S R, BRUNSO-BECHTOLD J K, HENKEL C K. Bilateral cochlear ablation in postnatal rat disrupts development of banded pattern of projections from the dorsal nucleus of the lateral lemniscus to the inferior colliculus[J]. *Neuroscience*, 2008, 154: 346-354.
- [3] 张萌, 陈晓巍, 田永胜. 耳蜗损毁后小鼠听觉中枢的退行性改变[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 44(7): 571-576.
- [4] HEYDT J L, CUNNINGHAM L L, RUBEL E W. Round window gentamicin application: an inner ear hair cell damage protocol for the mouse [J]. *Hear Res*, 2004, 192: 65-74.
- [5] FIRAT Y, KIZILAY A, OZTURAN O, et al. Experimental otoacoustic emission and auditory brainstem response changes by stellate ganglion blockage in rat [J]. *Am J Otolaryngol*, 2008, 29: 339-345.
- [6] 陈抗松, 廖华, 杨希林, 等. 水杨酸钠致耳鸣大鼠的行为学及听性脑干反应改变[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2013, 21(2): 322-324.
- [7] HSU G S. Improving hearing in stapedectomy with Intraoperative ABR [J]. *Otolaryngol Head and Neck Surg*, 2011, 144:60-63.
- [8] ABUMARIA N, YIN B, ZHANG L, et al. Effects of elevation of brain magnesium on fear conditioning, fear extinction, and synaptic plasticity in the infralimbic prefrontal cortex and lateral amygdala [J]. *J Neurosci*, 2011, 31: 14871-14881.
- [9] LIU X P, CHEN L. Auditory brainstem response as a possible objective indicator for salicylate-induced tinnitus in rats [J]. *Brain Res*, 2012, 1485: 88-94.
- [10] KRAUS K S, DING D, ZHOUB Y, et al. Central auditory plasticity after carboplatin-induced unilateral inner ear damage in the chinchilla: up-regulation of GAP-43 in the ventral cochlear nucleus [J]. *Hear Res*, 2009, 255: 33-43.
- [11] CASPARY D M, LING L, TURNER J G, et al. Inhibitory neurotransmission, plasticity and aging in the mammalian central auditory system [J]. *J Exp Biol*, 2008, 211(Pt 11): 1781-1791.
- [12] 李孟, 华清泉, 廖华, 等. 双侧耳蜗损毁后大鼠听皮层突触素表达的变化 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2008, 16(6): 495-498.
- [13] KRAUS K S, DING D, ZHOUB Y, et al. Central auditory plasticity after carboplatin-induced unilateral inner ear damage in the chinchilla: up-regulation of GAP-43 in the ventral cochlear nucleus [J]. *Hear Res*, 2009, 255: 33-43.
- [14] DOBIE F A, CRAIG A M. Inhibitory synapse dynamics: coordinated presynaptic and postsynaptic mobility and the major contribution of recycled vesicles to new synapse formation [J]. *J Neurosci*, 2011, 31: 10481-10493.
- [15] KRASNIKOV B F, MELIK-NUBAROV N S, ZOROVA L D, et al. Synthetic and natural polyanions induce cytochrome c release from mitochondria in vitro and in situ [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 300: C1193-C1203.

(收稿日期:2013-06-07)