

• 实验研究 •

耳蜗畸变产物与耳蜗活性关系的 激光干涉研究*

龙贤明¹ 张艳平² 鲁杰³ 龙长才³

[摘要] 目的:研究耳蜗中畸变产物与耳蜗活性及听觉感知的关系。方法:对 20 例刚从豚鼠活体分离耳蜗,用激光干涉记录其基膜在频率为 $f_1=1000\text{ Hz}$ 、 $f_2=1400\text{ Hz}$ 声激励下的振动,直致基膜振动信号完全消失。通过频谱分析,得到基膜振动信号中畸变产物以及激励信号成份随耳蜗离体时间的变化。结果:耳蜗离体后半小时内,基膜振动中除了有激励信号的振动外,均观察到畸变成份,同时还能观察到两音抑制效应。随着时间推移,畸变产物以及激励信号频率成份的幅度均不断减小。最后,畸变产物率先在基膜振动信号中消失,而激励频率成份 f_1 、 f_2 信号则在畸变产物消失后持续存在了一段时间才消失。在畸变产物消失后,基膜的振幅显著减小,两音抑制效应也同时消失。结论:耳蜗中畸变产物是耳蜗主动活性的标志,正是这一活性使得基膜对激励信号有更大幅度振动响应并产生听觉中的两音抑制效应。前者使得听觉具有高的灵敏度,从而感知小的声音激励,后者使得听觉能增强和提取有意义的声信号特征。

[关键词] 耳蜗;基膜的振动;畸变产物;激光干涉测量法

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2015.18.015

[中图分类号] R764.35 **[文献标志码]** A

Relationship of distortion product in cochlea with cochlear activity revealed by laser interferometry

LONG Xianming¹ ZHANG Yanping² LU Jie³ LONG Changcai³

(¹Department of Neurosurgery, Hanchuan People's Hospital, Hanchuan, 431600, China; ²Hospital of Huazhong University of Science and Technology; ³School of Physics, Huazhong University of Science and Technology)

Corresponding author: LONG Changcai, E-mail: longzc01@mails.tsinghua.edu.cn

Abstract Objective: To study the relationship of distortion product in cochlea with cochlear activity and hearing. **Method:** Time variances of distortion product of basilar membrane vibration in vitro guineapig cochlea were observed by laser interferometry. **Result:** Within half hour after a cochlea was isolated from a guineapig, distortion product accompanied with two-tone inhibition in cochlea, can be observed. As time passed, distortion product and

* 基金项目:国家自然科学基金(No:11374118);湖北省自然科学基金(No:2013CFB280)

¹ 汉川市人民医院神经外科(湖北汉川,431600)

² 华中科技大学校医院

³ 华中科技大学物理学院

通信作者:龙长才, E-mail: longzc01@mails.tsinghua.edu.cn

[11] CURTHOYS I S, IWASAKI S, CHIHARA Y, et al. The ocular vestibular-evoked myogenic potential to air-conducted sound: probable superior vestibular nerve origin[J]. Clin Neurophysiol, 2011,122: 611-616.

[12] VON BREVERN M, SCHMIDT T, SCHONFELD U, et al. Utricular dysfunction in patients with benign paroxysmal positional vertigo [J]. Otol Neurotol, 2006,27: 92-96.

[13] BREMOVA T, BAYER O, AGRAWAL Y, et al. Ocular VEMPs indicate repositioning of otoconia to the utricle after successful liberatory maneuvers in benign paroxysmal positioning vertigo [J]. Acta Otolaryngol, 2013,133:1297-1303.

[14] HONG S M, PARK D C, YEO S G, et al. Vestibular evoked myogenic potentials in patients with benign parox-

ysmal positional vertigo involving each semicircular canal [J]. Am J Otolaryngol, 2008,29:184-187.

[15] NAKAHARA H, YOSHIMURA E, TSUDA Y. Damaged utricular function clarified by oVEMP in patients with benign paroxysmal positional vertigo [J]. Acta Otolaryngol, 2013,133:144-149.

[16] 黄爱萍, 顾东胜, 王小姣, 等. 原发性良性阵发性位置性眩晕患者前庭诱发肌源性电位检测的意义[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 28 (16):1215-1218.

[17] YETISER S, INCE D, GUL M. An analysis of vestibular evoked myogenic potentials in patients with benign paroxysmal positional vertigo[J]. Acta Otolaryngol, 2014,123: 686-695.

(收稿日期:2015-03-16)

two-tone inhibition effect disappeared at the same time. After that, the membrane continue vibrating in response to the sound stimulus, but the vibration amplitude decreased obviously and continued decreasing until it disappeared completely. **Conclusion:** Distortion product in cochlea is a symbol of cochlear activity which makes the membrane respond in large amplitude vibration to sound stimulus and exhibit two-tone inhibition. The former makes the hearing highly sensitive to sound stimulus, the later makes the hearing perform information abstract well.

Key words cochlea; basilar membrane; distortion product; laser interferometry

当频率为 f_1 、 f_2 ($f_2 > f_1$) 的 2 个纯音激励时,听力正常人除了感觉到 2 个激励信号存在以外,还能感觉到频率为 $pf_2 - qf_1$ (p, q 为整数) 的音(称为畸变产物 Distortion product 或结合音 Combination tone)存在。畸变产物也在两音诱发听觉正常人的耳声发射中存在,称为畸变产物耳声发射(DPOAE)。自 Kemp 于 1979 年发现以来,畸变产物耳声发射已越来越多地作为一种非介入工具,在临床上用于听觉检查与诊断^[1]。尽管如此,DPOAE 的产生机理并不清楚^[2],畸变产物的有无与听觉功能之间的联系与机理更不清楚。这使得对畸变产物检测结果传递的听觉功能信息的解读与理解,以及据此如何作出更为深入的听觉诊断仍是一个问题。为此,本研究采用激光干涉测量方法,对豚鼠刚离体耳蜗基膜振动的畸变产物分析,观察随耳蜗活性消失,畸变产物以及基膜振动反应的变化特征及其内在联系。研究和揭示了与畸变产物相伴的基膜振动特征及其与听觉感知的联系,为基于畸变产物的听力诊断提供了生理基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

20 只健康豚鼠(毛色、雌雄不限),购于湖北省疾控中心下属实验动物研究中心,体重 400 ~ 500 g,在显微镜下检查外耳道及鼓膜无异常。

1.2 标本制作

麻醉采用腹腔注射浓度为 3% 的戊巴比妥钠溶液,按 30 mg/kg 剂量给药,对豚鼠深度麻醉。在豚鼠的左耳做好标记,然后取出带有耳道的鼓泡。打开鼓泡,暴露半透明的耳蜗。找到耳蜗上第一圈的前庭阶末端,用专门的钢针挑出一个直径约 200 μm 的微孔。把耳蜗固定在专门的夹具上。切除豚鼠的耳廓,只留下外耳道。

1.3 刺激信号

用北京普源精电科技有限公司 DG4062 数字信号发生器及其配套软件 Ultra Station 生成高精度信号,信号分别为 $f_1 = 1000$ Hz、 $f_2 = 1400$ Hz 的纯音,以及两者的复合音,复合音信号满足: $s(t) = A_1 \sin 2\pi f_1 t + A_2 \sin 2\pi f_2 t$ 。

将所生成的信号保存为 RAF 格式,通过 DG4062 读取,然后输入到 AC33 听力计(丹麦 CLIN-CIAL Audiometer)的 CD/tape 输入,由听力计放大后到 AC33 配套插入式耳机(3M 公司 EARTONE-3A)

输出。音量大小由 AC33 的音量键控制。

1.4 激光干涉测量装置

对于耳蜗基膜振动畸变产物研究来说,激光干涉测量是一个关键性的装置。它需要有纳米级的分辨和良好的线性性,以保证测到基膜振动且没有因非线性失真带来的假象。文献中已有的测量装置采用多普勒干涉测量方法,通过多普勒频率移动解码,得到振动速度,难以在这 2 个方面同时满足要求。为此,我们通过国家自然科学基金支持,用 4 年的时间专门针对耳蜗基膜振动测量研究了新的测量装置。装置采用最新的皮秒时差测量技术对干涉信号相位解码,首次实现振动位移 0.1 nm 分辨、无非线性失真直接测量,为基膜振动非线性研究提供了条件^[3]。同时,对光路所作的优化,使得无需在耳蜗内投放反光微珠,即可对耳蜗的微反光振动作测量,避免反光微珠的振动是否与基膜振动一致的问题。测量中,激光引入到专门设计的显微镜物镜下输出照射到待测标本上。显微镜的镜头使用的是的放大倍数,通过调节显微镜的旋钮与夹具的旋钮,把耳蜗摆在一个合适的角度。通过目镜调节,使测量激光束聚焦在被测耳蜗的基膜上。然后连续播放声音刺激,通过安装有数据采集卡的计算机采集干涉仪输出的耳蜗基膜振动信号,在计算机上显示振动信号并采集,直到耳蜗基膜振动信号完全消失。

1.5 基膜振动数据记录与分析

测得的基膜振动位移数据记录在计算机内,测量结束后再作分析。其中的振动频率成份通过 matlab 快速富里叶变换程序对振动信号分析得到。

2 结果

2.1 基膜振动波形与频谱

图 1、2 分别是频率为 1000 Hz 和 1400 Hz 的纯音单独激励时记录的基膜振动波形与频谱。记录显示,我们所采用激励信号强度记录的振动幅度为 10 ~ 40 nm,频谱分析表明,单频激励的基膜振动响应主要频率集中在激励信号频率上,其他信号频率成份很小。图 3 是频率为 1000 Hz 与 1400 Hz 纯音同时激励时在基膜上所测量到的振动波形与频谱。从波形中我们可以清楚的看到刺激信号被很好的展现出来,频谱分析表明,振动信号中除了有激励信号的成分外,还有 $f_2 - f_1$ 、 $2f_2 - f_1$ 、等畸变成份存在。我们将对基膜振动谱中谱峰的

频率和幅度作分析,以研究其随耳蜗离体的时间的变化,直至声音不能激起振动为止。

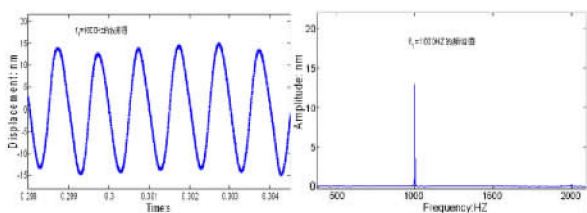


图 1 $f_1 = 1000$ Hz 信号刺激下基膜振动波形与频谱

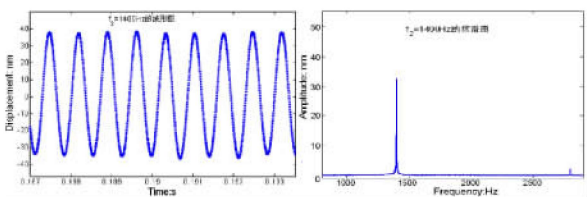


图 2 $f_2 = 1400$ Hz 频率激励下测到的基膜振动波形与频谱

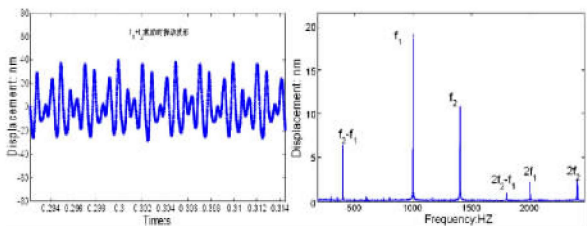


图 3 $f_1 + f_2$ 刺激下测到的基膜振动波形与频谱

2.2 双音刺激的基膜振动随时间的变化

图 4 给出的是在频率为 $f_1 = 1000$ Hz 和 $f_2 = 1400$ Hz 的 2 个纯音同时激励下基膜振动在开始记录数据后 2、16、25、35 min, 4 个不同时刻频谱图。它表明刚离体的耳蜗基膜振动,除了有激励信号成份以外,还有畸变产物成份。随着时间的推移,激励信号以及畸变成份的幅度有一个先上升的过程,记录开始后 16、25 min 时的振幅及畸变产物的幅度比开始后 2 分钟时的幅度还要大。随后所有成份的幅度均随时间减小,到一定的时间,基膜的振动中只有激励信号的频率成份,没有畸变产物成份,且激励信号的成份已很小(图 4 中第 35 min 的结果)。只有激励信号频率成分,没有畸变成份的基膜振动持续一段时间后,基膜的振动彻底消失。图 5 分别给出了另外 2 个离体耳蜗在不同声音强度(76、70 dB)下的基膜振动响应频率成份随时间的变化。这些结果均表明,不论是刺激频率的振幅还是它们的差频的振幅,都经历了一个先增加后减小的变化过程。而在测量后期,虽然还有刺激频率的响应,畸变成份却已经消失。上述结果显示畸变产物并不是总与激励信号的成份同时存在的,而是

先于激励信号频率成份消失,且畸变成份的消失伴随着激励成份振动幅度的显著减小。这表明,畸变产物与耳蜗活性相连,而这个活性与基膜的振幅响应关联。在与畸变产物关联的活性消失时,基膜仍然有振动响应,但与有活性时相比,振幅显著减小。

2.3 单一频率刺激与两音同时刺激的响应

为了进一步研究与畸变产物相伴的活性在听觉感知中的意义,我们进一步研究伴随畸变产物随时间变化,两音抑制现象的相应变化。研究方法是,在两音同时激励后,马上记录只有 2 个音分别单独激励时基膜的振动。通过比较 2 个纯音单独激励时基膜振动幅度与 2 音同时激励的基膜振动幅度,可以发现,单独激励的响应幅度比 2 个音同时激励时相应频率响应幅度大,即 2 个音同时播放时,2 个音的响应均受到对方抑制的两音抑制现象^[4]。

图 6 可以更加清楚的看到在整个测量过程中单独一个频率刺激的振幅比 2 个声音同时刺激时对应频率的振幅要大一些。随着耳蜗离体时间的增加有两点变化、一是单独激励的响应与两音同时激励的响应差别越来越小,这个过程中畸变产物的幅度也在减小;二是当畸变产物消失后,单独激励的响应幅度与同时激励的响应幅度的差别消失,即两音抑制现象消失。

3 讨论

上述实验结果表明,耳蜗基膜振动的畸变产物是耳蜗活性的标志。耳蜗离体后,这种活性能持续一段有限的时间,随着耳蜗活性消失,畸变产物也同时消失。有关耳蜗具有活性状态下的性能与特征研究可以在耳蜗离体后的有限时间内进行,而不必在体进行,这样可以减少实验的难度。

上述实验也表明,耳蜗畸变产物所反映的耳蜗活性,使得其具对声音激励有更灵敏的响应。因而,通过畸变产物是否存在来判断耳蜗工作状态是否正常的方法是合理的。同时,与畸变产物相连的还有两音抑制效应,随着耳蜗活性消失,两音抑制也一起消失。两音抑制效应在心里声学实验中早已观察到,被认为对听觉的信息处理、语音增强有重要的作用^[4]。这表明,在听力下降,感知灵敏度下降的同时,还伴随着听觉信息处理能力的下降。因此,畸变产物既可用于听力检测,又可用于听觉信息处理机能的检测。

最近,关于耳蜗中的非线性动力学理论研究认为,耳蜗是一个有主动力参与的 Hopf 振子。这样的振子同时具有非线性动态范围压缩、非线性调谐、两音抑制、畸变产物以及自持性震荡现象的发生^[4],本研究为这些理论进一步提供了实验支持。耳蜗的主动力来源一般认为是外毛细胞^[5],这意味

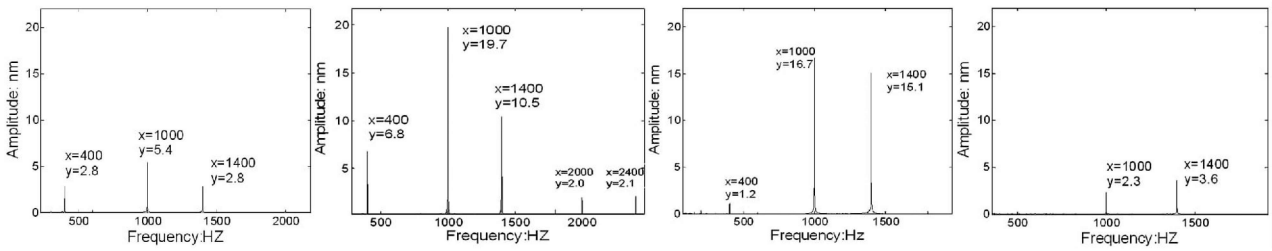


图 4 离体后不同时刻,同一耳蜗在 f_1 和 f_2 声音(强度不变)刺激下基膜振动频谱 图中的时间为开始做振动记录后的持续时间, x, y 表示每个峰值点频率、幅度。

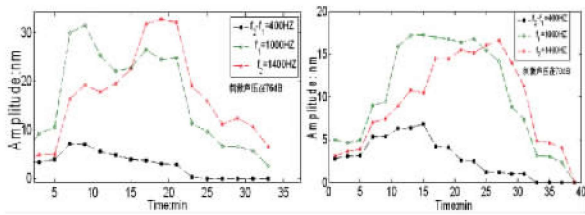


图 5 离体耳蜗在不同声压级(左图两激励信号的强度均为 76 dB、右图为 70 dB)的 $f_1 + f_2$ 复合音激励下基膜的振动激励成份与差频成份随时间变化的曲线 图中横坐标为开始记录振动后的时间。耳蜗离体时间比图中坐标上的时间更长,开始做振动记录之前,有大约 5 min 的调试时间。

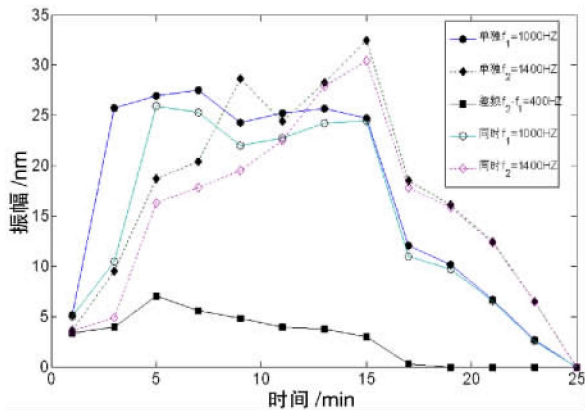


图 6 两音抑制与畸变产物的关系 图中横坐标为开始记录振动后的时间,5 条曲线分别为强度为 76 dB,频率为 1000 Hz、1400 Hz 信号单独激励的基膜振幅(—●—, —◆—),两音同时激励时的振幅(—○—, —◇—),以及差频成份的幅度(—■—)。

着畸变产物的存在是外毛细胞工作的标志,其所反映的耳蜗活性实质上是耳蜗外毛细胞活性。因此,基膜畸变产物的观察,是研究各种条件下外毛细胞活动的有效手段。

最后,本研究的实验结果有一个需要高度关注的现象:畸变产物以及单频激励的响应随耳蜗离体时间的增加而下降的过程不是单调的,在初期有一

个出人意料上升的过程。我们不知道这一过程是耳蜗离体后的生理变化结果,还是因为有声激励后变得更灵敏。如果仅从本实验来看,原因更可能是后者。因为,基膜振动幅度随时间上升的过程并不长,虽然每次固定耳蜗,调节好测量系统所花销的时间并不同,但基膜振幅随时间先增加后减小的过程在不同耳蜗却基本相同,没有观察到因为调节时间太长,而没有上升过程的现象。上升过程总是出现在有一段时间的声激励以后。如果产生这种现象的原因是声激励后的效应,那意味着持续先前激励能使耳蜗对同频率的后续激励响应更灵敏,这是听觉选择性注意的心理声学实验观察到的现象^[6]。如果是这样,这预示着这些实验中所观察到的所谓听觉选择性注意的听觉增强效应可能仅仅发生在耳蜗内,且不需要中枢神经的支配即可完成的外周传感效应,我们正对此展开进一步研究。

参考文献

[1] 姚岱君,胡志红,欧阳萍,等.应用畸变产物耳声发射进行新生儿听力筛查 388 例报告[J]. 听力学及言语疾病杂志,2007,15(4):279-279.

[2] HE W X, NUTTALL A L, REN T Y. Two-tone distortion at different longitudinal locations on the basilar membrane[J]. Hear Res,2007,228:112-122.

[3] WANG F, LONG Z C, ZHANG B, et al. High resolution heterodyne interferometer based on time-to-digital converter[J]. Rev Sci Instrum, 2012, 83: 45112-45112.

[4] STOOP R, KERN A. Two-tone suppression and combination tone generation as computations performed by the hopf cochlea [J]. Phys Rev Lett, 2004, 93: 268103-268103.

[5] JÉRÉMIE B, PASCAL M. Phantom tones and suppressive masking by active nonlinear oscillation of the hair-cell bundle[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: E1344-E1351.

[6] TAN M N, ROBERTSON D, HAMMOND G R. Separate contributions of enhanced and suppressed sensitivity to the auditory attentional filter[J]. Hear Res, 2008, 241: 18-25.

(收稿日期:2015-06-30)