

· 论 著 ·

两种刺激声在快速老化痴呆小鼠 ABR 测试中的比较^{*}罗香林, 刘强和[△], 陈顺香, 黄鑫

(桂林医学院附属医院耳鼻咽喉-头颈外科, 广西 桂林 541001)

摘要:目的 比较两种刺激声在快速老化痴呆小鼠亚系 8(SAMP8)听性脑干反应(ABR)测试中的异同点,为老年性耳聋动物模型的 ABR 测试选择声刺激类型提供依据。方法 分别采用短声(Click)和 8 kHz 短纯音(tone burst)对 SAMP8 和抗快速老化小鼠亚系 1(SAMR1)进行 ABR 测试,记录并比较在两种刺激声条件下各组动物 ABR 测试结果。结果 (1)与对照组比较,实验组 4 月龄和 10 月龄 SAMP8 小鼠的 8 kHz 短纯音 ABR 阈值均显著增高($P<0.05$ 和 $P<0.01$);而实验组短声 ABR 阈值只有 10 月龄 SAMP8 小鼠出现显著增高($P<0.05$);(2)与短声 ABR 比较,4 月龄 SAMP8 小鼠双耳 8 kHz 短纯音 ABR 阈值显著升高($P<0.05$)。结论 SAMP8 小鼠在 4 月龄时即出现听功能显著下降的老年性耳聋表现;8 kHz 短纯音 ABR 测试能够敏感地检测出 SAMP8 小鼠的早期听功能下降现象。

关键词:听性脑干反应;短声;短纯音;老年性耳聋动物模型**中图分类号:**R749.16**文献标识码:**A**文章编号:**1671-8348(2010)12-1484-03Comparison of two kinds of stimulus sounds in the ABR test for senescence accelerated mouse/prone8(SAMP8)^{*}LUO Xiang-lin, LIU Qiang-he[△], CHEN Shun-xiang, et al.

(Department of Otorhinolaryngology Readneck Surgery, Affiliated Hospital, Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

Abstract:Objective To compare the similarities and differences between two kinds of stimulus sounds in the auditory brainstem response(ABR) test for senescence accelerated mouse/prone8(SAMP8), and to give advices for the ABR test of animal models of age-related hearing loss. **Methods** Click and 8kHz tone burst were used respectively in the ABR test for SAMP8 and senescence accelerated mouse/resistance 1(SAMR1). Recorded and compared the ABR test results in each group. **Results** (1) Compared with the control group's, the tone burst ABR thresholds of experimental group, 4 months and 10 months SAMP8 were significantly higher($P<0.05$ and $P<0.01$); while the experimental group's, the click ABR thresholds occurred only 10 months SAMP8 significantly higher($P<0.05$); (2) The binaural tone burst ABR thresholds of 4 months SAMP8 were significantly higher ($P<0.05$). **Conclusion** The 4 months SAMP8 appear a significant decline in auditory function which shows presbycusis performance. While the tone burst ABR can be sensitive to assess the early decline in auditory function of SAMP8.

Key words: auditory brainstem response; click; tone burst; animal models of age-related hearing loss

听性脑干反应(auditory brainstem response, ABR)作为一种客观的电生理测试方法,由于其无创伤,检测设备与技术相对成熟而被广泛应用于临床和科研工作中。最常用的 ABR 刺激声是短声和短纯音。短声是宽频带噪声,为一种频谱覆盖范围宽的瞬态声或振动信号,频率特异性差,能量主要集中在 2~4 kHz;短纯音是时程少于 200 ms 的正弦信号,是时程短的纯音,时程从数十毫秒至数百毫秒不等,有频率特异性^[1]。本研究通过使用两种不同的刺激声,即短声和 8 kHz 短纯音对快速老化痴呆小鼠进行 ABR 测试,初步探讨何种刺激声类型的 ABR 测试能够敏感地检测出老年性耳聋动物模型听功能的早期下降现象,为今后老年性耳聋的研究提供理论参考。

1 资料与方法

1.1 实验动物及分组 选用 4 月龄和 10 月龄快速老化小鼠亚系 8(senescence accelerated mouse/prone8, SAMP8)各 6 只作为实验组;条件相同的 4 月龄和 10 月龄抗快速老化小鼠亚系 1(senescence accelerated mouse/resistance 1, SAMR1)各 6 只作为对照组。以上动物均购自天津中医药大学第一附属医院实验动物中心。

1.2 测试方法 采用美国 ICS MEDICAL 公司 CHARTR EP 测试系统,所有测试均在本院听力检测隔声屏蔽室内进行。短

声 ABR 测试:将动物用 1%戊巴比妥钠 45 mg/kg 腹腔注射麻醉,麻醉起效后将动物固定在 ABR 测试盒内,无躁动后将针形记录电极插入颅顶正中皮下,参考电极置于两侧乳突,鼻尖接地,极间电阻小于或等于 5 kΩ。双耳交替给声,TDH-49P 型耳机固定于测试盒上,耳机距外耳道口 0.5 cm。刺激声为疏密相交替的 21.1 次/s 的短声,带通滤波 100~3 000 Hz,分析时间 10 ms,叠加次数 1 024 次。刺激声强度从 90 dB SPL 开始,先以 10 dB 递减,然后以 5 dB 递减。能分辨出 I 或 II 波波型的最低刺激强度确定为 ABR 阈值,并重复 2 次^[2-3]。8 kHz 短纯音 ABR 测试:短声 ABR 测试完毕后,在动物清醒之前立即进行 8 kHz 短纯音 ABR 测试。声刺激持续时间 10 ms,间歇期 100 ms,上升/下降时间 1 ms,叠加次数 1 024 次,滤波频率为 100~3 000 Hz,刺激重复率 21.1 次/s。ABR 阈值判断方法同短声 ABR。

1.3 观察及记录指标 主要观察 ABR 波形情况,即 ABR 波形图;并分别记录在两种刺激声条件下各组动物的 ABR 阈值。

1.4 统计学方法 各组动物 ABR 阈值用 $\bar{x} \pm s$ 表示。运用 SPSS12.0 统计软件进行统计学分析。相同刺激声下,同月龄实验组和对照组的 ABR 阈值比较采用两独立样本均数比较的 t 检验;各组动物两种刺激声所得数据间的均数比较采用配对

^{*} 基金项目:教育部春晖计划科研项目(Z2005-2-45002);广西卫生厅科研项目(重 200746 和 Z2007193);广西自然科学基金资助项目(桂科自 0832270)。 [△] 通讯作者, E-mail: liuqianghe2000@tom.com。

样本 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ABR 波形图 快速老化痴呆小鼠(SAM)小鼠的短声 ABR 和 8 kHz 短纯音 ABR 波形基本相似,依次为 I、II、III、IV、V 排列的一组波群;同一刺激声相同刺激强度下,与 4 月龄 SAM 小鼠比较,10 月龄 SAM 小鼠波形分化欠佳,振幅更低。图 1~4 分别为 4 月龄 SAMR1,10 月龄 SAMR1,4 月龄 SAMP8,10 月龄 SAMP8 ABR 波形图(a 为短声 ABR 波形,b 为 8 kHz 短纯音 ABR 波形)。

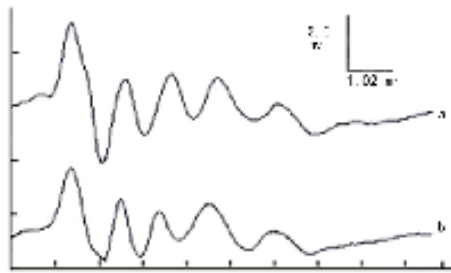


图 1 4 月龄 SAMR1 ABR 波形图

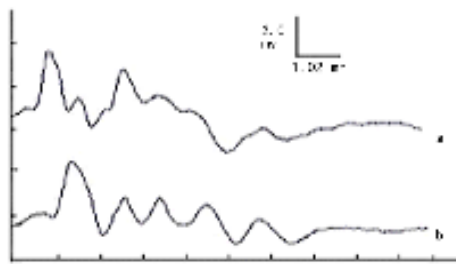


图 2 10 月龄 SAMR1 ABR 波形图

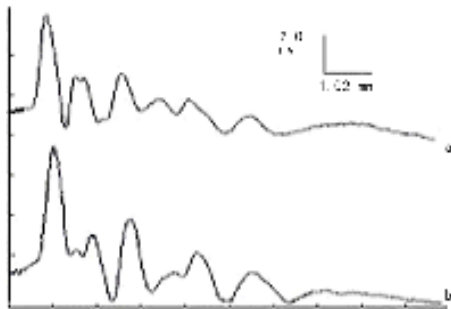


图 3 4 月龄 SAMP8 ABR 波形图

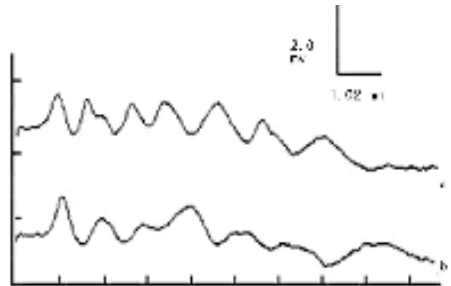


图 4 10 月龄 SAMP8 ABR 波形图

2.2 ABR 阈值 在短纯音刺激下,与对照组 4 月龄 SAMR1 和 10 月龄 SAMR1 比较,实验组 4 月龄 SAMP8 和 10 月龄 SAMP8 的双耳 ABR 阈值均出现显著增高($P<0.05$ 和 $P<0.01$);而在短声刺激下,与对照组 4 月龄 SAMR1 和 10 月龄 SAMR1 比较,实验组 4 月龄 SAMP8 和 10 月龄 SAMP8 的

ABR 阈值只有 10 月龄 SAMP8 出现显著增高($P<0.05$),而 4 月龄 SAMP8 并未有显著增高($P>0.05$)。见表 1、2。

表 1 各组动物短纯音 ABR 阈值(dB SPL)($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	n	ABR 阈值	
		4 月龄	10 月龄
左耳 SAMR1	6	37.8±3.03	46.3±6.87
左耳 SAMP8	6	45.3±7.70	60.3±10.12
t		2.24	2.82
P		0.049	0.018
右耳 SAMR1	6	34.7±5.62	44.0±4.93
右耳 SAMP8	6	47.5±8.79	59.4±9.67
t		3.01	3.48
P		0.013	0.006

表 2 各组动物短声 ABR 阈值(dB SPL)($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	n	ABR 阈值	
		4 月龄	10 月龄
左耳 SAMR1	6	34.6±4.93	46.8±7.34
左耳 SAMP8	6	34.8±9.26	58.4±9.33
t		0.06	2.41
P		0.955	0.037
右耳 SAMR1	6	33.1±6.03	47.6±7.97
右耳 SAMP8	6	36.9±4.82	58.6±8.30
t		1.22	2.34
P		0.252	0.041

两种刺激声下各组动物双耳 ABR 阈值比较分别见表 3 和表 4。可见,4 月龄 SAMP8 双耳短纯音 ABR 阈值较短声 ABR 阈值显著升高($P<0.05$)。

表 3 各组动物左耳两种刺激声 ABR 阈值比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	刺激声类型	阈值(dB SPL)	t	P
4 月龄 SAMR1	短声	34.6±4.93	1.49	0.195
	短纯音	37.8±3.03		
10 月龄 SAMR1	短声	46.8±7.34	0.19	0.856
	短纯音	46.3±6.87		
4 月龄 SAMP8	短声	34.8±9.26	3.72	0.014
	短纯音	45.3±7.70		
10 月龄 SAMP8	短声	58.4±9.33	0.28	0.788
	短纯音	60.3±10.12		

表 4 各组动物右耳两种刺激声 ABR 阈值比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	刺激声类型	阈值(dB SPL)	t	P
4 月龄 SAMR1	短声	33.1±6.03	0.37	0.727
	短纯音	34.7±5.62		

表 4(续) 各组动物右耳两种刺激声 ABR 阈值比较
($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	刺激声类型	阈值(dB SPL)	t	P
10 月龄 SAMR1	短声	47.6 $\pm$ 7.97	1.21	0.279
	短纯音	44.0 $\pm$ 4.93		
4 月龄 SAMP8	短声	36.9 $\pm$ 4.82	3.20	0.024
	短纯音	47.5 $\pm$ 8.79		
10 月龄 SAMP8	短声	58.6 $\pm$ 8.30	0.15	0.890
	短纯音	59.4 $\pm$ 9.67		

3 讨 论

SAMP8 由日本京都大学竹田俊男教授开发成功,主要以学习记忆功能呈增龄性加速衰退,中枢神经系统如皮质、海马等部位发生病理改变为主,是一种比较理想的研究衰老和痴呆的模型^[4-6]。褚芹等^[6]对 SAMP8 小鼠的行为学进行了研究,发现 SAMP8 小鼠在 4 月龄时即出现明显的老化体征,并且这些体征有增龄性加剧现象。本实验研究数据显示,与对照组相比较,4 月龄 SAMP8 小鼠的听功能(短纯音 ABR 阈值)即开始出现下降,到 10 月龄时,其听功能(短纯音 ABR 阈值和短声 ABR 阈值)已经显著下降。这之前进行的对快速老化小鼠的另外一个亚系——SAMP1 小鼠的研究结果^[7-8]相似,说明 SAMP8 小鼠在 4 月龄时即有听觉系统老化的老年性耳聋表现。

随着老龄化社会的到来,老年性耳聋的研究已经成为耳鼻咽喉学科研究的热点^[9]。由于耳蜗深埋于颞骨骨性组织中,对人类的活体耳蜗取材困难重重。因此各种老年性耳聋动物模型是进行老年性耳聋研究的重要载体。而对老年性耳聋动物模型进行 ABR 测试是检测其听功能必不可少的环节。

国内外的研究均显示,老年性耳聋是首先以高频听力下降为主的感音神经性耳聋。过去对于老年性耳聋动物模型以及老年动物的研究大都常规采用短声进行 ABR 测试^[10-11]。短声 ABR 的反应阈与 2~4 kHz 频率上的听力水平最相关。当听力损失局限于某一特定的频率范围,短声 ABR 往往不能准确地反映受试对象的听力损失情况^[12-14]。本研究表明,虽然短声 ABR 和短纯音 ABR 波形图基本相似,并且 4 月龄 SAMR1 小鼠、10 月龄 SAMR1 小鼠以及 10 月龄 SAMP8 小鼠等 3 组动物,其短声 ABR 和短纯音 ABR 阈值二者之间经配对样本 *t* 检验,差异无统计学意义;但是对于 4 月龄 SAMP8 小鼠短声 ABR 和短纯音 ABR 的阈值,二者之间的差异有统计学意义,短纯音 ABR 阈值较短声 ABR 阈值明显增高。这说明,4 月龄的 SAMP8 小鼠刚出现老化时,其 8 kHz 短纯音 ABR 阈值即有所变化;而这一变化并未在短声 ABR 上有所体现。至 10 月龄时,SAMP8 小鼠各个频率的 ABR 阈值已经显著下降,因此 10 月龄 SAMP8 小鼠的短声和短纯音 ABR 阈值之间的差异并无统计学意义。因而,SAMP8 小鼠的听功能下降是从 8 kHz 左右的稍高频率开始的,并逐步累及 2~4 kHz 的低频区。而在对照组(4 月龄 SAMR1 小鼠和 10 月龄 SAMR1 小鼠),由于前者的听功能还未下降以及后者的听功能刚出现缓慢下降,因而这两组动物的短声 ABR 和短纯音 ABR 阈值之间的差异并无统计学意义。

周良强等^[3]在进行老年性听力损失的研究时,用短声及 8、6 kHz 短纯音对 C57BL/6J 小鼠进行 ABR 测试,发现与 3 月龄比较,9 月龄的 6 kHz 短纯音 ABR 阈值即开始明显升高;到

了 10 月龄时 8 kHz 短纯音 ABR 阈值亦显著升高;而短声 ABR 阈值在 10 月龄时始出现升高。这种现象与本实验结果近似一致。这表明,老年性耳聋动物模型是以大于 2~4 kHz 的稍高频率范围开始出现听力下降,而这样的频率范围恰好超出了短声 ABR 检测的敏感频率范围之外。

综上所述,SAMP8 小鼠在 4 月龄时即开始出现了听功能下降的老年性耳聋表现。但是这种变化并未体现在短声 ABR 的测试结果中,而是体现在 8 kHz 短纯音 ABR 测试结果中。可见,8 kHz 短纯音 ABR 测试能够敏感地检测出 SAMP8 小鼠的早期听功能下降现象。

(编后:本文是课题研究的一部分,没有进行其他频率的短纯音 ABR 测试。如果从 250 Hz 到 20 kHz 逐一进行短纯音 ABR 测试,对各个频率测试结果的变化进行比较分析,则更加完整和科学。)

参考文献:

- [1] 姜泗长,顾瑞.临床听力学[M].北京:北京医科大学协和医科大学联合出版社,1999:33.
- [2] 于利,汤浩.CBA、BALB/c、C57BL、昆明系小鼠及豚鼠听性脑干反应阈值的检测[J].中国应用生理学杂志,2008,24(3):315.
- [3] 周良强,吴绍琴,王燕.C57BL/6J 小鼠听力及耳蜗毛细胞活性的年龄相关性研究[J].听力学及言语疾病杂志,2009,17(4):363.
- [4] Takeda T, Matsushita T, Kurozumi M, et al. Pathobiology of the senescence-accelerated mouse(SAM)[J]. Exp Gerontol, 1997, 32(1):117.
- [5] Butterfield DA, Poon HF. The senescence-accelerated prone mouse(SAMP8): a model of age-related cognitive decline with relevance to alterations of the gene expression and protein abnormalities in Alzheimer's disease[J]. Exp Gerontol, 2005, 40(10):774.
- [6] 褚芹,于建春,潘建明,等.快速老化模型小鼠 SAMP8 行为学的增龄性变化[J].现代生物医学进展,2008,8(10):1801.
- [7] 刘强和,罗香林,耿宛平,等.快速老化小鼠的听功能和耳蜗毛细胞的增龄性变化[J].华夏医学,2008,21(2):213.
- [8] 刘强和,罗香林,耿宛平,等.快速老化小鼠的听功能和耳蜗螺旋神经元的增龄性变化[J].山东大学耳鼻喉眼学报,2008,22(3):215.
- [9] 李朝军,刘兆华.耳聋发生机制及防治研究现状与展望[J].重庆医学,2006,35(5):385.
- [10] 杨旭春,方耀云.不同年龄组大鼠听性脑干反应结果分析[J].听力学及言语疾病杂志,2004,12(1):28.
- [11] 邓悦,任重,姜学钧.葡萄籽提取物低聚原花青素对老年大鼠听力的影响[J].中国老年学杂志,2007,27(5):441.
- [12] Picton TW, Durieux-Smith A. Auditory evoked potentials in the assessment of hearing[J]. Neurol Clin, 1988, 6: 791.
- [13] 宋姝霞,姜春云,王绚.听力组合测试在 96 例聋儿验配助听器中的应用体会[J].山东医药,2003,43(27):53.
- [14] 张建基,孙晓卫,李海燕,等.婴幼儿听神经病的听力学特点[J].重庆医学,2009,38(9):1024.