

白噪声暴露后豚鼠耳蜗两音抑制 现象的实验观察^{*}

孙 伟 李兴启 姜泗长

(解放军总医院耳鼻咽喉科 解放军耳鼻咽喉科研究所 北京 100853)

1996 年 2 月 12 日收到

1996 年 5 月 24 日定稿

摘要 本实验用玻璃微电极的方法记录了白噪声暴露前后, 在单音和两音刺激声作用下豚鼠耳蜗第三回中阶交流感受器电位的变化, 并用圆窗电极引导的 CAP 阈值监测声损伤程度。比较单音和两音诱发的 CM 幅度发现: 两音抑制与耳蜗的非线性特性密切相关, 均依赖于耳蜗的正常生理环境; 外毛细胞的双向换能作用是耳蜗非线性机械特性和两音抑制存在的前题。本实验还对中耳和刺激声谐波产生两音抑制的可能性给予排除, 并介绍了实验中所用的计算机程控刺激、记录分析系统和用快速傅里叶变换 (FFT) 测量不同频率分量的方法。

PACS 数 43.50 43.80

Effects of white-noise on two-tone suppressions in AC receptor potentials of guinea pigs

SUN Wei LI Xingqi JIANG Sichang

(Institute of Otorhinolaryngology of PLA, Beijing 100853)

Received February 12, 1996

Revised May 24, 1996

Abstract Two-tone suppression (2TS) was studied in AC receptor potentials recorded from scale media in the third turn of guinea pig cochlea. Electrode of round window was used to monitor the CAP threshold. Amplitude-intensity functions for AC component were obtained before and after white-noise exposure. Results indicated that the phenomenon of 2TS was related with nonlinearity of cochlea, and suppressed amplitude decreased with diminish of these high-level nonlinearities. The probability that 2TS caused by media ear and homophonic was diminished. A computer controlled sound stimulator and signal recording system was used in the study, in which FFT was also used to calculate the amplitude of receptor potentials.

前言

两音抑制现象 (two-tone suppression, 2TS) 的发现已有相当长的历史, 三十年代 Black 和 Covell 在发现耳蜗震噪声电位时, 就已注意到这种现象¹。而直到 1974 年 Rhode 和 Bobles 从耳

^{*} 国家自然科学基金资助项目。

蜗机械特性的角度,解释外周听觉系统时,这一现象才逐渐得到认识²。Sellick 和 Russell 在 1979 首先发现内毛细胞 (IHC) 的交流和直流感受器电位能被第二个音所抑制³。M.A.Cheatham 和 P. Dallos 在 1986 年至 1991 年,也对豚鼠耳蜗第三回毛细胞感受器电位的两音抑制现象作了大量研究工作⁴⁻⁶。目前大多数学者用耳蜗的非线性模型,即负反馈原理,来解释耳蜗的主动机制,并将耳蜗内的两音抑制现象,与耳蜗震噪声电位的畸变产物和外耳道记录的畸变产物耳声发射一起,归结为耳蜗基底膜运动的机械非线性特性和毛细胞机电转换的非线性特性⁷⁻¹⁰。

然而目前对耳蜗负反馈原理的机制认识还很不够,许多问题尚不清楚。本实验以豚鼠耳蜗正常状态和白噪声暴露后耳蜗震噪声电位 (CM) 非线性状态的改变为对照,观察在不同线性状态下,两音抑制程度的变化,力图找到两音抑制与非线性特性的内在联系及与外毛细胞 (OHC) 的关系。

1 材料和方法

1.1 手术的准备

体重 200-300 g 的杂色健康豚鼠 15 只,耳廓反射灵敏,雌雄不限。用 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉,气管切开,插入气管套管,接人工呼吸机,头架固定头部。

经腹侧打开听泡,先将表面涂有 Teflon 的不锈钢丝前端的绝缘层刮去,弯一个小钩,然后安放在圆窗龛,参考电极置于颈部肌肉。圆窗耳蜗电位经前置放大器 (EG&G) 放大 5000 倍,再输入计算机,主要用于记录和监测 CAP 反应。CAP 由 Click 诱发。

玻璃微电极用电动步进式微电极操纵器,经耳蜗第三回血管纹插进中阶。中阶电位经电压/电流钳放大器 (Axoclamp-2A) 和二级放大器 (EG&G) 放大 500 倍后输入计算机接口。

1.2 刺激声的产生和信号分析

刺激声的产生和参数控制,以及信号采集和分析均由一套计算机控制的信号处理系统程控完成 (美国 TDT 公司生产),应用软件在库函数上自行开发。

两音抑制的刺激声均为纯音,一路声音频率固定为 800 Hz,强度由 30 dB 至 100 dB (SPL),作为探测音 (f_1);另一路声音频率由 300 至 1300 Hz,强度固定为 80 dB (SPL),作为抑制音 (f_2)。测试时先迭加平均,然后作 2048 点 FFT 变换,求出相应频率的幅度。

白噪声也由 TDT 系统生成, Nicolet (TIP-300) 耳机发出,频谱在 0—5 kHz 内幅度无明显起伏,强度大约为 110 dB (SPL)。

1.3 两音在外耳道和中耳产生相互抑制可能性的排除

实验前将耳声发射耳机 (内含两个耳机和一个传声器) 置于外耳道口,先由其中一个耳机发出纯音 (f_1),声音由传声器输入计算机,计算其频谱,求出幅度;再在另一耳机发出另一个频率的纯音 (f_2) 的同时,求出 f_1 的幅度,发现两次测量的结果相等。说明在外耳道内两个不同频率的声音不存在相互抑制作用。虽在声音较强时出现谐波,但幅度不受影响。

为鉴别抑制是否在中耳产生,将探测音耳机置于右耳,抑制音耳机置于左耳,当两音频率接近,抑制音强度超过探测音 30 dB 左右时,同样可使探测音在另一侧耳产生的 CM 幅度降低, (抑制音可通过骨导经颅传至对侧内耳,不经过中耳)。因而可以推断,两音抑制发生在内耳,而不在中耳。

2 结果

2.1 正常状态两音抑制的特点

正常状态下豚鼠耳蜗中阶交流电位 (用 CM1 表示) 的 $I-O$ 曲线在 70 dB 以下呈线性增加 (在双对数坐标系中表现为斜率为 1 的直线), 大约在 70 dB SPL 以上, $I-O$ 曲线呈非线性,

80 dB 左右幅度出现饱和。继续增加刺激强度, 幅度反而减小 (图 1)。图中 CM 幅度均以 dB 表示, 以 0.054 mV 为 0 dB (下图同)。

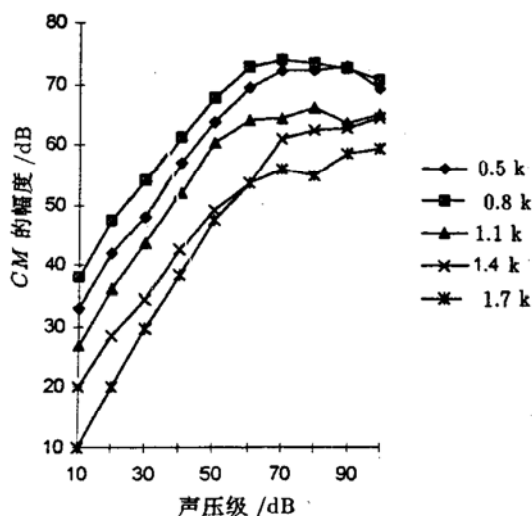


图 1 正常状态 CM 的 $I-O$ 曲线

图 2、图 3 为中阶记录的加抑制音后的 CM 曲线 (用 $CM2$ 表示), 可见随着抑制音频率与探测音频率接近, $CM1$ 与 $CM2$ 的差值明显增大。图中还看出仅当抑制音强度高于探测音时, $CM2$ 小于 $CM1$, 而当抑制音强度低于探测音时, 反而使 $CM2$ 大于 $CM1$, 且 $CM2$ 线性段增长。

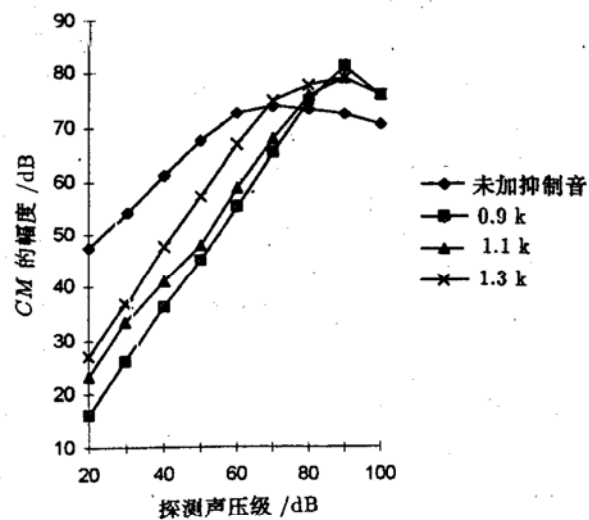
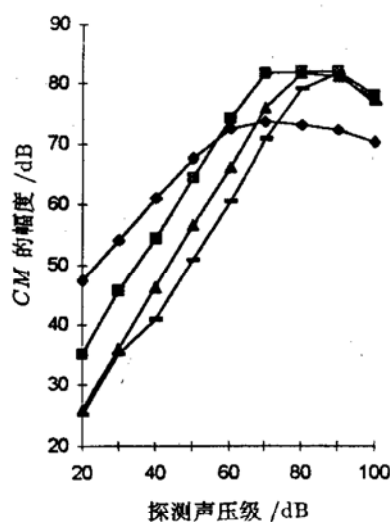


图 2 抑制音频率对 $CM2$ 幅度的影响 ($f_2 < f_1$) 图 3 抑制音频率对 $CM2$ 幅度的影响 ($f_2 > f_1$)

2.2 暴露后抑制作用的改变

图 4 为白噪声暴露前、暴露一次 (暴露时间大约 15 min, CAP 阈值提高 20 dB) 和两次后 (暴露时间大约 30 min, CAP 阈值提高 30 dB), 不加抑制音 CM 幅度的 $I-O$ 曲线 ($f_1=800$ Hz)。由图中看出随着暴露的增加, 非线性段明显缩短, 线性段增长。

图 5 显示的三条曲线为抑制音频率为 0.7 kHz 时, $CM1- CM2$ 在暴露前后的趋势图, 图中左侧, 30 dB 至 70 dB, $CM1- CM2 > 0$, 表示加抑制音可使 CM 幅度降低; 图中右侧,

70 dB 至 100 dB, $CM1 - CM2 < 0$, 表示加抑制音后反使 CM 幅度增大。由三条曲线的变化趋势可见, 随暴露的增加, CAP 阈值的提高, $CM1 - CM2$ 幅度减少, 即抑制音产生的效果降低。

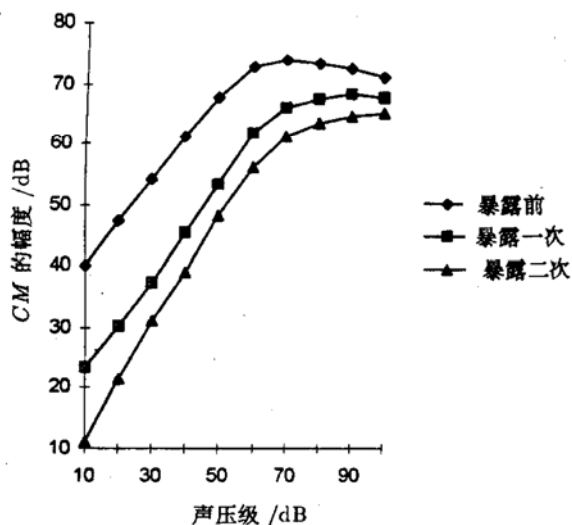


图 4 白噪声暴露对豚鼠耳蜗非线性特性的影响

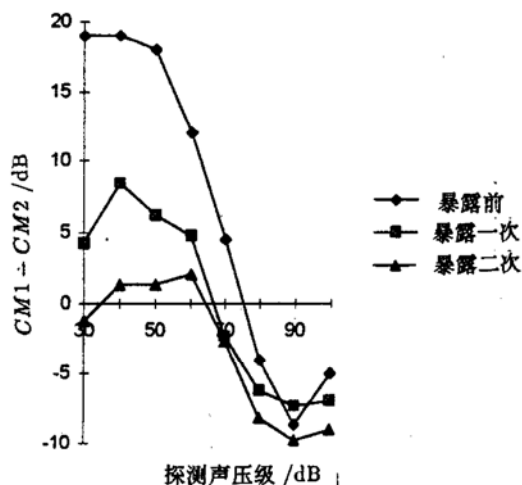


图 5 抑制音频率为 0.7 kHz 时, $CM1 - CM2$ 在暴露前后的变化

3 讨论

3.1 抑制音与探测音诱发的 CM 的分离

研究同侧耳两音相互抑制作用, 需将两个不同频率刺激声诱发的电位分离(主要是交流电位, 如 CM)。早期有人采用抑制音相位交替然后迭加平均的办法来消除抑制音诱发的电位, 但迭加效果很容易受到噪声干扰。目前国外普遍采用计算机数字信号处理技术⁴⁻⁶, 而国内计算机信号处理技术在听生理基础研究中开展较晚, 因而两音抑制现象的研究在国内一直未开展。在本实验中, 利用计算机高速运算功能, 用快速傅里叶变换 (FFT) 将 CM 由时域变换到频域, 求出功率谱, 就很容易的将探测音和抑制音诱发的不同频率的 CM 分离, 这是用数字信号处理技术分析 CM 的一次尝试¹¹⁻¹²。

3.2 正常状态下耳蜗非线性的表现形式

图 1 可见, 正常状态下 CM 的 $I-O$ 曲线呈非线性, 即当探测音强度超过 60 dB(SPL) 时, CM 幅度不再随探测音强度的增加而呈线性增加, 甚至出现饱和; 图二和图三可见正常耳蜗在两音同时作用下, CM 幅度发生抑制现象, 两音的频率越接近, 抑制幅度越大。以上两种现象用 Békésy 的理论是无法解释的。因为 Békésy 受当时实验条件的限制, 数据在死尸上得到, 这与活体情况有很大差别, 无法全面反映耳蜗的特性, 因而他所建立的耳蜗模型系统是被动和线性的。

我们所观察到的现象, 更能反映耳蜗的生理特性, 只能用主动的耳蜗模型来解释, 即 Dallos 等描述的具有主动机制的耳蜗模型。这种理论认为耳蜗不是一个被动的反映声音的机械系统, 而是一个对声音具有主动放大或抑制作用的复杂的能动系统, 并且耳蜗不仅仅能感受声音, 外毛细胞还具有主动机制, 能作用于基底膜, 产生声音的逆向传导¹³⁻¹⁵。这是对 Békésy 学说的补充和修正。

3.3 耳蜗非线性系统与外毛细胞的关系

Dallos 等认为耳蜗的非线性特性来源于基底膜运动的非线性机械特性和毛细胞的机电转换的非线性特性¹⁶, 但两者的联系及基底膜非线性特性产生的原因尚不清楚。本实验观察到, 耳蜗在

受到白噪声暴露后, 中阶记录的 *CM* 的非线性特性明显减弱, 两音抑制的幅度也随暴露次数的增加而减少, 而噪声暴露首先引起外毛细胞的破坏¹⁷⁻¹⁸, 所以提示耳蜗的非线性特性与外毛细胞有关。

而 Copper 等¹⁹ 研究耳蜗机械特性时发现, 正常豚鼠耳蜗基底膜运动幅度的非线性特性和两音抑制现象, 也随动物死亡或耳蜗受损而消失, 从而说明耳蜗基底膜运动的非线性特性也依赖于耳蜗和毛细胞的完整性。Kemp 等认为, *OHC* 是通过在其周围产生直流电位, 从而改变了基底膜振动的阻尼, 进而影响基底膜的振动幅度的²⁰。而基底膜振动幅度的改变, 反过来又影响 *OHC* 的运动, 因而耳蜗基底膜位移对声信号刺激响应而产生的非线性反应, 与毛细胞产生的放大或抑制作用的非线性作用来源是一致的, 存在相互依存的关系, 外毛细胞参与了耳蜗非线性系统的所有环节。所以 *OHC* 的双向换能作用, 可能是产生正常豚鼠耳蜗对弱声音放大, 强声音抑制, 以及对不同频率声音的具有选择放大功能的来源。

致谢本工作得到上海生理研究所梁之安、邵殿华教授的指导和帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Black I J and Covell W P. A quantitative study of the cochlear response. *Proc. Soc. Am.*, 1936, **73**: 1662—1670
- 2 Rhode W s and Robles L. Evidence from Mossbauer experiments for nonlinear vibrations in the cochlea. *J. Acoust. Soc. Am.*, 1974, **55**: 588—596
- 3 Sellick P M and Russell I J. Two-tone suppression in cochlear hair cells. *Hear. Res.*, 1979, (1): 227—236
- 4 MA. Cheatham and Dallos P. Comparison of low- and high-side two-tone suppression in inner hair cell and organ of Corti response. *Hear. Res.*, 1990, **50**: 193—210
- 5 MA. Cheatham and Dallos P. Two-tone suppression in inner hair cell responses. *Hear. Res.*, 1989, **40**: 187—196
- 6 MA. Cheatham and Dallos P. Two-tone interactions in the cochlea microphonic. *Hear. Res.*, 1982, **8**(1): 29—48
- 7 Dallos P and Joseph Santos-Sacchi. Intracellular recordings from cochlear outer hair cells. *Science*, 1982, **218**: 582—584
- 8 Dallos P. Neurobiology of cochlear inner and outer hair cells: intracellular recordings. *Hear. Res.*, 1986, **22**: 195—198
- 9 Dallos P. Response characteristics of mammalian cochlear hair cells. *The Journal of Neuroscience* 1985, **5**(6): 1591—1608
- 10 Luis Robles, Mario A. Ruggero & Nola C Rich. Two-tone distortion in the basilar member of the cochlea. *Nature* 1991, **349**(31): 413—414
- 11 宗孔德, 胡广书. 数字信号处理. 清华大学出版社
- 12 孙伟, 李兴启. 在耳蜗中阶同时记录 *EP*、*SP*、*CM*. 军医进修学院学报. 1993, **3**(14) 230—233
- 13 Kossl M and Russell IJ. The phase and magnitrd of hair cell receptor potentials and frequency tuning in guinea pig cochlea. *J Neurosci.*, 1992, **12**: 1575—1586
- 14 Brown MC and Nuttall AL. Efferent control of cochlea inner hair cell responses in guinea-pigs. *J Physiol* 1984, **354**: 625—646
- 15 Nuttall AL and Dolan DF. Intermodulation distrotion ($F_2 - F_1$) in inner hair cell and basilar membrane response. *J Acoust. Soc. Am.*, 1993, (4): 2061—2068
- 16 Dallos P and Corey. The role of outer hair motility in cochlear tuning. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1991, **1**(2): 215—210
- 17 李兴启, 孙建和. 脉冲噪声暴露后豚鼠耳蜗电位及毛细胞形态学观察. 中华耳鼻咽喉科杂志. 1991, **26**(4): 200—203
- 18 李兴启, 孙建和, 孙伟等. 缺氧豚鼠耳蜗总和电位的变化及形态学观察. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1994, **29**(2): 74—77
- 19 Nigel P, Cooper, William S Rhode. Nonlinear mechanics at the apex of the guinea pigs cochlea. *Hear. Res.* 1995, **82**: 225—243
- 20 Kemp D T. Stimulated acoutics emissions from within the human auditory system. *J. Acoust. Soc. Am.*, 1978, **64**: 1386—1391