工业噪声性听力损失动物模型的构建与应用

熊小雄[1]，王军义[1]，邹志方[1]，夏源[1]，谢秀丽[1]，吴燕兰[1]，王海涛[2]，张敏[1]

（1. 广东药学院公共卫生学院，广东 广州　510310；2. 广州市职业病防治院，广东 广州　510630）

摘要：目的　构建工业噪声性听力损失动物模型。**方法**　将 50 只雄性豚鼠随机分为 5 组，除对照组外其余 4 组分别予以 85 dB（SPL）、95 dB（SPL）、105 dB（SPL）和 115 dB（SPL）的模拟稳态工业噪声暴露 28 d（6 h/d），于暴露前及暴露后 7 d 分别进行听性脑干反应（ABR）检测，以评价各组豚鼠噪声暴露后的听阈位移水平，暴露后取豚鼠耳蜗观察毛细胞的病理学变化。**结果**　对照组及各噪声暴露组豚鼠听阈位移水平变化均表现出明显不同，平均听阈位移水平对照组为 0.00 dB、85 dB（SPL）暴露组为 6.75 dB、95 dB（SPL）暴露组为 13.25 dB、105 dB（SPL）暴露组为 21.50 dB、115 dB（SPL）暴露组为 28.00 dB，听阈位移水平变化随着噪声暴露强度的增强而增加，不同组间差别有统计学意义（F = 319.995，P = 0.00）；病理学观察发现耳蜗毛细胞结构随着噪声暴露强度的增加而损伤程度加重。**结论**　模拟工业噪声性听力损失的豚鼠模型构建成功，它将为职业噪声性听力损失的发生机制及干预提供良好的研究平台。

关键词：噪声性听力损失（NIHL）；稳态噪声；声压级（SPL）；听性脑干反应（ABR）；豚鼠

中图分类号：TB53　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1002－221X（2013）05－0332－03

Establishment and application of Guinea pig model of industrial noise induced hearing loss

XIONG Xiao-xiong*，WANG Jun-yi，ZOU Zhi-fang，XIA Yuan，XIE Xiu-li，WU Yan-lan，WANG Hai-tao，ZHANG Min

（*：*Department of Preventive Medicine*，*School of Public Health*，*Guangdong Pharmaceutical University*，*Guangzhou* 510310，*China*）

Abstract: Objective To establish guinea pig model of industrial noise-induced hearing loss. **Methods** 50 healthy male guinea pigs were randomly divided into 5 groups（every group for 10 guinea pigs）: control group（Without noise exposure），85 dB（SPL）group，95 dB（SPL）group，105 dB（SPL）group and 115 dB（SPL）group; every group was exposed to simulated industrial steady noise for 26 days（6 h/d）except the control group，then the ABR analysis was made before noise exposure and after 7 days of stopping noise exposure to evaluate the shift level of hearing threshold in each group meanwhile，the morphological changes of hair cells in Cochlea after noise exposure was also observed. **Results** It was found that the mean shift level of hearing threshold were 0.00 dB，6.75 dB，13.25 dB，21.50 dB and 28.00 dB in control group，85 dB（SPL）group，95 dB（SPL）group，105 dB（SPL）group and 115 dB（SPL）group，respectively，showing a progressively increasing trend with noise exposure intensity，the differences were significant（F = 319.995，P = 0.00）; the morphological study also showed that the damage degree of hair cell was gradually aggravted with the expaosure density of noise. **Conclusion** The results suggested that Guinea pig model of industrial noise induced hearing loss was successful，which would provide a good platform for studying the mechanism and intervention of occupational noise induced hearing loss.

Key words: noise induced hearing loss（NIHL）; steady noise; sound pressure level（SPL）; auditory brainstem response（ABR）; Guinea pig

噪声性听力损失（noise induced hearing loss，NIHL）一直以来是职业病防治工作的重点，但由于其发生机制仍无定论，给防治工作带来很大的局限性。由于医学伦理的限制，大多关于 NIHL 发生机制及干预方法的研究都是通过动物实验来实现的，目前大多学者[1,2]都采用短期强噪声暴露来建立 NIHL 实验动物模型，而这种模型的构建与职业噪声暴露的特点不符，为了更好地研究职业性 NIHL，本研究以模拟的稳态工业噪声为噪声源进行中长期暴露来构建 NIHL 实验动物模型，为职业性 NIHL 的深入研究提供基础。

1　材料与方法

1.1　研究对象

50 只健康雄性豚鼠（合格证编号：SLXK 粤 2011-0015），体重 300 g，耳廓反射正常，在背景噪声小于 70 dB（SPL）的环境下饲养。

1.2　噪声暴露

1.2.1　模拟工业噪声源的校正　选择噪声稳定的稳态工业噪声作为原始的工业噪声源，现场录音后用 Gold Wave 音频处理软件对原始音频信号进行校正，从

收稿日期：2013－03－20；修回日期：2013－05－06
基金项目：广东省大学生创新训练项目（编号：1057312041）
作者简介：熊小雄（1991—），男，预防医学本科生。
通讯作者：王军义，副教授，E-mail：wjy925@163.com。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

20 ~20 000 Hz 按倍频程关系使各频段信号强度一致，制作成模拟工业噪声音频信号，这种信号与白噪声具有类似的物理学持征，对耳蜗的刺激具有均衡性。

1.2.2 噪声发生装置 该装置包括电脑音频信号播放器、功率放大器、8 Ω 全频扬声器、规格 50 cm ×50 cm ×50 cm 的有机玻璃制的隔音箱作为实验动物的噪声室，8 Ω 全频扬声器固定于隔音箱顶部的开口处。

1.2.3 豚鼠的噪声暴露方式 将 50 只豚鼠随机分为 5 组（每组 10 只）：对照组、85 dB（SPL）暴露组、95 dB（SPL）暴露组、105 dB（SPL）暴露组、115 dB（SPL）暴露组。对照组无噪声暴露，其他 4 组豚鼠分别置于相应噪声强度的模拟工业噪声环境中暴露 28 d、每天连续暴露 6 h。

1.3 豚鼠听力检测

50 只实验豚鼠在噪声暴露前 1 d 及噪声暴露 28 d 后的第 7 天分别进行听性脑干反应（auditory brainstem response，ABR）测量。1% 戊巴比妥钠腹腔内注射麻醉（30 mg/kg）后，采用自制的银针电极，记录电极插入正中头皮下，参考电极插入两耳耳垂下，地极置于背部近尾处，用 GSI 诱发电位仪产生的短声作为刺激声，输出信号经生物信号放大器输入计算机，用示波器监视信号以能分辨出 ABR 波形的最低刺激强度确定阈值，每耳重复至少 3 次，取均值作为听力阈值，再将豚鼠噪声暴露前、后的听力阈值的差值作为永久性听阈位移水平，并计算每只实验豚鼠的双耳平均听阈位移水平，作为实验豚鼠的听力变化指标。

1.4 豚鼠耳蜗病理学检查

将实验豚鼠麻醉后断头，从内耳结构中取出听泡，在体视显微镜下断镫骨链并打开圆窗暴露耳蜗，用 4% 多聚甲醛对耳蜗进行固定不少于 24 h，固定结束后用双蒸馏水漂洗、5% 硝酸脱钙 8 h、PBS 液洗涤浸泡 1 h、梯度酒精脱水、制成石蜡标本后切片（片厚 4 μm）、HE 染色封片，生物显微镜下观察毛细胞的形态学变化。

1.5 统计学分析

采用 Excel2003 建立数据库，数据整理后采用 SAS9.0 统计分析软件进行数据处理，各组间的比较采用单因素方差分析（ANOVA），$P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模拟噪声信号检测

通过精密声级计检测噪声暴露箱内声压级（SPL），测得噪声暴露箱 4 个边角及中心 5 处的 SPL 差值均不超过 2 dB，以确保实验豚鼠噪声暴露水平的稳定性。

2.2 实验豚鼠的行为观察

噪声暴露环境下的豚鼠变得烦躁不安，噪声暴露强度越强的豚鼠，对外界声音刺激行为反应越迟钝。

2.3 豚鼠听阈位移水平变化与噪声强度的关系

豚鼠听阈位移水平变化反映出其听力损失的程度，由表 1 可见噪声暴露后的各组豚鼠听阈位移水平随着噪声暴露强度的增强而增加，经方差分析，不同组间差别有统计学意义（$F=319.995$，$P=0.00$）。

表 1 不同噪声强度暴露组豚鼠听阈位移水平的变化

分组	动物数量（只）	噪声暴露后听阈位移水平［dB（SPL）］
对照组	10	0.00
85 dB	10	6.75 ±2.90
95 dB	10	13.25 ±1.69
105 dB	10	21.50 ±1.75
115 dB	10	28.00 ±2.30

2.4 噪声暴露后豚鼠耳蜗毛细胞病理学观察

各组豚鼠耳蜗病理切片（HE 染色）毛细胞形态结构如图 1（见封三）所示，耳蜗正常毛细胞呈柱状分布，85 dB（SPL）暴露强度的豚鼠毛细胞出现轻度水肿，毛细胞有融合趋势；95 dB（SPL）暴露强度的豚鼠毛细胞水肿明显并出现毛细胞的融合，形成囊泡；105 dB（SPL）暴露强度的耳蜗毛细胞高度水肿、融合，囊泡增大；115 dB（SPL）暴露强度豚鼠毛细胞松散、脱落、囊泡破裂；豚鼠耳蜗毛细胞的病理变化说明了随着噪声暴露强度的增强，耳蜗毛细胞的损伤加重。

3 讨论

从本次实验的结果来看，我们将实验豚鼠经过不同强度的噪声暴露后，实验豚鼠表现出不同程度的听力损失，而且这种听力损失的程度随着噪声暴露强度的增强而加重；实验豚鼠的耳蜗病理学检查也证明耳蜗毛细胞出现不同程度的损伤，而且随着噪声暴露强度的增强而加重，说明模拟稳态工业噪声性听力损失实验豚鼠模型的构建是成功的，该动物模型可以为职业 NIHL 的机制研究和干预研究提供很好的、有针对性的实验平台。这种动物模型与其他 NIHL 动物模型有许多不同之处，它有如下几个特点：第一，本模型构建选择的噪声源是工业噪声，属于一种稳态的机械性噪声，这是职业环境中最常见的噪声类型，对于职业性 NIHL 的研究来说，这种噪声暴露最具有代表性，而目前学者采用的 NIHL 动物模型的噪声源大多为白噪声、脉冲噪声或短时强噪声暴露（大于 130 dB），尚无人用稳态工业噪声做噪声源构建动物模型；

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

白噪声由于功率谱密度在整个频域内均匀分布，对耳蜗毛细胞的影响具有均衡性，可重复性最好，所以应用最广；借鉴白噪声的特点，我们对动物模型的噪声源进行校正、修饰，使它与白噪声具有类似的物理学特征，对耳蜗的刺激具有均衡性和可重复性；第二，根据职业性噪声暴露的长期性、连续性，我们在动物模型的构建过程中尽可能使实验动物的噪声暴露方式符合职业特征，所以采用每天噪声暴露 6 h、连续暴露 28 d 的方式，从实验结果来看这种暴露方式达到了出现 NIHL 的目的，实验周期不至于太长，具有可重复性；第三，职业性噪声暴露强度大多介于 80 ~ 130 dB(A) 之间，所以本实验选取了 85 dB(SPL)、95 dB(SPL)、105 dB(SPL)、115 dB(SPL) 这 4 个不同强度的噪声作为豚鼠噪声暴露条件，基本涵盖了职业噪声暴露强度的范围，具有很好的职业噪声暴露强度的代表性；实验结果也显示了实验豚鼠出现了不同程度的听力损失，并随着噪声暴露强度的增加而加重，完成了实验动物模型构建的最重要的目标。

在本次实验动物模型的构建过程中，我们认为需要注意如下问题：第一，由于实验豚鼠对声刺激敏感，所以可作为噪声实验的首选对象，但过度的刺激或惊吓易导致豚鼠猝死，在实验豚鼠的选择上我们倾向于选择成熟的豚鼠，体重介于 300 ~ 500 g 之间；第二，大多数 NIHL 动物模型的构建体系中都以 ABR 作为听力损失的评价指标，虽然 ABR 测听对听阈的判断有一定的主观性，而且检测结果易受饲养过程中的维生素[3]、麻醉剂量等客观混杂因素影响，但 ABR 依然是判断感音性耳聋最好的方法之一。职业性 NIHL 的发生多于 80 ~ 130 dB(A) 暴露条件，目前比较一致的观点认为职业性 NIHL 的机制主要是以耳蜗毛细胞代谢障碍为主[4]，而畸变产物耳声发射（DPOAE）对定位耳蜗毛细胞损伤情况的评价具有价值，所以我们认为模拟工业噪声性听力损失实验豚鼠模型的评价指标采取 ABR 与 DPOAE 相结合的方法更客观、全面、真实地评价豚鼠的听力损失情况。

参考文献：

[1] 徐灵活，章建程，袁海霞，等. 噪声易感豚鼠的实验研究 [J]. 中国耳鼻喉科杂志，2010，10（1）：9-11.

[2] 陈伟，郭维维，胡吟燕，等. 用于毛细胞再生研究的噪声性聋动物模型的建立 [J]. 中华耳科学杂志，2009，7（4）：327-331.

[3] 侯粉霞，王生，翟所强，等. 维生素 C 对豚鼠噪声性听力损失的预防作用 [J]. 工业卫生与职业病，2003，29（5）：270-272.

[4] 丁大连，蒋涛，亓卫东. 内耳科学 [M]. 北京：中国科学技术出版社，2010：139-140.

（上接第 331 页）

肺泡Ⅱ型细胞的增殖，抑制肺组织重构和改善呼吸功能，从而降低死亡率[8]。但研究表明百草枯中毒患者的预后与血象相关，预后较差者往往中毒早期血象较高[9]，而大剂量应用糖皮质激素不仅可以刺激骨髓造血，释放中性粒细胞入血，还可以通过动员周边池的白细胞进入循环池，导致外周血的白细胞数增多[10]。由此可见，百草枯中毒患者早期大剂量应用糖皮质激素可能有害。

尽管本研究样本量有限，且未进行组织脏器的病理学比较，但从两组小鼠的死亡速度及不同时间的半数致死量的显著差别来看，腹腔注射大剂量甲泼尼龙琥珀酸钠有可能加速百草枯中毒小鼠的死亡。

参考文献：

[1] 刘鹏，梁宇光，何跃忠，等. 百草枯中毒的基础研究及救治进展 [J]. 中国工业医学杂志，2010，23（5）：364-366.

[2] 刘鹏，何跃忠，王浩春，等. 急性百草枯中毒患者预后影响因素的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2011，29（3）：51-54.

[3] 刘鹏，何跃忠，李光，等. 血液灌流结合连续性静脉-静脉血液滤过对急性百草枯中毒疗效的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2011，29（4）：266-269.

[4] Gil H W，Kang M S，Yang J O，*et al*. Association between plasma paraquat level and outcome of paraquat poisoning in 375 paraquat poisoning patients [J]. Clin Toxicol，2008，46（6）：515-518.

[5] Castro R，Prata C，Oliveira L，*et al*. Paraquat intoxication and hemocarboperfusion [J]. Acta Med Port，2005，18（6）：423-431.

[6] Afzali S，Gholyaf M. The effectiveness of combined treatment with methylprednisolone and cyclophosphamide in oral paraquat poisoning [J]. Arch Iran Med，2008，11（4）：387-391.

[7] Dinis R J，Duarte J A，Sáhchez-Navarro A. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity，clinical features，and treatment [J]. Crit Rev Toxicol，2008，38（1）：13-71.

[8] Dinis-Oliveira R J，Duarte J A，Remiao F，*et al*. Single high dose dexamethasone treatment decreases the pathological socre and increases the survival rate of paraquat-intoxicated rats [J]. Toxicology，2006，227（12）：73-85.

[9] Lee E Y，Hwang K Y，Yang J O，*et al*. Predictors of survival after acute paraquat poisoning [J]. Toxicol India Health，2002，18（4）：201-206.

[10] 刘为义，李作吉，杨光. 地塞米松致白细胞增多不良反应 38 例分析 [J]. 药学实践杂志，2006，24（4）：244-246.

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

工业噪声性听力损失动物模型的构建与应用(正文见332～334页)

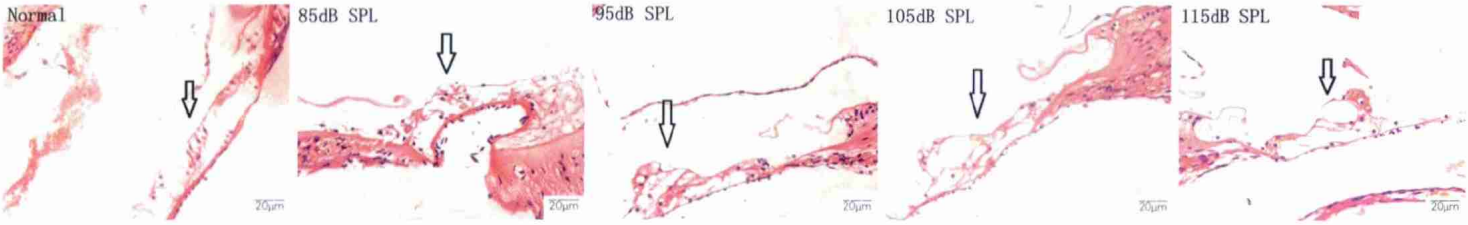
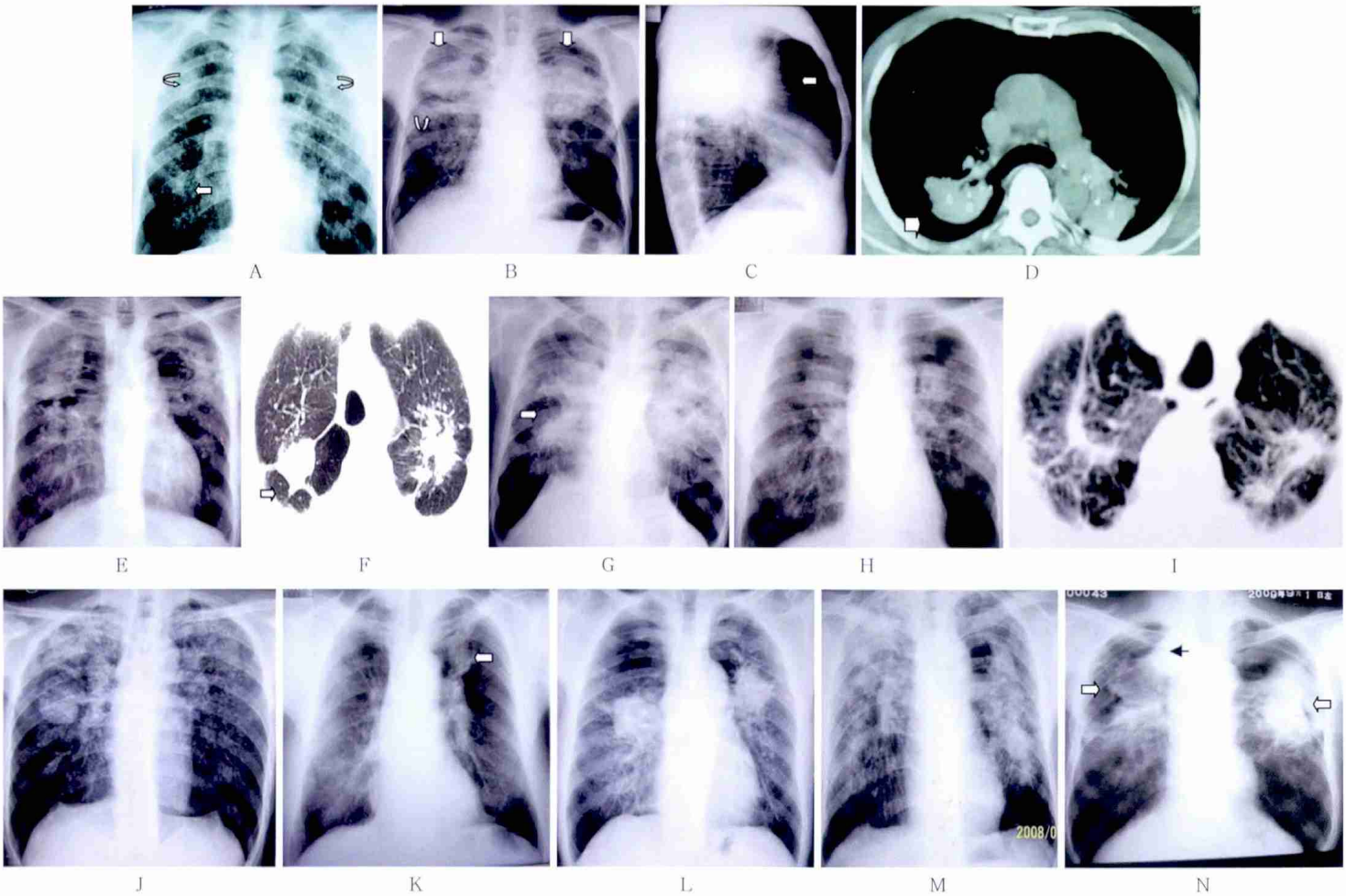


图1　不同噪声暴露强度豚鼠耳蜗毛细胞病理形态的比较（HE染色）

尘肺病大阴影诊断与鉴别诊断（正文见335～336页）



注：A——胸片双上肺“腊肠样”大阴影（弯箭头所示），右侧大阴影下可见大阴影伴影（空白箭头所示）；B——团块状大阴影（空白箭头所示），右侧大阴影足侧可见大阴影伴影（弯箭头所示）；C——B侧位像，大阴影胸骨侧“毛刺样”改变（空白箭头所示）；D——B的CT影像，大阴影内部可见点状钙化，大阴影背侧光滑与同侧胸壁平行（箭头所示）；E、F——同一病例胸片及CT影像，大阴影周围有“轮辐状”粗大条带影与周围胸膜相连(箭头所示)；G——双侧大阴影，箭头所示为指压征；H、I——同一病例，大阴影左右径明显大于前后径；J——复杂大阴影；K——单侧大阴影周围可见气肿带；L——双肺门旁呈“瘤样”大阴影；M——贯穿上下肺大阴影；N：大阴影合并肺癌(小黑箭头所示)。

图1　叁期尘肺大阴影的影像学表现

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net