

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201401005

· 论著

持续静脉给予肾上腺素对大鼠听力 以及下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴相关激素的影响

杨晨¹, 杨艳¹, 刁明芳², 张禹¹, 吕艳¹, 潘树义¹

(海军总医院 1. 全军高压氧治疗中心; 2. 全军耳鼻咽喉科中心, 北京 100048)

摘要: **目的** 持续静脉给予大鼠肾上腺素模拟应激导致的内耳缺血状态, 观察给药前后大鼠听力及血清下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴 (HPA 轴) 相关激素水平变化情况, 探究两者之间的关系。 **方法** 24 只雄性 Wistar 大鼠按数字随机法分为 3 个组 (对照组、 $8 \mu\text{g kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组、 $12 \mu\text{g kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组), 每组 8 只。对照组给予生理盐水, 后两组尾静脉持续给予肾上腺素 3 h。各组分别于给药前、给药结束时进行听性脑干反应 (Auditory Brainstem Response, ABR) 检测听力。第 2 天复查听阈后处死, 检测血清促肾上腺皮质激素释放激素 (CRF)、促肾上腺皮质激素 (ACTH) 以及肾上腺皮质激素 (GC) 水平。 **结果** 与给药前比较, 两肾上腺素组给药结束时 ABR 波 I、波 III 听阈明显升高。两肾上腺素组给药结束时 40 dB 声强下波 III 幅值较基础值明显下降。给药次日两肾上腺素组大鼠听阈以及幅值基本恢复, $8 \mu\text{g kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 组血清 CRF、ACTH 和 GC 水平较对照组均明显升高。 **结论** 静脉持续给予大鼠肾上腺素可以导致大鼠可逆性的听力损失, 引起血清 CRF、ACTH 和 GC 含量升高。

关键词: 肾上腺素; 突发性耳聋; 听性脑干反应; 下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴; 糖皮质激素
中图分类号: R453; R764.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-1520(2014)01-0021-04

Effects of continuing intravenous administration of adrenalin on hearing and hormones of HPA axis in rats

YANG Chen, YANG Yan, DIAO Ming-fang, ZHANG Yu, LV Yan, PAN Shu-yi
(Hyperbaric Oxygen Center of PLA, Navy General Hospital, Beijing 100048, China)

Abstract: **Objective** To study the changes of hearing and hormones of hypothalamic pituitary adrenal axis (HPA axis) in rats with internal ear ischemia induced by continuing intravenous administration of adrenalin. **Methods** 24 male Wistar rats were equally divided into 3 groups randomly, i. e. low dose group ($8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), high dose group ($12 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) and control group. Adrenalin was administrated systemically from the caudal vein for 3 hours. The control group was treated with equal volume of normal saline. Click evoked auditory brainstem response (ABR) was measured before administration, 3 hours after infusion and the next day. The concentration of corticotropin releasing factor (CRF), adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and glucocorticoid GC was measured by ELISA. **Results** After administration, the thresholds of wave I, wave III of the two adrenalin groups were significantly elevated, while the amplitudes of wave III at 40 dB of the adrenalin groups were significantly descended. The auditory thresholds and amplitudes recovered at the next day after administration. The serum concentration of CRF, ACTH, GC of the low dose group increased significantly over the control group. **Conclusion** Systemic continuing adrenalin administration can induce reversible hearing loss and increase in CRF, ACTH and GC in rats.

Key words: Adrenalin; ISSNHL; ABR; HPA axis; Glucocorticoid

突发性耳聋的发病机制是当今耳科学上

的一大难题。临床研究发现, 不少突发性耳聋患者常由工作生活压力或突发负性生活事件引起, 往往伴有焦虑、失眠等精神症状, 应激源的存在和无力应对是突发性耳聋患者发病的重要诱因^[1-2]。目前关于突发性耳聋应激机制

基金项目: 北京市科委首都特色临床研究项目 (2111107067311048)。

作者简介: 杨晨, 男, 硕士, 主治医师。

通信作者: 潘树义, Email: yangchen_9527@aliyun.com

的动物实验研究很少,通过常规行为学方法建立应激动物模型难以造成可检测到的听力损害。应激造成全身儿茶酚胺类激素水平升高,并导致耳蜗血管收缩以及内耳缺血被认为是应激因素导致突发性耳聋的经典机制。本研究通过持续静脉给予大鼠肾上腺素,造成应激时高儿茶酚水平以及内耳缺血状态,观察该状态下大鼠听力的损伤情况以及给药后 HPA 轴激素的改变情况,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物和处置方案

1.1.1 实验动物 选用雄性 Wistar 大鼠24只(由军事医学科学院动物中心提供),体重220~250 g,适应性饲养1周后进行实验。

1.1.2 主要试剂与仪器 皮质醇(GC)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、和促肾上腺皮质激素释放激素(CRF)酶联免疫分析试剂盒均为美国RB公司产品,检测设备为THERMO公司生产的Multiskan MK3全自动酶标仪,听觉电生理检测仪由美国Tucker-Davis Technologies公司生产。

1.1.3 动物分组及处理方案 大鼠称重排序并随机分为3组,每组8只。使用10%新鲜配制的水合氯醛溶液,按 $320\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉,麻醉满意后进行ABR基础值检测。于尾静脉置入事先注满肝素溶液的微量泵管,使用微量泵持续给予肾上腺素,按剂量的不同分为 $8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 组和 $12\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 组持续给药3 h,对照组以生理盐水代替肾上腺素,进行同样操作。在给药结束时测ABR,给药结束后将大鼠放回饲养笼中待其自然恢复。次日同样方法腹腔麻醉复查ABR,检测结束后腹主动脉取血5 ml,注入促凝管中,1500 rpm离心5 min,分离血清,保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境中,用于ACTH、CRF以及GC的检测。

1.2 方 法

由同一名实验者进行ABR检测操作。记录电极放置于双侧耳廓前缘连线中点顶部皮下,接前置放大器使峰波向上,参考电极放置于同侧耳后皮下,接地电极放置于对侧耳后皮下,屏蔽耳机置于大鼠外耳道口。刺激及记录参数:以click声作为诱发音源,刺激重复率20 Hz;带通滤波:300~3000 Hz;叠加次数

500次,增益20 X。每只大鼠按先左耳后右耳的顺序,从70 dB SPL开始,逐次减低5 dB SPL,分别记录波Ⅲ、波Ⅰ消失时的声强为听力阈值。同时记录40 dB SPL的波Ⅲ、波Ⅰ的幅值。

使用酶联免疫分析试剂盒检测血清肾上腺皮质激素(GC)、促肾上腺皮质激素(ACTH)和促肾上腺皮质激素释放激素(CRF)含量。

1.3 统计学处理

应用SPSS 13.0统计软件,采用两因素重复测量方差分析对同一组别不同时间的ABR阈值和幅值进行分析,采用秩和检验对不同组别之间激素水平检测结果进行分析,各组计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组动物 ABR 波Ⅲ和波Ⅰ阈值的测定结果

两肾上腺素组给药后不同时间波Ⅲ阈值与其自身基础阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);两肾上腺素组不同时间的波Ⅲ阈值与正常对照组波Ⅲ阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);两肾上腺素组泵药结束时波Ⅲ阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);两肾上腺素组泵药结束与第2天阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组波Ⅲ听阈值比较($\bar{x}\pm s$,dB)

组别	例数	基础值	泵药结束	第2天
$8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	17.00±4.70	21.25±5.59	19.75±4.99
$12\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	17.02±3.16	26.00±3.16	19.00±3.16
对照组	8	16.43±4.52	16.92±3.75	16.94±4.21

两肾上腺素组泵药结束以及第2天的波Ⅰ阈值与其自身基础阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);两肾上腺素组不同时间的波Ⅰ阈值与正常对照组波Ⅰ阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);两肾上腺素组泵药结束时波Ⅰ阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);两肾上腺素组泵药结束与第2天阈值比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结果见表2。

表2 各组波I听阈值比较($\bar{x} \pm s$, dB)

组别	例数	基础值	泵药结束时	第2天
8 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	17.75 \pm 5.25	22.50 \pm 5.50	21.25 \pm 5.35
12 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	16.00 \pm 3.94	28.00 \pm 4.21	22.50 \pm 5.89
对照组	8	16.60 \pm 4.44	17.10 \pm 3.95	16.95 \pm 4.68

2.2 各组动物40 dB波III和波I幅值的测定结果

两肾上腺素组泵药结束的波III幅值与其自身的基础波III幅值比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);两肾上腺素组泵药结束以及第2天的波III幅值与正常对照组波III幅值比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表3。

两肾上腺素组泵药结束以及第2天的波I幅值与其自身基础值比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。各组之间给药不同时间的幅值比较结果,两肾上腺素组泵药结束时和第2天的波I幅值,与对照组相比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表4。

表3 各组动物40 dB波III幅值比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{V}$)

组别	例数	基础值	泵药结束时	第2天
8 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	0.97 \pm 0.22	0.79 \pm 0.19	1.03 \pm 0.31
12 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	0.99 \pm 0.18	0.68 \pm 0.17	1.01 \pm 0.16
对照组	8	0.97 \pm 0.17	0.99 \pm 0.23	0.98 \pm 0.19

表4 各组动物40 dB波I幅值比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{V}$)

组别	例数	基础值	泵药结束时	第2天
8 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	0.53 \pm 0.11	0.54 \pm 0.20	0.53 \pm 0.13
12 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	0.59 \pm 0.13	0.54 \pm 0.13	0.54 \pm 0.13
对照组	8	0.56 \pm 0.12	0.55 \pm 0.11	0.55 \pm 0.14

2.3 CRF、ACTH以及GC的测定结果

8 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组的CRF、ACTH和GC水平分别与对照组比较,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);12 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组的CRF、ACTH和GC水平分别与对照组和8 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 两组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表5。

表5 各组动物CRF、ACTH和GC的测定比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CRF ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	ACTH ($\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	GC ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)
8 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	3.66 \pm 0.71	25.44 \pm 5.28	81.37 \pm 15.15
12 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 肾上腺素组	8	3.31 \pm 1.43	21.79 \pm 10.80	63.01 \pm 15.98
对照组	8	2.64 \pm 0.52	16.68 \pm 3.40	51.54 \pm 10.18

3 讨论

心理及躯体应激刺激可以兴奋交感神经,引起儿茶酚胺类激素分泌增多等一系列神经内分泌反应。肾上腺素的分泌增加既是应激反应的结果又是应激反应引起的一系列病理生理变化的基础。国内外学者利用体外超剂量给予肾上腺素来模拟应激状态,对内耳疾病与应激的关系作了一些研究^[3]。本研究通过静脉持续泵入的方式连续给予大鼠大剂量肾上腺素,模拟了应激时体内的交感神经兴奋状态,在观察听力改变以及停药后听力的恢复情况的基础上,检测应激相关HPA轴激素CRF、ACTH及GC的变化。

听脑干反应(auditory brainstem response, ABR)是通过检测不同的声强刺激引起的脑干电活动来反映听力情况的神经电生理检测方法。一般正常大鼠短声诱发的ABR出现5个以上的波^[4],其中波III的出现率最高,其振幅同其他波相比最大,消失最晚,是稳定可靠的观察波。因此,一般以波III消失时的刺激强度作为客观听阈值^[5]。本研究结果显示,连续给药2 h后大鼠听阈升高,高剂量组和低剂量组较对照组均有显著差异。给予40 dB声强刺激时,两组大鼠给药后ABR幅值均明显下降,其中高剂量组听阈变化以及幅值下降更明显。该结果提示大剂量肾上腺素可对听力造成损害,损伤程度与药物剂量正相关。肾上腺素导致的听力下降主要是由于引起供应耳蜗的血管收缩,导致内耳缺血所致。还有学者研究发现,肾上腺素可以引起内外淋巴的离子转运障碍,从而使内耳功能异常听力下降^[6]。

本研究结果提示,低剂量组给药次日血清的CRF、ACTH以及GC含量均明显升高。GC可以抑制应激反应对内耳造成的多种损害。有研究显示,静脉或鼓室给予外源性GC,可以

增加耳蜗血流,抑制内淋巴积水,有利于拮抗缺血、感染等所致的毛细胞损伤^[7-8]。因此,GC在临床上已被广泛应用于突发性耳聋、梅尼埃病等内耳疾病的治疗。本研究提示,高剂量组3种激素均值升高不明显,但个体差异很大,该现象说明个体间对更强烈的应激刺激抵御能力不同,个别大鼠已出现失代偿表现。临床研究也发现,不同的人面对应激损害的抵御能力不同,劳累、着急、生气等应激因素常常成为突聋的诱因。突发性耳聋是一种有自愈倾向的疾病,去除心理应激因素可以使突聋症状得到部分改善^[9-11]。本研究发现,给药次日大鼠的听阈和ABR幅值均完全恢复,这与以往相关研究结论相符。给药次日波Ⅲ幅值甚至超过给药前,这说明此时处于应激反应的警觉期,各种相关激素分泌增加,应对应激源造成的不良反应。总之,HPA轴激素水平与应激状态下听力的保护密切相关。

由于实验动物条件的限制,本研究只进行了单次静脉给药,未能造成大鼠不可逆的听阈变化。仅在给药后第2天进行了激素水平测定。今后的研究可考虑采取其他给药途径或使用缓释型药物,并连续检测激素水平,观察听力的永久性损害,进一步阐明应激、激素与听力损害三者之间的关系。

参考文献:

[1] Miguel A, Lopez-Gonzalez, Carmen Lopez-Lorente, et al.

Sudden deafness caused by lifestyle stress; Pathophysiological mechanisms and new therapeutic perspectives [J]. *Open Otorhinolaryngol J*, 2009, 3: 1 - 4.

[2] 吕丽,江虹,李文杰,等.突发性耳聋患者的情绪特征及应对方式[J].*山东大学学报(医学版)*,2011,49(7):155-158.

[3] Juhn SK, Li W, Kim JY, et al. Effect of stress-related hormones on inner ear fluid homeostasis and function [J]. *Am J Otol*, 1999, 20(6): 800 - 806.

[4] Sohmer H, Freeman S, Friedman I, et al. Auditory brainstem response (ABR) latency shifts in animal models of various types of conductive and sensori-neural hearing losses [J]. *Acta Otolaryngol*, 1991, 111(2): 206 - 211.

[5] 李兴启.听觉诱发反应及应用[M].人民军医出版社,2007:137-143.

[6] Ferrary E, Bernard C, Teixeira M, et al. Hormonal modulation of inner ear fluids [J]. *Acta Otolaryngol*, 1996, 116(2): 244 - 247.

[7] Khaimook W, Jantarapattana K. Therapy of idiopathic sudden sensorineural hearing loss with intratympanic steroid injection [J]. *J Med Assoc Thai*, 2011, 94(12): 1495 - 1499.

[8] Slattery WH, Fisher LM, Iqbal Z, et al. Oral steroid regimens for idiopathic sudden sensorineural hearing loss [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005, 132(1): 5 - 10.

[9] 陈莉涛,骆文龙,甘秀妮,等.心理干预对突发性耳聋疗效影响的相关性研究[J].*重庆医学*,2006,35(2):154-155.

[10] Ban JH, Jin SM. A clinical analysis of psychogenic sudden deafness [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006, 134(6): 970 - 974.

[11] 刘丹,万浪,刘维荣,等.不同年龄段突发性耳聋的临床特征和转归[J].*中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2012,18(3):215-217.

(修回日期:2013-09-29)

· 消息 ·

版权说明

为适应我国信息化建设,扩大本刊及作者知识信息交流渠道,本刊已被《中国学术期刊网络出版总库》及CNKI系列数据库收录,作者著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。如作者不同意文章被收录,请在来稿时向本刊声明,本刊将做适当处理。