

大鼠胎儿期噪声暴露对成年后听觉目标探索行为的影响

高菲 蒲青 陈良 李相尧 孙心德 张季平*

(华东师范大学生命科学学院脑科学研究中心 上海 200062)

摘要:环境噪声被认为是影响健康的重要因素之一,但有关胎儿期环境噪声对成年后听觉行为的影响缺少系统的研究。本研究对胎儿噪声暴露组、成年噪声暴露组和正常对照组大鼠在出生后第11周开始进行为期17 d的听觉目标探索训练,观察其在水迷宫中寻找听觉目标的行为差异。以大鼠寻找平台的时间、成功率、运动轨迹为指标对其听觉目标探索行为进行比较。结果发现,噪声暴露可导致大鼠在水迷宫中的听觉目标探索行为的缺陷,在胎儿期噪声暴露比成年期噪声暴露对动物探索听觉目标的行为影响更大。该结果提示,孕期进行适当的噪声防护以保证优生优育是非常必要的。

关键词:胎儿期,噪声,听觉目标,水迷宫

中图分类号:Q957,Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)05-20-07

Influence of Prenatal Noise Exposure on the Auditory Object Exploration Behavior of Adult Rats

GAO Fei PU Qing CHEN Liang LI Xiang-Yao SUN Xin-De ZHANG Ji-Ping*

(Research Center for Brain Science, School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: Environmental noise has been considered as one of the important factors to influence health, however, few studies have been conducted regarding the prenatal noise exposure on the auditory behavior of adult. The present study compares the auditory object exploration behavior determined in water maze apparatus among three different groups of rats, i.e., prenatal noise exposure group, adult noise exposure group, and normal control group. Rats were trained to perform auditory object exploration task from the 11th week after birth and the test lasted for 17 consecutive days. The auditory object exploration behavior of the three groups of rats was compared by the following indexes: the latency and the rate of success for finding the platform, as well as the category of movement tracks. The results indicate that noise exposure can deficit the auditory object exploration behavior of rats, and noise exposure during prenatal period has stronger influence on the adult auditory behavior than noise exposure during adult period does. The results suggest that it is necessary for human and animals to be away from hazardous noise during pregnancy.

Key words: Prenatal period, Noise, Auditory object, Water maze

基金项目:上海市自然科学基金项目(No.05ZR14041),国家自然科学基金项目(No.30570595),上海市曙光计划项目(No.05SC28),上海市浦江人才计划项目(No.06PJ14036);

* 通讯作者, E-mail: jpzhang@bio.ecnu.edu.cn;

第一作者介绍:高菲,女,硕士研究生,研究方向:神经生物学, E-mail: gaofei_2010@163.com

收稿日期:2006-12-11, 修回日期:2007-06-25

噪声是发声体作无规则振动产生的,日常生活中的环境噪声主要包括交通噪声、工业噪声和生活噪声。环境噪声被认为是影响健康的重要因素之一,已有的研究表明,长期暴露于噪声环境中的人和动物,其正常生理功能(包括听觉功能)会受到干扰^[1-5]。高强度的环境噪声对听觉系统的影响,主要表现为进行性的听力损失和听觉敏感性阈值的提高,以及对声音时间编码的缺陷,对非听觉系统的影响,主要表现为对睡眠、情绪、血压的影响,可导致失眠、烦躁或沮丧、血压升高等^[1-3,5-8]。长期生活在噪声环境中的儿童,其注意力和学业水平也明显降低^[3]。以上这些研究主要涉及出生后的噪声环境对人和动物正常生理功能的影响,有关胎儿期的环境噪声对出生后生理功能的影响报道较少,尤其是胎儿期噪声暴露对成年时听觉行为的影响缺少系统的研究。已有的研究表明,过高强度的噪声能损伤羊胎儿的毛细胞,出生后脑干听觉诱发电位阈值提高^[9];出生前高强度噪声暴露能降低大鼠海马神经细胞的发生和幼鼠的空间记忆能力^[10];胎儿期受低频噪声暴露的儿童,在 4 kHz 的听力损失的危险性比正常声环境的儿童高^[11]。在日常生活中,由于种种原因,很多孕妇仍然在声音嘈杂的环境中工作,她们长时间暴露于约 80 分贝声压水平(decibel of sound pressure level, dB SPL)的噪声环境中。由于人和动物的听觉系统在胎儿期及出生后都要经历一个发育与完善的过程,部分听觉功能的发育在胎儿期就已经完成,我们推测胎儿期噪声暴露可能对胎儿的听觉功能发育产生影响,并在成年时的行为上表现出来。为了检验这种推测,本研究对胎儿期和成年期大鼠给予一段时间噪声暴露,观察大鼠在成年时的听觉目标探索行为并与正常对照组进行比较,研究胎儿期和成年期大鼠所处的噪声环境对其成年后的听觉目标探索行为的影响程度,为在健康声环境下优生优育提供实验和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 实验在健康成年 SD 大鼠(母鼠购自国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心)上进行,雌雄不限,饲养于约 25℃ 环境下,给予正常饮食和光照。大鼠分 3 组:胎儿噪声暴露组(7 只),成年噪声暴露组(7 只),对照组(8 只)。3 组大鼠的母鼠为年龄一致的同一批动物。胎儿噪声暴露组的母鼠在怀孕第 2 周和第 3 周给予白噪声暴露,成年噪声暴露组大鼠在出生后第 9 周和第 10 周给予白噪声暴露。白噪声暴露期间,胎儿噪声暴露组的母鼠以及成年噪声暴露组大鼠被送入隔离的白噪声暴露室内,每天夜间给予 8 h 白噪声(强度为 80 dB SPL)暴露,在当天暴露结束后送入常规饲养室内(对照组大鼠所在饲养室)。对照组大鼠在常规饲养室内出生并饲养至成年,该室内背景声强度为 35~40 dB SPL,在母鼠怀孕期及大鼠出生后均未经过 80 dB SPL 的白噪声暴露。3 组大鼠养至第 11 周龄时开始行为学实验。

1.2 水迷宫实验装置 实验在水迷宫内进行。水迷宫由经典 Morris 水迷宫^[12]改良而成,为直径 1.5 m、高 0.8 m 的圆形水池,池壁和池底部均为黑色,池水黑色(水中溶有黑色食用色素),深 0.5 m(图 1)。一块长约 1.2 m 的有机玻璃板将迷宫分为实验区和加热区。加热区有自动温控加热系统,使水温维持在 21℃ 左右。实验区被 6 个有机玻璃板分成 7 个区域(图 1)给予声音的喇叭随机安置于 0°、30°、60°、90°、120°、150°、180° 等任意一个水平方位的迷宫壁内,高于水面 10 cm。水迷宫隐藏平台(长 9 cm,宽 7 cm)位于两个相邻的有机玻璃板之间,在距池壁 10 cm、水面下 1 cm 处。池壁上部由黑色薄纱布遮盖,以隐藏给声的喇叭。水迷宫的正上方有一数字摄像机,可全程跟踪并录制大鼠在水迷宫的行为,影像被输入电脑保存,以进行后处理。水迷宫周围挂白色布帘以避免周围环境对大鼠行为的干扰。

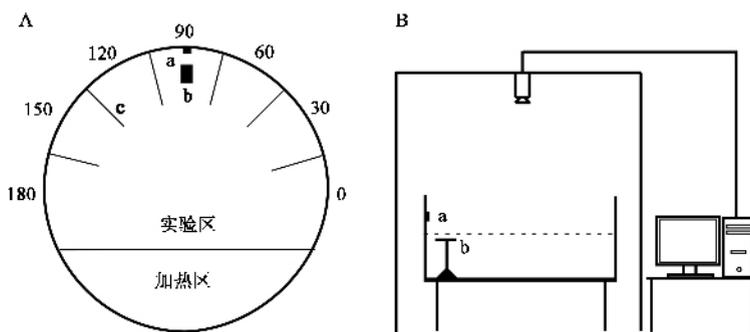


图 1 水迷宫实验装置示意图

Fig. 1 Schematic illustration of water maze used in the experiment

A. 俯瞰视图; B. 侧面视图。a. 给声喇叭; b. 置于水下的平台; c. 有机玻璃隔板。

A. Overlook of water maze; B. Lateral view of water maze. a. Loudspeaker; b. Hidden platform; c. Clapboard.

1.3 声刺激条件 实验中给动物白噪声暴露使用的环境噪声为 80 dB SPL 的白噪声,由噪声振动测量仪(杭州爱华仪器有限公司)校正。测试动物听觉行为的听觉目标为频率 8 kHz、强度 50 dB SPL 的纯音(时程为 100 ms,升降时间为 5 ms),每间隔 500 ms 给予一次声刺激,由安置在水迷宫壁上的喇叭给予。噪声和纯音均由 CoolEdit 2000 软件合成。

1.4 行为学实验 将大鼠置于迷宫中心水面上方,使其头朝向水平方位 90°,开始录像。待动物安静后,喇叭发出 8 kHz、强度 50 dB SPL 的纯音作为听觉目标。给 3 s 时间让大鼠感知声源,然后将大鼠放入水中,记录大鼠在水迷宫中寻找平台所需时间。如在 60 s 内大鼠未找到平台,则将大鼠从水中取出并放置在平台上停留 30 s 后取出,喇叭给声至动物从平台取走结束。如大鼠在 60 s 内找到平台,也让其在平台上停留 30 s 后取出。该过程用于训练大鼠建立平台和声音的联系。大鼠每训练一次休息 6 min 左右,每天训练 7 个角度。在多个角度训练的目的在于减少动物对听觉目标位置的记忆干扰。实验每天进行,所有动物每天训练的次数相同,每组动物训练 17 d。

1.5 数据分析与处理 记录大鼠每次寻找平台所需时间,如在 60 s 内未找到平台记为 61 s。计算每组大鼠每天寻找平台的时间的平均值和标准误,并计算大鼠在水迷宫中寻找平台的成

功率(以 40 s 内找到平台为成功标准)。使用水迷宫实验分析软件对大鼠在水迷宫中的活动轨迹进行跟踪、制图后,分析运动轨迹的变化趋势。实验结果用 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果

从 3 组大鼠在水迷宫中寻找平台的时间、成功率、运动轨迹等随训练时间变化的趋势三方面分析大鼠对听觉目标的探索行为。

2.1 大鼠寻找平台的时间 对 3 组大鼠寻找平台的时间进行分析发现,随着训练天数的增加,大鼠寻找平台的时间均呈缩短趋势(图 2),但不同组的变化有差异。在训练的第 1~6 d 3 组大鼠寻找平台的时间没有显著差异(One way ANOVA, $P > 0.05$)。自第 7 d 开始,3 组大鼠寻找平台的时间出现差异,除第 11 d 外,在测试的第 7~17 d 差异显著(One way ANOVA, $P < 0.05$)。组间双尾 t -检验表明,在第 7~10 d 及第 12~17 d 期间,胎儿噪声暴露组大鼠寻找平台的时间比对照组和成年噪声暴露组显著延长($P < 0.05$)。在整个训练期间,只有在第 13、15、16 d 噪声暴露组寻找平台的时间显著高于对照组(Independent-sample t -test, $P < 0.05$)。在训练的第 17 d 3 组大鼠寻找平台的平均时间(Mean \pm SE)分别为:对照组(12.80 \pm 1.22) s,成年噪声暴露组(17.14 \pm 2.30) s,胎儿期噪声暴露组(32.19 \pm 3.14) s。

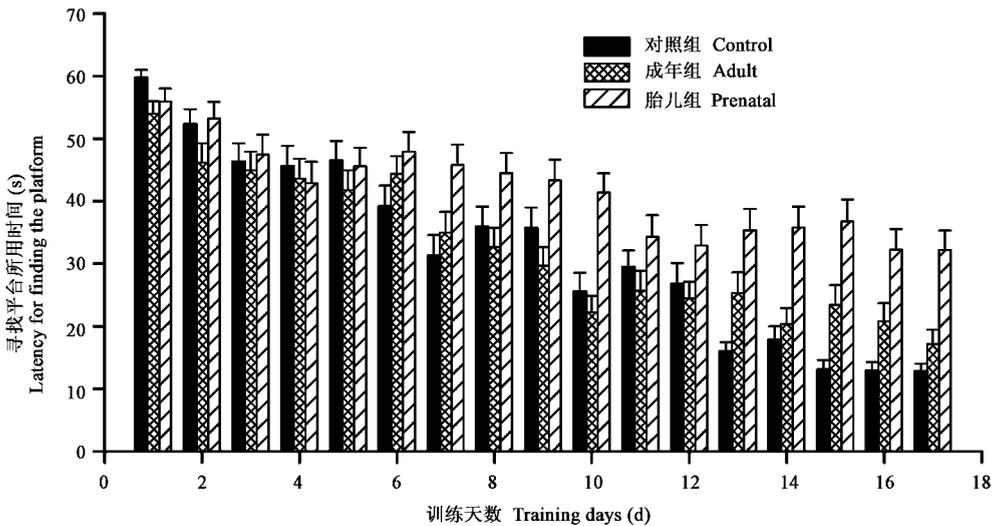


图 2 大鼠在水迷宫中寻找隐藏平台所用的时间(Mean ± SE)与训练天数的关系

Fig. 2 Latency for rats to find the hidden platform as a function of training days

2.2 大鼠寻找平台的成功率 以大鼠在 40 s 内找到平台为成功指标,对 3 组大鼠在训练期间的成功率(每组大鼠成功总次数/每组大鼠测定总次数 × 100%)进行了分析,结果见图 3。自训练第 6 d 开始,胎儿噪声暴露组寻找平台的成功率低于对照组和成年噪声暴露组;自训练的第 12 d 开始,成年噪声暴露组寻找平台的成功率低于正常对照组。在训练的第 12 ~ 17 d 期间,3 组大鼠寻找平台的成功率规律为:对照组最高,成年噪声暴露组次之,胎儿噪声暴露组最低。在训练的第 17 d,3 组大鼠寻找平台成功率分别为:对照组 98.2%,成年噪声暴露组 90.5%,胎儿噪声暴露组 64.3%。

2.3 大鼠寻找平台的运动轨迹分类 对大鼠在寻找平台过程中的运动轨迹进行分析发现,大鼠从训练开始到第 17 d 的运动轨迹主要可分为 A、B、C、D 4 类(图 4)。在训练初期,大鼠并不知道平台的位置,以及平台和声源的联系,在水迷宫中的运动轨迹无规则,运动范围覆盖了整个测试区域(图 4 :A-1, A-2, A-3),在 60 s 内没有找到平台或找到平台的时间在 40 s 以上,运动轨迹分类为 A 类。随着训练天数的增加,大鼠逐渐发现平台在隔板间的区域内,在水迷宫中的运动开始沿着隔板进行,运动轨迹

比 A 类显著简化,运动区域基本局限在隔板所在区域,但需要搜寻 4 个以上的隔板区域才能寻找到平台(图 4 :B-1, B-2, B-3),运动轨迹分类为 B 类。当训练到一定时间后,大鼠基本能根据声源的位置在声源附近的 2 ~ 3 个隔板区域内寻找到平台(图 4 :C-1, C-2, C-3),运动轨迹分类为 C 类。当大鼠能根据声源的位置直接寻找到平台(图 4 :D-1, D-2, D-3),运动轨迹分类为 D 类。

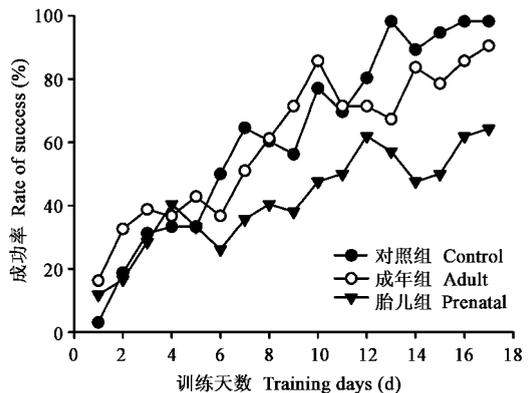


图 3 大鼠在水迷宫中寻找平台的成功率随训练天数变化的规律

Fig. 3 Rate of success for rats to find the hidden platform as a function of training days

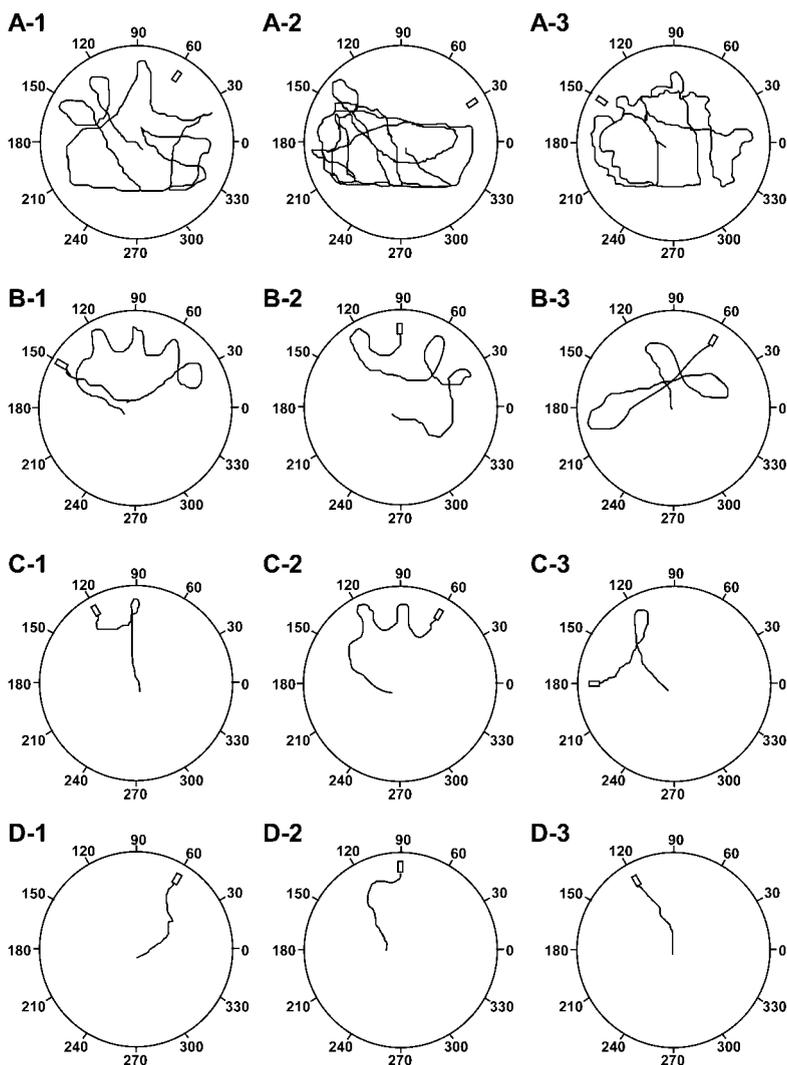


图 4 大鼠在水迷宫中运动轨迹的分类

Fig. 4 Category of rat's movement track during searching the platform

A-1, A-2, A-3 的轨迹为 A 型; B-1, B-2, B-3 的轨迹为 B 型; C-1, C-2, C-3 的轨迹为 C 型; D-1, D-2, D-3 的轨迹为 D 型。

The moving tracks in the first, second, third and the fourth row represent category A, B, C and D, respectively.

2.4 运动轨迹类型随训练时间的变化 3 组大鼠自训练第 1 d 到第 17 d 期间的运动轨迹呈有规律的变化趋势。总的来说, 随训练天数的增加, A 类轨迹呈减少趋势, B、C 和 D 类轨迹呈增多趋势, 但 3 组大鼠组间有差异。图 5 显示了 3 组大鼠在第 1、11、17 d 的运动轨迹类型比例, 可以看出, 对照组 A 类轨迹的百分比变化最大, 至第 17 d, 没有发现 A 类轨迹; 成年噪声暴露组次之, 胎儿噪声暴露组 A 类轨迹的百分

比变化最小, 至第 17 d, 仍有 47.6% 的 A 类轨迹存在。对照组 C、D 两类的轨迹百分比的变化也比其他两组大, 至第 17 d, 对照组 C、D 两类的运动轨迹比例占 66.1%, 成年噪声暴露组为 36.7%, 胎儿期噪声暴露组为 23.8%。这些结果提示, 噪声暴露对大鼠在水迷宫中的听觉目标探索行为有影响, 但在胎儿期的噪声暴露比成年时噪声暴露对大鼠的运动轨迹的影响更大。

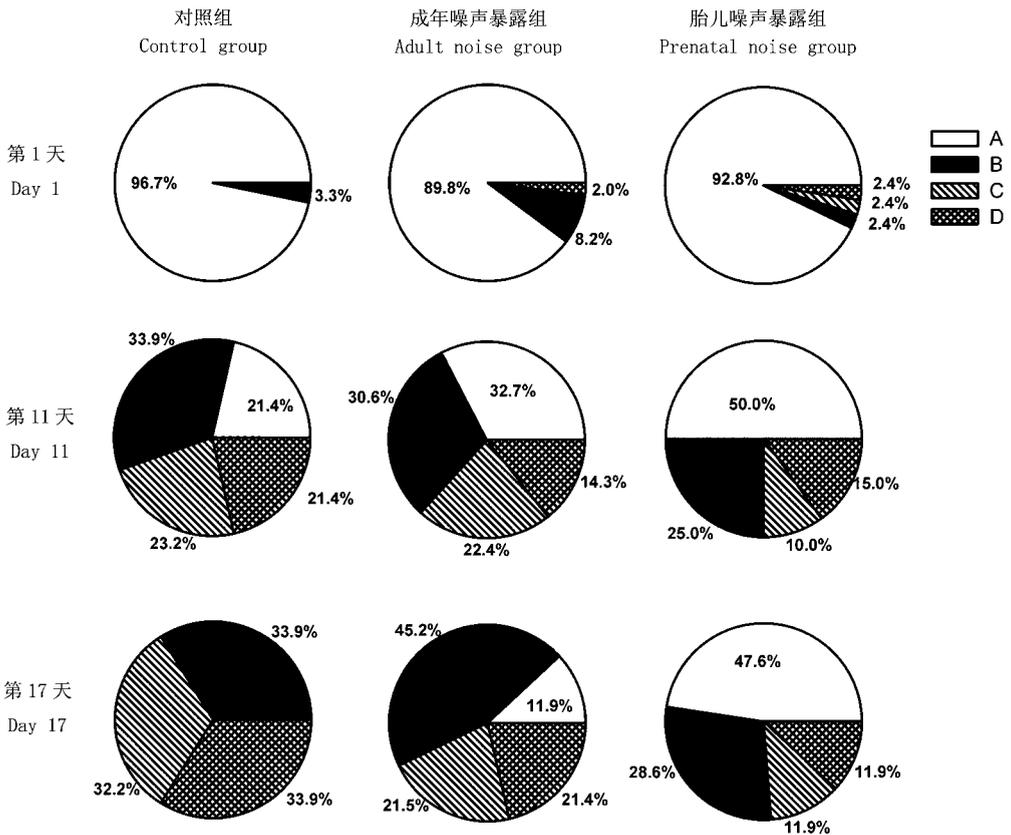


图 5 3 组大鼠在训练的第 1、11、17 d 运动轨迹的类型组成

Fig. 5 Percentage of different category of movement track at different training days

3 讨论

本研究以声音为引导线索,观察了胎儿噪声暴露组、成年噪声暴露组和对照组大鼠在水迷宫中寻找平台的行为。结果表明,3 组大鼠在水迷宫中寻找平台都有一个学习过程,随着训练天数的增加,大鼠寻找平台的时间呈缩短趋势,寻找平台的成功率呈升高趋势,运动轨迹也表现为由复杂到简单的变化趋势。在训练的第 1~6 d,可能主要是大鼠熟悉水迷宫环境的时期,3 组大鼠寻找隐藏平台的时间并无显著差异。然而,在训练的后期,3 组大鼠寻找听觉目标的行为表现又存在明显的差异,胎儿噪声暴露组寻找平台的时间比对照组和成年噪声暴露组显著延长,其寻找平台的成功率也比对照组和成年噪声暴露组低;成年噪声暴露组寻找平台的时间只有 3 d 的数据明显高于对照组,

其他数据无显著性差异,但在训练后期,成年噪声暴露组寻找平台的成功率比对照组低。从这些趋势可以看出,在胎儿期和成年后两个不同时期,环境噪声暴露对动物成年后完成听觉目标探索行为的影响是不同的,胎儿期噪声暴露的影响比成年时噪声暴露的影响更大一些。从 3 组大鼠寻找平台的运动轨迹来看,虽然 3 组大鼠的运动轨迹随训练天数的增加呈由复杂到简单的变化趋势,但在训练后期,胎儿噪声暴露组大鼠寻找平台的轨迹中 A、B 两类的比例比对照组和成年噪声暴露组都高,这也是胎儿噪声暴露组寻找平台的时间比其他两组大鼠寻找平台的时间长的原因之一。

大鼠在水迷宫中对听觉目标的探索行为包括寻找隐藏平台的学习以及根据声源方位寻找平台的学习过程。噪声暴露对大鼠听觉目标探索行为的影响可能来源于对空间学习记忆以及

对听觉系统功能的影响这两个方面。Kim 等发现,在大鼠胎期给予一段时间的高强噪声(95 dB SPL)暴露后,幼年大鼠的空间记忆能力出现缺陷,海马的神经细胞发生(neurogenesis)能力降低^[10]。尽管本研究中使用的噪声环境与 Kim 等研究中的噪声环境不同,但从大鼠成年后表现的行为看,胎期期的噪声暴露显然影响了大鼠的空间学习能力,至于是否影响了海马的神经发生,有待于进一步研究。有关噪声对听觉系统的影响表明,在羊胎儿发育期给予强噪声暴露,观察到耳蜗顶部和中部的毛细胞受损^[9]。有研究表明,孕妇所处环境的声音可传入体内,其强度随频率变化被衰减或放大,最大衰减可达 10 dB^[13],但胎儿可感受的声音主要是低频的声音,高频声音在胎儿所处的环境中急剧衰减,但持续的噪声环境可导致胎儿的毛细胞受损^[14]。对羊胎儿的研究表明,连续 16 h 的 120 dB SPL 噪声暴露使羊胎儿的脑干听觉诱发电位阈值提高^[15]。这些研究在一定程度上可帮助理解母体所处的噪声环境会对胎儿感受的声环境产生影响,以及进而影响其听觉功能发育的原因。当然,本研究中使用的 80 dB SPL 的白噪声是否损伤大鼠胎儿耳蜗的毛细胞或改变大鼠胎儿的脑干诱发电位,并进一步影响了成年时的听觉功能,尚需进一步的组织学和生理学研究。尽管如此,胎期期噪声暴露导致大鼠成年后听觉目标探索行为出现缺陷的结果提示,孕期妇女应尽量避免长期在噪声环境中工作和生活,企业对孕妇进行适当的噪声防护以保证优生优育是非常必要的。

参 考 文 献

- [1] Stansfeld S A , Matheson M P . Noise pollution : non-auditory effects on health . *Br Med Bull* 2003 **68** (1) : 243 ~ 257 .
- [2] Stansfeld S , Haines M , Brown B . Noise and health in the urban environment . *Rev Environ Health* 2000 **15** (1 - 2) : 43 ~ 82 .
- [3] Kawada T . The effect of noise on the health of children . *J Nippon Med Sch* 2004 **71** (1) : 5 ~ 10 .
- [4] Van Dijk F J , Souman A M , De Vries F F . Non-auditory effects of noise in industry . VI . A final field study in industry . *Int Arch Occup Environ Health* 1987 **59** (2) : 133 ~ 145 .
- [5] Aizawa N , Eggermont J J . Effects of noise-induced hearing loss at young age on voice onset time and gap-in-noise representations in adult cat primary auditory cortex . *J Assoc Res Otolaryngol* 2006 **7** (1) : 71 ~ 81 .
- [6] Turner J G , Parrish J L , Hughes L F , et al . Hearing in laboratory animals : strain differences and nonauditory effects of noise . *Comp Med* 2005 **55** (1) : 12 ~ 23 .
- [7] Rybalko N , Syka J . Effect of noise exposure on gap detection in rats . *Hear Res* 2005 **200** (1 - 2) : 63 ~ 72 .
- [8] Ising H , Michalak R . Stress effects of noise in a field experiment in comparison to reactions to short term noise exposure in the laboratory . *Noise Health* 2004 **6** (24) : 1 ~ 7 .
- [9] Gerhardt K J , Pierson L L , Huang X , et al . Effects of intense noise exposure on fetal sheep auditory brain stem response and inner ear histology . *Ear Hear* 1999 **20** (1) : 21 ~ 32 .
- [10] Kim H , Lee M H , Chang H K , et al . Influence of prenatal noise and music on the spatial memory and neurogenesis in the hippocampus of developing rats . *Brain Dev* 2006 **28** (2) : 109 ~ 114 .
- [11] Lalande N M , Hetu R , Lambert J . Is occupational noise exposure during pregnancy a risk factor of damage to the auditory system of the fetus ? *Am J Ind Med* 1986 **10** (4) : 427 ~ 435 .
- [12] Morris R . Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat . *J Neurosci Methods* 1984 **11** (1) : 47 ~ 60 .
- [13] Richards D S , Frentzen B , Gerhardt K J , et al . Sound levels in the human uterus . *Obstet Gynecol* 1992 **80** (2) : 186 ~ 190 .
- [14] Gerhardt K J , Abrams R M . Fetal exposures to sound and vibroacoustic stimulation . *J Perinatol* 2000 **20** : S21 ~ S30 .
- [15] Griffiths S K , Pierson L L , Gerhardt K J , et al . Noise induced hearing loss in fetal sheep . *Hear Res* 1994 **74** (1 - 2) : 221 ~ 230 .