

## 聽覺腦幹反應之神經藥理學應用

李宏生

### 摘要

以聽器毒性藥物Kanamycin, Furosemide及Nitrogen Mustard等三種投與天竺鼠而掃引天竺鼠的聽性腦幹反應。各藥物繼續投與中，聽性腦幹反應呈現特殊的經時性變化。此聽性腦幹反應的變化可應用於偵測藥物的聽器毒性，既可為初步篩檢，亦可為研究聽覺系受藥物作用之指標。

### 緒論

以音刺激誘發腦波的變化來做聽力檢查，可說為聽力檢查建立了客觀性的檢查指標 (parameter)，嗣後隨着電生理學技術的進展，原來的腦波遂由聽性誘發電位 (auditory evoked potential)、蝸電圖 (electrocochleogram)、聽性腦幹反應 (auditory brainstem response, ABR) 等所取代；後者乃成為更有力的檢查指標。

ABR 是 1970 年 Jewett<sup>(1)</sup> 首次從人的頭頂上以電生理學方法誘導而記錄出來的電位現象。其特性為潛伏期甚短，電位極微弱，需多次加算波形才能記錄出來；所以 ABR 的發生來源公認非源於皮質或皮質下核的誘發電位而源於腦幹部的電生理現象 (Jewett<sup>(1)</sup> et al 1970, Lev and Sohmer<sup>(2)</sup> 1972)。近年來由於電腦技術突飛猛進，使 ABR 的導出更容易，因而此電生理現象可利用於多項研究，如基礎醫學研究與臨床醫學研究。本檢查不引起任何痛苦，對人沒有年齡限制 (嬰幼兒亦可)，又無需借助藥劑之作用即能從事實驗記錄。這些優點應可使本法廣泛應用於客觀性聽力檢查及耳科聽力學的基礎醫學研究。

藥理神經學的研究大體可分為兩大方向。一為觀察藥物對 ABR 各波形成份的影響度來判斷藥物對聽覺系傳音機構的藥理學意義；另一為應用 ABR 來探察藥物對聽覺器是否有毒性存在。隨着人們對藥品的安全性提高警覺，藥物之耳毒性 (ototoxicity) 亦越被醫家及病家所重視。ABR 檢查可望成為篩檢耳毒性作用的簡單且迅速的方法嗎？為究明其真相，本實驗採用已知的耳毒性代表藥物三種，即胺基糖苷類抗生素 (aminoglycoside, kanamycin)、制癌劑芥子氣 (Nitrogen Mustard)、腎小管滯係利尿劑 (Furosemide) 以天竺鼠為實驗動物，檢測對 ABR 之影響結果並提出報告。

### 材料與方法

實驗動物為體重 500 gm 左右之雄性天竺鼠。以 Pentobarbital Na 30 mg/kg，經腹腔內投與而麻醉之後，予以露出頭蓋，在其聽覺領域內之頭蓋骨鑽直徑約 1 mm 之小孔，放置直徑 0.2 mm 以銀線製作之記錄用電極，以齒科用水泥固定之。以小型螺絲電極做為中性電極置放於鼻骨正中線上固定之。這些電極皆與固定於頭蓋上之插頭接連。為方便藥物之

台北醫學院附設醫院耳鼻喉科

民國七十五年二月二十一日受理

本篇論文要旨於民國 74 年 11 月 9 日發表在第 39 屆中華民國耳鼻喉科學術演講會

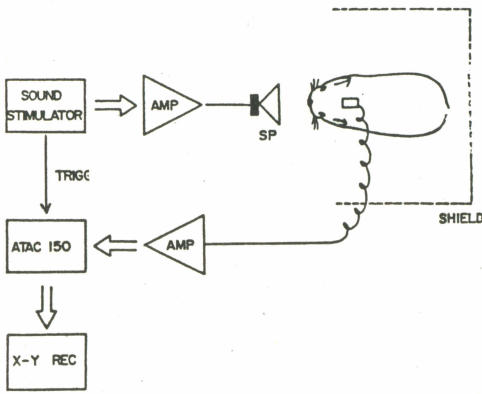


圖 1

靜脈內投與，在左側外頸靜脈內插入外徑 1mm 之 polyethylene 管，另一端則通過頸部皮下導至頭頂部，固定於上述插頭鄰接處。經手術後 3~5 日方可供 ABR 記錄實驗。

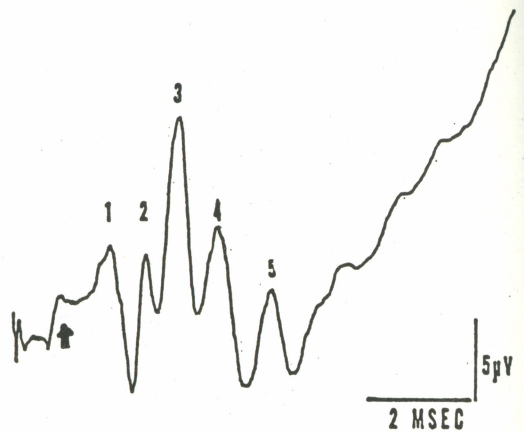
刺激採 Dana Japan 製音刺激裝置 (DA-502 A) 發出之半周期 100 msec. pulse 之 click 音。音刺激頻度為每秒 2 次，刺激強度定為 80 dB，擴音器置於天竺鼠頭部前方 25 cm 處。ABR 經 200 次加算後記錄於 XY 記錄器上。器械及動物配置如圖 1 所示。

## 結果

### 一、天竺鼠的 ABR 波形：

電極分別置於聽覺領域內之頭蓋與鼻骨正中線上，擴音器放出 80 dB 的 click 音，每秒 2 次共發出 200 次時之 ABR 波形以圖 2 表示。音刺激發生之同時間，掃瞄亦開始，但擴音器與動物間之距離有 25 cm，故音刺激實際到達內耳之時點之箭頭表示。測量該時點至各 5 波 peak 之潛伏期，各為 peak 1 : 1 msec, peak 2 : 1.8 msec, peak 3 : 2.4 msec, peak 4 : 3.2 msec, peak 5 : 4.2 msec。此值與谷口<sup>(3)</sup>等 (1976) 報告之 P1~P4 之潛伏期一致。又各波成分之起源，由各項生理學的研究，可認定為圖 2 下方所示之各核群；peak 3 以後，雖經路複雜，尚未確定，惟其來自主要核群等事實則不容置疑。

AUDITORY BRAINSTEM RESPONSE IN GUINEA PIG



- PEAK 1 : ORGAN OF CORTI & ACOUSTIC NERVE
- PEAK 2 : COCHLEAR NUCLEI
- PEAK 3 : SUPERIOR OLIVARY COMPLEX
- PEAK 4 : NUCLEUS OF LATERAL LEMNISCUS
- PEAK 5 : INFERIOR COLLICULUS

圖 2

ABR CHANGES IN GUINEA PIG FOLLOWING REPEATED INJECTIONS OF KANAMYCIN (400 mg/kg, i.m.)

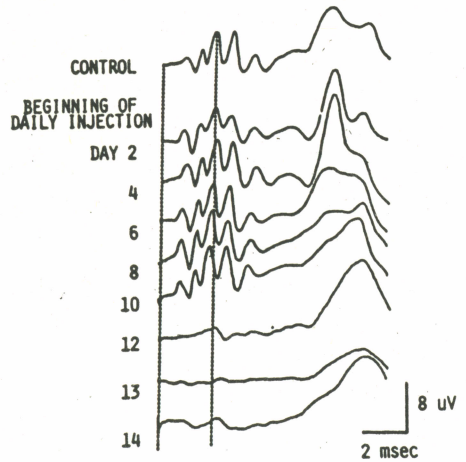


圖 3

### 二、Kanamycin

1 日一次，400 mg/kg 的用量，連續肌肉注射 14 日。由圖 3 所示，天竺鼠 ABR 在投與開始後 10 日間幾乎不受藥物影響。但第 12 日後記錄可見 ABR 顯著減少與消失。此變化屬不可逆性，藥物投與終止後亦不見恢復。同樣之作用，已經谷口<sup>(4)</sup>等 (1979) 之



研究所肯定。彼等亦對天竺鼠連續皮下投與 Kanamycin 每日劑量 400mg/kg，經 10 日而觀察到急劇的蝸電圖與聽性腦幹反應之降低與消失。此突發性的病變傷害是胺基糖苷類抗生素耳毒性之特徵。

### 三、Furosemide

腎小管滲透利尿劑 Furosemide 與 ethyacrynic acid 公認具有強力耳毒性作用。由多項動物實驗得知，雖因投與量而異，Furosemide 所引起的聽器傷害屬一時性，亦即能恢復。圖 4 表示 Furosemide 50mg/kg 急性靜脈內投與之結果。投與後 5 分之記錄可

EFFECT OF FUROSEMIDE ON ABR IN GUINEA PIG

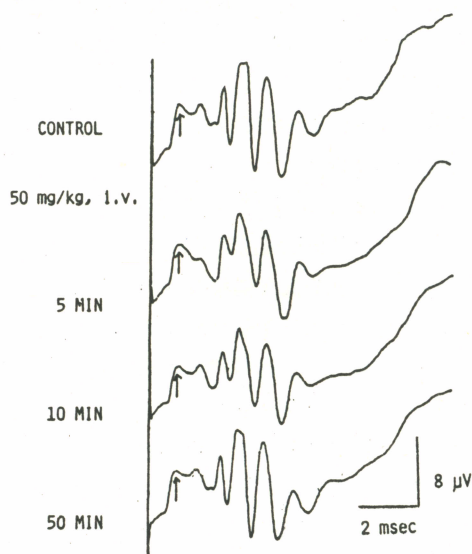


圖 4

EFFECT OF NITROGEN MUSTARD ON ABR IN GUINEA PIG

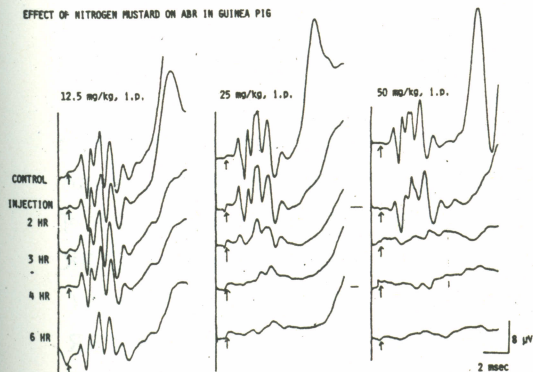


圖 5

見輕度却明顯的 ABR 振幅之減少。10 分時之觀察雖尚可見有意義的振幅減少，但與 5 分之結果比較，可窺知在該時點已趨向於恢復，50 分後則呈與藥物投與前約略同程度之 ABR 記錄。因此 ABR 法亦能充分追蹤一時性之耳毒性經過。

### 四、Nitrogen Mustard

與 Furosemide 比較 Nitrogen Mustard 單劑急性投與即能引起更高度之聽覺傷害。本實驗以 12.5, 25, 50 mg/kg 三種用量做單劑腹腔內投與 (圖 5)。12.5 mg/kg 群，在投與後 6 小時幾無變化。25 mg/kg 之用量群在 3 小時後，50 mg/kg 則 2 小時後即可見 ABR 振幅之減少，6 小時後則消失殆盡。此變化至少在實驗當日 24 小時內不見恢復，是屬不可逆性。

## 討 論

使用動物實驗來評估藥品對聽覺系統的安全性，美國製藥工業協會列舉下列幾項為檢查法之基準。

#### 1. 臨床檢查

- (1) Preyer 氏反射 (耳翼反射)
- (2) 行動聽力測定 (behavior or conditioned)

#### 2. 電生理學檢查

- (1) 蝸電圖
- (2) 聽性腦幹反應

#### 3. 形態學檢查

- (1) 蝸牛之位相差顯微鏡檢查
- (2) 組織學檢查
- (3) 電子顯微鏡檢查

Preyer 氏反射為最簡單的測試方法，主要使用天竺鼠或兔類動物。以該動物對數種不同頻率之音刺激起回應的耳翼跳動作用來判定聽覺之有無。因為此方法不需手術，亦不需特別的測定儀器，故常用為聽覺傷害的初步檢查法。但是耳翼跳動單憑肉眼觀察來判定，易有主觀性的偏差；另外音刺激可能引起習慣性，聽覺以外的要素與耳翼跳動有關的肌肉神經的

介入等乃是該法之缺點。因此應以形態學的檢查正確把握病變傷害的程度。惟形態學的檢查，需久候至試驗過程結束，投藥期間終了才能施行；故其缺點為無法追究投藥檢查期間內經時的病化。又製作組織標本，需耗費相當時間。爲了能客觀的測出各段經時的變化，電生理學檢查越顯得重要。電生理學檢查法有兩種：蝸電圖檢查法及聽性腦幹反應是也。蝸電圖對蝸牛聽器毒性變化反應可提供相當正確的情報，又對不同頻率的音刺激也顯示相對的反應；但對於更廣範圍，包括中樞系徑路之聽覺毒性則尚嫌不足。又蝸電圖檢查法無法長時間留置電極於蝸中部位來記錄。能彌補上述種種缺點者目前惟有聽性腦乾反應檢查法。本檢查法之優劣綜合分析如表 1。

在無需麻醉，無拘束狀態之下即能充分記錄經擴音機發出的音場 ( sound field ) 刺激，只需多次加算刺激次數，則音壓刺激強度雖然微弱也可記錄到 ABR，故可避免受檢查的動物因強音刺激而引起的內耳急性噪音病變 ( acoustic trauma )。技術上，以波形記錄資料爲檔，以簡單手術把電極固定在頭蓋骨，可以長時間反覆試驗同一隻動物。另一方面，ABR 無法充分測知某特定音頻率的內耳變化程度 ( frequency-dependent change )，操作 ABR 機器者需具備某種程度的電生理學知識和經驗，尤甚者 ABR 尚未徹底解明，所以要認定 ABR 檢查法爲絕對完美而正確的耳毒性檢查指標，則還有爭論；ABR 僅可說利於篩檢而已。但權衡得失，利用 ABR 似乎利多於弊。爲求更進一步之證實，才做本實驗。

胺基配醣體引起的聽覺傷害，源於內耳毛細胞之病變，而胺基配醣體由血中移行至內耳外淋巴液，再過基底板移入 Corti 淋巴液內，要達到傷害外毛細胞之濃度需一段時間。因此該抗生素引起之聽覺損害多於反覆投與中突然發生。Kanamycin 每日 400 mg/kg 肌肉投與，頭 10 天觀察，ABR 完全正常，但第 12 日 ABR 突然消失。此現象可推想爲使用 Kanamycin 量太大，以致形成幾乎突發性的最

大聽覺損傷。若減少用量，或許可追蹤到更長時間經時性的緩慢 ABR 振幅變化。

以 Preyer 氏反射爲指標時，在 Kanamycin 每日 200 mg/kg 肌肉注射條件下觀察到的天竺鼠耳翼跳動反應如下：即對不同音頻率的回應，從第 2 週開始，在高頻率域 ( 12 KHZ 以上 ) 出現降低；第 3 週時在 3 KHZ 以上頻率帶可見傷害影響。這些事實已由秋吉 (5) ( 1969 ) 報告過。究竟 ABR 對不同頻率音刺激引起的內耳相關聽覺傷害 ( frequency-dependent change ) 程度可否判定，乃今後需研究的課題。

腎小管滯係利尿劑亦公認具聽器毒性，以 ethacrynic acid 和 Furosemide 爲其代表。這些藥物引起聽器損傷的原因，初期被推想爲內耳血管條 ( stria vascularis ) 之細胞間質水腫，致使內耳器官之循環傷害而惹起一過性聽力降低。

Brummett 等 (6) ( 1975 ) 報告天竺鼠單項靜注 Furosemide 100 mg/kg，即可見蝸電圖急劇降低，隨後急速恢復。本實驗顯示，在毛細胞未直接受到病變的作用，該藥物引起的血管條一過性循環性障害，在 ABR 上亦有反應。最大的振幅減少在 Furosemide 50 mg/kg 靜注後 5 分鐘即可看到，但 10 分鐘後就可觀察到其反應趨向恢復。

Nitrogen Mustard 具有神經毒作用，全身投與會引起聽器障礙 ( Cummings (7) 1968 )。其程度爲高度之傷害，有時呈不可逆性。本實驗 25 mg/kg 以上腹腔內單劑投與後 3 ~ 4 小時內可見 ABR 振幅顯著減小，甚至消失。

如此單劑投與即有耳毒性，故 ABR 檢查可確認並追蹤其經時的病化。當然像 Kanamycin 在連續投與下才會出現毒性，ABR 可在同一個體追蹤其經時日的變化，此爲以 ABR 檢查做指標最卓越的優點。對頻率依存活 ( frequency-dependence ) 的聽器病變 ABR 無去檢驗出傷害的程度。此點雖爲其缺失，但若輔以 Preyer 氏反射檢查，則 ABR 不難成



表 1

## THE MERITS AND DEMERITS OF ABR IN OTOTOXICITY STUDY IN ANIMALS

## MERITS:

- Easy to record in unrestrained animals
- Able to obtain objective data
- Able to follow time- or day-dependent changes
- Avoidable to damage of the Corti organ by testing acoustic stimuli

## DEMERITS:

- Characteristics of ABR are not fully studied
- Requiring surgery for electrode implantation
- Unable to follow frequency-dependent changes
- Requiring experience in operating electro-equipments

表 2

## DRUGS KNOWN TO POSSESS OTOTOXICITY

CENTRAL STIMULANTS	ANTIDEPRESSANTS	ANTIIDIURETICS
Amphetamine	Imipramine	Acetazolamide
Caffeine	ANTIINHISTAMINICS	Ethacrynic acid
ANALGESICS	Dimenhydrinate	Furosemide
Salicylates	ANTIINFLAMMATORY	SEDATIVES
Morphine	Ibuprofen	Alcohol
Fentanyl	Indomethacin	Pentobarbital
LOCAL ANESTHETICS	Mefenamic acid	Thalidomide
Cocaine	ANTIPROTOZOAL	Droperidol
Lidocaine	Quinine	HEAVY METALS
Procaine	Chloroquine	Arsenic
ANTIBIOTICS	ANTITUMOR	Cobalt
Aminoglycosides	Nitrogen mustard	Lead
Streptomycin	Bleomycin	Lithium
Kanamycin	Dichlorodiamine-Pt	Mercury
Gentamicin	ANTITUBERCULOSIS	Thorium dioxide
Tobramycin	Isoniazid	OTHERS
Polypeptides	PAS	Aniline
Viomycin	Ethambutol	Benzene
Polymyxin B	CARDIOTONICS	Carbon disulfide
Capreomycin	Digitalis	Carbon monoxide
Synthetic	Propranolol	Carbon tetrachloride
Chloramphenicol	Quinidine	Cyanide
ANTICONVULSANTS	Chromonar	Dimethyl sulfoxide
Carbamazepine		Dinitrophenol
Diphenylhydantoin		Lysergide
		Nicotine
		Tobacco

Cited from Worthigton et al.(1973) and Akiyoshi (1980)

為較完善的聽毒性初步檢查法。

聽毒性的藥物如表 2 所示，分佈極為廣泛。若說大部分的藥物皆具有耳毒性作用，亦非過甚其詞。藥物之作用機轉各異，而其對聽器之作用又如何，真是耐人尋味的課題。

ABR 能測知對中樞諸核之作用，故實用上可說價值甚高。

## 討 論

以天竺鼠之聽性腦幹反應為指標，採用眾所週知的耳毒性代表藥物三種，即胺基配糖體抗生素 Kanamycin、腎小管滯留利尿劑 Furosemide、制癌劑 Nitrogen Mustard 等，以研究其耳毒性作用。

Kanamycin 每日 400 mg/kg 用量連續肌肉投與 10 日雖未見影響，但第 12 日突然發現耳毒性作用，ABR 消失。

Furosemide 50mg/kg 等劑靜脈內投與，發現持續 5~10 分之輕度耳毒性作用。此作用為一時性，50 分後消失。

Nitrogen Mustard 25mg/kg 以上腹腔內投與後 2~3 小時可觀察 ABR 振幅之降低。6 小時後波形幾乎完全消失。

以上由藥物導致的 ABR 變化可反映各藥物耳毒性作用之呈現樣式及性質。因此 ABR 不僅可為偵測各種藥物耳毒性作用之初步篩檢法，也是研究聽覺系藥理作用時應用性極高之指標。

## 參考文獻

1. JEWETT DL, et al: Human auditory

evoked potentials possible brainstem components detected on the scalp. *Science*, 167; 1517-1518, 1970.

2. LEV, et al: Sources of averaged neural responses recorded in animal and human subjects during cochlear audiometry (electro-cochleogram). *Arch. Ohr-, Nas.-u. Kehlk. - Heilk.* 201; 79-90, 1972.
3. TANIGUCHI I, et al: Auditory brainstem and cochlear responses in the guinea pig. *Audiol. Jap.* 19; 187-192, 1976.
4. TANIGUCHI I, et al: Auditory electric responses in the Kanamycin treated guinea pig. *Audiol. Jap.* 20; 97-102, 1977.
5. AKIYOSHI M, et al: モルモットにおける Aminodeoxy Kanamycin 耳毒性に関する實驗的研究 *Chemotherapy.* 17; 1656-1663, 1969.
6. BRUMMETT RE, et al: Cochlear damage resulting from Kanamycin and furosemide. *Acta Oto Laryng* 80; 86-92, 1975.
7. CUMMINGS CW: Experimental observations on the ototoxicity of nitrogen mustard. *Laryngoscope* 78; 530-538, 1968.



## ABR in Neuropharmacological Application

HONG-SHENG LEE

### ABSTRACT

*Auditory brainstem response (ABR) was swept in the guinea pig which was administered ototoxic drugs such as Kanamycin, Furosemide and Nitrogen Mustard. On successive administration of each drug, the ABR patterns manifested characteristic changes. Thus it may be concluded that ABR examination can help to detect ototoxicity of a drug, either for screening test or as a parameter in studying reaction of the auditory organ to drugs.*

---

Department of Otorhinolaryngology, Taipei Medical College Hospital.

Received for Publication: February 21, 1986.

This paper was presented at the 39th academic meeting of Otolaryngological Society of Republic of China in Nov. 9th 1986.