



前脉冲抑制（PPI）

1 实验目的

研究 N-甲基-D-天冬氨酸受体非竞争拮抗剂地卓西平(MK-801)对小鼠前脉冲抑制(PPI)的影响。

2 材料与试剂

2.1 材料

6-8 周雄性 C57BL/6J 小鼠，体重 22-30g，购自上海 XXX 实验动物有限公司，实验动物饲养和操作均符合 AAALAC 标准，并获得了 XXX 伦理委员会的批准。动物饲养于 SPF 级动物房中，12 h/12 h 黑白交替，自由摄取食水。实验完成后，小鼠安乐死方式为 CO₂ 窒息。实验动物生产许可证：SCXK（沪）2013-0016，实验动物使用许可证：SYXK（沪）2009-0083。

表 2.1.1 主要试剂

试剂	厂家
地卓西平马来酸盐 MK-801	美国 Sigma 公司

2.2 实验仪器

表 2.1.2 主要仪器

试剂	厂家
震惊反射测试系统	MED Associates 公司

3 实验方法

3.1 实验分组

对照组（n=10）：生理盐水（10 μ L/g）；给药组（n=10）：MK-801（0.25 mg/kg，生理盐水溶解，工作液浓度为 0.025 mg/mL），给药方式为腹腔注射，给药 10 min 后启动前脉冲抑制测试程序。

3.2 震惊反射系统设置

- 1) 输入输出测试。参数设置：适应时间 2 min。第一阶段设置为 14 个测试。背景噪音为 65 dB，全程打开。每个测试之间的间隔在 10-30 sec 之间随机变化。无前脉冲刺激。震惊刺激设置为背景噪音在 65-130 dB 之间渐变，渐变阶梯为 5 dB；刺激持续时间为 20 ms。
- 2) 短期习惯性测试。参数设置：背景噪音为 65 dB，全程打开。适应时间为 2 min。第一阶段设置为 30 个测试。每个测试之间的间隔在 10-30 sec 之间随机变化。无前脉冲刺激。震惊刺激设置为背景噪音 105 dB；刺激持续时间为 20 ms。短期习惯指数计算公式：短期习惯指数=最后 10 个测试的平均震惊反射振幅/最开始的 2 个测试的平均震惊反射振



幅×100%。

- 3) 前脉冲抑制测试(PPI 测试)。实验程序设置: 试验程序设置见图 3.1 所示, 在实验阶段, 背景噪音全程打开, 强度为 65 dB, 整个程序分为适应期、第一阶段和第二阶段共三个阶段。参数设置: 适应期持续时间 2 min。第一阶段设置为 20 个测试; 每个测试均无前脉冲刺激; 震惊刺激设置为背景噪音 105 dB; 刺激持续时间为 20 ms; 测试之间的间隔在 10-30 sec 之间随机变化。第二阶段设置为 70 个测试; 每个测试之间的间隔在 10-30 sec 之间随机变化。第二阶段中的刺激类型分为 7 种, 具体组合方式见表 3.1。每种刺激类型在 70 次测试中出现 10 次, 出现顺序随机。前脉冲刺激设置为 0, 68 (+3), 71 (+6), 74 (+9), 77 (+12), 80 (+15) dB, 持续时间 10 ms。前脉冲刺激/震惊刺激延迟时间设置为 60 ms。震惊刺激设置为背景噪音 105 dB, 刺激持续时间为 20 ms。
- 4) PPI 计算公式如下: $PPI_{dB}(\%) = (1 - SA_{dBpp}/SA_{startle-only}) \times 100\%$, $PPI_{pp}(\%) = (1 - SA_{pp-only}/SA_{startle-only}) \times 100\%$, $PPI(\%) = (1 - SA_{pp}/SA) \times 100\%$ 。

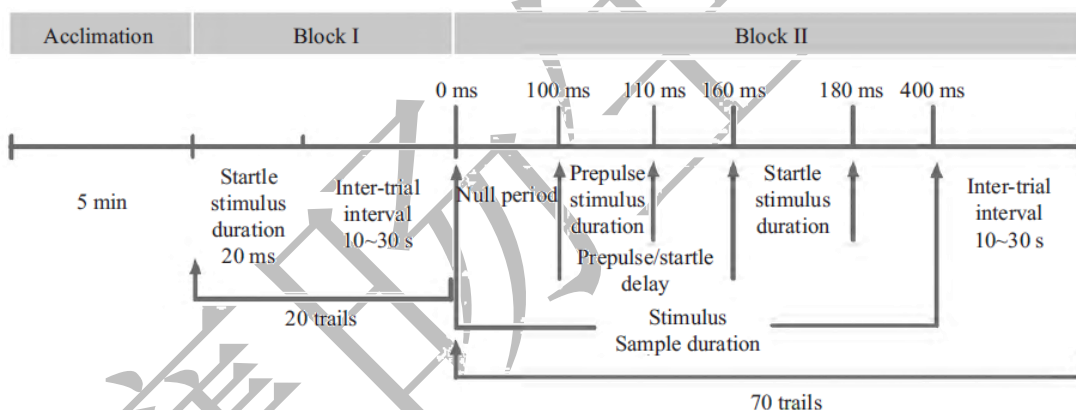


图 3.2.1 前脉冲抑制测试时间轴

表 3.2.1 PPI 测试第二阶段参数设置

前脉冲刺激	前脉冲刺激与震惊刺激起始间隔时间	震惊刺激	震惊反射振幅符号
0 dB, 10 ms	60 ms	105 dB,20 ms	SA _{startle-only} (无前脉冲刺激, 无抑制, 阴性对照)
68dB, 10 ms	60 ms	105 dB,20 ms	SA _{68 dBpp}
71dB, 10 ms	60 ms	105 dB,20 ms	SA _{71 dBpp}
74 dB, 10 ms	60 ms	105 dB,20 ms	SA _{74 dBpp}
77 dB, 10 ms	60 ms	105 dB,20 ms	SA _{77 dBpp}
80 dB, 10 ms	60 ms	105 dB,20 ms	SA _{80 dBpp}
80 dB, 10 ms	60 ms	0 dB,20 ms	SA _{pp-only} (无震惊刺激, 阳性对照)

3.3 数据统计

实验数据以 mean±S.E.M.形式表示, 显著性差异分析采用 t-test 进行, 以 P<0.05 作为



显著性差异标准。

4 结果与分析

图 4.1 是小鼠在 65 dB 背景噪音的环境下适应 2 min 后，从低到高连续听 65-130 dB 的声音刺激，测定其震惊反射幅度的结果。结果显示，随着声音强度的增强，小鼠的震惊反射幅度逐步上升，呈现出 S 形曲线。在 65-80 dB 的声音刺激下不会引起显著的震惊反射，从 85 dB 开始出现显著的震惊反射，并且随着刺激强度的增加，其反射幅度上升较快，当刺激强度大于 100 dB 时，震惊反射幅度进入平台期。据此，后续实验选用 105 dB 作为震惊反射的刺激强度，在前脉冲抑制实验中选用低于 80 dB 的声音刺激作为前脉冲刺激强度。

图 4.2 是测试小鼠短期习惯性的结果，结果显示在强刺激下，随着经历刺激次数的增加，小鼠的震惊反应略有下降，约经历 20 次刺激后进入平台期。

图 4.3 是小鼠前脉冲抑制测定的结果。根据前面的输入输出测试结果，选择 105 dB 作为震惊刺激的强度，选择 ≤ 80 dB 的 5 种域下刺激 68、71、74、77、80 dB（分别比背景噪音 65 dB 高出 3、6、9、12、15 dB）作为前脉冲刺激。同时根据短期习惯性测试结果，在 Block I 设置 20 次重复强刺激。实验结果显示，在正常注射生理盐水的对照组小鼠中，5 种强度的前脉冲刺激均能显著抑制 105 dB 刺激产生的震惊反射振幅，并且随着前脉冲刺激强度的增加，其 PPI 效率也随之增加，但是相比于 $PPI_{68\text{ dBpp}}$ ，只有 $PPI_{72\text{ dBpp}}$ 与之有显著性差异。而注射 MK-801 后的小鼠，68、71、74、80 dB 的前脉冲刺激均不能显著抑制 105 dB 刺激下产生的震惊反射振幅，其 PPI 也均显著低于同等条件下对照组小鼠的 PPI。

实验结果说明，MK-801 能够诱发小鼠的 PPI 缺失。

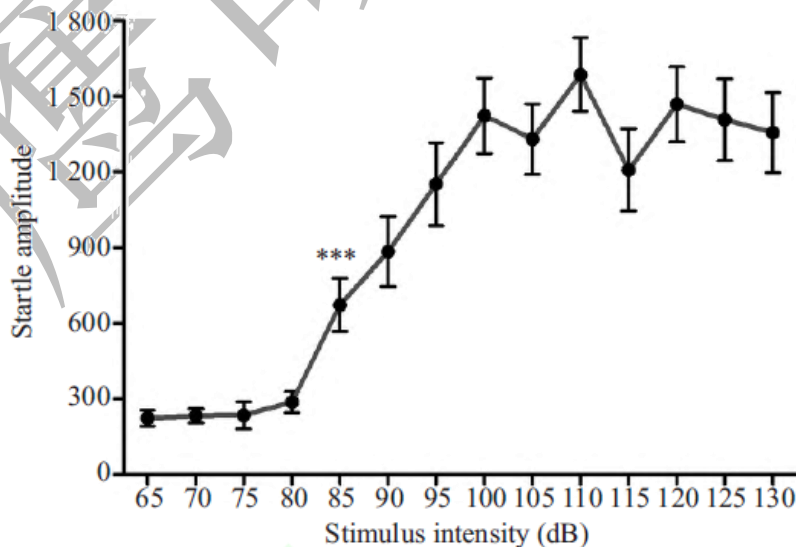


图 4.1 在不同强度的声音（65-130 dB）刺激下产生的震惊反射幅度。SA_{85 dB} 相比于 SA_{65 dB}，存在统计学差异。