

技术与方法

震惊反射系统在研究小鼠感觉运动门控功能中的应用

王皓月¹ 黄丹仪¹ 李俊² 吴文婷² 应悦¹ 王维刚² 费俭^{1,2*}

(¹同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092; ²上海南方模式生物研究中心, 上海 201203)

摘要 感觉运动门控功能异常与多种精神疾病相关, 前脉冲抑制是常用的测量感觉运动门控的重要行为学参数。该文介绍了用震惊反射系统测定C57BL/6J品系小鼠前脉冲抑制的实验方法, 并用N-甲基-D-天冬氨酸受体非竞争拮抗剂MK-801(Dizocilpine, 地卓西平)成功构建了药物诱发前脉冲抑制缺失的小鼠模型。

关键词 感觉运动门控; 听震惊反射; 前脉冲抑制; MK-801

Application of Startle Response System in Study of Sensorimotor Gating of Mice

Wang Haoyue¹, Huang Danyi¹, Li Jun², Wu wenting², Ying Yue¹, Wang Weigang², Fei Jian^{1,2*}

(¹School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China; ²Shanghai Research Center for Model Organisms, Shanghai 201203, China)

Abstract Dysfunction of sensorimotor gating is related to many kinds of psychiatric disorders. Prepulse inhibition, as a robust operational measure of sensorimotor gating, was tested in C57BL/6J mice using startle response system in this study. Furthermore, a mouse model of PPI disruption induced by MK-801, which is a non-competitive antagonist of the N-methyl-D-aspartate receptor, was successfully established.

Key words sensorimotor gating; acoustic startle reflex; prepulse inhibition; MK-801

震惊反射(startle reflex, SR)是动物对威胁性刺激的保护机制。在突发的强刺激(如声、光等)下, 动物产生全身肌肉屈曲伸直的反射, 即震惊反射, 在行为上表现为惊跳。听震惊反射(acoustic startle reflex, ASR)特指由强烈的声音刺激产生的震惊反射。震惊反射虽然能够使动物快速对威胁性刺激做出反应, 但是会干扰正常的行为活动和认知加工^[1-2]。中枢神经系统天然具有过滤和筛选信息的能力, 来保证思维的连贯性, 这个机制称为感觉运动门控(sensorimotor gating, SG)^[3]。Graham的“加工-保护”理论认为, 感觉运动门控的意义在于大脑

利用此机制对感觉信息进行过滤, 减少后出现的震惊刺激对前脉冲刺激的干扰, 保护对前脉冲刺激信号的早期知觉编码^[4]。具体来讲, 当多个刺激信号分先后出现时, 中枢神经系统优先处理先出现的刺激信号, 即使后出现的信号强度较大也会得到抑制, 这就是所谓的前脉冲抑制(prepulse inhibition, PPI)现象。

前脉冲抑制效率(PPI/%)是目前评估感觉运动门控功能是否完善的重要行为学参数。在强声音刺激之前的一定时间(几十至几百毫秒)内, 先出现一个弱的阈下声音刺激(即前脉冲), 会降低动物对强声音刺激的听震惊反射幅度(startle amplitude, SA), 对震惊反射幅度的抑制率即为PPI^[5]。对于啮齿类动物, 震惊反射幅度和PPI数值可以通过震惊反射系统(startle response system)获得。当感觉运动门控功能

收稿日期: 2014-04-18

接受日期: 2014-05-30

*通讯作者。Tel: 021-65985591, E-mail: jfei@tongji.edu.cn

Received: April 18, 2014 Accepted: May 30, 2014

*Corresponding author. Tel: +86-21-65985591, E-mail: jfei@tongji.edu.cn

正常时,动物具有明显的PPI现象;当该功能缺损时,PPI(%)的数值会显著下降,称为PPI缺失。

在很多精神疾病中都发现有感觉运动门控失调和前脉冲抑制缺失的现象,如精神分裂症^[6]、躁狂型抑郁症^[7]、强迫症^[8]、成年自闭症^[9]以及其他与皮质-纹状体-丘脑环路紊乱相关的精神疾病等。由于前脉冲抑制在哺乳动物中是保守的神经生物学过程^[10],因此可以采用啮齿类动物模型研究感觉运动门控和前脉冲抑制失调的机制,这对研究和治疗此类精神疾病有重要意义。本文中我们以C57BL/6J小鼠品系为例,建立了用震惊反射系统(即惊恐箱, startle box)测定小鼠震惊反射和前脉冲抑制的实验方法,并构建了药物诱发PPI缺失的小鼠模型,为研究感觉运动门控机制及其相关精神疾病提供了基础数据和技术支持,也为筛选治疗PPI缺失的药物提供了良好的实验平台。

1 材料与方 法

1.1 材料和仪器

1.1.1 动物 6~8周雄性C57BL/6J小鼠,体重22~30 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司。实验动物饲养和操作均符合AAALAC标准,并获得上海南方模式生物研究中心伦理委员会的批准。动物饲养于SPF级动物房中,12 h/12 h黑白交替(7:00~19:00亮/19:00~次日7:00暗),自由摄取食水。实验完成后,小鼠安乐死方式为CO₂窒息。

1.1.2 试剂 地卓西平马来酸盐(+)-MK-801, hydrogen maleate)购自Sigma公司。

1.1.3 仪器 震惊反射测试系统购自MED Associates

公司,由隔音箱、扩音器、小鼠固定笼、重力感应器(PHM-255A和PHM-250B)和Startle Reflex 5软件系统等主要模块构成(图1)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及给药 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。

1.2.2 输入输出测试(input/output test) 参数设置:适应时间2 min。Block I设置为14个trials。背景噪音white noise, 65 dB,全程打开。每个trail之间的间隔在10~30 s之间随机变化。无prepulse stimuli。Startle stimuli设置为white noise, 65~130 dB渐变,渐变阶梯5 dB;刺激持续时间20 ms。

1.2.3 短期习惯性测试(short-term habituation test) 参数设置:背景噪音white noise, 65 dB,全程打开。适应时间2 min。Block I设置为30个trials。每个trail之间的间隔在10~30 s之间随机变化。无prepulse stimuli。Startle stimuli设置为white noise, 105 dB;刺激持续时间20 ms。

短期习惯指数计算公式:

$$\text{Habituation index} = \frac{\text{average startle amplitude}_{\text{the last 10 trials}}}{\text{average startle amplitude}_{\text{the first 2 trials}}} \times 100\%$$

1.2.4 前脉冲抑制测试(PPI test) 实验程序设置:实验程序如图2所示,在实验阶段背景噪音(white noise, 65 dB)全程打开,分为适应期、Block I和Block II三个阶段。

参数设置:适应期持续时间2 min。Block I设置为20个trials;每个trail无prepulse stimulus; startle stimu-

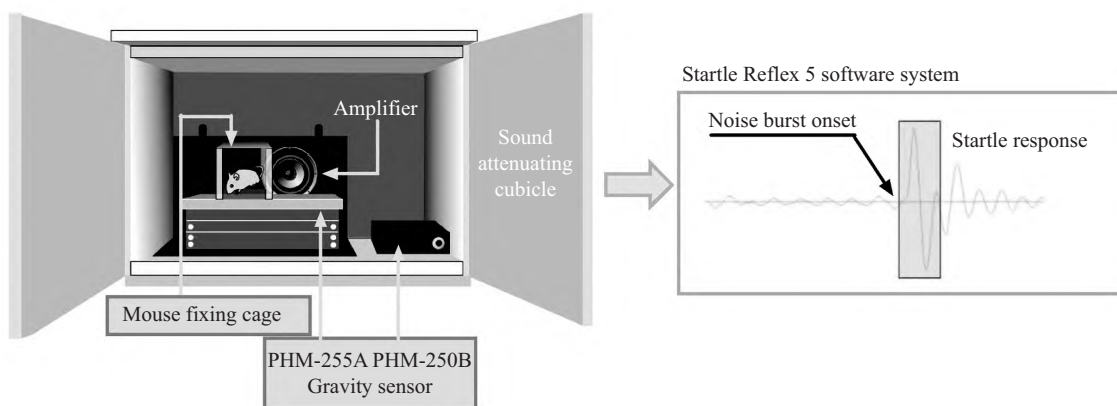


图1 震惊反射系统

Fig.1 Startle response system

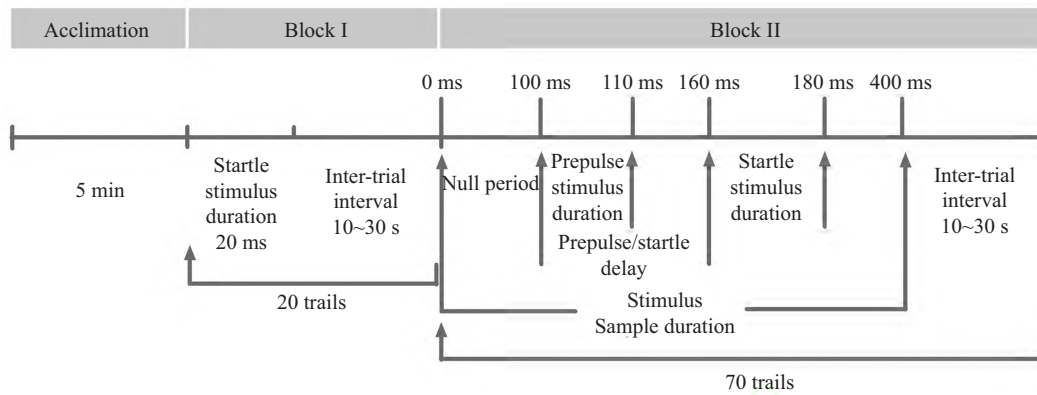


图2 前脉冲抑制测试时间轴

Fig.2 Time line for PPI test

表1 PPI测试Block II参数设置

Table 1 Parameters for Block II of PPI test

| 前脉冲刺激 Prepulse stimulus | 前脉冲刺激与震惊刺激 起始间隔时间 Prepulse/startle delay | 震惊刺激 Startle stimulus | 震惊反射振幅符号 Startle amplitude symbol |
|----------------------------|--|--------------------------|--|
| 0 dB, 10 ms | 60 ms | 105 dB, 20 ms | SA _{startle-only} (no prepulse stimuli, no inhibition, nagtive control) |
| 68 dB, 10 ms | 60 ms | 105 dB, 20 ms | SA _{68 dBpp} |
| 71 dB, 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} (no startle stimuli, positive control) |

lus设置为white noise, 105 dB; 刺激持续时间20 ms; Trail之间的间隔在10~30 s之间随机变化。Block II设置为70个trials; 每个trail之间的间隔在10~30 s之间随机变化。Block II中的刺激类型分为7种, 具体组合方式见表1。每种刺激类型在70次trail中出现10次, 出现顺序随机。Prepulse Stimuli设置为0, 68(+3), 71(+6), 74(+9), 77(+12), 80(+15) dB, white noise, 持续时间10 ms。Prepulse/startle stimuli delay设置为60 ms。Startle stimuli设置为white noise, 105 dB, 刺激持续时间20 ms。

PPI计算公式:

$$PPI_{x\text{dB}}(\%) = \left(1 - \frac{SA_{x\text{dBpp}}}{SA_{\text{startle-only}}}\right) \times 100\%$$

$$PPI_{\text{pp}}(\%) = \left(1 - \frac{SA_{\text{pp-only}}}{SA_{\text{startle-only}}}\right) \times 100\%$$

$$PPI(\%) = \left(1 - \frac{SA_{\text{pp}}}{SA}\right) \times 100\%$$

1.2.5 数据统计 实验数据以mean±S.E.M.形式表

示。数据统计用GraphPad Prism 5软件进行。显著性差异分析采用t-test, $P < 0.05$ 为差异具有显著性, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 C57BL/6J小鼠品系震惊反射阈值

在设计前脉冲抑制实验方案之前, 我们首先需要C57BL/6J品系小鼠进行输入输出测试, 以明确该品系小鼠能够产生显著震惊反射的声音强度阈值。小鼠放置于重力感应器之上的固定笼中, 在背景噪音65 dB的环境下适应2 min后, 从低到高连续听65~130 dB的声音刺激, 其震惊反射幅度由重力感应器采集。结果显示, 随着声音响度的增强, 小鼠的震惊反射幅度逐步上升, 呈现出S形曲线(图3)。对于C57BL/6J小鼠, 65~80 dB的声音刺激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, 并且随着刺激强度增加, 震惊反射幅度上升。当刺激强度大于100 dB时, 震惊反射幅度进入平台

期。鉴于以上结果,我们在后续实验中选用处于稳定平台期的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(阈下刺激)作为前脉冲刺激强度。

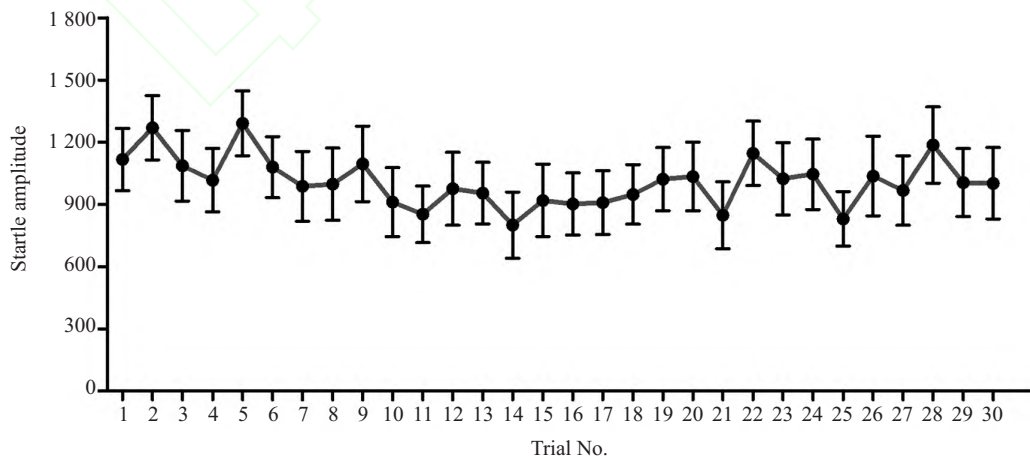
2.2 C57BL/6J小鼠短期习惯指数

动物连续经历多次强声音刺激时,其震惊反射幅度会逐渐下降,这一现象被称为短期习惯性(short-term habituation)。测试短期习惯性时,小鼠连续经历30次相同的强声音刺激(105 dB),记录每次的震惊反射强度。结果显示,随着经历刺激次数的增加,C57BL/6J小鼠的震惊反射略有下降,短期习惯性指数仅为 $87.64 \pm 7.82\%$ ($n=16$),约经历20次刺激后进入平台期(图4)。

2.3 C57BL/6J小鼠前脉冲抑制测定

根据输入输出测试结果,我们选择了105dB作为震惊刺激的强度,选择了 ≤ 80 dB的5种阈下刺激68, 71, 74, 77, 80 dB(分别比背景噪声65 dB高出3, 6, 9, 12, 15 dB)作为前脉冲刺激。根据短期习惯性测试结果,我们在Block I设置20次重复强刺激。前脉冲抑制实验的方案及具体参数见图2和表1。

实验结果显示,5种强度的前脉冲刺激均能够显著抑制105 dB刺激产生的震惊反射振幅(图5A)。如图5B所示,随着前脉冲刺激的强度由68 dB增加到80 dB,前脉冲抑制效率从 $(24.83 \pm 5.37)\%$ 增加到 $(34.67 \pm 5.30)\%$ 。但是与 $PPI_{68 \text{ dBpp}}$ 相比,只有 $PPI_{77 \text{ dBpp}}$ 与之有显著性差异(图5B)。

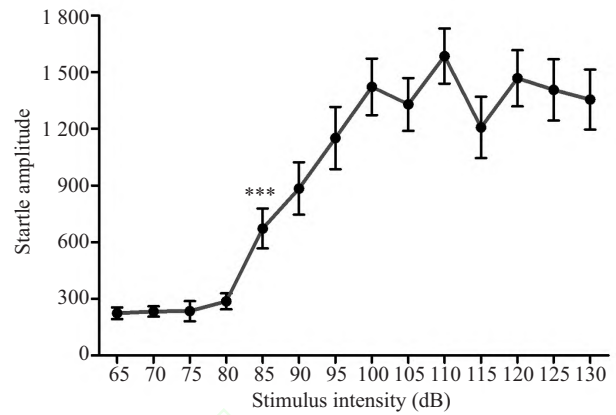


C57BL/6J小鼠连续30次在105 dB声音刺激下产生的震惊反射幅度。数据表述为平均值 \pm 标准误差,实验小鼠数量为16只。

Startle amplitudes of C57BL/6J mice in response to 30 startle stimuli (105 dB) are shown. Mean \pm S.E.M., $n=16$.

图4 C57BL/6J小鼠短期习惯性曲线

Fig.4 Short-term habituation curve of C57BL/6J mice



在不同强度的声音(65~130 dB)刺激下产生的震惊反射幅度。数据表述为平均值 \pm 标准误差。实验小鼠数量为20只。SA_{85 dB} vs SA_{65 dB}, *** $P < 0.001$; SA_{80 dB} vs SA_{65 dB}, 无显著性差异。

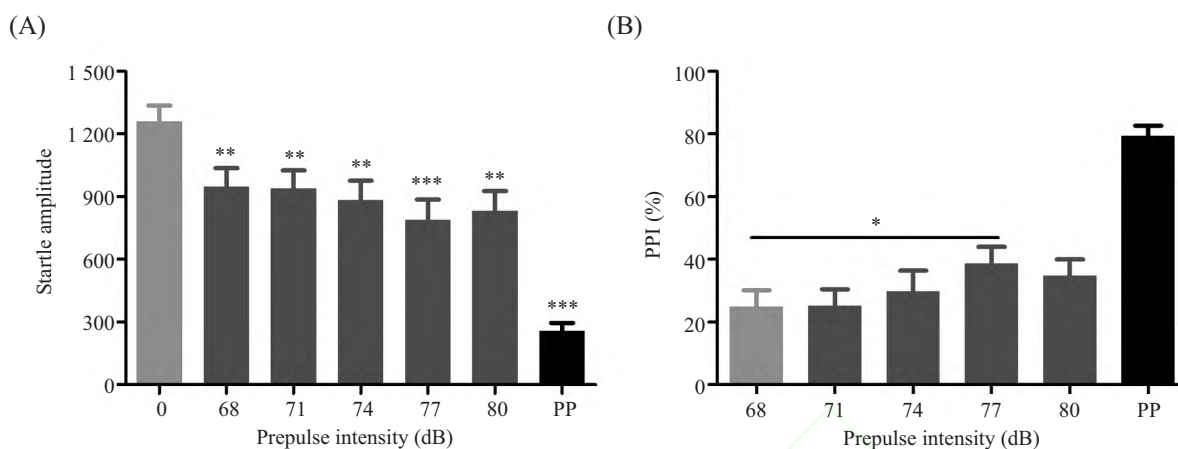
Startle amplitudes at different stimulus intensity (65~130 dB) are shown. Mean \pm S.E.M., $n=20$. SA_{85 dB} vs SA_{65 dB}, *** $P < 0.001$; SA_{80 dB} vs SA_{65 dB}, no significant difference.

图3 C57BL/6J小鼠输入输出曲线

Fig.3 Input/output curve of C57BL/6J mice

2.4 药物诱发C57BL/6J小鼠前脉冲抑制缺失

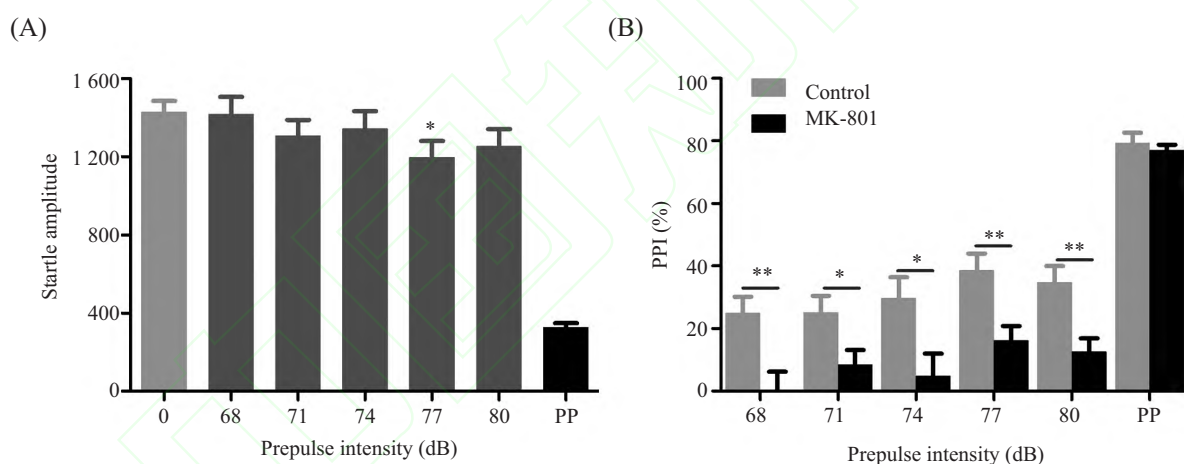
我们在以上实验平台基础上构建了药物MK-801诱发PPI缺失的小鼠模型。实验结果表明,在PPI测试之前的10 min腹腔注射MK-801, 68, 71, 74, 80 dB的前脉冲刺激均不能够显著抑制105 dB刺激产生的震惊反射振幅(图6A)。在68 dB到80 dB前脉冲刺激条件下,注射MK-801的C57BL/6J小鼠,其PPI均显著低于同等条件下注射生理盐水组的PPI(图6B)。



A: 不同前脉冲刺激条件下的震惊反射幅度, 对照为0 dB前脉冲刺激组; B: 不同前脉冲刺激条件下的PPI值, 对照为68 dB前脉冲刺激组。数据表述为平均值±标准误差。实验小鼠数量为10只。PP: 只有80 dB前脉冲刺激, 没有震惊刺激。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

A: startle amplitudes at different prepulse intensity, 0 dB prepulse condition as control; B: PPIs at different prepulse intensity, 68 dB prepulse condition as control. Mean±S.E.M., $n=10$. PP: 80 dB prepulse only and no startle stimuli. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

图5 C57BL/6J小鼠前脉冲抑制效果
Fig.5 Prepulse inhibition of C57BL/6J mice



A: 注射MK-801后不同前脉冲刺激条件下的震惊反射幅度, 对照为0 dB前脉冲刺激组; B: 不同前脉冲刺激条件下的PPI值。Control: 生理盐水; MK-801: 0.25 mg/kg MK-801。数据表述为平均值±标准误差。实验小鼠数量为每组10只。PP: 只有80 dB前脉冲刺激, 没有震惊刺激。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

A: startle amplitudes at different prepulse intensity after MK-801 intraperitoneal injection, 0 dB prepulse condition as control; B: PPIs at different prepulse intensity. Control: saline; MK-801: 0.25 mg/kg MK-801. Mean±S.E.M., $n=10$. PP: 80 dB prepulse only and no startle stimuli. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图6 MK-801诱导C57BL/6J小鼠前脉冲抑制缺失
Fig.6 Prepulse inhibition of C57BL/6J mice deficit induced by MK-801

3 讨论

本文建立了C57BL/6J小鼠听震惊反射前脉冲抑制的测量方法, 结果表明, 震惊反射可以被比背景噪声高出3, 6, 9, 12, 15 dB的5种前脉冲刺激显著抑制。由于物种、品系及年龄等因素的影响, PPI的测定方案中, 很多参数(如震惊刺激强度与时间、前脉冲刺激强度与时间、前脉冲刺激与震惊刺激起始时间间隔等)是难以统一的^[11-13]。在我们的研究中, 确

立了雄性C57BL/6J小鼠能够有效产生PPI的一系列重要参数, 为今后研究该品系背景小鼠的感觉运动门控功能提供了良好的实验平台。

我们采用MK-801作为诱导剂, 构建了药物诱发PPI缺失的小鼠模型。MK-801(Dizocilpine, 地卓西平)作用于中枢神经谷氨酸能系统, 是N-甲基-D-天冬氨酸受体非竞争性拮抗剂^[14]。该药物常常被用于构建啮齿类精神分裂症动物模型, 可以有效地引起

动物多动、刻板行为和PPI缺失^[15]。在本研究中,我们采用一次性腹腔注射MK-801水溶液的方法,确定了C57BL/6J小鼠在0.25 mg/kg MK-801作用下能够引起PPI显著缺失,说明该PPI检测系统的结果可靠。与文献结果比较,引起昆明种小鼠和C57BL/6J小鼠PPI显著缺失的MK801剂量均为0.25 mg/kg^[16],高于WS品系和SD品系大鼠需要的剂量(0.05 mg/kg)^[17]。

在短期习惯性实验中,我们发现30次连续重复刺激下,C57BL/6J小鼠的震惊反射下降幅度很小,短期习惯性指数仅为(87.64±7.82)%。而文献中报道的昆明种小鼠的短期习惯性指数可以达到58%^[16]。我们推测这种差异可能由小鼠品系特异性引起的。在选择prepulse stimuli音量时,我们遵循不引起小鼠震惊反射的原则,因此选择了85 dB以下的68, 71, 74, 77和80 dB,得到了显著的PPI效果。特别值得注意的是,MK-801可以提高小鼠的震惊反射幅度。如果prepulse stimuli音量过大会使注射了MK-801的小鼠对prepulse stimuli产生震惊反射,反而增强对startle stimuli的震惊反射,出现PPI呈负值的现象。而我们测定PPI的实验方案避免了C57BL/6J品系小鼠在注射MK-801后的PPI出现负值。

PPI检测实验平台可以在研究感觉运动门控机制方面提供实验证据。PPI是一种不经过大脑皮层的快速自主神经反应,涉及的神经环路集中于耳蜗神经核、下丘脑、脑桥脚被盖核和脑桥尾部网状核,直接作用于感觉运动中枢^[18]。海马、前额叶皮层、基底外侧杏仁核和伏隔核等边缘系统参与PPI的调节^[19]。当小鼠以上脑区损伤或有特异性基因缺陷时,可能引起PPI异常。

PPI异常还与很多精神疾病相关。目前,与PPI缺失关系最密切的精神疾病是精神分裂症。精神分裂症是一种病因复杂的恶性精神疾病,近年来研究显示,该疾病主要根源在于感觉运动门控功能缺陷^[20]。精神分裂症患者正是因为不能够对环境纷繁复杂的感觉信息进行有效筛选,即PPI缺失,造成大脑过度刺激,引起幻觉、刻板行为、不良情绪及认知缺陷等症状。多项研究显示,精神分裂症患者有PPI缺失的症状^[6,21-25]。因此,如果在实验动物上发现刻板行为、焦虑、注意力和认知缺陷等行为现象时,可以考虑进行PPI检测,以判断其是否因感觉运动门控缺失造成以上行为表型。

此外,强迫症和图雷特氏综合征(Gilles de la

Tourette's syndrome, GTS)中,感觉运动门控紊乱和PPI缺失的症状也已经明确^[18]。也有报道显示,焦虑症、自闭症、脆性X综合征(fragile X syndrome)等精神疾病也与PPI缺失相关^[18,26]。因此,以上我们建立的实验系统可以用于挖掘转基因或基因敲除小鼠与此类精神疾病相关的表型,或可以用于筛选治疗以上疾病的药物。

参考文献 (References)

- 1 Foss JA, Ison JR, Torre JP Jr, Wansack S. The acoustic startle response and disruption of aiming: I. Effect of stimulus repetition, intensity, and intensity changes. *Hum Factors* 1989; 31(3): 307-18.
- 2 Foss JA, Ison JR, Torre JP Jr, Wansack S. The acoustic startle response and disruption of aiming: II. Modulation by forewarning and preliminary stimuli. *Hum Factors* 1989; 31(3): 319-33.
- 3 Braff DL, Geyer MA. Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. *Arch Gen Psychiatry* 1990; 47(2): 181-8.
- 4 Fendt M, Li L, Yeomans JS. Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 156(2/3): 216-24.
- 5 Cadenhead KS, Carasso BS, Swerdlow NR, Geyer MA, Braff DL. Prepulse inhibition and habituation of the startle response are stable neurobiological measures in a normal male population. *Biol Psychiatry* 1999; 45(3): 360-4.
- 6 Parwani A, Duncan EJ, Bartlett E, Madonick SH, Efferen TR, Rajan R, *et al.* Impaired prepulse inhibition of acoustic startle in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2000; 47 (7): 662-9.
- 7 Perry W, Minassian A, Feifel D, Braff DL. Sensorimotor gating deficits in bipolar disorder patients with acute psychotic mania. *Biol Psychiatry* 2001; 50(6): 418-24.
- 8 Ahmari SE, Risbrough VB, Geyer MA, Simpson HB. Impaired sensorimotor gating in unmedicated adults with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology* 2012; 37(5): 1216-23.
- 9 Perry W, Minassian A, Lopez B, Maron L, Lincoln A. Sensorimotor gating deficits in adults with autism. *Biol Psychiatry* 2007; 61(4): 482-6.
- 10 Li L, Du Y, Li N, Wu X, Wu Y. Top-down modulation of prepulse inhibition of the startle reflex in humans and rats. *Neurosci Biobehav Rev* 2009; 33(8): 1157-67.
- 11 Bullock AE, Slobe BS, Vazquez V, Collins AC. Inbred mouse strains differ in the regulation of startle and prepulse inhibition of the startle response. *Behav Neurosci* 1997; 111(6): 1353-60.
- 12 Grillon C, Baas J. A review of the modulation of the startle reflex by affective states and its application in psychiatry. *Clin Neurophysiol* 2003; 114(9): 1557-79.
- 13 Yeomans JS, Bosch D, Alves N, Daros A, Ure RJ, Schmid S. GABA receptors and prepulse inhibition of acoustic startle in mice and rats. *Eur J Neurosci* 2010; 31(11): 2053-61.
- 14 Kovacic P, Somanathan R. Clinical physiology and mechanism of dizocilpine (MK-801): Electron transfer, radicals, redox metabolites and bioactivity. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3(1): 13-22.

- 15 Guo C, Yang Y, Su Y, Si T. Postnatal BDNF expression profiles in prefrontal cortex and hippocampus of a rat schizophrenia model induced by MK-801 administration. *J Biomed Biotechnol*; 2010: 783297.
- 16 Yan H, Li SL, Su RB, Gong ZH. Establishment and application of a mouse model for drug-induced schizophrenia. *Acta pharmaceutica Sinica* 2013; 48(4): 484-8.
- 17 Bast T, Zhang W, Feldon J, White IM. Effects of MK801 and neuroleptics on prepulse inhibition: Re-examination in two strains of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 67(3): 647-58.
- 18 Kohl S, Heekeren K, Klosterkötter J, Kuhn J. Prepulse inhibition in psychiatric disorders—apart from schizophrenia. *J Psychiatr Res* 2013; 47(4): 445-52.
- 19 Larrauri J, Schmajuk N. Prepulse inhibition mechanisms and cognitive processes: a review and model. *EXS* 2006; 98: 245-78.
- 20 Quednow BB, Frommann I, Berning J, Kuhn KU, Maier W, Wagner M. Impaired sensorimotor gating of the acoustic startle response in the prodrome of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2008; 64(9): 766-73.
- 21 Minassian A, Feifel D, Perry W. The relationship between sensorimotor gating and clinical improvement in acutely ill schizophrenia patients. *Schizophr Res* 2007; 89(1/2/3): 225-31.
- 22 Weike AI, Bauer U, Hamm AO. Effective neuroleptic medication removes prepulse inhibition deficits in schizophrenia patients. *Biol Psychiatry* 2000; 47(1): 61-70.
- 23 Lehtinen EK, Ucar E, Glenthøj BY, Oranje B. Effects of melatonin on prepulse inhibition, habituation and sensitization of the human startle reflex in healthy volunteers. *Psychiatry Res* 2014; 216(3): 418-23.
- 24 Takahashi H, Iwase M, Ishii R, Ohi K, Fukumoto M, Azechi M, *et al.* Impaired prepulse inhibition and habituation of acoustic startle response in Japanese patients with schizophrenia. *Neurosci Res* 2008; 62(3): 187-94.
- 25 Wang ZR, Tan YL, Yang FD, Zhang WF, Zou YZ, Tan SP, *et al.* Impaired prepulse inhibition of acoustic startle in Chinese patients with first-episode, medication-naïve schizophrenia. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126(3): 526-31.
- 26 Nielsen DM, Derber WJ, McClellan DA, Crnic LS. Alterations in the auditory startle response in Fmr1 targeted mutant mouse models of fragile X syndrome. *Brain Res* 2002; 927(1): 8-17.