论著

文章编号:1000-5404(2013)20-2212-04

清醒制动家猫条件化瞳孔扩大反射的建立及其习得规律研究

张浪千,蒋 政,胡 博,隋建峰 (400038 重庆,第三军医大学基础医学部基础医学教学实验中心)

[摘要] **目的** 建立家猫条件化瞳孔扩大反射模型并研究其习得规律。**方法** 以声音作为条件刺激(conditioned stimulus, CS),尾部电击作为非条件刺激(unconditioned stimulus, US),对3只体质量为2~2.5 kg成年雄性家猫分别用CS-US间隔0 ms和900 ms两种模式训练。用红外瞳孔测量装置实时监测在行为训练过程中的瞳孔面积变化,并以此衡量家猫能否习得条件化瞳孔扩大反射。**结果** 在900 ms CS-US刺激间隔训练中家猫习得了条件化瞳孔扩大反射,在经过10、30次配对训练后其习得率分别为26.67%、53.33%,50次配对训练后习得率达76.67%。在随后的30次消退训练中,习得率呈下降趋势。**结论** 家猫条件化瞳孔扩大反射的习得与CS-US刺激间隔和CS刺激数量有关。这种反射能在较少配对训练后就习得,但消退也较快。

[关键词] 条件化瞳孔扩大反射;家猫;刺激间隔;习得率
[中图法分类号] R33-33;R338.6 [文献标志码] A

Establishment of classical conditioned pupillary dilations in conscious and fixed cats and study of related acquisition rule

Zhang Langqian, Jiang Zheng, Hu Bo, Sui Jianfeng (Experimental Center of Basic Medicine, College of Basic Medical Scionces, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To establish a model of classical conditioned pupillary dilation in conscious and fixed cats and to analyze the related acquisition rule. **Methods** With sound as the conditioned stimulus (CS) and tail shock as the unconditioned stimulus (US), 3 health adult cats were trained with CS-US intervals 0 ms and 900 ms separately. With an infrared pupil measurement device, the pupil area changes were recorded in a real-time manner and then to judge whether a cat acquired classical conditioned pupillary dilation. **Results** The cats acquired classical conditioned pupillary dilations in the 900 ms CS-US interval model. After 10 times and 30 times pairing training, the acquisition rate was 26.67% and 53.33%, respectively. After 50 times pairing training, the acquisition rate was 76.67%. In the following 30 times fading training, the acquisition rate showed a decrease trend. **Conclusion** The acquisition of classical conditioned pupillary dilation in cats is related to CS-US interval and CS stimulus amount. This kind of reflex can be acquired in a small amount of pairing training, but fades quickly.

[**Key words**] classical conditioned pupillary dilations; cats; CS-US stimulus interval; acquisition rate

Corresponding author: Sui Jianfeng, Tel: (86)-23-68753704, E-mail: jfsui2003@yahoo.com.cn

瞳孔反射是一类重要的内脏反射,包括瞳孔扩大和缩小反射两种方式,根据反射的获得特点它们又可分为非条件性和条件性反射两类。非条件性瞳孔反射例如瞳孔对光反射,已被广泛应用于神经核精神等疾病的临床检查和诊断。条件化瞳孔反射则被少量应用于动物实验研究。早期,Gerall[1]曾做过正常猫和中筒箭毒碱猫建立条件化瞳孔扩大反射的比较研究,报道瘫痪猫条件化瞳孔扩大反射的建立出现延迟[2]。关于条件化瞳孔缩小反射,一般认为很难建立。1940年Wedell[3]曾报道条件化瞳孔缩小不能被建立,1954年Young[4]也报道了同样的结果。但是,这些早期条件化瞳孔反射的研究由于记录仪器和方法局限,实验精度较低,对瞳孔的细微变化不能精确反映。

以往研究表明,猫条件化瞳孔扩大反射只需约60次配对训练即可成功建立[5],这较神经科学研究领域常用的躯体性条件反射,例如眨眼条件反射、穿梭箱条件逃避性反射等的建立要快得多。另外,瞳孔反射行为相对简单,其执行只涉及少量的核团神经肌肉参与,例如动眼神经副核,这有可能使反射的分析研究相对简单。因此,条件化瞳孔扩大反射可能是神经科学研究潜在的理想行为模型之一。例如,我们初步观察到,被广泛地应用于学习和记忆机制研究的恐惧条件反射过程中,多伴随瞳孔扩大条件反射的发生,因此,

[通信作者] 隋建峰,电话:(023)68753704,E-mail:jfsui2003@yahoo.com.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130914.1457.009.html(2013-09-14)

在恐惧条件反射的研究中观察瞳孔变化有可能使恐惧的判断更加精确、更易量化。但长期以来,对于瞳孔扩大条件反射的习得规律鲜有报道,因此我们拟对此进行研究,这对完善巴甫洛夫经典条件反射具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性成年猫 3 只,体质量 1.5 ~ 2 kg。听力良好,无明显外耳道疾病。动物单笼饲养,自由进水进食,饲养环境保持通风干燥。

1.2 头部制动装置埋置

用 1% 戊巴比妥钠 1 mL/kg 腹腔注射全麻,头部正常消毒备皮,于头颅正中切开皮肤和皮下组织,长度约 2 cm,暴露颅骨,在矢状缝左右 0.5 cm 处,冠状缝前后 1 cm 处做标记。将已消毒去尖的不锈钢螺丝在 4 个标记处植入猫颅盖骨上,并以牙科水泥固定。牙科胶上固定一塑料圆柱管作为无损伤固定头部的支架。术后,猫头部局部抗生素粉末处理。在训练前,动物至少保证 10 d 恢复时间。

1.3 刺激物和记录装置

整个实验在密闭隔音暗箱内进行。条件刺激是声音,通过暗箱内的内置音箱开放声场传至耳部,在猫耳部位置用分贝仪在实验状态下测量并校正声强为 70 ~ 75 dB[5]。环境声级测量为(64 ~ 69 dB),控制声音强度比环境声级高 5 dB。非条件刺激是将猫尾部剃毛消毒后用心电图导电片包裹进行电刺激,刺激强度为 30 V。

瞳孔面积大小由本实验室和成都仪器厂共同研发的红外瞳孔测量装置进行实时测量,其结果在 RM6240 多道生理记录仪中显示并记录。由于动物置于暗箱内,其瞳孔将保持一个较大基础值,这并不利于实验进行。因此,我们在暗箱上方放置一个弱光源,使猫瞳孔保持一定量缩小。红外瞳孔摄像仪放置于眼睛前方 15 cm 处,保持屏幕中的瞳孔图像清晰(图 1)。瞳孔变化幅度,声音以及电刺激情况都被记录在 RM6240 多道生理记录仪中。

1.4 实验设计

训练当天,家猫放入制动装置,并借用脑立体定位仪固定杆穿过塑料圆柱筒,进行头部无创固定,适应环境 20 min 后进行实验。

实验设计包括适应期(30 次),非配对期(30 次),训练期(60 次)和消退期(30 次)等 4 个过程,每个训练期间隔 10 min。30 次适应期训练(只给予 CS)的目的是尽量减小 CS 引起的瞳孔变化。非配对组是声音(CS)和电刺激(US)以一种完全随机的假配对方式呈现。CS-US 刺激间期在 0 ~ 50 s 之间变化,这可以让 CS 和 US 之间产生联系的可能性降到最低。条件反射组中 US 总是在 CS 之后并配对呈现,两次配对训练之间的时间间隔平均 60 s。这样,非配对组和配对组训练的时间密度相近,其不同之处在于前者的 US 是随机出现,后者的 US 是和 CS 配对出现。

在非配对训练和配对训练后,进行严格的消退训练(只给予 CS)。非配对训练的数据将作为与配对训练中习得的瞳孔条件化扩大反应数据进行比对。

1.5 实验模式

实验根据 CS 结束后到 US 开始前时间间隔不同,分成两个训练模式。家猫完成第 1 种训练模式后至少 15 d,才进行第 2 种模式训练,以保证两种模式之间不会相互影响(图 1、2)。

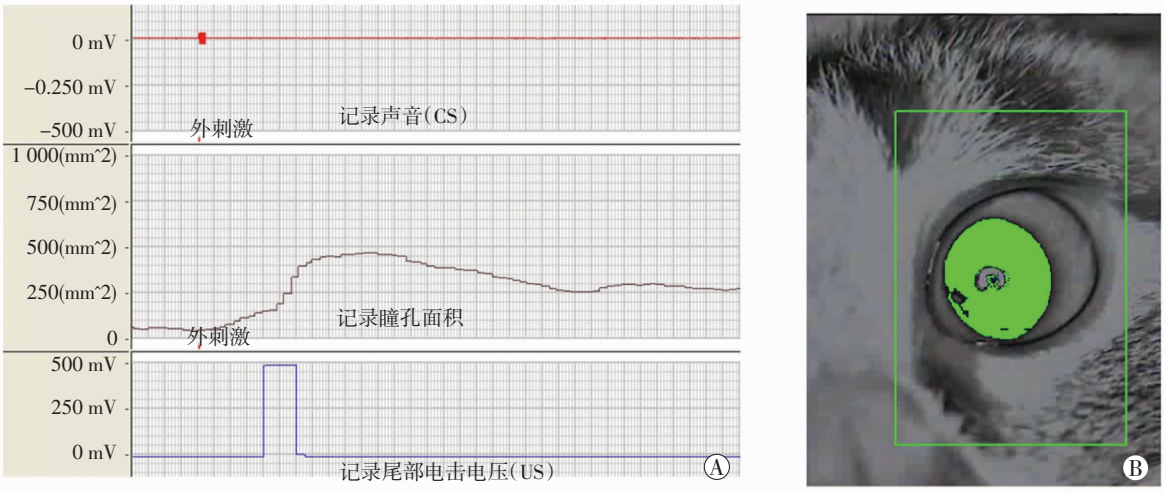
1.6 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。多组样本间的均值比较采用单因素方差分析。CR% 即习得条件反射的百分比。考虑到瞳孔对声音反应的持久性,基线范围选择在 CS 起始后 500 ~ 800 ms,判定 CR 的范围在 CS 起始后 800 ~ 1 000 ms,幅度标准 >5 mm^2,持续时间 >10 ms。

2 结果

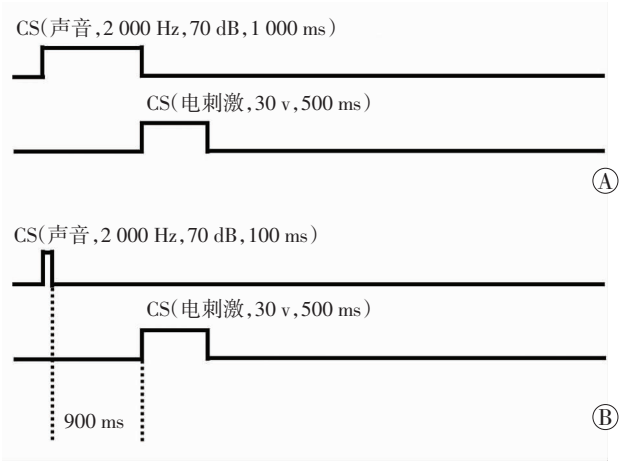
2.1 CS 与 US 刺激间隔为 0 ms 一组中,家猫不能习得条件化瞳孔扩大反射

CS 与 US 刺激间隔为 0 ms 一组中,4 个训练期习得率均保持较高水平(>%50)(图 3),非配对期和配对期间无明显差异。高习得率和瞳孔在安静状态下的自然波动有关。图 4 显示了在电刺激家猫尾部前后,瞳孔面积的变化。可以明显看出电刺激后,瞳孔面积扩大。



A:条件化瞳孔扩大反射行为训练时 CS、瞳孔面积、US 的记录曲线;B:实时记录的瞳孔面积(绿色椭圆部分)

图 1 红外瞳孔摄像仪在条件化瞳孔扩大反射过程中实时记录的瞳孔面积曲线



A:刺激间隔:0 ms;CS:1 000 ms;B:刺激间隔:900 ms;CS:100 ms

图2 刺激间隔为0 ms和900 ms的条件化瞳孔扩大反射训练模式结果

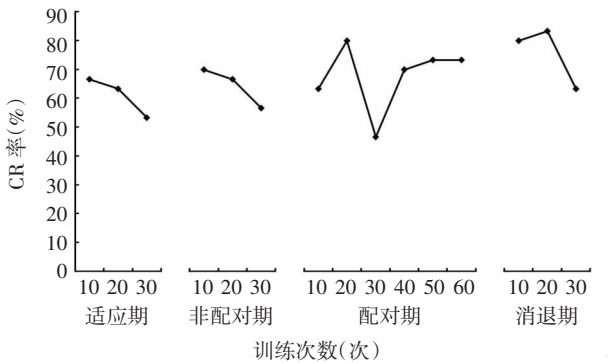
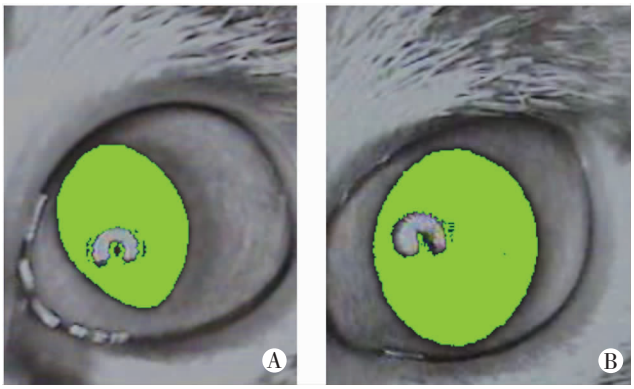


图3 刺激间隔为0 ms条件化瞳孔扩大反射4个训练期的习得率变化

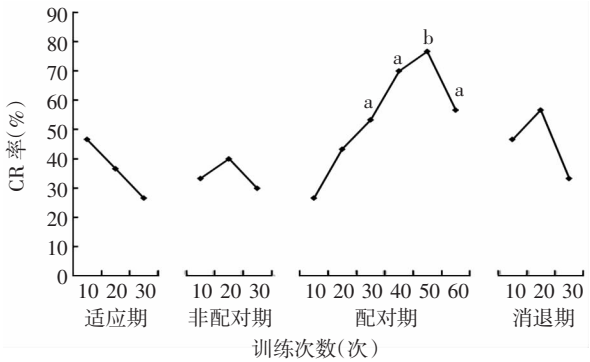


A:刺激前 ;B:刺激后

图4 电刺激(30 mV,500 ms)家猫尾部前后,实时监测瞳孔面积的变化

2.2 CS与US刺激间隔为900 ms一组中,家猫能够习得条件化瞳孔扩大反射

CS与US刺激间隔为900 ms一组中(图5),适应期随着CS反复刺激,其瞳孔对声音的反应逐渐减弱,并保持相对较低的习得率,在刺激间隔为0 ms一组中也有同样结果。非配对期和配对期相比较有明显差异($P<0.05$)。配对期随着训练次数增加,习得率也相应增加,训练到50次时习得率达70%以上。两种训练模式消退期习得率都呈现整体下降趋势,并且紧接在配对训练后。



a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与非配对期比较

图5 刺激间隔为900 ms条件化瞳孔扩大反射四个训练期的习得率变化

统计结果显示:900 ms模式中配对组与非配对组比较,CR习得率有显著差异($P<0.05$);在配对组内部,与前10次训练成绩相比,从第30次训练开始有显著性差异($P<0.05$),第50次训练后有非常显著性差异($P<0.01$)。0 ms模式中配对组与非配对组比较,无明显差异($P>0.05$)。

3 讨论

经典条件反射是联合性学习的一种,目前对经典条件反射的研究已经非常广泛和深入,研究模型多采用躯体条件反射,例如眨眼条件反射。但人体还存在大量内脏反射,这类反射由内脏神经支配控制,对机体正常功能的维持非常重要,例如心率反射,瞳孔反射等。这类反射能否被条件化,其机制是什么,却少有研究。条件化瞳孔扩大反射能够成功建立在国外早期少量文献中已有报道,但也有质疑的意见[6]。对于用何种实验动物以及在何种训练模式下条件化瞳孔扩大反射能习得,其反射规律如何则尚无研究。因此本研究着重对条件化瞳孔扩大反射的建立条件、习得规律进行讨论分析。

本研究结果显示,CS-US刺激间隔为900 ms时,家猫可成功习得条件化瞳孔扩大反射。在我们之前的研究中,用家兔、豚鼠以及牛蛙作为实验动物,进行条件化瞳孔扩大反射训练,此3种动物均不能达到实时监测瞳孔面积对瞳孔分辨率的高要求。家猫瞳孔对声音强度反应极其灵敏,在适应初期就表现出了对声刺激的高反应性,但是随着训练次数增加,逐渐下降。这种动物对声音的早期瞳孔扩大,应该是一种非条件反射,类似的这种反射在眨眼条件训练过程被称之为α反应(α wave)[7]。在躯体条件反射中α反应的潜伏期短,一般出现在声音起始后的30~80 ms以内,与声音强度有一定关系。但在瞳孔反射中,其潜伏期较长,一般出现在声音开始后200 ms左右。并且整个瞳孔反应持续时间较长,从瞳孔产生变化到恢复大概需要经历3 500 ms。瞳孔对刺激反应的延迟出现和持久

性,可能是家猫在0 ms刺激间隔模式中不能习得或测出条件化瞳孔扩大反射的原因。而900 ms刺激间隔使瞳孔对刺激的反应有足够恢复时间,并且声音刺激量减小,α反应也减小,这为条件反射的形成提供了重要条件。在0 ms刺激间隔模式中,也可能CR反应已经习得,但是被掩盖在瞳孔持久的变化之中,不能分离出来。

值得注意的是,900 ms刺激间隔模式中,家猫习得条件化瞳孔扩大反射非常迅速,在经过不到50次配对训练后就已习得,但也在很短时间内消退。而躯体条件反射中习得和消退都需要较长时间[8]。这种差异的原因值得进一步探讨。我们推测,条件化瞳孔扩大反射可能并不像躯体条件反射一样,需要复杂脑区的参与。DELAY和TRACE两种模式眨眼条件反射的神经机制已有广泛研究,并取得了较大进展,而这种相对单纯的条件化瞳孔扩大反射神经机制研究,可能对以往经典条件反射研究加以补充。

本研究只是初步解决了条件化瞳孔扩大反射的建立以及相关规律观察。而这种模型的建立可能会对今后条件反射神经机制的研究有重大意义,在此基础上可以推动学习记忆研究的深入开展。

参考文献:

[1] Gerall A A, Obrist P A. Classical conditioning of the pupillary dilation response of normal and curarized cats[J]. J Comp Physiol Psychol, 1962, 55: 486-491.
[2] Oleson T D, Westenberg I S, Weinberger N M. Characteristics of the pupillary dilation response during Pavlovian conditioning in paralyzed cats[J]. Behav Biol, 1972, 7(6): 829-840.
[3] Wedell C H, Taylor F V, Skolnick A. An attempt to condition the pupillary response[J]. J Exp Psychol, 1940, 27(5): 517-531.
[4] Young F A. An attempt to obtain pupillary conditioning with infrared photography[J]. J Exp Psychol, 1954, 48(1): 62-68.
[5] Brackbill Y, Lintz L M, Fitzgerald H E. Differences in the autonomic and somatic conditioning of infants[J]. Psychosom Med, 1968, 30(2): 193-201.
[6] Ashe J H, Cooper C L, Weinberger N M. Role of the parasympathetic pupillomotor system in classically conditioned pupullary dilation of the cat[J]. Behav Biol, 1978, 23(1): 1-13.
[7] 陈浩, 胡波, 杨丽, 等. 延迟性和痕迹性条件反射建立过程中豚鼠眨眼反应特征参数的变化[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(2): 95-98.
[8] 赵传东, 隋建峰, 张荣伟, 等. 昆明小鼠经典眨眼条件反射延迟痕迹任务模型建立及行为学参数分析[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2012, 21(8): 673-676.

(**收稿**:2013-04-26;**修回**:2013-07-26)
(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2013)20-2215-01

个案与短篇

全程护理在MRI肝肿瘤特异检测中的应用

程 琳,张 琳,徐春霞,刘晓玲,周暄琳 (400038 重庆,第三军医大学西南医院放射科)

[**关键词**] 全程护理;磁共振检查;钆塞酸二钠
[**中图法分类号**] R473 [**文献标志码**] B

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,目前常规检查手段如超声、多排CT及常规磁共振检查对于<直径2.0cm的肿瘤病灶显示及鉴别困难[1]。钆塞酸二钠作为新一代肝细胞特异性对比剂,不仅具有常规MRI对比剂的特点,而且其特有的肝细胞期对于肝内病灶的检出和定性具有重要意义[2]。我科从2012年2月开展MRI肝肿瘤特异检测临床新技术,扫描时间长,需很好的配合。如何消除患者检查中的焦虑情绪,很好地完成检查,是该项检查护理的要求。全程护理模式是一个多成员合作的过程,包括了评估、计划、执行、协调、监督和评价的全程管理环节,包含患者的整个诊治过程[3]。本研究在新技术开展中总结了全程护理方法,并对该方法进行了有效性验证,探讨全程护理方法在该新技术中应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2012年6-8月行肝肿瘤特异性检测患者90例,男性61例,女性29例,年龄27~64岁,体质量48~82 kg。乙肝肝硬化患者72例,正常18例。随机分为全程护理组和对照组,每组45例。2组间性别、年龄、乙肝肝硬化病史无统计学差异($P>0.05$)。排除严重肝肾功能损害的患者,对对比剂过敏的患者及其他有MRI检查禁忌的患者,有焦虑症病史和精神障碍的患者。

1.2 仪器与方法

采用Siemens Magneto Trio Tim 3.0T超导磁共振扫描仪,TIM相控阵线圈;双筒高压注射器(MedRad Spectris Solaris EP MRI INJECTION SYSTEM)。采用MRI动态增强图像采集技术、延迟扫描技术、脂肪抑制技术、同反相位成像技术、同层配比技术结合钆塞酸二钠动态增强成像。

1.3 MRI扫描流程及时间

①定位像PACE_LOCALIZER;②T2_HASTE-COR_P2_BH;③T2_HASTE-TRA_P2_BH;④T1_FL2D_IN-OPP_TRA_P2_BH;⑤EP2D_FIFF_B50_400_1000_P2;⑥ VIBE序列平扫检查;⑦VIBE 1期平扫;⑧CARE_BOLUS_COR;⑨VIBE 4期。延时20 min进行第2次肝细胞期扫描,总检查时间约20 min。

(下转2219页)

[**通信作者**] 张 琳,E-mail:linzhangswh@yahoo.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130701.0925.004.html(2013-07-01)