

**Teilverlust der inneren Haarzellen und die Folgen für die
neuronale Erregung und Hemmung im auditorischen
Mittelhirn des Chinchillas**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Biowissenschaften
der Johann Wolfgang Goethe -Universität
in Frankfurt am Main

von
Ala Alkhatib
aus Jizan, Saudi Arabien

Frankfurt am Main, 2007
(D30)

Vom Fachbereich Biowissenschaften der
Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen

Dekan: Prof. Dr. R. Wittig

Gutachter: Prof. Dr. J. Smolders
Prof. Dr. M. Kössl

Datum der Disputation: 25.02.2008

Für Saousan und Haifa

**„Halte immer an der Gegenwart fest. Jeder Zustand, ja jeder Augenblick
ist von unendlichem Wert, denn er ist der Repräsentant einer ganzen
Ewigkeit.“**

Johann Wolfgang von Goethe

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS.....	V
EINLEITUNG.....	1
1. Hörsinn und die Funktion des Innenohres.....	1
2. Erregende und hemmende Einflüsse auf den IC	6
2.1 Der Hörnerv	6
2.1.1 Exzitatorische Abstimmkurven	6
2.1.2 Zweiton- Suppression	7
2.1.3 Schallintensitätskennlinien:	9
2.2 Der Cochlearis-Kern.....	10
2.3 Die obere Olive.....	11
2.4 Die Kerne des Lemniscus lateralis	12
2.5 Das auditorische Mittelhirn (Colliculus Inferior)	13
3. Der zentrale Kern des Colliculus Inferior (ICc)	14
3.1 Zelltypen im ICc	14
3.2 Eingänge in den ICc	15
3.3 Neuronale Verbindungen innerhalb des ICc	16
3.4 Exzitation und Inhibition im ICc	16
4. Hörverluste nach Innenohrschäden.....	18
5. Fragestellung.....	21
MATERIAL UND METHODEN.....	23
1. Versuchstiere.....	23
2. Narkose.....	24
3. Präparation	25
4. Elektrophysiologische Messmethoden	27
5. Versuchsdurchführung und akustische Reizung.....	28
6. Datengewinnung	31
7. Auswerteverfahren	32
7.1 Messung der ABR- Hörschwellenkurve.....	32
7.2 Isolierung der Aktivität einzelner Neurone aus der neuronalen Ableitung	33
7.3 Einton-Stimulation	34
7.4 Zweiton-Stimulation.....	35
7.5 Intensitätskennlinien.....	37
A. Intensitätskennlinien bei der charakteristischen Frequenz (CF).....	37
B. Intensitätskennlinien bei Frequenzen innerhalb des inhibitorischen Bereiches	40

8. Statistische Auswertungen	40
9. Applikation von Carboplatin	40
10. Histologie der Cochleae	41
11. Verifikation der Ableitstellen im ICc	43
ERGEBNISSE	45
1. Physiologische Charakteristika des ICc in normalhörenden Chinchillas	45
1.1 Tonotopie.....	45
1.2 Antwortschwellen der Neurone im ICc	46
1.3 Die exzitatorischen Antwortfelder.....	46
1.4 Die inhibitorischen Antwortfelder.....	50
A. Die Inhibition der Spontanaktivität	50
B. Die Inhibition der evozierten Aktivität.....	51
Gruppe 1: Seitenband-Inhibition	51
Gruppe 2: Asymmetrische Inhibition	51
Gruppe 3: Komplexe Inhibition.....	51
Gruppe 4: Inhibition innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes.....	52
Gruppe 5: Schwache Inhibition	52
C. Vergleich zwischen Einton- und Zweiton-Inhibition	55
1.5 Die exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder in einem dorsoventralen Ableitungstrack.....	56
1.6 Intensitätskennlinien.....	59
1.7 Die neuronale Antwort innerhalb der inhibitorischen Regionen.....	59
2. Physiologische Charakteristika des ICc in hörgeschädigten Chinchillas	62
2.1 Histologische Nachweise der Hörschädigung.....	63
A. Übersicht über den Zustand der Haarzellen.....	63
B. Cochleogramme der inneren Haarzellen.....	63
2.2 Die Effekte auf die Antworteigenschaften der Neurone im ICc	65
A. Tonotopie im ICc nach Carboplatinbehandlung.....	65
B. CF-Schwellen nach Carboplatinbehandlung	67
C. Die exzitatorischen Antwortfelder nach Carboplatinbehandlung.....	68
D. Die inhibitorischen Antwortfelder nach Carboplatinbehandlung.....	72
E. Intensitätskennlinien nach Carboplatinbehandlung	75
DISKUSSION	77
1. Methodendiskussion	77
1.1 Elektrophysiologie am wachen Tier.....	77
1.2 Mehrzell- und Einzelzellantworten	77
1.3 Wirkung von Carboplatin	78
1.4 Histologie der Haarzellen	79
2. Antworteigenschaften der Neurone im ICc in normalhörenden Chinchillas	80
2.1 Die exzitatorischen Antwortfelder.....	80
2.2 Die Inhibition.....	82
Die Inhibition der Spontanaktivität	84
Die Inhibition der evozierten Aktivität.....	84

Gruppe 1: Seitenband-Inhibition	85
Gruppe 2: Asymmetrische Inhibition	85
Gruppe 3: Komplexe Inhibition.....	86
Gruppe 4: Inhibition innerhalb	87
Gruppe 5: Schwache Inhibition	88
2.3 Inhibition der Spontanaktivität im Vergleich mit Inhibition der evozierten Aktivität.....	88
2.4 Die neuronalen Antworteigenschaften innerhalb der inhibitorischen Regionen..	89
3. Die physiologischen Veränderungen nach dem Teilverlust der inneren Haarzellen	90
3.1 ABRs	90
A. ABR-Schwellen	90
B. ABR-Amplituden.....	91
3.2 Die Antwortschwellen der Neurone im ICc	92
3.3 Die CF-Verteilung der Neurone im ICc.....	92
3.4. Die exzitatorischen Antwortfelder der Neurone im ICc.....	93
3.5 Die inhibitorischen Antwortfelder der Neurone im ICc.....	93
3.6 Die Intensitätskennlinien der Neurone im ICc	95
Schlussfolgerungen	96
ZUSAMMENFASSUNG	98
LITERATURVERZEICHNIS	100
DANKSAGUNG	121
SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	122
LEBENS LAUF:	123

Abkürzungen

Abkürzungen

ABR	Die akustisch evozierten Hirnstammpotentiale
ÄHZ	Die äußeren Haarzellen
AMPA	α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propionsäure
AVCN	Der anteroventraler Nucleus cochlearis
CF	Die charakteristische Frequenz
CM	Mikrofonpotentiale
CN	Der Nucleus cochlearis
DCN	Dorsaler Nucleus cochlearis
DNLL	Der dorsale Nucleus vom Lemniscus lateralis
DPOAE	Distorsionsprodukte otoakustischer Emissionen
GABA	γ -Aminobuttersäure
IC	Der Colliculus inferior
ICc	Der zentrale Kern des Colliculus Inferior
ICP	Der dorsale Nucleus vom Colliculus inferior
ICX	Der externe Nucleus
IF	Inhibitionauslösende Frequenz
IHZ	Die inneren Haarzellen
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
ISI	Inter-Stimulus-Intervall
LL	Lemniscus lateralis
LSO	Die laterale obere Olive
MGB	Der mediale Kniekörper (Thalamus)
MNTB	Der Nucleus des Trapezkörpers
MSO	Die mediale obere Olive
MU	Mehrzellantwort
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PVCN	Der posteroventrale Nucleus cochlearis
PSTH	Peri-Stimulus-Time Histogramm
SR	Die Spontanaktivität einzelner Zelle
SSR	Die summierte Spontanaktivität von Mehreren Zellen
SU	Einzelzelle
VNLL	Der ventrale Nucleus vom Lemniscus lateralis

Einleitung

1. Hörsinn und die Funktion des Innenohres

Menschen und Tiere nutzen akustische Informationen aus ihrer Umwelt, um sich zu orientieren, zu kommunizieren und Gefahrenquellen zu orten. Die akustischen Signale sind Wellen, die durch ein Medium (Luft oder Wasser) übertragen werden. Mechanische Schallwellen werden beim Menschen vom Außenohr gesammelt und durch den äußeren Gehörgang zum Trommelfell geleitet. Trommelfell und Gehörknöchelchen sind die Bestandteile des Mittelohres, welche folgende Aufgaben übernehmen: 1) Drucktransformation bzw. Druckverstärkung, 2) Anpassung der Schallwellenwiderstände und 3) Schallschutz.

Im Innenohr, in der Cochlea, werden die mechanischen Schallwellen in elektrische Erregung umgewandelt. Die Cochlea besteht aus drei membranösen, zu einer Schnecke gewundenen Kanälen (Scala vestibuli, Scala media und Scala tympani) (Abbildung 1 oben). In der Scala media auf der Basilarmembran befindet sich das Corti'sche Organ (Abbildung 1 unten). Im Corti'schen Organ lassen sich Stützsysteme (z.B. Pfeilerzellen) und Sinneszellen unterscheiden. Die Sinneszellen werden auch Haarzellen genannt, da sie an ihrem oberen Ansatz feine Haare (Stereovilli, manchmal fälschlich auch als Stereozilien bezeichnet) aufweisen (Abbildung 1). Durch die Pfeilerzellen und den dazwischen liegenden Tunnel werden am Corti'schen Organ innere von äußeren Haarzellen separiert, wobei sich die äußeren Haarzellen weiter von der Mittelachse der Ohrschnecke entfernt befinden, meistens in drei Reihen, während sich die inneren Haarzellen dagegen stets in einer Reihe auffinden lassen (Abbildung 1). Die Neigung dieser Zellen gegenüber der Senkrechten auf der Basilarmembran ist genau umgekehrt; auf dem ganzen System liegt die so genannte Tektorialmembran auf.

Die zwei unterschiedlichen Typen von Haarzellen werden von den Nervenfasern unterschiedlich innerviert und nehmen unterschiedliche Funktionen wahr. Die inneren Haarzellen (IHZ) werden von etwa 90% der Hörnervenfasern innerviert (Lorente de No, 1937; Spoendlin, 1969), wobei jede Faser meist nur mit einer Haarzelle synaptischen Kontakt hat und eine Haarzelle von etwa 10-30 Fasern innerviert wird (stark divergente Innervation). Die inneren Haarzellen vermitteln somit die Hörinformation über 90% der afferenten Fasern und über mehrere auditorische Zentren an den auditorischen Kortex. Die äußeren Haarzellen (ÄHZ) werden nur von den restlichen 10% der Afferenzen

innerviert (Spoendlin, 1969), wobei aber die Information von vielen Haarzellen auf eine Faser konvergiert. Die Funktion der Afferenzen der Haarzellen ist noch unbekannt. Die eigentliche Bedeutung der ÄHZ liegt in der, über aktive mechanische Prozesse ausgeführten Kontrolle, der Empfindlichkeit der inneren Haarzellen (Dallos et al., 2006; Lu et al., 2006).

Durch Druck und Zug des Steigbügels am Ovalen Fenster der Cochlea entstehen Druckwellen, die in Abhängigkeit von der Schallfrequenz und der Steifheit der Basilarmembran als Wanderwellen die Cochlea entlanglaufen (von Békésy, 1960). Dabei sind die Orte maximaler Auslenkung frequenzabhängig längs der Cochlea verteilt, mit einem Gradienten der Abbildung von hohen Schallfrequenzen an der Cochleabasis bis zu tiefen Frequenzen an der Spitze (tonotope Anordnung, von Békésy, 1960).

Bei der Auf- und Abwärtsbewegung der Basilarmembran wird das Corti'sche Organ in eine Bewegung versetzt, die zu einer Abscherung der „Härchen“ (Stereovilli) der Haarzellen führt. Die durch die Abscherung der Stereovilli bewirkten Ionenströme, Potentialänderungen und Ca^{+2} -Anstiege in inneren Haarzellen setzen an deren unterem Ende den afferenten Transmitter Glutamat frei (Klinke, 1987). Eine Transmitterfreisetzung erfolgt nur bei exzitatorischer Auslenkung der Stereovilli, nicht bei der Bewegung in die Gegenrichtung (Klinke, 1986). Der Transmitter diffundiert durch den schmalen synaptischen Spalt und bindet an korrespondierende Rezeptoren afferenter Nervenzellmembranen des Hörnervs, nämlich die ionotropen AMPA-Rezeptoren (Ruel et al., 2007).

Die zunehmende Bindung der Neurotransmitter an den Rezeptoren verursacht dann den Aufbau elektrischer Potentiale in den Dendriten der Hörnervfasern. Wenn diese Potentiale eine bestimmte Schwelle erreicht haben, werden Aktionspotentiale (APs) entlang der Hörnervfasern generiert (Ehret, 1997). Die inneren Haarzellen verfügen über spezialisierte Synapsen (s.g. Ribbonsynapsen), die eine sehr schnelle synaptische Übertragung gewährleisten (Moser et al., 2006; Sterling and Matthews, 2005). Die zeitliche Abfolge und die räumliche Verteilung der Aktionspotentiale kodieren dabei die physikalischen Eigenschaften des akustischen Reizes, die dann über die Afferenzen an das zentrale auditorische System weitergeleitet werden (Ehret, 1997).

Die Weiterleitung der Hörinformationen geschieht über die aufsteigende (afferente) Hörbahn, die in allen Klassen der Vertebraten in Kernen der Medulla (Nachhirn) beginnt (Helfert et al., 1991). Die nächsten Kerne liegen ebenfalls im Nachhirn, von wo

die Bahnen über den Lateralen Lemniscus (Pons des Hinterhirns) zum auditorischen Mesencephalon (Mittelhirn) aufsteigen. Die Hauptprojektionen laufen weiter über Kerngebiete des Thalamus (Zwischenhirn) und enden in verschiedenen Bereichen des Telencephalons (Endhirn). Alle auditorischen Zentren in der Hörbahn sind paarig vorhanden (Abbildung 2) und sind miteinander mit Fasertrakten verbunden. Dabei geht die Schallinformation aus der rechten Cochlea zu großen Teilen in die Gehirngebiete der linken Gehirnhälfte ein (und umgekehrt).

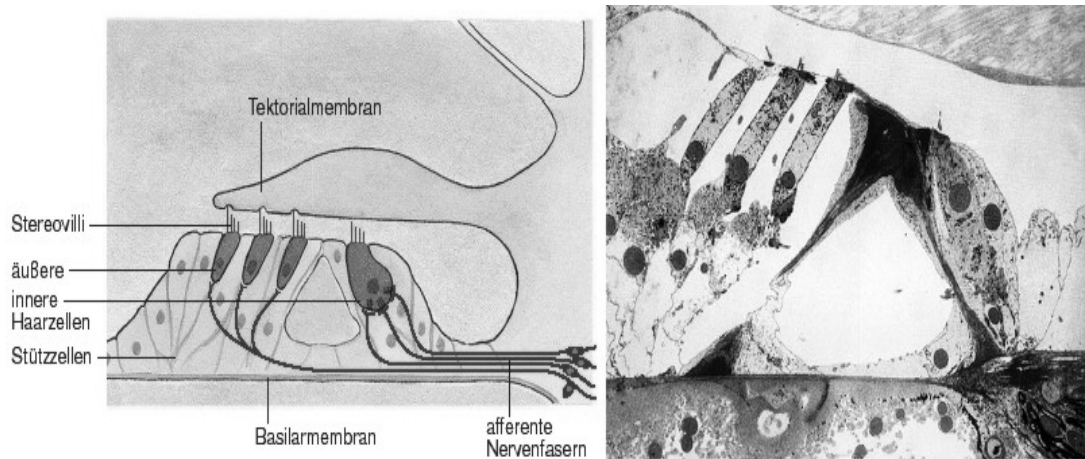
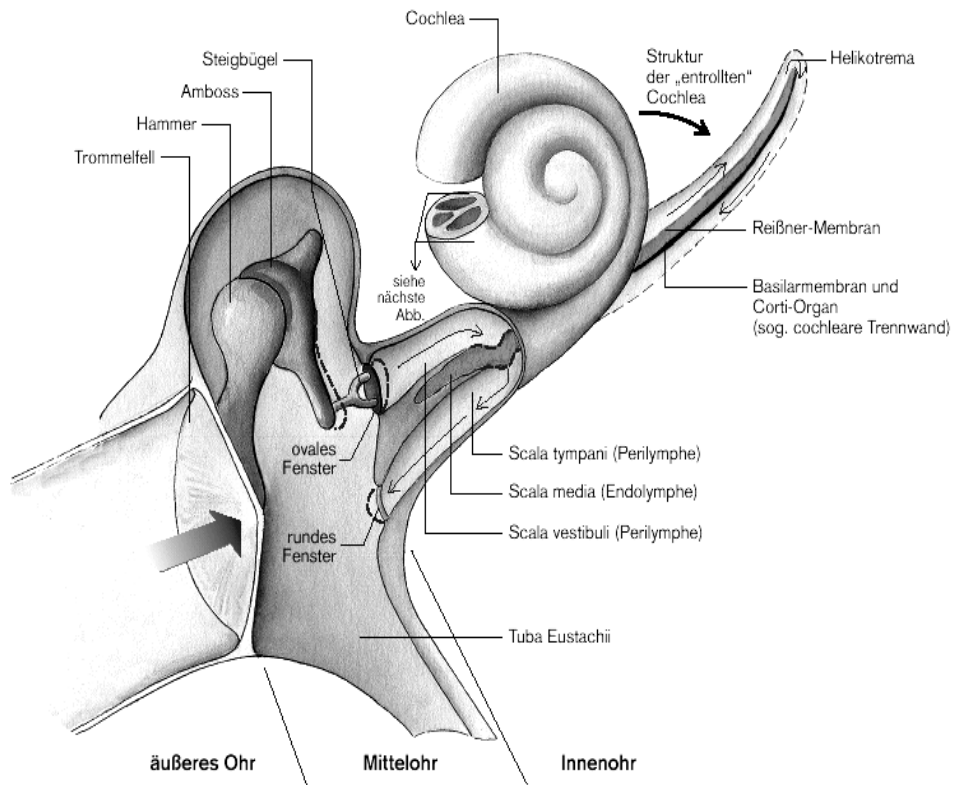


Abbildung 1. Oben: Schema von Mittel und Innenohr. Die Cochlea ist teilweise entrollt dargestellt. Unten links: Schema eines Querschnitts durch das Corti'sche Organ. Unten rechts: lichtmikroskopische Aufnahme des Querschnitts (Klinke, 2005).

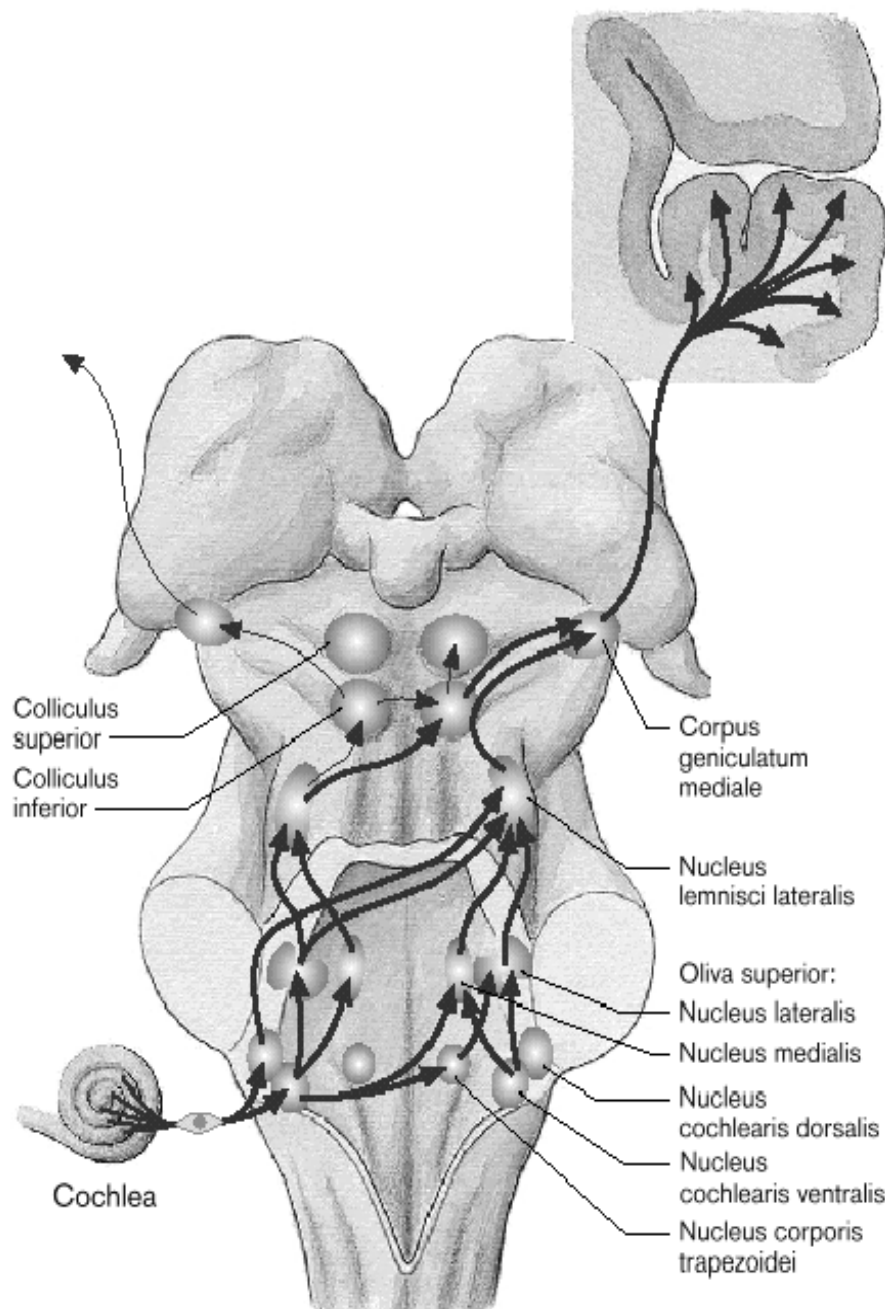


Abbildung 2. Vereinfachtes Schema der afferenten Hörbahn beim Menschen (Klinke, 2005). Die Dichte der Pfeile gibt in etwa die Projektionsstärke der Verbindung an.

2. Erregende und hemmende Einflüsse auf den IC

Die Verknüpfungen zwischen den auditorischen Kerngebieten sind nicht nur exzitatorischer (erregender) Natur. Synaptische Inhibition (Hemmung) kommt mindestens so häufig wie die erregende synaptische Übertragung vor. Bei einer hemmenden Synapse vermindert der ausgeschüttete Transmitter (am häufigsten sind Glycin und Gammaaminobuttersäure, GABA) die Möglichkeit postsynaptischer Erregung, indem er die Leitfähigkeit für K^+ oder Cl^- erhöht und damit das Ruhepotential stabilisiert (Kandel et al., 1996).

Die Inhibition stellt einen wichtigen Teilaspekt der Informationsverarbeitung dar und ist in den sensorischen Systemen häufig zu finden. Sie dient der Erhaltung des Kontrasts der Information, der Empfindlichkeitseinstellung und dem Detektieren einer Reizbewegung. Die laterale Hemmung im visuellen System z.B. verhindert, dass sich die rezeptiven Felder benachbarter Rezeptorkanäle überschneiden und bewirkt damit eine Verschärfung der Eingangsbereiche der Rezeptorkanäle (Pickles, 1988).

In dem auditorischen System spielt die Inhibition eine entscheidende Rolle bei der Verarbeitung binauraler Informationen (Gooler et al., 1996; Klug et al., 1995; Park and Pollak, 1994). Die Inhibition ist außerdem beteiligt an der Verarbeitung der Zeitstruktur der Aktionspotentialabfolgen (Casseday et al., 1994; Le Beau et al., 1996; Saitoh and Suga, 1995) sowie an der Modulation der intensitätsabhängigen Erregung (Faingold and Anderson, 1991; Jen et al., 1998; Pollak and Park, 1993).

In diesem Abschnitt werden die neuronale Erregung und die Hemmung in der aufsteigenden Hörbahn bis zum Colliculus Inferior (Untersuchungsgebiet der vorliegenden Arbeit) beschrieben.

2.1 Der Hörnerv

2.1.1 Exzitatorische Abstimmkurven

Die ersten Untersuchungen einzelner Fasern des Hörnervs mit Mikroelektroden wurden von Galambos and Davis (1943) durchgeführt. Besonders umfassende Untersuchungen stammen von Kiang (Kiang et al., 1965a; b), der allein Daten aus 1500 verschiedenen Einzelfasern vorlegte. Inzwischen ist eine große Zahl von Veröffentlichungen dazugekommen. Zusammenfassend lassen sich folgende Merkmale nennen: Viele Fasern sind spontanaktiv, d.h., sie zeigen auch ohne äußeren Reiz Aktionspotentiale.

Die Spontanaktivität ist unterschiedlich groß und reicht von wenigen Aktionspotentialen pro Minute bis etwa 200 pro Sekunde. Die Hörnervfasern sind, aufgrund der in der Cochlea ausgeführten Frequenzanalyse nur empfindlich für einen bestimmten Bereich von Frequenzen und Intensitäten (Pickles, 1988). Die exzitatorische Abstimmkurve (Abbildung 3) schließt den Frequenzbereich ein, innerhalb dessen die Hörnervfasern mit einer Erhöhung ihrer Entladungsrate über das Niveau der Spontanaktivität hinaus auf Tonpulse antworten. Sie stellt die frequenzabhängige neuronale Antwortschwelle dar.

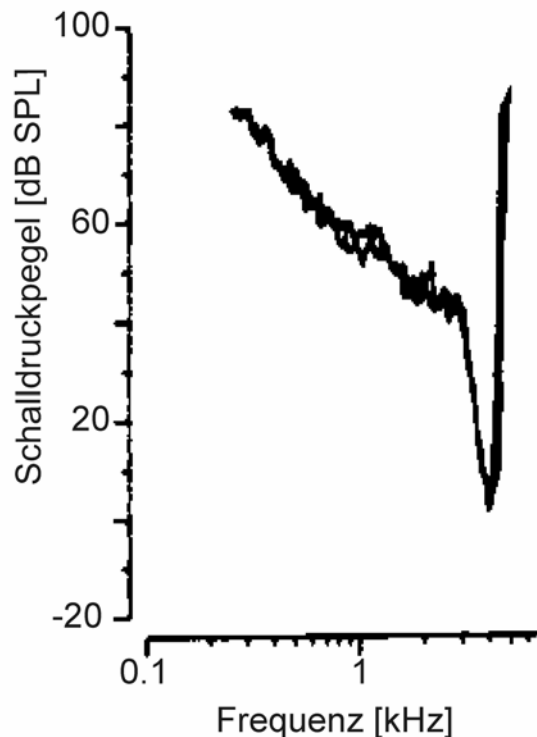


Abbildung 3. Exzitatorische Abstimmkurve einer Hörnervfaser mit der charakteristischen Frequenz 4 kHz (Kiang et al., 1965b).

2.1.2 Zweiton- Suppression

Bei der Präsentation zweier Schallreize, die gleichzeitig oder mit einem kurzen Abstand im Millisekundenbereich voneinander präsentiert werden, kommt es zu einer Wechselwirkung der neuronalen Aktivitäten als Antwort auf die zwei Stimuli (Abbildung 4). Man findet regelmäßig an den beiden Flanken der exzitatorischen Abstimmkurven Bereiche, in denen ein zweiter Ton die Antwort auf einen Ton im exzitatorischen Bereich ganz oder teilweise unterdrücken kann (Pickles, 1982). Dies wurde erstmalig an den Hörnervfasern durch elektrophysiologische Messungen von

Kiang und Mitarbeiter gezeigt. Sie fanden auch, dass alle Hörnervfaser Zweitton-Suppression bereiche aufweisen (Kiang et al., 1965b; Sachs and Kiang, 1968).

Diese laterale Suppression unterscheidet sich von lateraler Hemmung dadurch, dass sie nicht neuronal wie etwa in der Netzhaut (Picaud et al., 1998), sondern alleine durch mechanische Nichtlinearität im Innenohr vermittelt wird. Solche Nichtlinearitäten führen auch dazu, dass bei Beschallung mit zwei Tönen (f_2 größer als f_1) in der Cochlea die Differenz-Töne $2f_1-f_2$ und f_2-f_1 mit eigenen Wanderwellen gebildet werden, die, obwohl sie im Schall selbst nicht enthalten sind, einen Höreindruck auslösen (Kossl et al., 1996; Kossl and Vater, 1996; Pickles, 1988; Robles and Ruggero, 2001; Ruggero, 1992). Die genauen Mechanismen hinter der Zweitton-Suppression sind aber noch nicht geklärt. Es wird vermutet, dass sich die Wanderwellen der einzelnen Töne gegenseitig teilweise auslöschen können (Arthur et al., 1971).

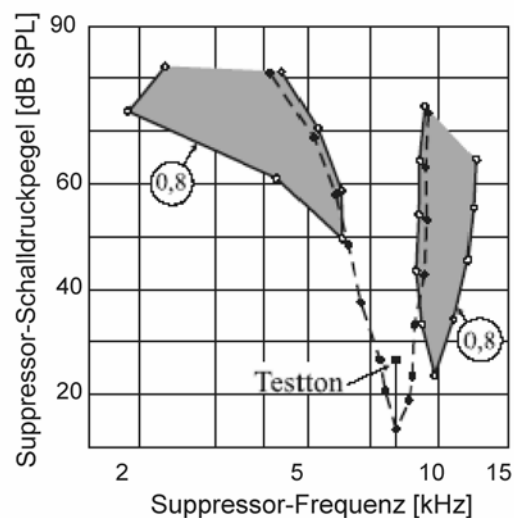


Abbildung 4. Gemessene Zweitton-Suppressionbereiche der mittleren Entladungsrate einer Hörnervfaser mit der CF des Test-Tons nach Arthur et al. (1971). Die mit dem Faktor 0,8 gekennzeichnete Kurve gibt den Pegel und die Frequenz des Suppressortons an, der zu einer Reduktion der mittleren Entladungsrate auf genau 80% führt. Innerhalb der grau dargestellten Flächen ist die Suppression größer, d. h. die Entladungsrate vermindert sich auf weniger als 80%. Die exzitatorische Abstimmkurve der Faser ist gestrichelt dargestellt.

2.1.3 Schallintensitätskennlinien:

Die Kodierung der Schallintensität erfolgt in einzelnen Hörnervfasern durch Unterschiede in ihrer Empfindlichkeit und im Dynamikbereich. Sie erhöhen ihre Entladungsrate mit steigender Schallintensität (Abbildung 5). Die Intensitätskennlinie ist in der Regel sigmoid mit einem relativ linearen Anstieg der Entladungsrate oberhalb schwelennaher Intensitäten und einem Sättigungsbereich bei hohen Intensitäten (Pickles, 1982). Der vom ansteigenden Teil der Kurve umfasste Intensitätsbereich wird Dynamikbereich eines Neurons genannt. Er kann für viele Hörnervfasern 20-40 dB (Yates et al., 1990) umfassen, wenn ein Neuron bei seiner charakteristischen Frequenz gereizt wird. Die Entladungsraten von einzelnen Nervfasern bieten somit die Möglichkeit der Schallintensitätskodierung über Schalldruckpegel-Änderung von höchstens 40 dB (Pickles, 1988). Der zweite Weg der Schallintensitätskodierung stützt sich auf die Anzahl aktiver Hörnervenfasern. Hörnervenfasern mit den gleichen charakteristischen Frequenzen können Antwortschwellen-Unterschiede von bis zu 80 dB haben (Lieberman, 1978). Das bedeutet, dass mit steigendem Schalldruckpegel immer mehr Fasern, die für eine bestimmte Frequenz kodieren, aktiviert werden. Durch die Ausweitung des Auslenkungsbereichs im Innenohr mit steigender Intensität und aufgrund der damit zusammenhängenden Verbindung der Abstimmkurven erhöht sich die Zahl der aktivierten Fasern zusätzlich um das Zentrum der Erregung, das durch eine große Zahl von Fasern mit den höchsten Entladungsraten festgelegt ist (Pickles, 1988). Berücksichtigt man die Antwortschwellenunterschiede von Hörnervenfasern bei vergleichbaren charakteristischen Frequenzen und die Dynamikbereiche der Fasern, erhält man bei jeder Frequenz im Hörbereich eine Gesamtdynamik, die von der absoluten Hörschwelle bis zur Schmerzgrenze reicht.

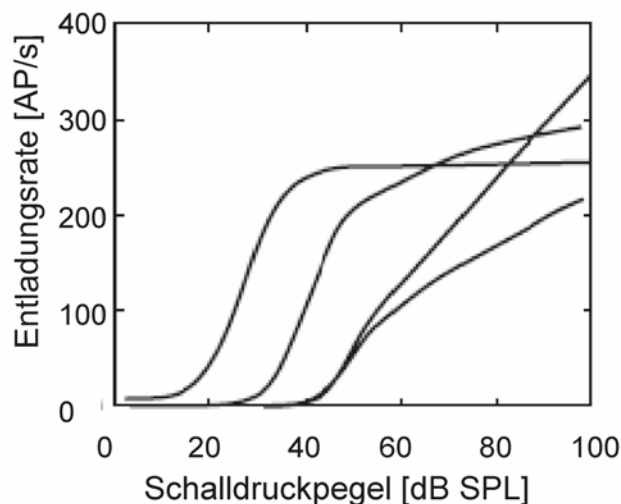


Abbildung 5. Schalldruckabhängigkeit der Entladungsrate unterschiedlicher Fasern des Hörnervs, aus Yates et al., (1990).

2.2 Der Cochlearis-Kern

Der Cochlearis-Kern oder Nucleus cochlearis (**CN**, eng. cochlear nucleus) ist die erste Umschalt- und Verarbeitungsstation des zentralen auditorischen Systems im Hirnstamm, in der synaptische Inhibition auftritt.

Der CN wird in drei Unterkerngebiete unterteilt, den anteroventralen Cochleariskern (AVCN), den posteroventralen Cochleariskern (PVCN) und den dorsalen Cochleariskern (DCN). Alle drei Unterkerne erhalten über den Hörnerv direkten Eingang aus der Cochlea. Der Hörnerv teilt sich bei Eintritt in den CN in zwei Äste. Der dorsale Ast leitet die Information aus der Cochlea an den AVCN weiter, während der caudale Ast den PVCN und den DCN versorgt (Wu and Oertel, 1984).

Nach elektrischer Stimulation des Hörnervs wurden die Zellen der CN nach dem Verhältnis von Exzitation und Inhibition in ihren rezeptiven Feldern, mit Bezug auf ihre Spontanrate, klassifiziert (Shofner and Young, 1985). Es wurden vier Typen unterschieden; Typ I-Neurone sind spontanaktiv und zeigen eine rein exzitatorische Antwort ohne Inhibition. Typ II-Neurone sind nicht spontanaktiv, weisen aber auch eine exzitatorische Antwort ohne Inhibition auf. Typ III-Neurone weisen eine schmale exzitatorische Antwort auf, die von inhibitorischen Seitenbändern umgeben ist. Typ IV-Neurone weisen nur eine exzitatorische Antwort nahe der Schwelle an der charakteristischen Frequenz (CF) auf, zeigen aber ansonsten Inhibition über einen großen Frequenzbereich.

In den tiefen Schichten des DCN kommen inhibitorische (glycinerge) Interneurone vor (Zhang and Oertel, 1993), die die Neurone im DCN selbst und im angrenzenden VCN innervieren (Spirou et al., 1999) und vermutlich die inhibitorische Seitenbänder vermitteln (Wu and Oertel, 1986).

Evans und Zhao (1993) geben einen Überblick über die einzelnen Inhibitionstypen und durch welche Transmitter sie verursacht werden (Evans and Zhao, 1993). Sie fanden, dass Seitenband-Inhibition durch den Glycin-Antagonist Strychnin blockierbar ist. Außerdem fanden sie, dass tonische Inhibition (Hintergrund Inhibition) durch GABA vermittelt wird (blockierbar mit Bicucullin). Die Inhibition, die nach Ende der Stimuli auftritt (Off-Inhibition), ist weder durch Strychnin noch durch Bicucullin blockierbar, während präsynaptische Inhibition durch Baclofen (GABA_B-Antagonist) blockiert werden konnte.

Eine Möglichkeit zur Unterscheidung zwischen Suppression und Inhibition ist, dass die Suppression im Gegensatz zur Inhibition nicht in das exzitatorische Antwortfeld eingreift (Ruggero, 1992). Kopp-Scheinflug (1999) konnte in ihrer Dissertation Suppression und Inhibition getrennt darstellen. Sie beobachtete die extrazelluläre Aktivität der Calyxsynapsen an den Spherical Buschy Cells im AVCN und konnte anhand der Wellenform zwischen den Präpotentialen (aus den Hörnervfasern) und dazugehörigen Postpotentiale (aus den Spherical Buschy Cells) unterscheiden (Kopp-Scheinflug, 1999).

Die Kerne des CN projizieren in die oberen Olivenkerne und über einen anderen Weg direkt in das auditorische Mittelhirn. Diese parallele Wege (oft bezeichnet als monoaurale und binaurale Bahnen) ermöglichen unterschiedliche Verarbeitung der akustischen Informationen ehe sie in das Mittelhirn weitergeleitet werden (Grothe et al., 2001; Ross and Pollak, 1989).

2.3 Die obere Olive

Die obere Olive bestehen aus mehreren Kerngebieten, z.B. aus vier beim Menschen, aus 9 Gebieten bei Katzen (Moore and Moore, 1971), die im Hirnstamm zwischen dem CN und dem Mittelhirn lokalisiert sind. Ihre elektrophysiologischen Eigenschaften korrelieren gut mit der biologischen Funktion der Schallortung, für eine Übersicht siehe Schofield (2005).

Die laterale obere Olive (LSO, eng. lateral superior olive) bekommt exzitatorischen Haupteingang aus den so genannten „spherical bushy cells“ (SB-Zellen) im ipsilateralen VCN. Der inhibitorische Haupteingang dagegen kommt aus dem ipsilateralen Nucleus des Trapezkörpers (eng. medial nucleus of the trapezoid body, MNTB), der seine Eingänge von den so genannten „globular bushy cells“ (GB-Zellen) des kontralateralen VCN erhält. Beide Projektionen kontaktieren die gleichen Neuronen. D.h., die Neurone in der LSO werden durch ipsilaterale Beschallung erregt, und durch kontralaterale Beschallung inhibiert (Cant, 1991). Die LSO-Neurone reagieren daher am besten, wenn der Schall das ipsilaterale Ohr stärker erregt und sind deshalb empfindlich für interaurale Schalldruckunterschiede

Die mediale obere Olive (MSO, eng. medial superior olive) wird exzitatorisch durch die SB-Zellen und inhibitorisch durch die GB-Zellen aus den ipsi- und kontralateralen VCN innerviert. Die exzitatorischen Projektionen aus Neuronen mit den gleichen CFs von dem jeweils ipsi- und kontralateralen VCN enden in den gleichen Neuronen (Cant, 1991). Diese Zielneurone können nur maximal feuern, wenn sie gleichzeitig erregt werden (EE-Zellen) und werden deshalb als *Koinzidenzdetektoren* bezeichnet (Cant, 1991). 25% der Neurone in der MSO werden durch die Beschallung eines Ohres erregt aber werden inhibiert, wenn das andere Ohr beschallt wird (EI-Zellen) (Goldberg and Brown, 1969).

Kerne, die um die LSO und die MSO herumliegen, werden als die periolivären Kerne (PON, eng. periolivary nuclei) bezeichnet. Sie haben vielfältige Zelltypen, die sich in der Morphologie und im physiologischen Antwortverhalten unterscheiden (Schofield, 2005). All diese Kerne projizieren in das ipsilaterale Mittelhirn, dem Inferior Colliculus (Adams, 1983).

Ein weiterer Kern, der in den ipsilateralen Colliculus Inferior projiziert, ist der obere paraolivären Kern (SPN, eng. superior paraolivary nucleus) (Saint Marie and Baker, 1990). Die meisten Zellen in diesem Kern sind inhibitorisch (GABAerg und glycinerg). Eine besondere Eigenschaft der Zellen hier ist, dass sie auf amplitudenmodulierte Sinustöne gut reagieren (Behrend et al., 2002).

2.4 Die Kerne des Lemniscus lateralis

Die Axone der Neurone im CN und im SOC innervieren auf ihrem Weg zum Mittelhirn durch Verzweigungen (Kollaterale) den Lemniscus lateralis (LL).

Der LL besteht aus zwei Kernen, die sich in ihren Verbindungen und Cytoarchitektur unterscheiden, den ventralen (VNLL) und den dorsalen (DNLL) Kern (Schofield, 2005). Die exzitatorischen Abstimmkurven der Neurone in beiden Kernen des LLs sind sehr variabel, von sehr schmal bis sehr breit (Aitkin et al., 1970).

Der VNLL unterscheidet sich von allen anderen auditorischen Kernen dadurch, dass er keine einfache tonotope Repräsentation der charakteristischen Frequenzen aufweist (Glendenning and Hutson, 1998). Die meisten Zellen im VNLL werden durch kontralaterale Stimulation erregt (Batra and Fitzpatrick, 2002). Da die Transmitter vieler Neurone im VNLL entweder Glycin oder GABA sind, sind ihre Projektionen in den Colliculus Inferior inhibitorisch (Saint Marie and Baker, 1990; Winer et al., 1995).

Im DNLL ist, im Gegensatz zum VNLL, eine klare tonotope Repräsentation der CFs vorhanden (Aitkin et al., 1970). Der DNLL bekommt bilaterale Eingänge aus dem VCN sowie aus der LSO und einen ipsilateralen Eingang aus der MSO und wird außerdem noch von dem zweiten DNLL kontaktiert. Seine Zellen sind zum großen Teil binaural und werden durch die Beschallung des kontralateralen Ohres erregt und der ipsilateralen inhibiert (EI-Zellen). Nach Läsionen des DNLLs änderten sich die binauralen Antwortigenschaften im kontralateralen Colliculus Inferior (Faingold et al., 1993; Li and Kelly, 1992) und im kontralateralen auditorischen Kortex (Glenn and Kelly, 1992). Der DNLL enthält hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich, GABAerge Neurone (Adams and Mugnaini, 1984), die in die zentralen Kerne des ipsilateralen sowie des kontralateralen Colliculus Inferior projizieren.

2.5 Das auditorische Mittelhirn (Colliculus Inferior)

Der Colliculus Inferior (IC) ist eine wichtige Verarbeitungsstation des zentralen Hörsystems, den aufsteigenden Projektionen aus fast allen vor ihm liegenden Verarbeitungskernen passieren müssen (Ehret, 1997; Winer and Schreiner, 2005).

Der IC (Abbildung 6) enthält etwa 350.000 Neurone (Kulesza et al., 2002). Diese Anzahl entspricht fast der fünffachen Anzahl der Neurone in den niedrigeren auditorischen Stationen sowie der fünffachen Anzahl der Neurone in der höher liegenden Station, dem Corpus geniculatum mediale (Kulesza et al., 2002). Daraus wird ersichtlich, dass im IC eine umfangreiche Verarbeitung der auditorischen Information stattfindet, bevor sie an die höher liegenden Stationen weitergeleitet wird.

Der IC wurde nach mehreren Studien mit Nissl-Färbungen (Rockel and Jones, 1973a;b; c) in drei Subregionen unterteilt, den zentralen Nucleus (ICc), den perizentralen oder dorsalen Nucleus (ICP) und der externen Nucleus (ICX).

Da die vorliegende Arbeit sich auf elektrophysiologische Ableitungen aus dem zentralen Nucleus des IC beschränkt, wird diese Struktur dementsprechend im nächsten Abschnitt ausführlich beschrieben.

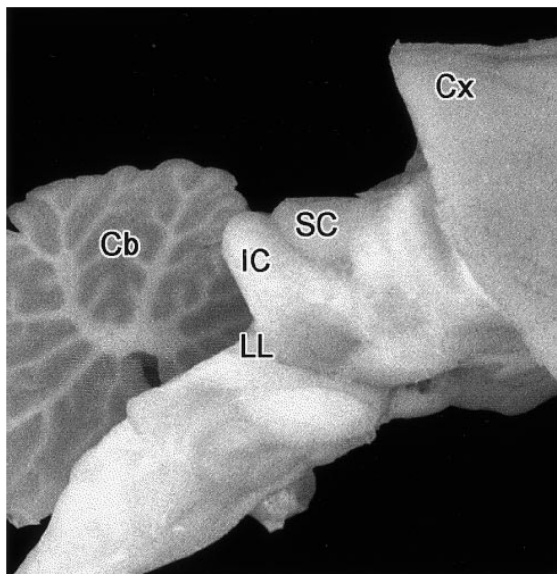


Abbildung 6 : Das Gehirn eines Chinchillas. In der Fotografie ist die Lage des rechten Colliculus Inferior (IC) zwischen Lemniscus lateralis (LL) und Colliculus Superior (SC) gut zu erkennen. Der posteriore Anteil des Kortex (Cx) sowie der laterale Anteil des Kleinhirns (Cb) wurden für diese Aufnahme entfernt, aus Harrison (1998).

3. Der zentrale Kern des Colliculus Inferior (ICc)

3.1 Zelltypen im ICc

Der (ICc) besteht aus dicht gepackten Zellen, die von locker gepackten Zellen umgeben sind. Der ICc zeichnet sich bei verschiedenen Säugetieren durch eine Schichtstruktur (Laminae) aus, die durch die Anordnung seiner Zellen und die Verteilung ihrer Dendriten zustande kommt (FitzPatrick, 1975; Malmierca et al., 1993).

Im ICc finden sich anatomisch vorwiegend zwei Zelltypen: die so genannten „Prinzipalzellen“ (70-80%) und „sternförmige Zellen“ (20-30%) (Oliver and Morest, 1984; Rockel and Jones, 1973a). Die Prinzipalzellen werden nach ihrer Form scheibenförmige Zellen (disk-shaped) genannt. Sie haben Dendriten, die oft entlang der Schichten ausgerichtet sind. Ihr „Einzugsgebiet“ für ankommende Information ist bei

Katzen daher in einer Raumrichtung auf ca. 70-200 μm begrenzt (Rockel and Jones, 1973a). Die sternförmigen Zellen „stellate cells“ unterscheiden sich hinsichtlich Größe und Verzweigungsmuster untereinander und haben im Gegensatz zu den prinzipalen Zellen ein ovales bis kugelförmiges Dendritenfeld (Herrera et al., 1988).

3.2 Eingänge in den ICc

Die Hauptprojektionen in den ICc (Abbildung 7) kommen aus dem kontralateralen CN, den oberen Olivenkernen (LSO und MSO) sowie aus den Kernen des Lemniscus Lateralis (LL). Die Projektionen verteilen sich aber ungleichmäßig in den ICc. Elektronenmikroskopische sowie immunocytochemische Studien konnten zeigen, dass es sich bei den Synapsen aus den Kernen des CN ausschließlich um exzitatorische Synapsen handelt (Alibardi, 1998; Oliver and Morest, 1984; Smith and Rhode, 1989). Die meisten MSO-Zellen projizieren in den ipsilateralen ICc und benutzen wahrscheinlich einen exzitatorischen Transmitter (Kumoi et al., 1993; Oliver et al., 1995). Bilaterale Projektionen kommen aus dem LSO. Während die kontralaterale Projektion exzitatorisch ist, enthält die ipsilaterale Projektion eine große inhibitorische (glycinerge) Komponente und eine kleine exzitatorische Komponente (Saint Marie et al., 1989).

Hemmende Einflüsse auf den ICc stammen auch aus dem dorsalen Unterkern des LL (DNLL). Sie benutzen wahrscheinlich ausschließlich den inhibitorischen Transmitter GABA (Shneiderman et al., 1993). Die inhibitorischen Eingänge projizieren tonotop in den ICc (Merchan et al., 1994). Die Neurone des DNLL senden ihre Axone in beide ICs, die der ventralen Kerne des LL (VNLL) dagegen ausschließlich in den ipsilateralen ICc.

Über kortikale Eingänge in den ICc wird noch spekuliert. Während nach der elektrischen Stimulation des primären Kortex Veränderungen der exzitatorischen und inhibitorischen Antwortigenschaften der Neurone im ICc registriert werden konnten (Mitani et al., 1983; Syka and Popelar, 1984; Yan et al., 2005; Yan and Ehret, 2002), wurde nur schwache kortikofugale anterograde Projektionen nachgewiesen (Winer et al., 2001; Winer and Prieto, 2001).

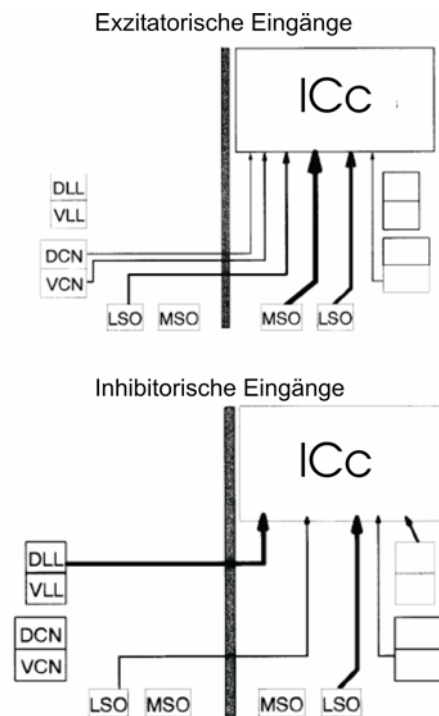


Abbildung 7. Die exzitatorischen und inhibitorischen Eingänge in den ICc bei kontralateraler Stimulation, (Oliver, 2000).

3.3 Neuronale Verbindungen innerhalb des ICc

Nach den Studien mit lokaler Markierung von Neuronengruppen mit anterograden Tracern (Malmierca et al., 1995; Saldana and Merchan, 1992); ist bekannt, dass starke Verbindungen innerhalb einer Isofrequenzfläche existieren. Verbindungen zwischen den Isofrequenzflächen sind dagegen kaum erkennbar. Verbindungen zwischen ipsi- und kontralateralen ICcs konnten dagegen in denselben Studien nachgewiesen werden.

3.4 Exzitation und Inhibition im ICc

Im ICc alleine sind mehr als die Hälfte der Neurone des IC lokalisiert (Ehret and Merzenich, 1988b). Sie besitzen exzitatorische Antwortfelder (Ehret and Merzenich, 1988a; Le Beau et al., 2001; Ramachandran et al., 1999), die sich wesentlich in ihrer Form und damit in ihrer Frequenzselektivität von denen der Neurone im Hörnerv (Kiang, 1968; Kiang et al., 1965b; Liberman, 1978) unterscheiden. Diese Veränderungen sind auf inhibitorische Einflüsse von verschiedenen Hirnstammregionen (Vater et al., 1992) sowie auf interne inhibitorische Einflüsse (Moore and Moore, 1987) zurückzuführen.

Die Formen der exzitatorischen sowie der inhibitorischen Antwortfelder der Neurone im ICc sind in mehreren Studien beschrieben (Egorova et al., 2001; Ehret and Merzenich, 1988a; Le Beau et al., 2001; Möller, 1978; Ramachandran et al., 1999;

Suga, 1969; Vater et al., 1992). Le Beau und Mitarbeiter (2001) untersuchten an narkotisierten Meerschweinchen die exzitatorischen Antwortfelder der Neurone im ICc mittels Einton-Stimulation vor und nach iontophoretischer Applikation von Antagonisten der inhibitorischen Transmitter GABA und Glycin (Bicucullin und Strychnin). Sie klassifizierten die Neurone im ICc in zwei Hauptgruppen: Neurone mit monotonen Intensitätsfunktionen bei CF und solche mit nicht-monotonen Intensitätsfunktionen bei CF. Ramachandran und Mitarbeiter (1999) teilten bei ähnlichen Untersuchungen die Neurone im ICc an wachen dezerebrierten Katzen in drei Klassen ein. (1) Neurone mit schmalen exzitatorischen Abstimmkurven (I-förmig), die an den beiden Flanken von inhibitorischen Felder umgeben sind, (2) Neurone mit breiten exzitatorischen Abstimmkurven (V-förmig) ohne inhibitorische Felder und (3) Neurone mit nichtmonotonen exzitatorischen Abstimmkurven (O-förmig), deren Entladungsaktivität wahrscheinlich durch Inhibition bei den höheren Schalldruckpegeln unterdrückt wird. Diese Studie benutzte die Einton-Stimulation und damit die Inhibition der Spontanaktivität zur Klassifizierung der Neurone. In einer späteren Arbeit an narkotisierten Mäusen (Egorova et al., 2001) wurde die Zweiton-Stimulation benutzt, um die Inhibition der evozierten Aktivität zu induzieren und diese für eine ausführlicher Klassifizierung zu nutzen. Egorova et al. unterscheiden vier Klassen:

(1) Neurone mit exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfeldern, die den exzitatorischen und Suppressions-Antwortfeldern der Hörnerv-Fasern (Sachs and Kiang, 1968) ähneln. Sie zeichnen sich aus durch asymmetrische exzitatorische Antwortfelder (hochfrequente Flanke ist steiler) und durch symmetrische inhibitorische Felder an beiden Seiten des exzitatorischen Antwortfeldes. (2) Neurone mit kleinen exzitatorischen Antwortfeldern und großen inhibitorischen Antwortfeldern bei Zweitonstimulation, die die exzitatorischen Antwortfelder überdecken. (3) Neurone mit breiten exzitatorischen Antwortfeldern und schwacher Inhibition. (4) Neurone mit exzitatorischen Abstimmkurven, die zwei CFs aufweisen. Die räumliche Verteilung dieser verschiedenen Neuronen-Klassen im ICc wurde in einer weiteren Studie untersucht (Hage and Ehret, 2003). Sie fanden, dass die Neurone im Zentrum der Isofrequenzflächen die niedrigsten Erregungsschwellen (höchste Empfindlichkeit) und die schärfste Frequenzabstimmung (schmale Antwortfelder) besitzen. Konzentrisch zu den Flächenrändern hin werden die Erregungsschwellen höher und die Antwortfelder breiter.

4. Hörverluste nach Innenohrschäden

Die häufigsten Ursachen für Hörverluste sind Innenohrschäden. Innenohrschäden können unterschiedlich verursacht werden, z.B. durch Infektionen (Berrettini et al., 1999; Roizen, 1999), Sauerstoffmangel, Durchblutungsstörungen (Borg, 1997) akustische Überlastung des Ohres (Salvi et al., 2000) und durch verschiedene chemische Stoffe (Loquet et al., 1999).

Risikofaktoren, die einen Hörschaden hervorrufen können, sind oft nicht zu vermeiden. Dazu zählen Arzneimittel mit ototoxischer Nebenwirkung, wie Aminoglykosid-Antibiotika (Forge and Schacht, 2000). Auch Zytostatika wie Cisplatin, haben ototoxische Nebenwirkungen (Alberts, 1995; De Lauretis et al., 1999; Meyer et al., 2001).

Die oben genannten ototoxischen Mittel werden oft in der Hörforschung an Tiermodellen verwendet, um ihre Effekte auf das auditorische System genauer zu untersuchen. Die meisten ototoxischen Chemikalien (z.B. Aminoglykoside) sowie akustisches Trauma schädigen hauptsächlich die äußeren Haarzellen (ÄHZ). Eine selektive Teilschädigung der inneren Haarzellen (IHZ) kann nur bei Chinchillas induziert werden, wenn sie mit dem Zytostatikum Carboplatin (Nachfolgepräparat des Cisplatins) behandelt werden (Hofstetter et al., 1997a,b; Takeno et al., 1994a,b; Trautwein et al., 1996; Wake et al., 1994; Wang et al., 1997).

Der Handelsname von Carboplatin ist Carboplat®. Carboplatin ($C_6H_{12}N_2O_4Pt$) ist ein planarer Platinkomplex mit einem Dicarboxylatchelatring und zwei Aminoliganden in cis-Position. Die klinische Prüfung von Carboplat® wurde 1979 aufgenommen, und seit 1988 ist das Medikament in der Bundesrepublik Deutschland zur Behandlung maligner Tumorerkrankungen, z.B. bei Bronchialkrebs, zugelassen (Bristol Arzneimittel, 1997).

Carboplatin wird bei Menschen alleine oder in Kombination mit anderen Zytostatika bei der Behandlung von Tumorerkrankungen angesetzt.

Der genaue Wirkmechanismus von Carboplatin ist noch nicht umfassend geklärt. Die zytotoxische and antineoplastische Wirkung von Carboplatin beruht sehr wahrscheinlich, wie die anderer platinhaltiger Zytostatika (Cisplatin), auf der Bindung reaktiver Metabolite an die DNA. Als Platinderivat kann Carboplatin nämlich DNA – Einzel- und Doppelstränge über Guanidin-Bindungen quervernetzen. Dabei wirkt es zyklusspezifisch in der G1- und S-Phase des Zellzyklus (Husain et al., 2001). Außerdem ist Carboplatin in der Lage, die Bildung freier Radikale zu induzieren, und die Zelle durch oxidativen Stress zu schädigen (Palma and Aggarwal, 1994). Dabei

werden zytotoxische Stoffe und radikale Sauerstoffspezies aus aktivierten Makrophagen freigesetzt

In klinischen Studien wirkte Carboplatin ototoxisch (MacDonald et al., 1994). Einschränkungen des Hörvermögens im hohen Frequenzbereich (4000-8000 Hz) wurden mit einer Häufigkeit von 15% dokumentiert. Hörstörungen im Frequenzbereich der menschlichen Sprache, traten bei 1% der Patienten auf. Das Hörvermögen im hohen Frequenzbereich kann schon nach einem einzigen Therapiekurs eingeschränkt sein und mit Fortdauer der Behandlung an Schwere zunehmen. Insbesondere bei Kindern sind daher regelmäßig audiometrische Kontrollen erforderlich. Neurologische Störungen wie Geschmacksveränderungen, Geschmacksverlust, Geruchsstörungen und durch Entzündungen des Sehnervs bedingte Sehstörungen (einschließlich Erblindung) wurden bei weniger als 1 % beobachtet (MacDonald et al., 1994).

Das ototoxische Potential von Carboplatin scheint allerdings erheblich geringer zu sein als das von anderen Zytostatika wie Cisplatin (Hidalgo et al., 1993). Die pathologischen Befunde bei Carboplatin-induzierte Ototoxizität sind uneinheitlich. Berichtet wurde über die Schädigung vorwiegend der ÄHZ (Egorin et al., 1984), Hörschwellenabsenkung ohne Haarzellschädigung (Taudy et al., 1992) und bei Chinchillas eine selektive Schädigung der IHZ (Hofstetter et al., 1997a, b; Takeno et al., 1994a, b; Trautwein et al., 1996; Wake et al., 1994; Wang et al., 1997).

Die Ursachen für die selektiv schädigende Wirkung von Carboplatin auf die IHZ in Chinchillas unter Erhalt der ÄHZ sind bisher nicht bekannt.

Hörverluste durch strukturelle Schäden der Haarzellen im Innenohr gelten bei Säugertieren als irreversibel. Eine Regeneration der geschädigten Strukturen konnte bisher nicht nachgewiesen werden (Batts and Raphael, 2007; Kros, 2007; Rubel et al., 1995). Trotz fehlender Haarzellregeneration bei den Säugertieren gibt es Anzeichen für ein funktionelles und strukturelles Erholungspotential nach Innenohrschäden. Es konnten z.B. Reparaturvorgänge an geschädigten aber überlebenden Haarzellen und Stereovilli beobachtet werden (Sobkowicz et al., 1997). Es wurde außerdem berichtet, dass zerstörte synaptische Kontakte zwischen den IHZ und den afferenten Hörnervfasern neu gebildet waren (Puel et al., 1995; Zheng et al., 1997). Auch konnte nach Zerstörung der Haarzellen durch Gentherapie mit *Atoh1*, oder *Hath1* eine Neubildung von Haarzellen und eine funktionelle Erholung des Hörvermögens bei Meerschweinchen nachgewiesen werden, die auf eine Transdifferenzierung von Stützzellen beruht (Kim and Raphael, 2007).

Die selektive Schädigung eines Types der Haarzellen in Tiermodellen wird verwendet, um ihre physiologische Funktion und Bedeutung im Hörsystem zu verstehen. Die selektive Schädigung der ÄHZ resultiert in Erhöhung der Hörschwelle bis zu 60 dB und Verschlechterung (Abnahme) der Frequenz-Selektivität (Dallos and Harris, 1978; Liberman and Kiang, 1978; Ryan and Dallos, 1975). Darüber hinaus wurde beobachtet, dass die Amplitude evozierbarer otoakustischer Emissionen abnimmt oder verloren geht (Dallos and Harris, 1978; Horner et al., 1985; Wake et al., 1996). Diese Befunde stimmen mit der Theorie überein, dass die ÄHZ als „Kochleärer Verstärker“ funktionieren (Dallos et al., 2006; Lu et al., 2006) und dass die otoakustische Emissionen mit dieser Funktion der ÄHZ zusammenhängen (Dallos and Harris, 1978; Trautwein et al., 1996; Wake et al., 1996). Diese Erkenntnisse werden mittlerweile klinisch genutzt, um über die nicht-invasive Messung der otoakustischen Emissionen therapeutisch relevante Hörstörungen, z.B. auch bei Neugeborenen, frühzeitig zu erkennen. Nach einem Teilverlust der IHZ konnte stark verringerte Aktivität der Hörnerv-Fasern, eine Amplituden-Reduktion der Summenaktionpotentiale (CAP, eng. Compound Action Potential) und eine minimale Anhebung der CAP-Schwelle beobachtet werden (Qiu et al., 2000). Mikrofonpotentiale (CM) und Otoakustische Emissionen (DPOAEs) werden durch IHZ-Verlust nicht beeinträchtigt (Trautwein et al., 1996). Die Ableitungen an einzelnen Hörnervfasern an Chinchillas mit IHZ-Verlust zeigten bei gleich gebliebenen Frequenzabstimmungskurven und unveränderten Schwellen eine signifikante Reduktion der Feuer-Rate bei hohen Schalldruckpegeln und eine Reduktion der spontanen Entladungsrate (Wang et al., 1997). Diese Daten könnten so interpretiert werden, dass nach dem Teilverlust der inneren Haarzellen die synaptische Übertragung an den Synapsen zwischen den inneren Haarzellen und dem Hörnerv abgeschwächt wurde.

In zentralen Teilen der Hörbahn konnte nach dem Teilverlust der IHZ eine gewisse funktionelle Erholung beobachtet werden, Übersicht bei (Salvi et al., 2000; Syka, 2002; Wang et al., 2002).

Nach einem Schalltrauma wurde im Inferior Colliculus eine Erhöhung der Amplituden der evozierten Potentiale akut registriert (Salvi et al., 1990). Die Amplituden der evozierten Potentiale im Hörnerv sowie im CN waren dagegen gleichzeitig nach dem Schalltrauma reduziert (Wang et al., 2002). Auch nach dem Verlust von IHZ durch die Behandlung mit Carboplatin konnte bei einem Teil der untersuchten Chinchillas im Inferior Colliculus eine Erhöhung der Potentialamplituden festgestellt werden

(McFadden et al., 1998). Eine weitere Studie zeigte, dass die Amplituden der evozierten Potentiale im Colliculus Inferior nach dem Verlust der IHZ weniger reduziert waren als im Hörnerv. Im auditorischen Kortex waren sie sogar erhöht (Qiu et al., 2000). Für die Erklärung dieser Beobachtungen wurde „Disinhibition“ vorgeschlagen, d.h. die Inhibition wird durch die periphere Schädigung beeinträchtigt oder sogar aufgehoben (Salvi 2000).

Es gibt nur eine einzige Studie, die extrazelluläre Ableitungen der Aktivität von Einzelneuronen aus dem Colliculus Inferior bei Chinchillas nach einem Teilverlust der IHZ durchführte. In dieser Studie von Wake und Mitarbeitern (1996) blieb nach dem Teilverlust der IHZ die tonotope Anordnung der charakteristischen Frequenzen erhalten und die Frequenzantwortkurven behielten ihre Abstimmshäufigkeiten bei, trotz erheblichem Anstieg der Schwellen der evozierten Hirnstammpotentiale (Wake et al., 1996). Dies deutet darauf hin, dass die überlebenden Haarzellen und Hörnervfasern einfache Tonreize noch normal beantworten können.

Zusammenfassend deuten diese Studien nicht nur darauf hin, dass bei selektivem Verlust von IHZ die überlebenden IHZ und Hörnervfasern normal funktionieren. Sie deuten auch darauf hin, dass infolge der peripheren Verluste von inneren Haarzellen und afferenten Hörnervfasern Veränderungen in den Antworteigenschaften der Neurone in der zentralen Hörbahn auftreten, die als Kompensation der reduzierten afferenten Eingangs gedeutet werden können und eventuell auf Veränderungen im Gleichgewicht zwischen Exzitation und Inhibition beruhen. Eine direkte Untersuchung der Veränderungen in den neuronalen exzitatorischen und inhibitorischen Eigenschaften in zentralen Teilen des auditorischen Systems nach einer Innenohrschädigung ist bisher noch nicht durchgeführt worden. Dies ist das Ziel der vorliegenden Arbeit.

5. Fragestellung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Frage, ob nach einer peripheren Schädigung des Innenohres neuronale Veränderungen im auditorischen Mittelhirn (Colliculus Inferior) stattfinden und wie sich nach einem abgeschwächten Signaleingang aus der Cochlea die Interaktion der neuronalen Erregung und der Inhibition verändert. Durch intraperitoneale Injektion von Carboplatin wurde bei Chinchillas gezielt eine selektive Teilschädigung der inneren Haarzellen ausgelöst. Da die Art der Defizite bei der Carboplatin-Behandlung von Chinchillas Ausfällen bei menschlichen auditorischen Neuropathien ähnelt, wird ein ähnlicher morphologischer Hintergrund vermutet

(Macdonald et al., 1994; Salvi et al., 1999). Das Verständnis der Grundlagen kompensatorischer Vorgänge könnte daher neue Möglichkeiten zur Behandlung von Hörschäden eröffnen.

Ein weiterer Punkt ist, dass noch wenig bekannt ist über die Interaktion der erregenden (exzitatorischen) und der hemmenden (inhibitorischen) Antworteigenschaften der Neurone im auditorischen Mittelhirn bei wachen Tieren.

In dieser Arbeit sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- Unterscheiden sich die exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder der Neurone im wachen Zustand von denen unter Narkose?
 - Welche Veränderungen der neuronalen Aktivität im Colliculus Inferior treten nach einer Teilschädigung der inneren Haarzellen auf?
1. Wie ändern sich die exzitatorischen sowie die inhibitorischen Antwortfelder?
 2. Wie ändern sich die Entladungsraten der Neurone im ICc?
 3. Wie ändert sich die tonotope Representation der charakteristischen Frequenzen?
- Ziel ist es ferner zu überprüfen ob die beobachteten Veränderungen als kompensatorische Vorgänge im ICc verstanden werden können.

Material und Methoden

1. Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurden Chinchillas (*Chinchilla laniger*) als Versuchstiere verwendet. Sie werden wie folgt in die Systematik eingeordnet:

Klasse Mammalia,

Ordnung: Rodentia, (Nagetiere)

Familie: Chinchillidae (Chinchillas)

Gattung: Eigentliche Chinchilla (Chinchilla).

Art: chinchilla laniger (Langschwanz-Chinchilla)



Chinchillas sind nacht- und dämmerungsaktive Nagetiere. In freier Natur kommen sie nur noch selten im Küstengebirge von Nord- und Mittelchile vor (Jeffrey and Jenkins, 1992).

Der Hörbereich der Chinchillas ist weitgehend identisch mit dem des Menschen. Daher ist es auch für Untersuchungen am auditorischen System geeignet, mit klinischer Relevanz für die Menschen. Der eigentliche Grund für die Wahl dieses Tieres in der vorliegenden Arbeit ist aber die Empfindlichkeit seiner inneren Haarzellen für das Antitumor-Medikament Carboplatin.

Für die Durchführung der vorliegenden Untersuchung wurden 6 gesunde männliche Versuchstiere verwendet, die chronisch im wachen Zustand, über einen Zeitraum von ca. 5 Monaten, in 35-40 Sitzungen untersucht wurden.

Für die histologische Kontrolle der Cochleogramme wurden zwei weitere Tiere benötigt. Das Körpergewicht lag zwischen 400 und 500 g, das Alter zwischen 5 und 7 Monaten. Die Chinchillas wurden über einen Pelzzuchtbetrieb (Fachhandel Gehrling GbR), mit der Erlaubnis vom Regierungspräsidium Darmstadt, bezogen, bzw. selbst gezüchtet.

Während der Versuchsperiode (3-5 Monate) wurden die Tiere in geeigneten Käfigen aus Plexiglas getrennt gehalten.

Alle Experimente wurden unter Einhaltung der europäischen und deutschen Richtlinien für die Versorgung und Behandlung von Labortieren durchgeführt. Die Versuchsprotokolle wurden vom Regierungspräsidium Darmstadt genehmigt.

2. Narkose

Vor der Operation wurden die Tiere narkotisiert. Die Narkosemischung bestand aus zwei Wirkstoffen: Ketamin (Ketavet®, Pharmacia & Upjohn, Ketaminhydrochlorid 100 mg/ml) und Xylazin (Rompun®, Bayer Vital, Xylazinhydrochlorid 20 mg/ml). Zu dieser Mischung wurde Atropin (Atropinsulfat® 0,5 mg, BRAUN, Melsungen AG) zugegeben. Atropin, ein Parasympatholytikum, verhindert die Schleim- und Speichelproduktion und dadurch auch die Erstickungsgefahr, z.B. durch Verschleimung der Bronchien.

Die Dosierung der Wirkstoffe entspricht mit 15 mg Ketamin, 1 mg Xylazin und 80 µg Atropin pro 1 kg Körpergewicht den Forderungen der Verordnung zur Betäubung von Versuchstieren (Tierschutzgesetz: § 9 Abs.2 Nr.4).

Die Initialdosis führte in der Regel zu einer einstündigen Narkose. Die Narkosetiefe wurde regelmäßig während der Operation durch den Fußreflex (durch Kneifen mit einer stumpfen Pinzette in die Haut zwischen den Zehen) kontrolliert. Um das Tier länger in Narkose zu halten, wurde zusätzlich jeweils nach ca. 50 Minuten ein Drittel der Initialdosis intramuskulär (i.m.) nachgespritzt. Nach Angaben des Herstellers hat Ketamin eine antagonistische Wirkung am Glutamat-NMDA-Rezeptorkomplex. Ketamin ist ein in Endhirn und Zwischenhirn angreifendes Hypnoanalgetikum, das die Hirnrinde (Kortex) und Teile der Sehhügelregion (Thalamus) lähmt, aber den Hirnstamm nicht beeinträchtigt. Es beeinflusst außerdem das extrapyramidale System. Eine Hemmung der sensiblen Reizleitung im Thalamus verursacht Analgesie (Pharmacia & Upjohn, 2003). Xylazin wirkt als zentraler und peripherer Alpha-2-Adrenozeptor-Agonist. Der Wirkstoff hat sedative und analgetische Eigenschaften, wirkt aber zusätzlich als Muskelrelaxans. Ketamin/Xylazin-Mischungen führen bei Gerbils und Hamstern laut einer Studie (Field and Sibold, 1999) zu einer guten Muskelentspannung und einer verlangsamten Aufwachphase. Eine ähnliche Wirkung haben wir auch bei Chinchillas beobachtet.

Da die Tiere während der Narkose die Augen nicht schließen (Nebenwirkung von Ketamin), wurden die Augen mit Augensalbe (0,6ml Ophtiolen EDO, Artelac, Dr. Mann Pharma) abgedeckt, um ein Austrocknen zu verhindern.

Um ein Auskühlen der Tiere während der Operation zu vermeiden, wurde die Körpertemperatur durch eine Heizdecke (Eigenbau¹, regulierbar mittels Gleichstromquelle) stabil zwischen 37°C–39°C gehalten. Die Kontrolle der Körpertemperatur erfolgte über ein digitales Thermometer, dessen Messfühler zwischen Heizdecke und Bauchseite des Tieres platziert war. Nach Ende der Operation wurde das Versuchstier bis zum völligen Erwachen unter eine Wärmelampe in einen Kasten gelegt.

3. Präparation

Für die chronischen Ableitungen im Colliculus Inferior an wachen Chinchillas unter stereotaktischen Bedingungen, wurde über eine Schädeltrepanation ein Zugang zum Colliculus Inferior hergestellt. Eine verschließbare chronische Kammer und eine Referenznadel wurden implantiert. Zum Fixieren des Kopfes der Tiere in einem stereotaktischen Halter während der elektrophysiologischen Messungen wurde ein Vierkantstäbchen aus Aluminium (Horn) auf dem Schädeldach befestigt (Abbildung 8). Die Operationstechnik wurde von Biebel (1997) etabliert und mit Hilfe von Herrn PD. Dr. Bernhard Gaese weiter verbessert.

Vorgehensweise der Operation war wie folgt:

Die Tiere wurden zunächst narkotisiert und am Scheitel und am Nacken rasiert. Während der Operation wurde das Elektrokardiogramm (EKG) gemessen. Die EKG-Elektroden wurden subkutan an verschiedenen Stellen am Körper platziert (meistens an der rechten Schulter und am linken Oberschenkel).

Der Kopf wurde in einem stereotaktischen Rahmen mittels Ohrstecker und Mundhalterung über die Schneidezähne ausgerichtet und zentriert. Die rasierte Kopfhaut wurde dann mit einem Lokalanästhetikum (Xylocain[®], Astra Zeneca) eingesprüht und von rostral nach caudal aufgeschnitten. Ungefähr in Höhe der Ohren wurde senkrecht dazu ebenfalls aufgeschnitten und die Hautlappen mit Gewichtsklammern zur Seite gelegt. Mittels eines Schabers wurden nun Reste von Muskelfasern und die Knochenhaut von der Schädeldecke so weit entfernt, dass die Kunststoffkammer (Durchmesser 14 mm) und das Horn auf den Schädelknochen aufgebracht werden konnten (siehe unten).

Die Schädeldecke wurde dann mit 20%iger Orthophosphorsäure (Gluma etch gel, Heraeus Kulzer) für 20 Sekunden geätzt. Um eine stabile Unterlage für die Fixierung des Hornes sowie einer verschließbaren Kammer zu haben, wurde die

¹ Elektronikwerkstatt des Instituts für Physiologie II

Schädeloberfläche mit drei unterschiedlichen Lösungen (Dentin Primer Denthesive II A and B, Adhesive Bond II, Charisma, Heraeus Kulzer) beschichtet, die durch UV-Bestrahlung (Superlite Halogen, M+W Dental) hart wurden.

Anschließend wurde 11 mm caudal von der Lambda-Naht und 2 mm lateral von der Mittellinie zwischen den Bullae mit einem Zahnarztbohrer eine kreisförmige Rinne in die Schädeldecke über den linken IC gefräst. Dabei wurde besonderes darauf geachtet, die darunter liegende Dura nicht zu verletzen. Die Knochen-Scheibe mit einem Durchmesser von ca. 5 mm konnte dann abgenommen werden. Die so entstandene Öffnung wurde nach caudal bis zum Blutsinus an der Grenze zwischen Kortex und Cerebellum und lateral bis dicht an den Rand der Bulla erweitert. Dabei entstehende Blutungen aus Knochengefäßen wurden mit einem Thermokauter oder Knochenwachs gestillt.

Anschließend wurden zwei kleine Löcher durch den Schädel gebohrt, seitlich rechts bei Lambda und hinten über dem Cerebellum. Darin wurden zwei Goldelektroden (Goodfellow, Reinheit 99.99%, Konduktordurchmesser 0.25mm, Isolation 0.023 mm) mit zu einer Kugel verschmolzenen Enden eingeführt. Die Elektroden wurden mit Gewebekleber (Histoacryl[®], Braun-Melsungen) am Knochen gesichert und an zwei Miniaturstecker gelötet, die am Schädelknochen mit Histoacryl[®] befestigt worden waren. Die Impedanz der Elektroden, die zur Messung der auditorischen Hirnstammpotentiale (ABR) verwendet wurden, wurde gleich nach der Implantation geprüft und lag bei erfolgreicher Implantation zwischen 10 und 30 kOhm.

Eine runde, durch einen Deckel mit Gewinde verschließbare Kunststoffkammer wurde aufgesetzt und gegebenenfalls angepasst (Durchmesser: außen 14 mm, innen 11 mm, Höhe ca. 6 mm, Werkstatt des Instituts). Sie ermöglichte während der Versuche den permanenten Zugang zum freiliegenden Gehirn der Versuchstiere. Außerdem wurde die Spitze einer kleinen Insektennadel am rostralen Rand des gebohrten Loches (innerhalb der Kammer) mit Histoacryl[®] befestigt. Der Abstand zwischen der Spitze der Nadel und Lambda wurde gemessen. Diese Nadelspitze wurde als Referenzpunkt für die Orientierung bei den elektrophysiologischen Ableitungen im ICc verwendet. Ein Horn (ein quadratischer Aluminiumstab, Länge 4-5 cm, Seitenlänge 5 mm, an einem Ende im Winkel von 45° abgeschrägt), zum Fixieren der Versuchstiere im Versuchsaufbau, wurde in dem stereotaktischen Rahmen über dem Schädelknochen zentriert. Dazu diente eine Kopfhalterung im stereotaktischen Gerät, die den Stab auch später während der Experimente in einem Winkel von 45° geneigt hielt.

Danach wurden die indifferenten Elektroden, die Kammer und das Horn mit Zahnzement (Paladur[®], Heraeus Kulzer) auf der Schädeloberfläche fixiert. Die Kammer konnte mit einem Deckel auf und zugeschraubt werden. Anschließend wurde die Haut um das Implantat bündig abgetrennt und die Wundränder mit Histoacryl[®] verschlossen und mit einer antibakteriellen Salbe (Betasisodona, Polyvidon-Iodsalbe, Mundpharma GmbH, Limburg) versorgt. Das Tier wurde aus der Apparatur genommen und in einem vorbereiteten Einzelkäfig gesetzt. Im Allgemeinen wurden die Tiere nach etwa einer bis zwei Stunden wieder wach. Kurz vor dem Aufwachen bekamen die Tiere Schmerzmittel Rimadyl[®] (Carprofen, 40 mg/kg Körpergewicht, Pfizer, Karlsruhe) i.m. injiziert.

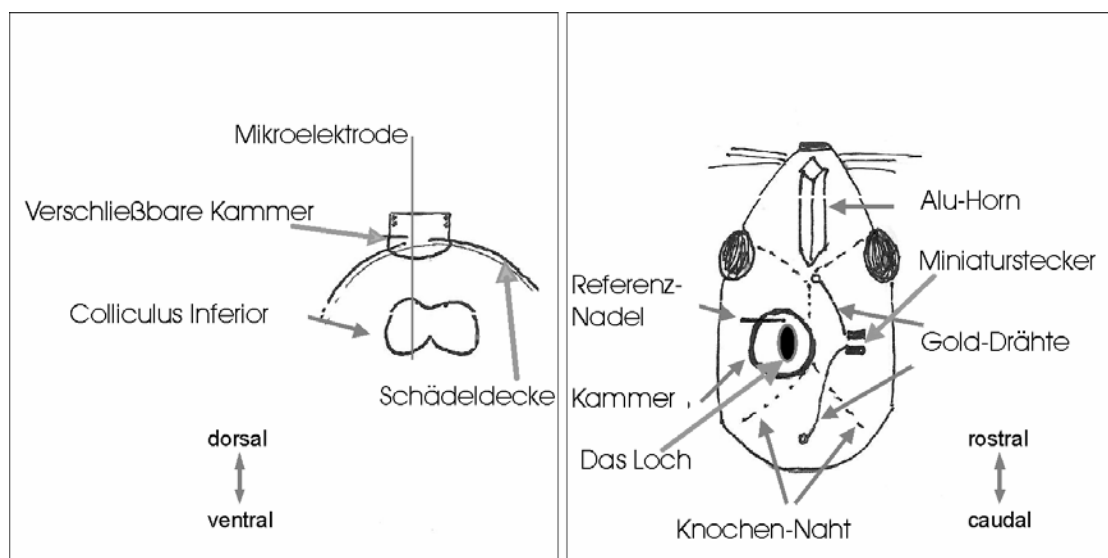


Abbildung 8: Schematisierte Darstellung der Lage der verschließbaren Kammer, der Referenznadel, der ABR-Elektroden und des Befestigungshorns der chronisch operierten Chinchillas.

4. Elektrophysiologische Messmethoden

Um das Hörvermögen der Versuchstiere vor der Operation und während der Versuche zu überprüfen, wurden schallevozierte Hirnstammpotentiale (eng. Auditory Brainstem Responses, ABR) über die zwei implantierten Elektroden gemessen.

Die elektrophysiologischen Ableitungen im ICc wurden mit Hilfe von kommerziell erhältlichen niederohmigen Wolframdraht-Mikroelektroden (1 M Ω , Micro Probe Inc., Potomoc, MD USA) durchgeführt. Elektroden mit Widerständen unter 2 M Ω (kleiner Widerstand korreliert mit einem großen Spitzendurchmesser) nehmen in elektrophysiologischen Ableitungen häufig die Aktionspotentiale von mehreren Zellen gleichzeitig auf (Multiunit-Elektroden). Das ist natürlich ein Nachteil, falls die

benachbarten Zellen unterschiedliche Antwortheigenschaften haben, da eine Charakterisierung der Zellen dadurch gestört wird. Benutzt man Elektroden mit höheren Widerständen, lassen sich Ableitungen von Einzelzellen leichter durchführen. Allerdings sind die Ableitungen dann bei wachen Tieren sehr instabil, sodass die Aufnahme der Aktivität der Neurone über längere Zeit unmöglich wird.

5. Versuchsdurchführung und akustische Reizung

Die Versuche wurden in einer elektrisch und akustisch isolierten Kammer (Eigenbau²) durchgeführt. Die Kammer bestand aus einem doppelwandigen Gehäuse, von innen mit mehreren Schichten von schalldämmendem Material ausgekleidet. Das Gehäuse stand auf Schwingmetallpuffern auf einem Rahmen vom Boden abgehoben, was die Übertragung der Bodenschwingungen zum Gehäuse minderte. So war maximale Schallisolation des Kammerinneren von Umgebungsgeräuschen gewährleistet. Aus der Kammer konnte ein Schiebeboden ausgefahren werden. Auf dem Schiebeboden befand sich die Apparatur: Die stereotaktische Halterung, der Mikromanipulator und der Lautsprecher. Über einen Haltebolzen in der stereotaktischen Halterung konnte das Tier immer in derselben Position in dem Aufbau platziert werden. War das Tier durch das Horn befestigt, konnte die Elektrode mit Hilfe eines handgetriebenen Mikromanipulators in die gewählte Position über den IC (Die Koordinaten bezogen auf die Referenzspitze waren ablesbar) platziert werden. Der weitere Elektrodenvortrieb in das Gehirn wurde über einen Schrittmotor (PM 10-1, Maerzhaeuser) vorgenommen. Die Tiefenposition der Ableitelektrode konnte mit einer Genauigkeit von 10 µm abgelesen werden. Als Nullpunkt wurde immer die Referenzspitze genutzt. Der Vortrieb der Elektrode wurde bis zu einer Tiefe von 1000 µm unter der Kortexoberfläche unter Sichtkontrolle (Binokular) durchgeführt, um vor allem um sicherzustellen, dass sich die Elektrode beim Einführen durch die Dura ins Gehirn nicht verbiegt. Nach dem Anschließen der Elektroden an dem Vorverstärker wurde der Schiebeboden in die Kammer gefahren, die Tür geschlossen und die akustische Stimulation gestartet.

Zum Auffinden von akustisch evozierter Aktivität wurden während des Elektrodenvortriebs Rauschsignale (Rauschgenerator: B&K Typ 1405) oder Frequenz-Sweeps (Escort frequency generator EGC3230) mit Schalldruckpegeln zwischen ca. 40 und 60 dB SPL präsentiert. Wurde eine akustische Reaktion registriert, so wurden monaural Sinus-töne mit einer variablen Frequenz und einer maximalen Lautstärke von

² Mechanikwerkstatt des Instituts für Physiologie II

60 dB SPL präsentiert um die charakteristische Frequenz der Neurone im Ableitbereich der Elektrode zu bestimmen. Für weitere umfassende Charakterisierungen der neuronalen Eigenschaften wurden weitere Stimulus-Paradigmen verwendet, die unten unter Auswertungsverfahren ausführlich erklärt sind. Die akustischen Reize wurden mit selbstgeschriebenem Programm generiert (PD. Dr. M. Müller, Prof. Dr. J. Smolders). In diesem Programm konnten Reintöne mit einer Frequenz von 100 Hz bis 32 kHz aus einer Frequenz-Intensitäts-Matrix ausgewählt werden.

Die Präsentation der akustischen Signale erfolgte bei der Freifeldbeschallung über einen großen Lautsprecher (Manger, Typ W05/1.2.16), der auf der rechten Seite (Winkel 90°, Entfernung 40 cm) des Versuchstieres positioniert war.

Als Reizgenerator diente außerdem ein Synthesizer vom Typ Rockland 5100, dessen Frequenz sowohl manuell als auch über den Laborrechner angesteuert werden konnte.

Für die akustische Stimulation wurden Ton-pulse im Laborrechner digital generiert und anschließend über eine Digital-Analog-Wandlerkarte (National Instrument PIC-MIO-16E) in Analogsignale umgewandelt und über einen rechnergesteuerten Verstärker/Abschwächer dem Lautsprecher in der Akustikkammer zugeführt. Die Stimuli wurden zur visuellen Kontrolle auf einem Oszillographen dargestellt.

Die vom Rechner generierten Töne mussten, um bestimmten Schalldruckpegel zu erreichen, durch eine akustische Anlage abgeschwächt werden. Zuerst durchlaufen die Töne eine Abschwächung (von 1 bis zu 79 dB) in Abschwächer 1 (Abbildung 9). Anschließend werden die Töne (in Linear Amp 1) verstärkt. Zum Schluss werden die Töne noch einmal abgeschwächt (20 oder 40 dB). Durch dieses Verfahren kann das Signal/Rausch Verhältnis über einen Gesamtbereich von 119 dB verbessert werden.

Der verwendete Lautsprecher (Manger, Typ W05/1.2.16) produzierte im Freifeld, gemessen im Außenohr des Versuchstieres, einen maximalen Schalldruck von 105 ± 5 dB SPL im Frequenzbereich von 60 Hz bis 32 kHz. Vor jeder akustischen Stimulation wurde eine Messung der Schallübertragung durchgeführt. Eine Mikrofonsonde (Knowles Electronics, Typ FG-3329) wurde nahe dem Gehörgang positioniert, zur Messung des Schalldruckpegels vor dem Ohr.

Die tatsächlich angewandte Maximalintensität bei der akustischen Stimulation betrug 90 dB SPL. Bei dieser Intensität betrug die gesamte harmonische Verzerrung „total harmonic distortion“ der akustischen Signale -45 ± 5 dB. Daher waren die nichtlinearen Anteile der akustischen Signale bei hoher Schallintensität gering.

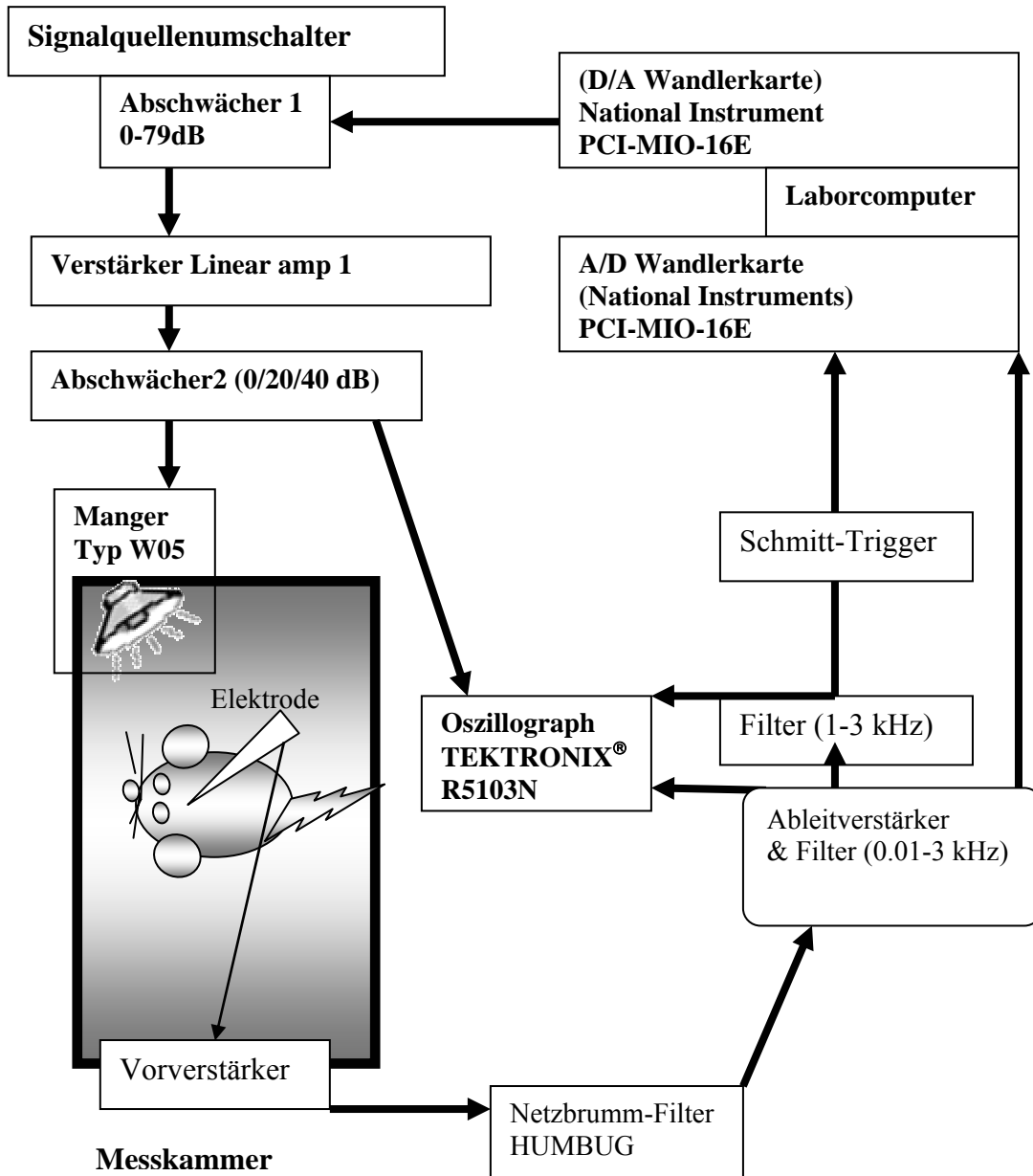


Abbildung.9 Schematisierter Versuchsaufbau zur Beschallung der Versuchstiere und zur elektrophysiologischen Ableitung und zur Kontrolle der akustischen Stimulation. Der Rahmen symbolisiert die schallgedämmte und elektrisch isolierte Kammer.

6. Datengewinnung

Für die Datengewinnung in der vorliegenden Arbeit wurden extrazelluläre Mehrzell- und Einzelzelleableitungen durchgeführt. Dabei wurden Spannungsdifferenzen im Millivoltbereich zwischen der Ableitelektrode und der indifferenten Elektrode gemessen. Die elektrischen Signale der Ableitelektrode wurden im Vorverstärker 100fach verstärkt und anschließend in einem Frequenzbereich von 10-3300 Hz bandpass-gefiltert (BA1-SF, npi electronic, Tamm, Deutschland), in einen 50/60 Hz Störsignalfilter (HUMBUG, Quest Scientifi, Canada) gespeist, über die A/D Wandlerkarte (PCI-MIO-16E-1, National Instruments, Austin, TX, USA) mit einer Samplerate von 25 kHz in den Computer eingelesen und gespeichert für eine spätere Offline-Analyse.

Parallel dazu wurden die elektrischen Signale durch den Differenzverstärker in einem Oszillograph (Tektronix R5102N) im Frequenzbereich 1-10 kHz bandpass-gefiltert.

Über einen Komparator wurden die Aktionspotentiale in digitale TTL-Pulse (Dauer 0.5 ms) umgewandelt und über die A/D Wandlerkarte für die Online-Analyse in den Computer eingelesen.

Hirnstammpotentiale (ABRs) wurden über die implantierten Elektroden und einen Differenzverstärker gemessen. Die Signale, im Mikrovoltbereich, wurden im Frequenzbereich 100-3000 Hz bandpass-gefiltert. Damit die ABRs im Rauschen sichtbar werden, wurde das Verfahren der reizsynchronen Mittelung angewandt. Das Rauschen in den einzelnen Antworten (sogenannten Sweeps) addiert sich durch die reizsynchronen Mittelung von N Sweeps wie Wurzel (N), das Signal selbst aber wie (N), somit verbessert sich das Signal/Rausch-Verhältnis um den Faktor N/\sqrt{N} und damit um den Faktor \sqrt{N} . In der Regel waren 512 Mittlungen notwendig, um eine deutliche ABR-Welle darstellen zu können.

Um die Mikrofonpotentiale (CM) von der ABR-Antwort herauszufiltern, wurde ein Verfahren in das Messprogramm einprogrammiert, mit dem das Signal zweimal gemessen wird, wobei bei der zweiten Messung die Antwort auf eine invertierte Kopie des ersten Reizes gemessen wird. Anschließend werden die zwei Antworten auf den ersten Reiz und auf den zweiten umgepolten Reiz addiert. Dadurch löschen sich die CM-Potentiale aus und die neuronale Antworten addieren sich.

7. Auswerteverfahren

In diesem Abschnitt werden die elektrophysiologischen Messungen sowie die Auswert- und Darstellungsmöglichkeiten der neuronalen Antworteigenschaften beschrieben.

Die Messprogramme sind selbstgeschrieben (PD. Dr. M. Müller, Prof. Dr. J. Smolders) In der Programmierumgebung CVI (National Instruments, Austin, TX, USA) geschrieben. Die Programme für die Auswertung sind in MATLAB (The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) geschrieben und wurden von Herrn Dr. Ulrich Biebel bereitgestellt.

7.1 Messung der ABR- Hörschwellenkurve

Die akustisch evozierten Hirnstammpotentiale (ABRs) lassen sich mit Oberflächenelektroden am Schädel ableiten. Ihre Generatoren sind entlang der Hörbahn zwischen dem Beginn des Hörnerven an der Cochlea und dem Colliculus inferior zu finden. Sie bieten eine Möglichkeit, Aussagen über Prozesse zu erhalten, welche in den frühen Stationen entlang der Hörbahn stattfinden.

An jedem Versuchstag wurde zuerst die ABR-Hörschwellenkurve gemessen. Die Stimuli (Tone-pulse, Länge 10 ms, Auf- und Abstiegflanke jeweils 1 ms, Aufnahmezeitfenster 20 ms, Stimulus-Intervall 50 ms, Zahl der Wiederholungen 512, Wiederholrate 20 Hz) wurden dabei immer zuerst sehr leise (0 dB SPL) angeboten, dann immer höher in 5 dB Schritten bis eine Antwort (Antwort-Schwelle) beobachtet werden konnte (Abbildung 10). Die Antwort-Schwelle wurde dann bei verschiedenen Frequenzen (0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 und 16 kHz) bestimmt und diente der Erstellung der ABR-Hörschwellenkurve.

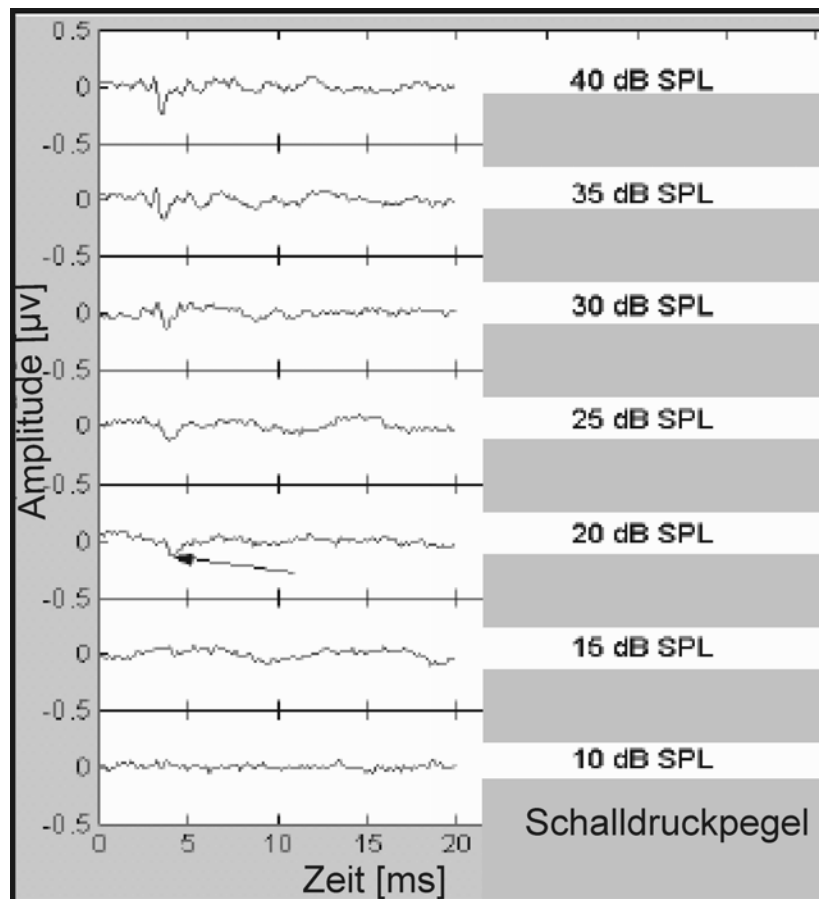


Abbildung 10: Bestimmung der ABR-Schwelle in 5 dB Schritten bei 4 kHz, der angebotene Ton ist 10 ms lang, Aufnahmedauer 20 ms, Pfeil zeigt die ABR-Schwelle.

7.2 Isolierung der Aktivität einzelner Neurone aus der neuronalen Ableitung

Aus der neuronalen Aktivität, gemessen mit den niederohmigen Wolframdraht-Elektroden (1-2 MOhm, Rohdaten) wurden die Aktionspotentiale über einen einstellbaren Spannungskomparator zur sofortigen Verarbeitung (online) selektiert. Die ausgewählten Aktionspotentiale sowie die Rohdaten wurden getrennt gespeichert, so dass eine spätere (offline) Filterung und Neuberechnung der Schwelle bei den Rohdaten ermöglicht wurde. Offline wurden dann Einzellenz-Antworten aus den Mehrzell-Antworten extrahiert. Dazu wurde in MATLAB eine Nachbearbeitung zur Sortierung (Zuordnung) der Antworten der Mehrzellantworten zu Einzelzellen durchgeführt (Programm geschrieben von Dr. U. Biebel). Die Aktionspotentiale wurden dabei nach ihren Wellenformen sowie ihren Amplituden zu verschiedenen Clustern aufgeteilt und separat in mehrere Dateien gespeichert. In dieser Art bearbeitete Dateien konnten dann getrennt ausgewertet werden.

7.3 Einton-Stimulation

Für die Messung der exzitatorischen Antwortfelder der Neurone im ICc wurde eine Beschallungskombination aus 16 verschiedenen Schalldruckpegeln und 21 verschiedenen Frequenzen, meistens 2 Oktaven über und 4 Oktaven unter der charakteristischen Frequenz (CF) präsentiert.

Die unterschiedlichen Schalldruckpegel (-20 dB SPL bis +90 dB SPL) wurden bei jeder Frequenz randomisiert präsentiert. Die Länge des Stimulus (Sinuston) war 65 ms mit einer 5 ms Anstieg- und Abfall-Flanke. Das Intervall zwischen den Stimuli war mindestens 135 ms lang. Die Aufnahmezeit war 200 ms.



Abbildung 11A: Schematische Darstellung der Länge der Einton-Stimulation.

Die Spontanaktivität (SR) der Einzel-Zellen (SU, eng. Single Unit) bzw. die summierte Spontanaktivität (SSR) der Mehrzellen (MU, eng. Multiunit) wurde als Medianwert der Spikezahlen bei den niedrigsten Schalldruckpegeln (-20 dB SPL) unterhalb der Aktivierungs- oder Hemmschwelle der Neurone berechnet.

Zur Kalkulation des Schwellenkriteriums für die exzitatorischen Antwortfelder diene eine Änderung (Zu- oder Abnahme) von 10% der Differenz zwischen maximaler Entladungsrate und dem vorher berechneten Medianwert der SR oder SSR.

Abbildung 11 zeigt ein exemplarisches Beispiel eines exzitatorischen Antwortfeldes eines Neurons im ICc. In der Darstellung ist jeder Anstieg der Spikeraten, in Prozent, über den Medianwert der SR (Exzitation) durch Graustufen-Kodierung repräsentiert. Dabei symbolisiert die Farbe Weiß alle Werte \leq SR-Medianwert, die Farbe Schwarz symbolisiert dagegen die maximale Entladungsrate.

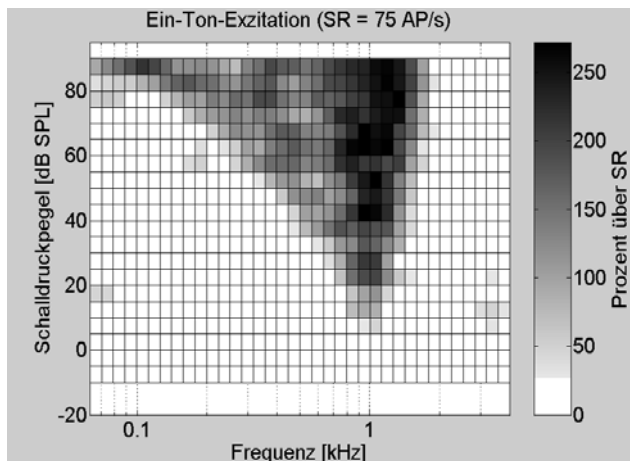


Abbildung 11B: Exzitatorisches Antwortfeld eines Neurons im ICc. Die Exzitation in schwarz ist als Erhöhung über die Spontanaktivität (weiß) dargestellt.

Aus den exzitatorischen Antwortfeldern wurden folgende Parameter bestimmt:

1. **Die charakteristische Frequenz (CF)**, ist die Frequenz, auf die die Neurone bei dem niedrigsten Schalldruckpegel mit einer Erhöhung ihrer Entladungsraten antworten.
2. **Die CF-Schwelle**. Dies ist der niedrigste Schalldruckpegel, bei dem die Neurone auf den Einzelton bei ihrer CF antworten. Sie wurde als Zunahme von 10% der Differenz zwischen maximaler Entladungsrate des Neurons und dem Medianwert der Spontanaktivität definiert.
3. **Die Flankensteigung** der exzitatorischen Antwortfelder bei den niedrigen Frequenzen (low frequency slope) sowie bei den hohen Frequenzen (high frequency slope). Sie wurde zwischen 10 dB und 40 dB über der CF-Schwelle gemessen.
4. **Die Q10dB, Q25dB und Q40dB-Werte**. Der Q(X)dB-Wert ist die CF (Hz) geteilt durch die Bandbreite (Hz) der exzitatorischen Antwortfelder bei einem Schalldruckpegel (X) über der CF-Schwelle.

7.4 Zweiton-Stimulation

Die oben beschriebene Eintone-Stimulation erlaubt die Erfassung der neuronalen Inhibition nur bei Neuronen mit hoher Spontanaktivität. Aus diesem Grund wurde für die Bestimmung inhibitorischer Antwortfelder bei allen Neuronen unabhängig von ihrer spontanen Aktivität die Zweiton-Stimulation angewandt. Die Zweiton-Stimulation ermöglicht eine gleichzeitige Aktivierung der exzitatorischen und inhibitorischen

Afferenzen. In dieser Reizsituation wurde zusätzlich zu der Einton-Stimulation ein weiterer Ton bei der CF des Neurons mit einem definierten Schalldruckpegel (in der Regel 10-20 dB über der CF-Schwelle) geboten. Der CF-Ton induziert dabei eine ständige Aktivierung des Neurons und gilt als Standardsignal. Die begleitende variierte Stimulation ist das Testsignal und führt in Abhängigkeit von den präsentierten Frequenz/Schalldruckpegel-Paaren entweder zur Reduktion (Inhibition) oder zur Verstärkung (Faszilitation) der durch den CF-Ton evozierten Aktivität.

Da die Antworten der meisten Neurone im ICc phasische und tonische Komponente enthalten und damit man die phasischen Antwortteile auf beide Töne auseinander halten kann, wurde der CF-Ton 5 ms später begonnen, endete aber gleichzeitig mit dem Ton der Einton-Stimulation so wie es in der Abbildung unten dargestellt ist.

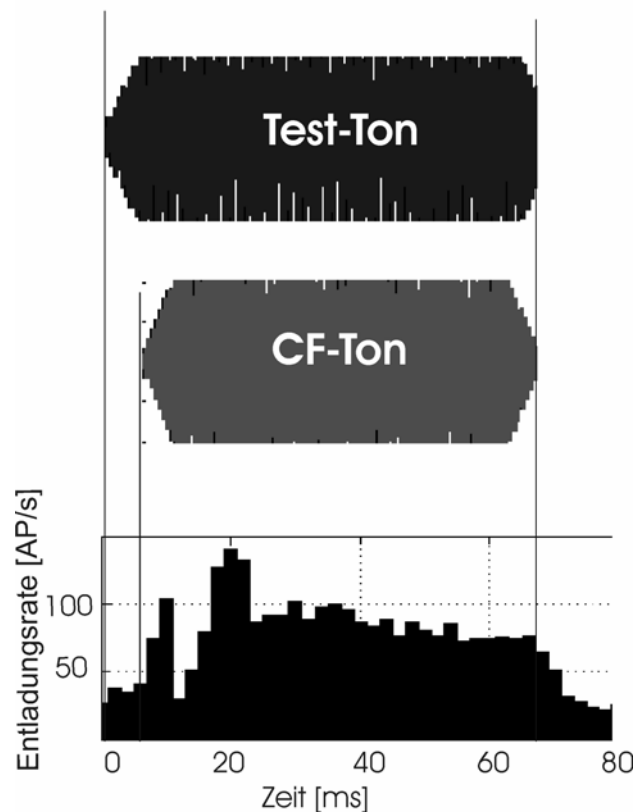


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Zweiton-Stimulation (Test-Ton und CF-Ton). Die neuronale Antwort auf diese Stimulation ist unten als PSTH dargestellt.

Für die Bestimmung und Darstellung der inhibitorischen Antwortfelder wurde zuerst die evozierte Aktivität der Einzel- bzw. der Mehrzellen aus den Spikezahlen bei dem überschwelligem CF-Ton gemessen. Dieser Wert galt als die Basisrate (BR). Die Entladungsrates für jedes Frequenz/Schalldruckpegel-Paar (Test-Ton oder Maskierer)

wurde dann gemessen. Von einer Inhibition war immer auszugehen, wenn die Entladungsrate bei der Präsentation eines Test-Tons unter die BR reduziert war.

Die Abbildung 13 zeigt ein Beispiel eines inhibitorischen Antwortfeldes eines Neurons im ICc. In der Darstellung ist jede Abnahme der Spikeraten, in Prozent, unter den Medianwert der BR (Inhibition) durch Graustufen-Kodierung repräsentiert. Dabei symbolisiert die Farbe Schwarz alle Werte \geq BR, die Farbe Weiß dagegen die 100% Reduktion der Entladungsrate unter der BR.

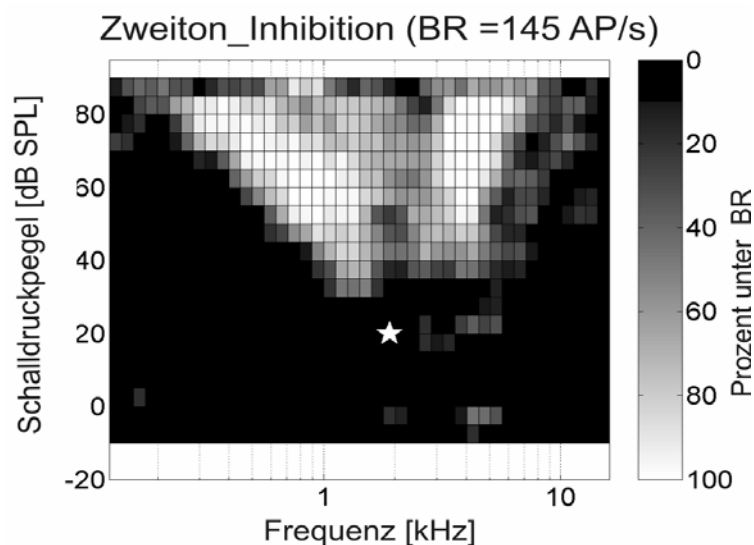


Abbildung 13: Inhibitorisches Antwortfeld eines Neurons im ICc. Die Inhibition in weiß ist als Abnahme unter die Basisrate (Schwarz) dargestellt. Das Sternchen im Bild zeigt an, wo der überschwellige CF-Ton liegt.

7.5 Intensitätskennlinien

A. Intensitätskennlinien bei der charakteristischen Frequenz (CF)

Für die Messung der Aktivierungsstärke bei der CF der Neurone in Abhängigkeit von dem Schalldruckpegel des Stimulus (eng. discharge rate level function) wurde ein 65 ms langer Sinuston mit einem Stimulus-Interval von 150 ms eingesetzt. Bei dieser Messung erfolgte die Reizung (allerdings nur bei der CF) bei unterschiedlichen Intensitätsstufen (-15 dB SPL bis +90 dB SPL in 3 dB Schritten). Die Stimuli wurden mit 25 Wiederholungen präsentiert. Die Anstieg- und Abfall-Flanke des Reizes betrug hier 1 ms.

Diese Messung ermöglicht, aufgrund der Vielzahl der Wiederholungen, weitere Auswertemöglichkeiten der neuronalen Antworteigenschaften, die mit der üblichen Einton-Stimulation (1-3 Wiederholungen) schlecht anzuwenden sind, wie z.B.:

- Die genaue Bestimmung der CF-Schwelle.
- Die Erstellung eines PSTHs (Peri-Stimulus-Time Histogramms) bei jedem verwendeten Schalldruckpegel, mit dem dann die zeitlichen Antworteigenschaften der Neurone während und nach ihrer Stimulation untersucht werden können.
- Die vergleichende Auswertung der lokalen evozierten Potentiale, die mit derselben Elektrode und an der selben Stelle im ICc unter passenden Filtereinstellungen auch mit aufgenommen werden können.

Die neuronalen Intensitätskennlinien sind (Aitkin, 1991; Heil et al., 1994; Palombi and Caspary, 1996b) in drei Typen klassifiziert worden:

1. Monotone Kennlinien: monotone Erhöhung der Entladungsrate mit steigendem Lautstärkepegel (Abbildung 14A).
2. Sättigende Kennlinien: anfängliche Erhöhung der Entladungsrate bis zu einem bestimmten Lautstärkepegel, ab dem dann keine erhöhte Entladung mehr registriert werden kann (Sättigung, (Abbildung 14B).
3. Nichtmonotone Kennlinien: anfängliche Erhöhung der Entladungsrate bis zu einem bestimmten Lautstärkepegel, ab dem dann eine Reduktion eintritt (Abbildung 14C). In einigen Fällen kann eine starke Reduktion auftreten, so dass die Entladungsrate bei den hohen Schalldruckpegeln auf Werte unter die Spontanentladungsrate sinkt.

Wir nehmen an, dass die Reduktion der Entladungsraten bei den nichtmonotonen Kennlinien nach Erreichen eines Maximums auf inhibitorische Einflüsse zurückzuführen ist, wobei der Grad dieser Reduktion von der Stärke der Inhibition abhängt.

Für die Bestimmung des Grades der Reduktion nach dem Maximum und somit der Stärke der Inhibition können zwei Parameter genutzt werden (Heil et al., 1994; Irvine and Gago, 1990):

1. **Die prozentuale Reduktion vom Maximum (%)**, definiert als die Differenz zwischen der maximalen Entladungsrate bei einem bestimmten Schalldruckpegel und der minimalen Entladungsrate bei einem höheren Schalldruckpegel relativ zu der maximalen Entladungsrate in Prozent (Abbildung 14D).

Die Intensitätskennlinien wurden nach den Werten der prozentualen Reduktion vom Maximum so definiert, dass solche ohne Reduktion (0%) monoton sind, und dass Kennlinien mit Reduktionswerten zwischen 0 und 10% sättigend sind. Kennlinien mit einer über 10%iger Reduktion vom Maximum werden dagegen als Nichtmonoton definiert.

2. **Die negative Steigung der Reduktion vom Maximum (%/dB)**, gemessen zwischen der maximalen Entladungsrate bei einem bestimmten Schalldruckpegel und der minimalen Entladungsrate bei einem höheren Schalldruckpegel (Abbildung 14E).

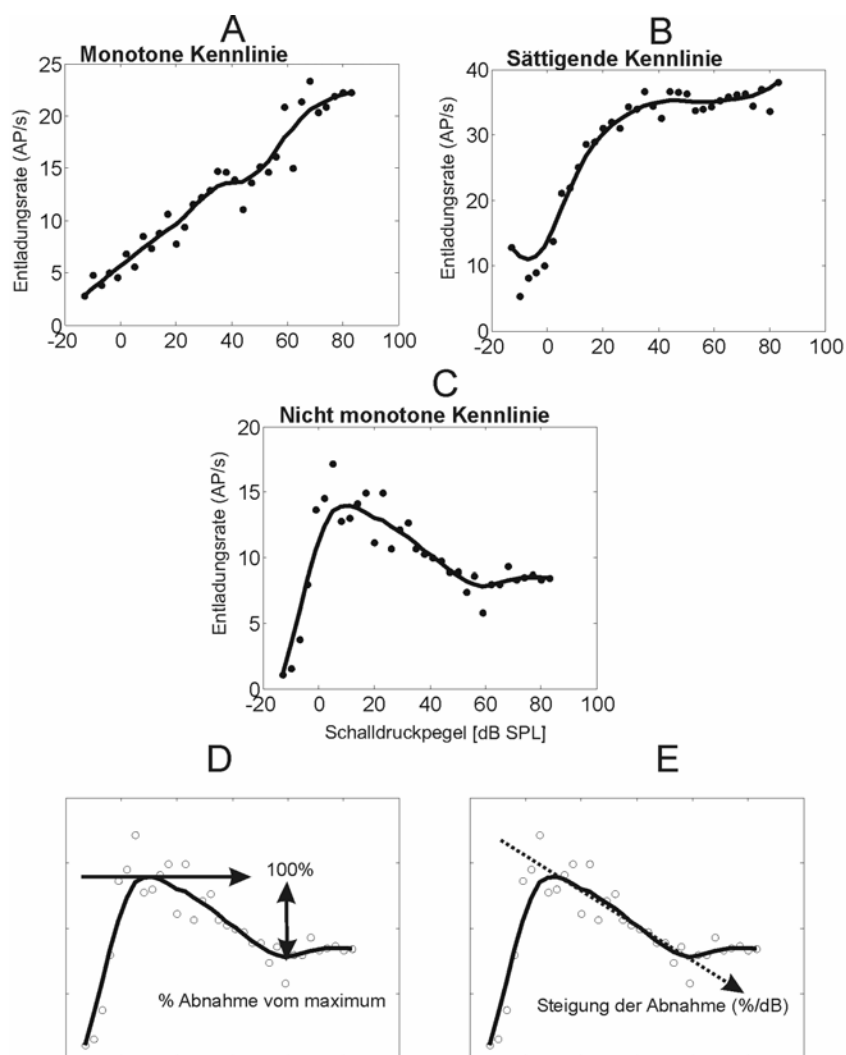


Abbildung 14: Schematische Darstellung der Intensitätskennlinien; Monoton (A), Sättigend (B) und Nichtmonoton (C). Für die Bestimmung des Grades der Reduktion nach Maximum wurden zwei Parameter verwendet; Abnahme von Maximum (D) sowie Steigung dieser Abnahme (E).

B. Intensitätskennlinien bei Frequenzen innerhalb des inhibitorischen Bereiches

Die Intensitätskennlinie wurde teilweise auch bei Frequenzen gemessen, die innerhalb des inhibitionsbereiches lagen, der vorher mit der üblichen Zweitton-Stimulation bestimmt wurde. Diese Frequenz wird als eine Inhibition-auslösende Frequenz (IF) bezeichnet.

Zusätzlich zu der IF wurde ein überschwelliger CF-Ton präsentiert.

Der Schalldruckpegel des IF-Tones (Test-Ton, 65 ms Dauer) wurde in 3 dB Schritten variiert, wie oben beschrieben bei der Messung der Intensitätskennlinien bei CF. Ein zweiter Ton, bei CF und mit einem Schalldruckpegel 10 dB über der CF-Schwelle, wurde dazu präsentiert. Dieser Ton fing 5 ms später an als der Test-Ton und endete mit dem Testsignal (Tondauer 60 ms).

Diese Messung diente der Erfassung der neuronalen Antwort auf eine Frequenz, die Inhibition auslöst. Der Vorteil dieser Messungen gegenüber den vorher erwähnten Ein- und Zweitton-Stimulationen ist die hohe Anzahl von Wiederholungen (25-50), die eine hohe Genauigkeit bietet und der Erstellung von PSTHs dienen kann.

8. Statistische Auswertungen

Die statistischen Auswertungen wurden mithilfe eines speziellen Programms (SYSTAT, 11 Software Inc., USA) ausgeführt.

Um Unterschiede zwischen den Gruppen zu testen, wurde der Mann-Whitney U-Test angewandt. Mit dem Test von Mann-Whitney (1947) wird geprüft, ob zwei unabhängige Stichproben der gleichen Grundgesamtheit entstammen.

Zum Vergleichen der Mittelwerte von zwei miteinander verbundenen Stichproben wurde der t-Test verwendet.

Um die exzitatorischen und inhibitorischen Antworten in Gruppen zu klassifizieren, deren Eigenschaften bestimmte Ähnlichkeiten aufweisen, wurde ein multivariates Analyseverfahren (Clusteranalyse) verwendet.

9. Applikation von Carboplatin

Die Versuchstiere wurden nach Abschluss der oben beschriebenen Kontroll-Messungen mit Carboplatin behandelt. Die Tiere erhielten intraperitoneal zweimal innerhalb von zwei Tagen je eine Dosis Carboplatin (40 mg/kg Körpergewicht i.p., Carboplat 50-Bristol-Meyers Squibb). Die Gesamtdosis betrug somit 80 mg pro 1 kg Körpergewicht.

Da Carboplatin nephrotoxische (nierenschädigende) Nebenwirkungen hat (McFadden et al., 1998), wurde der Zustand der Tiere nach der Behandlung für eine Woche beobachtet. Die Tiere fraßen in den folgenden Tagen nach der Behandlung fast nichts mehr und erlitten einen Gewichtsverlust bis zu 20% ihres normalen Gewichts. Sie mussten daher in dieser akuten Periode versorgt werden. Bei Gewichtsabnahmen wurde den Tieren täglich ca. 10 ml Glucose-Lösung und ca. 3 ml der Vollelektrolytlösung Sterofundin (Infusionslösung, Braun Melsungen AG, Melsungen) und ca. 3 ml eines Aminosäuregemisches (Aminin®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) subkutan injiziert. Die Injektion von Sterofundin sollte die Flüssigkeits- und Elektrolytverluste ersetzen. Das Aminosäuregemisch enthält neben Aminosäuren Glucose, Elektrolyten und Vitamine des B-Komplexes und sollte der Anregung des Stoffwechsels dienen.

Für die Feststellung einer eingetretenen Hörschädigung diente der Vergleich der ABRs vor und nach der Behandlung mit Carboplatin.

10. Histologie der Cochleae

Nachdem die Messungen abgeschlossen waren, wurden die Tiere perfundiert und die Cochleae herauspräpariert. Zunächst wurden die Chinchillas durch eine intramuskuläre Injektion von ca. 1-2 ml Narcoren® (Pentobarbital, Merial GmbH) tief narkotisiert. Nach ca. 5-10 Minuten zeigten sie keine Reflexe mehr, das Herz schlug aber weiter. Für die Perfusion der Tiere wurde das Blutgefäßsystem über die linke Herzkammer mit Ringer-Lösung durchspült. Dazu wurde der Brustkorb geöffnet, das Herz freipräpariert und eine Kanüle in die linke Herzkammer eingestochen. Die Kanüle war mit einem Perfusorsystem verbunden, das die Lösung mit einem konstanten Druck von 160 mm Hg in die linke Kammer führte. Sofort nach Einschalten der Perfusion wurde der rechte Vorhof eingeschnitten, nach wenigen Minuten, als der Körper vom Blut frei war, wurde dann statt mit Ringer-Lösung mit Fixationslösung (Formaldehyd, 2,5% in Phosphatpuffer; 0,1 Mol; PH 7,4) perfundiert. Die Tiere wurden im Anschluss dekapitiert.

Die Bullae und die Stapes wurden dann entfernt und die Cochleae wurden herausgenommen. Im Apex wurde mit einer dünnen Kanüle ein kleines Loch gebohrt. Durch das ovale Fenster wurde mit Hilfe einer Kanüle die Cochleae lokal mit der Fixationslösung perfundiert. Dann wurden die Cochleae für ca. 2 Stunden in Fixationslösung nachfixiert. Die Cochleae wurden anschließend mit einem Bohrer dünn

geschliffen, bis die äußere Knochenwand entfernt werden konnte. Danach wurden die Tektorialmembran, die Reissnermembran und die Stria Vascularis entfernt. Im Anschluss wurden die Cochleae mit einem Skalpell am Ende jeder halben Windung durchgeschnitten. Die so entstandene Häutchenpräparate wurden dann mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI (4',6-Diamidin-2'-phenylindoldihydrochlorid) angefärbt. DAPI färbt dabei nur die Zellkerne (Coleman and Goff, 1985).

Unter einem mit einer Fluoreszenzoptik ausgerüstetem Mikroskop (Zeiss, Axioskop), bei einer Vergrößerung von 400x erfolgte die Zählung der Zellkerne der IHZ. Die Zählung erfolgte mit Hilfe eines automatisierten Zählprogramms (NeuroLucida™, MicroBrightField, Inc.) durch Anklicken am Computerbildschirm. Die Koordinaten aller IHZ wurden gespeichert und dazu benutzt, die Streckenlängen und geometrischen Abstände der IHZ zueinander zu berechnen. Aus diesen Angaben wurde zunächst die lokale relative Dichte der IHZ berechnet. Die Cochleae mehrerer gesunder Chinchillas wurde ebenso behandelt und ausgezählt, so dass Vergleichsdaten zur Länge und Dichte der IHZ vorlagen. Daraus konnte der prozentuale Verlust an IHZ abgeschätzt werden.

Die Zählung aller IHZ wurde auf der Gesamtlänge der Basilarmembran durchgeführt. Da bei der verwendeten Dosis von Carboplatin beim Chinchilla keine Schäden der ÄHZ zu erwarten waren, wurde der Zustand der ÄHZ nur qualitativ beurteilt. Wenn die Anordnung der ÄHZ abnormal erschien, wurde das protokolliert. Quantitative Zählung der ÄHZ wurde nicht vorgenommen. Die Anordnung der ÄHZ selbst konnte aber bei allen Tieren gut beobachtet werden (Abbildung 15). Eventuelle Veränderungen in den drei Reihen der ÄHZ wurden immer protokolliert.

Nachdem die Zählung an beiden Ohren bei allen Versuchstieren abgeschlossen war, wurden die Haarzellverluste so berechnet:

Die instantanen Dichten der gezählten inneren Haarzellen (ausgedrückt in Zellen pro 100 µm der Basilarmembranlänge) wurden bei den zwei Kontrolltieren für die Gesamtlänge der Basilarmembran berechnet. Es stellte sich heraus, dass über die Gesamtlänge der Basilarmembran etwa 10 IHZ pro 100µm der Basilarmembranlänge zu finden waren.

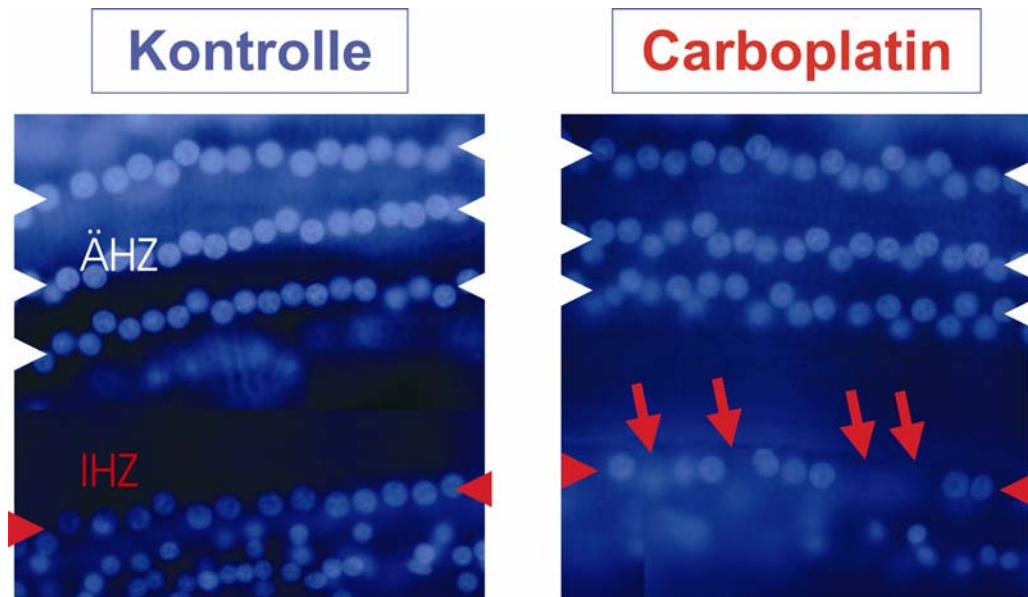


Abbildung 15: Beispiel für den Zustand der IHZ und ÄHZ in einem Kontrolltier (links) und in einem mit Carboplatin behandelten Tier (rechts). Die roten Pfeile im rechten Bild zeigen auf fehlende Kerne der IHZ bei dem mit Carboplatin behandelten Tier. Beide Aufnahmen sind an einer ähnlichen Stelle auf der Basalmembran gemacht wurden, die das 4 kHz Areal repräsentieren. Die Dreiecke zeigen auf die äußeren (Weiß) und auf die inneren (Rot) Haarzellen.

11. Verifikation der Ableitstellen im ICc

Die Grenzen der Unterkerne des ICc sind weder anatomisch noch elektrophysiologisch eindeutig. Da der laterale Teil des IC direkt unter der Bulla liegt, konnten Ableitungen, mit unserem Zugang, nur von dem dorsalen und dem zentralen Kern gemacht werden. Die Zellen im dorsalen Teil sind durch ihre undeutliche Frequenzabstimmung und der fehlenden tonotopen Anordnung ihrer CFs gut zu erkennen. Daten aus Elektrodenstracks ohne kontinuierlichen Anstieg der CFs mit der Tiefe wurden bei dieser Arbeit daher nicht ausgewertet.

Zur histologischen Verifikation der Ableitpositionen im ICc werden kurz vor der Perfusion der Tiere vier elektrische Läsionen an zwei verschiedenen Ableitstellen und in zwei verschiedenen Tiefen gesetzt, in denen vorher elektrophysiologische Messungen durchgeführt wurden. Hierfür wurde ein Gleichstrom von 10 μ A für je 10 s zuerst mit negativer, dann mit positiver Polarität angelegt.

Nach der Perfusion wird das Gehirn herauspräpariert und in Formalin (Formaldehyd, 2,5% in Phosphatpuffer; 0,1 Mol; PH 7,4) über Nacht nachfixiert. Nach Einlegen des Gehirns in einer dreißigprozentigen Saccharoselösung, wurden Gefrierschnitte mit Schnittdicken von 40 μ m angefertigt, die anschließend mit Kresylviolett gefärbt und

dann im Lichtmikroskop betrachtet wurden. Die Lage der Läsionen erlaubte die Korrelation der stereotaxischen Koordinaten mit den histologischen Schnitten des Mittelhirns.

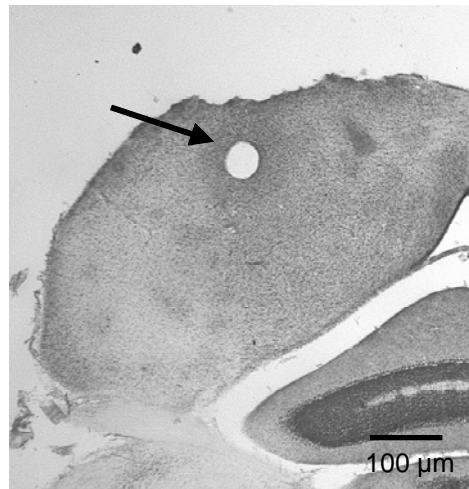


Abbildung 16: Ein transversaler Schnitt durch den linken IC, Kresylviolett-Färbung (S/W). Dorsal ist oben, medial ist rechts. Die Läsion im linken ICc wurde bei einer tiefen CF (250 Hz) gesetzt, also im dorsalen ICc.

Ergebnisse

1. Physiologische Charakteristika des ICc in normalhörenden Chinchillas

Die in diesem Abschnitt vorgestellten Ergebnisse beruhen auf der Messung der Antworteigenschaften von 250 Mehrzelleitungen und 47 Einzelzellantworten, die aus den Mehrzelleitungen isoliert werden konnten. Die Mehrzelleitungen wurden im zentralen Nucleus des Colliculus Inferior (ICc) in 6 normalhörenden Chinchillas durchgeführt, vor der Behandlung mit Carboplatin zur Schädigung der IHZ.

1.1 Tonotopie

Das Zielgebiet der Untersuchung war der zentrale Nucleus des Colliculus Inferior (ICc), welcher bei den Chinchillas in einer Tiefe von 2700-7300 μm unter der Kortexoberfläche (Abbildung 17) liegt. Der ICc bei den Versuchstieren weist eine räumliche Ausdehnung von etwa 2 mm medio-lateral und 2 mm rostro-caudal auf.

Im gesamten ICc hat die Frequenzrepräsentation in dorso-ventraler Richtung eine einheitliche Tendenz – von der Repräsentation tiefer Charakteristischer Frequenzen dorsal zu hohen Frequenzen ventral. D.h. je tiefer die Ableitelektrode eingeführt wird, desto höher sind die CFs der abgeleiteten Neurone.

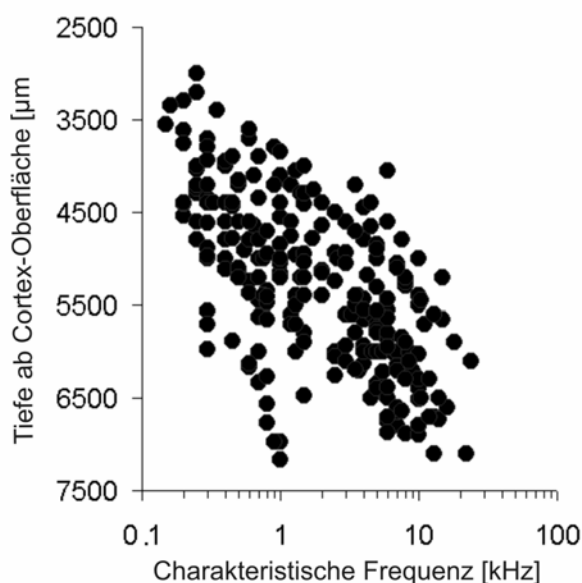


Abbildung 17: Tonotopie Anordnung der Charakteristischen Frequenzen (CFs) von 250 Mehrzelleitungen im ICc der 6 Versuchstiere. Von dorsal nach ventral wurden nach der Messung der ersten akustisch evozierten Aktivität, alle 200 μm die CFs der Mehrzelleitungen erfasst.

1.2 Antwortschwellen der Neurone im ICc

Die ICc-Neurone zeigten in allen untersuchten Tieren niedrige Minimal-Schwellen, die zwischen -20 und 40 dB SPL lagen (Abbildung 18). Die Schwellenwerte der Einzelzellantworten (SUs) hatten identische Schwellen mit jenen der Mehrzellantworten (MUs), aus denen die SUs herausortiert worden war.

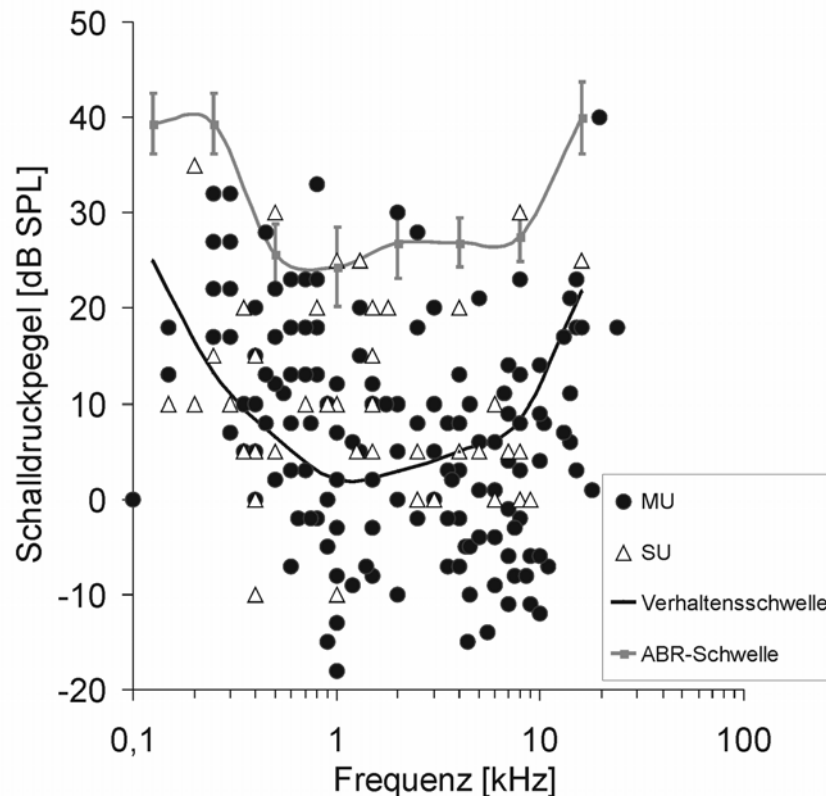


Abbildung 18: Die Antwortschwellen der 250 Mehrzelleitungen (MU, gefüllte Kreise) und die Antwortschwellen von 47 Einzelzelleitungen (SU, leere Dreiecke). Die graue durchgezogene Linie zeigt den Mittelwert der ABR-Schwellen mit Standardabweichungen, die an 8 Chinchillas gemessen wurden. Die schwarze Linie zeigt den Mittelwert der Verhaltensschwellen (Fay, 1988).

1.3 Die exzitatorischen Antwortfelder

Mit Hilfe der Einton-Stimulation wurden zunächst die exzitatorischen Antwortfelder der Neurone gemessen und charakterisiert. Die Neurone im ICc zeigten unterschiedliche exzitatorische Antwortfelder, die qualitativ in „komplexe“ und „nichtkomplexe“ Antwort-Typen eingeteilt werden konnten. Komplexe exzitatorische Antwortfelder zeichnen sich durch eine „Aktivitätsinsel“ aus.

Die „nichtkomplexen“ Antworten können auch qualitativ in „Breit“ und „Schmal“ eingeteilt werden. Eine multivariate Analyse (Classification and Regression Tree, (Wilkinson, 2004) wurde, mit Hilfe eines Programms (SYSTAT 11 Software Inc., USA), für den ganzen Datensatz durchgeführt. Für die Durchführung der multivariaten Analyse wurden die qualitativ klassifizierten Antwort-Typen (Komplex, Breit und Schmal) als unabhängiger Parameter und die folgenden quantitativen Parameter als abhängige Parameter verwendet:

- Die CF der Neurone.
- Die Q10, Q25 und Q40 dB Werte.
- Die Flankensteilheit der hochfrequenten Seite relativ zu der CF.
- Die Flankensteilheit der niederfrequenten Seite relativ zu der CF.

Die multivariate Analyse zeigte, dass die Flankensteilheit der hochfrequenten Seite relativ zu der CF der beste Parameter für die Klassifikation der exzitatorischen Antwortfelder geeignet ist. Mit Hilfe dieses Parameters als Kriterium können die exzitatorischen Antwortfelder der Neurone im ICc einem der folgenden Antwort-Typen zugeordnet werden:

1. **Typ 1 (Schmal):** 118 Mehrzellantworten (Mus, 47.2%) und 20 Einzelantworten (SUs, 43%) zeigten ein schmales exzitatorisches Antwortfeld (Abbildung 19A) und wiesen oft (80%) bei hohen Schalldruckpegeln eine Ausbreitung des exzitatorischen Antwortfeldes zu niedrigen Frequenzen auf (low frequency tail). Charakteristisch für dieses Antwortfeld ist die hohe Flankensteilheit der hochfrequenten Seite (>140 dB/Oktave, (Abbildung 20A). 91% der Typ 1-Neurone hatten hohe CF (>3 kHz, (Abbildung 20B).
2. **Typ 2 (Breit):** Dieser Antworttyp (123 MUs 49.2% und 18 SUs 38%, Abbildung 19B) zeichnet sich durch ein breites Antwortfeld aus und dadurch, dass die Flankensteilheit der hochfrequenten sowie der niederfrequenten Seite relativ niedrig ist (<140 dB/Oktave, Abbildung 20A). Solche breite Antwortfelder wurden bei 85% der Neurone mit niedrigen CF (<3 kHz) beobachtet (Abbildung 20B).
3. **Typ 3 (Komplex):** Bei 9 MUs (3.6%) und 9 SUs (19%) kam es zu einer Einengung des Antwortfeldes bei höheren Schalldruckpegeln. Hier war das Antwortfeld beschränkt auf bestimmte Schalldruckpegel-Frequenz-Kombinationen was z.T. zu „Aktivitätsinsel“ führte. Die Erhöhung der

Lautstärken führte zu keiner Erhöhung sondern zu einer Minderung der neuronalen Aktivität (Abbildung 19C). Bei diesem Typ verlaufen oft beide Flanken des exzitatorischen Feldes in Richtung der niedrigeren Frequenzen, die Flankensteilheit der hochfrequenten Seite zeigt daher einen negativen Wert (Abbildung 20A). Eine weitere Besonderheit dieses komplexen Typs ist sein häufiges Vorkommen bei Neuronen mit niedrigen CFs unter 2 kHz (Abbildung 20B).

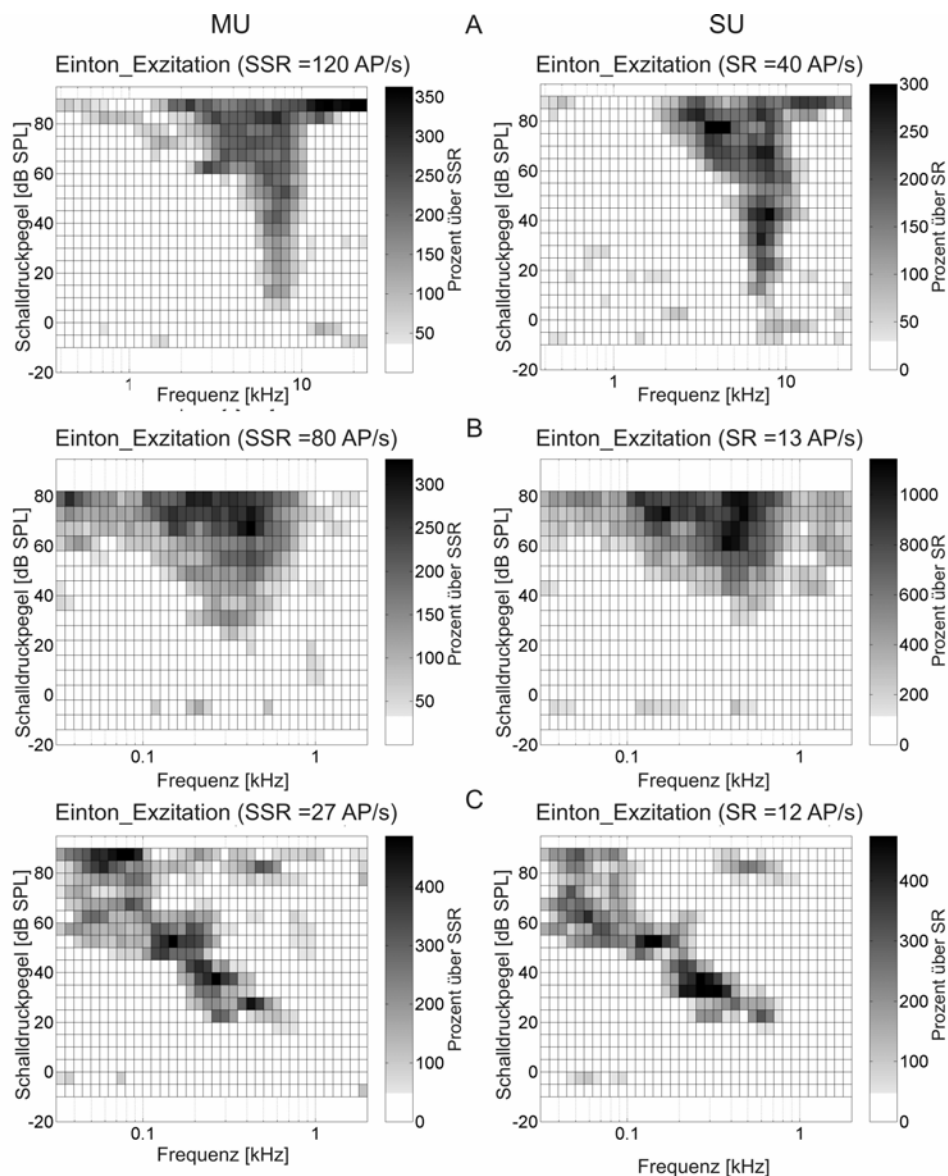


Abbildung 19: Beispiele der exzitatorischen Antwortfelder von Mehrzellen (MU) und Einzelzellen (SU) im ICc zeigen exemplarisch die drei klassifizierten Typen: Schmal (A), Breit (B) und Komplex (C). SSR: Summierte Spontanaktivität der MU, SR: Spontanaktivität der SU.

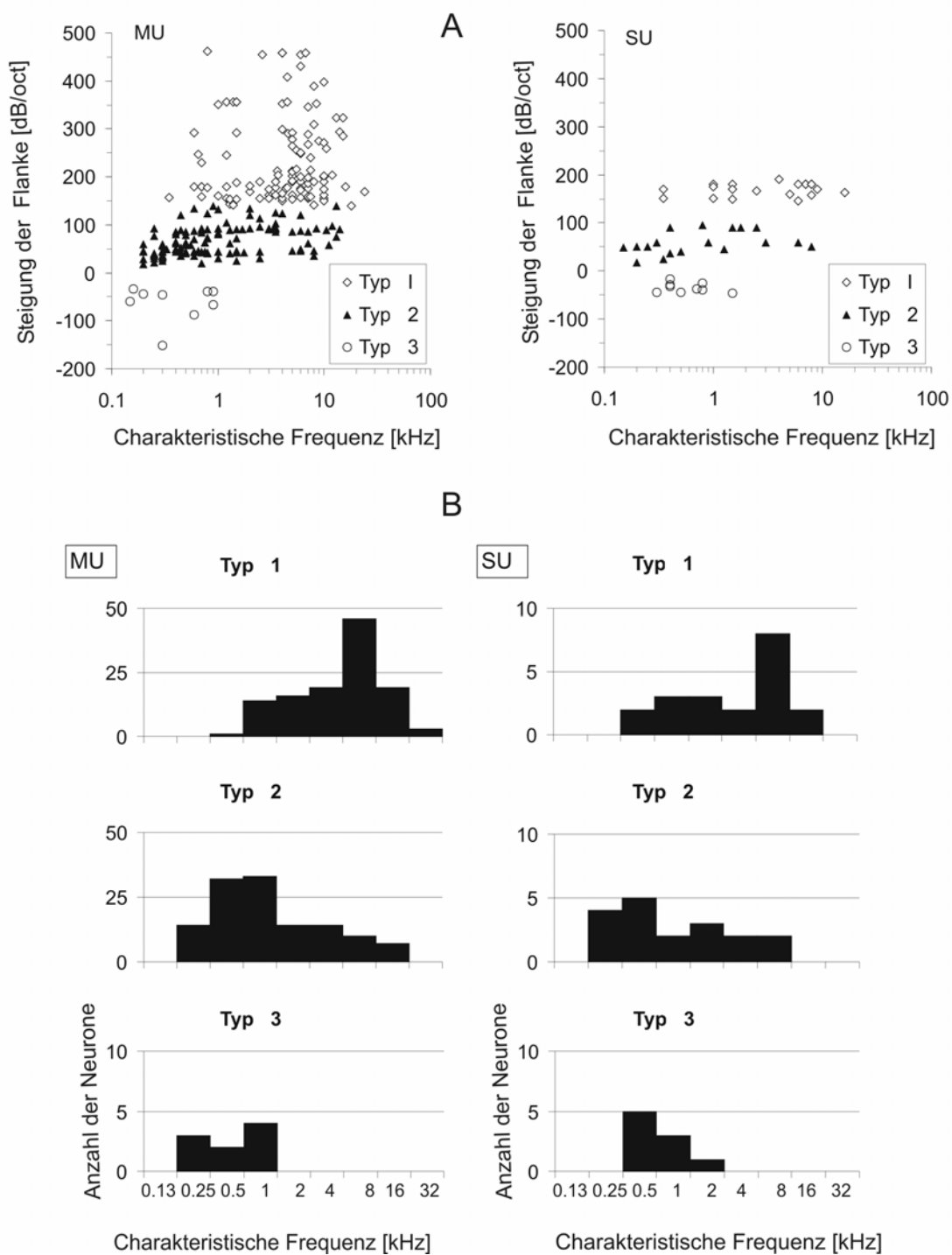


Abbildung 20: A) Abhängigkeit der Flankensteilheit der hochfrequenten Seite der drei exzitatorischen Typen von der charakteristischen Frequenz. B) Die Verteilung der drei exzitatorischen Typen über die charakteristische Frequenz der Neurone. MU: Mehrzellantworten, SU: Einzelzellantworten.

1.4 Die inhibitorischen Antwortfelder

A. Die Inhibition der Spontanaktivität

Die so genannte Einton-Inhibition ist die Inhibition, die bereits bei spontanaktiven Neuronen (SR über 20 Aktionspotentiale/s) bei der Präsentation eines Sinustons beobachtet werden kann. Bei Mehrzelleitungen mit einer summierten Spontanaktivität (SSR) über 150 Aktionspotentiale/s ($n=50$, 20%) konnte die Einton-Inhibition deutlich beobachtet werden. Bei diesen Ableitungen umschloss die Einton-Inhibition das exzitatorische Antwortfeld. In Abbildung 21 sind die exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder einer Mehrzelleitung (links) und der Einzelzelleitung (rechts) getrennt dargestellt. Im oberen Bild ist die Exzitation als Erhöhung über die summierte Spontanaktivität dargestellt (ähnlich wie in der Abbildung 19). Im unteren Bild sind die Bereiche mit SSR-ähnlichen Werten und höher in schwarz kodiert. Die Bereiche, bei denen die Spontanaktivität komplett unterdrückt wurde, als weiß kodiert. Zwischen den zwei Kodierungsfarben Schwarz und Weiß ist die prozentuelle Abnahme unter die Spontanaktivität mit der im jeweiligen Bild rechts gezeigten Skala kodiert.

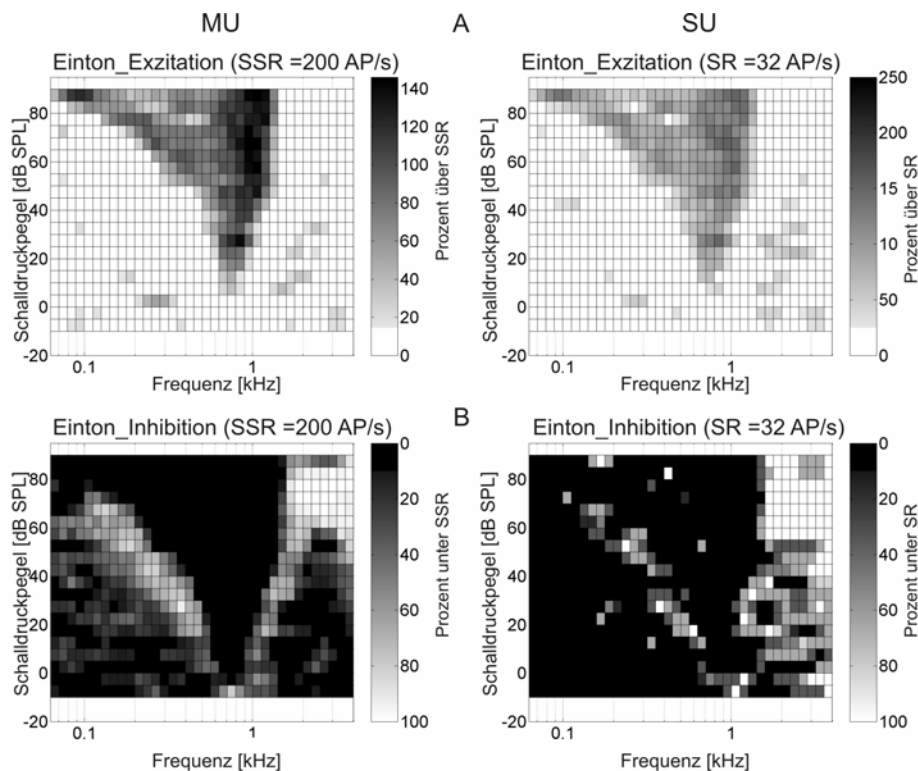


Abbildung 21: A) Beispiele der exzitatorischen Antwortfelder von Mehrzellen (MU, links) und von einer aus derselben Mehrzelleitung isolierten Einzelzelle (SU, rechts). B) Darstellung der inhibitorischen Felder der gleichen Neuronen (Populationen) wie in A, die während der Einton-Stimulation bei der MU (links) sowie bei der SU (rechts) gemessen wurden.

B. Die Inhibition der evozierten Aktivität

Da nicht alle Neurone hohe Spontanaktivität aufwiesen und daher die Einton-Inhibition nicht immer gemessen werden konnte, musste bei den wenig spontanaktiven Neuronen eine hohe Aktivität induziert werden um die inhibitorischen Regionen sehen zu können. Dies geschah mit Hilfe des Paradigmas der Zweiton-Stimulation: ein überschwelliger Tonreiz bei der jeweiligen CF des Neurons diente der Aktivierung exzitatorischer Afferenzen. Die zusätzliche Präsentation eines zweiten Tonreizes (Test-Ton), dessen Parameter wie bei der Einton-Stimulation variiert werden, führt in vielen Fällen dazu, dass inhibitorische Frequenzkanäle aktiviert werden, die auf dasselbe Neuron geschaltet sind.

Die Neurone zeigten in diesem Paradigma unterschiedliche inhibitorische Antwortfelder, die aufgrund ihrer Formen und Lokalisation gegenüber den exzitatorischen Antwortfeldern in fünf Gruppen klassifiziert werden konnten:

Gruppe 1: Seitenband-Inhibition

39 MUs und 2 SUs (15.6 und 6%) zeigten symmetrische inhibitorische Seitenbänder, die die exzitatorische Abstimmkurve links und rechts begrenzen. Ein Beispiel ist gezeigt in Abbildung 22A. Diese inhibitorischen Seitenbänder wurden ausschließlich bei Neuronen beobachtet, die ein schmales exzitatorisches Antwortfeld und CF über 3 kHz hatten (Typ 1).

Gruppe 2: Asymmetrische Inhibition

102 MUs und 14 SUs (40.8 und 44%) zeigten zwar ebenfalls zwei inhibitorische Regionen an beiden Seiten der exzitatorischen Frequenzabstimmkurve, die inhibitorische Region an der hochfrequenten Seite war aber viel stärker und breiter (asymmetrisch, Abbildung 22B). Einige Ableitungen zeigten nur Inhibition auf der Seite der höheren Frequenzen. Die meisten davon hatten niedrige CF (<3 kHz) und gehören zum exzitatorischen Typ 2 (Breit).

Gruppe 3: Komplexe Inhibition

12 MUs und 2 SUs (5 und 8%) zeigten eine breite V-förmige inhibitorische Region, die fast das gesamte exzitatorische Antwortfeld überdeckte. Neurone mit dieser inhibitorischen Form besitzen das komplexe exzitatorische Antwortfeld (Typ 3). In der

Abbildung 22C ist gut zu erkennen, dass die Inhibition der Grund ist für die Verformung der besonders komplexen exzitatorischen Antwort.

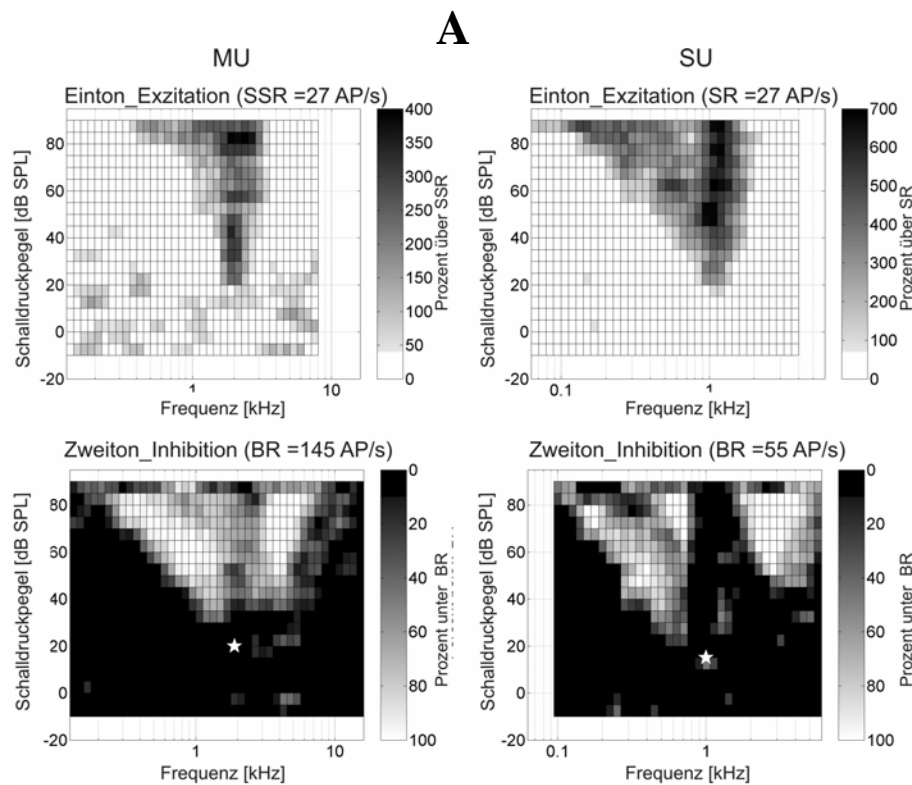
Neurone, die Inhibition über das gesamte Antwortfeld aufwiesen, hatten besonders tiefe CFs (< 2 kHz) und waren dementsprechend im dorsalen Teil des ICc zu finden.

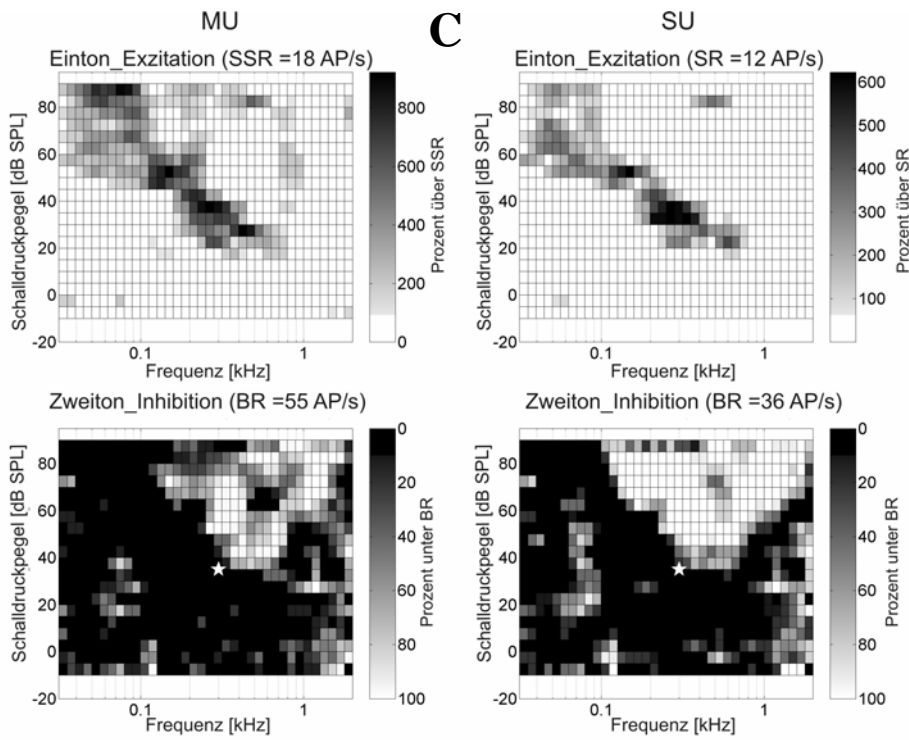
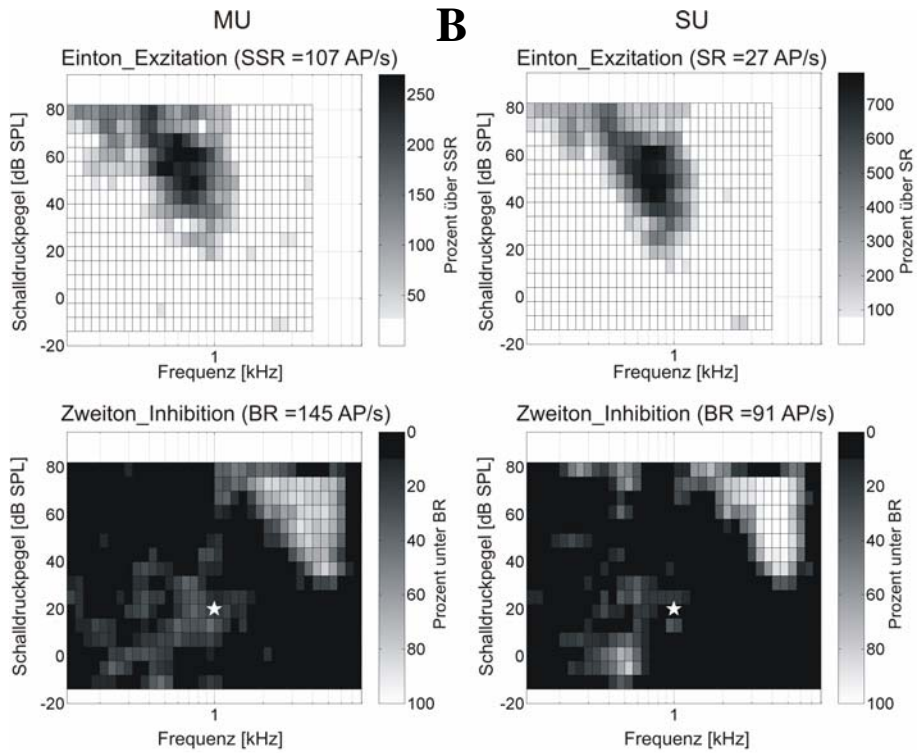
Gruppe 4: Inhibition innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes

Inhibition, die nur innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes auftritt (Abbildung 22D), wurde in 70 MUs (28%) und in 11 SUs (34%) gefunden, die verschiedene exzitatorische Antwortfelder (Typ 1 oder 2) mit CFs über 3 kHz besaßen. Die Inhibition innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes wäre ohne die Zweiton-Stimulation nicht erkennbar.

Gruppe 5: Schwache Inhibition

Bei 28 MU und 3 SU (11.2 und 9%) konnte entweder keine oder nur schwache Inhibition gemessen werden, die keiner der oben erwähnten inhibitorischen Gruppen zugeordnet werden konnten (Abbildung 22E). Diese Neurone antworteten oft (70%) nur zu Beginn des Stimulus (Onset-Antwort).





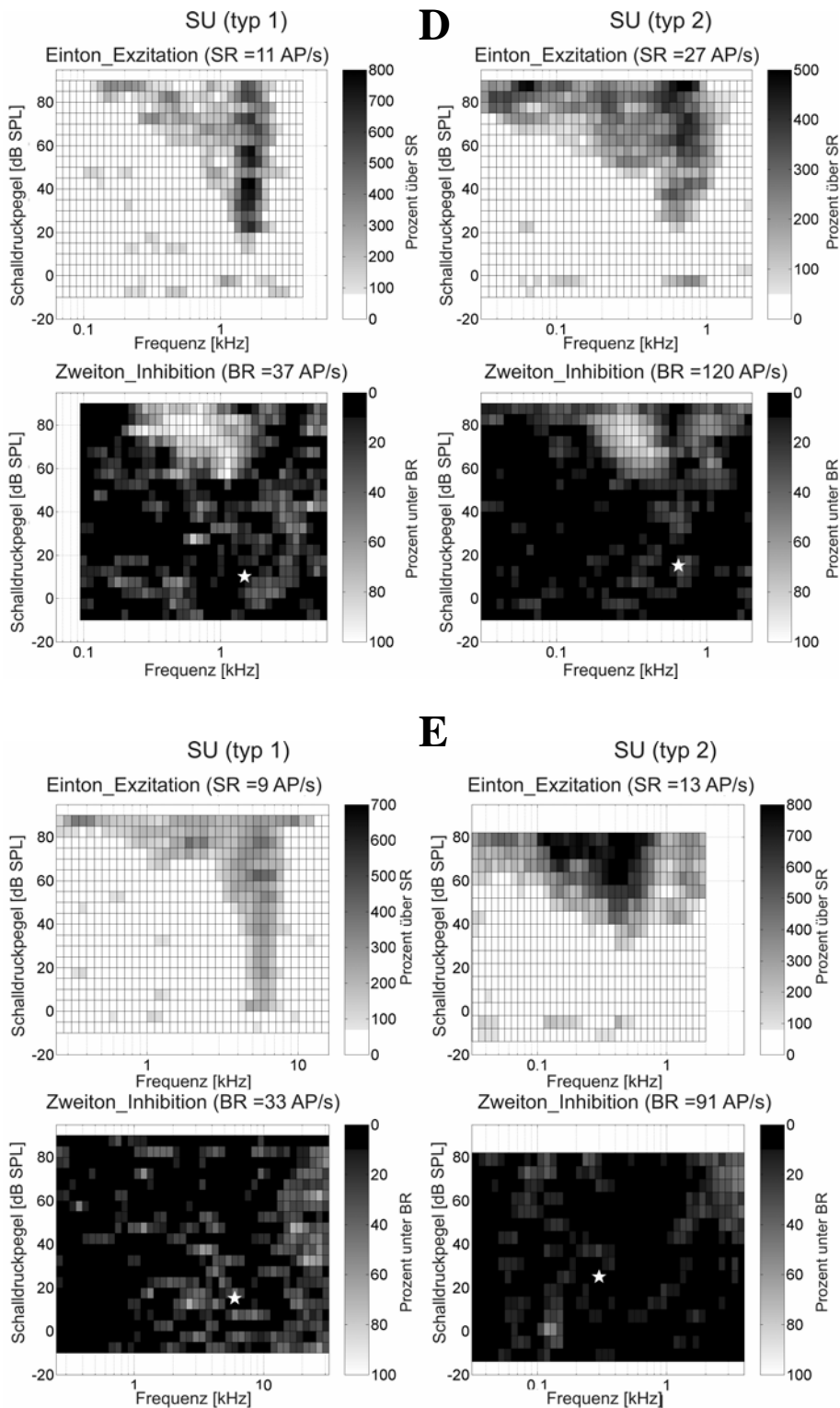


Abbildung 22: (A-E) Beispiele der exzitatorischen (oben) und inhibitorischen (unten) Antwortfelder von Mehrzellableitungen (MUs) und Einzelzellableitungen (SUs), die während der Zweitton-Stimulation bei der MU (links) sowie bei der SU (rechts) gemessen wurden. A) Seitenband-Inhibition, B) Asymmetrische Inhibition, C) Komplexe Inhibition. D) Inhibition innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes, E) Schwache Inhibition. In A-C sind die SUs isoliert aus den abgeleiteten MUs. In D und E sind es ausschließlich SU-Ableitungen dargestellt. Das weiße Sternchen in den Bildern zeigt an, wo der überschwellige CF-Ton liegt, der die Basisrate (BR) hervorruft.

C. Vergleich zwischen Einton- und Zweitton-Inhibition

Einton-Inhibition konnte in nur 50 Mehrzell- und in 11 Einzelzellableitungen gefunden werden. In 33/50 der Mehr- sowie in 1/11 der Einzelzellantworten (66% und 9%) unterschieden sich die inhibitorischen Regionen, die mit der Ein- und der Zweitton-Stimulation gemessen wurden. Während die Inhibition bei der Einton-Stimulation immer an die exzitatorischen Antwortfelder angrenzte, beeinflusste die Zweitton-Inhibition auch Bereiche innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder. In der Abbildung (23) sind zwei Beispiele dargestellt; eine MU-Ableitung (Abbildung 23 A-C, links) und eine SU-Ableitung (Abbildung 23 A-C, rechts). Hier ist gut zu sehen, dass die Einton-Inhibition (B) immer die exzitatorischen Antwortfelder (A) umgibt, während die Zweitton-Inhibition (C) andere Regionen um und innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder beeinflussen kann.

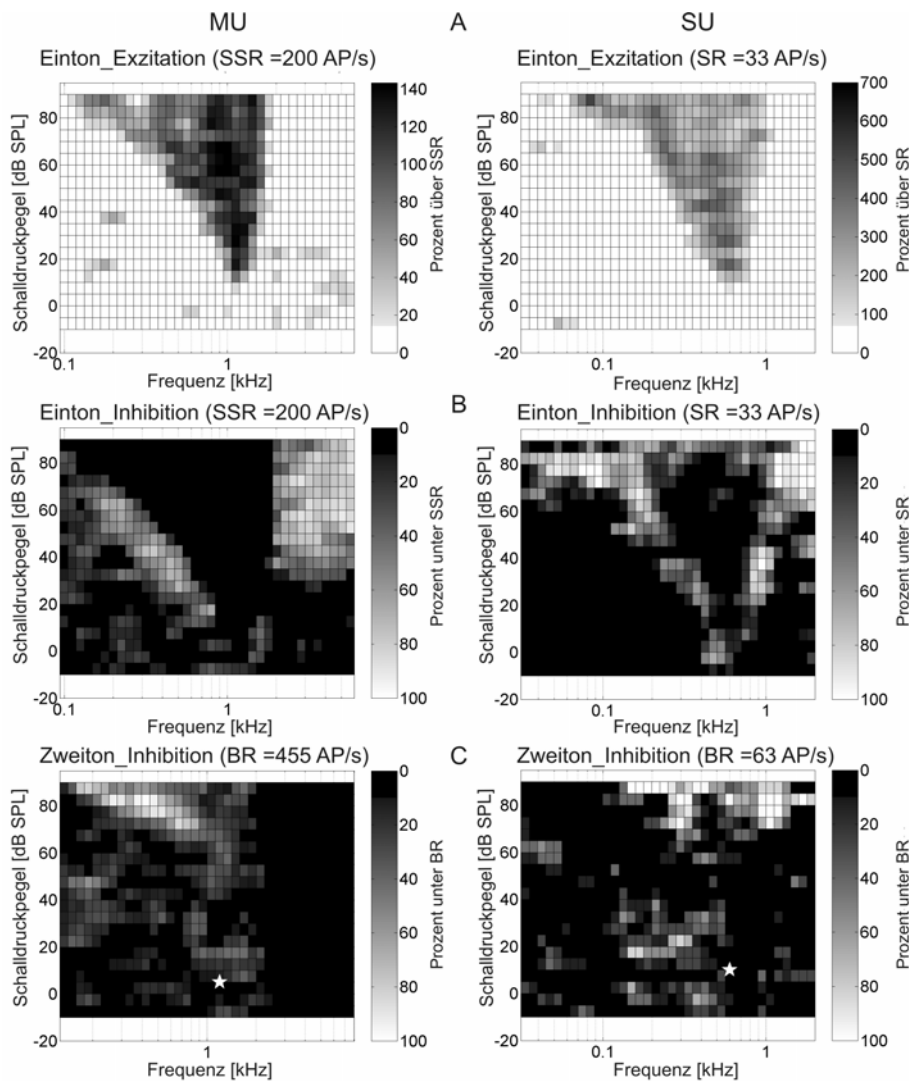


Abbildung 23: Zwei Ableitungen (MU links, SU rechts), bei welchen Exzitation (A) und Inhibition (B) während der Einton-Stimulation und Inhibition (C) während der Zweitton-Stimulation gemessen wurden. In den beiden Ableitungen waren die inhibitorischen Felder bei der Einton-Stimulation deutlich größer als bei der Zweitton-Stimulation, die Inhibition trat in

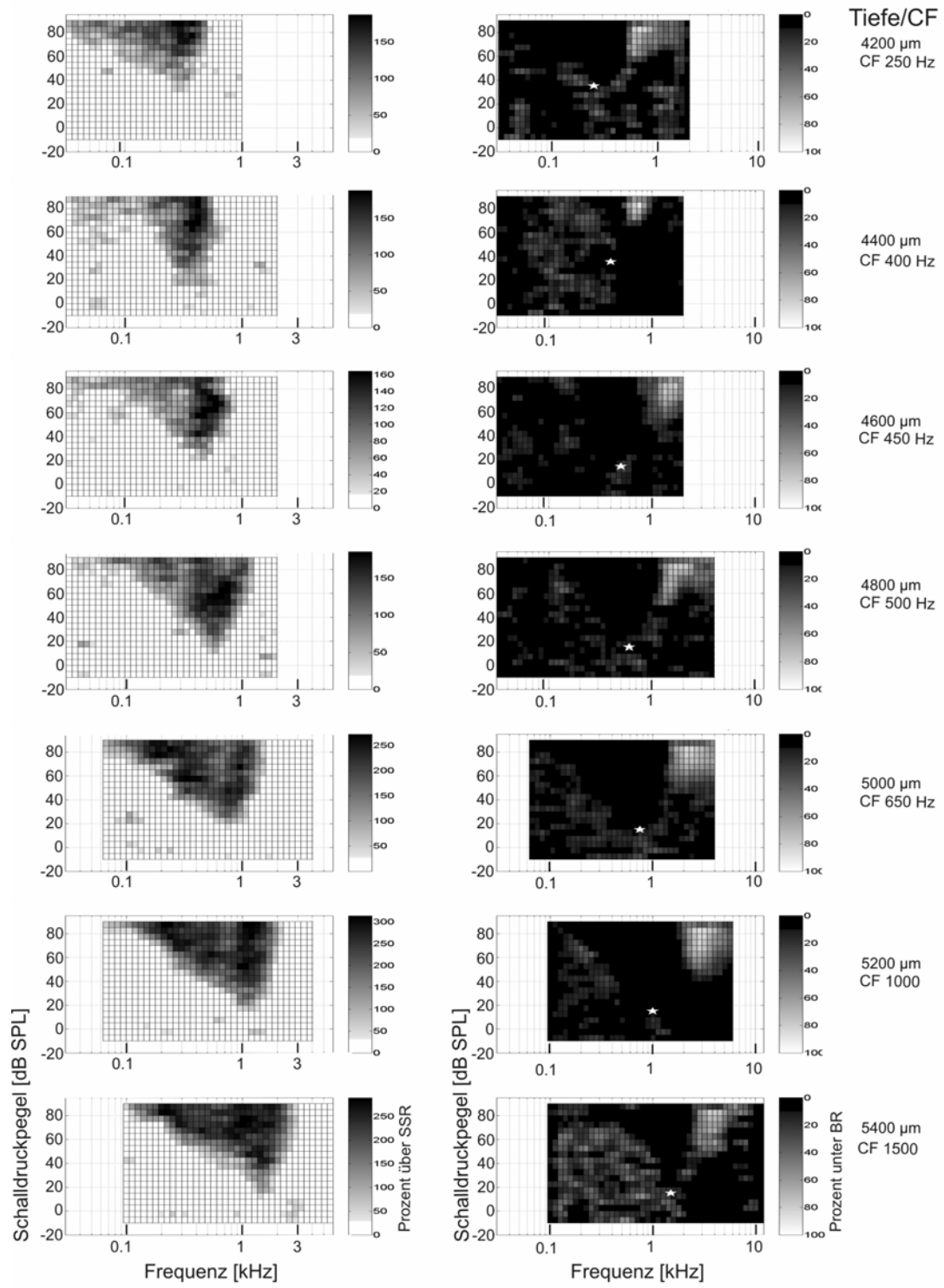
unterschiedlichen Frequenz-Level Kombinationen auf. A: Die Exzitation ist dargestellt relativ zu der (summierten) Spontanaktivität. B: Die Einton- Inhibition ist ebenfalls dargestellt relativ zu der (summierten) Spontanaktivität. C: Die Zweiton- Inhibition relativ zu der Basisrate, die durch den CF-Ton (weißes Sternchen) evoziert war.

1.5 Die exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder in einem dorsoventralen Ableitungstrack

Während der Datenaufnahme fiel auf, dass die Form der exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder der Ableitungen in unterschiedlicher Tiefe über einen relativ langen Abschnitt in jedem dorsoventralen Ableitungstrack (600 μm bis 1000 μm , Abbildung 24) sehr ähnlich war.

In jedem dorso-ventralen Ableitungstrack (n=33) nahm die CF zu bei zunehmender Tiefe, wie bereits für die Tonotopie der ICC-Neurone beschrieben und wie in Abbildung 24 (A und B) gut zu erkennen ist. In 24 Ableitungstracks war das erste gemessene exzitatorische Antwortfeld breit (Typ 2). In den restlichen 9 Ableitungstracks war das erste Antwortfeld komplex (Typ 3).

A



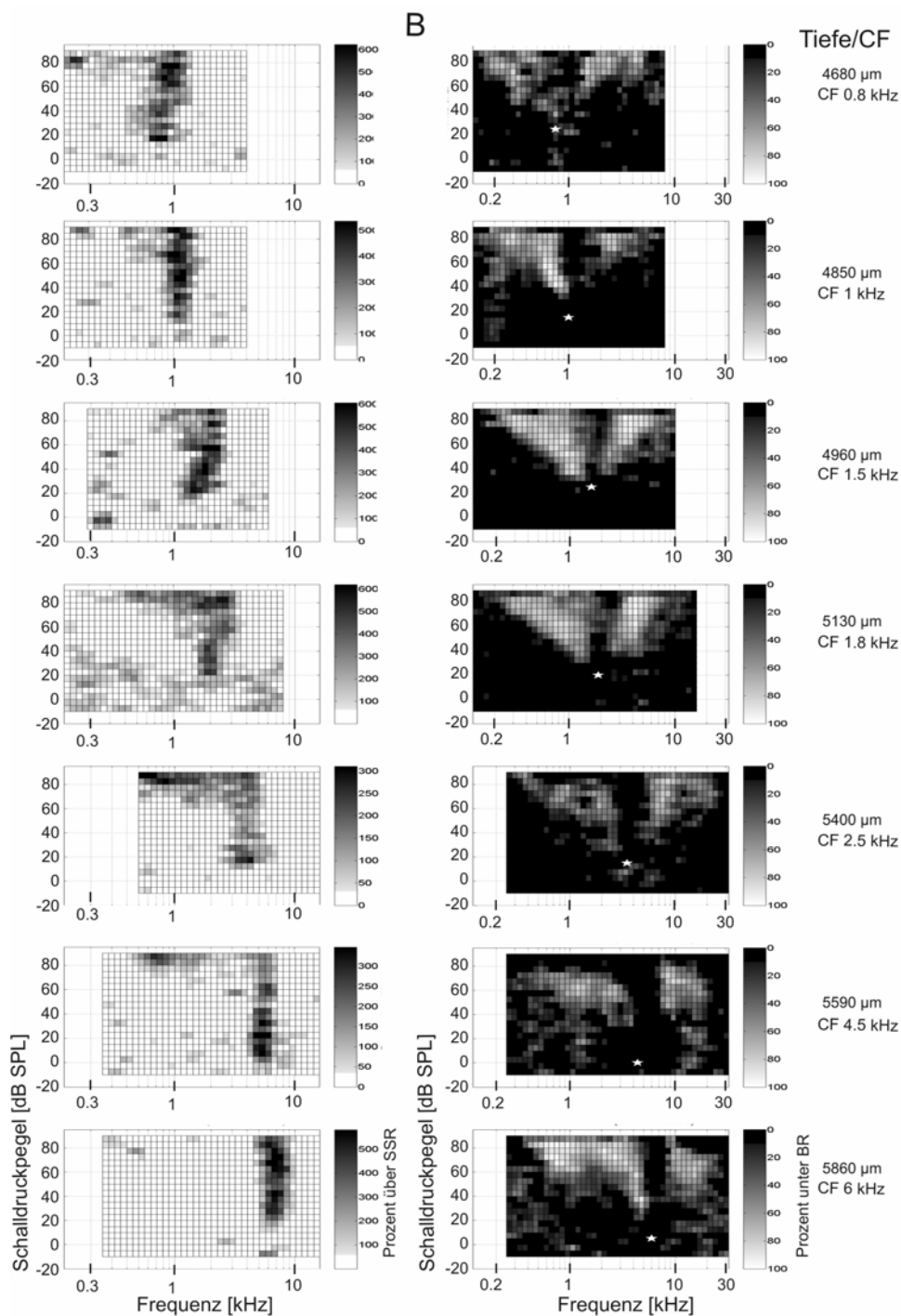


Abbildung 24: Exzitatorische (rechts) und inhibitorische Antwortfelder von Mehrzellableitungen in verschiedenen dorso-ventralen Ableitstellen im ICc von einem wachen Chinchilla. Beide Abbildungen (A and B) repräsentieren Antwortfelder in verschiedenen dorso-ventralen Penetrationstiefen im ICc von ca. 1.2 mm in derselben Elektrodenspur. In der Abbildung A sind die breiten exzitatorischen Antwortfelder (Typ 2) und die asymmetrischen Inhibitionsfelder (2) zu sehen. Die Abbildung B zeigt dagegen die schmalen exzitatorischen Antwortfelder (Typ 1) und die symmetrischen Inhibitionsfelder (1). In beiden Abbildungen sind ähnliche exzitatorische und inhibitorische Antwortfelder über einen relativ langen Tiefenabschnitt (über 1 mm) zu sehen, wobei der dorsoventrale Durchmesser des ICc bei den hier untersuchten Chinchillas ca. 1.2-1.5 mm beträgt. Deutlich erkennbar ist, dass die CF mit zunehmender Tiefe von der Kortexoberfläche zunimmt.

1.6 Intensitätskennlinien

Die Intensitätskennlinien von 210 Neuronen im ICc wurden in Anlehnung an die Klassifizierung von Aitkin (1991) in 3 Typen eingeteilt werden (Abbildung 25). Die genauen Einteilungskriterien sind im Methodenteil (7.5) beschrieben. Es wurden gefunden:

1. Monotone Kennlinien (16%).
2. Sättigende Kennlinien (23%).
3. Nichtmonotone Kennlinien (54%). In einigen Fällen (7%) trat eine starke Reduktion auf, so dass die Entladungsrate bei den hohen Schalldruckpegeln auf Werte sank, die geringer als die Spontanaktivität waren. Dieser Verlauf der Kennlinien ist typisch für die Neurone mit dem komplexen exzitatorischen Antwortfeld.

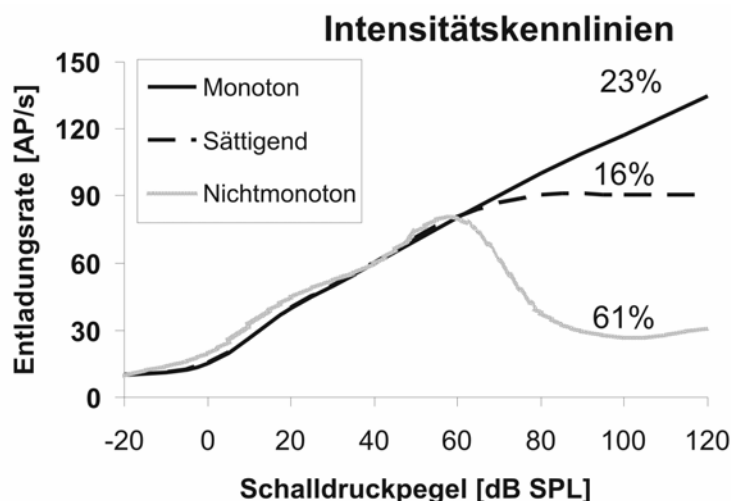


Abbildung 25: Die Intensitätskennlinien schematisch dargestellt: monoton, sättigend und nichtmonotone Kennlinie. Rechts ist der prozentuale Anteil jedes Typs angegeben.

1.7 Die neuronale Antwort innerhalb der inhibitorischen Regionen

Nach Bestimmung der exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder wurden bei 15 MUs die Intensitätskennlinien bei der CF sowie bei einer Frequenz gemessen, die innerhalb der inhibitorischen Felder (IF) liegt. Die Messung bei den IF wurde dann anschließend in Anwesenheit eines überschwelligen CF-Tons wiederholt.

Ein Beispiel ist in Abbildung 26 gezeigt. In Abbildung 26 A, B und C sind die Antworten auf die Einton-Stimulation bei CF dargestellt. Die neuronale Antwort bestand aus einem kurzen phasischen Teil während der ersten 15 ms nach Stimulus-

Beginn, sowie aus einem tonischen Teil (ab 15 ms bis Stimulus-Ende). Beide Antwortteile nahmen mit steigendem Schalldruckpegel zu.

Die Präsentation des IF-Tons (Abbildung 26 D, E und F) führte allerdings nur dazu dass der kurze phasische Anteil mit steigendem Schalldruckpegel zunahm. Der tonische Teil nahm dagegen mit steigendem Schalldruckpegel ab und die Feuerrate sank sogar unter die Spontanrate.

Als der IF-Ton von einem überschwelligen CF-Ton (10 dB über der Schwelle) begleitet wurde (Zweitton-Stimulation, Abbildung 26 G, H und I), wurde diese Beobachtung noch deutlicher. Der phasische Anteil nahm etwa wie bei der Eintön-IF-Stimulation mit steigendem Schalldruckpegel zu, aber die Abnahme des tonischen Teils der Antwort war viel stärker ausgeprägt als bei der Eintön-Stimulation.

Ähnliche Ergebnisse wurden bei weiteren 14 Messungen beobachtet, wo dieses Messprotokoll in inhibitorischen Regionen durchgeführt wurde, die innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes liegen.

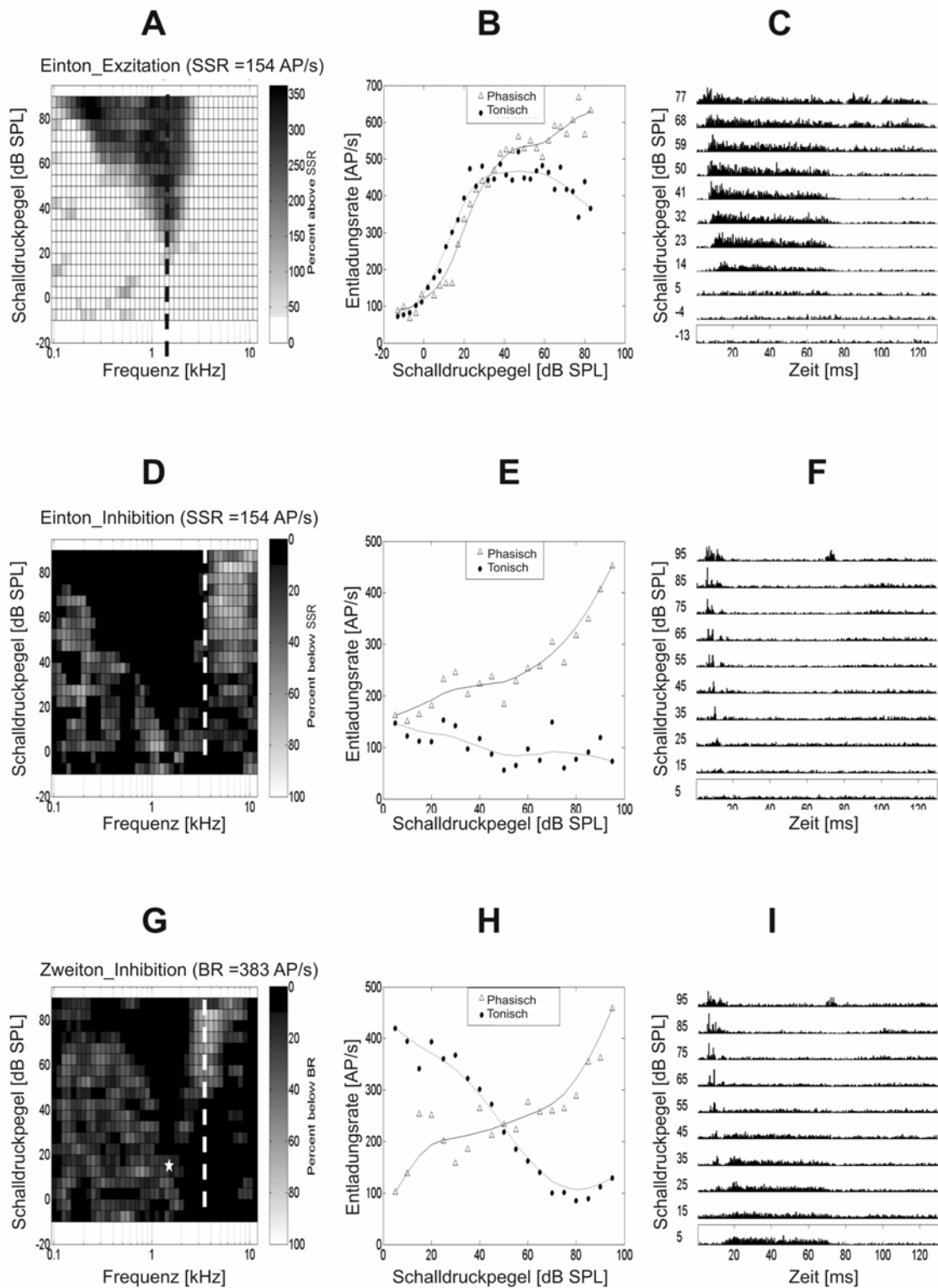


Abbildung 26: Eigenschaften von Intensitätskennlinien innerhalb des inhibitorischen Antwortfeldes. Die linke Spalte zeigt das exzitatorische Antwortfeld (A), das Antwortfeld der Einton-Inhibition (D) und das Antwortfeld der Zweiton-Inhibition (G). Die mittlere Spalte zeigt die Intensitätskennlinien derselben Ableitung bei der CF (B), bei einer Frequenz innerhalb des inhibitorischen Antwortfeldes, wie dargestellt mit Hilfe der weißen Linien (E) und bei dieser Frequenz aber in Begleitung eines überschwelligen CF-Tons (H). Die Intensitätskennlinien sind für zwei Teile der neuronalen Antwort getrennt dargestellt: phasisch (0-15 ms) und tonisch (20-

65 ms). Die rechte Spalte zeigt die PSTHs (50 Wiederholungen, bin-breite 0.4 ms) zu den Intensitätskennlinien, die in der mittleren Spalte dargestellt sind. Die schwarze Linie in A zeigt wo die Messung der Intensitätskennlinie in B durchgeführt wurde. Die weiße Linie in D und E zeigt wo die Messungen der Intensitätskennlinie in E und H durchgeführt wurden. Das weiße Sternchen in G verweist auf den Schalldruckpegel und die Frequenz des CF-Tons, der bei der Zweitton-Stimulation in H und I verwendet wurde.

2. Physiologische Charakteristika des ICc in hörgeschädigten Chinchillas

Nachdem die Chinchillas mit Carboplatin behandelt wurden, zeigten die Tiere deutliche Gewichtsverluste und mussten, wie in der Methode beschrieben (Abschnitt. 9), für eine bis zwei Wochen täglich versorgt werden.

Eine eintretende Hörschädigung wurde durch die Messung der Hirnstammpotentiale (ABR) geprüft. Schon 2-7 Tage nach der Carboplatin-Behandlung wurden eindeutige Abnahmen der Amplituden der ABR-Wellen gemessen (Abbildung. 27). Die Amplituden der Wellen nahmen in der Regel bis zu 2 Wochen nach der Carboplatin-Behandlung weiter ab.

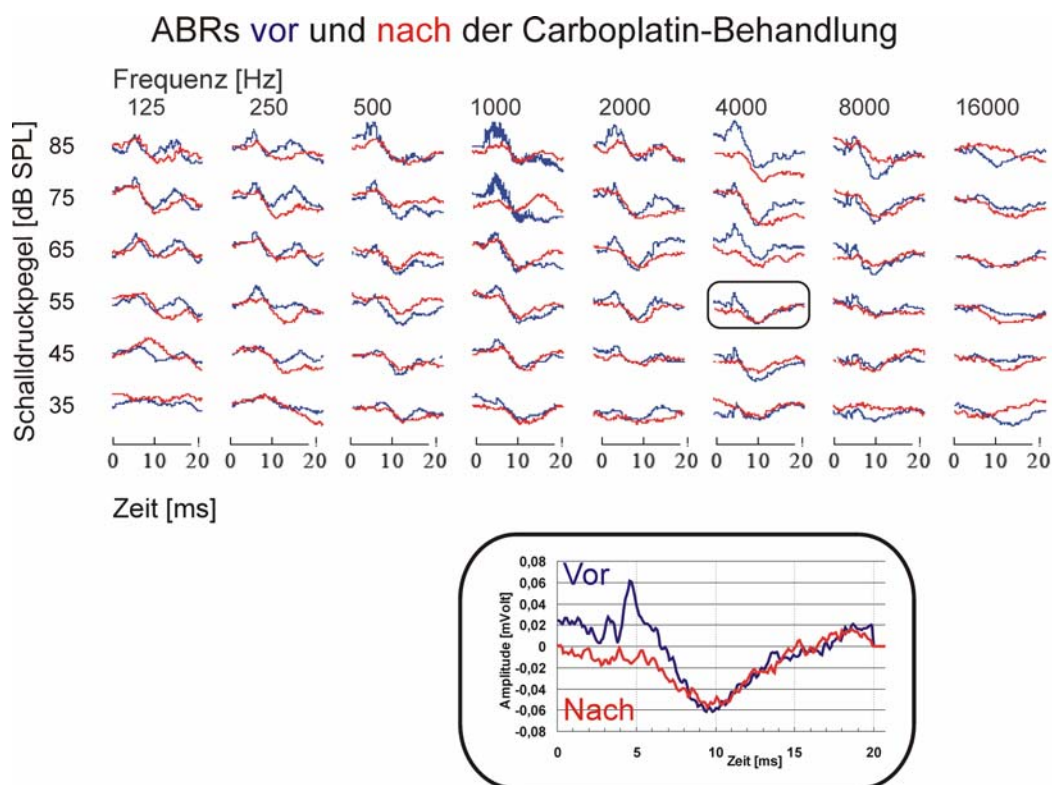


Abbildung 27: Hirnstammpotentiale (ABRs) vor (Blau) und 90 Tage nach (Rot) der Behandlung mit Carboplatin. Beide Messungen wurden am selben Tier mit denselben Stimulusparadigmen durchgeführt; 10 ms langer Sinuston mit einer Anstieg- und Abfallflanke von 1 ms, Filterbandbreite 10-3300 Hz, 512 Mittelungen. Im Bild ist unten ein kleiner Ausschnitt des Audiogramms exemplarisch vergrößert dargestellt.

2.1 Histologische Nachweise der Hörschädigung

A. Übersicht über den Zustand der Haarzellen

Die mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI angefärbten Zellkerne der Haarzellen und der benachbarten Zellen (Stützzellen, Pfeilerzellen und anderer Zelltypen) konnten mit dem Fluoreszenzmikroskop gut identifiziert werden. Die Kerne der IHZ konnten aufgrund ihrer Lage, Größe und ihres Farbtons unterschieden werden. Die ÄHZ konnten eher durch ihre Anordnung in drei Reihen identifiziert werden. Die Bilder in Abbildung 15 geben eine Vorstellung über den Zustand der IHZ und ÄHZ in den Kontroll- und in den mit Carboplatin behandelten Tieren. Da die IHZ und die ÄHZ auf unterschiedlichen Ebenen in der Cochlea liegen, ist es schwierig, scharfe mikroskopische Bilder von beiden Haarzelltypen gleichzeitig zu bekommen. IHZ oder ÄHZ sind daher in diesen Abbildungen unscharf abgebildet.

B. Cochleogramme der inneren Haarzellen

In diesem Abschnitt werden die Cochleogramme von Kontrolltieren sowie von den mit Carboplatin behandelten Versuchstieren gezeigt, um einen Überblick über den Schädigungsgrad der IHZ im Innenohr durch Carboplatin zu haben.

Alle mit Carboplatin behandelten Tiere zeigen Verluste der IHZ. Der Schädigungsgrad variierte bei den Tieren stark (Abbildung 28). Aus den Cochleogrammen wird ersichtlich, dass über die Länge der Basilarmembran kein deutlicher systematischer Gradient in den Haarzellverlusten existiert, die Verluste sind jedoch im Apex etwas geringer als im mittleren Bereich. Die extrem hohen Frequenzen an der Basis (> 10 kHz) sind regelmäßig am geringsten geschädigt.

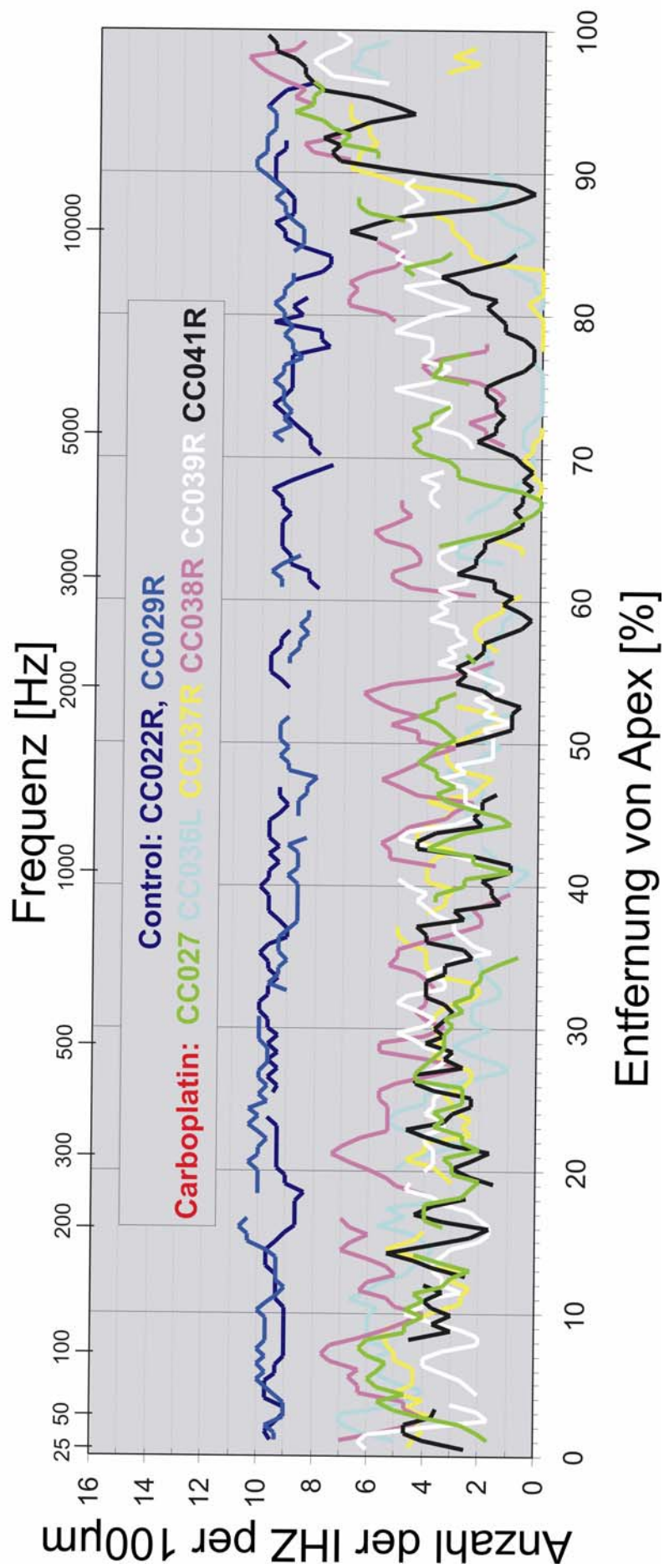


Abbildung 28: IHZ-Cochleogramme von 2 Kontrolltieren und 6 Carboplatin-behandelten Tieren. Die y-Achse zeigt die Anzahl der IHZ/100 µm entlang der Längsachse der Basilarmembran. Die x-Achse zeigt die Entfernung vom Apex (%), auf der oberen Skala sind die hier repräsentierten Frequenzen (Nach Eldredge 1981) angezeigt.

2.2 Die Effekte auf die Antworteigenschaften der Neurone im ICc

Nach der Behandlung mit Carboplatin, in der Regel nach 4-6 Wochen, wurden die elektrophysiologischen Messungen an den jeweiligen Tieren mit den gleichen stereotaktischen Koordinaten im ICc wie vor der Behandlung des jeweiligen Tieres wiederholt, so dass die Effekte der Hörschädigung auf die neuronalen Antworteigenschaften im ICc in jedem einzelnen Tier ermittelt werden konnten.

A. Tonotopie im ICc nach Carboplatinbehandlung

Alle Tiere zeigten, unabhängig vom Grad des IHZ-Verlustes, eine unveränderte tonotope Repräsentation der CFs im ICc (Abbildung 29, A). Auch die Verteilung der CFs der Neurone vor und nach dem Teilverlust der IHZ ist unverändert (Abbildung 29, B).

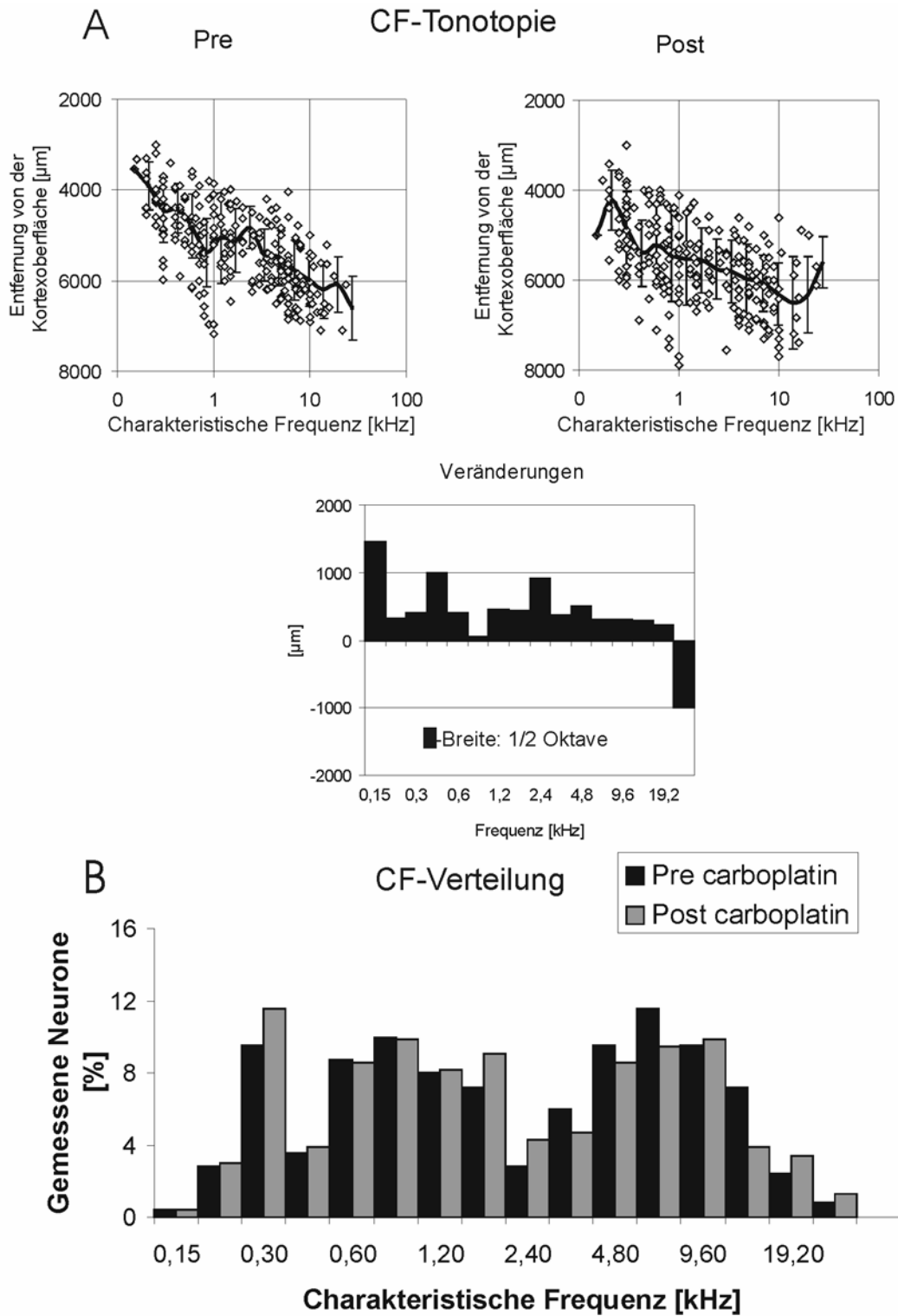


Abbildung 29: (A) Die tonotopie Representation der CFs im ICc vor („Pre“) und nach („Post“) der Carboplatinbehandlung, sowie die Differenz (Histogramm „Veränderungen“ in A). Die Differenzen in den einzelnen Bins des Histogramms in A sind nicht signifikant (t-Tests für jedes Bin). (B) Die Häufigkeitsverteilung der CFs vor („Pre“) und nach („Post“) Carboplatinbehandlung. Die Verteilungen sind nicht signifikant verschieden (Mann-Whitney U-test)

B. CF-Schwellen nach Carboplatinbehandlung

Die Mittelwerte der CF-Schwellen waren 9.16 ± 9.24 vor und 14.49 ± 11.33 nach der Carboplatin-Behandlung. Diese Zunahme war hoch signifikant (U-Test, $p > 0.001$). In Abbildung 30 sind die CF-Schwellen von 210 Mehrzelleableitungen dargestellt, die in stereotaktisch vergleichbaren Ableitstellen im ICc vor und nach der Carboplatin-Behandlung bestimmt wurden. Die Darstellung der Veränderungen der CF-Schwellen nach der Carboplatinbehandlung in einzelnen Frequenzintervallen (Histogramm in Abbildung 27 rechts) zeigt anhand der Sternchen dass signifikante Veränderungen (U-Test, $p < 0,05$) vorwiegend im Frequenzbereich von 5 bis 10 kHz aufgetreten sind.

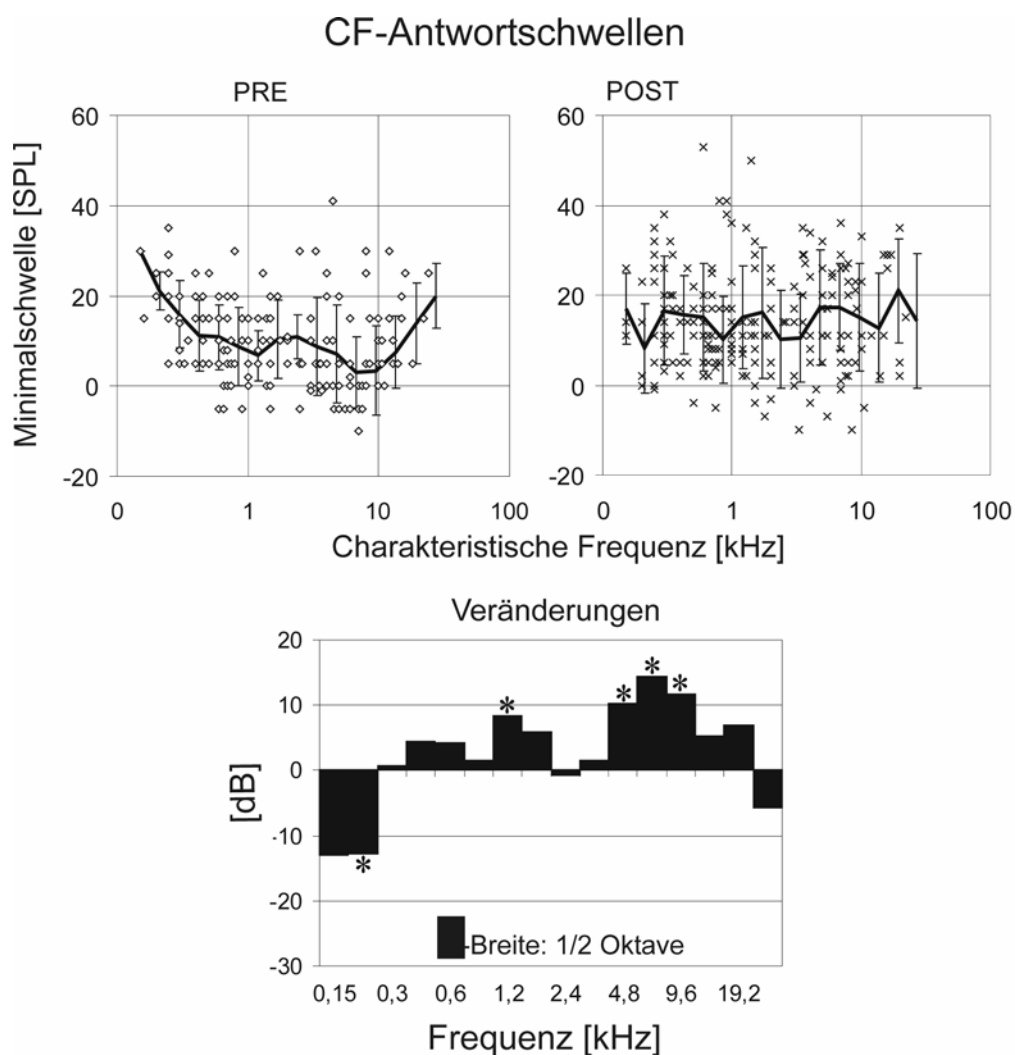


Abbildung 30: Abhängigkeit der CF-Schwellen von der CF vor (links) und nach der Behandlung mit Carboplatin (Mitte). Die Veränderungen der CF-Schwellen durch die Carboplatin-Behandlung sind unten abgebildet. Die Sternchen zeigen auf die Frequenzbereiche, in denen signifikante Veränderungen festgestellt wurden.

C. Die exzitatorischen Antwortfelder nach Carboplatinbehandlung

Für die Mehrzelleitungen erfolgte eine Gegenüberstellung der exzitatorischen Antwortfelder vor und nach dem IHZ-Verlust. Die exzitatorischen Antwortfelder waren nach dem IHZ-Verlust generell ausgedehnter. Die Ausdehnung der exzitatorischen Antwortfelder erfolgte, bezogen auf die CF, sowohl an der niederfrequenten als auch an der hochfrequenten Seite. Dementsprechend wurden mehr exzitatorische Antwortfelder des Types 2 (Breit) nach dem IHZ-Verlust gemessen.

In der Abbildung 31 sind 6 exzitatorische Antwortfelder (Typ 2) jeweils vor und nach dem IHZ-Verlust dargestellt, die an stereotaktisch vergleichbaren Ableitstellen gemessen wurden. Hier ist deutlich zu sehen, dass erhöhte Entladungsraten innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder nach dem IHZ-Verlust zu verzeichnen sind.

Nach dem IHZ-Verlust wurden mehr Typ 2 MUs (70% vs. 49%) und SUs (45% vs. 38%) und weniger Typ1 MUs (29% vs. 47%) sowie SUs (35% vs. 43%) gemessen als vorher. Typ 3 MUs waren nach dem IHZ-Verlust auch reduziert (1% vs. 4%), Typ 3-SU waren dagegen leicht erhöht (20% vs. 19%). Abbildung 32 zeigt schematisch die drei Typen der exzitatorischen Antwortfelder mit dem prozentualen Anteil jedes Typs sowohl vor (PRE) als auch nach (POST) dem IHZ-Verlust für Mehrzellen (MU) sowie für die Einzelzellen (SU).

In Abbildung 33 sind die Werte Q10, Q25 und Q40 dB der exzitatorischen Antwortfelder in Abhängigkeit ihrer CF jeweils vor und nach dem IHZ-Verlust aufgetragen. Die Veränderungen in dieser Abbildung links zeigen deutlich eine Abnahme dieser Werte, die zum Teil statistisch (U-Test, $p < 0,05$) signifikant ist.

In derselben Abbildung ist die Steilheit der hoch- und niederfrequenten Flanke in Abhängigkeit ihrer CF aufgetragen (D und E). Die Steilheit der hochfrequenten Flanke hat bei den hohen CFs signifikant abgenommen und die Steilheit der niederfrequenten Flanke hat bei mittleren und hohen CFs (1-20 kHz) signifikant zugenommen. Beide Parameter zeigen somit eine Ausdehnung der exzitatorischen Antwortfelder an beiden Seiten nach dem IHZ-Verlust.

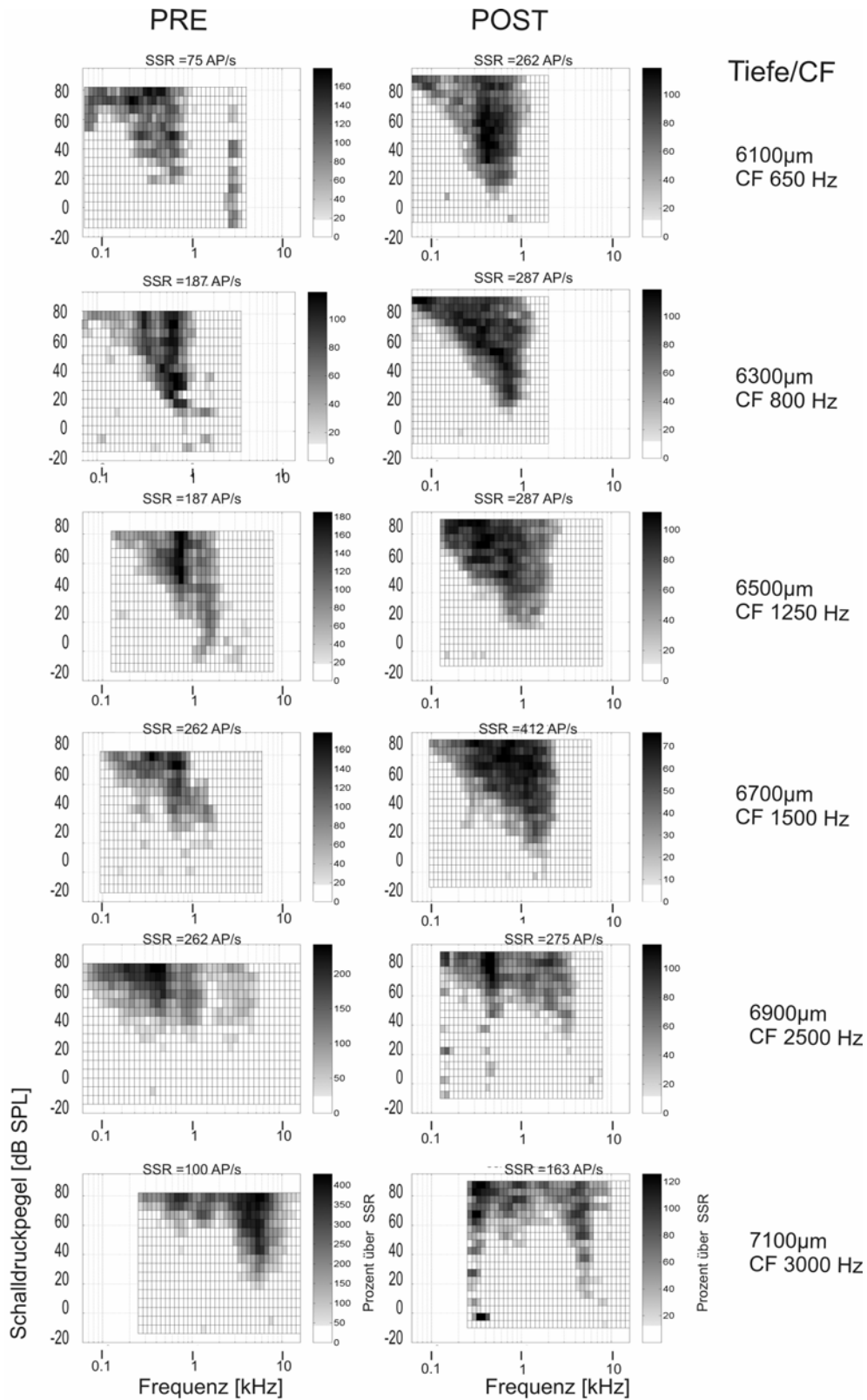


Abbildung 31: Beispiele für einzelne exzitatorische Antwortfelder vor (PRE, links) und nach (POST, rechts) dem IHz-Verlust von Mehrzelleitungen in ähnlicher Ableitstelle im ICc von demselben Tier. Beide Ableitungen (PRE und POST) repräsentieren Antwortfelder in verschiedenen dorso-ventralen Penetrationstiefen. In dieser Abbildung gehören die exzitatorischen Antwortfelder (der Klassifizierung nach) zu Typ 2 (Breit).

Exzitatorische Antwortfelder

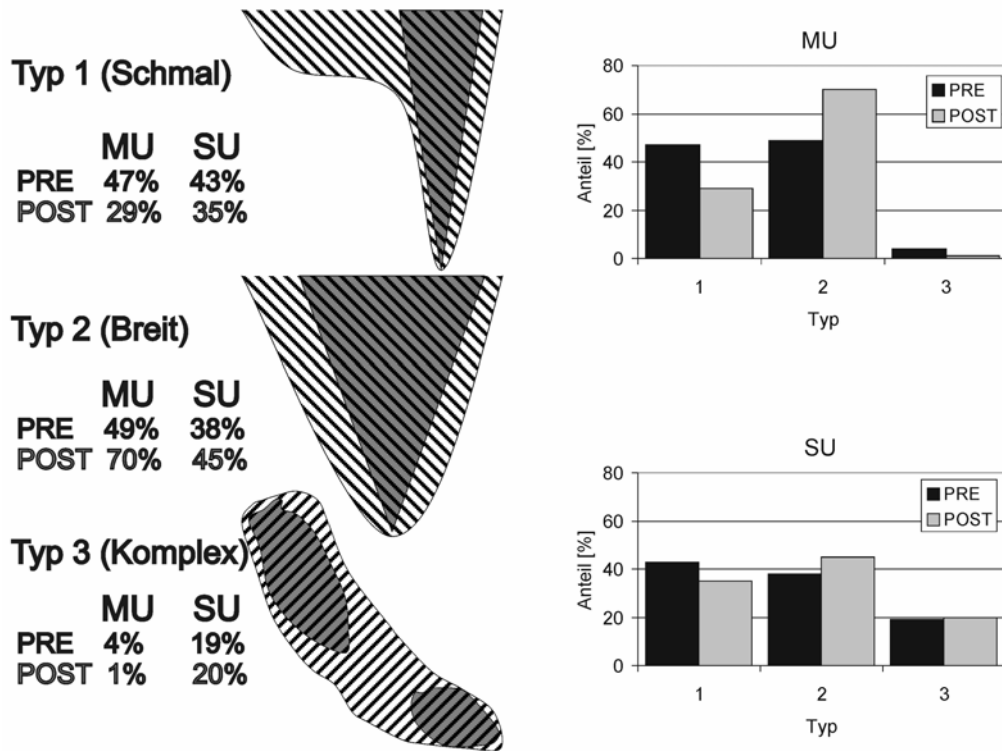


Abbildung 32: Schematische Darstellung der drei exzitatorischen Antworttypen (Schwarz, Variationen der exzitatorischen Antwortfelder innerhalb desselben Typs sind als Schattierung dargestellt), die bereits klassifiziert wurden; Schmal, Breit und Komplex. In der Abbildung ist der prozentuale Anteil jedes einzelnen Typs, sowohl für Mehrzelleitungen (MU) als auch für Einzellen (SU), vor (PRE, schwarz) als auch nach (POST, grau) der Carboplatin-Behandlung angegeben und rechts als Histogramm dargestellt.

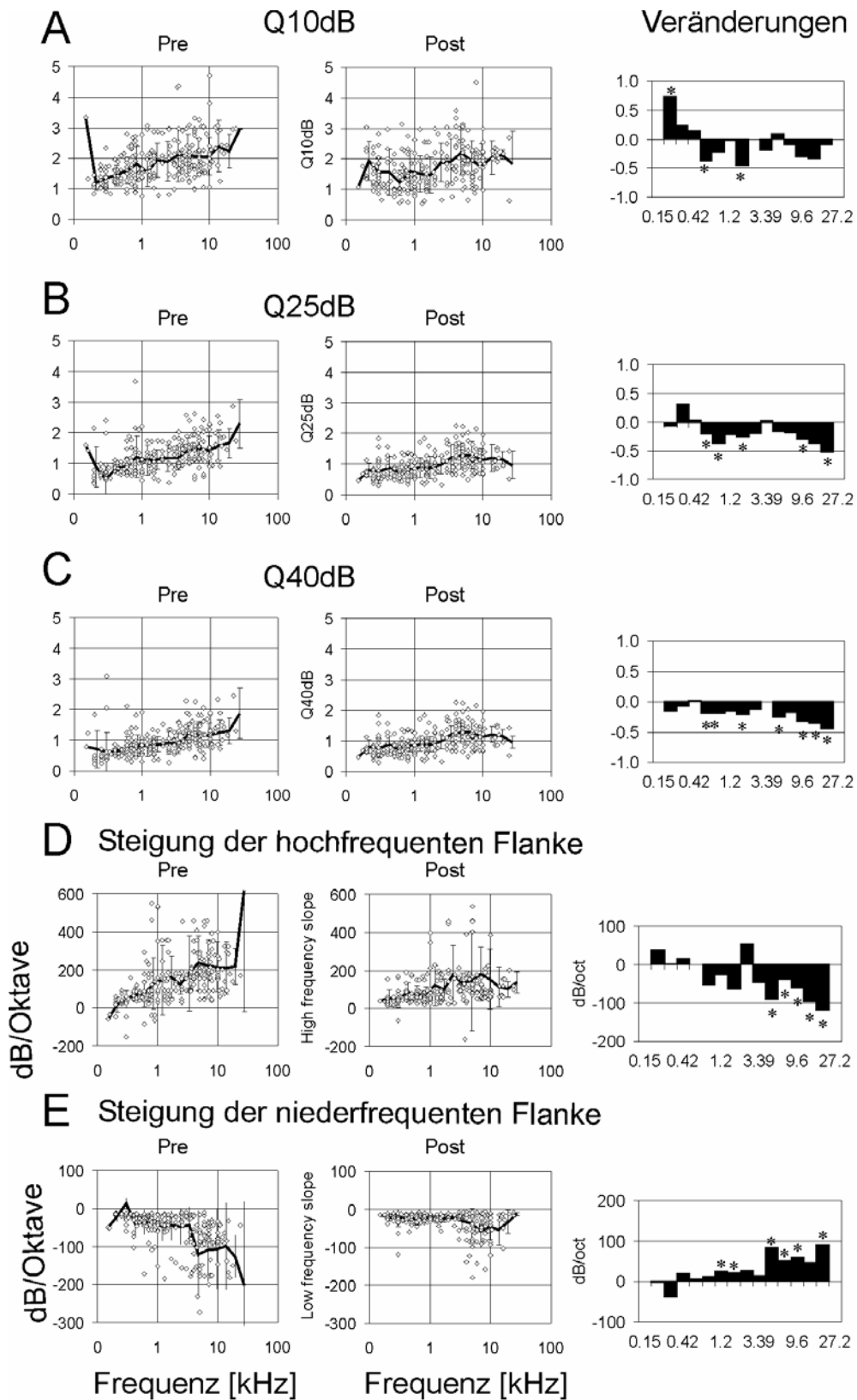


Abbildung 33: A-C: Q-10, 25 und 40dB Werte in Abhängigkeit der CF vor (linke Spalte) und nach (mittlere Spalte) der Carboplatin-Behandlung. D. Steigung der hochfrequenten Flanke in Abhängigkeit der CF vor (linke Spalte) und nach (mittlere Spalte) der Carboplatin-Behandlung. E. Steigung der niederfrequenten Flanke in Abhängigkeit der CF vor (linke Spalte) und nach (mittlere Spalte) der Carboplatin-Behandlung. Die Veränderungen nach der Carboplatin-Behandlung sind rechts für jeden einzelnen Parameter gezeigt.

D. Die inhibitorischen Antwortfelder nach Carboplatinbehandlung

Ebenso wie bei den exzitatorischen Antwortfeldern, erfolgte für die Mehrzellableitungen auch eine Gegenüberstellung der inhibitorischen Antwortfelder vor und nach dem IHZ-Verlust.

Die Abbildung 34 zeigt 6 inhibitorische Antwortfelder jeweils vor und nach dem IHZ-Verlust, die an den stereotaktisch ähnlichen Ableitstellen mit Hilfe des Zweitton-Stimulus-Paradigmas gemessen wurden. Diese inhibitorischen Antwortfelder gehören zu den exzitatorischen Antwortfeldern, die in Abbildung 31 gezeigt sind. Aus dieser Abbildung ist deutlich zu sehen, dass die inhibitorischen Regionen (Gruppe 2, Asymmetrische Inhibition) nach dem IHZ-Verlust stark reduziert sind.

Abbildung 35 zeigt schematisch die 5 Gruppen der inhibitorischen Antwortfelder, die bereits klassifiziert wurden. In der Abbildung ist auch die prozentuale Häufigkeit jeder Gruppe vor und nach dem IHZ-Verlust für MUs sowie für SUs gezeigt.

Nach dem Verlust der IHZ wurden folgende Veränderungen in der Häufigkeit der inhibitorischen Gruppen registriert:

1. Seitenband-Inhibition, die in den Kontrolltieren in 16% (MU), bzw. in 6% (SU) der Ableitungen beobachtet wurde, wurde nach Carboplatinbehandlung überhaupt nicht mehr beobachtet.
2. Die Häufigkeit der MUs mit asymmetrischer Inhibition nahm leicht zu (45.5% vs. 40.8%), bei den SUs dagegen leicht ab (40% vs. 44%). Die Änderungen sind nicht signifikant
3. Die Häufigkeit der MUs mit komplexer Inhibition nahm drastisch ab (0.4% vs. 5%), bei den SUs dagegen nur leicht ab (6% vs. 8%).
4. Die Häufigkeit der MUs mit Inhibition innerhalb ihrer exzitatorischen Antwortfelder nahm ab (23.6% vs. 28%), auch bei den SUs (28% vs. 34%).
5. Die Häufigkeit der MUs sowie der SUs mit schwacher oder ohne Inhibition stieg stark an, MUs (30% vs. 11%), SUs (14% vs. 9%).

Insgesamt zeigen die Veränderungen, abgesehen von Gruppe 2, eine Abnahme der inhibitorischen Antwortfelder.

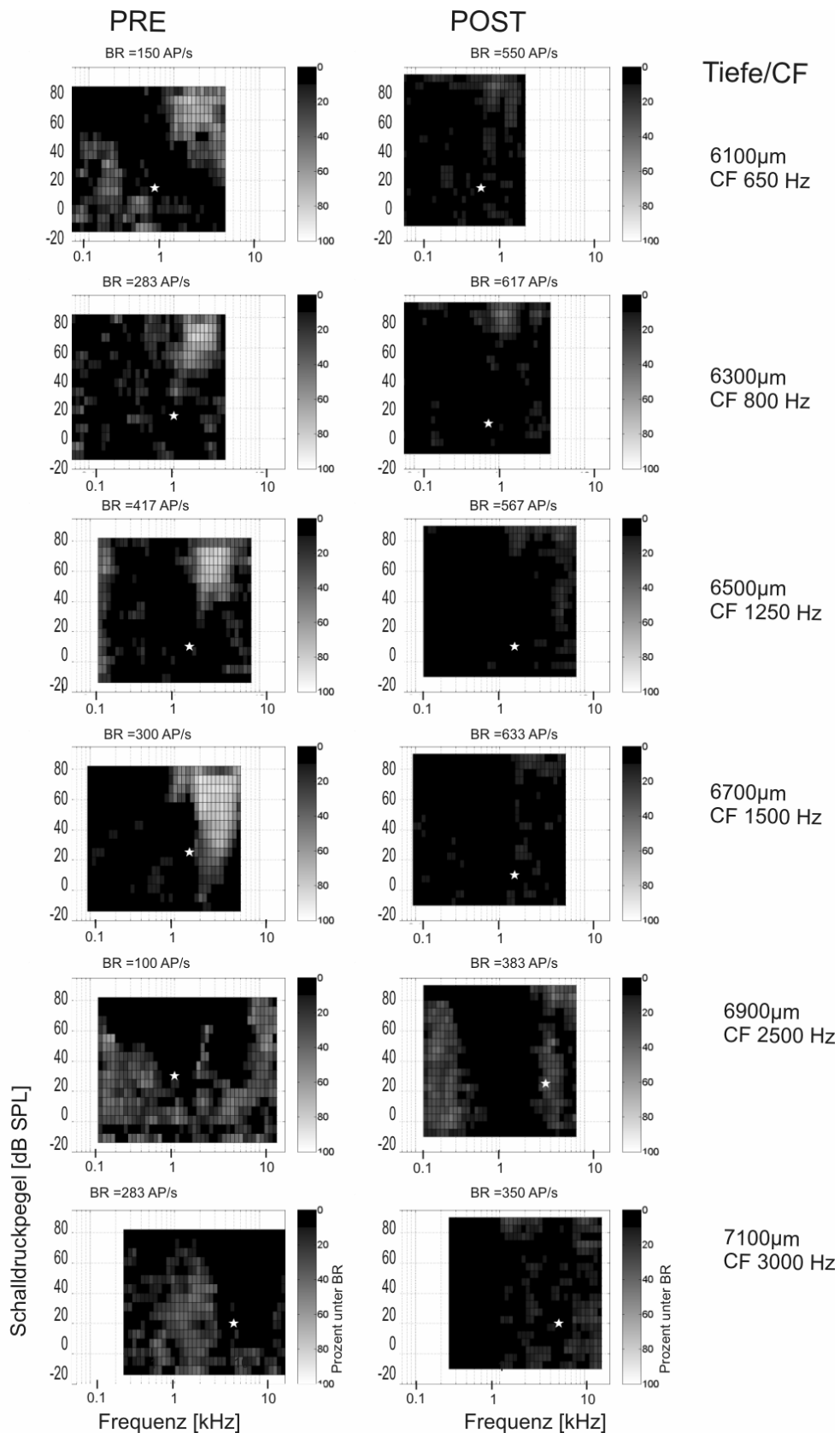
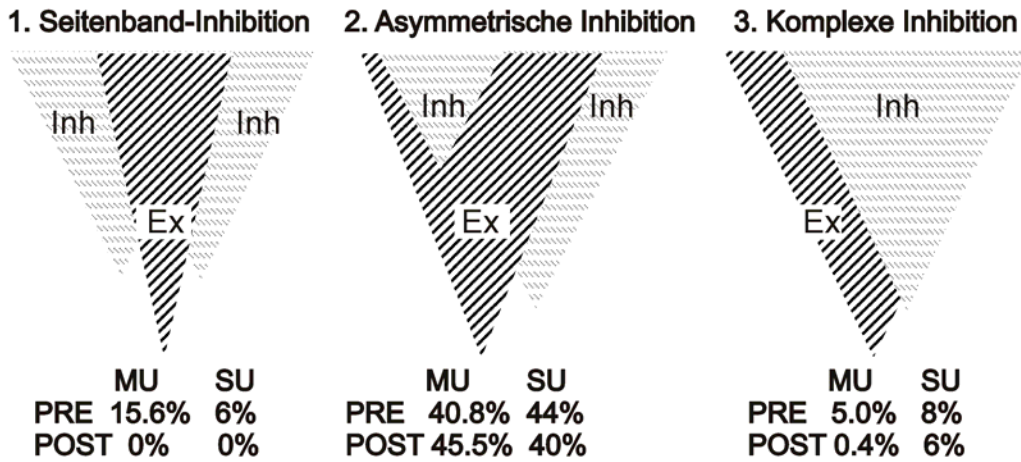
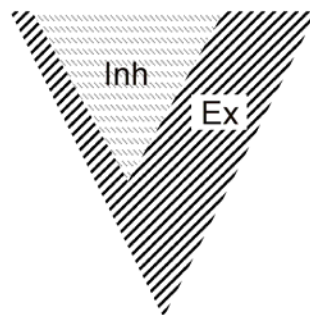


Abbildung 34: Beispiele für einzelne inhibitorischen Antwortfelder vor (PRE, links) und nach IHZ-Verlust (POST, rechts) von Mehrzellableitungen in vergleichbaren Ableitstellen im ICc von demselben Tier. Beide Ableitungen (Pre und Post) repräsentieren Antwortfelder in verschiedenen dorso-ventralen Penetrationstiefen von ca. 1 mm. In dieser Abbildung gehören inhibitorischen Antwortfelder zu den exzitatorischen Antwortfeldern aus Abbildung 31.

Inhibitorische Antwortfelder



4. Inhibition innerhalb



MU	SU
PRE 28.0%	PRE 34%
POST 23.6%	POST 28%

5. Schwache Inhibition



MU	SU
PRE 11.0%	PRE 9%
POST 30.5%	POST 14%

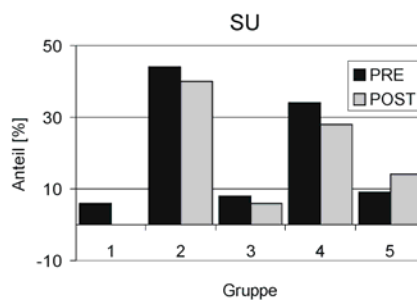
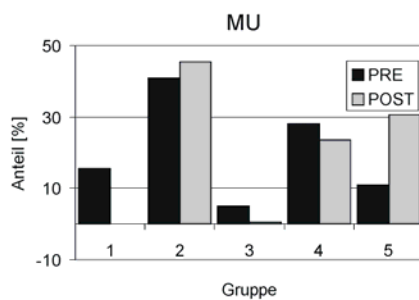


Abbildung 35: Schematische Darstellung der fünf klassifizierten inhibitorischen Gruppen mit der Angabe über die prozentualen Häufigkeit jeder Gruppe vor (PRE) und nach (POST) dem IHZ-Verlust für Mehrzellableitungen (MU) sowie für die Einzellen (SU). Die Häufigkeit der einzelnen 5 Gruppen ist unten als Histogramm dargestellt. Die hell schraffierten Flächen repräsentieren die inhibitorischen Antwortflächen (Inh), die dunkel schraffierten Flächen repräsentieren die exzitatorischen Antwortflächen (Ex).

E. Intensitätskennlinien nach Carboplatinbehandlung

Nach dem durch Carboplatin-Behandlung verursachten Teilverlust der IHZ über die Gesamtlänge der Basilarmembran wurden viel weniger Nichtmonotone Kennlinien beobachtet (35% vs. 61%). Dementsprechend war eine Zunahme der Anzahl der monotonen (33% vs. 16%) sowie der sättigenden (32% vs. 23%) Kennlinien zu verzeichnen.

Der Vergleich der Intensitätskennlinien der Neurone im ICc zeigt außerdem, dass beide Parameter, die als Maß für die Stärke der Inhibition verwendet wurden (1- prozentualen Abnahme vom Maximum, 2- die Steigung dieser Abnahme) bei den nicht-monotonen Kennlinien reduziert waren (Abbildung 36).

Der Verlust der IHZ führte vor allem zu signifikanter Reduktion der prozentualen Abnahme vom Maximum bei den niedrigeren Frequenzen (0.2-2 kHz). Vor der Behandlung mit Carboplatin wurde eine signifikante Korrelation ($R=-0.21$, $p<0.01$) dieses Parameters mit der CF festgestellt. Nach der Behandlung mit Carboplatin konnte dagegen keine signifikante Korrelation festgestellt werden.

Der Verlust der IHZ führte aber nur in einem kleinen Frequenzbereich (0.2-0.3 kHz) zu signifikanter Reduktion der Steigung dieser Abnahme. Bei den anderen Frequenzbereichen wurde eine nicht-signifikante Reduktion verzeichnet. Dieser Parameter wies keine signifikante Korrelation mit der CF auf ($R=0.11$, $p>0.05$).

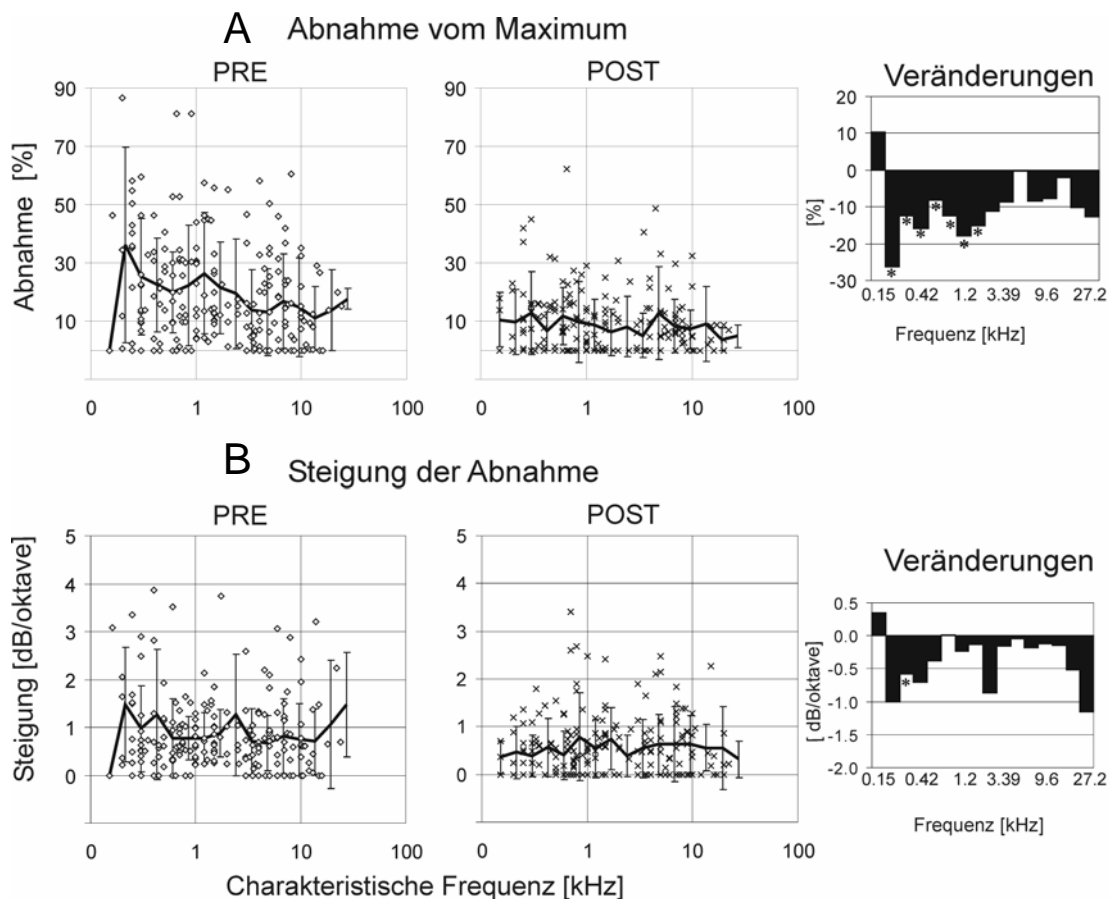


Abbildung 36: A. Abhängigkeit der prozentualen Abnahme vom Maximum von der CF vor (PRE) und nach der Carboplatin-Behandlung (POST) bei den nicht-monotonen Kennlinien. Die Veränderungen sind rechts abgebildet. B. Abhängigkeit der Steigung dieser Abnahme von der CF vor und nach der Carboplatin-Behandlung. Die Veränderungen bei den nicht-monotonen Kennlinien sind rechts abgebildet. Sternchen verweisen auf die Bereiche, wo signifikante Unterschiede festgestellt wurden.

Diskussion

1. Methodendiskussion

1.1 Elektrophysiologie am wachen Tier

Der Vorteil der in vivo Untersuchung der Antworteigenschaften der Neurone im ICc liegt darin, dass die Bahnverbindungen im Gehirn erhalten bleiben, und so die Wechselwirkung exzitatorischer und inhibitorischer Afferenzen und Efferenzen unbeeinträchtigt erfasst werden können. Die Untersuchung an wachen Tieren bietet den weiteren Vorteil, akustische Stimulation zur Charakterisierung der neuronalen Eigenschaften in normalem Neuronenverband ohne Narkoseartefakte einsetzen zu können.

Die verwendete Präparationsmethode (siehe Methoden), bei der ein chronischer Zugang zum Gehirn geschaffen wurde, erlaubte es über einen längeren Zeitraum (bis zu 5 Monate) in regelmäßigen Abständen vor und nach der Behandlung mit Carboplatin Mikroelektroden reproduzierbar in den ICc einzuführen und die Änderungen der neuronalen Aktivität zu verfolgen. Dadurch ergab sich den Vorteil, mit ein und demselben Versuchstier Experimente in mehreren Versuchssitzungen durchzuführen, und so die Zahl der Versuchstiere gering zu halten. Bei jedem Tier konnten die stereotaktischen Koordinaten ermittelt werden, die dann in den weiteren Ableitungen genutzt werden konnten, um Mehrzellaktivitäten in dem ICc mit großer Treffsicherheit zu erfassen.

1.2 Mehrzell- und Einzelzellantworten

Die Daten, die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegen, wurden mittels extrazellulärer Mehrzelleitungen erfasst, aus denen zum Teil Einzelzell-Antworten isoliert werden konnten. Die Unterscheidungskriterien bei dem Trennverfahren waren die Amplituden sowie die Latenzen der Aktionspotentiale. Meistens konnte nur eine einzige Einzell-Antwort aus der Mehrzell-Ableitung getrennt werden. Der Rest war eine „Hintergrundaktivität“, die mit dem verwendeten Verfahren nicht weiter trennbar war. Die „Hintergrundaktivität“ stellt die Aktivität von mehreren Zellen (schätzungsweise zwei bis drei) dar, die in einiger Entfernung der Ableitelektrode liegen und deshalb kleine Amplituden haben (Biebel, 1997). Biebel konnte in seiner Dissertation zeigen

dass die Einzellzell-Aktivität und die Hintergrundaktivität im ICc nach Bicucullin (GABA-Antagonist) gleichermaßen erhöht waren. Das lässt vermuten, dass hemmende Eingänge auf benachbarten Zellen im ICc ähnlich verschaltet sind. Diese Vermutung wird durch den Befund unterstützt, dass viele auditorische Kerne, wie die LSO, MSO und der DCN, zu bestimmten Orten in einer Lamina des ICc projizieren (Loftus et al., 2004). Die vorliegende Untersuchung bestätigt diese Vermutung in dem sie zeigt, dass sich die exzitatorische sowie inhibitorische Antwortfelder der getrennten Einzell-Antworten nicht von denen der Mehrzell-Antworten unterscheiden.

1.3 Wirkung von Carboplatin

In der vorliegenden Arbeit wurde Carboplatin eingesetzt, um bei Chinchillas einen Teilverlust der IHZ auszulösen. Dass Carboplatin sowie alle anderen Platinkomplexe (z.B. Cisplatin) bei Menschen und Tieren zu einem verminderten Hörvermögen führt, wurde zunächst an Patienten entdeckt, die wegen einer Tumorerkrankung mit einem der Platinkomplexe in Kombination mit anderen Zytostatika wie Vinblastin (Mottet et al., 1995) behandelt wurden. Während Carboplatin mit einer Dosis von 80-100 mg/kg bei Chinchilla selektiv die IHZ schädigt (Hofstetter et al., 1997b; Hofstetter et al., 1997a; Takeno et al., 1994a; Takeno et al., 1994b; Trautwein et al., 1996; Wake et al., 1994; Wang et al., 1997), werden bei den Meerschweinchen eher die ÄHZ geschädigt (Saito et al., 1989). Bei Ratten wurden nach der Carboplatinbehandlung mit derselben Dosierung weder morphologische noch physiologische Veränderungen festgestellt (Anzai et al., 1987).

Die Ursachen für die schädigende Wirkung von Carboplatin auf die IHZ in Chinchillas konnte bisher nicht geklärt werden. Es wurde aber berichtet, dass Carboplatin Veränderungen in den Enzymaktivitäten der inneren und äußeren Haarzellen bei den Chinchillas hervorruft (Ding et al., 1999). Neben den ototoxischen Effekten des Carboplatin auf die Cochlea wirkt Carboplatin neurotoxisch (Calvert et al., 1982), zerstört die Neurone des Spiralganglions (Takeno et al., 1998) und zerstört die afferenten Synapsen von auditorischen Neuronen (Ding et al., 1997). Direkte Einflüsse des Carboplatin auf Neurone des zentralen Nervensystems sind aber bisher nicht nachgewiesen. Fest steht aber, dass die Wirkung von Carboplatin bei Chinchillas sehr abhängig von der Dosierung ist; während eine Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht zu Schädigung beider Haarzelltypen im Innenohr führt, verursacht die in der vorliegenden

Arbeit verwendete Dosis von 80 mg eine Teilschädigung der IHZ unter Erhalt der ÄHZ (Hofstetter et al., 1997b).

1.4 Histologie der Haarzellen

Die histologischen Daten zeigten, dass die hier verwendete Carboplatin-Dosis (80 mg/kg Körpergewicht) ausreichend ist um eine selektive Schädigung der IHZ zu bewirken ohne dass die ÄHZ morphologisch erkennbar beschädigt werden.

Die mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI angefärbten Zellkerne der Haarzellen und der benachbarten Zellen (Stützzellen, Pfeilerzellen und anderer Zelltypen) konnten mit dem Fluoreszenzmikroskop untersucht werden. Die Kerne der IHZ konnten aufgrund ihrer Lage, Größe sowie ihres Farbtons gut identifiziert werden. Die ÄHZ konnten eher anhand ihrer Anordnung in drei Reihen erkannt werden.

Bei dieser Arbeit wurden nur die IHZ gezählt, gleichzeitig wurde bei der Zählung der IHZ auch geprüft, ob bei den drei Reihen der ÄHZ entlang der gemessenen Frequenz-Arealen auf der Basilarmembran irgendwelche Veränderungen festzustellen waren. Eine Schädigung der ÄHZ durch Carboplatin war eigentlich nicht zu erwarten, da einige Studien (Hofstetter et al., 1997a; Jock et al., 1996; Trautwein et al., 1996) zeigten, dass bestimmte elektrophysiologische Messgrößen, die nur von den ÄHZ abhängig sind wie Mikrofonpotentiale (CM) oder die otoakustischen Emissionen (DPOAEs), bei den mit Carboplatin behandelten Chinchillas kaum verändert waren. Die Dosis für eine mögliche Schädigung der ÄHZ muss höher als 200 mg/kg Körpergewicht sein (Hofstetter et al., 1997a), was fast dem Dreifachen der hier verwendeten Dosis entspricht.

Der Schädigungsgrad der IHZ variierte sowohl bei den Tieren als auch beim selben Tier entlang der Längsachse seiner Basilarmembran ohne einen systematischen bzw. frequenzabhängigen Gradienten. Da der Wirkmechanismus von Carboplatin noch unbekannt ist, gibt es bis lang keine Erklärung für die unterschiedliche Empfindlichkeit der IHZ. Auch aus der Literatur ist bekannt, dass kein systematischer Gradient des IHZ-Verlustes nach der Carboplatin-Behandlung existiert (Hofstetter et al., 1997b; Hofstetter et al., 1997a; Takeno et al., 1994a; Takeno et al., 1994b; Trautwein et al., 1996; Wake et al., 1994; Wang et al., 1997). Andere ototoxische Substanzen z.B. Aminoglycoside verursachen dagegen einen höheren Verlust der Haarzellen in der Basis der Cochlea (Forge und Schacht, 2000).

Die ungleichmäßige Schädigung der IHZ entlang der Basilarmembran in der vorliegenden Arbeit brachte den Vorteil, feststellen zu können, dass Haarzellschäden und somit physiologische Veränderungen frequenzunabhängig sind. Der Vergleich der Daten aus einzelnen Tieren zeigte, trotz Variationen im Haarzellverlust, ähnliche Resultate wie die Daten aus allen Tieren zusammen.

2. Antwortheigenschaften der Neurone im ICc in normalhörenden Chinchillas

2.1 Die exzitatorischen Antwortfelder

In der vorliegenden Arbeit erfolgte eine Freifeld-Beschallung über einen großen Lautsprecher, der auf der rechten Seite (Winkel 45°, Entfernung 40 cm) des Versuchstieres positioniert war. Diese starke kontralaterale und schwache ipsilaterale Beschallung sollte eine Erregung aller Neurone im ICc bewirken (McAlpine et al., 1996).

In der vorliegenden Arbeit wurden die exzitatorischen Antwortfelder von 250 Mehrzelleitungen sowie von 47 Einzellzellen gemessen. Nach einer qualitativen Analyse (visuelle Betrachtung der Antwortfelder) wurden die exzitatorischen Antwortfelder in zwei Hauptklassen klassifiziert, nämlich Komplexe und Nichtkomplexe. Das „komplexe“ Antwortfeld (Typ 3) unterscheidet sich deutlich von allen anderen exzitatorischen Antwortfeldern durch einen kleinen Erregungsbereich bei niedriger Lautstärke und durch starke Inhibition bei hohen Lautstärken. Hier konnte die CF schwer bestimmt werden. Die Messung der Intensitätskennlinien bei der CF solcher Neurone mit diesem komplexen Antwortfeld zeigte immer einen nichtmonotonen Verlauf der Entladungsraten bei steigender Lautstärke.

Die restlichen „Nichtkomplexen“ exzitatorischen Antwortfelder waren viel schwieriger qualitativ in Klassen einzuteilen. Daher wurden verschiedene quantitative Parameter (CF, Q10, 25 und 40dB, die Steilheit beider Flanken der exzitatorischen Antwortfelder) für die Klassifizierung verwendet. Die Antwortfelder ließen sich mithilfe einer statistischen Analyse (Regression tree classification, Wilkinson 2004), in einem Statistik-Programm (SYSTAT 11 Software Inc., USA) am besten klassifizieren durch den Parameter Steilheit der Tuningkurve-Flanke bei den höheren Frequenzen. Ein Wert von 140 dB/Oktave wurde bei der Analyse als Kriterium festgelegt. Alle anderen

Parameter zeigten eher ein Kontinuum, ähnlich den Befunden bei Ratten (Hernandez et al., 2005). Die „klassische Klassifizierung“ der Neurone nach wenigen Kombinationsmustern von exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfeldern (Egorova et al., 2001; Le Beau et al., 2001; Ramachandran et al., 1999) konnte bei der vorliegenden Untersuchung nicht verwendet werden, da oft die Neurone ähnliche exzitatorische aber unterschiedliche inhibitorische Antwortfelder (und umgekehrt) zeigten. Dies bedeutet dass die Inhibition nicht immer die Form der exzitatorischen Antwortfelder beeinflusst. Nach Le Beau et al. (2001) und Palombi und Caspary (1996a) führt die Blockade von inhibitorischen Transmittern (GABA und Glyzin) auch nicht immer zu Veränderungen der exzitatorischen Antwortfeldern. Aus diesem Grund wurden die exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder bei dieser Studie getrennt klassifiziert.

Die drei hier klassifizierten exzitatorischen Antwortfelder (Komplex, Schmal und Breit) im ICc der Chinchillas wurden auch bei anderen Spezies beschrieben; bei wachen dezerebrierten Katzen (Ramachandran et al., 1999), bei narkotisierten Mäusen (Egorova et al., 2001) und narkotisierten Meerschweinchen (Le Beau et al., 2001).

Aufgrund der Ähnlichkeit dieser Antwortfelder mit solchen in niedrigeren Stationen der Hörbahn kann spekuliert werden, dass Typ 1 Neurone (Schmal) ihre exzitatorische Eingänge vorwiegend aus der LSO (Caird and Klinke, 1983), Typ 2 Neurone (Breit) dagegen aus der MSO (Goldberg and Brown, 1969), und Typ 3 (Komplex) aus dem DCN (Spirou and Young, 1991) erhalten (Davis, 2002).

In der Literatur wird ein weiteres exzitatorisches Antwortfeld genannt, das mehrere CFs aufweist und somit oft als W-förmiger Typ bezeichnet wird (Egorova et al., 2001). In der vorliegenden Studie wurden solche Antwortfelder mit zwei CFs nur in zwei Mehrzelleitungen gefunden. In beiden Fällen war die Antwort auf eine der CFs während der Ableitung von kurzer Lebensdauer. Dies liegt vermutlich darin, dass an dieser Zell-Antwort mindestens zwei Neurone beteiligt waren. Da aber alle Neurone innerhalb einer Lamina ähnliche CFs haben, könnte diese Mehrzell-Antwort, mit Zwei CFs, aus Neuronen von verschiedenen Laminae stammen. Die Antwortfelder vieler Neurone können außerdem einen Ausläufer (eng. tail) bei niedrigeren Frequenzen (< CF) besitzen, der in einigen Fällen eine niedrige Schwelle hat und der als eine zweite CF angesehen werden könnte.

Für die unterschiedlichen Beschreibungen und Klassifizierungen der exzitatorischen Antwortfelder kommen folgende Erklärungen in Frage: 1) Die Art der untersuchten

Spezies, 2) Der Zustand der untersuchten Tieren (wach, narkotisiert oder dezerebriert)
3) Die Art der Stimulation (binaural, ipsilateral oder kontralateral), die die Erregung der Neurone unterschiedlich beeinflusst (Davis et al., 1999).

Die Ähnlichkeit der exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder in verschiedenen dorso-ventralen Tiefen in bestimmten medio-lateralen Positionen im ICc deutet die Präsenz dorso-ventraler funktioneller Kolumnen an. Diese Ähnlichkeit lässt sich vielleicht durch ähnliche exzitatorische und inhibitorische Eingänge in bestimmte Orten auf einer Lamina erklären. Diese Erklärung wird durch die Befunde unterstützt, dass die LSO, MSO und die DCN zu unterschiedlichen Orten einer Lamina im ICc projizieren (Loftus et al., 2004) und dass diese bestimmte Orte in der Lamina vorwiegend auch funktionelle Eingänge erhalten, z.B. von breit abgestimmten Neurone der MSO, schmal abgestimmten Neurone aus der LSO und von komplexen Neurone vom DCN (Davis, 2002).

Die Präsenz auditorischer Karten für unterschiedliche Antwort-Parameters wurde mehrfach für den ICc beschrieben, z.B. für die exzitatorischen Antwortfelder (Ehret et al., 2003), Antwortschwellen (Stiebler, 1986) sowie für Latenzen und bevorzugte Modulationsrate (Langner and Schreiner, 1988). Die anatomischen und physiologischen Befunde führen zur Annahme, dass jede Isofrequenzfläche im ICc unterschiedliche funktionelle Module mit speziellen exzitatorischen und inhibitorischen Eingängen umfassen könnte.

2.2 Die Inhibition

Die postsynaptische neuronale Inhibition beruht auf der Aktivierung inhibitorischer Interneurone und der damit verbundenen Ausschüttung inhibitorischer Transmitter an der Zielzelle und kann in den extrazellulären Ableitungen als Reduzierung der spontanen oder evozierten Aktivität beobachtet werden.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Präsentation der akustischen Signale bei der Freifeldbeschallung am kontralateralen Ohr. Diese überwiegende kontralaterale akustische Stimulation führt in der Regel bei den ICc-Neuronen zu exzitatorischen Antworten (McAlpine et al., 1996). Diese exzitatorische Antwort könnte durch die schwächere ipsilaterale Stimulation verstärkt oder unterdrückt werden.

In einer Studie wird berichtet, dass die drei Typen der exzitatorischen Antwortfelder unterschiedlich auf die Art der Stimulation reagieren (Davis et al., 1999). Während Neurone mit breiten exzitatorischen Antwortfeldern (Typ 2) in der Regel auf binaurale

Stimulation mit verstärkter Exzitation reagieren, reagieren Neurone mit schmalen (Typ 1) sowie komplexen exzitatorischen Antwortfeldern (Typ 2) eher mit verstärkter Inhibition. Wie die drei exzitatorischen Typen dann unter der Zweiton-Stimulation und unter verschiedenen Stimulationsrichtungen reagieren, ist bisher nicht geklärt worden.

Es gibt nur wenige Studien, in welchen Zweiton-Stimulation verwendet wurde um die Inhibition zu messen, z.B. bei Fledermäusen (Fuzessery and Hall, 1996; Suga, 1969), Katzen (Ehret and Merzenich, 1988a), und bei Mäusen (Egorova et al., 2001). All diese Studien wurden an narkotisierten Tieren durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit an wachen Tieren unterschieden sich die beobachteten exzitatorischen Antwortfelder kaum von denen, die an narkotisierten Tieren durchgeführt wurden. Bei den inhibitorischen Antwortfeldern wurden dagegen Unterschiede beobachtet, die bislang in keiner Studie an narkotisierten Tieren beschrieben wurden:

1. Es wurden inhibitorische Regionen gefunden, die innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder liegen.
2. Es konnte bei vielen Einzel- sowie Mehrzell-Ableitungen keine Inhibition gemessen werden.

Beide Eigenschaften wurden in Kombination mit verschiedenen exzitatorischen Antwortfeldern beobachtet, bei breiten sowie bei schmalen. Dies zeigt deutlich, dass die Interaktion zwischen Exzitation und Inhibition sich bei wachen Tieren von der Interaktion bei den untersuchten narkotisierten Tierarten unterscheidet, wo jeder Typ von exzitatorischem Antwortfeld einem bestimmten Typ von inhibitorischen Antwortfeld zugeordnet werden kann (Egorova et al. 2001).

Die Effekte der Narkose auf GABA- und Glycinerge synaptische Inhibition im zentralen Nervensystem wurden in einigen Studien beschrieben. Es wurde berichtet dass viele Narkotika den inhibitorischen Einfluss verstärken (Amin, 1999; Antkowiak, 2001; Belelli et al., 1997; Yamamura et al., 1990). Ketamine z.B., die in der Studie von Egorova et al. (2001) verwendet wurden, blockieren die NMDA-Rezeptoren (Antkowiak, 2001; Yamamura et al., 1990) und reduzieren die Spontanaktivität (Zurita et al., 1994), eigene unpublizierte Beobachtungen). Unter Ketamin-Einwirkung ist die Wahrscheinlichkeit, Inhibition zu detektieren, daher niedriger als in wachen Tieren.

Einige Untersuchungen im auditorischen Kortex von wachen Tieren, Ratten (Gaese and Ostwald, 2001), Katzen (Abeles and Goldstein, 1972; Goldstein and Abeles, 1975) und Affen (Funkenstein and Winter, 1973; Pelleg-Toiba and Wollberg, 1989) berichteten

von mehr komplizierten neuronalen Antworteigenschaften verglichen mit jenen unter Narkose. Diese Beobachtungen zeigen dass, die Interaktion von Exzitation und Inhibition durch Narkose beeinflusst wird.

Die Inhibition der Spontanaktivität

Die Spontanaktivität ist definiert als spontane Entladungen der Neurone ohne dass ein Stimulus vorhanden ist. Schon bei Stimuli sehr niedriger Pegel, die keine Erhöhung der mittleren Entladungsrate über die Spontanentladungsrate erzeugen, ist bei Hörnervfasern eine Synchronisation der Entladungen mit dem Schalldrucksignal zu beobachten (Rose et al., 1971).

Die Spontanaktivität kann manipuliert werden, sie kann durch die iontophoretische Applikation von Bicucullin erhöht oder reduziert werden (Biebel, 1997) und kann außerdem durch den Einfluss von Narkotika wie Barbituraten (Amin, 1999) oder Ketamin reduziert werden (eigene Beobachtungen). Das zeigt, dass die Spontanaktivität im ICc durch inhibitorische Mechanismen aktiv unterdrückt werden kann.

An wachen Tieren, ohne Einfluss der Narkotika, ist die Spontanaktivität relativ hoch und lässt sich deshalb gut untersuchen (Bock et al., 1972; Kuwada et al., 1989). In der vorliegenden Arbeit konnte die Inhibition unter der Verwendung der einfachen Einton-Stimulation nur bei Neuronen mit hoher Spontanaktivität (MU 150 AP/s, SU 20 AP/s) gemessen werden. Hier, in allen Mehrzelleableitungen sowie in allen getrennten Einzellantworten umgaben die inhibitorischen Antwortfelder immer die exzitatorischen Antwortfelder unabhängig von deren Form bzw. Typ.

Die Inhibition der evozierten Aktivität

Aufgrund der Beobachtung, dass in der vorliegenden Arbeit nur 1/5 der gemessenen Neurone hohe Spontanaktivität haben, wurde eine andere Methode verwendet, um die Inhibition der evozierten Aktivität bei allen Neuronen messen zu können, nämlich das Zweiton-Stimulus-Paradigma.

Durch die Anwendung des Zweiton-Stimulus-Paradigmas kann bei jedem Neuron exzitatorische Aktivität gezielt induziert werden. Die exzitatorische Verschaltung wird durch einen überschwelligen Ton (Testsignal, bei der CF und 10-20 dB über der Schwelle) angeregt. Die inhibitorische Verschaltung wird dann durch variable Frequenzen und Schalldruckpegel erregt, die wie in der akustischen Einton-Stimulation präsentiert werden. Durch die Wechselwirkung dieser zweier Töne werden verschiedene

Frequenzkanäle aktiviert, die exzitatorisch und inhibitorisch auf das abgeleitete Zielneuron geschaltet sind.

Der inhibitorischen Antwortfelder konnten qualitativ in 5 Gruppen klassifiziert werden:

Gruppe 1: Seitenband-Inhibition

Die Inhibition kann in Form von symmetrischen Seitenbändern auftreten, die die exzitatorische Abstimmkurve umschließen. Zwei Beispiele sind in Abbildung 22A gezeigt. 15.6% der Gesamtzahl der hier untersuchten Neurone zählen zu dieser Gruppe und weisen ein schmales exzitatorisches Antwortfeld (Typ 1) auf.

Diese Form von Inhibition kann das Resultat einer Überlappung zweier Abstimmkurven sein, einer exzitatorischen und einer etwas breiteren inhibitorischen. Beide Abstimmkurven besitzen ähnliche CFs wie bereits in der schematischen Abbildung 35 dargestellt ist. Solche Überlappung exzitatorischer und inhibitorischer Antwortfelder wurde im ICc beobachtet in einer Studie an narkotisierten Tieren (Palombi and Caspary, 1996a) sowie im auditorischen Kortex (Tan et al., 2004; Wehr and Zador, 2003).

Dieser Inhibitionstyp ähnelt den Zweitton-Suppression-Bereichen, die bereits im Hörnerv zu finden sind (Katze, Sachs and Kiang 1968; Gerbil, Schmiedt 1982) sowie der glycinbedingte Inhibition der DCN-Neurone bei Meerschweinchen (Evans and Zhao, 1993), die in den ICc projizieren (Romand and Avan, 1997). Die Seitenband-Inhibition im ICc ist allerdings stärker und beide inhibitorischen Seitenbänder sind etwas breiter als im CN. Die Variabilität in der Stärke sowie in der Form dieser Inhibition im ICc zeigt allerdings, dass zusätzliche Einflüsse auf höheren auditorischen Kernen als im CN stattfinden, wie bereits beschrieben für ICc-Neurone der Katzen (Ehret and Merzenich 1988a). Eine zusätzliche Quelle der Inhibition im ICc könnten die intrinsischen Eingänge aus inhibitorischen Interneuronen und aus dem kontralateralen ICc sein (Oliver et al., 1991; Oliver et al., 1994).

Gruppe 2: Asymmetrische Inhibition

Die Inhibition tritt hier mehr auf der Seite der höheren Frequenzen auf, so dass hier von einer asymmetrischen Inhibition gesprochen werden kann (Abbildung 22B). In einigen Fällen (60%) tritt die Inhibition ausschließlich auf der Seite der höheren Frequenzen auf. Diese Inhibition wurde häufig bei Neuronen mit niedrigen CFs (<3 kHz) gefunden, die oft dem exzitatorischen Typ 2 angehören.

Solche „asymmetrische“ inhibitorischen Antwortfelder wurden auch in den ICc-Neuronen bei narkotisierten Mäusen (Egorova et al, 2001) beschrieben. In dieser Studie

wurde aber berichtet, dass die Inhibition an der hochfrequenten Seite nie das exzitatorische Antwortfeld überlappte. In der vorliegenden Untersuchung an wachen Chinchillas kam es oft zu Überlappung beider Antwortfeldern. Daher könnte diese Form von Inhibition angesehen werden als das Resultat einer Überlappung einer exzitatorischen Abstimmkurve und einer breiteren inhibitorischen „Abstimmkurve“ mit einer höheren CF (Abbildung 35).

Gruppe 3: Komplexe Inhibition

Die Inhibition hier überdeckt fast das gesamte exzitatorische Antwortfeld. Die Neurone (5%) zeigen häufig in ihrer exzitatorischen Antwort bei höheren Schalldruckpegeln eine Überlagerung des exzitatorischen Antwortfeldes (Typ 3) durch die Inhibition. Daher ist diese Inhibitionsform eindeutig der Grund für die Form des komplexen exzitatorischen Antwortfeldes.

Eine interessante Beobachtung war, dass diese Form von Inhibition in 3 Ableitungen gefunden worden war, die ein breites exzitatorisches Antwortfeld haben. Dieser Befund zeigt, dass das exzitatorische komplexe Antwortfeld (Typ3) eigentlich ein breites Antwortfeld war, das durch starke Inhibition in seine jetzige Form verändert wurde. In diesen 3 Ableitungen überdeckte zwar die Inhibition fast das gesamte exzitatorische Antwortfeld der Neurone, konnte aber nicht die Exzitation eliminieren, so wie es bei den komplexen exzitatorischen Antwortfeldern zu beobachten war.

Neurone, die Inhibition über das gesamte Antwortfeld aufweisen, haben besonders tiefe CFs (< 2 kHz) und sind dementsprechend im dorsalen Teil des ICc zu finden. Diese Neurone waren bei dieser Arbeit die am seltensten gefundenen (12 Neurone).

Diese Form von Inhibition kann eher als das Resultat einer Überlappung einer exzitatorischen und einer etwas breiteren inhibitorischen Abstimmungskurven mit höheren CF interpretiert werden. Dieser Vorgang ist ähnlich wie bei der Gruppe 2 (asymmetrische Inhibition), mit dem einzigen Unterschied, dass hier die Inhibition stark genug ist, um die Exzitation bei lauten Schalldruckpegeln zu unterdrücken.

Ähnliche inhibitorische Antworten wurden auch in anderen Studien (Ehret and Merzenich 1988b; Ramachandran et al. 1999; Egorova et al. 2001; Le Beau et al. 2001) beschrieben mit dem Unterschied dass, sie hier in der vorliegenden Untersuchung ausschließlich in dem dorsalen Teil vom ICc, mit CFs unter 2 kHz, gefunden wurden. Bekannt ist aber, dass die inhibitorische Transmitter im ICc unterschiedlich verteilt sind. Im dorsalen Teil des ICc kommen überwiegend GABAerge Rezeptoren vor, im ventralen Teil dagegen sind mehr glycinerge Rezeptoren zu finden (Fubara et al., 1996).

Iontophoretische Applikation von Bicucullin und somit die Blockade der GABAergen Rezeptoren im ICc führte zu einer Reduktion der Inhibition, so dass die komplexen exzitatorischen Antwortfelder (Typ 3) breite Antwortfelder (Typ 2) wurden (Davis, 2002; Fuzessery and Hall, 1996; Le Beau et al., 2001). Dies zeigt deutlich, dass diese Inhibitionsform (Komplex) auf GABAerge Inhibition innerhalb des ICc zurückzuführen ist. Alle diese Ergebnisse unterstützen den Befund der vorliegenden Arbeit, dass die Neurone mit komplexem inhibitorischen Antwortmuster tieffrequent sind.

Gruppe 4: Inhibition innerhalb

Eine besondere Form von Inhibition tritt nur innerhalb der exzitatorischen Antwort auf (Abbildung 22C). Die Messung dieser Inhibition wäre ohne die Verwendung der Zweitton-Stimulation nicht möglich. 28% der gefundenen Neurone zählten zu dieser Gruppe. Sie haben unterschiedliche exzitatorische Antwortfelder (Typ 1 oder 2), und meistens hohe CFs (> 3 kHz). Diese Inhibitionsform wurde bisher in keiner Studie beschrieben, die an narkotisierten Tieren durchgeführt wurde, (z.B. Egorova et al. 2001).

Nach der iontophoretischen Blockade der GABAergen Rezeptoren in der Studie von LeBeau et al (1996), an narkotisierten Meerschweinchen, wurde festgestellt, dass mehr Exzitation innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder der ICc-Neurone induziert wurde. Sie vermuten, dass die Inhibition im Zentrum der exzitatorischen Antwortfelder lokalisiert ist und dass die Stärke der Inhibition mit der Entfernung vom Zentrum des rezeptiven Feldes hin zur Peripherie abnimmt. Das könnte auch so verstanden werden, dass diese Form der neuronalen Antwort das Resultat einer exzitatorischen und einer inhibitorischen Abstimmkurve mit ähnlichem CF ist. Diese Art der Inhibition wird im Antwortfeld des gemessenen Neurons nur sichtbar, wenn die inhibitorischen Eingänge stärker sind als die exzitatorischen. Dies erklärt die „Löcher“ in den exzitatorischen Antwortfeldern (z.B. die SU-Ableitung in Abbildung 22D), die in der vorliegenden Untersuchung in 30 Mehrzellantworten bereits bei der Eintonsstimulation gefunden wurden.

Dass diese Form der Inhibition nur unter bestimmten akustischen Stimulationsbedingungen auftritt, nämlich nur unter stärkerer kontralateraler und schwächerer ipsilateraler Beschallung wirksam und sichtbar wird, kann ausgeschlossen werden, weil in der Studie von Egorova et al (2001) solche Inhibitionsform unter ähnlichen akustischen Stimulationsbedingungen bei narkotisierten Mäusen nicht gefunden wurden. Es bleibt unklar, ob diese Form der Inhibition nur bei Chinchillas

oder generell bei allen wachen Tieren zu finden ist, zumal die zentralen Verarbeitungsprozesse unter Narkose nicht normal funktionieren. Ein Verarbeitungsprozess, der die neuronalen Antwortigenschaften im IC nur im wachen Zustand verändern kann, ist z.B. die korticofugale Modulation (Yan et al. 2005; Yan and Suga 1996).

Gruppe 5: Schwache Inhibition

In der vorliegenden Arbeit konnte bei ca. 11% der Neurone keine bzw. nur schwache Zweitton-Inhibition gemessen werden. Dies ist bemerkenswert, da alle Hörnervenfaser Zweiton-Suppressions-Bereiche (Hill and Geisler, 1992; Sachs and Kiang, 1968) und alle ICc-Neurone bei narkotisierten Mäusen Zweitton-Inhibition (Egorova et al. 2001) besitzen. Die Neurone mit schwacher Inhibition reagierten auf die akustische Stimulation mit einer phasischen Anfangsaktivität, der eine sehr schwache, bis zum Reizende andauernde, tonische Komponente folgte. Die Exzitation über die Gesamtantwort ist relativ schwach im Vergleich zu der Exzitation der Neurone mit einem starken tonischen Anteil. In diesem Fall ist es unmöglich eine deutliche Inhibition dieser schwachen Exzitation zu messen. In der Arbeit von Egorova et al. (2001) erwähnen die Autoren, dass sie Neurone mit ausschließlich phasischen Antworten nicht in die Auswertung miteinbezogen haben.

Es ist auch nicht auszuschließen, dass diese Neurone schwache inhibitorische Eingänge bekommen, die mit der hier verwendeten Methode (Zweitton-Stimulation) nicht nachzuweisen sind.

2.3 Inhibition der Spontanaktivität im Vergleich mit Inhibition der evozierten Aktivität

Bei narkotisierten Tieren ist die Spontanentladungsrate viel geringer als bei wachen Tieren (Astl et al., 1996), das Verhältnis der Exzitation/Inhibition ist hier auch verändert. Daher ist Messung der inhibitorischen Komponente bei narkotisierten Tieren schwierig, wenn überhaupt möglich.

Die Inhibition der Spontanentladungsrate konnte bisher nur in Studien an wachen oder dezerbrierten Tieren gemessen werden (Biebel and Langner, 2002; Bock et al., 1972; Ramachandran et al., 1999). In der Studie von Ramachandran et al (1999) an wachen dezerbrierten Katzen wurde berichtet, dass nur bei Neuronen mit schmalen oder komplexen exzitatorischen Antwortfeldern Inhibition zu finden ist und dass die

Neurone mit breitem exzitatorischen Antwortfeld keinen inhibitorischen Einfluss aufweisen.

In der vorliegenden Arbeit wurden beim selben Neuron die Inhibition der Spontanaktivität und die Inhibition der evozierten Aktivität gemessen und miteinander verglichen. In 2/3 der spontanaktiven Neurone unterschieden sich beide Inhibitionstypen deutlich. Die Inhibition der Spontanaktivität umgab immer die exzitatorischen Antwortfelder, während die Inhibition der evozierten Aktivität unterschiedliche Formen zeigte, die in die oben beschriebenen 5 Gruppen klassifiziert wurden.

Viele Autoren vermuten, dass die Inhibition der Spontanaktivität nicht eine intrinsische Eigenschaft der ICc-Neurone ist (Reetz and Ehret, 1999; Wagner, 1994). Nach der iontophoretischen Applikation des GABA_A-Antagonisten Bicucullin wurde gefunden, dass beide Inhibitionstypen in vielen Neuronen unterschiedlich beeinflusst wurden (Le Beau et al., 2001). Eine weitere Studie im DCN berichtet, dass nach der iontophoretischen Applikation von Bicucullin die Inhibition der Spontanaktivität vor der Inhibition der evozierten Aktivität unterdrückt wurde (Davis and Young, 2000). Dies zeigt, dass die Spontanaktivität und evozierte Aktivität durch unterschiedliche Mechanismen inhibiert werden. Das könnte auch so verstanden werden, dass ohne akustische Reizung ein bestimmtes Maß an Inhibition vorhanden ist, und dass während der akustischen Reizung zusätzliche oder andere neuronale inhibitorische Eingänge zum untersuchten Neuron aktiviert werden.

2.4 Die neuronalen Antworteigenschaften innerhalb der inhibitorischen Regionen

Nach der genauen Untersuchung der Antworten innerhalb der inhibitorischen Regionen mit beiden Stimulationsarten, der Eintön- und der Zweitön-Stimulation, wurde verallgemeinert, dass die ICc-Neurone auf die inhibierenden Frequenzen mit einer phasischen kurzen Anfangsaktivität reagieren, gefolgt von einer Unterdrückung der tonischen Aktivität. Diese phasische Anfangsantwort nimmt mit steigendem Schalldruckpegel zu, während die tonische Komponente dabei abnimmt. Dass viele ICc-Neurone auf Frequenzen außerhalb ihrer tonischen exzitatorischen Antwortfelder mit einer kurzen phasischen Anfangsaktivität antworten, wurde bereits bei der Arbeit von Biebel und Langner (2002) beschrieben.

Intrazelluläre in vivo Arbeiten im ICc von Katzen und in Meerschweinchen (Kuwada et al., 1997; Pedemonte et al., 1997) zeigten bereits, dass kontralaterale Stimulation dazu führte, dass zuerst exzitatorische postsynaptische Potentiale entstehen, die dann von inhibitorischen postsynaptischen Potentialen gefolgt werden. Dies könnte bedeuten, dass inhibitorische Eingänge durch lokale exzitatorische Eingänge in Nachbarneuronen aktiviert werden.

Eine weitere Möglichkeit wäre, dass der exzitatorische Eingang in das ICc-Neuron präsynaptisch moduliert wird. Es ist bekannt, dass präsynaptische GABA_B Rezeptoren während der Entwicklung inhibitorische Eingänge (Zhang and Wu, 2000) aber im erwachsenen Gehirn exzitatorische Eingänge modulieren (Vaughn et al., 1996). Elektrophysiologische Einzell-Ableitungen von Neuronen im auditorischen Kortex (Tan et al., 2004; Wehr and Zador, 2003) zeigen, dass beide Antwortfelder, exzitatorische und inhibitorische, sich stark überlappen, was darauf hindeutet, dass hier die Inhibition eher die zeitliche Verarbeitung der Antworten als die Form und die Breite der exzitatorischen Antwortfelder beeinflusst.

Eine mögliche Erklärung für die Unterdrückung der tonischen Komponente der neuronalen Antwort wäre, dass die Inhibition durch einen kurzen exzitatorischen Eingang (die phasische Komponente) verursacht wird. D.h. nach der akustischen Reizung wird ein exzitatorischer Eingang aktiviert, der dann inhibitorische Eingänge aktiviert und somit eine „Exzitationbedingte Inhibition“ auslöst. Bei der in vivo intrazellulären Studie von Pedemonte et al. (1997) im ICc der Meerschweinchen, wurde berichtet, dass das feuernde Neuron selbst die Inhibition auslöste. Diese so genannte „shunting Inhibition“, bei der Chlorid-Kanäle direkt nach Ankunft einer exzitatorischen Eingangs geöffnet werden, könnte aber auch durch einen anderen parallelen Eingang evoziert werden.

3. Die physiologischen Veränderungen nach dem Teilverlust der inneren Haarzellen

3.1 ABRs

A. ABR-Schwellen

Es ist bekannt, dass der Verlust der ÄHZ typischerweise eine Verschiebung der Hörschwellen um 50-60 dB und eine Reduktion der Frequenz-Selektivität verursacht

(Dallos et al., 1978; Dallos and Harris, 1978; Ryan and Dallos, 1975). Welche Rolle die IHZ bei Veränderungen der ABR-Schwellen haben, war bislang noch nicht so gut verstanden, weil es nicht möglich ist, selektiv die inneren Haarzellen zu schädigen, außer bei Chinchillas.

Studien an mit Carboplatin behandelten Chinchillas berichteten von einer Verschiebung der ABR-Hörschwellen nach dem Verlust der inneren Haarzellen, wobei mit intravenöser Applikation größere Verschiebung der Schwellen als mit subkutaner Verabreichung beobachtet wurde (Qiu et al., 2000; Takeno et al., 1994a; b).

In der vorliegenden Arbeit führte der IHZ-Verlust zu einer leichten Erhöhung der ABR-Schwellen. Eine signifikante Korrelation des IHZ-Verlustes mit einer Erhöhung der ABR-Schwellen wurde bereits nachgewiesen (Alkhatib, 2003).

Carboplatin wirkt neurotoxisch (Calvert et al., 1982) und zerstört die afferenten Synapsen der auditorischen Neurone (Ding et al., 1997). Eine wahrscheinliche Schädigung der Stereovilli durch die Schädigung der IHZ und die damit einhergehende Reduktion der Zahl der Transduktionskanäle, die leider mit der hier verwendeten histologischen Methode nicht beobachtet werden konnte, könnte auch eine entscheidende Rolle bei der Verschiebung der Hörschwelle spielen. Die Abhängigkeit der Hörschwelle von der Anzahl der intakten IHZ ist auch zu erwarten, weil die IHZ die wichtigste Rolle bei der Übertragung der Hörinformation (Transduktion) an die höhere Zentren in der Hörbahn spielen.

B. ABR-Amplituden

In der vorliegenden Arbeit führte der IHZ-Verlust generell zu Amplituden-Abnahme aller Komponenten der ABR-Wellen. Eine interessante Beobachtung war aber, dass die Komponenten mit Latenzen zwischen 8-12 ms nach dem IHZ-Verlust nur wenig reduziert oder kaum verändert waren (Abbildung 27). Diese Komponenten werden dem IC als Generatorort (Caird et al., 1985; Caird and Klinke, 1987; Picton, 1990) zugeordnet. Die Amplituden früherer Komponenten (mit Latenzen unter 8 ms) waren nach dem IHZ-Verlust dagegen deutlich reduziert.

Dieser Befund zeigt, dass der IHZ-Verlust zu deutlicher Reduktion der neuronalen Aktivität auf den Hörstationen bis zum IC führt. Auf der Ebene des IC dagegen ist die neuronale Aktivität kaum verändert. Die Studie von Guo and Burkard (2002) zeigt auch, dass der IHZ-Teilverlust im Hörnerv zu Reduktion der CAP-Potentiale, im IC zu keiner oder nur schwachen Reduktion der Amplituden der lokal evozierten Potentiale aber im auditorischen Kortex zu einer Erhöhung der Amplituden der lokal evozierten

Potentiale führt. Beide Befunde können nur damit erklärt werden, dass eine Verstärkung (Kompensation) des abgeschwächten Eingangs aus der Cochlea erst zentral auf der Ebene des IC auftritt.

3.2 Die Antwortschwellen der Neurone im ICc

Auf der Ebene des ICc antworteten die Neurone in der vorliegenden Arbeit, nach dem IHZ-Verlust noch auf die Beschallung, trotz des abgeschwächten Einganges aus der Cochlea. Der IHZ-Verlust führte aber zu einer leichten und dennoch signifikanten Erhöhung der CF-Schwellen der ICc-Neurone.

Eine leichte Verschiebung der Antwortschwellen wurde ebenfalls nach dem Teilverlust der IHZ auf der Ebene des Hörnerven bei den Chinchillas, nach einer einmaligen Carboplatin-Behandlung (40 mg/kg), gefunden (Wang et al., 1997). Nach zweimaligen Carboplatin-Behandlung (jeweils 40 mg/kg), wie bei der vorliegenden Arbeit, wurde eine noch stärkere Erhöhung der Antwortschwellen festgestellt (Wang et al., 1997).

3.3 Die CF-Verteilung der Neurone im ICc

Eine Veränderung der tonotopen CF-Repräsentation in den verschiedenen Hörstationen des auditorischen Systems ist bisher nur an jungen Tieren, während einer kritischen Phase ihrer Entwicklung, beschrieben, z.B. für den IC der Chinchillas (Harrison et al., 1998).

Weitere Untersuchungen im IC von adulten Tieren konnten auch, unabhängig von der Art der Innenohrschädigung, keine Platizität der Frequenztonotopie nachweisen (Salvi et al., 2000; Syka, 2002; Wang et al., 2002).

Der IHZ-Verlust führte in der vorliegenden Arbeit an adulten Tieren auch zu keiner Veränderung der tonotopen Repräsentation der charakteristischen Frequenzen im ICc.

Im auditorischen Kortex wurde ebenfalls keine signifikante Veränderung der tonotopen Repräsentation der Frequenzen nachgewiesen (Rajan, 1998; Rajan and Irvine, 1998).

Diese Befunde zeigen deutlich, dass eine Reorganisation der tonotopen Repräsentation der CFs im auditorischen System nach peripherer Schädigung nur junger Tiere möglich ist, obwohl bei anderen sensorischen Systemen eine zentrale Reorganisation auch bei adulten Tieren beobachtet wurde (Garraghty et al., 1991; Hendry and Jones, 1986).

3.4. Die exzitatorischen Antwortfelder der Neurone im ICc

Nach dem Verlust der IHZ wurden folgende Veränderungen der exzitatorischen Antwortfelder beobachtet:

- 1) Eine signifikante Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder. Die Ausweitung wurde an beiden Flanken der exzitatorischen Antwortfelder verzeichnet. Dies steht im Gegensatz zu den Befunden aus vielen Arbeiten (Dallos and Harris, 1978; Liberman and Kiang, 1978; Takeno et al., 1994a; Wake et al., 1993), dass nur die Schädigung der ÄHZ zu Veränderungen der Frequenzabstimmung führt. Die Erklärung dafür könnte darin liegen, dass die durch die ÄHZ hervorgerufene Frequenzselektivität in der Cochlea zwar als exzitatorische Antwortfelder der Neurone im Hörnerv repräsentiert ist, aber dann ab dem CN durch die Inhibition zu beeinflussen ist (Young and Brownell, 1976). Durch die Reduktion der Inhibition ist eine Ausdehnung der exzitatorischen Antwortfelder in allen auditorischen Hörzentren möglich, wobei die primäre Frequenzselektivität der Cochlea nicht betroffen ist. Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder der Neurone im IC kann daher mit einer nach dem IHZ-Verlust eingetretenen Reduktion der Inhibition erklärt werden.
- 2) Die prozentuale Häufigkeit der hier klassifizierten Typen der exzitatorischen Antwortfelder war nach dem IHZ-Verlust verändert. Es wurden mehr breite (69.5% vs. 49.2%), weniger schmale (29.2% vs. 47.2%) und weniger komplexe (1.3% vs. 3.6%) exzitatorische Antwortfelder registriert.

Diese Befunde widersprechen den Berichten von Wake et al. (1996), dass der Teilverlust der IHZ zu keinen Veränderungen in der Form der exzitatorischen Antwortfelder der ICc-Neurone führte. In der letzteren Arbeit wurden allerdings die exzitatorischen Antwortfelder von verschiedenen Tiergruppen (Kontrolle und Carboplatin-behandelten) verglichen und nicht wie bei der vorliegenden Arbeit, vom selben Tier und an vergleichbaren Ableitstellen gemessen. Daher bieten die vorliegenden Ergebnisse deutlich bessere Rückschlüsse auf die physiologischen Änderungen nach IHZ-Verlust.

3.5 Die inhibitorischen Antwortfelder der Neurone im ICc

Neben Veränderungen der Exzitation war nach Teilverlust der IHZ auch die neuronale Inhibition der ICc-Neurone verändert:

- 1) Es wurden nach IHZ-Verlust keine Neurone mit Seitenband-Inhibition (Gruppe 1) mehr gefunden. Die Seitenband-Inhibition ist in der Regel assoziiert mit schmalen exzitatorischen Antworttypen. Der Verlust der Seitenband-Inhibition nach IHZ-Verlust kann erklären, warum so wenige Neuronen gefunden wurden, die schmale exzitatorische Antworttypen aufweisen (Typ1).
- 2) Der Anteil der Neurone mit Inhibition innerhalb des exzitatorischen Antwortfeldes (Gruppe 4) nahm nach dem Teilverlust der IHZ ab.
- 3) Der Anteil der Neurone mit schwacher Inhibition (Gruppe 5) stieg an nach dem Teilverlust der IHZ.
- 4) Der Anteil der Neurone mit komplexer Inhibition (Gruppe 3) nahm nach dem Teilverlust der IHZ ab.

Diese Beobachtungen geben zu erkennen, dass eine Reduktion der Inhibition in ihren verschiedenen Formen im ICc nach dem Teilverlust der IHZ eintrat.

Ein totaler Verlust der Seitenband-Inhibition (1) könnte der Grund für die beobachtete Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder sein. Die Seitenband-Inhibition wurde vor IHZ-Verlust nur bei Neuronen mit schmalen exzitatorischen Antwortfeldern und meistens bei hohen CFs (>3 kHz) gefunden. Bei diesen hohen CFs wurde auch die Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder an beiden Flanken am deutlichsten gemessen.

Die beobachtete Reduktion der inhibitorischen Regionen innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder (2) entspricht der Abnahme der nichtmonotonen Intensitätskennlinien, die im nächsten Abschnitt beschrieben werden.

Nach der Beobachtung beider Veränderungen in 1 und 2 ist zu erwarten, dass der Anteil der Neurone mit schwacher oder ohne Inhibition größer wird (3).

Die Anzahl der Neuronen mit komplexer Inhibition und Exzitation war schon vor dem IHZ-Verlust sehr niedrig, nach dem IHZ-Verlust noch niedriger (4), so dass eine eindeutige Aussage über die Veränderung hier schwer fällt.

Es ist aber unklar, warum die asymmetrische Inhibition nicht so deutlich reduziert wurde, wie alle anderen Inhibitionsarten. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die asymmetrische Inhibition die häufigste Inhibitionsart der Neurone im ICc ist. Diese Vorherrschaft der asymmetrischen Inhibition lässt vermuten, dass ihre Funktion in der Verarbeitung akustischer Informationen im ICc sehr wichtig ist, und dass diese Inhibitionsart für die Teilschädigung der IHZ sehr robust ist.

3.6 Die Intensitätskennlinien der Neurone im ICc

Der Teilverlust der IHZ führte zu einer Abnahme der Zahl der Neurone mit nichtmonotonen Intensitätskennlinien im ICc. Diese Abnahme kann so verstanden werden, dass das lokale Gleichgewicht zwischen Inhibition und Exzitation nach dem Teilverlust der IHZ zugunsten der Exzitation verschoben wurde. Eine Zunahme der Exzitation ist nach einem Teilverlust der Haarzellen und der damit verbundenen Reduktion der Anzahl der erregenden Haarzellsynapsen, nicht zu erwarten. Die Veränderung des Gleichgewichtes zwischen Inhibition und Exzitation ist daher nur auf reduzierte Inhibition zurückzuführen. Die reduzierte Inhibition bewirkte die oben beschriebene Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder. Diese Vermutung wird auch durch Befunde gestützt, die zeigen, dass eine lokale pharmakologische Blockade der GABAergen Inhibition zu Erhöhung der Entladungsraten innerhalb der exzitatorischen Antwortfelder und damit zu der Abnahme der Nichtmonotonizität (Palombi and Caspary, 1996a), sowie zu Ausweitungen der exzitatorischen Antwortfelder (Fuzessery and Hall, 1996) führte.

Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Reduktion der Inhibition ist vermutlich zurückzuführen auf ein Herunterregulieren („down-regulation“) der Neurotransmitter und/oder ihrer Rezeptoren, z.B. der GABAergen Neurone nach einem reduzierten afferenten Eingang (Mossop et al., 2000).

Die vorliegende Untersuchung konnte durch die Messungen der Zweiton-Inhibition und der Intensitätskennlinie nachweisen, dass die Inhibition bei hohen Schalldruckpegeln in die exzitatorischen Antwortfelder hineinreicht, auch bei der CF dieser Neurone (Siehe Gruppen 2-4). Dadurch wurden Vermutungen aus früheren Arbeiten (Pollak and Park, 1993; Wang et al., 2002) bestätigt, dass eine Inhibition bei der CF der Grund für die Verformung der nichtmonotonen Kennlinien ist. Diese Aussage wird auch unterstützt durch die Tatsache, dass alle Hörnervfasern monotone oder sättigende bzw. stetige Kennlinien aufweisen, auch in Chinchillas (Jackson and Relkin, 1998). Erst im CN (Young and Brownell, 1976) und in höheren auditorischen Zentren (Pollak and Park, 1993), wo synaptische Inhibition auftritt, können nichtmonotone Kennlinien beobachtet werden.

Für eine quantitative Auswertung der nichtmonotonen Kennlinien und vor allem für die quantitative Messung der Veränderungen nach dem IHZ-Verlust wurden zwei Parameter verwendet, die aus früheren Arbeiten (Heil et al., 1994; Irvine and Gago, 1990) bekannt sind. Beide Parameter zeigten allerdings verschiedene Ergebnisse.

Während „die prozentuale Reduktion vom Maximum“ eine signifikante Korrelation mit der CF der Neurone aufwies, konnte dies bei dem zweiten Parameter, „der Steigung der Abnahme vom Maximum“, nicht beobachtet werden. Eine Korrelation der Inhibitionstärke mit der CF war aber zu erwarten, weil die meisten Neurone, bei denen die Inhibition bis zur CF reicht, im tieffrequenten Bereich (unter 2 kHz) waren. Daher scheint der erste Parameter besser geeignet für die Auswertung der nichtmonotonen Kennlinien zu sein.

Nach dem IHZ-Verlust konnte eine signifikante Abnahme der prozentualen Reduktion vom Maximum festgestellt werden.

Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Verminderung der Inhibition konnte erklären, warum der Verlust von etwa der Hälfte der IHZ in der Arbeit von Qiu et al. (2000) nicht zu einer Abnahme der Amplituden der im ICc lokal gemessenen evozierten Potentiale führte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen auch, ähnlich wie bei den Arbeiten am auditorischen Kortex (Rajan, 1998; Rajan and Irvine, 1998; Syka, 2002), dass als Folge der peripheren Schädigung des Innenohres eine verminderte Inhibition im ICc auftritt ohne eine Veränderung der tonotopen Repräsentation der CFs .

Schlussfolgerungen

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die neuronale Erregung und Hemmung der Neurone im Colliculus Inferior vor und nach einem Teilverlust der IHZ unter Erhalt der ÄHZ im Innenohr der wachen Chinchillas zu untersuchen.

Die Messung der exzitatorischen und inhibitorischen Antworteigenschaften der Neurone im ICc an wachen unbehandelten Kontrolltieren ermöglichte einen Vergleich beider Antworteigenschaften mit den in der Literatur berichteten Antworteigenschaften an narkotisierten Tieren. Der Vergleich zeigte, dass die Inhibition bei wachen und narkotisierten Tieren unterschiedlich ist. In wachen Tieren wurden inhibitorische Regionen neu gefunden, die unter Narkose nicht beobachtet werden. Außerdem unterscheidet sich die Interaktion zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Regionen der Neurone des auditorischen Mittelhirns in wachen Tieren eindeutig von der im narkotisierten Zustand. Dieser Teil der Ergebnisse wurde bereits veröffentlicht (Alkhatib et al., 2006a).

Nach Abschluss der elektrophysiologischen Messungen, wurden die Versuchstiere mit Carboplatin (80 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal behandelt, um einen Teilverlust

der IHZ zu induzieren. Anschließend wurden dieselben Tiere noch einmal gemessen und dienten somit als ihre eignen Kontrolle.

Die Folge des Teilverlustes der inneren Haarzellen war eine reduzierte Inhibition, die deutlich an dem Verlauf der Intensitätskennlinien zu beobachten war. Nach dem Teilverlust der IHZ wurden viel weniger nicht-monotone Antworten gefunden als zuvor. Dieser Teil der Ergebnisse wurde ebenfalls publiziert (Alkhatib et al., 2006b).

Darüber hinaus beobachteten wir eine Reduzierung der inhibitorischen Regionen und eine signifikante Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder nach dem Teilverlust der IHZ. Ursache für diese Veränderungen ist wahrscheinlich eine Demaskierung von bereits vorhandenen, aber gehemmten exzitatorischen neuronalen Verbindungen. Insbesondere der Verlust von Inhibitionen aus dem Bereich der Hörschädigung könnte hierbei eine Rolle spielen (Salvi et al., 2000).

Daraus kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass nach einer Teilschädigung der inneren Haarzellen, eine Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen Inhibition und Exzitation zugunsten der Exzitation in Gang gesetzt wird, wahrscheinlich um den abgeschwächten Eingang aus der Cochlea auszugleichen. Dies deutet auch daraufhin, dass zentrale Kompensationsmechanismen bei peripheren Hörschäden nicht erst in kortikalen, wie bisher vermutet, sondern zum Teil bereits in subkortikalen Arealen (im Mittelhirn) stattfinden.

Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen elektrophysiologischen Einblicke in die Exzitations- und Inhibitionsmechanismen von Neuronen bei der Präsentation komplexer akustischer Ereignisse tragen zu einem präziseren Wissen über die Stimulusverarbeitung im Colliculus inferior von wachen Tieren bei. Es werden aber auch neue Fragen aufgeworfen, die Ansatzpunkte für neue Studien bieten, z.B. ob die beobachteten neuronalen Veränderungen im Inferior Colliculus nach dem partiellen Verlust der IHZ eine funktionelle Kompensation repräsentieren oder möglicherweise eine Rolle bei der Entstehung von Tinnitus spielen. Es wäre auch von großem Interesse, zu wissen, ob die neuronalen Veränderungen nach dem IHZ-Verlust von strukturellen Veränderungen begleitet werden, z.B. Zu- oder Abnahme der Anzahl bzw. der Größe der Synapsen.

Des Weiteren wäre es wichtig zu wissen, ob solche neuronalen Veränderungen auch auf niedrigeren Ebenen, z.B. im Lemniscus lateralis, auftreten.

Zusammenfassung

Eine Einschränkung des Hörvermögens durch Schäden der Sinnesrezeptoren im Innenohr gilt beim Menschen sowie bei allen anderen Säugetieren als irreversibel. Die Hörforschung ist an der Frage interessiert, ob durch Plastizität in zentralen Teilen des auditorischen Systems Kompensationsmechanismen die Folgen mildern können.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Frage, ob und in welchem Umfang nach peripheren Hörschäden durch zentrale Kompensationsmechanismen eine Erholung des Hörvermögens auftritt auf der Basis von plastischen Änderungen der neuronalen Verarbeitung der Eingangssignale aus dem geschädigten Hörorgan.

Schäden des Sinnesepithels im Innenohr, z.B. durch überlaute Beschallung oder ototoxische Substanzen, betreffen in der Regel zunächst die äußeren Haarzellen und führen zu einem Verlust der Empfindlichkeit und Frequenzspezifität des Hörvermögens. Eine primäre selektive Schädigung der inneren Haarzellen (IHZ) tritt im Tiermodell, aus unbekanntem Grund nur bei einer Spezies auf, dem Chinchilla (*Chinchilla laniger*) und zwar nach Gabe des antineoplastischen Medikaments Carboplatin. Das gute Tieffrequenzhören der Chinchillas (0.1-20 kHz) ermöglicht außerdem Aussagen zur akustischen Signalverarbeitung in einem für das menschliche Gehör relevanten Frequenzbereich (0.02-16 kHz).

Dieses Tiermodell bietet somit die Gelegenheit, die Veränderungen in zentralen Teilen des auditorischen Systems nach einer definierten sensorischen Schädigung zu untersuchen. Hierfür kommt u.a. das auditorische Mittelhirn, der Colliculus Inferior (IC) in Frage.

Der IC wird als Hauptintegrationszentrum der Hörbahn angesehen weil er Eingänge von fast allen vor ihm liegenden auditorischen Kernen (z.B. Nucleus cochlearis, Nucleus olivaris und Lemniscus lateralis) bekommt.

Ein weiterer Grund für die Wahl des IC als Untersuchungsgebiet der vorliegenden Arbeit ist, die Frage zu beantworten, ob die auf der Ebene des auditorischen Kortex bereits nachgewiesene funktionelle Plastizität auch auf der Ebene des IC schon realisiert oder vorbereitet wird.

Die vorliegende Arbeit untersucht das Antwortverhalten der Neurone im ICc an wachen Tieren vor und nach einem selektiven Teilverlust der IHZ bei Erhalt der äußeren Haarzellen. Die Arbeitshypothese ist, dass es nach einem abgeschwächten sensorischen Eingang zu Veränderungen der exzitatorischen und inhibitorischen Antwortfelder

kommt, die als funktionelle Plastizität bzw. als Kompensation verstanden werden können.

Anhand elektrophysiologischer Ableitungen im ICc von wachen, chronisch implantierten Tieren wurden die exzitatorischen und die inhibitorischen Antwortfelder der Neurone durch Einton- und Zweiton- Stimulation getrennt gemessen und bestimmt.

Die Resultate zeigen, dass die exzitatorischen und inhibitorischen Antworteigenschaften im IC bei wachen und narkotisierten Tieren unterschiedlich sind. In wachen Tieren weist die Inhibition generell höhere Variation auf als in narkotisierten Tieren und ist unabhängiger von der Art der Exzitation.

Eine Carboplatinbehandlung führte bei allen Tieren nach 3-7 Tagen zu einer Abnahme der Amplituden und einer Erhöhung der Schwellen der akustisch evozierten Hirnstammpotentiale (ABRs).

Die histologische Untersuchung des Innenohres (10 Wochen nach Carboplatinbehandlung), zeigte bei allen Tieren Verluste der IHZ (zwischen 20 und 60%) entlang der gesamten Basilarmembran. Es wurden aber keine Verluste von ÄHZ festgestellt. Die Gehirn-Schnitte zeigten, dass die Registrierungen aus dem zentralen Teil des Colliculus Inferior stammen.

Die physiologische Untersuchung der Antworteigenschaften der Neurone im IC 4-6 Wochen nach der carboplatinbedingten Schädigung der IHZ zeigte eine Reduktion der Inhibition, die u.a. deutlich an dem Verlauf der Intensitätskennlinien zu beobachten war. Nach dem Teilverlust der IHZ wurden viel weniger nichtmonotone Kennlinien gefunden als vor der Innenohrschädigung.

Darüber hinaus beobachteten wir eine Reduzierung der inhibitorischen Regionen und eine signifikante Ausweitung der exzitatorischen Antwortfelder nach dem Teilverlust der IHZ.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit führen zu der Schlussfolgerung, dass nach einer Teilschädigung der inneren Haarzellen, unter Erhalt der ÄHZ nur ein geringer Sensitivitätsverlust in der zentralen Hörbahn auftritt. Der Verlust von 20-60% der IHZ und der damit einhergehende reduzierte afferente Informationsfluss führt zu physiologischen Veränderungen in der Hörbahn, die im IC von wachen Tieren vor allem durch eine Reduktion der Inhibition hervortritt. Dies deutet daraufhin, dass zentrale Kompensationsmechanismen bei peripheren Hörschäden nicht, wie bisher vermutet, erst in kortikalen sondern zum Teil bereits in subkortikalen Arealen (im Mittelhirn) stattfinden.

Literaturverzeichnis

1. Abeles, M. and Goldstein, M.H.Jr. (1972). Responses of single units in the primary auditory cortex of the cat to tones and to tone pairs. *Brain Res* 42, 337-352.
2. Adams, J.C. (1983). Multipolar cells in the ventral cochlear nucleus project to the dorsal cochlear nucleus and the inferior colliculus. *Neurosci Lett* 37, 205-208.
3. Adams, J.C. and Mugnaini, E. (1984). Dorsal nucleus of the lateral lemniscus: a nucleus of GABAergic projection neurons. *Brain Res Bull* 13, 585-590.
4. Aitkin, L. (1991). Rate-Level Functions of Neurons in the Inferior Colliculus of Cats Measured with the Use of Free-Field Sound Stimuli. *J. Neurophysiol.* 65, 383-392.
5. Aitkin, L.M., Anderson, D.J., and Brugge, J.F. (1970). Tonotopic organization and discharge characteristics of single neurons in nuclei of the lateral lemniscus of the cat. *J. Neurophysiol.* 33, 421-440.
6. Alberts, D.S. (1995). Carboplatin versus cisplatin in ovarian cancer. *Semin. Oncol* 22, 88-90.
7. Alibardi, L. (1998). Ultrastructural and immunocytochemical characterization of neurons in the rat ventral cochlear nucleus projecting to the inferior colliculus. *Ann Anat* 180, 415-426.
8. Alkhatib, A. Auswirkung von der Schädigung der inneren und äußeren Haarzellen auf die akustische Maskierung in *Chinchilla laniger*. 2003. Fachbereich Biologie und Informatik der Johann Wolfgang von Goethe – Universität.
9. Alkhatib, A., Biebel, U.W., and Smolders, J.W. (2006a). Inhibitory and excitatory response areas of neurons in the central nucleus of the inferior colliculus in unanesthetized chinchillas. *Exp Brain Res*.
10. Alkhatib, A., Biebel, U.W., and Smolders, J.W. (2006b). Reduction of inhibition in the inferior colliculus after inner hair cell loss. *Neuroreport* 17, 1493-1497.

11. Amin,J. (1999). A single hydrophobic residue confers barbiturate sensitivity to gamma-aminobutyric acid type C receptor. *Mol Pharmacol* 55, 411-423.
12. Antkowiak,B. (2001). How do general anaesthetics work? *Naturwissenschaften* 88, 201-213.
13. Anzai,T., Ohtani,I., Ohtuski,K., Aikawa,T., and Okamura,H. (1987). Ototoxicity of carboplatin and its transferability into inner ear. *Ear Res (Japan)* 18, 122-124.
14. Arthur,R.M., PFEIFFER,R.R., and Suga,N. (1971). Properties of 'two-tone inhibition' in primary auditory neurones. *J Physiol* 212, 593-609.
15. Astl,J., Popelar,J., Kvasnak,E., and Syka,J. (1996). Comparison of response properties of neurons in the inferior colliculus of guinea pigs under different anesthetics. *Audiology* 35, 335-345.
16. Batra,R. and Fitzpatrick,D.C. (2002). Monaural and binaural processing in the ventral nucleus of the lateral lemniscus: a major source of inhibition to the inferior colliculus. *Hear Res* 168, 90-97.
17. Batts,S.A. and Raphael,Y. (2007). Transdifferentiation and its applicability for inner ear therapy. *Hear Res* 227, 41-47.
18. Behrend,O., Brand,A., Kapfer,C., and Grothe,B. (2002). Auditory response properties in the superior paraolivary nucleus of the gerbil. *J. Neurophysiol.* 87, 2915-2928.
19. Belelli,D., Lambert,J.J., Peters,J.A., Wafford,K., and Whiting,P.J. (1997). The interaction of the general anesthetic etomidate with the gamma-aminobutyric acid type A receptor is influenced by a single amino acid. *Proc. Natl.Acad Sci USA*, 94, 11031-11036.
20. Berrettini,S., Ravecca,F., Sellari-Franceschini,S., Matteucci,F., Siciliano,G., and Ursino,F. (1999). Progressive sensorineural hearing loss in childhood. *Pediatr Neurol* 20, 130-136.
21. Biebel,U.W. Der Einfluß lokaler Netzwerkeigenschaften auf die Verarbeitung komplexer periodischer Signale. *Elektrophysiologische Untersuchungen im*

- auditorischen Mittelhirn von Nagetieren (*Chinchilla laniger*). 1997.
Fachbereich Biologie der Technischen Hochschule Darmstadt.
22. Biebel,U.W. and Langner,G. (2002). Evidence for interactions across frequency channels in the inferior colliculus of awake chinchilla. *Hear Res.* 169, 151-168.
 23. Bock,G.R., Webster,W.R., and Aitkin,L.M. (1972). Discharge patterns of single units in inferior colliculus of the alert cat. *J Neurophysiol* 35, 265-277.
 24. Borg,E. (1997). Perinatal asphyxia, hypoxia, ischemia and hearing loss. An overview. *Scand Audiol* 26, 77-91.
 25. Bristol Arzneimittel (1997). Wissenschaftliche Information zu Carboplatin. (München: Bundesverband der pharmazeutischen Industrie), pp. 1-25.
 26. Caird,D.M. and Klinke,R. (1987). The effect of inferior colliculus lesions on auditory evoked potentials. *Electroencephalogr.Clin Neurophysiol* 68, 237-240.
 27. Caird,D.M., Sontheimer,D., and Klinke,R. (1985). Intra-Extracranially recorded auditory evoked potentials in the cat.i.source location and binaural interaction. *Electroencephalogr.Clin Neurophysiol* 61, 50-60.
 28. Caird,D.M. and Klinke,R. (1983). Processing of binaural stimuli by cat superior olivary complex neurons. *Experimental Brain Research* 52, 385-399.
 29. Calvert,A.H., Harland,S.J., Newell,D.R., Siddik,Z.H., Jones,A.C., McElwain,T.J., Raju,S., Wiltshaw,E., Smith,I.E., Baker,J.M., Peckham,M.J., and Harrap,K.R. (1982). Early clinical studies with cis-diammine-1,1-cyclobutane dicarboxylate platinum II. *Cancer Chemother Pharmacol* 9, 140-147.
 30. Cant,NB. (1991). Projections to the lateral and medial superior olivary nuclei from the spherical and globular bushy cells of the anteroventral cochlear nucleus. In *Neurobiology of hearing: the central auditory system*, R. A. Altschuler, R. P. Bobbin, B. M. Clopton, and D. W. Hoffmann, eds. (New York: Raven), pp. 99-119.

31. Casseday, J.H., Ehrlich, D., and Covey, E. (1994). Neural tuning for sound duration: role of inhibitory mechanisms in the inferior colliculus. *Science* 264, 847-850.
32. Coleman, A.W. and Goff, L.J. (1985). Applications of fluorochromes to pollen biology. I. Mithramycin and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) as vital stains and for quantitation of nuclear DNA. *Stain Technol.* 60, 145-154.
33. Dallos, P. and Harris, D. (1978). Properties of auditory nerve responses in the absence of outer hair cell. *J. Neurophysiol.* 41, 365-383.
34. Dallos, P., Harris, D., Ozdamar, O., and Ryan, A. (1978). Behavioral, compound action potential, and single unit thresholds: relationship in normal and abnormal ears. *J Acoust Soc Am.* 64, 151-157.
35. Dallos, P., Zheng, J., and Cheatham, M.A. (2006). Prestin and the cochlear amplifier. *J Physiol* 576, 37-42.
36. Davis, K.A. (2002). Evidence of a functionally segregated pathway from dorsal cochlear nucleus to inferior colliculus. *J Neurophysiol* 87, 1824-1835.
37. Davis, K.A., Ramachandran, R., and May, B.J. (1999). Single-unit responses in the inferior colliculus of decerebrate cats. II. Sensitivity to interaural level differences. *J Neurophysiol* 82, 164-175.
38. Davis, K.A. and Young, E.D. (2000). Pharmacological evidence of inhibitory and disinhibitory neuronal circuits in dorsal cochlear nucleus. *J Neurophysiol* 83, 926-940.
39. De Lauretis, A., De Capua, B., Barbieri, M.T., Bellussi, L., and Passali, D. (1999). ABR evaluation of ototoxicity in cancer patients receiving cisplatin or carboplatin. *Scand Audiol* 28, 139-143.
40. Ding, D., Wang, J., and Salvi, R.J. (1997). Early damage in the chinchilla vestibular sensory epithelium from carboplatin. *Audiol Neurootol.* 2, 155-167.
41. Ding, D.L., Wang, J., Salvi, R., Henderson, D., Hu, B.H., McFadden, S.L., and Mueller, M. (1999). Selective loss of inner hair cells and type-I ganglion neurons

- in carboplatin-treated chinchillas. Mechanisms of damage and protection. *Ann N Y Acad Sci* 884, 152-170.
42. Egorin, M.J., Van Echo, D.A., Tipping, S.J., Olman, E.A., Whitacre, M.Y., Thompson, B.W., and Aisner, J. (1984). Pharmacokinetics and dosage reduction of cis-diammine(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum in patients with impaired renal function. *Cancer Res* 44, 5432-5438.
 43. Egorova, M., Ehret, G., Vartanian, I., and Esser, K.H. (2001). Frequency response areas of neurons in the mouse inferior colliculus. I. Threshold and tuning characteristics. *Exp Brain Res* 140, 145-161.
 44. Ehret, G. (1997). The Auditory Midbrain, a "Shunting Yard" of Acoustical Information Processing. In *The Central Auditory System*, G. Ehret and R. Romand, eds. (New York, Oxford: Oxford University Press), pp. 259-316.
 45. Ehret, G., Egorova, M., Hage, S.R., and Muller, B.A. (2003). Spatial map of frequency tuning-curve shapes in the mouse inferior colliculus. *Neuroreport* 14, 1365-1369.
 46. Ehret, G. and Merzenich, M.M. (1988a). Complex sound analysis (frequency resolution, filtering and spectral integration) by single units of the inferior colliculus of the cat. *Brain Res* 472, 139-163.
 47. Ehret, G. and Merzenich, M.M. (1988b). Neuronal discharge rate is unsuitable for encoding sound intensity at the inferior-colliculus level. *Hear Res* 35, 1-7.
 48. Evans, E.F. and Zhao, W. (1993). Varieties of inhibition in the processing and control of processing in the mammalian cochlear nucleus. *Prog Brain Res*. 126.
 49. Faingold, C.L. and Anderson, C.A. (1991). Loss of intensity-induced inhibition in inferior colliculus neurons leads to audiogenic seizure susceptibility in behaving genetically epilepsy-prone rats. *Exp Neurol* 113, 354-363.
 50. Faingold, C.L., Anderson, C.A.B., and Randall, M.E. (1993). Stimulation or blockade of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus alters binaural and tonic inhibition in contralateral inferior colliculus neurons. *Hearing Research* 69, 98-106.

51. Fay,R.R. (1988). Comparative psychoacoustics. *Hear Res* 34, 295-305.
52. Field,K.J. and Sibold,A.L. (1999). *The Laboratory HAMSTER & GERBIL*. (Boca Raton London New York Washington, D.C.: CRC Press,).
53. FitzPatrick,K.A. (1975). Cellular architecture and topographic organization of the inferior colliculus of the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 164, 185-207.
54. Forge,A. and Schacht,J. (2000). Aminoglycoside antibiotics. *Audiol Neurootol*. 5, 3-22.
55. Fubara,B.M., Casseday,J.H., Covey,E., and Schwartz-Bloom,R.D. (1996). Distribution of GABA(A), GABA(B), and glycine receptors in the central auditory system of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J Comp Neurol* 369, 83-92.
56. Funkenstein,H.H. and Winter,P. (1973). Responses to acoustic stimuli of units in the auditory cortex of awake squirrel monkeys. *Exp Brain Res* 18, 464-488.
57. Fuzessery,Z.M. and Hall,J.C. (1996). Role of GABA in shaping frequency tuning and creating FM sweep selectivity in the inferior colliculus. *J Neurophysiol* 76, 1059-1073.
58. Gaese,B.H. and Ostwald,J. (2001). Anesthesia changes frequency tuning of neurons in the rat primary auditory cortex. *J Neurophysiol* 86, 1062-1066.
59. Galambos,R. and Davis,H. (1943). The response of single auditory nerve fibers to acoustic stimulation. *J. Neurophysiol.* 6, 39-57.
60. Garraghty,P.E., LaChica,E.A., and Kaas,J.H. (1991). Injury-induced reorganization of somatosensory cortex is accompanied by reductions in GABA staining. *Somatosens.Mot.Res* 8, 347-354.
61. Glendenning,K.K. and Hutson,K.A. (1998). Lack of topography in the ventral nucleus of the lateral lemniscus. *Microsc.Res Tech.* 41, 298-312.
62. Glenn,S.L. and Kelly,J.B. (1992). Kainic acid lesions of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus - effects on binaural evoked responses in rat auditory cortex. *The Journal of Neuroscience* 12, 3688-3699.

63. Goldberg, J.M. and Brown, P.B. (1969). Response of binaural neurons of dog superior olivary complex to dichotic tonal stimuli: Some physiological mechanisms of sound localization. *J. Neurophysiol.* 32, 613-636.
64. Goldstein, M.H. Jr. and Abeles, M. (1975). Note on tonotopic organization of primary auditory cortex in the cat. *Brain Res* 100, 188-191.
65. Gooler, D.M., Xu, J., and Feng, A.S. (1996). Binaural inhibition is important in shaping the free-field frequency selectivity of single neurons in the inferior colliculus. *J Neurophysiol* 76, 2580-2594.
66. Grothe, B., Covey, E., and Casseday, J.H. (2001). Medial superior olive of the big brown bat: neuronal responses to pure tones, amplitude modulations, and pulse trains. *J Neurophysiol* 86, 2219-2230.
67. Guo, Y. and Burkard, R. (2002). Onset and offset responses from inferior colliculus and auditory cortex to paired noisebursts: inner hair cell loss. *Hear Res* 171, 158-166.
68. Hage, S.R. and Ehret, G. (2003). Mapping responses to frequency sweeps and tones in the inferior colliculus of house mice. *European Journal of Neuroscience* 18, 2301-2312.
69. Harrison, R. V., Ibrahim, D., and Mount, R.J. (1998). Plasticity of tonotopic maps in auditory midbrain following partial cochlear damage in the developing chinchilla. *Exp Brain Res* 123, 449-460.
70. Heil, P., Rajan, R., and Irvine, D.R. (1994). Topographic representation of tone intensity along the isofrequency axis of cat primary auditory cortex. *Hear Res* 76, 188-202.
71. Helfert, R.H., Snead, C.R., and Altschuler, R.A. (1991). The Ascending Auditory Pathway. In *Neurobiology of Hearing: The Central Auditory System*, R. A. Altschuler, R. P. Bobbin, B. M. Clopton, and D. W. Hoffmann, eds. (New York: Raven Press), pp. 1-25.

72. Hendry,S.H. and Jones,E.G. (1986). Reduction in number of immunostained GABAergic neurones in deprived-eye dominance columns of monkey area 17. *Nature* 320, 750-753.
73. Hernandez,O., Espinosa,N., Perez-Gonzalez,D., and Malmierca,M.S. (2005). The inferior colliculus of the rat: a quantitative analysis of monaural frequency response areas. *Neuroscience* 132, 203-217.
74. Herrera,M., Correa,J., Sanchez,d.C., and Ruiz,A. (1988). Stellate cells and their axonal patterns in the central nucleus of the inferior colliculus of the cat (*Felis domesticus*). *J Hirnforsch.* 29, 393-402.
75. Hidalgo,O.F., Rebollo,J., Vieitez,J.M., Bilbao,I., Tangco,E., Abuchaibe,O., and Pardo,F. (1993). Intra-arterial hepatic treatment with carboplatin (CBDCA) and 5-fluorouracil (5-FU) in metastases from colorectal carcinoma. *Am J Clin Oncol* 16, 30-33.
76. Hill,K.G. and Geisler,C.D. (1992). Two-tone suppression, excitation and the after effect in rate responses in auditory nerve fibres in the cat. *Hear Res* 64, 52-60.
77. Hofstetter,P., Ding,D.L., Powers,N., and Salvi,R.J. (1997a). Quantitative relationship of carboplatin dose to magnitude of inner and outer hair cell loss and the reduction in distortion product otoacoustic emission amplitude in chinchillas. *Hearing Research* 112, 199-215.
78. Hofstetter,P., Ding,D.L., and Salvi,R. (1997b). Magnitude and pattern of inner and outer hair cell loss in chinchilla as a function of carboplatin dose. *Audiology* 36, 301-311.
79. Horner,K.C., Lenoir,M., and Bock,G.R. (1985). Distortion product otoacoustic emissions in hearing-impaired mutant mice. *J Acoust Soc Am* 78, 1603-1611.
80. Husain,K., Whitworth,C., Somani,S.M., and Rybak,L.P. (2001). Carboplatin-induced oxidative stress in rat cochlea. *Hear Res* 159, 14-22.

81. Irvine,D.R. and Gago,G. (1990). Binaural interaction in high-frequency neurons in inferior colliculus of the cat: effects of variations in sound pressure level on sensitivity to interaural intensity differences. *J Neurophysiol* 63, 570-591.
82. Jackson,B.S. and Relkin,E.M. (1998). A frequency-dependent saturation evident in rate-intensity functions of the chinchilla auditory nerve. *Hear Res* 126, 75-83.
83. Jeffrey,R. and Jenkins,B.S. (1992). Husbandry and common Diseases of the Chinchilla(*Chinchilla langier*). *Journal of Small Exotic Animal Medicine* 2, 15-17.
84. Jen,P.H., Chen,Q.C., and Sun,X.D. (1998). Corticofugal regulation of auditory sensitivity in the bat inferior colliculus. *J Comp Physiol [A]* 183, 683-697.
85. Jock,B.M., Hamernik,R.P., Aldrich,L.G., Ahroon,W.A., Petriello,K.L., and Johnson,A.R. (1996). Evoked-potential thresholds and cubic distortion product otoacoustic emissions in the chinchilla following carboplatin treatment and noise exposure. *Hear Res* 96, 179-190.
86. Kandel,E.R., Schwartz,J.H., and Jessel,T.M. (1996). *Neurowissenschaften. Eine Einführung.* (Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag), pp. 185-323.
87. Kiang,N.Y. (1968). A survey of recent developments in the study of auditory physiology. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 77, 656-675.
88. Kiang,N.Y., Pfeiffer,R.R., Warr,W.B., and Backus,A.S. (1965a). Stimulus coding in the cochlear nucleus. *Trans Am Otol Soc* 53, 35-58.
89. Kiang,N.Y.S., Watanbe,T., Thomas,E.C., and Clark,L.F. (1965b). *Discharge Patterns of Single Fibers in the Cat's Auditory Nerve.* (Cambridge: MIT Press).
90. Kim,Y.H. and Raphael,Y. (2007). Cell division and maintenance of epithelial integrity in the deafened auditory epithelium. *Cell Cycle.* 6, 612-619.
91. Klinke,R. (1986). Neurotransmission in the inner ear. *Hearing Research* 22, 235-243.
92. Klinke,R. (1987). Die Verarbeitung von Schallreizen im Innenohr - Eine Übersicht über neuere Forschungsergebnisse. *HNO* 35, 139-148.

93. Klinke,R. (2005). Hören und Sprechen: Kommunikation des Menschen. In Physiologie, R. Klinke, H. C. Pape, and S. Silbernagel, eds. (Stuttgart: Thieme), pp. 657-674.
94. Klug,A., Park,T.J., and Pollak,G.D. (1995). Glycine and GABA influence binaural processing in the inferior colliculus of the mustache bat. *J Neurophysiol* 74, 1701-1713.
95. Kopp-Scheinflug,C. Interaktion von Exzitation und Inhibition bei der zentralnervösen Verarbeitung akustischer Information. 1999. Universität Leibzig.
96. Kossl,M., Frank,G., Burda,H., and Muller,M. (1996). Acoustic distortion products from the cochlea of the blind African mole rat, *Cryptomys spec.* *J Comp Physiol [A]* 178, 427-434.
97. Kossl,M. and Vater,M. (1996). Further studies on the mechanics of the cochlear partition in the mustached bat. II. A second cochlear frequency map derived from acoustic distortion products. *Hear Res* 94, 78-86.
98. Kros,C.J. (2007). How to build an inner hair cell: challenges for regeneration. *Hear Res* 227, 3-10.
99. Kulesza,R.J., Vinuela,A., Saldana,E., and Berrebi,A.S. (2002). Unbiased stereological estimates of neuron number in subcortical auditory nuclei of the rat. *Hear Res* 168, 12-24.
100. Kumoi,K., Saito,N., and Tanaka,C. (1993). Immunohistochemical localization of gamma-aminobutyric acid- and aspartate-containing neurons in the guinea pig superior olivary complex. *Hear Res* 68, 173-179.
101. Kuwada,S., Batra,R., and Stanford,T.R. (1989). Monaural and binaural response properties of neurons in the inferior colliculus of the rabbit: effects of sodium pentobarbital. *J Neurophysiol* 61, 269-282.
102. Kuwada,S., Batra,R., Yin,T.C., Oliver,D.L., Haberly,L.B., and Stanford,T.R. (1997). Intracellular recordings in response to monaural and binaural stimulation of neurons in the inferior colliculus of the cat. *J Neurosci* 17, 7565-7581.

103. Langner,G. and Schreiner,C.E. (1988). Periodicity coding in the inferior colliculus of the cat. I. neuronal mechanisms. *J.Neurophysiol.* 60, 1799-1822.
104. Le Beau,F.E., Rees,A., and Malmierca,M.S. (1996). Contribution of of GABA- and glycine-mediated inhibition to the monaural temporal response properties of neurons in the inferior colliculus. *J Neurophysiol* 75, 902-919.
105. Le Beau,F.E.N., Malmierca,M.S., and Rees,A. (2001). Iontophoresis in vivo demonstrates a key role for GABA(A) and glycinergic inhibition in shaping frequency response areas in the inferior colliculus of the guinea pig. *J Neurosci* 21, 7303-7312.
106. Li,L. and Kelly,J.B. (1992). Inhibitory influence of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus on binaural responses in the rat's inferior colliculus. *The Journal of Neuroscience* 12, 4530-4539.
107. Liberman,M.C. (1978). Auditory-nerve response from cats raised in a low-noise chamber. *J Acoust Soc Am* 63, 442-455.
108. Liberman,M.C. and Brown,M.C. (1986). Physiology and anatomy of single olivocochlear neurons in the cat. *Hear Res* 24, 17-36.
109. Liberman,M.C. and Kiang,N.Y. (1978). Acoustic trauma in cats. Cochlear pathology and auditory-nerve activity. *Acta Otolaryngol.Suppl* 358, 1-63.
110. Loftus,W.C., Bishop,D.C., Saint Marie,R.L., and Oliver,D.L. (2004). Organization of binaural excitatory and inhibitory inputs to the inferior colliculus from the superior olive. *J Comp Neurol* 472, 330-344.
111. Loquet,G., Campo,P., and Lataye,R. (1999). Comparison of toluene-induced and styrene-induced hearing losses. *Neurotoxicol Teratol* 21, 689-697.
112. Lorente de No,R. (1937). The neural mechanism of Hearing. I. Anatomie und Physiologie. (b) The sensory ending in the Cochlea. *Laryngoscope* 47, 373-377.
113. Lu,T.K., Zhak,S., Dallos,P., and Sarpeshkar,R. (2006). Fast cochlear amplification with slow outer hair cells. *Hear Res* 214, 45-67.

114. MacDonald,M., Harrison,R., Wake,M., Bliss,B., and Macdonald,R.E. (1994). Ototoxicity of carboplatin: comparing animal and clinical models at the Hospital for sick children. *J Otolaryngol.* 23, 151-159.
115. Malmierca,M.S., Blackstad,T.W., Osen,K.K., Karagulle,T., and Molowny,R.L. (1993). The central nucleus of the inferior colliculus in rat: a Golgi and computer reconstruction study of neuronal and laminar structure. *J Comp Neurol* 333, 1-27.
116. Malmierca,M.S., Rees,A., Le Beau,F.E., and Bjaalie,J.G. (1995). Laminar organization of frequency-defined local axons within and between the inferior colliculi of the guinea pig. *J Comp Neurol* 357, 124-144.
117. McAlpine,D., Jiang,D., and Palmer,A.R. (1996). Interaural delay sensitivity and the classification of low best-frequency binaural responses in the inferior colliculus of the guinea pig. *Hear Res* 97, 136-152.
118. McFadden,S.L., Kasper,C., Ostrowski,J., Ding,D., and Salvi,R.J. (1998). Effects of inner hair cell loss on inferior colliculus evoked potential thresholds, amplitudes and forward masking functions in chinchillas. *Hear Res* 120, 121-132.
119. Merchan,M.A., Saldana,E., and Plaza,I. (1994). Dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the rat - concentric organization and tonotopic projection to the inferior colliculus. *The Journal of Comparative Neurology* 342, 259-278.
120. Meyer,W.H., Pratt,C.B., Poquette,C.A., Rao,B.N., Parham,D.M., Marina,N.M., Pappo,A.S., Mahmoud,H.H., Jenkins,J.J., Harper,J., Neel,M., and Fletcher,B.D. (2001). Carboplatin/ifosfamide window therapy for osteosarcoma: results of the St Jude Children's Research Hospital OS-91 trial. *J Clin Oncol* 19, 171-182.
121. Mitani,A., Shimokouchi,M., and Nomura,S. (1983). Effects of stimulation of the primary auditory cortex upon colliculogeniculate neurons in the inferior colliculus of the cat. *Neurosci Lett* 42, 185-189.
122. Möller,J. (1978). Response characteristics of inferior colliculus neurons of awake cf-fm bat *rhinolophus ferrumequinum* - 2. two-tone stimulation. *Journal of Comparative Physiology* 125, 227-236.

123. Moore,J.K. and Moore,R.Y. (1971). A comparative study of the superior olivary complex in the primate brain. *Folia Primatologica* (Basel) *16*, 35-51.
124. Moore,J.K. and Moore,R.Y. (1987). Glutamic acid decarboxylase-like immunoreactivity in brainstem auditory nuclei of the rat. *J Comp Neurol* *260*, 157-174.
125. Moser,T., Brandt,A., and Lysakowski,A. (2006). Hair cell ribbon synapses. *Cell Tissue Res* *326*, 347-359.
126. Mossop,J.E., Wilson,M.J., Caspary,D.M., and Moore,D.R. (2000). Down-regulation of inhibition following unilateral deafening. *Hear Res* *147*, 183-187.
127. Mottet,A.N., Bons-Rosset,F., Pellae-Cosset,B., Costa,P., Schwartz,Y., Louis,J.F., and Navratil,H. (1995). Carboplatin and urothelial tumors: review of the literature. *Bull Cancer* *82*, 181-188.
128. Oliver,D.L. (2000). Ascending efferent projections of the superior olivary complex. *Microsc.Res Tech.* *51*, 355-363.
129. Oliver,D.L., Beckius,G.E., and Shneiderman,A. (1995). Axonal projections from the lateral and medial superior olive to the inferior colliculus of the cat: a study using electron microscopic autoradiography. *J Comp Neurol* *360*, 17-32.
130. Oliver,D.L., Kuwada,S., Yin,T.C., Haberly,L.B., and Henkel,C.K. (1991). Dendritic and axonal morphology of HRP-injected neurons in the inferior colliculus of the cat. *J Comp Neurol* *303*, 75-100.
131. Oliver,D.L. and Morest,D.K. (1984). The central nucleus of the inferior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* *222*, 237-264.
132. Oliver,D.L., Winer,J.A., Beckius,G.E., and Saint Marie,R.L. (1994). Morphology of GABAergic neurons in the inferior colliculus of the cat. *J Comp Neurol* *340*, 27-42.
133. Palma,J.P. and Aggarwal,S.K. (1994). Cisplatin and carboplatin mediated release of cytolytic factors in murine peritoneal macrophages in vitro. *Anticancer.Drugs.* *5*, 615-622.

134. Palombi,P.S. and Caspary,D.M. (1996a). GABA inputs control discharge rate primarily within frequency receptive fields of inferior colliculus neurons. *J Neurophysiol* 75, 2211-2219.
135. Palombi,P.S. and Caspary,D.M. (1996b). Physiology of the young adult Fischer 344 rat inferior colliculus: responses to contralateral monaural stimuli. *Hear Res* 100, 41-58.
136. Park,T.J. and Pollak,G.D. (1994). Azimuthal receptive fields are shaped by GABAergic inhibition in the inferior colliculus of the mustache bat. *J Neurophysiol* 72, 1080-1102.
137. Pedemonte,M., Torterolo,P., and Velluti,R.A. (1997). In vivo intracellular characteristics of inferior colliculus neurons in guinea pigs. *Brain Res* 759, 24-31.
138. Pelleg-Toiba,R. and Wollberg,Z. (1989). Tuning properties of auditory cortex cells in the awake squirrel monkey. *Exp Brain Res* 74, 353-364.
139. Pharmacia&Upjohn. Gebrauchsinformation für Ketavet. 2003.
140. Picaud,S., Pattnaik,B., Hicks,D., Forster,V., Fontaine,V., Sahel,J., and Dreyfus,H. (1998). GABAA and GABAC receptors in adult porcine cones: evidence from a photoreceptor-glia co-culture model. *J Physiol* 513 (Pt 1), 33-42.
141. Pickles,J.O. (1982). *An introduction to the physiology of hearing.* (London: Academic Press), pp. 1-340.
142. Pickles,J.O. (1988). *An introduction to the physiology of hearing.* (London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto: ACADEMIC PRESS LIMITED).
143. Picton,T.W. (1990). Auditory evoked potentials.
In T.T. Daly and T.A. Pedley, editors, *Current Practice of Clinical Electroencephalography.* (New York: Raven Press,Ltd.).

144. Pollak,G.D. and Park,T.J. (1993). The effects of GABAergic inhibition on monaural response properties of neurons in the mustache bat's inferior colliculus. *Hear Res* 65, 99-117.
145. Puel,J.L., Saffiedine,S., Daldin,C.G., Eybalin,M., and Pujol,R. (1995). Synaptic regeneration and functional recovery after excitotoxic injury in the guinea pig cochlea. *C.R.Acad.Sci [III]*. 318, 67-75.
146. Qiu,C.X., Salvi,R., Ding,D., and Burkard,R. (2000). Inner hair cell loss leads to enhanced response amplitudes in auditory cortex of unanesthetized chinchillas: evidence for increased system gain. *Hearing Research* 139, 153-171.
147. Rajan,R. (1998). Receptor organ damage causes loss of cortical surround inhibition without topographic map plasticity. *Nat Neurosci* 1, 138-143.
148. Rajan,R. and Irvine,D.R. (1998). Neuronal responses across cortical field A1 in plasticity induced by peripheral auditory organ damage. *Audiol Neurootol*. 3, 123-144.
149. Ramachandran,R., Davis,K.A., and May,B.J. (1999). Single-unit responses in the inferior colliculus of decerebrate cats. I. Classification based on frequency response maps. *J Neurophysiol* 82, 152-163.
150. Reetz,G. and Ehret,G. (1999). Inputs from three brainstem sources to identified neurons of the mouse inferior colliculus. *Brain Res* 816, 527-543.
151. Robles,L. and Ruggero,M.A. (2001). Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 81, 1305-1352.
152. Rockel,A.J. and Jones,E.G. (1973a). Observations on the fine structure of the central nucleus of the inferior colliculus of the cat. *J Comp Neurol* 147, 61-92.
153. Rockel,A.J. and Jones,E.G. (1973b). The neuronal organization of the inferior colliculus of the adult cat. I. The central nucleus. *J Comp Neurol* 147, 11-60.
154. Rockel,A.J. and Jones,E.G. (1973c). The neuronal organization of the inferior colliculus of the adult cat. II. The pericentral nucleus. *J Comp Neurol* 149, 301-334.

155. Roizen,N.J. (1999). Etiology of hearing loss in children. Nongenetic causes. *Pediatr Clin North Am* 46, 49-64, x.
156. Romand,R. and Avan,P. (1997). Anatomical and functional aspects of the cochlear nucleus. In *The Central AUDitory System*, G. Ehret and R. Romand, eds. Oxford University Press), pp. 97-191.
157. Rose,J.E., Hind,J.E., Anderson,D.J., and Brugge,J.F. (1971). Some effects of stimulus intensity on response of auditory nerve fibers in the squirrel monkey. *J Neurophysiol* 34, 685-699.
158. Ross,L.S. and Pollak,G.D. (1989). Differential ascending projections to aural regions in the 60 kHz contour of the mustache bat's inferior colliculus. *J Neurosci* 9, 2819-2834.
159. Rubel,E.W., Dew,L.A., and Roberson,D.W. (1995). Mammalian vestibular hair cell regeneration. *Science* 267, 701-707.
160. Ruel,J., Wang,J., Rebillard,G., Eybalin,M., Lloyd,R., Pujol,R., and Puel,J.L. (2007). Physiology, pharmacology and plasticity at the inner hair cell synaptic complex. *Hear Res* 227, 19-27.
161. Ruggero,M.A. (1992). *Physiology and coding of sound in the auditory nerve.* (New York: Springer Verlag).
162. Ryan,A. and Dallos,P. (1975). Effect of absence of cochlear outer hair cells on behavioural auditory threshold. *Nature* 253, 44-46.
163. Sachs,M.B. and Kiang,N.Y. (1968). Two-tone inhibition in auditory-nerve fibers. *J Acoust Soc Am* 43, 1120-1128.
164. Saint Marie,R.L. and Baker,R.A. (1990). Neurotransmitter-specific uptake and retrograde transport of [3H]glycine from the inferior colliculus by ipsilateral projections of the superior olivary complex and nuclei of the lateral lemniscus. *Brain Res* 524, 244-253.
165. Saint Marie,R.L., Ostapoff,E.M., Morest,D.K., and Wenthold,R.J. (1989). Glycine-immunoreactive projection of the cat lateral superior olive: possible role in midbrain ear dominance. *J Comp Neurol* 279, 382-396.

166. Saito,T., Saito,H., Saito,K., Wakui,S., Manabe,Y., and Tsuda,G. (1989). Ototoxicity of carboplatin in guinea pigs. *Auris Nasus Larynx (Japan)* 16, 13-21.
167. Saitoh,I. and Suga,N. (1995). Long delay lines for ranging are created by inhibition in the inferior colliculus of the mustached bat. *J Neurophysiol* 74, 1-11.
168. Saldana,E. and Merchan,M.A. (1992). Intrinsic and commissural connections of the rat inferior colliculus. *J Comp Neurol* 319, 417-437.
169. Salvi,R.J., Saunders,S.S., Gratton,M.A., Arehole,S., and Powers,N. (1990). Enhanced evoked response amplitudes in the inferior colliculus of the chinchilla following acoustic trauma. *Hear Res* 50, 245-257.
170. Salvi,R.J., Wang,J., and Ding,D. (2000). Auditory plasticity and hyperactivity following cochlear damage. *Hear Res* 147, 261-274.
171. Salvi,R.J., Wang,J., Ding,D., Stecker,N., and Arnold,S. (1999). Auditory deprivation of the central auditory system resulting from selective inner hair cell loss: animal model of auditory neuropathy. *Scand Audiol.Suppl* 51, 1-12.
172. Schofield,B.R. (2005). Superior Olivary Complex and Lateral Lemniscal Connections of the auditory Midbrain. In *The Inferior Colliculus*, J. A. Winer and C. E. Schreiner, eds. Springer), pp. 132-154.
173. Shneiderman,A., Chase,M.B., Rockwood,J.M., Benson,C.G., and Potashner,S.J. (1993). Evidence for a GABAergic projection from the dorsal nucleus of the lateral lemniscus to the inferior colliculus. *J Neurochem* 60, 72-82.
174. Shofner,W.P. and Young,E.D. (1985). Excitatory/inhibitory response types in the cochlear nucleus: Relationships to discharge patterns and responses to electrical stimulation of the auditory nerve. *J.Neurophysiol.* 54, 917-939.
175. Smith,P.H. and Rhode,W.S. (1989). Structural and functional properties distinguish two types of multipolar cells in the ventral cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 282, 595-616.

176. Sobkowicz,H.M., Slapnick,S.M., Nitecka,L.M., and August,B.K. (1997). Compound synapses within the GABAergic innervation of the auditory inner hair cells in the adolescent mouse. *J Comp Neurol* 377, 423-442.
177. Spirou,G.A., Davis,K.A., Nelken,I., and Young,E.D. (1999). Spectral integration by type II interneurons in dorsal cochlear nucleus. *J Neurophysiol* 82, 648-663.
178. Spirou,G.A. and Young,E.D. (1991). Organization of Dorsal Cochlear Nucleus Type-IV Unit Response Maps and Their Relationship to Activation by Bandlimited Noise. *J.Neurophysiol.* 66, 1750-1768.
179. Spoendlin,H. (1969). Innervation patters in the Organ of Corti of the cat. *Acta Otolaryngol.* 67, 239-254.
180. Sterling,P. and Matthews,G. (2005). Structure and function of ribbon synapses. *Trends Neurosci* 28, 20-29.
181. Stiebler,I. (1986). Tone threshold mapping in the inferior colliculus of the house mouse. *Neurosci Lett* 65, 336-340.
182. Suga,N. (1969). Classification of inferior collicular neurones of bats in terms of responses to pure tones, FM sounds and noise bursts. *J Physiol* 200, 555-574.
183. Syka,J. (2002). Plastic changes in the central auditory system after hearing loss, restoration of function, and during learning. *Physiol Rev* 82, 601-636.
184. Syka,J. and Popelar,J. (1984). Inferior colliculus in the rat: Neuronal responses to stimulation of the auditory cortex. *Neuroscience Letters* 51, 235-240.
185. Takeno,S., Harrison,R.V., Ibrahim,D., Wake,M., and Mount,R.J. (1994a). Cochlear function after selective inner hair cell degeneration induced by carboplatin. *Hearing Research* 75, 93-102.
186. Takeno,S., Harrison,R.V., Mount,R.J., Wake,M., and Harada,Y. (1994b). Induction of selective inner hair cell damage by carboplatin. *Scanning Microscopy* 8, 97-106.

187. Takeno,S., Wake,M., Mount,R.J., and Harrison,R.V. (1998). Degeneration of spiral ganglion cells in the chinchilla after inner hair cell loss induced by carboplatin. *Audiol Neurootol.* 3, 281-290.
188. Tan,A.Y., Zhang,L.I., Merzenich,M.M., and Schreiner,C.E. (2004). Tone-evoked excitatory and inhibitory synaptic conductances of primary auditory cortex neurons. *J Neurophysiol* 92, 630-643.
189. Taudy,M., Syka,J., Popelar,J., and Ulehlova,L. (1992). Carboplatin and cisplatin ototoxicity in guinea pigs. *Audiology.* 31, 293-299.
190. Trautwein,P., Hofstetter,P., Wang,J., Salvi,R., and Nostrand,A. (1996). Selective inner hair cell loss does not alter distortion product otoacoustic emissions. *Hearing Research* 96, 71-82.
191. Vater,M., Kössl,M., and Horn,A. (1992). GAD- and GABA-immunoreactivity in the ascending auditory pathway of horseshoe and mustached bats. *J Comp Neurol* 325, 183-206.
192. Vaughn,M.D., Pozza,M.F., and Lingenhohl,K. (1996). Excitatory acoustic responses in the inferior colliculus of the rat are increased by GABAB receptor blockade. *Neuropharmacology* 35, 1761-1767.
193. von Békésy,G. (1960). *Experiments in Hearing.* (New York: McGraw-Hill).
194. Wagner,T. (1994). Intrinsic properties of identified neurons in the central nucleus of mouse inferior colliculus. *Neuroreport* 6, 89-93.
195. Wake,M., Anderson,J., Takeno,S., Mount,R.J., and Harrison,R.V. (1996). Otoacoustic emission amplification after inner hair cell damage. *Acta Otolaryngol.* 116, 374-381.
196. Wake,M., Ibrahim,D., Harrison,R., and Mount,R. (1993). Carboplatin ototoxicity: an animal model. *j.Laryngol.Otol.* 107, 585-589.
197. Wake,M., Takeno,S., Ibrahim,D., and Harrison,R. (1994). Selective inner hair cell ototoxicity induced by carboplatin. *Laryngoscope* 104, 488-493.

198. Wang,J., Ding,D., and Salvi,R.J. (2002). Functional reorganization in chinchilla inferior colliculus associated with chronic and acute cochlear damage. *Hear Res* 168, 238-249.
199. Wang,J., Powers,N.L., Hofstetter,P., Trautwein,P., Ding,D., and Salvi,R. (1997). Effects of selective inner hair cell loss on auditory nerve fiber threshold, tuning and spontaneous and driven discharge rate. *Hearing Research* 107, 67-82.
200. Wehr,M. and Zador,A.M. (2003). Balanced inhibition underlies tuning and sharpens spike timing in auditory cortex. *Nature* 426, 442-446.
201. Wilkinson,L. (2004). Classification and Regression Trees. In SYSTAT11 Statistics I, (Richmond: SYSTAT software, Inc.), pp. 35-56.
202. Winer,J.A., Diehl,J.J., and Larue,D.T. (2001). Projections of auditory cortex to the medial geniculate body of the cat. *J Comp Neurol* 430, 27-55.
203. Winer,J.A., Larue,D.T., and Pollak,G.D. (1995). GABA and glycine in the central auditory system of the mustache bat: structural substrates for inhibitory neuronal organization. *J Comp Neurol* 355, 317-353.
204. Winer,J.A. and Prieto,J.J. (2001). Layer V in cat primary auditory cortex (AI): cellular architecture and identification of projection neurons. *J Comp Neurol* 434, 379-412.
205. Winer,J.A. and Schreiner,C.E. (2005). The central auditory System. In *The Inferior Colliculus*, J. A. Winer and C. E. Schreiner, eds. Springer), pp. 1-68.
206. Wu,S.H. and Oertel,D. (1984). Intracellular injection with horseradish peroxidase of physiologically characterized stellate and bushy cells in slices of mouse anteroventral cochlear nucleus. *J Neurosci* 4, 1577-1588.
207. Wu,S.H. and Oertel,D. (1986). Inhibitory circuitry in the ventral cochlear nucleus is probably mediated by glycine. *J Neurosci* 6, 2691-2706.
208. Yamamura,T., Harada,K., Okamura,A., and Kemmotsu,O. (1990). Is the site of action of ketamine anesthesia the N-methyl-D-aspartate receptor? *Anesthesiology* 72, 704-710.

209. Yan,J. and Ehret,G. (2002). Corticofugal modulation of midbrain sound processing in the house mouse. *Eur J Neurosci* *16*, 119-128.
210. Yan,J., Zhang,Y., and Ehret,G. (2005). Corticofugal shaping of frequency tuning curves in the central nucleus of the inferior colliculus of mice. *J Neurophysiol* *93*, 71-83.
211. Yates,G.K., winter,I.M., and Robertson,D. (1990). Basilar membrane nonlinearity determines auditory nerve rate-intensity functions and cochlear dynamic range. *Hear Res* *45*, 203-219.
212. Young,E.D. and Brownell,W.E. (1976). Responses to tones and noise of single cells in dorsal cochlear nucleus of unanesthetized cats. *J Neurophysiol* *39*, 282-300.
213. Zhang,S. and Oertel,D. (1993). Giant cells of the dorsal cochlear nucleus of mice: intracellular recordings in slices. *J Neurophysiol* *69*, 1398-1408.
214. Zhang,Y. and Wu,S.H. (2000). Long-term potentiation in the inferior colliculus studied in rat brain slice. *Hear Res* *147*, 92-103.
215. Zheng,X.Y., Henderson,D., Hu,B.H., Ding,D.L., and McFadden,S.L. (1997). The influence of the cochlear efferent system on chronic acoustic trauma. *Hear.Res* *107*, 147-159.
216. Zurita,P., Villa,A.E., de Ribaupierre,Y., de Ribaupierre,F., and Rouiller,E.M. (1994). Changes of single unit activity in the cat's auditory thalamus and cortex associated to different anesthetic conditions. *Neurosci Res* *19*, 303-316.

Danksagung

Mein Dank gilt allen, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben. Im Besonderen möchte mich bedanken bei Herrn Prof. Dr. Jean WT Smolders für die Überlassung des interessanten Themas und die Möglichkeit dieses am Zentrum der Physiologie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main selbständig bearbeiten zu können. Außerdem möchte ich ihm für die hilfreichen Hinweise im Laufe meiner Doktorarbeit danken. Seine fundierten Kommentare sind an vielen Stellen der vorliegenden Doktorarbeit reflektiert.

Herrn Prof. Dr. Manfred Kössl danke ich für die Übernahme der Betreuung im FB Biologie.

Dr. Ulrich W. Biebel danke ich sehr für die Hilfe bei der Einführung in den experimentellen Teil meiner Arbeit und die freundschaftliche Zusammenarbeit. Bedanken möchte ich mich auch bei Silvi Hoidis für die Bearbeitung der aufwändigen histologischen Nachweise.

Herrn P.D. Dr. Marcus Müller möchte ich auch für die große Hilfe bei technischen und fachlichen Problemen danken.

Ein ganz dickes Dankeschön an Dr. Rainer Hartmann für die vielen hilfreichen Kommentare. Weiterhin danke ich allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Klinke für die gute Stimmung und den Zusammenhalt auch in schwierigen Zeiten.

Danke auch an alle Mitglieder des Graduiertenkollegs 360 „Neuronale Plastizität: Moleküle, Strukturen, Funktionen“ für die spannenden Einblicke in die unterschiedlichsten Forschungsgebiete.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die Doktorarbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Frankfurt, den 16. Okt. 2007

Lebenslauf

Vor- und Zuname: Ala Alkhatib

Geburtsdatum und -ort: 19.04.1973, Jizan, Saudi Arabien

Eltern: Hussain Alkhatib und

Naifeh Alkhatib (geborene Ibdah)

Ausbildung

Jun 1991 Abitur an der Sekundärschule in Irbid, Jordanien

1992 Erlernen der deutschen Sprache im Zentrum für deutsche Sprache und Kultur\

Frankfurt am Main

1993 – 1994 Vorbereitungsjahr im Studienkolleg in Frankfurt/Main

1995 – 2002 Studium der Biologie an der , J.W. Goethe-Universität, Frankfurt/Main

Schwerpunkte: Neurobiologie, Tierphysiologie und Spezielle Zoologie

Jan 2003 - Sep 2003 Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jean Smolders, Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie, J.W. Goethe-Universität, Frankfurt/Main

Titel der Arbeit: „Die Auswirkung des Verlustes der inneren Haarzellen auf die akustische Maskierung in Chinchillas“

Abschluss als „Diplombiologe“

seit Jan 2004 Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jean Smolders, Institut für Neuro- und Sinnesphysiologie, J.W. Goethe-Universität, Frankfurt/Main

Juli 2004 – Sep 2007 Stipendiat im Graduiertenkolleg „Neuronale Plastizität: Moleküle, Strukturen, Funktionen“

Ala Alkhatib