

Dienstag, 13. Mai 2014
21:21

Das efferente System und seine frequenzspezifische
Modulation des cochleären Verstärkers bei der
Fledermaus *Carollia perspicillata*

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

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

von

Stefanie Angelika Hennig
aus Mainz

Frankfurt 2013
(D 30)

Vom Fachbereich Biowissenschaften der Goethe-Universität Frankfurt am Main als
Dissertation angenommen.

Dekanin: Prof. Dr. Anna Starzinski-Powitz
1. Gutachter: Prof. Dr. Manfred Kössl
2. Gutachter: Prof. Dr. Leo Peichl

Datum der Disputation:

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	iv
Abbildungsverzeichnis	vi
Abkürzungsverzeichnis	viii
Zusammenfassung	x
1 Einleitung: Der cochleäre Verstärker und das efferente System	11
1.1 Die Schallaufnahme und -weiterleitung in das Innenohr	11
1.2 Der mechano-elektrische Transduktionsprozess	15
1.3 Der cochleäre Verstärker.....	17
1.4 Otoakustische Emissionen.....	18
1.5 Die Hörbahn	21
1.6 Das olivo-cochleäre System	21
1.7 Zielsetzung der Arbeit.....	25
2 Material und Methoden	27
2.1 Versuchstiere und deren Haltung	27
2.2 Versuchsaufbau zur Messung otoakustischer Emissionen bei gleichzeitiger kontralateraler akustischer Stimulation	28
2.3 Distorsionsprodukt otoakustische Emissionen.....	31
2.4 Frequenzspezifische kontralaterale Stimulation.....	32
2.5 Messung des akustischen Übersprechens.....	36
2.6 Pegelabhängigkeit von CAS bei ipsilateraler Messung von I/O-Funktionen	38
2.7 Betäubung von Versuchstieren.....	40
2.8 Messung von Suppressions-Abstimmkurven in Kombination mit CAS.....	40
2.9 Statistische Analysen.....	42
3 Ergebnisse	43
3.1 Frequenzspezifische kontralaterale Suppression.....	43
3.2 Pegelabhängigkeit der kontralateralen Suppression bei ipsilateraler Messung von I/O-Funktionen	55
3.3 Messung von Suppressions-Abstimmkurven in Kombination mit CAS.....	67
4 Diskussion	74
4.1 Methodische Betrachtungen zur Messung ipsilateraler DPOAE bei simultaner CAS	74
4.1.1 Artefakt durch Übersprechen	74
4.1.2 Artefakt durch Aktivierung des Mittelohrmuskelreflexes	76
4.1.3 Messungen an nicht narkotisierten, wachen Versuchstieren.....	79
4.2 Efferente Modulation des cochleären Verstärkers über die Fasern des MOC-Systems	81
4.2.1 Einfluss der Bandbreite der CAS auf die Evozierung der DPOAE	81
4.2.2 Hohe Effizienz des kontralateralen Stimulus.....	82

4.2.3	Frequenzspezifische Modulation der Innenohrmechanik durch das MOC-System.....	84
4.2.4	Funktion der MOC-Efferenzen	89
4.2.5	Schlussfolgerung	91
5	Literaturverzeichnis	94
6	Anhang	103
	Danksagung	
	Lebenslauf	

Abbildungsverzeichnis

1.1	Schema des Außen-, Mittel- und Innenohrs von Säugetieren am Beispiel des Menschen.	12
1.2	Schematischer Aufbau des Innenohrs von Säugetieren.	14
1.3	Schematische Darstellung der Evozierung von DPOAE im Innenohr von Säugetieren	20
1.4	Schema des olivo-cochleären Reflexbogens	23
2.1	Echoortungsruf von <i>C. perspicillata</i>	28
2.2	Versuchsaufbau zur Messung von DPOAE.	30
2.3	Abbildungsorte der verwendeten Schallstimuli.	32
2.4	Exemplarische DPOAE-Messung mit CAS.	34
2.5	Quantifizierung der DPOAE-Suppression.	35
2.6	Messung des Übersprechens	37
2.7	Auswertung der Wachstumsfunktionen.	39
3.1	Veranschaulichung der frequenzspezifischen Suppression unter CAS.	44
3.2	Betäubungsmittleinfluss auf die frequenzspezifische Suppression	45
3.3	Efferente frequenzspezifische Suppression der $2f_1$ - f_2 -DPOAE (20 kHz)	47
3.4	Efferente frequenzspezifische Suppression der $2f_1$ - f_2 -DPOAE (40 kHz)	49
3.5	Efferente frequenzspezifische Suppression der $2f_1$ - f_2 -DPOAE (60 kHz)	50
3.6	Charakteristika der efferenten $2f_1$ - f_2 -Suppression (20 kHz)	51
3.7	Charakteristika der efferenten $2f_1$ - f_2 -Suppression (40 kHz)	52
3.8	Charakteristika der efferenten $2f_1$ - f_2 -Suppression (60 kHz)	53
3.9	CAS-Pegelabhängigkeit der $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen	56
3.10	Bsp. 1 für efferente Suppression der $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktion mit Phase	58
3.11	Bsp. 2 für efferente Suppression der $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktion mit Phase	59
3.12	Einfluss des NBN auf den $2f_1$ - f_2 -Pegel	62
3.13	Einfluss des NBN auf den Schwellenwert bei den Kriterien -10 und 0 dB SPL.	63
3.14	Vergleich der Steigung von $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen unter CAS.	64

3.15	Vergleich der individuellen Charakteristika der $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen zwischen den Versuchstieren.	65
3.16	Betäubungsmiteleinfluss auf die $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen	66
3.17	Efferente Suppression und ipsilaterale Maskierung der $2f_1$ - f_2 -DPOAE	68
3.18	Suppressions-Abstimmkurven der $2f_1$ - f_2 -DPOAE und CAS.	70
3.19	Einfluss der CAS auf die Suppressions-Abstimmkurven der $2f_1$ - f_2 -DPOAE	72

Abkürzungsverzeichnis

2f ₁ -f ₂	kubisches Verzerrungsprodukt der Frequenz 2f ₁ -f ₂
f ₁	Frequenz des Stimulustons f ₁
f ₂	Frequenz des Stimulustons f ₂
l ₁	<i>level</i> (engl.), Pegel des Stimulustons f ₁
l ₂	<i>level</i> (engl.), Pegel des Stimulustons f ₂
ACh	Acetylcholin, Neurotransmitter
BBN	<i>broadband noise</i> (engl.), Breitbandrauschen
BF	beste Frequenz, optimale Anregungsfrequenz
BW	Bandweite, Breite der STC 5 bzw. 10 dB oberhalb des BF-Pegels
CAS	<i>contralateral acoustic stimulation</i> (engl.), kontralaterale akustische Stimulation
CGRP	<i>Calcitonin Gene-Related Peptide</i> (engl.), Neuropeptid
COCB	<i>crossed olivo-cochlear bundle</i> (engl.), gekreuztes olivo-cochleäres Bündel
dB SPL	dB <i>sound pressure level</i> (engl.), Schalldruckpegel in Dezibel re 20 µPa Referenzschallpegel
DPOAE	<i>distortion product otoacoustic emission</i> (engl.), Distorsionsprodukt-(Verzerrungsprodukt-) otoakustische Emission
GABA	<i>Gamma-aminobutyric acid</i> (engl.), γ –Aminobuttersäure, inhibitorischer Neurotransmitter
IHC	<i>inner hair cell</i> (engl.), innere Haarsinneszelle
LOC	laterale olivo-cochleäre Efferenzen
LSM	<i>least square mean</i> (engl.), Berechnung der Kurvenanpassung gemäß der Methode der kleinsten Abweichung
MEM	<i>middle ear muscle</i> (engl.), Mittelohrmuskeln
MOC	mediale olivo-cochleäre Efferenzen
MW	arithmetischer Mittelwert
NBN	<i>narrowband noise</i> (engl.), Schmalbandrauschen
CN	<i>cochlear nucleus</i> (engl.), Nucleus cochlearis
OAE	<i>otoacoustic emission</i> (engl.), otoakustische Emission

OCB	<i>olivo-cochlear bundle</i> (engl.), olivo-cochleäres Bündel
OHC	<i>outer hair cell</i> (engl.), äußere Haarsinneszelle
SD	<i>standard deviation</i> (engl.), mittlere Standardabweichung
SOAE	<i>spontaneous otoacoustic emission</i> (engl.), spontane otoakustische Emission
SOC	<i>superior olivary complex</i> (engl.), oberer Olivenkomplex
STC	<i>suppression tuning curve</i> (engl.), Suppressions-Abstimmkurve
UOCB	<i>uncrossed olivo-cochlear bundle</i> (engl.), ungekreuztes olivo-cochleäres Bündel

Zusammenfassung

Die Funktion der äußeren Haarsinneszellen geht weit über die normale Rezeptoreigenschaft der Kategorie Mechanorezeptor hinaus. Äußere Haarzellen mit ihrer reichhaltigen efferenten Innervierung sind nicht nur für die sensorische Aufnahme mechanischer Bewegung zuständig, sondern ermöglichen aufgrund ihrer motorischen Funktionen die mechanische Verstärkung der Wanderwelle in der Cochlea. Äußere Haarzellen sind eine maßgebliche Komponente des 'cochleären Verstärkers' und ihr Ausfall führt zur Schwerhörigkeit. Beiprodukte des cochleären Verstärkers sind otoakustische Emissionen, deren Messung Aufschluss über aktive mechanische Prozesse im Innenohr gibt.

Die äußeren Haarsinneszellen bilden Synapsen mit dem olivo-cochleären efferenten System, welches im Zentrum der vorliegenden Untersuchung steht. Es vermittelt den Einfluss des Zentralnervensystems auf das Corti-Organ des Innenohrs. Über die akustische Reizung des olivo-cochleären Reflexbogens ist man in der Lage, das efferente System zu aktivieren und gleichzeitig die Antworteigenschaften der Cochlea zu verändern. Efferente Modulationen des cochleären Verstärkers können sich z. B. in einer Veränderung des Emissionspegels bemerkbar machen. Die Fledermausspezies *Carollia perspicillata* ist aufgrund ihres Echoortungssystems mit einem sehr sensitiven und hochauflösenden Hörvermögen ausgestattet und eignet sich hervorragend als Modelltier in der Hörforschung, insbesondere auch deshalb, da otoakustische Emissionen sehr gut messbar sind.

Das efferente System von *C. perspicillata* wurde in dieser Untersuchung durch akustische Stimulation der kontralateralen Cochlea angeregt. Die Stimuli, die nicht nur in ihrem Pegel sondern auch in ihrer Bandbreite und in der Mittelfrequenz in Relation zu den ipsilateralen Stimulusfrequenzen variierten, beeinflussten dabei die Generierung der otoakustischen Emissionen (DPOAE, engl: *distortion product otoacoustic emissions*) im ipsilateralen Ohr: akustische Stimulation der kontralateralen Cochlea bewirkte zuverlässig eine Änderung der DPOAE- Amplitude im kontralateralen Ohr. Vor allem eine Suppression des cochleären Verstärkers in Form von DPOAE-Pegelverminderungen wurde beobachtet. Die supprimierenden Effekte erreichten trotz leiser bis moderater kontralateraler Rauschpegel (bis maximal 54 dB SPL) Werte von bis zu 14, 17.1 und 13.9 dB SPL (bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz und effektivstem kontralateralen Rauschstimulus) und waren damit deutlich größer als in vorangegangenen Studien an anderen Spezies. Die DPOAE-Pegelverminderungen waren positiv mit dem

Pegel der kontralateralen akustischen Stimulation, ebenso wie seiner Bandbreite und der Mittelfrequenzen in Relation zu den ipsilateralen Stimulusfrequenzen korreliert. Es gab keinen absoluten Frequenzbereich, in dem die efferenten Effekte am größten gewesen wären. Vielmehr traten maximale Effekte immer durch etwas oberhalb der ipsilateralen Stimulusfrequenzen gelegene kontralaterale Rauschstimuli auf. Die Effekte waren auch abhängig von der Bandbreite des kontralateralen Rauschstimulus und maximal bei einer relativen Bandbreite von 1.5 Oktaven. Die Verschiebung des efferenten Effekts hin zu hohen Frequenzen und die Bandbreitenabhängigkeit sind vereinbar mit den anatomischen Eigenschaften der Projektionen der medialen olivo-cochleären Efferenzen in der Säugetiercochlea. Kontralaterale akustische Reizung bewirkte auch eine Verschiebung der Wachstumsfunktionen der $2f_1-f_2$ -DPOAE in einen unsensitiven Bereich und außerdem eine Verformung der Wachstumsfunktion. Beides könnte durch Beeinträchtigung des cochleären Verstärkers verursacht sein. Eine Beteiligung des Mittelohrmuskels an den Effekten kann nahezu ausgeschlossen werden und die beobachteten Effekte sind höchstwahrscheinlich dem olivo-cochleären System zuzuschreiben.

Funktionell ist denkbar, dass bei *C. perspicillata* das mediale olivo-cochleäre System im Kontext einer Frequenzverschärfung bei der cochleären Verstärkung der Basilarmembranbewegung aktiv wird. Aus diesem Grund wurden ipsilateral sogenannte DPOAE-Suppressions-Abstimmkurven gemessen, welche die mechanische Abstimmstärke im Innenohr beschreiben. Während und nach kontralateraler Reizung kam es zu Veränderungen der Abstimmkurven. Signifikante Effekte konnten allerdings nicht festgestellt werden, da die Veränderungen der Suppressions-Abstimmkurven variabel und schlecht kategorisierbar war.

Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen weit verbreitete Hypothesen zur Funktion der medialen olivo-cochleären Efferenzen in Bezug auf mechanische Suppression, Verbesserung des cochleären Signal-Rauschverhältnisses und einer generellen frequenzspezifischen Wirkung.

1. Einleitung: Der cochleäre Verstärker und das efferente System

Säugetiere weisen zahlreiche sensorische Fähigkeiten auf, mit deren Hilfe sie sich in ihren Habitaten zurechtfinden und einzelne Sinnesreize diskriminieren und klassifizieren können. Während beispielsweise beim Mensch die visuelle Wahrnehmung dominiert, verfügen nachtaktive Lebewesen wie Fledermäuse über eine ausgeprägte auditorische Wahrnehmung. Wie auch bei anderen Säugern bildet bei Fledermäusen der Verstärkungsmechanismus der Haarsinneszellen des Innenohrs während der mechano-elektrischen Transduktion die Grundlage des Hörprozesses. Im Folgenden werden die Anatomie des Säugergehörs und die Signaltransduktion des Hörvorgangs beschrieben. Im Anschluss daran erfolgt ein kurzer Abriss über die efferente Kontrolle des cochleären Verstärkers, bevor die Zielsetzung dieser Arbeit vorgestellt wird.

1.1 Die Schallaufnahme und -weiterleitung in das Innenohr

Das Hörorgan von Säugetieren besteht aus dem Außen-, Mittel- und Innenohr (Abbildung 1.1). Das Außenohr nimmt zunächst die eintreffenden Longitudinalwellen des Luftschalls auf und leitet sie durch den Gehörkanal auf das aus Epithelschichten bestehende Trommelfell (Tympanum) weiter. Durch die eintreffenden Schallwellen wird das Tympanum und der mit ihm verwachsene Hammergriff, ein Teil des ersten Gehörknöchelchens, des Hammers (*Malleus*), in Schwingung versetzt. Mit Hilfe des anschließenden Amboss (*Incus*) und Steigbügels (*Stapes*) wird der Schall durch das Mittelohr mechanisch auf das ovale Fenster (*Fenestra ovalis*) übertragen. Die Gehörknöchelchenkette, die wegen ihrer Konstruktion mit Bändern und Muskeln beweglich aufgehängt ist, bildet dabei ein Hebelsystem. Hier wird die Kraft der Schallwellen erstens durch den um den Faktor 1,7 längeren Hebelarm des Malleusgriffs verstärkt. Zweitens ergibt die Flächenreduktion vom Tympanum zur Stapesplatte eine 20-fache Kraftverstärkung. Insgesamt ergibt sich im Bereich des Mittelohrs eine ca. 34-fache Kraftverstärkung der Schallwellen. Dadurch wird dann am ovalen Fenster die notwendige Impedanzanpassung bei dem Übertritt des Luftschalls in den Flüssigkeitsschall der Hörschnecke (*Cochlea*) geleistet, ohne die der Schall am ovalen Fenster fast vollständig reflektiert würde.

Ähnlich wie bei anderen Säugern beinhaltet das Mittelohr der *Microchiroptera* (Fledermäuse) zwei Muskeln, den *Musculus tensor tympani* und den *Musculus stapedius*. Der M. tensor tympani setzt am Maleusgriff, dem ersten der drei Gehörknöchelchen, an. Seine Innervation erfolgt über vom *Nervus trigeminus* entsendete motorische Fasern, die den *Nervus tensoris*

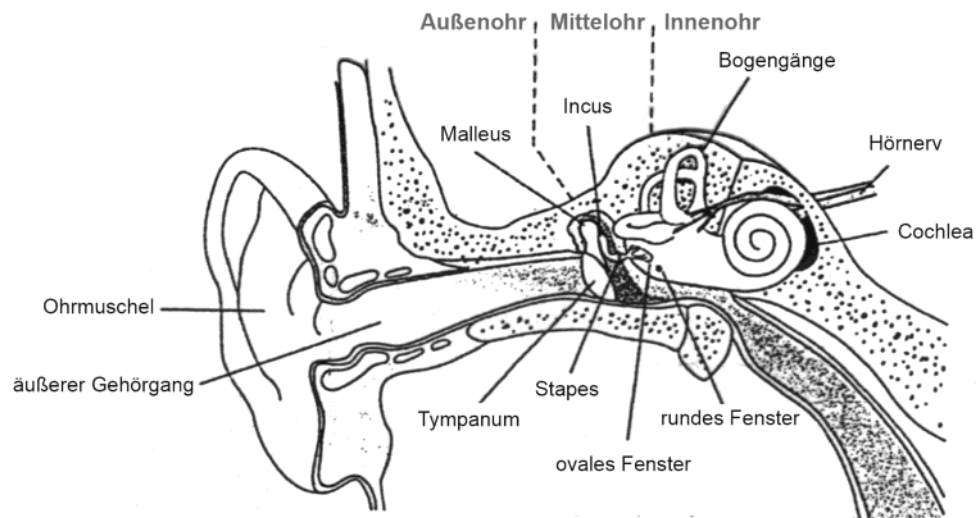


Abbildung 1.1: Schema des Außen-, Mittel- und Innenohrs von Säugetieren am Beispiel des Menschen. Durch über den Gehörgang eintretende Schallwellen wird das Tympanum in Bewegung versetzt. Der Stapes als letztes Glied in der Kette der Gehörknöchelchen gibt schließlich die Energie der Schallwelle über das ovale Fenster an die flüssigkeitsgefüllte Cochlea weiter, innerhalb der die Umwandlung von mechanischer Energie in Nervenimpulse stattfindet (verändert nach Goldstein 2002).

tympani bilden. Bei Kontraktion zieht er den Maleus nach medial und spannt dadurch das Tympanum. Durch diese Spannung wird die Reflexion des Schalls am Tympanum verstärkt und weniger Schallenergie an die Gehörknöchelchenkette weitergegeben. Der M. stapedius wird vom *Nervus facialis* innerviert und setzt am Stapes an. Er ist in der Lage, die Fußplatte des Stapes im ovalen Fenster zu verkanten, was zu einer Abschwächung der Schwingungsübertragung von der Gehörknöchelchenkette auf die Endolymphe in der Cochlea führt. Beide Mittelohrmuskeln können also bei Kontraktion die Gehörknöchelchen in ihrem Schwingungsverhalten dämpfen und damit die Schallweiterleitung vermindern. Dieser Mechanismus wird *Mittelohrmuskel-Reflex* (engl.: middle ear muscle reflex, MEM-Reflex) genannt und dient als Schutzreflex für das Innenohr, z. B. bei zu großem Lärm oder eigener Lauterzeugung (eine Übersicht bietet Gelfand 1984). Er ist bilateral, d. h. an beiden Ohren, durch hohe Schalldruckpegel auslösbar (z. B. bei der Ratte: > 75 dB SPL, Pilz et al. 1997).

Innerhalb der schneckenförmig gewundenen und flüssigkeitsgefüllten Cochlea breitet sich der Schall fast instantan aus, nachdem er hinter dem ovalen Fenster die *Scala vestibuli* erreicht. Ihr basaler Bereich schließt direkt an das ovale Fenster an und reicht bis zur Spitze der Cochlea, dem *Helikotrema*, wo ihr apikaler Bereich mit der *Scala tympani* in Verbindung steht (Abbildung 1.2 A und B). Somit bilden diese beiden Scalen ein einziges zusammenhängendes Kompartiment, das mit Perilymphe, einer in ihrer Ionenkonzentration an extrazelluläre Flüssigkeiten erinnernden Lösung, gefüllt ist (hohe Natriumkonzentration, niedrige Kaliumkonzentration). Zwischen ihnen eingebettet liegt die *Scala media*, die die eigentliche Hörstruktur, das Corti-Organ, mit seinen Rezeptoren, den Haarsinneszellen, enthält. Zur *Scala vestibuli* hin wird die *Scala media* durch die *Reissner Membran* separiert, zu der *Scala tympani* hin trennt sie die *Basilarmembran*. Das so entstandene dritte abgeschlossene Kompartiment unterscheidet sich in seiner Ionenzusammensetzung von den beiden anderen Scalen: die Endolymphe genannte Flüssigkeit weist eine hohe Kaliumkonzentration (bei gleichzeitig niedriger Natriumkonzentration) auf, was durch die aktive Kaliumausschüttung aus der *Stria vascularis* erreicht wird.

Das Corti-Organ, das auf der Basilarmembran sitzt, beherbergt zwei unterschiedliche Typen von Haarzellen (Abbildung 1.2 C): einerseits die in einer Reihe angeordneten inneren Haarsinneszellen (engl.: inner hair cell, IHC) und andererseits die meist in drei Reihen angeordneten äußeren Haarsinneszellen (engl.: outer hair cell, OHC). Die beiden Haarsinneszelltypen nehmen unterschiedliche Aufgaben im Hörprozess wahr: die IHC dienen der eigentlichen

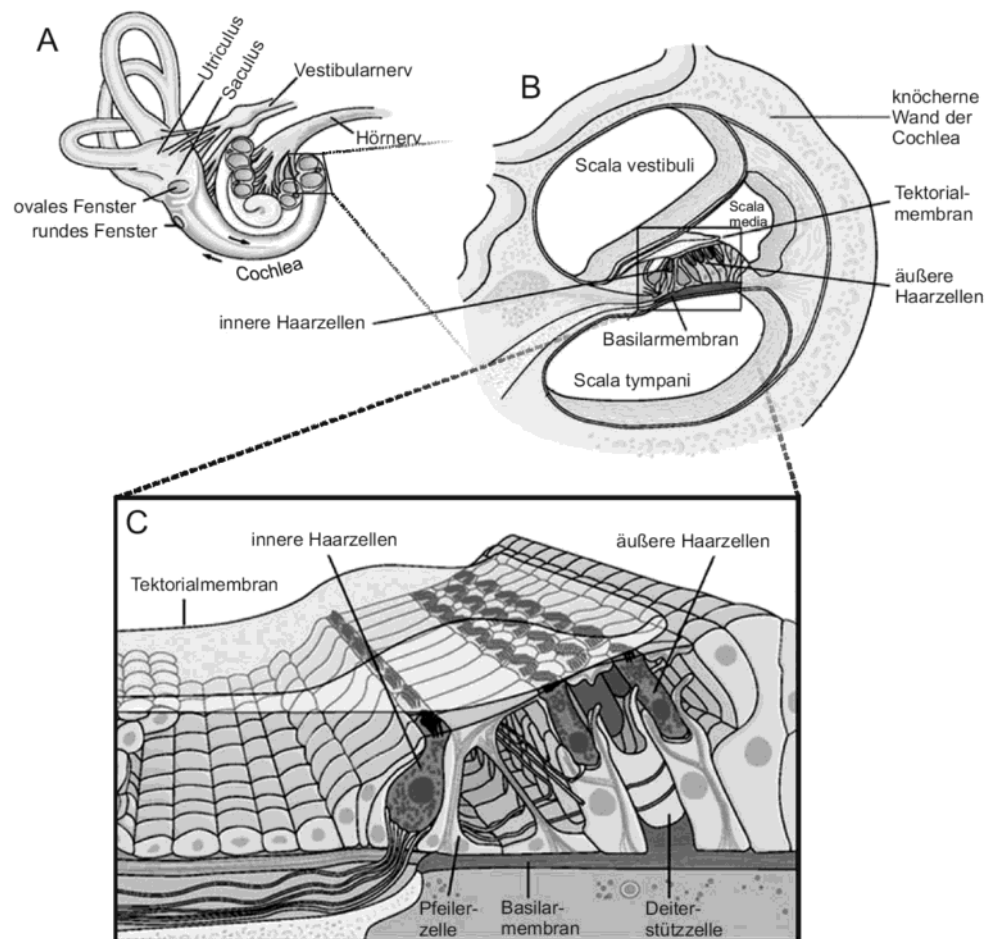


Abbildung 1.2: Schematischer Aufbau des Innenohrs von Säugetieren. **(A)** Anordnung des aufgeschnittenen, schneckenförmig gewundenen Innenohrs mit den drei Bogengängen des Gleichgewichtorgans. **(B)** Darstellung der Dreiteilung des Schneckengangs der Cochlea in die drei flüssigkeitsgefüllten Scalen. Das Corti-Organ, das sich auf der Basilar-membran befindet, zieht sich durch die gesamte Scala media vom ovalen Fenster bis zum Helikotrema. **(C)** Der Bildausschnitt zeigt den eigentlichen sensorischen Apparat des Innenohrs, das Corti-Organ. Zu erkennen sind drei Reihen äußerer sowie eine Reihe innerer Haarzellen und zahlreiche weitere Stützzellen. Über den sensorischen Stereozilien der Haarzellen befindet sich die Tektorialmembran (verändert nach: Hudspeth 2000).

Reizaufnahme und werden daher vor allem *afferent*, also mit aufsteigenden Nervenbahnen innerviert. Die OHC besitzen lediglich eine geringe afferente Innervierung, da ihre Hauptaufgabe in der Verstärkung eintreffender Schallstimuli liegt. Die beiden Haarsinneszellpopulationen sind von stützendem Gewebe umgeben (*Pfeilerzellen*, *Deiterstützzellen*) und durch den *Corti Tunnel* voneinander getrennt. Gemeinsam mit den oberen Enden der Haarzellen ergibt sich aus den benachbarten Stützzellen eine ionendichte 'Platte', deren Oberfläche, die *Lamina reticularis*, die Barriere zwischen Peri- und Endolymphe bildet. Lediglich die haarförmigen Fortsätze der Haarsinneszellen, die *Stereozilien*, liegen außerhalb dieser „Platte“ und reichen somit in die Endolymphe der Scala media hinein. Oberhalb der Haarzellen befindet sich die *Tektorialmembran*, die an der Innenseite der Scala media befestigt ist und das Corti-Organ überdeckt. Diese Membran berührt jeweils die längsten der Stereozilien der OHC und steht mit ihnen in einem schwachen mechanischen Kontakt.

Entlang der Cochlealänge verändern sich die physikalischen Eigenschaften von Corti-Organ und Basilarmembran. Die Breite der Basilarmembran nimmt von der Basis bis zum Apex hin kontinuierlich zu, während ihre Dicke abnimmt. Außerdem besteht ein basoapikaler Gradient zunehmender Masse (hervorgerufen insbesondere durch eine Massenzunahme des Corti-Organs) bei gleichzeitig abnehmender Steifigkeit dieser Struktur. In Folge dessen kommt es bei einer Schallaufnahme zu einer räumlichen Separation von Resonanzschwingungen, worauf im nächsten Abschnitt näher eingegangen werden soll. Es soll allerdings an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, dass diese graduell veränderten Resonanzeigenschaften der Basilarmembran zu der speziellen Anordnung von Frequenzen führt, auch Tonotopie genannt, die ein besonderes Merkmal von Hörsystemen aller Säugetiere darstellt und in den meisten auditorischen Zentren des Gehirns aufrechterhalten wird.

1.2 Der mechano-elektrische Transduktionsprozess

Nachdem die verschiedenen Strukturen vorgestellt wurden, die für die Hörverarbeitung relevant sind, soll nun auf die eigentliche Umwandlung des äußeren, mechanischen Schallreizes in das physiologische Signal, also die Nervenaktivität, eingegangen werden. Zunächst wird der eintreffende Schall durch das Außenohr gebündelt, bevor er durch den Gehörgang zum Tympanum gelangt. Die Vibrationen des Tympanums versetzen die Gehörknöchelchenkette in Schwingung, die ihrerseits das ovale Fenster als Begrenzung der Cochlea oszillieren lässt. An dieser Stelle der Reizaufnahme ist die Schallwelle aus dem gasförmigen Medium der Luft

in eine Druckwelle in dem flüssigen Medium der Perilymphe überführt. Die Druckwelle pflanzt sich innerhalb weniger Mikrosekunden in der Scala vestibuli fort (Robles und Ruggero 2001). Der dabei entstehende Druckunterschied zur Scala tympani führt zu einer Auslenkung der dazwischen liegenden Basilarmembran mit einem Maximum an einem für die Frequenz charakteristischen Ort. Die Auslenkung breitet sich innerhalb eines begrenzten cochleären Bereichs von basal nach apikal in Form einer Wanderwelle aus. Schallstimuli hoher Frequenz erzeugen Resonanzschwingungen und damit verbundene Wanderwellen auf der Basilarmembran nahe dem Eintrittsfenster der Scala vestibuli an der Basis der Cochlea. Hingegen versetzen tiefe Frequenzen Bereiche nahe der Spitze der Cochlea, dem Apex, in Resonanz. Durch die Wanderwelle erfolgt ein Druckausgleich zwischen Scala vestibuli/Scala media und Scala tympani.

Das Eintreffen eines Schallsignals zieht eine Reihe mechanischer Veränderungen des Corti-Organs durch die Auslenkung desselben mit sich (Ashmore 2002). Zunächst ist zu nennen, dass Basilar- und Tektorialmembran gegeneinander verschoben werden. Dies führt zu einem Flüssigkeitsstrom im *Subtektorialraum*, so dass die davon erfassten Stereocilien der IHC in eine Richtung ausgelenkt werden. Mit ihrer Auslenkung entsteht eine Spannung in den *Tip-Links*, helikal aufgewundenen, dünnen Proteinfäden, die die Spitzen der Stereocilien miteinander verbinden. Diese sind gekoppelt an in der Haarsinneszellmembran eingelagerte, mechano-sensitive, unspezifische Kationenkanäle. Die Spannung der Tip-Links erhöht die Öffnungswahrscheinlichkeit dieser Kationenkanäle. Aufgrund der kaliumreichen Endolymphe in der Scala media (positiv aufgeladen) im Vergleich zu der Intrazellulärflüssigkeit der Haarzelle mit negativem Membranpotenzial entsteht so ein großer elektrischer und chemischer Gradient. In Konsequenz dessen führt die Öffnung der Kationenkanäle zu einem raschen Kalium- und nachgeschalteten Calciumeinstrom in die Haarzelle, sie wird depolarisiert (Bear et al. 2001). Eine Hyperpolarisierung findet dagegen statt, wenn die Stereozilien in die Gegenrichtung gebogen werden, die Tip-Links nicht mehr gespannt sind und somit die Öffnungswahrscheinlichkeit der Kationenkanäle sinkt.

Die Depolarisation der Haarsinneszelle führt zur Freisetzung von Neurotransmittern (Glutamat) an der basal gelegenen Synapse und damit zur Erregung der nachgeschalteten afferenten Nervenzellen (jede Typ I-Faser des Spiralganglions innerviert nur eine IHC) und schließlich zur Ausbildung von Aktionspotentialen im Hörnerv. Auf diese Weise wird die oszillatorische Bewegung der Basilarmembran in oszillatorische Bewegungen von Stereozilien und in entsprechende Veränderungen der Membranpotentiale der IHC umgesetzt, die wiederum die

Freisetzung von Neurotransmittern und schließlich das Generieren von Aktionspotentialen zur Folge haben. Dieser mechano-elektrische Transduktionsvorgang alleine erklärt jedoch noch nicht die extrem hohe Sensitivität des Hörprozesses. Es muss eine *Dynamikanpassung* des Schallsignals innerhalb des Innenohrs stattfinden, die dafür sorgt, dass auch Geräusche mit einem geringen Schalldruck wahrgenommen werden können. Dies wird erreicht durch den sogenannten *cochleären Verstärker*, auf den im nächsten Abschnitt eingegangen wird.

1.3 Der cochleäre Verstärker

Maßgeblich beteiligt an dem cochleären Verstärker sind die äußeren Haarsinneszellen. Sie besitzen die Fähigkeit ihre Länge spannungsabhängig zu ändern, was auch als *Elektromotilität* der OHC bezeichnet wird (Brownell et al. 1985). Sobald die Stereozilien der OHC die Schwingung des Corti-Organs detektieren (durch die Scherbewegung zwischen Basilar- und Tectorialmembran), öffnen sich spezielle Kationenkanäle am apikalen Bereich der Stereozilien. Bewegungen in Richtung des größten Stereoziliums hin ergeben eine Öffnung, in entgegengesetzte Richtung eine Schließung dieser Kanäle.

Die Potentialschwankungen in Form von De- und Hyperpolarisation der OHC, die, wie bei den oben beschriebenen Vorgängen an den IHC, in Folge eines Kationeneinstroms auftreten, gehen mit einer beeindruckenden *Längenänderung* der Haarsinneszelle einher. Bei Depolarisation kommt es zur Kontraktion, bei Hyperpolarisation zur Elongation der OHC. Verantwortlich für diesen Vorgang ist das in der lateralen OHC-Membran eingelagerte Motorprotein *Prestin*, das im Jahr 2000 von Zheng und Kollegen identifiziert wurde (Zheng et al. 2000). Es ist in der Lage spannungsabhängig seine Konformation zu ändern, so dass es entweder mehr oder weniger Raum in der Zellmembran einnimmt. Prestin befähigt so die OHC zur aktiven Erzeugung mechanischer Energie, die in die jeweilige Membranschwingung des Resonanzorts zurückgeführt wird und damit die ursprüngliche Bewegung des Corti-Organs verstärkt. OHC fungieren folglich nicht nur als Rezeptoren, sondern auch als *Effektoren*, indem sie einerseits eine mechano-elektrische, andererseits eine elektro-mechanische Transduktion vollziehen.

Der aktive Verstärker-Mechanismus der OHC bewirkt eine starke Verstärkung der Amplitude der Basilarmembranschwingung (Dallos und Fakler 2002), was eine Steigerung der Entladungsrates einzelner Nervenfasern zur Folge hat. In Abhängigkeit der Eingangssignalfrequenz können die OHC so um bis zu 1000-fach, also um bis zu 60 dB verstärken und somit einen

leisen Reiz für die IHC erst wahrnehmbar machen. Bei Schädigung der OHC, z. B. durch Schalltraumata oder ototoxische Medikamente, kommt es zu Beeinträchtigungen der Frequenz-Ortsabbildung und zu einer verminderten Hörfähigkeit.

Zusätzlich zu der Elektromotilität der OHC werden in jüngster Zeit weitere Mechanismen diskutiert, die zu einer hohen Sensitivität und guten Frequenzauflösung des Säugergehørs beitragen. Experimente an Stereozilien von OHC haben gezeigt, dass es noch einen anderen Verstärkermechanismus gibt, nämlich in Form einer Motilität der Stereozilien der OHC selbst (Kennedy et al. 2005). Deren Kraftentwicklung wird dabei durch Veränderungen der Membraneigenschaften (z. B. eine veränderte Steifheit der Stereozilien über Calcium-Einwirkung) hervorgerufen (Fettiplace 2006). Welcher Mechanismus aber dieser veränderten Steifheit zugrunde liegt, ist noch Gegenstand aktueller Forschung.

Ein besonderes Merkmal des cochleären Verstärkers besteht in seiner nichtlinearen Arbeitsweise (Géléoc et al. 1997, Robles und Ruggero 2001). Leise Schallstimuli erfahren dabei eine verhältnismäßig große Verstärkung. Hingegen spielt bei lauten Stimuli die Verstärkung keine Rolle mehr, so dass die Basilarmembran-Bewegungsamplitude linear mit der Reizamplitude korreliert. Die nichtlineare Verstärkercharakteristik ist essentiell für die hohe Empfindlichkeit des Hörsystems, seine Frequenzselektivität und den besonders großen Dynamikbereich der Cochlea (Oxenham und Bacon 2003).

1.4 Otoakustische Emissionen

Die cochleäre Verstärkung eintreffender Schallsignale gewährleistet nicht nur ein normales Hörvermögen, sondern ruft außerdem als direkte Folge der nichtlinearen Schallverarbeitung eigene „Arbeitsgeräusche“ hervor. Diese sind in dem eingehenden Schallsignal nicht enthalten, können aber mittels empfindlicher Mikrophone im Ohrkanal gemessen werden, da auch sie sich als Druckwelle in der Flüssigkeit der Cochlea ausbreiten und über das Mittelohr in den Gehörgang übertragen werden (Kemp 2002). Für diese von Kemp erstmals 1978 beschriebenen Schallsignale hat sich in der Fachwelt der Begriff der *otoakustischen Emissionen* (engl.: otoacoustic emission, OAE) etabliert (Kemp 1978). Man unterscheidet zwischen spontanen und evozierten OAE. Die spontanen OAE (engl.: spontaneous otoacoustic emission, SOAE) treten als reintonähnliche Schallereignisse ohne jegliche akustische Stimulierung bei

ca. 30% der menschlichen Bevölkerung auf (Probst et al. 1991). Von den evozierbaren OAE, die auf verschiedene Weisen künstlich hervorgerufen werden können, ist für die vorliegende Arbeit ein bestimmter Typ von Belang, weshalb im Folgenden der Fokus auf diesen gerichtet sein wird.

Es handelt sich um sogenannte *Distorsionsprodukt-otoakustischen Emissionen* (engl.: distortion product otoacoustic emission, DPOAE), die entstehen, sobald Schallenergie durch einen Verstärker mit nichtlinearer Transfercharakteristik verstärkt wird. Eine solche Nichtlinearität gilt im Falle des cochleären Verstärkers, wie oben bereits dargestellt, als gesichert. Wird das Ohr beispielsweise, wie in Abbildung 1.3 dargestellt, mit einer Kombination zweier, sich in der Frequenz unterscheidender Reintöne f_1 und f_2 , den sogenannten *Primärtönen*, stimuliert, so breiten sich zwei verschiedene Druckwellen in der Cochlea aus. Wenn sich die durch f_2 und f_1 hervorgerufenen Wanderwellen auf der Basilarmembran teilweise überlappen, so werden in diesem Überlappungsbereich beide Sinusschwingungen gleichzeitig durch den cochleären Verstärker verstärkt. In Folge dessen entstehen mathematisch berechenbare, zusätzliche Frequenzkomponenten, deren prominenteste sich durch die Formel $2f_1 - f_2$ berechnen lässt. Die DPOAE ihrerseits gelangen in Abhängigkeit ihrer Frequenz innerhalb der Cochlea zu ihrem eigenen Resonanzort auf der Basilarmembran, ähnlich einem externen akustischen Stimulus derselben Frequenz (Robles et al. 1997). Dort angekommen ist sie in der Lage eigene Druckwellen auszulösen, die wiederum cochleäre Verstärkung durch die OHC erfahren und so als weitere Quelle der DPOAE-Generierung dienen (Knight und Kemp 2000).

Die Cochlea mit den äußeren Haarsinneszellen muss voll funktionsfähig sein, andernfalls wird die Entstehung von DPOAE behindert. Im Umkehrschluss darf bei dem Auftreten von DPOAE auf eine intakte und ohne Störung funktionierende Cochlea mit aktivem OHC-System geschlossen werden. Diesen Umstand in Kombination mit der Nicht-Invasivität der Messmethode macht sich nicht nur die Grundlagenforschung, sondern auch die audiologische Diagnostik zunutze, so dass derzeit eine breite klinische Anwendung der Messung otoakustischer Emissionen existiert (z. B. Boege und Janssen 2002, Gorga et al. 1997). Die prominenteste unter ihnen dürfte das sogenannte *Neugeborenen-Hör-Screening* sein, welches direkt nach der Geburt dazu genutzt wird, angeborene Hörschäden der Kinder aufzuspüren und gegebenenfalls Schwerhörigkeit mit Hörgeräten zu begegnen bzw. Rehabilitationsmaßnahmen einzuleiten.

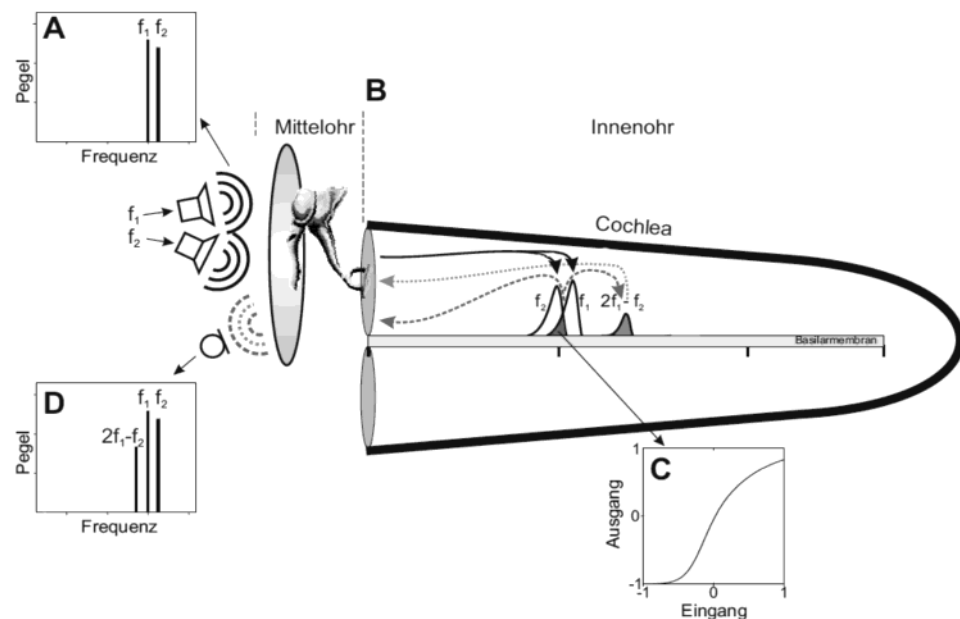


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung der Evozierung von DPOAE im Innenohr von Säugetieren. Durch die akustische Stimulation des Ohres mit zwei Reintönen unterschiedlicher Frequenz f_1 und f_2 (A) breiten sich zwei Druckwellen an den entsprechenden Resonanzorten auf der Basilarmembran in der Cochlea aus (B). In ihrem Überlappungsbereich (rot markiert) trägt die nichtlineare Verstärkercharakteristik der OHC (schematische Transferfunktion, C) zur Entstehung von Verzerrungsprodukten charakteristischer Frequenz (hier: $2f_1 - f_2$) bei. Auch sie breiten sich zunächst als Druckwelle in der Flüssigkeit der Cochlea und anschließend über das Mittelohr aus und können im Ohrkanal durch den Einsatz empfindlicher Mikrophone als otoakustische Emission aufgezeichnet werden (D). Neben dieser Verzerrungskomponente (rot) existiert auch eine Reflektionskomponente (blau), die von ihrem eigenen Resonanzort als zusätzliche Schallenergie ebenfalls Anteil an der DPOAE-Entstehung hat (Wittekindt 2009).

1.5 Die Hörbahn

Die vorherigen Abschnitte befassten sich mit der cochleären Mikromechanik, d. h. mit Phänomenen, die in der Hörperipherie stattfinden. Ein nächster wesentlicher Bestandteil der auditorischen Perzeption ist nun die Reizleitung und neuronale Verarbeitung in der weiteren Hörbahn. Die Hörbahn ist der zentralnervöse Teil des auditorischen Systems von Säugern und setzt sich aus einer Vielzahl von hintereinander geschalteten Kerngebieten zusammen. Auditorische Kerngebiete bilden dabei Anhäufungen von Somata von Neuronen, die sich von Fasersträngen unterscheiden.

Die Anordnung der Kerngebiete verläuft bilateral. Ihre Verbindung untereinander, auch teilweise die Mittellinie des Gehirns kreuzend, ist durch die Faserstränge gewährleistet, die nicht nur benachbarte, sondern auch entlegene Gebiete miteinander verbinden. Es kann zwischen der aufsteigenden *afferenten* und der absteigenden *efferenten* Hörbahn unterschieden werden. Die afferente Bahn stellt Verbindungen zwischen den ersten Kerngebieten, die direkten Eingang aus der Cochlea erhalten, zu höher gelegenen Kerngebieten dar. Die efferente Bahn hingegen projiziert von höher gelegenen Hörkernen in Richtung der Peripherie gelegenen, bis hin zum Sinnesorgan selbst und wird im anschließenden Abschnitt eingehender betrachtet.

Die auditorischen Kerngebiete entlang der afferenten Bahn umfassen: den von den Spiralganglien gebildete Hörnerv, den *Nervus cochlearis*, der die Kerngebiete des Stammhirns, namentlich den Cochleariskern (*Nucleus cochlearis*), den Olivenkomplex (*mediale* und *laterale superiore Olive*) und die periolivären Kerngebiete innerviert. Das Mittelhirn empfängt Eingänge von den Kerngebieten der seitlichen Schleifenbahn, dem *Lemniscus lateralis*, und dem unteren Hügel der Vierhügelplatte, den *Colliculi inferiores*. Im *Thalamus*, einem Teil des Zwischenhirns, liegt der mediale Kniehöcker (*Corpus geniculatum mediale*), von wo aus Nervenfasern den auditorischen Kortex als höchste Verarbeitungsebene der Hörbahn innervieren.

1.6 Das olivo-cochleäre System

Die absteigende, efferente Hörbahn vermittelt durch ihre cochleären Projektionsneurone den Einfluss des Zentralnervensystems auf das Corti-Organ des Innenohrs. Während in anderen Sinnessystemen keine neuronalen Rückprojektionen der nachgeschalteten Zentren zu den Sinneszellen (z. B. im visuellen System zu den Photorezeptoren) existieren, wird im auditorischen System dadurch eine beträchtliche Modulation der Wahrnehmung ermöglicht.

Man unterscheidet, bezogen auf eine Seite des Gehirns und dem dazugehörigen Sinnesorgan, bei den efferenten Fasern zwischen dem *gekreuzten* und dem *ungekreuzten olivo-cochleären Bündel* (engl.: crossed und uncrossed olivo-cochlear bundle, COCB und UOCB, Warr et al. 1986, siehe Abbildung 1.4 A). Beide haben ihren Ursprung in dem *oberen Olivenkomplex* des Hirnstamms, weshalb sie auch *olivo-cochleäre Efferenzen* genannt werden. Allerdings entstammt das COCB dem gegenüberliegenden, *kontralateralen* Olivenkomplex, so dass es die Mittellinie des Gehirns auf der Höhe des IV. Ventrikels kreuzt, um anschließend weiter zu der auf der gleichen Seite gelegenen, also der *ipsilateralen* Cochlea zu ziehen. Die beiden Bezeichnungen *ipsi-* und *kontralateral* sind folglich Lagebezeichnungen, die relativ zu dem untersuchten Ohr angewandt werden.

Innerhalb des Olivenkomplexes findet man zwei Klassen efferenter Neurone: je nach Lage ihrer Somata, der Morphologie und Funktion werden sie in *laterale* und *mediale* olivo-cochleäre (LOC- und MOC-) Efferenzen unterteilt. Anatomisch und funktionell gibt es weitere Unterscheidungsmerkmale: die dickeren, myelinisierten MOC-Efferenzen formen Synapsen direkt an dem basalen Pol der OHC, während die zahlreicheren, dünnen und unmyelinisierten LOC-Fasern synaptische Verbindungen mit afferenten Neuronen vom Typ I des Spiralganglions eingehen (Roeser et al. 2000, siehe Abbildung 1.4 B).

Obwohl auch GABA (*γ-Aminobuttersäure*; engl. Gamma-aminobutyric acid), CGRP (*Neuropeptid*; engl. Calcitonin Gene-Related Peptide) und opoide Peptide in MOC-Synapsen nachgewiesen werden konnten, ist davon auszugehen, dass Acetylcholin (ACh) der primäre Neurotransmitter des efferenten Systems ist (Wersinger und Fuchs 2011, Eybalin 1993, Geisler 1998). ACh, welches durch die efferente Nervenendigung ausgeschüttet wird, bindet an ionotrope ACh α 9/ α 10-Rezeptoren der OHC-Synapse (Elgoyhen et al. 1994, 2001), was die Öffnung von kleinen Ca²⁺-gekoppelte K⁺-Kanälen, sogenannte SK2-Kanälen, bewirkt. In Folge dessen strömt Kalium aus der OHC hinaus, so dass eine Hyperpolarisation einsetzt (Dulon et al. 1998, Oliver et al. 2000, Abbildung 1.4 C). Dieser Zusammenschluss von ACh-Rezeptoren und Calcium getriebenen K⁺-Kanälen ist alleinig für die Reaktion der OHC verantwortlich, wie DPOAE-Messungen an α 9 und α 10 Knockout Mäusen zeigten (Vetter et al. 2007). Diese eben beschriebenen Vorgänge zeichnen sich dadurch aus, dass sie innerhalb eines Zeitfensters von 50-100 ms eintreten und somit die *schnelle Komponente* der efferenten

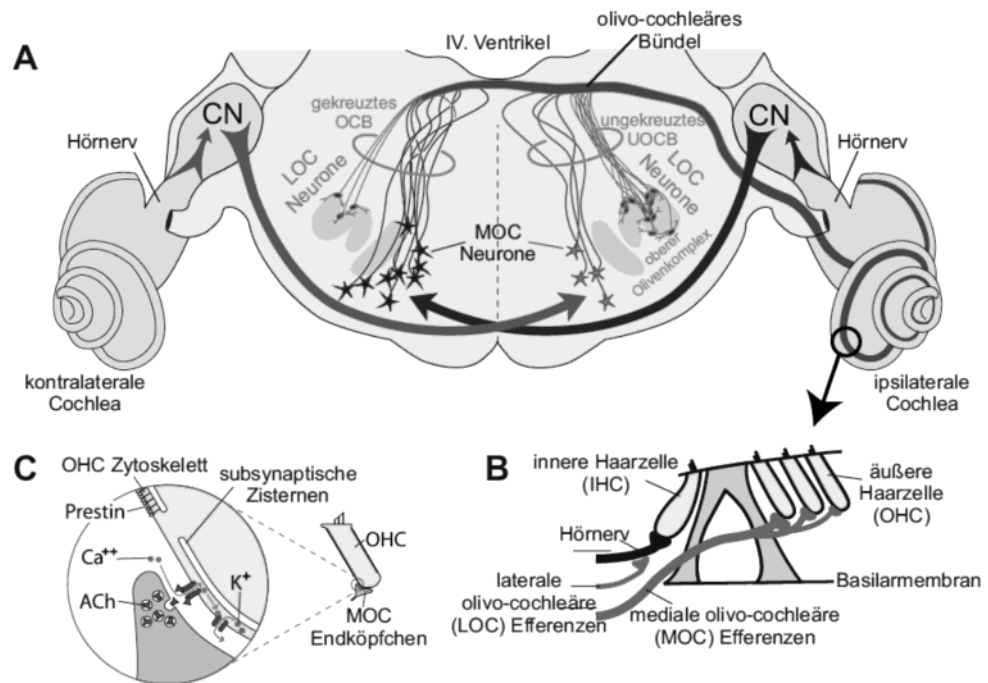


Abbildung 1.4: Schema des olivo-cochleären Reflexbogens der Säuger. **(A)** Querschnitt durch das Stammhirn. Gezeigt ist der Ursprung der medialen und lateralen olivo-cochleären Neurone (MOC und LOC) im oberen Olivenkomplex auf der Ebene des IV. Ventrikels. Die ipsi- und kontralateralen MOC-Neurone, bezogen auf die rechte Cochlea, sind in blau (zwei Drittel) und rot (ein Drittel) dargestellt und senden ihre Axone über das olivo-cochleäre Bündel (OCB, grau) zur ipsilateralen Cochlea. Daneben sammeln sich auch die Axone der LOC-Neurone (grün) und formen zusammen mit den MOC-Neuronen das OCB, welches sowohl aus gekreuzten (COCB) als auch ungekreuzten (UOCB) Fasern zusammengesetzt ist. Das COCB ist nahe des IV. Ventrikels leicht zugänglich. CN, Cochlear nucleus. Die S-förmige graue Struktur skizziert den lateralen superiores Olivenkomplex, die graue, medial davon gelegene Struktur stellt den medialen superiores Olivenkomplex dar. **(B)** Schema des Corti-Organs mit den Endigungen der MOC-Neurone mit ihren Synapsen an den OHC (rot) und der LOC-Neurone an den Dendriten des auditorischen Hörnervs (grün). **(C)** Ausschnitt einer schematischen Synapse zwischen MOC-Efferenzen und OHC. ACh gilt als der primäre Neurotransmitter der Efferenzen. Verändert nach Guinan (2006).

Modulation bilden. Ergänzend hierzu treten auch schnelle exzitatorische und bipolare efferente Effekte auf, deren Herkunft Gegenstand aktueller Forschung sind (Übersicht: Wersinger und Fuchs 2011).

Ein besonderes Merkmal der efferenten post-Synapse ist die der Membran nahe gelegene *synaptische Subplasma-Zisterne*, deren Ca^{2+} -speicherndes Membransystem zu Veränderungen der axialen Steifigkeit der Membran und der kontraktiven Eigenschaften der OHC führen kann (Frolenkov et al. 2000). Die efferente Beeinflussung der Ca^{2+} -speichernden Membransysteme benötigt etwa 25 bis 50 Sekunden, was ihr auch den Beinamen *langsame Komponente* der efferenten Modulation einbrachte (Sridhar et al. 1997).

Zahlreiche Studien belegen, dass die Aktivierung der olivo-cochleären Efferenzen durch die oben beschriebenen Reflexbögen zu einer Modulation der Antwortigenschaften des gegenüberliegenden Ohres führt. Mit Hilfe verschiedener Messtechniken, wie z. B. der cochleären Summenaktionspotenziale (Liberman 1989, Puria et al. 1996), Durchtrennung des olivo-cochleären Bündels (Puel und Rebillard 1990) oder der Gabe von spezifischen Antagonisten des MOC-Transmitters Acetylcholin (Kujawa et al. 1993) konnte dabei vor allem eine Inhibition der cochleären Aktivität ermittelt werden. Diese ist auf eine verminderte Basilarmembranbewegung bzw. eine erhöhte Steifigkeit der OHC zurückzuführen (Dallos et al. 1997, Cooper und Guinan 2003). Durch die Messung otoakustischer Emissionen ist die Möglichkeit gegeben, die efferente Aktivität zu analysieren, da MOC-Efferenzen indirekt auf die Entstehung von OAE durch die Modulation des cochleären Verstärkers einwirken. Im Gegensatz zu elektrischer Reizung der MOC-Efferenzen, welche in der Regel invasiv ist und häufig mit einer Stimulierung des gekreuzten OCB auf der Höhe des IV. Ventrikels einhergeht, ist ihre *akustische Stimulierung* nicht-invasiv und beruht auf der Beschallung der kontralateralen Cochlea (engl. contralateral acoustic stimulation, CAS, Guinan 2006). Die in Abbildung 1.4 dargestellten roten Nervenbahnen des efferenten Systems werden dabei angesteuert, wobei der Stimulus schließlich über das ungekreuzte OCB die ipsilaterale Cochlea erreicht.

Dank aktueller Forschung hat sich das Verständnis über die Anatomie und Physiologie der olivo-cochleären Efferenzen in letzter Zeit entscheidend weiterentwickelt. Wenig Einigkeit jedoch herrscht in Fachkreisen über deren Funktion. Die am weitesten verbreiteten Hypothesen zur Funktion des MOC-Systems gehen von der Kontrolle des cochleären Verstärkers und einem durch die MOC-Aktivierung verbesserten Signal-Rauschverhältnis aus, der sogenannten Anti-Maskierungs-Funktion (z. B. Kawase und Liberman 1993, Kawase et al. 1993,

Liberman und Guinan 1998). Darüber hinaus wird für Normalsäuger klassischerweise vorgeschlagen, dass die efferente Modulation auch bei der selektiven Aufmerksamkeit eine Rolle spielt (Maison et al. 2001), z. B. bei dem sogenannte *Cocktail-Party-Effekt* (Feng und Ratnam 2000). Einige Arbeiten unterstützen die These, dass die olivo-cochleären Efferenzen eine Schutzfunktion für die Cochlea vor zu lautem Schall innehaben (Rajan 1995), was jedoch kontrovers diskutiert wird. Eine weitere mögliche Funktion der Efferenzen könnte in der binauralen Signallokalisation liegen (Francis und Guinan 2010, Sharma et al. 2007).

1.7 Zielsetzung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit nutzt die Methode der Messung otoakustischer Emissionen, um den cochleären Verstärker in Abhängigkeit der OHC-Aktivität zu untersuchen. Dabei ist ein besonderes Augenmerk auf die olivo-cochleären Efferenzen gerichtet, deren modulative Wirkung auf die Haarsinneszellaktivität analysiert werden soll. Die biologische Funktion dieser Modulation ist bis heute nicht ausreichend geklärt. Unter der Annahme, dass MOC-Neurone vergleichbar scharfe Abstimmeeigenschaften wie Neurone des Hörnervs aufweisen, so dass die tonotope Innervierung der Haarzellen durch MOC-Neurone gewährleistet zu sein scheint, soll untersucht werden, inwiefern die Modulation des cochleären Verstärkers durch das efferente System einem frequenzspezifischen Muster unterliegt.

Das Modelltier der vorliegenden Studie ist *Carollia perspicillata*, eine Frucht fressende Fledermausart aus Mittel- und Südamerika. Fledermäuse sind aufgrund ihres Echoortungssystems extreme Hörspezialisten. Ziel dieser Arbeit ist es, das efferente System von *C. perspicillata* durch die Messung von DPOAE in Kombination mit CAS zu untersuchen, ein Paradigma, das sich in der nicht-invasiven Hörforschung etabliert hat. Um belastbare Daten zu erhalten, wird dabei auf Narkose verzichtet und mit wachen Tieren gearbeitet, so dass Narkoseeffekte bei der Diskussion der Messergebnisse keine Rolle spielen. Die ipsilateralen DPOAE werden bei tiefen, mittleren und hohen Frequenzen gemessen. Die kontralateralen efferenten Stimuli bestehen aus Schmalbandrauschen unterschiedlicher Breite und verschiedener Mittenfrequenz in Relation zu den ipsilateralen Stimulusfrequenzen. Dadurch können effektivste efferente Stimuli bestimmt werden, sowohl was die Stimulusbreite als auch die Stimulusfrequenz anbelangt, was eine mögliche frequenzspezifische Wirkung der olivo-cochleären Efferenzen aufklären soll. In einem weiteren Teilprojekt sollen ipsilaterale DPOAE-Suppressions-Abstimmkurven unter simultaner kontralateraler efferenter Stimulation

mit einem hochfrequenten Schmalbandrauschstimulus gemessen werden. Ergebnisse hiervon sollen Aufschluss über die Trennschärfereigenschaften des Innenohres geben.

Die übergeordnete Zielsetzung dieser Arbeit ist, zur Aufklärung der Funktion der medialen olivo-cochleären Efferenzen von Säugern beizutragen. Bei der Klärung der Wirkweise der efferenten Modulation auf den cochleären Verstärker der Cochlea ist auch die Anwendung in der Hördiagnostik von ausschlaggebender Bedeutung. So wird z. B. angenommen, dass Tinnitus als Produkt fehlender efferenter Inhibition der zentralen auditorischen Bahnen entsteht (Schaaf et al. 2003). Gerade die nicht-invasive Messung otoakustischer Emissionen stellt eine sehr geeignete Methode dar, deren Anwendung am Menschen schon heute, z. B. als Ergänzung zum Sprachaudiogramm bei Trennschärfedefiziten und damit verbundenen Diskriminationsverlusten oder in Form des Neugeborenen-Hör-Screenings praktiziert wird.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und deren Haltung

Im Rahmen der Versuche wurden an Fledermäusen der Spezies *Carollia perspicillata* (Brillenblattnase, Carollinae, Phyllostomidea, Chiroptera) akustische Messungen durchgeführt. Das natürliche Vorkommen dieser Fledermausart beschränkt sich auf die Tropen Zentral- und Südamerikas. Die nachtaktiven Tiere verlassen in der Dämmerung ihre Hangplätze und orientieren sich mit Hilfe von Echoortung durch das Blätterdach. Dort finden die frugivor lebenden Tiere ihre bevorzugte Nahrung: Guaven, Feigen oder Bananen. Die Spezies verfügt auf der Nase über das namensgebende Nasenblatt, seine Funktion ist jedoch bislang nicht gesichert. Vermutlich aber spielt es eine Rolle bei der Emittierung des Ortungsrufes, der bei allen Fledermäusen der Gattung *Phyllostomidae* durch die Nase ausgestoßen wird. Die Tiere leben natürlicherweise entweder in komplexen Sozialstrukturen (Haremsgruppen von einem Männchen und bis zu acht Weibchen) oder aber in Junggesellengruppen zusammen.

Der Hörbereich dieser Fledermausart ist überaus groß und liegt zwischen 5.2 und 150 kHz, innerhalb dessen die Tiere sowohl Kommunikations- als auch Echoortungslaute wahrnehmen können (Koay et al. 2003). Ein typischer Echoortungslaut besteht aus einem kurzen multiharmonischen und abwärts frequenz-modulierten (FM) Signal geringer Intensität (siehe Abbildung 2.1). Das Signal selbst setzt sich aus vier sogenannten *Harmonischen* zusammen (Sterbing 2002). Solch breitbandigen FM-Signale sind besonders geeignet, um ein Ziel exakt lokalisieren und es spektral charakterisieren zu können (Thies et al. 1998).

Umfangreiche Vorversuche an narkotisierten Tieren zeigten, dass das efferente System nur an wachen, nicht betäubten Tieren untersucht werden konnte, da nur in diesen die Manipulationen des efferenten Systems gut messbar sind. Alle adulten Versuchstiere, an denen die Messungen stattfanden, stammten aus der hauseigenen Zuchtkolonie des Instituts für Zellbiologie und Neurowissenschaft der J. W. Goethe-Universität, Frankfurt und wurden wach, d. h. ohne jegliche Verabreichung von Beruhigungs- oder Betäubungsmitteln während der Messungen genutzt.

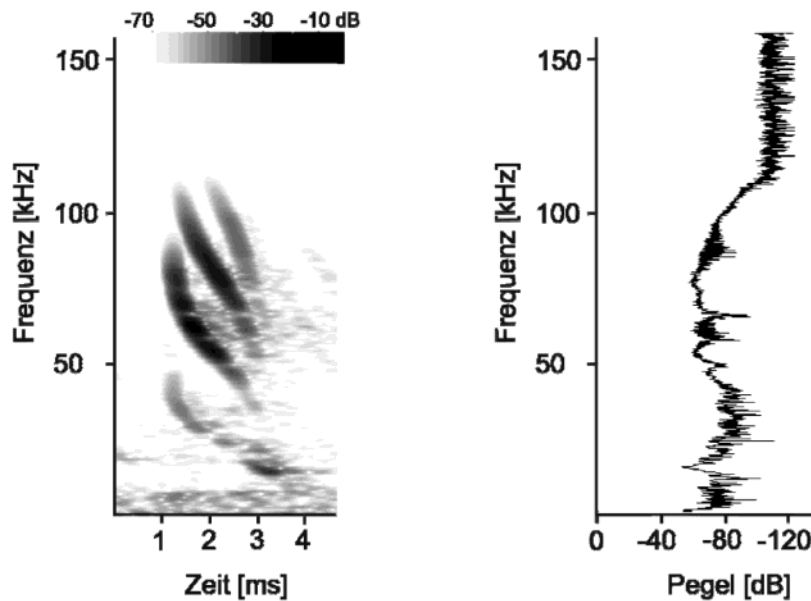


Abbildung 2.1: Repräsentativer abwärts frequenzmodulierten Echoortungsrufs von *C. perspicillata*, dargestellt im Sonagramm (Frequenz versus Zeit, links) und im korrespondierenden Powerspektrum (Frequenz versus Pegel, rechtes): der Echoortungsruf besteht aus vier Harmonischen, deren zweite Harmonische die dominante ist, da sie am meisten Energie enthält. Die frequenzmodulierten Echoortungslaute zeichnen sich außerdem durch eine große Bandbreite, kurze Dauer und eine vergleichsweise niedrige Intensität aus.

2.2 Versuchsaufbau zur Messung otoakustischer Emissionen bei gleichzeitiger kontralateraler akustischer Stimulation

Während der gesamten Messdauer wurde der schallisolierte Versuchsraum, in dem die Messungen stattfanden, auf ca. 30 °C aufgeheizt, da dies den natürlichen Umgebungsbedingungen der Tiere entspricht. Das Versuchstier musste mit einer seiner Körpergröße entsprechenden Schaumstoffform fixiert werden, um starke Körperbewegungen zu verhindern. Da aber bereits geringe Kopfbewegungen des Tieres die Messungen stark beeinflusst hätten, wurde der Kopf zusätzlich mit Hilfe eines Maulhalters immobilisiert. Hierzu wurde der Oberkiefer des Tieres in einen für *C. perspicillata* passend angefertigten Negativabdruck aus Zahnzement (Paladur)

gelegt und der Schnauzenbereich von oben mit einer fest gespannten Lasche dagegen gedrückt. Durch ein frei schwenkbares Operationsbinokular (Zeiss) wurde der ipsilaterale, äußere Gehörgang des Tieres auf Unversehrtheit überprüft, d. h. er musste frei von Ohrenschmalz und Hautverwachsungen durch z. B. Narbenbildung sein. Danach konnte das Kopplersystem des Messapparates (siehe unten) darin eingeführt und vor dem Tympanum platziert werden.

Das geschlossene Kopplersystem bestand aus einer Halterung für maximal drei Mikrofonkapseln ($\frac{1}{2}$ Zoll Brüel & Kjaer 4133), die als Lautsprecher betrieben wurden und der Darbietung der Primärtöne dienten, und einer Mikrofonkapsel ($\frac{1}{4}$ Zoll Brüel & Kjaer 4135) zur Aufnahme aller akustischen Ereignisse. Die Halterung vereinigte die Lautsprecherkanäle und den Mikrofonkanal in einer Kopplerspitze, deren zwei spitz zugeschnittene und miteinander verklebte Plastikspitzen (dazu eignen sich Pipettenspitzen) gerade auf den Durchmesser des Gehörgangs von *C. perspicillata* eingepasst waren. Zur Stimulierung des efferenten Systems wurde eine weitere Mikrofonkapsel ($\frac{1}{2}$ Zoll Brüel & Kjaer 4133) für die Generierung akustischer Stimuli als Lautsprecher verwendet und mit einem schmalen, konisch zulaufenden Plastikaufsatz (Pipettenspitzen) vor den kontralateralen Meatus positioniert.

Abbildung 2.2 veranschaulicht in Form eines Blockschaltbildes schematisch den Versuchsaufbau, beginnend bei den unterschiedlichen Stufen der Signalgenerierung und -gebung bis hin zu der Messeinheit für die Aufnahme der DPOAE. Die Herstellung der für die DPOAE-Entstehung benötigten akustischen Stimuli und die Datenaufnahme wurden mit Hilfe eines Anwenderprogramms gesteuert, das von Prof. Dr. Manfred Kössl in der Programmierumgebung Testpoint (Keithley) entwickelt wurde. Die akustischen Signale wurden zunächst durch die D/A Umwandlung mit der im Computer integrierten Microstar DAP DSP- (Digital Signal Processing) Karte erzeugt. Anschließend wurden sie einzeln in Abschwächer (Tucker Davies Technology, PA5) übertragen, bevor sie dann die Lautsprecherverstärker (Eigenbau) und schließlich die Lautsprecher erreichten. Das im Meatus aufgenommene Mikrophonsignal wurde nach Durchlaufen des Mikrofonvorverstärkers (Microtech Gefell) und des Mikrofonverstärkers A/D gewandelt und im Computer analysiert.

Vor jeder akustischen Messung wurden die ipsilateralen Lautsprecher in situ kalibriert, um mit definiertem Schalldruckpegel in dB SPL (d. h. relativ zu 20 μ Pa) stimulieren zu können. Als Schallstimulus diente hierfür weißes Bandpassrauschen von 1 bis 125 kHz. Während des Experiments wurde gegebenenfalls erneut kalibriert, sobald die gemessenen Schalldruckpegel

nicht mehr mit den Lautstärkeinstellungen übereinstimmen. Der kontralaterale Lautsprecher, der der Stimulierung der Efferenzen diente, wurde ebenfalls kalibriert. Die Abtastrate der Signale betrug $2.6 \mu\text{s}$.

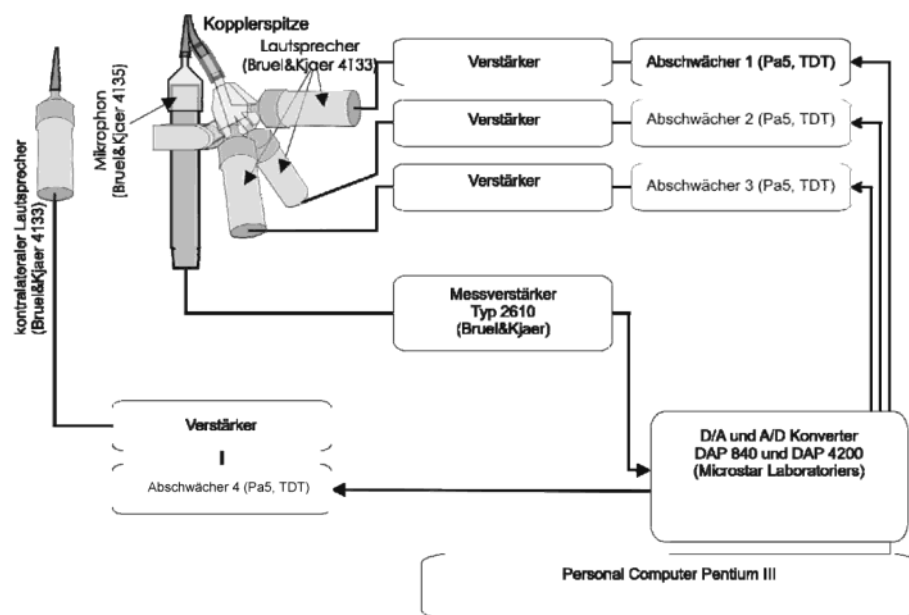


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Messung otoakustischer Emissionen. Jedes Stimulussignal (sowohl Primärton als auch Suppressionsstimulus, ipsi- und kontralateral) erfährt nach seiner Generierung im Computer zur Erzeugung definierter Schallpegel eine Abschwächung über einen computergesteuerten Abschwächer anhand einer in situ gemessenen Frequenzkalibrierkurve. Anschließend wird das Signal um einen konstanten Faktor zur Erzielung hoher Spannungen verstärkt, die für Kondensatorlautsprecher erforderlich sind. Das akustische Signal, das von der Cochlea ausgeht, wird mit dem Mikrofon gemessen, verstärkt und in einen A/D Konverter gespeist und anschließend analysiert (detaillierte Darstellung: siehe Text). Nach Abel 2009.

2.3 Distorsionsprodukt-otoakustische Emissionen

Um die Veränderungen der cochleären Mikromechanik durch kontralaterale akustische Stimulation zu untersuchen, wurden DPOAE gemessen. Wird das Ohr dabei mit zwei sinusförmigen Primärtönen unterschiedlicher Frequenz f_1 und f_2 stimuliert, so entstehen neue Frequenzen u. a. an der Frequenz $2f_1-f_2$. Die Separation von Reizfrequenzen und Frequenzen der DPOAE ermöglicht einen relativ einfachen Nachweis der otoakustischen Emissionen, da lediglich bei der $2f_1-f_2$ Frequenz nach einem deutlich aus dem Umgebungsrauschen herausragenden akustischen Ereignis gesucht werden muss. Die DPOAE sind dann besonders prominent und gut messbar, wenn das Frequenzverhältnis f_2/f_1 der beiden Primärtöne ideal zueinander gewählt ist, so dass bei möglichst geringem Pegel (engl.: level, l) von l_1 und l_2 die Amplituden der DPOAE maximal sind. Das optimale Frequenzverhältnis, das bei jeder Messung bestimmt wurde, reichte in dieser Arbeit von 1.08 bis 1.26 und lag im Mittel bei 1.22 ± 0.11 (hier und im Folgenden: MW \pm SD). Ein weiteres Kriterium für die Messung prominenter DPOAE ist die Amplitude beider Primärtöne. Sie wurde so eingestellt, dass $l_1 = l_2 - 10$ dB galt, was sich als optimales Amplitudenverhältnis bei Säugetieren bewährt hat (Faulstich und Kössl 2000, Foeller und Kössl 2000, Kössl 1994, Kössl et al. 1996).

Das Umgebungsrauschen, das durch Atmung, Blutzirkulation und Muskelarbeit zustande kommt, gilt bei akustischen Messungen als Störgeräusch und lag in der vorliegenden Arbeit unter -10 dB SPL (-17 ± 6.5 dB SPL). Auch unternommene Fluchtversuche des unbetäubten Versuchstieres aus der Halterung verändern das Umgebungsrauschen. Kaut das Tier während der Messungen auf dem Maulhalter oder versucht sich aus der Schaumstoffhülle frei zu strampeln, hebt dies das Umgebungsrauschen vor allem im tieffrequenten Bereich an. Zusätzlich verändert sich dabei die Amplitude der DPOAE sichtbar durch kleinste Kopfbewegungen, was zu verfälschten Ergebnissen führt. Um diese unbeabsichtigte Manipulation der DPOAE-Amplitude zu vermeiden, wurden nur jene Messungen verwendet, die im tieffrequenten Bereich von 0.2-3 kHz ein Umgebungsrauschen < -10 dB SPL aufwiesen. War dieses Kriterium nicht gewährleistet, wurde die Messung so oft wie notwendig wiederholt.

2.4 Frequenzspezifische kontralaterale Stimulation

Um die Frequenzspezifität der MOC-Fasern bei sechs *C. perspicillata* zu untersuchen, wurden Experimente mit kontralateraler akustischer Stimulation durchgeführt. Als ipsilaterale Stimulusfrequenzen für f_2 dienten 20, 40 und 60 kHz (siehe Abbildung 2.3). Allen Messungen zur frequenzspezifischen kontralateralen Stimulation gingen die bereits oben beschriebenen

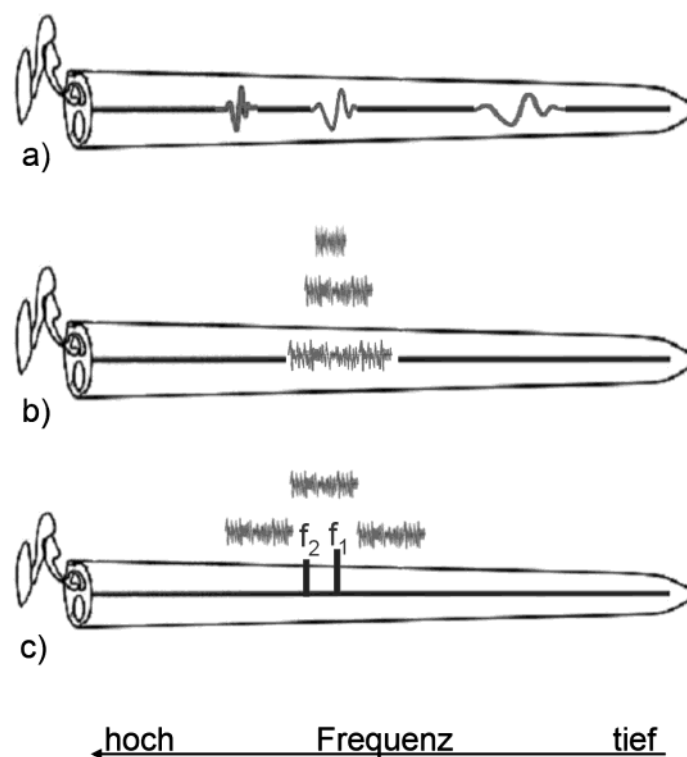


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung der Abbildungsorte der verwendeten akustischen Stimuli auf der Basilarmembran (blau) einer aufgerollten Säugercochlea mit Mittelohrknochen. **(A)** Als ipsilaterale Stimuli (rot) zur Evozierung der DPOAE dienten Primärtöne unterschiedlicher Frequenz (von rechts nach links: $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz). **(B)** Als kontralaterale Stimuli (rot) dienten Rauschen unterschiedlicher Bandbreite (von oben nach unten: $0.5, 1$ und 1.5 Oktaven in Relation zu f_2). Jedes Rauschen wurde mit seinen Randfrequenzen in Relation zu den Primärtönen unterschiedlich positioniert (rot, **C**): oberhalb von f_2 , unterhalb von f_1 und mit seiner Zentrumsfrequenz auf dem geometrischen Mittel zwischen f_1 und f_2 .

Vorarbeiten zur Bestimmung des optimalen Frequenzverhältnisses von f_2/f_1 voraus. Mit einem fixierten Schallpegel von I_1 und I_2 (der I_2 - Pegel reichte in den verschiedenen Messungen von leisen 20 bis moderaten 55 dB SPL) wurde wiederholt das Verzerrungsprodukt $2f_1-f_2$ gemessen. Währenddessen wurde der kontralaterale akustische Stimulus schrittweise in seinem Pegel erhöht, bis sich die Amplitude des Verzerrungsproduktes sichtbar veränderte, maximal jedoch bis zu einem Gesamtpegel von 54 dB SPL.

Unter der Annahme, dass MOC-Fasern, die selbst auf bestimmte Tonfrequenzen abgestimmt sind, ihrerseits einen frequenzspezifischen Einfluss auf die mechanische Aktivität in der Cochlea hervorrufen können, wurden diese mit kontralateralen Stimuli unterschiedlichen Frequenzgehalts stimuliert. Dabei wurden bandpassartige, d. h. aus definierten Frequenzen zusammengesetzte Rauschstimuli verwendet, da diese im Gegensatz zu sinusförmigen Reintönen größere und damit messbarere efferente Effekte auf die Schallverarbeitung erzielen (Mott et al. 1989, Maison et al. 2000). Die verwendeten Schmalbandrauschen (engl.: narrow-band noise, NBN) trugen zwei Aspekten Rechnung: einerseits wurde das NBN in seiner Bandbreite variiert, um zu untersuchen inwieweit die Bandbreite Einfluss auf die Effekte ausübt. Da aber ein NBN von z. B. 10 kHz Bandbreite in tiefen Frequenzbereichen einen größeren Basilar membranbereich stimuliert, als ein NBN der gleichen Bandbreite in höheren Frequenzbereichen, wurde die Breite des NBN nicht mit Absolutwerten in Herz, sondern mit Oktavenwerten berechnet. Somit betragen die Bandbreiten der NBN 0.5, 1 und 1.5 Oktaven relativ zu den ipsilateral eingesetzten Primärtönen f_2 .

Andererseits wurde das NBN mit seinen Randfrequenzen in Relation zu den Primärtönen an drei unterschiedlichen Frequenzen positioniert: 1) unterhalb von und damit tieffrequenter als f_1 (nachfolgend: 'NBN unterhalb f_1 '), 2) oberhalb von und damit hochfrequenter als f_2 (nachfolgend: 'NBN oberhalb f_2 ') mit jeweils 1 kHz Abstand zu den Primärfrequenzen und 3) mit seiner Zentrumsfrequenz auf dem geometrischen Mittel zwischen f_1 und f_2 (nachfolgend: 'NBN zentriert'; die exakten Frequenzangaben der NBN sind der Tabelle 2 des Anhangs zu entnehmen).

Um die Auswertung der Daten zu verdeutlichen, ist in Abbildung 2.4 eine exemplarische Messung unter kontralateraler akustischer Stimulation gezeigt. Dabei ist unter Kontrollbedingungen, d. h. Messung des $2f_1-f_2$ -Pegels ohne kontralaterale akustische Stimulation, ein stabiler Emissionspegel mit leichten Amplitudenschwankungen zu beobachten, die durch Körperbewegungen des Versuchstieres bedingt sind. Wird aber kontralateral mit steigendem

NBN-Pegel akustisch stimuliert, so kann damit eine Verminderung des $2f_1-f_2$ -Pegels hervorgerufen werden: hierbei üben unterschiedliche NBN unterschiedlich starken, in diesem Fall supprimierenden Einfluss aus.

Bei der Quantifizierung der efferenten Effekte wurde auf eine klassische Berechnungsmethode von Brown und Kemp zurückgegriffen (1984), die in Abbildung 2.5 schematisch dargestellt ist. Danach wird der NBN-Pegel ermittelt, der notwendig ist, um die DPOAE-Amplitude um typischerweise 6 und 9 dB zu reduzieren. Hierfür hat sich der Begriff des sogenannten *Schwellenwerts* etabliert.

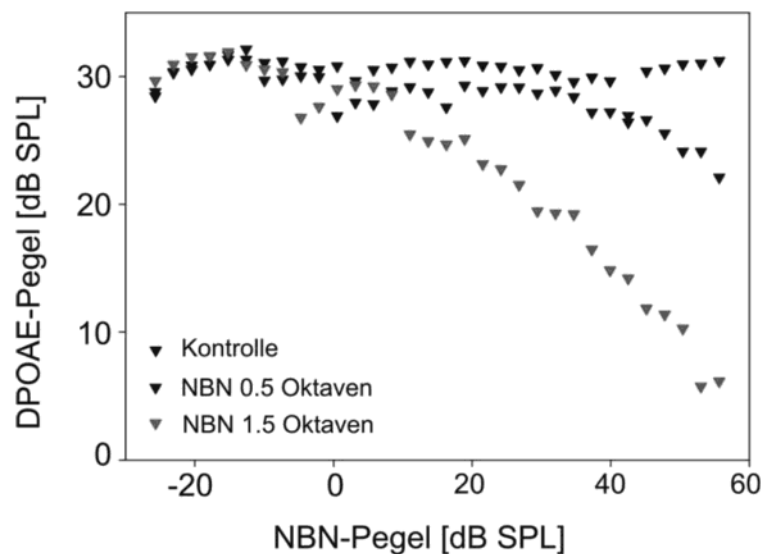


Abbildung 2.4: Eine exemplarische DPOAE-Messung ohne und mit kontralateralem 'NBN oberhalb f_2 ' ($f_1 = 17.6$, $f_2 = 20$ kHz, $I_1 = 65$, $I_2 = 55$ dB SPL) zeigt, wie stark der $2f_1-f_2$ -Pegel durch den NBN-Pegel beeinflusst werden kann. Mit zunehmendem NBN-Pegel wird sein Einfluss auf den DPOAE-Pegel immer stärker und führt zu einer Verminderung des $2f_1-f_2$ -Pegels. Breite NBN (1.5 Oktaven, rote Dreiecke) bewirken dabei größere Veränderungen der DPOAE-Amplitude als schmale NBN (0.5 Oktaven, blau).

Da der $2f_1-f_2$ -Pegel der Kontrollmessungen, von der ausgehend die Schwellenwerte ermittelt werden, durch Körperbewegungen des Versuchstieres schwanken konnten, wurde aus der Kontrollmessung ein Mittelwert mit Standardabweichung des $2f_1-f_2$ -Pegels ($MW \pm SD$) gebildet. Beginnend von dem unteren, negativen der beiden SD-Werte wurde durch lineare Interpolation der CAS-Datenpunkte die NBN-Pegel, die für eine 6 oder 9 dB Suppression des DPOAE-Pegels nötig sind, bestimmt. Diese Werte werden als NBN-Schwellenwerte für den jeweiligen Suppressionseffekt bezeichnet.

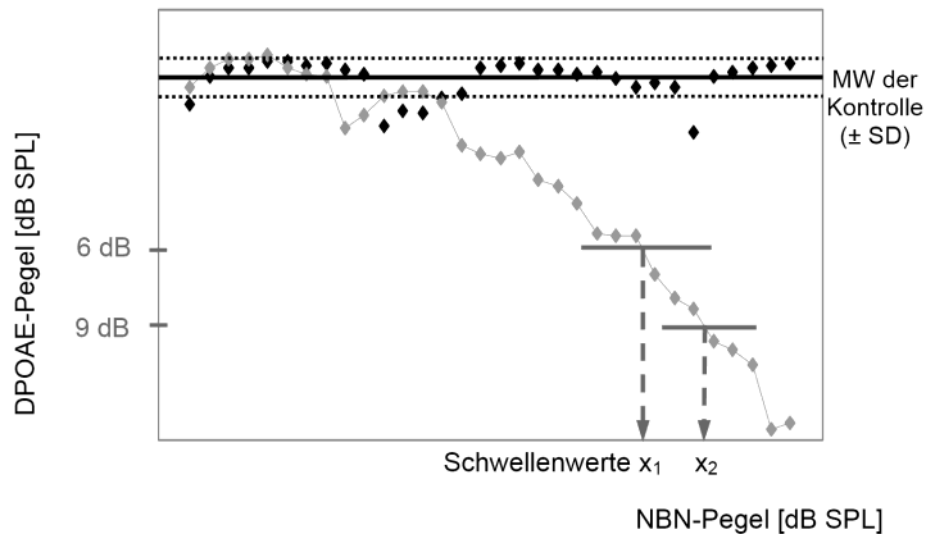


Abbildung 2.5: Berechnung von Schwellenwerten zur Quantifizierung der DPOAE-Suppression. Die DPOAE-Amplitude wird durch CAS stark supprimiert (rote Raute; im Vergleich zur Kontrollmessung ohne CAS, schwarze Raute). Ausgehend von der unteren SD (gestrichelte Linie) des MW der Kontrollmessung (durchgezogene Linie) wird zwischen zwei Messpunkten linear interpoliert, wo die Schwellenkriterien (6 und 9 dB) geschnitten werden. Die so ermittelten Schwellenwerte x_1 und x_2 zeigen den NBN-Pegel an (in dB SPL), der notwendig ist, um die DPOAE-Amplitude um 6 und 9 dB zu supprimieren.

In manchen Fällen, in denen die maximale Suppression weder 6 dB noch 9 dB erreichte, wurden sogenannte *Grenzwerten* erhoben. Das sind die maximal verwendeten NBN-Pegel, bis zu welchen sich keine 6 bzw. 9 dB-Verminderung der DPOAE ergaben. In Konsequenz dessen hätte die CAS mit lauterem Pegel appliziert werden müssen, um die DPOAE um die festgelegten 6 und 9 dB Schwellenkriterien zu supprimieren. Ein Grenzwert gibt folglich an, in welchem minimalen NBN-Pegelbereich noch kein 6 oder 9 dB-Effekt auftrat.

2.5 Messung des akustischen Übersprechens

Bei den hier vorgenommenen Messungen zu otoakustischen Emissionen sollte die Einflussgröße, hier die CAS, alleine verantwortlich sein für die hervorgerufene Änderung der von ihr abhängigen Variablen, hier dem Emissionspegel – ein Prinzip, welchem alle naturwissenschaftliche Experimente unterliegen. Bei Applikation lauter Schallstimuli am kontralateralen Ohr kann nun neben dem intendierten Effekt eine weitere Einflussgröße den Pegel der otoakustischen Emission modulieren. Es handelt sich hier um das sogenannte *akustische Übersprechen*, d. h. der kontralateral applizierte Schallstimulus beugt sich um den Kopf des Tieres und erreicht in abgeschwächter Form das ipsilaterale Ohr und könnte dort zur mechanischen Suppression der Cochlea führen, was dann fälschlicherweise als efferenter Effekt interpretiert werden könnte.

Zur Quantifizierung des Übersprechens wurde vor dem Beginn jedes einzelnen Experiments als CAS ein Breitbandrauschen (0.1 – 124.9 kHz) maximaler Amplitude appliziert. Das mit dem ipsilateralen Mikrophon im Meatus aufgenommene Schallsignal wurde dann von der Kontrollmessung (Schallsignalaufnahme ohne dazwischen liegenden Tierkopf) subtrahiert. Die dadurch entstandene Differenz zeigt, welche abschwächenden Eigenschaften der Tierkopf aufweist und mit welchem Übersprechen in den Versuchen gerechnet werden muss.

In Abbildung 2.6 sind Beispielmessungen zweier Versuchstiere dargestellt, die repräsentativ für alle Messungen sind. Beide Graphen zeigen das typische Abschwächungsverhalten eines Tierkopfes, indem tieffrequente Schallstimuli weniger stark durch den Kopf des Versuchstieres abgeschwächt wurden und daher die ipsilaterale Cochlea mit höherem Pegel erreichten, als hochfrequente. Der Einfluss des Übersprechens wird im höherfrequenten Bereich marginal:

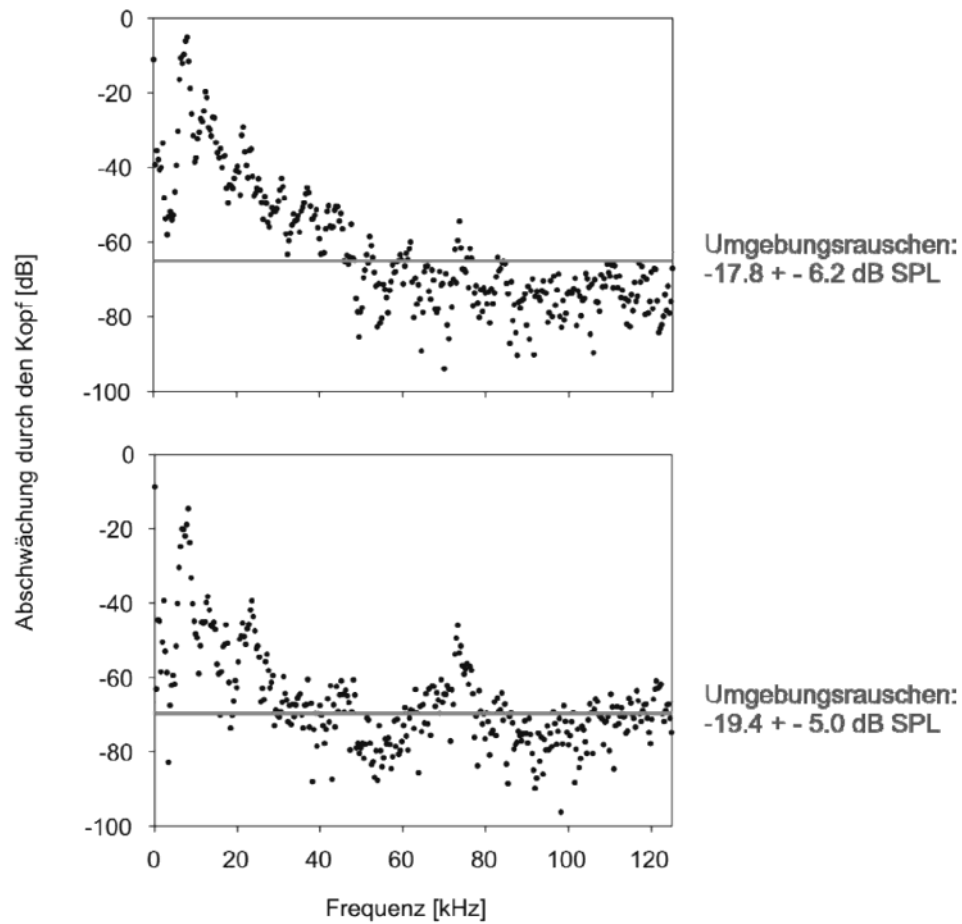


Abbildung 2.6: Messungen des Übersprechens bei zwei Versuchstieren (Vorgehensweise der Messung: siehe Text). Tieffrequente Schallstimuli erfahren im Allgemeinen weniger Abschwächung durch den Tierkopf als hochfrequente, und treten daher verstärkt als ungewolltes, zusätzliches Schallereignis an der ipsilateralen Cochlea auf. Ab Frequenzen von 40 bis 50 kHz ist die Abschwächung so stark, dass das Signal des Übersprechens im Umgebungsrauschen untergeht (graue Linie, Angabe: MW \pm SD). Die unterschiedlichen Frequenzverläufe der beiden Tiere sind vermutlich mit der individuellen Kopfform erklärbar.

ab etwa 25 kHz ist das kontralaterale Signal um mindestens 40 dB abgeschwächt. Ab Frequenzen von 40 bis 50 kHz ist die Abschwächung des Signals durch den Tierkopf so stark, dass der Pegel des Übersprechens unterhalb dessen des Umgebungsräuschens liegt (graue Linie in der Abbildung). Eine besonders geringe Abschwächung durch den Tierkopf zeigt sich bei dem Frequenzbereich um 10 kHz (Abschwächung zwischen 5 und 20 dB).

2.6 Pegelabhängigkeit von CAS bei ipsilateraler Messung von I/O-Funktionen

Für die Untersuchung pegelabhängiger Einflüsse der kontralateralen akustischen Stimulation an sechs *C. perspicillata* wurden sogenannte Wachstumsfunktionen des Verzerrungsprodukts $2f_1-f_2$ gemessen. Die Untersuchung umfasste Frequenzen des zentralen Hörbereichs von *C. perspicillata* ($f_2 = 20, 40, 60$ kHz). Entsprechend des zuvor ermittelten optimalen Frequenzverhältnisses von f_2/f_1 wurden die Primärtonfrequenzen f_1 und f_2 eingestellt, dann beide Stimuluspegel in 5 dB Schritten erhöht und so die Abhängigkeit der $2f_1-f_2$ -Amplitude von den Primärtonpegeln I_1 und I_2 untersucht (Input/Output-Funktion). Um den Einfluss kontralateraler Stimulation auf die Pegelabhängigkeit der DPOAE beschreiben zu können, wurde die Messung unter unterschiedlichen Konditionen wiederholt: zuerst mit und anschließend ohne kontralaterale akustische Stimulation.

Als Kontrollmessung dienten fünf Wachstumsfunktionen ohne kontralaterale Stimulation, deren Ergebnisse für die Analyse der Effekte in den Resultaten gemittelt wurden. Bei anschließender Wiederholung der Wachstumsfunktionen wurde gleichzeitig der kontralaterale Rauschstimulus verabreicht. In Abbildung 2.7 ist ein repräsentatives Beispiel einer einzigen Wachstumsfunktionsmessung dargestellt unter Verwendung eines NBN mit einer Bandbreite von 1.5 Oktaven (relativ zu den ipsilateral verwendeten Primärtonfrequenzen f_2). Der Frequenzbereich des NBN lag oberhalb von und damit hochfrequenter als f_2 ('NBN oberhalb f_2 ').

Um Adaptationsphänomene bei der Messung zur Pegelabhängigkeit der kontralateralen Stimulation ausschließen zu können, wurden die unterschiedlichen NBN-Pegel randomisiert dargeboten. Die verwendeten Pegel des kontralateralen NBN waren bei $f_2 = 20$ kHz: -8, 2, 12, 23, 33, 43 und 54 dB SPL, bei $f_2 = 40$ kHz: -10, 0, 11, 21, 31, 42 und 52 dB SPL, bei $f_2 = 60$ kHz: -10, 0, 10, 20, 30, 39 und 49 kHz.

Die Quantifizierung der pegelabhängigen Suppression ist an Hand der Wachstumsfunktion in Abbildung 2.7 dargestellt. Dazu wurde der I_2 -Pegel ermittelt (durch lineare Interpolation), der notwendig war, um einen Emissionspegel von -10 bzw. 0 dB SPL (Schwellenkriterien) zu evozieren. Diese I_2 -Pegel werden Schwellenwerte genannt und können sich unter den verschiedenen Versuchsbedingungen verändern: Im vorliegenden Fall werden die Veränderungen der DPOAE-Schwellenwerte zur Beschreibung des Einflusses efferenter Stimulation auf die Funktionsweise des cochleären Verstärkers verwendet.

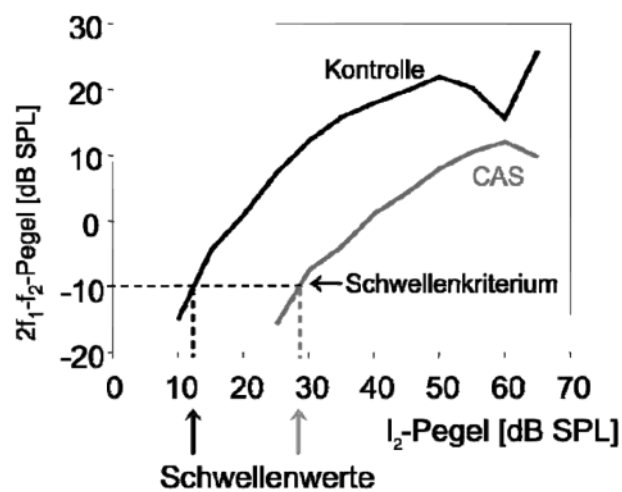


Abbildung 2.7: Schema zur Beschreibung der Auswertung der Pegelabhängigkeit efferenter Effekte auf Wachstumsfunktionen. Die $2f_1-f_2$ -Verzerrung nimmt unter Kontrollbedingungen in Abhängigkeit der Primärtonpegel den typischen Verlauf (schwarze Kurve). Unter CAS mit 'NBN oberhalb f_2 ' und einer Bandbreite von 1.5 Oktaven wird die $2f_1-f_2$ -Verzerrung deutlich sichtbar in ihrem Pegel supprimiert (graue Kurve). Die Schwellenwerte (I_2 -Pegel), die notwendig sind, um einen $2f_1-f_2$ -Pegel von -10 dB SPL (hier dargestellt) bzw. 0 dB SPL zu evozieren, unterscheiden sich stark untereinander (siehe schwarzer und grauer Pfeil). In Folge der CAS müssen die Primärtonpegel um ca. 16 dB erhöht werden (im Vergleich zu der Kontrollmessung), um eine $2f_1-f_2$ -Verzerrung der Amplitude -10 dB SPL zu evozieren.

Ein weiterer Parameter der DPOAE-Wachstumsfunktionen, der sich unter CAS ändern könnte, ist die Flankensteilheit der Funktionen. Zur Bestimmung der Flankensteilheit wurde bei allen Versuchstieren die Steigung jeder Wachstumsfunktion in einem schwellennahen Bereich mittels linearer Interpolation zwischen -10 und 0 dB SPL bestimmt.

2.7 Betäubung von Versuchstieren

Einige Versuche wurden mit betäubten Fledermäusen durchgeführt. Das Narkotikum bestand dabei aus einer in der Hörforschung weit verbreiteten Mischung von Ketamin (1 mg / 100 g) und Xylazin (Rompun 0.2 ml / 100 g, Bayer), welche subcutan injiziert wurde. Ein stabiler Narkosezustand des Versuchstieres wurde mit Hilfe des Zehenrückziehreflexes und der Beobachtung von gleichmäßigen Intervallen des Atemmusters überprüft. Eine gleichmäßige Körpertemperatur des Versuchstieres von 37 °C wurde durch Aufheizen der schalldichten Versuchskammer erreicht.

2.8 Messung von Suppressions-Abstimmkurven in Kombination mit CAS

Ziel der Messung von $2f_1$ - f_2 -Suppressions-Abstimmkurven (engl.: suppression tuning curve, STC) war, die Trennschärfeeigenschaften des Innenohres zu bestimmen. Die Kombination der ipsi- (Sinuston f_3) und kontralateralen Suppression (mit dem effektivsten Stimulus 'NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven breites NBN, NBN-Pegel = 20 dB SPL, siehe Abschnitt 3.1) kann eine mögliche Veränderung der Frequenzdiskriminierung aufzeigen und so einen wichtigen Beitrag zum Rollenverständnis der Efferenzen für die cochleäre Mikromechanik leisten.

Bei dieser Messmethode wurde die $2f_1$ - f_2 -Verzerrung nach oben beschriebenem Messprotokoll aufgezeichnet (siehe Abschnitt 2.3). Dabei wurde bei jedem Messdurchlauf nicht nur die Frequenz, sondern auch die Amplitude der Verzerrung konstant gehalten, indem mit fixierten Schallpegeln I_1 und I_2 ipsilateral stimuliert wurde. Die Primärtonpegel wurden wegen des eingeschränkten Dynamikbereichs des cochleären Verstärkers möglichst leise aber laut genug eingestellt, so dass DPOAE-Pegel von etwa 10-20 dB SPL entstanden, die deutlich über dem Rauschpegel lagen. Der hierfür nötige I_2 -Pegel lag je nach f_2 -Frequenz zwischen 20 bis 55 dB SPL.

Die Messapparatur wurde an dem ipsilateralen Kopplerstück um eine Mikrofonkapsel ($\frac{1}{2}$ Zoll Brüel & Kjaer 4133) erweitert. Diese als dritter Lautsprecher betriebene Mikrofonkapsel diente zur Erzeugung eines weiteren Sinustons, des Maskierers f_3 . In Abhängigkeit seiner Frequenz und Amplitude ist er in der Lage, die Entstehung der $2f_1$ - f_2 -Verzerrung in der Cochlea zu unterdrücken und damit deren Amplitude messbar zu supprimieren. Der Effekt ist umso größer, je näher f_3 an der Primärtonfrequenz f_2 liegt. Der Maskiererpegel I_3 wurde in 2.5 dB Schritten erhöht und supprimierte in Abhängigkeit seiner Amplitude I_3 und Frequenz f_3 die Amplitude des Verzerrungsproduktes unterschiedlich stark.

Es wurden an sechs Versuchstieren die ipsilateralen Stimulusfrequenzen $f_2 = 20, 30, 40, 50$ und 60 kHz mit den korrespondierenden f_1 -Frequenzen (bei optimalem Frequenzverhältnis von f_2/f_1) untersucht. f_3 wurde in Abhängigkeit der unterschiedlichen Stimulusfrequenzen f_2 randomisiert dargeboten, errechnet nach der Formel:

$$f_3 = f_2 - \{0.1, 0.2, 0.3, 0.5 \text{ und } 1 \text{ Oktaven}\} \text{ für den Frequenzbereich unterhalb } f_2,$$

und

$$f_3 = f_2 + \{0.05, 0.2, 0.3, 0.5 \text{ und } 0.7 \text{ Oktaven}\} \text{ für den Frequenzbereich oberhalb } f_2.$$

Mit den sich daraus ergebenden Maskierfrequenzen f_3 ist ein großer Teil des Einflussbereiches des Maskierers auf den Entstehungsort der Verzerrung abgedeckt, sowohl im niedrigen als auch im hohen Frequenzbereich.

Für jede Maskierfrequenz f_3 folgte den Kontrollmessungen (mit ipsilateraler f_3 -Maskierung jedoch ohne CAS, 'K 1') die Wiederholung mit CAS ('CAS') und anschließend eine weitere Kontrollmessung (ohne CAS, 'K 2'). Die Quantifizierung der $2f_1$ - f_2 -Maskierung erfolgte ähnlich der in Abschnitt 2.4 beschriebenen und in Abbildung 2.5 dargestellten Schwellenwert-Methode. Allerdings wurde dabei der I_3 -Pegel des ipsilateralen Suppressors errechnet, der notwendig ist, um die $2f_1$ - f_2 -Amplitude um 6 bzw. 9 dB (= Schwellenkriterien) zu supprimieren.

Die aus dem Auftragen der I_3 -Pegel gegen die korrespondierenden f_3 -Frequenzen resultierenden STC wurden auf ihre unterschiedliche Form hin untersucht. Dabei umschloss die Auswertung den Vergleich der:

- Besten Frequenz (f_3 -Frequenz, bei der mit minimalem I_3 -Pegel die $2f_1$ - f_2 -Amplitude um 6 bzw. 9 dB supprimiert wird, BF)
- BF-Pegel (I_3 -Pegel bei der BF, niedrigster I_3 -Pegel der gesamten STC)
- dem Q_{5dB} - und Q_{10dB} -Wert (entspricht dem Verhältnis der BF zur Breite der STC 5 bzw. 10 dB über dem BF-Pegel), sowie einerseits den dazugehörigen
- Bandweiten (Breite der STC 5 bzw. 10 dB oberhalb des BF-Pegels, BW) und andererseits den
- Schnittpunktfrequenzen (Frequenzen, die man erhält, wenn man sowohl an der tief-frequenten als auch an der hochfrequenten Flanke der STC 5 bzw. 10 dB über dem BF-Pegel die STC schneidet. Es ergeben sich folgende Schnittpunktfrequenzen: $F_{\text{tief } 5dB}$, $F_{\text{hoch } 5dB}$, $F_{\text{tief } 10dB}$, $F_{\text{hoch } 10dB}$).

2.9 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe des Programms Jump 7 durchgeführt und schlossen ANOVA Tests und Tukey HSD Nachfolgetests ein. Die graphische Darstellung der Daten wurde mit SigmaPlot 10.0, Corel Draw X3 und Adobe Photoshop CS erzielt.

3. Ergebnisse

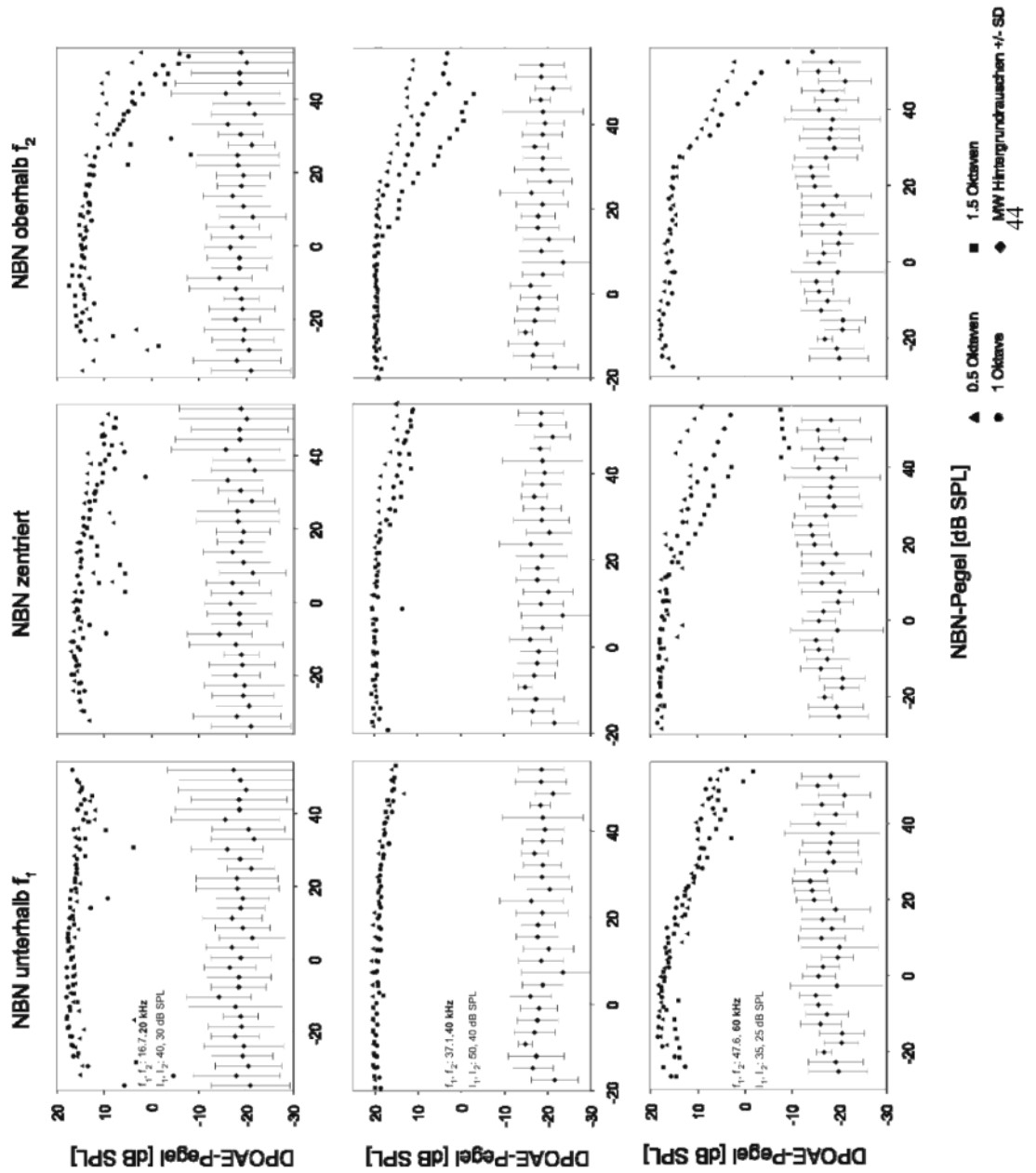
3.1 Frequenzspezifische kontralaterale Suppression

Davon ausgehend, dass unter Kontrollbedingungen der $2f_1$ - f_2 -Pegel bei einem wachen Versuchstier lediglich durch die von seinen Körperbewegungen verursachten, leichten Schwankungen unterliegt, sollte sich ein Einfluss von CAS auf die Cochleamechanik im Gegensatz zu zufälligen Schwankungen deutlich erkennen lassen. Durch wiederholtes Messen des Emissionspegels unter verschiedenen Bedingungen und Vergleichen solcher Messverläufe miteinander sollte ein Effekt sofort erkennbar werden.

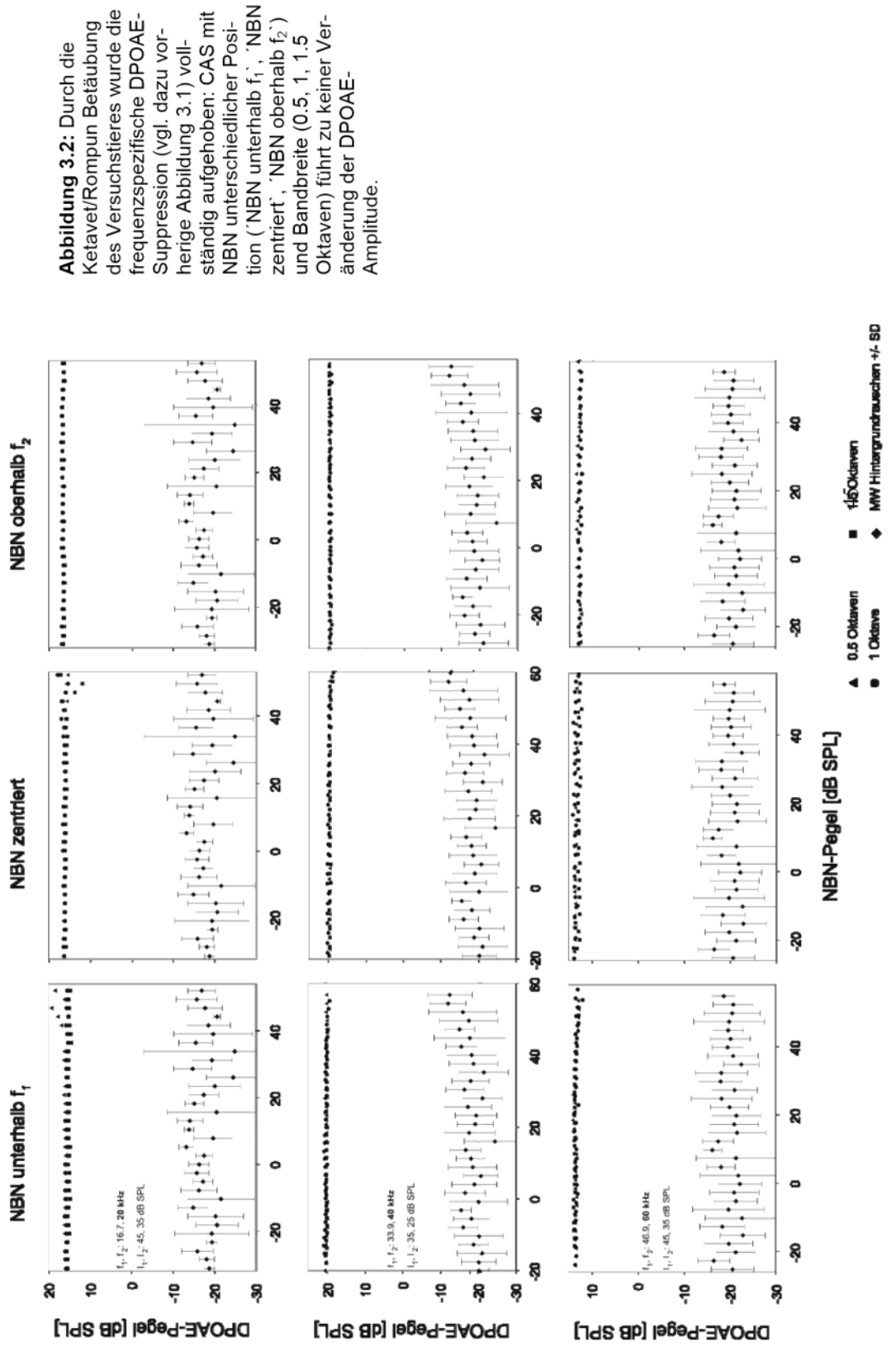
In den vorliegenden Experimenten wurden ausnahmslos supprimierende Effekte ermittelt, d. h. der $2f_1$ - f_2 -Pegel wurde gemindert. Repräsentative Rohdaten, gemessen an einem Versuchstier, veranschaulichen diesen Effekt (Abbildung 3.1). Dabei nahm der DPOAE-Pegel, unabhängig von der Primärtonfrequenz (bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz), mit zunehmendem NBN-Pegel gleichermaßen ab. Einen ganz unterschiedlichen Einfluss auf den DPOAE-Pegel hatten allerdings die verschiedenen NBN-Stimuli: deutlich erkennbar supprimierten NBN-Stimuli stärker, wenn sie eine größere Bandbreite aufwiesen. Je breiter der NBN-Stimulus (1.5 Oktaven $>$ 1 Oktave $>$ 0.5 Oktaven) war, desto stärker war die Suppression des Emissionspegels. Breitbandige NBN-Stimuli erzielten außerdem bereits bei niedrigen kontralateralen Pegeln eine Abnahme der ipsilateralen DPOAE. Der Effekt war außerdem frequenzspezifisch und hing davon ab, wie das Frequenzband der NBN-Stimuli relativ zu den Primärtonfrequenzen lag. NBN-Stimuli, die oberhalb des Primärtones f_2 ('NBN oberhalb f_2 ') positioniert wurden, supprimierten stärker als solche, die unterhalb des Primärtones f_1 ('NBN unterhalb f_1 ') oder zentriert zwischen den beiden Primärtönen ('NBN zentriert') lagen.

Im Vergleich dazu kam es unter der Ketavet/Rompun Betäubung zu einem überraschenden Befund. Wie Abbildung 3.2 zeigt, gab es unter Betäubung bei dem identisch durchgeführten Messprotokoll keinerlei supprimierende Einflüsse der CAS, so dass die DPOAE-Amplitude trotz zunehmendem NBN-Pegel oder wechselnden NBN-Zentrumsfrequenzen unverändert blieb (Abbildung 3.1 und 3.2 zeigen Versuche an dem gleichen Tier). CAS hatte bei keinem der sechs Tiere, die unter Betäubung untersucht wurden, einen Effekt auf ipsilaterale DPOAE.

3. Ergebnisse



3. Ergebnisse



Die Auswahl der Primärtonpegel I_1 und I_2 erfolgte nach dem Kriterium, dass stabile, ca. 15 bis 20 dB SPL laute $2f_1$ - f_2 -Verzerrungen evoziert werden konnten. Die Primärtonpegel lagen zwischen leisen 20 und moderaten 55 dB SPL. Unter diesen Bedingungen war die Pegelabhängigkeit der kontralateralen Suppression gut untersuchbar, da die Amplitude der DPOAE-Kontrollmessung einen ausreichenden Abstand vom Rauschpegel hatte. Es gab bei keiner der Messungen einen Hinweis darauf, dass die Frequenzspezifität der efferenten Effekte von den hier gewählten Primärtonpegeln I_1 und I_2 abhing.

Um den frequenzspezifischen Einfluss der CAS auf den $2f_1$ - f_2 -Pegel zu quantifizieren, wurden die Schwellenwerte des NBN-Pegels für die Suppressionskriterien 6 und 9 dB mittels linearer Interpolation bestimmt. Die so ermittelten Amplitudenwerte zeigen an, welche NBN-Amplituden notwendig waren, um den $2f_1$ - f_2 -Pegel um 6 bzw. 9 dB zu supprimieren. Niedrigere Schwellenwerte bedeuten folglich, dass ein NBN in Abhängigkeit seiner Bandbreite und/oder Position (relativ zu den Primärtönen) einen stärkeren Einfluss auf die Cochlea-mechanik und damit auf den $2f_1$ - f_2 -Pegel ausübt, als NBN mit hohen Schwellenwerten.

Für die Primärtonfrequenz $f_2 = 20$ kHz sind die Ergebnisse aller sechs Versuchstiere in Abbildung 3.3 dargestellt. Die DPOAE wurden bei verschiedenen Primärtonpegeln ($I_2 = 20, 25, 30, 30, 35, 55$ dB SPL) unter CAS gemessen. Dabei zeigte sich 'NBN oberhalb f_2 ' als der stärkste Stimulus. Hier reichten weitaus geringere NBN-Pegel aus, um den DPOAE-Pegel um die Suppressionskriterien 6 bzw. 9 dB zu supprimieren (untere Graphen). Die efferente Stimulation mit 'NBN oberhalb f_2 ' zeigt außerdem deutlich, dass 1.5 Oktaven breite NBN stärker den Verzerrungspegel supprimieren als 0.5 und 1 Oktaven enthaltende NBN (je dunkler die Messpunkte, umso breiter das NBN). Je mehr Frequenzen somit das NBN enthält, desto geringer ist der NBN-Pegel bei Erreichen der Suppressionskriterien 6 und 9 dB.

Vor allem in den oberen beiden Abbildungen 'NBN unterhalb f_1 ', sowie teilweise auch in den mittleren und unteren beiden, bestehen die Datenpunkte aus den Grenzwerten, die durch leere Symbole gekennzeichnet sind. Sie unterscheiden sich von den anderen Datenpunkten (volle Symbole) dadurch, dass sie den maximalen Pegel des efferenten Stimulus (NBN) angeben, ohne dass eine Suppression der Größenordnung 6 bzw. 9 dB hervorgerufen wurde. Sie spiegeln folglich keine realen Messwerte wieder, machen jedoch anschaulich, bis zu welchem CAS-Pegel sich keine 6 bzw. 9 dB-Suppression der DPOAE ergaben. In Konsequenz dessen hätten die efferenten Stimuli mit lauterem Pegel appliziert werden müssen, um

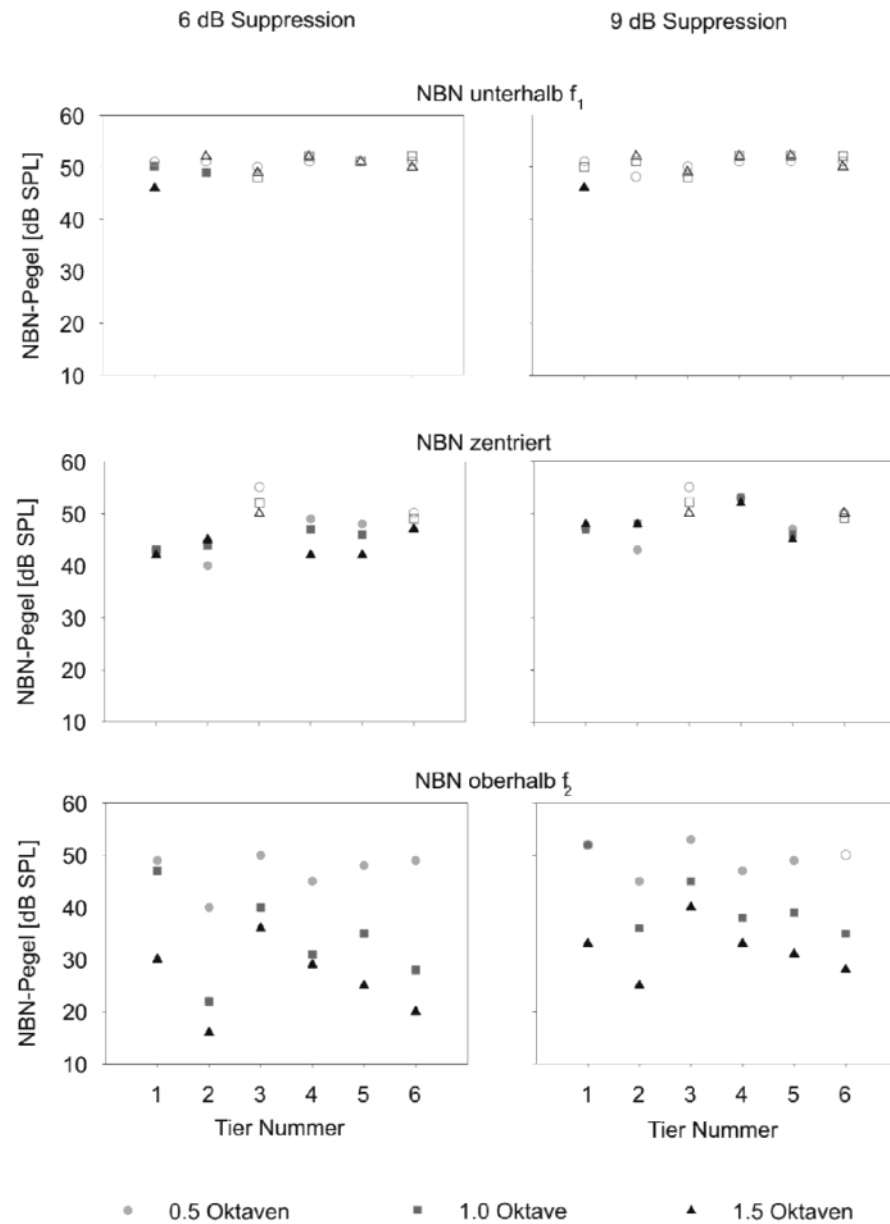


Abbildung 3.3: Frequenzspezifische Suppression der $2f_1-f_2$ -DPOAE ($f_2 = 20$ kHz) bei sechs Versuchstieren (beginnend von Tier Nr. 1 bis 6; $l_2 = 20, 25, 30, 30, 35, 55$ dB SPL). Die stärksten frequenzspezifischen Effekte treten bei CAS mit dem NBN der größten Bandbreite (schwarzes Dreieck, 1.5 Oktaven) und dem hochfrequent gelegenen NBN 'NBN oberhalb f_2 ' (untere Graphen) auf. Diese NBN erzielen infolgedessen bereits bei niedrigsten Pegeln eine Suppression um 6 dB (linke Seite) und 9 dB (rechte Seite). Die leeren Symbole sind Grenzwertwerte, die auftreten, wenn CAS mit maximalem Pegel keine Suppression der Größenordnung 6 bzw. 9 dB hervorruft.

die DPOAE um die festgelegten Suppressionskriterien zu supprimieren. Ein realer Schwellenwert würde in diesem Fall lauter sein müssen und somit oberhalb des Grenzwertens liegen.

Vor allem in den oberen beiden Abbildungen 'NBN unterhalb f_1 ', sowie teilweise auch in den mittleren und unteren beiden, liegen Datenpunkte des NBN-Pegels (sowohl von Grenzwerten als auch von Schwellenwerten) quasi übereinander. Dies kommt dadurch zustande, dass der Verzerrungspegel plötzlich stark abfällt und fast der gleiche NBN-Pegel ausreicht, um die Verzerrung um die Suppressionskriterien 6 und 9 dB zu supprimieren (siehe z. B. in Abbildung 3.1). Im Falle der übereinander liegenden Grenzwerten verhält es sich etwas anders: keiner der verschiedenen breitbandigen, efferenten Stimuli (0.5, 1 und 1.5 Oktaven) führte im Bereich der dargebotenen NBN-Pegel zu einer 6 oder 9 dB starken Suppression.

Dasselbe frequenzspezifische Phänomen findet sich bei Experimenten mit der Primärtonfrequenz $f_2 = 40$ kHz ($l_2 = 25, 25, 25, 35, 40, 40$ dB SPL, Abbildung 3.4) wieder. Hier ist ebenfalls 'NBN oberhalb f_2 ' in Kombination mit der größten Bandbreite von 1.5 Oktaven der effektivste Stimulus (schwarze Dreiecke). Auch bei der Primärtonfrequenz $f_2 = 60$ kHz ($l_2 = 25, 30, 35, 40, 45, 50$ dB SPL, Abbildung 3.5) wird der gleiche frequenzspezifische Zusammenhang deutlich. Nur konnte hier die größte der Bandbreiten (1.5 Oktaven) nicht getestet werden, da das Lautsprechersystem hierfür nicht geeignet war. Im Falle der Versuchsbedingung 'NBN oberhalb f_2 ' umfasst die Bandbreite von 1 Oktave hier bereits Frequenzen von 61 bis 122 kHz.

Um die Frequenzabhängigkeit der efferenten Effekte zwischen den verschiedenen NBN auf den $2f_1$ - f_2 -Pegel detaillierter untersuchen zu können, wurden die Schwellenwerte der unterschiedlich stark supprimierenden NBN (aus Abbildung 3.3, 3.4 und 3.5) in Relation zueinander gestellt. Dazu wurden absolute Differenzen gebildet, die man durch Subtraktion der NBN-Schwellenwerte 'NBN unterhalb f_1 ' und 'NBN oberhalb f_2 ' von den NBN-Schwellenwerten 'NBN zentriert' erhielt. Dies wurde für die unterschiedlich breitbandigen NBN (0.5, 1 und 1.5 Oktaven) und die beiden Suppressionskriterien 6 und 9 dB berechnet. Differenzen, die > 0 sind, zeigen an, dass der jeweilige efferente Stimulus stärker supprimiert als 'NBN zentriert' und damit einen größeren frequenzspezifischen Einfluss auf die Cochleamechanik ausübt.

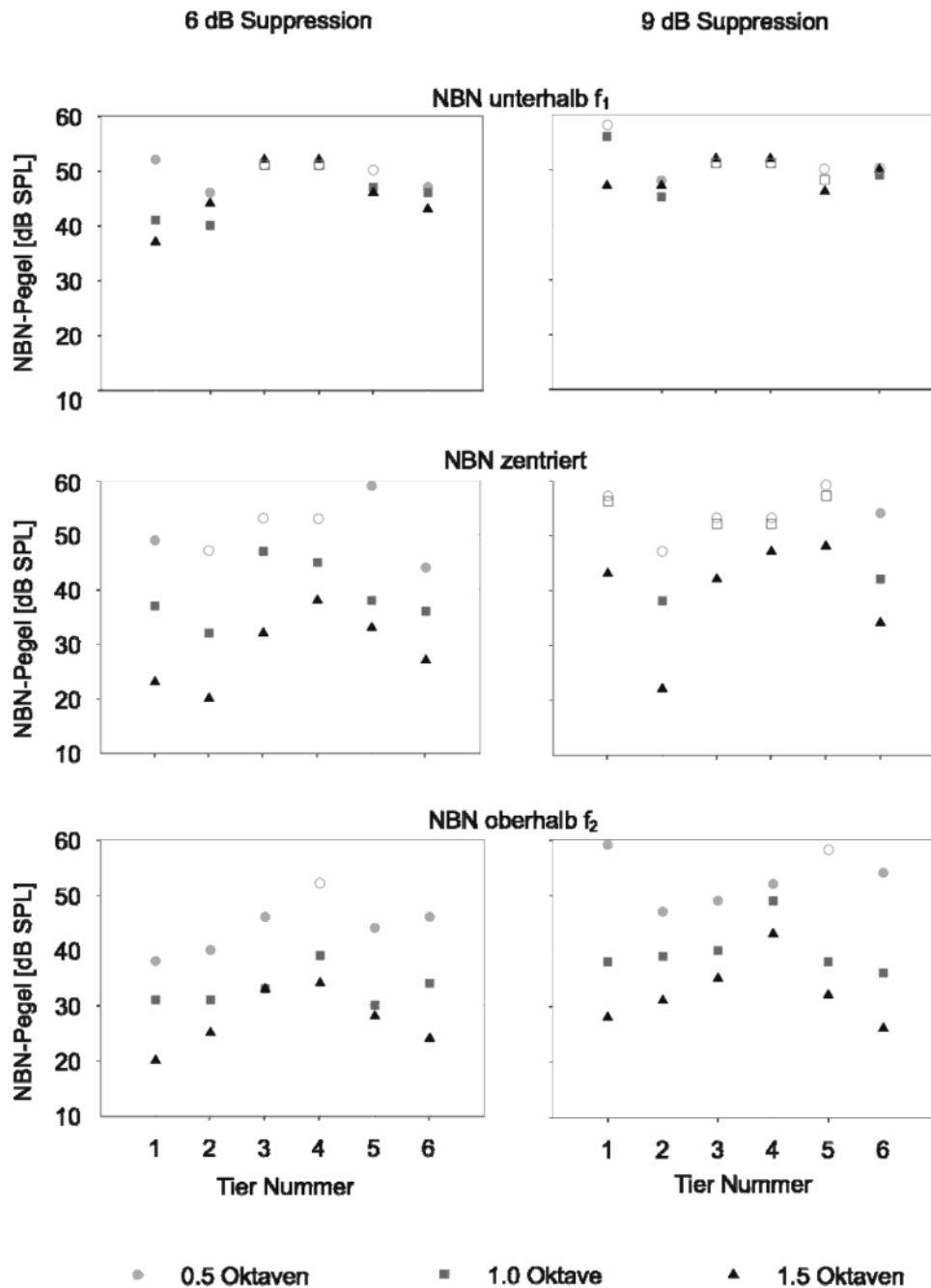


Abbildung 3.4: Frequenzspezifische Suppression der $2f_1$ - f_2 -DPOAE ($f_2 = 40$ kHz) bei sechs Versuchstieren (beginnend von Tier Nr. 1 bis 6; $I_2 = 25, 25, 25, 35, 40, 40$ dB SPL). Die stärksten frequenzspezifischen Effekte treten bei CAS mit dem NBN der größten Bandbreite (schwarzes Dreieck, 1.5 Oktaven) und dem hochfrequent gelegenen NBN 'NBN oberhalb f_2 ' (untere Graphen) auf. Diese NBN erzielen infolgedessen bereits bei niedrigsten Pegeln eine Suppression um 6 dB (linke Seite) und 9 dB (rechte Seite). Die leeren Symbole sind Grenzwertwerte, die auftreten, wenn CAS mit maximalem Pegel keine Suppression der Größenordnung 6 bzw. 9 dB hervorruft.

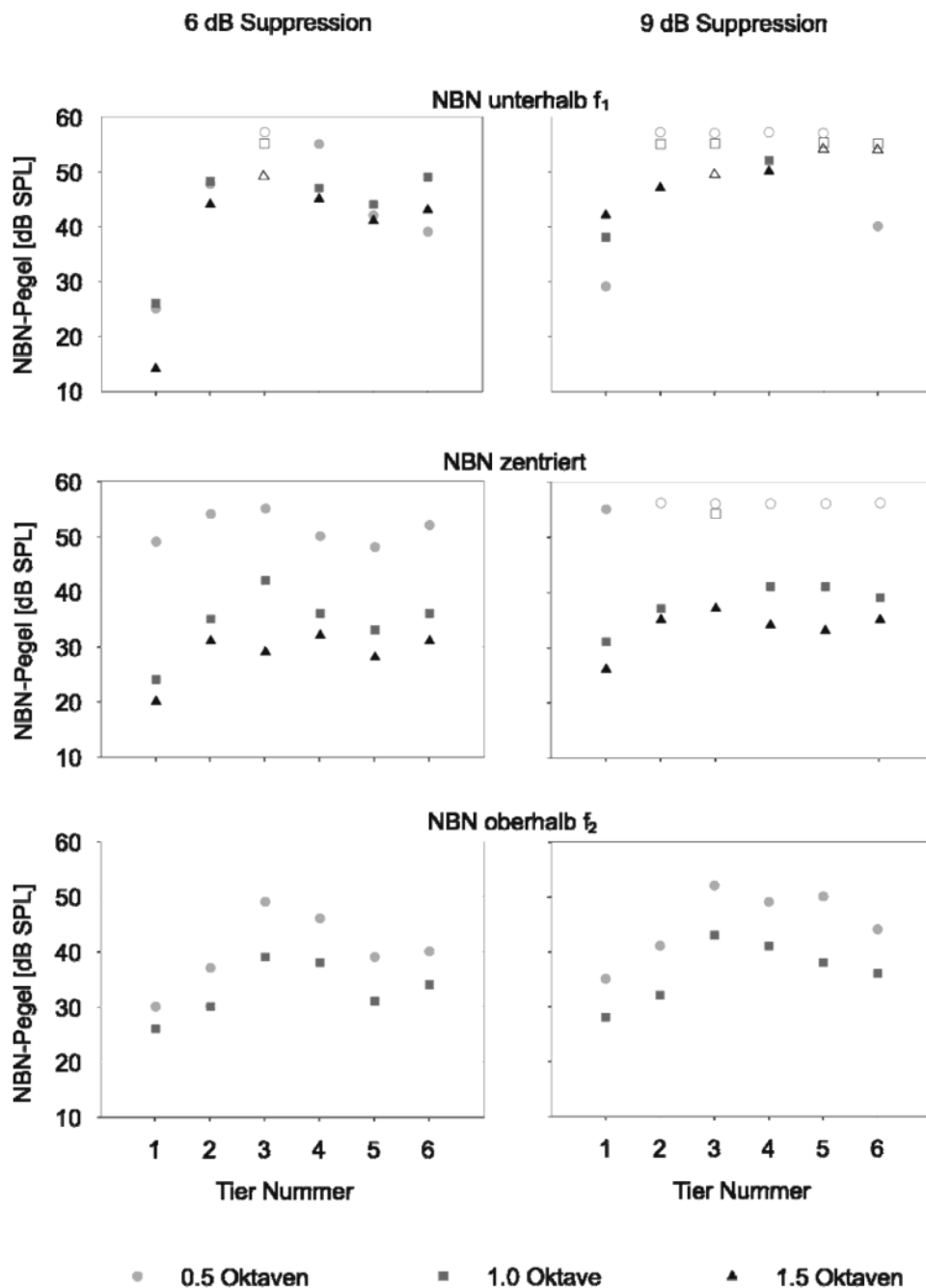


Abbildung 3.5: Frequenzspezifische Suppression der $2f_1$ - f_2 -DPOAE ($f_2 = 60$ kHz) bei sechs Versuchstieren (beginnend von Tier Nr. 1 bis 6: $l_2 = 25, 30, 35, 40, 45, 50$ dB SPL). Die stärksten frequenzspezifischen Effekte treten bei CAS mit dem NBN der größten Bandbreite und dem hochfrequent gelegenen NBN 'NBN oberhalb f_2 ' (untere Graphen) auf. Diese NBN erzielen infolgedessen bereits bei niedrigsten Pegeln eine Suppression um 6 dB (linke Seite) und 9 dB (rechte Seite). Die leeren Symbole sind Grenzwertwerte, die auftreten, wenn CAS mit maximalem Pegel keine Suppression der Größenordnung 6 bzw. 9 dB hervorruft. Bei den Messungen mit 'NBN oberhalb f_2 ' konnte wegen zu hoher Frequenzen für das Lautsprechersystem der 1.5 Oktaven enthaltende Stimulus nicht mehr erzeugt werden, weshalb hier der breitbandigste Stimulus 1 Oktave enthält.

In den Abbildungen 3.6, 3.7 und 3.8 werden zum Vergleich absolute Differenzen einmal mit (ausgefüllte Symbole) und ohne Grenzwertwerte (leere Symbole) nebeneinander dargestellt. Die leeren Symbole geben dann kleinere Differenzen an als bei ausreichend hohen NBN-Pegeln vermutlich erzielbar gewesen wäre und zeigen auf diese Weise eine Minimalabschätzung der efferenten Modulation der Innenohrmechanik. Abbildung 3.6 veranschaulicht

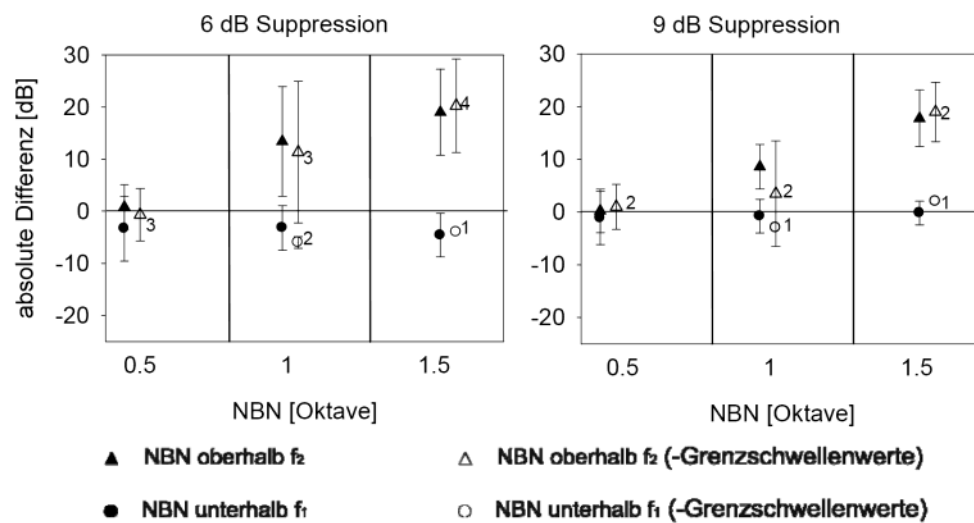


Abbildung 3.6: Charakteristika der efferenten $2f_1$ - f_2 -Suppression in Abhängigkeit der kontralateralen Stimuli bei $f_2 = 20$ kHz ($N = 6$). Die durch Subtraktion der NBN-Schwellenwerte 'NBN oberhalb f_2 ' und 'NBN unterhalb f_1 ' von 'NBN zentriert' gebildeten *absoluten Differenzen* unterscheiden sich deutlich voneinander. Während sich 'NBN unterhalb f_1 ' und 'NBN zentriert' kaum voneinander abheben (MW \pm SD der absoluten Differenzen nahe Null, Kreise), steigt der Einfluss des 'NBN oberhalb f_2 ' mit zunehmender Bandbreite des NBN-Stimulus signifikant (MW \pm SD der absoluten Differenzen liegt bei maximal 19 dB, Dreiecke). Sofern die DPOAE-Suppression weder 6 noch 9 dB (Suppressionskriterien) erreichte, wurde die absolute Differenz mit Grenzwertwerten erhoben (NBN-Pegel bei maximaler CAS). MW der Differenzen ohne Grenzwertwerte sind durch leere Symbole gekennzeichnet, die Zahlen daneben zeigen die verbleibenden Messwerte ohne Grenzwertwerte. Auf diese Weise erfolgt eine Minimalabschätzung der efferenten Effekte.

die Ergebnisse der Auswertung für die Primärtonfrequenz $f_2 = 20$ kHz, Abbildung 3.7 zeigt dies für $f_2 = 40$ kHz und $f_2 = 60$ kHz ist in Abbildung 3.8 dargestellt. Die efferente Suppression wird bei dem Suppressionskriterium 6 dB deutlicher als bei 9 dB. Das könnte daran liegen, dass bei der Auswertung des 6 dB-Kriteriums weniger Grenzwertwerte miteinbezogen werden.

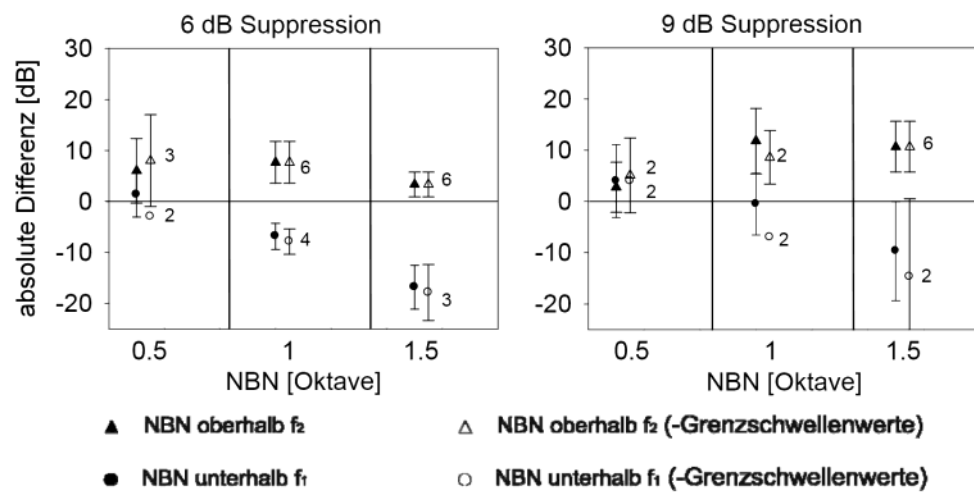


Abbildung 3.7: Charakteristika der efferenten $2f_1$ - f_2 -Suppression in Abhängigkeit der kontralateralen Stimuli bei $f_2 = 40$ kHz ($N = 6$). Die durch Subtraktion der NBN-Schwellenwerte 'NBN oberhalb f_2 ' und 'NBN unterhalb f_1 ' von 'NBN zentriert' gebildeten *absoluten Differenzen* unterscheiden sich erkennbar voneinander. Mit zunehmender Bandbreite des NBN-Stimulus nimmt der suppressierende Einfluss von 'NBN zentriert' gegenüber 'NBN unterhalb f_1 ' stark zu (MW \pm SD der absoluten Differenzen nehmen negative Werte an, Kreise), während der Einfluss des 'NBN oberhalb f_2 ' relativ konstant ist (Dreiecke; MW \pm SD der absoluten Differenzen). Sofern die DPOAE-Suppression weder 6 noch 9 dB (Suppressionskriterien) erreichte, wurde die absolute Differenz mit Grenzwertwerten erhoben (NBN-Pegel bei maximaler CAS). MW der Differenzen ohne Grenzwertwerte sind durch leere Symbole gekennzeichnet, die Zahlen daneben zeigen die verbleibenden Messwerte ohne Grenzwertwerte. Auf diese Weise erfolgt eine Minimalabschätzung der efferenten Effekte.

Ab einer NBN-Bandbreite von 1 Oktave lässt sich bei den Messungen für alle Primärtonfrequenzen f_2 deutlich erkennen, dass 'NBN oberhalb f_2 ' die Verzerrungsamplitude signifikant stärker supprimiert als 'NBN unterhalb f_1 ' und 'NBN zentriert' (Dreiecke, ANOVA Analyse: $p < 0.001$ bei allen Messungen außer $f_2 = 40$ kHz und Suppressionskriterium 9 dB: $p < 0.01$, bezogen auf die Messwerte inkl. Grenzwertwerte). Dabei werden die ipsilateralen DPOAE-Amplituden sogar um bis zu eindrucksvollen 19 dB reduziert ($f_2 = 20$ kHz, 'NBN oberhalb f_2 ', Suppressionskriterium 6 dB, Abbildung 3.6).

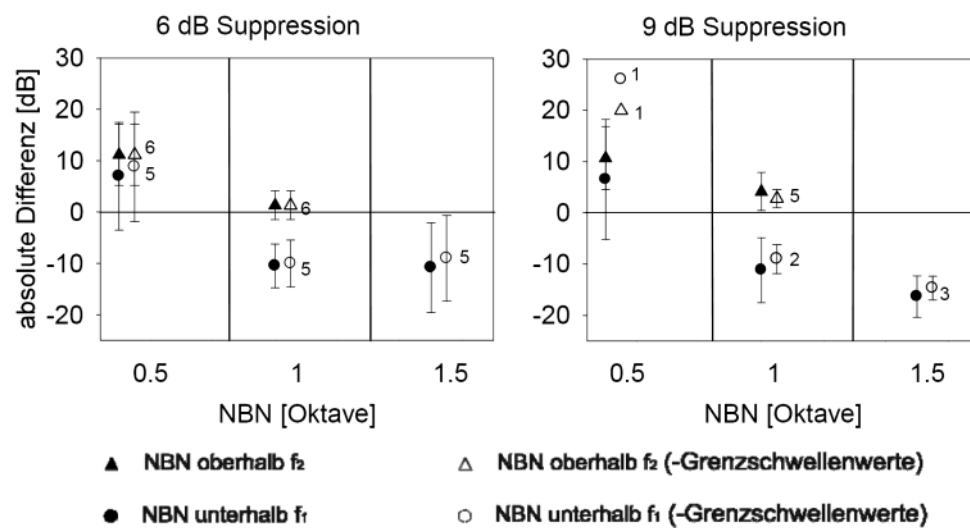


Abbildung 3.8: Charakteristika der efferenten $2f_1$ - f_2 -Suppression in Abhängigkeit der kontralateralen Stimuli bei $f_2 = 60$ kHz ($N = 6$). Die durch Subtraktion der NBN-Schwellenwerte 'NBN oberhalb f_2 ' und 'NBN unterhalb f_1 ' von 'NBN zentriert' gebildeten *absoluten Differenzen* unterscheiden sich erkennbar voneinander und stellen einen ähnlichen Effekt wie in Abbildung dar: mit zunehmender Bandbreite des NBN-Stimulus nimmt der supprimierende Einfluss von 'NBN zentriert' gegenüber 'NBN unterhalb f_1 ' stark zu (MW \pm SD der absoluten Differenzen nehmen negative Werte an, Kreise), während der Einfluss des 'NBN oberhalb f_2 ' vergleichsweise gering bleibt (Dreiecke; MW \pm SD der absoluten Differenzen). Mangels technischer Umsetzung fehlt es hier an Messungen mit dem 1.5 Oktaven breiten 'NBN oberhalb f_2 '. Sofern die DPOAE-Suppression weder 6 noch 9 dB (Suppressionskriterien) erreichte, wurde die absolute Differenz mit Grenzwertwerten erhoben (NBN-Pegel bei maximaler CAS). MW der Differenzen ohne Grenzwertwerte sind durch leere Symbole gekennzeichnet, die Zahlen daneben zeigen die verbleibenden Messwerte ohne Grenzwertwerte. Auf diese Weise erfolgt eine Minimalabschätzung der efferenten Effekte.

Bemerkenswert sind auch die modulierenden Effekte des kontralateralen Stimulus 'NBN zentriert' im Vergleich zu 'NBN unterhalb f_1 ' (Kreise): die Mittelwerte der absoluten Differenzen reichen von fast 0 dB (MW bei $f_2 = 20$ kHz, NBN = 1.5 Oktaven, Suppressionskriterium: 9 dB) bis -17 dB (MW bei $f_2 = 40$ kHz, NBN = 1.5 Oktaven, Suppressionskriterium: 6 dB; mit Ausnahme der Messwerte mit einer NBN-Bandbreite von 0.5 Oktaven). Klare frequenzspezifische Effekte zeigten sich folglich auch hier und veranschaulichen die stark supprimierende Eigenschaft des hochfrequenten efferenten Stimulus 'NBN zentriert' im Vergleich zum tiefergelegenen 'NBN unterhalb f_1 '. In den Messungen mit Primärtonfrequenzen $f_2 = 40$ und 60 kHz (Abbildung 3.7 und 3.8) entsteht der Eindruck, dass die Suppressionsstärke des hochfrequenten efferenten Stimulus 'NBN oberhalb f_2 ' durch die Verminderung der Suppressionskraft tieffrequenter Stimuli realisiert ist. In den Messungen mit der Primärtonfrequenz $f_2 = 20$ kHz (Abbildung 3.6) verhält es sich dagegen so, dass das einflussreichste hochfrequente NBN ('NBN oberhalb f_2 ') dadurch der stärkste Stimulus ist, da es tatsächlich stärker efferent moduliert als tieffrequentere Stimuli ('NBN zentriert' und 'NBN unterhalb f_1 ').

Im Kontrast hierzu stehen die Messdaten, die unter der Ketavet/Rompun Betäubung ermittelt wurden (vgl. Abbildung 3.2). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Einfluss der CAS auf die Cochleamechanik, unabhängig davon, ob die Position des NBN-Stimulus oder die NBN-Bandbreite variiert wurde (ANOVA Analyse: $p > 0.05$). Damit ist die frequenzspezifische Suppression der CAS mit NBN als betäubungsmittelabhängiger Einfluss identifiziert.

3.2 Pegelabhängigkeit der kontralateralen Suppression bei ipsilateraler Messung von I/O-Funktionen

Die Experimente pegelabhängiger Einflüsse der kontralateralen Stimulation auf I/O-Funktionen umfassten Messungen von $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen unter unterschiedlichen Konditionen. Als Kontrollmessungen dienten Wachstumsfunktionen ohne kontralaterale Stimulation. In einem darauf folgenden Schritt wurden diese Messungen unter geänderten Bedingungen wiederholt: durch zusätzliches kontralaterales NBN ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven Breite) sollten die MOC-Fasern stimuliert und damit die Mikromechanik der ipsilateralen Cochlea verändert werden. Besonderes Augenmerk lag auf einer Veränderung der Form und Schwellensensitivität ipsilateraler Wachstumsfunktionen.

Die einzelnen Kurven in Abbildung 3.9 stellen jeweils die erste von fünf wiederholten Messungen der $2f_1$ - f_2 -Verzerrung eines Tieres (A7) dar und zeigen typische Wachstumsfunktionen der $2f_1$ - f_2 -Verzerrung in Abhängigkeit des CAS-Pegels. Dabei hebt sich die Verzerrungsamplitude ab bestimmten Primärtonpegeln (I_2 -Pegel und korrespondierendem I_1 -Pegel = 10 dB > I_2) deutlich sichtbar von dem Hintergrundrauschen (grau, MW aus den abgebildeten Messungen \pm SD) ab und nimmt mit zunehmenden Primärtonpegeln einen ausgeprägten nichtlinearen Verlauf an: sie wachsen zunächst an, bevor die Wachstumsfunktionen bei höheren Pegeln an einem lokalen Minimum (engl. als *notch* bezeichnet) einbrechen, um anschließend erneut anzuwachsen.

Die unterschiedlich farbigen Kurven markieren in der Abbildung die verschiedenen Versuchsbedingungen, unter denen die Wachstumsfunktionen gemessen wurden: von sehr leiser (-10 dB SPL) bis moderater (54 dB SPL) CAS, wobei für steigende CAS-Pegel eine zunehmende Veränderung der Wachstumsfunktionen zu beobachten war. Die in die Kurven eingearbeiteten Zahlen spiegeln die zufällige Reihenfolge der Datenaufnahme wieder und veranschaulichen, dass die zu beobachtenden Veränderungen der Wachstumsfunktionen keinem zeitlichen Muster unterlagen. Unter Berücksichtigung der ungefähren Dauer der jeweiligen Messungen sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass die Zeitspanne zwischen zwei Messpunkten unterschiedlicher Kondition etwa eine Minute betrug.

Abbildung 3.10 und 3.11 zeigen exemplarisch $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen mit korrespondierenden Phasenmessungen von zwei Versuchstieren. Die fünffach wiederholten Einzelmessungen je Versuchsbedingung sind dabei als MW \pm SD der $2f_1$ - f_2 -DPOAE (linke Seite) und ihrer korrespondierenden Phasenlagen (rechte Seite) dargestellt.

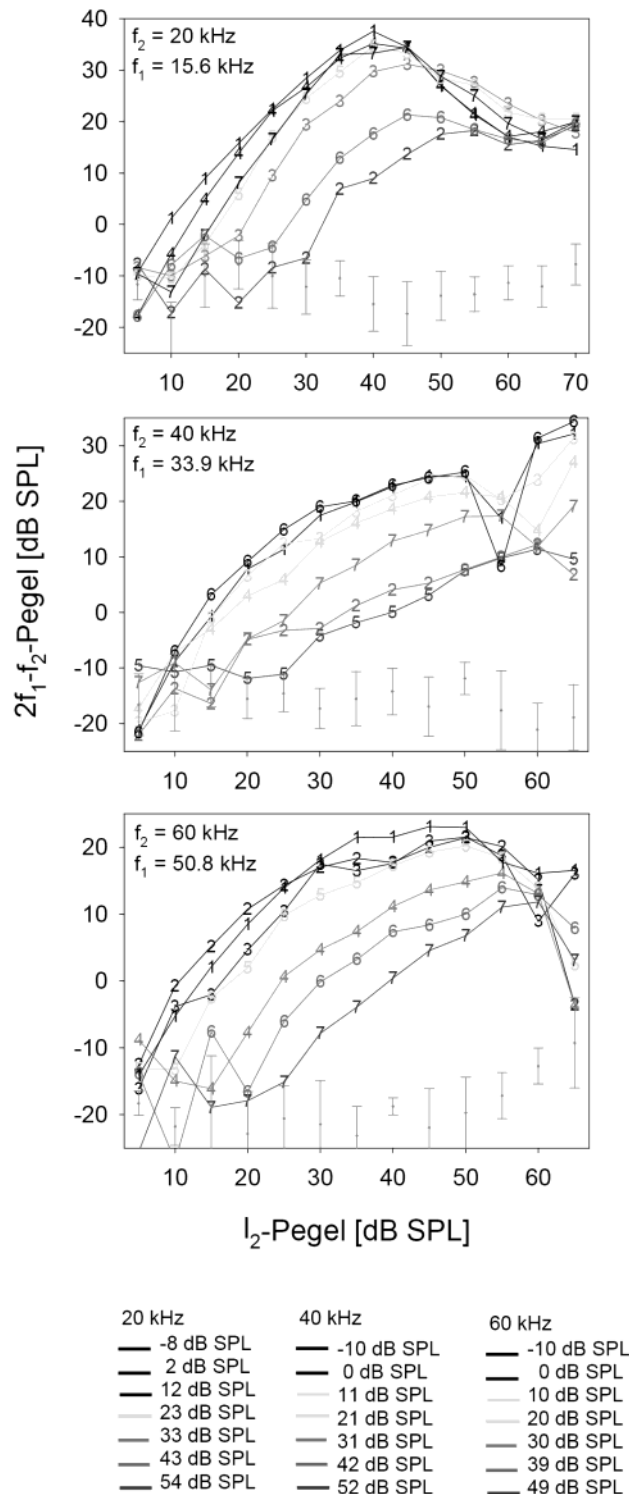


Abbildung 3.9: Die einzelnen Kurven stellen jeweils die erste von fünf wiederholten Messungen der $2f_1-f_2$ -Verzerrung eines Versuchstieres (A7) dar und zeigen typische Wachstumsfunktionen der $2f_1-f_2$ -DPOAE, deren Form sich in Abhängigkeit des CAS-Pegels verändert (unterschiedlich farbige Kurven, siehe Legende). Ab einem bestimmten I_2 -Pegel heben sich die Verzerrungen von dem Hintergrundrauschen (grau, MW aus den abgebildeten Messungen \pm SD) ab und nehmen mit zunehmendem I_2 -Pegel einen ausgeprägt nichtlinearen Verlauf. Die in die Kurven eingearbeiteten Zahlen spiegeln die zufällige Reihenfolge der Datenaufnahme wieder und demonstrieren, dass der zu beobachtende Einfluss auf die Wachstumsfunktion keinem zeitlichen Muster unterlag.

Deutlich ist bei diesen Wachstumsfunktionen der Umstand erkennbar, dass, wie schon die Messungen zur frequenzspezifischen Suppression des vorherigen Abschnitts zeigten, die Darbietung des NBN am kontralateralen Ohr eine Suppression des DPOAE-Pegels bewirkt. Die Stärke des Effekts ist dabei wieder positiv mit dem Pegel des kontralateralen NBN korreliert, und ist am deutlichsten sichtbar bei leisen bis moderaten Primärtonpegeln (siehe Anfangsbereiche der Wachstumsfunktionen). In diesem Bereich müssen die Primärtonpegel während CAS sehr viel lauter dargeboten werden, um überschwellige $2f_1$ - f_2 -DPOAE zu induzieren. Die Form der Wachstumsfunktion verändert sich unter CAS mit NBN ebenfalls: innerhalb des Messfensters entsteht der Eindruck, dass die $2f_1$ - f_2 -Verzerrung die maximale Amplitude der Kontrollmessung nicht erreicht. Eindeutigen Aufschluss über den weiteren Wachstumsfunktionsverlauf könnte allerdings nur eine Messung mit sehr hohen I_2 -Pegeln oberhalb von 70 dB SPL bieten. Um die Tiere nicht zu laut zu beschallen, ist darauf in der vorliegenden Studie verzichtet worden.

Demgegenüber waren die pegelabhängigen Einflüsse auf die Phasenlage der DPOAE weniger deutlich (rechte Seite der Abbildungen 3.10 und 3.11). Zu Beginn einer jeden Wachstumsfunktion und gleichzeitig bei sehr leisen Primärtonpegeln, unterlag die Phase größeren Schwankungen, bis die Primärtonpegel laut genug wurden, um die Verzerrung aus dem Hintergrundrauschen herauszuheben. Je lauter dabei das kontralaterale NBN dargeboten wurde, um so lauter mussten die Stimulustöne zur Evozierung der DPOAE sein. Die Phasen zeigten in Bereichen von moderaten bis lauten Primärtonpegeln gelegentlich auftretende große Phasensprünge von $> 180^\circ$ (wie z. B. in Abbildungen 3.10 und 3.11: mittlerer Graph mit $f_2 = 40$ kHz). Solche Fluktuationen waren vor allem in Bereichen zu beobachten, in denen die Wachstumsfunktionen einbrechen, bevor sie anschließend erneut anwachsen (*Notch*- Bereiche). Tabelle 1 sind die Frequenzen der Primärtöne aller sechs Versuchstiere zu entnehmen, die nach der Methode des besten Frequenzverhältnisses von f_2/f_1 (siehe Abschnitt 2.3) ermittelt und in diesem Versuchteil verwendet wurden.

Legende für Abbildung 3.10 und 3.11 der nächsten beiden Seiten:

20 kHz	40 kHz	60 kHz
— -8 dB SPL	— -10 dB SPL	— -10 dB SPL
— 2 dB SPL	— 0 dB SPL	— 0 dB SPL
— 12 dB SPL	— 11 dB SPL	— 10 dB SPL
— 23 dB SPL	— 21 dB SPL	— 20 dB SPL
— 33 dB SPL	— 31 dB SPL	— 30 dB SPL
— 43 dB SPL	— 42 dB SPL	— 39 dB SPL
— 54 dB SPL	— 52 dB SPL	— 49 dB SPL

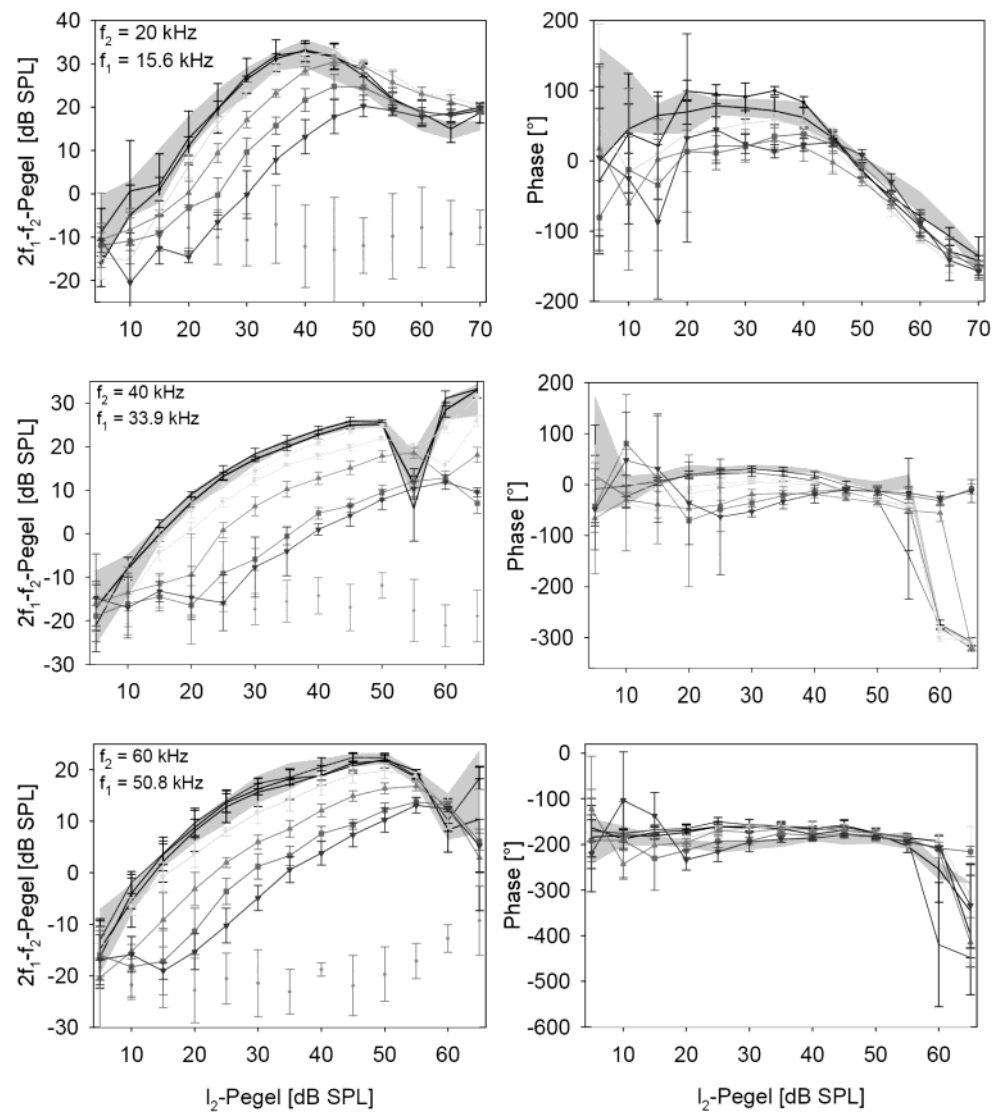


Abbildung 3.10: Beispiel für den Einfluss des kontralateralen NBN auf $2f_1-f_2$ -Wachstumsfunktionen mit korrespondierenden Phasenverläufen bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz eines Tieres (A7). Ohne kontralaterales NBN sind die Wachstumsfunktionen nach Austritt aus dem Hintergrundrauschen (graue Fehlerbalken) geringen Schwankungen ausgesetzt (grauer Bereich entspricht fünf Kontrollmessungen ohne CAS). Bei leisem NBN ist kein Einfluss auf den $2f_1-f_2$ -Pegel zu beobachten (schwarze Kurven), hingegen ändert sich die Kurvenform stark bei lauterem NBN (farbige Kurven) vor allem im leisen bis moderaten I_2 -Bereich. Der korrespondierende Phasenverlauf dagegen zeigt keine einheitlichen Veränderungen (alle Angaben: MW \pm SD, n = 5).

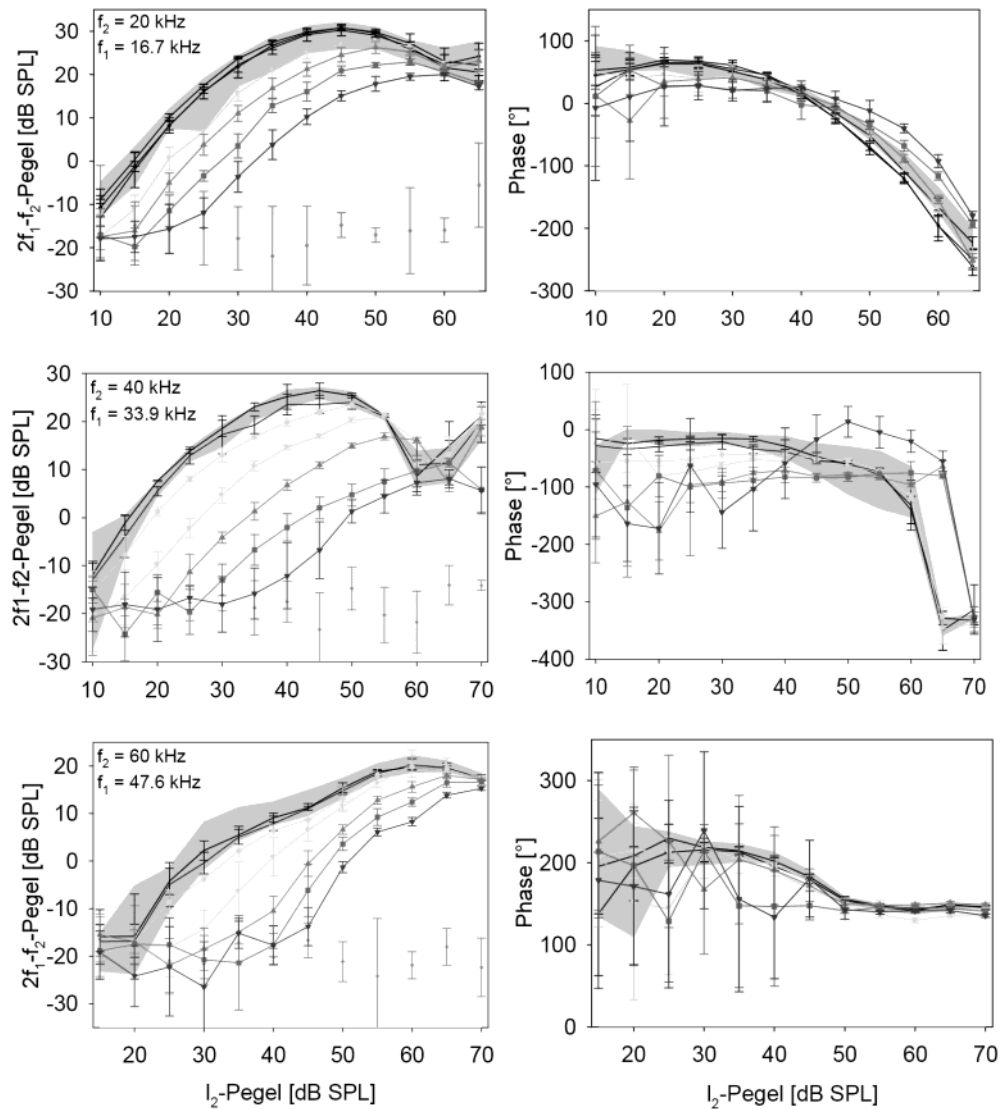


Abbildung 3.11: Weiteres Beispiel für den Einfluss des kontralateralen NBN auf die $2f_1-f_2$ -Wachstumsfunktionen mit korrespondierenden Phasenverläufen bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz eines Tieres (A13). Kontralaterale akustische Stimulation führt, wie auch bei dem vorherigen Tier, zu deutlichen Veränderungen des DPOAE-Kurvenverlaufs, vor allem im leisen bis moderaten Bereich der Wachstumsfunktionen.

Die Quantifizierung der pegelabhängigen Suppression des $2f_1$ - f_2 -Pegels erfolgte mit Hilfe der Berechnung von Varianzen durch die Methode der kleinsten Quadrate (engl.: least square mean, LSM, Abbildung 3.12). Im Vergleich zu der Kontrollmessung ohne kontralaterale Stimulation bewirkt das NBN bereits ab einem Pegel von 20 dB SPL (bzw. 21 und 23 dB SPL) bei $f_2 = 60$ kHz (bzw. 40 und 20 kHz) eine hochgradig signifikante Suppression der DPOAE-Amplitude (ANOVA Analyse mit Tukey HSD Nachfolgetest, $p < 0.0001$). Dies bedeutet, dass das kontralaterale NBN mit solch geringen Amplituden bereits messbar die zur Verfügung stehende mechanische Energie zur DPOAE-Entstehung reduziert. Die $2f_1$ - f_2 -Amplitude wird dabei im Mittel um 3.1 dB bei $f_2 = 20$ kHz (bzw. 6 und 5.2 dB bei $f_2 = 40$ und 60 kHz) supprimiert. Die maximale Suppression wird bei der größten NBN-Amplitude erzielt: im Vergleich zur Kontrollmessung ohne NBN verringert sich der Verzerrungspegel um 13.6 dB bei $f_2 = 20$ kHz (bzw. 16.9 und 13.8 dB bei $f_2 = 40$ und 60 kHz).

Tabelle 1: Primärtonparameter für die Messung von Wachstumsfunktionen bei sechs Versuchstieren. Die Pegelabhängigkeit der CAS mit NBN wurde bei drei verschiedenen Primärtonfrequenzen f_2 (20, 40, 60 kHz) und den korrespondierenden Primärtonfrequenzen f_1 ermittelt, deren Generierung in Abschnitt 2.3 erläutert ist. Alle Angaben in kHz.

Tier Nr.	f_2	f_1	f_2	f_1	f_2	f_1
A7	20	15.6	40	33.9	60	50.8
A9	20	16.9	40	37.1	60	54.6
A10	20	16.1	40	35.7	60	53.6
A12	20	16,4	40	33.9	60	54.6
A13	20	16,7	40	33.9	60	47.6
A15	20	16.7	40	37.1	60	47.6

In einem weiteren Auswertungsschritt wurden die Schwellenwerte der Wachstumsfunktionen bei den Schwellenkriterien -10 und 0 dB SPL ermittelt und miteinander verglichen (Abbildung 3.13). Erwartungsgemäß fanden sich deutliche Unterschiede in den Schwellenwerten in Abhängigkeit des NBN-Pegels wieder: generell steigen die Schwellenwerte bei zunehmendem NBN-Pegel stark an. Hoch signifikante Unterschiede in den Schwellenwerten bei kontralateraler Suppression im Vergleich zu der Kontrolle (K, ohne NBN) zeigten sich bei $f_2 = 20$ kHz bereits ab einer NBN-Amplitude von 12 dB SPL. Bei $f_2 = 40$ kHz zeigen sich signifikante Schwellenwerterhöhungen ab einem NBN-Pegel von 21 dB SPL für beide Schwellenkriterien, bei $f_2 = 60$ kHz ab 20 dB SPL für beide Kriterien (ANOVA Analyse mit Tukey HSD Test, $p < 0.0001$, $N = 6$ mit je fünf Wiederholungen). Die Anhebung der Schwellenwerte impliziert, dass bei einem NBN-Pegel von 54 dB SPL ($f_2 = 20$ kHz) bzw. 52 dB SPL ($f_2 = 40$ kHz) und 49 dB SPL ($f_2 = 60$ kHz) der I_2 -Pegel um 17 dB ($f_2 = 20$ kHz) bzw. 28 dB ($f_2 = 40$ kHz) und 20 dB ($f_2 = 60$ kHz) angehoben werden muss, um eine DPOAE-Amplitude von 0 dB SPL zu induzieren.

Als zusätzliche Beschreibung des durch CAS induzierten Effekts wurden die gemessenen Wachstumsfunktionen auf ihre Flankensteilheit hin untersucht. Dazu wurde bei allen sechs Versuchstieren die Kurvensteigung zwischen beiden Schwellenkriterien -10 und 0 dB SPL interpoliert (jeweils $N = 5$ Messungen pro Tier) und gemittelt. Abbildung 3.14 zeigt die Ergebnisse der Auswertung für die Stimulusfrequenzen $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz. Im Mittel liegt die Steigung in dem untersuchten Bereich der Wachstumsfunktionen der $2f_1$ - f_2 -Verzerrung zwischen 1.12 und 2.15. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kontroll- und CAS-Messungen konnten in Abhängigkeit des NBN-Pegels jedoch nicht ermittelt werden (ANOVA Analyse: $p > 0.05$).

Um die Variabilität der Ergebnisse zur pegelabhängigen CAS von Wachstumsfunktionen einschätzen zu können, wurden die Kurvenverläufe der einzelnen Versuchstiere untersucht. Erwartungsgemäß üben die individuellen Verläufe der Wachstumsfunktionen der sechs Fledermäuse ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf den Schwellenwert aus. Diese Dreifachinteraktion (LSM I_2 -Pegel bei Schwellenkriterium \times NBN-Pegel \times Versuchstier) erreichte bei allen getesteten Primärtonfrequenzen ($f_2 = 20, 40, 60$ kHz) und unabhängig des untersuchten Schwellenkriteriums (-10 und 0 dB SPL) statistische Signifikanz (ANOVA-Analyse: $p < 0.0001$) und ist beispielhaft anhand des Primärtons $f_2 = 20$ kHz in Abbildung 3.15 für sechs Versuchstiere dargestellt.

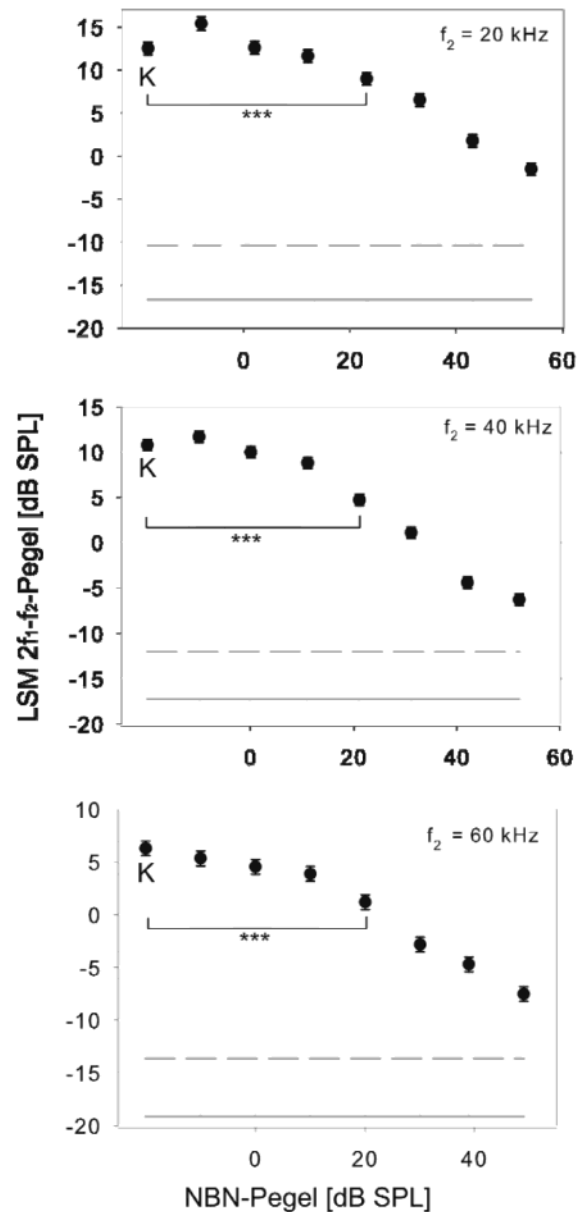


Abbildung 3.12: Einfluss des NBN auf den $2f_1 - f_2$ -Pegel bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz (oben, Mitte, unten) im Vergleich zur Kontrolle K (ohne CAS). Der $2f_1 - f_2$ -Pegel wird unmittelbar von dem NBN-Pegel (1.5 Oktaven bzw. 1 Oktave bei $f_2 = 60$ kHz, 'NBN oberhalb f_2 ') beeinflusst: je größer der NBN-Pegel, desto stärker die Suppression der Verzerrung (***: NBN-Pegel ab 23, 21 und 20 dB SPL bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz; $p < 0.0001$, ANOVA, Tukey HSD). Dargestellt sind least square means (LSM) des $2f_1 - f_2$ -Pegels \pm SF ($N = 6$). Das Hintergrundrauschen lag im Mittel (MW + obere SD) unter -10 dB SPL.

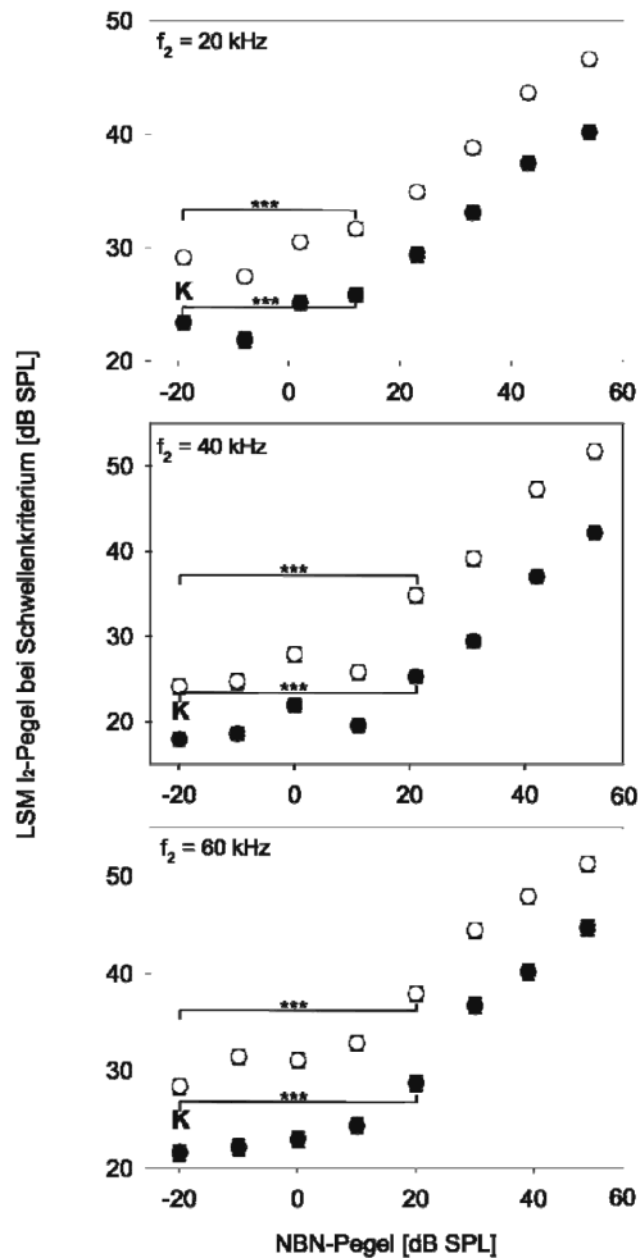


Abbildung 3.13: Schwellenwerte für den Pegel I_2 bei den Schwellenkriterien -10 (ausgefüllte Kreise) und 0 dB SPL (nicht ausgefüllte Kreise) in Abhängigkeit von CAS mit NBN (1.5 Oktaven bzw. 1 Oktave bei $f_2=60$ kHz, 'NBN oberhalb f_2 ') bei $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz (oben, Mitte, unten). Je größer der NBN-Pegel, desto lauter müssen die Primärtöne sein, um die Schwellenkriterien zu erreichen (***= NBN-Pegel von 12, 21 und 20 dB SPL für $f_2 = 20, 40$ und 60 kHz, $p < 0.0001$, ANOVA, Tukey HSD; Kontrolle K ohne CAS). Dargestellt sind least square means (LSM) des I_2 -Pegels \pm SF ($N = 6$).

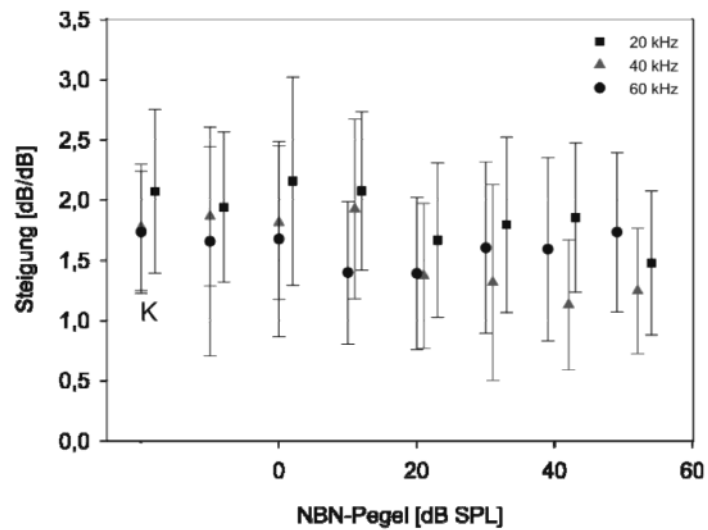


Abbildung 3.14: Vergleich der Steigung von $2f_1$ - f_2 -Wachstumsfunktionen unter Kontrollbedingungen K (ohne CAS) und mit CAS mit NBN ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven bzw. 1 Oktave bei $f_2=60$ kHz) unterschiedlicher Amplitude. Die zwischen den beiden Schwellenkriterien -10 und 0 dB SPL errechnete Steigung ist gemittelt angegeben (MW \pm SD). Die zugrunde liegenden Wachstumsfunktionen wurden von sechs Fledermäusen (jeweils N = 5) gewonnen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Kontroll- und CAS-Messungen bestehen nicht (ANOVA Analyse: $p > 0.05$).

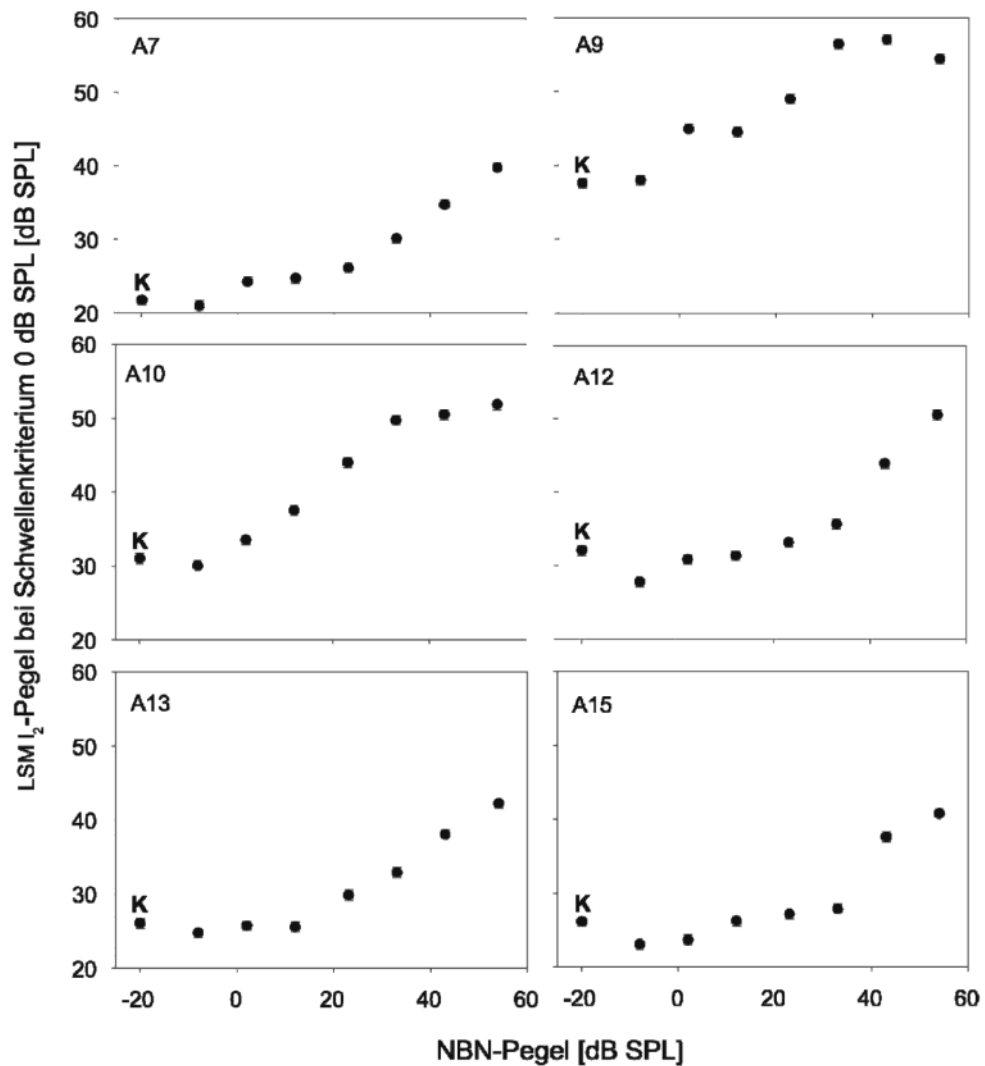


Abbildung 3.15: Die Wachstumsfunktionen der sechs Fledermäuse weisen individuelle Charakteristika auf, wie man an dem beispielhaften Vergleich der dargestellten I_2 -Schwellenpegel erkennen kann (statistisch hochsignifikant, ANOVA Analyse: $p < 0.0001$). Die I_2 -Pegel zeigen an, wie laut die Primärtöne sein müssen (bei $f_2 = 20$ kHz), um eine $2f_1$ - f_2 -DPOAE der Amplitude von 0 dB SPL (= Schwellenkriterium) zu evozieren bei gleichzeitiger CAS unterschiedlicher Amplitude (hier: 'NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven Breite, Kontrolle K ohne CAS). Dargestellt sind least square means (LSM) \pm SF der I_2 -Pegel ($N = 5$).

Im Vergleich zu den oben beschriebenen Messungen zur Pegelabhängigkeit der CAS ließ sich unter der Ketavet/Rompun-Betäubung eines Versuchstieres (A 10) kein Einfluss des CAS feststellen. Wie Abbildung 3.16 zeigt, wurden die exemplarischen Messungen der I/O-Funktionen unter Betäubung weder in ihrer Form, noch in ihrer Amplitude verändert. Stattdessen bleibt über die gesamte I/O-Funktion der $2f_1-f_2$ -Pegel fast unverändert, obwohl die NBN-Pegel von -10 dB SPL auf fast 50 dB SPL angehoben wurden. Unter Betäubung ist folglich auch der pegelabhängige Einfluss der CAS auf I/O-Funktionen nicht vorhanden.

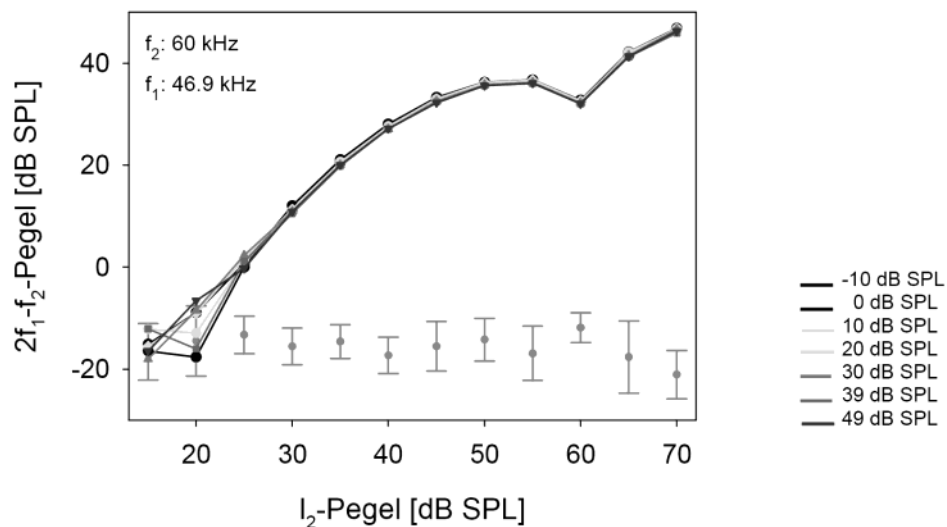


Abbildung 3.16: Individuelle Messung von sieben $2f_1-f_2$ -Wachstumsfunktionen eines Versuchstieres mit kombinierter CAS unterschiedlicher Amplituden während Ketavet/Rompun-Betäubung. Im Gegensatz zu Messungen an wachen Versuchstieren erzielte das NBN (1 Oktaven Breite) trotz verschieden hoher Pegel keine kontralaterale Suppression der $2f_1-f_2$ -DPOAE. Die Wachstumsfunktionen wurden unter Betäubung weder in ihrer Form noch in ihrer Amplitude verändert, sobald sie bei ca. 20 dB SPL (f_2 -Pegel) aus dem Hintergrundrauschen heraustreten (grau: MW \pm SD). Vergleichend hierzu Abbildungen 3.10 und 3.11.

3.3 Messung von Suppressions-Abstimmkurven in Kombination mit CAS

Da die Auflösung unterschiedlicher Schallfrequenz beim Hören eine zentrale Rolle spielt, wurde der Einfluss des MOC auf die aktive mechanische Frequenzanalyseleistung des Innenohrs mit Hilfe von Messungen sogenannter Suppressions-Abstimmkurven (STC) untersucht. Die durch aktive Verstärkermechanismen evozierten DPOAE wurden dabei durch einen weiteren ipsilateralen Ton, den Maskierer mit der Frequenz f_3 , in ihrer Amplitude vermindert. Den stärksten Einfluss hat f_3 in einem Frequenzbereich nahe der Stimulusfrequenz f_2 . Durch zusätzliche kontralaterale Stimulation mit Bandpassrauschen während der STC-Messung soll untersucht werden, ob die olivo-cochleären Efferenzen die mechanische Frequenzabstimmung beeinflussen können.

Um die Charakteristika eines typischen Messverlaufs der $2f_1$ - f_2 -Verzerrung während gleichzeitiger ipsilateraler Maskierung mit der f_3 -Maskierfrequenz und CAS zu verdeutlichen, sind Beispielmessungen eines Versuchstieres in Abbildung 3.17 dargestellt ($f_2 = 50$ kHz). Das Versuchsparadigma sieht drei aufeinander folgende DPOAE-Messungen vor: eine Kontrollmessung mit ipsilateralem f_3 -Maskierer, gefolgt von einer Wiederholung mit CAS ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven, 20 dB SPL) und anschließend einer erneuten Kontrollmessung (mit ipsilateralem f_3 -Maskierer aber ohne CAS). In der Kontrollmessung liegt der ermittelte Verzerrungspegel auf einem bestimmten konstanten Niveau (Stern, ca. 24 dB SPL). Leichte Schwankungen des DPOAE-Pegels sind durch Bewegungen des Tiers verursacht. Ab einem bestimmten f_3 -Maskiererpegel, der in 2.5 dB Schritten (zufallsverteilt angeboten) erhöht wurde, kommt es zu einer Reduktion des DPOAE-Pegels (Kreise). f_3 -Maskierfrequenzen nahe der Primärtonfrequenzen f_1 und f_2 (50 und 39.7 kHz) üben dabei einen stärkeren Einfluss auf den Emissionspegel aus ($f_3 = 46.7$ kHz, Graph unten) als solche die weiter entfernt liegen ($f_3 = 35.4$ kHz, Graph oben). Sobald gleichzeitig kontralateral mit einem NBN stimuliert wird ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven, 20 dB SPL) wird die Messung stark beeinflusst: der Emissionspegel sinkt deutlich um bis zu 15 dB (Dreiecke). Dieser Effekt ist reversibel, d. h. der ursprüngliche DPOAE-Pegel stellt sich nach dem Ausschalten des kontralateralen Rauschstimulus wieder ein (siehe Kontrolle 1 und 2).

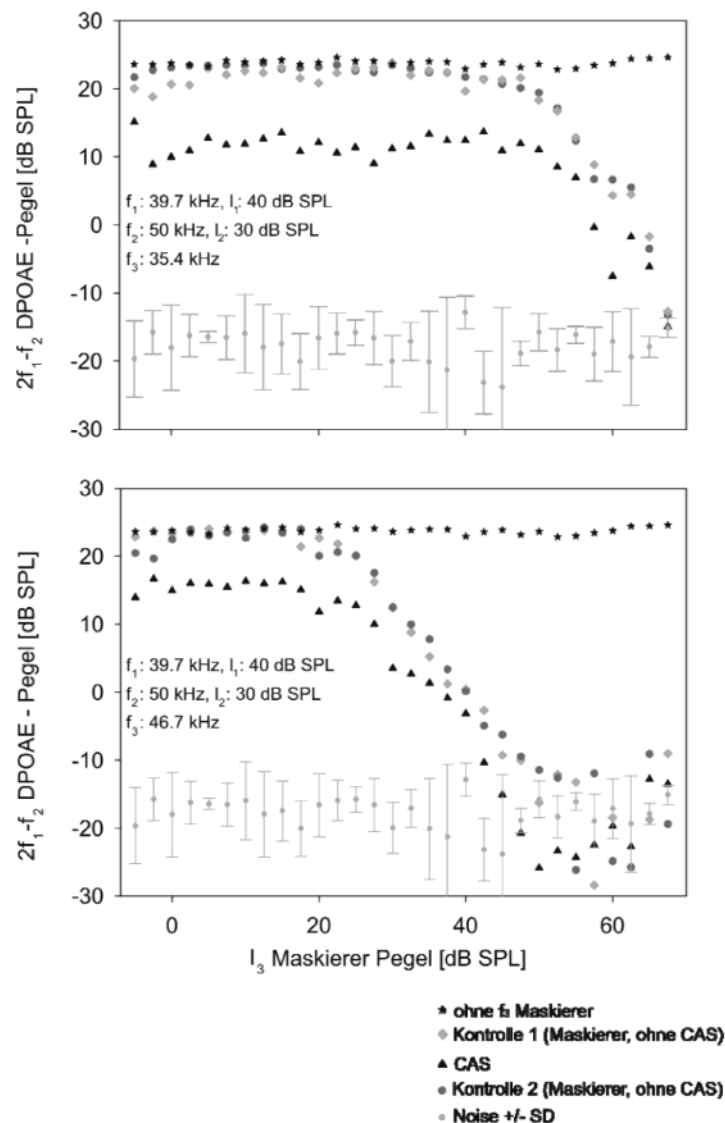


Abbildung 3.17: Suppression der $2f_1-f_2$ -DPOAE bei gleichzeitiger ipsilateraler Maskierung durch den Maskierer der Frequenz f_3 (oben). Die Verzerrung wird mit fixierten Primärtonfrequenzen und -pegeln evoziert und ist in Abwesenheit des maskierenden f_3 -Stimulus konstant (Stern). Wird zusätzlich mit einem dritten Ton f_3 ipsilateral maskiert, so wird ihre Amplitude mit zunehmendem I_3 -Maskiererpegel supprimiert (Raute: Kontrollmessung vor CAS, Kreis: Kontrollmessung nach CAS), bis die Verzerrung nicht mehr von dem Hintergrundrauschen zu unterscheiden ist. Der Einfluss des Maskierers hängt von seiner Frequenz relativ zu den Primärtonfrequenzen ab: liegt er weit von ihnen entfernt, ist sein Einfluss geringer und es werden höhere I_3 -Maskiererpegel benötigt, um die Verzerrung zu supprimieren (oberer Graph). Im Vergleich dazu supprimiert ein nahe den Primärtönen gelegener f_3 -Maskierer bereits bei deutlich geringeren Pegeln (unterer Graph). Bei gleichzeitiger CAS ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven Breite, 20 dB SPL) wird der gesamte Kurvenverlauf nach unten verschoben (Dreieck).

Zur Quantifizierung des Einflusses kontralateraler akustischer Stimulation auf die f_3 -Maskierung der otoakustischen Emission fand die bereits im vorherigen Abschnitt eingeführte Auswertung der beiden Suppressionskriterien Anwendung. Die Suppressions-Abstimmkurven ergaben sich dann aus den I_3 -Werten, bei denen die Emission um 6 bzw. 9 dB vermindert war und die sich stark in Abhängigkeit der f_3 -Frequenz voneinander unterschieden.

Entsprechende Suppressions-Abstimmkurven sind exemplarisch für sechs unterschiedliche Versuchstiere in Abbildung 3.18 dargestellt ($f_2 = 50$ kHz). Wie die Kurven zeigen, liegt die beste Frequenz (BF), d. h. diejenige f_3 -Frequenz, welche bei niedrigstem Pegel bereits eine maskierende Wirkung zeigt, nahe der Stimulusfrequenz f_2 . Ausgehend von der BF steigt die STC zu beiden Seiten steil an, da der supprimierende Einfluss des f_3 -Maskierers auf die Entstehung der $2f_1$ - f_2 -Verzerrung mit größerem Abstand zu der f_2 -Primärtonfrequenz abnimmt. Um den Einfluss der kontralateral applizierten Rauschstimuli auf die Trennschärfteeigenschaft der ipsilateralen Cochlea zu beschreiben, wurden im Folgenden verschiedene Kenngrößen miteinander verglichen.

Zunächst wurden die BF der STC miteinander verglichen, jedoch wurde bei keiner der untersuchten, ipsilateralen Stimulusfrequenzen ($f_2 = 20, 30, 40, 50$ und 60 kHz) ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontroll- und der CAS-Messung ermittelt (ANOVA-Analyse: $p > 0.05$). Auch unabhängig von dem betrachteten Schwellenkriterium -6 und -9 dB war die Varianz innerhalb der Kontrollmessungen größer als die Effekte der CAS auf die BF. Dasselbe galt für den f_3 -Maskiererpegel an der BF: auch hier ließ sich kein signifikanter Einfluss des kontralateralen Rauschstimulus auf die ipsilaterale STC finden (ANOVA-Analyse: $p > 0.05$). Ebenso waren die ermittelten Q_{5dB} - und Q_{10dB} -Werte, die jeweiligen Bandweiten (BW Q_{5dB} , BW Q_{10dB}) und die entsprechenden Schnittpunktfrequenzen ($F_{\text{tieff}_{5dB}}$, $F_{\text{hoch}_{5dB}}$, $F_{\text{tieff}_{10dB}}$, $F_{\text{hoch}_{10dB}}$) keinem messbaren Einfluss durch CAS ausgesetzt (ANOVA-Analyse: $p > 0.05$).

Trotz der mangelnden Signifikanz soll am Beispiel des Primärtonstimulus $f_2 = 50$ kHz auf eine Tendenz bei den STC-Messungen hingewiesen werden. Abbildung 3.19 zeigt die Auswertung der untersuchten Parameter zur Beschreibung der STC (MW \pm SD aus sechs Versuchstieren). Dabei entsteht der Eindruck, dass sich die STC durch kontralaterales Applizieren des Rauschstimulus ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven, 20 dB SPL) in ihrer Form verändert. Die BF wird nach CAS im Mittel um 1.3 kHz erhöht, während sich der I_3 -Maskiererpegel bei der BF im Durchschnitt um 2.1 dB verringert. Die Bandweite der STC verringerte

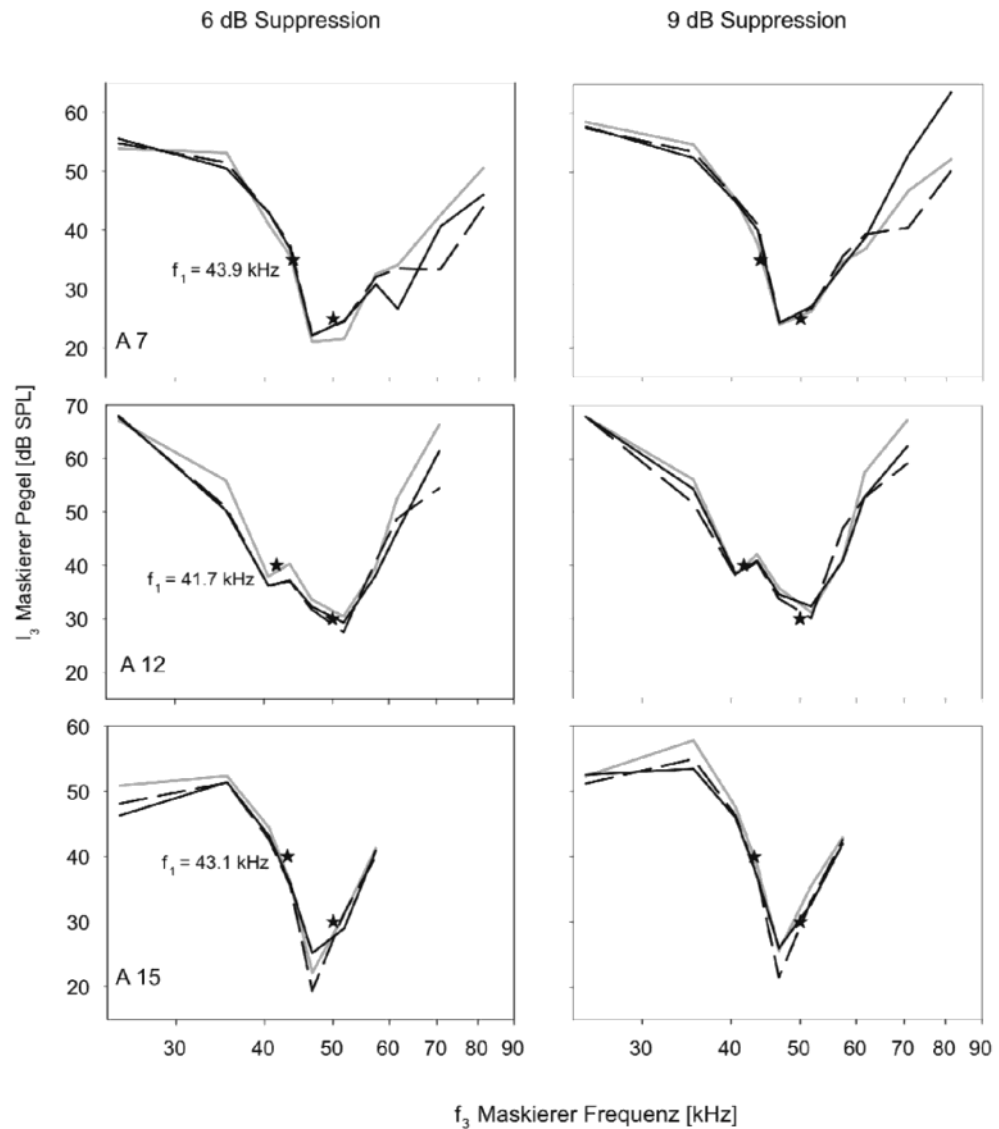


Abbildung 3.18: Vergleich der ipsilateralen f_3 -Maskierung vor, während und nach kontralateraler akustischer Stimulation mit einem Rauschstimulus ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven, 20 dB SPL). Die STC der $2f_1$ - f_2 -Emission ($f_2 = 50$ kHz mit korrespondierender f_1 -Stimulusfrequenz, als Sterne in den Graphen) veranschaulichen die Trennschärfteeigenschaft des Innenohres, indem die verschiedenen f_3 -Maskiererfrequenzen unterschiedlichen Einfluss auf die DPOAE-Entstehung ausüben. Auf die erste Kontrollmessung ohne CAS (schwarze, durchgezogene Linie) folgt zuerst die Messung mit CAS (graue Linie) und anschließend eine wiederholte Kontrollmessung ohne CAS (schwarze, gestrichelte Linie). Den typischen Verlauf einer STC kennzeichnen sowohl ein besonders sensibler Bereich nahe der f_2 -Stimulusfrequenz als auch die zu beiden Seiten hin steil ansteigenden Flanken. Die ermittelten STC zeigen, unabhängig der Suppressionskriterien 6 oder 9 dB (linke und rechte Spalte), keinen klaren Einfluss der CAS auf die Form der STC. Dargestellt sind die Messungen dreier Versuchstiere (A13 oben, A9 Mitte, A12 unten).

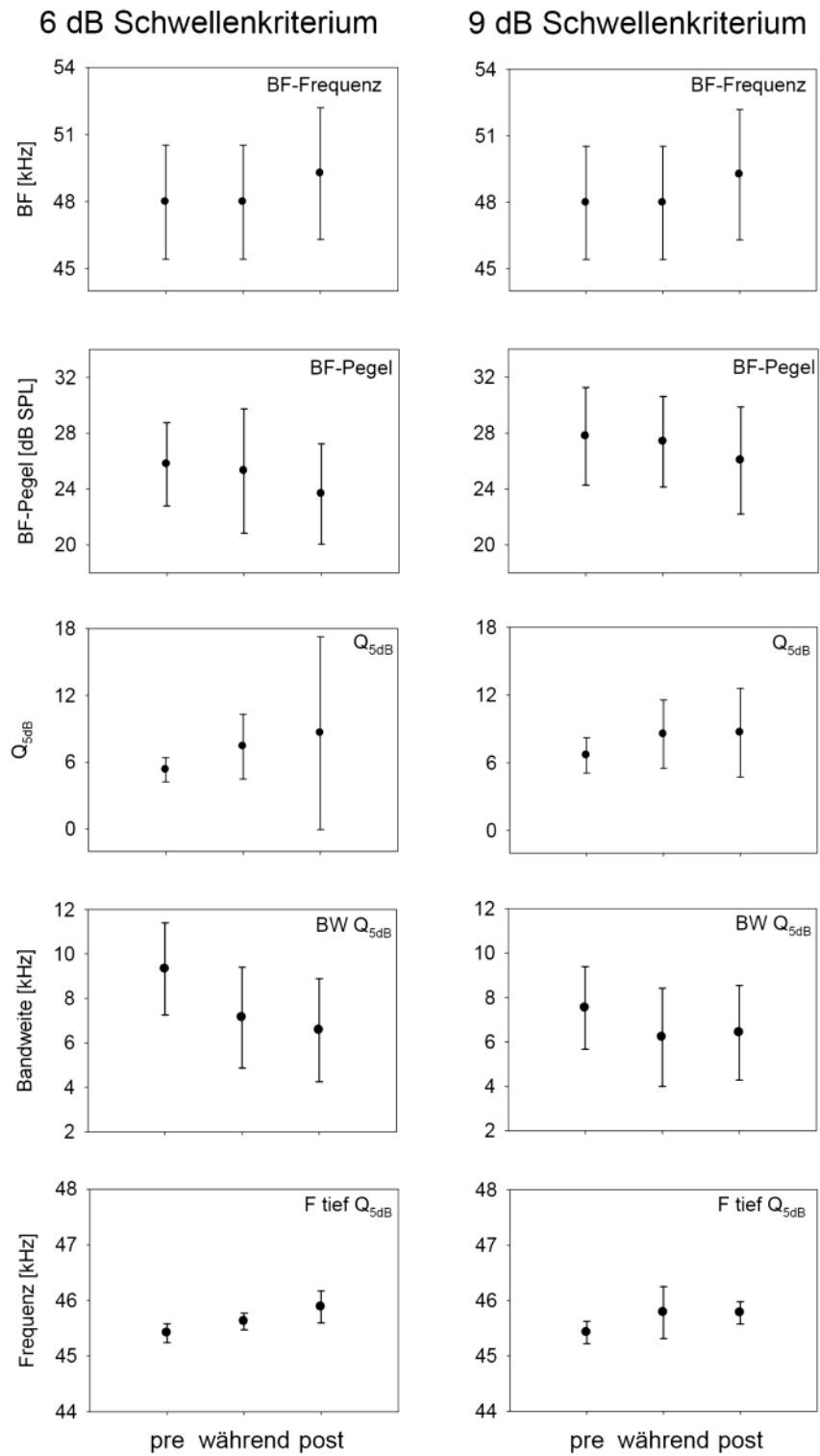
sich durchschnittlich um 2.8 kHz (5 dB oberhalb der BF) und 5.4 kHz (10 dB oberhalb der BF). Die tieffrequenten Schnittpunkte in den STC 5 und 10 dB oberhalb der BF erhöhen sich im Mittel um 0.4 dB bzw. 0.5 dB. Die hochfrequenten Schnittpunkte dagegen werden um 1.3 bzw. 5 dB erniedrigt (5 bzw. 10 dB oberhalb der BF, alle Angaben sind den Ergebnissen des Schwellenkriteriums -6 dB entnommen).

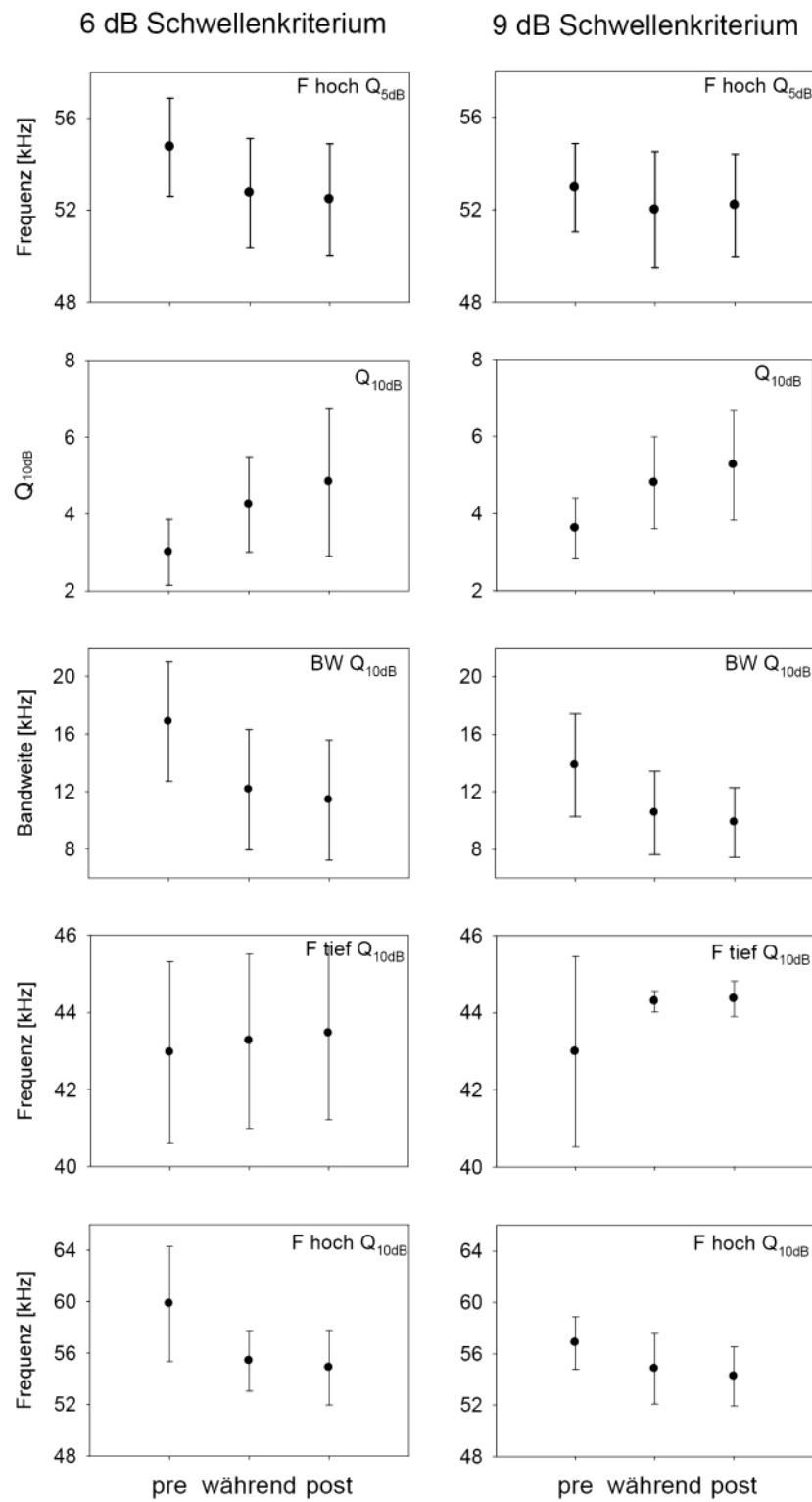
Zusammenfassend lässt sich eine Tendenz der STC-Veränderung beschreiben, die möglicherweise durch kontralaterale akustische Stimulation initiiert wird. Dabei scheint die STC durch CAS eine Verengung zu erfahren, da sowohl die tief- als auch die hochfrequenten Flanken in ihrer Steilheit verändert wird, was sich in dem Verkleinern der Bandweiten manifestiert.

Offenbar werden außerdem die gesamten STC unter CAS hin zu höherfrequenten Bereichen verschoben, da sich eine Verschiebung der BF hin zu höheren Frequenzen abzeichnet. Allem Anschein nach werden dabei außerdem die gesamten STC nach unten verschoben, was durch eine Verminderung des BF-Pegels angedeutet wird. Die Konsequenz an dieser Stelle müsste lauten, dass kontralaterale akustische Stimulation mit einem Schmalbandrauschen womöglich das Potential hat, die Frequenzabstimmung der ipsilateralen Cochlea beeinflussen zu können.

Auf den nächsten zwei Seiten:

Abbildung 3.19: Parameter der Frequenzabstimmung von STC vor (pre), während und nach (post) kontralateraler akustischer Stimulation mit einem Rauschstimulus ('NBN oberhalb f_2 ', 1.5 Oktaven, 20 dB SPL) bei der Primärtonfrequenz $f_2 = 50$ kHz. Unabhängig des Schwellenkriteriums (6 und 9 dB) lassen sich Tendenzen erkennen, in welcher Weise CAS die Frequenzabstimmung innerhalb der Cochlea beeinflusst. Während sich die BF (beste Frequenz) erhöht, verringert sich der Pegel bei der BF. Die zu beiden Seiten der STC ansteigenden hoch- und tieffrequenten Flanken werden steiler, wie die Verkleinerung der BW (Bandweiten 5 bzw. 10 dB oberhalb der BF) und die Schnittpunkte in der STC 5 bzw. 10 dB oberhalb der BF zeigen. Die Veränderungen sind jedoch statistisch nicht signifikant (ANOVA-Analyse: $p > 0.05$). Dargestellt sind MW \pm SD von sechs Tieren.





4. Diskussion

4.1 Methodische Betrachtungen zur Messung ipsilateraler DPOAE bei simultaner CAS

Die DPOAE-Messungen an *C. perspicillata* unter kontralateraler akustischer Stimulation hatten zum Ziel, den Einfluss des medialen olivo-cochleären Systems auf die Innenohrcharakteristik zu untersuchen. Die akustische Stimulation der kontralateralen Cochlea mit Rauschstimuli, eine für die Untersuchung des olivo-cochleären Systems gängige Methode, bewirkte in den Versuchen zuverlässig eine Änderung des $2f_1$ - f_2 -Pegels der ipsilateralen Cochlea. Dabei konnte eine Verringerung, in keinem Fall aber eine Erhöhung der DPOAE-Amplitude beobachtet werden. Diese Effekte waren über die Zeit stabil und reproduzierbar.

4.1.1 Artefakt durch Übersprechen

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe der Messung otoakustischer Emissionen bei gleichzeitiger kontralateraler akustischer Stimulation der Einfluss des efferenten Systems von Fledermäusen untersucht. Die hier verwendete und bereits in der Hörforschung etablierte Versuchsanordnung zur Stimulierung der MOC-Fasern (eine Übersicht hierzu findet sich bei Guinan 2006) setzt dabei voraus, dass die ipsilaterale Cochlea zur Erzeugung der DPOAE mit zwei Reintönen beschallt wird. Die Stimulierung der kontralateralen Cochlea dient hingegen zur Erregung der kontralateralen auditorischen Nervenfasern, die ihrerseits vom kontralateralen CN heraufziehend die Mittellinie kreuzen und Synapsen mit Neuronen des Superioren Olivenkomplexes bilden. Deren Axone ziehen weiter die Hörbahn hinab zu der ipsilateralen Cochlea (siehe Abbildung 1.4), wo sie durch direkten Kontakt mit den Somata der OHC die cochleäre Mikromechanik beeinflussen und schließlich zu Veränderungen der DPOAE-Amplitude führen können.

Bei der akustischen Stimulierung des efferenten Systems muss zunächst abgeschätzt werden, ob ein direktes Übersprechen des kontralateralen Signals auf die ipsilaterale Cochlea stark genug ist, die ermittelten Effekte zu verursachen bzw. zu ihrer Entstehung beizutragen. Übersprechen entsteht, sobald der kontralaterale Schallstimulus über andere Wege als die oben beschriebenen Nervenbahnen die ipsilaterale Cochlea beeinflussen kann. Wenn er beispiels-

weise direkt an das ipsilaterale Ohr gelangt, stellt er ein zusätzliches Schallsignal dar, welches selbst in der Lage ist, die ipsilaterale cochleäre Mikromechanik zu beeinflussen. In Konsequenz dessen wäre in Versuchen nicht mit Sicherheit bestimmbar, welche Veränderungen des DPOAE-Pegels durch das Übersprechen und welche tatsächlich durch Aktivierung der MOC-Fasern entstünden.

Generell lassen sich hier zwei in Frage kommende Ursachen für das Übersprechen diskutieren: 1. Übertragung von Schallschwingungen des Tierkörpers auf das periphere Hörorgan, auch bekannt unter dem Begriff Gewebeschallleitung und 2. Übertragung von Schallschwingungen durch Luft. Voraussetzung für letztere ist ein akustisch nicht abgeschlossenes Stimulationssystem am kontralateralen Ohr. Kontralateral applizierter Schall könnte dann über Schallbeugung um den Kopf des Versuchstieres an das ipsilaterale Ohr gelangen. Tiefe Frequenzen spielen im Vergleich zu hohen Frequenzen dabei eine tragende Rolle, da sie aufgrund ihrer niedrigeren Wellenlänge besser gebeugt und somit mit höherer Amplitude an der ipsilateralen Cochlea ankommen.

Ein Übersprechen hervorgerufen durch Gewebeschallleitung konnte in den Experimenten nicht verhindert werden. Der Knochen- und Gewebeverbund, der sich bei dem intakten Säuerkopf zwischen den beiden ebenfalls in knöchernen Strukturen eingebetteten Cochleae befindet, weist typischerweise eine tiefe Resonanzfrequenz auf. Die Eigenschwingung des Kopfes wurde vor allem am menschlichen Kopf untersucht und beschränkt sich nach Reinfeldt et al. (2007) vor allem auf den Frequenzbereich unter 10 kHz. Für Fledermäuse, wie *C. perspicillata*, gibt es hierzu keine Daten.

Um das Übersprechen in den vorliegenden Experimenten bewerten zu können, sind in Abbildung 2.6 Beispielmessungen des Übersprechens zweier Versuchstiere dargestellt, die repräsentativ für alle Messsituationen sind. Beide Graphen zeigen deutlich, dass tieffrequente Schallstimuli weniger stark durch den Kopf des Versuchstieres abgeschwächt wurden und daher die ipsilaterale Cochlea mit höherem Pegel erreichten, als hochfrequente. Generell war Übersprechen nur bis zu einer Frequenz von 40 bis 50 kHz detektierbar, im höherfrequenten Bereich sank es unter das Niveau des Umgebungsrauschens (siehe graue Kennlinie in der Abbildung). Eine besonders geringe Abschwächung durch den Kopf erfuhr der Frequenzbereich um 10 kHz (Amplitudenmaximum in der Abbildung).

Bezogen auf die Ergebnisse dieser Arbeit ist die Bedeutung des Übersprechens als gering zu bewerten. Ab etwa 25 kHz schwächt der Kopf des Tieres das kontralaterale Signal um min-

destens 40 dB ab. Unter Beachtung der Tatsache, dass eine signifikante Suppression der DPOAE- Amplitude bereits mit einem NBN-Pegel von 20 dB SPL (bei $f_2 = 20$ kHz, bzw. 21 und 23 dB SPL bei $f_2 = 40$ und 60 kHz) auftraten, muss geschlussfolgert werden, dass der Tierkopf in der Lage ist, sämtliche hohen Frequenzen bei solchen Pegeln ausreichend abzuschwächen. Eine Ausnahme davon bilden Frequenzen um 10 kHz, die lediglich um etwa 10 dB durch den Kopf des Tieres abgeschwächt wurden und so ipsilateral relevant waren. Diese tieffrequenten kontralateralen Stimuli ergaben sich nur innerhalb der Versuchsanordnung mit dem CAS 'NBN unterhalb f_1 ', welche allerdings den geringsten Effekt auf die DPOAE-Amplitude erzielte.

In der vorliegenden Arbeit geben die ipsilateral gemessenen STC Aufschluss darüber, wie laut ein potentieller Übersprecher sein müsste, um nennenswerte Suppression im Sinne einer 2-Ton Suppression zu bewirken (Duifhuis 1980, Nuttall und Dolan 1993). Addiert man die frequenzspezifische Kopfab schwächung von *C. perspicillata* zu den STC-Pegeln, so kommt man auf sehr hohe kontralaterale Reintonpegel, wie sie keinesfalls im CAS NBN-Stimulus vorhanden waren.

4.1.2 Artefakt durch Aktivierung des Mittelohrmuskelreflexes

Einen signifikanten Einfluss auf den Pegel von DPOAE können die Mittelohrmuskeln ausüben, der *Musculus stapedius* und der *Musculus tensor tympani*. Durch seine Ansatzstelle am Hals des *Stapes* ist vor allem der *M. stapedius* in der Lage, nach erfolgter Kontraktion die Fußplatte des *Stapes* in der *Fenestra ovalis* zu verkanten und damit die Schwingungsfähigkeit des *Stapes* zu vermindern, was eine Dämpfung und damit einhergehend eine Verschlechterung der Schallübertragung nach sich zieht (Pang und Peak 1986). Es kann in Folge der Mittelohrmuskelkontraktion sowohl der in die Cochlea eindringende Schall als auch die aus dem Ohr austretende DPOAE selbst in ihrer Amplitude verändert werden (Büki et al. 2000, Sun 2008). Die Einflüsse der kontrahierten Mittelohrmuskeln und des aktivierten MOC-Systems, welche die DPOAE-Amplitude gleichermaßen modulieren können, wären in diesem Fall nicht mehr eindeutig durch Messungen otoakustischer Emissionen voneinander zu trennen. MEM-Kontraktionen sind somit eine wichtige Quelle von Artefakten bei der MOC-Aktivitätsbestimmung (Whitehead et al. 1991, Burns et al. 1993).

Die Kontraktion der MEM erfolgt in Form eines Reflexes, dem sogenannten *Mittelohrmuskelreflex* (engl.: middle ear muscle reflex, MEM-Reflex). Sobald Schall ausreichender Amplitude das Ohr erreicht, kann die Muskelkontraktion ausgelöst werden. Als biologische Bedeutung dieses Reflexes wird in der Literatur der Schutz des Innenohrs vor potenziell schmerzhaften und schädigenden Geräuschen diskutiert (siehe Übersichtsarbeit von Borg und Counter 1989).

Der MEM- und der MOC-Reflex weisen überdies weitere Gemeinsamkeiten auf: anatomische in Form von gemeinsamen Interneuronen in verschiedenen Nuklei (ventraler CN und SOC; Lee et al. 2006) und funktionelle in Form von einer optimalen Anregung durch Breitbandrauschen (Liberman und Guinan 1998, Vuillet et al. 1991). Der MEM-Reflex kann beidseitig, also binaural, ausgelöst werden. Folglich ergibt sich für die Versuche der vorliegenden Arbeit, dass sowohl die ipsilateralen Primärtonstimuli als auch die kontralateralen efferenten Stimuli potenzielle Auslöser des MEM-Reflexes für beide Ohren sein könnten.

Die Reizschwelle, ab welcher der MEM-Reflex aktiviert werden kann, ist Gegenstand aktueller Forschung und wird sehr kontrovers diskutiert. Frühere Arbeiten an Menschen (Liberman und Guinan 1998), an der Schnurrbartfledermaus (Henson et al. 1995) oder der Ratte (Pilz et al. 1997) zeigten, dass nur laute Schallpegel von 75 dB SPL bzw. 80 dB SPL den MEM-Reflex auslösen können. Jüngere Ergebnisse einer Arbeit an betäubten Ratten zeigten, dass die Reizschwelle des MEM-Reflexes deutlich tiefer liegen könnte, als bisher angenommen (Relkin et al. 2005). So konnte der MEM-Reflex bereits bei 35 dB SPL ausgelöst werden und messbar die DPOAE-Amplitude supprimieren. Diese sehr tiefe Reizschwelle wurde vor allem für tiefe Stimulusfrequenzen ($f_2 = 6$ bis 10 kHz) gefunden. Für höhere f_2 -Stimulusfrequenzen (ab 12.5 kHz) betrug sie bei den betäubten Ratten ca. 50 dB SPL.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Versuchsbedingungen so gewählt, dass eine Beeinflussung der Ergebnisse durch Aktivierung des MEM-Reflexes fast ausgeschlossen werden kann. Bei der Wahl der Primärtonstimulusparameter wurde darauf geachtet, dass jeweils die minimalsten Amplituden verwendet wurden, um deutliche, aus dem Umgebungsrauschen sich hervorhebende DPOAE zu erhalten. So konnten die Versuche bei einem Großteil aller Messungen mit Primärtonamplituden unter 50 dB SPL durchgeführt werden. Auch der supprimierende Effekt des CAS zur Aktivierung des MOC-Systems setzte bereits bei besonders niedrigen Amplituden ein (bereits ab ca. 20 dB SPL). Bei solch niedrigen Schwellenwerten wurde in der Literatur nie zuvor von der Kontraktion der MEM berichtet. In allen Messungen betru-

gen die maximalen CAS-Pegel weniger als 60 dB SPL. Diese CAS-Pegel liegen somit unterhalb der ermittelten Schwelle für die MEM-Kontraktion bei Fledermäusen (Suga und Jen 1975, Henson et al. 1995). Die allgemein gängige Auffassung, die Funktion des MEM-Reflexes liege darin, das Innenohr vor zu lautem Schall zu schützen, würde bei niedrigen CAS-Pegeln, wie 20 dB SPL, außerdem bedeutungslos.

Betrachtet man des Weiteren die Frequenzabhängigkeit des MEM-Reflexes, so ist bekannt, dass er die Eigenschaften eines Tiefpasses aufweist, d. h. die Kontraktionen der MEM vor allem die Transmission tiefer Frequenzen im Mittelohr behindert. Dies wurde bei Säugern nachgewiesen, z. B. bei Fledermäusen (maximale Abschwächung bei 20 kHz; Henson 1970, Pollak und Henson 1973) und Ratten (maximale Abschwächung bei 10 kHz, Berge et al. 1990; MEM-Reflex beeinflusst insgesamt einen Frequenzbereich von 1 bis 20 kHz, Murata et al. 1986) und wurde dort in dem Zusammenhang interpretiert, dass die Detektion bzw. Analyse von Nutzsensoren im hochfrequenten Bereich vor meist tieffrequenten Umgebungsgeräuschen verbessert wird. Bei der Analyse der Frequenzspezifität des efferenten Systems muss folglich berücksichtigt werden, dass der MEM-Reflex bei Säugern demnach vermutlich ebenfalls frequenzspezifisch wirkt. Im Vergleich zu den ermittelten Effekten der vorliegenden Arbeit aber wirkt er genau entgegengesetzt zu ihnen, nämlich nicht im hochfrequenten Bereich. Deshalb sollte eine Involvement des MEM-Reflexes bei den Effekten weitgehend auszuschließen sein.

Letzte Sicherheit über den Einfluss des MEM-Reflexes auf die Ergebnisse dieser Arbeit mag darin bestehen, mittels chirurgischem Eingriff während der akustischen Versuche zuerst die Mittelohrmuskeln und im Anschluss daran die MOC-Fasern zu durchtrennen. Bei wiederholter Messung würde dann – so die Annahme – zu erkennen sein, welche DPOAE-Effekte bei der CAS jeweils übrig blieben und damit den unterschiedlichen Reflexbögen zuzuschreiben wären (Relkin et al. 2005, Smith et al. 2008). Der Nachteil solcher schwerwiegenden invasiven Eingriffe liegt allerdings auf der Hand: sie könnten den physiologischen Zustand des Innenohrs unkontrolliert beeinflussen. Bereits durch geringe Veränderungen der Körpertemperatur oder der Druckverhältnisse im Ohr kann nämlich die Entstehung von DPOAE selbst beeinträchtigt werden. Gerade bei einem kleinen Säuger wie *C. perspicillata* gestaltete sich eine Sektion der beteiligten Strukturen als besonders heikel, ungeachtet des Umstands, dass ein solcher Eingriff invasiv ist und das Versuchstier am Ende des Experiments getötet werden müsste. Darüber hinaus ließen sich solche chirurgischen Eingriffe natürlich nur unter

Betäubung durchführen. Unter Betäubung treten jedoch bei *C. perspicillata* keine kontralateralen Effekte auf.

4.1.3 Messungen an nicht narkotisierten, wachen Versuchstieren

Bei der Bearbeitung biologischer Fragestellungen mit Hilfe von Tierversuchen stellt sich häufig das Problem der mangelnden „Kooperation“ des Versuchstiers für die Dauer des Experiments. Dies gilt auch bei Methoden wie der nicht invasiven DPOAE-Messung. Gerade bei akustischen Experimenten kann die Verfälschung der Ergebnisse durch Tierbewegungen immens sein. Häufig sehen sich Hörforscher daher dazu gezwungen, zu Betäubungsmitteln zu greifen, um das Versuchstier ruhig zu stellen. Dabei gerät man zwangsläufig in einen Konflikt: Schnell und einfach durchzuführende Experimente liefern die gewünschte Datenmenge. Gleichzeitig wird jedoch das Risiko in Kauf genommen, Artefakte durch unvorhersagbare Betäubungsmiteleinflüsse zu generieren.

Die Bandbreite der in der Literatur zu findenden durch Injektionsnarkotika initiierten Veränderungen von OAE-Messungen ist weitreichend. Untersuchungen zeigten dabei eine mögliche Zunahme (z. B. Harel et al. 1997, Liberman 1989), keine Veränderung (z. B. Lonsbury-Martin et al. 1987, Zheng et al. 1997) meistens jedoch eine Abnahme (z. B. Hatzopoulos et al. 2002, Zheng et al. 1997) der OAE-Amplitude unter Anästhesie. Diskutiert wurden solche Ergebnisse in Abhängigkeit der Narkosetiefe, der unterschiedlichen Druckverhältnisse im Mittelohr und der Aktivität des MEM-Reflexes, der Beeinträchtigungen des physiologischen Zustands des Versuchstiers während der Narkose (z. B. durch Veränderungen der Körpertemperatur oder des cochleären Blutflusses und seiner Autoregulation) und/oder schließlich der beeinflussten neuronalen Aktivität des medialen efferenten Systems. Einstimmigkeit herrscht in Fachkreisen meist über den Umstand, dass Betäubungsmiteleinflüsse auf die physiologischen Vorgänge im Innenohr meist unberechenbar sind und im Allgemeinen unterschätzt werden (Smith et al. 2008).

In dieser Arbeit ist es gelungen, durch den geduldigen Umgang mit den Versuchstieren während der Experimente auf eine Narkose derselben zu verzichten. Die Messungen wurden dabei so häufig wiederholt, bis sich die Manipulation des DPOAE-Pegels durch Tierbewegungen in einem für die Datenauswertung akzeptablen Ausmaß befand (siehe methodische Beschreibungen unter Abschnitt 2.3). Bei der Datenanalyse wurde ebenso dem Umstand Rechnung getragen, dass Tierbewegungen die Messungen stören können: es wurden harte Kriterien ver-

wendet (siehe Auswertung zur Kontrollmessungen in Abschnitt 2.4), um CAS-induzierte Effekte auf den DPOAE-Pegel von solchen durch Tierbewegung zu trennen. So wurde z. B. bei der Auswertung auf das in der Literatur ebenfalls gängige 3-dB-Schwellenkriterium für eine Reduktion des DPOAE-Pegels durch CAS verzichtet und höhere Schwellenkriterien bei 6 und 9 dB verwendet.

Die Vorteile der vorliegenden Experimente am wachen Versuchstier überwiegen deutlich trotz erhöhten Aufwandes. Die am wachen Tier erzielten supprimierenden Effekte des CAS auf die DPOAE-Amplitude waren unter Narkose eliminiert (vgl. hierzu Abschnitt 3.1 und 3.2).

Das in Tierversuchen weit verbreitete und hier angewandte Narkosegemisch von Ketamin und Xylazin dient der Schmerzbehandlung und Sedierung. Als pharmakologische Wirkorte sind einerseits Glutamat-NMDA-Rezeptorkomplexe (Ketamin) und andererseits $\alpha 2$ -Adrenozeptoren (Xylazin) zu nennen. Schon früher wurde der Einfluss der Injektion von Ketamin und Xylazin auf die OAE-Evozierung untersucht. Liberman (1989) zeigte, dass sich die Aktivität des vorrangig hemmend wirkenden olivo-cochleären Systems in Abhängigkeit der Tiefe der Anästhesie verringerte. Auch Harel et al. (1997) führten die Erhöhung der OAE-Amplitude am Chinchilla unter Narkose auf eine Drosselung der Aktivität des olivo-cochleären Systems zurück. Der Effekt wurde mit einer Disinhibition jener Mechanismen erklärt, die zur Generierung von OAE führen. Eine Erklärung für solche Narkoseeffekte bietet z. B. der Umstand, dass sich NMDA-Rezeptoren vielfach im ZNS wieder finden, bis hin zu den Synapsen der IHC (Eybalin, 1993).

Die in dieser Untersuchung erzielten Narkoseeffekte auf die DPOAE-Evozierung unterstützen die Annahme, dass die Einflüsse der kontralateralen akustischen Stimulation als olivo-cochleäre Aktivität gedeutet werden können.

4.2 Efferente Modulation des cochleären Verstärkers über die Fasern des MOC-Systems

4.2.1 Einfluss der Bandbreite der CAS auf die Evozierung der DPOAE

In Folge von akustischer Stimulation der kontralateralen Cochlea mit Rauschstimuli wurde in der vorliegenden Arbeit das kubische Verzerrungsprodukt der Frequenz $2f_1-f_2$ der ipsilateralen Cochlea vermindert. In keinem Fall konnte eine Erhöhung der DPOAE-Amplitude beobachtet werden. Bereits an verschiedenen Spezies wurde gezeigt, dass CAS mit Rauschstimuli die Cochleamechanik verändern kann (z. B. Katze: Puria et al. 1996; Meerschweinchen: Kuja-wa et al. 1993, Puel und Rebillard 1990; Mensch: Maison et al. 2000, Lisowska et al. 2002). Dieses Phänomen wurde auch in dieser Arbeit an *C. perspicillata* bestätigt.

Bei *C. perspicillata* besteht außerdem ein positiver Zusammenhang zwischen der Bandbreite des Rauschstimulus und dem Grad der Suppression: je breitbandiger der Rauschstimulus war (1.5 Oktaven > 1 Oktaven > 0.5 Oktaven), je mehr Frequenzen er folglich umfasste, desto geringere Amplituden waren notwendig, um die $2f_1-f_2$ -Amplitude zu dämpfen. Spektral breitbandige Stimuli supprimierten also stärker als solche mit schmalen Bändern. Auch dieses Ergebnis an *C. perspicillata* fügt sich ein in eine Vielzahl von Studien, die sich mit der Frage des effektivsten Stimulus für CAS befassten. So führten z. B. Maison et al. (2000) Untersuchungen am Menschen durch, innerhalb derer die Korrelation zwischen Stimulusbandbreite und Stärke der Reduktion otoakustischer Emissionen nachgewiesen wurden. Eine Übersicht zu der verstärkten Suppression des $2f_1-f_2$ -Pegels durch BBN (engl.: broadband noise, Breitbandrauschen, gleichbedeutend mit Weißem Rauschen) im Vergleich zu Schmalbandrauschen oder Reintönen bei Menschen findet sich bei Collet et al. (1994).

Eine Erklärung für dieses Phänomen bietet der Umstand, dass in Abhängigkeit seiner spektralen Bandbreite ein Stimulus eine unterschiedliche Anzahl an MOC-Eingängen aktivieren kann. Diese wiederum würden sich dann im Falle eines Breitbandrauschens durch eine simple räumliche Aufsummierung stärker auswirken, als das ein Schmalbandrauschen verursachen könnte (Maison et al. 2000). Zusätzlich nehmen mit der Bandbreite eines Rauschstimulus seine Amplitudenfluktuationen und damit seine stochastische Natur zu, was sich ebenfalls positiv auf die Erregbarkeit medialer olivo-cochleärer Fasern auswirkt (Gummer et al. 1988). In Anbetracht der oben beschriebenen besonderen Rolle von Rauschstimuli bei der Aktivierung des MOC-Systems wurden in dieser Arbeit keine Reintöne als kontralaterale akustische

Stimuli getestet. Ihr Einfluss auf das mediale olivo-cochleäre System gilt als vergleichsweise gering (Maison et al. 2000).

4.2.2 Hohe Effizienz des kontralateralen Stimulus

Die kontralaterale Präsentation von Rauschstimuli bewirkte unter idealen Versuchsbedingungen (CAS mit 'NBN oberhalb f_2 ' und einer Bandbreite von 1 bzw. 1.5 Oktaven, siehe Abschnitt 3.1) zuverlässig eine Verminderung der ipsilateral evozierten otoakustischen Emissionen um 6 bzw. 9 dB und mehr. Diese Veränderungen waren bereits ab CAS-Pegeln von z. T. unter 20 dB SPL (Einzelmessungen) messbar. Eine signifikante Suppression der $2f_1$ - f_2 -Emission wurde für 20, 40 und 60 kHz (f_2) ab NBN-Pegeln von 23, 21 und 20 dB SPL (siehe Abschnitt 3.2) ermittelt. Verglichen mit anderen Studien zur Aktivierung des MOC-Systems sind zwei Aspekte dabei besonders bemerkenswert: Bei *C. perspicillata* ist die Pegelverminderung der $2f_1$ - f_2 -Emission in der Größenordnung von vielen Dezibel vergleichsweise groß. Insbesondere überrascht dabei auch die Tatsache, dass außergewöhnlich geringe CAS-Pegel solche starken Suppression evozieren.

Ein Großteil der publizierten Arbeiten zur CAS berichten über Pegelverminderungen der ipsilateralen $2f_1$ - f_2 -Emission bei gleichzeitiger CAS des MOC-Systems von geringerem Ausmaß, als in dieser Studie beschrieben. Unter vergleichbaren Versuchsbedingungen wurden üblicherweise Inhibitionen von einem halben bis hin zu wenigen Dezibel erzielt (z. B. Moulin et al. 1993, Chéry-Croze et al. 1993, Lisowska et al. 2002, Sun 2008).

Vergleichbar große Suppressionen der $2f_1$ - f_2 -Emission nach CAS (bis zu -14 dB, hervorgerufen durch ein NBN mit einer Bandbreite von 50 kHz) sind in einem ähnlichen Zusammenhang in früheren Arbeiten am Meerschweinchen schon einmal diskutiert worden (Kujawa und Liberman 2001). Die Autoren gaben allerdings zu bedenken, dass diese sehr großen Effekte, die dem MOC zugeschrieben wurden, womöglich auf eine ungünstige Wahl der Stimulusparameter zurückzuführen waren: den ipsilateralen DPOAE-Messungen lagen dabei Primärtonpegel zwischen 60 und 80 dB SPL zugrunde. Das Problem bei der Auswertung solcher Daten besteht in den typischerweise bei höheren Primärtonpegeln auftretenden Einbrüchen der $2f_1$ - f_2 -Emission (*notch*). In diesem messbaren Minimum einer I/O-Funktion können die CAS-Effekte besonders groß sein und in ihrer Richtung (Suppression vs. Verstärkung) variieren (Müller et al. 2005). Als Grund dafür diskutieren Müller und Kollegen die Theorie der

DPOAE-Quellen, bei der zwei verschiedene Komponenten verantwortlich gemacht werden: 1. die Verzerrungskomponente, die in dem Überlappungsbereich der beiden Primärtöne entsteht (Rhode 2007) und 2. der Reflektionskomponente, die sich von ihrem eigenen Resonanzort ebenfalls als Wanderwelle Richtung Stapes bewegt und so im Ohrkanal messbar ist. Diese beiden Komponenten weisen, in Abhängigkeit ihrer Frequenz und Amplitude, Phasenunterschiede auf, so dass sie im Ohrkanal konstruktiv oder destruktiv interagieren können (Ren 2004). Je nachdem auf welche der beiden Komponenten das angeregte mediale olivocochleäre System wirken würde, so die Meinung der Autoren, würde es zu großen Unterschieden in der DPOAE-Amplitude kommen können.

Die in der vorliegenden Studie durchgeführten DPOAE-Messungen zur frequenzspezifischen CAS (siehe Abschnitt 3.1) konnten trotz unседierter Versuchstiere überwiegend bei leisen Primärtonpegeln ($I_2 = 20$ bis 40 dB SPL) durchgeführt werden. Nur bei drei der insgesamt 18 Messungen betrug der I_2 -Pegel mehr als 40 dB SPL (45 , 50 und 55 dB SPL). Einbrüche der $2f_1$ - f_2 -Emission, wie sie bei der Messung von I/O-Funktionen ermittelt werden konnten (Abschnitt 3.2), traten vermehrt bei I_2 -Pegeln von 55 dB SPL und mehr auf. Dies stimmt mit Daten aus der Literatur überein, wo mit vergleichbaren Frequenzverhältnissen von f_2/f_1 die Bereiche des *notch* mit I_2 -Pegeln von 55 - 75 dB SPL erreicht wurden (Kössl 1992). Somit kann mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, dass die Wahl der Primärtonstimulusparameter und damit auftretende *notch* – Zustände die ermittelten Effekte verursacht haben könnten.

Vielmehr deuten die deutlichen CAS-Effekte, die bereits bei geringen ipsilateralen Primärtonpegeln außerhalb des Bereichs von Amplitudeneinbrüchen (*notch*) erfolgen, darauf hin, dass die Efferezenzen tatsächlich nur die primäre DPOAE-Quelle im Überlappungsbereich der Primärtonwanderwelle beeinflussen. Aus der Literatur ist bekannt, dass das MOC- System vor allem die cochleäre Verstärkung leiser Schallstimuli moduliert, was mit der ausgeprägten nichtlinearen Funktionsweise des cochleären Verstärkers zu erklären ist (Moulin et al. 1993, Janssen und Gehr 2003, Guinan 2006). Legt man den Ergebnissen dieser Arbeit die allgemein gängigen Annahme, DPOAE seien das Nebenprodukt aktiver Verstärkungsmechanismen im Innenohr zugrunde, dann würden Veränderungen solcher DPOAE, die vor allem durch leise Primärtonstimuli evoziert seien, besonderen Aufschluss über die Aktivität des MOC-Systems geben.

Wie schon zu Beginn dieses Abschnitts erwähnt, stellen die außergewöhnlich geringen NBN-Pegel, mit denen die $2f_1$ - f_2 -Verminderung erreicht wurde, eine Besonderheit dar. In der Literatur finden sich wesentlich kleinere Pegelverminderungen unter deutlich stärkerer CAS. So fanden z. B. Moulin et al. (1993, am Menschen) signifikante Effekte des in den Versuchen verwendeten NBN (Bandweite: 8.5 kHz) auf die $2f_1$ - f_2 -Emission ab einem NBN-Pegel von 55 dB SPL und mehr. Lisowska et al. (2002) beschreiben Pegelverminderungen der DPOAE-Amplitude (um maximal 1.5 dB) nach CAS mit NBN mit einer Amplitude von mindestens 50 dB SPL. Auch James et al. (2002) fanden in ihren Arbeiten erste signifikante supprimierende Einflüsse auf die $2f_1$ - f_2 -DPOAE ab einer Größenordnung der CAS-Pegel von 60 dB SPL, obwohl dort sogar BBN zum Einsatz kam. Verglichen mit den eben genannten Studien wurde in der vorliegenden Arbeit trotz geringer NBN-Pegel eine wesentlich stärkere Suppression erzielt. So sank der Verzerrungspegel um mehr als 13 dB bei NBN-Pegeln, die mit der Literatur vergleichbar sind (13.6 dB bei $f_2 = 20$ kHz bzw. 16.9 und 13.8 dB bei $f_2 = 40$ und 60 kHz).

All diese Effekte sind aus weiter oben genannten Gründen wahrscheinlich nicht durch die Aktivität des MEM-Reflexes erklärbar. Denkbar ist vielmehr eine maßgebliche Beteiligung des MOC-Systems, das bei *C. perspicillata*, verglichen mit anderen Spezies, einen besonders ausgeprägten Einfluss auf die Innenohrmechanik zu haben scheint. Um diese, vermutlich durch das MOC induzierten Veränderungen des cochleären Verstärkers besser charakterisieren und verstehen zu können, wurden Experimente zur deren Frequenzspezifität durchgeführt, die im Folgenden diskutiert werden sollen.

4.2.3 Frequenzspezifische Modulation der Innenohrmechanik durch das MOC-System

Die Untersuchungen zur frequenzspezifischen Modulation der Innenohrmechanik durch CAS zeigten in Abhängigkeit der Frequenzen des kontralateralen Rauschstimulus deutliche Ergebnisse: Maximale $2f_1$ - f_2 -Pegelverminderungen wurden durch NBN erzielt, deren Zentrumsfrequenzen oberhalb der ipsilateralen f_2 -Primärtonfrequenzen lagen (f_2 : 20, 40 und 60 kHz). Rauschstimuli mit einer Zentrumsfrequenz unterhalb der f_1 -Primärtonfrequenzen oder zwischen den beiden Primärtonfrequenzen hatten dagegen einen geringeren bis gar keinen Einfluss auf den DPOAE-Pegel. Dieser klare, in Relation zu den Primärtonstimulusparametern stehende frequenzspezifische Effekt fand sich bei allen Messungen ab einer NBN-Bandweite

von 1 Oktave (1 und 1.5 Oktaven). Folglich besteht ein deutlicher frequenzspezifischer Zusammenhang zwischen den Stimulusfrequenzen, der CAS-Frequenz und ihrem Einfluss auf die DPOAE-Entstehung.

Verglichen mit Befunden aus der Literatur ist diese klare Frequenzspezifität von kontralateraler akustischer Stimulation auf die Evozierung von $2f_1$ - f_2 -DPOAE außergewöhnlich. Bislang existierten nur für die f_2 - f_1 -DPOAE (akustischer Differenzton) Befunde an der Wüstenrennmaus, die eine Frequenzspezifität des efferenten Systems nahe legen (Abel et al. 2009, Althen et al. 2012). Bezüglich der $2f_1$ - f_2 -DPOAE sind die Ergebnisse aus der Literatur dabei sehr unterschiedlich und ließen bislang keine klaren Rückschlüsse der Frequenzselektivität efferenter Einflüsse auf die Innenohrmechanik zu. Chéry-Croze und Kollegen fanden z. B. dann eine maximale Suppression der $2f_1$ - f_2 -DPOAE (lediglich um bis zu 0.8 dB), wenn die NBN-Frequenzen unterhalb der Primärtonfrequenzen lagen. Von vier untersuchten Frequenzorten auf der Basilarmembran bestätigte sich dieser Effekt aber nur bei den beiden basaleren (also tieferen: 1 und 2 kHz) Frequenzen, für die beiden apikaler gelegenen (3 und 4 kHz) waren die Ergebnisse nicht präzise (Chéry-Croze et al. 1993). Eine im selben Jahr veröffentlichte Studie von Moulin et al. (1993) mit BBN als kontralateralem Stimulus zeigte hingegen eine mehrere dB starke Suppression der $2f_1$ - f_2 -Emission im Bereich von mittleren Frequenzen (untersuchter Frequenzbereich: 0.6 – 6 kHz).

Neuere Arbeiten am Menschen auf diesem Gebiet untermauern den Eindruck, dass ein Zusammenwirken zwischen den ipsilateralen Stimulusfrequenzen und der genauen Lage der Rauschbänder der efferenten Stimuli existiert (Lilaonitkul und Guinan 2009, Walsh et al. 2010): je nachdem welche ipsilateralen Stimulusfrequenzen dabei untersucht wurden, trat eine beträchtliche Variabilität des MOC-Einflusses auf. Bei sehr niedrigen ipsilateralen Stimulusfrequenzen (0.5 kHz) lösten Rauschbänder oberhalb der Stimulusfrequenzen den MOC-Reflex am stärksten aus. Bei 1 kHz trat das Gegenteil ein: hier supprimierte ein unterhalb der Stimulusfrequenzen gelegenes Rauschband die ipsilaterale Emission am stärksten. Um bei 4 kHz am effektivsten den MOC-Reflex zu aktivieren, bedurfte es einer CAS mit einer Frequenz, die der ipsilateralen Stimulusfrequenzen entsprach. Eine sinnvolle Interpretation solcher Daten ist bislang noch nicht gelungen, da man erst langsam beginnt, das MOC-System zu entschlüsseln.

In einigen Arbeiten zu dem Thema der Frequenzspezifität des efferenten Systems findet man im weiter gefassten Zusammenhang einen Bezug zu der Zwei-Komponenten-Theorie und

damit zur Entstehung otoakustischer Emissionen, wie sie bereits weiter oben beschrieben wurde. MOC-Stimulation inhibierte dabei beide Komponenten und veränderte zudem deren Phase (aufgrund von Interferenzen, was in diesem Fall zu Auslöschung zwischen den zwei Komponenten führte). Die zwei Komponenten wurden aber nicht in gleichem Maße beeinflusst: die Reflexionskomponente wurde stärker beeinträchtigt, als die Verzerrungskomponente (Shera und Guinan 1999, Abdala et al. 2009, Deeter et al. 2009).

In den vorliegenden Experimenten konnte keine Veränderung der Phasenlage der DPOAE während CAS ermittelt werden. Dies liegt vermutlich an dem Versuchsaufbau. Es wurden keine Feinstrukturmessungen, sogenannte hochaufgelöste *DP-Gramme*, wie sie in den letztgenannten Arbeiten angewandt wurden, gemessen, die den Emissionspegel als Funktion der ipsilateralen Stimulusfrequenz f_2 in besonders kleinen Frequenzschritten (in der Größenordnung von wenigen Hz) beschreiben. Innerhalb solcher Messungen schwankt typischerweise der DPOAE-Pegel in Abhängigkeit der untersuchten Stimulusfrequenz beträchtlich, es kommt also zu großen Einbrüchen (Müller et al. 2005). Die so entstehenden Feinstrukturminima der DPOAE-Amplitude werden durch die Phasen-Interaktion der verschiedenen DPOAE-Komponenten erklärt und sind im Übrigen besonders anfällig für MOC-Effekte.

Die Phasenveränderungen, die vor allem bei leisen oder lauten Stimuluspegeln in der vorliegenden Arbeit auftraten (Abschnitt 3.2), können nicht unmittelbar mit einem aktivierten MOC-System korreliert werden, sondern nur mittelbar. Sie sind nämlich darauf zurückzuführen, dass bei leisen Stimuluspegeln in Verbindung mit einem aktivierten MOC-System der cochleäre Verstärker in solchem Maße supprimiert ist, dass keine DPOAE messbar ist. In Folge dessen geht die erwartete $2f_1$ - f_2 -DPOAE im Umgebungsrauschen unter und unterliegt daher einer großen Streuung. Bei höheren Primärtonpegeln tritt dagegen jener Zustand ein, indem innerhalb der Cochlea aktive in passive Verstärkungsmechanismen übergehen – einhergehend mit Phasensprüngen, die auch ohne CAS messbar wären. Die mangelnde statistische Signifikanz der Daten zu Phasenveränderungen könnte darin begründet sein, dass die Kontrollen nach CAS oftmals ähnliche Messwerte wie während CAS zeigen. Für die statistische Analyse wurden beide Kontrollen (vorher, nachher) zusammengezogen. Dies könnte dann eine fehlende Signifikanz mit verursachen. Möglicherweise treten unter diesen Bedingungen efferente Langzeiteffekte auf, die nach Ausschalten der CAS anhalten und künftig in gesonderten Versuchsreihen untersucht werden könnten.

Die in der vorliegenden Studie gewonnenen Daten zeigen für fast den gesamten Hörbereich von *C. perspicillata* von ca. zehn bis über 120 kHz eine einheitlich gültige Frequenzselektivität des MOC-Systems: relativ zu den Stimulusfrequenzen sind immer hochfrequente Rauschstimuli effektivere MOC-Reflex-Aktivatoren, die schließlich den cochleären Verstärker supprimieren. Es existiert demzufolge kein Bereich mit einem absoluten, starken efferenten Einfluss. Aus diesem Grund kann ausgeschlossen werden, dass die weniger bis nicht effektiven Rauschstimuli in solchen Frequenzbereichen lagen, in denen bekanntermaßen die Hörschwelle ansteigt und die cochleäre Sensibilität vermindert ist, infolge dessen auch ein MOC-Reflex gegebenenfalls reduziert wäre (Klinke und Silbernagel 1994). Stattdessen könnte jener Umstand mit einer ungleichmäßigen, frequenzselektiven Modulation der Innenohrmechanik durch den MOC-Reflex in Beziehung stehen, worauf im Folgenden näher eingegangen werden soll.

Die Interpretation der CAS-Suppression als Resultat medialer olivo-cochleärer Aktivität wird dadurch bestärkt, dass die zeitliche Charakteristik der hier untersuchten Effekte gut mit Daten aus der Literatur vergleichbar ist. Die Aktivierung der medialen olivo-cochleären Efferenzen zieht die Ausschüttung von ACh in den synaptischen Spalt nach sich, was zur Erhöhung der K^+ -Leitfähigkeit der OHC-Membran und damit zu deren Hyperpolarisation führt. In Konsequenz dessen wird die axiale Steifheit der OHC verändert, womit nicht nur die Elektromotilität eingeschränkt sondern auch die Leistungsfähigkeit des cochleären Verstärkers herabgesetzt wird (z. B. Dallos und He 2000, Dallos et al. 1997, Russell und Murugasu 1997).

In der Literatur ist die Rede von zwei unterschiedlichen Zeitkonstanten, mit denen sich die efferente Modifikation der OHC messen lassen: erstens die sogenannte *schnelle* Komponente des MOC-Reflexes, deren Auftreten nach 10 bis 100 ms einsetzt, und deren Folge die Verminderung der cochleären Verstärkeraktivität ist. Und zweitens die sogenannte *langsame* Komponente, deren Auftreten ca. 25-50 s nach Stimulierung zu beobachten ist, innerhalb derer sich die Veränderung der OHC-Steifheit manifestiert (Lieberman et al. 1996, Cooper und Guinan 2003, Backus und Guinan 2006, Sridhar et al. 1997). Obwohl die zeitliche Charakteristik des MOC-Reflexes nicht Bestandteil der vorliegenden Untersuchung war, so lässt sich feststellen, dass die schnelle Komponente des MOC-Reflexes für die Pegelverminderung verantwortlich zu sein scheint, wie die Einzelmessungen in Abschnitt 3.2 veranschaulichen. In welcher Weise die DPOAE-Pegel entlang einer längeren Zeitachse durch MOC-Aktivierung moduliert werden können, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht.

Im Zusammenhang der frequenzspezifischen Modulation der Innenohrmechanik durch das mediale olivo-cochleäre System könnte an dieser Stelle der anatomischen Struktur der MOC-Efferenzen größere Bedeutung beigemessen werden. In der Literatur beschriebene Befunde zur Anatomie von MOC-Neuronen zeigen, dass sie vergleichbar scharfe Abstimmungseigenschaften wie Neurone des Hörnervs aufweisen, so dass die MOC-Fasern eine tonotope Innervierung aufweisen sollten (Liberman und Brown 1986, Brown 1989). Wenige Jahre vor Liberman und Brown untersuchte Guinan und Kollegen die MOC-Efferenzen der Katze und fanden, dass diese vom ungekreuzten olivo-cochleären Bündel in die kontralaterale Cochlea ziehend, jeweils in spezifische, basal zu ihrer charakteristischen Frequenz liegende Frequenzbereiche projizieren (Guinan et al. 1984). Dies erkläre, so die Annahme der Autoren, die dort nachgewiesene Divergenz zwischen CAS-Frequenz und OAE-Generatorfrequenz. Vertiefte Studien an Katzen zeigten darüber hinaus, dass der Bereich der Basilarmembran am dichtesten mit MOC-Neuronen innerviert war, der innerhalb des Hörbereichs die größte Sensitivität aufwies (Rajan 2007).

Um eine weitere Untersuchung an einem anderen klassischen Modelltier der Hörforschung vorzustellen, sei hier eine neuere Arbeit von Cooper und Guinan erwähnt (2006): via Laserinterferometrie-Messung wurden dort kleinste Bewegungen am apikalen Ende der Cochlea gemessen, die in Abhängigkeit elektrischer Stimulation der MOC-Fasern inhibiert werden konnten. Die Autoren beschreiben, dass solche efferente Inhibition der Cochleamechanik nicht nur eine gewisse Frequenzspezifität inne hatte, sondern sie auch vor allem in Apex nahe liegenden Bereichen der Cochlea hervorgerufen wurde.

Anatomische Befunde anderer Modellorganismen können selbstverständlich nicht ungeprüft auf *C. perspicillata* übertragen werden. Für *C. perspicillata* gibt es jedoch keine Untersuchungen zur Anatomie der MOC-Neurone in Bezug auf deren charakteristische Frequenz. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie zufolge würde man bei *C. perspicillata* ebenfalls anatomische Besonderheiten in Bezug auf die charakteristische Frequenz efferenter Neurone erwarten. Denkbar wäre, ähnlich wie bei der Katze (Guinan et al. 1984), eine zur Basis der Cochlea hin verschobene Projektion efferenter Neurone oder auch eine zur Basis der Cochlea hin stärker werdende efferente Innervierung des Corti-Organs, sei es durch eine erhöhte Anzahl oder verstärkte Größe von MOC-Synapsen realisiert.

Eine gute Ausprägung mikromechanischer Mechanismen im Innenohr von Fledermäusen stellt keine Besonderheit dar: die sicherlich bemerkenswerteste unter ihnen dürfte die *akusti-*

sche Fovea bei der Schnurrbartfledermaus, *Pteronotus parnellii*, sein (Kössl und Vater 1985). Dabei handelt es sich um eine räumliche Überrepräsentation eines engen Frequenzbereichs innerhalb des Corti-Organs der Cochlea, der sogenannten *CF₂-Region*, welche dem Zweck der frequenzspezifischen Analyse des Reintonechos (Echoortungssignal) dient. Die Reintonfrequenzanalyse auf der Ebene des Corti-Organs geht bei der Schnurrbartfledermaus mit einer enormen neuronalen Überrepräsentation dieser Reintonfrequenzen im gesamten auditorischen System einher, so dass eine extreme Verschärfung des Frequenzauflösevermögens realisiert ist. *C. perspicillata* hingegen hat keine Fovea im Innenohr und auch keine Vorzugsfrequenz des Hörens. Diese Art ist damit unter Fledermäusen ein Generalist mit sehr gutem Breitbandhören und eignet sich deshalb besonders, um allgemeine Prinzipien efferenter Kontrolle bei Säugern zu untersuchen.

4.2.4 Funktion der MOC-Efferenzen

Für die Beurteilung der durch kontralaterale akustische Stimulation ausgelösten Effekte ist von zentraler Bedeutung, in welchem Umfang die künstlich im Labor generierten Zustände tatsächlich eine biologische Funktion aufweisen und folglich wahrnehmungsrelevante Rückschlüsse ermöglichen. Aufgrund des Versuchsaufbaus müssen jedoch keine Narkoseeffekte diskutiert werden. Die Kernaussage dieser Arbeit bezieht sich auf die Dämpfung der Verstärkungsmechanismen der OHC bzw. des cochleären Verstärkers durch das olivo-cochleäre efferente System, wobei nicht der gesamte Frequenzbereich der gleichen Gesetzmäßigkeit unterliegt: hochfrequente akustische Stimuli drosseln die Aktivität von auf tiefere Frequenzen abgestimmte OHC um ein Vielfaches stärker. Dies würde implizieren, dass die charakteristische Frequenz efferenter Neurone von ihrem tonotopen Projektionsgebiet abweicht. Funktionell könnte dies Rückschlüsse auf eine mögliche Funktion des olivo-cochleären Systems im Kontext einer Frequenzverschärfung bei der cochleären Verstärkung der Basilarmembranbewegung erlauben. Doch – vereinfacht ausgedrückt – welcher Vorteil besteht für eine Fledermaus darin, innerhalb der auditiven Wahrnehmung höheren Frequenzen mehr Bedeutung in Bezug auf eine mechanisch hemmende Wirkung beizumessen als tieferen?

Bei der Lebensweise der Spezies spielen verschiedene Frequenzen eine sehr unterschiedliche Rolle. Innerhalb des überaus großen Hörbereichs zwischen 5.2 und 150 kHz können die Tiere sowohl Kommunikationslaute, als auch Echoortungslaute wahrnehmen (Koay et al. 2003), wobei die Soziallaute i. d. R. tiefere Frequenzen aufweisen als die Echoortungslaute (Fenton

1985). Ein Vorteil der frequenzspezifischen Suppression könnte folglich darin bestehen, durch hochfrequente Ortungsrufe über efferente Mechanismen die Wahrnehmung tieffrequenter Kommunikationslaute zu drosseln. Das Nutzsignal, d. h. der Ortungsruf, wäre somit störungsfrei detektierbar. Diese Konstellation ist gegeben beim Anflug an den Hangplatz, an dem unter Umständen bereits andere Gruppenmitglieder der Harems hängen und Kommunikationslaute emittieren oder, was von noch größerer Bedeutung sein könnte, beim Flug durch das Habitat. In Anbetracht der Tatsache, dass die Echoortungslaute von *C. perspicillata* bislang mit einer Lautstärke von ca. 70 bis 85 dB SPL vergleichsweise leise angegeben waren (Hartley und Suthers 1987) und damit die Spezies mit dem Beinamen 'whispering bat' ausgestattet, könnte Störschall in Form von Kommunikationslauten bei der Echoortung ein Hindernis darstellen. In diesem Fall könnte die frequenzspezifische Dämpfung des cochleären Verstärkers durchaus als sensorische bzw. evolutionäre Adaptation verstanden werden. Aktuelleren Studien zufolge, in denen die Echoortungslaute der Tiere im freien Verhaltensexperiment untersucht wurden, beträgt die Lautstärke der Echoortungsrufe 99 dB SPL (Brinkløv et al. 2011).

Die am weitesten verbreitete Hypothese zur Funktion der auditiven Frequenzverschärfung durch das MOC-System unterstützt diese oben beschriebene Annahme. Sie geht von einem durch die MOC-Aktivierung verbesserten Signal-Rausch-Abstand aus, der sogenannten Anti-Maskierungs-Funktion (z. B. Kawase und Liberman 1993, Kawase et al. 1993, Liberman und Guinan 1998). Wie in der vorliegenden Arbeit beschrieben werden dementsprechend kontinuierliche Hintergrundgeräusche durch die Dämpfung des cochleären Verstärkers in abgeschwächter Form über afferente Nervenbahnen weitergeleitet, was Ermüdungserscheinungen und damit einer Abnahme neuronaler Aktivität – auch in Bezug auf das Nutzsignal – vorbeugt. Im Kontext der Spracherkennung wurde ebenfalls von einem efferenten Einfluss auf die verbesserte Sprachwahrnehmung berichtet (Kumar und Vanaja 2004, Boer und Thornton 2008).

Darüber hinaus wird für Normal Säuger klassischerweise vorgeschlagen, dass die efferente Modulation des cochleären Verstärkers auch bei der selektiven Aufmerksamkeit eine Rolle spielt (Maison et al. 2001). Die selektive Aufmerksamkeit befähigt einen Organismus dazu, relevante Hörimpulse zu verarbeiten, während irrelevante ignoriert werden, da wegen begrenzter kognitiver Kapazitäten niemals alle Umgebungsreize gleichzeitig verarbeitet werden können. Die frequenzselektive Wirkung des MOC-Systems, wie sie in dieser Arbeit gezeigt

werden konnte, könnte folglich das gezielte Herausfiltern biologisch relevanter Nutzsignale aus störenden Umgebungsreizen ermöglichen.

Eine andere, in Fachkreisen bestehende Theorie zur Funktion des MOC-Systems besagt, dass die Kontrolle des cochleären Verstärkers vor allem in Hinblick auf die Verstärkung von leisen (ipsilateralen) Stimuluspegeln eintritt. In Konsequenz dessen würde der Dynamikbereich bei der Intensitätscodierung erweitert (Geisler 1974). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit könnten diese Annahme stützen, da die Fledermauscochleae ipsilateral vor allem mit leisen Stimuluspegeln, maximal jedoch mit 55 dB SPL stimuliert wurden und somit im leisen bis moderaten Pegelbereich lagen. Die Theorie steht aber in krassem Gegensatz zu einer weiteren mutmaßlichen Funktion der olivo-cochleären Efferenzen, nämlich ihrer Rolle bei dem Schutz der Cochlea vor zu lautem Schall (eine Übersicht findet sich bei Rajan 2000). Lauter Schall weist die Fähigkeit auf, die Haarsinneszellen der Cochlea zu schädigen, was sich sowohl in einem vorübergehenden Verlust der Hörsensitivität äußert (engl. *temporary threshold shift*) als auch zu einer permanenten Verletzung der Haarsinneszelle führen kann (Maison et al. 2002, Taranda et al. 2009). Generell ist vorstellbar, dass lauter Schall bei *C. perspicillata* dazu führt, dass olivo-cochleäre Efferenzen noch stärker wirken und somit eine Schutzfunktion ausüben, auch wenn sie bereits bei leisen Pegeln zu einer frequenzspezifischen Wirkung führen.

4.2.5 Schlussfolgerung

Die Befunde dieser Arbeit zeigen eine frequenzspezifische Modulation der Haarzellaktivität durch die medialen olivo-cochleären Efferenzen, die durch die Messung der $2f_1-f_2$ -Emission an *C. perspicillata* dokumentiert werden konnte. Dabei zeigte sich, dass CAS einen bislang in diesem Ausmaß bisher nicht festgestellten, supprimierenden Einfluss auf den cochleären Verstärker eines wachen, unbetäubten Tieres ausübte. Die Frequenzspezifität des CAS- Effekts bestand darin, dass Schmalbandrauschen, welches oberhalb der ipsilateralen Stimulusfrequenz gelegt wurde, eine deutlich stärkere Wirkung hatte, als Schmalbandrauschen an oder unterhalb der Stimulusfrequenzen. Diese Frequenzverschiebung zwischen CAS und ipsilateralem Stimulus ist gut vereinbar mit einer Verschiebung des Projektionsbereichs efferenter Neurone in Richtung basaler hochfrequenter Bereiche des Innenohrs, wie sie generell bei Säugern gefunden wurde.

Die biologische Funktion der MOC-Efferenzen ist nicht abschließend aufgeklärt. Im Falle von *C. perspicillata* erscheint eine frequenzselektive Feineinstellung der cochleären Verstärkungscharakteristik im Zusammenhang mit Echoortungsrufen als wahrscheinlich. Der MOC-Reflex weist neuen Arbeiten zufolge ein Potenzial auf, die binaurale Signallokalisation beeinflussen zu können. Signifikante Unterschiede in der OAE-Latenz (also in der Zeit, die zwischen der akustischen Anregung der Cochlea und der tatsächlichen Messung von OAE verstreicht) konnten in der Größenordnung von 5 % ermittelt werden (Francis und Guinan 2010). Dies entsprach einer Differenz von 0.5 ms, eine Größenordnung, die von dem menschlichen Gehör während des Richtungshörens ohne Schwierigkeiten wahrgenommen werden kann. Es ist also naheliegend, dass weitere Messungen zu der OAE-Latenz unter CAS bei einem Hörspezialisten wie *C. perspicillata* wichtige Einsichten in die verhaltensrelevanten Mechanismen des MOC-Reflexes liefern könnten.

DPOAE treten zwar nur als Nebenprodukt des nichtlinearen Transduktionsprozesses der OHC auf, ihre Messung eröffnet aber faszinierende Einblicke, vor allem auch wegen ihrer Nichtinvasivität. Schon heute dient sie in Form des sogenannten Neugeborenen Hör-Screenings zur standardisierten Bestimmung vom ordnungsgemäßen Funktionieren der OHC der Cochlea. Denkbar wäre, die Untersuchungen der olivo-cochleären Efferenzen durch CAS dergestalt weiterzuentwickeln, dass schließlich auch abnormale Aktivitäten des Hirnstamms aufgespürt werden können, bei denen das zentrale auditorische Nervensystem beteiligt ist. Schließlich besteht ein besonders großer Vorteil der DPOAE-Messung darin, dass diese Art der Emission die einzige ist, die man in den meisten Spezies und am Menschen nachweisen kann.

5. Literaturverzeichnis

- Abdala, C., Mishra, S.K., Williams, T.L. (2009) Considering distortion product otoacoustic emission fine structure in measurements of the medial olivocochlear reflex. *J Acoust Soc Am* 125: 1584-94.
- Abel, C. (2009) Neuronale Repräsentation intrinsischer cochleärer Signale im Colliculus inferior der Wüstenrennmaus. Dissertation, Goethe-Universität Frankfurt am Main.
- Abel, C, Wittekindt, A, Kössl, M (2009) Contralateral acoustic stimulation modulates low-frequency biasing of DPOAE: efferent influence on cochlear amplifier operating state? *J Neurophysiol* 101(5): 2362-71.
- Althen, H, Wittekindt, A, Gaese, B, Kössl, M, Abel, C (2012) Effect of contralateral pure tone stimulation on distortion emissions suggests a frequency-specific functioning of the efferent cochlear control. *J Neurophysiol* 107 (7): 1962-9.
- Ashmore, J. (2002) Biophysics of the cochlea - biomechanics and ion channelopathies. *Br Med Bull* 63: 59-72.
- Backus, B.C., Guinan, J.J. (2006) Time-course of the human medial olivocochlear reflex. *J Acoust Soc Am* 119: 2889-904.
- Bear, M.F., Barry, W.C., Paradiso M.A., (2001) *Neuroscience, Exploring The Brain*, Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins.
- Boege, P., Janssen, T. (2002) Pure-tone threshold estimation from extrapolated distortion product otoacoustic emission i/o-functions in normal and cochlear hearing loss ears. *J Acoust Soc Am* 111: 1810-8.
- Boer, J. de, Thornton, A.R.D. (2008). Neural correlates of perceptual learning in the auditory brainstem: efferent activity predicts and reflects improvement at a speech-in-noise discrimination task. *J Neurosci* 28: 4929-37.
- Borg, E., Counter, S.A. (1989) The middle-ear muscles. *Sci Am* (Aug).
- Büki, B., Wit, H.P., Avan, P. (2000) Olivocochlear efferent vs. middle-ear contributions to the alteration of otoacoustic emissions by contralateral noise. *Brain Res* 852: 140-50.
- Brinklöv, S., Jakobsen, L., Ratcliffe, J.M., Kalko, E.K.V., Surlykke, A. (2011) Echolocation call intensity and directionality in flying short-tailed fruit bats, *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). *JASA* 129 (1): 427-35.
- Brown, M.C. (1989) Morphology and response properties of single olivocochlear fibers in the guinea pig. *Hear Res* 40: 93-109.
- Brown, A., Kemp, D. (1984) Suppressibility of the $2f_1$ - f_2 stimulated acoustic emissions in gerbil and man. *Hear Res* 13: 29-37.

- Brown, G.J., Ferry, R.T., Meddis, R. (2010) A computer model of auditory efferent suppression: implications for the recognition of speech in noise. *J Acoust Soc Am* 127: 943-54.
- Brownell, W., Bader, C., Bertrand, D., de Ribaupierre, Y. (1985) Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Sci* 227: 194-6.
- Chéry-Croze, S., Moulin, A., Collet, L. (1993) Effect of contralateral sound stimulation on the distortion product $2f_1-f_2$ in humans: evidence of a frequency specificity. *Hear Res* 68: 53-8.
- Collet, L., Moulin, A., Morlet, T., Giraud, A.L., Micheyl, C., Chéry-Croze, S. (1994) Contralateral auditory stimulation and otoacoustic emissions: a review of basic data in humans. *Br J Audiol* 28: 213-8.
- Cooper, N.P., Guinan, J.J. (2003) Separate mechanical processes underlie fast and slow effects of medial olivocochlear efferent activity. *J Physiol* 548: 307-12.
- Cooper, N.P., Guinan, J.J. (2006) Efferent inhibition of the apical cochlea's mechanical responses to sound. *Assoc Res Otolaryngol Abstr* 2010: 34; 41.
- Dallos, P., Fakler, B. (2002) Prestin, a new type of motor protein. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 104-11.
- Dallos, P., He, D.Z., Lin, X., Sziklai, I., Mehta, S., Evans, B.N. (1997) Acetylcholine, outer hair cell electromotility, and the cochlear amplifier. *J Neurosci* 17(6): 2212-26.
- Deeter, R., Abel, R., Calandruccio, L., Dhar, S. (2009) Contralateral acoustic stimulation alters the magnitude and phase of distortion product otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 126: 2413-24.
- Duifhuis, H (1980) Level effects in psychophysical two-tone suppression. *J Acoust Soc Am* 67: 914-27.
- Dulon, D., Luo, L., Zhang, C., Ryan, A.F. (1998) Expression of small-conductance calcium-activated potassium channels (SK) in outer hair cells of the rat cochlea. *Eur J Neurosci* 10: 907-15.
- Elgoyhen, A.B., Johnson, D.S., Boulter, J., Vetter, D.E., Heinemann, S. (1994) Alpha 9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell* 79: 705-15.
- Elgoyhen, A.B., Vetter, D.E., Katz, E., Rothlin, C.V., Heinemann, S.F., Boulter, J. (2001) alpha10: a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 3501-6.
- Eybalin, M. (1993) Neurotransmitters and neuromodulators of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 73: 309-73.

- Faulstich, M., Kössl, M. (2000) Evidence for multiple DPOAE components based upon group delay of the $2f_1-f_2$ distortion in the gerbil. *Hear Res* 140: 99-110.
- Feng, A.S., Ratnam, R. (2000) Neural basis of hearing in real-world situations. *Annu Rev Psychol*, 51: 699-725.
- Fenton, M.B. (1985) *Communication in the Chiroptera*. Bloomington: Indiana University Press.
- Fettiplace, R. (2006) Active hair bundle movements in auditory hair cells. *J Physiol* 576: 29-36.
- Foeller, E., Kössl, M. (2000) Mechanical adaptations for echolocation in the cochlea of the bat *hipposideros lankadiva*. *J Comp Physiol A* 186 (9): 859-70.
- Francis, N.A., Guinan, J.J. (2010) Acoustic stimulation of human medial olivocochlear efferents reduces stimulus-frequency and click-evoked otoacoustic emission delays: Implications for cochlear filter bandwidths. *Hear Res* 267: 36-45.
- Frolenkov, G.I., Mammano, F., Belyantseva, I.A., Coling, D., Kachar, B. (2000) Two distinct Ca(2+)-dependent signaling pathways regulate the motor output of cochlear outer hair cells. *J Neurosci* 20: 5940-8.
- Geisler, C.D. (1974) Letter: Hypothesis on the function of the crossed olivocochlear bundle. *J Acoust Soc Am* 56:1908-9.
- Geisler, D. (1998) *From sound to synapse*. Oxford University Press, New York.
- Géléoc, G., Lennan, G., Richardson, G., Kros, C. (1997) A quantitative comparison of mechano-electrical transduction in vestibular and auditory hair cells of neonatal mice. *Proc Biol Sci* 264: 611-21.
- Gelfand, S.A. (1984) The contralateral acoustic-reflex threshold. In S. Silman (Hg.), *The acoustic reflex*. Academic Press Inc.
- Goldstein, E.B. (2002) *Wahrnehmungspsychologie*. M. Ritter (Hg.), Spektrum Akademischer Verlag.
- Gorga, M.P., Neely, S.T., Ohlrich, B., Hoover, B., Redner, J., Peters, J. (1997) From laboratory to clinic: a large scale study of distortion product otoacoustic emissions in ears with normal hearing and ears with hearing loss. *Ear Hear* 18: 440-55.
- Guinan, J.J. (2006) Olivocochlear efferents: anatomy, physiology, function, and the measurement of efferent effects in humans. *Ear Hear* 27: 589-607.
- Guinan, J.J., Warr, W.B., Norris, B.E. (1984) Topographic organization of the olivocochlear projections from the lateral and medial zones of the superior olivary complex. *J Comp Neurol* 226: 21-7.

- Gummer, M., Yates, G.K., Johnstone, B.M. (1988) Modulation transfer function of efferent neurones in the guinea pig cochlea. *Hear Res* 36: 41-51.
- Harel, N., Kakigi, A., Hirakawa, H., Mount, R.J., Harrison, R.V. (1997) The effects of anesthesia on otoacoustic emissions. *Hear Res* 110: 25-33.
- Hartley, D.J., Suthers, R.A. (1987) The sound emission pattern and the acoustical role of the noseleaf in the echolocating bat, *Carollia perspicillata*. *JASA* 82 (6): 1892-1900.
- Hatzopoulos, S., Petruccelli, J., Laurell, G., Finesso, M., Martini, A. (2002) Evaluation of anesthesia effects in a rat animal model using otoacoustic emission protocols. *Hear Res* 170: 12-21.
- Henson, O.W., Xie, D.H., Keating, A.W., Henson, M.M. (1995) The effect of contralateral stimulation on cochlear resonance and damping in the mustached bat: the role of the medial efferent system. *Hear Res* 86: 111-24.
- Hudspeth, A.J. (2000) Hearing. In J. S. Eric R. Kandel und T. Jessell (Hg.), *Principles of neural science* (Bd. 4th ed, Kap. Chapter 31). Elsevier.
- James, A.L., Mount, R.J., Harrison, R.V. (2002) Contralateral suppression of DPOAE measured in real time. *Clin Otolaryngol* 27: 106-12.
- Janssen, T., Gehr, D.D. (2003) Contralateral DPOAE suppression in humans at very low sound intensities. In A. W. Gummer (Hg.), *Biophysics of the cochlea: From molecules to models*. World Scientific, Singapore.
- Kawase, T., Delgutte, B., Liberman, M.C. (1993) Antimasking effects of the olivocochlear reflex. II. enhancement of auditory-nerve response to masked tones. *J Neurophysiol* 70: 2533-49.
- Kawase, T., Liberman, M.C. (1993) Antimasking effects of the olivocochlear reflex. I. enhancement of compound action potentials to masked tones. *J Neurophysiol* 70: 2519-32.
- Kemp, D.T. (1978) Stimulated acoustic emissions from the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 64: 1386-91.
- Kemp, D.T. (2002) Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull*, 63: 223-41.
- Kennedy, H.J., Crawford, A.C., Fettiplace, R. (2005) Force generation by mammalian hair bundles supports a role in cochlear amplification, *Nat* 433: 880-3.
- Klinke, R., Silbernagel, S. (1994) *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme, Stuttgart.
- Knight, R.D., Kemp, D.T. (2000) Indications of different distortion product otoacoustic emission mechanisms from a detailed f1, f2 area study. *J Acoust Soc Am* 107: 457-73.
- Koay, G., Heffner, R.S., Bitter, K.S., Heffner, H.E. (2003) Hearing in American leaf-nosed bats. II: *Carollia perspicillata*. *Hear Res* 178: 27-34.

- Kösssl, M. (1992) High frequency distortion products from the ears of two bat species, *Megaderma lyra* and *Carollia perspicillata*. *Hear Res* 60: 156-64.
- Kösssl, M. (1994) Otoacoustic emissions from the cochlea of the 'constant frequency' bats, *pteronotus parnellii* and *rhinolophus rouxi*. *Hear Res* 72: 59-72.
- Kösssl, M., Frank, G., Burda, H., Müller, M. (1996) Acoustic distortion product from the cochlea of the blind african mole rat, *cryptomys spec.* *J Comp Physiol A* 178(3): 427-34.
- Kösssl, M., Vater, M. (1985) The cochlear frequency map of the mustache bat, *pteronotus parnellii*. *J Comp Physiol* 157: 687-97.
- Kujawa, S.G., Liberman, M.C. (2001) Effects of olivocochlear feedback on distortion product otoacoustic emissions in guinea pig. *J Assoc Res Otolaryngol* 2: 268-78.
- Kujawa, S.G., Glatke, T.J., Fallon, M., Bobbin, R.P. (1993) Contralateral sound suppresses distortion product otoacoustic emissions through cholinergic mechanisms. *Hear Res* 68: 97-106.
- Kumar, U.A., Vanaja, C.S. (2004) Functioning of olivocochlear bundle and speech perception in noise. *Ear Hear* 25: 142-6.
- Lee, D.J., de Venecia, R.K., Guinan, J.J., Brown, M.C. (2006) Central auditory pathways mediating the rat middle ear muscle reflexes. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*: 288 (4): 358-69.
- Liberman, M.C. (1989) Rapid assessment of sound-evoked olivocochlear feedback: suppression of compound action potentials by contralateral sound. *Hear Res* 38: 47-56.
- Liberman, M.C., Brown, M.C. (1986) Physiology and anatomy of single olivocochlear neurons in the cat. *Hear Res* 24: 17-36.
- Liberman, M.C., Guinan, J.J. (1998) Feedback control of the auditory periphery: anti-masking effects of middle ear muscles vs. olivocochlear efferents. *J Commun Disord* 31: 471-82.
- Liberman, M.C., Puria, S., Guinan, J.J. (1996) The ipsilaterally evoked olivocochlear reflex causes rapid adaptation of the $2f_1-f_2$ distortion product otoacoustic emission. *J Acoust Soc Am* 99(6): 3572-84.
- Lilaonitkul, W., Guinan, J.J. (2009) Reflex control of the human inner ear: a halfoctave offset in medial efferent feedback that is consistent with an efferent role in the control of masking. *J Neurophysiol* 101(3): 1394-1406.
- Lisowska, G., Smurzynski, J., Morawski, K., Namyslowski, G., Probst, R. (2002) Influence of contralateral stimulation by two-tone complexes, narrowband and broadband noise signals on the $2f_1-f_2$ distortion product otoacoustic emission levels in humans. *Acta Otolaryngol*, 122: 613-19.

- Lonsbury-Martin, B.L., Martin, G.K., Probst, R., Coats, A.C. (1987) Acoustic distortion products in rabbit ear canal. i. basic features and physiological vulnerability. *Hear Res* 28: 173-89.
- Maison, S.F., Liberman, M.C. (2000) Predicting vulnerability to acoustic injury with a non-invasive assay of olivocochlear reflex strength. *J Neurosci* 20: 4701-7.
- Maison, S.F., Luebke, A.E., Liberman, M.C., Zuo, J. (2002) Efferent protection from acoustic injury is mediated via alpha9 nicotinic acetylcholine receptors on outer hair cells. *J Neurosci* 22: 10838-46.
- Maison, S., Micheyl, C., Andéol, G., Gallégo, S., Collet, L. (2000) Activation of medial olivocochlear efferent system in humans: influence of stimulus bandwidth. *Hear Res* 140: 111-25.
- Maison, S., Micheyl, C., Collet, L. (2001) Influence of focused auditory attention on cochlear activity in humans. *Psychophysiology* 38: 35-40.
- Mott, J.B., Norton, S.J., Neely, S.T., Warr, W.B. (1989) Changes in spontaneous otoacoustic emissions produced by acoustic stimulation of the contralateral ear. *Hear Res* 38: 229-42.
- Moulin, A., Collet, L., Duclaux, R. (1993) Contralateral auditory stimulation alters acoustic distortion products in humans. *Hear Res* 65: 193-210.
- Müller, J., Janssen, T., Heppelmann, G., Wagner, W. (2005) Evidence for a bipolar change in distortion product otoacoustic emissions during contralateral acoustic stimulation in humans. *J Acoust Soc Am* 118: 3747-56.
- Murata, K., Ito, S., Horikawa, J., Minami, S. (1986) The acoustic middle ear muscle reflex in albino rats. *Hear Res* 23: 169-83.
- Nuttall, A.L., Dolan, D.F. (1993) Two-Tone suppression of inner hair cell and basilar membrane responses in the guinea pig. *J Acoust Soc Am* 93: 390-400.
- Oliver, D., Klöcker, N., Schuck, J., Baukowitz, T., Ruppertsberg, J.P., Fakler, B. (2000) Gating of Ca²⁺-activated K⁺ channels controls fast inhibitory synaptic transmission at auditory outer hair cells. *Neuron* 26: 595-601.
- Oxenham, A.J., Bacon, S.P. (2003) Cochlear compression: perceptual measures and implications for normal and impaired hearing. *Ear Hear* 24: 352-66.
- Pang, X.D., Peak, W.T. (1986) How do contractions of the stapedius muscle alter the acoustic properties of the ear? In: Allen, J.B., Hall, J.L., Hubbard, A., Neely, S.T., Tubis, A. (eds) *Peripheral Auditory Mechanisms*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York: 36-43.
- Pilz, P.K., Ostwald, J., Kreiter, A., Schnitzler, H.U. (1997) Effect of the middle ear reflex on sound transmission to the inner ear of rat. *Hear Res* 105: 171-82.
- Pollak, G., Henson, O.W. (1973) Specialized functional aspects of the middle ear muscles in the bat, *Chilonycteris parnellii*. *J Comp Physiol A*, 84: 167-74.

- Probst, R., Lonsbury-Martin, B.L., Martin, G.K. (1991) A review of otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 89: 2027-67.
- Puel, J.-L., Rebillard, G. (1990) Effect of contralateral sound stimulation on the distortion product $2f_1-f_2$: Evidence that the medial efferent system is involved. *J Acoust Soc Am* 87 (4): 1630-5.
- Puria, S., Guinan, J.J., Liberman, M.C. (1996) Olivocochlear reflex assays: Effects of contralateral sound on compound action potentials versus ear-canal distortion products. *J Acoust Soc Am* 99 (1): 500-7.
- Rajan, R. (1995) Involvement of cochlear efferent pathways in protective effects elicited with binaural loud sound exposure in cats. *J Neurophysiol* 74: 582-97.
- Rajan, R. (2000) Centrifugal pathways protect hearing sensitivity at the cochlea in noisy environments that exacerbate the damage induced by loud sound. *J Neurosci* 20:6684-93.
- Rajan, R. (2007) Bandwidth dependency of cochlear centrifugal pathways in modulating hearing desensitization caused by loud sound. *Neurosci* 147: 1103-13.
- Reinfeldt, S., Stenfelt, S., Good, T., Håkansson, B. (2007) Examination of bone-conducted transmission from sound field excitation measured by threshold, ear-canal sound pressure, and skull vibrations. *J Acoust Soc Am* 121 (3): 1576-87.
- Relkin, E.M., Sterns, A., Azeredo, W., Prieve, B.A., Woods, C.I. (2005) Physiological mechanisms of onset adaptation and contralateral suppression of DPOAEs in the rat. *JARO* 6: 119-35.
- Ren, T. (2004) Reverse propagation of sound in the gerbil cochlea. *Nat Neurosci* 7: 333-4.
- Rhode, W.S. (2007) Distortion product otoacoustic emissions and basilar membrane vibration in the 6-9 kHz region of sensitive chinchilla cochleae. *J Acoust Soc Am* 122: 2725-37.
- Robles, L., Ruggero, M.A. (2001) Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 81 (3): 1305-52.
- Robles, L., Ruggero, M.A., Rich, N.C. (1997) Two-tone distortion on the basilar membrane of the chinchilla cochlea. *J Neurophysiol* 77: 2385-99.
- Roeser, R.J., Valente, M., Hosford-Dunn, H. (2000) *Audiology Diagnosis*. Thieme, New York.
- Russell, I.J. Murugasu, E. (1997) Medial efferent inhibition suppresses basilar membrane responses to near characteristic frequency tones of moderate to high intensities. *J Acoust Soc Am* 102: 1734-8.
- Schaaf, H., Klofat, B., Hesse, G. (2003) Hyperakusis, Phonophobie und Recruitment. *HNO* 51 (12):1005-11.

- Sharma, A., James, A.L., Mount, R.J., Harrison, R.V. (2007) Real Time Contralateral DPOAE Modulation Via the Olivocochlear Pathway. ARO Poster: 807.
- Shera, C.A., Guinan, J.J. (1999) Evoked otoacoustic emission arise by two fundamentally different mechanisms: a taxonomy for mammalia OAEs. *J Acoust Soc Am* 105: 782-98.
- Smith, J.L., Sterns, A.R., Prieve, B.A., Woods, C.I. (2008) Effects of anesthesia on DPOAE level and phase in rats. *Hear Res* 235: 47-59.
- Sridhar, T.S., Brown, M.C., Sewell, W.F. (1997) Unique postsynaptic signaling at the hair cell efferent synapse permits calcium to evoke changes on two time scales. *J Neurosci* 17: 428-37.
- Suga, N., Jen, P.H. (1975) Peripheral control of acoustic signals in the auditory system of echolocating bats. *J Exp Biol* 62: 277-311.
- Sun, X.-M. (2008) Contralateral suppression of distortion product otoacoustic emissions and the middle-ear muscle reflex in human ears. *Hear Res* 237: 66-75.
- Taranda, J., Maison, S.F., Ballestero, J.A., Katz, E., Savino, J., Vetter, D.E., Boulter, J., Liberman, M.C., Fuchs, P.A., Elgoyhen, A.B. (2009) A point mutation in the hair cell nicotinic cholinergic receptor prolongs cochlear inhibition and enhances noise protection. *PLoS Biol* 7, e18.
- Thies, W., Kalko, E.K.V., Schnitzler, H.-U. (1998) The roles of echolocation and olfaction in two Neotropical fruit-eating bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea*, feeding on *Piper*. *Behav Ecol Sociobiol* 42: 397-409.
- Vetter, D.E., Katz, E., Maison, S.F., Taranda, J., Turcan, S., Ballestero, J., Liberman, M.C., Elgoyhen, A.B., Boulter, J. (2007) The alpha10 nicotinic acetylcholine receptor subunit is required for normal synaptic function and integrity of the olivocochlear system. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(51): 20594-9.
- Veuille, E., Collet, L., Duclaux, R. (1991) Effect of contralateral acoustic stimulation on active cochlear micromechanical properties in human subjects: dependence on stimulus variables. *J Neurophysiol* 65: 724-35.
- Walsh, K.P., Pasanen, E.G., McFadden, D. (2010) Properties of a nonlinear version of the stimulus-frequency otoacoustic emission. *J Acoust Soc Am* 127: 955-69.
- Warr, W.B., Guinan, J.J., White, J.S. (1986) Organization of the efferent fibers: The lateral and medial olivocochlear systems. In: Altschuler, R.A., Hoffman, D.W., Bobbin, R.P., *Neurobiology of Hearing: Cochlea*, Raven Press, 18: 333-48.
- Wersinger, E., Fuchs, P.A. (2011) Modulation of hair cell efferents. *Hear Res* 279: 1-12.
- Whitehead, M.L., Martin, G.K., Lonsbury-Martin, B.L. (1991) Effects of the crossed acoustic reflex on the distortion-product otoacoustic emissions in awake rabbits. *Hear Res* 51: 55-72.

Wittekindt, A. (2009) Untersuchung der efferenten Beeinflussung der Innenohrfunktion durch Messung otoakustischer Emissionen. Dissertation, Goethe-Universität Frankfurt am Main.

Zheng, J., Shen, W., He, D.Z.Z., Long, K.B., Dallos, P. (2000) Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nat* 405: 149-55.

Zheng, Y., Ohyama, K., Hozawa, K., Wada, H., Takasaka, T. (1997) Effect of anesthetic agents and middle ear pressure application on distortion product otoacoustic emissions in the gerbil. *Hear Res* 112: 167-74

6. Anhang

Tabelle 2: Die mit Hilfe der Messung des besten Frequenzverhältnisses f_2/f_1 ermittelten Frequenzen f_1 aller sechs Versuchstiere bei den korrespondierenden Frequenzen f_2 . Das geometrische Mittel (GM) zwischen f_1 und f_2 wurde berechnet nach der Formel $GM = \sqrt{f_1 \cdot f_2}$. Es sind die Randfrequenzen der unterschiedlich breiten NBN (Berechnung in Oktaven) in Abhängigkeit ihrer verschiedenen Lage zu den Primärtönen angegeben. Alle Angaben in kHz.

f_2	f_1	GM	NBN tieffrequent			NBN zentriert			NBN hochfrequent		
			0,5 Oktaven	1 Oktave	1,5 Oktaven	0,5 Oktaven	1 Oktave	1,5 Oktaven	0,5 Oktaven	1 Oktave	1,5 Oktaven
20	16,7	18,3	11,1-15,7	7,8-15,7	5,5-15,7	15,4-21,7	12,9-25,8	10,9-30,7	21-29,7	21-42	21-59,4
20	17,6	18,7	11,7-16,6	8,3-16,6	5,9-16,6	15,8-22,3	13,3-26,5	11,1-31,5	21-29,7	21-42	21-59,4
20	16,7	18,3	11,1-15,7	7,8-15,7	5,5-15,7	15,4-21,7	12,9-25,8	10,9-30,7	21-29,7	21-42	21-59,4
20	16,1	18,0	10,7-15,1	7,6-15,1	5,3-15,1	15,1-21,4	12,7-25,4	10,7-30,2	21-29,7	21-42	21-59,4
20	16,4	18,1	10,9-15,4	7,7-15,4	5,4-15,4	15,2-21,5	12,8-25,6	10,8-30,4	21-29,7	21-42	21-59,4
20	16,7	18,3	11,1-15,7	7,8-15,7	5,5-15,7	15,4-21,7	12,9-25,8	10,9-30,7	21-29,7	21-42	21-59,4
40	33,4	36,5	22,9-32,4	16,2-32,4	11,5-32,4	30,7-43,4	25,8-51,7	21,7-61,4	41-57,9	41-82	41-116
40	37,1	38,5	25,5-36,1	18-36,1	12,7-36,1	32,4-45,8	27,2-54,5	22,9-64,8	41-57,9	41-82	41-116
40	33,9	36,8	23,3-32,9	16,5-32,9	11,6-32,9	31-43,8	26-52,1	21,9-61,9	41-57,9	41-82	41-116
40	33,9	36,8	23,3-32,9	16,5-32,9	11,6-32,9	31-43,8	26-52,1	21,9-61,9	41-57,9	41-82	41-116
40	33,9	36,8	23,3-32,9	16,5-32,9	11,6-32,9	31-43,8	26-52,1	21,9-61,9	41-57,9	41-82	41-116
40	32,8	36,2	22,5-31,8	15,9-31,8	11,2-31,8	30,4-43,1	25,6-51,2	21,5-60,9	41-57,9	41-82	41-116
60	54,5	57,2	37,8-53,5	26,8-53,5	18,9-53,5	48,1-68	40,5-80,9	34-96	61-86,3	61-122	
60	47,6	53,4	32,9-46,6	23,3-46,6	16,5-46,6	44,9-63,6	37,8-75,6	31,8-89,9	61-86,3	61-122	
60	47,6	53,4	32,9-46,6	23,3-46,6	16,5-46,6	44,9-63,6	37,8-75,6	31,8-89,9	61-86,3	61-122	
60	50,8	55,2	35,2-49,8	24,9-49,8	17,6-49,8	46,4-65,7	39,1-78,1	32,8-92,9	61-86,3	61-122	
60	47,6	53,4	32,9-46,6	23,3-46,6	16,5-46,6	44,9-63,6	37,8-75,6	31,8-89,9	61-86,3	61-122	
60	51,7	55,7	35,9-50,7	25,4-50,7	17,9-50,7	46,9-66,3	39,4-78,8	33,1-93,7	61-86,3	61-122	

Selbstständigkeitserklärung

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

Frankfurt, den 11. Oktober 2013