

**Cholinerge und GABAerge Modulationen der  
Frequenzselektivität und zeitlichen Abstimmung im  
primären auditorischen Kortex der  
Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*)**

**Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften**

**vorgelegt beim Fachbereich 15 (Biowissenschaften)  
der Johann Wolfgang Goethe Universität  
in Frankfurt am Main**

**von  
Dagmar Isheim  
aus Offenbach am Main**

**Frankfurt 2008  
D30**

Vom Fachbereich 15 (Biowissenschaften) der Johann Wolfgang Goethe  
Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. Volker Müller

Gutachter: Prof. Dr. Manfred Kössl  
PD Dr. Bernhard Gaese

Datum der Disputation: 24.10.2008

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>VI</b>
<b>1 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 EINLEITUNG.....</b>	<b>3</b>
2.1 BIOLOGIE UND LEBENSWEISE DER WÜSTENRENNMAUS .....	3
2.2 DIE HÖRBAHN .....	5
2.3 DER AUDITORISCHE KORTEX .....	6
2.4 NEURONALE ERREGUNG ALS INFORMATIONSTRÄGER .....	7
2.4.1 <i>Frequenzinformation in der mittleren neuronalen Aktivität.....</i>	8
2.4.2 <i>Zeitliche Information durch präzise zeitliche Kopplung an den Reiz.....</i>	9
2.5 WIRKUNG VON GABAERGEN UND CHOLINERGEN EINFLÜSSEN AUF DIE FREQUENZABSTIMMUNG IM AUDITORISCHEN KORTEX .....	11
2.6 ZEITLICHE VERÄNDERUNGEN UND GABAERGE INHIBITION IM AUDITORISCHEN KORTEX .....	14
2.7 FRAGESTELLUNG .....	15
<b>3 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>16</b>
3.1 ANÄSTHESIE .....	16
3.2 PRÄPARATION.....	17
3.3 LOKALE APPLIKATION VON PHARMAKA MITTELS IONTOPHORESE .....	18
3.4 ELEKTROPHYSIOLOGISCHE MESSUNGEN .....	21
3.5 VERSUCHSABLAUF UND DATENANALYSE.....	22
3.5.1 <i>Experimente zur Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen.....</i>	22
3.5.1.1 Akustische Stimulation und Messparameter zur Ermittlung der Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen .....	22
3.5.1.2 Analyse der Frequenz-Antwortbereiche .....	23
3.5.2 <i>Zeitliche Abstimmung und GABAerge Einflüsse .....</i>	24
3.5.2.1 Reizparadigma und Messparameter bei repetitiven Reizen .....	24
3.5.2.2 Versuchsprogramm bei repetitiven Reizen: Wiederholrate, Schalldruckpegel und GABAerger Einfluss .....	25
3.5.2.3 Analyse der Antworten auf repetitive Schallreize .....	26
<b>4 ERGEBNISSE ZUR PLASTIZITÄT DER FREQUENZ-ANTWORTBEREICHE UNTER DEM EINFLUSS VON ACh .....</b>	<b>28</b>
4.1 ALLGEMEINE CHARAKTERISIERUNG DER DATEN.....	28
4.2 EINFLUSS VON ACh AUF DIE SPONTANE NEURONALE AKTIVITÄT.....	30
4.3 EINFLUSS VON ACh AUF GRÖÖE UND FORM DER FREQUENZ-ANTWORT-BEREICHE.....	31
4.3.1 <i>Klassifikation des Einflusses von ACh auf Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche .....</i>	32
4.3.2 <i>Effekte von ACh auf die Neuronenpopulation in Abhängigkeit von der Dosis.....</i>	34
4.3.3 <i>Einfluss von ACh auf die Lage der Frequenz-Antwortbereiche .....</i>	37
4.4 EINFLUSS DES ACh AGONISTEN CARBACHOL AUF DIE EIGENSCHAFTEN DES FREQUENZ-ANTWORTBEREICHS.....	40
4.4.1 <i>Allgemeine Datenlage bei mit Carbachol behandelten Neuronen .....</i>	40
4.4.2 <i>Einfluss von Carbachol auf die Spontanrate.....</i>	41
4.5 VERTEILUNG DER ACh- UND CARBACHOL-EFFEKTE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER KORTIKALEN SCHICHT .....	41
4.5.1 <i>Änderung der Abstimmstärke der Frequenz-Antwortbereiche in Abhängigkeit von der kortikalen Schicht.....</i>	42
4.5.2 <i>Änderung der CF bei ACh Applikation im Bezug auf die Penetrationstiefe.....</i>	43
4.6 EINFLUSS DES ACh ANTAGONISTEN ATROPIN AUF DIE EIGENSCHAFTEN DER FREQUENZ-ANTWORTBEREICHE .....	44
4.6.1 <i>Einfluss von Atropin auf die Spontanrate.....</i>	44
4.6.2 <i>Einfluss von Atropin auf die Frequenz-Antwortbereiche: Beispielneurone .....</i>	44
4.6.3 <i>Einfluss von Atropin auf die Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche der Neuronenpopulation.....</i>	46

<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE ZUR ZEITLICHEN ABSTIMMUNG AUF REPETITIVE REIZE UND MÖGLICHER GABAERGER EINFLÜSSE .....</b>	<b>50</b>
5.1	ALLGEMEINE DATENLAGE.....	50
5.2	RATENINTENSITÄTSKENNLINIEN.....	51
5.3	ANTWORTCHARAKTERISTIK AUDITORISCHER NEURONE AUF UNTERSCHIEDLICHE TYPEN REPETITIVER REIZE UND DER EINFLUSS DER WIEDERHOLRATE .....	54
5.3.1	<i>Neuronale Antwort auf die drei Typen repetitiver Reize: SAM, repetitive Ton- und Rauschpulse</i>	54
5.3.2	<i>Einfluss der Wiederholrate auf die zeitliche Synchronisation und mittlere Aktivitätsrate der neuronalen Antwort.....</i>	56
5.3.3	<i>Verteilung der BMFs allgemein und differenziert nach Reiztypen.....</i>	59
5.4	DER EINFLUSS GABAERGER INHIBITION AUF DIE WIEDERHOLRATE .....	62
5.4.1	<i>Änderungen der mittleren neuronalen Aktivitätsrate .....</i>	62
5.4.2	<i>GABAerger Einfluss auf neuronale Antwortmuster bei repetitiven Reizen.....</i>	65
5.5	VARIATION DES SCHALLDRUCKPEGELS .....	69
5.5.1	<i>Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel.....</i>	69
5.5.2	<i>Abhängigkeit der neuronalen Aktivitätsrate vom Schalldruckpegel.....</i>	72
5.5.3	<i>Abhängigkeit vom Schalldruckpegel bei einzelnen Reintönen und repetitiven Reizen.....</i>	73
5.6	EINFLUSS GABAERGER INHIBITION AUF DIE ABHÄNGIGKEIT DER RATE UND SYNCHRONIZITÄT VOM SCHALLDRUCKPEGEL.....	73
5.6.1	<i>Einfluss von BIC auf die Abhängigkeit der Rate vom Schalldruckpegel.....</i>	74
5.6.2	<i>Einfluss von BIC auf die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel .....</i>	75
5.6.3	<i>GABAerger Einfluß auf die Steigung der neuronalen Aktivitätsrate: Betrachtung der einzelnen Reiztypen .....</i>	75
5.6.4	<i>GABAerger Einfluss auf die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel.....</i>	76
<b>6</b>	<b>DISKUSSION DER METHODEN UND ERGEBNISSE DER VERSUCHE MIT ACh .....</b>	<b>78</b>
6.1	METHODISCHE ÜBERLEGUNGEN.....	78
6.2	VERÄNDERUNGEN DER NEURONALEN AKTIVITÄT UNTER DEM EINFLUSS VON ACh.....	80
6.2.1	<i>ACh Einfluss auf die spontane neuronale Aktivität .....</i>	80
6.2.2	<i>ACh Einfluss auf die Größe und Form der rezeptiven Felder der Frequenz-Antwortbereiche.....</i>	82
6.2.3	<i>Einfluss von ACh auf die Abstimmsschärfe von Frequenz-Antwortbereiche .....</i>	83
6.2.4	<i>Einfluss von ACh auf MTs und CFs von Frequenz-Antwortbereichen.....</i>	85
6.3	EFFEKTE VON ACh IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DOSIS .....	86
6.4	EINFLUSS DES ACh AGONISTEN CARBACHOL AUF DIE SPONTANRATE UND DIE EIGENSCHAFTEN DER FREQUENZ-ANTWORTBEREICHE .....	87
6.4.1	<i>Einfluss von Carbachol auf die spontane neuronale Aktivität .....</i>	87
6.4.2	<i>Einfluss von Carbachol auf die Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche .....</i>	87
6.5	BETRACHTUNG DER ACh UND CARBACHOL EFFEKTE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER KORTIKALEN SCHICHT .....	88
6.6	EINFLUSS DES ACh ANTAGONISTEN ATROPIN AUF DIE SPONTANRATE UND DIE EIGENSCHAFTEN DER FREQUENZ-ANTWORTBEREICHE .....	88
6.6.1	<i>Einfluss von Atropin auf die spontane neuronale Aktivität .....</i>	89
6.6.2	<i>Einfluss von Atropin auf die Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche .....</i>	89
<b>7</b>	<b>DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER VERSUCHE MIT REPETITIVEN REIZEN.....</b>	<b>90</b>
7.1	EFFEKTE DER REINTONSTIMULATION .....	90
7.1.1	<i>Ratenintensitätskennlinien.....</i>	90
7.2	EINFLUSS DER WIEDERHOLRATE AUF DIE ANTWORTCHARAKTERISTIK FÜR DIE DREI TYPEN REPETITIVER REIZE .....	91
7.2.1	<i>Neuronale Antwort auf die drei Reiztypen: SAM, repetitive Ton- und Rauschpulse.....</i>	91
7.2.2	<i>Zeitliche Synchronisation der neuronalen Aktivitätsrate und allgemeine Aktivitätsrate bei unterschiedlichen Wiederholraten des Reizes.....</i>	92
7.2.3	<i>Verteilung der BMFs.....</i>	95
7.3	DER EINFLUSS GABAERGER INHIBITION AUF DIE NEURONALE ANTWORT AUF REPETITIVE REIZE.....	98
7.3.1	<i>Änderungen der neuronalen Aktivitätsrate.....</i>	98
7.3.2	<i>GABAerger Einfluss auf die neuronalen Antworten für repetitive Reize .....</i>	100
7.4	EFFEKTE DER VARIATION DES SCHALLDRUCKPEGELS .....	101
7.4.1	<i>Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel .....</i>	101
7.4.2	<i>Abhängigkeit der neuronalen Aktivitätsrate vom Schalldruckpegel.....</i>	105
7.4.3	<i>Vergleich neuronaler Aktivitätsratenänderung bei repetitiver und einzelner Reintonstimulation....</i>	107

---

7.5	EINFLUSS GABAERGER INHIBITION AUF DIE ABHÄNGIGKEIT DER RATE UND SYNCHRONIZITÄT VOM SCHALLDRUCKPEGEL.....	108
7.5.1	<i>Einfluss von BIC auf die Abhängigkeit der mittleren neuronalen Aktivitätsrate und Synchronisation vom Schalldruckpegel.....</i>	<i>108</i>
7.5.2	<i>GABAerger Einfluss auf die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel.....</i>	<i>111</i>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>112</b>
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>122</b>

**LEBENS LAUF**

**VERSICHERUNG**

## Abkürzungsverzeichnis

In der vorliegenden Arbeit verwendete Abkürzungen:

<b>A/D Wandler</b>	Analog Digital Wandler
<b>ACh</b>	Acetylcholin
<b>AM</b>	Amplitudenmodulation
<b>AN</b>	Hörnerv/ auditorischer Nerv
<b>AP</b>	Aktionspotential
<b>BIC</b>	Bicucullin
<b>BMF</b>	Beste Wiederholrate
<b>BP</b>	Bandpassfiltercharakteristik
<b>CF</b>	Charakteristische Frequenz
<b>CN</b>	Nucleus cochlearis
<b>dB</b>	Dezibel
<b>GABA</b>	$\gamma$ - Aminobuttersäure
<b>IC</b>	Colliculus inferior
<b>KCl</b>	Kaliumchlorid
<b>MGB</b>	Medialer Teil des Thalamus (engl.: <i>medial geniculate body</i> )
<b>MT</b>	Minimalschwelle (engl.: <i>minimal threshold</i> )
<b>n.s.</b>	Nicht signifikant
<b>PSTH</b>	Peri Stimulus Time Histogramm (engl.)
<b>Q<sub>10dB</sub></b>	Q-Wert 10dB über der Minimalschwelle
<b>Q<sub>30dB</sub></b>	Q-Wert 30dB über der Minimalschwelle
<b>rateITF</b>	Raten-Intensitätstransferfunktion
<b>rateMTF</b>	Raten-Modulationstransferfunktion
<b>SAM</b>	sinusamplitudenmoduliert
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>SPL</b>	Sound-Pressure-Level
<b>syncITF</b>	Synchronisation Intensitätstransferfunktion
<b>syncMTF</b>	Synchronisation Modulationstransferfunktion
<b>TP</b>	Tiefpassfiltercharakteristik

# 1 Zusammenfassung

Das Hörsystem analysiert komplexe Geräusche im Hinblick auf den Frequenzgehalt, die Lautstärke und zeitliche Muster. Die Sinneszellen in der Cochlea und nachfolgende Nervenzellen sind dabei nur jeweils für bestimmte Frequenzbereiche sensitiv. Diese Frequenzbereiche sind im Kortex räumlich geordnet repräsentiert (tonotope Anordnung).

In der vorliegenden Studie wurde der modulierende Einfluss von Acetylcholin auf die Frequenzabstimmung der Neurone im primären Hörkortex untersucht. Im primären Hörkortex von betäubten Wüstenrennmäusen (*Meriones unguiculatus*) wurden Einzel- und Mehrzelleableitungen in Elektrodenpenetrationen senkrecht zur Kortexoberfläche durchgeführt und die Antworteigenschaften der Neurone vor und während der iontophoretischen Applikation von Acetylcholin, dem Agonisten Carbachol bzw. dem muskarinischen Antagonisten Atropin gemessen.

Bei rund der Hälfte der gemessenen Neurone konnte ein cholinerges Einfluss auf die Frequenz-Antwortbereiche gemessen werden. Dabei können sich die Frequenz-Antwortbereiche unter dem Einfluss von Acetylcholin sowohl vergrößern als auch verkleinern, so dass für die gesamte Neuronenpopulation keine signifikante gerichtete Veränderung auftrat. Bereits bei den niedrigsten verwendeten Dosen von Acetylcholin waren maximale Effekte zu beobachten. Cholinerge Einflüsse in Form von Veränderungen der Frequenz-Abstimmkurven von Neuronen konnten in allen kortikalen Schichten gemessen werden.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit werden die neuronalen Antworten auf repetitive Schallereignisse, d.h. einfache zeitliche Muster, beschrieben. Für die Versuche wurden drei unterschiedlich zeitlich strukturierte Reize ausgewählt. Es handelte sich um sinusamplitudenmodulierte (SAM) Reize, sowie repetitive Ton- und Rauschpulse. SAM Reize und repetitive Tonpulse ähnelten sich in ihrem Frequenzgehalt. Die repetitiven Ton- und Rauschpulse wiesen ein identisches zeitliches Muster auf, das sich von SAM Reizen unterschied. Es wurden sowohl die Wiederholffrequenzen, als auch an der besten Wiederholffrequenz die Schalldruckpegel systematisch verändert. Zusätzlich erfolgte die iontophoretische Applikation von Bicucullin (BIC), um den möglichen Einfluss schneller GABAerger Inhibition zu ermitteln.

Während die neuronale Aktivitätsrate mit höheren Wiederholffrequenzen annähernd konstant blieb, war die Stärke der zeitlichen Synchronisation der neuronalen Aktivität von der

jeweiligen Wiederholffrequenz des repetitiven Reizes abhängig. Die zeitliche Synchronisation der neuronalen Aktivität sank in der Mehrheit der Neurone mit steigender Wiederholffrequenz drastisch ab (Tiefpasscharakteristik) und nur in einem Bruchteil der Neurone fanden sich einzelne Wiederholffrequenzen, die eine maximale Synchronisation auslösten (Bandpasscharakteristik). Die kortikalen Neurone zeigten unabhängig vom benutzten Reiztyp ein gutes neuronales Folgeverhalten auf repetitive Schallreize bis zu Wiederholffrequenzen von 15 – 30 Hz, mit besten Wiederholffrequenzen von 5 -10 Hz. Unter dem Einfluss von BIC war eine deutliche Veränderung der neuronalen Aktivitätsrate zu erkennen. Diese hatte jedoch weder einen Effekt auf die Synchronizität, noch auf die Repräsentation der Reiztypen. Eine einfache Inhibition im auditorischen Kortex fällt damit als Erklärung für die gemessenen neuronalen Aktivitätsmuster aus.

In der realen Umwelt können komplexe akustische Reize in sehr unterschiedlichen Schallintensitäten auftreten. Die reizsynchronisierte neuronale Aktivität erlaubt, ein zeitliches Muster innerhalb eines komplexen Reizes zu kodieren. Es wurde untersucht, inwieweit diese zeitliche Kodierung von der Schallintensität abhängt und inwieweit schnelle GABAerge Inhibition darauf einwirkt.

Es fand sich kein Zusammenhang zwischen der allgemeinen neuronalen Aktivitätsrate oder der neuronalen Synchronizität in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel. Allerdings konnte bei verschiedenen Neuronenpopulationen ein unterschiedliches Verhalten in der Synchronisation mit höheren Schalldruckpegeln bei Stimulation der Neurone mit SAM Reizen und repetitiven Tonpulsen festgestellt werden, das im Hinblick auf die sich verändernde Flankensteilheit bei höheren Schalldruckpegeln und den daraus resultierenden veränderten Interstimulusintervallen diskutiert wird.

Die Ergebnisse aus den Experimenten mit BIC und variierenden Schalldruckpegeln zeigten im Mittel keinen Einfluss der kortikalen Inhibition auf die Abhängigkeit der neuronalen Aktivitätsrate und der Synchronisation vom Schalldruckpegel. Allerdings fanden sich im Einzelfall Änderungen in der Synchronisation auf SAM Reize unter BIC. Insgesamt scheint der Einfluss der kortikalen Inhibition auf Veränderungen der neuronalen Antwort im Zusammenhang mit variierenden Schalldruckpegeln gering bzw. nicht vorhanden zu sein.

## 2 Einleitung

Der Hörsinn begleitet viele tierische Organismen auf Schritt und Tritt. Dabei ist der primäre Empfänger für Schallwellen das Ohr, dessen Leistungsfähigkeit beachtlich ist. So erfolgt die Sinneswahrnehmung über einen großen Intensitätsbereich. Häufig kann das leise Säuseln des Windes ebenso wie das lautstarke Donnern eines Gewitters vernommen werden. Auch bildet der Hörsinn unter anderem die Grundlage aller verbalen Kommunikation.

Im Tierreich haben sich im Laufe der Zeit zahlreiche, unterschiedlich komplex gestaltete Hörsysteme zur Schallwahrnehmung entwickelt. Damit Schall vom Organismus nicht nur mit geeigneten Sinnesorganen detektiert, sondern auch ein Informationsgewinn für einen Organismus über seine ihn umgebenden Umwelt möglich wird, bedarf es eines komplexen Systems von mit den Sinneszellen sowie untereinander vernetzter bzw. aufeinander abgestimmter Nervenzellen, die bei adäquatem Reiz spezifisch aktiviert werden können. Allgemein gesprochen erfolgt innerhalb des Hörsystems eine Analyse der Schallreize im Hinblick auf den Frequenzgehalt, zeitliche Muster und die Lautstärke (damit verbunden auch die räumliche Lokalisation).

Die Hörforschung konzentriert sich bei ihren Untersuchungen auf wenige Modellorganismen. Ein weit verbreitetes Objekt in der Hörforschung ist die Wüstenrennmaus.

### **2.1 Biologie und Lebensweise der Wüstenrennmaus**

Die mongolische Wüstenrennmaus *Meriones unguiculatus* (Milne-Edwards, 1867) gehört zur Familie Cricetidae in der Ordnung Rodentia. Sie wird systematisch der Unterfamilie Gerbillinae zugeordnet. Vom Namen der Unterfamilie leitet sich die in Laborkreisen übliche Bezeichnung Gerbil ab.

Bei Wüstenrennmäusen handelt es sich um Nager, die eine Kopf-Rumpflänge von 10 - 12cm aufweisen. Die ausgewachsenen Tiere wiegen im Schnitt zwischen 50 – 90g. Männliche Tiere wiegen dabei in der Regel etwas mehr als weibliche Tiere. Ihre Körpertemperatur beträgt 37 - 39°C, die normale Atemfrequenz liegt bei 70 - 120 Zügen pro Minute (Ochse 2004).

Wüstenrennmäuse werden nach 2-3 Monaten geschlechtsreif (♀ 65 - 85 Tage nach der Geburt (P65 - P85) und ♂ P70 - P85). Die Reproduktionsphase hält im Schnitt 20 Monate an. Die Tragzeit der Jungen dauert 21 - 26 Tage (Fryatt Gulotta 1971). In der Regel liegt die Wurfgröße bei 4 - 6 Jungtieren. Die kurze Tragzeit erweist sich bei der Zucht als großer Vorteil. So lassen sich in kurzer Zeit viele Labortiere „produzieren“.

Die Art ist vor allem in der Mongolei und in angrenzenden Gebieten von China und Russland verbreitet, wo sie hauptsächlich in Steppen und Halbwüsten lebt. Die Tiere sind gut an ihren Lebensraum angepasst: sie weisen eine hohe Toleranz für Temperatur- und Feuchtigkeitsschwankungen auf. Außerdem sind Wüstenrennmäuse in der Lage ihren Feuchtigkeitsbedarf über Nahrung und Tau zu decken (Bannikov 1953), gleichzeitig werden sowohl dem Urin als auch dem Kot Wasser entzogen. Diese hohe Anpassungsfähigkeit an schwankende Umweltbedingungen und geringe Nahrungsansprüche haben die Wüsterenmmaus zu einem beliebten Labortier gemacht. Der erste Laborstamm wurde bereits 1935 in Japan etabliert.

Für die Entwicklung des Hörsystems bei Wüstenrennmäusen gilt, dass bei der Geburt die Ohrmuschel des Tieres noch gefaltet und geschlossen ist. Sie öffnet sich im Zeitraum von P2 - P5. Der Hörbeginn wird in der Literatur mit P12 (Waiblinger 2004) bzw. P16 (Fryatt Gulotta 1971) angegeben. In einer grundlegenden Arbeit hat Ryan (1976) eine Hörschwelle im Verhalten bestimmt, die einen Frequenzbereich von 100 Hz bis 60 kHz abdeckt. Die Hörschwelle ist besonders sensitiv im Bereich von 1 - 8 kHz (Ryan 1976) bzw. 3 - 5 kHz (Fryatt Gulotta 1971). Damit ist die Hörschwelle der Wüstenrennmaus im tieffrequenten Bereich deutlich sensitiver, als die Hörschwellen von anderen Nagetieren vergleichbarer Größe (Ratte, Maus). Diese Sensitivität im tieffrequenten Hörbereich wird durch die deutliche, anatomische Vergrößerung der Bullae und damit des Resonanzvolumens im Mittelohrraum erreicht (Ryan 1976, Plassmann und Kadel 1991) und als Anpassung an ein Habitat mit hohen, durch Wind verursachten, Rauschanteilen betrachtet, die mögliche Geräusche bei Annäherungen von Räubern im tieffrequenten Bereich maskieren könnten. (Plassmann, persönliche Kommunikation)

Die Hörschwelle der Wüstenrennmaus stimmt im tieffrequenten Bereich in etwa mit der Hörschwelle des Menschen überein. Zusätzlich zu ihren sonstigen Vorteilen in der einfachen Haltung als Labortier, ist die Wüstenrennmaus wohl auch deswegen eines der etablierten Tiermodelle in der Hörforschung.

Obwohl Wüstenrennmäuse beliebte Labortiere in der Hörforschung sind, ist sehr wenig über ihre arttypische Kommunikation bekannt. So weiß man, dass sie bei Aufregung im Sinne von Gefahr oder sexueller Erregung mit rhythmischem Klopfen der Hinterläufe auf den Boden kommunizieren. Das Trommeln kann einige Sekunden andauern oder sich auch über Minuten erstrecken. Für die Wahrnehmung dieser rhythmischen Trommelgeräusche muss davon ausgegangen werden, dass Wüstenrennmäuse insbesondere im tieffrequenten Hörbereich über eine gute neuronale Verarbeitung zeitlicher Aspekte von Schallreizen verfügen. Neben dem

Trommeln lassen sich nach Yapa (1994) bei adulten Tieren vier Verhaltenssituationen feststellen, bei denen Laute eine Rolle spielen.

Dabei handelt es sich um:

- 1) Laute während aggressivem Verhalten,
- 2) Laute während der Störung der Nahrungsaufnahme durch einen Artgenossen,
- 3) Laute während der Kopulation und
- 4) Alarmlaute bei Gefahr (Yapa 1994).

Die beiden erstgenannten Laute liegen in einem Frequenzbereich von 3 – 14 kHz. Kopulationslaute lassen sich in eine Ultraschallkomponente und in tieferfrequente, multiharmonische Frequenzbänder unterteilen. Alarmlaute bestehen in der Regel ausschließlich aus einem Reinton im Bereich von 20 – 26 kHz. Sie sind damit deutlich hochfrequenter als die anderen Laute, wenn man von den Ultraschallkomponenten während der Kopulation absieht.

Jungtiere produzieren insgesamt deutlich höherfrequente Laute über 45 kHz. Es dürfte sich hierbei um Isolationslaute handeln, wie sie auch von Jungtieren anderer Nagetiere bekannt sind. Die gemessenen Laute von Jungtieren weisen zudem oft am Anfang oder Ende zusätzliche periodische Frequenzmodulationen auf (Ochse 2004, Yapa 1994), deren Funktion bisher unbekannt ist.

Es ist davon auszugehen, dass periodische Modulationen, wie sie häufig als Testreiz in der Hörforschung eingesetzt werden, für Wüstenrennmäuse verhaltensrelevant sein können. Auch sollten Mechanismen zur zeitlichen Mustererkennung im Hörsystem etabliert sein, um die repetitiven Trommelsignale verarbeiten zu können, wenn man davon ausgeht, dass es sich dabei auch um einen akustischen Reiz und nicht nur einen Vibrationsreiz handelt.

## **2.2 Die Hörbahn**

Der Weg der Schallverarbeitung vom primären Auftreffen des Schalls auf das Sinnesorgan Ohr bzw. eine adäquate Sinneszelle bis zur finalen Verarbeitung im auditorischen Kortex umfasst bei Säugetieren mehrere Zwischenstationen (Heldmaier und Neuweiler 2003). Dabei wird ein Schallereignis bei der neuronalen Analyse in verschiedene Frequenzbereiche aufgeteilt und zeitlich präzise bis zum auditorischen Kortex weitergeleitet.

Schall wird zunächst durch die Ohrmuschel gebündelt und über den Gehörgang auf das Trommelfell geleitet. Dieses wird von Schallwellen in Schwingungen versetzt und die Bewegung wird über die drei Gehörknöchelchen (Hammer, Amboß, Steigbügel) im Mittelohr,

an das ovale Fenster, dem Eingang in die flüssigkeitsgefüllten Räume der Hörschnecke (Cochlea) übertragen. Die zwischen dem ovalen Fenster und dem runden Fenster liegende Basilarmembran wird ausgelenkt. Die spezifischen Materialeigenschaften der Basilarmembran führen zu einer ortsspezifischen Auslenkung eines Teils der Membran in Abhängigkeit von der Frequenz des ursprünglichen Schallreizes. Hohe Frequenzen führen zu einer Auslenkung der Basis und tiefe Frequenzen zu einer Auslenkung des Apex der Basilarmembran. Die dabei entstehende Tonotopie wird bei allen nachgeschalteten Verarbeitungsstationen innerhalb der Hörbahn beibehalten.

Die eigentliche Reiztransduktion des Schallreizes in einen elektrischen Impuls im Nervensystem erfolgt durch ein mechanisches Abknicken der Stereozilien der Haarsinneszellen. Dies wird möglich, da die Basilarmembran, mit dem Corti Organ und den darin enthaltenen Haarsinneszellen, andere Schwingungseigenschaften aufweist, als die auf den Haarzellen aufliegende Tektorialmembran. Das Abscheren der Stereozilien führt zur Öffnung von Kationenkanälen und daran anschliessend zu einer Depolarisation der Haarsinneszelle und Transmitterausschüttung. Dadurch werden die Dendriten der Spinalganglienneurone erregt und Aktionspotentiale an das Stamm- und Mittelhirn und von dort zum Thalamus und auditorischen Kortex weitergeleitet. Informationen über Intensität, Frequenzgehalt des ursprünglichen Schallreizes, sowie den zeitlichen Verlauf des Reizes bleiben dabei erhalten. Bereits im Stamm- und Mittelhirn erfolgt im Hörsystem eine komplexe Verarbeitung neuronaler Eingänge, um z.B. die Position einer Schallquelle im Raum korrekt detektieren zu können. Dazu werden sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Informationen miteinander verrechnet. Abschließende Verrechnungen, sowie die Erkennung und Wahrnehmung komplexer Muster (z.B. Melodien) erfolgen dann im auditorischen Kortex.

### ***2.3 Der auditorische Kortex***

Der auditorische Kortex besteht bei Säugetieren in der Regel aus mehreren Feldern, die man anhand ihrer unterschiedlichen Zytoarchitektur und neuronalen Verschaltung, sowie damit einhergehenden physiologischen Charakteristika unterscheiden kann. Die topographische Organisation des auditorischen Kortex bei Wüstenrennmäusen wurde im Detail studiert (Scheich et al. 1993, Thomas et al. 1993, Budinger et al. 2000a und Budinger et al. 2000b). Es finden sich mindestens sieben unterschiedliche Felder. Vier dieser Felder sind tonotop organisiert. Das größte der tonotop strukturierten Felder wird als primärer auditorischer

Kortex oder primärer auditorischer Kortex bezeichnet und weist eine Repräsentation von hohen Frequenzen im rostralen und tiefen Frequenzen im caudalen Bereich auf. Fast alle Eingänge aus dem auditorischen Thalamus enden im primären auditorischen Kortex.

Neben der Strukturierung in Felder kann der auditorische Kortex noch in Kolumnen untergliedert werden. Solche Kolumnen sind für den visuellen Kortex besonders gut dokumentiert, doch finden sie sich auch im auditorischen Kortex (Thomas et al. 1993, Ehret 1997 und Foeller et al. 2001) und in anderen kortikalen Bereichen, so dass man von einem allgemeinen Strukturierungsprinzip innerhalb der Großhirnrinde ausgehen kann. Innerhalb einer Kolumne können Rückmeldeschleifen und weitere lokale Verschaltungen auftreten. Neurone innerhalb einer Kolumne haben eine ähnliche charakteristische Frequenz (CF) (Sugimoto et al. 1997, Foeller et al. 2001). Bei der CF handelt sich um die Frequenz, bei der das Neuron die sensitivste Schwellenantwort zeigt.

Der Kortex besteht aus sechs Schichten, die sich aufgrund unterschiedlicher Zelltypen und Verschaltungsmuster, sowohl kortikokortikaler, als auch subkortikaler Art, unterscheiden lassen. Neuronale exzitatorische Eingänge aus dem Thalamus (MGB) enden an Synapsen in Schicht vier und werden von dort zunächst zu den Schichten eins, zwei und drei, sowie von da aus zu den tieferen Schichten fünf und sechs verschaltet. Während Pyramidenzellen in Schicht fünf mit ihren Axonen zu subkortikalen Verarbeitungszentren, wie MGB oder Colliculus inferior (IC), projizieren, enden die Fortsätze von Pyramidenzellen aus Schicht sechs in kontralateralen Teilen des Kortex. Diese ausgehenden Projektionen aus den tieferen kortikalen Schichten sind exzitatorisch. Eine Modulation kortikaler Information erfolgt über inhibitorische Interneurone.

## ***2.4 Neuronale Erregung als Informationsträger***

Die Wahrnehmung akustischer Reize basiert vor allem auf der Analyse der Schallreize im Hinblick auf den Frequenzgehalt und zeitliche Muster, da die Vokalisationen der meisten Tierarten charakteristische Veränderungen in der Frequenz und Amplitude über die Zeit aufweisen. Bei letzterem werden dabei vor allem periodische und nicht-periodische Modulationen, Repetitionsraten und die Dauer von Reizen analysiert. Nach wie vor ist jedoch unklar, wie genau diese Reizparameter neuronal kodiert werden, so dass ein Reiz vom Organismus adäquat verarbeitet werden und zu einer Verhaltensreaktion führen kann. Häufig finden sich zwei verschiedene Möglichkeiten, Parameter eines Schallreizes zu kodieren. So werden in der zentralen Hörbahn einige Parameter eines Schallreizes (z.B. Frequenzgehalt)

durch die mittlere neuronale Aktivität der Neurone kodiert. Dies führt in Kombination mit der über die Hörbahn hinweg konservierten räumlichen Anordnung (Tonotopie) auch zu spezifischen rezeptiven Feldern im auditorischen Kortex. Unter einem rezeptiven Feld versteht man den Frequenzbereich bei dem ein, für eine Frequenz besonders sensibles, Neuron aktiviert werden kann. Zeitliche Änderungen innerhalb eines Schallreizes bleiben bei dieser Kodierungsmöglichkeit erhalten, ohne dass sich dies in einer veränderten mittleren neuronalen Aktivität ablesen lässt. Eine andere Art der Kodierung ist die präzise zeitliche Kopplung der neuronalen Aktivität an den Schallreiz. Dies kann zumindest bei langsamen zeitlichen Änderungen im auditorischen Kortex festgestellt werden. Für einen guten Überblick über die Thematik speziell im Hörsystem sei auf den Übersichtsartikel von Eggermont (2001) verwiesen. Die neuronale Aktivität im Kortex wird auf der zellulären Ebene zum einen durch die anatomischen Eigenschaften der Nervenzellen und zum anderen durch ihre Position innerhalb der neuronalen Verschaltung bestimmt. Zudem wirken sich interne Zustände des Organismus (schlafend, wach und aufmerksam etc.) auf die Sensitivität der Nervenzellen aus (Eggermont 2001).

#### **2.4.1 Frequenzinformation in der mittleren neuronalen Aktivität**

Die neuronale Aktivitätsrate steigt nach der Präsentation von akustischen Reizen meist erheblich an. Dabei finden sich z.B. Neurone, die eine erhöhte neuronale Aktivität in Reaktion auf den Beginn eines akustischen Reizes aufweisen, ebenso wie Neurone, die über die gesamte Dauer eines Reizes eine erhöhte neuronale Aktivität zeigen oder nur eine erhöhte neuronale Aktivität nach Ende des akustischen Reizes aufweisen. Zudem finden sich Hinweise, dass die Lautstärke eines Schallreizes in der mittleren neuronalen Aktivität kodiert sein könnte (Krishna und Semple 2000).

Dabei erhöht sich die mittlere neuronale Aktivität in Abhängigkeit vom Reiz nicht in allen Neuronen gleichzeitig, sondern nur in denen, die z.B. für einen bestimmten Frequenzbereich besonders sensitiv sind. Diese sind wiederum mit nachfolgenden Neuronen so verschaltet, dass die Information über die Frequenz bis in die zentrale Hörbahn und den auditorischen Kortex erhalten bleibt. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von einer „labeled line“ Kodierung (Kandel, Schwartz, Jessel 2000), was man hier am besten mit geordneter, räumlicher Kodierung übersetzen könnte.

Neurone werden erst bei einem überschwelligem Schallreiz aktiv. Präsentiert man systematisch Schallreize in einer Kombination von Frequenzbereich und Schallpegel und misst die reizinduzierte, mittlere neuronale Aktivität, so erhält man eine Abstimmkurve bzw.

einen Frequenz-Antwortbereich eines Neurons. Es zeigt sich dabei eine Abhängigkeit vom Lautstärkepegel. Je lauter ein Schallreiz ist, umso größer wird der Frequenzbereich, der ein einzelnes Neuron aktivieren kann. Dadurch ergibt sich häufig ein V-förmiger Frequenz-Antwortbereich, mit einer hohen Frequenzspezifität des Neurons für leise Schalldruckpegel und einer Sensitivität für einen breiteren Frequenzbereich bei hohen Schalldruckpegeln.

Die Ausprägung rezeptiver Felder im auditorischen Kortex kann dabei in Abhängigkeit von bestimmten Reizparametern verändert werden (Kilgard und Merzenich 1998a, Phillips et al. 1985). Plastische Veränderungen rezeptiver Felder stellen für den Organismus eine Möglichkeit dar, sich an verändernde Umwelt- bzw. wechselnde Lebensbedingungen anzupassen.

#### **2.4.2 Zeitliche Information durch präzise zeitliche Kopplung an den Reiz**

Neben der mittleren neuronalen Aktivitätsrate können zeitliche Änderungen auch durch eine reiz-synchronisierte neuronale Aktivität kodiert werden. Zeitliche Änderungen in Reizen (z.B. das Trommeln bei Wüstenrennmäusen) basieren dabei im Wesentlichen auf einer veränderten Schallintensität.

Die Analyse der zeitlichen Präzision von Schallreizen spielt bereits im Stammhirn eine entscheidende Rolle bei der binauralen Verarbeitung von akustischen Ereignissen im Hinblick auf die Lokalisation einer Schallquelle und bei der Wahrnehmung von Rhythmus und Tonhöhe im Mittelhirn (Langner 1992). Im Hinblick auf die Kodierung von modulierten und repetitiven Reizen im auditorischen Kortex wird die Ausbildung von zeitlich synchronisierten neuronalen Antworten diskutiert (Gaese und Ostwald 1995). Dabei sinkt das neuronale Folgeverhalten mit hohen Repetitions- bzw. Modulationsraten ab (Eggermont 1998, Müller-Preuss et al. 1994, Møller und Rees 1986). Zudem kann man von der Peripherie zum Kortex eine kontinuierliche Reduzierung der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate auf repetitive Schallereignisse feststellen (Langner 1992, Frisina 2001). Während repetitive Schallreize von bis zu 1000 Hz im auditorischen Nerv durch zeitlich synchronisierte neuronale Aktivität kodiert werden (Møller und Rees 1987), liegen die durch synchronisierte neuronale Aktivität kodierten Schallereignisse im auditorischen Kortex um mehr als eine Zehnerpotenz niedriger.

Trotz einer Reihe von Untersuchungen ist dieses Phänomen noch immer nicht vollständig verstanden. Häufig wird als Erklärung Inhibition angeführt (Schreiner und Raggio 1996). Inwieweit zudem die Lautstärke einen Einfluss auf die neuronale Kodierung von repetitiven Schallereignissen hat, ist bisher für den auditorischen Kortex ebenfalls nicht abschließend

geklärt. Sowohl im Hörnerv als auch im Nucleus cochlearis wird die Umhüllende eines modulierten Reizes besonders robust bei niedrigen Schalldruckpegeln kodiert und nur wenige Neurone behalten diese Fähigkeit auch bei höheren Schalldruckpegeln bei (Rhode und Greenberg 1994). Ähnliches wäre für den auditorischen Kortex denkbar. Es wird allgemein angenommen, dass Hintergrundgeräusche sich auf den zu detektierenden Reiz negativ auswirken und Neurone dementsprechend bei einer Verschlechterung des Signal-Rauschverhältnisses die Kodierungsfähigkeit auf lautere Schalldruckpegel ausweiten (Rhode und Greenberg 1994) oder zumindest verändern (Rees und Palmer 1989) können.

Bisher beziehen sich die diesbezüglichen Überlegungen weitgehend auf die Verarbeitung von Amplitudenänderungen bei sinusamplitudenmodulierten Reizen (SAM Reizen) im Stamm- und Mittelhirn und weniger im Kortex.

Es ist jedoch bekannt, dass die Periodizität von SAM Reizen im auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus unabhängig von der Verarbeitung spektraler Anteile eines Schallreizes kodiert werden kann (Schulze und Langner 1997) und schnelle Inhibition durch den Neurotransmitter  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) modulierend auf die neuronale Kodierung von Periodizität im Kortex wirkt (Schulze und Langner 1999). Einschränkend muss man festhalten, dass nur in wenigen (8 – 17 %) der gemessenen Neurone eine neuronale zeitliche Synchronisation auf einen modulierten Schallreiz, dessen Parameter innerhalb des rezeptiven Feldes eines Neurons liegen, im auditorischen Kortex festgestellt werden kann (Schulze und Langner 1999). Die zeitliche Synchronisation kann durch eine Blockierung von schneller GABAerger Inhibition verbessert werden. Dabei vergrößert sich zum einen das Spektrum von Modulationsfrequenzen, für die ein Neuron sensitiv ist und zum anderen kann ein Neuron während der Blockierung von schneller GABAerger Inhibition auch noch bei höheren Trägerfrequenzen des SAM Reizes aktiviert werden (Schulze und Langner 1999). Die Stärke der Synchronisation muss dabei nicht zwingend mit einer veränderten mittleren Aktivität einhergehen. Interessant ist die Beobachtung, dass bei Modulationsraten über 100 Hz und außerhalb des rezeptiven Feldes sich in Neuronen eine spezifisch erhöhte mittlere neuronale Aktivität findet (Schulze und Langner 1997), deren Ursache entweder in einem Kodierungsmechanismus für Periodizität (Schulze und Langner 1997) oder in der neuronalen Repräsentation eines Verzerrungsproduktes des Innenohres (Abel und Kössl. 2006) zu suchen ist.

## **2.5 Wirkung von GABAergen und cholinergen Einflüssen auf die Frequenzabstimmung im auditorischen Kortex**

Kortikale Neurone erhalten einen frequenzspezifischen Eingang aufgrund der tonotopen Organisation des aufsteigenden Hörsystems. Die entsprechenden rezeptiven Felder der Neuronen sind jedoch nicht statisch fixiert, sondern können in verschiedenen Verhaltenssituationen verändert werden. Derartige neuronale Plastizität könnte von modulierenden Neurotransmittern vermittelt werden.

Neben 60 - 80 % exzitatorischen Neuronen findet sich ein Anteil von 20 – 40 % inhibitorischer Neurone im auditorischen Kortex (Markram et al. 2004). Der hauptsächliche inhibitorische Neurotransmitter ist GABA (chemische Formel:  $\text{OOC} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_3^+$ ). Solche GABAergen Neurone und entsprechende Rezeptoren sind ein integraler Bestandteil der kortikalen Organisation und regulieren die allgemeine kortikale Erregbarkeit. GABAerge Neurone formen neuronale rezeptive Felder und Antworteigenschaften entscheidend mit. (im auditorischen Kortex: Chen und Jen 2000, Foeller 2001, Marsch 2003; im IC: Jen und Feng 1999, Vater et al. 1992) Dabei können die GABAergen Neurone deutlich in ihrer Zytoarchitektur, d.h. z.B. in der Ausprägung der Dendritenbäume, Morphologie des Axons, etc. variieren. (Markram et al. 2004). Die zelluläre Ebene ist schon sehr eingehend untersucht worden und es existiert ein klares Bild davon, wie schnelle GABAerge Inhibition die Frequenz-Antwortbereiche einzelner Neurone in ihrer Form und Ausprägung beeinflusst (Foeller 2001, Wang et al. 2002). So verengt GABA insbesondere bei höheren Schalldruckpegeln den Frequenzbereich für den ein Neuron sensitiv ist. Einige Neurone, sogenannte „silent neurons“, zeigen gar erst unter der Gabe des GABA<sub>a</sub> Antagonisten Bicucullin (BIC), mit dem die schnelle GABAerge Inhibition unterbunden werden kann, überschwellige neuronale Antworten auf Reintöne als Schallsignale (Foeller et al. 2001).

Acetylcholin (ACh) spielt eine wichtige modulierende Rolle, um rezeptive Felder im auditorischen Kortex plastisch zu verändern (Kilgard und Merzenich 1998b, Weinberger und Bakin 1998) und damit letztlich auch eine Anpassung eines Organismus an veränderte Lebensbedingungen zu ermöglichen.

ACh als Neurotransmitter ist aus dem peripheren Nervensystem insbesondere an Synapsen der neuromuskulären Endplatte, d.h. an der Schnittstelle von Nervenzelle und Muskel bekannt. Die Rolle von ACh (chemische Formel:  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CO} - \text{CH}_3$ ) im Kortex ist bisher nicht eindeutig geklärt. Man geht davon aus, dass ACh die synaptische Aktivität im Kortex reguliert und moduliert (Ego-Stengel et al. 2001, Greuel et al. 1988, Kilgard und Merzenich 1998b, Metherate und Hsieh 2003, Sarter und Bruno 1997), indem es

mit daran beteiligt ist, kortikale Netzwerke strukturell und funktional zu verändern (Gu 2003). Seine Wirkung muss dabei zeitlich sehr begrenzt sein, da ACh im synaptischen Spalt relativ schnell von einer Esterase in seine beiden Hauptbestandteile (Cholin und AcetylCo A) abgebaut wird. Cholinerge Projektionen ziehen aus dem Nucleus basalis in weite Teile des Neokortex, so auch den auditorischen Kortex.

Aus Verhaltensversuchen bei Nagern, bei denen der Nucleus basalis läsiert oder elektrisch stimuliert wurde, ist bekannt, dass ACh mit Lern- und Aufmerksamkeitsprozessen in Zusammenhang gebracht werden muss (Weinberger und Bakin 1998, Kilgard und Merzenich 1998b). Cholinerge Projektionen aus dem Nucleus basalis führen im auditorischen Kortex zu plastischen Veränderungen von neuronalen, rezeptiven Feldern (Bakin und Weinberger 1996, Ji et al. 2001, Kilgard 2005, Metherate et al. 1988). Ebenso kann eine Konditionierung von Neuronen, bei der über einen Zeitraum von 60 Minuten eine elektrische Stimulation von Neuronen bei gleichzeitiger, pharmakologischer Gabe von ACh erfolgt, zu einer plastischen Veränderung rezeptiver Feldeigenschaften (Veränderung der Abstimmstärke und CF) führen (Chen und Yan 2007, Ma und Suga 2005). Auch erweist sich eine langfristige Konditionierung mit zwei, im Frequenzgehalt deutlich unterschiedlichen, Tönen erfolgreicher als eine Konditionierung mit repetitiven Reizen (Kilgard und Merzenich 1998b). Ein direkter, unmittelbarer cholinergischer Effekt auf die spontane Aktivität von Neurone des auditorischen Kortex konnte in-vivo gezeigt werden (Shulz et al. 1997). Dabei kann ACh in-vitro sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Einflüsse auf Kortexneurone haben, die zudem von der applizierten ACh Dosis abhängen (Brandowski et al. 2001). So führen geringe Dosen ACh zu einer Hyperpolarisation und höhere Dosen zu einer Depolarisation der Nervenzellen.

Eine mögliche Erklärung für diese eher widersprüchlichen Effekte von ACh liegt darin, dass GABAerge Neurone von ACh moduliert werden können (Kawaguchi 1997, Metherate und Ashe 1995, Salgado et al. 2007, Yigit et al. 2003). So wurde im IC der Ratte die Aktivierung muskarinischer Rezeptoren des Typs M3 auf GABAergen Interneuronen (Yigit et al. 2003) beobachtet, die zu einer postulierten erhöhten GABA Transmitterausschüttung führen können. Zum anderen wird die Aktivierung von muskarinischen Rezeptoren M1 und M2 im auditorischen Kortex der Ratte mit einer deutlichen neuronalen Aktivitätsabnahme und damit einer erhöhten kortikalen Erregbarkeit assoziiert (Salgado et al. 2007). Bei letzterem wurde die Patch-Clamp Studie in den kortikalen Schichten II/ III durchgeführt. Bisher finden sich zu modulierenden cholinergen Einflüssen auf GABAerge Interneurone in adulten Tieren keine

Publikationen in der Literatur, so dass davon ausgegangen werden muss, dass die dort bestehenden Interaktionen und Zusammenhänge bisher nicht weiter untersucht worden sind.

Für die pharmakologischen Untersuchungen, wie sie in der vorliegenden Arbeit vorgenommen wurden, werden immer spezifische Agonisten und Antagonisten der verschiedenen Rezeptortypen benötigt. Im Einzelnen wurden Bicucullin (BIC), Atropin, ACh und Carbachol eingesetzt.

BIC ist ein Antagonist von GABA. Es handelt sich dabei um ein Alkaloid, das aus Erdrrauchgewächsen (*Corydalis* Arten) extrahiert werden kann. Es blockiert durch kompetitive Hemmung des Rezeptors die Hyperpolarisation einer Zelle und verhindert so einen inhibitorischen, neuronalen Einfluss. Dabei ist BIC selektiv für GABA<sub>a</sub> Rezeptoren, so dass es sich als nützliches Werkzeug für die Forschung von schneller, rezeptorvermittelter Inhibition im Kortex eignet (Casparly et al. 2002, Foeller 2001, Kurt et al. 2006, Müller und Scheich 1987). Für GABA finden sich verschiedene Rezeptortypen mit unterschiedlichen Eigenschaften. Diese kommen dadurch zustande, dass Rezeptoren für GABA aus fünf Untereinheiten bestehen, die in ihrer Zusammensetzung variieren können. (Mody und Pearce 2004).

Ionotrope GABA<sub>a</sub> Rezeptoren sind die Ursache für schnelle inhibitorische Transmission im ZNS von adulten Wirbeltieren. Im Gegensatz dazu steht die GABA<sub>b</sub> vermittelte metabotrope Inhibition, die deutlich langsamer abläuft. Der Mechanismus der schnellen Inhibition beruht darauf, dass jeweils zwei GABA Moleküle an einen Rezeptor binden. Daraufhin wird ein Chlorid-Kanal geöffnet und es kommt zu einer Hyperpolarisation der Zelle.

Für die Untersuchung von cholinergen Effekten kamen zum einen ACh bzw. der Agonist Carbachol und zum anderen der Antagonist Atropin zum Einsatz.

ACh kann im Kortex auf zwei Typen von Rezeptoren, nikotinische und muskarinische, wirken. Bei ersteren handelt es sich um schnelle Ionenkanäle. Alle nikotinischen Rezeptoren bestehen aus fünf Untereinheiten, deren Zusammensetzung variiert.

Die Gruppe der muskarinischen Rezeptoren dagegen ist metabotrop und an verschiedene Signalkaskaden (second messenger) innerhalb einer Nervenzelle gekoppelt. Es sind bis heute fünf verschiedene muskarinische Rezeptoren bekannt, die sich in ihren Eigenschaften unterscheiden, indem sie Kalium-, Kalzium- oder Chloridkanäle öffnen bzw. deren Öffnung inhibieren. Vor allem der muskarinische Rezeptor M1, seltener auch M2 und M4, wird mit der Inhibition von Kaliumströmen, die eine Depolarisation bewirken in Zusammenhang gebracht (Lucas-Meunier et al. 2003) und für die meisten cholinergen Effekte verantwortlich

gemacht (Gu 2003). Die muskarinischen Rezeptoren bestehen dabei jeweils aus einem Glykoprotein mit sieben Transmembrandomänen. Bei der Pharmakaapplikation in der vorliegenden Untersuchung lag der Fokus ausschließlich auf möglichen cholinergen Effekten, die durch muskarinische Rezeptoren vermittelt werden.

Hierzu wurde neben ACh der Antagonist Atropin verwendet. Atropin ist ein Alkaloid, das aus der Tollkirsche (*Atropa belladonna*), sowie anderen Nachtschattengewächsen isoliert werden kann und alle muskarinischen Rezeptoren blockiert (Ji et al. 2001, Shulz et al. 2000, Shulz et al. 1997).

Außerdem wurde auch der Agonist Carbachol eingesetzt, der vor allem an muskarinische Rezeptoren bindet. Carbachol entspricht strukturell ACh mit dem Unterschied, dass die Acetylgruppe durch eine Carbamoylgruppe ersetzt ist. Dies führt dazu, dass Carbachol von der Acetylsterase nicht so schnell hydrolysiert werden kann wie ACh selbst.

## **2.6 Zeitliche Veränderungen und GABAerge Inhibition im auditorischen Kortex**

Wie bereits erwähnt, ist GABA der hauptsächliche inhibitorische Neurotransmitter. GABA reguliert jedoch nicht nur die allgemeine kortikale Erregbarkeit, sondern es wird auch postuliert, dass GABA einen Einfluss auf die Präzision neuronaler Synchronisation hat (Schulze und Langner 1999, Chen und Jen 2000).

Es existieren bei exzitatorischen Neuronen eine Vielzahl unterschiedlicher zeitlicher Aktivitätsmuster, die sich in Form schneller Adaptation, kontinuierlich andauernder Aktivität oder auch in sich wiederholenden Aktivitätsmaxima ausbilden können. Bisher konnten diese unterschiedlichen neuronalen Antwortigenschaften jedoch nicht den morphologischen Charakteristika einzelner Zelltypen eindeutig zugeordnet werden (Markram et al. 2004). Vielmehr ist es wahrscheinlich, dass GABAerge Interneurone wesentlich die zeitlichen Eigenschaften der exzitatorischen Neurone bestimmen. Bisher ist der genaue Einfluß von GABA auf eine zeitliche Verarbeitung von z.B. SAM Reizen im auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus allerdings nur in wenigen in-vivo Arbeiten tatsächlich untersucht worden. So fand sich eine leicht verbesserte neuronale Synchronisation auf SAM Reize mit einer Trägerfrequenz außerhalb des Frequenz-Antwortbereichs eines Neurons, wenn GABAerge Interneurone mit BIC blockiert wurden (Schulze und Langner 1999). Das verbesserte neuronale Folgeverhalten bei SAM Reizen hängt zudem von der Dosis des GABAergen Blockers ab (Kurt et al. 2006).

## **2.7 Fragestellung**

Es soll untersucht werden, in welcher Weise der primäre Hörkortex einer pharmakologischen Beeinflussung durch cholinerge und GABAerge modulierende Neurotransmittersysteme unterliegt. Für die cholinerge Modulation lag der Fokus der Studie in Veränderungen neuronaler Frequenz-Abstimmbereiche. GABAerge Einflüsse sollten im Hinblick auf zeitliche Kodierung komplexer Schallereignisse untersucht werden. Hierfür war es zunächst notwendig die Abhängigkeit neuronaler Synchronisation vom Schallpegel zu erfassen. Aus den genannten Überlegungen ergeben sich für die vorliegende Arbeit zwei Schwerpunkte mit folgenden Fragestellungen:

- 1) Welchen modulierenden Einfluß hat ACh als Transmittersubstanz auf die rezeptiven Felder im primären Hörkortex der Wüstenrennmaus?
- 2) Welchen Einfluss hat der Schalldruckpegel auf die zeitliche Kodierung repetitiver Schallreize im primären Hörkortex und inwieweit ist GABAerge Inhibition daran beteiligt?

### 3 Material und Methoden

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an adulten Wüstenrennmäusen der Art *Meriones unguiculatus* (Milne-Edwards, 1867) durchgeführt. Alle verwendeten Tiere stammten aus der hauseigenen Zucht und wurden nach den geltenden rechtlichen Bestimmungen gehalten und im Experiment eingesetzt. Die Tiere wurden in einem Licht-Dunkel Rhythmus von jeweils 12 Stunden bei konstanten 24 °C gehalten. Sie erhielten neben Rattenpellets auch Körnerfutter für Nager (Bayrische Futtersaatbau) und frisches Obst und Salat.

#### 3.1 Anästhesie

Alle Versuche erfolgten an narkotisierten Wüstenrennmäusen. Für die Anästhesie wurde dabei eine Mischung aus 100 mg/ml Ketaminhydrochlorid (Ketavet®, Upjohn) und 2% Xylacinhydrochlorid (Rompun®, Bayer) im Mischungsverhältnis von 9 Teilen Aqua dest, 9 Teilen Ketavet und 2 Teilen Rompun verwendet. Für eine intramuskuläre Initialdosis vor Versuchsbeginn wurde eine Ketavetdosierung von 120 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Für eine leichte Anästhesie während der Experimente erfolgte eine kontinuierliche subkutane Injektion von 20 - 40 mg/kg Körpergewicht Ketavet pro Stunde mit Hilfe einer Infusionspumpe („Genie“ Programmable Syringe Pump, Kent Scientific Corporation).

Zur Stabilisierung des allgemeinen, physiologischen Zustandes des Tieres wurden in regelmäßigen Abständen (etwa alle 50 Minuten) 0,3 ml physiologische Kochsalzlösung und Dexamethasone 21 - Phosphat (nach Ehret et al. 1997) in einer Dosierung von 20 mg/kg Körpergewicht subkutan injiziert.

Zur Überwachung der Narkose wurde in regelmäßigen Abständen alle 40-60 Minuten der Zwischenzehenreflex an den Hinterbeinen überprüft, sowie die Atemfrequenz und die Bewegung der Schnurrhaare beobachtet. Die Herzfrequenz wurde mittels EKG - Messungen (selbstgeschriebene Softwareroutine von Peter B.) überwacht. Ein Heizkissen (Harvard Homeothermic Blanket) hielt die Körpertemperatur des Versuchstieres während des kompletten Experimentes konstant bei 37 °C. Die Versuchsdauer lag in der Regel bei 14 - 18 Stunden.

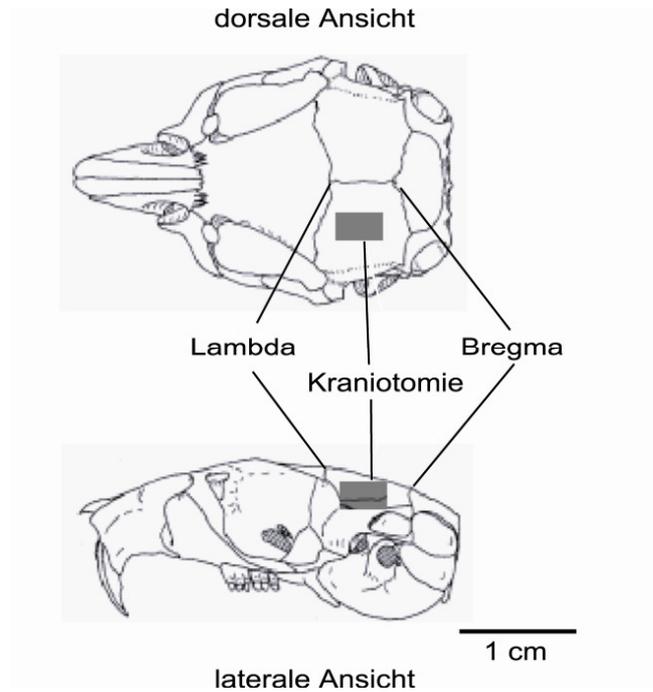
Bei Versuchsende wurden die Tiere mit einer Überdosis Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, Merial) getötet.

### **3.2 Präparation**

Die Präparation umfasste eine Kraniotomie im Bereich des linken Temporallappens. Den Versuchstieren wurde zunächst ein Messingnagel auf der Schädeloberseite am Knochennahtpunkt Bregma aufgesetzt, der später zur Fixierung des Kopfes diente. Dazu wurde die Kopfoberseite von Haaren befreit, die Haut sagittal durchtrennt und zur Seite geschoben. Die freiliegende Schädeloberfläche wurde anschließend sorgfältig von Geweberesten und Knochenhaut befreit und mit 70% Alkohol entfettet. Der Messingnagel wurde mit Acrylkleber festgeklebt und danach die Klebebindung mit einem Kunststoffzahnzement (Paladur®, Heraeus Kulzer) dauerhaft auf dem Schädelknochen verstärkt. Nach Aushärten des Zahnzementes konnte der Nagel in einen Kopfhalter eingespannt werden und fixierte damit die Kopfposition des Versuchstieres für die weitere Experimentalzeit.

Nach der Fixierung des Kopfes wurde zunächst die Position des auditorischen Kortex stereotaktisch im Bezug auf den Knochennahtpunkt Lambda (siehe auch Abbildung 1) bestimmt. Die stereotaktischen Koordinaten für die Position des auditorischen Kortex stimmten mit denen aus Thomas et al. (1993) und Budinger et al. (2000b) überein.

Die Kraniotomie wurde auf der linken Seite des Kopfes im temporalen Schädelbereich durchgeführt (siehe Abbildung 1). Hierfür wurde der Temporalmuskel zwischen Auge und Ohrmuschel zur Seite geschoben bzw. entfernt. Dies erfolgte zum Teil unter zusätzlicher lokaler Anästhesie mit 2% Lidocainhydrochlorid H<sub>2</sub>O frei (Xylocain®, Astra Zeneca). Anschließend wurde der Schädelknochen mit Hilfe eines Zahnarztbohrers mit Rosenbohrkopf oder Diamantschleifkopf auf einer Fläche von ca. 0,4 x 0,4 mm abgetragen. Letzte Knochensplinter an den Rändern der Schädelöffnung wurden mit einer feinen Pinzette vorsichtig entfernt und etwaige Blutungen mit Knochenwachs und Gelastyp (Hoechst) gestillt. Mit einer spitzen Kanüle wurde die Dura Mater angeritzt und dann mit einer sehr feinen Pinzette (Dumont #5) zur Seite gezogen. Die exponierte Oberfläche des Kortex wurde für die restliche Versuchsdauer mit physiologischer Kochsalzlösung feucht gehalten und damit vor dem Austrocknen geschützt. Dazu wurden in regelmäßigen zeitlichen Abständen (ca. alle 30 - 60 Minuten) unter visueller Kontrolle einige Tropfen körperwarme (37 °C), physiologische Kochsalzlösung aus einer 2 ml Spritze auf die Kortexoberfläche getropft.

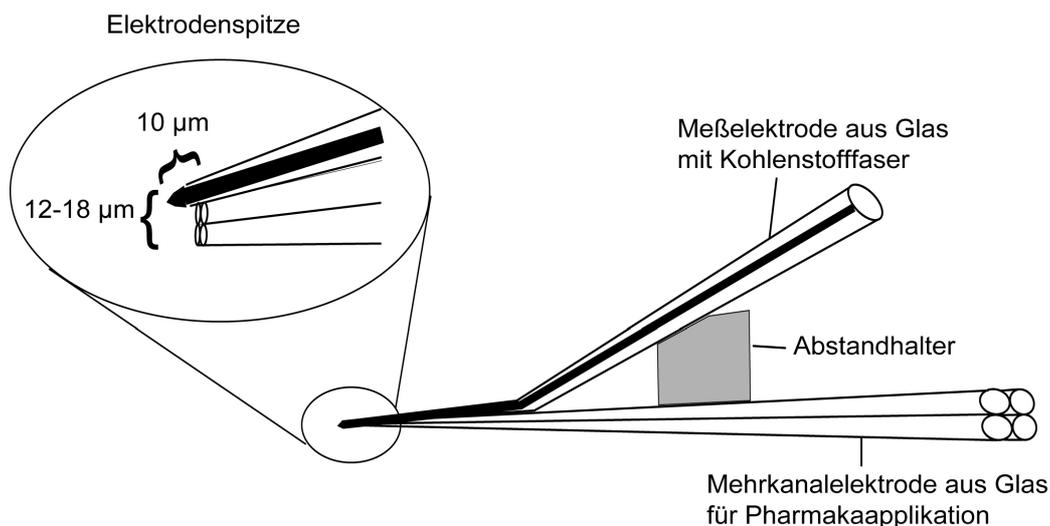


**Abbildung 1:** Schädel von *Meriones unguiculatus* (verändert nach Fryatt Gulotta 1971) in dorsaler und lateraler Ansicht mit den Knochennahtpunkten Lambda und Bregma und dem Ort der Kraniotomie (graues Rechteck)

### **3.3 Lokale Applikation von Pharmaka mittels Iontophorese**

Für die iontophoretische Applikation von Pharmaka im auditorischen Kortex kamen herkömmliche (nach Havey und Caspary 1980) und modifizierte Mehrkanal - Piggyback Elektroden zum Einsatz, die wie folgt hergestellt wurden: Es wurde zunächst aus vierfachen Glaskapillaren (Hilgenberg, Borosilikat) mit einem Horizontalelektrodenpuller (P-87 Sutter Instruments) eine Mehrkanalelektrode gezogen und deren Spitze unter mikroskopischer Kontrolle soweit abgebrochen, bis die Öffnung der einzelnen Kanäle jeweils 2 - 4  $\mu\text{m}$  betrug. Die einzelne Ableitelektrode (GB 100 TF-10, Science Products) wurde nach dem Ziehen an ihrer Spitze um 35° gebogen, so dass sie anschließend nahtlos mit Sekundenkleber auf die Spitze der Mehrkanalelektrode geklebt werden konnte. Die Ableitelektrode ragte an der Spitze etwa 10  $\mu\text{m}$  über die Spitze der Mehrkanalelektrode hinaus, um potentielle, elektrische Interferenzen späterer Messungen bei gleichzeitiger iontophoretischer Applikation zu vermeiden. Der Gesamtdurchmesser der Elektrodenspitze betrug 14 - 18  $\mu\text{m}$ . Bei Verwendung modifizierter Mehrkanal - Piggyback Elektroden wurde die Ableitelektrode aus Glas durch eine glasummantelte 7  $\mu\text{m}$  dicke Kohlenstofffaser ersetzt (Abbildung 2), da Elektroden mit Kohlenstofffaser ein deutlich besseres Signal-Rauschverhältnis aufweisen

(Millar 1991). Die herkömmlichen Mehrkanal-Piggyback Elektroden besaßen einen Widerstand von 5 – 8 M $\Omega$  und die modifizierten Elektroden einen Widerstand von 1 M $\Omega$ . Die herkömmliche Ableitelektrode wurde mit 3 M Kaliumchlorid (KCl), die Kohlenstofffaser Elektrode mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Die Füllung der einzelnen Glaskapillaren mit Pharmaka erfolgte mit einer flexiblen Kanüle (MicroFil™ 28 AWG, WPI). Je nach Versuchsanordnung wurden die Glaskapillaren der Mehrkanal - Piggyback Elektrode unterschiedlich befüllt: Für die Versuche zur cholinergen Plastizität erfolgte eine Befüllung mit Acetylcholin Chlorid (ACh) (Sigma, pH 4, 0,5 und 1M) oder dem Agonisten Carbachol (Sigma, pH 6, 1M) und dem Antagonisten Atropin (Sigma, pH 5, 0,1M). Für die Experimente zum Einfluß GABAerger Inhibition auf die kortikale Aktivität bei repetitiven Reizen wurden zwei Glaskapillaren mit dem GABA<sub>a</sub>-Rezeptorantagonisten Bicucullinmethiodid (BIC) (Sigma, pH 3, 5mM) gefüllt.



**Abbildung 2: Schematischer Aufbau einer modifizierten Mehrkanal - Piggyback Elektrode mit Kohlenstofffaser,** Dargestellt ist der schematische Aufbau einer kompletten Elektrode mit vier Pharmakakanälen. Zusätzlich ist in einem Ausschnitt die Elektrodenspitze vergrößert gezeichnet.

Die Applikation der pharmakologisch wirksamen Substanzen erfolgte über Strom mit einer Iontophoreseeinheit (NeuroPhore BH-2 System, Harvard Apparatus). Die verwendeten Stromstärken für den Haltestrom und für die Applikation können Tabelle 1 entnommen werden. Der Haltestrom verhindert, dass vor der eigentlichen Applikation der Pharmaka Ionen der pharmakologisch wirksamen Substanz aus der Elektrodenspitze austreten und in das benachbarte kortikale Gewebe diffundieren. Dementsprechend richtet sich die Höhe des Haltestromes nach dem Durchmesser der Elektrodenspitze bzw. dem gemessenen Widerstand der Elektrode.

Der elektrische Strom für die Pharmakaapplikation ermöglicht nur eine indirekte Dosierung. Je nach applizierter Stromstärke und in Abhängigkeit vom Durchmesser der Elektrodenspitze ergibt sich die Menge an pharmakologisch wirksamer Substanz, die in das Gewebe abgegeben wurde. Bei dieser Form der Pharmakaapplikation kann daher keine genaue Konzentrationsangabe für die an den beeinflussten Synapsen wirkenden Substanzen gemacht werden.

**Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Stromstärken für die Iontophorese**

Pharmakologische Substanz	Haltestöme (nA)	Ströme für die Pharmakaapplikation (nA)
Acetylcholin	-5 bis -20	30 bis 120
Carbachol	-10	30 bis 120
Atropin	-10 bis -20	15 bis 60
Bicucullin	-10 bis -15	10 bis 20

Jeweils eine Glaskapillare wurde für den Ausgleichsstrom benutzt und mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Der Ausgleichsstrom kompensiert Haltestöme und Applikationsströme derart, dass kein Gesamtstrom fließt und damit keine elektrische Stimulation der Neurone erfolgt. Alle Glaskapillaren wurden außerdem am hinteren Ende mit Vaseline verschlossen, um eventuellem Austrocknen und damit auch osmotischen Veränderungen der pharmakologisch wirksamen Substanzen vorzubeugen.

Die Penetration der Elektrode erfolgte senkrecht zur Kortexoberfläche, so dass sukzessive Neurone aus allen kortikalen Schichten mit einem Durchlauf der Elektrode gemessen werden konnten. Die Einteilung in die kortikalen Schichten orientierte sich dabei an Foeller et al. 2001 und Sugimoto et al. 1997. Der Vortrieb der Elektrode wurde über ein Piezoelement (PM-10, Science Products) gesteuert.

### 3.4 Elektrophysiologische Messungen

Die elektrophysiologischen Messungen im auditorischen Kortex umfassen zum einen die Erfassung und Speicherung des neuronalen Signals und zum anderen die Tongenerierung mit definierten Reizparametern. Eine Übersicht über den Aufbau der Messapparatur bietet Abbildung 3.

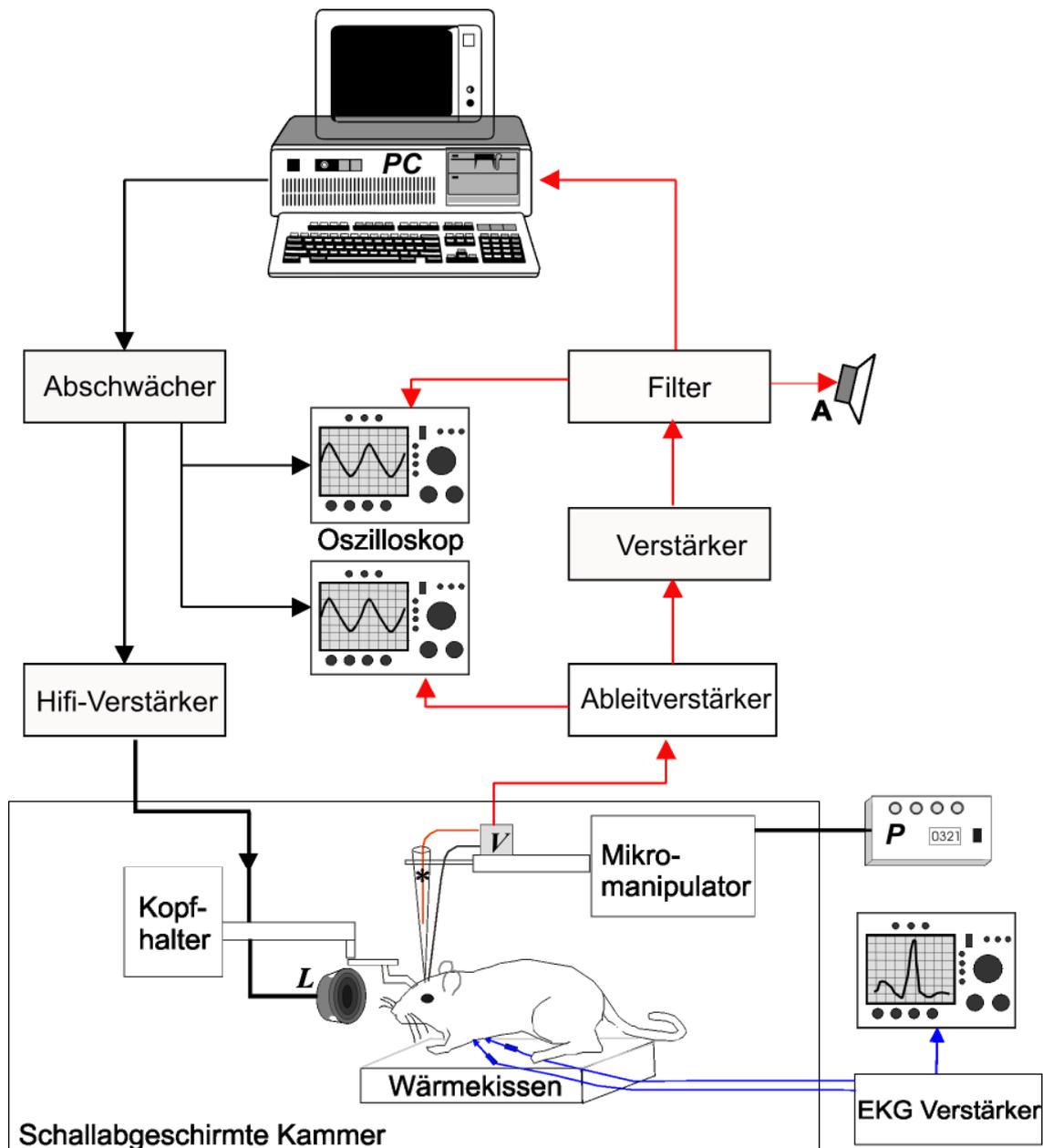


Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Messapparatur, Die linke Seite (schwarze Pfeile) zeigt die Reizgenerierung und Applikation, während die rechte Seite (rote Pfeile) die Aufnahme biologischer Signale darstellt. Außerhalb der Schallkammer am rechten unteren Bildrand wird eine EKG Aufnahme dargestellt, wie sie zur Überwachung des physiologischen Zustandes des narkotisierten Tieres im Experiment eingesetzt wurde. A - Audiomonitor, EKG - Elektrokardiogramm, L - Lautsprecher, P - Piezosteuerinheit, PC - Meßcomputer, V - Vorverstärker

Das neuronale Signal an der Ableitelektrode wurde  $10^5$ fach verstärkt und mit einem Bandpass (0,3 - 3 kHz) gefiltert (Modell 3700, Krohn-Hite), bevor es über den A/D Wandler in einen Computer eingelesen und abgespeichert wurde. Das verstärkte biologische Rohsignal konnte sowohl auf einem Oszilloskop (HM 408, HAMEG) als auch mit einem Audiomonitor (Eigenbau Werkstatt Universität Frankfurt) verfolgt werden (Abbildung 3).

Die Tongenerierung erfolgte mit einer Signalprozessor-Karte im Computer (DAP 3200 Board, Microstar). Die digitalen Ausgangssignale der Karte wurden in einen analogen Abschwächer (PA5, TDT) geführt und über einen Hifi Verstärker (RB 850, Rotel Stereo Power Amplifier) in einen kalibrierten Lautsprecher (XS, Canton) gespeist. Die Kalibrierung erfolgte mit Hilfe eines ¼“-Mikrophons (B&K 4135) und dem zugehörigen Mikrophonverstärker (B&K 2610 Wide Range Measuring Amplifier). Zur Kalibrierung wurde ein Mikrophon anstelle des Versuchstieres im gleichen Abstand vom Lautsprecher positioniert. Bei allen Versuchen befand sich der Lautsprecher im Freifeld 20 cm vom rechten Ohr des Versuchstieres entfernt und war senkrecht auf die Längsachse des Tieres ausgerichtet. Der generierte Tonstimulus konnte, ebenso wie das biologische Signal, auf einem Oszilloskop (HM 408, HAMEG) verfolgt werden. Alle Versuche fanden in einer schallabgeschirmten Kammer statt. (Abbildung 3)

### **3.5 Versuchsablauf und Datenanalyse**

#### **3.5.1 Experimente zur Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen**

Für die Versuche zur cholinergen Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen im primären auditorischen Kortex wurden Messdaten von 23 adulten Wüstenrennmäusen ausgewertet.

##### **3.5.1.1 Akustische Stimulation und Messparameter zur Ermittlung der Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen**

Die akustische Stimulation zur Ermittlung von Frequenz-Antwortbereichen bestand aus Reintönen von 80 ms Dauer mit einem jeweiligen Anstieg und Abfall von 4 ms. Gemessen wurde in einem Frequenzbereich von 0,5 bis 40 kHz über rund 6 Oktaven in logarithmischen Frequenzschritten mit einer Auflösung von einer viertel Oktave und mit Lautstärkevariationen in 10 dB oder 15 dB Schritten in einem Bereich von -15dB SPL bis +80dB SPL. Die Stimuluspräsentation der Frequenz – Intensitäts - Kombinationen erfolgte dabei zufallsverteilt

mit einer Wiederholrate von 700 ms zwischen den einzelnen Reintönen. Die Tonkombinationen wurden 6 - 8 Mal wiederholt.

Die Messungen von Frequenz-Antwortbereichen einzelner Neurone im auditorischen Kortex wurde dabei ohne und mit Einwirkung von ACh und dessen Antagonisten Atropin untersucht. Dafür wurden ACh und Atropin iontophoretisch im Kortex appliziert. Für einen kleinen Anteil der gemessenen Neurone wurde zudem ACh durch seinen Agonisten Carbachol ersetzt.

### **3.5.1.2 Analyse der Frequenz-Antwortbereiche**

Aus den neuronalen Frequenz-Antwortbereichen wurden die Werte der charakteristischen Frequenz (CF), Minimalschwelle (MT) sowie  $Q_{10\text{dB}}$  und  $Q_{40\text{dB}}$ -Werten mit Hilfe einer Auswerte-Software routine bestimmt. Q-Werte errechnen sich als Quotient aus der CF und der Bandbreite des Frequenz-Antwortbereichs 10 dB bzw. 40 dB oberhalb der Minimalschwelle. Sie sind ein Maß für die spektrale Schärfe des Frequenz-Antwortbereichs. Dabei gilt: je höher die ermittelten Quotienten, desto schmaler der neuronale Antwortbereich. Sofern nicht anders vermerkt, werden mittlere Werte jeweils mit Standardabweichung (SD) angegeben.

Das Schwellenkriterium zum Bestimmen der reizinduzierten neuronalen Aktivität eines Frequenz-Antwortbereichs war die mittlere Spontanaktivität plus zweifache Standardabweichung der Spontanaktivität über 6 - 8 Wiederholungen der Messung. Die Höhe der Spontanaktivität wurde bei Reizung in einem Frequenzbereich klar außerhalb des neuronalen Frequenz-Antwortbereichs und unterhalb der MT ermittelt.

Um mögliche plastische Veränderungen festzustellen, wurden folgende Kriterien festgelegt: Eine Veränderung wurde als relevant angesehen, wenn sich die beiden ermittelten Q-Werte jeweils um mehr als 30% unter dem Einfluss von Pharmaka änderten. Mit diesem "doppelten" Kriterium sollte sichergestellt werden, dass die durch Pharmaka induzierten Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche deutlich über den normalen Schwankungen der neuronalen Aktivität ohne Pharmakaapplikation lagen. An einigen Neuronen wurden zunächst die Frequenz-Antwortbereiche ohne Pharmaka in mehreren Messungen untersucht, um normale Schwankungen zu klären. Die Schwankungen lagen in einem Bereich von 7% - 26,4%.

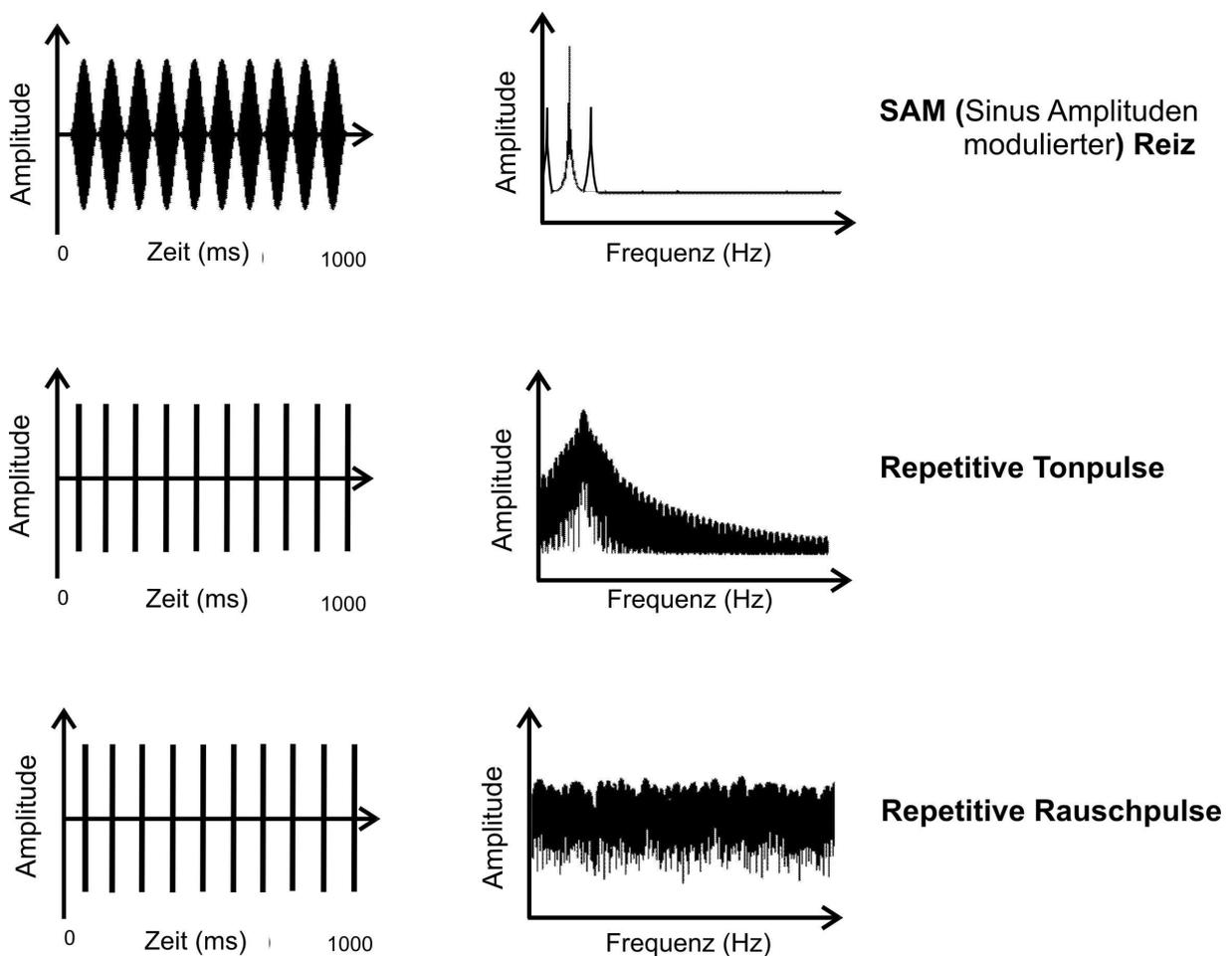
Mit der Wahl des 30% Kriteriums wurde sichergestellt, dass wirkliche Effekte und keine zufälligen Änderungen im Frequenzbereich analysiert wurden.

### 3.5.2 Zeitliche Abstimmung und GABAerge Einflüsse

Für die Versuche mit repetitiven Reizen wurden 22 adulte Tiere verwendet. Davon entfallen 9 Tiere auf Versuche mit iontophoretischer BIC Applikation.

#### 3.5.2.1 Reizparadigma und Messparameter bei repetitiven Reizen

Zunächst wurden neuronale Frequenz-Antwortbereiche gemessen, wie es in Abschnitt 3.5.1.1 beschrieben ist. Feste Reizparameter, wie Reizdauer, der benutzte Frequenzbereich und die Wiederholrate zwischen den einzelnen Reintönen stimmten mit den oben genannten Werten überein. Allerdings kam ein verkürztes Messprotokoll zur Anwendung, da der Schwerpunkt der Messungen auf den neuronalen Antworten auf die repetitiven Reizen lag. So erfolgten die Lautstärkevariationen in 20 dB Schritten in einem Bereich von -10 dB SPL bis +80 dB SPL. Alle Tonkombinationen wurden jeweils 5 Mal wiederholt, während gleichzeitig die neuronale Aktivität aufgezeichnet wurde.



**Abbildung 4:** Schematische Darstellung der drei repetitiven Schallreize im Zeitsignal und Spektrum, **Links:** Modulation der Amplitude am Beispiel von 10 Hz Wiederholrate, **rechts:** zugehöriges Frequenzspektrum

Anschließend wurden dem Versuchstier drei unterschiedliche repetitive Schallereignisse vorgespielt (schematische Darstellung in Abbildung 4). Dabei handelte es sich:

- 1) um SAM Reize, deren Trägerfrequenz bei der CF lag und die zu 100% in ihrer Amplitude moduliert waren.
- 2) um repetitive Tonpulse bei der CF von 2 ms Dauer und einer jeweiligen An- und Abstiegsflanke von 0,5 ms.
- 3) um repetitive Rauschpulse, ebenfalls mit einer Dauer von 2 ms und einer jeweiligen An- und Abstiegsflanke von 0,5ms.

Ein SAM Reiz bzw. eine Folge von repetitiven Reizen dauerte insgesamt 1 Sekunde und wurde je 20 Mal wiederholt (Abbildung 4). SAM Reize und repetitive Tonpulse ähneln sich in ihrem Frequenzgehalt, unterscheiden sich jedoch in der zeitlichen Dimension deutlich, vor allem in der Steilheit der Reizanstiegsflanke. Repetitive Ton- und Rauschpulse dagegen weisen gleiche Reizanstiegsflanken auf, unterscheiden sich jedoch im Frequenzgehalt.

### **3.5.2.2 Versuchsprogramm bei repetitiven Reizen: Wiederholrate, Schalldruckpegel und GABAerger Einfluss**

In einer ersten Versuchsreihe wurde die Wiederholrate bei allen drei Reiztypen systematisch variiert, während die Trägerfrequenz (bei SAM und repetitiven Tonpulsen) der zuvor ermittelten CF des untersuchten Neurons entsprach. Der Schalldruckpegel betrug konstant 80 dB SPL. Im Einzelnen handelte es sich um die folgenden Wiederholraten: 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 Hz, sowie 100 und 200 Hz bei einem Teil der Experimente. Die Wiederholraten von 100 und 200 Hz sind nicht in die Auswertung genommen worden, da sich außer einer neuronalen Aktivität in Reaktion auf den Reizbeginn (On-Antwort) kein neuronales Folgeverhalten zeigte.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde dann bei der vorher ermittelten besten Wiederholrate (BMF) der Schalldruckpegel von SAM Reizen und repetitiven Tonpulsen kontinuierlich in 10 dB Schritten von der Minimalschwelle bis zu 80 dB SPL variiert und die neuronale Aktivität gemessen.

In einer dritten Versuchsreihe wurden die beiden oben beschriebenen Versuche zum Einfluß von Wiederholrate und des Schalldruckpegels an weiteren Neuronen unter Einfluß von BIC untersucht, um Rückschlüsse auf den Einfluß von kortikaler GABAerger Inhibition auf das neuronale Folgeverhalten bei repetitiven Reizen ziehen zu können.

### 3.5.2.3 Analyse der Antworten auf repetitive Schallreize

Die Analyse der Frequenz-Antwortbereiche wurde bereits im Abschnitt 3.5.1.2 beschrieben. Aus den Kurven wurden jetzt allerdings die  $Q_{30dB}$ -Werte ermittelt, um diese später mit vorhandenen Literaturwerten besser vergleichen zu können. Zudem wurden bei der jeweiligen CF die Intensitätsratenkennlinien erstellt und anhand ihrer Form als monoton ansteigend oder nicht-monoton ansteigend klassifiziert. Das Kriterium für einen nicht-monotonen Kurvenverlauf war, dass bei höheren Schalldruckpegeln ein Abfall der Aktionspotentialrate um mehr als 20% erfolgte (Sugimoto 1997). War dieser Abfall in der Ratenintensitätskennlinie nicht zu beobachten, wurden sie als monoton klassifiziert.

Bei den Versuchen mit repetitiven Reizen wurde für die neuronale Antwort zum einen die mittlere neuronale Aktivitätsrate ermittelt, und zum anderen der Grad der Synchronisation bestimmt.

Der Synchronisationsindex  $s$  ist ein Maß dafür, wie gut das zeitliche Auftreten von Aktionspotentialen mit der Phasenlage des jeweiligen repetitiven Reizes korreliert. Er wird nach folgender Formel berechnet:

$$s = ((\sum \cos \pi_i)^2 + (\sum \sin \pi_i)^2)^{1/2} / N$$

wobei  $N$  = Anzahl der Aktionspotentiale,  $\pi_i$  = Phasenvektor in Relation zur Periode der Modulation

Alle errechneten Synchronisationswerte wurden mit dem Rayleigh Test (Mardia 1972) auf Zufälligkeit überprüft und bei einem Signifikanzniveau von  $p > 0,001$  auf statistische Signifikanz getestet. Alle weiteren statistischen Analysen in der vorliegenden Arbeit gehen, wenn nicht anders vermerkt, von einem Signifikanzniveau von  $p > 0,05$  aus. Die Synchronisation wurde dann in Abhängigkeit der Wiederholraten aufgetragen, um Synchronisations-Modulationstransferfunktionen (syncMTF) zu erhalten.

Für die mittlere, neuronale Aktivitätsrate wurden die Raten-Modulationstransferfunktionen (rateMTF) ermittelt, indem die mittlere neuronale Aktivitätsrate pro Sekunde mit der Wiederholrate in Bezug gesetzt wurde. Aufgrund von deutlichen Unterschieden im mittleren Niveau der Aktivitätsrate zwischen den abgeleiteten Neuronen, wurden die Raten für die rateMTFs normiert, indem sie in Prozent relativ zur maximalen Antwortrate (100%)

aufgetragen wurden. Damit wurden die einzelnen Neurone miteinander vergleichbar bzw. es konnte auch eine mittlere rateMTF mit Standardfehler erstellt werden.

Anschließend wurden die MTFs anhand ihrer Form als Tiefpass (TP) - oder Bandpass (BP) Filter charakterisiert. In der Kategorie Tiefpass zeigen die Neurone bei langsamen Wiederholraten eine gute Synchronisation, die sich mit erhöhter Wiederholrate kontinuierlich verschlechterte. Von einer Bandpass-Form wurde dann gesprochen, wenn bei einem 50% Abfall von der besten Wiederholrate (BMF) noch an beiden Flanken der Kurve Werte gemessen werden konnten.

Die Abhängigkeit der neuronalen Antwort von der Intensität der repetitiven Reize (bei BMF) wurde sowohl bezüglich der mittleren Antwortrate als auch der Synchronisation untersucht. In Abhängigkeit der Intensität wurden jeweils Kennlinien erstellt, die als Intensitäts-Transferfunktion (syncITF und rateITF) bezeichnet wurden.

Weiterhin wurde für eine bessere Charakterisierung der Kurvenverläufe dieser Transferfunktionen deren jeweilige Steigung berechnet. Dafür wurden für linear ansteigende ITFs die Werte des geringsten und des höchsten Schalldruckpegels benutzt. Bei nicht linear verlaufenden ITFs wurden das Maximum der Kurve, sowie der Wert beim höchsten getesteten Schalldruckpegel von 80 dB SPL verwendet (nach Polley et al. 2004). Anschließend wurden die Neurone anhand der Steigungen ihrer syncITF in vier unterschiedliche Klassen eingeteilt. Bei der rateITF wurde unterschieden zwischen mit steigendem Schalldruckpegel linear ansteigende und mit steigendem Schalldruckpegel nicht-linear ansteigende mittlere Aktivitätsraten.

Die Analyse der Versuchsreihen mit BIC war identisch mit der Analyse der Ergebnisse der Versuche zu repetitiven Reizen ohne Pharmakologie (siehe oberhalb). Der Einfluß von BIC auf die neuronale Aktivitätsrate wurde folgendermaßen quantifiziert: Es wurde die neuronale Aktivitätsrate während der BIC-Applikation durch die neuronale Aktivitätsrate vor der BIC-Applikation dividiert und für die weitere Auswertung mit dem erhaltenen Quotienten operiert.

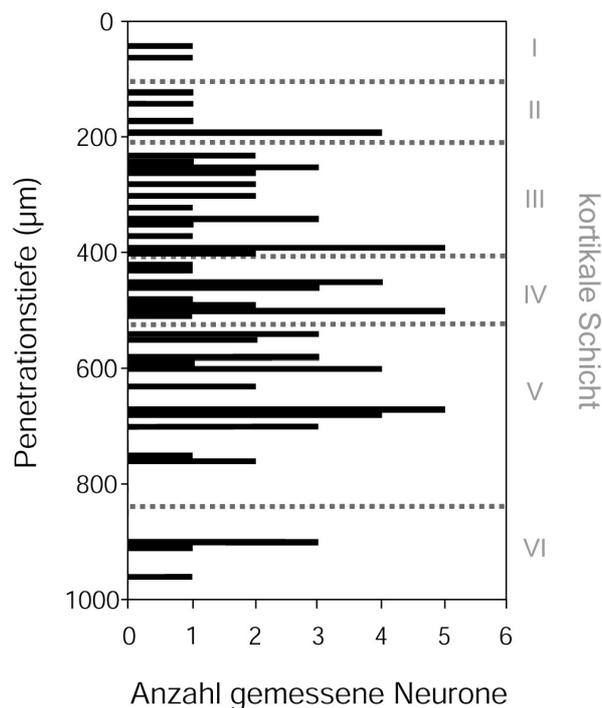
## 4 Ergebnisse zur Plastizität der Frequenz-Antwortbereiche unter dem Einfluss von ACh

### 4.1 Allgemeine Charakterisierung der Daten

Für die Versuche zur cholinergen Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen im primären auditorischen Kortex wurden 23 adulte Wüstenrennmäuse (♀ 10, ♂ 13) verwendet.

Bei allen Messungen wurde die Elektrode senkrecht zur Oberfläche in den primären auditorischen Kortex eingeführt, so dass die kortikale Schicht über die Einstichtiefe ermittelt werden konnte.

Es erfolgten Messungen mit unterschiedlicher Ableittiefe von der Kortexoberfläche bis in eine Tiefe von 960  $\mu\text{m}$ . Dies entspricht allen sechs kortikalen Schichten nach Foeller et al. 2001. Die Messdaten wurden hauptsächlich in den Schichten II-V und seltener in Schicht I und VI erhoben (Abbildung 5). Es handelt sich dabei sowohl um Messungen an Einzelzellen, als auch um Messungen an mehreren Zellen (single units und multi units).



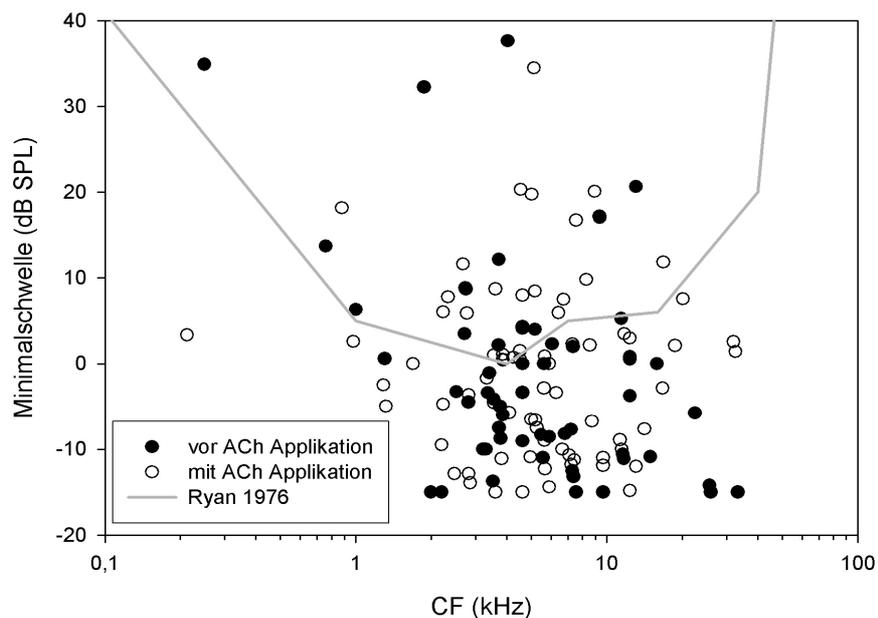
**Abbildung 5** Verteilung der gemessenen Neurone über die Penetrationstiefe und kortikale Schicht

Es wird die Verteilung der abgeleiteten Neurone nach Penetrationstiefe während der Messung (linke Ordinate) und die zugehörige kortikale Schicht (rechte Ordinate) dargestellt. Dabei zeigt sich, dass vor allem in den Schichten II bis V gemessen wurde (n=84).

Bei allen Neuronen wurden die Frequenz-Antwortbereiche ohne und mit iontophoretischer Pharmakaapplikation bestimmt. Diese hatten meist eine typische V-förmige Abstimmung auf

einen schmalen Frequenzbereich hin. In einigen, wenigen Fällen konnte allerdings auch ein Frequenz-Antwortbereich mit mehreren optimalen Frequenzbereichen gemessen werden. Als Kenngrößen wurden aus den Frequenz-Antwortbereichen neben der CF noch die MT, d.h. die Schwelle bei CF und, als Maß für die Breite des Antwortbereiches, mehrere Q-Werte bestimmt ( $Q_{10\text{dB}}$  und  $Q_{40\text{dB}}$ , siehe Material und Methoden Abschnitt 3.5.1.2). Bei den Frequenz-Antwortbereichen mit mehreren optimalen Frequenzbereichen wurde für die Bestimmung der CF, soweit sie in die Auswertung miteinbezogen wurden, der breiteste optimale Frequenzbereich ausgewählt.

Es wurde von Neuronen mit CFs zwischen 200 Hz und 36 kHz abgeleitet. Deutlich kann man eine Häufung der Messungen im tieffrequenten Hörbereich der Wüstenrennmaus zwischen 2 kHz und 10 kHz sehen (Abbildung 6). Dies deckt sich in weiten Teilen auch mit dem besten Hörbereich der Wüstenrennmaus, wie man an der Verhaltenshörschwelle von Ryan 1976 sehen kann.



**Abbildung 6: Verteilung der Minimalschwellen in Abhängigkeit der CF für Frequenz-Antwortbereiche im auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus**, wie sie hier ohne Pharmaka (gefüllte Symbole) und mit Pharmaka (offene Symbole) gemessen wurden. Die graue Kurve stellt zum Vergleich die Verhaltenshörschwelle nach Ryan 1976 dar. Es zeigt sich eine gehäufte Verteilung der CFs im Frequenzbereich von 2 bis 10 kHz.  $n = 84$  Messungen

Die Verteilung der MTs in Abhängigkeit von der CF wird in Abbildung 6 für den kompletten Datensatz dargestellt. Aus der Abbildung wird deutlich, dass die MT einiger Neurone nahe dem niedrigsten getesteten Schallpegel von -15 dB SPL lag. Für die Fälle, in denen bereits bei

-15 dB SPL eine überschwellige Reizantwort vorlag, kann keine eindeutige Aussage über MT oder die Q-Werte getroffen werden und sie wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die ermittelten MTs lagen zwischen -15 und 37 dB SPL. Auffällig sind die zum Teil deutlich niedrigeren neuronalen MTs im Vergleich zu den im Verhalten ermittelten MTs von Ryan 1976.

Bei den verbleibenden Datensätzen wurde für die weitere Charakterisierung die Abstimmstärke der Frequenz-Antwortbereiche im Frequenzbereich mit Hilfe von Q-Werten bestimmt. Die Q-Werte für Frequenz-Antwortbereiche lagen insgesamt für  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte in einem Bereich zwischen 0,47 und 9,65 und für  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte in einem Bereich von 0,12 bis 2,27. Während bei  $Q_{10\text{dB}}$ -Werten der Mittelwert 2,47 betrug und 55,8% aller Q-Werte über dem Wert von 2 lagen, waren es bei  $Q_{40\text{dB}}$ -Werten gerade noch 5,2% aller Q-Werte, die über dem Wert 2 lagen, und der mittlere  $Q_{40\text{dB}}$ -Wert lag bei 0,99. Die  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte streuten demnach deutlich mehr, als die  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte. Insgesamt lagen 33,8% der  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte über dem Wert 3. Es ergaben sich deutlich höhere  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte im Vergleich zu den  $Q_{40\text{dB}}$ -Werten. Damit wird die allgemeine V-Form der Frequenz-Antwortbereiche quantifiziert, d.h. diese wurden mit höheren Lautstärkepegeln im Frequenzbereich breiter.

## **4.2 Einfluss von ACh auf die spontane neuronale Aktivität**

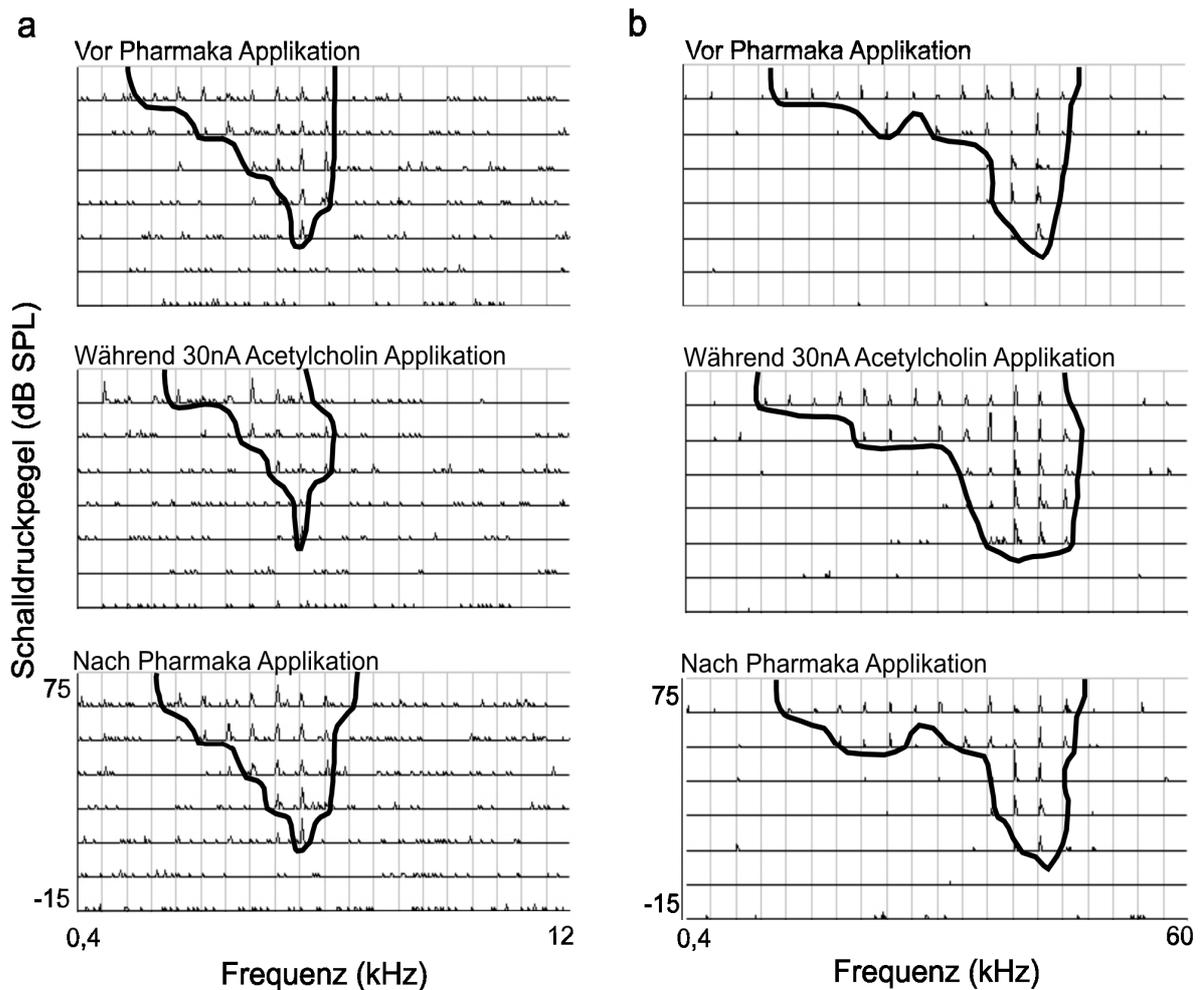
In den Experimenten wurde sowohl der Effekt von ACh-Applikation auf reizinduzierte neuronale Antworten als auch auf die Spontanrate betrachtet. Die mittlere Spontanrate vor ACh-Applikation betrug: 1,13 ( $\pm$  1,31) Aktionspotentiale pro Sekunde (APs/s). Die mittlere Spontanaktivität mit ACh Applikation lag dagegen leicht höher und betrug: 1,40 ( $\pm$  1,51) APs/s. Die beiden Spontanraten unterschieden sich allerdings nicht signifikant voneinander (Wilcoxon MPSR-Test: S-Wert = 345,5; n.s.). ACh übt also insgesamt keinen signifikanten Einfluss auf die spontane, neuronale Aktivitätsrate eines Neurons aus. Die hohe Standardabweichung zeigt jedoch auch, dass sich im Einzelfall Änderungen ergeben können.

### **4.3 Einfluss von ACh auf Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche**

In Abbildung 7 sind an zwei Neuronen beispielhaft Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche (dicke schwarze Linie) bei Applikation von ACh mit 30 nA gezeigt. Während im oberen Teil der Abbildung 7 die Ausgangslage vor der Applikation von ACh dargestellt ist, zeigen die mittleren Graphen die Wirkung von ACh auf die Größe und Form des exzitatorischen Frequenz-Antwortbereichs. Die dargestellten Effekte waren reversibel, wie im unteren Teil der Abbildung 7 gezeigt wird. Der Frequenz-Antwortbereich erreichte bereits 20 - 30 Minuten nach dem Ende der Pharmakaapplikation wieder seine Ausgangsgröße.

Die Frequenz-Antwortbereiche in Abbildung 7 sind zusätzlich mit den dazugehörigen PSTHs hinterlegt, um einen Überblick über die Veränderungen der neuronalen Aktivität innerhalb des Frequenz-Antwortbereichs zu erhalten. Man kann gut erkennen, dass sich die spontane, neuronale Aktivitätsrate außerhalb des exzitatorischen Frequenz-Antwortbereichs nur wenig änderte (Abbildung 7). Die Spontanrate des in Abbildung 7a dargestellten Neurons betrug  $1,47 (\pm 1,38)$  vor ACh Applikation und  $1,35 (\pm 1,03)$  während ACh Applikation. Für das in Abbildung 7b gezeigte Neuron ergab sich eine Spontanrate von  $1,25 (\pm 2,22)$  vor der ACh Applikation und eine Spontanrate von  $0,5 (\pm 0,87)$  während der ACh Applikation.

Die reizinduzierte Antwort dagegen veränderte sich unter ACh Applikation bei den beiden Neuronen systematisch: In Abbildung 7a verkleinerte sich der Frequenz-Antwortbereich. Entsprechend änderte sich der  $Q_{10\text{dB}}$ -Wert von 1,74 vor ACh Applikation auf 3,41 während der ACh Applikation und der  $Q_{40\text{dB}}$ -Wert von 0,92 auf 1,31, was real einer Verkleinerung des Frequenz-Antwortbereichs um rund ein Viertel entspricht. Der gegenteilige Effekt wird in Abbildung 7b dargestellt, wo sich das rezeptive Feld des Neurons unter dem Einfluss von ACh im Frequenzbereich ausdehnte und der Frequenz-Antwortbereich insgesamt größer wurde. Der  $Q_{10\text{dB}}$ -Wert vor ACh Applikation betrug in diesem Fall 3,14 und verringerte sich während der ACh Applikation auf 2,83. Der  $Q_{40\text{dB}}$ -Wert änderte sich von 0,88 auf 0,72 Die MT veränderte sich bei diesen beiden Neuronen nicht.



**Abbildung 7: Darstellung von Feldveränderungen der Frequenz-Antwortbereiche zweier Neurone unter der Gabe von ACh,** Gezeigt sind die Antworten der Neurone vor (obere Graphik), während (mittlere Graphik) und 20 Minuten nach (untere Graphik) ACh Applikation. Die **schwarze Kurve** gibt die Grenzen des jeweiligen Frequenz-Antwortbereichs an. Die zeitliche Präzision der neuronalen Antwort von 8 Reizwiederholungen (Binbreite 5 ms, max. Höhe 20 Aktionspotentiale) je Frequenz und Schallpegelkombination wird durch die hinterlegten PSTHs visualisiert. Gemessen wurde bei Frequenzen zwischen 0,4 und 12 kHz (a) bzw. 60 kHz (b) und Schalldruckpegeln jeweils zwischen -15 und 75 dB SPL (Abstand 15 dB).

#### 4.3.1 Klassifikation des Einflusses von ACh auf Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche

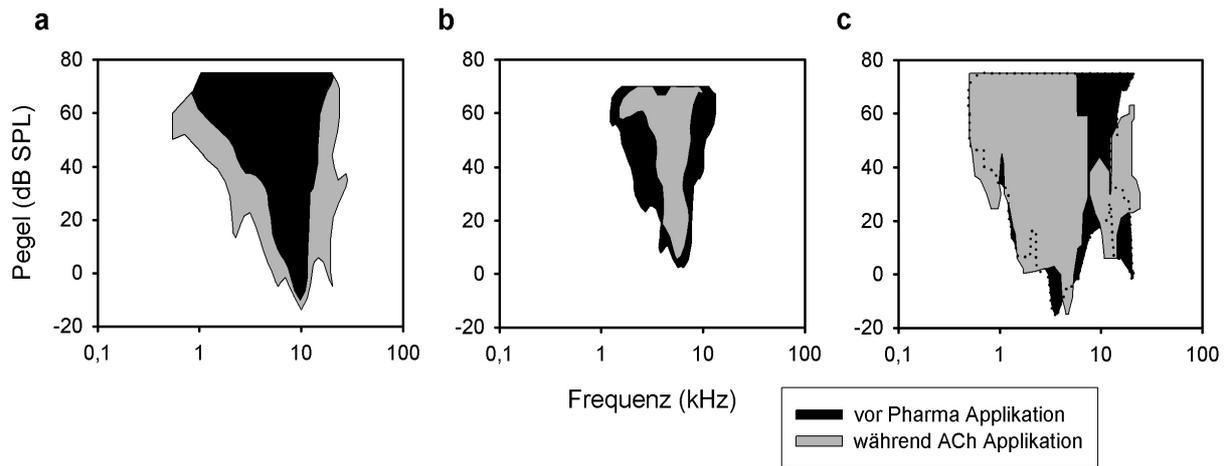
Unter dem Einfluss von ACh zeigten sich an rund der Hälfte der Neuronen Veränderungen der Frequenz-Antwortbereiche, die anhand der Q-Werte quantifiziert und genauer klassifiziert werden konnten. Der entscheidende Aspekt bei der Form und Größe der Frequenz-Antwortbereiche ist deren Breite bzw. Abstimmstärke, da diese für die Frequenzselektivität eine entscheidende Rolle spielt. Quantifiziert wurde die Abstimmstärke durch die  $Q_{10dB}$  und  $Q_{40dB}$ -Werte, die jeweils vor, während und nach der ACh Applikation verglichen wurden.

Dabei wurden Veränderungen als relevant und signifikant erachtet, wenn sich die ermittelten Q-Werte (sowohl  $Q_{10\text{dB}}$ - als auch  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte) jeweils um 30% oder mehr während der ACh Applikation änderten.

Bei Anwendung des gewählten Kriteriums zeigte sich in 53,4% aller Messungen mit ACh (41 von 77 Messungen) eine deutliche Änderung der Frequenz-Antwortbereiche hinsichtlich der Abstimmstärke des Frequenzbereichs. Dabei änderten sich im Mittel die  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte bei Messungen, die das doppelte 30% Kriterium erfüllten, um 156,5% ( $\pm 240,5$ ) und die  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte um 86,1% ( $\pm 73,7$ ). Bei Neuronen, die nicht das doppelte 30% Kriteriums erfüllten, lagen die mittleren Werte für  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte bei 29% ( $\pm 25$ ) und für  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte bei 35,8% ( $\pm 48,9$ ).

Die klaren Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche hinsichtlich der Abstimmstärke wurden in 3 Klassen eingeteilt: 19,5% der Messungen ( $n=15$ , bezogen auf die Gesamtzahl aller Messungen) zeigten eine Verkleinerung und 11,7% eine Vergrößerung des Frequenz-Antwortbereiches (9 Messungen). In 22,1% führten die neuronalen Antworten unter ACh Applikation zu komplexen Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche (17 Messungen).

Diese Änderungen werden zunächst exemplarisch in Abbildung 8 dargestellt. Dort wird jeweils ein Beispielneuron vor und während der iontophoretischen Applikation von ACh gezeigt. Auf die Darstellungen der Frequenz-Antwortbereiche nach dem Ende der Pharmakaapplikation wird aus Gründen der Übersicht an dieser Stelle verzichtet. Alle dargestellten Änderungen erwiesen sich jedoch als reversibel. In Abbildung 8a ist exemplarisch eine Verringerung und in Abbildung 8b eine Vergrößerung des Frequenz-Antwortbereichs als Folge einer veränderten neuronalen Aktivität während der Pharmakaapplikation dargestellt. Ein Beispiel für die Klasse der komplexen Änderung der Frequenz-Antwortbereiche ist in Abbildung 8c visualisiert. In diese Klasse fiel z.B. auch ein Frequenz-Antwortbereich eines Neurons, bei dem es zu einer deutlichen Erhöhung der Minimalschwelle um 20 dB kam, ohne dass sich die Flanken des Frequenz-Antwortbereichs änderten. Bei zwei weiteren Neuronen kam es zu einer Verschiebung des kompletten Frequenz-Antwortbereichs in den Bereich höherer Frequenzen, ohne dass sich an der Feldgröße an sich etwas verändert hätte.



**Abbildung 8: Überblick über Formen der Größenveränderung von Frequenz-Antwortbereichen bei Applikation von ACh anhand von Beispielneuronen, Die schwarzen Flächen repräsentieren jeweils einen Frequenz-Antwortbereich in der Ausgangslage, d.h. vor Pharmakaapplikation und die grauen Flächen jeweils die Frequenz-Antwortbereiche unter ACh Applikation. Zu sehen sind in (a) eine Vergrößerung des Frequenz-Antwortbereichs, in (b) eine Verkleinerung des Frequenz-Antwortbereichs und in (c) eine komplexe Veränderung des Frequenz-Antwortbereichs.**

Bei einigen, wenigen Neuronen änderte sich sowohl die Spontanrate, als auch die neuronale Aktivität im Frequenz-Antwortbereich deutlich. Da die Spontanrate in die Berechnung des Frequenz-Antwortbereichs eingeht (siehe Material und Methoden Abschnitt 3.5.2.1) so dass vermeintlich beobachtete Veränderungen an der Fläche des Frequenz-Antwortbereichs, unter Anwendung der Kriterien zur Bestimmung des Frequenz-Antwortbereichs, keine Feldveränderung ergaben.

#### 4.3.2 Effekte von ACh auf die Neuronenpopulation in Abhängigkeit von der Dosis

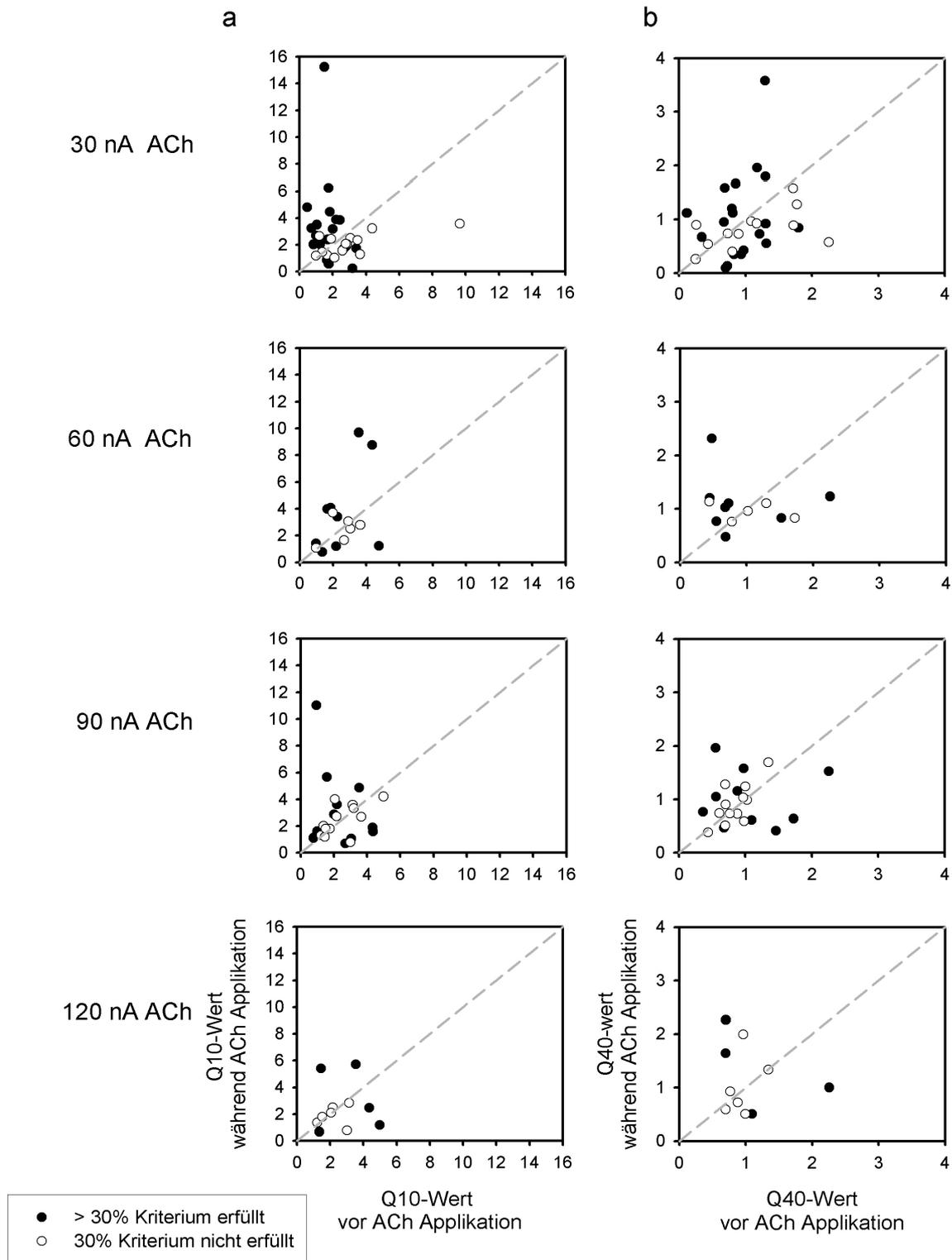
Die Abhängigkeit der gefundenen ACh Effekte von der Stärke des Iontophoresestroms ist in Tabelle 2 dargestellt. Mit ansteigendem Iontophoresestrom erhöht sich die Dosis der applizierten Substanz. Eine absolute Konzentrationsangabe ist allerdings nicht möglich (siehe Material und Methoden). Es zeigt sich, dass für jede Dosis in rund der Hälfte der Messungen (die Werte variieren von 50% bei 90 nA und 120 nA bis 57,1% bei 60 nA) Änderungen des Frequenz-Antwortbereichs auftreten. Der Anteil der komplexen Änderungen ist dabei für alle Dosen am höchsten, gefolgt von Feldverkleinerungen und Feldvergrößerungen.

**Tabelle 2: Geänderte Frequenz-Antwortbereiche bei ACh Applikation bezogen auf die Gesamtzahl an Neuronen.** Die Auflistung erfolgt getrennt für die eingesetzten Dosen von ACh. Die Prozentwerte beziehen sich auf die Gesamtheit aller Messungen je Dosis.

Dosis ACh	Gesamtanzahl (n=)	Anzahl kleiner	% Anteil an Gesamtpopulation	Anzahl größer	% Anteil an Gesamtpopulation	Anzahl komplex	% Anteil an Gesamtpopulation	Anzahl Änderung Gesamt	% Anteil an Gesamtanzahl
30 nA	29	6	7,8	4	5,2	6	7,8	16	55,2
60 nA	14	4	5,2	1	1,3	3	3,9	8	57,1
90 nA	24	4	5,2	3	3,9	5	6,5	12	50
120 nA	10	1	1,3	1	1,3	3	3,9	5	50
Gesamt	77	15	19,5	9	11,7	17	22,1	41	53,3

Wie stark sich Q-Werte durch die ACh Applikation änderten, wird in Abbildung 9 gezeigt. Dort sind die bereits erwähnten  $Q_{10dB}$ - und  $Q_{40dB}$ -Werte getrennt nach Stärke des Applikationsstroms jeweils vor und während der ACh Applikation dargestellt. Insgesamt wurde ACh in einem Stromstärkenbereich von 30 nA bis 120 nA über jeweils den gleichen Zeitraum appliziert.

Die gefüllten Symbole in der Abbildung 9 markieren Messungen, bei denen unter dem Einfluß von ACh eine Änderung der Abstimmstärke des Frequenz-Abstimmbereichs erfolgte (doppeltes Q-Wert Kriterium), während die offenen Symbole Messungen anzeigen, bei denen das doppelte Q-Wert Kriterium nicht erfüllt war. In diesen Fällen konnten einzelne Werte in den Teilgraphiken der Abbildung 9 zwar starke Änderungen eines Q-Wertes aufweisen, der zweite analysierte Q-Wert lag jedoch unterhalb des 30% Kriteriums.



**Abbildung 9: Dosisabhängige Änderungen der Abstimmbarkeit der Frequenz-Antwortbereiche.** Dargestellt sind in der linken Spalte (a) die  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte und in der rechten Spalte (b) die  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte. Es sind jeweils die entsprechenden Werte vor ACh Applikation gegen Werte bei ACh Applikation aufgetragen. Die gefüllten Symbole markieren Neuronen, die dem 30% Änderungskriterium entsprechen. Neurone, die das 30% Kriterium nicht erfüllen, sind mit offenen Symbolen dargestellt. Die grau gestrichelte Diagonale entspricht dem Wertebereich ohne Änderung. Alle Änderungen unter ACh Einfluß sind nicht signifikant (Wilcoxon,  $p > 0,05$ ).

Gut erkennbar sind die in ihrem absoluten Wert geringer ausfallenden  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte (Abbildung 9b) im Vergleich zu den  $Q_{10\text{dB}}$ -Werten (Abbildung 9a). Alle Änderungen waren jedoch über die Gesamtpopulation der Neurone statistisch nicht signifikant.

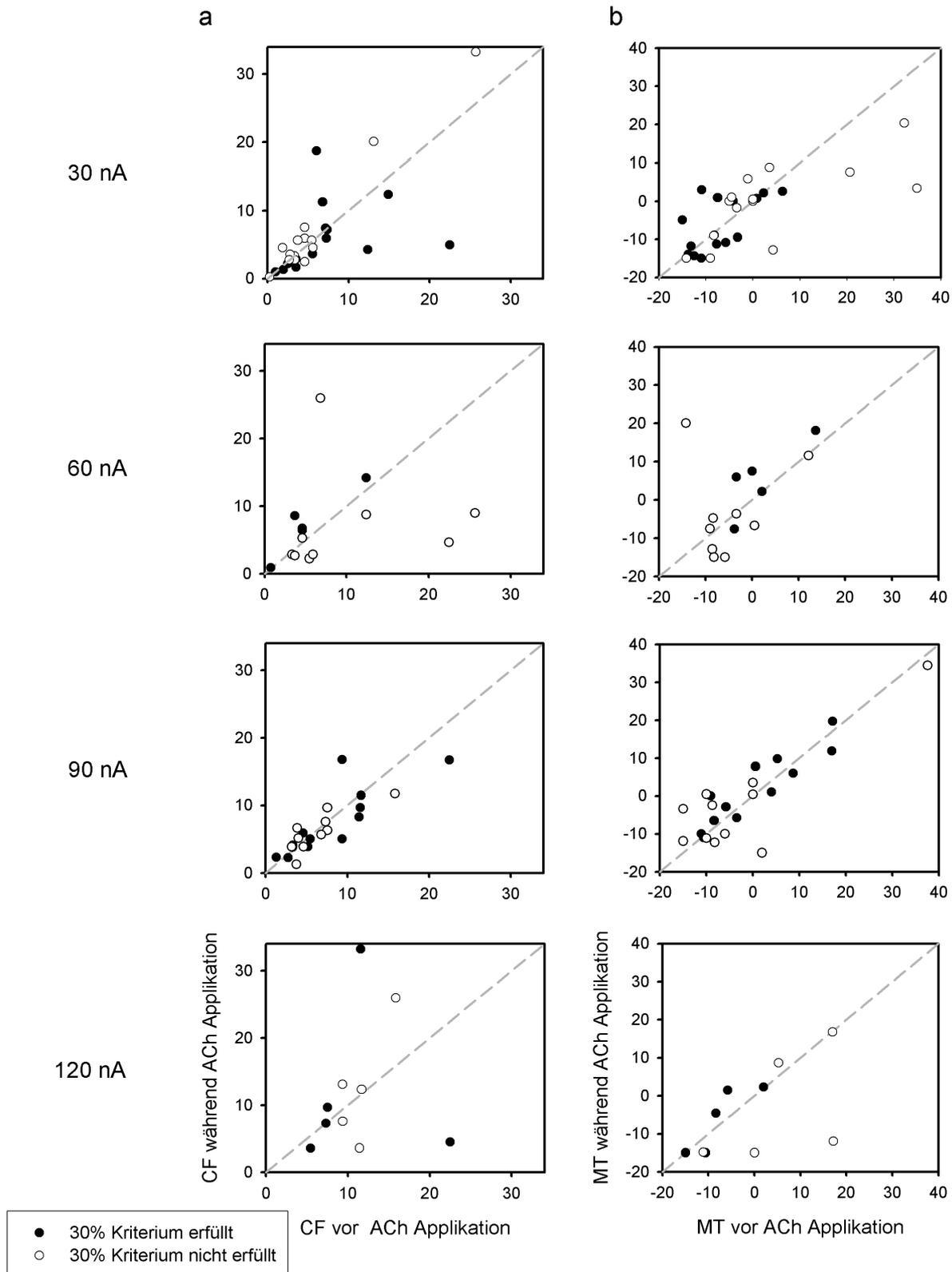
In Tabelle 3 sind die mittleren absoluten Änderungen der Q-Werte für jede Dosis der ACh Applikation einzeln aufgelistet. Dabei wird zur Klassifizierung das doppelte 30% Kriterium herangezogen. Es zeigt sich keine Abhängigkeit von der Dosis. Sowohl die mittleren Änderungen der  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte als auch diejenigen der  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte stimmen für jede Dosis in ihrer Größenordnung miteinander überein. Dies bedeutet, dass bereits die niedrigste verwendete Dosis (30 nA) in der vorliegenden Arbeit maximale oder sättigende Effekte verursacht.

**Tabelle 3: Mittlere prozentuale Änderungen der Q-Werte während der ACh Applikation.** Dargestellt sind die mittleren Änderungen (mit SD) der Q-Werte getrennt nach Messungen, die das 30% Kriterium erfüllen bzw. nicht erfüllen (in %) in Abhängigkeit von der iontophoretisch applizierten ACh Dosis.

Dosis (ACh)	% Änderung der $Q_{10\text{dB}}$ -Werte oberhalb des 30% Kriteriums	% Änderung der $Q_{10\text{dB}}$ -Werte unterhalb des 30% Kriteriums	% Änderung der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte oberhalb des 30% Kriteriums	% Änderung der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte unterhalb des 30% Kriteriums
30 nA	198,5 (269,3)	39,2 (28,9)	110,8 (181,4)	44 (66,2)
60 nA	87,8 (47,9)	29,4 (29,9)	102,3 (122,5)	46,6 (65,5)
90 nA	156,4 (290)	27,9 (29,8)	79,2 (67,8)	24,5 (21,2)
120 nA	101,1 (97,4)	21,4 (26,3)	116,3 (79,8)	35,2 (38,2)
Gesamt	154,3 (232,5)	30,8 (28,3)	102 (138,3)	36,2 (48,7)

#### 4.3.3 Einfluss von ACh auf die Lage der Frequenz-Antwortbereiche

Die Lage der Frequenz-Antwortbereiche wird mit Hilfe der Kennzahlen CF und MT quantifiziert und verglichen. In Abbildung 10a ist jeweils die CF bei unterschiedlicher Dosis der ACh Applikation im Vergleich zu Kontrollbedingungen visualisiert, und in Abbildung 10b werden die MTs in Abhängigkeit von der ACh Dosis dargestellt.



**Abbildung 10: Dosisabhängige Änderungen von charakteristischer Frequenz (CF) und Minimalschwelle (MT) der Frequenz-Antwortbereiche.** Dargestellt sind in (a) die CFs in kHz und in (b) die MTs in dB SPL, aufgetragen jeweils Werte vor ACh Applikation gegen Werte bei ACh Applikation. Die Änderungen unter ACh Einfluß sind nicht signifikant (Wilcoxon-Test,  $p > 0,05$ ). Die grau gepunktete Diagonale zeigt den Wertebereich ohne Änderung an.

Insgesamt tritt keine gerichtete Veränderung der CF oder MT während der ACh Applikation im Vergleich zu Kontrollbedingungen auf. Kleinere Unterschiede der CFs vor und während der ACh Applikation waren statistisch nicht signifikant (Wilcoxon MPSR-Test,  $n = 77$ ; S-Wert = 174, n.s.; Abbildung 10a). Das gleiche galt für den Vergleich der Minimalschwellen aus den Frequenz-Antwortbereichen vor und nach ACh Applikation. Die Minimalschwellen veränderten sich durch ACh Applikation im Mittel nicht (Wilcoxon MPSR-Test,  $n = 77$ ; S-Wert = 499, n.s.). So ähneln die CFs bzw. MTs während der Gabe von ACh im Wesentlichen den Werten der ursprünglichen Ausgangslage und streuen nur wenig um die grau gestrichelt eingezeichnete Diagonale, die den Bereich ohne Änderung angibt.

Das oben beschriebene Muster gilt im Wesentlichen für alle Kennwerte, wenn man die Daten nach der verwendeten ACh Dosis auftrennt. Im Einzelfall zeigen sich Schwankungen oder Änderungen in den ermittelten Kennzahlen (CF, MT, Q-Werte) der Frequenz-Antwortbereiche, diese sind jedoch insgesamt alle statistisch nicht signifikant (Wilcoxon MPSR-Test,  $p > 0,05$ ). Die einzelnen statistischen Werte für die jeweilige applizierte ACh Dosis finden sich in der nachfolgenden Tabelle 4 im Überblick.

**Tabelle 4: Darstellung der statistischen Analyseergebnisse (Wilcoxon MPSR-Test) der Änderungen des Frequenz-Antwortbereiches in Abhängigkeit der ACh Dosis**

Dosis ACh (nA)	Änderung CF	Änderung Q <sub>10</sub> – Wert	Änderung Q <sub>40</sub> – Wert	Änderung Minimalschwelle
30 n= 31	S-Wert = -12,5; p = 0,83	S-Wert = 41,5; p = 0,47	S-Wert = -29; p = 0,58	S-Wert = 24; p = 0,66
60 n= 14	S-Wert = -11; p = 0,56	S-Wert = 17; p = 0,36	S-Wert = 3,5; p = 0,84	S-Wert = 9,5; p = 0,58
90 n= 22	S-Wert = -47,5; p = 0,21	S-Wert = 23,5; p = 0,54	S-Wert = 10,5; p = 0,74	S-Wert = 65,5; p = 0,08
120 n= 10	S-Wert = 2; p = 0,9	S-Wert = 3; p = 0,63	S-Wert = 0,5; p = 1	S-Wert = -1,5; p = 0,92

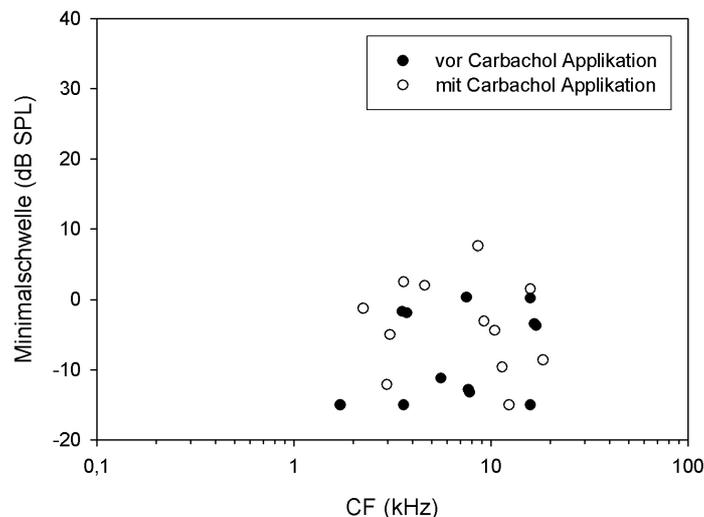
Abschliessend lässt sich also festhalten, dass ACh zwar in rund der Hälfte der Fälle den Frequenz-Antwortbereich verändert, diese Veränderungen jedoch nicht systematisch auftreten. Außerdem erzielt bereits die niedrigste getestete ACh Dosis Effekte, die in ihrer Größenordnung mit den Effekten bei höheren Dosen vergleichbar sind.

#### 4.4 Einfluss des ACh Agonisten Carbachol auf die Eigenschaften des Frequenz-Antwortbereichs

In einer zusätzlichen Versuchsreihe wurde bei 12 Neuronen statt ACh der cholinerge Agonist Carbachol iontophoretisch appliziert. Dadurch sollte sichergestellt werden, dass ein potentieller Effekt nicht durch den schnellen, enzymatischen Abbau von ACh maskiert wird. Carbachol kann von dem Enzym Acetylcholinesterase nicht gespalten werden und müsste deshalb zu einem länger andauernden Effekt in Neuronen führen. Aufgrund der geringen Neuronenanzahl wurden die Daten für 30 nA, 60 nA und 90 nA Carbachol zusammengefasst und nicht einzeln betrachtet.

##### 4.4.1 Allgemeine Datenlage bei mit Carbachol behandelten Neuronen

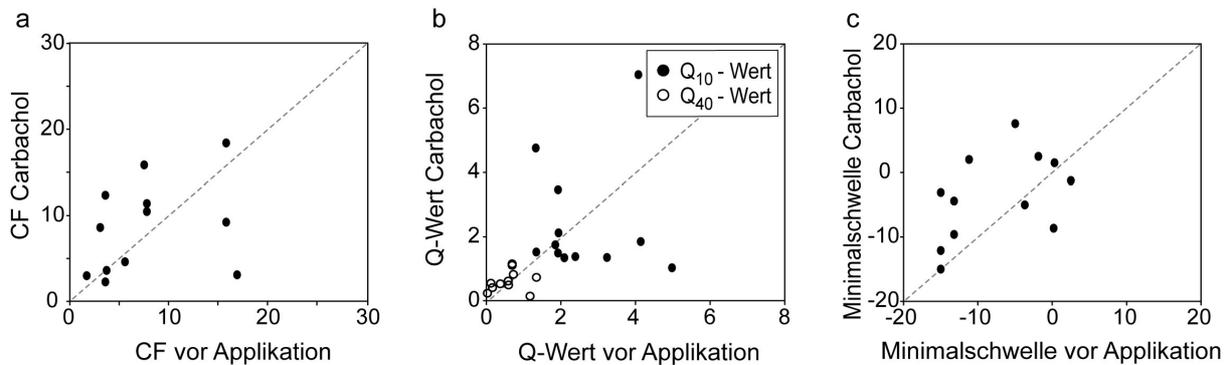
Die MTs und CFs liegen breit verteilt innerhalb des Hörbereichs der Wüstenrennmaus. Der Messbereich umfasste dabei CFs zwischen 2,2 kHz und 18,4 kHz, und MTs zwischen -15 und 9 dB SPL. Die Messungen erfolgten in den kortikalen Schichten II - V.



**Abbildung 11: Verteilung der Minimalschwellen in Abhängigkeit der CF für Frequenz-Antwortbereiche: Einfluss iontophoretischer Carbachol Applikation.** Dargestellt sind die Messwerte für Neurone vor (**gefüllte Symbole**) und während (**offene Symbole**) einer Carbachol Applikation (n = 12).

Betrachtet man den Einfluss von Carbachol Applikation auf die ermittelten Messparameter: CF, MT und Abstimmstärke des Frequenz-Antwortbereichs anschließend genauer, so ergab sich zwischen den CF-Verteilungen vor und während der Carbachol Applikation kein statistisch signifikanter Unterschied (Wilcoxon MPSR-Test, S-Wert = 11, n.s.; Abbildung 12). Das gleiche galt für einen Vergleich der Q-Werte in Abbildung 12b (Änderung  $Q_{10dB}$ -Wert: S-Wert = -6; n.s.; Änderung  $Q_{40dB}$ -Wert: S-Wert = 15; n.s.) und der

Minimalschwellen (Abbildung 12c). Auch bei letzterem ergab sich zwischen den Frequenz-Antwortbereichen vor und während der Carbachol Applikation im Mittel keine Änderung (Wilcoxon MPSR-Test, S-Wert = 19, n.s.).



**Abbildung 12: Änderungen von CF,  $Q_{10dB}$ -Wert und Minimalschwelle von Frequenz-Antwortbereichen im auditorischen Kortex während der Carbachol Applikation.** Vergleich der Werte vor und während der Carbachol-Applikation von (a) CF-Werten (in kHz), (b)  $Q_{10dB}$ -Werten und  $Q_{40dB}$ -Werten, sowie (c) Minimalschwellen (in dB SPL) (n = 12).

#### 4.4.2 Einfluss von Carbachol auf die Spontanrate

Ausgehend von Beobachtungen schwankender Spontanraten unter ACh Applikation, wurde auch die Spontanrate unter Carbachol Applikation betrachtet. Es konnte allerdings kein Einfluß von Carbachol auf die neuronale spontane Aktivitätsrate festgestellt werden. So lag die mittlere Spontanrate vor Carbachol Applikation bei  $1,85 (\pm 2,304)$  APs/s. Die mittlere Spontanaktivität mit Carbachol Applikation blieb gleich und betrug:  $1,85 (\pm 2,531)$  APs/s. Damit gab es keinen signifikanten Einfluss von Carbachol auf die Spontanrate (Wilcoxon MPSR-Test S-Wert = 2; p = 0,781).

#### 4.5 Verteilung der ACh- und Carbachol-Effekte in Abhängigkeit von der kortikalen Schicht

Möglicherweise werden Neurone in unterschiedlichen kortikalen Schichten verschieden von ACh bzw. Carbachol beeinflusst. Die Ergebnisse der diesbezüglichen Analyse wurden dabei für Neurone mit ACh Applikation, sowie Neurone mit Carbachol Applikation zusammengefasst und gemeinsam betrachtet.

#### 4.5.1 Änderung der Abstimmsschärfe der Frequenz-Antwortbereiche in Abhängigkeit von der kortikalen Schicht

Zunächst wurden die mittleren Abstimmsschärfen der Frequenz-Antwortbereiche in Form von Q-Werten (Tabelle 5 und Tabelle 6) für die einzelnen kortikalen Schichten bestimmt. In Tabelle 5 sind jeweils alle Ergebnisse für  $Q_{10dB}$ -Werte und in Tabelle 6 alle Ergebnisse für  $Q_{40dB}$ -Werte aufgelistet. Aufgrund einer breiten Streuung der Messwerte und einer geringen Anzahl an Neuronen je kortikaler Schicht wurde auf den Median zurückgegriffen, der besser als ein Mittelwert die mittlere Verteilung der Messwerte über die kortikalen Schichten hinweg abbilden konnte. Eine Abhängigkeit der Abstimmsschärfe (gemessen als Q-Werte) der Frequenz-Antwortbereiche von der kortikalen Schicht konnte allerdings nicht festgestellt werden.

**Tabelle 5: Mittlere  $Q_{10dB}$ -Werte vor und während ACh und Carbachol Applikation in Abhängigkeit der kortikalen Schicht**

Kortikale Schicht	Anzahl Neurone	vor Pharmakaapplikation			während Pharmakaapplikation		
		$Q_{10}$ Median	$Q_{10}$ 1. Quartil	$Q_{10}$ 3. Quartil	$Q_{10}$ Median	$Q_{10}$ 1. Quartil	$Q_{10}$ 3. Quartil
I	3	4,08	4,34	4,98	1,88	1,18	4,2
II	7	1,45	1,23	2,05	1,81	1,31	4,01
III	19	2,17	1,75	3,05	2,39	1,35	3,33
IV	25	2,26	1,36	3,6	2,69	1,26	4,61
V	27	2,58	1,34	3,14	1,74	1,5	2,83
VI	4	2,15	0,82	2,75	3,95	2,49	4,63

**Tabelle 6: Mittlere  $Q_{40dB}$ -Werte vor und mit ACh und Carbachol Applikation in Abhängigkeit der kortikalen Schicht**

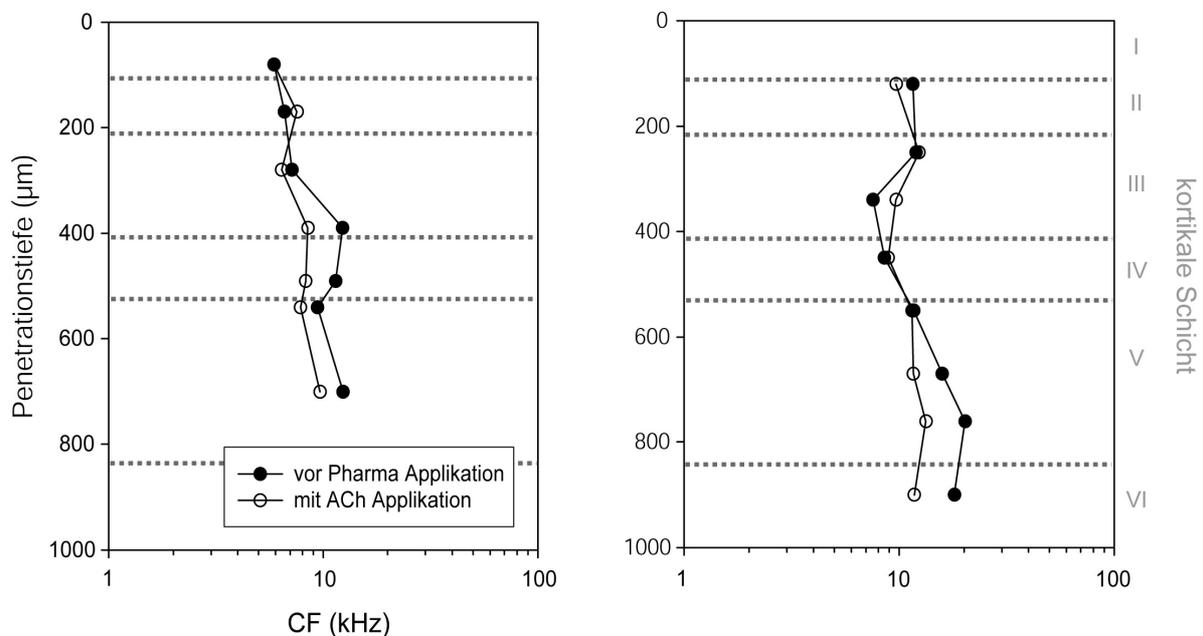
Kortikale Schicht	vor Pharmakaapplikation			während Pharmakaapplikation		
	$Q_{40}$ Median	$Q_{40}$ 1. Quartil	$Q_{40}$ 3. Quartil	$Q_{40}$ Median	$Q_{40}$ 1. Quartil	$Q_{40}$ 3. Quartil
I	0,70	0,70	0,88	1,16	0,9	2,26
II	0,7	0,7	1,35	1,28	0,59	1,63
III	0,85	0,71	1,46	0,73	0,47	1,11
IV	0,68	0,44	0,99	0,73	0,49	1,09
V	0,88	0,61	1,31	0,90	0,61	1,11
VI	0,68	0,39	1,18	0,72	0,47	1,54

Im Mittel stieg der Median des Q – Wertes bei Pharmakaapplikation leicht an (Tabelle 5 und Tabelle 6). So ergaben sich Q-Werte, die überwiegend einer Verkleinerung des Frequenz-Antwortbereiches während der Pharmakaapplikation entsprachen (Ausnahmen für  $Q_{10dB}$ -Werte: kortikale Schicht I und V, und für  $Q_{40dB}$ -Werte: kortikale Schicht III). Die massive Änderung des  $Q_{10dB}$ -Wertes in der kortikalen Schicht I während der

Pharmakaapplikation im Vergleich zur Ausgangslage kann mit der geringen Anzahl an Neuronen erklärt werden. Die Änderungen der  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte waren meist stärker, als die Änderungen der  $Q_{40\text{dB}}$ -Werte. Einzig die Q-Werte der kortikalen Schicht II bildeten eine Ausnahme.

#### 4.5.2 Änderung der CF bei ACh Applikation im Bezug auf die Penetrationstiefe

Neben der Schichtabhängigkeit der Abstimmstärke des Frequenz-Antwortbereichs wurde auch eine Schichtabhängigkeit der CF ohne bzw. mit Pharmakaapplikation untersucht, deren Ergebnisse exemplarisch in Abbildung 13 dargestellt sind.



**Abbildung 13: Gemessene CFs in Abhängigkeit der Penetrationstiefe bei zwei senkrechten Kortexpenetrationen.** Die Messdaten stammen von zwei unterschiedlichen Tieren. Dargestellt sind die Ergebnisse vor (**gefüllte Symbole**) und während (**offene Symbole**) der Applikation von ACh. Es ergab sich jeweils kein signifikanter Unterschied (gepaarter t-Test, n.s.).

Die gemessenen CFs bei der hier angewandten senkrechten Penetration des Kortex waren für alle gemessenen Neurone mit zunehmender kortikaler Tiefe stabil. Die Veränderung der CFs durch die ACh Applikation je kortikaler Schicht zu einem tieferen Frequenzbereich hin, war nicht signifikant (gepaarter T-Test:  $n = 7$ ;  $t\text{-Wert} = -2,391$ ;  $p = 0,054$  und  $n = 8$ ;  $t\text{-Wert} = -1,757$ ;  $p = 0,122$ ), was aber auch an der geringen Stichprobengröße liegen könnte.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass keine spezifische Verteilung der neuronalen Antworteigenschaften in Bezug auf die kortikale Schicht ermittelt werden konnte. Dies gilt sowohl für die Abstimmshärfe der Frequenz-Antwortbereiche als auch für die jeweiligen, zugehörigen CFs.

#### **4.6 Einfluss des ACh Antagonisten Atropin auf die Eigenschaften der Frequenz-Antwortbereiche**

Neben dem Einsatz von ACh bzw. des Agonisten Carbachol, wurde auch mit dem muskarinischen Antagonisten Atropin experimentiert. Atropin wurde dabei sowohl allein als auch im Kombination mit ACh eingesetzt. Im letzteren Fall sollte untersucht werden, ob potentielle ACh Effekte direkt antagonisierbar sind.

##### **4.6.1 Einfluss von Atropin auf die Spontanrate**

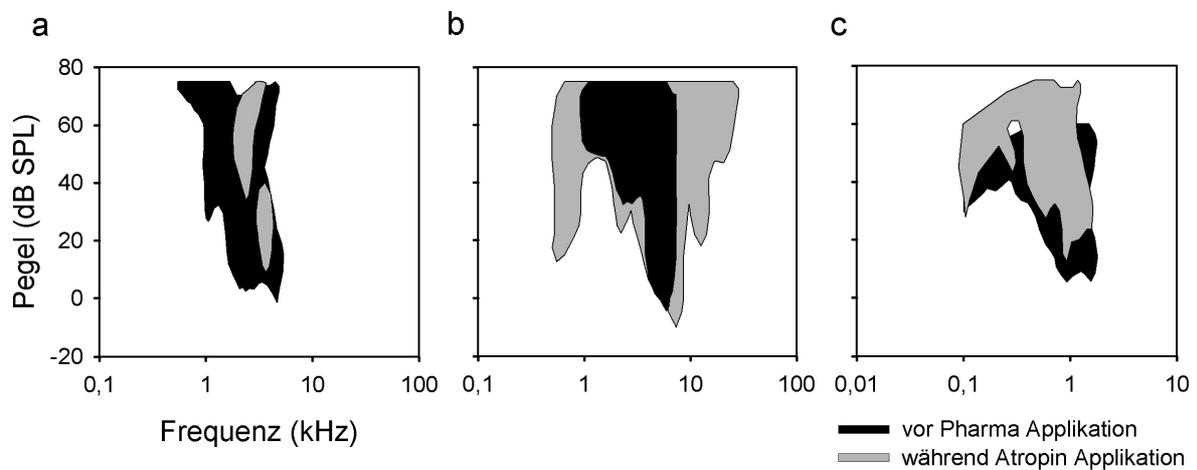
Genau wie zuvor für ACh und Carbachol wurden auch die Veränderungen auf die Spontanrate unter dem Einfluss von Atropin betrachtet. Dabei zeigte sich, dass auch Atropin keinen signifikanten Einfluss auf die neuronale spontane Aktivitätsrate hatte. So lag die mittlere Spontanrate vor Atropin Applikation bei  $2,17 (\pm 1,7)$  und mit Atropin Applikation etwas geringer bei  $1,72 (\pm 1,5)$ . Die beiden Spontanraten unterschieden sich also nicht signifikant voneinander (Wilcoxon MPSR-Test S-Wert = -98,5;  $p = 0,092$ ).

##### **4.6.2 Einfluss von Atropin auf die Frequenz-Antwortbereiche: Beispielneurone**

Von Interesse waren bei der Atropin Applikation nicht nur die ACh-maskierende Wirkung im zeitlich versetzten Einsatz nach einer ACh Applikation, sondern auch der mögliche Einfluss auf Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche im Hinblick auf Abstimmshärfe und Minimalschwelle bei pharmakologischem Einsatz von Atropin. Bei der Atropin Applikation ohne vorherige ACh Applikation konnte bei rund der Hälfte (55,6%) aller Messungen ( $n = 36$ ) ein Effekt durch die Iontophorese festgestellt werden. Es wurde das gleiche Kriterium wie bei der Untersuchung des Einflüsse von ACh benutzt. (siehe Abschnitt 4.3.1 und Material und Methoden Abschnitt 3.5.1.2). In 22,2% (8 Messungen), bezogen auf die Gesamtzahl aller Messungen, kam es zu einer Verkleinerung und in 25% (9 Messungen) zu einer Vergrößerung des Frequenz-Antwortbereiches. Komplexe Änderungen fanden sich lediglich in 8,3% (3

Messungen). Der Anteil der komplexen Änderungen am Frequenz-Antwortbereich fällt unter der Gabe von Atropin deutlich geringer als unter der Gabe von ACh (siehe Abschnitt 4.3.1) aus.

Ein Beispiel für eine komplexe Änderung ist in Abbildung 14c gezeigt, eine Verschiebung der CF zu einem tieferen Frequenzbereich ist gekoppelt mit einer Schwellenerhöhung. In einigen Neuronen ergab sich, analog zu den Effekten unter ACh Applikation, eine Verkleinerung (Abbildung 14a) oder eine Vergrößerung (Abbildung 14b) der Fläche der Frequenz-Antwortbereiche.



**Abbildung 14: Effekte von Atropin auf Form und Größe von Frequenz-Antwortbereichen (Kriterium: doppelte Q-Wert-Veränderung um 30%).** In (a) ist eine klare Verkleinerung, in (b) eine Vergrößerung der Fläche des Frequenz-Antwortbereichs unter Atropin Applikation dargestellt. In (c) findet eine Verschiebung des kompletten Frequenz-Antwortbereichs in einen höheren Frequenzbereich statt. Die **schwarzen Flächen** repräsentieren den Zustand vor, die **grauen Flächen** den Zustand während der Iontophorese von Atropin.

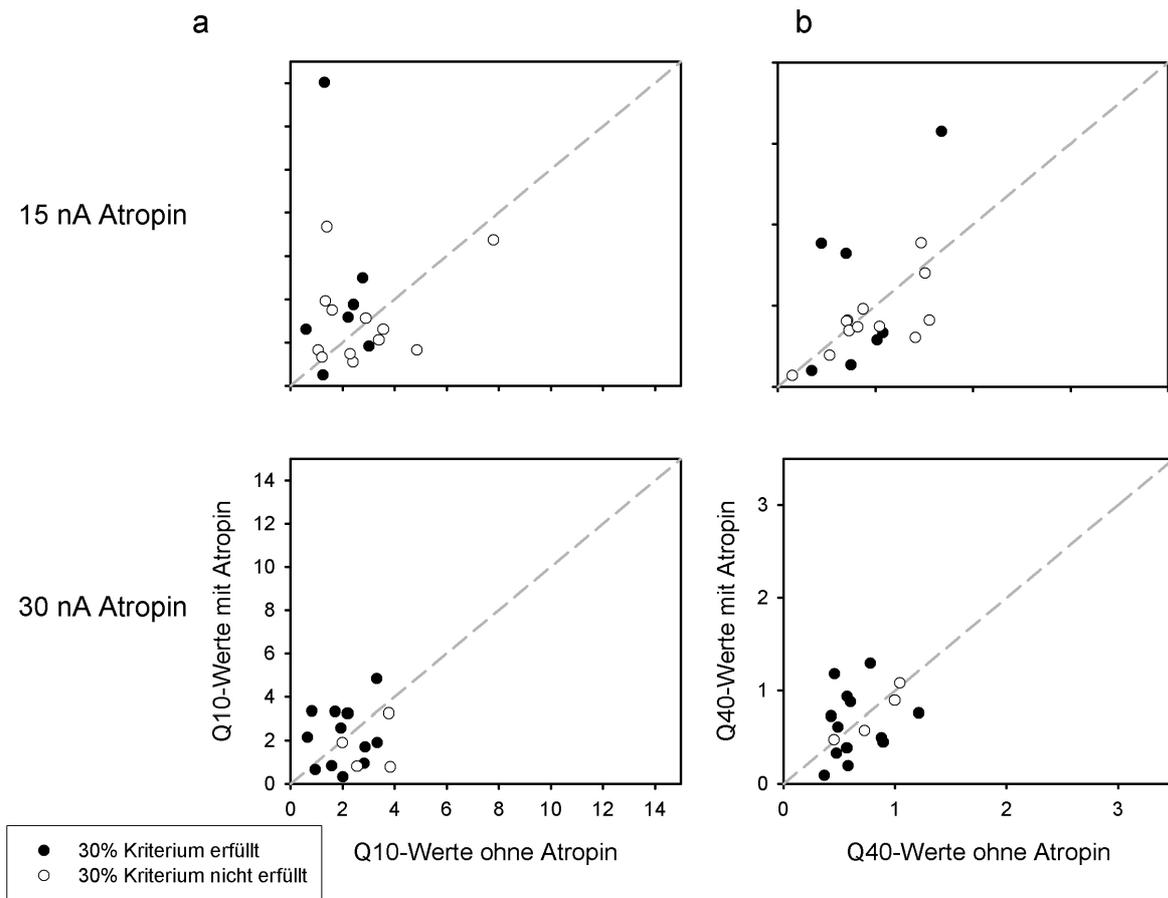
### 4.6.3 Einfluss von Atropin auf die Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche der Neuronenpopulation

Die Änderungen der CF, MT und Q-Werte vor und während der Applikation von Atropin sind für die beiden bei der Iontophorese verwendeten Stromstärken (15 nA und 30 nA) in Abbildung 15 und Abbildung 16 dargestellt. Die mittleren prozentualen Änderungen finden sich außerdem als Übersicht in Tabelle 7. Es fällt auf, dass prozentual mehr Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche bei der höheren Atropin Applikation im Vergleich zur niedrigeren Atropin Applikation auftreten, auch wenn die absoluten Zahlen angesichts der kleinen Neuronenpopulationsgröße gering sind. Zudem ist insgesamt die Anzahl komplexer Änderungen im Vergleich zum Einfluss von ACh deutlich geringer.

**Tabelle 7: Mittlere prozentuale Änderungen der Q-Werte unter dem Einfluss von Atropin.** Dargestellt sind die mittleren Änderungen (mit SD) der Q-Werte getrennt nach Messungen, die das 30%-Kriterium erfüllen bzw. nicht erfüllen (in %), in Abhängigkeit von der iontophoretisch applizierten Atropin Dosis.

Dosis Atropin	Gesamtanzahl (n=)	Anzahl kleiner	% Anteil an Gesamtpopulation	Anzahl größer	% Anteil an Gesamtpopulation	Anzahl komplex	% Anteil an Gesamtpopulation	Anzahl Änderung Gesamt	% Anteil an Gesamtanzahl
15 nA	19	2	10,5	3	15,8	2	10,5	7	36,8
30 nA	17	6	35,3	6	35,3	1	5,9	13	76,5
Gesamt	36	8	22,2	9	25	3	8,3	20	55,6

Die Änderungen der Q-Werte unter dem Einfluss von Atropin sind in Abbildung 15 dargestellt. Auch hier sind die Fälle, in denen das Kriterium von 30% Änderung der beiden Q-Werte greift, als gefüllte Symbole in den Graphiken visualisiert, während die Messungen, die das Kriteriums nicht erfüllen, mit offenen Symbolen dargestellt sind. Insgesamt zeigen sich keine großen Effekte. So ähneln die Q-Werte während der Gabe von Atropin im Wesentlichen den ursprünglichen Q-Werten der Ausgangslage und streuen dementsprechend nur wenig um die grau gestrichelt eingezeichnete Diagonale, die den Bereich ohne Änderung angibt.



**Abbildung 15: Änderungen der Eigenschaften der Frequenz-Antwortbereiche durch Atropin Applikation.**

Die Graphiken zeigen (a) Änderung der  $Q_{10dB}$ -Werte und (b) Änderung der  $Q_{40dB}$ -Werte während 15 nA und 30 nA Atropin Applikation,  $n = 19$  für 15 nA Atropin und  $n = 17$  für 30 nA Atropin.

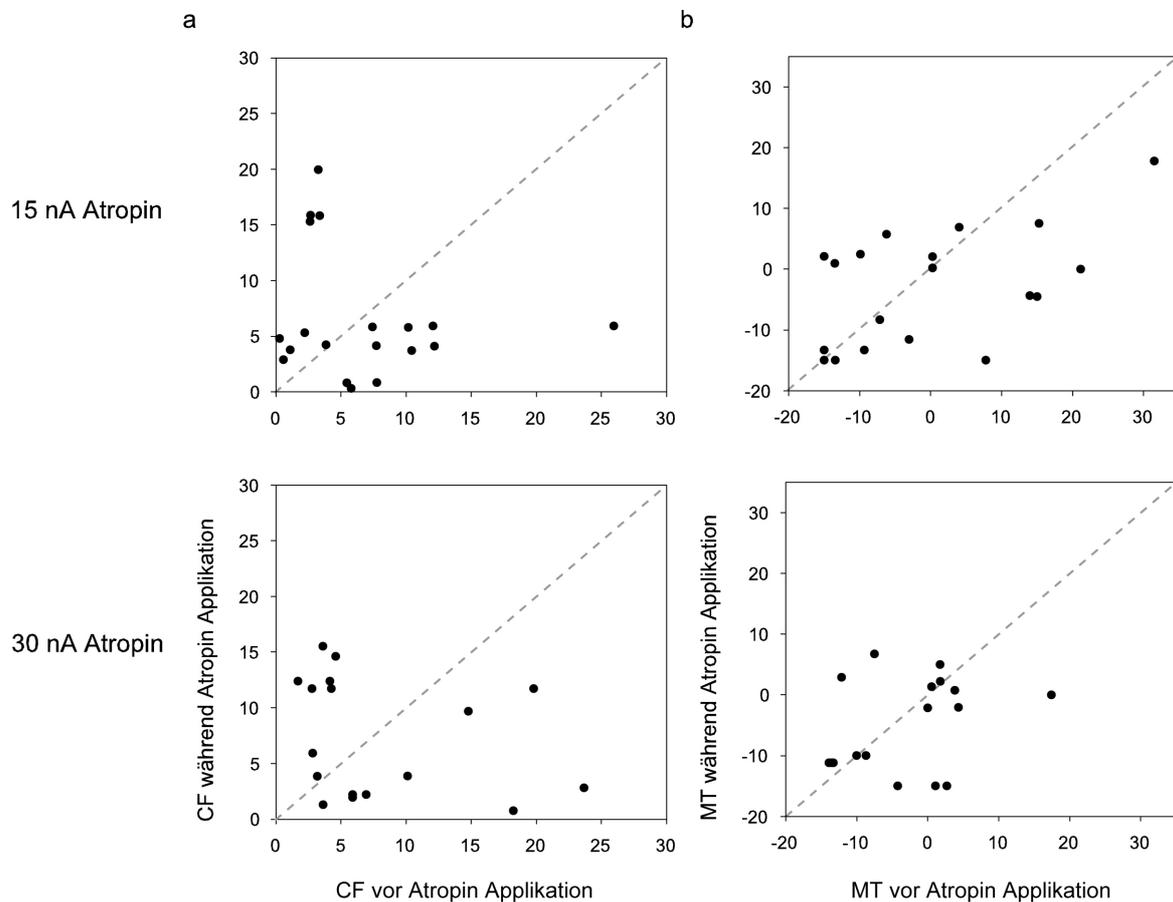
In der folgenden Tabelle sind die mittleren prozentualen Änderungen der Q-Werte unter dem Einfluss von Atropin dargestellt.

**Tabelle 8: Anzahl geänderter Frequenz-Antwortbereiche bezogen auf die Gesamtzahl an Neuronen.** Die Auflistung erfolgt getrennt für die eingesetzten Dosen von Atropin. Die Prozentwerte beziehen sich je Dosis auf die Gesamtheit aller Messungen mit Effekt unter Anwendung des doppelten 30% Kriteriums.

Dosis (Atropin)	Änderung $Q_{10dB}$ -Werte oberhalb des 30% Kriteriums	Änderung $Q_{10dB}$ -Werte unterhalb des 30% Kriteriums	Änderung $Q_{40dB}$ -Werte oberhalb des 30% Kriteriums	Änderung $Q_{40dB}$ -Werte unterhalb des 30% Kriteriums
15 nA	297,6 (364,5)	147,8 (141,8)	146,6 (133,1)	88,8 (24,8)
30 nA	132,4 (116,1)	58,4 (37,9)	106,7 (69,1)	93,6 (12)
Gesamt	193,5 (237,9)	125,4 (129)	120,7 (94,8)	90 (22)

Insgesamt fallen die Änderungen etwas größer aus als unter dem Einfluss von ACh. Allerdings ist die Schwankungsbreite in der geringen Stichprobenzahl auch deutlich höher, so dass einzelne Änderungen der Q-Werte deutlich vom Mittel variieren können.

In Abbildung 16a ist jeweils die CF bei unterschiedlicher Dosis der Atropin Applikation, im Vergleich zu Kontrollbedingungen, zu sehen. Abbildung 16b visualisiert den Zusammenhang der Minimalschwellen in Abhängigkeit der Atropin Applikation. Die Messwerte streuen dabei jeweils gleichmäßig um die grau gepunktete Diagonale, die einer Änderung von Null bzw. einer unveränderten Situation entspricht. Auch hier zeigen sich also keine großen Änderungen der CFs bzw. MTs während der Atropin Applikation.



**Abbildung 16: Änderungen von CF und Minimalschwelle der Frequenz-Antwortbereiche unter Atropin Applikation.** Die Graphiken zeigen (a) Änderung der CF und (b) Änderung der MT während 15nA und 30nA Atropin Applikation,  $n = 19$  für 15nA Atropin und  $n = 17$  für 30nA Atropin.

Obwohl sich im Einzelfall Schwankungen oder Änderungen zeigen, waren diese alle statistisch nicht signifikant (Wilcoxon,  $p > 0,05$ ). Die genauen statistischen Werte können Tabelle 9 entnommen werden.

**Tabelle 9: Darstellung der statistischen Analyseergebnisse (Wilcoxon MPSR-Test) der Änderungen des Frequenz-Antwortbereiches in Abhängigkeit der Atropin Dosis**

Dosis Atropin (nA)	Änderung CF	Änderung $Q_{10}$ – Wert	Änderung $Q_{40}$ – Wert	Änderung Minimalschwelle
15 n=19	S-Wert = -37; p = 0,18	S-Wert = 26; p = 0,35	S-Wert = -24; p = 0,39	S-Wert = -24; p = 0,35
30 n=17	S-Wert = 1,5; p = 0,96	S-Wert = -10,5; p = 0,64	S-Wert = -7,5; p = 0,75	S-Wert = -14; p = 0,5

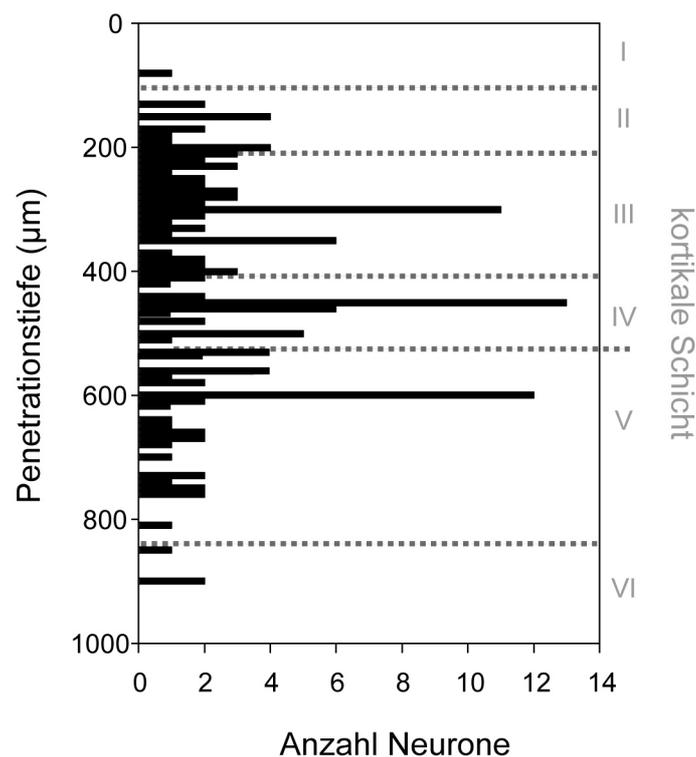
Zusammenfassend finden sich also keine signifikanten Unterschiede für CFs, MTs und Q-Werte, auch wenn sich rund die Hälfte der Frequenz-Antwortbereiche während der Atropin Applikation ändert. Allerdings konnten wieder Klassen von Messungen definiert werden, in denen jeweils eine klare Vergrößerung, Verkleinerung oder komplexere Änderung der Abstimmstärke (als Q-Werte) zu erkennen war.

## 5 Ergebnisse zur zeitlichen Abstimmung auf repetitive Reize und möglicher GABAerger Einflüsse

### 5.1 Allgemeine Datenlage

Für die Versuche mit repetitiven Reizen wurden 22 adulte Tiere beiderlei Geschlechts (♀12, ♂10) verwendet. Bei 9 Tieren wurden die Versuche unter iontophoretischer BIC Applikation durchgeführt.

Es erfolgten insgesamt Messungen an 104 Neuronen ohne Pharmakologie und an 30 Neuronen mit Pharmakologie im primären Areal des auditorischen Kortex. Die Messungen erfolgten von der Kortexoberfläche bis in eine Tiefe von 900  $\mu\text{m}$ . Dies schließt alle sechs kortikalen Schichten ein (Foeller et al. 2001). Die Messdaten wurden hauptsächlich in den Schichten III - V erhoben (Abbildung 17). Es handelt sich dabei sowohl um Messungen an Einzelzellen (sog. single units) als auch um Mehrzelleableitungen (sog. multi units).

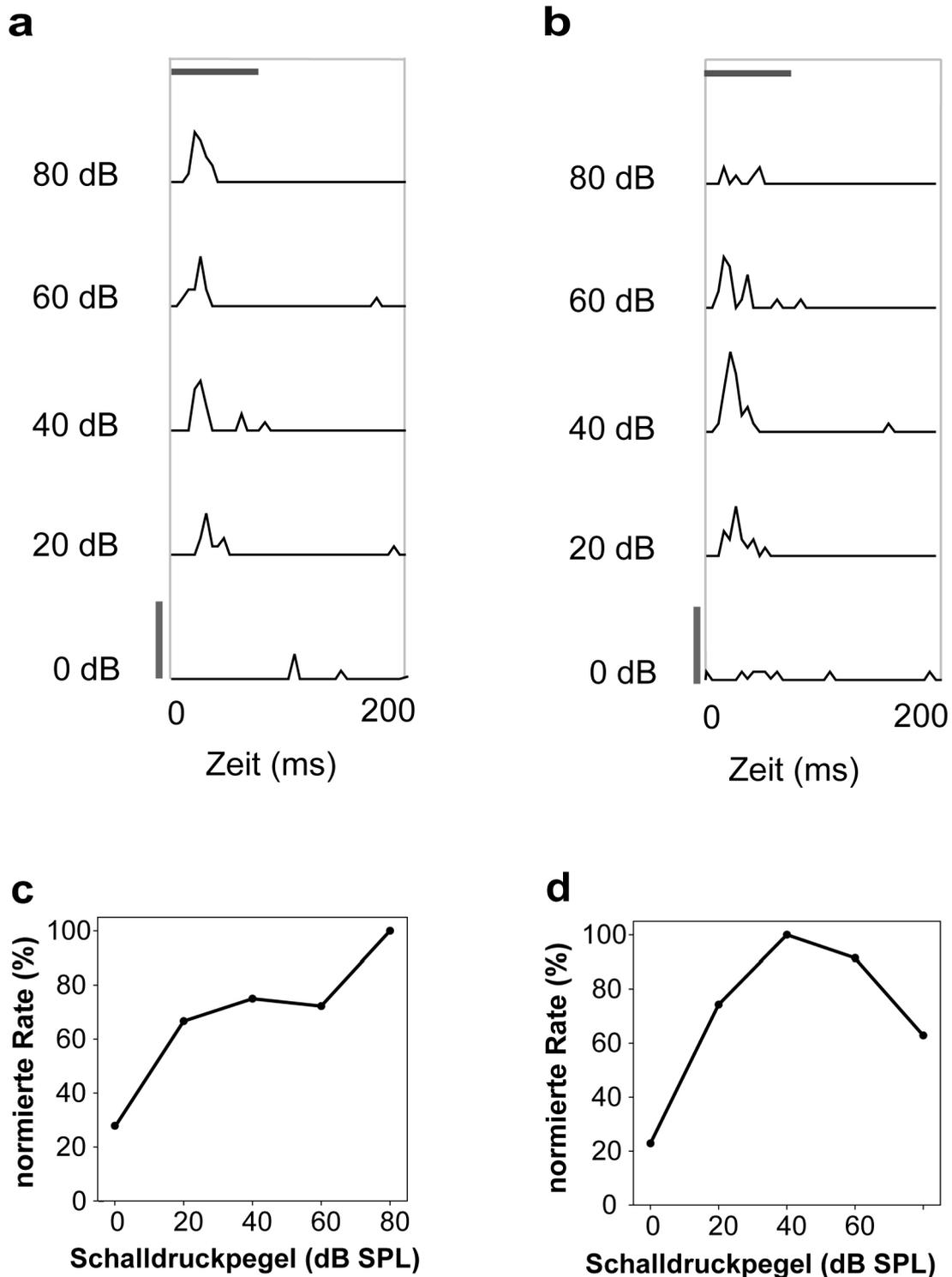


**Abbildung 17: Verteilung der Neuronen über die Penetrationstiefe und kortikale Schicht.** Es wird die Verteilung der abgeleiteten Neurone nach Penetrationstiefe während der Messung (linke Ordinate, und die zugehörige kortikale Schicht (rechte Ordinate) dargestellt. Dabei zeigt sich, dass vor allem in den Schichten III bis V gemessen wurde (n = 134 Neurone).

## **5.2 Ratenintensitätskennlinien**

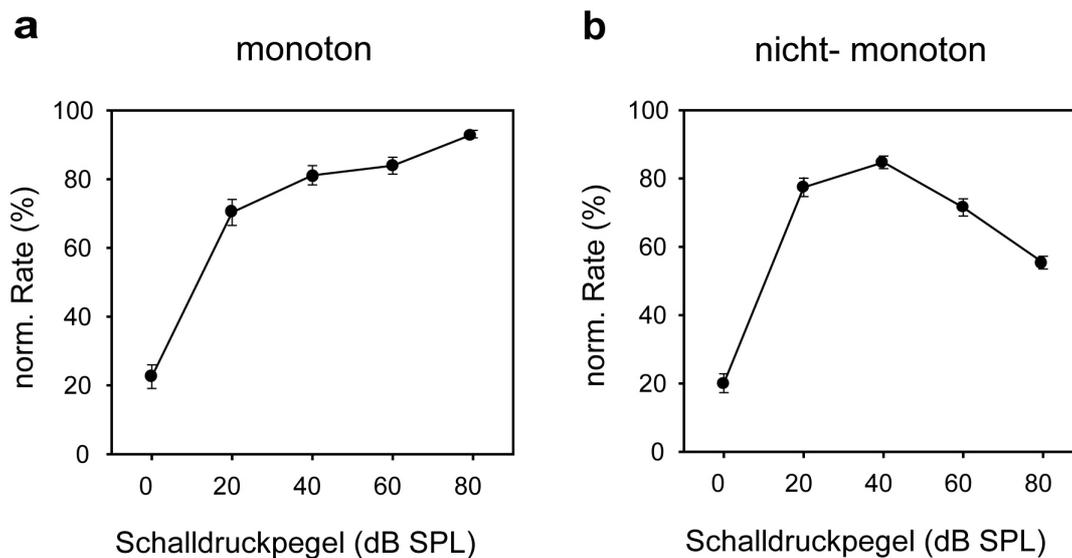
Bei allen Neuronen wurden zuerst die Frequenz-Antwortbereiche bestimmt. Diese hatten fast ausschließlich die typische V-förmige Abstimmung. Die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Neurone hatten CFs zwischen 1,1 und 16 kHz und lagen damit in einem Frequenzbereich in dem die Verhaltenshörschwellen der Wüstenrennmaus nahezu konstant sind. Aus diesem Grunde wurden im weiteren Versuchsablauf für die unterschiedlichen Neurone gleiche Schallpegelschritte zur Untersuchung der Pegelabhängigkeit der neuronalen Antworten in einem Pegelbereich von -10 bis 80 dB SPL verwendet. Da der Schwerpunkt der Analyse auf der zeitlichen Dimension liegen sollte und zudem die neuronale Aktivitätsrate auf einen repetitiven Reiz laut Eggermont (2001) unabhängig von der CF bzw. der Bandbreite eines Frequenz-Antwortbereichs erfolgt, wird in der vorliegenden Untersuchung auch dann noch von CF gesprochen, wenn ein rezeptives Feld über den benutzten Pegelbereich hinaus reichte und dementsprechend im strengen Sinne eigentlich nicht von einer CF gesprochen werden kann.

An der jeweiligen CF wurden die mittleren, neuronalen Antwortstärken in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel bestimmt und damit so genannte Ratenintensitätskennlinie ermittelt. Die Ratenintensitätskennlinien wurden nach der allgemeinen Form in zwei Kategorien eingeteilt: monoton ansteigende und nicht-monoton ansteigende Kennlinien. Die Kennlinien wurden als monoton bezeichnet, wenn die Rate der Aktionspotentiale über den gesamten Schalldruckpegelbereich kontinuierlich anstieg. Das Kriterium für einen nicht-monotonen Kurvenverlauf war dagegen ein Abfall der Aktionspotentialrate um mehr als 20% bei höheren Schalldruckpegeln (Sugimoto 1997). Die mittlere Antwortrate bei zunehmendem Schalldruckpegel ist beispielhaft für jeweils ein Neuron mit monotoner und nicht-monotoner Ratenintensitätskennlinie in Abbildung 18 dargestellt. Deutlich kann man bei dem nicht-monotonen Neuron (Abbildung 18b und d) den Abfall der neuronalen Aktivität bei höheren Schalldruckpegeln erkennen. Die höchste Aktivität im PSTH liegt in diesem Fall bei 40 – 60 dB SPL, mit weiter zunehmendem Schalldruckpegel fällt die Aktivität dann wieder ab. Im Gegensatz dazu steigt die neuronale Aktivität beim monotonen Beispielneuron kontinuierlich mit zunehmendem Schalldruckpegel weiter an (Abbildung 18a und c).



**Abbildung 18: Monotones und nicht-monotones Antwortverhalten in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel im primären auditorischen Kortex von Wüstenrennmäusen.** Mittlere Antwortaktivität (dargestellt in PSTHs) bei CF zeigen jeweils beispielhaft ein Neuron für (a) monotonen und (b) nicht-monotonen Antwortverhalten in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel. Der **horizontale Balken** markiert die Dauer des Reinton-Reizes, der **vertikale Kalibrierbalken** unten links entspricht in der Höhe fünf APs im PSTH. Die PSTHs enthalten die mittlere neuronale Antwort auf 5 Reizwiederholungen (Binbreite 5 ms). Die entsprechenden Ratenintensitätskennlinien der beiden Neurone finden sich in (c) und (d).

Die mittlere Ratenintensitätskennlinie ist jeweils für die Kategorie von Neuronen mit monoton ansteigendem Verhalten ( $n = 50$ ) und für Neurone mit nicht-monoton ansteigendem Verhalten ( $n = 86$ ) in Abbildung 19 dargestellt. Dafür wurden alle Aktionspotentialraten relativ zum Maximalwert der Ratenintensitätskennlinie normiert (in Prozent), um das zum Teil deutlich unterschiedliche Aktivitätsniveau der Neurone vergleichbar zu machen. Da die Maxima der Einzelkurven jeweils bei unterschiedlichen Schalldruckpegeln erreicht werden, kommen die gemittelten Kurven in Abbildung 19 nicht auf ein Maximum von 100%.



**Abbildung 19: Mittlere Ratenintensitätskennlinie von monotonen und nicht-monotonen Neuronen.** Diese wurden aus den auf ihr Maximum normierten Einzelkurven bestimmt. Es wird jeweils die mittlere Ratenintensitätskennlinie mit Standardfehler für (a) monoton ansteigend ( $n = 50$  Neurone) und (b) nicht-monoton ansteigend ( $n = 86$  Neurone) gezeigt. Der Umkehrpunkt der mittleren nicht-monotonen Kennlinie liegt bei 40 dB SPL.

Deutlich mehr Neurone weisen einen nicht-monotonen (63,2%) im Vergleich zu einem monotonen Kurvenverlauf (36,8%) auf.

### **5.3 Antwortcharakteristik auditorischer Neurone auf unterschiedliche Typen repetitiver Reize und der Einfluss der Wiederholrate**

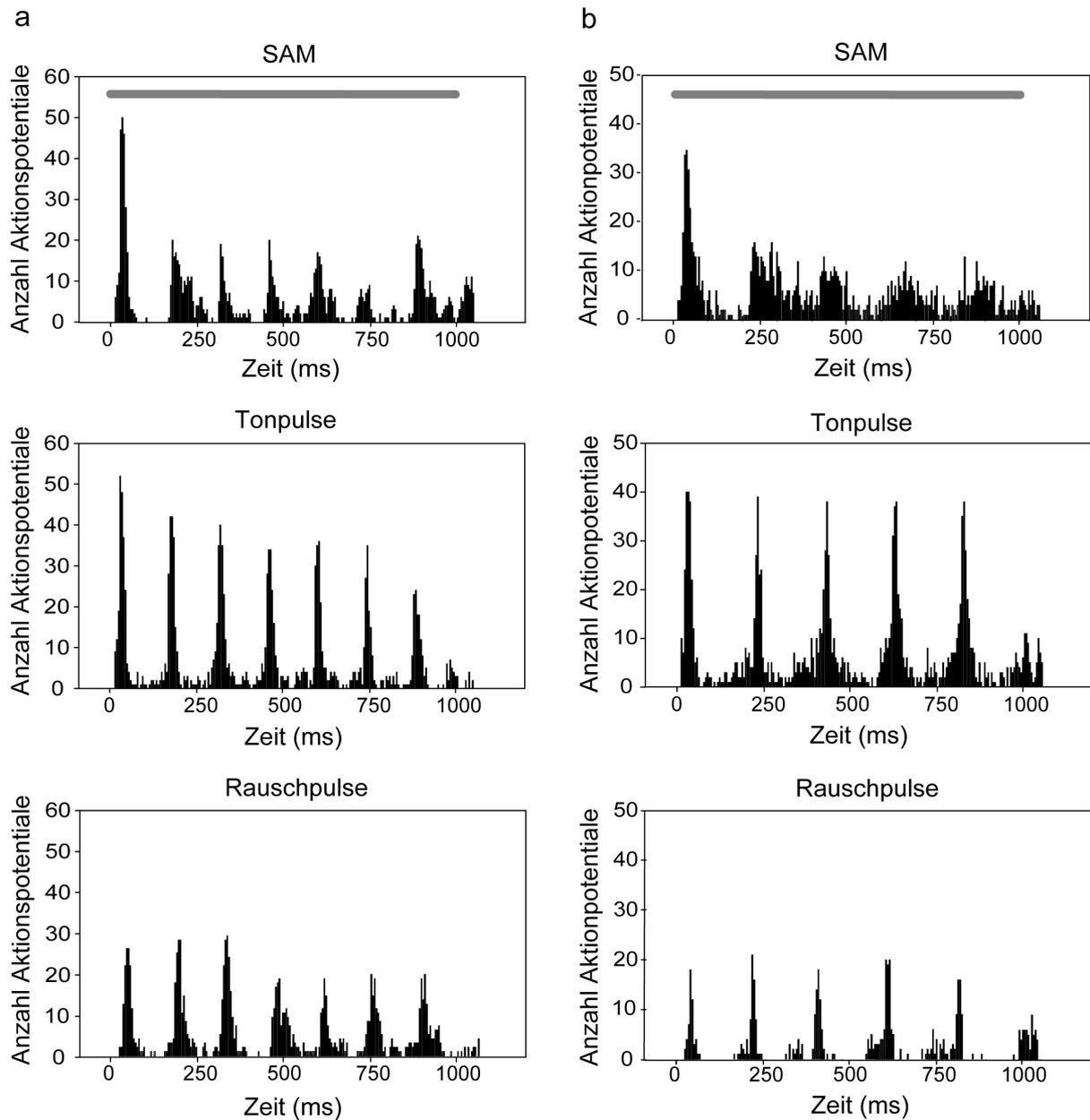
Beispielhaft für die Vielzahl möglicher Typen repetitiver akustischer Reize wurden hier die Antworten der Neurone im primären auditorischen Kortex auf SAM Reize sowie auf repetitive Ton- und Rauschpulse untersucht. Bei allen drei Reiztypen verändert sich die Reizamplitude in einem gleichmäßigen Rhythmus. Die neuronalen Antworten sind dabei stark von der Wiederholrate abhängig. Der zusätzliche Einfluss des mittleren Schalldruckpegels wird erst im weiteren Verlauf der vorliegenden Arbeit dargestellt.

#### **5.3.1 Neuronale Antwort auf die drei Typen repetitiver Reize: SAM, repetitive Ton- und Rauschpulse**

Die Neurone im primären auditorischen Kortex bildeten in ihrer Aktivität die Wiederholraten, d.h. die zeitliche Strukturierung des repetitiven Reizes, gut ab. Auf die Perioden mit schneller Modulation der Amplitude innerhalb des repetitiven Reizes reagierten die Neurone nach einer kurzen Latenz jeweils mit hoher, phasischer Aktivität, die im PSTH als Gipfel zu erkennen ist (Abbildung 20). Diese Gipfel wechseln sich mit Perioden geringer Aktivität ab. Die geringe Aktivität ist sehr wahrscheinlich durch die zeitlichen Phasen im repetitiven Reiz bedingt, während der eine geringere Reizamplitude auftritt. Jeweils ein klarer Aktivitätsgipfel pro Reizperiode zeigte sich bei Wiederholraten bis ungefähr 20 - 30 Hz. In einem Einzelfall konnte sogar ein gutes Folgeverhalten bis 50 Hz gemessen werden. Bei höheren Wiederholraten wurde dieses Muster durch eine einmalige Antwort auf den Beginn des Reizes, meist gefolgt von einer Pause in der Aktivität und selten auch einer neuronalen Antwort nach Ende des Reizes abgelöst. In Abbildung 20 sind die typischen phasischen Antworten gezeigt, die im Bereich langsamer Wiederholraten um 5 bis 10 Hz auftraten. In diesem Frequenzbereich reagierten die meisten Neurone mit der höchsten mittleren Aktivitätsrate.

Vergleicht man die Antworten einzelner Neurone auf die drei Reiztypen, fallen zwei Unterschiede ins Auge. Zum einen sind die Unterschiede zwischen den Gipfeln und den Perioden mit geringer neuronaler Aktivität bei Stimulation mit repetitiven Ton- und Rauschpulsen deutlich stärker voneinander abgegrenzt als bei SAM Reizung. Dies könnte auf die steileren Flanken bei den Puls-Reizen zurückzuführen sein. Zum anderen ist eine

auffallende Reduzierung der neuronalen Aktivität um rund die Hälfte bei Rauschpulsen im Vergleich zu SAM und Tonpulsen zu beobachten.



**Abbildung 20: Mittlere PSTH der neuronalen Antwort zweier kortikaler Neurone auf drei Typen repetitiver Reize.** Dargestellt sind die Antworten von zwei Neuronen (**a**, **b**) für alle drei Reiztypen (SAM Reiz, repetitive Ton- und Rauschpulse). Es sind jeweils die Antworten bei BMF (**a**: 7 Hz; **b**: 5 Hz) dargestellt (Binbreite: 5ms, 20 Reizwiederholungen), Der **graue horizontale Balken** (oben) zeigt die Gesamtlänge des Reizes von 1000ms. Die Neurone antworten mit phasischen Aktivitätsanstiegen auf die zeitliche Struktur des Reizes. Bei SAM Reizung erscheint eine erhöhte On-Antwort (erster Gipfel). Die neuronale Aktivität ist bei einer Stimulation mit repetitiven Rauschpulsen geringer.

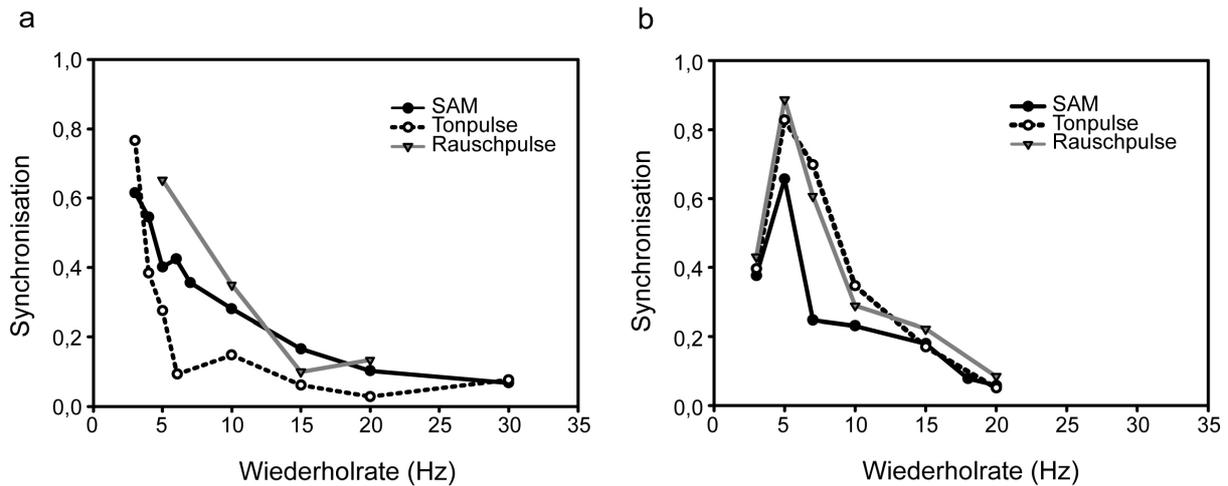
Eine neuronale Antwort nach Ende des Reizes war in ca. 30% der Neurone zu beobachten. Meist erfolgte diese neuronale Antwort phasengekoppelt mit dem vorherigen repetitiven Reiz. Sie wird deshalb in der vorliegenden Arbeit als Nachschwingung bezeichnet. Eine starke Nachschwingung lässt sich z.B. bei dem Neuron in Abbildung 20b in der Antwort nach 1000 ms gut erkennen. Besonders deutlich sichtbar ist auch eine Nachschwingung bei dem dargestellten Rauschpuls (Abbildung 20b, unten).

### **5.3.2 Einfluss der Wiederholrate auf die zeitliche Synchronisation und mittlere Aktivitätsrate der neuronalen Antwort**

Die Wiederholrate der repetitiven Reize hat nicht nur einen Einfluss auf die mittlere Antwortaktivität der Neurone, sondern beeinflusst auch das oben beschriebene zeitliche Muster in der Antwortcharakteristik. Quantifiziert werden kann dabei, wie präzise bzw. wie stark die neuronale Aktivität zeitlich an die Phase der Wiederholrate (d.h. der Amplitudenmodulation) angekoppelt ist. Die Stärke der zeitlichen Ankopplung der Aktionspotentiale an die Phase des Stimulus wird durch den Synchronisationsindex  $s$  angegeben (siehe Material und Methoden Abschnitt 3.5.2.3). Trägt man den Synchronisationsindex in Abhängigkeit von der Wiederholrate graphisch auf, erhält man die als syncMTFs beschriebenen Übertragungsfunktionen. Es zeigten sich bei einer Variation der Wiederholrate grundsätzlich zwei unterschiedliche Antwortverhalten, aus dem sich zwei unterschiedliche Formen der syncMTFs ergaben.

Zum einen konnte eine hohe Synchronisation neuronaler Aktivität bei tieffrequenten, oder in anderen Worten langsamen, Wiederholraten beobachtet werden, die dann mit höheren Wiederholraten abnahm (Abbildung 21a). Solch ein Antwortverhalten lässt sich auch als Tiefpasscharakteristik (TP) der syncMTF beschreiben und war in der vorliegenden Arbeit die hauptsächlich vorherrschende Antwortform (94%)

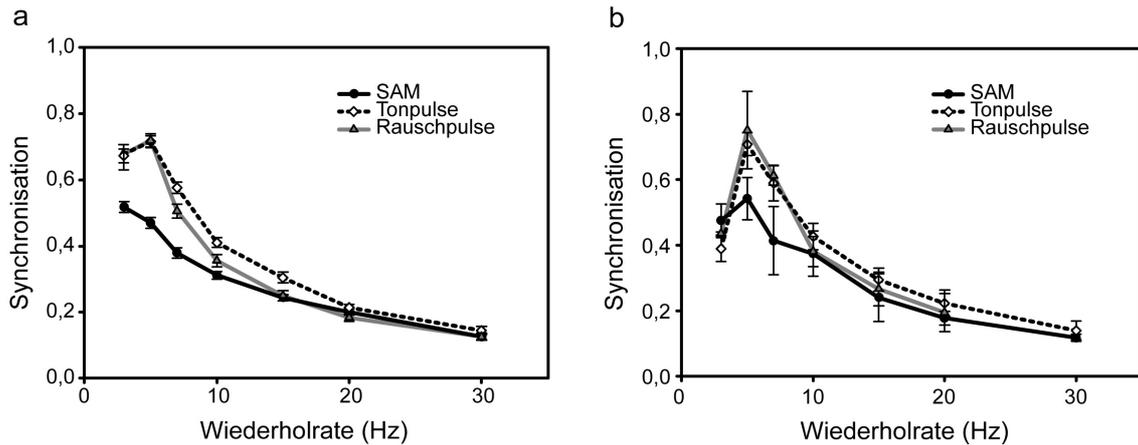
Zum anderen fanden sich einzelne Neurone (6%), die ein anderes Antwortmuster aufwiesen: Sie zeigten besonders hohe Synchronisationswerte bei einer bestimmten Wiederholrate. Alle niedrigeren oder höheren Wiederholraten wurden dagegen mit schlechter synchronisierter neuronaler Aktivität repräsentiert. Solch ein Antwortmuster kann als Bandpasscharakteristik (BP) der syncMTF beschrieben werden (Abbildung 21b).



**Abbildung 21: Synchronisationswerte je eines Beispielneurons für die drei Reiztypen repetitiver Reize in Abhängigkeit von der Wiederholrate. Dargestellt sind Beispiele von Neuronen mit unterschiedlichen Formen der syncMTFs. (a) syncMTF mit Tiefpasscharakteristik, wie sie in den meisten Fällen auftrat. (b) syncMTF mit Bandpassfiltercharakteristik wie sie in seltenen Fällen auftrat. Dargestellt sind jeweils die syncMTF-Kurven bei den drei Reiztypen: SAM, repetitive Ton- und Rauschpulse bei konstanten Schalldruckpegeln von 80dB SPL. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Reiztypen.**

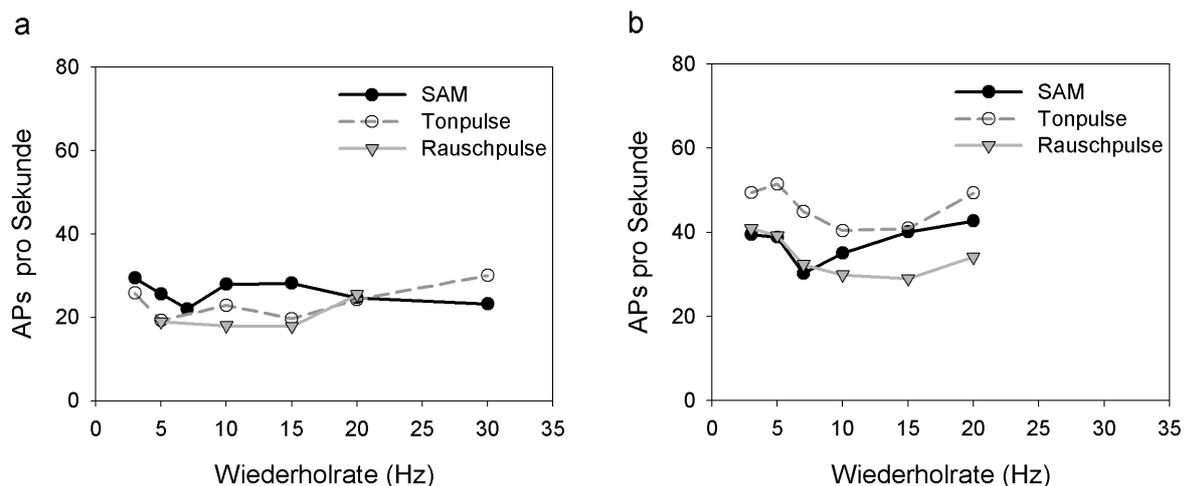
Wurden bei einem Neuron die syncMTFs zwischen den drei repetitiven Reiztypen verglichen, konnte kein deutlicher Unterschied festgestellt werden. Das zeigt sich sowohl für die Beispielneurone in Abbildung 21, als auch für die gemittelten Kurven mit Standardfehler in Abbildung 22. So korrelierten bei Neuronen mit TP Charakteristik alle drei gemittelten Kurven miteinander ( $n = 104$  Neurone; Korrelation SAM / Rauschpulse: Pearson,  $r_p = 0,9511$ ,  $p = 0,0003$ ; Korrelation SAM / Tonpulse: Pearson,  $r_p = 0,9392$ ,  $p = 0,00059$ ; Korrelation Ton- / Rauschpulse: Pearson  $r_p = 0,9275$ ,  $p = 0,0026$ ). Gleiches galt für die gemittelten Kurven neuronaler Antworten bei Neuronen mit BP Charakteristik ( $n = 18$  Neurone; Korrelation SAM / Rauschpulse: Pearson,  $r_p = 0,9275$ ,  $p = 0,0026$ ; Korrelation SAM / Tonpulse: Pearson,  $r_p = 0,9321$ ,  $p = 0,0007$ ; Korrelation Ton- / Rauschpulse: Pearson  $r_p = 0,99$ ,  $p = 0,0005$ )

Gruppiert man die neuronalen Antworten nach Reiztypen und testet statistisch auf das Auftreten von BP versus TP, dann ändert sich an den allgemeinen Verteilungen von TP und BP Charakteristik nichts (Gesamtanzahl der Neurone  $n = 104$ , Anteil BP bei SAM  $n = 3 / 2,9\%$ , bei Tonpulsen  $n = 11 / 10,6\%$ , Rauschpulse  $n = 4 / 3,9\%$ ). Es ergaben sich damit also keine Häufungen von BP bei bestimmten Reiztypen.



**Abbildung 22: Mittlere Synchronisation in Abhängigkeit der Wiederholrate (syncMTF) je Reiztyp aufgetrennt nach der Filtercharakteristik.** Dargestellt sind die mittleren syncMTFs für (a) Tiefpasscharakteristik ( $n = 101$ ) und (b) Bandpasscharakteristik ( $n = 3$ ) aufgetrennt nach den drei Reiztypen: SAM, repetitive Tonpulse und repetitive Rauschpuls. Maximale Synchronisationsstärken gingen bis ca. 0,8. Bei der Bandpasscharakteristik traten die Gipfel (BMF) im Mittel bei 5 - 7Hz auf.

Betrachtet man nun im Vergleich zur Synchronisation die über die Gesamtdauer des Reizes gemittelte neuronale Aktivitätsrate, zeigt sich ein ganz anderes Verhalten. Die mittlere Aktivitätsrate bleibt mit steigender Wiederholrate mehr oder weniger konstant. Auch kann kein Unterschied in der mittleren neuronalen Aktivitätsrate zwischen den einzelnen Reiztypen ausgemacht werden (Abbildung 23).

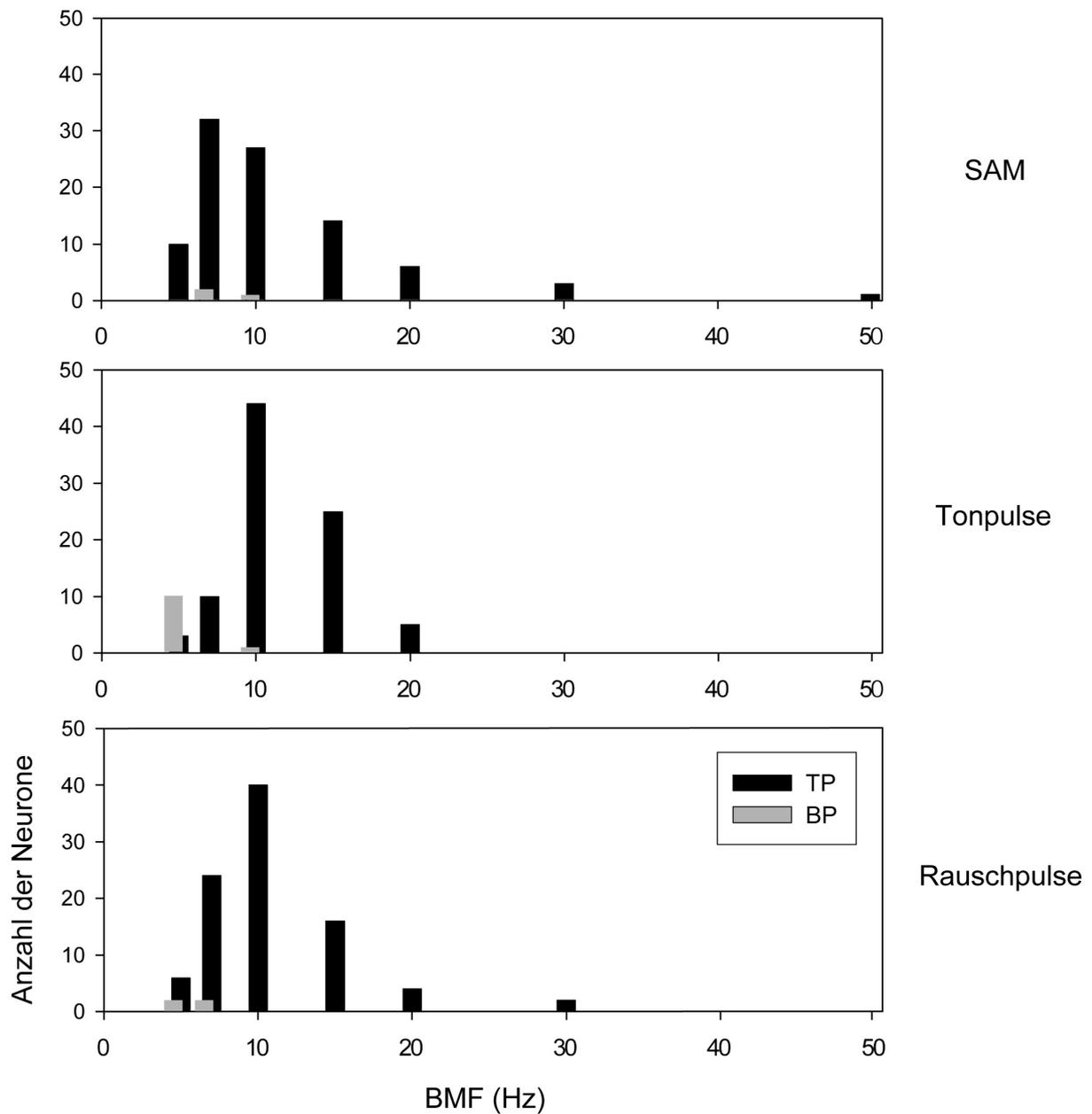


**Abbildung 23: Beispiele für den Einfluß der Wiederholrate auf die mittlere neuronale Aktivität bei Stimulation mit repetitiven Reizen.** Dargestellt ist die neuronale Aktivitätsrate in Anzahl der APs pro Sekunde der beiden Neuronen aus Abbildung 21a und 7b. (Reizung bei 80dB SPL). Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Reiztypen.

### 5.3.3 Verteilung der BMFs allgemein und differenziert nach Reiztypen

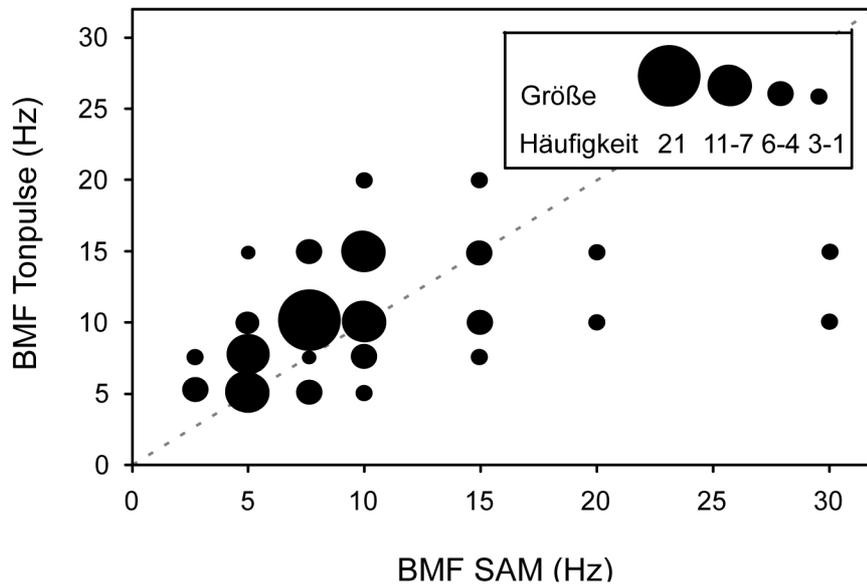
Um die Form der syncMTFs vergleichen zu können, wurden die Gipfel der Kurven bei Bandpasscharakteristik, bzw. die Wiederholfrequenz des beginnenden Kurvenabfalls (3 dB vom Maximum entfernt) bei Tiefpasscharakteristik als BMF (beste Modulationsfrequenz) bestimmt. Die Gesamtverteilung der BMFs ergab für alle drei Reiztypen ein ähnliches Muster (Abbildung 24). Die BMFs lagen hauptsächlich bei tieffrequenten Wiederholraten bis 20 Hz. BMFs über 20 Hz fanden sich nur bei einzelnen Neuronen. Auch die Streuung der BMFs war für alle drei Reiztypen ähnlich. In Abbildung 24 wird auch noch einmal deutlich, dass die TP Charakteristiken stark vorherrschen. Bei SAM Reizung zeigen 3% der Neurone eine BP Charakteristik bei der reizinduzierten neuronalen Aktivität, während bei Reizung mit repetitiven Tonpulsen 11% und mit repetitiven Rauschpulsen 4% der Neurone eine BP Charakteristik bei der neuronalen Antwort aufweisen.

Die BMF-Werte schwanken für repetitive Ton- und Rauschpulsreizung um ein Maximum bei 10 Hz und für SAM Reizung um ein Maximum bei 7 Hz. Allerdings war dieser Unterschied nicht statistisch signifikant ( $n = 80$ , Wilcoxon Unterschied SAM/Tonpulse  $S = 441$ ,  $p = 0,003$ ; Unterschied Ton-/Rauschpuls  $S = -237$ ,  $p = 0,004$ ; aber kein Unterschied SAM/Rauschpuls  $S = 117,5$ , n.s.). Die Streuung der BMFs war bei SAM Reizung besonders ausgeprägt.



**Abbildung 24: Gesamtverteilung der BMFs bei drei Typen repetitiver Reize für Neurone mit Tiefpass- und Bandpasscharakteristik der syncMTF. TP:** schwarze Balken ( $n = 97$  für SAM,  $n = 89$  für Tonpuls und  $n = 96$  für Rauschpuls) **BP:** graue Balken ( $n = 3$  für SAM,  $n = 11$  für Tonpuls und  $n = 4$  für Rauschpuls), vor den schwarzen liegend, Während die maximale Anzahl der BMFs für SAM-Reize (oben) bei 5 Hz liegt, ist sie für repetitive Ton- und Rauschpuls im Bereich von 10 Hz zu finden. Eine BMF über 30 Hz findet sich nur einmal für einen SAM Reiz. Für SAM-Reize ist außerdem die Streuung der BMFs am größten.

In einem weiteren Schritt wurde die Stärke der Korrelation der BMFs für Stimulationen mit SAM Reizen und repetitiven Tonpulsen untersucht. (Abbildung 25).



**Abbildung 25: Vergleich der BMF bei SAM mit der BMF bei repetitiven Tonpulsen bei einzelnen Neuronen.** Die beiden BMFs waren gut miteinander korreliert ( $r = 0,5527$ ), die Unterschiede in den BMFs zwischen den beiden Reiztypen waren in dreiviertel aller Neurone gar nicht oder nur gering ausgeprägt. ( $n = 112$  Neurone).

Es zeigt sich, dass in einem Fünftel aller Neurone (20,5%) kein Unterschied zwischen den BMFs bei SAM Reizung und den BMFs bei Tonpulsreizung bestand. In der Hälfte der Neuronen (56,3%) betrug der Unterschied der BMF bei SAM Reizung und Tonpulsreizung 50% des BMF-Wertes oder weniger. Dies bedeutet, dass in rund dreiviertel aller Neurone (78,8%) nur geringe oder gar keine Unterschiede der BMF zwischen SAM Reizung und Tonpulsreizung zu finden waren.

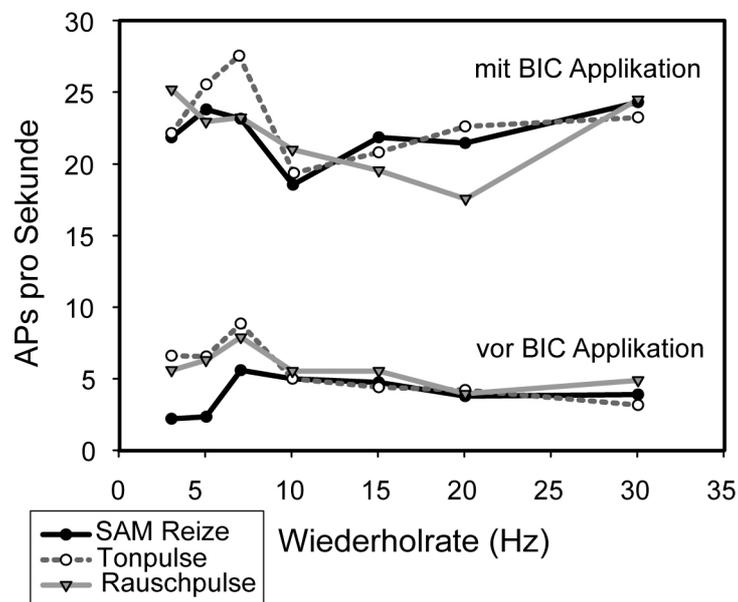
Nur in etwa einem Viertel der Neurone (23,4%) fand sich ein deutlich größerer Unterschied der BMF zwischen SAM Reizung und Tonpulsreizung. Die Unterschiede der BMFs für SAM - und Tonpulsreizung innerhalb eines Neurons waren statistisch signifikant (Wilcoxon MPSR-Test,  $S = 737$ ,  $n = 112$ ,  $p = 0,002$ ), auch wenn die Werte gut miteinander korrelierten (Spearman  $r_s = 0,5527$ ,  $n = 112$ ,  $p = 0,0001$ ).

## 5.4 Der Einfluss GABAerger Inhibition auf die Wiederholrate

Das Auftreten der scharf abgegrenzten Aktivitätsgipfel in der Antwort auf repetitive Reize legt nahe, dass die reizinduzierte Erregung möglicherweise mit lokalen inhibitorischen Einflüssen interagiert. Dieser Einfluss wäre dann sehr wahrscheinlich GABAerg vermittelt. Neben einem möglichen GABAergen Einfluss auf die mittlere Aktivitätsrate, wie er in der Literatur schon vielfach beschrieben wurde, könnte sich in diesem Fall ein besonderer Einfluss auf das Zeitmuster ergeben. Deshalb wird zunächst die Änderung der neuronalen Aktivitätsrate unter dem Einfluß von BIC thematisiert und analysiert, inwieweit ein Zusammenhang zwischen der Änderung der Rate und möglichen Änderungen der BMF besteht. Zudem werden die Änderungen der BMF und der Einfluß von GABAerger Inhibition auf die Synchronisation der neuronalen Aktivität eines Neurons beschrieben.

### 5.4.1 Änderungen der mittleren neuronalen Aktivitätsrate

Unter der lokalen iontophoretischen Applikation von BIC erhöhte sich die neuronale Aktivitätsrate einzelner Neurone deutlich, wie man anhand eines Beispiels in Abbildung 26 sehen kann. Die Zunahme der Aktivitätsrate war dabei unabhängig vom verwendeten Reiztyp. Es zeigten sich keine nennenswerten Unterschiede zwischen SAM und repetitiven Ton- und Rauschpulsen, was die Änderung der neuronalen Aktivitätsrate betrifft.



**Abbildung 26: Absolute Ratenänderung bei einem Neuron durch BIC Applikation.** Dargestellt ist die absolute Änderung der mittleren Aktivitätsrate eines Neurons vor und während BIC Applikation in Abhängigkeit der Wiederholrate. Die Aufhebung der GABAergen Inhibition durch BIC führte zu einem deutlichen Anstieg der Rate auf das Fünffache der Rate bei Kontrollbedingung. Der Effekt war unabhängig von der Wiederholrate. Ein Unterschied zwischen den Reiztypen war nicht festzustellen.

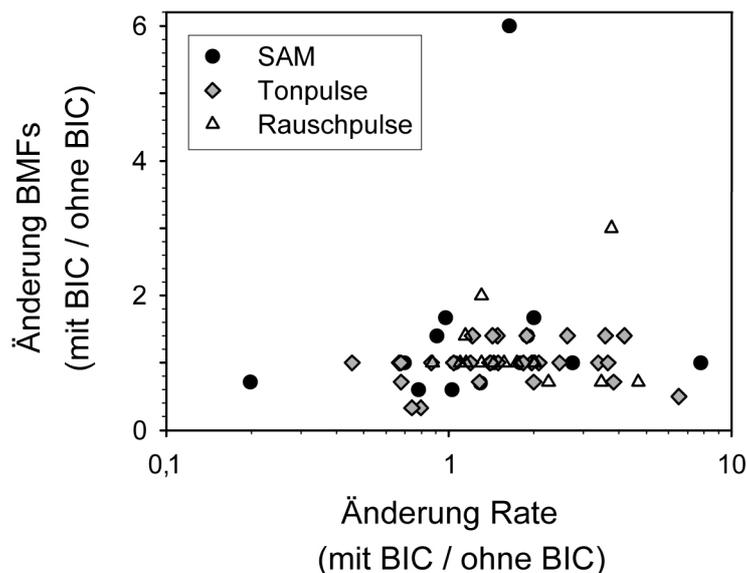
Ein Vergleich der mittleren Spontanaktivität vor und während der Applikation von BIC ergab signifikante Änderungen ( $n = 30$ , t-Test für mittlere Spontanaktivität t-Wert = 5,8024;  $p < 0,0001$ ). So war die neuronale Spontanaktivität während der BIC Applikation generell leicht höher als vor der BIC Applikation (Tabelle 10). Noch deutlicher war die Veränderung bei der reizinduzierten neuronalen Aktivität ( $n = 30$ , t-Test für mittlere reizinduzierte Gesamtaktivität t-Wert = 8,0513;  $p < 0,0001$ ). Diese stieg während der BIC Applikation im Vergleich zur Ausgangslage oft auf die 2- bis 4-fache Rate an. Im Mittel zeigt sich eine Erhöhung der Rate um etwa das 1,5-fache (Tabelle 10). Auch fanden sich keine reizabhängigen Unterschiede in der neuronalen Aktivität. Vielmehr waren die reizinduzierten, mittleren Aktivitätsraten bei allen drei Reiztypen vor und bei BIC Applikation gut vergleichbar.

**Tabelle 10: Änderung der mittleren Spontanrate und der reizinduzierten Aktivitätsrate durch BIC Applikation.** Dargestellt sind die mittleren Raten von 30 Neuronen (Standardabweichungen in Klammern). Die Änderungen der Spontanrate unter BIC und die reizinduzierte Ratenänderung waren signifikant. \*\*\* bei  $p < 0,0001$

Reiztyp	Spontanrate vor BIC Applikation	Spontanrate bei BIC Applikation	Reizinduzierte Rate vor BIC Applikation	Reizinduzierte Rate bei BIC Applikation
SAM			18,75 (9,88)	26,03 (12,26)
Tonpulse			17,98 (13,26)	26,96 (13,66)
Rauschpulse			22,15 (14,75)	28,77 (15,14)
Gesamt	1,21 (1,01)	1,69 *** (1,07)	19,02 (12,97),	27,14 *** (13,62)

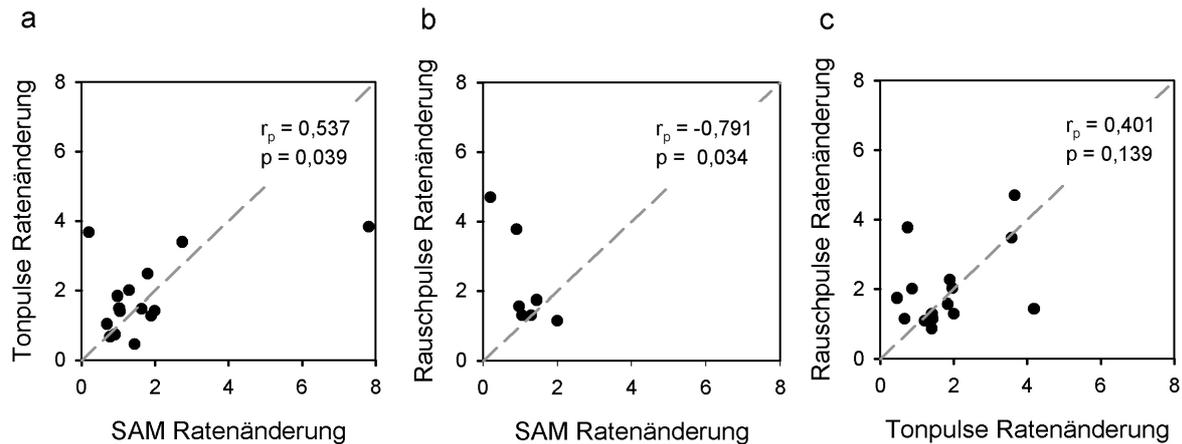
Obwohl sich die neuronale Aktivitätsrate bei BIC Applikation meist deutlich erhöhte, hatte dies offensichtlich keinen Einfluss auf die zeitliche Ankopplung der Aktivität an den repetitiven Reiz, wie sie durch den Synchronisationsindex  $s$  quantifiziert wurde. An den sich nur wenig ändernden BMFs bei BIC Applikation konnte gezeigt werden, dass sich die Lage der syncMTFs kaum verschob. Dies wird auch deutlich, wenn man die Quotienten für BMF und Rate vor und während der BIC Applikation betrachtet (Abbildung 27). Die meisten Neurone (78%) haben Quotienten größer 1 für die Änderung der neuronalen Aktivitätsrate,

was einer erhöhten neuronalen Aktivität während der BIC Applikation entspricht. Eine drastische Änderung der BMF während der BIC Applikation war selten. Meist (86,2% der Neurone) schwankte der Quotient der BMF-Änderung um 1 mit Werten von 0,5 bis 1,5. In 51,7% der Fälle ergab sich keine Änderung der BMF durch BIC Applikation. Dies führte dazu, dass die Steigung einer Gerade durch alle Punkte sich nicht signifikant von der Steigung Null unterschied (lineare Regression  $r^2 = 0,00024$ ;  $n = 59$ ;  $p = 0,9073$ ;  $a = 1,88$ ; Steigung  $b = 0,03$ ;  $t$ -Wert = 0,12).



**Abbildung 27: Korrelation der Änderung von mittlerer Aktivitätsrate und BMF durch BIC Applikation bei Neuronen im auditorischen Kortex.** Dargestellt sind jeweils die Quotienten mit/ohne BIC Applikation für die neuronale Aktivitätsrate (Abszisse) und die BMF (Ordinate). Die drei Reiztypen sind durch unterschiedliche Symbole markiert. Man beachte die unterschiedliche Skalierung der beiden Achsen!

Das gleiche galt, wenn man die einzelnen Reiztypen getrennt betrachtete. Auch hier unterschieden sich die Regressionsgeraden nicht signifikant von der Steigung Null (lineare Regression für SAM:  $r^2 = 0,000005$ ;  $n = 15$ ;  $p = 0,9939$ ;  $a = 1,75$ ;  $b = 0,003$ ;  $t$ -Wert = 0,01; für Tonpuls:  $r^2 = 0,0012$ ;  $n = 29$ ;  $p = 0,8584$ ;  $a = 1,81$ ;  $b = 0,16$ ;  $t$ -Wert = 0,18; für Rauschpuls:  $r^2 = 0,018$ ;  $n = 15$ ;  $p = 0,6336$ ;  $a = 1,69$ ;  $b = 0,25$ ;  $t$ -Wert = 0,49). Zusammenfassend zeigte sich damit ein deutlicher GABAerger Einfluss auf die mittlere Aktivitätsrate, während die Synchronisation neuronaler Aktivität von zeitlichen Mustern eher unabhängig war.



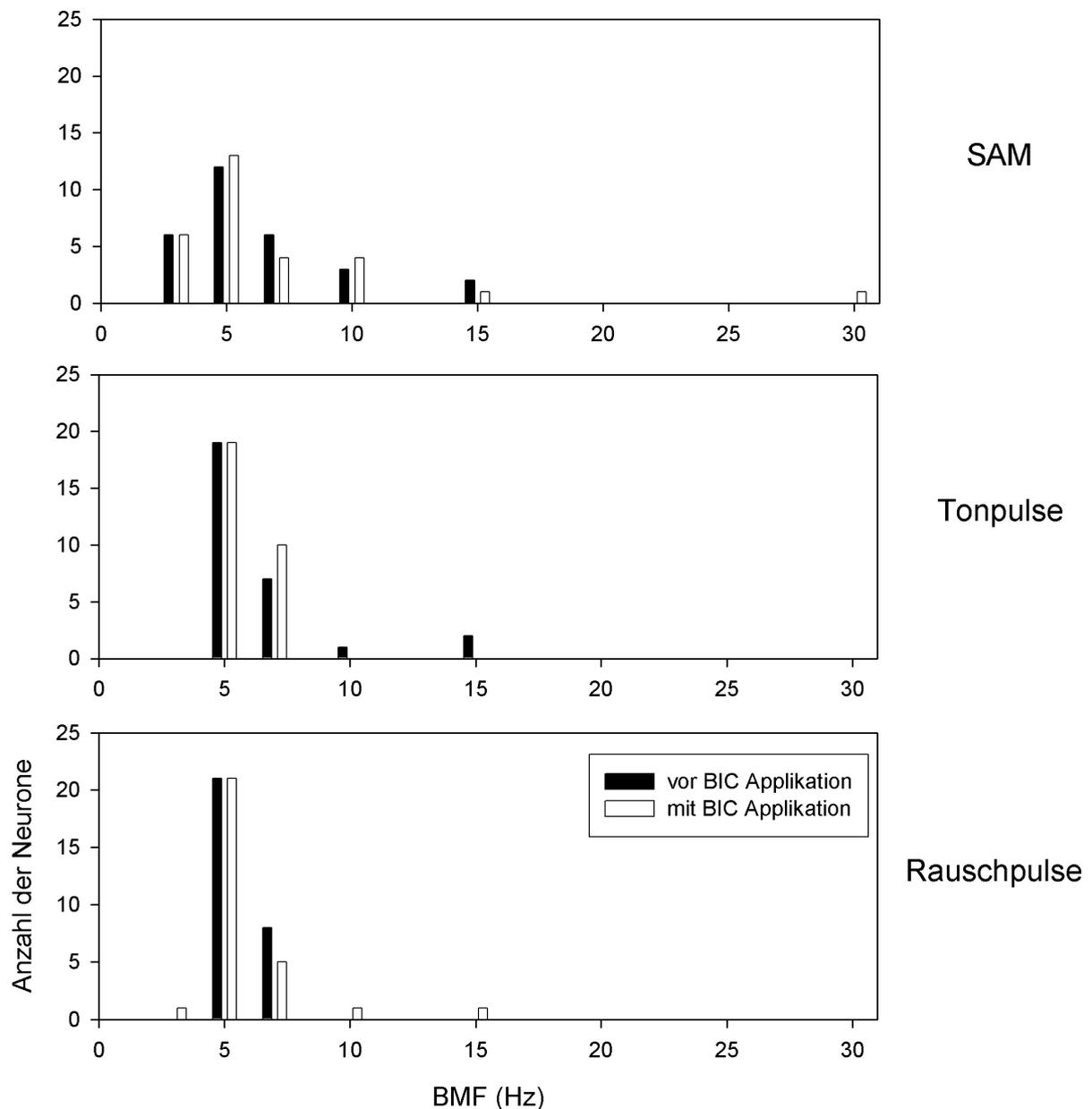
**Abbildung 28: Vergleich der Änderungen der mittleren Aktivitätsrate durch BIC Applikation bei den drei Reiztypen.** Dargestellt sind jeweils die Quotienten der Ratenänderung für die unterschiedlichen Reiztypen in (a) für SAM-Reize gegen repetitive Tonpulse ( $n = 15$ ), in (b) für SAM-Reize gegen repetitive Rauschpulse ( $n = 7$ ) und in (c) für repetitive Tonpulse gegen repetitive Rauschpulse ( $n = 15$ ). Signifikante Zusammenhänge gab es für SAM-Reize und die repetitiven Tonpulse (a) bzw. Rauschpulse (b).

Bei dem oben (Abbildung 27) aufgezeigten starken GABAergen Einfluss auf die mittlere Aktivitätsrate lag die Vermutung nahe, dass auch ein Zusammenhang zwischen den Aktivitätsänderungen einzelner Neurone bei einzelnen Reiztypen besteht (Abbildung 28). Signifikant waren die Zusammenhänge jedoch nur bei Stimulation mit SAM Reizen gegen repetitive Tonpulse (Abbildung 28a; Pearson:  $n = 15$ ;  $r_p = 0,5374$ ;  $p = 0,039$ ) und SAM Reizen gegen repetitive Rauschpulse (Pearson:  $n = 7$ ;  $r_p = -0,791$ ;  $p = 0,034$ ). Interessanterweise fand sich keine signifikante Korrelation der jeweiligen neuronalen Antwort eines Neurons auf repetitive Rausch- und Tonpulse (Pearson:  $r_p = 0,4005$ ;  $n = 15$ ; n.s.) nicht signifikant.

#### 5.4.2 GABAerger Einfluss auf neuronale Antwortmuster bei repetitiven Reizen

Die Gesamtverteilung der BMFs vor der BIC Applikation (Abbildung 29, schwarze Balken) ergab für alle drei Reiztypen ein ähnliches Muster. Die BMFs lagen hauptsächlich bei tieffrequenten Wiederholraten bis 15 Hz, mit Verteilungsmaxima bei jeweils 5 Hz. Über 15 Hz fanden sich dann nur noch die BMFs weniger Neurone. Während die Streuung der BMFs für Ton- und Rauschpulsreizung fast identisch war, zeigte sich eine breitere Streuung für die BMFs bei SAM Reizung. Ein signifikanter Unterschied zwischen den BMFs eines Neurons bei unterschiedlichen Reiztypen konnte jedoch nicht gefunden werden (Wilcoxon

MPSR-Test:  $n = 29$ ; SAM/Tonpulse:  $S = -0,5$ , n.s.; SAM/Rauschpulse:  $S = -18$ , n.s.; Ton-/Rauschpulse:  $S = -21$ , n.s.).

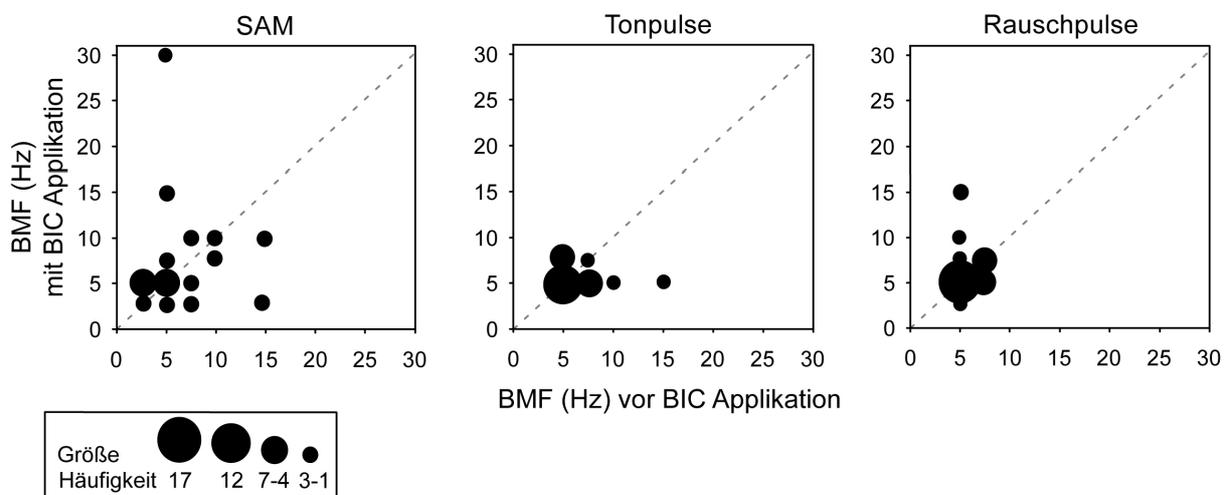


**Abbildung 29: Verteilung der BMFs für die drei Reiztypen vor der BIC Applikation (schwarze Balken) und während der BIC Applikation (offene Balken).** Dargestellt ist die Gesamtverteilung der BMFs aufgetrennt nach den drei Typen repetitiver Reize (oben: SAM; Mitte: repetitive Tonpulse; unten: repetitive Rauschpulse). Das Maximum der BMF-Verteilung lag für alle drei Reiztypen bei 5Hz. Für SAM Reizung war die Streuung der BMFs am größten. Ein Unterschied in der BMF-Verteilung zwischen der Kontrolle (schwarze Balken) und während der Gabe von BIC (offene Balken) fand sich im Mittel nicht.

Durch BIC Applikation wurden außerdem die BMFs der Neurone in ihrer Verteilung nicht signifikant verschoben (Wilcoxon bei SAM:  $S = -4$ ;  $p = 0,889$ ; bei Tonpulsen:  $S = -10,5$ ,  $p = 0,509$ ; bei Rauschpulsen:  $S = 0,5$ ,  $p = 1$ ,  $n = 29$ ; Abbildung 29). Die Verteilung der BMFs

vor BIC Applikation war nahezu deckungsgleich mit der Verteilung der BMFs während der BIC Applikation. Dies lässt sich besonders deutlich an der Verteilung der BMFs bei SAM-Reizung ablesen, wenn man die schwarzen mit den offenen Balken vergleicht.

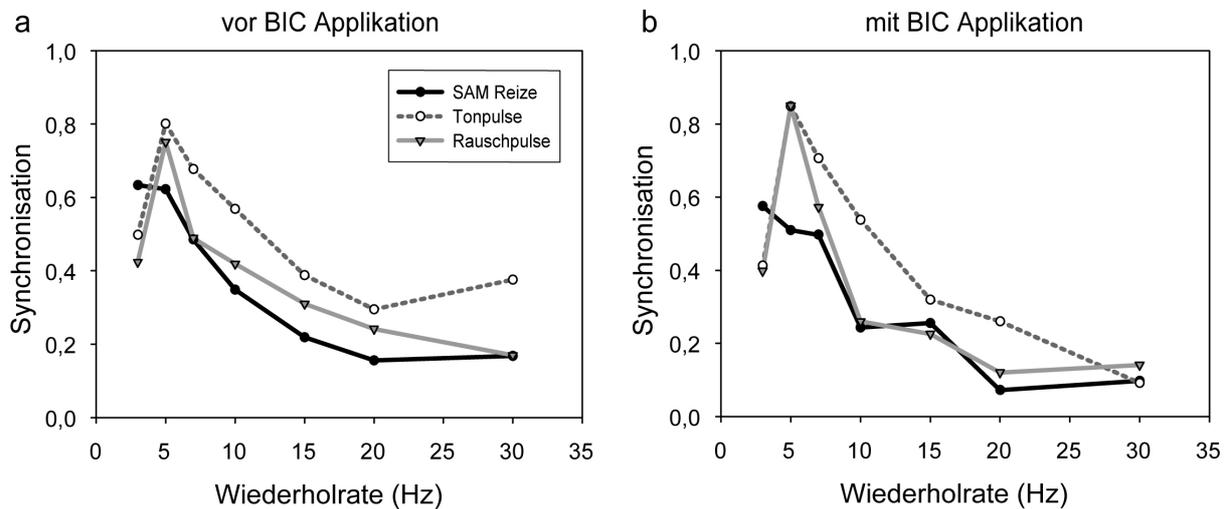
Wenn man nun allerdings die BMFs bei unterschiedlichen Reiztypen für jeweils einzelne Neurone vor und nach BIC Applikation vergleicht, ergibt sich ein etwas anderes Bild. Es zeigt sich für SAM Reizung eine breitere Streuung der BMF-Änderungen als bei Stimulation mit Ton- und Rauschpulsen (Abbildung 30).



**Abbildung 30: Einfluß von BIC Applikation auf die BMFs einzelner Neurone für alle drei Reiztypen.** Es zeigten sich insbesondere für die Stimulation mit repetitiven Ton- und Rauschpulsen kaum Änderungen der BMF durch BIC Applikation. Die Streuung der BMF-Werte war am stärksten bei SAM Reizung, betraf jedoch Änderungen der BMFs zu höheren und niedrigeren Werten in annähernd gleichem Maß. (n = 29)

Insgesamt änderte sich die BMF in einem Großteil der Fälle nicht (gesamt 51,7%; SAM: 31%; repetitive Tonpulse: 51,7%; repetitive Rauschpulse: 72,4%), obwohl die neuronale Aktivität zum Teil massiv durch BIC Applikation erhöht wurde. Besonders deutlich ist dies in Abbildung 30 für die BMFs der Neurone bei Stimulation mit repetitiven Ton- und Rauschpulsen zu sehen. Nimmt man hier (analog zu den Daten ohne Pharmakologie – vgl. Abbildung 25) noch die Fälle mit Änderungen der BMF um die Hälfte oder weniger dazu (weitere 55,2% bei SAM, 41,4% bei Tonpulsen und 10,4% bei Rauschpulsen; insgesamt 35,63%), dann ergibt sich nur eine geringe oder gar keine Änderung der BMFs durch BIC Applikation. So lassen die direkten Korrelationen der BMFs vor und während der BIC Applikation keinen GABAergen Einfluß auf die BMFs erkennen (Spearman n = 29; SAM:  $r_s = 0,3334$ ; n.s.; Tonpulse:  $r_s = -0,1136$ ; n.s.; Rauschpulse:  $r_s = 0,3290$ , n.s.).

Auch an der allgemeinen Filtercharakteristik der syncMTF änderte sich bei der Applikation von BIC nichts, wie beispielhaft in Abbildung 31 gezeigt wird. Neurone, die bei steigender Wiederholrate eine Tiefpasscharakteristik aufwiesen, behielten diese auch unter dem Einfluss von BIC. Gleiches galt für Neurone mit Bandpasscharakteristik.



**Abbildung 31: Beispiel für den Einfluss von BIC auf die Form der syncMTF.** Dargestellt ist die Synchronisation in Abhängigkeit der Wiederholrate für drei verschiedene Typen repetitiver Reize. (a) syncMTFs für drei Reiztypen vor der BIC Applikation, (b) syncMTF für drei Reiztypen während der BIC Applikation. Es zeigt sich für alle drei Reiztypen, dass die Form der syncMTF während der Applikation von BIC erhalten bleibt. Auch sind die Unterschiede in der Synchronisation auf die einzelnen Reiztypen gering.

Eine deutliche Verbesserung der Synchronisation neuronaler Aktivität während der BIC Applikation im Vergleich zur Ausgangslage konnte bei keinem der drei Reiztypen beobachtet werden. Dies galt auch für die Synchronisation bei höheren Wiederholraten. Es fand keine Verschiebung der Kurven nach rechts, im Sinne einer besseren Synchronisation neuronaler Aktivität bei höheren Wiederholraten der Reize, statt. Dies lässt sich graphisch gut an dem Beispielneuron in Abbildung 31 erkennen und wurde auch bereits in Abbildung 29 und Abbildung 30 deutlich.

Zusammenfassend zeigt sich also, dass BIC zwar einen großen Einfluss auf die absolute mittlere neuronale Aktivitätsrate hat, indem es in der Regel zu einer erhöhten Aktivität führt. Allerdings hat diese erhöhte Aktivität keine Auswirkungen auf die Synchronisation, d.h. die zeitlich präzise Kopplung der neuronalen Aktivität auf einen Reiz bleibt erhalten.

## **5.5 Variation des Schalldruckpegels**

Bei der neuronalen Antwort auf die drei Typen repetitiver Reize, bei denen die Reizamplitude zeitabhängig moduliert wurde, konnten einige Effekte auf die systematische Variation der Änderungsrate der Amplitudenmodulation bzw. Wiederholrate zurückgeführt werden. Da das zeitliche Folgeverhalten von Neuronen auch vom Schalldruckpegel des akustischen Signals abhängen kann, wurden repetitive Reize mit unterschiedlichen Schalldruckpegeln verwendet. Zunächst wird der Zusammenhang der neuronalen Aktivitätsrate und der Synchronisation vom Schalldruckpegel für die Stimulation mit SAM Reizen und repetitiven Tonpulsen thematisiert. Dann kommt die Abhängigkeit der neuronalen Aktivitätsrate vom Schalldruckpegel zur Sprache und zum Schluß werden die Änderungen neuronaler Aktivität nach SAM Reizung und Tonpulsreizung mit der Stimulation mit einzelnen Reintönen verglichen. Dazu werden die ermittelten Steigungen der neuronalen Aktivitätsrate über die unterschiedlichen Schalldruckpegel herangezogen. Ein einfacher Zusammenhang von Rate und Synchronisation bei unterschiedlichen Schalldruckpegeln konnte dabei nicht gesehen werden, weswegen die Neurone aufgrund der Antwortcharakteristika in unterschiedliche Klassen eingeteilt wurden.

### **5.5.1 Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel**

Bei 109 Neuronen wurde die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel repetitiver Reize im Bereich von der Minimalschwelle bzw. 0 dB SPL bis zu 80 dB SPL untersucht. (Die Wiederholrate bei der Stimulation mit repetitiven Reizen lag dabei immer im Bereich der BMF.) Aus den so erstellten syncITF-Kurven wurden die Steigungen analog zu Polley et al (2004) ermittelt (siehe Material und Methoden Abschnitt 3.5.2.3), nach denen die syncITF-Kurven in "lineare" (positive Steigung) und "nicht-lineare" (Wechsel von positiver und negativer Steigung) eingeteilt wurden (vgl. Abbildung 32a) Bei der Analyse der Daten zeigten sich typische Muster der neuronalen Aktivität im Bezug auf die unterschiedlichen Reiztypen in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel. Daher wurden die Neurone durch eine kombinierte Klassifikation nach den syncITF Kurven bei Stimulation mit SAM-Reizen und bei Stimulation mit repetitiven Tonpulsen eingeteilt.

In der kombinierten Analyse der neuronalen Antworten auf SAM- und Tonpulsreize ließen sich unterschiedliche Einflüsse auf die Synchronisation der Reizaktivität bei SAM- und Tonpulsreizen erkennen, wie sie in Abbildung 32 nebeneinander gestellt sind. Repetitive Rauschpulse wurde in diesem Zusammenhang nicht untersucht. In Abbildung 32a ist dabei

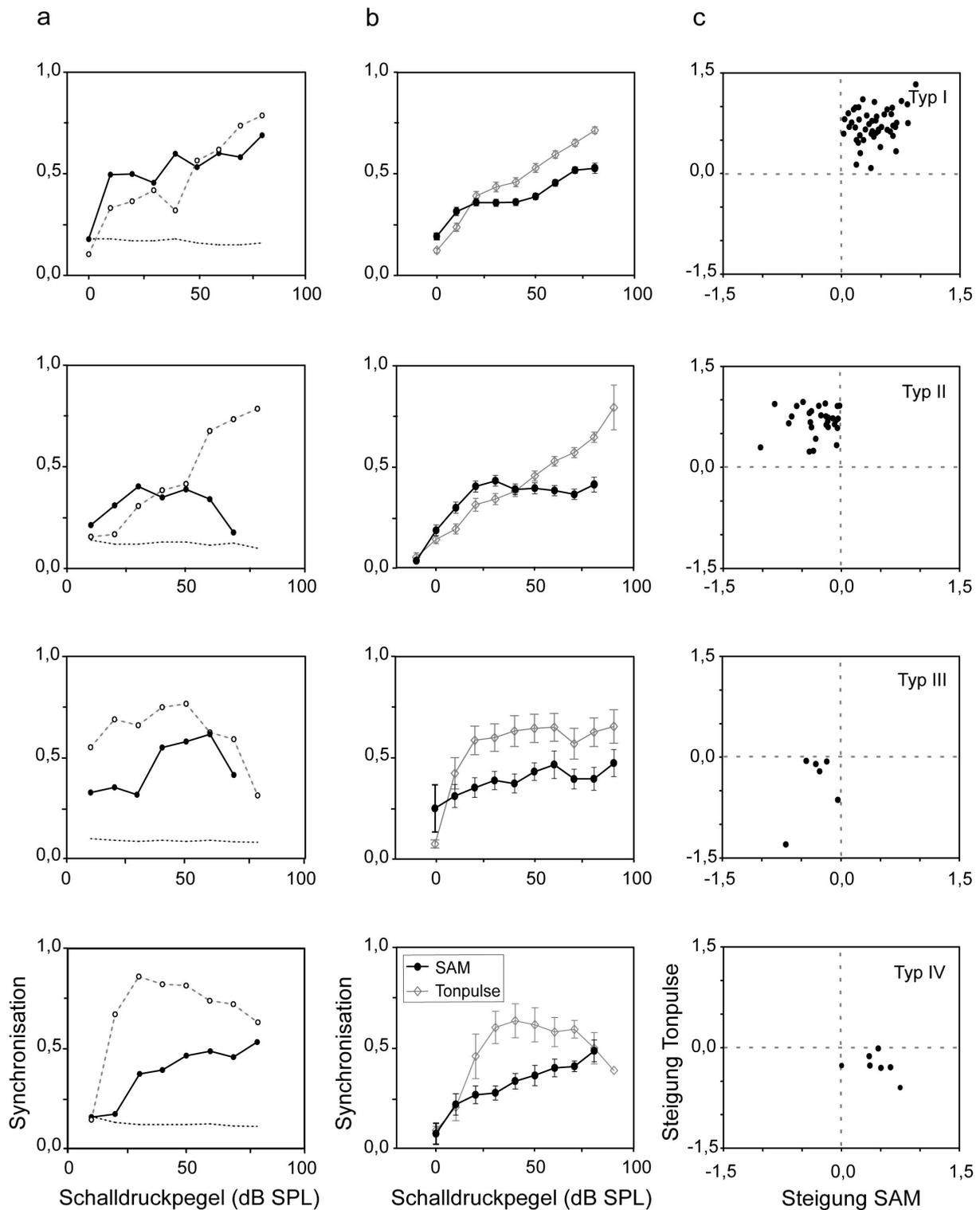
jeweils die syncITF für ein Beispielneuron bei Stimulation mit SAM und Tonpulsen zu sehen. In Abbildung 32b wird zudem die mittlere syncITF-Kurve mit Standardfehler dargestellt und Abbildung 32c visualisiert den Zusammenhang der Steigungen der syncITF-Kurven für Stimulationen mit SAM Reizen und Tonpulsen.

Nach der generellen Form der syncITF bei SAM- und Tonpulsreizung wurden die Neurone in vier verschiedene Klassen eingeteilt:

- Typ I: linearer Anstieg der Synchronisation mit der Erhöhung des Schalldruckpegels (syncITF) bei Stimulation mit SAM Reizen und Tonpulsen (54,7%). Siehe Abbildung 32, oberste Zeile.
- Typ II: nicht-lineare syncITF bei Stimulation mit SAM Reizen und lineare syncITF bei Stimulation mit Tonpulsen (32%). Siehe Abbildung 32, zweiter Zeile.
- Typ III: nicht-lineare syncITF bei Stimulation mit SAM Reizen und nicht-lineare syncITF bei Stimulation mit Tonpulsen. Dieser Typ war selten (5%). Siehe Abbildung 32, dritte Zeile.
- Typ IV: lineare syncITF bei Stimulation mit SAM Reizen und nicht-lineare syncITF bei Stimulation mit Tonpulsen. Dieser Fall trat relativ selten auf (8%). Siehe Abbildung 32, unterste Zeile.

In Abbildung 32b wird deutlich dass Typ III- und Typ IV Neurone stark streuen, was mit einer geringen Stichprobengröße erklärt werden kann. Insbesondere die mittlere syncITF-Kurve mit Standardfehler für Typ III Neurone zeigt dadurch jedoch nicht mehr deutlich die nicht-linearen Kurvenverläufe, wie sie sich für die einzelnen Neuronen ergaben.

Abbildung 32c verdeutlicht das Verhältnis der synchronisierten neuronalen Antworten auf SAM Reize und Tonpulsen. Je nach Typisierung fallen die Steigungswerte in den passenden Quadranten. So gilt z.B. für Typ I Neurone, dass die Steigungen der syncITF bei Stimulation mit SAM Reizen und Tonpulsen jeweils positiv sind und sich dementsprechend eine Punkteverteilung im rechten oberen Quadranten ergibt.



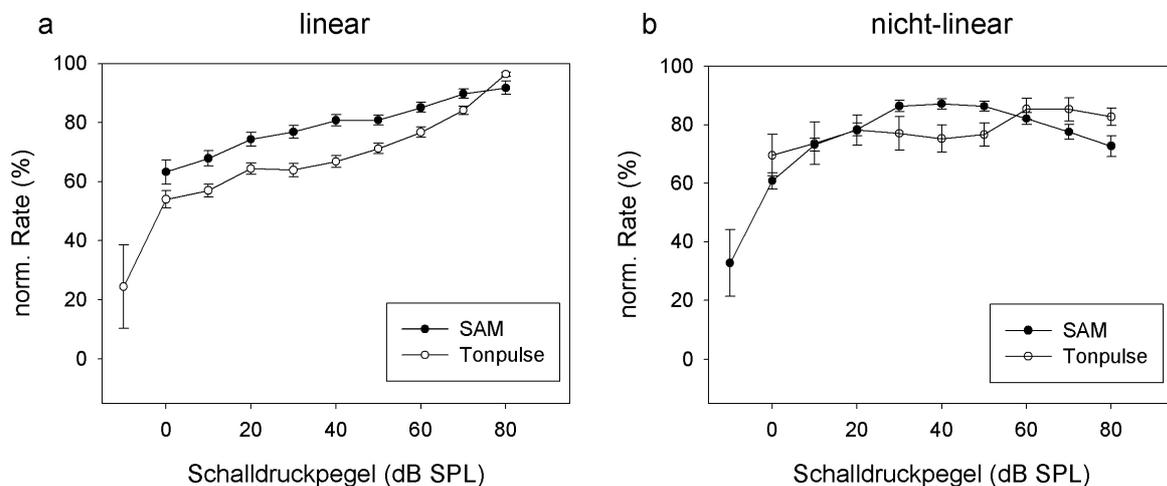
**Abbildung 32: Synchronisation in Abhängigkeit des Schalldruckpegels bei SAM- und Tonpulsreizung.**

Einteilung der Neurone in Klassen nach der Linearität der syncITF-Kurven ( nach Polley et al. 2004,  $n = 109$  Neurone). In (a) ist jeweils ein Beispielneuron je Klasse (d.h. Zeile) gezeigt. Die **gepunktete Linie** stellt das Signifikanzniveau der Rayleigh-Statistik dar. (b) Mittlere syncITF-Kurve mit Standardfehler. (c) Quantitativer Zusammenhang der Steigungen von syncITF von SAM und Tonpulsen nach Klassen dargestellt. Neurone des Typ I und II sind häufiger vertreten als Neurone des Typs III und IV.

Es ist in Abbildung 32c erkennbar, dass die Ausprägung des linearen Kurvenverlaufs vom Reiztyp abhängig ist. Während 87% der Neurone einen linearen Kurvenverlauf mit steigenden Schalldruckpegeln für repetitive Tonpulse zeigen, weisen nur 63 % der Neurone solch einen linearen Kurvenverlauf für SAM Reize auf.

### 5.5.2 Abhängigkeit der neuronalen Aktivitätsrate vom Schalldruckpegel

Die mittlere, neuronale Aktivitätsrate in Abhängigkeit des Schalldruckpegels bei BMF (rateITF) wurde der Form nach in zwei Kategorien, lineare und nicht-lineare Kurvenverläufe, eingeteilt (siehe Material und Methoden Abschnitt 3.5.2.3). Die mittlere neuronale Aktivitätsrate ist in Abbildung 33 für beide Kategorien dargestellt.

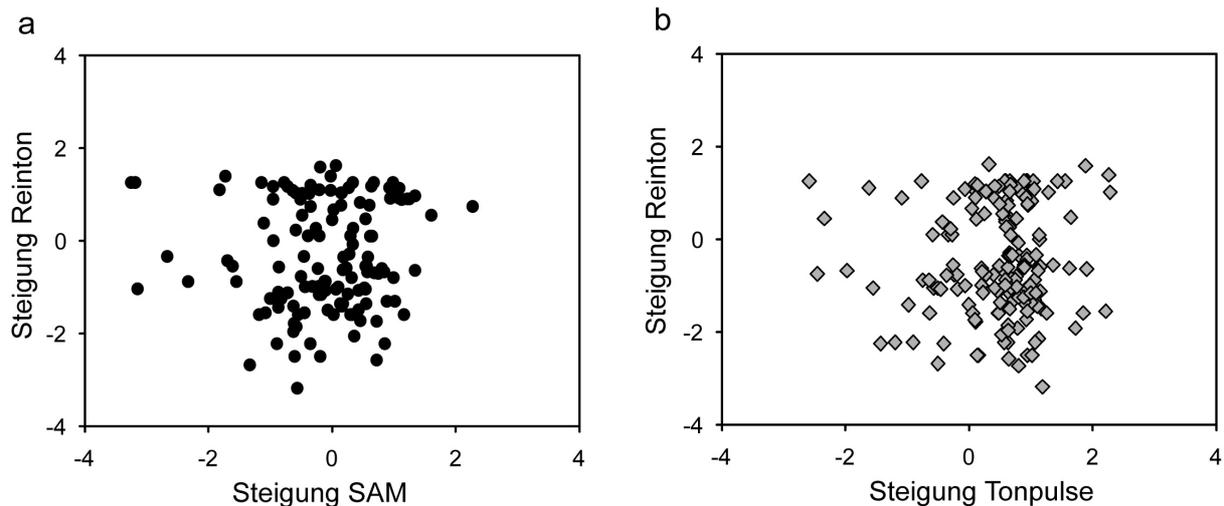


**Abbildung 33: Mittlere Übertragungsfunktion für die neuronale Rate in Abhängigkeit von der Schallintensität (rateITF) für SAM Reizung und repetitive Tonpulse als Reiz.** Dargestellt sind die gemittelten Daten von insgesamt 104 Neuronen (+/- Standardfehler). **(a)** Mittlere linear ansteigende rateITF für Stimulation mit SAM Reizen (n = 53 Neurone) und repetitiven Tonpulsen (n = 92 Neurone). **(b)** Mittlere nicht-lineare rateITF für Stimulation mit SAM Reizen (n = 51 Neurone) und repetitiven Tonpulsen (n = 12 Neurone). Bei den linearen rateITFs ist die normierte neuronale Antwortrate auf SAM Reize signifikant höher als die für repetitive Tonpulse, während dies für die nicht-linearen rateITFs nicht der Fall ist.

Während der Anteil von linearen und nicht-linearen rateITFs bei SAM Reizung relativ ausgeglichen war (51% linear, 49% nicht-linear), konnte bei Stimulation mit repetitiven Tonpulsen ein deutlich höherer Anteil an linearen rateITFs (88,5% linear, 11,5% nicht-linear) festgestellt werden. Die linearen rateITFs bei SAM Reizung und repetitiven Tonpulsen unterschieden sich signifikant voneinander (Wilcoxon MPSR-Test:  $S = -21,5$ ,  $n_1 = 53$ ,  $n_2 = 92$ ,  $p = 0,008$ ). Die nicht-linearen rateITF-Kurven für die beiden Reiztypen dagegen waren nicht signifikant von einander verschieden (Wilcoxon MPSR-Test:  $S = -0,5$ ,  $n_1 = 51$ ,  $n_2 = 12$ , n.s.).

### 5.5.3 Abhängigkeit vom Schalldruckpegel bei einzelnen Reintönen und repetitiven Reizen

Vergleicht man die berechneten Steigungen aus den Ratenintensitätskennlinien der Frequenz-Antwortbereiche bei einzelner Reintonstimulation (Reintoncharakteristik) mit den Steigungen der rateITFs für SAM Reizung und Stimulation mit repetitiven Tonpulsen, dann zeigte sich, dass die Daten hauptsächlich in einem Wertebereich von -2 bis 2 streuen (Abbildung 34).



**Abbildung 34: Vergleich der Steigungen der Ratenintensitätskurven bei Reintonreizung mit denen der rateITF von Stimulationen mit SAM Reizen bzw. repetitiven Tonpulsen. (a) Vergleich der Steigungen der Reinton-Kennlinien mit den rateITFs für SAM-Reize (n = 133 Messungen). (b) Vergleich der Steigungen der Reinton-Kennlinien mit den rateITFs für repetitive Tonpulse (n = 176 Messungen). Es fand sich jeweils ein signifikanter Zusammenhang.**

Dabei findet sich ein schwach signifikanter Zusammenhang für Reintöne und SAM (Wilcoxon MPSR-Test: n = 133; S = 997,5; p = 0,025) und ein deutlicher Zusammenhang zwischen den Steigungen bei Reintönen und repetitiven Tonpulsen (Wilcoxon MPSR-Test: n = 175; S = 477,4; p = 0,0001).

### 5.6 Einfluss GABAerger Inhibition auf die Abhängigkeit der Rate und Synchronizität vom Schalldruckpegel

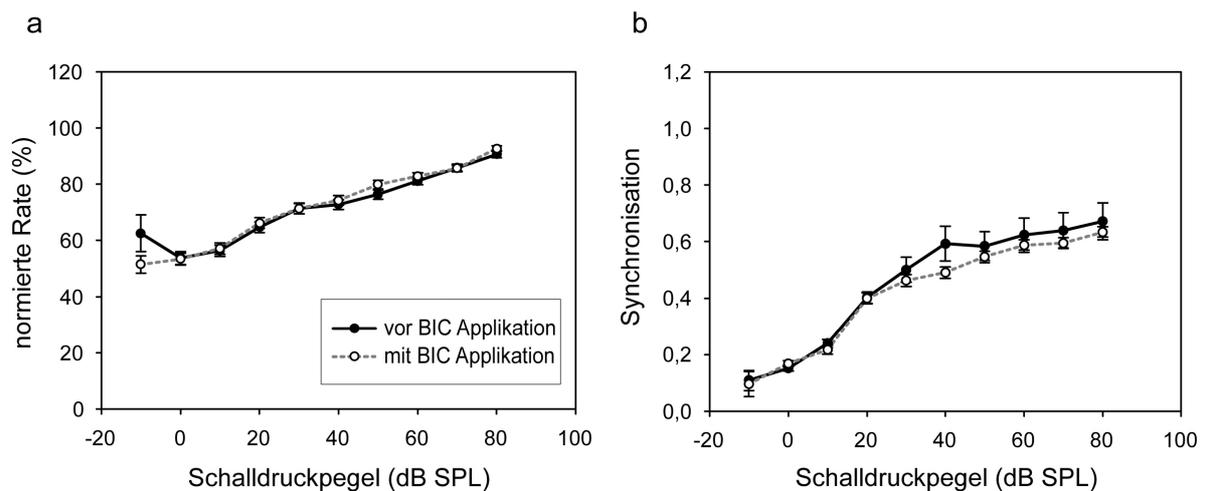
Bisher konnte gezeigt werden, dass die neuronale Repräsentation repetitiver Reize im Hinblick auf die mittlere Aktivitätsrate GABAerg beeinflusst ist, nicht jedoch im Hinblick auf die zeitliche Synchronisation (siehe oben). Davon ausgehend war es nun interessant zu fragen, in wieweit die Abhängigkeit der Repräsentation vom Schalldruckpegel, wie sie gerade

beschrieben wurde, ebenfalls durch BIC Applikation manipuliert werden kann, und ob es auch hier einen Unterschied zwischen zeitlicher und Raten-Kodierung geben würde.

Es zeigt sich, dass BIC nur einen geringen Einfluss auf die Repräsentation von repetitiven Reizen unterschiedlicher Lautstärke hat. Dies wird im Folgenden zunächst allgemein, im Hinblick auf Änderungen der neuronalen Aktivitätsrate und Synchronisation, sowie differenziert nach Reiztypen näher beleuchtet.

### 5.6.1 Einfluss von BIC auf die Abhängigkeit der Rate vom Schalldruckpegel

Auch wenn die Applikation von BIC die absolute Rate deutlich veränderte (siehe Abschnitt 5.4.1), zeigte sich kein Unterschied der normierten, neuronalen Aktivitätsrate in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel (Wilcoxon MPSR-Test:  $n = 30$ ,  $S = 12,5$ ; n.s.) unter BIC (Abbildung 35a).



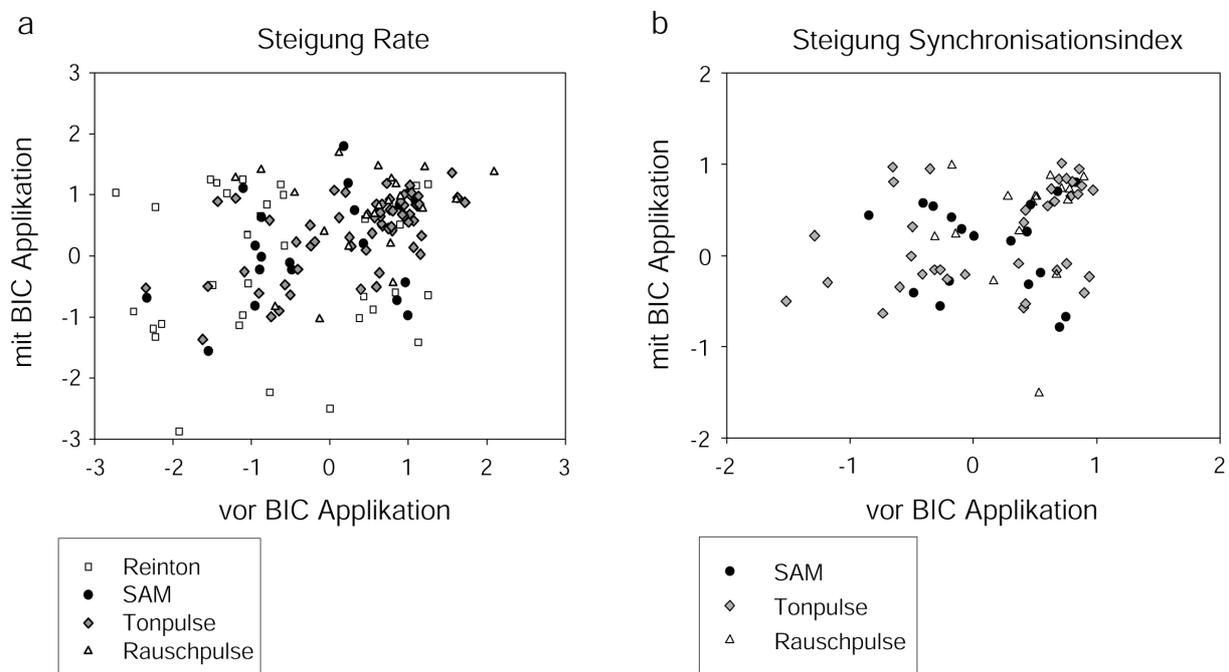
**Abbildung 35: Mittlere Abhängigkeit der normierten Rate (rateITF) und der Synchronisation (syncITF) vom Schalldruckpegel vor und während der Applikation von BIC** (jeweils  $n = 124$  Messungen). **(a)** Darstellung der normierten Rate (rateITF) vor und während der Applikation von BIC. **(b)** Darstellung der mittleren Synchronisation (syncITF) vor und während der Applikation von BIC ( $n = 30$ ). Weder für die Rate noch für die Synchronisation zeigten sich Unterschiede zwischen den Werten vor und während der BIC Applikation (a, b).

### 5.6.2 Einfluss von BIC auf die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel

Ein ähnliches Bild wie für die rateITF ergab sich auch für die mittlere syncITF. Diese unterschied sich während der BIC Applikation nicht von der Ausgangslage vor BIC Applikation (Wilcoxon MPSR-Test:  $n = 30$ ,  $S = -24,5$ ;  $p = 0,01$ ) (Abbildung 35b). Im Mittel stieg sowohl der Synchronisationsindex  $s$  als auch die neuronale Aktivitätsrate leicht mit ansteigenden Schalldruckpegeln an (Aktivitätsrate: Spearman  $n = 30$ ;  $r_s = 0,9636$ ;  $p < 0,0001$ ; Synchronisation: Spearman  $n = 30$ ;  $r_s = 0,9879$ ;  $p < 0,0001$ ).

### 5.6.3 GABAerger Einfluß auf die Steigung der neuronalen Aktivitätsrate: Betrachtung der einzelnen Reiztypen

Betrachtete man die Verteilung der Steigungen von rateITFs vor und während der Applikation von BIC nicht allgemein, sondern getrennt nach einzelnen Reiztypen (Abbildung 36a), konnte für keinen der Reiztypen eine signifikante Veränderung unter BIC Einwirkung festgestellt werden (Wilcoxon MPSR-Test: SAM:  $n = 25$ ;  $S = 57$ ; n.s.) Tonpulse:  $n = 67$ ;  $S = -59$ ; n.s.; Rauschpulse:  $n = 25$ ;  $S = 14,5$ ; n.s.; Reintöne:  $n = 30$ ;  $S = 96,5$ ; n.s.).

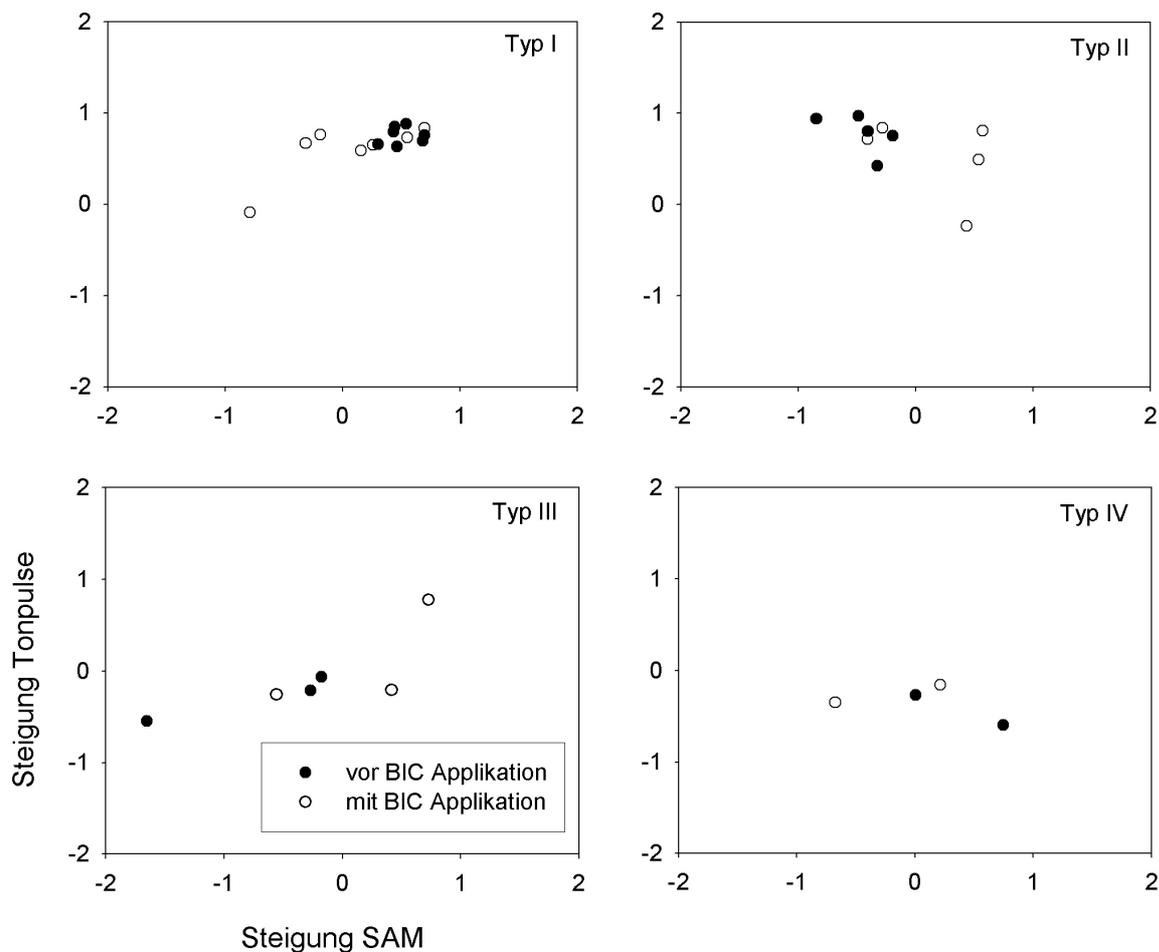


**Abbildung 36: Verteilung der Steigungen aus rateITF und syncITF im Vergleich vor und während der Applikation von BIC.** (a) Darstellung der aus den rateITFs erhaltenen Steigungen vor und während der BIC Applikation. (b) Darstellung der aus den syncITFs erhaltenen Steigungen vor und während der BIC Applikation. Unter der Wirkung von BIC konnte für keine der neuronalen Antworten auf die Reiztypen eine signifikante Veränderung festgestellt werden.

Das gleiche galt für den Vergleich der Steigungen von syncMTF-Kurven vor und während der BIC Applikation (Abbildung 36b). Auch hier bestand kein Unterschied in den Verteilungen bei den drei Reiztypen zwischen der Ausgangslage und während der BIC Applikation (Wilcoxon MPSR-Test: SAM:  $n = 18$ ;  $S = -2,5$ ; n.s.; Tonpulse:  $n = 36$ ;  $S = 47$ ; n.s.; Rauschpulse:  $n = 16$ ;  $S = 8$ ; n.s.).

#### 5.6.4 GABAerger Einfluss auf die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel

Abschließend wurde der Einfluss von BIC auf die Klassifizierung der Neuronentypen, anhand ihrer Steigungen der Synchronisation im dynamischen Bereich, untersucht (Abbildung 37).



**Abbildung 37:** Zusammenhang der Steigungen der syncITF von SAM und Tonpulsen in den vier Klassen von Neuronen vor und während der Applikation von BIC ( $n = 17$ ).

Eine statistische Auswertung erfolgt dabei aufgrund der geringen Stichprobengröße nicht. Es wird deutlich, dass die Steigungswerte während der BIC Applikation streuen. Dabei streuen die Steigungen für die SAM Reizung etwas stärker, als die Steigungen für Tonpulsreizung. So ist z.B. ein Neuron, das ursprünglich dem Typ I zugeordnet wurde, nicht zwangsläufig auch während der Applikation von BIC weiterhin Typ I. Von den 7 Neuronen des Typ I bleiben während der Applikation von BIC nur 4 Neurone weiterhin Typ I. Bei den 3 verbleibenden Neuronen wandelt sich die Steigung bei SAM Reizung von positiven in negative Werte um. Eine ähnliche Änderung der Steigung weisen die 2 Neurone des Typ IV auf, bei denen ebenfalls die Steigungen bei SAM Reizung negativer werden.

Die gegenteilige Tendenz zeigen Neurone des Typ II. Bei 3 von 5 Neuronen ändert sich die Steigung bei SAM Reizung von negativen zu positiven Werten. Auch die 3 Neurone des Typ III weisen während der BIC Applikation größere positive Steigungswerte bei Stimulation mit SAM Reizen auf.

## 6 Diskussion der Methoden und Ergebnisse der Versuche mit ACh

### 6.1 Methodische Überlegungen

Bevor die eigentliche Diskussion der Daten und Ergebnisse ansteht, soll auf vier grundsätzliche, methodische Aspekte hingewiesen werden. Diese Ausführungen beziehen sich dabei auf beide untersuchten Teilaspekte.

1) Die vorliegende Untersuchung wurde an narkotisierten Tieren durchgeführt. Ein Einfluss der Anästhesie auf die gemessenen Ergebnisse ist nicht mit absoluter Sicherheit auszuschließen und sollte bei allen Ausführungen, insbesondere über potentielle Mechanismen der kortikalen Verarbeitung nicht außer Acht gelassen werden. Dies ist insbesondere bei der Diskussion um einen cholinergen Einfluss in Abhängigkeit von der Spontanaktivität von Interesse. So ist z.B. bekannt, dass Ketamin, eines der hier verwendeten Anästhetika, eine GABAerge Inhibition verstärkt (Antkowiak 1999, Flood und Krasowski 2000, Kurt et al. 2007, Lin et al. 1992, Sivaramakrishnan et al. 2004, Wang et al. 2002). Auch ändert sich die neuronale Aktivität, insbesondere die spontane Aktivität, zum Teil erheblich unter Narkose (Gaese und Ostwald 2001, Wang 2007). Allerdings beschreibt Eggermont 2001, dass die Einflüsse verglichen mit dem Gesamtergebnis, zu vernachlässigen seien. Die hier vorliegenden Ergebnisse werden hauptsächlich mit Literaturergebnissen, die ebenfalls unter Narkose gemessen wurden, verglichen. Insofern wird, in Anlehnung an Eggermont (2001), davon ausgegangen, dass die Einflüsse zu vernachlässigen sind.

2) Für die Applikation der pharmakologisch wirksamen Substanzen wurde bei der vorliegenden Arbeit strominduzierte Iontophorese benutzt. Diese hat im Vergleich zur druckinduzierten Iontophorese den Vorteil, dass keine massiven Veränderungen des Gewebes bei der Applikation von Pharmaka auf Grund des Druckes stattfinden.

Bei der strominduzierten Iontophorese muss man sich im Klaren sein, dass über die tatsächlich in das Gewebe abgegebene Konzentration an wirksamen Pharmaka keine absolute Aussage gemacht werden kann. Es kann aber angenommen werden, dass die applizierte Dosis proportional zur gemessenen Stromstärke ist. So lässt sich indirekt über die applizierte Strommenge auf die verabreichte Dosis schließen. Wirklich gute quantitative Aussagen bleiben einem mit der Methode der strominduzierten Iontophorese jedoch verwehrt! Dementsprechend wurden die Untersuchungen insbesondere auf qualitative Unterschiede, wie sie z.B. die Form der Frequenz-Antwortbereiche betreffen, und möglichst starke Effekte, wie

z.B. die Verschiebung einer BMF, ausgelegt. Die Ausführungen über eine Dosisabhängigkeit beziehen sich dementsprechend alle auf die Stärke der Applikationsströme.

Man sollte zudem bedenken, dass es zu leichten räumlichen „Ungenauigkeiten“ kommen kann. Zur Erinnerung sei auf den Aufbau der Mehrkanal-Piggy-Back Elektrode hingewiesen. Die Messelektrode wird manuell auf die Mehrkanalelektrode aufgeklebt. Es ergeben sich daraus unterschiedliche Abstände zwischen der Elektrodenspitze der Messelektrode und den einzelnen Spitzen der Pharmakanäle, in Abhängigkeit davon welcher Kanal der Mehrfachelektrode gerade benutzt wird. Die Abstände liegen jedoch im Bereich von wenigen Mikrometern, so dass große Auswirkungen zunächst ausgeschlossen werden können. Durch das Überstehen der Messelektrode wird der lokale Aufbau von Potentialen verhindert, doch bleibt der absolute Winkel von Messelektrode und Pharmakanal im Bezug zur Synapse dem Experimentator unbekannt (siehe auch Vater et al. 1992).

3) In der vorliegenden Arbeit wird nicht nach Einzel- und Mehrzellmessungen differenziert. Die Rohdaten wurden zwar stets sofort während der Messungen auf Einzelzellmessungen hin diskriminiert, jedoch keinem Spike-Sortierprogramm unterzogen, so dass nicht mit absoluter Sicherheit von Einzel- bzw. Mehrzelleitungen gesprochen werden kann. Gaese und Ostwald (1995) konnten bei ihrer Datenanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen Einzel- und Mehrzelleitungen feststellen. Sie gehen davon aus, dass Neurone mit ähnlichen Antwortigenschaften im Kortex in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander lokalisiert sind. Zu gleichen Ergebnissen kommen unabhängig von einander auch Eggermont (2001) und Schulze und Langner (1999). Davon ausgehend ist es vertretbar, Einzel- und Mehrzelleitungen zusammenzufassen.

4) Das Alter der Tiere, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, variierte zwischen drei und acht Monaten. Während Wüstenrennmäuse mit drei Monaten als gerade erwachsen bezeichnet werden können, sind acht Monate alte Tiere bereits vollständig ausgewachsen, aber immer noch jung genug, um nicht an Altersschwerhörigkeit zu leiden. So zählen Hamann et al. (2004) bei psychoakustischen Versuchen am Gerbil Tiere unter 16 Monaten zu den jungen Tieren. Individuelle Unterschiede in Schwellenwerten sind demnach nicht auf das Alter der Tiere zurückzuführen. Interessanterweise finden Hamann et al. (2004) zwischen alten und jungen Tieren auch nur geringe Unterschiede in der Detektion von Pausen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die zeitliche Verarbeitung bis ins hohe Alter sensitiv bleibt. Zu ähnlichen Ergebnissen, d.h. nur einem geringen, vernachlässigbaren Einfluß des Alters (bis wenigstens 15 Monate) auf die Hörfähigkeit, kommen auch Eckerich et al. (2007). Die Auswirkungen von Alter auf die neuronale, zeitliche Verarbeitung von Schallreizen im

auditorischen Kortex der Ratte zeigte zwar Veränderungen (Mendelson und Lui 2004), die jedoch noch genauer untersucht werden sollten. Im IC der Ratte wurden bei der neuronalen Verarbeitung von SAM Reizen dagegen ebenfalls keine Veränderungen beschrieben (Palombi et al. 2001). Der Einfluss des Alters bei Nagern und insbesondere Wüstenrennmäusen darf im Rahmen der vorliegenden Studie dementsprechend als vernachlässigbar gering betrachtet werden.

## **6.2 Veränderungen der neuronalen Aktivität unter dem Einfluss von ACh**

Eine Vielzahl von Studien hat sich in der Vergangenheit mit der Rolle von ACh im Säugergehirn beschäftigt. Es darf davon ausgegangen werden, dass ACh einen modulierenden Einfluss auf das neuronale Antwortverhalten kortikaler Neurone ausübt. Zudem muss noch einmal darauf hingewiesen werden, dass ACh auf zwei Typen von Rezeptoren, nikotinische und muskarinische, wirken kann. Bei der Pharmakaapplikation in der vorliegenden Arbeit lag der Fokus ausschließlich auf möglichen cholinergen Effekten, die durch muskarinische Rezeptoren vermittelt werden. Dies äußerte sich vor allem in der Wahl des Agonisten Carbachol und des Antagonisten Atropin. Mögliche Effekte, die durch nikotinische Rezeptoren vermittelt sein könnten, blieben also unberücksichtigt.

ACh hatte bei rund der Hälfte der gemessenen Neurone in der vorliegenden Studie einen Einfluss auf die Frequenz-Antwortbereiche. Dabei können die Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche unter dem Einfluss von ACh sehr unterschiedlich ausfallen, und die Effekte bleiben insgesamt unter dem Signifikanzniveau. Der cholinerge Einfluss wird offenbar alleine durch die Präsenz des AChs ausgelöst, da keine spezifischen Ausprägungen der Effekte in Abhängigkeit der Dosis gezeigt werden konnten. Die spezifischen Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche unter ACh Einfluss sollen im Weiteren genauer beleuchtet werden.

### **6.2.1 ACh Einfluss auf die spontane neuronale Aktivität**

Die Spontanrate ist im Mittel leicht, wenn auch nicht signifikant, während der ACh Applikation erhöht. Höhere Spontanraten unter ACh Einfluss werden auch in der Literatur für einzelne Neurone berichtet. Dabei variieren die Prozentsätze von Neuronen, bei denen sich die Spontanrate erhöht, zwischen 16% und 86%, was mit den unterschiedlichen Versuchstierarten, dem physiologischen Zustand des Versuchstieres (z.B. wach oder narkotisiert) und verschiedenen kortikalen Untersuchungsgebieten erklärt wird (Shulz et

al. 1997). Im Meerschweinchen finden Shulz et al. (1997) bei in vivo Messungen biphasische Effekte. So erhöht sich dort die Spontanrate unter dem Einfluss von ACh in 25,5%, verringert sich in 15% der Fälle und zeigt keine Änderung in allen restlichen Neuronen. Dabei scheint die ursprüngliche Spontanrate vor der Pharmakaapplikation ausschlaggebend dafür zu sein, wie sich die Spontanrate unter dem Einfluss von ACh ändert. Shulz et al. (1997) berichten davon, dass eine Erhöhung der Spontanrate bei Ausgangswerten von 2 - 5 Aktionspotentialen pro Sekunde gefunden werden konnte, während sich der Effekt bei Spontanraten über 5 Aktionspotentialen pro Sekunde umkehrte. Dies entspricht den eigenen Ergebnissen der vorliegenden Studie, wo zwar im Mittel eine leichte Erhöhung der Spontanrate festgestellt, im Einzelfall aber auch eine Verringerung der Spontanrate unter ACh Applikation beobachtet werden konnte. Der zugrunde liegende Mechanismus bleibt unklar. Es ist denkbar, dass der ACh Einfluss auf die Änderungen der Spontanaktivität von der Position der Synapse abhängig ist. Dies konnte mit dem hier gewählten methodischen Versuchsansatz nicht näher bestimmt werden. Eine cholinerge Synapse am Dendriten könnte also anders als eine Synapse am Soma, die Spontanrate beeinflussen. Allerdings finden sich die cholinergen Synapsen hauptsächlich auf den Dendriten und Dornfortsätzen und eher selten direkt am Soma (Brandowski et al. 2001).

Zudem dürfte die Verteilung und Anzahl der Rezeptortypen für die Gesamtantwort ausschlaggebend sein. Abhängig vom jeweiligen Zelltyp, öffnen einige der muskarinischen Rezeptortypen Kalium- oder Kalziumkanäle, während andere Chloridkanäle öffnen (Cooper et al. 1996). Die Stimulation von muskarinischen Rezeptoren kann dementsprechend sowohl zu einer Hyper- als auch zu einer Depolarisation führen.

Shulz et al. (1997) finden in ihrer Studie keinen direkten, signifikanten Zusammenhang zwischen Änderungen der Spontanrate und Änderungen der reizinduzierten neuronalen Aktivität, auch wenn sie solch einen Zusammenhang für plausibel und wahrscheinlich halten. Dies deckt sich mit den hier vorliegenden Ergebnissen, wo ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden konnte. Allerdings finden sich in der Literatur auch Untersuchungen, bei denen ein direkter Zusammenhang von der Spontanrate und ACh induzierter Veränderungen der reizinduzierten neuronalen Aktivität gefunden wurde (Rasmusson 2000, Gu 2003). Meist werden diese im Zusammenhang mit einem verbesserten Signal-Rausch-Verhältnis diskutiert (Gu 2003, Lucas-Meunier et al. 2003, Sarter und Bruno 1997)

### 6.2.2 ACh Einfluss auf die Größe und Form der rezeptiven Felder der Frequenz-Antwortbereiche

Die ermittelten Dimensionen der Frequenz-Antwortbereiche nach Reintonstimulation in der vorliegenden Untersuchung stimmen mit denen aus älteren Arbeiten zum primären auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus in weiten Teilen überein, so dass man davon ausgehen kann, dass es sich um eine repräsentative Stichprobe kortikaler Neurone handelt. Der mittlere  $Q_{10}$ -Wert vor ACh Applikation in der vorliegenden Untersuchung zur Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen unter dem Einfluß von ACh liegt bei 2,47 und weist eine Bandbreite von 0,47 bis 9,65 auf. Foeller (2001) berichtet von einem mittleren  $Q_{10}$ -Wert von 2,3 und einer Bandbreite von 0,6 – 5,8 in ihrer Untersuchung der Plastizität von Frequenz-Antwortbereichen unter dem  $GABA_a$ - Antagonisten BIC. In der Untersuchung von Marsch (2003) werden ein mittlerer  $Q_{10}$ -Wert von 3,61 und eine Bandbreite von 0,69-22,59 genannt. Die Frequenz-Antwortbereiche nach Reintonstimulation der vorliegenden Untersuchung entsprechen demnach den Frequenz-Antwortbereichen, die den Untersuchungen von Foeller (2001) und Marsch (2003) zu Grunde lagen. Zieht man die von Schulze und Langner (1997) genannten  $Q_{30}$ -Werte hinzu, stellt man fest, dass diese mit Werten um 0,2 - 8,1 und einem mittleren  $Q_{30}$ -Wert von 1,7 ebenfalls mit den oben genannten Werten übereinstimmen bzw. leicht unter den Werten von Foeller (2001) und Marsch (2003) liegen. Letzteres läßt sich damit erklären, dass die  $Q$ -Werte von Foeller (2001) und Marsch (2003) bei 20 dB SPL niedrigeren Schalldruckpegeln als bei Schulze und Langner (1997) ermittelt wurden.

Aus histologischen Untersuchungen weiß man, dass cholinerge Projektionen in allen kortikalen Schichten nachgewiesen werden können. (Sarter und Bruno 1997, Lucas-Meunier et al. 2003). Dabei zeigen sich im Detail arttypische und lokale Unterschiede. So sind im somatosensorischen Kortex der Ratte cholinerge Fasern vor allem in den kortikalen Schichten V und VI und in der Katze vor allem in den tiefen Schichten, d.h. Schicht IV bis VI, vertreten (Metherate et al. 1988a). Beim auditorischen Kortex des Meerschweinchens dagegen finden sich cholinerge Terminalien insbesondere in Schicht I, V und VI. Histologische Färbungen zeigen in Schicht IV nur eine sehr geringe Färbung (Shulz et al. 1997). Für die Wüstenrennmaus konnte bisher keine schichtspezifische Färbung im auditorischen Kortex nachgewiesen werden. Das Vorhandensein von cholinergen Projektionen im Kortex hat in der Vergangenheit immer wieder zu Spekulationen über die Funktion bzw. den Einfluß von ACh auf die neuronale, kortikale Aktivität geführt. Es finden sich nur wenige Publikationen, die sich spezifisch mit den Änderungen der Fläche kortikaler Frequenz-Antwortbereiche in Abhängigkeit von ACh beschäftigt haben (Chen und Yan 2007, Shulz et al. 1997).

Zunächst gilt generell, dass jedes kortikale Neuron auch sensibel auf Änderungen des kortikalen ACh Gehaltes reagieren kann. Die Effekte finden sich nur in einer Subpopulation von Neuronen, wie bereits Metharate et al. (1988a und 1988b) treffend bemerken. Während Shulz et al. (1997) nur in 40,5% der Neurone eine Änderung bemerken, sind es in der vorliegenden Arbeit 53,6%. Ich erkläre mir diesen Unterschied mit einer Kombination von drei verschiedenen Effekten. Erstens könnten die benutzten, unterschiedlichen Elektroden eine Rolle spielen. Zudem findet zweitens die Studie von Shulz et al. (1997) im Meerschweinchen statt, so dass hier artspezifische Unterschiede vorliegen können und drittens dürften die leicht unterschiedliche Zusammensetzung des Narkosemittels, sowie die Narkosetiefe einen Effekt haben. So ändert sich die spontane und neuronale Aktivität zum Teil erheblich unter Narkose (Gaese und Ostwald 2001).

### **6.2.3 Einfluss von ACh auf die Abstimmbarkeit von Frequenz-Antwortbereiche**

Interessanterweise berichten Ji et al. 2001 in ihrer Studie von einer in allen Neuronen (100%) erhöhten, reizinduzierten neuronalen Aktivität unter dem Einfluss von ACh im auditorischen Kortex und im IC von Fledermäusen (*Eptesicus fuscus*), die allerdings zu keinen Änderungen der Form und Größe der Frequenz-Antwortbereiche führt. Chen und Yan 2007 dagegen stellen fest, dass Änderungen der MTs unter ACh Einfluss im Kortex anhalten, allerdings nur dann, wenn die ACh Applikation mit der Tonreizung zeitlich gekoppelt war und die Neurone somit konditioniert wurden. Diese Befunde unterscheiden sich drastisch von den eigenen Ergebnissen der vorliegenden Studie, bei denen Neurone eine Änderung der reizinduzierten neuronalen Aktivität ohne die Konditionierung mit einem Ton zeigten und zudem Änderungen in der Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche zu verzeichnen waren. Bei einem Fünftel derjenigen Frequenz-Antwortbereiche bei denen ein Einfluss von ACh gefunden werden konnte, verkleinerte sich jeweils die Fläche der Frequenz-Antwortbereiche oder zeigte komplexe Änderungen und bei einem Zehntel vergrößerte sich die Fläche der Frequenz-Antwortbereiche. Bei letzterem ging dabei meist eine Verbreiterung im Frequenzbereich auch mit einer Erniedrigung der MT einher.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche finden sich auch bei Shulz et al. (1997) wieder. Dort maßen die Autoren in 17,5 – 19% der Neuronen eine Feldvergrößerung und in 13,7 – 33,3% der Neuronen eine Feldverkleinerung. Die prozentualen Bereiche für Änderungen der Fläche der Frequenz-Antwortbereiche ergeben sich bei Shulz et al. (1997) durch die Entfernung der Messelektroden spitze in Abhängigkeit vom kortikalen Ort der Iontophorese. Für die Messelektrode, die näher am Ort der

Iontophorese positioniert war, ergaben sich die höheren Werte. Vergleicht man die Werte von Shulz et al. (1997) mit den eigenen Ergebnissen, so fällt auf, dass diese weitgehend übereinstimmen. Die hier erzielten Anteile an Änderungen an der Fläche der Frequenz-Antwortbereiche, führe ich auf die Nähe der Messelektroden spitze mit der Pharmakaelektrode zurück, wie sie auch für einen Teil der Ergebnisse in Abhängigkeit vom räumlichen Aufbau der Messapparatur bei Shulz et al. (1997) zu finden ist.

Eine Vergrößerung der Frequenz-Antwortbereiche könnte auf einer stärkeren Depolarisation von Neuronen oder einer Verminderung der Schwellenwerte während der ACh Applikation basieren, wie es von Brandowski et al. (2001) postuliert wurde. Verstärkte, reizinduzierte neuronale Aktivität im Zusammenhang mit ACh wird auch aus anderen sensorischen Kortexarealen berichtet (Metherate et al. 1988b – somatosensorischer Kortex, Gu 2003 – visueller Kortex).

Neben breiteren und größeren Frequenz-Antwortbereichen wurden in geringerem Maße auch Feldverkleinerungen der Frequenz-Antwortbereiche unter ACh Applikation ermittelt. Ähnliches wird vom somatosensorischen Kortex der Katze berichtet, wo bei ACh-Applikation auch inhibitorische Effekte auftreten (Metherate et al. 1988a). Dort herrschen jedoch ebenfalls die exzitatorischen im Vergleich zu den inhibitorischen Effekten vor. Eine Verkleinerung der Frequenz-Antwortbereiche während der ACh Applikation könnte sich darauf zurückführen lassen, dass insbesondere muskarinische Rezeptoren auf inhibitorischen Interneuronen im Kortex aktiviert werden. Dies führt nicht nur zu einem besseren Signal – Rausch – Verhältnis, sondern auch zu schärferen Frequenz-Antwortbereichen (Metherate und Hsieh 2003). Eine andere Idee verfolgen Brandowski et al. (2001), die in ihrer in - vitro Untersuchung feststellen, dass neben einer Depolarisation auch eine Hyperpolarisation eines Neurons durch ACh in Abhängigkeit von der Reizintensität ausgelöst werden kann. Sie erklären dies mit unterschiedlichen Wirkungsorten von ACh. So wirkt ACh zum einen direkt über Synapsen auf Pyramidenzellen und führt zu einer Verstärkung der Depolarisation. Zum anderen wirkt ACh jedoch auch an Synapsen im Hörkortex auf GABAerge Interneurone (Salgado et al. 2007) und induziert darüber eine verstärkte Inhibition, die zu einer Hyperpolarisation von Pyramidenzellen führt. Diese Befunde deuten also darauf hin, dass die genaue lokale Anordnung der cholinergen Synapsen an einem Zielneuron im Hörkortex von Bedeutung ist (Rassmusson 2000).

Neben kleineren und größeren V-förmig abgestimmten Frequenz-Antwortbereichen, fanden sich noch eine ganze Reihe unterschiedlicher Effekte unter ACh Einfluss, die als komplex

bezeichnet wurden. Auch hier muss davon ausgegangen werden, dass die lokale synaptische Verschaltung zu diesen spezifischen Änderungen führt.

Die unterschiedliche synaptische Verschaltung cholinergischer Fasern auf kortikale Neurone dürfte also für die gegensätzlichen Veränderungen in Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche verantwortlich sein.

#### **6.2.4 Einfluss von ACh auf MTs und CFs von Frequenz-Antwortbereichen**

Neben Veränderungen der Bandbreite der Frequenz-Antwortbereiche, fand sich bei den eigenen Daten in einem Teil der Messungen eine Änderung der MT. Meist war diese an eine Änderung der Abstimmstärke des Frequenz-Antwortbereichs gekoppelt, wie bereits oben erwähnt. Dies lässt sich leicht damit erklären, dass bei einer Änderung des Frequenz-Antwortbereichs im Sinne einer Verkleinerung oder Vergrößerung der Fläche nicht nur die Abstimmstärke, sondern auch die MT betroffen ist. Änderungen in der MT werden zudem in der Literatur im Zusammenhang mit Konditionierungsexperimenten beschrieben. Dabei erfolgte die Konditionierung entweder mit einem überschwelligen Ton (Yan und Zhang 2005) oder mit einem Ton unterhalb der zuvor ermittelten MT (Chen und Yan 2007). Solche Ergebnisse aus Konditionierungsexperimenten machen deutlich, dass Frequenz-Antwortbereiche auch in der Dimension des Schalldruckpegels plastisch sind.

Allerdings erfolgt die Kopplung von Änderungen der Abstimmstärke und MTs offensichtlich nicht automatisch für alle Änderungen der Frequenz-Antwortbereiche, da bei diesen Ergebnissen nicht immer eine Änderung der Abstimmstärke auch zu einer Änderung der MT führte. Vielmehr dürften auch hier, auf zellulärer Ebene, die bereits in Bezug auf die Abstimmstärke angesprochenen lokalen synaptischen Verschaltungen eine entscheidende Rolle spielen.

Bei annähernd gleicher Bandbreite der Frequenz-Antwortbereiche konnte außerdem auch in einigen Fällen eine Verschiebung der CF beobachtet werden. Während Shulz et al. (1997) ein solches Phänomen nicht beschreiben, finden sich dagegen CF Verschiebungen im auditorischen Kortex der Katze unter ACh Einfluss (Ashe et al. 1989). Diese CF Verschiebungen basieren nach Vorstellung der Autoren auf einer reduzierten neuronalen Antwort auf Reize bei der CF und einer gleichzeitig erhöhten neuronalen Antwort auf Reize in einem seitlichen Frequenzband der Frequenz-Antwortbereiche. Die Verschiebung der CF erfolgt dabei in der Regel frequenzspezifisch und basiert nicht auf einer allgemeinen

Änderung der neuronalen Aktivität für alle Frequenzbereiche (McKenna et al. 1989). Von drastischen CF Verschiebungen bei kortikaler ACh Applikation und nachfolgender Konditionierung für Neurone des IC und des auditorischen Kortex in der Fledermaus (Ji et al. 2001) und Maus (Chen und Yan 2007) wird berichtet. Die Autoren dieser Studien werten die CF Verschiebungen nach Konditionierung als eine ACh induzierte, temporäre kortikale Plastizität. Denkbar wäre eine solche, wenn in diesem Fall auch unbeabsichtigte, kortikale Plastizität auch als zugrunde liegender Mechanismus für die hier beobachtete CF Verschiebung.

### **6.3 Effekte von ACh in Abhängigkeit von der Dosis**

ACh wurde mit Stromstärken in einem Bereich von 30 nA bis 120 nA appliziert. Ähnliche Stromstärken verwendeten auch Shulz et al. (1997) in ihrer Untersuchung.

In der hier vorliegenden Arbeit konnten keine dosisabhängigen Effekte ermittelt werden. Dies ist erstaunlich, wenn man bedenkt, dass dosisabhängige Effekte in der Literatur beschrieben sind. So finden Metherate et al. (1988a und 1988b) im somatosensorischen Kortex der Katze biphasische Effekte. Bei niedrigen und hohen Dosierungen von ACh zeigt sich kein Effekt, während mittlere ACh Applikationsströme zu einem Effekt führen. Hsieh et al. (2000) konnte in – vitro unterschiedlich starke Wirkungen auf IC Neurone der Maus in Abhängigkeit von der Dosis der Pharmaka (Carbachol) feststellen. Eine Stimulation des Nucleus basalis führt zu erhöhten endogenen ACh Niveaus im auditorischen Kortex, die allgemein mit einer verbesserten synaptischen Plastizität im Bezug auf Lern- und Aufmerksamkeitsprozesse assoziiert werden (Kilgard und Merzenich 1998b, Weinberger und Bakin 1998). Dosisabhängige Effekte sind auch von anderen iontophoretisch eingesetzten Pharmaka bekannt (Foeller et al. 2001, Kurt et al. 2006)

Das Fehlen dosisabhängiger Effekte in der vorliegenden Studie läßt sich wohl auf zwei Gründe zurückführen. Erstens könnte die lange Applikationszeit über den kompletten Zeitraum der Erfassung eines Frequenz-Antwortbereichs, mögliche Effekte zu Beginn einer Pharmakaapplikation, d.h. z. B. eine kürzere Latenzzeit, eine erhöhte On-Antwort etc. maskieren und zweitens dürften die individuellen Schwankungen von Tier zu Tier in Bezug auf z.B. Narkosetiefe und endogenem ACh Gehalt mögliche Dosiseffekte verwischen. Während ersteres methodisch schwer zu standardisieren und kontrollieren ist, könnte letzteres mit der Applikation von Acetylcholinesterase oder dem Einsatz eines breit wirkenden

Antagonisten (z.B. Atropin, für die muskarinisch rezeptorvermittelte neuronale Aktivität) vor eigentlichem Messbeginn methodisch sauberer erfasst werden. Auch eine Läsion cholinergischer kortikaler Neurone, um endogenes ACh im Kortex auf ein Minimum zu reduzieren, wäre in diesem Zusammenhang denkbar.

#### **6.4 Einfluss des ACh Agonisten Carbachol auf die Spontanrate und die Eigenschaften der Frequenz-Antwortbereiche**

Bei einer kleinen Anzahl von Neuronen wurde die pharmakologisch wirksame Substanz ACh durch Carbachol ersetzt. Carbachol wird langsamer hydrolysiert als ACh, so dass dementsprechend bei dosisgleicher Applikation Carbachol netto eine längere Einwirk- und Diffusionszeit hat. Carbachol wird in der Literatur als zuverlässiger Agonist beschrieben (Shulz et al. 1997, Jensen et al. 2003), der vor allem deutlich spezifischer auf muskarinische Rezeptoren wirkt, jedoch in höheren Dosen auch an nikotinische Rezeptoren binden kann.

##### **6.4.1 Einfluss von Carbachol auf die spontane neuronale Aktivität**

Im Mittel änderte sich die Spontanrate unter Carbachol Einfluss in der vorliegenden Studie nicht, obgleich im Einzelfall eine Verstärkung und eine Verringerung neuronaler Aktivität beobachtet werden konnte. Die Änderungen der neuronalen Aktivität im Einzelfall decken sich mit den Beobachtungen zur neuronalen Aktivität während der ACh Applikation. Es muss daher davon ausgegangen werden, dass die nicht vorhandenen Effekte nicht auf eine unspezifische Rezeptorbindung zurückzuführen sind.

##### **6.4.2 Einfluss von Carbachol auf die Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche**

Der Einsatz von Carbachol versprach theoretisch einen potentiell stärkeren Effekt. Allerdings konnte diese Annahme nicht bestätigt werden. Weder zeigten sich bei einem höheren Prozentsatz an Neuronen Effekte, noch waren Änderungen stärker ausgeprägt, als während der ACh Applikation. Daraus kann man schließen, dass bei einer lokalen, kurzzeitigen Dosierung die langsameren Abbauzeiten von Carbachol im Vergleich zu ACh nicht so sehr ins Gewicht fallen. Bei den mit Carbachol behandelten Neuronen traten prinzipiell die gleichen Änderungen in Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche auf, wie bei iontophoretischer ACh Applikation.

### **6.5 Betrachtung der ACh und Carbachol Effekte in Abhängigkeit von der kortikalen Schicht**

Sugimoto et al. (1997) konnten im auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus feststellen, dass CF und MT sich nicht, die Abstimmsschärfe der Frequenz-Antwortbereiche jedoch schichtspezifisch (insbesondere in den Schichten III und IV) änderten. Zudem wird von einer schichtspezifischen Ausprägung inhibitorischer Einflüsse auf Frequenz-Antwortbereiche berichtet (Foeller et al. 2001). Foeller (2001) beobachtete vor allem in den Schichten V und VI einen massiven inhibitorischen Einfluss, der sich auf die Bandbreite der Frequenz-Antwortbereiche auswirkte. Chen und Jen (2000) dagegen konnten keinen schichtspezifischen Einfluss der Inhibition auf Neurone im auditorischen Kortex der Fledermaus (*Eptesicus fuscus*) feststellen. Für die vorliegenden Messergebnisse dieser Studie konnten ebenfalls keine Zusammenhänge zwischen kortikaler Schicht und einer Änderung der Form und oder Größe der Frequenz-Antwortbereiche unter dem Einfluss von ACh bzw. Carbachol gefunden werden. Daraus kann man schließen, dass cholinerge Eingänge und intrakortikale Verbindungen sich gleichmäßig über alle Schichten zu verteilen scheinen. Dies deckt sich auch mit den histologischen Befunden aus anderen Nagetieren, die eine, in unterschiedlichem Maße ausgeprägte, cholinerge Innervierung aller kortikalen Schichten zeigte (Ratte: Lysakowski et al. 1989, Meerschweinchen: Shulz et al. 1997). Für die Wüstenrennmaus sind bisher keine verlässlichen Daten zur cholinergen Innervation des auditorischen Kortex publiziert. Jedoch zeigt sich auf histologischen Schnitten keine schichtspezifische Färbung von cholinergen Terminalien (eigene Beobachtung und persönliche Kommunikation Dr. J. Neddens, (früher)Universität Bielefeld).

### **6.6 Einfluss des ACh Antagonisten Atropin auf die Spontanrate und die Eigenschaften der Frequenz-Antwortbereiche**

Neben ACh und Carbachol kam auch der Antagonist Atropin zum Einsatz. Atropin diente vor allem dazu, cholinerge Effekte zu blockieren. Tatsächlich konnten durch ACh induzierte Änderungen mit Atropin sofort wieder rückgängig gemacht werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Shulz et al. (1997), der ebenfalls ACh Effekte mit Atropin blockierte. Dabei reichten geringe Konzentrationen an Atropin aus.

Zudem wurde Atropin auch ohne vorherige ACh Applikation eingesetzt. Es zeigten sich, ebenso wie bei der ACh Applikation, Änderungen in der Spontanrate und Veränderungen in Form und Größe der Frequenz-Antwortbereiche.

### **6.6.1 Einfluss von Atropin auf die spontane neuronale Aktivität**

Im Gegensatz zu ACh zeigten sich bei Gabe von Atropin die Änderungen der Spontanrate vor allem als Abnahme der neuronalen Aktivität. Da unter ACh Einfluss die Spontanrate im Mittel anstieg, war für den Antagonisten Atropin ein gegenteiliger Effekt zu erwarten gewesen. Insofern passen die gemessenen Werte gut zu den erwarteten Spontanraten während der Atropin Applikation. Eine Abnahme der Spontanrate konnten Habbicht und Vater (1996) im IC der Fledermaus bei einer Mehrheit der Neurone (62%) ebenfalls beobachten, so dass es sich hier nicht nur um eine artspezifische kortikale Besonderheit handelt.

### **6.6.2 Einfluss von Atropin auf die Größe und Form der Frequenz-Antwortbereiche**

Unter der Gabe von Atropin wurden vor allem Verkleinerungen und Vergrößerungen der Frequenz-Antwortbereiche und deutlich weniger komplexe Änderungen ermittelt. Erstaunlicherweise kommen die beiden zuerst genannten Effekte ausgewogen vor. Man hätte bei einem Antagonisten von einer Tendenz zu Flächenverkleinerungen ausgehen können, wenn man bedenkt, dass ACh in der Tendenz eher zu einer Vergrößerung der Frequenz-Antwortbereiche führte. Jedoch sind die Änderungen unter dem Einfluss von ACh uneinheitlich und der Trend zu größeren Frequenz-Antwortbereichen ist nicht statistisch signifikant. Insofern passen die Ergebnisse unter dem Einfluss von Atropin ins Bild.

Atropin gilt als muskarinischer Antagonist. Nachdem die unter Atropin Applikation beobachteten Effekte das Gegenteil der unter ACh Applikation ermittelten Effekte zeigen, läßt dies den Schluss zu, dass die hier vorgestellten Effekte von ACh auf kortikale Neuronen, hauptsächlich auf muskarinischer, rezeptorvermittelter neuronaler Aktivität beruhen. Die unterschiedlichen Anteile von komplexen Änderungen unter ACh und Atropin Einfluss deuten jedoch auch darauf hin, dass die Effekte nicht ausschließlich auf lokaler muskarinischer rezeptorvermittelter Aktivität basieren, sondern durchaus nikotinische Anteile denkbar sind.

## **7 Diskussion der Ergebnisse der Versuche mit repetitiven Reizen**

### **7.1 Effekte der Reintonstimulation**

Die ermittelten Dimensionen der Frequenz-Antwortbereiche nach Reintonstimulation in der vorliegenden Untersuchung stimmen mit denen aus älteren Arbeiten zum primären auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus (Foeller 2001, Marsch 2003, Schulze und Langner 1997) in weiten Teilen überein, so dass man davon ausgehen kann, dass es sich um eine repräsentative Stichprobe kortikaler Neurone handelt.

#### **7.1.1 Ratenintensitätskennlinien**

Die Ratenintensitätskennlinien im primären auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus weisen nur für ein gutes Drittel der Frequenz-Antwortbereiche einen monotonen Kurvenverlauf auf. Eine ungleiche Verteilung von monotonen und nicht-monotonen Raten-Intensitätskennlinien ist auch für den primären auditorischen Kortex der Katze beschrieben, wo nur rund ein Fünftel der Frequenz-Antwortbereiche einen monotonen Kurvenverlauf zeigen (Phillips und Hall 1987). Dabei sind monotone und nicht-monotone Eigenschaften bei Raten-Intensitätskennlinien zumindest im Kortex der Katze nicht gleichmäßig verteilt. Vielmehr weisen sie ein Verteilungsmuster auf. So sind sie von der Mitte in dorso - ventraler Richtung ausgehend, in abwechselnder Reihenfolge zu den Rändern hin angeordnet (Ehret 1997). Es zeigt sich ein Verteilungsmuster von Neuronen mit monotonen und nicht-monotonen Ratenintensitätskennlinien wie eine Art Bänderung. Bei der vorliegenden Untersuchung war allerdings keine systematische Kartierung der zuletzt genannten Eigenschaften intendiert, und so liegen pro Messreihe nicht genügend einzelne stereotaktische Daten vor, um die topographische Anordnung von monotonen und nicht-monotonen Raten-Intensitätskennlinien im primären auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus zu überprüfen.

## **7.2 Einfluss der Wiederholrate auf die Antwortcharakteristik für die drei Typen repetitiver Reize**

### **7.2.1 Neuronale Antwort auf die drei Reiztypen: SAM, repetitive Ton- und Rauschpulse**

Beim Vergleich der PSTHs der neuronalen Aktivität während der Stimulation mit den drei repetitiven Reiztypen fielen einige Unterschiede ins Auge (siehe auch Abschnitt 5.3.1). Ein Unterschied zwischen der ersten On-Antwort und den restlichen Häufungen neuronaler Aktivität, als Antwort auf einen bestimmten Teil des Modulationszyklus des Reizes, ist nur bei SAM Reizen deutlich vorhanden. Offensichtlich spielt bei SAM Reizen die On-Antwort eine wichtige Rolle, so dass die On-Antwort auch nicht durch die mehrfache Wiederholung des Reizes herausgemittelt wird. Dies könnte mit der vergleichsweise geringeren Flankensteilheit des SAM Reizes im Gegensatz zu repetitiven Ton- und Rauschpulsen und außerdem mit dem geringeren überschwelligen Interstimulusintervall für SAM Reize, insbesondere bei langsamen Repetitionsraten zusammenhängen (für mehr Informationen sei auch auf Absatz 7.4 verwiesen). Diese beiden genannten Parameter dürften auch erklären, warum die Gipfel im PSTH für die Stimulation mit SAM Reizen weniger deutlich abgesetzt sind, als für die beiden anderen repetitiven Reize.

Bei der Stimulation mit repetitiven Ton- und Rauschpulsen kann eine Pause in der neuronalen Aktivität nach dem ersten Teilreiz dagegen nicht entdeckt werden. Eventuell ist hier die Adaptation so stark, dass bei mehreren Wiederholungen keine ausgesprochene On-Antwort im PSTH abgebildet werden kann, weil die Adaptation über die Reizpause hinweg erhalten bleibt und das Neuron nicht wieder komplett in seinen Ausgangszustand zurückkehrt. Yang und Pollak (1997) beschreiben diese Möglichkeit für schnelle Repetitionsraten.

Auch die bei Rauschpulsen insgesamt deutlich geringere neuronale Aktivitätsrate, sichtbar in der Höhe der Gipfel im PSTH, dürfte das Ergebnis von Inhibition sein. Die Rauschpulse umfassen ein breites Frequenzspektrum, das neben dem exzitatorischen Bereich eines Frequenz-Antwortbereichs des Neurons auch dessen inhibitorische laterale Seitenbänder beinhaltet. Solche inhibitorischen Seitenbänder wurden besonders gut mit Methoden der Zwei-Ton-Maskierung untersucht.

Auffällig ist die höhere neuronale Aktivitätsrate für repetitive Tonpulse im Vergleich zu SAM Reizen. Dies lässt sich damit erklären, dass bei den repetitiven Tonpulsen die Anstiegsflanke des Reizes deutlich steiler als bei SAM Reizen ist. Auch ergibt sich für die SAM Reize ein etwas breiteres Frequenzspektrum im Vergleich zu repetitiven Tonpulsen. Der etwas breitbandigere Stimulus führt zu einer erhöhten neuronalen Aktivitätsrate und streift dabei zu einem geringen Prozentsatz auch mögliche laterale inhibitorische Seitenbänder, so dass dies

insgesamt zu einer erniedrigten neuronalen Aktivitätsrate nach der On-Antwort führt. Ähnliches hat Eggermont (1994) im Katzenkortex beobachtet. So beschreibt er, dass Klicks im Kortex etwa doppelt so viele Aktionspotentiale auslösen, wie SAM Reize. Auch postuliert der gleiche Autor in einer späteren Publikation, dass die neuronale Aktivitätsrate auf einen repetitiven Reiz zwar unabhängig von der CF bzw. der Bandbreite eines Frequenz-Antwortbereichs erfolgt, jedoch durchaus der Frequenzgehalt bei subkortikalen Verarbeitungsprozessen einen Einfluss ausübt (Eggermont 2001). Letzteres würde die hier beobachteten Unterschiede in den Aktivitätsraten bei verschiedenen Reizen mit erklären können.

Allerdings weisen die Ergebnisse eines Vergleichs von SAM Reizen mit einem Ton als Trägerfrequenz im Vergleich zu SAM Reizen mit einem Rauschen als Trägerfrequenz(en) eine deutlich stärkere Aktivität für den zuletzt genannten Reiz auf (Eggermont 2002). Dies steht im Gegensatz zu den oben genannten Überlegungen. Es deutet jedoch darauf hin, dass neben dem Frequenzgehalt andere Parameter wichtig sein könnten. Die Steilheit der An- und Abstiegsflanke eines Reizes, wie oben erwähnt, führen zu Veränderungen im zeitlichen Bereich. Je steiler die Anstiegsflanke, desto stärker ist die Änderung des Frequenzgehaltes im gleichen Zeitraum. Neurone reagieren ganz besonders sensitiv auf plötzliche oder große Veränderungen. Insofern dürfte eine steilere Anstiegsflanke eines Reizes sehr viel stärker stimulieren und zu einer erhöhten neuronalen Aktivität führen. Die zeitliche Dimension von Reizen und deren neuronaler Verarbeitung ist auch bei der Betrachtung der auf einen Reiz synchronisierten neuronalen Aktivität im nächsten Absatz von großer Bedeutung.

### **7.2.2 Zeitliche Synchronisation der neuronalen Aktivitätsrate und allgemeine Aktivitätsrate bei unterschiedlichen Wiederholraten des Reizes**

Zunächst kann man allgemein anhand der eigenen Ergebnisse feststellen, dass die Stärke der zeitlichen Synchronisation der neuronalen Aktivitätsrate von der Wiederholrate abhängig ist. Die zeitliche Synchronisation sinkt dabei mit steigender Wiederholrfrequenz drastisch ab. Nur in einem Bruchteil der gemessenen Neurone (im Mittel 5,8%) findet sich eine andere Verteilung, die mit einem BP beschrieben werden kann. Der hohe Anteil an Neuronen, die einen TP mit steigender Wiederholrfrequenz aufweisen, entspricht Ergebnissen aus dem auditorischen Kortex der Katze (Eggermont 2001), der Ratte (Kilgard und Merzenich 1999) und des Gerbil (Dolphin et al. 1994). Die Ergebnisse weichen jedoch von den Befunden von Schreiner und Raggio (1996), ebenfalls in der Katze, mit einem Anteil von 41% BP mit

steigender Wiederholffrequenz der Neuronen und von Befunden im auditorischen Kortex der Ratte mit fast ausschließlicher BP Charakteristik (Gaese und Ostwald 1995) ab. Kilgard und Merzenich (1999) vermuten als Gründe dafür entweder unterschiedliche Anstiegsflanken der modulierten Reize oder eine veränderte Datenanalyse. Beides könnte auch für die vorliegenden Ergebnisse dieser Untersuchung zutreffen. So wurden die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit z. T. deutlich kürzeren und steileren Anstiegsflanken der Reize ermittelt, als z.B. bei Gaese und Ostwald (1995). Die Beschaffenheit der Anstiegsflanken der Reize wurde auch schon im Bezug auf die absolute neuronale Antwort diskutiert (siehe auch Abschnitt 7.2.1).

Die allgemeine Aktivitätsrate, im Sinne der Anzahl der Aktionspotentiale als neuronale Reaktion auf einen Reiz, verändert sich mit steigender Wiederholrate der repetitiven Schallreize nicht merklich (siehe Abschnitt 5.3.3). Diese eigenen Ergebnisse decken sich in Teilen mit Ergebnissen im auditorischen Kortex der Ratte, wo für SAM Reize mit steigender Wiederholrate in 60% der Neurone keine Veränderung der allgemeinen Aktivitätsrate ermittelt werden konnte, während sich bei 10% der Neurone eine Verringerung mit steigender Wiederholrate und bei 30% der Neurone eine BP Charakteristik bei einer bestimmten Wiederholrate zeigten (Gaese und Ostwald 1995). Dagegen fanden Phillips et al. (1989) in der Katze ausschließlich Neurone mit einer TP Charakteristik im Hinblick auf die allgemeine Aktivitätsrate. Die dargestellten Ergebnisse unterscheiden sich offenbar auch von Ergebnissen aus dem IC, wo neben BP auch eine Bandsuppressionscharakteristik gefunden werden konnte. Diese wird damit erklärt, dass auf die Detektion gleichzeitig auftretender Signale und eine daran gekoppelte höhere allgemeine Aktivitätsrate eine Suppression der allgemeinen Aktivitätsrate aufgrund von inhibitorischen Einflüssen folgt. Die inhibitorischen Einflüsse stammen dabei sowohl aus dem IC selbst, als auch aus dem lateralen Lemniscus (Krishna und Semple 2000).

Inwieweit die allgemeine Aktivitätsrate modulierte akustische Reize kodiert, ist nach wie vor unklar und umstritten (für einen guten Überblick über die Kodierungsthematik siehe auch Eggermont 2001). So finden sich Hinweise, dass repetitive Reize in Schwankungen bzw. systematischen Veränderungen der allgemeinen Aktivitätsrate kodiert sind (Phillips et al. 1989). Eine Abhängigkeit der neuronalen Antwort für höhere Amplitudenmodulationen (AM) von der allgemeinen Aktivitätsrate wird auch für wache Totenkopffäffchen berichtet (Bieser und Müller - Preuss 1996). Dagegen zeigen Gaese und Ostwald (1995), dass

systematische Änderungen gerade nicht in der mittleren neuronalen Aktivitätsrate adäquat repräsentiert werden, sondern die Information anhand synchronisierter neuronaler Antworten auf einen Reiz kodiert wird. Rhode und Greenberg (1994) stellen darüber hinaus fest, dass die Kodierung zeitlicher Reizveränderungen nicht nur auf einer einfachen mittleren Ratenrepräsentation basieren sollte, da zeitliche Strukturen auch bei störenden Hintergrundgeräuschen kodiert werden können und zeitliche Summation als Phänomen möglich ist. Zudem dürfte die neuronale Aktivitätsrate bei Reizung mit einzelnen Reintönen und modulierten Reizen annähernd ähnlich sein, so dass bereits bei der einfachen Unterscheidung der beiden Reiztypen zeitliche Aspekte eine Rolle spielen müssen. Auch Eggermont sieht die Kodierung mehr in der zeitlichen Synchronisation von Aktionspotentialen angesiedelt, als durch Änderungen in der allgemeinen Aktivitätsrate (Eggermont 1991, 1994, 2001).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit geringen Schwankungen in der allgemeinen Aktivitätsrate legen eine Kodierung im zeitlichen Bereich nahe, d.h. in einer zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivität und nicht in der allgemeinen neuronalen Aktivitätsrate. Insofern unterstützen diese Ergebnisse die Überlegungen von Eggermont (2001), Rhode und Greenberg (1994) bzw. Gaese und Ostwald (1995).

Interessant dürfte auch der Vorschlag von Schulze und Langner (1997) sein, die zwei verschiedene Kodierungsarten für AM Reize im auditorischen Kortex postulieren. Schulze und Langner (1997) beschäftigen sich in ihrer Untersuchung mit Möglichkeiten der Kodierung hochfrequenter AM. Sie interpretieren ihre gewonnenen Messdaten an Wüstenrennmäusen zu AM außerhalb eines neuronalen, rezeptiven Feldes nach Reintonstimulation, in der Weise, dass sie diesen Neuronen die Verarbeitung der Information von Tonhöhe bzw. Klangfarbe zuordnen und von einer systematischen Anordnung der Repräsentationen der Tonhöhe im Kortex ausgehen. Sie bezeichnen diese systematische Anordnung in Analogie zur Tonotopie als Periodotopie. Nach ihren Vorschlägen könnte die Wahrnehmung von Rhythmus und Tonhöhe bzw. Klangfarbe unterschiedlich neuronal kodiert sein. Dabei wird der Eindruck von Rhythmus eher bei langsamer AM erreicht und die Wahrnehmung von Tonhöhe bzw. Klangfarbe schneller AM zugeordnet. Während erstere in der zeitlich, synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate kodiert sein könnte, wäre letztere Wahrnehmung eher in einer auf eine topographische Anordnung abgestimmten allgemeinen Aktivitätsrate kodiert. Dafür sprechen auch die bereits erwähnten Ergebnisse von Bieser und Müller - Preuss (1996). Sie konnten bei sehr langsamen Wiederholraten für AM eine zeitlich

synchronisierte neuronale Antwort messen. Diese musste allerdings bei höheren Wiederholraten einer Kodierung mittels der allgemeinen Aktivitätsrate weichen. Befunde an wachen Seidenäffchen ergeben ebenfalls eine unterschiedliche Kodierung in Abhängigkeit von der Wiederholfrequenz des repetitiven Schallereignisses (Wang 2007). Dabei wird für langsame repetitive Reize eine Kodierung über synchronisierte neuronale Antworten auf einen Reiz festgestellt und für schnelle repetitive Reize mit einer Wiederholfrequenz über 100 Hz dagegen eine Kodierung mittels der mittleren neuronalen Aktivität postuliert (Liang et al. 2002, Lu et al. 2001, Wang 2007).

Neue Ergebnisse zur neuronalen Verarbeitung otoakustischer Emissionen zeigen allerdings, dass eine erhöhte neuronale Aktivitätsrate auch einfach durch die Wirkung von otoakustischen Emissionen zu erklären ist (Abel und Kössl 2006). Insofern bleiben Zweifel bestehen, ob die allgemeine neuronale Aktivitätsrate tatsächlich modulierte akustische Reize kodieren kann und die Idee, dass zwei verschiedene Arten der Kodierung bei AM Reizen eine Rolle spielen könnten, wäre anzuzweifeln, wenn nicht gar zu verwerfen.

### **7.2.3 Verteilung der BMFs**

In der vorliegenden Untersuchung konnte ein gutes neuronales Folgeverhalten auf repetitive Schallreize im primären auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus bis zu Wiederholraten von 15 – 30 Hz gefunden werden. Darüber hinaus, d.h. bei höheren Wiederholraten, war eine gute zeitlich synchronisierte, neuronale Antwort nicht mehr nachweisbar. Dieser Befund stimmt prinzipiell mit dem von Schulze und Langner (1997) vorgeschlagenen Kodierungsmodell für die Wahrnehmung von Rhythmus überein.

Im Mittel konnten BMFs von 7 Hz für SAM Reize bzw. 10 Hz für repetitive Ton- und Rauschpulse für die Neuronen ohne pharmakologische Manipulation, und BMFs von im Mittel 5 Hz für die Neuronen der Experimente zur GABA<sub>a</sub>-vermittelten Inhibition gemessen werden. Höhere Wiederholraten der repetitiven, modulierten Reize führten zu keiner guten zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate. Auch bei Gaese und Ostwald (1995) wiesen über die Hälfte (55%) aller Neurone eine gute zeitlich synchronisierte neuronale Aktivitätsrate (Phasen-Kopplung) nur bis zu Wiederholraten der AM von 18 Hz auf. Andere Autoren berichten ebenfalls von zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsraten unter 100 Hz für den auditorischen Kortex (Ratte: SAM Reize bis 20 Hz (Rees und Møller 1983), Katze: Klicks 50-100 Hz (Schreiner und Raggio 1996), Meerschweinchen: rechteckige AM bis 20 Hz (Creutzfeld et al. 1980)). Die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Ergebnisse bewegen sich also im Rahmen der in der Literatur publizierten Werte.

Bisher wurden nur die Ergebnisse aus dem primären auditorischen Kortex verschiedener Tierarten miteinander verglichen. Schaut man sich das neuronale Folgeverhalten auf repetitive Reize in den auditorischen Kernen der aufsteigenden Hörbahn an, so kann man von der Peripherie zum Kortex eine kontinuierliche Reduzierung der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate auf repetitive Schallereignisse feststellen. (Langner 1992 und Frisina 2001). Für dieses Phänomen werden in der Literatur mögliche inhibitorische Einflüsse genannt. Inwieweit diese inhibitorischen Einflüsse auch im auditorischen Kortex wirksam sein könnten, wird an anderer Stelle (siehe auch Abschnitt 7.3 und 7.5) thematisiert. Eggermont (1991) geht bei der Katze davon aus, dass die intrinsischen Eigenschaften der Neurone des auditorischen Kortex für die reduzierten BMFs verantwortlich sind. Inwieweit dies zutrifft, muss noch näher geklärt werden. Fest steht, dass es sich um komplexe Wechselwirkungen und um mehr als einen potentiellen Mechanismus handelt, wie die Ergebnisse aus den Messungen mit dem GABA<sub>a</sub>- Antagonisten BIC zeigen (siehe Abschnitt 7.3).

Vergleicht man nun die BMFs der vorliegenden Arbeit für die einzelnen Schallreize miteinander, stellt man fest, dass im Fall der Experimente ohne pharmakologische Manipulation keine signifikanten Unterschiede zwischen der neuronalen Aktivität nach Stimulation mit SAM Reizen und repetitiven Rauschpulsen bestehen, wohl aber zwischen SAM Reizen und repetitiven Tonpulsen. Die BMFs für alle drei Reiztypen während GABA<sub>a</sub>- Blockade unterscheiden sich überhaupt nicht signifikant von einander. Dies ist erstaunlich, ließen doch die Beobachtungen während der Messungen zunächst einen Unterschied der neuronalen Aktivität nach Stimulation mit SAM Reizen im Vergleich zu Ton- als auch Rauschpulsen, erwarten. Eine Erklärung könnte die große Streuung der BMFs sein, die sich in diesem Fall auf die Signifikanz auswirkt.

Offensichtlich spielt aber der Frequenzgehalt des Reizes für die Kodierung der zeitlichen Struktur keine Rolle. Wie anders wäre sonst zu erklären, dass die neuronale Aktivität bei der Stimulation mit SAM Reizen und repetitiven Rauschpulsen annähernd gleich bleibt! Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen im auditorischen Kortex der Katze, wo ein Einfluss des Frequenzgehaltes auf die BMFs bzw. die zeitlich synchronisierte neuronale Antwortaktivität in Abhängigkeit von der Wiederholrate gefunden werden konnte (Eggermont 2001). Eggermont (2002) kommt in seiner vergleichenden Studie mit den folgenden sechs Reiztypen: 1) Gammamodulierte Töne- Tonpulse mit einer asymmetrischen Umhüllenden, 2) umgekehrte

gammamodulierte Töne, 3) periodische Klicks, 4) AM Rausch- und 5) AM Tonpulse sowie 6) frequenzmodulierte Reize zu dem Schluss, dass der unterschiedliche Frequenzgehalt die Stärke und den Grad der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate direkt beeinflusst. Allerdings handelt sich dabei nur um Tendenzen, die, außer für die periodischen Klicks, nicht signifikant sind. Insofern sollten diese Trends aus der Studie von Eggermont (2002) nicht überbewertet werden.

In der Tendenz ist bei den vorliegenden Ergebnissen der Experimente ohne pharmakologische Manipulation die mittlere BMF bei SAM Reizen etwas geringer als die mittlere BMF bei repetitiven Reizen. Dies deutet auf einen Effekt der unterschiedlichen Flankensteilheit der verwendeten Reize hin. Solche Zusammenhänge wären durchaus denkbar und werden auch für kortikale Neurone der Katze berichtet (Eggermont 2002). Würde es sich allerdings in diesem Fall um einen Effekt in Abhängigkeit von der Flankensteilheit des Reizes handeln, dann müsste man für schnellere SAM Reize, die eine steilere Flanke aufweisen als langsame SAM Reize, eine bessere zeitlich synchronisierte neuronale Aktivitätsrate finden. Man würde erwarten, dass ähnliche BMFs für SAM Reize mit einer schnellen Wiederholrate und für Tonpulse im jeweiligen Neuron auftreten.

Dies scheint aber nicht der Fall zu sein, wenn man die BMFs bei SAM Reizen mit hohen Wiederholraten und Tonpulsen des jeweils gleichen Neurons (siehe auch Abschnitt 5.3.3) vergleicht. Die Ergebnisse zeigen, dass die BMFs für Tonpulse im Vergleich zu SAM Reizen gerade bei den höheren Wiederholraten streuen, bei langsameren Wiederholraten dagegen in weiten Teilen übereinstimmen! Wertet man diese Befunde nicht als ein Artefakt auf Grund zu geringer Stichprobengröße, dann fällt auch die Flankensteilheit als einfacher Erklärungsgrund für die gemessenen Unterschiede weg. Offensichtlich sind die kleinen Unterschiede zwischen den Antworten auf die drei Reiztypen in der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate und den BMFs nicht nur auf einen einfachen zugrunde liegenden Mechanismus zurückzuführen. Vielmehr scheinen dabei mehrere Faktoren gleichzeitig miteinander zu interagieren. Ein Vergleich zwischen BMFs bei repetitiven Rauschpulsen und SAM Rauschen könnte möglicherweise eine vorhandene Abhängigkeit von der spektralen Zusammensetzung des Reizes, wie sie Eggermont (2002) berichtet, nachweisen.

### **7.3 Der Einfluss GABAerger Inhibition auf die neuronale Antwort auf repetitive Reize**

#### **7.3.1 Änderungen der neuronalen Aktivitätsrate**

Allgemein kann man feststellen, dass die neuronale Aktivitätsrate in der vorliegenden Arbeit während der Applikation von BIC, einem GABA<sub>a</sub>-Antagonisten, deutlich zunimmt. Ein Blick in die Literatur bestätigt diese Beobachtung (Caspary et al. 2002, Chen und Jen 2000, Foeller et al. 2001, Jen und Feng 1999, Kurt et al. 2006, Lu et al. 1998, Park und Pollak 1993, Pollak und Park 1993, Schulze und Langner 1999, Vater et al. 1992).

Allerdings finden sich auch einige Neurone, bei denen keine Veränderung oder eine Abnahme der neuronalen Aktivität gemessen werden kann. Im Mittel nimmt die neuronale Aktivitätsrate bei der reizinduzierten Antwort in der vorliegenden Studie um rund ein Drittel von 19,02 auf 27,14 Aktionspotentiale pro Sekunde zu, während die Spontanrate nur geringfügig anwächst. Die geringe Neuronenanzahl gibt eventuell eine verzerrte Wirklichkeit kortikaler, neuronaler Sensitivität auf BIC wieder und die Stichprobengröße muss dementsprechend kritisch betrachtet werden. Auch Schulze und Langner (1999) messen im Mittel eine Erhöhung der Spontanrate, allerdings ergibt sich bei einer differenzierten Betrachtung, dass bei ihnen einige kortikale Neurone keine oder sogar eine Verringerung der Spontanrate aufweisen. Dies stimmt mit den Befunden der vorliegenden Untersuchung gut überein. Auch Foeller et al. (2001) berichtet von einer Erhöhung der Aktivitätsrate in nur 82% der Neurone.

In der Studie von Kurt et al. (2006) am auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus zeigt sich eine deutlich stärkere absolute, sowie auch prozentuale Erhöhung der neuronalen Aktivitätsrate. So liegt die reizinduzierte neuronale Aktivität bei 56,8 Aktionspotentialen pro Sekunde und erhöht sich auf mehr als das Doppelte auf 138,6 Aktionspotentiale pro Sekunde unter dem Einfluß von BIC. Es kann davon ausgegangen werden, dass die höheren Absolutwerte zum einen durch eine deutliche höhere Dosis (stärkere Applikationsströme) und zum anderen methodisch-technisch bedingt sein dürften. So ist der etwas größere Spitzendurchmesser der Mehrkanal-Piggyback Elektrode von Kurt et al. (2006) im Vergleich zu den in dieser Untersuchung benutzten Elektroden sicher nicht nur ein technisch zu vernachlässigendes Detail, sondern könnte zu erhöhten Leckströmen führen, die mit größeren Rückhalteströmen kompensiert werden müssen. Auch dürfte eine gute Einzelzell-Messung technisch nur sehr schwierig mit großen Elektroden möglich sein. Dementsprechend werden im gemessenen Rohsignal deutlich häufiger und mehr Aktionspotentiale verschiedener

Neurone enthalten sein, die in die Analyse der neuronalen Aktivitätsrate mit eingegangen sind.

Ein Einfluß von BIC auf die zeitlich synchronisierte neuronale Aktivitätsrate konnte in der vorliegenden Studie nicht festgestellt werden. Die zusätzlichen Aktionspotentiale pro Zeiteinheit sind also nicht wahllos in der zeitlichen Dimension verteilt, sondern auf den Reiz synchronisiert! Ähnliches berichten Lu et al. (1998) für repetitive Tonpulse und Caspary et al. (2002) für SAM Reize.

Die allgemeine Filtercharakteristik der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate mit steigender Wiederholrate wird in der vorliegenden Studie in ihrer grundsätzlichen Form durch die Gabe von BIC nicht verändert. Zeigt ein Neuron eine BP Charakteristik bleibt diese auch unter der BIC Applikation erhalten und wandelt sich nicht z.B. in eine TP Charakteristik um. Für Neurone im IC des Chinchilla bzw. der Fledermaus wurde bereits in der Literatur beschrieben, dass der überwiegende Teil der Neuronen ebenfalls keine Änderungen in der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate aufweist (Caspary et al. 2002, Lu et al. 1998). Dies ist umso erstaunlicher, als gerade für Bandpasscharakteristiken in der älteren Literatur inhibitorische Mechanismen vermutet wurden (für einen Überblick: Frisina 2001). Ergebnisse aus dem Mittelhirn und Hirnstamm mit veränderten Schalldruckpegeln bei modulierten Reizen (Rees und Møller 1983, Frisina 1990b) deuten auf Veränderungen der Monotonizität bei Gabe von BIC hin. Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass die Filtercharakteristik bereits im Thalamus, Mittelhirn oder sogar im Hirnstamm verarbeitet und demzufolge festgelegt wird, so dass kortikale Inhibitionsmechanismen daran nicht mehr effizient angreifen können. Dagegen spricht allerdings, dass die kodierten Modulationsraten in subkortikalen Nuclei insgesamt deutlich höher liegen und langsame Modulationsraten insbesondere im Kortex gute neuronale Antworten induzieren.

Schwankungen der BMFs bei allen drei Reiztypen (wie in Abschnitt 5.4.2 dargestellt) sind in der vorliegenden Studie zwar existent, aber unabhängig von der BIC – induzierten Änderung der allgemeinen neuronalen Aktivitätsrate (siehe Abschnitt 5.4.1). Die Schwankungen bewegen sich vielmehr in der gleichen Größenordnung wie bei den Daten ohne pharmakologische Manipulation. Dies stimmt auch mit Ergebnissen von Schulze und Langner (1999) überein, die nur sehr geringe Veränderungen der BMFs unter der Gabe von BIC messen. Im Gegensatz dazu berichten Kurt et al. (2006) von einer deutlichen

Reduzierung der zeitlich synchronisierten neuronalen Aktivitätsrate unter dem Einfluß von BIC. Die Autoren der letzten Studie argumentieren damit, dass sich allgemein die neuronale Aktivitätsrate erhöht und dadurch die spezifische, zeitliche Synchronisation der neuronalen Aktivitätsrate auf AM Reize sinkt. Die Diskrepanz zwischen der Studie von Kurt et al. (2006) und den vorliegenden Ergebnissen dieser Untersuchung könnte auch wieder methodisch bedingt sein. So berichten Kurt et al. (2006) in ihrer Diskussion sogar selbst, dass eine kurze BIC- Applikation mit geringen Applikationsströmen keinen Einfluß auf die zeitlich synchronisierte neuronale Aktivitätsrate hat, obwohl sich die allgemeine neuronale Aktivitätsrate erhöht. Offensichtlich trifft dieser Umstand auf die vorliegende Studie zu, während bei Kurt et al. (2006) die BIC Effekte wegen hoher Dosierung und langer Applikation anders ausfallen.

### **7.3.2 GABAerger Einfluss auf die neuronalen Antworten für repetitive Reize**

Betrachtet man die Änderung der neuronalen Aktivitätsrate nach Aufhebung GABA<sub>a</sub>erger Inhibition mit BIC für die drei Reiztypen und vergleicht sie miteinander, so kann in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die von BIC aufgehobene Inhibition ändert also nur die allgemeine neuronale Aktivitätsrate, spielt demnach aber keine Rolle bei der neuronalen, kortikalen Repräsentation der drei repetitiven Reize. Sie moduliert allenfalls deren Ausprägung. Auch dies muss unter Vorbehalt formuliert werden, wenn man die negativen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit einbezieht. Dies ist erstaunlich, da SAM Reize und die beiden anderen repetitiven Reiztypen sich im Hinblick auf ihre zeitliche Struktur und den Frequenzgehalt wesentlich unterscheiden. So wäre zu erwarten gewesen, dass eine zeitlich etwas verzögert auftretende Inhibition unterschiedliche Auswirkungen hat. Die negativen Ergebnisse zeigen jedoch, dass der kortikale inhibitorische Einfluss auf die neuronale Repräsentation von repetitiven Reize als gering bzw. nicht existent betrachtet werden muss. Dies schließt jedoch subkortikale inhibitorische Einflüsse nicht aus.

Zusammenfassend lassen die vorhandenen Ergebnisse der vorliegenden Studie zwar eine deutliche Veränderung der neuronalen Aktivitätsrate erkennen. Diese hat jedoch weder einen Effekt auf die Synchronizität, noch auf die Repräsentation der Reiztypen. Eine einfache Inhibition im auditorischen Kortex fällt damit als Erklärung für die beobachteten und gemessenen neuronalen Aktivitätsmuster aus.

## **7.4 Effekte der Variation des Schalldruckpegels**

Bisher ist es allgemein noch nicht gelungen, eine plausible Beschreibung und Erklärung für die Kodierung von unterschiedlichen Schalldruckpegeln im auditorischen System zu finden. Noch immer bleibt die Frage nach den neuronalen Korrelaten von Lautstärkewahrnehmung ungelöst. Die nachfolgende Diskussion der Ergebnisse mit variierenden Schalldruckpegeln kann die Frage zwar nicht generell beantworten, gibt aber doch vielleicht den einen oder anderen Denkanstoß in diese Richtung.

### **7.4.1 Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel**

Die Experimente mit variierendem Schalldruckpegel haben - zunächst grob betrachtet - zwei interessante Befunde im Hinblick auf die reizsynchronisierte neuronale Aktivität erbracht: Zum einen zeigt sich ein unterschiedliches Verhalten neuronaler synchronisierter Aktivität mit höheren Schalldruckpegeln bei verschiedenen Neuronenpopulationen, und zum anderen bestehen erstaunlicherweise offensichtliche Unterschiede zwischen SAM Reizung und repetitiver Tonpulsreizung innerhalb eines Neurons, die erst bei höheren Schalldruckpegeln zu Tage treten. Im Folgenden soll zunächst der erstgenannte Befund näher beleuchtet und später dann auf den zweiten Befund eingegangen werden.

Wie bereits beschrieben, verändert sich die Synchronisation mit höheren Schalldruckpegeln in spezifischer Weise (siehe Abschnitt 5.5.1). So finden sich bei hohen Schalldruckpegeln zum einen Neurone, bei denen die Synchronisation kontinuierlich ansteigt (monotoner Kurvenverlauf), und zum anderen zu einem geringeren Prozentsatz Neurone, bei denen die Synchronisation nach einem besten Schalldruckpegel wieder in ihrer Stärke abfällt (nicht-monotoner Kurvenverlauf).

Interessanterweise wurde dieser Zusammenhang in der Literatur bisher kaum untersucht. Eggermont (1989) berichtet, dass die Stärke der Synchronisation auf einen Reiz beim Leopardfrosch unabhängig vom Schalldruckpegel und ausschließlich an den Reiz gekoppelt ist. Auch die Synchronisation auf Klick- und SAM Reize in der Katze ist laut Eggermont (2001) ebenfalls unabhängig von den genutzten Schalldruckpegeln.

Sieht man in der präzisen zeitlichen Kopplung einer neuronalen Antwort auf einen Reiz, die hauptsächliche Möglichkeit, ein zeitliches Muster innerhalb eines komplexen Reizes zu kodieren, dann erscheint es durchaus logisch, dass ein veränderter Schalldruckpegel keinen Einfluss auf die Kodierung hat. In der realen Umwelt können komplexe akustische Reize, die in vielen Fällen auch Modulationen der Amplitude enthalten, in sehr unterschiedlichen Schallintensitäten auftreten. So hat z.B. der räumliche Abstand von einer Schallquelle einen

wesentlichen Einfluß auf die Schallintensität. Trotzdem müssen und können Organismen die Reize lautstärkeunabhängig unterscheiden bzw. wieder erkennen. Eine Möglichkeit dazu wäre die Kodierung mittels zeitlicher Synchronisation, die intensitätsunabhängig ist. In rund der Hälfte der Neuronen der vorliegenden Studie zeigt sich in Abhängigkeit vom benutzten Reiz eine Unabhängigkeit der neuronalen Antwort von der Intensität.

Ähnliche Überlegungen stellen auch Rees und Palmer (1989) an, die davon ausgehen, dass Trägerfrequenz, Modulationsrate und Modulationstiefe von SAM Reizen unabhängig vom Schalldruckpegel kodiert werden können. Rhode und Greenberg (1994) weisen darauf hin, dass zeitliche Strukturen in einem moderaten Hintergrundrauschen gut kodiert werden können und es erst bei hohen Schalldruckpegeln des Störgeräusches zu Beeinträchtigungen der Kodierungsfähigkeit kommt. Auch in frühen Arbeiten von Rees und Møller (1983, 1987) finden sich keine stichhaltigen Hinweise für eine Abhängigkeit von zeitlich synchronisierten neuronalen Antworten vom Schalldruckpegel.

Frisina et al. (1990a) dagegen sieht sehr wohl eine Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel für Neurone im CN bei Wüstenrennmäusen. Er beobachtet, dass Neurone sich in der Stärke der Synchronisation ändern, selbst wenn die neuronale Aktivitätsrate keine Änderungen mehr aufweist, d.h. längst „in Sättigung“ gegangen ist. Krishna und Semple (2000) beschreiben ebenfalls eine breitere Variabilität der Synchronisation in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel. Eine Änderung in der Synchronisation mit höheren Schalldruckpegeln konnte auch in der vorliegenden Arbeit ermittelt werden. Allerdings findet sich keine systematische Regelmäßigkeit, wie Rhode und Greenberg (1994) sie für Neurone im CN der Katze, Frisina et al. (1990a) im CN beim Gerbil für einzelne Neuronentypen (Chopperneurone) bzw. Møller (1976) für den auditorischen Nerv der Ratte und Palmer (1982) für das Meerschweinchen beschreiben.

Unklar bleibt dabei auch der dahinter liegende Mechanismus. Die Synchronisation kann nicht völlig losgelöst von der allgemeinen neuronalen Aktivitätsrate betrachtet werden. Vielmehr liegt dort, aus meiner Sicht, eine Erklärungsmöglichkeit. So führt eine erhöhte neuronale Aktivitätsrate dann zu einer stärkeren Synchronisation, wenn sich die zeitliche Präzision der Abfolge von Aktionspotentialen gleichzeitig erhöht. Vorstellbar wäre zum einen, dass einfach die bestehende neuronale Aktivität innerhalb bestimmter Zeitfenster verstärkt wird. Zum anderen besteht auch die Möglichkeit, dass eine verstärkte Inhibition zu einer besseren zeitlichen Präzision führt, indem alle zeitlich leicht abweichenden exzitatorischen Aktionspotentiale durch etwas später einsetzende kurzzeitige Inhibitionen unterdrückt werden.

Für den nicht-monotonen Kurvenverlauf der Synchronisation mit höheren Schalldruckpegeln sind ebenfalls zwei Erklärungen denkbar. So könnte erstens ebenfalls eine Verminderung der allgemeinen neuronalen Aktivität eine Rolle spielen. Eine länger andauernde Inhibition nach der ersten Excitation könnte dabei die allgemeine neuronale Aktivitätsrate so drastisch reduzieren, dass dies zu einer Verringerung der Synchronisation führt.

Allerdings könnte zweitens auch die Reizung mit repetitiven Stimuli bei der CF zum Zeitpunkt der Schwelle bei höheren Schalldruckpegeln nicht mehr im Zentrum der höchsten neuronalen Aktivitätsrate liegen, da sich die CF mit höheren Schalldruckpegeln in der Frequenzachse verschieben kann. Eggermont (2001) ist der zuletzt genannten Überlegung nachgegangen, konnte jedoch keine relevanten Auswirkungen feststellen. So kann dieser Aspekt vernachlässigt werden.

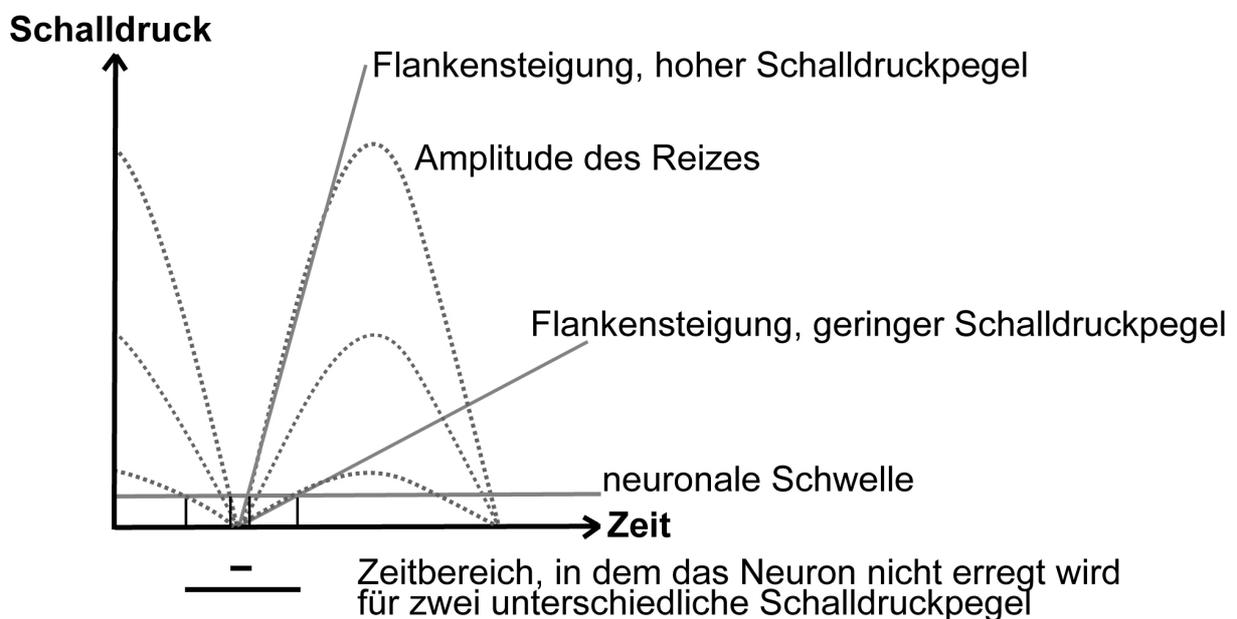
Leider erweisen sich diese theoretischen Möglichkeiten als nicht übertragbar auf die Ergebnisse der vorliegenden Studie. Dort zeigt sich, dass zwischen der allgemeinen neuronalen Aktivitätsrate, die sich durchaus massiv in Abhängigkeit von höheren Schalldruckpegeln verändern kann, und der Synchronisation kein signifikanter Zusammenhang besteht. Eine deutliche Erhöhung der allgemeinen neuronalen Aktivität führt nicht automatisch auch zu einer besseren zeitlichen Präzision und eine Reduzierung der neuronalen Aktivitätsrate bei höheren Schalldruckpegeln verändert nicht die mit höheren Schalldruckpegeln sogar zum Teil verbesserte Synchronisation. Die Ergebnisse aus den Experimenten mit BIC unterstützen diese Befunde ebenfalls (siehe auch Abschnitt 7.3 und 7.5). Die Modulierung der Synchronisation in Abhängigkeit von veränderten Schalldruckpegeln bleibt unklar. Weitere Forschung wird nötig sein, um dem zugrunde liegenden Mechanismus besser auf die Spur zu kommen. Ein neuer Denkansatz könnte die Suche nach neuronalen, subkortikalen zeitlichen Filtern sein, die die Synchronisation der kortikalen Neurone auf repetitive Schallereignisse modulieren und formen. Dafür sprechen wiederum die Ergebnisse der Experimente mit BIC, die eine kortikale Inhibition als Quelle der Modulation und der Möglichkeit der neuronalen Feinabstimmung bei der Verarbeitung zeitlicher Schallreize unwahrscheinlich werden lassen.

Kommen wir nun zu dem eingangs erwähnten zweiten Befund, dass sich abhängig vom Reiztyp eine unterschiedlich starke Synchronisation beim gleichen Neuron ermitteln lässt. Während für repetitive Tonpulse in 86,7% der Neurone die neuronale Synchronizität monoton mit dem Schalldruckpegel ansteigt, zeigen nur etwa 62,7% der Neurone auch für SAM Reize einen monotonen Verlauf mit steigenden Schalldruckpegeln. Während sich die beiden

Reiztypen im Frequenzgehalt annähernd gleichen, unterscheiden sie sich jedoch in zwei anderen Reizparametern voneinander.

1) Die Flankensteilheit eines Tonpulses ändert sich im Vergleich zur Flankensteilheit eines SAM Reizes mit erhöhtem Schalldruckpegel nicht. Dagegen werden die Flanken von SAM Reizen mit höheren Schalldruckpegeln steiler, wie man der nachfolgenden Abbildung 38 entnehmen kann. Vermutlich spielt diese Änderung der Flanke, nicht jedoch die absolute Flankensteilheit eine entscheidende Rolle.

2) Die Zeitspanne zwischen den einzelnen überschwelligen Schallereignissen (Interstimulusintervall) ist bei repetitiven Tonpulsen im Mittel länger als bei SAM Reizen. Dies gilt insbesondere auch deshalb, weil die Experimente mit variierenden Schalldruckpegeln bei BMFs unter 20 Hz durchgeführt wurden. Die Detektion der einzelnen repetitiven Elemente des Gesamtreizes dürfte bei größeren Interstimulusintervallen einfacher möglich sein. Was die Interstimulusintervalle betrifft ähneln überschwellige SAM Reize bei niedrigen Schalldruckpegeln stärker repetitiven Tonpulsen als überschwellige SAM Reize bei hohen Schalldruckpegeln (Abbildung 38). Dies könnte erklären, warum bei niedrigen Schalldruckpegeln die Synchronisation der neuronalen Antwort für die beiden Reiztypen ähnlich ausfällt.



**Abbildung 38: Schematische Darstellung eines SAM Reizes bei unterschiedlichen Schalldruckpegeln.**

Die Darstellung zeigt schematisch die Veränderungen bei SAM Reizen mit steigenden Schalldruckpegeln auf. Es verändert sich zum einen die Steilheit der Flanken und zum anderen die Dauer des Interstimulusintervalls.

Es erklärt allerdings noch nicht, wie ein monotoner Anstieg der Synchronisation mit höheren Schalldruckpegeln bzw. dessen Gegenteil, ein nicht-monotoner Kurvenverlauf, möglich ist. Bei letzterem wäre ein Adaptationsmechanismus vorstellbar, der bei den SAM Reizen stärker greift, als bei den repetitiven Tonpulsen. Der Unterschied zwischen einem lauten repetitiven Element des Gesamtreizes, d.h. die Applikation eines hohen Schalldruckpegels und der Ruhe vor dem nächsten repetitiven Element dürfte für repetitive Tonpulse deutlich stärker und kontrastreicher ausfallen, als für SAM Reize. Während der starke Kontrast zwischen hohen Schalldruckpegeln und Interstimulusintervall ohne akustische Reizung bei repetitiven Tonpulsen gut neuronal detektiert werden kann, verringert sich der Kontrast bei SAM Reizen durch die lang gestreckte Flanke einer SAM Periode deutlich. Dieser Verlust an akustischem Kontrast könnte für eine verringerte Präzision der neuronalen Antwort und damit auch die Stärke der Synchronisation ausschlaggebend sein. So könnten die erhaltenen Unterschiede zwischen SAM Reizen und repetitiven Tonpulsen in der vorliegenden Studie erklärt werden. Aus der Literatur ist bekannt, dass der auditorische Kortex der Katze besonders gut auf kurze Änderungen des Schalldruckpegels reagiert (Kilgard und Merzenich 1999, Eggermont 2001). Auch Rees und Palmer (1989) postulieren, allerdings für den IC beim Meerschweinchen, dass die dynamische Sensitivität, ähnlich wie im Hörnerv (AN), bei sich schnell verändernden Stimuli verstärkt sein könnte. Die sensitive Detektion von Kontrasten im Kortex wird insbesondere auch aus dem visuellen System berichtet. (Wurtz und Kandel 2000)

#### **7.4.2 Abhängigkeit der neuronalen Aktivitätsrate vom Schalldruckpegel**

Inwieweit Änderungen des Schalldruckpegels zu einer geänderten neuronalen Aktivitätsrate führen, wird in der Literatur häufiger thematisiert als die Möglichkeit die Kodierung von Änderungen des Schalldruckpegels mit synchronisierten neuronalen Antworten zu erklären (Kilgard und Merzenich 1988a, Kilgard und Merzenich 1999: auditorischer Kortex der Katze, Krishna und Semple 2000: IC der Ratte). Theoretisch, so zeigen Ehret und Merzenich (1988) auf, wäre eine Kodierung von Schalldruckpegeln über die neuronale Aktivitätsrate bis zu rund 100 dB SPL möglich. Dabei könnten zwei Mechanismen für die Kodierung genutzt werden: 1) Die Kodierung könnte über die Verteilung der neuronalen Schwellenwerte über einen breiten Bereich von Schalldruckpegeln erfolgen. Oder 2) Die Verteilung der besten neuronalen Aktivitätsrate deckt einen großen dynamischen Bereich ab (Wang et al. 2002). Einige Autoren berichten von einer Kodierung des Schalldruckpegels über die absolute neuronale Aktivitätsrate, wie sie aus dem auditorischen Nerv bekannt ist, auch für höhere auditorische Verarbeitungszentren im Hirnstamm, Mittelhirn und

auditorischen Kortex (Kilgard und Merzenich 1999, Krishna und Semple 2000, Eggermont 2001, Eggermont 1989, Rees und Palmer 1989).

Allerdings weisen die eigenen Ergebnisse der vorliegenden Studie weitgehend konstante neuronale Aktivitätsraten über einen breiten dynamischen Bereich auf. Dies konnten auch Ehret und Merzenich (1988) zeigen, die eine konstante mittlere neuronale Aktivitätsrate über einen Schalldruckpegelbereich von 60 dB im IC der Katze ermittelten. Ebenso bleibt die neuronale Aktivitätsrate im AN der Katze mit veränderten Schalldruckpegeln gleich (Rhode und Greenberg 1994). Konstante neuronale Aktivitätsraten finden sich auch im IC der Maus (Ehret und Merzenich 1988), für rund die Hälfte der gemessenen Neurone im IC des Meerschweinchens (Rees und Palmer 1989) und im CN der Ratte (Rees und Møller 1987).

Schreiner et al. (2000) postuliert für die Kodierung von Schalldruckpegeln im auditorischen Kortex zwei sich ergänzende Strategien. So erfolgt die Kodierung für niedrige und mittlere Schallpegel durch Änderungen der neuronalen Aktivitätsrate, während hohe Schalldruckpegel topographisch abgebildet sein sollen. Auch in einigen älteren Arbeiten wird eine topographische Anordnung von neuronalen Korrelaten der Schalldruckpegel im auditorischen Kortex erwähnt (Suga 1977, Suga und Manabe 1982, Phillips und Orman 1984). Auf die Suche nach einer topographischen Anordnung neuronaler Korrelate des Schalldruckpegels wurde im Rahmen der vorliegenden Studie verzichtet. Gleichwohl ist es eine durchaus vorstellbare, interessante Möglichkeit der Kodierung und sollte weiter untersucht werden. Besonders gut nachgewiesen sind derartige Kodierungsformen für Fledermäuse (Suga und Manabe 1982). Dabei sollte man sich bewusst sein, dass eine Fledermaus aufgrund ihrer Lebensweise mit Echoortung vielleicht deutlich stärker auf die fein abgestufte Detektion von Schallpegeln im Vergleich zu einer Wüstenrennmaus, angewiesen ist. Immerhin scheinen Phillips und Orman (1984) dies auch bei der Katze im posterioren auditorischen Feld im Kortex (Feld P) gefunden zu haben, so dass man von einem allgemeinen Mechanismus ausgehen könnte.

Rhode und Greenberg (1994) finden im AN und CN der Katze Neurone, die eine besonders deutliche Kodierung bei relativ niedrigen Schalldruckpegeln (20 dB SPL über der Schwelle) aufweisen. Diese kann dann bei höheren Schalldruckpegeln merklich abfallen oder aber gleich bleibend sein. Die zuletzt genannten Ergebnisse decken sich mit denen der vorliegenden Studie, wo die Ratenintensitätskennlinie bei der CF für rund 50% der mit SAM und immerhin rund 20% der mit repetitiven Tonpulsen beschallten Neurone einen nicht-monotonen Kurvenverlauf aufweist. Damit liegen die eigenen Werte für repetitive Tonpulse deutlich unter denen von Phillips und Orman (1984), die bei der Katze in 86% der

Neurone einen nicht-monotonen Kurvenverlauf der Ratenintensitätskennlinien ermittelt haben. Allerdings muss einschränkend hinzugefügt werden, dass auch eine andere Art von Reiz für die Experimente benutzt wurde.

In der Literatur wird die Ausprägung eines nicht-monotonen Kurvenverlaufs durch Inhibition erklärt (Sivaramakrishnan et al. 2004, Eggermont 1994, Eggermont 2001, Rhode und Greenberg 1994, Rees und Palmer 1989, Schreiner und Raggio 1996, Wang et al. 2002). Dabei geht man im einfachsten Fall davon aus, dass die Inhibition zeitlich etwas verzögert nach der Excitation einsetzt und damit die weitere Excitation unterdrückt, indem eine Depolarisation der Membran verhindert wird. Dieser Hypothese wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nachgegangen, indem mit BIC die schnelle GABAerge Inhibition im Kortex unterdrückt wurde (siehe auch die Abschnitte 7.3 und 7.5).

Die allgemein höhere, neuronale Aktivitätsrate bei SAM Reizen im Vergleich zu repetitiven Tonpulsen, dürfte allerdings kein spezielles Phänomen zur Erfassung variierender Schalldruckpegel sein, sondern wie unter 7.2.1 diskutiert, eine Frage des Frequenzgehaltes der benutzten Stimuli.

### **7.4.3 Vergleich neuronaler Aktivitätsratenänderung bei repetitiver und einzelner Reintonstimulation**

Ein Unterschied zwischen der Änderung der neuronalen Aktivitätsrate bei Reintönen und repetitiven Reizen besteht nur bei repetitiven Tonpulsen, jedoch nicht bei SAM Reizen. Dieses unterschiedliche Ergebnis, abhängig vom verwendeten repetitiven Reiz, kann zunächst verwundern.

Ein Grund für die Unterschiede dürfte generell jedoch der Anteil der neuronalen On-Antwort an der Gesamtantwort auf einzelne Reintöne sein. Während bei einzelnen Reintönen dieser Anteil nicht unerheblich ist, dürfte dagegen bei repetitiven Schallereignissen der Anteil der On-Antwort an der Gesamtantwort deutlich geringer ausfallen, greifen hier doch eher Adaptationseffekte. Es konnte bereits gezeigt werden, dass zu einem nicht unerheblichen Anteil die Phasenkopplung an die erste Modulation bzw. Präsentation des ersten Teilreizes eines repetitiven Reizes die Stärke der Synchronisation ebenso wie die neuronale Aktivitätsrate beeinflusst (Eggermont 2001).

Unter Adaptation wird hier eine Abnahme der Aktivität verstanden, wie sie durch zeitverzögerte inhibitorische Mechanismen bewirkt werden kann. Diese Adaptationseffekte wiederum dürften bei Stimulation mit repetitiven Tonpulsen deutlich ausgeprägter sein, als bei SAM Reizen. Denn hier spielt erneut die Reizflanke eine Rolle. Während repetitive

Tonpulse nur über eine minimale, steile Flanke verfügen, deren Dauer weniger abhängig vom Schalldruckpegel ist, gestaltet sich das Bild für die SAM Reize etwas anders. Die Flankensteilheit ist hier abhängig vom Schalldruckpegel (siehe auch 7.4.2). Sie nimmt mit höheren Schalldruckpegeln zu. Demzufolge nimmt der Einfluss der On-Antwort auf die Gesamtantwort im Verhältnis gesehen ab, da es gleichzeitig zu Adaptationen auf die nachfolgenden Reize kommt. Konkret bedeutet dies, dass bei niedrigen Schalldruckpegeln ein SAM Reiz im Bezug auf den Einfluss auf die neuronale On-Antwort und die Stärke der Adaptation eher einem Reinton ähnelt. Damit erklärt sich, warum für die Steigungen, als ein Maß der Änderung der neuronalen Aktivitätsrate, kein signifikanter Unterschied zwischen einzelnen Reintönen und SAM Reizen zu finden ist.

## **7.5 Einfluss GABAerger Inhibition auf die Abhängigkeit der Rate und Synchronizität vom Schalldruckpegel**

Insgesamt scheint der Einfluss der kortikalen Inhibition auf Veränderungen der neuronalen Antwort im Zusammenhang mit variierenden Schalldruckpegeln gering bzw. nicht vorhanden zu sein. Dies soll im Folgenden noch etwas genauer für die neuronale Aktivitätsrate, die Synchronisation und unter dem Blickwinkel der unterschiedlichen repetitiven Reize betrachtet werden.

### **7.5.1 Einfluss von BIC auf die Abhängigkeit der mittleren neuronalen Aktivitätsrate und Synchronisation vom Schalldruckpegel**

Die Ergebnisse aus den Experimenten mit BIC und variierenden Schalldruckpegeln zeigen im Mittel keinen Einfluss der kortikalen Inhibition auf die Abhängigkeit 1) der neuronalen Aktivitätsrate und 2) die Synchronisation vom Schalldruckpegel. Die Aufhebung GABA<sub>a</sub>erger Inhibition durch BIC, erfolgt also unabhängig vom Schalldruckpegel.

In der Literatur finden sich nur wenige Anhaltspunkte, wie sich die Applikation von BIC konkret auf die neuronalen Antworten repetitiver Reize bei variierenden Schalldruckpegeln auswirkt.

1) Es wird berichtet, dass BIC auf die Monotonizität der Raten-Intensitätskennlinie bei veränderten Schalldruckpegeln bei einem großen Teil der Neurone des auditorischen Kortex der Fledermaus keinen Einfluss hat (Chen und Jen 2000).

Dagegen argumentieren Sivaramakrishnan et al. (2004), dass eine Erhöhung der neuronalen Aktivitätsrate über einen weiten dynamischen Bereich nur möglich sein kann, wenn eine

dynamische Balance zwischen inhibitorischen und exzitatorischen Eingängen auf ein Neuron, ebenso wie eine gute postsynaptische neuronale Sensibilität existieren. Und Wang et al. (2002) stellen fest, dass BIC zwar auf Antworten für leise Stimuli im Schwellenbereich, nicht aber auf die maximale neuronale Aktivitätsrate beim besten Schalldruckpegel einen Einfluss hat.

Sivaramakrishnan et al. (2004) sehen die Schalldruckpegel durch Änderungen in der neuronalen Aktivitätsrate kodiert und finden aus diesem Blickwinkel heraus durchaus einen Zusammenhang der GABAergen Inhibition in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel für IC Neurone. Allerdings könnte hier ein genereller Unterschied zwischen IC und auditorischem Kortex vorliegen, da auch andere Studien eine Änderung der Monotonizität der Raten-Intensitätskennlinien unter BIC für zumindest einige IC Neurone feststellen (Pollak und Park 1993, Faingold et al. 1991), und Unterschiede in den Wirkungen der GABAergen Inhibition auf Neurone im IC und im auditorischen Kortex auf die Ausprägung der Frequenz-Antwortbereiche bekannt sind (Wang et al. 2002).

Die eigenen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen allgemein keine nennenswerten Änderungen der Monotonizität bei Raten-Intensitätskennlinien auf, auch wenn sich die absolute neuronale Aktivitätsrate deutlich unter der Gabe von BIC erhöht, wie bereits im Abschnitt 7.3.1 diskutiert. So bleibt unklar, wie eine nicht-monotone Raten-Intensitätskennlinie zustande kommt. Die immer wieder gerne vermuteten inhibitorischen Einflüsse bei hohen Schalldruckpegeln, scheinen im auditorischen Kortex nicht für die nicht-monotonen Raten-Intensitätskennlinien verantwortlich zu sein. Wang et al. (2002) postulieren zwei denkbare Erklärungen: Zum einen könnte die Monotonizität der Raten-Intensitätskennlinie ein Produkt früherer subkortikaler Verarbeitungsschritte sein und zum anderen wäre auch immer noch zu überlegen, inwieweit die Applikation von BIC wirklich alle distal an einem Neuron angreifenden Synapsen erreicht hat. Der zuletzt genannte Punkt könnte eventuell mit einer Studie mit verschiedenen starken Dosierungen von BIC, entweder über unterschiedliche Konzentrationen oder unterschiedliche Applikationsströme, überprüft werden. Es müsste jedoch die Position der Synapsen bekannt sein, wie man es eventuell mit hoch auflösenden bildgebenden Verfahren erreichen kann. Bekannt ist auch, dass GABAerge Interneurone nicht gleichmäßig auf alle kortikalen Schichten verteilt sind. So kann ein kortikaler Gradient von dorsal nach ventral nachgewiesen werden (Chen und Jen 2000) oder einzelne kortikale Schichten weisen eine erhöhte Inhibition auf (Foeller 2001). Insofern könnte ein sorgfältiger Vergleich von veränderten neuronalen Aktivitätsraten unter BIC mit den neuronalen Aktivitätsraten unter Kontrollbedingungen in Abhängigkeit von der

kortikalen Schicht eventuell doch noch differenzierte Effekte zeigen, auch wenn Foeller 2001 keinen Einfluss GABA<sub>A</sub>erger Inhibition auf die Frequenz-Antwortbereiche in Abhängigkeit von der kortikalen Schicht feststellen konnte.

2) Obwohl in der vorliegenden Studie die neuronale Aktivitätsrate über einen breiten dynamischen Bereich unter BIC erhöht ist, hat dies im Mittel keine Auswirkung auf die Stärke der Synchronisation. Die Ergebnisse stimmen gut überein mit Ergebnissen aus dem IC, bei denen für BIC ebenfalls im Mittel kein Einfluss auf die syncMTFs, in Einzelfällen allerdings schon eine Verbesserung oder Verschlechterung der Synchronizität, gefunden werden kann (Lu et al. 1998, Caspary et al. 2002). Wang et al. (2002) berichten aus dem auditorischen Kortex ähnliche Ergebnisse, die denen der vorliegenden Studie gleichen. Sie stehen jedoch im Widerspruch zur gängigen Meinung in der Literatur, die sehr wohl einen prinzipiellen Effekt von BIC auf die Präzision der Kodierung zeitlicher Strukturen eines Schallreizes sieht (Vater et al. 1992, Yang und Pollak 1997). So finden Yang und Pollak (1997) einen Einfluss des Schalldruckpegels auf die Synchronisation bei einer Subpopulation von Neuronen aus dem Lateralen Lemniscus. Ein gutes neuronales Folgeverhalten konnte für SAM Reize bei dieser Subpopulation an Neuronen nur für einen dynamischen Bereich von 0-30 dB SPL über der Schwelle gefunden werden. Während die zeitliche Präzision der neuronalen Antwort auf SAM Reize bei vergleichsweise niedrigen, gerade überschwelligen Schalldruckpegeln in einem kurzen Zeitfenster jedes Modulationszyklus konzentriert war, verbreiterte sich dieses Zeitfenster erheblich bei höheren Schalldruckpegeln und führte damit zu einer schlechteren Synchronisation. Eine Verbreiterung des Zeitfensters erfolgte auch während der Applikation von BIC. Die erhöhte neuronale Aktivitätsrate ging einher mit insgesamt niedrigeren Synchronisationen für alle Schalldruckpegel. Der Effekt war jedoch stärker für niedrige im Vergleich zu höheren Schalldruckpegeln.

Im Mittel konnten solche Änderungen der Synchronisation bei den eigenen Messungen der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden. Allerdings zeigten sich kleine Veränderungen auf die in Abschnitt 7.5.2 eingegangen wird.

### **7.5.2 GABAerger Einfluss auf die Abhängigkeit der Synchronisation vom Schalldruckpegel**

Auch wenn aufgrund der geringen Stichprobengröße auf eine statistische Auswertung der Synchronisation in Abhängigkeit vom Schalldruckpegel verzichtet wurde, kann man feststellen, dass BIC im Einzelfall doch bei höheren Schalldruckpegeln einen zumindest erkennbaren, kleinen Effekt auf die synchronisierte neuronale Antwort auf SAM Reize im Gegensatz zu repetitiven Tonpulsen ausübt. Diese Effekte verlaufen in beide Richtungen, so dass sie sich im Mittel ausgleichen. Während unter BIC der Schalldruckpegel keinen Einfluss auf die neuronalen Antworten auf repetitive Tonpulse hat, sind Änderungen in der Synchronisation auf SAM Reize zu beobachten. Dabei existieren offensichtlich zumindest zwei unterschiedliche inhibitorische Schaltkreise:

1) Unter BIC verändern sich nicht-monotone Kurvenverläufe der Synchronisation in monotone Kurvenverläufe. Eine Erklärung für dieses Phänomen bietet entweder die Aufhebung von, in diesem Fall, kortikaler Inhibition bei hohen Schalldruckpegeln, die zu einer besseren Synchronisation führen kann, oder aber die Aufhebung kortikaler Inhibition legt einen weiteren inhibitorischen Mechanismus frei, der für eine bessere und präzisere Abfolge der Aktionspotenziale sorgt und zuvor durch die andere Inhibition verdeckt war. Solch eine doppelte Inhibition wird sowohl von Koch und Grothe (1998) als auch von Wang et al. (2002) vorgeschlagen.

2) Denkbar wäre auch das genaue Gegenteil, dass sich unter BIC Applikation monotone Kurvenverläufe der Synchronisation in nicht-monotone Kurvenverläufe ändern.

Für dieses Phänomen könnte die zeitliche Präzision der Aktionspotenziale innerhalb eines Modulationszyklus verantwortlich sein. Es konnte im Lateralen Lemniscus beobachtet werden, dass sich das Zeitfenster, in dem die neuronale Antwort auf einen SAM Reiz erfolgt, unter BIC und hohen Schalldruckpegeln verbreitert und damit zu schlechteren Synchronisationswerten führt (Yang und Pollak 1997). Solch eine Abnahme der zeitlichen Präzision der neuronalen Antwort wäre auch für den auditorischen Kortex denkbar.

## 8 Literaturverzeichnis

ABEL C & KÖSSL M (2006). Neuronal processing of cochlear distortion products in the midbrain - simultaneous acoustic and electrophysiological measurements. Abstracts of the midwinter research meeting of the Assoc.Res.Otolaryngol. Abst # 698

ANTKOWIAK B (1999). Different actions of general anesthetics on the firing patterns of neocortical neurons mediated by the GABA(A) receptor. *Anesthesiology* **91**, 500-511.

ASHE JH, MCKENNA TM, & WEINBERGER NM (1989). Cholinergic modulation of frequency receptive fields in auditory cortex: II. Frequency-specific effects of anticholinesterases provide evidence for a modulatory action of endogenous ACh. *Synapse* **4**, 44-54.

BAKIN JS & WEINBERGER NM (1996). Induction of a physiological memory in the cerebral cortex by stimulation of the nucleus basalis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 11219-11224.

BANDROWSKI AE, MOORE SL, & ASHE JH (2001). Cholinergic synaptic potentials in the supra-granular layers of auditory cortex. *Synapse* **41**, 118-130.

BANNIKOV A (1953). Relationships between desert and steppe rodents (Abstract engl. Übersetzung). *Biull. Moskovskovo-Obshchestva-Ispytatelei-prirody-Otdel Biol.* **58**, 21-26.

BIESER A & MÜLLER-PREUSS P (1996). Auditory responsive cortex in the squirrel monkey: neural responses to amplitude-modulated sounds. *Exp Brain Res* **108**, 273-284.

BUDINGER E, HEIL P, & SCHEICH H (2000a). Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). IV. Connections with anatomically characterized subcortical structures. *Eur J Neurosci* **12**, 2452-2474.

BUDINGER E, HEIL P, & SCHEICH H (2000b). Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). III. Anatomical subdivisions and corticocortical connections. *Eur J Neurosci* **12**, 2425-2451.

CASPARY DM, PALOMBI PS, & HUGHES LF (2002). GABAergic inputs shape responses to amplitude modulated stimuli in the inferior colliculus. *Hear Res* **168**, 163-173.

CHEN G & YAN J (2007). Cholinergic modulation incorporated with a tone presentation induces frequency-specific threshold decreases in the auditory cortex of the mouse. *Eur J Neurosci* **25**, 1793-1803.

- CHEN QC & JEN PH (2000). Bicuculline application affects discharge patterns, rate-intensity functions, and frequency tuning characteristics of bat auditory cortical neurons. *Hear Res* **150**, 161-174.
- COOPER J, BLOOM F, & ROTH R (1996). Acetylcholine. In *The biochemical basis of neuropharmacology*, eds. Cooper J, Bloom F, & Roth R, pp. 194-225. Oxford University Press, Oxford.
- CREUTZFELDT O, HELLWEG FC, & SCHREINER C (1980). Thalamocortical transformation of responses to complex auditory stimuli. *Exp Brain Res* **39**, 87-104.
- DOLPHIN WF, CHERTOFF ME, & BURKARD R (1994). Comparison of the envelope following response in the Mongolian gerbil using two-tone and sinusoidally amplitude-modulated tones. *J Acoust Soc Am* **96**, 2225-2234.
- ECKRICH T, FOELLER E, STUERMER IW, GAESE BH, & KÖSSL M (2008). Strain-dependence of age-related cochlear hearing loss in wild and domesticated Mongolian gerbils. *Hear Res* **235**, 72-79.
- EGGERMONT JJ (1989). Coding of free field intensity in the auditory midbrain of the leopard frog. I. Results for tonal stimuli. *Hear Res* **40**, 147-165.
- EGGERMONT JJ (1991). Rate and synchronization measures of periodicity coding in cat primary auditory cortex. *Hear Res* **56**, 153-167.
- EGGERMONT JJ (1994). Temporal modulation transfer functions for AM and FM stimuli in cat auditory cortex. Effects of carrier type, modulating waveform and intensity. *Hear Res* **74**, 51-66.
- EGGERMONT JJ (2001). Between sound and perception: reviewing the search for a neural code. *Hear Res* **157**, 1-42.
- EGGERMONT JJ (2002). Temporal modulation transfer functions in cat primary auditory cortex: separating stimulus effects from neural mechanisms. *J Neurophysiol* **87**, 305-321.
- EGO-STENGEL V, SHULZ DE, HAIDARLIU S, SOSNIK R, & AHISSAR E (2001). Acetylcholine-dependent induction and expression of functional plasticity in the barrel cortex of the adult rat. *J Neurophysiol* **86**, 422-437.
- EHRET G & MERZENICH MM (1988). Neuronal discharge rate is unsuitable for encoding sound intensity at the inferior-colliculus level. *Hear Res* **35**, 1-7.

EHRET G (1997). The auditory cortex. *J Comp Physiol [A]* **181**, 547-557.

EHRET G & SCHREINER CE (1997). Frequency resolution and spectral integration (critical band analysis) in single units of the cat primary auditory cortex. *J Comp Physiol [A]* **181**, 635-650.

FAINGOLD CL, BOERSMA ANDERSON CA, & CASPARY DM (1991). Involvement of GABA in acoustically-evoked inhibition in inferior colliculus neurons. *Hear Res* **52**, 201-216.

FLOOD P & KRASOWSKI MD (2000). Intravenous anesthetics differentially modulate ligand-gated ion channels. *Anesthesiology* **92**, 1418-1425.

FOELLER E (2001) Laminar analysis of inhibition and a neural correlate of comodulation masking release in the primary auditory cortex of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). Dissertation, München.

FOELLER E, VATER M, & KÖSSL M (2001). Laminar analysis of inhibition in the gerbil primary auditory cortex. *J Assoc Res Otolaryngol* **2**, 279-296.

FRISINA RD, SMITH RL, & CHAMBERLAIN SC (1990a). Encoding of amplitude modulation in the gerbil cochlear nucleus: I. A hierarchy of enhancement. *Hear Res* **44**, 99-122.

FRISINA RD, SMITH RL, & CHAMBERLAIN SC (1990b). Encoding of amplitude modulation in the gerbil cochlear nucleus: II. Possible neural mechanisms. *Hear Res* **44**, 123-141.

FRISINA RD (2001). Subcortical neural coding mechanisms for auditory temporal processing. *Hear Res* **158**, 1-27.

FRYATT GULOTTA E (1971). *Meriones unguiculatus*. *Mammalian Species* **3**, 1-5.

GAESE BH & OSTWALD J (1995). Temporal coding of amplitude and frequency modulation in the rat auditory cortex. *Eur J Neurosci* **7**, 438-450.

GAESE BH & OSTWALD J (2001). Anesthesia changes frequency tuning of neurons in the rat primary auditory cortex. *J Neurophysiol* **86**, 1062-1066.

GREUEL JM, LUHMANN HJ, & SINGER W (1988). Pharmacological induction of use-dependent receptive field modifications in the visual cortex. *Science* **242**, 74-77.

GU Q (2003). Contribution of acetylcholine to visual cortex plasticity. *Neurobiol Learn Mem* **80**, 291-301.

HABBIKT H & VATER M (1996). A microiontophoretic study of acetylcholine effects in the inferior colliculus of horseshoe bats: implications for a modulatory role. *Brain Res* **724**, 169-179.

HAMANN I, GLEICH O, KLUMP GM, KITTEL MC, & STRUTZ J (2004). Age-dependent changes of gap detection in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Assoc Res Otolaryngol* **5**, 49-57.

HAVEY DC & CASPARY DM (1980). A simple technique for constructing 'piggy-back' multibarrel microelectrodes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **48**, 249-251.

HELDMAIER G & NEUWEILER G (2003). Das Hören. In *Vergleichende Tierphysiologie Band 1 Neuro- und Sinnesphysiologie* pp. 233-332. Springer, Berlin Heidelberg New York.

HSIEH CY, CRUIKSHANK SJ, & METHERATE R (2000). Differential modulation of auditory thalamocortical and intracortical synaptic transmission by cholinergic agonist. *Brain Res* **880**, 51-64.

HUDSPETH A (2000). Hearing. In *Principles of neuroscience*, eds. Kandel E, Schwartz J, & Jessell T, pp. 590-613. McGraw-Hill, New York.

JEN PH & FENG RB (1999). Bicuculline application affects discharge pattern and pulse-duration tuning characteristics of bat inferior collicular neurons. *J Comp Physiol [A]* **184**, 185-194.

JENSEN AA, MIKKELSEN I, FROLUND B, BRAUNER-OSBORNE H, FALCH E, & KROGSGAARD-LARSEN P (2003). Carbamoylcholine homologs: novel and potent agonists at neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* **64**, 865-875.

JI W, GAO E, & SUGA N (2001). Effects of acetylcholine and atropine on plasticity of central auditory neurons caused by conditioning in bats. *J Neurophysiol* **86**, 211-225.

KAWAGUCHI Y (1997). Selective cholinergic modulation of cortical GABAergic cell subtypes. *J Neurophysiol* **78**, 1743-1747.

KILGARD MP & MERZENICH MM (1998a). Plasticity of temporal information processing in the primary auditory cortex. *Nat Neurosci* **1**, 727-731.

KILGARD MP & MERZENICH MM (1998b). Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science* **279**, 1714-1718.

KILGARD MP & MERZENICH MM (1999). Distributed representation of spectral and temporal information in rat primary auditory cortex. *Hear Res* **134**, 16-28.

KILGARD MP (2005). Cortical map reorganization without cholinergic modulation. *Neuron* **48**, 529-530.

KOCH U & GROTHE B (1998). GABAergic and glycinergic inhibition sharpens tuning for frequency modulations in the inferior colliculus of the big brown bat. *J Neurophysiol* **80**, 71-82.

KRISHNA BS & SEMPLE MN (2000). Auditory temporal processing: responses to sinusoidally amplitude-modulated tones in the inferior colliculus. *J Neurophysiol* **84**, 255-273.

KURT S, CROOK JM, OHL FW, SCHEICH H, & SCHULZE H (2006). Differential effects of iontophoretic in vivo application of the GABA(A)-antagonists bicuculline and gabazine in sensory cortex. *Hear Res* **212**, 224-235.

KURT S, MOELLER CK, JESCHKE M, & SCHULZE H (2007). Differential effects of iontophoretic application of the GABA(A)-antagonists bicuculline and gabazine on tone-evoked local field potentials in primary auditory cortex: Interaction with ketamine anesthesia. *Brain Res*.

LANGNER G (1992). Periodicity coding in the auditory system. *Hear Res* **60**, 115-142.

LIANG L, LU T, & WANG X (2002). Neural representations of sinusoidal amplitude and frequency modulations in the primary auditory cortex of awake primates. *J Neurophysiol* **87**, 2237-2261.

LIN LH, CHEN LL, ZIRROLI JA, & HARRIS RA (1992). General anesthetics potentiate gamma-aminobutyric acid actions on gamma-aminobutyric acid A receptors expressed by *Xenopus* oocytes: lack of involvement of intracellular calcium. *J Pharmacol Exp Ther* **263**, 569-578.

LU T, LIANG L, & WANG X (2001). Temporal and rate representations of time-varying signals in the auditory cortex of awake primates. *Nat Neurosci* **4**, 1131-1138.

LU Y, JEN PH, & WU M (1998). GABAergic disinhibition affects responses of bat inferior collicular neurons to temporally patterned sound pulses. *J Neurophysiol* **79**, 2303-2315.

LUCAS-MEUNIER E, FOSSIER P, BAUX G, & AMAR M (2003). Cholinergic modulation of the cortical neuronal network. *Pflugers Arch* **446**, 17-29.

LYSAKOWSKI A, WAINER BH, BRUCE G, & HERSH LB (1989). An atlas of the regional and laminar distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in rat cerebral cortex. *Neuroscience* **28**, 291-336.

MA X & SUGA N (2005). Long-term cortical plasticity evoked by electric stimulation and acetylcholine applied to the auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 9335-9340.

MARKRAM H, TOLEDO-RODRIGUEZ M, WANG Y, GUPTA A, SILBERBERG G, & WU C (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* **5**, 793-807.

MARSCH R (2003). GABAerge Inhibitionsmechanismen und 2-Ton-Maskierung im Hörkortex der Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*). Dissertation, München.

MCKENNA TM, ASHE JH, & WEINBERGER NM (1989). Cholinergic modulation of frequency receptive fields in auditory cortex: I. Frequency-specific effects of muscarinic agonists. *Synapse* **4**, 30-43.

MENDELSON JR & LUI B (2004). The effects of aging in the medial geniculate nucleus: a comparison with the inferior colliculus and auditory cortex. *Hear Res* **191**, 21-33.

METHERATE R, TREMBLAY N, & DYKES RW (1988a). Transient and prolonged effects of acetylcholine on responsiveness of cat somatosensory cortical neurons. *J Neurophysiol* **59**, 1253-1276.

METHERATE R, TREMBLAY N, & DYKES RW (1988b). The effects of acetylcholine on response properties of cat somatosensory cortical neurons. *J Neurophysiol* **59**, 1231-1252.

METHERATE R & ASHE JH (1995). GABAergic suppression prevents the appearance and subsequent fatigue of an NMDA receptor-mediated potential in neocortex. *Brain Res* **699**, 221-230.

METHERATE R & HSIEH CY (2003). Regulation of glutamate synapses by nicotinic acetylcholine receptors in auditory cortex. *Neurobiol Learn Mem* **80**, 285-290.

MILLAR J (1991). Extracellular single and multiple unit recording with microelectrodes. In *Monitoring neuronal activity- a practical approach*, ed. Stanford JA, pp. 1-28. Oxford University Press, Oxford.

MODY I & PEARCE RA (2004). Diversity of inhibitory neurotransmission through GABA(A) receptors. *Trends Neurosci* **27**, 569-575.

MØLLER AR (1976). Dynamic properties of primary auditory fibers compared with cells in the cochlear nucleus. *Acta Physiol Scand* **98**, 157-167.

MØLLER AR & REES A (1986). Dynamic properties of the responses of single neurons in the inferior colliculus of the rat. *Hear Res* **24**, 203-215.

MØLLER AR (1987). Auditory evoked potentials to continuous amplitude-modulated sounds: can they be described by linear models? *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **66**, 56-65.

MÜLLER-PREUSS P, FLACHSKAMM C, & BIESER A (1994). Neural encoding of amplitude modulation within the auditory midbrain of squirrel monkeys. *Hear Res* **80**, 197-208.

MÜLLER CM & SCHEICH H (1987). GABAergic inhibition increases the neuronal selectivity to natural sounds in the avian auditory forebrain. *Brain Res* **414**, 376-380.

OCHSE M (2004). Neuronale Kodierung von Tonhöhen und harmonischen Relationen im auditorischen Mittelhirn der Rennmaus. Dissertation, Darmstadt.

PALMER AR (1982). Encoding of rapid amplitude fluctuations by Cochlear-nerve fibres in the guinea-pig. *Arch Otorhinolaryngol* **236**, 197-202.

PARK TJ & POLLAK GD (1993). GABA shapes a topographic organization of response latency in the mustache bat's inferior colliculus. *J Neurosci* **13**, 5172-5187.

PHILLIPS DP & ORMAN SS (1984). Responses of single neurons in posterior field of cat auditory cortex to tonal stimulation. *J Neurophysiol* **51**, 147-163.

PHILLIPS DP, ORMAN SS, MUSICANT AD, & WILSON GF (1985). Neurons in the cat's primary auditory cortex distinguished by their responses to tones and wide-spectrum noise. *Hear Res* **18**, 73-86.

PHILLIPS DP & HALL SE (1987). Responses of single neurons in cat auditory cortex to time-varying stimuli: linear amplitude modulations. *Exp Brain Res* **67**, 479-492.

PHILLIPS DP, HALL SE, & HOLLETT JL (1989). Repetition rate and signal level effects on neuronal responses to brief tone pulses in cat auditory cortex. *J Acoust Soc Am* **85**, 2537-2549.

PLASSMANN W & KADEL M (1991). Low-frequency sensitivity in a gerbilline rodent, *Pachyuromys duprasi*. *Brain Behav Evol* **38**, 115-126.

POLLAK GD & PARK TJ (1993). The effects of GABAergic inhibition on monaural response properties of neurons in the mustache bat's inferior colliculus. *Hear Res* **65**, 99-117.

POLLEY DB, HEISER MA, BLAKE DT, SCHREINER CE, & MERZENICH MM (2004). Associative learning shapes the neural code for stimulus magnitude in primary auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 16351-16356.

RASMUSSEN DD (2000). The role of acetylcholine in cortical synaptic plasticity. *Behav Brain Res* **115**, 205-218.

REES A & MØLLER AR (1983). Responses of neurons in the inferior colliculus of the rat to AM and FM tones. *Hear Res* **10**, 301-330.

REES A & MØLLER AR (1987). Stimulus properties influencing the responses of inferior colliculus neurons to amplitude-modulated sounds. *Hear Res* **27**, 129-143.

REES A & PALMER AR (1989). Neuronal responses to amplitude-modulated and pure-tone stimuli in the guinea pig inferior colliculus, and their modification by broadband noise. *J Acoust Soc Am* **85**, 1978-1994.

RHODE WS & GREENBERG S (1994). Encoding of amplitude modulation in the cochlear nucleus of the cat. *J Neurophysiol* **71**, 1797-1825.

RYAN A (1976). Hearing sensitivity of the mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J Acoust Soc Am* **59**, 1222-1226.

SALGADO H, BELLAY T, NICHOLS JA, BOSE M, MARTINOLICH L, PERROTTI L, & ATZORI M (2007). Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca<sup>2+</sup> channel modulation through activation of PI3K/Ca<sup>2+</sup> -independent and PLC/Ca<sup>2+</sup> -dependent PKC. *J Neurophysiol* **98**, 952-965.

SARTER M & BRUNO JP (1997). Cognitive functions of cortical acetylcholine: toward a unifying hypothesis. *Brain Res Brain Res Rev* **23**, 28-46.

SCHEICH H, HEIL P, & LANGNER G (1993). Functional organization of auditory cortex in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). II. Tonotopic 2-deoxyglucose. *Eur J Neurosci* **5**, 898-914.

SCHREINER CE & RAGGIO MW (1996). Neuronal responses in cat primary auditory cortex to electrical cochlear stimulation. II. Repetition rate coding. *J Neurophysiol* **75**, 1283-1300.

SCHREINER CE, READ HL, & SUTTER ML (2000). Modular organization of frequency integration in primary auditory cortex. *Annu Rev Neurosci* **23**, 501-529.

SCHULZE H & LANGNER G (1997). Periodicity coding in the primary auditory cortex of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): two different coding strategies for pitch and rhythm? *J Comp Physiol [A]* **181**, 651-663.

SCHULZE H & LANGNER G (1999). Auditory cortical responses to amplitude modulations with spectra above frequency receptive fields: evidence for wide spectral integration. *J Comp Physiol [A]* **185**, 493-508.

SHULZ DE, COHEN S, HAIDARLIU S, & AHISSAR E (1997). Differential effects of acetylcholine on neuronal activity and interactions in the auditory cortex of the guinea-pig. *Eur J Neurosci* **9**, 396-409.

SHULZ DE, SOSNIK R, EGO V, HAIDARLIU S, & AHISSAR E (2000). A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature* **403**, 549-553.

SIVARAMAKRISHNAN S, STERBING-D'ANGELO SJ, FILIPOVIC B, D'ANGELO WR, OLIVER DL, & KUWADA S (2004). GABA(A) synapses shape neuronal responses to sound intensity in the inferior colliculus. *J Neurosci* **24**, 5031-5043.

SUGA N (1977). Amplitude spectrum representation in the Doppler-shifted-CF processing area of the auditory cortex of the mustache bat. *Science* **196**, 64-67.

SUGA N & MANABE T (1982). Neural basis of amplitude-spectrum representation in auditory cortex of the mustached bat. *J Neurophysiol* **47**, 225-255.

SUGIMOTO S, SAKURADA M, HORIKAWA J, & TANIGUCHI I (1997). The columnar and layer-specific response properties of neurons in the primary auditory cortex of Mongolian gerbils. *Hear Res* **112**, 175-185.

THOMAS H, TILLEIN J, HEIL P, & SCHEICH H (1993). Functional organization of auditory cortex in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). I. Electrophysiological mapping of frequency representation and distinction of fields. *Eur J Neurosci* **5**, 882-897.

VATER M, HABBICHT H, KÖSSL M, & GROTHE B (1992). The functional role of GABA and glycine in monaural and binaural processing in the inferior colliculus of horseshoe bats. *J Comp Physiol [A]* **171**, 541-553.

WAIBLINGER E (2004). Behavioural stereotypies in laboratory gerbils (*Meriones unguiculatus*): causes and solutions. Dissertation, Zürich.

WANG J, MCFADDEN SL, CASPARY D, & SALVI R (2002). Gamma-aminobutyric acid circuits shape response properties of auditory cortex neurons. *Brain Res* **944**, 219-231.

WANG X (2007). Neural coding strategies in auditory cortex. *Hear Res* **229**, 81-93.

WEINBERGER NM & BAKIN JS (1998). Learning-induced physiological memory in adult primary auditory cortex: receptive fields plasticity, model, and mechanisms. *Audiol Neurootol* **3**, 145-167.

WURTZ R & KANDEL E (2000). Central Visual Pathway. In *Principles of neuroscience*, eds. Kandel E, Schwartz J, & Jessell T, pp. 523-547. McGraw-Hill, New York.

YAN J & ZHANG Y (2005). Sound-guided shaping of the receptive field in the mouse auditory cortex by basal forebrain activation. *Eur J Neurosci* **21**, 563-576.

YANG L & POLLAK GD (1997). Differential response properties to amplitude modulated signals in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mustache bat and the roles of GABAergic inhibition. *J Neurophysiol* **77**, 324-340.

YAPA W (1994). Social behaviour of the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*, with special reference to acoustic communication. Dissertation, München.

YIGIT M, KEIPERT C, & BACKUS KH (2003). Muscarinic acetylcholine receptors potentiate the GABAergic transmission in the developing rat inferior colliculus. *Neuropharmacology* **45**, 504-513.

## 9 Danksagung

Mein Dank gilt Professor Dr. Manfred Kössl für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während der Arbeit. Vor allem gilt ihm mein Dank für die technisch-handwerkliche Starthilfe zu Beginn und die hilfreichen Kommentare am Ende der Arbeit.

Des weiteren gilt mein besonderer Dank Privatdozent Dr. Bernhard Gaese, insbesondere für hilfreiche Nachfragen im Verlauf der aktiven Laborarbeit, sowie für fruchtbare Diskussionen und für stets konstruktive, weiterführende Kritik.

Der Arbeitsgruppe und den ehemaligen Mitgliedern des Graduiertenkollegs danke ich für eine konstruktive Arbeitsatmosphäre und kreative Impulse.

Für wertvolle Hinweise zum Text danke ich Wiltrud und Holger Daniels, Alexander Isheim und Michael Gross.

Meinem Bruder Michael Gross danke ich außerdem für die immer bereitwillige Unterstützung bei Computerfragen.

Zuletzt danke ich meinen Eltern, meinem Mann und meinen Freundinnen und Freunden, die mich auch in schwierigen Phasen immer unterstützt haben und von meinen Fähigkeiten überzeugt waren, als ich längst schon selbst nicht mehr an mich glaubte.

# Lebenslauf

**Name:** Dagmar Birgit Isheim, geb. Groß  
**Geburtsdatum, -ort:** 28. Januar 1976 in Offenbach am Main  
**Familienstand:** verheiratet, keine Kinder  
**Nationalität:** deutsch

## Ausbildung und Studium:

08/1982 - 07/1986 Ebelfeldschule (Grundschule) in Frankfurt  
08/1986 - 07/1992 Liebigschule (Gymnasium) in Frankfurt  
09/1992 - 07/1993 Sunny Hills High School in Fullerton, USA  
08/1993 - 06/1995 Liebigschule (Gymnasium) in Frankfurt  
Abitur Sommer 1995

10/1995 - 09/2000 Studium der Biologie an der J.W. Goethe- Universität, Frankfurt, Abschluß mit der Diplomarbeit: "Entwicklung cranialer Skelettderivate bei *Mus musculus*" im Labor von PD Dr. Plassmann

09/2000 - 06/2001 Austauschstudentin im „zoology department“ an der University of Washington, Seattle, USA

06/2001 - 08/2001 Zwei Sommerkurse („comparative invertebrate embryology“ und „evolution and development of Metozoans“) in den Friday Harbor Laboratories (FHL), USA

10/2001 - 11/2005 Zweitstudium für das Lehramt an Gymnasien mit den Fächern: Biologie und Sozialkunde  
Abschluß mit dem 1. Staatsexamen im Herbst 2005

11/2001 - 11/2004 wissenschaftliche Angestellte an der J.W. Goethe- Universität, Frankfurt, Zoologisches Institut bei Prof. Kössl, neurobiologische Promotion

11/2001 - 11/2004 Kollegiatin des Graduiertenkollegs "Neuronale Plastizität: Moleküle, Strukturen, Funktionen"

05/2006 - 04/2008 Referendariat für das Lehramt an Gymnasien am Lessinggymnasium in Braunschweig mit den Fächern Biologie und Politik - Wirtschaft, Zusatzqualifikation für bilingualen Sachfachunterricht  
Abschluß mit dem 2. Staatsexamen im April 2008

Seit 08/2008 Studienassessorin am Niedersächsischen Internatsgymnasium in Bad Bederkesa

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Quellen angefertigt habe.

Cuxhaven, den 1. August 2008