

Neuronale Repräsentation intrinsischer cochleärer Signale im Colliculus inferior der Wüstenrennmaus

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

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

von
Cornelius Benjamin Abel
aus Frankfurt am Main

Frankfurt 2008
(D 30)

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

Dekan: Prof. Dr. R. Wittig
1. Gutachter: Prof. Dr. M. Kössl
2. Gutachter: Prof. Dr. J. Smolders

Datum der Disputation:

Für Paula und Lara

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	vi
Abbildungsverzeichnis	viii
Zusammenfassung	x
1 Einleitung	1
1.1 Die Cochlea	1
1.2 Der Transduktionsprozess	3
1.3 Der cochleäre Verstärker	5
1.4 Nichtlineare Verzerrungen und cochleäre Verzerrungsprodukte	6
1.5 Die Hörbahn	11
1.6 Das auditorische Mittelhirn - der Colliculus inferior	13
1.6.1 Die Gliederung des Colliculus inferior	13
1.6.2 Die Eingänge des Colliculus inferior	15
1.6.3 Die funktionelle Strukturierung des Colliculus inferior	16
1.7 Fragestellung	18
2 Material und Methoden	20
2.1 Versuchstier	20
2.2 Narkose	20
2.3 Präparation	21
2.4 Aufbau des Stimulations- und Messsystems	22
2.4.1 Elektrophysiologisches Messsystem	22
2.4.2 Spike-Sorting	24
2.5 Stimulationsparadigmen und Datenanalyse	27
2.5.1 Exzitatorische Abstimmkurven	28
2.5.2 Inhibitorische Abstimmkurven	28
2.5.3 DPOAE und neuronale Verzerrungsproduktkorrelate	30
2.5.4 Auslöschung der cochleären Verzerrungsprodukte	32
2.6 Histologische Verifizierung der Elektrodenposition	33

3	Ergebnisse	35
3.1	Grundlegende Eigenschaften der gemessenen Neurone	35
3.1.1	Spontane neuronale Aktivität	35
3.1.2	Neuronales Abstimmverhalten bei Einzeltonstimulation	36
3.1.3	Zeitliches Antwortmuster und Intensitätskennlinien	38
3.1.4	Inhibition neuronaler Aktivität	40
3.2	Neuronale Korrelate cochleärer Verzerrungsprodukte	43
3.2.1	Neuronale Korrelate des kubischen Verzerrungsprodukts	45
3.2.2	Neuronale Korrelate des quadratischen Verzerrungsprodukts	49
3.2.3	Unterschwellige neuronale Antworten während Zweittonstimulation	51
3.2.4	Vergleich der neuronalen und akustischen Verzerrungsproduktant-	
	worten	53
3.2.5	Variation der Stimulusfrequenzen	57
3.3	Direkte Phasenauslöschung cochleärer Verzerrungsprodukte	59
3.4	Cochleäre Verzerrungsprodukte bei komplexen Stimuli	64
3.4.1	Amplitudenmodulierte Sinustöne	64
3.4.2	Frequenzmodulierte Sinustöne	67
4	Diskussion	70
4.1	Generelle neuronale Antwortcharakteristiken	70
4.2	Neuronale Verzerrungsproduktkorrelate	72
4.3	Intracochleäre Auslöschung der Verzerrungsprodukte	74
4.4	Antwortcharakteristiken der neuronalen Verzerrungsproduktkorrelate	78
4.5	Verzerrungsprodukte und Tonhöhenwahrnehmung	83
4.6	Schlussfolgerungen	86
	Literaturverzeichnis	88

Abkürzungsverzeichnis

$2f_1-f_2$	Kubisches Verzerrungsprodukt
L_1	Pegel des Stimulustons f_1
L_2	Pegel des Stimulustons f_2
L_3	Pegel des Stimulustons f_3
f_2-f_1	Quadratisches Verzerrungsprodukt
f_1	Frequenz des tieffrequenteren Stimulustons
f_2	Frequenz des hochfrequenteren Stimulustons
f_3	Frequenz des Auslöschtons
AP	Aktionspotential
AVCN	anteroventraler Teil des Nucleus cochlearis
AVS	Akustische Verzerrungsproduktschwelle (DPOAE-Schwelle) während Zweittonstimulation
CDT	<i>Cubic Distortion Tone</i> (engl.), Kubisches $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt
CF	Charakteristische Frequenz
CN	<i>Cochler nucleus</i> (engl.), Nucleus cochlearis
dB SPL	dB <i>Sound Pressure Level</i> (engl.), Schalldruckpegel in Dezibel re. 20 μ Pa Referenzschallpegel
DCN	dorsaler Teil des Nucleus cochlearis
DP	<i>Distortion Product</i> (engl.), Verzerrungsprodukt
DPOAE	<i>Distortion Product Otoacoustic Emission</i> (engl.), Verzerrungsprodukt otoakustische Emission
ETS	Neuronale Schwelle während Einzeltonstimulation mit CF
f_c	<i>carrier frequency</i> (engl.), Trägerfrequenz eines sinusförmig amplitu- denmodulierten Tons
FM	Frequenzmodulierter Stimuluston
fm	<i>modulation frequency</i> (engl.), Modulationsfrequenz eines sinusförmig amplitudenmodulierten Tons
GABA	γ -Aminobuttersäure, inhibitorischer Neurotransmitter
ICc	Zentralkern des Colliculus inferior
ICdc	Externer Kortex des Colliculus inferior
IC	Colliculus inferior

LL	Lemniscus lateralis
MGB	<i>medial geniculate body</i> (engl.), Corpus geniculatum mediale - auditorischer Thalamus
NVS	Neuronale Verzerrungsproduktschwelle während Zweitonstimulation
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (engl.), Hauptkomponentenanalyse
PVCN	posteroventraler Teil des Nucleus cochlearis
QDT	<i>Quadratic Distortion Tone</i> (engl.), Quadratisches f_2 - f_1 Verzerrungsprodukt
SAM	Sinusförmig amplitudenmoduliert

Abbildungsverzeichnis

1.1	Aufbau des Innenohrs	2
1.2	Modell der nichtlinearen Verstärkung zweier Sinusschwingungen	9
1.3	Aufsteigende Hörbahn der Säugetiere	12
1.4	Anatomische Strukturierung des ICc	14
1.5	Funktionelle Strukturierung des ICc	17
2.1	Skizze eines Gerbilschädels	21
2.2	Skizze des Versuchsaufbaus	23
2.3	Auftrennung der Aktionspotentiale nach ihren Wellenformen	25
2.4	Akustischer Stimulus und gemessene Signale	26
2.5	Bestimmung des exzitatorischen und inhibitorischen Antwortbereichs eines Neurons	29
2.6	Histologische Rekonstruktion der Elektrodenposition	34
3.1	Neuronalen Antwortschwellen in Abhängigkeit der CF	37
3.2	Frequenzabstimmbarkeit der Neurone	38
3.3	Neuronale Antwortmuster der Neurone	39
3.4	Neuronale Intensitätskennlinien	40
3.5	Inhibitorische Antwortbereiche der Neurone	41
3.6	Antwort eines Neurons auf ein cochleäres $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt	44
3.7	Frequenzverhältnis der Stimulustöne und Frequenzabstand der Stimulusfrequenzen zur CF	45
3.8	Neuronale Antwort auf ein cochleäres $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt bei steigenden Stimuluspegeln	46
3.9	Neuronale Antwort auf ein cochleäres $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt bei steigenden Stimuluspegeln	50
3.10	Neuronale Antwort auf ein cochleäres f_2-f_1 Verzerrungsprodukt bei steigenden Stimuluspegeln	52
3.11	Unterschwellige neuronale Antwort auf ein f_2-f_1 Verzerrungsprodukt	54
3.12	Neuronale und akustische Verzerrungsproduktschwellen	55
3.13	Unterschiede der maximalen neuronalen Antwortraten	56

3.14	Latenzen der neuronalen Antworten	57
3.15	DPOAE-Pegel und neuronale Verzerrungsproduktkorrelate bei unterschiedlichen Stimulusfrequenzen	58
3.16	Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktkorrelate und der otoakustischen Emissionen durch einen dritten Ton	60
3.17	Beispiele für die Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktantworten und der otoakustischen Emissionen	63
3.18	Pegel des dritten Tons zur Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktkorrelate und DPOAE	65
3.19	Cochleäre Verzerrungsprodukte mit amplitudenmodulierten Stimulustönen .	66
3.20	Cochleäre Verzerrungsprodukte mit frequenzmodulierten Stimulustönen . .	68
4.1	Skizze zum Einfluss des Mittelohrs auf die neuronale Einzeltonschwelle und die neuronale Verzerrungsproduktschwelle	82

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht die neuronale Repräsentation von cochleären Verzerrungsprodukten im auditorischen Mittelhirn der Wüstenrennmaus.

Die hohe Sensitivität und die gute Frequenzauflösung des Hörorgans der Säugetiere basiert auf einer aktiven mechanischen Verstärkung der schallinduzierten Basilarmembranschwingung im Innenohr. Die äußeren Haarsinneszellen, die während des Transduktionsprozesses zyklisch ihre Länge ändern und dabei zusätzliche Schwingungsenergie in das System zurückführen, sind der zugrunde liegende Motor des aktiven cochleären Verstärkers.

Die stark nichtlinearen Eigenschaften dieses Verstärkers führen allerdings bei gleichzeitiger Verstärkung mehrerer Frequenzkomponenten zur Generierung von Kombinationsschwingungen, welche im Ursprungssignal nicht vorhanden sind. Wird das Ohr beispielsweise durch zwei Töne mit den Frequenzen f_1 und f_2 stimuliert ($f_1 < f_2$), so entstehen verschiedene Kombinationsschwingungen, deren prominenteste das quadratische ($f_2 - f_1$) und das cubische ($2f_1 - f_2$) Verzerrungsprodukt sind. Diese Verzerrungen des Ursprungssignals breiten sich von ihrem Entstehungsort im Innenohr, dem Überlappungsbereich der Stimuluswanderwellen, im Flüssigkeitsraum der Cochlea aus und werden über das Mittelohr in den Gehörgang übertragen. Im Gehörgang sind sie mit Hilfe eines sensitiven Mikrophons als otoakustische Emissionen (DPOAE - distortion product otoacoustic emissions) messbar. Zusätzlich bilden sie an ihrem Resonanzort auf der Basilarmembran, vergleichbar mit einem externen Stimuluston gleicher Frequenz, eine eigene Wanderwelle aus und aktivieren den Transduktionsprozess. Die neuronalen Korrelate der cochleären Verzerrungsprodukte sind auf verschiedenen Stationen der Hörbahn messbar und cochleäre Verzerrungsprodukte können als separate Töne wahrgenommen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die neuronalen Korrelate und otoakustischen Emissionen von cochleären Verzerrungsprodukten erstmals simultan bestimmt. Durch den direkten Vergleich der neuronalen Aktivität mit der peripheren Emissionsmessung sollen eventuelle zentralnervöse Veränderungen der Repräsentation der cochleären Verzerrungsprodukte untersucht werden. Dazu wurde die elektrische Aktivität von 91 Neuronen des Colliculus inferior der Wüstenrennmaus während der Stimulation durch zwei hochfrequente Stimulustöne gemessen. Die Frequenzen der Stimulustöne waren so gewählt, dass

die Frequenz eines, durch sie evozierten Verzerrungsproduktes, mit der charakteristischen Frequenz des jeweiligen Neurons übereinstimmte. In 95 % aller Messungen konnte eine robuste neuronale Aktivität während Zweittonstimulation gemessen werden, die sich auf die Stimulation durch ein spezifisches cochleäres Verzerrungsprodukt zurückführen lässt. Bei einem Teil der Versuche wurden die Verzerrungsprodukte durch direkte intracochleäre Auslöschung mit einem dritten Tonstimulus eindeutig als Quelle der neuronalen Aktivität bestätigt.

Für Verzerrungsproduktfrequenzen oberhalb 1,3 kHz lassen sich die Antworten der Neurone im schwelennahen Bereich gut mit den simultan im Gehörgang bestimmten DPOAE-Pegeln erklären, was einen engen Zusammenhang zwischen intracochleärem Verzerrungsproduktpegel und DPOAE-Pegel nahe legt. Bei höheren Stimuluspegeln konnten die maximalen neuronalen Antworten auf den intracochleären Verzerrungsproduktstimulus signifikant von der Einzeltonantwort abweichen, wobei sowohl eine Erhöhung als auch eine Reduktion der Maximalantwort möglich war. Ein inhibitorischer bzw. verstärkender Einfluss der Stimulustöne auf die neuronale Verzerrungsproduktantwort wird als mögliche Ursache der Unterschiede diskutiert. Für Verzerrungsproduktfrequenzen unterhalb 1,3 kHz wurde ein deutlicher Unterschied zwischen dem intracochleären Verzerrungsproduktpegel und dem im Gehörgang gemessenen Emissionspegel deutlich. Ein Teil der getesteten tief-frequenten Neurone antwortete während Zweittonstimulation bereits für Stimuluspegel, die unterhalb der Reintonchwelle des Neurons lagen. Eine frequenzspezifische Verschlechterung der Mittelohrübertragungsleistung bei tiefen Frequenzen wird als mögliche Ursache für die unterschweligen Antworten der Neurone diskutiert.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass cochleäre Verzerrungsprodukte einen substanziellen Anteil an der neuronalen Repräsentation von komplexen Stimuli haben können. Im Besonderen machen die vorgestellten Daten deutlich, dass die neuronalen Repräsentation der Grundfrequenz eines komplexen Klangs wesentlich von cochleären Verzerrungsprodukten beeinflusst sein kann. Dies bedeutet, dass bereits im Innenohr Tonhöheninformation extrahiert werden kann und damit die Relevanz in der Literatur diskutierter neuronaler Mechanismen zur Berechnung von Tonhöhe relativiert wird.

1 Einleitung

1.1 Die Cochlea

Die Gehörschnecke (Cochlea) ist die knöcherne Struktur des Innenohrs der Säugetiere, die das cortische Organ mit den für die Transduktion der Schallwellen zuständigen Sinneszellen beherbergt. Die Cochlea ist aus drei mit Flüssigkeit gefüllten Schläuchen aufgebaut: der Scala vestibuli, Scala media und Scala tympani. Diese sind helikal und konisch zusammenlaufend aufgewickelt und werden durch eine äußere Knochenschicht geschützt. Die Scala media ist der mittlere der drei Schläuche und wird durch die Basilarmembran von der Scala tympani und durch die Reissnersche Membran von der Scala vestibuli separiert. Während Scala tympani und Scala vestibuli mit Perilymphe gefüllt sind, deren Ionenzusammensetzung sonstigen Extrazellulärflüssigkeiten ähnelt, enthält die Scala media Endolymphe mit einer hohen Konzentration von K^+ -Ionen. Die Scala vestibuli und Scala tympani sind am apikalen Ende über das Helicotrema miteinander verbunden, wodurch sie ein einzelnes und zusammenhängendes Kompartiment bilden. Am basalen Ende der Scala vestibuli liegt das ovale Fenster, eine dünne Membran, auf die das Mittelohr die Schallschwingungen überträgt. Das Mittelohr besteht aus drei kleinen Knöchelchen: Malleus, Incus und Stapes. Über den Malleus ist es mit dem Trommelfell verbunden, das durch die über den Gehörgang eintretenden Luftschallwellen in Schwingung versetzt wird. Über den Incus werden die Schwingungen auf den Stapes übertragen, der mit dem ovalen Fenster der Cochlea verbunden ist. Das Mittelohr übernimmt die (für das sensitive Luftschallhören essenzielle) Funktion der Impedanzanpassung bei der Schwingungsübertragung zwischen Luft (Gehörgang) und Flüssigkeitsraum (Cochlea). Ohne diesen Mechanismus würde ein Großteil der Schallenergie vom ovalen Fenster reflektiert werden.

Eine externe Schallstimulation führt also zu einer Auslenkung des ovalen Fensters und damit zu einer periodischen Verdichtung der Innenohrflüssigkeit in der Scala vestibuli. Der dabei entstehende Druckunterschied zur Scala tympani führt zu einer Auslenkung der dazwischenliegenden Basilarmembran. Das runde Fenster an der Basis der Scala tympani gewährleistet den notwendigen Druckausgleich.

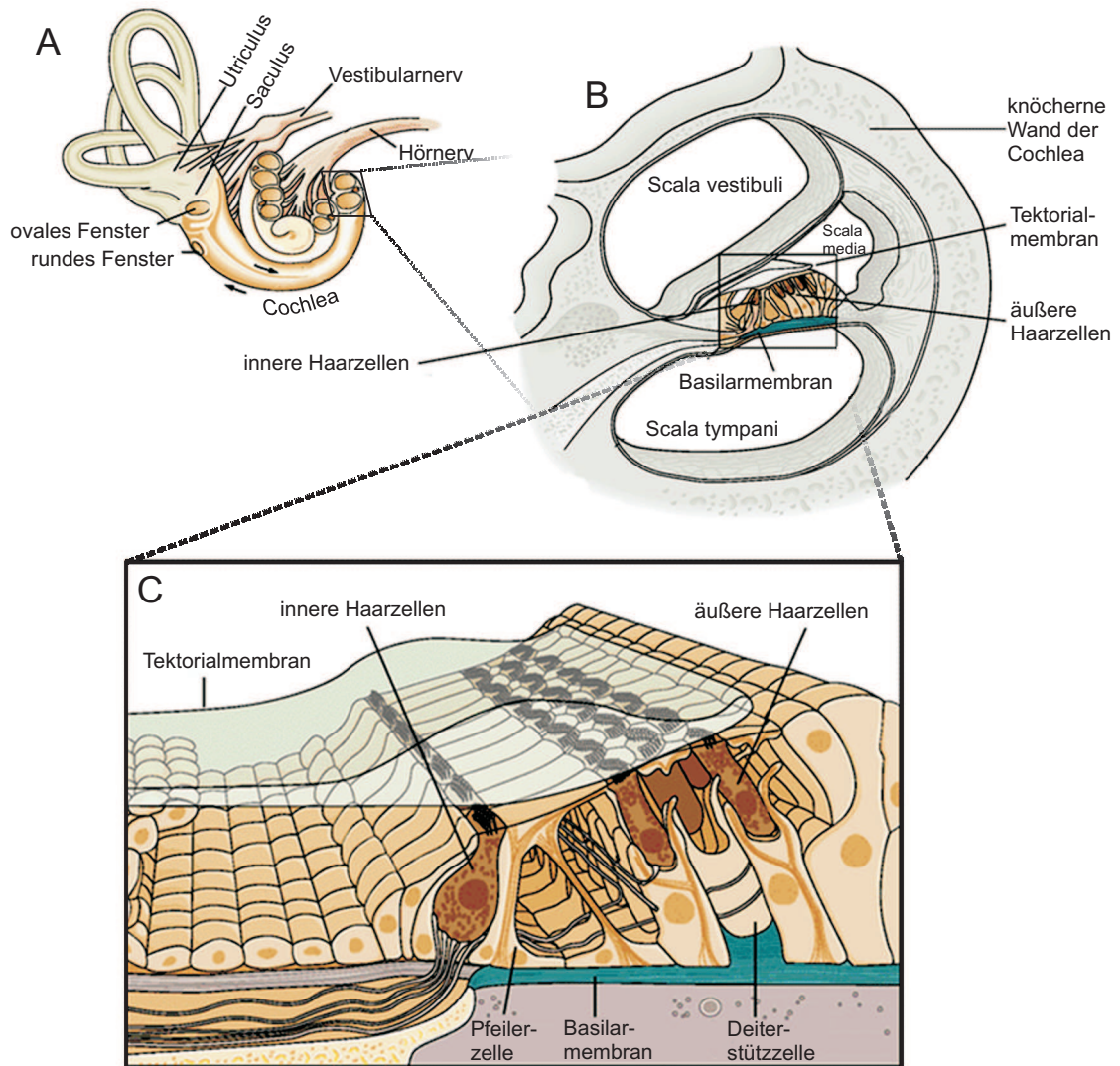


Abbildung 1.1: Aufbau des Innenohrs der Säugetiere. **A:** Übersicht des Innenohrs mit aufgeschnittener Cochlea. **B:** Querschnitt durch eine Windung der Cochlea. **C:** Detailansicht des auf der Basilarmembran sitzenden cortischen Organs. Verändert nach: Hudspeth (2000)

Die mechanischen Eigenschaften der Basilarmembran sind nicht uniform, sondern ändern sich graduell über die Länge der Cochlea. Die Dicke und Breite der Basilarmembran nimmt von der Basis bis zum Apex hin kontinuierlich zu, wodurch ein Gradient abnehmender Steifigkeit entsteht. Dadurch ändern sich auch die Resonanzeigenschaften der Basilarmembran und von der Basis zum Apex hin entsteht ein Gradient abnehmender Resonanzfrequenzen. Aufgrund dieser mikromechanischen Besonderheiten induziert eine über das Mittelohr übertragene Schwingung eine Wanderwelle auf der Basilarmembran, die ausgehend von der Basis in Richtung Apex der Cochlea läuft. Die Amplitude der Wanderwelle nimmt dabei stetig zu, während die Wellenperiode kürzer wird. Am spezifischen Resonanzort erreicht die Amplitude der Wanderwelle ihr Maximum und ebbt danach schnell ab. Die einzelnen Frequenzkomponenten eines komplexen Klangs werden dadurch räumlich aufgetrennt, da sie je nach Frequenz einen anderen Resonanzort (charakteristischer Frequenzort; CF-Ort) auf der Basilarmembran in maximale Schwingung versetzen. Es entsteht eine geordnete Anordnung der Frequenzen auf der Basilarmembran, das mechanische Equivalent einer mathematischen Fourier-Transformation. Diese geordnete Anordnung der Frequenzen, die auch Tonotopie bezeichnet wird, ist ein generelles Merkmal des Hörsystems der Säugetiere und wird in den meisten auditorischen Zentren des Gehirns aufrechterhalten.

1.2 Der Transduktionsprozess

Auf der Basilarmembran sitzt das Cortische Organ, welches drei Reihen äußerer und eine Reihe innerer Haarzellen beherbergt. Haarzellen sind sensorische Epithelzellen, die auf ihrer apikalen Membran V-förmig angeordnet Bündel von Sinneshärchen (Stereovilli) tragen. Haarzellen haben die Fähigkeit mechanische Bewegung in elektrische Potenzialänderungen zu wandeln. Die inneren Haarzellen sind die Sinneszellen des Innenohrs, die hauptsächlich für die Schalltransduktion verantwortlich sind, und werden massiv von afferenten Nervenfasern des Hörnervs innerviert (Typ-I-Hörnervfasern). Dagegen besteht die Funktion der äußeren Haarzellen weniger in der Transduktion der Schallwellen in einen neuronalen Code, als in der aktiven Verstärkung der Basilarmembranschwingung (siehe unten). Ihre afferente Innervierung ist deutlich schwächer ausgeprägt (Typ-II-Hörnervfasern). Verschiedene Stützzellen, die auf der Basilarmembran aufsitzen, bilden ein starres Gerüst für die Haarzellen und formen, zusammen mit ihnen eine ionendichte Platte auf ihrer Oberfläche, die Lamina reticularis, aus der lediglich die Stereovillibündel der Haarzellen in die Endolymphe der Scala media hineinreichen. Pfeilerzellen formen einen steifen Längstunnel entlang der Basilarmembran und bilden eine Art Drehpunkt während der Basilarmembranauslenkung. Durch diese Anordnung kommt es bei der Auslenkung der Basilarmem-

bran zu einer Verschiebung der Basilarmembran gegen die darüber liegende Tektorialmembran, welche einen anderen Drehpunkt hat.

Das längste der Stereovilli der äußeren Haarzelle ist mit der Tektorialmembran verbunden und wird deshalb während der Verschiebung von Basilarmembran und Tektorialmembran direkt ausgelenkt. Alle weiteren Stereovilli sind über dünne Proteinfäden, sogenannte „Tip-Links“, mit dem jeweils nächstlängeren Stereovilli verbunden, sodass alle Stereovilli bei einer Scherung des Bündels zusammen ausgelenkt werden. Die Stereovilli der inneren Haarzellen sind nicht mit der Tektorialmembran verbunden und werden indirekt, durch eine bei der Verschiebung von Tektorialmembran und Basilarmembran entstehende Strömung der Endolymphflüssigkeit, ausgelenkt.

Die hohe K^+ -Ionen Konzentration der Endolymphflüssigkeit in der Scala media, die durch die Zellen der Stria vascularis aufrechterhalten wird, und im Kontrast zur niedrigen K^+ -Ionen Konzentration der Perilymphe steht, bildet sozusagen die Batterie des Transduktionsprozesses. Die Haarzellen werden auf ihrer baso-lateralen Seite von Perilymphe umspült, während nur ihre Stereovilli in die K^+ reiche Endolympe hineinragen. Dadurch ergibt sich eine Potenzialdifferenz von 120-160 mV zwischen Endolymphpotenzial und Ruhepotenzial der Haarzelle (Dallos, 1992).

Werden nun die Haarbündel in die Richtung des längsten Stereovilli ausgelenkt, so öffnen sich vermehrt Kationenkanäle, die im apikalen Bereich der Stereovilli sitzen. Getrieben vom elektrochemischen Gradienten strömen daraufhin K^+ -Ionen und Ca^{2+} -Ionen in die Zelle ein. Das Membranpotenzial der Zelle erhöht sich, die Zelle wird depolarisiert und es entsteht ein Rezeptorpotenzial. Bei einer Auslenkung der Stereovilli in die entgegengesetzte Richtung schließen sich die Ionenkanäle, auch solche, die in Ruheposition geöffnet waren. Dadurch sinkt das Membranpotenzial unter das Ruhepotenzial der Zelle und die Zelle wird hyperpolarisiert. Im Falle der inneren Haarzellen sind die depolarisierenden Komponenten des Rezeptorpotenzials sehr viel stärker als die hyperpolarisierenden.

In den inneren Haarzellen bewirkt die Änderung des Rezeptorpotenzials eine, über spannungssensitive Ca^{2+} -Kanäle der baso-lateralen Membran vermittelte, Ausschüttung des Neurotransmitters Glutamat an der sogenannten Ribbon-Synapse. Durch die Freisetzung des Neurotransmitters in den synaptischen Spalt werden Aktionspotenziale in den nachgeschalteten Neuronen des Spiralganglions ausgelöst. Da jedes Neuron des Spiralganglions nur eine einzelne innere Haarzelle innerviert, reflektiert die neuronale Antwort in einer einzelnen Hörnervfaser auch nur die Basilarmembranschwingung an einem spezifischen Ort. Jede Hörnervfaser hat also eine charakteristische Frequenz auf die sie am sensitivsten reagiert und die der Resonanzfrequenz des von ihr innervierten Ortes auf der Basilarmembran entspricht. Die Tonotopie der Cochlea bleibt damit erhalten und wird an die nachfolgenden neuronalen Strukturen 'vererbt'.

Bis zu einer Frequenz von ca. 3 kHz ist das Auftreten der Aktionspotenziale im Hörnerv an die Phase der Basilarmembranschwingung gekoppelt, wodurch eine zusätzliche Repräsentation der Frequenz eines Stimulus in der neuronalen Aktivität erhalten bleibt (Zeitkodierung). Für höhere Frequenzen besteht keine Phasenkopplung und die Frequenzinformation wird ausschließlich über die Tonotopie weitergegeben (Ortskodierung).

Die Intensität eines Schallstimulus wird durch die Aktionspotenzialrate in den Hörnervfasern kodiert. Höhere Schallpegel führen zu einer höheren Aktionspotenzialrate in den erregten Hörnervfasern. Zusätzlich erregen höhere Stimuluspegel mehr Nervenfasern, was ebenfalls zur Kodierung der Stimuluslautstärke beitragen kann.

1.3 Der cochleäre Verstärker

Die ersten direkten Messungen der Basilarmembranschwingung wurden von Georg von Békésy an menschlichen Kadavern durchgeführt. Er wies als Erster die Auftrennung der Frequenzen entlang der Cochlea und die damit verbundene Wanderwelle nach und erhielt für seine Arbeiten 1961 den Nobelpreis für Physiologie und Medizin.

Die Idee einer 'passive' Wanderwelle, die einzig auf einem mikromechanischen Gradienten entlang der Basilarmembran beruht, kann allerdings die hohen Amplituden und scharfen Frequenzabstimmungen der Basilarmembranschwingung am Resonanzort in einer lebenden Cochlea nicht erklären. Ein aktiver Verstärkungsprozess, dessen Motor die äußeren Haarzellen sind, ist notwendig, um die beobachtete Sensitivität und Frequenzselektivität zu erreichen (eine exzellente Übersicht geben die Artikel von: Robles und Ruggero (2001); Eguiluz et al. (2000)).

Äußere Haarzellen haben die Fähigkeit ihre Länge spannungsabhängig zu ändern, weshalb sie als 'elektromotil' bezeichnet werden (Brownell et al., 1985). Das Protein 'Prestin', welches in der lateralen Zellmembran der äußeren Haarzellen (nicht aber der inneren Haarzellen) eingelagert ist, ist der molekulare Motor dieser Elektromotilität. Prestin gehört zur Familie der Anionentransporter und kann seine Konformation spannungsabhängig sehr schnell ändern, ist allerdings nicht mit anderen, 'langsameren' Motormolekülen wie z. B. Myosin verwandt (Ashmore, 2002).

Wie oben beschrieben, ändert sich das Membranpotenzial der Haarzellen während der Transduktion der Basilarmembranschwingung. Durch die von Prestin vermittelte Elektromotilität kommt es dabei zu einer, zyklischen und an die Phase der Basilarmembranschwingung gekoppelten, Längenänderung der äußeren Haarzellen. Da die äußeren Haarzellen über ein starres Gerüst von Hilfszellen mit der Basilarmembran verbunden sind, wird

die durch ihre Elektromotilität generierte Energie in das schwingende System zurückführt, wodurch sich die Amplitude der Basalmembranschwingung erhöht. In Experimenten konnte gezeigt werden, dass die zyklische Längenänderung der äußeren Haarzellen extern applizierten Spannungsänderungen bis zu sehr hohen Frequenzen (80 kHz) folgen kann (Frank et al., 1999). Dieses System wird als cochleärer Verstärker bezeichnet und seine Funktion ist abhängig von der Vitalität der Cochlea (Dallos, 1992). Neben dem Beschriebenen, durch Prestin vermittelten Verstärkungsmechanismus, gibt es wahrscheinlich noch andere Mechanismen zur aktiven Schallverstärkung in Hörorganen. So haben auch Hörorgane von Tieren, die keine äußeren Haarzellen und kein Prestin besitzen, eine hohe Sensitivität und gute Frequenzauflösung (Dallos et al., 2006). Über eine Beteiligung der Stereozilienbündel der Haarsinneszellen, bei der aktiven Verstärkung von Schallschwingungen, wird diskutiert (Martin et al., 2000). Auch bei den Hörorganen der Insekten konnten Hinweise auf aktive Verstärkungsmechanismen gefunden werden (Göpfert et al., 2005; Kössl und Coro, 2006).

Ein entscheidendes Merkmal des cochleären Verstärkers ist sein stark nichtlineares Verhalten. Diese Nichtlinearität führt bei leisen Stimuluspegeln zu einer überproportional großen Verstärkung des Signals. Bei weiter steigendem Stimuluspegel sinkt der Verstärkungsfaktor und es entsteht eine Kompression der mechanischen Anregung des Cortiorgans. Durch diese stark nichtlineare Verarbeitungscharakteristik wird der Dynamikbereich, der vom Hörsystem repräsentierten Stimulusintensitäten, deutlich erhöht (Oxenham und Bacon, 2003).

1.4 Nichtlineare Verzerrungen und cochleäre Verzerrungsprodukte

Bei der Verarbeitung eines Signals durch einen Verstärker mit nichtlinearer Kennlinie wird das Eingangssignal jedoch nicht nur verstärkt, sondern auch seine spektrale Zusammensetzung verändert. Es entstehen so genannte nichtlineare Verzerrungen, die im Eingangssignal nicht vorhanden sind. Mathematisch lassen sich diese zusätzlichen Frequenzkomponenten mit Hilfe einer Taylor-Reihe erklären, mit der die nichtlineare Kennlinie des Verstärkers beschrieben wird:

$$y = a_0 + a_1x + a_2x^2 + a_3x^3 + a_4x^4 + \dots \quad (1.1)$$

Hierbei sei x das Eingangssignal und y das Ausgangssignal. Da die Koeffizienten höherer Ordnung sehr klein sind und das Glied a_0 nicht zur Nichtlinearität beiträgt, reicht die folgende Formel zur Beschreibung der Kennlinie eines nichtlinearen Verstärkers aus:

$$y = a_1x + a_2x^2 + a_3x^3 \quad (1.2)$$

Für ein einzelnes Reinton $x(t) = A\cos(ft)$ als Eingangssignal ergibt sich:

$$y = a_1A\cos(ft) + a_2A^2\cos^2(ft) + a_3A^3\cos^3(ft) \quad (1.3)$$

Mit den Rechenregeln für die Potenzen der Winkelfunktionen

$$\cos^2(f) = \frac{1}{2}[1 + \cos(2f)] \quad (1.4)$$

$$\cos^3(f) = \frac{1}{4}[3\cos(f) + \cos(3f)] \quad (1.5)$$

folgt

$$y = a_1A\cos(ft) + a_2\frac{A^2}{2}[1 + \cos(\underline{2f}t)] + a_3\frac{A^3}{4}[3\cos(ft) + \cos(\underline{3f}t)] \quad (1.6)$$

Durch die Nichtlinearität der Kennlinie treten also außer der im Ausgangssignal enthaltenen Frequenzkomponente f noch weitere Komponenten ($2f, 3f$; in der Formel 1.6 unterstrichen) auf, deren Frequenzen einem Vielfachen von f entsprechen. Diese Komponenten werden Oberschwingungen oder Harmonische genannt. Besteht das Eingangssignal aus zwei (oder mehr) Sinusschwingungen unterschiedlicher Frequenzen (f_1 und f_2), so entstehen bei der nichtlinearen Verstärkung neben den Oberschwingungen weitere Komponenten die als Kombinationschwingungen bezeichnet werden. Für zwei Sinusschwingungen $x(t) = A_2\cos(f_2t) + A_1\cos(f_1t)$ als Eingangssignal der Gleichung 1.1 ergibt sich:

$$\begin{aligned} y = & a_1[A_2\cos(f_2t) + A_1\cos(f_1t)] + \\ & a_2[A_2\cos(f_2t) + A_1\cos(f_1t)]^2 + \\ & a_3[A_2\cos(f_2t) + A_1\cos(f_1t)]^3 \end{aligned} \quad (1.7)$$

mit Hilfe der Binomischen Formel läßt sich die Gleichung auflösen nach:

$$\begin{aligned} y = & a_1[A_2\cos(f_2t) + A_1\cos(f_1t)] + \\ & a_2[A_2^2\cos^2(f_2t) + 2A_2\cos(f_2t)A_1\cos(f_1t) + A_1^2\cos^2(f_1t)] + \\ & a_3[A_2^3\cos^3(f_2t) + 3A_2^2\cos^2(f_2t)A_1\cos(f_1t) + 3A_2\cos(f_2t)A_1^2\cos^2(f_1t) + A_1^3\cos^3(f_1t)] \end{aligned} \quad (1.8)$$

bzw.

$$\begin{aligned}
 y = & a_1 A_2 \cos(f_2 t) + a_1 A_1 \cos(f_1 t) + \\
 & a_2 A_2^2 \cos^2(f_2 t) + \underline{2 a_2 A_2 \cos(f_2 t) A_1 \cos(f_1 t)} + a_2 A_1^2 \cos^2(f_1 t) + \\
 & a_3 A_2^3 \cos^3(f_2 t) + \underline{3 a_3 A_2^2 \cos^2(f_2 t) A_1 \cos(f_1 t)} + \underline{3 a_3 A_2 \cos(f_2 t) A_1^2 \cos^2(f_1 t)} + a_3 A_1^3 \cos^3(f_1 t)
 \end{aligned} \tag{1.9}$$

mit der Rechenregel für die Produkte der Winkelfunktion

$$\cos(f_2) \cos(f_1) = \frac{1}{2} [\cos(f_2 + f_1) + \cos(f_2 - f_1)] \tag{1.10}$$

folgt für die unterstrichenen Teile der Gleichung 1.9:

$$2 a_2 A_2 A_1 \cos(f_2 t) \cos(f_1 t) = a_2 A_2 A_1 \cos[(f_2 + f_1)t] + \cos[(f_2 - f_1)t] \tag{1.11}$$

und

$$3 a_3 A_2^2 A_1 \cos^2(f_2 t) \cos(f_1 t) = \frac{3}{2} a_3 A_2^2 A_1 \left\{ \cos(f_1 t) + \frac{\cos[(2f_2 + f_1)t]}{2} + \frac{\cos[(2f_2 - f_1)t]}{2} \right\} \tag{1.12}$$

$$3 a_3 A_2 A_1^2 \cos(f_2 t) \cos^2(f_1 t) = \frac{3}{2} a_3 A_2 A_1^2 \left\{ \cos(f_2 t) + \frac{\cos[(2f_1 + f_2)t]}{2} + \frac{\cos[(2f_1 - f_2)t]}{2} \right\} \tag{1.13}$$

Bei der Verstärkung von zwei Sinusschwingungen unterschiedlicher Frequenzen durch einen Verstärker mit nichtlinearer Kennlinie treten also neben den Oberschwingungen weitere Frequenzkomponenten (unterstrichen in Gleichung 1.11, 1.12 und 1.13) auf, die aus einer Kombination der Ursprungsfrequenzen bestehen und deshalb als Kombinationsschwingungen bezeichnet werden. Die Kombinationsschwingungen der Form $f_2 \pm f_1$ stammen von dem quadratischen Anteil ($a_2 x^2$) der Gleichung, während die Kombinationsschwingungen der Form $2f_1 \pm f_2$ und $2f_2 \pm f_1$ vom kubischen Anteil ($a_3 x^3$) der Gleichung stammen. Da die Kombinationsschwingungen eine Verzerrung des Ursprungssignals darstellen, werden sie auch als Verzerrungsprodukte bezeichnet.

In Abbildung 1.2 ist die Entstehung von Verzerrungsprodukten während der nichtlinearen Verstärkung von zwei Sinuswellen in einem Modell dargestellt. Die nichtlineare Verstärkerfunktion ist in diesem Fall eine einfache Exponentialfunktion, deren Parameter an das Modell angepasst wurden. Die Spektralanalyse des verstärkten Ausgangssignals macht die Verzerrungsproduktkomponenten sichtbar (Abb. 1.2.E), die in der Spektralanalyse des

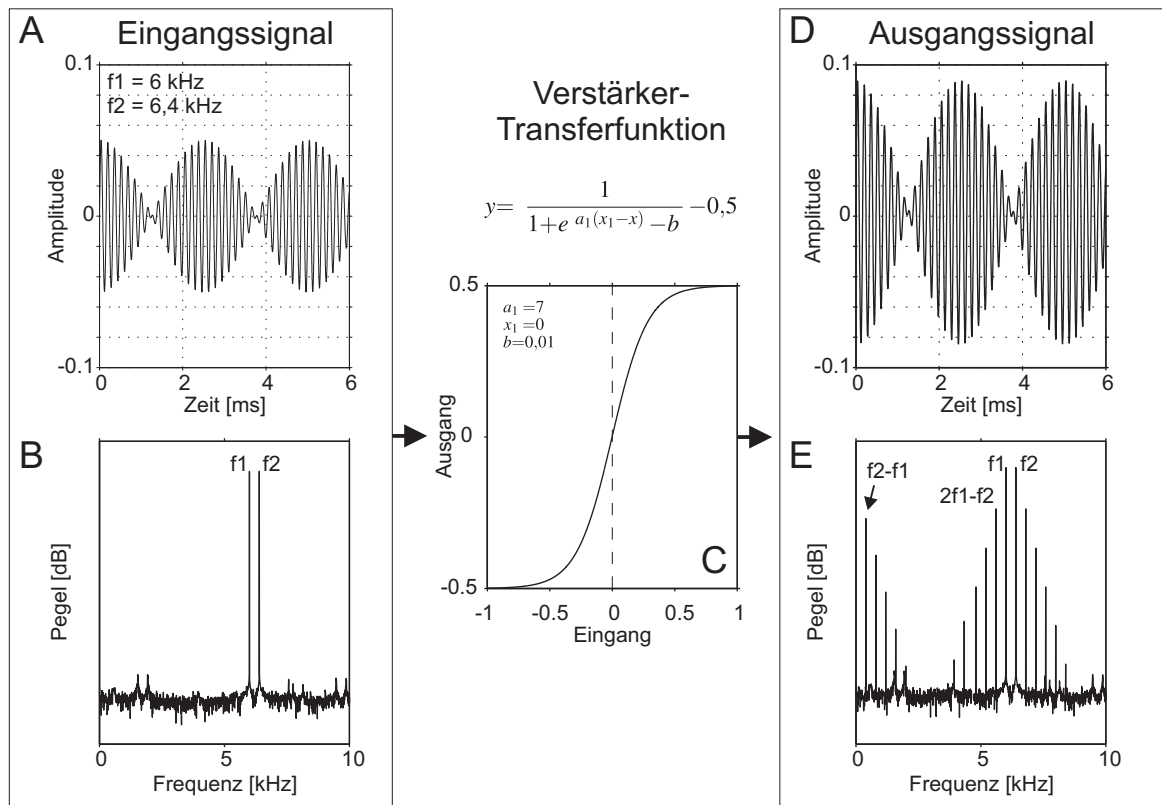


Abbildung 1.2: Modell der nichtlinearen Verstärkung zweier Sinusschwingungen. **A:** Wellenform des Eingangssignals bestehend aus zwei Sinusschwingungen (f_1 und f_2). **B:** Spektrum des Eingangssignals. **C:** Nichtlineare Transferfunktion des Verstärkers. **D:** Wellenform des durch den Verstärker in C verstärkten Signals. **E:** Spektrum des verstärkten Signals. Die Verzerrungsprodukte $f_2 - f_1$ und $2f_1 - f_2$ sind gekennzeichnet.

Eingangssignals fehlen (Abb. 1.2.B). Die beiden prominentesten Verzerrungsprodukte sind das kubische Verzerrungsprodukt mit der Frequenz $2f_1-f_2$ und das quadratische Verzerrungsprodukt mit der Frequenz f_2-f_1 .

Wie oben bereits erwähnt, hat der cochleäre Verstärker eine stark nichtlineare Transfercharakteristik (Géléoc et al., 1997), weshalb in der Cochlea nichtlineare Verzerrungen entstehen können. Wird das Gehör beispielsweise durch zwei Reintöne unterschiedlicher Frequenzen (f_1 und f_2 , $f_1 < f_2$) stimuliert, breiten sich zwei Wanderwellen in der Cochlea aus, die beide an ihrem spezifischen Resonanzort ihre maximale Amplitude haben. Sind die Stimulusfrequenzen so gewählt, dass die beiden Wanderwellen auf der Basilarmembran teilweise überlappen, so werden in diesem Überlappungsbereich beide Sinusschwingungen gleichzeitig durch den cochleären Verstärker verstärkt. Dabei entstehen nichtlineare Verzerrungsprodukte.

Diese Verzerrungsprodukte können als direkte Basilarmembranschwingung im Überlappungsbereich der Stimuluswanderwellen nachgewiesen werden (Nuttall und Dolan, 1993; Rhode, 2007). Sie breiten sich allerdings auch als Druckwelle in der Flüssigkeit der Cochlea aus (Ren, 2004) und werden über das Mittelohr in den Gehörgang übertragen, wo sie als akustische Emissionen messbar sind (Kemp, 2002). Man nennt diese aus dem Innenohr stammenden und im Gehörgang messbaren Töne auch otoakustische Emissionen. Handelt es sich bei den Emissionen um Verzerrungsprodukte, die durch die nichtlineare Verstärkung der Stimulustöne in der Cochlea hervorgerufen wurden, so spricht man von Verzerrungsprodukt Otoakustischen Emissionen (engl. Distortion Product Otoacoustic Emissions, kurz: DPOAE). Daneben gibt es noch eine Reihe weiterer Typen von otoakustischen Emissionen, die hier nicht genauer betrachtet werden. Allen otoakustischen Emissionen ist allerdings gemein, dass ihre Amplitude vom physiologischen Zustand der Cochlea abhängt. Wird beispielsweise die K^+ -Ionenkonzentration der Endolymphe pharmakologisch reduziert, und damit die treibende Kraft des cochleären Verstärkers beeinträchtigt, so verschwinden die DPOAE innerhalb kürzester Zeit (Rübsamen et al., 1995). Aus diesem Grund sind otoakustische Emissionen zu einem wichtigen Werkzeug für die nichtinvasive Erforschung und klinische Diagnose der Innenohrfunktion geworden (Kemp, 2002).

Da sich die Verzerrungsprodukte in beide Richtungen im Flüssigkeitsraum der Cochlea ausbreiten, bilden sie, vergleichbar mit einem externen Stimuluston identischer Frequenz, eine Wanderwelle an ihrem entsprechenden Resonanzort auf der Basilarmembran (Robles et al., 1997, 1991). Im Falle des kubischen ($2f_1-f_2$) und quadratischen (f_2-f_1) Verzerrungsproduktes liegt dieser Resonanzort apikal zu dem der Stimuluswanderwellen. Genau wie ein externer Stimuluston aktivieren sie den Transduktionsprozess und die nachfolgende neuronale Verarbeitung. Aus diesem Grund sind die Verzerrungsprodukte sowohl im Rezeptorpotenzial der inneren Haarzellen (Nuttall und Dolan, 1990, 1993) als auch in

der Aktivität einzelner Hörnervfasern nachweisbar (Buunen und Rhode, 1978; Kim et al., 1980; Kim, 1980).

1.5 Die Hörbahn

Die Fasern des Hörnervs enden im ipsilateralen Nucleus cochlearis (eng. Cochlear nucleus CN), der sich anatomisch in drei Kerngebiete unterteilen lässt: den anteroventralen Nucleus cochlearis (AVCN), den posteroventralen Nucleus cochlearis (PVCN) und den dorsalen Nucleus cochlearis (DCN). Die Hörnervfasern enden geordnet in den drei Kernen, wodurch in allen drei Unterkernen die tonotope Repräsentation der Frequenzen aufrechterhalten wird. Im Gegensatz zu den Typ-I-Neuronen des Hörnervs, die alle ungefähr die gleiche Zellmorphologie und Antwortigenschaften besitzen, variieren sowohl die morphologischen Eigenschaften als auch die Antwortigenschaften der Neurone im Nucleus cochlearis deutlich. Grundsätzlich sind die Antwortigenschaften der Neurone des AVCN relativ ähnlich zu den Eigenschaften der Hörnervfasern, während im PVCN und DCN zunehmend komplexere Antwortmuster zu finden sind. Die Zellen des PVCN und DCN projizieren hauptsächlich in die contralateralen Kerne des Lemniscus lateralis (LL) und Colliculus inferior (eng. Inferior colliculus; IC). Die Zellen des AVCN projizieren ebenfalls in den contralateralen LL und IC aber auch in die ipsilateralen Kerne des oberen Olivenkomplexes sowie den medialen Nucleus des Trapezkörpers.

Der Colliculus inferior ist die zentrale Schaltstelle zwischen den tiefer liegenden Kernen der Hörbahn und dem Thalamus und Kortex. Seine Struktur und Funktion wird weiter unten detailliert beschrieben. Der contralaterale auditorische Thalamus (Corpus geniculatum mediale, engl. Medial geniculate body MGB) erhält Projektionen aus dem contralateralen IC und leitet die Aktivität an den contralateralen, auditorischen Kortex weiter. Gleichzeitig erhält er massive modulatorische Rückprojektionen vom auditorischen Kortex, deren Anzahl die ausgehenden Verbindungen bei Weitem übertrifft (Winer und Schreiner, 2005). Der auditorische Kortex stellt schließlich die höchste Verarbeitungsebene der Hörbahn da. Der primäre auditorische Kortex ist von verschiedenen sekundären Kortexen umgeben (deRibaupierre, 1996), wobei die genaue Funktion der einzelnen Bereiche nur ansatzweise verstanden ist. Ein generelles Kennzeichen kortikaler Organisation scheint allerdings die Ausbildung einer kartographischen, flächigen Repräsentation verschiedener Stimulusmerkmale zu sein. Die tonotope Anordnung, die von der Peripherie ‘vererbt’ wird, ist dabei nur die offensichtlichste funktionelle Karte im auditorischen Kortex (Schreiner und Winer, 2007).

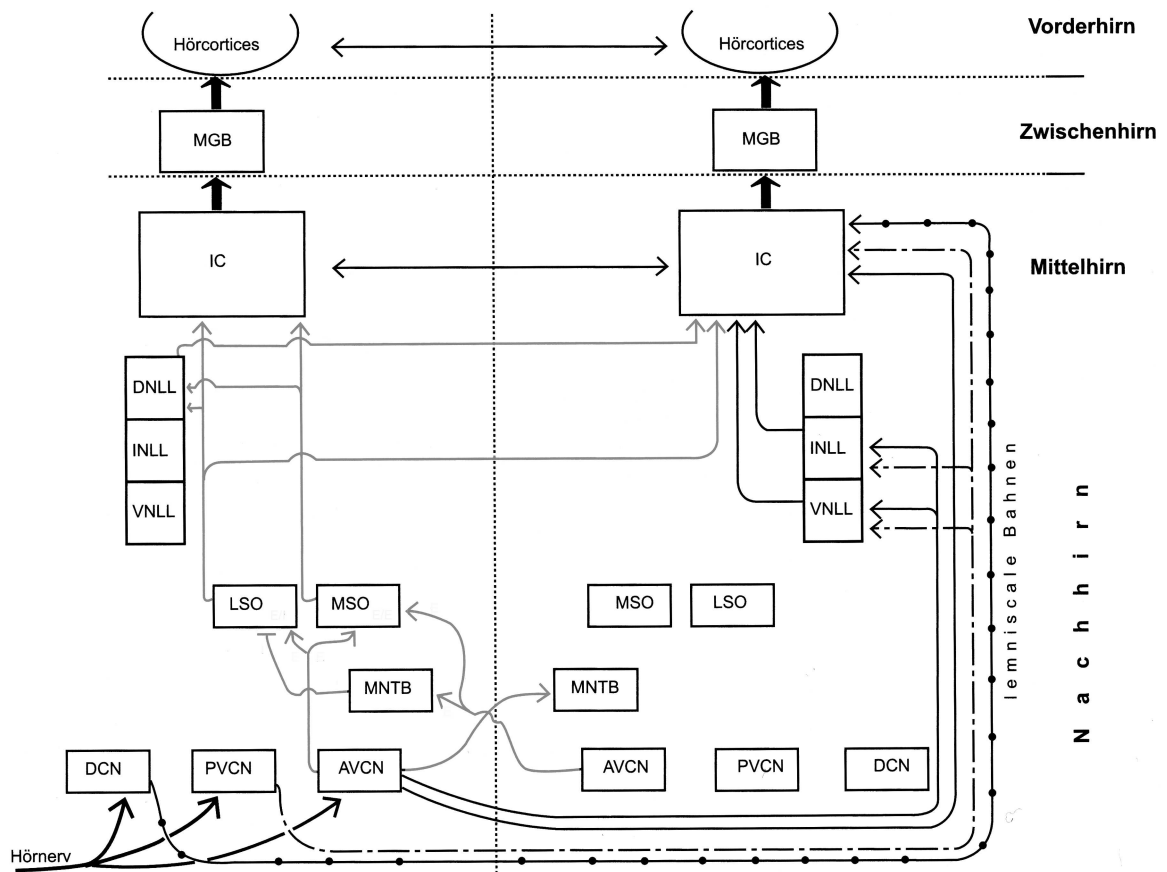


Abbildung 1.3: Aufsteigende Hörbahn der Säugetiere. *DCN*: dorsaler Nucleus cochlearis. *AVCN*: anteroventraler Nc. Cochlearis. *PVCN*: posteroventraler Nc. Cochlearis. *MNTB*: medialer Kern des Trapezkörpers. *LSO*, *MSO*: lateraler, medialer Kern der oberen Olive. *DNLL*, *INLL*, *VNLL*: dorsaler, intermediärer, ventraler Kern des Lemniscus lateralis. *IC*: Colliculus inferior; *MGB*: medialer Kern des Corpus geniculatum. Schwarze Pfeile zeigen monaurale Verbindungen, graue Pfeile zeigen binaurale Verbindungen. Verändert nach: Neuweiler und Heldmaier (2003).

1.6 Das auditorische Mittelhirn - der Colliculus inferior

Der Colliculus inferior ist das auditorische Zentrum im Mittelhirn. Er besitzt mehr Neurone als der cochleäre Nucleus, der obere oliven Komplex und der Lemniscus lateralis zusammen (Kulesza et al., 2002). Nahezu alle aufsteigenden, auditorischen Verbindungen müssen den IC auf ihrem Weg zum Kortex passieren. Während die neuronale Repräsentation eines akustischen Stimulus in der aufsteigenden Hörbahn ab dem Nucleus cochlearis stark divergiert, und damit eine massive Parallelverarbeitung des akustischen Signals in den einzelnen auditorischen Gehirngebieten des Hirnstamms stattfindet, konvergieren die meisten Verarbeitungswege wieder im IC, bevor sie über den Thalamus den Kortex erreichen.

Rückprojektionen vom auditorischen Kortex können die neuronale Verarbeitung im IC zusätzlich modulieren, sodass beispielsweise die rezeptiven Felder von IC Neuronen dynamisch vom Kortex verändert werden können (Winer, 2005). Zusätzlich sind die beiden IC über eine starke Kommissur miteinander verbunden, die entsprechende Frequenzschichten (siehe unten) miteinander verbindet (Malmierca et al., 1995). Auf diese Weise können die Antworteigenschaften von IC Zellen durch den contralateralen IC beeinflusst werden (Malmierca et al., 2003). Der Colliculus inferior ist also nicht nur eine einfache Schaltstation für akustische Informationen, sondern stellt ein Hauptverarbeitungszentrum der aufsteigenden Hörbahn dar.

Der Colliculus inferior erhält aber auch Eingänge von verschiedenen nicht auditorischen Sinnesmodalitäten. Diese Eingänge stammen beispielsweise aus somatosensorischen Kernen sowie Gehirngebieten, die für das Initiieren von Bewegungen verantwortlich sind. Außerdem projizieren Neurone des IC auch in nicht auditorische Gehirngebiete wie z. B. den Colliculus superior oder die pontinen Kerne (Thompson, 2005). Diese anatomischen Befunde sowie Versuche, bei denen durch elektrische oder chemische Stimulationen im IC ein Flucht- oder Abwehrverhalten ausgelöst werden konnte, deuten auf eine wichtige Funktion des IC beim Initiieren von schnellen Bewegungen hin (Brandão et al., 1999). Außerdem scheint der IC eine wichtige Rolle bei der Bewegung der Ohrmuschel zu haben, vergleichbar mit den schnellen Augenbewegungen, den Sakkaden, die durch den Colliculus superior gesteuert werden (Casseday et al., 2002).

1.6.1 Die Gliederung des Colliculus inferior

Anhand verschiedener histologischer Merkmale, wie z. B. Zelldichte, Zellgrößen und Anordnung der Dendriten lässt sich der Colliculus inferior in drei Hauptregionen gliedern: den Zentralkern (ICc), den dorsalen Kortex (ICdc) und den externen Kortex (ICX). Die größte

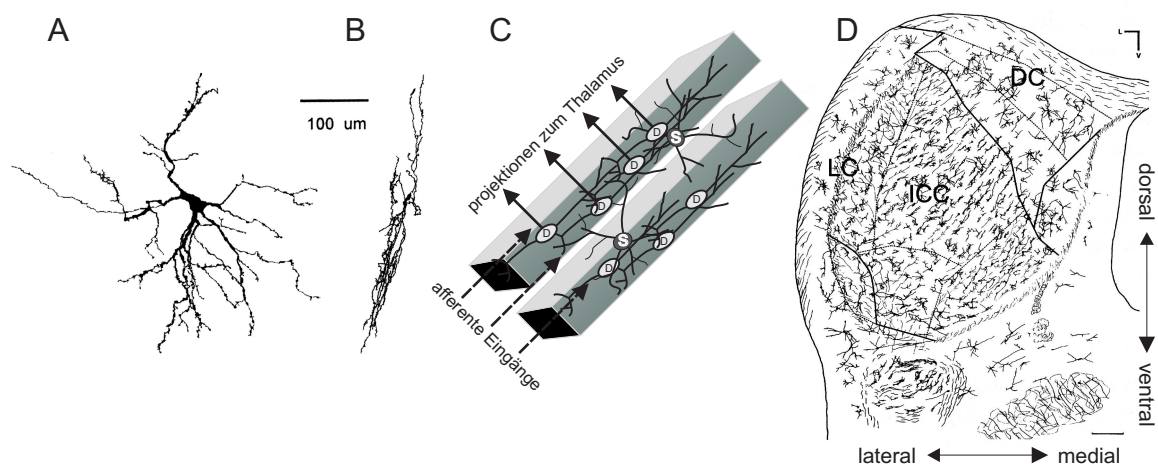


Abbildung 1.4: Anatomische Struktur des Zentralkerns des *Colliculus inferior*. **A:** Mit Meerrettichperoxidase angefüllte Prinzipalzelle. Verändert nach: Oliver (2005). **B:** Gleiche Zelle wie in A, allerdings um 90° orthogonal gedreht. **C:** Anordnung der Prinzipalzellen (D) entlang der Iso-Frequenzlaminas des Zentralkerns. Sternzellen (S) können mit ihrem Dendritenbaum mehrere Laminas überspannen. **D:** Skizze Coronalchnittes (Golgi-färbung) vom IC einer Katze. Der Zentralkern (ICC), der dorsale Kortex (DC) und der laterale Kortex (LC) des IC sind eingezeichnet. Die Orientierung der Dendriten im Zentralkern, entlang der Laminas (siehe C), ist zu erkennen. Verändert nach: Oliver (2005)

Region ist der Zentralkern des IC, der lateral vom ICX eingeschlossen und sowie dorsal und rostral von ICdc überdeckt wird (Abb. 1.4.D).

Anatomisch gesehen grenzt sich der Zentralkern des IC von den anderen Bereichen besonders durch das Auftreten von Schichten oder Laminas ab, die durch die parallele Anordnung von den Dendriten der IC Neurone und den Axonen der afferenten Neurone entstehen und deshalb auch fibro-dendritische Laminas genannt werden (Cant und Benson, 2006). Die parallel angeordneten und entlang der Schichten laufenden Dendriten stammen von den sogenannten ‘Prinzipalzellen’ oder scheibenförmigen Zellen (eng. Disc-Cells), der häufigsten Zellart im ICc. Der Dendritenbaum der Prinzipalzellen hat eine flache, kreisförmige Anordnung (Abb. 1.4.A-B) die innerhalb einer Schicht liegt, und sich kaum in dorso-ventraler Richtung, also aus der Schicht heraus, erstreckt (Oliver, 2005). Die Prinzipalzellen stellen mit ihren Axonen den wichtigsten erregenden Ausgang des ICc in den ipsilateralen auditorischen Thalamus dar (Wenstrup, 2005).

Der zweite prominente Zelltyp des ICc sind die ‘sternförmigen Zellen’, die einen Anteil von weniger als 25% ausmachen. Sie haben kleinere, kugelförmige Dendritenbäume die sich über die einzelnen Laminas hinweg erstrecken können (Oliver, 2005). Dadurch scheinen sie besonders für die Integration von komplexen, im IC verteilten, Signalrepräsentationen geeignet zu sein. Ein Beispiel dafür ist die Detektion von frequenzmodulierten Stimuli (Casseday et al. (2002), siehe unten).

1.6.2 Die Eingänge des Colliculus inferior

Nahezu alle ipsi- und contralateralen auditorischen Kerne des Hirnstamms projizieren in den IC (Ehret, 1996). Das bedeutet, dass ein Großteil der in den verschiedenen Kernen vorverarbeiteten auditorischen Informationen im IC gebündelt werden, bevor sie den auditorischen Thalamus und Kortex erreichen. Die meisten aufsteigenden Projektionen erhält der IC von den Neuronen des cochleären Nucleus, des oberen Oliven Komplexes und des Lemniscus lateralis (Cant, 2005). Beim cochleären Nucleus sind es vor allem die multipolaren Zellen des ventralen cochleären Nucleus aber auch die fusiformen Zellen und Riesenzellen des dorsalen cochleären Nucleus, die in den contralateralen IC projizieren. Diese Projektionen sind tonotop organisiert und enden größtenteils im zentralen Kern des Colliculus inferior (Cant und Benson, 2008). Hauptsächlich inhibitorische Projektionen (durch die Neurotransmitter Glycin und GABA vermittelt) erhält der IC aus den Kernen des Lemniscus lateralis.

Wie oben beschrieben, erhält der ICc außerdem modulatorische Rückprojektionen vom auditorischen Kortex. Diese enden verstärkt im dorsalen Teil einer fibrodendritischen La-

mina, während im ventralen Teil eher die aufsteigenden Projektionen der tiefer liegenden auditorischen Kerne enden (Casseday et al., 2002).

1.6.3 Die funktionelle Strukturierung des Colliculus inferior

Die offensichtlichste funktionelle Strukturierung des ICc ist die tonotope Anordnung der charakteristischen Frequenzen entlang der dorso-ventralen Achse des Zentralkerns. Nervenzellen mit tiefen charakteristischen Frequenzen sind dabei dorsal, Neurone mit hohen charakteristischen Frequenzen ventral angeordnet. Dadurch entstehen Schichten ähnlicher Frequenzen, auch Iso-Frequenz-Schichten genannt, die sich mit der anatomischen Anordnung der fibro-dendritischen Laminas decken.

Die charakteristische Frequenz an einer bestimmten rostro-caudalen und lateral-medialen Position im ICc ändert sich allerdings in dorso-ventraler Richtung, also orthogonal zu den Schichten nicht kontinuierlich, sondern schrittweise mit ca. 0,27 Oktaven pro Lamina (Schreiner und Langner, 1997, Malmierca et al., 2008). Innerhalb einer Lamina verläuft ein zusätzlicher, schwächerer Frequenzgradient, dessen Frequenzbereich ungefähr der Frequenzschrittweite zwischen zwei Laminas entspricht. Neurone mit höheren charakteristischen Frequenzen in einer Schicht liegen eher lateral, während Neurone mit tieferen charakteristischen Frequenzen am rostro-medialen Ende der Lamina angeordnet sind. Eine grafische Darstellung dieser von Schreiner und Langner (1997) vorgeschlagenen Frequenzaufteilung innerhalb des ICc ist in Abbildung 1.5.A dargestellt.

Ein weiterer Gradient innerhalb einer Lamina besteht in der Sensitivität der Neurone. Die höchste Sensitivität weisen die Neurone in der Mitte einer Frequenzlamina auf, was bedeutet, dass hier die niedrigsten Schallpegel zu einer neuronalen Antwort führen (Abb. 1.5.B). Mit zunehmender Entfernung vom Zentrum der Lamina nimmt die Sensitivität der Neurone ab (Ehret, 1996).

Ebenfalls konzentrisch ist die Abstimmsschärfe der Neurone angeordnet. Die höchste Abstimmsschärfe ist in der Mitte einer Frequenzlamina zu finden. Nach außen hin nimmt die Abstimmsschärfe ab, und die Neurone reagieren auf einen größeren Frequenzbereich (Ehret et al., 2003).

Neben dieser strukturierten Anordnung von besten Frequenzen, Abstimmsschärfen und Sensitivitäten, zeigen viele Neurone des IC noch weitere Spezialisierungen auf verschiedene komplexere Parameter eines Tons. Einige Neurone im IC weisen beispielsweise eine Selektivität für die Richtung einer Frequenzmodulation des Stimulus auf. Solche frequenzmodulierten Töne spielen beispielsweise bei der Wahrnehmung von Kommunikationslauten und Sprache eine entscheidende Rolle. Die Selektivität auf die Richtung der Frequenz-

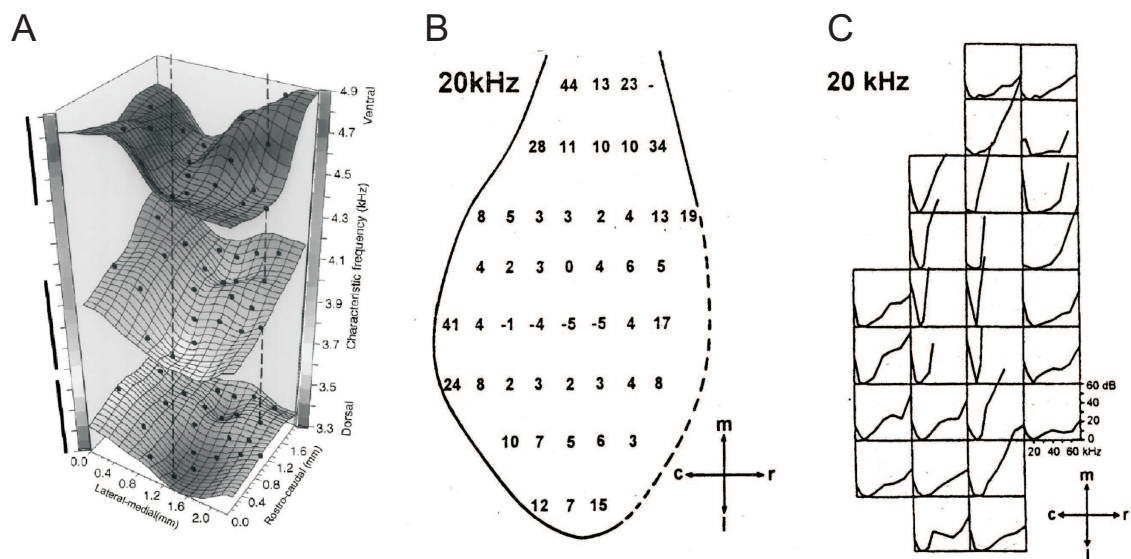


Abbildung 1.5: Funktionelle Strukturierung des ICc. **A:** Drei Frequenzlaminae im ICc der Katze. Ein schwacher Frequenzgradient von rostro-medial nach latero-caudal ist innerhalb der einzelnen Schichten zu erkennen. Aus: Schreiner und Langner (1997). **B:** Konzentrische Verteilung der neuronalen Schwellen (in dB SPL) innerhalb einer Frequenzlamina (20 kHz) im IC der Maus. Die höchste Sensitivität ist im Zentrum zu finden. Aus: Ehret (1996). **C:** Konzentrische Verteilung der neuronalen Abstimmbarkeit innerhalb einer Frequenzlamina. Jedes Kästchen zeigt eine Frequenz-Pegel-Abstimmkurve gemessen an der jeweiligen Position innerhalb einer Lamina. Höchste Abstimmbarkeiten sind im Zentrum zu finden. Aus: Ehret (1996)

modulation scheint konzentrisch in einer Lamina angeordnet zu sein: In der Mitte finden sich besonders Neurone, die auf abwärts frequenzmodulierte Töne reagieren, während nach außen hin zunehmend aufwärts selektive Neurone zu finden sind (Hage und Ehret, 2003). Wie oben bereits angedeutet, scheinen besonders die Sternzellen, die sich mit ihren großen Dendritenbäumen über mehrere Frequenzlaminae hinweg erstrecken können, für die Detektion von frequenzmodulierten Stimuli geeignet zu sein. Interessanterweise korreliert der beste Frequenzmodulationsbereich der Zellen stark mit der Größe ihres Dendritenbaums (Casseday et al., 2002).

Ein weiterer wichtiger Aspekt der neuronalen Verarbeitung im IC ist der Einfluss von inhibitorischen Eingängen auf die Aktivität der Neurone. Beispielsweise scheint die komplexe Form einiger rezeptiver Felder von IC Neuronen durch den Einfluss von inhibitorischen Eingängen erzeugt zu werden. Durch eine lokale Blockade der Inhibition, durch die Applikation der Antagonisten der inhibitorischen Neurotransmitter, konnten die komplexen neuronalen Antwortbereiche häufig in einfachere Antwortbereiche, wie sie z. B. bei Neuronen des Hörnervs vorkommen, überführt werden (LeBeau et al., 2001).

Inhibitorische Mechanismen könnten auch für die spektrale und oder temporale Integration von Tönen im IC verantwortlich sein. Besonders detailliert wurde das bei Fledermäusen untersucht, die aufgrund ihres Echoortungssystems absolute Spezialisten für die Analyse mehrerer, zeitlich nacheinander auftretender Tonkomponenten sind (Wenstrup und Leroy, 2001, Portfors und Wenstrup, 2002, Nataraj und Wenstrup, 2005).

Manche IC Neurone reagieren besonders gut bzw. ausschließlich auf neu auftretende oder sich ändernde Stimuli (Pérez-González et al., 2005). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der IC möglicherweise auch an einem subkortikalen System zur Fokussierung von Aufmerksamkeit und/oder zur Orientierung auf ein neues Geräusch hin beteiligt ist.

1.7 Fragestellung

Die neuronale Repräsentation von cochleären Verzerrungsprodukten ist bisher nur wenig untersucht worden. Viele ältere Arbeiten, in denen neuronale Korrelate cochleärer Verzerrungsprodukte gemessen wurden, beschäftigen sich vor allem mit der Repräsentation der Verzerrungsprodukte im Hörnerv oder Nucleus cochlearis, mit dem Ziel indirekt Aussagen über die Nichtlinearität der Cochlea machen zu können (Kim, 1980; Kim et al., 1980; Smoorenburg et al., 1976; Buunen und Rhode, 1978; Greenwood et al., 1976; Rajan, 1997). Einige wenige Arbeiten beschreiben neuronale Korrelate von cochleären Verzerrungsprodukten auf höheren Ebenen der Hörbahn, wie dem Colliculus inferior (McAlpine, 2004) oder dem auditorischen Thalamus (Horner et al., 1983). Im auditorischen Kortex wurden

neuronale Korrelate von cochleären Verzerrungsprodukten in nur einer Studie und indirekt mit Hilfe der Magnetoenzephalographie nachgewiesen (Purcell et al., 2007).

Diese geringe Anzahl an Studien zu neuronalen Verzerrungsproduktkorrelaten steht im krassen Gegensatz zu der großen Anzahl an Studien, die sich mit der Verarbeitung von komplexen auditorischen Signalen beschäftigen. Häufig sind die, in diesen Studien verwendeten, komplexen Stimuli aus mehreren spektralen Komponenten zusammengesetzt. Ein Beispiel dafür sind aktuelle Arbeiten, die sich mit der Repräsentation der Tonhöhe im Gehirn beschäftigen (Bendor und Wang, 2006; Bendor und Wang, 2005; Biebel und Langner, 2002; Schulze et al., 2002; Schulze und Langner, 1999; Schulze und Langner, 1997). Durch die Interaktion mehrerer Spektralkomponenten auf der Basilarmembran und die aktive Verstärkung des Innenohrs kann es bei der Stimulation mit komplexen Tönen zur Entstehung von cochleären Verzerrungsprodukten kommen. Eine Beteiligung cochleärer Verzerrungsprodukte an den gemessenen Ergebnissen kann deshalb häufig nicht ausgeschlossen werden (McAlpine, 2004).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die neuronalen Korrelate cochleärer Verzerrungsprodukte im Colliculus inferior der Wüstenrennmaus zu messen und diese mit den gleichzeitig im Gehörgang bestimmten otoakustischen Emissionen zu vergleichen. Durch den direkten Vergleich der Antwort einzelner Nervenzellen auf die intracochleären Verzerrungsprodukte mit den peripher gemessenen otoakustischen Emissionen der Verzerrungsprodukte sollen eventuelle Veränderungen der neuronalen Repräsentation der intracochleären Signale (beispielsweise eine veränderte Pegelrepräsentation) bestimmt werden.

Für diese Untersuchung wurde der Colliculus inferior als Zielgebiet gewählt, da er eine wichtige Rolle bei der zeitlichen und spektralen Integration komplexer Signale hat (Portfors und Felix, 2005; Portfors und Wenstrup, 2002, 1999; Braun, 2000). Weiterhin sind inhibitorische und fazitätierende Mechanismen im IC beschrieben, die die neuronale Antwort auf komplexe, aus mehreren Frequenzkomponenten bestehenden, Töne beeinflussen können (Portfors und Wenstrup, 2002; Portfors und Felix, 2005; Ehret und Schreiner, 2005). Für eine spezifische Verarbeitung von cochleären Verzerrungsprodukten, die eine spektrale Erweiterung des Stimulussignals darstellen, könnten diese neuronalen Eigenschaften eine gute Grundlage bieten.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstier

Die Versuche in der vorliegenden Arbeit wurden an der mongolischen Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*) durchgeführt.

Diese Rennmäuse sind in den Steppengebieten Zentralasiens beheimatet und leben dort in großen Kolonien zusammen. In den 1960er Jahren wurden die ersten Wildtiere gefangen und als Haus- und Versuchstier weitergezüchtet. Die Wüstenrennmaus eignet sich besonders gut für die physiologische Erforschung des Hörens, da ihr Hörbereich dem des Menschen ähnelt. Besonders die Sensitivität des Gehörs im tief frequenten Bereich übersteigt die anderer Kleinsäuger und ist vergleichbar mit der Sensitivität des menschlichen Gehörs in diesem Frequenzbereich. Es wurden Tiere beiderlei Geschlechts (13 männliche und 8 weibliche) im Alter zwischen 6 und 12 Monaten für die Versuche verwendet. Die Tiere stammten ausschließlich aus der institutseigenen Zucht. Das Gewicht der Tiere lag bei durchschnittlich 60 g und wurde vor jedem Versuch bestimmt.

2.2 Narkose

Während des gesamten Experiments befanden sich die Tiere unter Vollnarkose. Für die Narkose wurde eine 10:1-Mischung aus 50 mg/ml Ketamin (Ketavet, Pfizer) und 2 % Xylazin (Rompun, Bayer) verwendet. Die Initialdosis von 3 ml pro Kilogramm Körpergewicht wurde den Tieren subkutan zwischen die Hinterläufe injiziert. Während des Versuchs wurde die Narkose durch die kontinuierliche Injektion des Betäubungsmittels mit einer Rate von 30 µl pro Stunde aufrechterhalten. Die Dauerinjektion erfolgte subkutan und mit Hilfe einer automatischen Spritzenpumpe (Genie, Kent). Die Narkosetiefe wurde während des Versuchs in regelmäßigen Abständen überprüft. Hierzu wurden die Stärke des Zwischenzehenreflexes, die Respirationsrate sowie die Stärke der Schnurrhaarbewegungen herangezogen (Hjálmarsdóttir, 2005). Das Tier lag während des Versuchs auf einem regelbaren

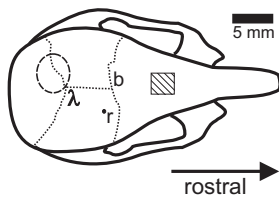


Abbildung 2.1: Skizze eines Gerbilschädels von oben. Die Schädelnähte (gepunktete Linien) mit den Schädelpunkten Lambda (λ) und Bregma (b) sind markiert. Der gestrichelte Kreis kennzeichnet die Schädelöffnung über dem linken *Colliculus inferior*. Die Position der Referenzelektrode ist mit r markiert. Das schraffierte Viereck markiert die Position des Metallstifts (siehe Text).

Heizkissen mit Thermostat (Harvard), sodass die Körpertemperatur konstant auf 37° Celsius gehalten werden konnte. Zur lokalen Betäubung des Operationsbereiches wurde dem Tier ca. 0,1 ml Xylazine (Lidocain 2%, Bayer) unter die Kopfhaut gespritzt.

2.3 Präparation

Die Kopfhaut in einem Bereich 0,5 cm rostral zu Bregma bis ca. 1 cm caudal zu Lambda sowie 1 cm lateral von der Mittellinie zu beiden Seiten hin entfernt und der freigelegte Knochen mit H_2O dest. und 90%igem Ethanol gesäubert. Der Kopf des Tieres wurde in einen stereotaktischen Halter eingespannt. Anschließend wurde die Orientierung des Kopfes so lange verändert, bis die Lambda-Bregma-Linie und die Linie zwischen den beiden Ohren des Tieres auf einer horizontalen Ebene lagen. In dieser Position wurde ein Metallstift mit Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer) über dem Bregma Punkt auf dem Schädel aufgeklebt. Nach Aushärten des Zahnzements konnte der stereotaktische Kopfhalter entfernt werden. Der Metallstift wurde in einem Haltearm festgeschraubt derart, dass der Kopf des Versuchstieres während des gesamten Versuches eine definierte Position und Orientierung einnahm. Ein kleines Loch mit ca. 0,5 mm Durchmesser wurde kurz hinter Bregma und 1,5 mm lateral von der Mittellinie in den Schädel gebohrt. Ein chlorierter Silberdraht, der als Referenzelektrode diente, wurde durch das Loch auf der Gehirnoberfläche platziert und das Loch anschließend mit Zahnzement verschlossen. In einem ca. 2 mm großen Bereich 1,5 mm caudal zu Lambda und 1,5 mm lateral von der Mittellinie auf der linken Seite wurde der Schädelknochen mit Hilfe eines Bohrers entfernt. Die Dura Mater wurde vorsichtig entfernt und die Gehirnoberfläche während des gesamten Versuches mit einer 0,9% NaCl-Lösung befeuchtet. Eine schematische Darstellung eines Gerbilschädels mit der Position der Öffnung ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

2.4 Aufbau des Stimulations- und Messsystems

Die akustische Stimulation und die Messung der otoakustischen Emissionen im Gehörgang des Tieres erfolgte über ein geschlossenes Kopplersystem, dessen Spitze dem Tier in den rechten Gehörgang eingeführt wurde. Die Kopplerspitze bestand aus zwei aneinander geklebten Pipettenspitzen aus Plastik (Eppendorf). Die eine der beiden Pipettenspitzen war mit einem Messmikrofon (Brüel&Kjær 4190), die andere mit drei Lautsprechern verbunden. Als Lautsprecher dienten drei revers betriebene 1/2 Zoll Kondensatormikrofone (Brüel&Kjær 4133). Das Kopplersystem war auf einem Mikromanipulator befestigt, der mit einem Hydraulikarm verbunden war, wodurch eine hohe Flexibilität bei der Positionierung des Kopplersystems gegeben war. Die Spitze des Kopplers wurde unter visueller Kontrolle mit Hilfe eines Operationsbinokulars ca. 1 mm vor dem Trommelfell platziert. Abbildung 2.2 gibt einen Überblick über das verwendete Kopplersystem.

Die Generierung der Stimulustöne und das Speichern und Visualisieren der akustischen und elektrophysiologischen Messdaten erfolgte digital mit Hilfe eines selbst erstellten Microsoft Windows Computerprogramms (Delphi, Borland). Die verwendete Computer Hardware zur Digital-Analog-Wandlung (Stimulus Generierung) und Analog-Digital-Wandlung (Messdaten Digitalisierung) bestand aus zwei synchron getakteten Messkarten (DAP 840 und DAP 4200, Microstar Laboratories), die in einem PC betrieben wurden. Dadurch standen insgesamt 4 analoge Ausgänge zur Verfügung von denen drei für die Generierung der Stimulationstöne verwendet wurden. Je ein analoger Eingang wurde für die Digitalisierung des akustischen und elektrophysiologischen Messsignals verwendet.

Jeder vom Computer generierte Stimulus wurde separat abgeschwächt (PA5, Tucker Davis Technologies) und anschließend verstärkt (Hochvoltverstärker, Eigenbau) bevor er von einem separaten Lautsprecher wiedergegeben wurde. Das mit dem Mikrofon im Gehörgang des Tieres gemessene akustische Signal wurde von einem Vorverstärker (Brüel&Kjær Type 2669C) und Messverstärker (Brüel&Kjær Type 2610) verstärkt. Anschließend wurde das Signal mit einer Rate von 100 kHz digitalisiert und gespeichert. Um definierte Schallpegel (dB re 20 μ Pa) bei der Stimulation sicher zu stellen, wurden die Lautsprecher vor jedem Versuch in einem Frequenzbereich zwischen 0,1 und 30 kHz *in vivo* im Gehörgang des Tieres kalibriert.

2.4.1 Elektrophysiologisches Messsystem

Die extrazelluläre elektrische Aktivität einzelner oder kleiner Gruppen von Nervenzellen wurde mit einer positionierbaren Mikroelektrode aufgezeichnet. Hierfür wurden entweder Wolfram-Metallelektroden (WPI, 2 M Ω) oder mit Kaliumchloridlösung (3M KCl) gefüllte

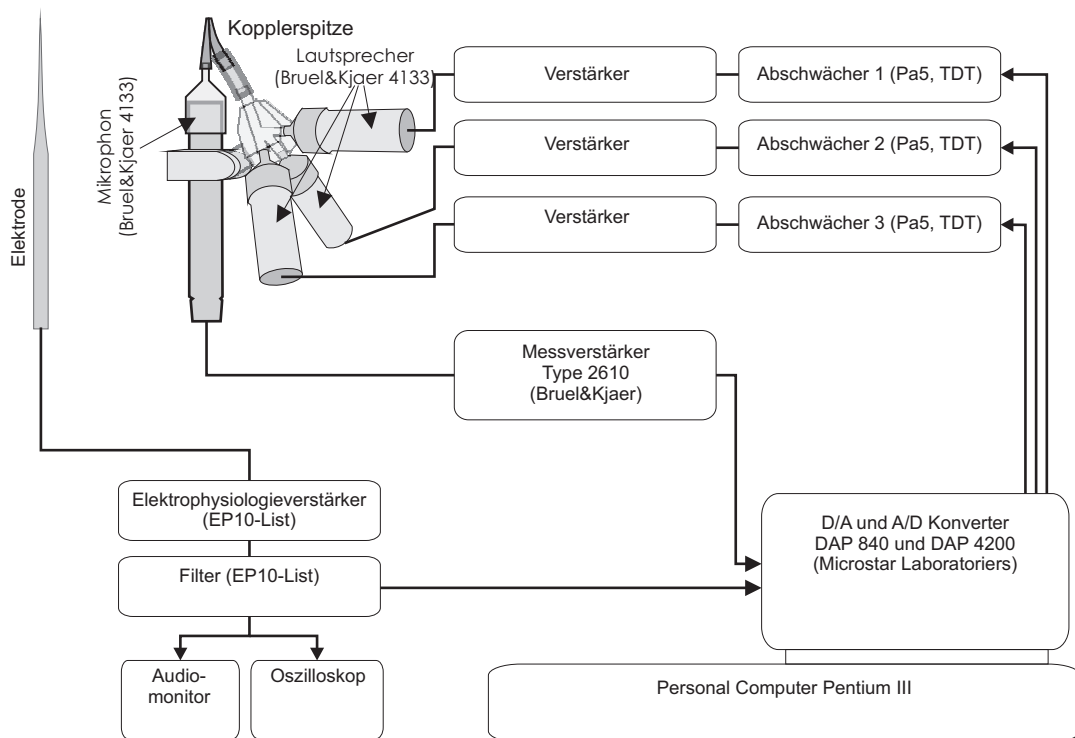


Abbildung 2.2: Versuchsaufbau zur akustischen Stimulation, zur Messung extrazellulärer neuronaler Potenziale und zur Messung von otoakustischen Emissionen im Gehörgang.

Glaselektroden (2-6 M Ω) verwendet. Die Elektroden waren an einem Mikromanipulator mit Piezo-Vortrieb (PM 10-1, Marzhauser) befestigt und wurden auf der freigelegten Hirnoberfläche positioniert. Dabei war der Mikromanipulator in einem Winkel von 30° nach dorsal gekippt, wodurch die Elektrode eine Ausrichtung hatte, die ungefähr der dorso-ventralen Ausrichtung des *Colliculus inferior* entsprach. Über die elektronische Steuereinheit des Piezo-Vortriebs konnte die Elektrodentiefe bis auf 10 μ m genau eingestellt werden.

Die Messelektrode und die Referenzelektrode waren mit einem Elektrophysiologieverstärker (Electrode Amplifier L/M-1, List) verbunden, der das Signal 1000 fach verstärkte. Das Signal wurde in einem Frequenzbereich zwischen 150 Hz und 10000 Hz gefiltert (SR650, Stanford Research Systems) und bei Bedarf zusätzlich verstärkt. Anschließend wurde das Signal mit einer Rate von 100 kHz digitalisiert (A/D-Wandler, siehe oben) wobei nur jeder dritte Datenpunkt zur weiteren Analyse verwendet wurde, wodurch sich eine effektive Abtastrate von 33 kHz ergab.

Das digitalisierte Signal wurde mit der Messsoftware dargestellt und gespeichert. Alle Potentialmaxima, die einen einstellbaren Schwellenwert überschritten, wurden zunächst als Aktionspotentiale gewertet. Die Wellenform jedes Aktionspotentials wurde in einem Bereich von 0,4 ms vor bis 1,6 ms nach Schwellenübertritt extrahiert und zur weiteren Analyse abgespeichert.

2.4.2 Spike-Sorting

Die Qualität elektrophysiologischer Messungen mit extrazellulären Elektroden kann stark variieren. Es besteht die Möglichkeit, dass die Aktivität mehrerer Nervenzellen gleichzeitig und/oder Störsignale nichtneuronalen Ursprungs gemessen werden. Eine Methode, die gemessenen Aktionspotentiale mehrerer Nervenzellen voneinander zu trennen, liefert das sogenannte ‘Spike-Sorting’, also das Sortieren oder Klassifizieren der Aktionspotentialwellenformen. Des Weiteren können auf diese Weise relativ verlässlich Störsignale aus dem Datensatz entfernt werden. Es gibt eine Vielzahl von Methoden um Aktionspotentiale zu sortieren (siehe Lewicki, 1998), die hier angewandte wird im Folgenden beschrieben. Alle nachfolgenden Auswertungen wurden automatisiert und mit Hilfe der mathematischen Programmiersprache Matlab 6.5 (Mathworks) durchgeführt.

Die Wellenformen der Aktionspotentiale von allen ausgewerteten Messungen, aufgenommen an einer Elektrodenposition, wurden für die Sortierung herangezogen. Es wurde eine Hauptkomponentenanalyse (engl. ‘Principal Component Analysis’ kurz PCA) der Aktionspotentialwellenformen gerechnet und die errechneten ersten drei Faktoren jeder Wellenform als Koordinaten eines Vektors im drei dimensionalen Raum verwendet. In Ab-

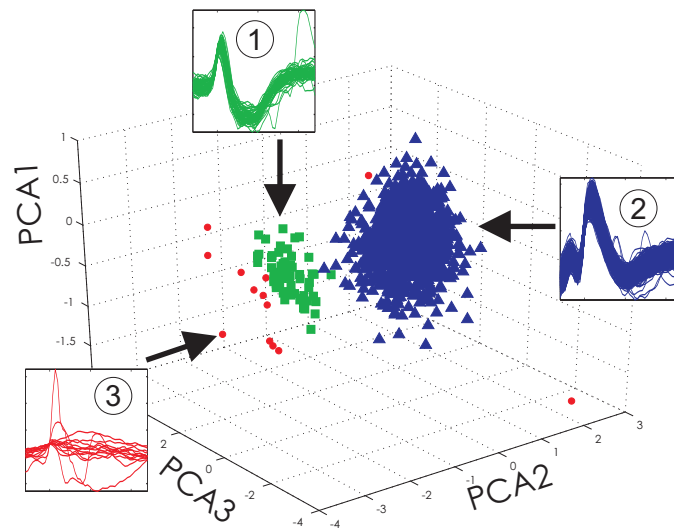


Abbildung 2.3: Auftrennung der Aktionspotentiale mehrerer Nervenzellen mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse. Die errechneten ersten drei Hauptkomponenten (PCA 1-3) der von unterschiedlichen Neuronen stammenden Aktionspotentiale (eingefügte Grafiken 1 und 2) bilden klar abgegrenzte Punktheufen, wenn sie in einem 3-dimensionalen Koordinatensystem dargestellt werden. Ein automatischer Cluster-Algorithmus (siehe Text) trennt die Gruppen verlässlich nach statistischen Parametern auf. Die verbleibenden Aktionspotentialwellenformen (eingefügte Grafiken 3) wurden als Störsignale klassifiziert.

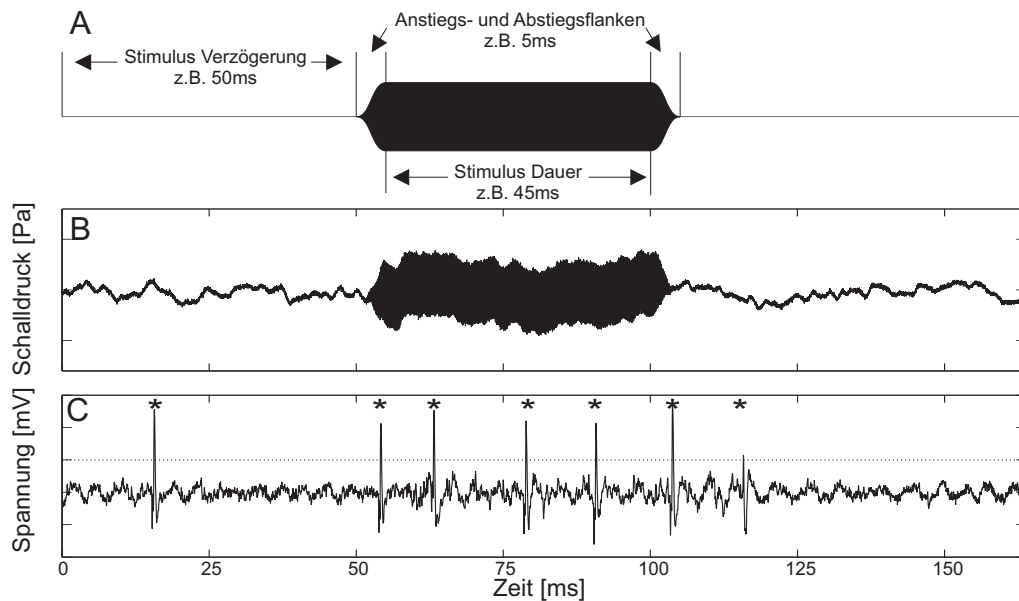


Abbildung 2.4: Akustischer Stimulus und gemessene akustische und elektrophysiologische Signale. **A:** Schematische Darstellung eines einzelnen Stimuluspulses. **B:** Während Einzeltonstimulation im Gehörgang gemessenes akustisches Signal. **C:** Während Einzeltonstimulation im kontralateralen *Colliculus inferior* an der Elektrode gemessenes elektrisches Signal. Die gestrichelte Linie markiert die willkürlich gesetzte Schwelle. Jeder Schwellenübertritt wird als Aktionspotential gewertet und ist mit einem Sternchen markiert.

Abbildung 2.3 ist dies beispielhaft dargestellt. Jeder Punkt im Raum entspricht also einer einzelnen Aktionspotentialwellenform. Dabei ist zu erkennen, dass sich zwei Punktwolken im Raum deutlich voneinander abgrenzen. Betrachtet man die zugehörigen Wellenformen der Aktionspotentiale, so fällt ein deutlicher Unterschied in der jeweiligen Form auf. Es ist anzunehmen, dass die Aktionspotentiale der beiden Gruppen von zwei unterschiedlichen Neuronen stammen. Um die Punktwolken, und damit auch die Aktionspotentiale, verlässlich voneinander trennen zu können, wurde ein automatischer Gruppierungs- oder Clusteralgorithmus (*KlustaKwik*¹; K. D. Harris et al., 2000) verwendet. Einer der gefundenen Cluster in Abbildung 2.3 (runde, rote Punkte) enthält die Störsignale, während die beiden anderen Cluster wahrscheinlich Aktionspotentiale verschiedener Nervenzellen repräsentieren. Nach dem automatischen Sortiervorgang wurden ein oder mehrere der abgegrenzten Cluster zur weiteren Analyse ausgewählt.

¹<http://klustakwik.sourceforge.net>

2.5 Stimulationsparadigmen und Datenanalyse

In der vorliegenden Arbeit wurden vorwiegend Reintöne zur Stimulation des Ohrs verwendet. In den einzelnen Stimulationsparadigmen, die im Folgenden erklärt werden, wurden verschiedene Stimulusparameter wie Lautstärke, Frequenz oder Phase schrittweise variiert. Des Weiteren konnte sich die Anzahl der gleichzeitig präsentierten Töne in den einzelnen Stimulationsparadigmen unterscheiden. Eine schematische Darstellung eines einzelnen Stimulustons und des während der Präsentation gemessenen neuronalen und akustischen Signals ist in Abbildung 2.4 gezeigt. Nach einer anfänglichen Verzögerung wird der Stimulus mit einer Gesamtlänge von üblicherweise 55 ms dargeboten. Die Anstiegs- und Abstiegsflanken des Stimulus hatten eine Länge von üblicherweise je 5 ms und waren cosinusamplitudenmoduliert. Bei gleichzeitiger Stimulation mit mehreren Tönen überlappten diese zeitlich vollständig (mit Ausnahme der Messung der inhibitorischen Abstimmkurven, siehe Abschnitt 2.5.2). Jede durch das Versuchsparadigma beschriebene Stimuluskombination wurden randomisiert 3-40 mal mit einer Wiederholrate von 2 Stimuli pro Sekunde dargeboten. Gleichzeitig wurde sowohl die neuronale Aktivität als auch das akustische Signal im Gehörgang gemessen.

Die Aktionspotentialrate (AP-Rate), mit der ein Neuron auf einen gegebenen Stimulus reagierte, wurde in einem Zeitfenster von Stimulusbeginn bis 20 ms nach Stimulusende bestimmt. Bei Neuronen mit sehr langer Latenz wurde das Auswertfenster manuell angepasst, sodass die evozierte Aktivität komplett erfasst wurde. Die Spontanaktivität (oder Spontanrate) des Neurons berechnet sich aus der gemittelten neuronalen Aktivität im Zeitbereich zwischen Messbeginn und Stimulusbeginn.

Das gemessene akustische Signal wurde für jede Stimuluskombination über die Wiederholungen gemittelt. Von dem gemittelten Signal wurde eine Spektralanalyse (Fast Fourier Transformation) für das Zeitfenster von Stimulusbeginn bis Stimulusende berechnet. Aus den Spektraldaten wurden die Pegel und Phasen der Stimulustöne und eventuell evozierter otoakustischer Emissionen extrahiert. Für die Berechnung des akustischen Rauschpegels wurde eine Spektralanalyse des akustischen Signals im Zeitfenster von Messbeginn bis Stimulusbeginn gerechnet und der Mittelwert aller Pegel im Bereich der getesteten Verzerrungsproduktfrequenz ($\pm 0,3$ kHz) bestimmt. Der Pegel eines Verzerrungsproduktes wurde als 'über dem Rauschen' definiert, wenn er den Rauschpegel plus 1,5 mal dessen Standardabweichung überstieg.

2.5.1 Exzitatorische Abstimmkurven

Das exzitatorische rezeptive Feld einer Nervenzelle wurde durch die Präsentation einzelner Reintöne bestimmt. Anfangs wurde der Frequenz- und Lautstärkebereich des Stimulus, auf den ein Neuron mit erhöhter Aktivität reagierte, durch manuelle Variation der beiden Parameter grob eingegrenzt. Anschließend wurden durch die Präsentation von Reintönen mit gleichmäßig variierenden Frequenz- und Pegelkombinationen das rezeptive Feld des Neurons detailliert bestimmt (beispielsweise: 0,5-25 kHz; 0,25 Oktaven pro Schritt; 15 Frequenzschritte und -20 bis 70 dB SPL; 8 dB Schrittweite). Der Frequenz- und Lautstärkebereich sowie die Schrittweite konnten manuell an die zuvor grob bestimmte Ausdehnung des rezeptiven Feldes angepasst werden. Jeder Stimulus wurde üblicherweise 3-5 mal wiederholt und die Reihenfolge der verschiedenen Stimuli während der Präsentation war zufallsverteilt. Der Schwellenwert, ab dem die gemessene Aktivität der Nervenzelle als evoziert angesehen wurde, war die Summe aus 20% der maximal gemessenen Aktionspotentialrate aller Stimuluskombinationen und der Spontanaktivität des Neurons (Abb. 2.5.A).

Die Frequenz-Pegelabstimmkurve des Neurons (Tuningkurve) wurde durch lineare Interpolation in der neuronalen Antwortmatrix aller Stimuluskombinationen mit dem Schwellenwert berechnet (Abb. 2.5.B). Die charakteristische Frequenz (CF) des Neurons ist definiert als die Frequenz mit dem niedrigsten Lautstärkewert in der Abstimmkurve. Die Frequenzbandbreite Q10 ist definiert als der Quotient aus charakteristischer Frequenz und Frequenzbandbreite der Tuningkurve 10 dB über der CF-Schwelle (Gleichung 2.1).

$$Q_{10dB} = \frac{CF}{\text{Bandbreite 10 dB ueber CF}} \quad (2.1)$$

2.5.2 Inhibitorische Abstimmkurven

Bei Neuronen mit niedriger Spontanrate ist es nicht möglich die inhibitorischen Seitenbänder eines Neurons mit Hilfe eines einzelnen Testton zu bestimmen, da die neuronale Inhibition zu keiner weiteren Reduktion der Aktivität führt. Aus diesem Grund wird ein zweiter Ton (CF-Probeton) mit der charakteristischen Frequenz des Neurons und 10-20 dB über der Schwelle mit 10 ms Verzögerung zum Testton dargeboten. Die neuronale Antwort auf diese Zweittonstimulation wird nun in Relation zur alleinigen Präsentation des CF-Probetons berechnet. Wurde durch die vorher beginnende Präsentation des Testtons neuronale Inhibition aktiviert, so kann eine Reduktion der Antwortstärke auf den CF-Probeton festgestellt werden. Mithilfe dieser Methode können die inhibitorischen Seitenbänder eines Neurons mit niedriger Spontanrate bestimmt werden (Egorova et al., 2001).

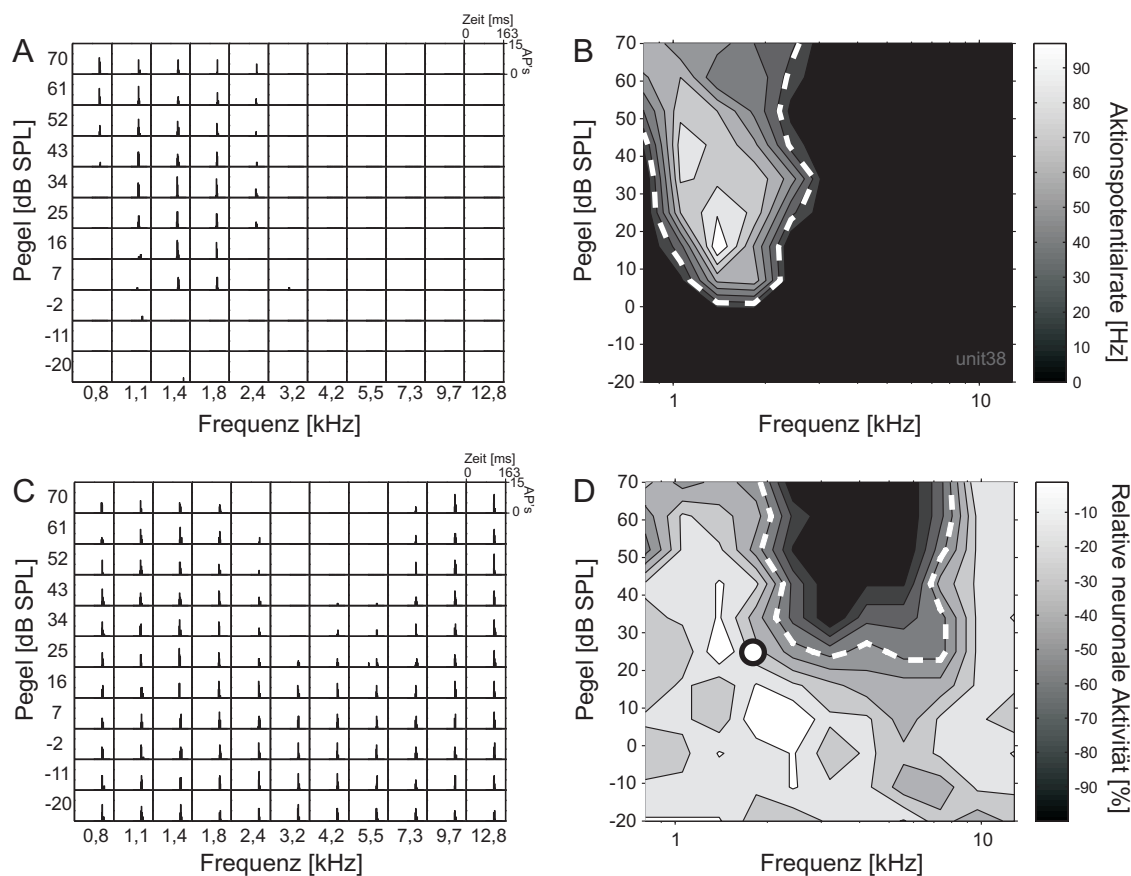


Abbildung 2.5: Messung des exzitatorischen und inhibitorischen Antwortbereichs eines Neurons. **A:** PSTH der neuronalen Antwort auf 3 Wiederholungen eines Einzeltons mit verschiedenen Frequenz- und Pegelkombinationen. Jedes PSTH zeigt die neuronale Antwort während der Aufnahme mit einer Klassenbreite von 5 ms. **B:** Iso-Konturkarte der neuronalen Aktivität. Die gestrichelte Linie umrandet den exzitatorischen Antwortbereich (CF=1,84 kHz) mit der neuronalen Schwelle (20% der max. Aktivität + spont. Aktivität). **C:** PSTH der neuronalen Antwort während inhibitorischen Zweitonparadigma. **D:** Iso-Konturkarte der neuronalen Aktivität während des Zweitonparadigma. Der Kreis markiert den CF-Probetone (1,8 kHz und 25 dB SPL). Die Aktivität ist relativ zur Aktivität der alleinigen Präsentation des CF-Probetons angegeben. Die gestrichelte Linie umrandet den Frequenz-Pegelbereich des Testtons, in dem die relative neuronale Aktivität $\leq 50\%$ war.

Die Stimuluskombinationen des Testtons entsprachen denen einer vorherigen exzitatorischen Abstimmkurvenmessung. Der CF-Probeton startete 10 ms nach dem Testton und endete mit ihm zusammen. Das Zeitfenster für die Bestimmung der neuronalen Aktivität reichte von Beginn bis Ende des Testtons. Der Schwellenwert, ab dem eine Inhibition der neuronalen Aktivität vorlag, war definiert als 50% der neuronalen Aktivität, die auf eine separate Präsentation des CF-Probetons gemessen wurde (Abb. 2.5.B).

2.5.3 DPOAE und neuronale Verzerrungsproduktkorrelate

Im folgenden werden die verschiedenen Stimulationsparadigmen zur simultanen Messung von otoakustischen Emissionen und neuronalen Korrelaten von cochleären Zweitonverzerrungsprodukten beschrieben. Die cochleären Verzerrungsprodukte wurden durch simultane Präsentation zweier Reintöne mit den Frequenzen f_1 und f_2 ($f_1 < f_2$) evoziert. Die Stimulustöne hatten dabei Frequenzen, die zur Generierung eines $f_2 - f_1$ oder $2f_1 - f_2$ Verzerrungsproduktes an der charakteristischen Frequenz des untersuchten Neurons führten. Die beiden Stimuli wurden mit steigendem Pegel präsentiert und sowohl die neuronale Aktivität als auch der Pegel des jeweiligen Verzerrungsproduktes im Gehörgang bestimmt (Zweitonstimulation). Der Pegel (L_1) des ersten Stimulustons (f_1) wurde üblicherweise von 0 bis 72 dB SPL in 8 dB Schritten erhöht. Der Pegel (L_2) des zweiten Stimulustons (f_2) war immer 10 dB niedriger als L_1 . Jede Stimuluskombination wurde 30-40 mal wiederholt. Anschließend wurde die neuronale Antwort auf jeden der beiden Stimuli (f_1 oder f_2) separat und für den gleichen Pegelbereich bestimmt. Ein weiterer Pegellauf (CF-Einzeltonstimulation) wurde mit einem einzelnen Ton mit der Frequenz des jeweils getesteten Verzerrungsproduktes, die üblicherweise mit der CF des Neurons übereinstimmte und einem vergrößerten Pegelbereich (beispielsweise -10 bis 78 dB SPL; 8 dB Schritte) gemessen.

Für jeden Pegellauf wurde die maximale AP-Rate und der entsprechende Stimuluspegel bestimmt. Die Steigungsformen der gemessenen neuronalen Intensitätskennlinien (Stimuluspegel vs. AP-Rate) wurden in monotone-, nicht-monotone oder gesättigte Kurvenverläufe eingeteilt. Als nicht-monoton wurden Kurvenverläufe definiert, bei denen die AP-Rate bei höchstem Stimuluspegel weniger als 90% der maximalen AP-Rate war. Gesättigte Kurvenverläufe zeichneten sich durch eine AP-Rate bei höchstem Stimuluspegel aus, die zwischen 90 und 100% der maximalen AP-Rate lag. Wenn die AP-Rate bei höchstem Stimuluspegel der maximale Antwortrate entsprach, wurde der Pegellauf als monoton eingestuft.

Um die maximale neuronale Antwortrate während Zweiton- und CF-Einzeltonstimulation vergleichen zu können wurde die maximale AP-Rate während Zweitonstimulation prozentual zur maximalen AP-Rate während CF-Einzeltonstimulation angegeben. Für diese Ana-

lyse wurden ausschließlich Zellen herangezogen, die während Zweiton- und CF-Einzeltonstimulation einen nicht-monotonen oder gesättigten Kurvenverlauf aufwiesen. Durch die Berechnung des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test ($\alpha=0,05$) wurden die Unterschiede der maximalen Antwortraten auf Signifikanz getestet.

Die Latenz der neuronalen Antwort wurde sowohl für die Zweitonstimulation als auch für die CF-Einzeltonstimulation bestimmt. Dazu wurde die neuronale Antwort auf einen Stimulus (für alle Stimuluspegel separat) als Histogramm mit einem zeitlichen Intervall von 1 ms dargestellt (engl.: peristimulus-time histogram, PSTH). Die PSTH wurden geglättet (gleitende Mittelwerte; 5ms Fensterbreite) und die maximale Antwortrate aller Datenreihen bestimmt. Anschließend wurde das PSTH mit dem niedrigsten Stimuluspegel gesucht, bei dem die Antwortrate mindestens 33% der maximalen Antwortrate entsprach. Die Zeit ab Stimulusbeginn bis zu dem gefundenen Zeitintervall wurde bestimmt und als neuronale Latenz definiert.

Der Pegel des am Trommelfell gemessenen otoakustischen Verzerrungsproduktes wurde gegen den Pegel des f_1 Primärtons dargestellt (DPOAE-Wachstumskurve). Aus der DPOAE-Wachstumskurve und den neuronalen Intensitätskennlinien der Zweiton- und CF-Einzeltonstimulationen wurden mehrere Schwellenwerte berechnet:

- Die *CF-Einzeltonschwelle* (ETS) ist definiert als der niedrigste Pegel eines Reintons mit der Frequenz des getesteten Verzerrungsproduktes bzw. der CF des Neurons, der ausreichend war, um eine neuronale Antwort auf Schwellenniveau hervorzurufen.
- Die *neuronale Verzerrungsproduktschwelle* (NVS) ist definiert als der niedrigste Pegel L_1 des Primärtons f_1 , der ausreichte, um während Zweitonstimulation eine neuronale Antwort auf Schwellenniveau hervorzurufen. Das *Schwellenniveau* für die Bestimmung beider Schwellenwerte (ETS und NVS) war die Summe aus 20% der maximalen Aktivität gemessen während CF-Einzeltonstimulation und der Spontanrate des Neurons.
- Die *akustische Verzerrungsproduktschwelle* (AVS) ist definiert als der niedrigste Pegel L_1 des Primärtons f_1 , der ausreichend war, um während Zweitonstimulation eine DPOAE zu evozieren, deren Pegel dem Einzelton-Schwellenwert (ETS) entsprach.

Alle Schwellenwerte wurden durch lineare Interpolation zwischen den Datenwerten direkt ober- und unterhalb der Schwelle bestimmt. Wenn der niedrigste zu messende DPOAE-Pegel oberhalb der Einzeltonschwelle lag, wurde die akustische Verzerrungsproduktschwelle durch Extrapolation der ersten beiden Datenpunkte oberhalb der Schwelle bestimmt.

Veränderung des Frequenzverhältnisses während Zweitonstimulation

Um den DPOAE-Pegel und die neuronale Antwort einer Nervenzelle auf unterschiedliche Primärtonfrequenzen zu bestimmen, wurden die Stimulusfrequenzen f_1 und f_2 während Zweitonstimulation bei gleichbleibendem Pegel schrittweise erhöht. Das Verhältnis der Primärtonfrequenzen wurde allerdings immer so gewählt, dass das getestete Verzerrungsprodukt unverändert bei der CF des Neurons lag. Die Primärtonpegel waren üblicherweise $L_1=40$ und $L_2=30$ dB SPL. Jede Stimuluskombination wurde 12-15 mal wiederholt. Die neuronale Aktivität und der Pegel des getesteten Verzerrungsproduktes wurden für jede Stimuluskombination gemessen. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen DPOAE-Pegel und AP-Rate festzustellen, wurde eine lineare Korrelation zwischen den beiden Variablen berechnet und das Bestimmtheitsmaß r^2 bestimmt.

2.5.4 Auslöschung der cochleären Verzerrungsprodukte

Um das Verzerrungsprodukt direkt in der Cochlea auszulöschen, wurde bei einem Teil der Versuche während Zweitonstimulation mit f_1 und f_2 ein dritter Ton präsentiert, dessen Frequenz f_3 der des getesteten Verzerrungsproduktes entsprach. Die Frequenzen und Pegel der Stimulustöne waren dabei so gewählt, dass eine neuronale Antwort und ein DPOAE-Pegel über dem Rauschpegel zu messen waren. Der dritte Ton war zeitlich vollständig überlappend mit den beiden Primärtönen f_1 und f_2 .

Eine Matrix mit gleichmäßig verteilten Phasen- und Pegelkombinationen des dritten Tons wurde erstellt (beispielweise: 16 Phasenschritte von 0° bis 355° und 17 Pegelschritte von -24 to $28,8$ dB SPL) und jede Kombination zusammen mit den Stimulustönen f_1 und f_2 3-5 mal randomisiert präsentiert. Die neuronale Antwort sowie der Pegel und die Phase der spezifischen DPOAE wurden für jede Stimuluspräsentation gemessen. In der neuronalen Antwortmatrix wurde der Phasen- und Pegelbereich von f_3 bestimmt, in dem die neuronale Aktivität $\leq 20\%$ der Aktivität war, die in Abwesenheit des dritten Tons gemessen wurde. Des Weiteren wurde der Phasen- und Pegelbereich von f_3 bestimmt, in dem der DPOAE-Pegel um mindestens 6 dB (relativ zur Messung ohne f_3) reduziert war. Der jeweilige Mittelpunkt (Zentroid oder Gravizentrum) dieser Bereiche wurde als beste Phasen-/Pegelkombination von f_3 zur Auslöschung der neuronalen beziehungsweise akustischen Verzerrungsproduktantwort definiert.

2.6 Histologische Verifizierung der Elektrodenposition

Nach Versuchsende wurden die Tiere mit einer intraperitonealen Injektion von 0,4 ml Pentobarbital Natrium (16 mg/ml Narcoren, Merial) eingeschläfert. Bei vier Tieren wurde die letzte Position der Elektrode bei zwei definierten Messtiefen durch elektrische Läsionen im Gewebe markiert. Hierfür wurde durch die Elektrode ein Strom von 15 μ A für die Dauer von jeweils 15 s appliziert.

Die Tiere wurden durch transcordiale Injektion von physiologischer Kochsalzlösung gefolgt von 4%iger Paraformaldehydlösung mit 0,5% Glutaraldehyd perfundiert. Nach der Entnahme des Gehirns wurden coronale Dünnschnitte (Schnittdicke: 50 μ m) angefertigt, auf Objektträger transferiert und mit Nissl-Färbung gefärbt. Die Position der Läsionen wurden markiert und die Spur der Elektrode rekonstruiert (Abb. 2.6 D und E). Mithilfe der Software *Reconstruct*²(Fiala, 2005) wurde eine dreidimensionale Rekonstruktion eines Gehirns erstellt (Abb. 2.6 A-C). Dazu wurden verschiedene Gehirnareale auf jedem Dünnschnitt markiert und anschließend zu drei dimensional Objekten zusammengefügt. Durch das Wegschneiden von Gewebe beim Erstellen der Dünnschnitte fehlen einige laterale und frontale Bereiche.

²Version 1.1.0.0; <http://synapses.clm.utexas.edu/tools/reconstruct/reconstruct.stm>

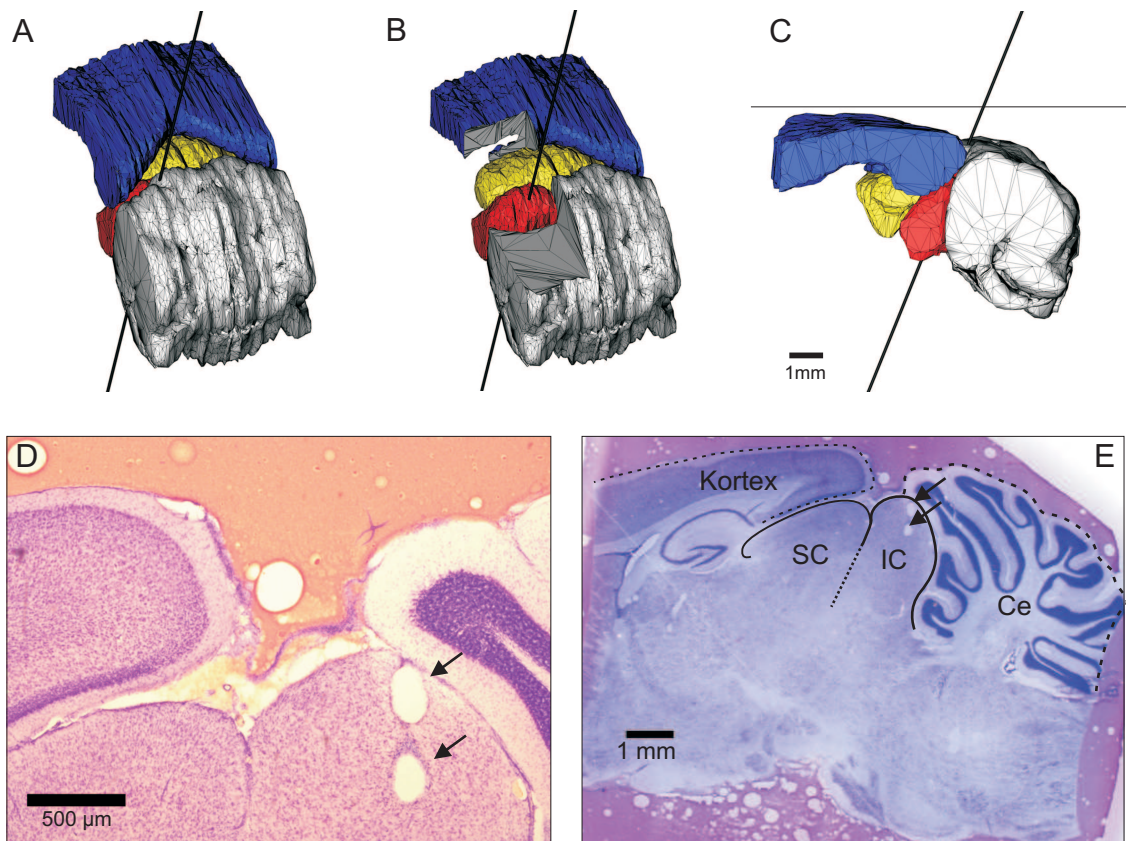


Abbildung 2.6: Histologische Rekonstruktion der Elektrodenposition. **A:** Schräge Aufsicht auf eine 3D-Teilrekonstruktion des Gerbilgehirns. Dargestellt sind *Kortex* (blau), *Colliculus Superior* (gelb), *Cerebellum* (grau) und *Colliculus inferior* (rot). Die durchgehende Linie gibt die Elektrodenausrichtung. **B:** Wie in A aber Teile des Kortex und Cerebellums sind entfernt. **C:** Seitenansicht der 3D-Rekonstruktion. **C:** Detaildarstellung eines coronalen Dünnschnitts (Nissl-Färbung, 50 µm Schnittdicke) mit markierten Läsionen (Pfeile). **D:** Übersichtsdarstellung des Dünnschnitts mit den Gehirnarealen *Kortex*, *Colliculus Superior* (SC), *Cerebellum* (CE) und *Colliculus inferior* (IC)

3 Ergebnisse

3.1 Grundlegende Eigenschaften der gemessenen Neurone

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit basieren auf elektrophysiologischen Messungen an 21 Wüstenrennmäusen der Art *Meriones unguiculatus*. Insgesamt konnte die neuronale Aktivität von über 150 Zellen erfasst werden. Für eine vollständige Charakterisierung der in dieser Arbeit untersuchten neuronalen Antworteigenschaften waren bis zu 8 verschiedene Messparadigmen mit einer Gesamtmessdauer von bis zu 80 Minuten pro Zelle notwendig. Unter Verwendung hochohmiger Glasselektroden konnte eine stabile Messsituation, während der ausreichend Daten für die vollständige Charakterisierung gemessen werden konnten, in nur 91 Fällen erreicht werden. Von den 91 ausgewerteten Zellen konnte in 34 Fällen die Aktivität einem einzelnen Neuron zugeordnet werden, während in 57 Fällen die Aktivität von mehreren Neuronen gleichzeitig aufgezeichnet wurde. Zur Vereinfachung wird im Folgenden für beide Fälle der Begriff Neuron verwendet, obwohl er streng genommen nur für die gemessenen Einzelzelleitungen zutrifft.

3.1.1 Spontane neuronale Aktivität

Ein Teil der gemessenen IC Neurone zeigte spontane neuronale Aktivität in Abwesenheit eines akustischen Stimulus. Der Mittelwert der gemessenen Spontanaktivitäten aller Neurone lag bei 3,8 Aktionspotentialen pro Sekunde ($\pm 6,1$). Annähernd die Hälfte der gemessenen Neurone (43 %) wies eine Spontanaktivität von mehr als zwei Aktionspotentialen pro Sekunde auf. Die höchste Spontanrate zeigte eine Mehrzelleitung mit 34 APs pro Sekunde. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Spontanaktivität und anderen neuronalen Eigenschaften, wie z. B. der charakteristischen Frequenz, dem zeitlichen Antworttyp oder dem Verlauf der Intensitätskennlinien gefunden werden.

3.1.2 Neuronales Abstimmverhalten bei Einzeltonstimulation

Das exzitatorische rezeptive Feld eines Neurons wurde durch die Messung der Aktionspotentialrate, mit der ein Neuron auf die Präsentation von Reintönen verschiedener Frequenz- und Lautstärkekombinationen antwortete, bestimmt (siehe 2.5.1). Die aus den Messdaten mit dem Schwellenwert (20 % max. Aktivität + spont. Aktivität) interpolierte Abstimmkurve gibt den Frequenz-Lautstärkebereich wieder, in dem das Neuron mit einer überschwelligeren AP-Rate auf einen Stimuluston reagierte. Aus der Abstimmkurve wurde die charakteristische Frequenz (CF), der entsprechende CF-Schwellenpegel und die Frequenzabstimmbarkeit (Q10dB) des Neurons bestimmt.

Die charakteristische Frequenz aller gemessenen Neurone lag zwischen 0,4 und 26,2 kHz und die entsprechenden Schwellenwerte zwischen -20 und 32 dB SPL (Mittelwert: 3,4 dB SPL). Die relative Verteilung der neuronalen Schwellenwerte gegen die CF der Neurone (Abb. 3.1.A) spiegelt den Verlauf der Verhaltenshörschwelle der Wüstenrennmaus (Ryan, 1976) wieder. Es konnten keine Unterschiede der neuronalen Schwellenwerte zwischen Einzel- und Mehrzelleableitungen festgestellt werden. Das experimentelle Paradigma dieser Studie erforderte Neurone mit niedrigen charakteristischen Frequenzen und niedrigen CF-Schwellenwerten, was zu einer deutlichen Überrepräsentation von sensitiven Neuronen im tieffrequenten Bereich führte (vergleiche: Ochse, 2004).

In Abbildung 3.1.B sind die charakteristischen Frequenzen der Neurone gegen die Elektroden-tiefe aufgetragen. Es ist deutlich zu erkennen, dass die charakteristische Frequenz der Neurone mit zunehmender Elektroden-tiefe ansteigt. Da die Ausrichtung der Elektrode der dorso-ventralen Orientierung des Colliculus inferior entsprach, spiegelt die mit der Elektroden-tiefe ansteigende CF die tonotopische Organisation des IC Zentralkerns wieder.

Als Maß für die Frequenzabstimmbarkeit der Neurone wurde der Q10 dB Wert berechnet (Abb. 3.2). Die Q10 dB Werte lagen zwischen 0,75 und 10,15 (Mittelwert: $2,29 \pm 1,5$) was für Neurone im Colliculus inferior der Wüstenrennmaus mit charakteristischen Frequenzen zwischen 0,4 und 24,5 kHz typisch ist (vergleiche: Ochse, 2004).

Die Form der exzitatorischen Abstimmkurven der Neurone wurden visuell in 5 Klassen eingeteilt (nach: LeBeau et al., 2001).

- *V-förmige* Abstimmkurven hatten eine mehr oder weniger schmale Spitze bei der charakteristischen Frequenz des Neurons und wurden mit zunehmenden Stimuluspegeln sukzessive breiter, sowohl auf der hochfrequenten als auch auf der tieffrequenten Seite.
- Neurone mit *schmalen* Abstimmkurven antworteten ausschließlich in einem engen Frequenzbereich auf Reintonstimulation, der sich auch bei steigenden Stimuluspegeln kaum verbreiterte.

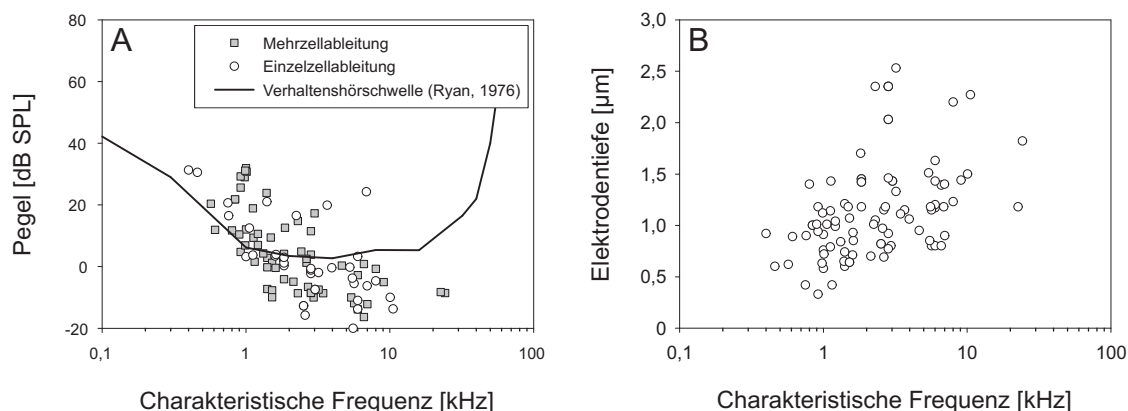


Abbildung 3.1: **A:** Verteilung der neuronalen Antwortschwelle gegen die charakteristische Frequenz der Neurone. Einzelzellableitungen ($n=34$) sind durch offene Kreise, Mehrzellableitungen ($n=57$) durch gefüllte Vierecke gekennzeichnet. Die durchgezogene Linie zeigt die Verhaltenshörschwelle der Wüstenrennmaus (Ryan, 1976). **B:** Die Tiefe der Ableitelektrode ist gegen die charakteristische Frequenz der Neurone dargestellt.

Tabelle 3.1: Häufigkeit der exzitatorischen Abstimmkurvenformen.

Form der exzitatorischen Abstimmkurve		n	Prozentsatz
V-Förmig		61	67,03
Andere	Doppelspitzen	6	6,59
	Schmall	5	5,49
	Geschlossen	12	13,19
	Geneigte	7	7,69

- Geschlossene oder O-Förmige Abstimmkurven hatten einen klar begrenzten Antwortbereich, und zeigen ab einem bestimmten Stimuluspegel keine neuronale Aktivität mehr.
- *Geneigte* Abstimmkurven zeichneten sich durch einen, in der Frequenz-Pegel-Antwortmatrix, schräg liegenden Aktivitätsbereich aus. Bei der charakteristischen Frequenz antworteten die Neurone nur in einem begrenzten Pegelbereich (vergleichbar mit den geschlossenen Abstimmkurven), der sich zu tieferen Frequenzen hin erhöhte und ausbreitete.
- Abstimmkurven mit zwei, bei unterschiedlichen Frequenzen liegenden, sensitiven Bereichen wurden als *Doppelspitzen*-Abstimmkurven klassifiziert.

In der Tabelle 3.1 ist die Anzahl und Häufigkeit der einzelnen Antworttypen dargestellt.

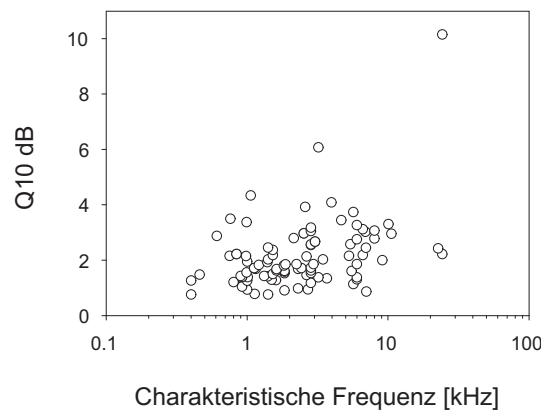


Abbildung 3.2: Verteilung der Q10 Werte gegen die charakteristische Frequenz der Neurone.

3.1.3 Zeitliches Antwortmuster und Intensitätskennlinien

Das zeitliche Auftreten der Aktionspotentiale, mit denen eine Zelle auf die Präsentation eines Reintons bei CF und 10-20 dB über der Schwelle reagierte, wurde in einem Histogramm (englisch: peristimulus-time histogram, PSTH) mit einem zeitlichen Intervall von 5 ms dargestellt. Die Antwortmuster wurden visuell in 6 verschiedene Antworttypen gegliedert (nach: Syka et al., 2000). Die verschiedenen Antworttypen sind beispielhaft in Abbildung 3.3 dargestellt und der Anteil der einzelnen Typen an der Gesamtpopulation ist in Prozent angegeben. Zellen die mit einer kurzzeitigen hohen AP-Rate zu Stimulusbeginn (phasischer Teil der Antwort) gefolgt von einer anhaltenden mittleren Aktivität während der gesamten Stimulusdauer (tonischer Teil der Antwort) reagierten, wurden als 'phasisch-tonisch' klassifiziert und machten den größten Teil der Antworttypen aus (31,8 %). Rein tonische Antworten wurden bei 27,4 % der Neurone beobachtet und 18 % der Neurone antworteten mit einer kurzen, phasischen Erhöhung der AP-Rate ausschließlich zu Beginn des Stimulus. Des Weiteren wurden verschiedene komplexere Antwortmuster gefunden. 'Pauser' Neurone reagierten mit einer kurzen phasischen Antwort zu Beginn des Stimulus und einem anhaltenden tonischen Antwortanteil, der aber erst nach einer kurzen Pause ohne erhöhte Aktivität folgte (8 %). 'Chopper' Neurone antworteten dagegen mit zeitlich wiederkehrenden phasischen Antwortspitzen (7 %) auf die Präsentation eines Stimulus. Sechs Prozent der Neurone konnten keinem der oben beschriebenen Antwortmuster zugeordnet werden und wurden deshalb unter 'andere' Antworttypen zusammengefasst. Die vorgenommene Einteilung der zeitlichen Antwortmuster ist allerdings nicht eindeutig und hängt unter anderem stark von der Lautstärke des Stimulus ab. Gerade komplexe Antworttypen wie z. B. 'Pauser' Neurone verändern die zeitliche Struktur ihrer Reizantwort bei steigendem Stimuluspegel teilweise deutlich (siehe Abb. 3.10).

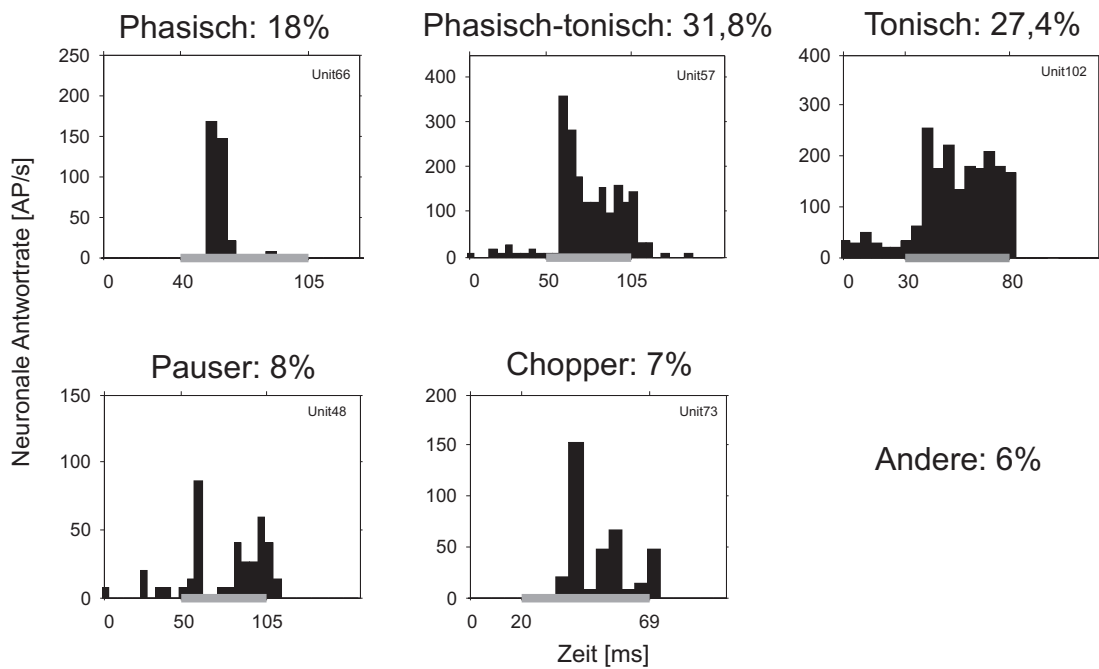


Abbildung 3.3: Typische zeitliche Antwortmuster von Neuronen im IC und ihr Anteil an der Gesamtpopulation. Dargestellt sind PSTH der neuronalen Antwort auf einen Reinton bei CF und 10-20 dB über der Schwelle. Die Schrittweite des Histogramms war 5 ms, 20-30 Wiederholungen des Stimulus wurden gemittelt, die Stimulusdauer ist als grauer Balken angegeben. Die Klassifikation in *phasisch*, *phasisch-tonisch*, *tonisch*, *pauser* und *chopper* wurde nach Syka et al., 2000 vorgenommen.

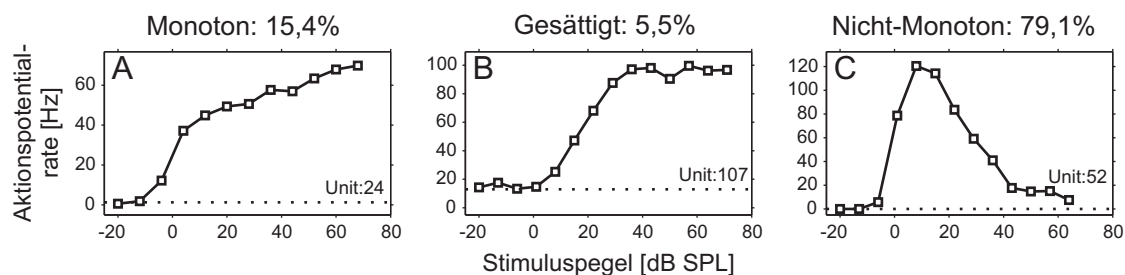


Abbildung 3.4: Beispiele für neuronale Intensitätskennlinien und die Häufigkeit ihres Auftretens. Dargestellt ist jeweils die Antwort eines Neurons auf die 30-fache Wiederholung eines Reintons an der CF mit schrittweise ansteigenden Schallpegeln. Die Antwortrate wurde in einem Zeitbereich von Stimulusbeginn bis Stimulusende plus 20 ms gemittelt. Die gepunktete Linie gibt die Spontanrate des Neurons.

Die neuronale Antwortstärke auf einen Reinton mit der charakteristischen Frequenz des Neurons in Abhängigkeit von der Stimulusintensität wurde für alle Neuronen als Intensitätskennlinie dargestellt (Abb. 3.4). Die Kurvenverläufe der Kennlinien wurden in drei Gruppen eingeteilt: monoton ansteigend (15,38 %), ansteigend mit Sättigung bei hohen Stimuluspegeln (5,49 %) und nicht-monotoner Verlauf (79,12 %).

Die Latenz der neuronalen Antwort auf einen Stimulus bei CF lag zwischen 5 und 41 ms (Mittelwert: $16,3 \pm 6,7$ ms). Zwei Neurone wurden nicht zur Mittelwertberechnung herangezogen, da sie auf das Ende des Stimulus antworteten und deshalb sehr lange Latenzen von bis zu 78 ms hatten.

3.1.4 Inhibition neuronaler Aktivität

Von den Neuronen die eine erhöhte Spontanaktivität (mehr als zwei Aktionspotentiale pro Sekunde) aufwiesen zeigten 75 % eine verringerte Aktionspotentialrate während der Stimulation durch einen einzelnen hochfrequenten Ton. Der verwendete hochfrequente Ton entsprach dem f_1 Stimuluston des Zweittonparadigma zur Messung der cochleären Verzerrungsprodukte. Eine Reduktion der neuronalen Aktivität auf ≤ 50 % der Spontanrate des Neurons wurde als Kriterium für einen inhibitorischen Effekt des hochfrequenten Tons definiert.

Zusätzlich wurden bei 39 Neuronen die inhibitorischen Antwortbereiche durch die Präsentation eines CF-Probetons mit der CF des Neurons und einem Pegel 10-20 dB über der Schwelle sowie einem zusätzlichen Testton mit variablen Frequenz- und Pegelkombinationen bestimmt (*inhibitorisches Zweittonparadigma*). Der Testton hatte dabei Frequenz-/Pegelkombinationen, die denen einer vorherigen Messung zur Bestimmung des exzitatorischen

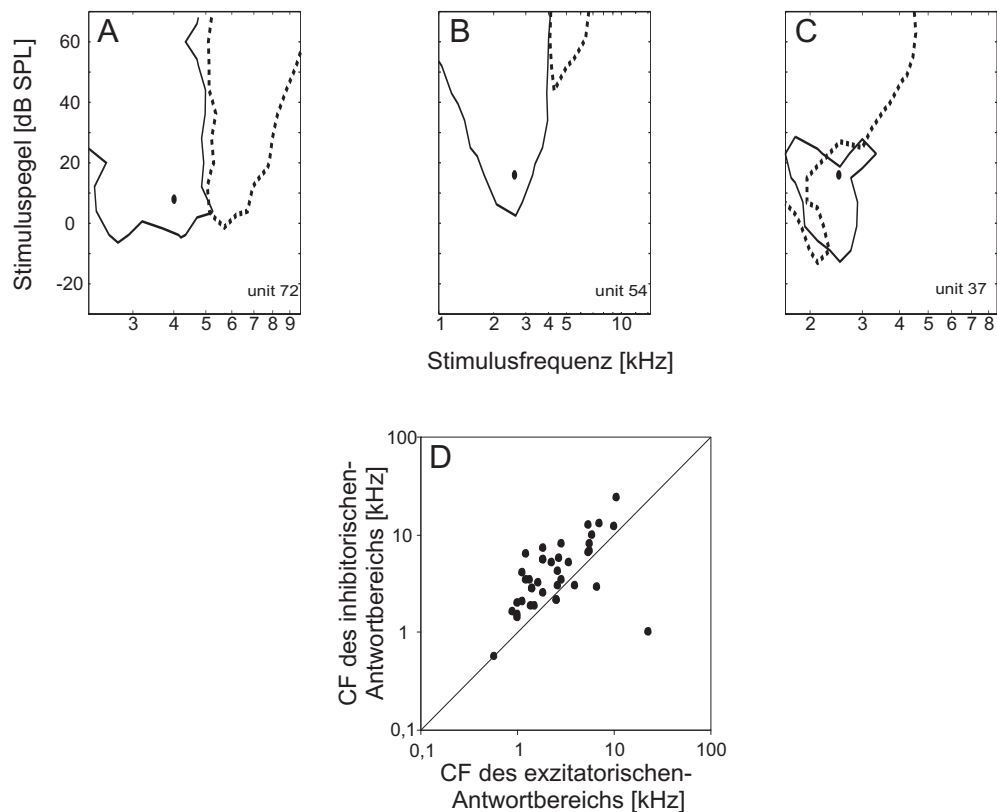


Abbildung 3.5: A-C: Beispiele für inhibitorische Antwortbereiche von Neuronen im IC. Die durchgezogene Linie markiert den exzitatorischen Antwortbereich des jeweiligen Neurons. Der Punkt innerhalb des exzitatorischen Antwortbereichs gibt die Frequenz und Pegelkombination des während des Zweiton-Paradigmas verwendeten CF-Probetons. Die gestrichelte Linie umrandet das inhibitorische Feld, in dem die Präsentation eines Testtons die neuronale Antwort auf $\leq 50\%$ der Antwort auf die separate Präsentation des CF-Probetons reduzierte. **D:** Verteilung der charakteristischen Frequenzen der inhibitorischen Antwortbereiche gegen die CF der exzitatorischen Antwortbereiche der untersuchten Neurons.

rischen Antwortbereichs des Neurons entsprachen. Lag der Testton innerhalb des inhibitorischen Antwortbereichs des Neurons, so konnte die neuronale Antwort auf den 10 ms später präsentierten CF-Probeton deutlich reduziert sein. Bei 85 % der gemessenen Neurone konnten so Frequenz-Pegelbereiche des Testtons bestimmt werden, bei denen eine Reduktion der Aktivität auf ≤ 50 % der Kontrollaktivität, die durch die separate Präsentation des CF-Probetons gemessen wurde, vorlag. In Abbildung 3.5.A-C sind beispielhaft drei typische Formen von inhibitorischen Antwortfeldern dargestellt. Diese konnten in ihrer Größe stark variieren und im Extremfall das exzitatorische Feld überdecken und teilweise einschließen (Abb. 3.5.C). Die charakteristischen Frequenzen der so bestimmten inhibitorischen Antwortbereiche lagen im Durchschnitt 1,5 kHz über der jeweiligen CF des exzitatorischen Antwortbereichs (Abb. 3.5.D). Zusammengenommen zeigten 53 von 91 gemessenen Neuronen (58 %) einen inhibitorischen Einfluss hochfrequenter Stimuli auf ihrer Spontanrate oder inhibitorische Antwortbereiche, die mit Hilfe des inhibitorischen Zweitonparadigmas bestimmt wurden.

3.2 Neuronale Korrelate cochleärer Verzerrungsprodukte

Ziel der im folgenden beschriebenen Versuche war es, die Antwort einer Nervenzelle im IC auf ein in der Cochlea generiertes Verzerrungsprodukt zu bestimmen und simultan den Pegel des Verzerrungsproduktes als otoakustische Emission im Gehörgang zu messen. Dazu wurde nach der Bestimmung der generellen neuronalen Antwortcharakteristiken die Reaktion einer Zelle auf die simultane Präsentation von zwei außerhalb ihres rezeptiven Feldes liegenden Reintönen getestet. Die Frequenzen der beiden Stimuli (f_1 und f_2 ; $f_1 < f_2$) wurden so gewählt, dass die Frequenz eines kubischen ($2f_1 - f_2$) oder quadratischen ($f_2 - f_1$) Verzerrungsproduktes mit der charakteristischen Frequenz des Neurons übereinstimmte. Das während dieser Zweittonstimulation in der Cochlea generierte Verzerrungsprodukt wurde akustisch als otoakustische Emission im Gehörgang des Tieres und elektrophysiologisch als evozierte neuronale Antwort im kontralateralen Colliculus inferior gemessen.

In Abbildung 3.6.E ist die Antwort eines Neurons (CF=3,2 kHz) auf die Stimulation mit zwei Reintönen der Frequenzen $f_1=7,8$ und $f_2=12,4$ kHz und den entsprechenden Stimuluspegeln $L_1=45,5$ dB SPL und $L_2=35,5$ dB SPL als PSTH dargestellt. Zusätzlich ist ein Spektrum des simultan im Gehörgang gemessenen akustischen Signals zusammen mit dem exzitatorischen Antwortbereich des Neurons abgebildet (Abb. 3.6.A). Die Zelle antwortete mit einer deutlichen Zunahme der Aktionspotentialrate auf die Zweittonstimulation, während die separate Präsentation der beiden Stimuli f_1 und f_2 zu keiner Erhöhung der Antwortrate führte (Abb. 3.6.F und G). Die während Zweittonstimulation simultan im Gehörgang gemessene otoakustische Emission hatte eine Frequenz von $2f_1 - f_2 = 3,2$ kHz, was der charakteristischen Frequenz des Neurons entsprach. Der gemessene Verzerrungsproduktpegel von 7,8 dB SPL lag deutlich über der CF-Einzeltonschwelle von 3,6 dB SPL. Die Stimulation durch einen einzelnen Sinuston mit entsprechender Lautstärke (7,5 dB SPL) und identischer Frequenz (3,2 kHz) führte zu einer vergleichbaren Erhöhung der AP-Rate (Abb. 3.6.C). Sowohl das 'Chopper' Antwortmuster, als auch die Latenz der neuronalen Antwort und die Dauer der Erregung waren während CF-Einzeltonstimulation und hochfrequenter Zweittonstimulation vergleichbar. Das vorgestellte Beispiel macht deutlich, dass die Antwort des Neurons auf das $2f_1 - f_2$ Verzerrungsprodukt der Antwort auf einen Reinton entsprechender Frequenz und Lautstärke gleich und lässt darauf schließen, dass ein in der Cochlea generiertes Verzerrungsprodukt ein effektiver Stimulus für auditorische Neurone sein kann.

Im Folgenden werden die Ergebnisse von Messungen an 91 Neuronen vorgestellt, bei denen die Antwort auf ein in der Cochlea generiertes Verzerrungsprodukt mit der Antwort auf einen Reinton verglichen wurde. In 8 Fällen konnte die neuronale Reaktion auf zwei

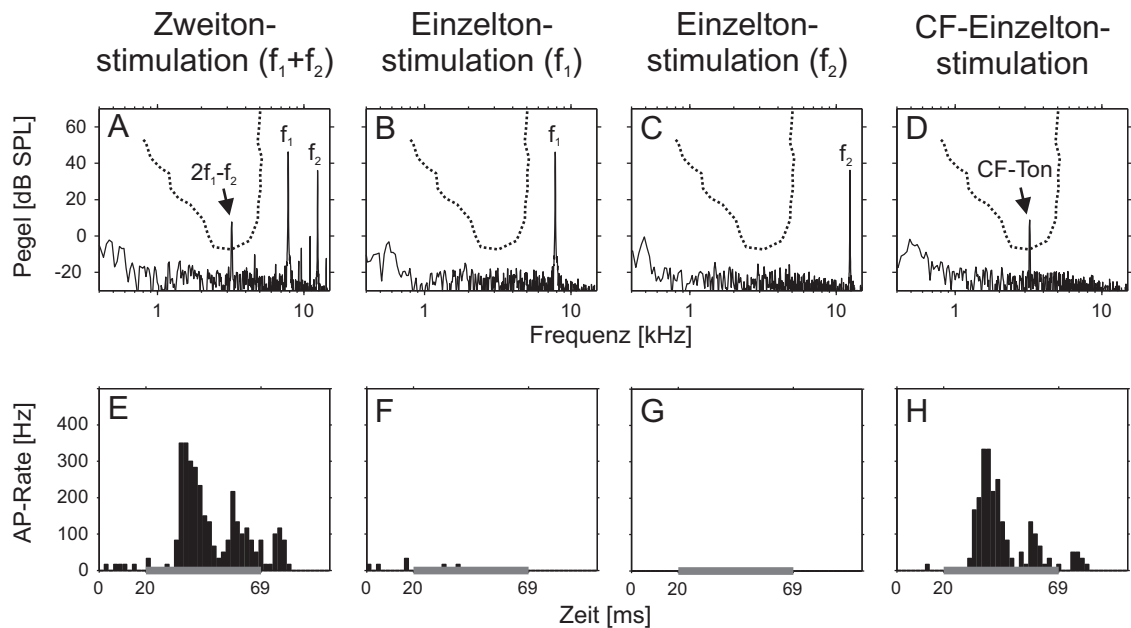


Abbildung 3.6: Antwort einer Einzelzelle (CF=3,2 kHz) auf ein in der Cochlea generiertes kubisches Verzerrungsprodukt mit einer Frequenz von $2f_1-f_2 = 3,2$ kHz. Die obere Reihe zeigt die Spektralanalyse des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals während Zweitonstimulation mit $f_1=7,8$ und $f_2=12,4$ kHz ($L_1=45,5$ und $L_2=35,5$ dB SPL), Einzeltonstimulation mit f_1 oder f_2 und Einzeltonstimulation durch einen Reinton mit CF (7,5 dB SPL). Die gepunktete Kurve markiert den exzitatorischen Antwortbereich des Neurons. In der unteren Reihe sind die Antworten des Neurons als PSTH (Klassenbreite 5ms) dargestellt. Der graue Balken gibt die Stimulusdauer (43ms+3ms Flanken). Die Antwort auf jeweils 30 Wiederholungen des Stimulus wurde gemittelt.

verschiedene Verzerrungsprodukte an einem Neuron getestet werden. Dadurch ergibt sich ein Datensatz von 99 Messungen. Die während des Zweitonparadigmas verwendeten Stimuli mussten folgende Kriterien erfüllen:

1. Keiner der beiden hochfrequenten Stimuli (die 'Primärtöne' mit den Frequenzen f_1 und f_2 , wobei galt $f_1 < f_2$) evozierte separat präsentiert eine überschwellige neuronale Antwort für L_1 Stimuluspegel ≤ 60 dB SPL. Der Pegel L_2 des Stimulustons mit der höheren Frequenz (f_2) war immer 10 dB niedriger als der L_1 -Stimuluspegel. Dieser Pegelunterschied gilt als optimal für die Generierung von $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukten (Hauser und Probst, 1991).
2. Die Frequenz des getesteten kubischen ($2f_1-f_2$) oder quadratischen (f_2-f_1) Verzerrungsproduktes entsprach der charakteristischen Frequenz des Neurons. Da die charakteristische Frequenz eines Neurons während des Versuchs nur vorläufig und visuell bestimmt wurde, konnte die später interpolierte CF allerdings geringfügig von

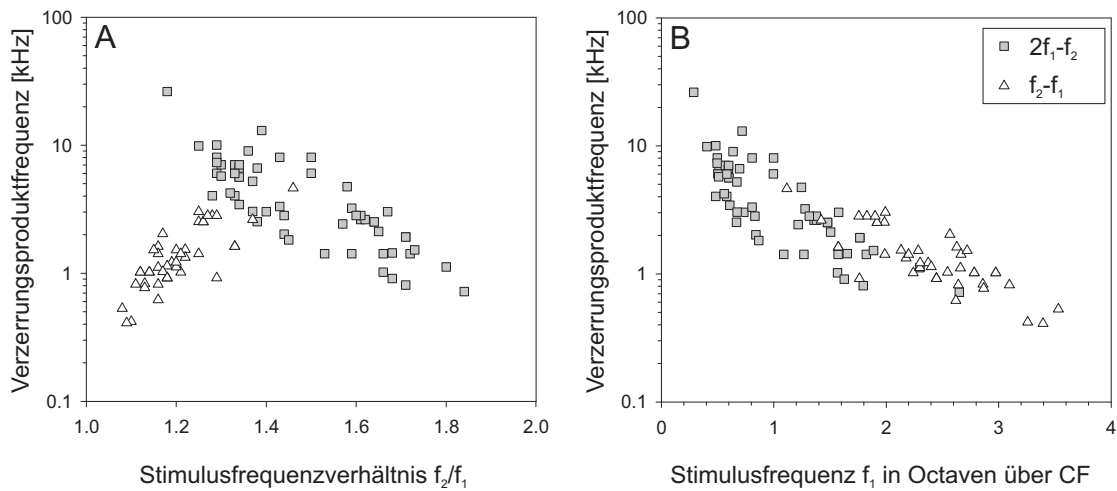


Abbildung 3.7: Die Frequenz der getesteten Verzerrungsprodukte in Abhängigkeit vom gewählten Frequenzverhältnis (f_2/f_1) der Stimulustöne (A) sowie des Frequenzabstandes des f_1 Stimulustons von der CF des getesteten Neurons (B).

der getesteten Verzerrungsproduktfrequenz abweichen. Zur Vereinheitlichung wird im folgenden bei Einzeltonstimulation mit der Frequenz des Verzerrungsproduktes immer von CF-Einzeltonstimulation gesprochen, auch wenn die tatsächliche CF geringfügig abwich.

3. Der im Gehörgang gemessene Pegel der otoakustischen Emission des getesteten Verzerrungsproduktes lag deutlich über dem akustischen Rauschpegel (siehe 2.5) für L_1 -Stimuluspegel ≤ 60 dB SPL.

Im Gegensatz zur Messung der inhibitorischen Seitenbänder wurden die Stimuli zur Messung der cochleären Verzerrungsprodukte und ihrer neuronalen Korrelate zeitgleich dargeboten.

3.2.1 Neuronale Korrelate des kubischen Verzerrungsprodukts

Die neuronale Antwort von 56 Zellen auf die simultane Stimulation mit zwei hochfrequenten Stimulustönen, welche ein $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt bei der CF des Neurons evozierten, wurde für unterschiedliche Stimuluspegel getestet. Die Frequenzen der $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukte sind in Abbildung 3.7.A gegen das verwendete Frequenzverhältnis f_2/f_1 der Stimulustöne aufgetragen. Je tiefer die CF des Neurons und damit die Frequenz des $2f_1-f_2$ Verzerrungsproduktes war, umso größer musste das Frequenzverhältnis der Stimulustöne gewählt werden, um sicher zu stellen, daß die Stimulustöne nicht in die exzitatorische Abstimmkurve des Neurons hineinreichten (Abb. 3.7.B).

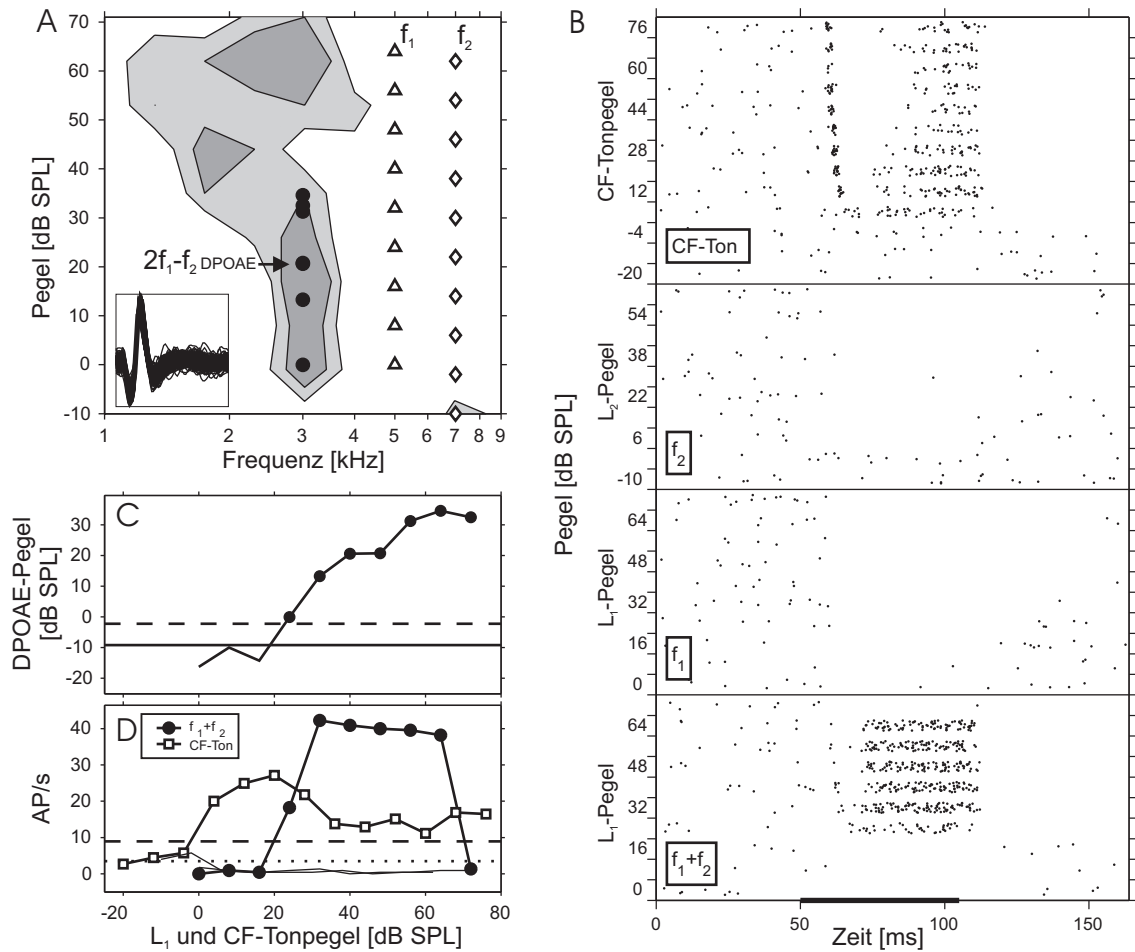


Abbildung 3.8: Antwort einer Einzelzelle auf ein cochleäres $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt bei steigenden Stimuluspegeln. **A:** Exzitatorischer Antwortbereich des Neurons (CF=3,03 kHz). Die hellgraue Fläche gibt Frequenz-Pegelbereich mit überschwelliger neuronaler Aktivität, die dunkelgraue Fläche den Bereich, in dem $\geq 50\%$ der maximalen neuronalen Antwortrate zu messen war. Die Frequenz- und Pegelkombinationen der Stimulustöne $f_1=5$ kHz (Dreiecke) und $f_2=7$ kHz (Rauten) und die während Zweittonstimulation im Gehörgang gemessenen $2f_1-f_2$ DPOAE-Pegel (Kreise) sind durch die entsprechenden Symbole gekennzeichnet. Stimuluspegel, die den dargestellten Pegelbereich überschritten, sind nicht dargestellt. Die eingefügte Grafik zeigt 2 ms der Aktionspotentialwellenform. **B:** Rastergrafik der neuronalen Aktivität während f_1+f_2 Zweittonstimulation (unterer Block), Einzeltonstimulation mit f_1 oder f_2 (mittlere Blöcke) und CF-Einzeltonstimulation (oberer Block). Die f_1 Stimuluspegel lagen zwischen $L_1=0$ bis 72 dB SPL ($L_2=L_1-10$ dB). Die Stimuluspegel während CF-Einzeltonstimulation lagen zwischen -20 und 76 dB SPL. Die Schrittweite der Stimuluspegel war 8 dB und die Antworten auf je 30 Stimuluswiederholungen sind dargestellt. (Schwarzer Balken: Stimulusdauer 45 ms + 5 ms Anfangs und Endflanke). **C:** $2f_1-f_2$ DPOAE-Pegel während Zweittonstimulation. (Gestrichelte Linie: neuronale CF-Einzeltonschwelle; Durchgehende Linie: akustischer Rauschpegel) **D:** Neuronale Intensitätskennlinien während Zweittonstimulation (f_1+f_2 , gefüllte Kreise), f_1 oder f_2 Einzeltonstimulation (dünne durchgehende Linien) und der CF-Einzeltonstimulation (ungefüllte Quadrate). Die gestrichelte Linie gibt die CF-Einzeltonschwelle, die gepunktete die Spontanaktivität des Neurons.

Die Antwort der Neurone auf das $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt ist exemplarisch durch zwei Einzelzelleableitungen in Abbildung 3.8 und 3.9 dargestellt. Die Frequenzen der Stimulustöne in Abbildung 3.8 wurden mit $f_1=5$ und $f_2=7$ kHz so gewählt, dass die Frequenz des $2f_1-f_2=3$ kHz Verzerrungsproduktes mit der CF des Neurons (3,03 kHz) übereinstimmte. Analog zu dem vorherigen Beispiel wurden die beiden hochfrequenten Stimuli f_1 und f_2 entweder simultan oder separat dargeboten. Zusätzlich wurde die Antwort auf einen 3 kHz Ton (entsprechend der $2f_1-f_2$ Verzerrungsproduktfrequenz) gemessen. Die Antwort des Neurons ist in einer Rastergrafik dargestellt (Abb. 3.8.B), in der jeder Punkt den Auftrittszeitpunkt eines Aktionspotentials während der Aufnahmezeit markiert. Die Abbildung ist in vier Blöcke geteilt, die jeweils die Antwort auf ein anderes Stimulationsparadigma wiedergeben. Stimuluspräsentationen mit gleichen Stimuluspegeln sind zu Streifen zusammengefasst, die auf der Y-Achse mit dem jeweiligen Stimuluspegel betitelt sind. Zusätzlich ist in Abbildung 3.8.D die über einen Zeitraum von Stimulusbeginn bis 20 ms nach Stimulusende gemittelte neuronale Aktivität gegen den jeweiligen Stimuluspegel als Intensitätskennlinien dargestellt.

Deutlich ist eine erhöhte neuronale Aktivität auf die gleichzeitige Präsentation von f_1 und f_2 für L_1 Stimuluspegel ab etwa 20 dB SPL zu beobachten (Abb. 3.8.B unterer Block, Abb. 3.8.D gefüllte Kreise). Die neuronale Antwort setzte ca. 10-15 ms nach Stimulusbeginn ein und blieb bis nach Stimulusende erhalten. Danach folgte eine vollständige Unterdrückung der Spontanaktivität bis zum Ende der Messung (Post-Stimulus-Inhibition). Unterschwellige Stimulationspegel ($L_1 < 20$ dB SPL) bewirkten ebenfalls eine Unterdrückung der Spontanaktivität (unterschwellige Inhibition), die allerdings nicht bis zum Ende der Messung anhielt. Die separate Präsentation der beiden Stimuli führte zu keiner Erhöhung der AP-Rate aber bereits bei niedrigsten Stimuluspegeln zu einer vollständigen Reduktion der Spontanaktivität.

Die Stimulation durch einen einzelnen CF-Ton zeigte eine erhöhte neuronale Aktivität ab einem Stimuluspegel von etwa -2 dB SPL (Abb. 3.8.B oberster Block, Abb. 3.8.D Quadrate). Analog zur Zweitonstimulation ist eine starke Post-Stimulus-Inhibition zu erkennen. Interessanterweise ist allerdings für unterschwellige CF-Einzeltonreize keine Inhibition der Spontanaktivität zu beobachten, wie das während Zweitonstimulation der Fall war. Da ein inhibitorischer Effekt auf die Spontanaktivität auch während der separaten Präsentation von f_1 oder f_2 zu beobachten war, ist zu vermuten, dass die während Zweitonstimulation beobachtete Reduktion der AP-Rate bei unterschwelligen Stimuluspegeln durch einen inhibitorischen Einfluss der hochfrequenten Primärtöne vermittelt wurde und somit bei CF-Einzeltonstimulation fehlt (siehe Diskussion).

Das zeitliche Muster der neuronalen Aktivität während CF-Einzeltonstimulation entspricht dem eines typischen 'Pauser' Neurons, mit einer schnellen phasischen Antwort

gefolgt von einer tonischen Antwort, die erst nach einer kurzen Pause einsetzt. Die Länge der Pause erhöhte sich mit steigendem Stimuluspegel, während die Stärke der tonischen Antwort abnahm. Ein vergleichbares zeitliches Antwortmuster war auch während Zweitonstimulation zu beobachten, allerdings war der tonische Anteil stark erhöht und die Pause zwischen phasischer und tonischer Antwort deutlich verkürzt.

Die Pegelwachstumsfunktion der im Gehörgang gemessenen $2f_1-f_2$ DPOAE zeigte einen deutlich nicht-linearen Verlauf (Abb. 3.8.C), wie er für DPOAE Wachstumsfunktionen beim Gerbil typisch ist (Mills, 2000). Die gemessenen DPOAE-Pegel liegen in einem Bereich zwischen ca. 0 und 35 dB SPL und decken damit ungefähr den zentralen Bereich des exzitatorischen Antwortbereichs des Neurons ab (Abb. 3.8.A gefüllte Kreise). Der Pegel des während Zweitonstimulation im Gehörgang gemessenen $2f_1-f_2$ Verzerrungsproduktes erreichte den neuronalen CF-Einzeltonschwellenpegel ab einem L_1 Stimuluspegel von ca. 22 dB SPL. Dieser Pegel entsprach in etwa dem L_1 Stimuluspegel, der notwendig war, um während Zweitonstimulation eine neuronale Aktivität hervorzurufen ($L_1=20$ dB SPL).

Ein deutlicher Unterschied zwischen Einzelton- und Zweitonstimulation bestand in der maximalen Antwortstärke, mit der das Neuron reagierte. Die Aktionspotentialrate während CF-Einzeltonstimulation erreichte bei einem Stimuluspegel von 20 dB SPL ihr Maximum von 27 Aktionspotentialen pro Sekunde und fiel für höhere Pegel schnell auf ein niedrigeres Aktivitätsniveau (Abb. 3.8.D). Während Zweitonstimulation erreichte die Zelle ein deutlich höheres maximales Aktivitätsniveau von 42 Aktionspotentialen pro Sekunde ($L_1=32$ dB SPL) und hielt diese hohe Antwortrate über einen deutlich größeren Pegelbereich. Damit erreichte die Zelle eine 55 % höhere maximale AP-Rate während Zweitonstimulation verglichen mit der maximalen AP-Rate, die auf einen Ton an der charakteristischen Frequenz zu messen war. Dieser Unterschied ist hochsignifikant (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test; $p<0,005$).

Ein weiteres Beispiel für die Stimulation eines Neurons mit zwei Reintönen ($f_1=5,62$ und $f_2=7,22$), die außerhalb des exzitatorischen Feldes der Zelle lagen, aber ein $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt (4,02 kHz) nahe der charakteristischen Frequenz (CF=3,96 kHz) generierten, ist in Abbildung 3.9 dargestellt. Im Gegensatz zum vorherigen Beispiel ist der exzitatorische Antwortbereich dieses Neurons geschlossen, so dass für Stimuluspegel über 35 dB SPL keine überschwelligen Antworten gemessen werden konnten. Bei dieser Zelle konnte außerdem mit Hilfe des Zweitonparadigmas ein inhibitorisches Feld im Bereich von f_1 und f_2 und oberhalb des exzitatorischen Antwortbereichs bestimmt werden (Abb. 3.9.A, gestrichelte Linie). Ein inhibitorischer Einfluss auf die neuronale Aktivität der Zelle war auch an der verminderten Spontanaktivität während der separaten Stimulation durch f_1 und f_2 zu erkennen (Abb. 3.9.B, mittlere Blöcke). Die Intensitätskennlinien der neuronalen

Antwort in Abbildung 3.9.D veranschaulichen das stark nicht-monotone Antwortverhalten des Neurons sowohl während Zweitton- als auch CF-Einzeltonstimulation.

Die während Zweittonstimulation im Gehörgang gemessenen $2f_1-f_2$ DPOAE-Pegel decken den kompletten exzitatorischen Antwortbereich der Zelle ab und reichen bis in das darüberliegende inhibitorische Feld. Eine überschwellige neuronale Antwort während Zweittonstimulation konnte nur für die L_1 Stimuluspegel zwischen 24 und 40 dB SPL gemessen werden. Die bei diesen Stimuluspegeln gemessenen DPOAE-Pegel lagen alle im zentralen Teil des exzitatorischen Antwortbereichs (Abb. 3.9.A Pfeile). DPOAE-Pegel, die für höhere oder niedrigere Stimuluspegel gemessen wurden, lagen außerhalb des neuronalen Antwortbereichs oder im Grenzbereich zum inhibitorischen Feld. Die entsprechenden AP-Raten lagen nicht nur unterhalb der neuronalen Schwelle, sondern auch deutlich unterhalb der Spontanrate des Neurons. Wie schon im vorherigen Beispiel deutlich wurde, war die Reduktion der neuronalen Spontanaktivität für unterschwellige Stimuluspegel nicht während CF-Einzeltonstimulation zu beobachten und könnte durch den inhibitorischen Einfluss der hochfrequenten Stimulustöne vermittelt werden. Im Gegensatz zum vorherigen Beispiel (Abb. 3.8) ist die maximale AP-Rate während Zweittonstimulation signifikant niedriger (-33 %) als die maximale Aktivität während CF-Einzeltonstimulation (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test; $p < 0,005$).

3.2.2 Neuronale Korrelate des quadratischen Verzerrungsprodukts

Das quadratische Verzerrungsprodukt f_2-f_1 war der zweite Verzerrungsprodukttyp, der in dieser Arbeit als neuronaler Stimulus getestet wurde. Insgesamt wurde die Antwort von 43 Neuronen auf die Stimulation mit zwei hochfrequenten Stimuli getestet, deren Frequenzen so gewählt wurden, dass sie ein quadratisches f_2-f_1 Verzerrungsprodukt an der CF des Neurons evozierten. Im Vergleich zu den kubischen Verzerrungsprodukten wurden für die niedrigeren f_2-f_1 Frequenzen auch kleinere Stimulusfrequenzverhältnisse (f_2/f_1) gewählt (Abb. 3.7.A).

Ein typisches Beispiel für die Stimulation eines tieffrequenten Neurons (CF=1 kHz) durch ein quadratisches Verzerrungsprodukt ($f_2-f_1 = 1$ kHz) ist in Abbildung 3.10 dargestellt. Die Primärtöne lagen mit $f_1=8$ und $f_2=9$ kHz weit oberhalb der hochfrequenten Flanke des exzitatorischen Antwortbereichs und hatten einzeln präsentiert keinen erregenden Einfluss auf das Neuron. Die Stimulustöne lagen ebenfalls außerhalb des mittels Zweittonparadigma ausgemessenen inhibitorischen Feldes der Zelle. Während der separaten Präsentation der Stimuli war allerdings ein geringer inhibitorischer Einfluss auf die Spontanaktivität des Neurons zu beobachten.

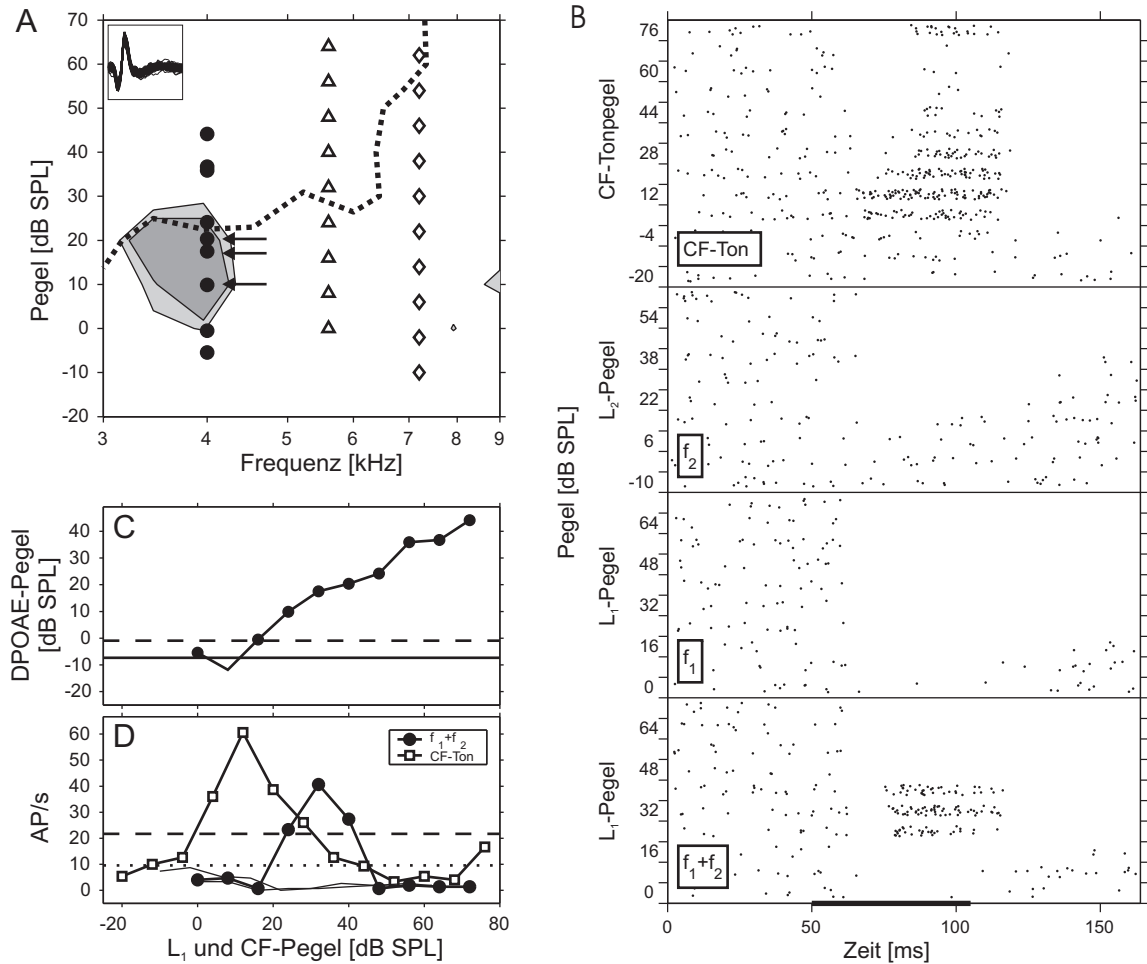


Abbildung 3.9: Antwort einer Einzelzelle (CF=3,96 kHz) auf ein cochleäres $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt. Für eine detaillierte Beschreibung siehe Abbildung 3.8. **A:** Exzitatorischer und inhibitorischer Antwortbereich. Der inhibitorische Antwortbereich wurde mittels Zweitton-Paradigma bestimmt (CF-Probeton mit 4kHz und 20 dB SPL, siehe Text). Die Pfeile markieren die DPOAE-Pegel der Zweittonstimulationen, bei denen überschwellige neuronale Antworten gemessen wurden. **B:** Rastergrafiken der neuronalen Antwort. Die Stimulustöne waren $f_1=5,62$ und $f_2=7,22$ kHz mit einer $2f_1-f_2$ Frequenz von 4,22 kHz. Stimuluspegel und Stimulusdauer sind identisch mit der Messung in Abbildung 3.8. 20 Wiederholungen jedes Stimulus sind dargestellt. **C:** $2f_1-f_2$ DPOAE Wachstumsfunktion während Zweittonstimulation. **D:** Neuronale Intensitätskennlinien für Zweitton- und Einzeltonstimulation. Die gepunktete Linie markiert die Spontanaktivität des Neurons.

Während CF-Einzeltonstimulation mit einem 1 kHz Reinton war ein Pegel von 0,6 dB SPL ausreichend, um neuronale Aktivität auf Schwellenniveau zu evozieren. Während Zweitonstimulation war ein L_1 Stimuluspegel von ca. 10 dB SPL notwendig um überschwellige neuronale Aktivität zu evozieren. Ein nur wenig höherer L_1 Stimuluspegel (13,3 dB SPL) war ausreichend, um einen f_2-f_1 DPOAE-Pegel zu evozieren, der dem entsprechenden CF-Einzeltonschwellenniveau (0,6 dB SPL) entsprach.

Verglichen mit Einzeltonstimulation antwortete die Zelle mit einer um 22 % signifikant erhöhten maximalen AP-Rate auf die hochfrequente Zweitonstimulation (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test; $p < 0,05$). Analog zu dem Beispiel in Abbildung 3.8 reagiert das Neuron während der Zweitonstimulation über einen deutlich größeren Bereich von Stimuluspegeln mit einer Erhöhung der AP-Rate. Für L_1 Pegel zwischen 16 und 48 dB SPL variierte der Pegel der im Gehörgang gemessene f_2-f_1 Emission nur zwischen ca. 0 und 10 dB SPL. Unter der Annahme, dass das intracochleäre Verzerrungsprodukt den exzitatorische Stimulus für das Neuron darstellte, könnte der konstante Pegel der otoakustischen Emission den stark erweiterte Dynamikbereich des Neurons während Zweitonstimulation erklären.

3.2.3 Unterschwellige neuronale Antworten während Zweitonstimulation

Ein weiteres Beispiel für ein Neuron (CF=1,01 kHz), welches durch eine quadratisches Verzerrungsprodukt ($f_2-f_1 = 0,75$ kHz) stimuliert wurde ist in Abbildung 3.11 dargestellt. Wie in den vorherigen Beispielen hatten die beiden hochfrequenten Stimulustöne f_1 und f_2 einzeln präsentiert keinen erregenden Einfluss auf das Neuron. Eine simultane Präsentation evozierte allerdings eine neuronale Antwort, die vergleichbar mit der Antwort auf einen Reinton bei CF war. Im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Messungen werden allerdings zwei Unterschiede deutlich. Zum einen waren in diesem Fall deutlich höhere L_1 -Stimuluspegel zur Evozierung einer f_2-f_1 otoakustischen Emission auf Schwellenniveau notwendig, als für die Evozierung einer überschwelligen neuronalen Antwort. Zum anderen wurde die neuronale Schwelle während Zweitonstimulation mit deutlich niedrigeren Stimuluspegeln erreicht, als sie während CF-Einzeltonstimulation notwendig waren. Neuronale Aktivität während Zweitonstimulation war schon für L_1 -Stimuluspegel ab 24 dB SPL zu messen (Abb. 3.11.C), während ein einzelner Reinton mit 0,75 kHz erst ab einem Stimuluspegel von ca. 36 dB SPL eine neuronale Antwort evozierte. Wie bei allen anderen Messungen, evozierten auch hier die beiden Stimulustöne f_1 und f_2 keine neuronale Aktivität, wenn sie separat präsentiert wurden. Auch in den Intensitätskennlinien in Abbildung 3.11.B wird dieser Sensitivitätsunterschied zwischen Einzelton- und Zweiton-

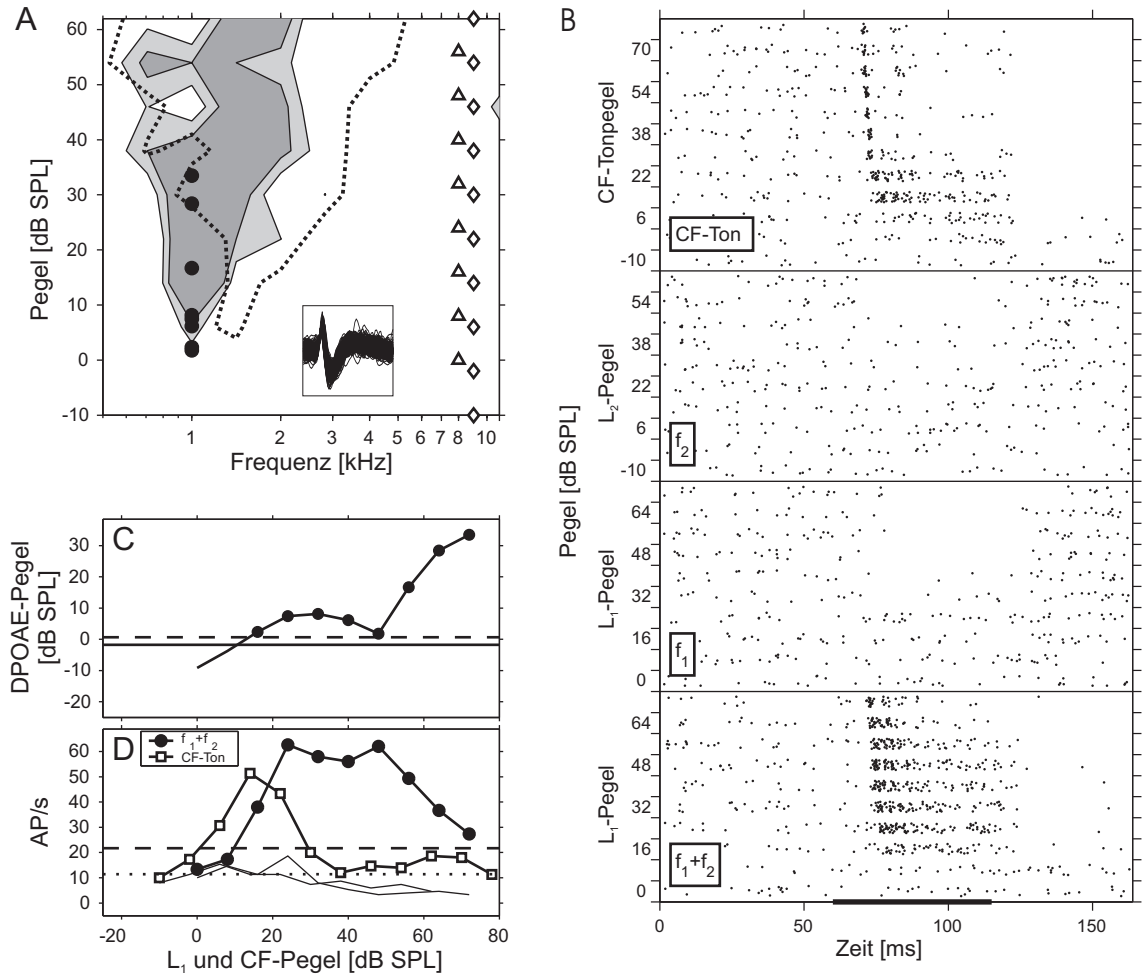


Abbildung 3.10: Antwort einer Einzelzelle auf ein cochleäres f_2-f_1 Verzerrungsprodukt. Für eine detaillierte Beschreibung siehe Abbildung 3.8. **A:** Exzitatorischer Antwortbereich des Neurons mit einer CF von 3,96 kHz (graue Fläche). Der inhibitorische Antwortbereich (gestrichelte Linie) wurde mittels Zweiton-Paradigma bestimmt (CF-Probeton bei 1 kHz und 22 dB SPL). **B:** Rastergrafik der neuronalen Antwort während Zweiton- und Einzeltonstimulation. Die beiden Stimulustöne waren $f_1=8$ und $f_2=9$ kHz mit einer f_2-f_1 Frequenz von 1 kHz. Die Stimuluspegel waren $L_1=0$ bis 72 dB SPL und $L_2=L_1-10$ dB. Die Stimuluspegel für f_2-f_1 bzw. CF-Einzeltonstimulation lagen zwischen -10 und 72 dB SPL. Die Pegelschrittweite war 8 dB und die Antwort auf 20 Stimuluswiederholungen ist dargestellt. **C:** f_2-f_1 DPOAE Wachstumsfunktion während Zweitonstimulation. **D:** Neuronale Intensitätskennlinien für Zweiton- und Einzeltonstimulation.

stimulation im schwelennahen Bereich deutlich (20-40 dB SPL Stimulationspegel). Für höhere Stimuluspegel induzierte die CF-Einzeltonstimulation eine deutlich stärkere neuronale Antwort als die entsprechende Zweitonstimulation.

3.2.4 Vergleich der neuronalen und akustischen Verzerrungsproduktantworten

Um die Antwort der einzelnen Neurone auf die cochleären Verzerrungsprodukte während steigender Stimuluspegel besser vergleichen zu können, wurden verschiedene Schwellenwerte aus den neuronalen Intensitätskennlinien und DPOAE Wachstumsfunktionen bestimmt.

Drei Messungen mussten von dieser Analyse ausgeschlossen werden, da in diesen Fällen die DPOAE-Pegel selbst bei höchsten Stimuluspegeln ($L_1=65$ dB SPL) das neuronale Schwellenkriterium nicht überschritten. Dabei ist anzumerken, dass in allen drei Fällen sehr wohl DPOAE-Pegel über dem akustischen Rauschpegel gemessen werden konnten, die in diesen Fällen relativ hohe neuronale Schwelle allerdings nicht überschritten wurde. Zusätzlich konnte in einem Fall die neuronale Antwort durch einen dritten Ton mit alternierender Phase ausgelöscht werden, was das cochleäre f_2-f_1 Verzerrungsprodukt als Quelle der neuronalen Aktivität bestätigt (siehe 3.3).

Weitere vier Messungen mussten von der Bestimmung der neuronalen Verzerrungsproduktschwelle ausgeschlossen werden, da bei diesen Neuronen keine überschwellige Aktivität während Zweitonstimulation messbar war. Dieses Fehlen neuronaler Aktivität war bemerkenswert, da in allen Fällen die simultan am Trommelfell gemessenen DPOAE-Pegel die neuronale Schwelle deutlich überschritten. Ein starker inhibitorischer Effekt der Stimulustöne auf die neuronale Antwort der Zelle während Zweitonstimulation ist eine mögliche Erklärung für die fehlende neuronale Antwort trotz überschwelligem Verzerrungsproduktstimulus.

Die neuronale Verzerrungsproduktschwelle (NVS) wurde definiert als der Stimuluspegel L_1 , der während Zweitonstimulation notwendig war, um eine überschwellige neuronale Antwort zu evozieren. Die Akustische Verzerrungsproduktschwelle (AVS) wurde definiert als der Stimuluspegel L_1 , der während Zweitonstimulation notwendig war, um einen DPOAE-Pegel zu evozieren, der dem Schwellenpegel bei Stimulation mit einem CF-Einzelton entsprach (für Details siehe Material und Methoden). Die Differenzen zwischen den neuronalen Verzerrungsproduktschwellen und den CF-Einzeltonschwellen der Neurone ist in Abbildung 3.12.A gegen die Frequenz der Verzerrungsprodukte dargestellt. Für tiefe Verzerrungsproduktfrequenzen entsprach die neuronale Verzerrungsproduktschwelle

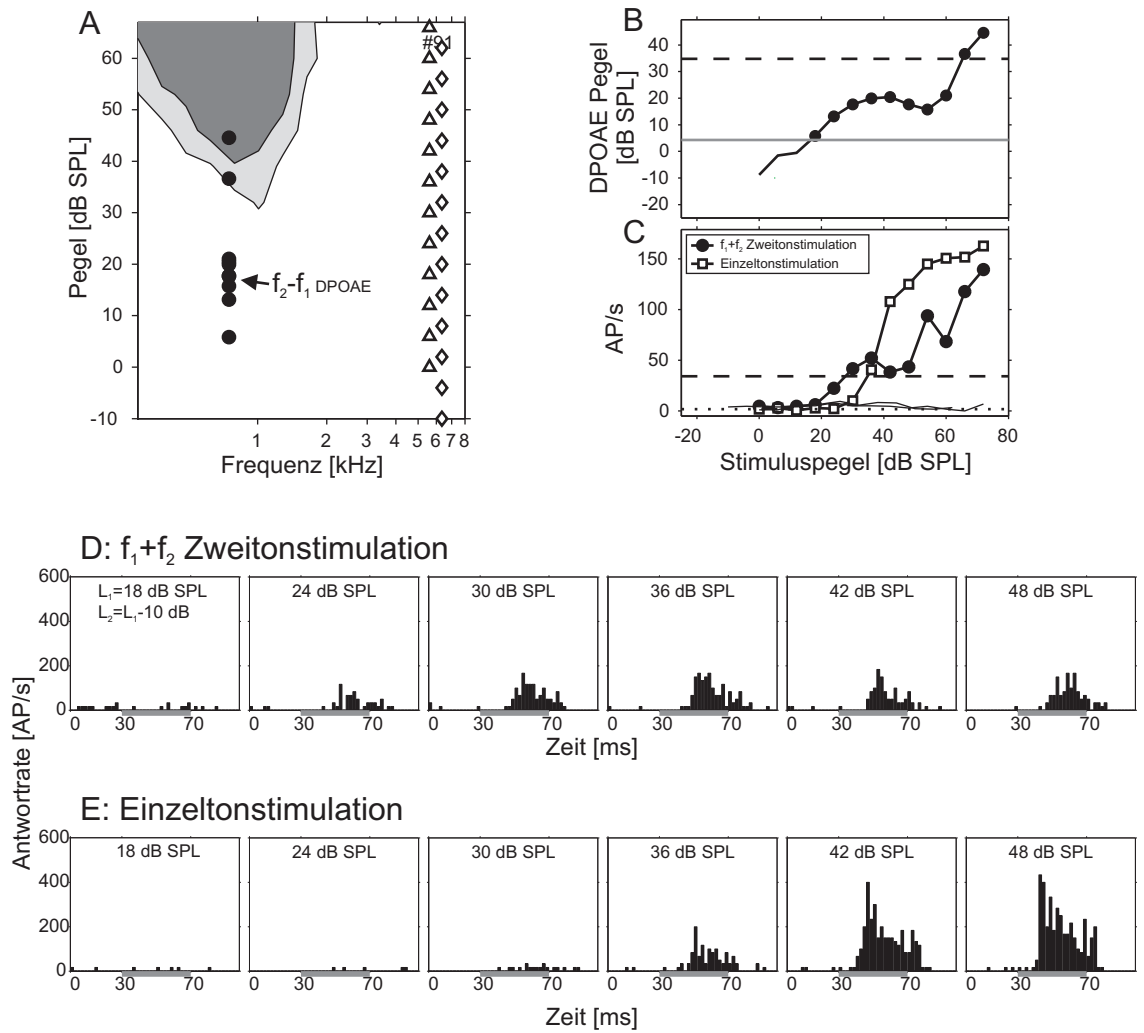


Abbildung 3.11: Antwort eines Neurons auf ein quadratisches f_2-f_1 Verzerrungsprodukt mit unterschwelligen Stimuluspegeln. **A:** Exzitatorischer Antwortbereich des Neurons mit einer CF von 1,01 kHz (graue Fläche). Die Frequenz- und Pegelkombinationen während Zweittonstimulation waren $f_1=5,6$ (0 - 72 dB SPL, 8 dB Schrittweite) und $f_2=6,35$ kHz ($L_2=L_1-10$ dB). **B:** DPOAE Wachstumsfunktion des f_2-f_1 Verzerrungsproduktes während Zweittonstimulation. **C:** Neuronale Intensitätskennlinien der Zweittonstimulation (f_1+f_2 , gefüllte Kreise), der f_1 oder f_2 Einzeltonstimulation (dünne durchgehende Linien) und der Einzeltonstimulation ($0,75$ kHz $\hat{=}$ f_2-f_1) mit identischen Stimuluspegeln (ungefüllte Quadrate). Dargestellt ist die Antwort auf 30 Stimuluswiederholungen. **D:** Die neuronale Antwort während Zweittonstimulation für Stimuluspegel L_1 zwischen 18 und 48 dB SPL. Die Antworten sind als PSTH mit einer Klassenbreite von 2ms dargestellt. Der Stimulus hatte eine Dauer von 30 ms plus je 5 ms Anfangs- und Endflanken (grauer Balken). **E:** Neuronale Antwort während Einzeltonstimulation mit $f_2-f_1=0,75$ kHz und identischen Stimuluspegeln und Stimulusdauer.

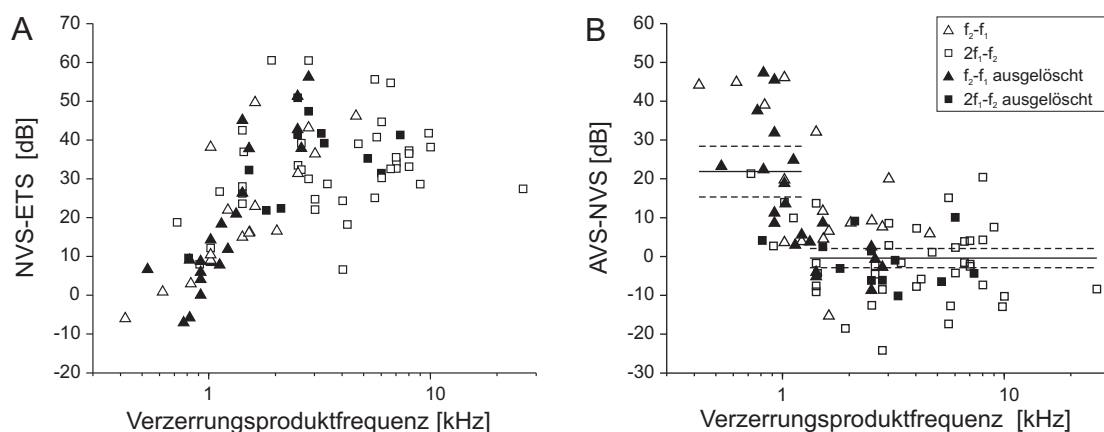


Abbildung 3.12: **A:** Unterschied zwischen neuronaler Verzerrungsproduktschwelle (NVS) und neuronaler Einzeltonschwelle (ETS) gegen die Verzerrungsproduktfrequenz. Dreiecke markieren Messungen mit dem quadratischen f_2-f_1 Verzerrungsprodukt, Vierecke Messungen mit dem kubischen $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt. Gefüllte Symbole repräsentieren Messungen bei denen das Verzerrungsprodukt und damit die neuronale Antwort durch einen dritten Ton ausgelöscht wurde (siehe Abschnitt 3.3). **B:** Unterschied zwischen akustischer (AVS) und neuronaler (NVS) Verzerrungsproduktschwelle gegen die Verzerrungsproduktfrequenz. Die durchgehende Linie markiert den Mittelwert für Frequenzen über und unter 1,3 kHz (-0,4 und 21,9 dB). Die gestrichelten Linien geben das jeweilige untere und obere 95 % Konfidenzintervall.

etwa der CF-Einzeltonschwelle. Zum Teil waren während Zweittonstimulation sogar unter-schwellige Stimuluspegel hinreichend um neuronale Aktivität auszulösen (siehe Abschnitt 3.2.4). Mit ansteigender Verzerrungsproduktfrequenz stieg auch der L_1 Stimuluspegel, der notwendig war, um eine überschwellige neuronale Antwort zu evozieren. Da für die Generierung tieffrequenter $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukte sehr große f_2/f_1 Frequenzverhältnisse notwendig sind, bei hohen Frequenzverhältnissen aber nur noch niedrige DPOAE-Pegel erreicht werden, sind entsprechende Messungen im tieffrequenten Bereich unterrepräsentiert.

Um den Zusammenhang zwischen DPOAE-Pegel und neuronaler Aktivität im schwel-lennahen Bereich darzustellen, wurde der Unterschied zwischen neuronaler und akustischer Verzerrungsproduktschwelle gegen die Verzerrungsproduktfrequenz dargestellt (Abb. 3.12.B). Positive AVS-NVS Differenzwerte bedeuten, dass während Zweittonstimulation niedrigere Stimuluspegel zur Evozierung neuronaler Aktivität notwendig waren, als zur Generierung eines entsprechenden DPOAE-Pegels auf Schwellenniveau.

Für Verzerrungsproduktfrequenzen über 1,3 kHz ist der durchschnittliche Unterschied zwischen akustischer und neuronaler Verzerrungsproduktschwelle fast null ($-0,41 \pm 9,9$ dB) was den engen Zusammenhang zwischen DPOAE-Pegel und intracochleären Verzerrungs-

3 Ergebnisse

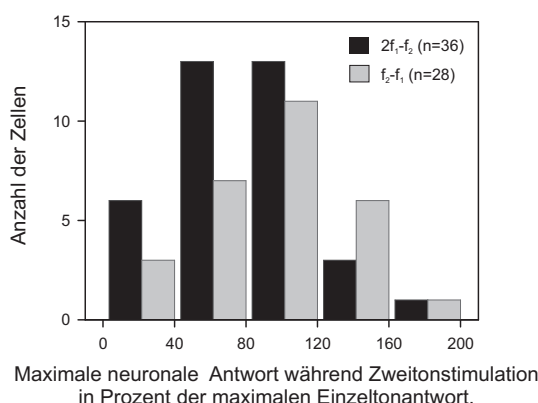


Abbildung 3.13: Unterschied der maximalen neuronalen Antwortrate während Zweittonstimulation in Prozent der maximalen neuronalen Antwort während CF-Einzeltonstimulation. Dargestellt sind nur die Daten der Messungen, die während Zweitton- und Einzeltonstimulation eine nichtmonotone Intensitätskennlinie aufwiesen. Werte über 100 % bedeuten eine erhöhte maximale Antwortrate während Zweittonstimulation verglichen mit der maximalen Antwortrate während Einzeltonstimulation.

produktpegel verdeutlicht. Für tiefere Verzerrungsproduktfrequenzen (<1,3 kHz) steigen die Differenzen zwischen akustischer und neuronaler Verzerrungsproduktschwelle deutlich bis auf 47,3 dB an (Mittelwert: $21,9 \pm 15,8$ dB). Dies bedeutet, dass entsprechend höhere Stimuluspegel zum Erzeugen einer otoakustischen Emission auf Schwelleniveau notwendig sind, als zur Evozierung neuronaler Aktivität.

Ein weiteres untersuchtes Merkmal war der Unterschied der maximalen Antwortrate während Zweitton- und CF-Einzeltonstimulation. In Abbildung 3.13 ist die Verteilung der maximale AP-Rate während Zweittonstimulation in Prozent der maximalen AP-Rate während CF-Einzeltonstimulation dargestellt. Dabei wurden nur die Neurone ausgewertet, die einen nicht-monotonen oder gesättigten Intensitätskennlinienverlauf während Zweitton- und CF-Einzeltonstimulation aufwiesen (n=64). Die Unterschiede der maximalen Antwortraten variierten zwischen 25 % und 169 % (Mittelwert: 86 %), also zwischen einer Reduktion der maximalen Antwort während Zweittonstimulation auf 25 % der maximalen CF-Einzeltonantwort und einer Erhöhung der Zweittonantwort auf 169 % der CF-Einzeltonantwort. Anhand der Verschiebung der Häufigkeitsverteilungen für die beiden Verzerrungsprodukte ist zu erkennen, dass die Stimulation durch ein $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt eine, verglichen mit CF-Einzeltonstimulation, durchschnittlich 20 % niedrigere maximale Aktionspotentialrate evozierte. Eine Stimulation durch ein f_2-f_1 Verzerrungsprodukt ergab eine im Durchschnitt nur 7 % niedrigere maximale AP-Rate während Zweittonstimulation, verglichen mit CF-Einzeltonstimulation. Eine mögliche Erklärung für diese Ungleichheit ist der unterschiedlich starke inhibitorische Einfluss der zwei hochfrequenten Stimuli auf die neu-

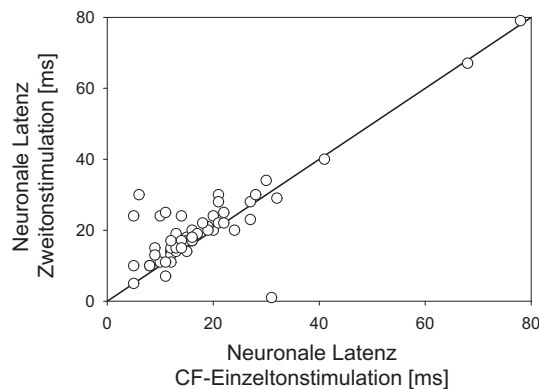


Abbildung 3.14: Verteilung der neuronalen Latenzen während Zweitonstimulation gegen die neuronalen Latenzen während CF-Einzeltonstimulation.

ronale Verzerrungsproduktantwort. Durch den geringeren Frequenzabstand der Primärtöne zur CF und den inhibitorischen Seitenbändern ist anzunehmen, dass der inhibitorische Einfluss der Stimulustöne während der $2f_1-f_2$ Verzerrungsproduktmessungen größer war als bei f_2-f_1 Messungen. Auch die Latenz der neuronalen Antwort während Zweitonstimulation unterschied sich von der neuronalen Latenz während CF-Einzeltonstimulation. Während Zweitonstimulation antworteten die Neurone im Durchschnitt 2,7 ms ($\pm 4,1$) später als während CF-Einzeltonstimulation. In Abbildung 3.14 sind die Latenzen der neuronalen Antworten während Zweiton- und CF-Einzeltonstimulation gegeneinander dargestellt.

3.2.5 Variation der Stimulusfrequenzen

Bei einem Teil der Neurone ($n=66$) wurde die neuronale Antwort und der DPOAE-Pegel während Zweitonstimulation für verschiedene Stimulusfrequenzen getestet. Die Frequenz des f_1 Stimulus wurde dabei schrittweise erhöht, um das f_2/f_1 Frequenzverhältnis so anzupassen, dass ein spezifisches Verzerrungsprodukt ($2f_1-f_2$ oder f_2-f_1) unverändert an der CF des Neurons lag. Die Beispiele in Abbildung 3.15.A-B, C-D und E-F zeigen eine Korrelation zwischen dem DPOAE-Pegel und der neuronalen Antwortrate für unterschiedliche Stimulusfrequenzen. Die entsprechenden Korrelationskoeffizienten waren: $r^2=0,74$, $r^2=0,5$ und $r^2=0,73$. Dabei konnte der DPOAE-Pegel bei allen Stimulusfrequenzen unterhalb der neuronalen Einzeltonschwelle liegen, obwohl eine deutliche überschwellige neuronale Antwort messbar war (siehe Abb. 3.15.A-B und E-F). Dies war besonders bei Neuronen mit einer niedrigen CF der Fall.

Die DPOAE-Pegel und die Stärke der neuronalen Antwort während Zweitonstimulation mit unterschiedlichen Stimulusfrequenzen konnten allerdings auch deutlich voneinander

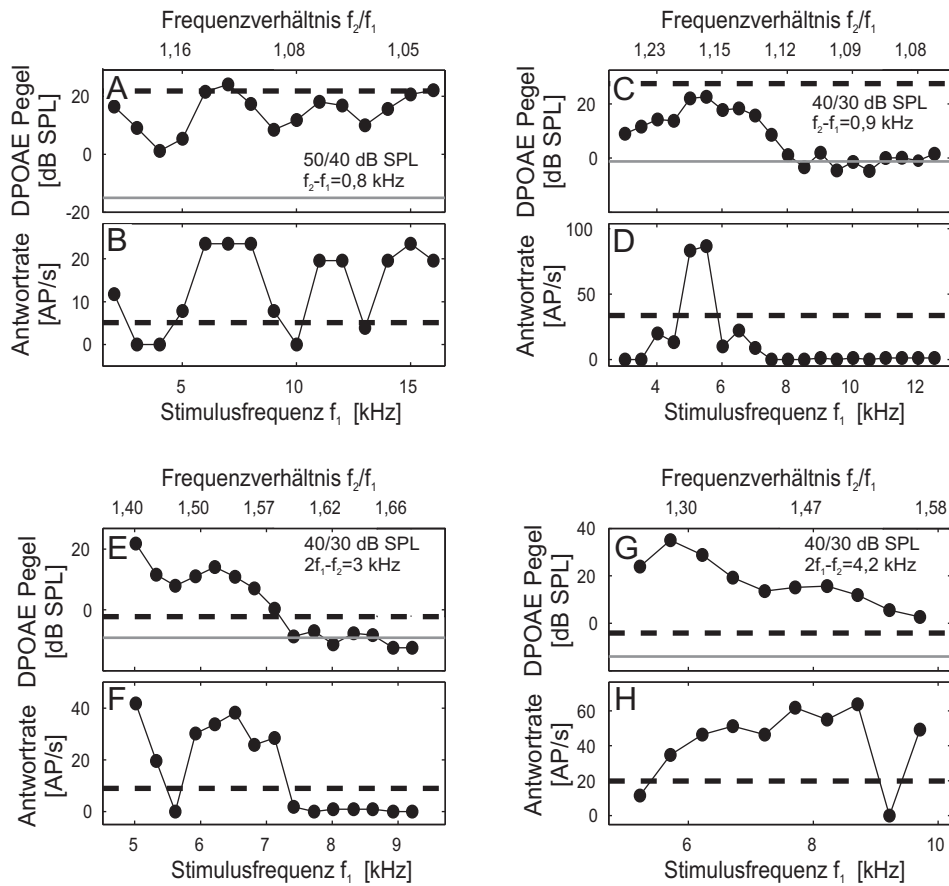


Abbildung 3.15: Vier Beispiele für Messungen des DPOAE-Pegels (A,C,E und G) und der neuronalen Antwortrate (B,D,F und H) während Zweittonstimulation mit variablen Stimulusfrequenzen. Jeweils zwei Abbildungen (A und B, C und D usw.) repräsentieren die Messung an einem Neuron. Der Pegel der Stimulustöne und die Frequenz des getesteten Verzerrungsproduktes wurden konstant gehalten (siehe Text in Abbildung). Mit steigender f_1 Frequenz (jeweils untere X-Achse) musste das Frequenzverhältnis der Stimulustöne (jeweils obere X-Achse) sukzessive erhöht werden, um die Frequenz des jeweiligen Verzerrungsproduktes konstant zu halten. Die gestrichelte Linie markiert den Einzeltonschwellenpegel (A,C,E und G) und die entsprechende neuronale Schwellenrate (B,D,F und H). Der Mittelwert von 15 Stimulusdarbietungen ist dargestellt. Die durchgehende Linie (A,C,E und G) markiert den akustischen Rauschpegel.

abweichen. In Abbildung 3.15.G und H ist eine Messung dargestellt, bei der ein maximaler DPOAE-Pegel und eine maximale neuronale Antwort auf ein Verzerrungsprodukt für sehr unterschiedliche Stimulusfrequenzen gefunden wurde. Für dieses Neuron ($CF=2,7$ kHz) konnte ein inhibitorisches Seitenband mit einer charakteristischen Frequenzen von $5,7$ kHz ($Q_{10dB}=3,2$) bestimmt werden, welches einen inhibitorischen Einfluss der Stimulustöne f_1 und f_2 auf die neuronale Verzerrungsproduktantwort vermitteln könnte. Dafür spricht auch, dass besonders niedrige neuronale Antwortrate zu messen waren, wenn die Frequenz von f_1 im Bereich der charakteristischen Frequenz des inhibitorischen Seitenbandes war.

3.3 Direkte Phasenauslöschung cochleärer Verzerrungsprodukte

Um zu überprüfen, ob das während Zweittonstimulation in der Cochlea generierte Verzerrungsprodukt tatsächlich der exzitatorische Stimulus für das jeweilige Neuron war, wurde das Verzerrungsprodukt direkt in der Cochlea ausgelöscht. Dazu wurde während Zweittonstimulation ein dritter Ton präsentiert, dessen Frequenz f_3 mit der Frequenz des spezifischen Verzerrungsproduktes identisch war, dessen Phase aber um 180° zur intracochleären Phase des Verzerrungsproduktes verschoben war.

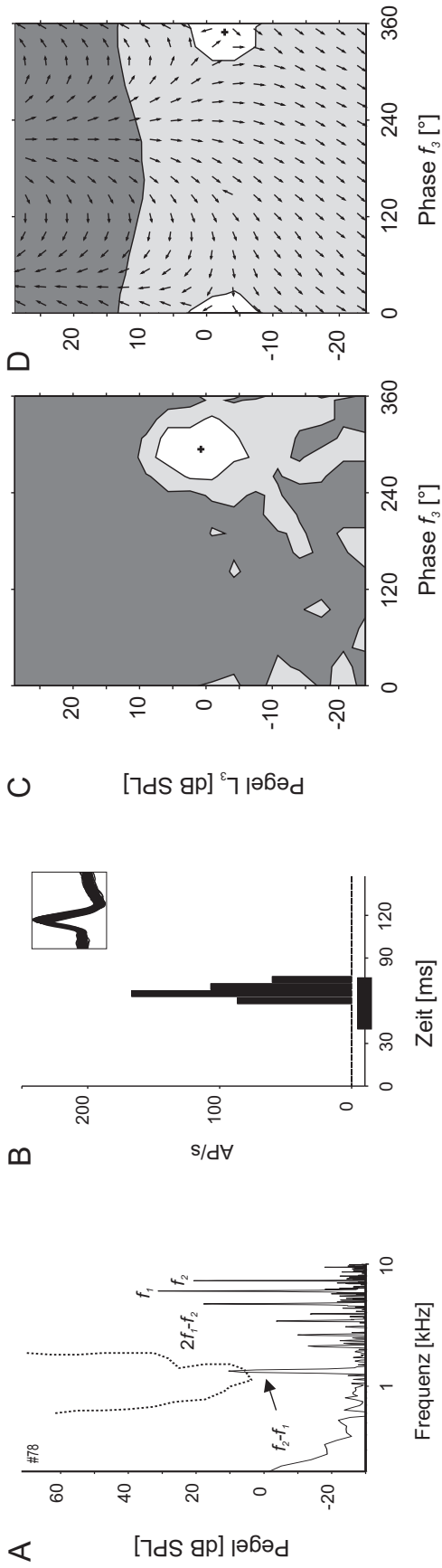
Die Frequenzen (f_1 und f_2) und Pegel (L_1 und L_2) der beiden Stimuli wurden aus einem vorherigen Versuch so gewählt, dass sich sowohl neuronale Aktivität als auch eine otoakustische Emission mit einem Pegel oberhalb des Rauschpegels messen ließen. Während die Frequenzen und Pegel der beiden Stimuli f_1 und f_2 konstant gehalten wurden, wurde der Pegel und die Phase des dritten Tons f_3 schrittweise variiert und die neuronale Antwort sowie der Pegel und die Phase der spezifischen DPOAE im Gehörgang gemessen. Eine Reduktion der neuronalen Antwort auf $\leq 20\%$ der Aktivität, die in Abwesenheit des dritten Tons zu messen war, wurde als Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktantwort definiert. Eine Reduktion des DPOAE-Pegels um 6 dB, verglichen mit dem Kontrollpegel der in Abwesenheit von f_3 gemessen wurde, wurde als akustische Auslöschung der DPOAE definiert.

Ein Beispiel für die Auslöschung der neuronalen Antwort einer Einzelzelle ($CF=1,12$ kHz) auf ein f_2-f_1 Verzerrungsprodukt durch einen dritten Ton gleicher Frequenz ist in Abbildung 3.16 dargestellt. Die Stimuli $f_1=6$ kHz, 43 dB SPL und $f_2=7,33$ kHz, 33 dB SPL evozierten eine f_2-f_1 DPOAE von $1,33$ kHz und $13,5$ dB SPL. Die Stimuli evozierten keine neuronale Aktivität, wenn sie separat präsentiert wurden.

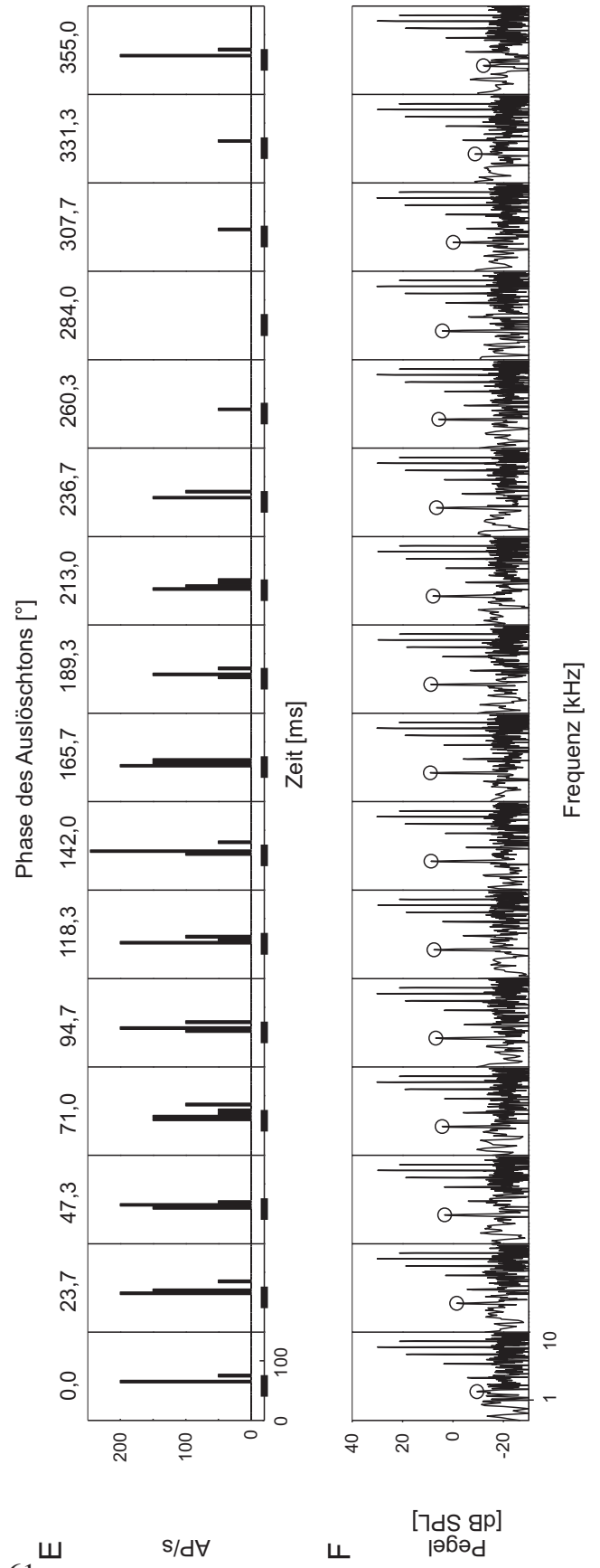
Durch die zusätzliche Präsentation des dritten Tons f_3 mit einem Pegel von $0,9$ dB SPL und einer Phase von 284° relativ zur Phase von f_1 war es möglich die neuronale Antwort

auf das Verzerrungsprodukt vollständig zu auszulöschen (Abb. 3.16.E). Eine Auslöschung des akustischen DPOAE-Pegels war bei gleichem L_3 -Pegel aber leicht abweichender Phase von 355° möglich (Abb. 3.16.F). Da die Auslöschung der neuronalen Antwort und die Auslöschung der DPOAE sowohl von der Phase als auch von dem Pegel des dritten Tons abhängig war, wurden die gemessenen DPOAE-Pegel und neuronalen Aktivitäten in einer zweidimensionalen Iso-Konturkarten dargestellt (Abb. 3.16.C und D). Die weißen Flächen markieren den Phasen-/Pegelbereich des dritten Tons, der hinreichend war um die neuronale Verzerrungsproduktantwort (Abb. 3.16.C) bzw. die otoakustische Emission des Verzerrungsproduktes (Abb. 3.16.D) auszulöschen. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde der Mittelpunkt (Zentroid) der Auslöschbereiche errechnet (Abb. 3.16.C und D, Kreuze) und

Abbildung 3.16 (nächste Seite): Auslöschung der neuronalen Antwort auf ein f_2-f_1 Verzerrungsprodukt und der f_2-f_1 DPOAE durch die Präsentation eines dritten Tons. **A:** Spektrum des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals während Zweittonstimulation ($f_1=6$ kHz, 43 dB SPL; $f_2=7,33$ kHz, 33 dB SPL; Stimulusdauer: 30 ms + 3 ms Flanken, 30 Stimuluswiederholungen wurden gemittelt). Die f_2-f_1 Emission hatte eine Frequenz von 1,33 kHz und einen Pegel von 13,5 dB SPL. Die gepunktete Linie markiert den exzitatorischen Antwortbereich des Neurons (CF=1,12 kHz). **B:** PSTH der neuronalen Antwort während Zweittonstimulation (Histogramm-Klassenbreite: 5 ms). Das Neuron antwortete nicht auf die separate Präsentation der Stimulustöne. Die eingefügte Abbildung zeigt 2 ms der Aktionspotentialwellenform. **C:** Iso-Konturkarte der neuronalen Antwort auf die simultane Präsentation der Stimulustöne f_1 und f_2 (siehe B) und eines dritten Tons $f_3=1,33$ kHz mit variierenden Phasen- (0° bis 355° , 16 Phasenschritte) und Pegelwerten (-24 bis 28,8 dB SPL, 17 Pegelschritte). Die drei Stimulustöne hatten eine identische Stimulusdauer und überlappten zeitlich vollständig. Die Antwort auf vier Stimuluspräsentationen wurde gemittelt. In dem weißen Bereich war die neuronale Antwort auf $\leq 20\%$ der Antwort reduziert, die auf die Zweittonstimulation mit f_1 und f_2 , aber in Abwesenheit des dritten Tons f_3 , gemessen wurde. Das kleine Kreuz markiert den Mittelpunkt (Zentroid) der Fläche. Die dunkelgraue Fläche markiert den Bereich für den der dritte Ton zu einer $\geq 50\%$ Erhöhung der neuronalen Antwort führte. **D:** Iso-Konturkarte des im Gehörgang gemessenen DPOAE-Pegels während Dreitonstimulation (siehe C). In dem weißen Bereich war der Pegel der DPOAE um ≥ 6 dB relativ zum DPOAE-Pegel während Zweittonstimulation (siehe A) reduziert. Das Kreuz markiert den Mittelpunkt (Zentroid). Im dunkelgrauen Bereich war der DPOAE-Pegel um > 6 dB im Vergleich zur Zweittonstimulation erhöht. Die Pfeile geben die Phase der DPOAE in Grad an, wobei ein nach oben gerichteter Pfeil 0° entspricht (ansteigende Phasen sind gegen den Uhrzeigersinn aufgetragen). **E:** Die PSTH stellen die neuronale Antwort während Dreitonstimulation mit einem L_3 -Pegel von 0,9 dB SPL und unterschiedlichen f_3 -Phasen dar. Die neuronale Antwort wurde vollständig ausgelöscht bei einer f_3 -Phase von 284° . **F:** Spektren des während Dreitonstimulation im Gehörgang gemessenen Signals mit einem L_3 -Pegel von 0,9 dB SPL und unterschiedlichen f_3 -Phasen (entsprechend E). Der niedrigste DPOAE-Pegel (-12 dB SPL) wurde für eine f_3 -Phase von 355° gemessen.



19



als optimale Auslöschphase bzw. optimaler Auslöschpegel des dritten Tons f_3 definiert. In diesem Beispiel hatte der Pegel- und Phasenbereich von f_3 , mit dem die neuronale Aktivität auf das Verzerrungsprodukt ausgelöscht werden konnte, einen Mittelpunkt von 294° und $0,7$ dB SPL und umfasste ca. 14 dB und 79° . Eine Auslöschung der entsprechenden otoakustischen Emission fand in einem Phasen-/Pegelbereich von 73° und 11 dB um einen optimalen Phase- und Pegelwert von 347° und $-3,8$ dB SPL statt.

Die Phasenwerte der im Gehörgang gemessenen DPOAE wurden als Pfeile in Abbildung 3.16.C dargestellt (in Grad, wobei ein Pfeil nach oben 0° bzw. 360° entsprach und die Phase sich gegen den Uhrzeigersinn erhöhte). Während die gemessenen Phasen bei niedrigen L_3 -Pegeln von der Phase der otoakustischen Emission dominiert wurden und deshalb relativ unabhängig von der f_3 -Phase waren, ist für hohe f_3 -Pegel eine direkte Abhängigkeit der gemessenen Phase von der f_3 -Stimulusphase zu beobachten. Das macht deutlich, dass bei niedrigen f_3 -Pegeln tatsächlich das aus der Cochlea emittierte Verzerrungsprodukt gemessen wurde, während für hohe f_3 -Pegel der dritte Ton direkt gemessen wurde. Im Bereich der Auslöschung der akustischen Emission (Abb. 3.16.C) sind große Phasensprünge von ca. 180° zu beobachten, die die Phasenauslöschung der DPOAE durch den dritten Ton in diesem Bereich verdeutlichen.

In 34 von 38 Messungen (89,5 %) war es möglich, eine Phasen- und Pegelkombination des dritten Tons zu finden, mit der sowohl die neuronale Antwort als auch die akustische Emission ausgelöscht werden konnten. In den vier anderen Fällen war es nicht möglich, einen klaren Phasen-/Pegelbereich des dritten Tons zur Auslöschung der neuronalen Antwort zu finden.

Die Variabilität der bei verschiedenen Neuronen gemessenen Auslöschbereiche ist in Abbildung 3.17 dargestellt. Das Beispiel in Abbildung 3.17.A-C zeigt, dass die Auslöschung der neuronalen Aktivität und der otoakustischen Emission auch für das kubische ($2f_1-f_2$) Verzerrungsprodukt möglich ist. Der Anteil der $2f_1-f_2$ Auslöschversuche macht allerdings nur 35 % aller Auslöschversuche aus. Dies liegt an der Fokussierung der Auslöschexperimente auf tieffrequente Neurone und auf das quadratische Verzerrungsprodukt.

Abbildung 3.17.D-F zeigt die Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktantwort und der f_2-f_1 otoakustischen Emission bei einer Zelle mit geschlossener Abstimmkurve. Der Phasen-/Pegelbereich des dritten Tons (f_3), in dem die neuronale Antwort auf das Verzerrungsprodukt ausgelöscht wird, ist hier deutlich kleiner als in den vorherigen Beispielen. Außerdem ist für f_3 -Pegel über 20 dB SPL ein großer Bereich mit reduzierter neuronaler Aktivität zu erkennen, der auf einen direkten inhibitorischen Einfluss des f_3 -Tons auf die Aktivität des Neurons bei hohen Stimuluspegeln zurückzuführen ist.

Das Beispiel Abbildung 3.17.H zeigt die Auslöschung der neuronalen Antwort auf ein tieffrequentes f_2-f_1 Verzerrungsprodukt mit einem f_3 -Pegel von $35,6$ dB SPL (f_3 -Phase:

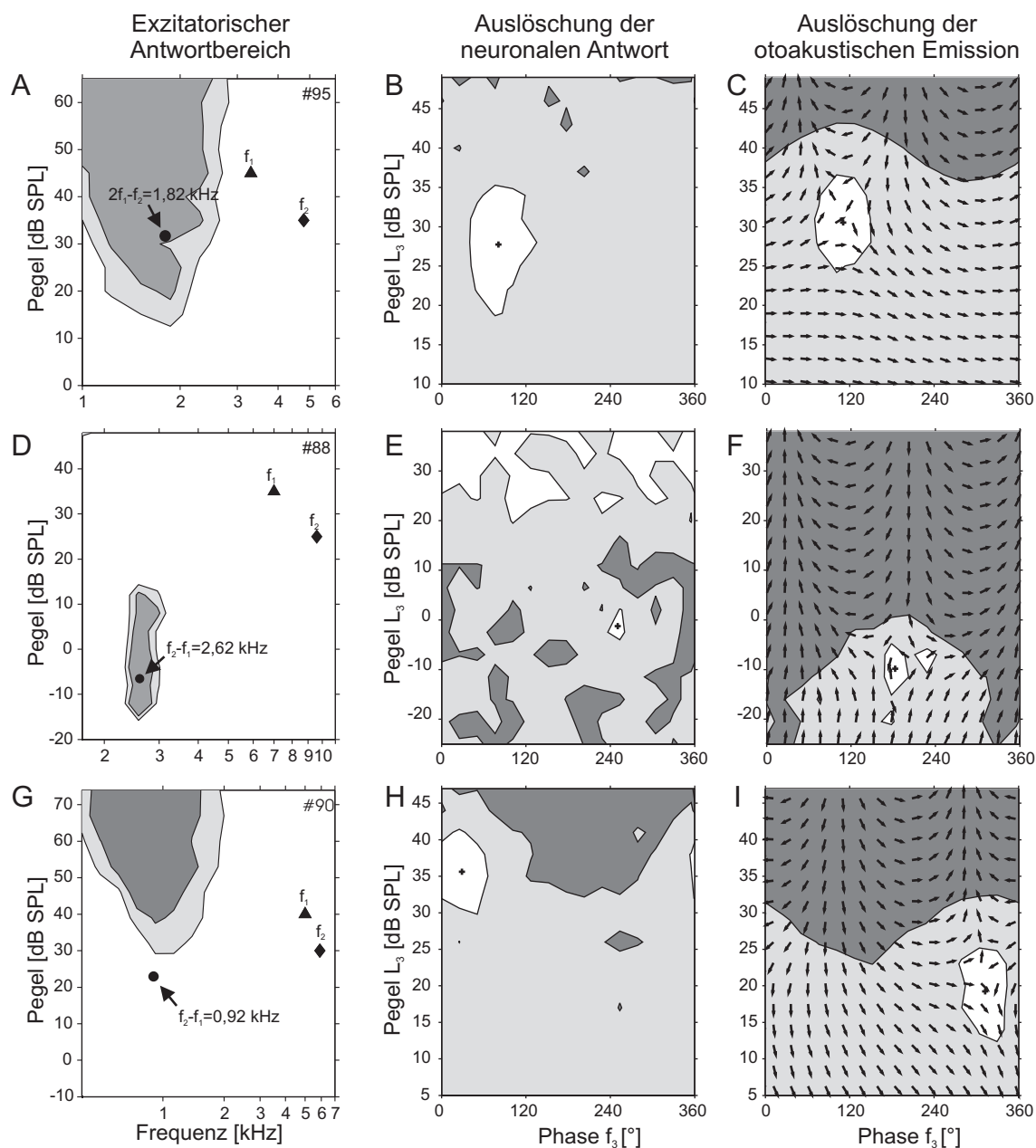


Abbildung 3.17: Drei Beispiele für die Auslöschung der neuronalen Antwort auf f_2-f_1 und $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukte und die Auslöschung der jeweiligen otoakustischen Emissionen. Jede Zeile beschreibt die Messungen an einer Zelle. (Für eine genaue Beschreibung siehe Abb.3.16) **A,D,G:** Exzitatorische Antwortbereiche der Neurone. Die beiden Stimulustöne f_1 und f_2 (Dreieck und Raupte) sowie der DPOAE-Pegel (Kreis) und die Frequenz des getesteten Verzerrungsproduktes sind eingezeichnet. **B,E,H:** Iso-Konturkarte der neuronalen Antwort während Dreitonstimulation mit f_1 , f_2 und dem Auslöschton f_3 . **C,F,I:** Iso-Konturkarte des DPOAE-Pegels während Dreitonstimulation mit f_1 , f_2 und dem Auslöschton f_3 . Für Details siehe Abb. 3.16.

29°). Der Pegel zur Auslöschung der otoakustische Emission war mit 19,2 dB SPL (f_3 -Phase: 312°) deutlich niedriger. Auch der Pegel des in Abwesenheit des dritten Tons im Gehörgang gemessenen f_2 - f_1 DPOAE lag mit 22,9 dB SPL deutlich unter der neuronalen Schwelle von 29,2 dB SPL. Diese Diskrepanz zwischen dem Schallpegel des dritten Tons, der notwendig war um die neuronale Antwort auszulöschen und dem Pegel, der zur Auslöschung der DPOAE im Gehörgang führte spiegelt sich bei der Mehrzahl der Messungen mit tieffrequenten Verzerrungsprodukten wieder und steigt zu tiefe Frequenzen an (Abb. 3.18.A). Für höhere Verzerrungsproduktfrequenzen (>1,3 kHz) schwanken die Differenzen zwischen den f_3 -Auslöschpegeln um einen Mittelwert von 2 dB.

In Abbildung 3.18.B ist der Pegel des dritten Tons, der zur DPOAE Auslöschung führte, gegen den DPOAE-Pegel, der in Abwesenheit des dritten Tons gemessen wurde, aufgetragen. Die Messwerte korrelieren sehr stark, sowohl für alle Messungen ($r^2=0,82$) als auch nur für Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen über 1,3 kHz ($r^2=0,83$). Ein deutlich schwächerer Zusammenhang ($r^2=0,3$) besteht zwischen dem f_3 -Pegel zur Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktantwort und dem DPOAE-Pegel (gemessen ohne Auslöschton) für alle Messungen (Abb. 3.18.C). Allerdings verbessert sich die Korrelation zwischen neuronalem Auslöschpegel und DPOAE-Pegel deutlich ($r^2=0,7$), wenn die Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen über 1,3 kHz separat betrachtet werden.

3.4 Cochleäre Verzerrungsprodukte bei komplexen Stimuli

Obwohl cochleäre Verzerrungsprodukte üblicherweise durch die Stimulation mit zwei Reintönen hervorgerufen werden, sind auch andere, komplexere Stimuli zur Erregung cochleärer Verzerrungsprodukte verwendbar. In dieser Arbeit wurden zwei Typen von komplexen Stimuli beispielhaft zur Generierung cochleärer Verzerrungsprodukte verwendet: hochfrequente sinusförmig amplitudenmodulierte Töne (SAM; n=4) und hochfrequente frequenzmodulierte Sinustöne (FM; n=3).

3.4.1 Amplitudenmodulierte Sinustöne

Die Amplitude eines Sinustons mit einer Trägerfrequenz (f_c) wurde mit einer Rate (f_m) und einer Tiefe von 100 % moduliert. Als Trägerfrequenz wurde die weit oberhalb der CF liegende f_1 Frequenz aus einer vorherigen Zweitonstimulation mit quadratischem f_2 - f_1 Verzerrungsprodukt bei CF gewählt. Als Modulationsfrequenz wurde die Frequenz des quadratischen Verzerrungsproduktes (f_2 - $f_1 \approx$ CF) des Neurons gewählt.

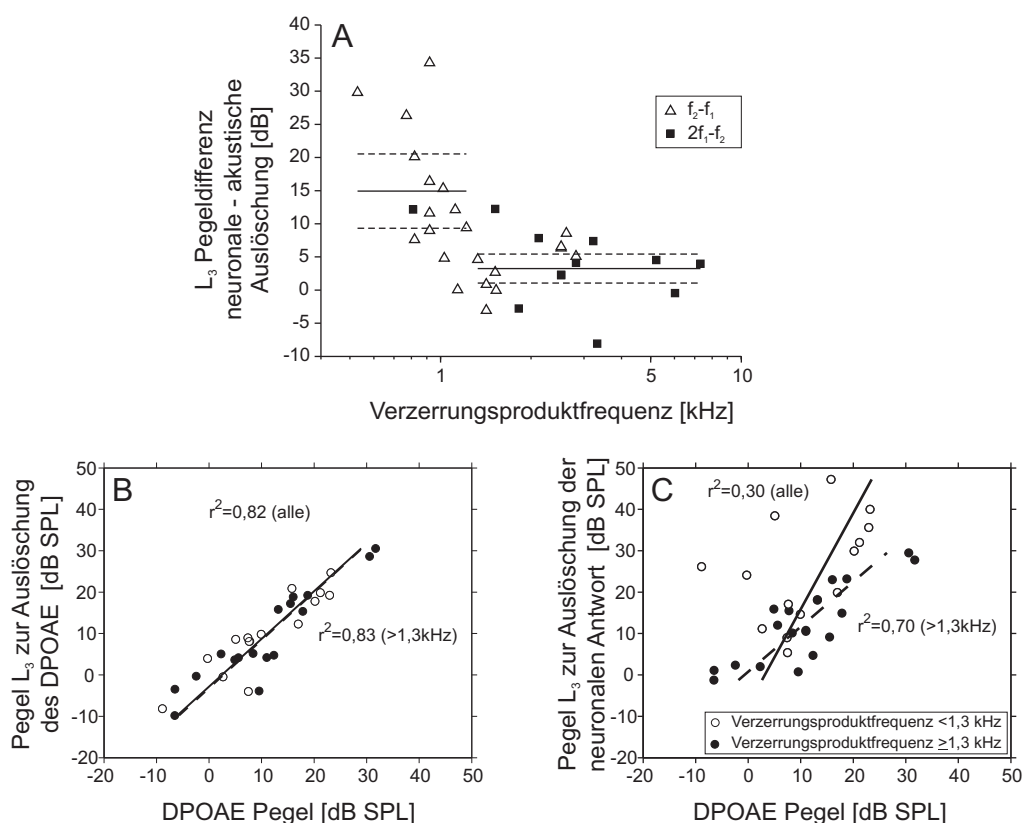


Abbildung 3.18: A: Der Unterschied zwischen dem Pegel des dritten Tons hinreichend zur Auslöschung der neuronale Antwort auf ein Verzerrungsprodukt und dem Pegel zur Auslöschung der otoakustischen Emission des Verzerrungsproduktes ist gegen die Frequenz des Verzerrungsproduktes aufgetragen. Die durchgehende Linie gibt den Mittelwert der Pegelunterschiede für Verzerrungsproduktfrequenzen $\geq 1,3$ kHz ($3,2 \pm 4,6$ dB) und $< 1,3$ kHz ($14,9 \pm 9,7$ dB). Die gestrichelten Linien markieren das entsprechende untere und obere 95 % Konfidenzintervall. B: Pegel L_3 des dritten Tons der hinreichend war um den DPOAE-Pegel auszulöschen gegen den während Zweittonstimulation gemessenen DPOAE-Pegel. Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen $< 1,3$ kHz sind durch offene Kreise, Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen $\geq 1,3$ kHz als gefüllte Kreise repräsentiert. Eine starke Korrelation zwischen L_3 Pegel und DPOAE-Pegel ist sowohl für alle Messungen ($r^2=0,82$) als auch für Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen $\geq 1,3$ kHz ($r^2=0,83$) zu beobachten. C: Pegel L_3 des dritten Tons der hinreichend war um die neuronale Antwort auf das Verzerrungsprodukt auszulöschen gegen den während Zweittonstimulation gemessenen DPOAE-Pegel. Die Korrelation aller Messwerte ist deutlich schlechter ($r^2=0,3$) als die Korrelation für Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen über 1,3 kHz ($r^2=0,7$).

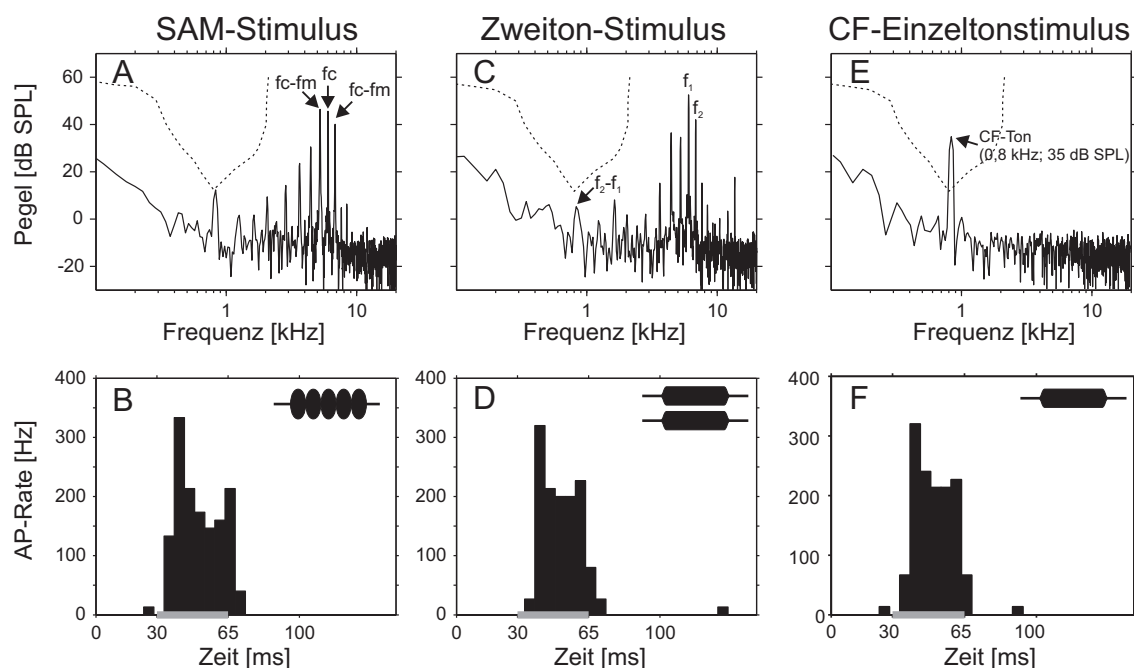


Abbildung 3.19: Antwort eines Neurons (CF=0,8 kHz) auf die Stimulation durch einen hochfrequenten sinusförmig amplitudenmodulierten (SAM) Stimuluston (A,B), zwei hochfrequente Sinustöne (C,D) und einen CF-Einzelton (E,F). **A:** Spektrum des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals während der Stimulation durch einen SAM-Ton mit einer Trägerfrequenz $f_c = 6$ kHz und einer Modulationsfrequenz $f_m = 0,83$ kHz (100 % Modulationstiefe, Stimuluspegel 50 dB SPL). Fünfzehn Stimuluspräsentationen wurden gemittelt. Die Stimulusdauer war 30 ms plus 5 ms Start- und Endflanke (grauer Balken in B). Die gestrichelte Linie gibt den exzitatorischen Antwortbereich des Neurons. **B:** PSTH der neuronalen Antwort während der SAM-Stimulation. **C:** Spektrum des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals während Zweitonstimulation mit $f_1 = 6$ kHz ($L_1 = 50$ dB SPL) und $f_2 = 6,83$ kHz ($L_2 = 40$ dB SPL). Stimulusdauer und Wiederholungen wie in A und B. **D:** PSTH der neuronalen Antwort während der Zweitonstimulation mit f_1 und f_2 . **E:** Spektrum des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals während CF-Einzeltonstimulation mit 0,8 kHz. und 35 dB SPL **F:** PSTH der neuronalen Antwort während der Einzeltonstimulation. Die Histogramm Klassenbreite aller PSTH war 5 ms.

Abbildung 3.19.B zeigt die Antwort eines Neurons auf die Präsentation eines SAM-Tons ($f_c = 6$ kHz), dessen Modulationsfrequenz ($f_m = 0,83$ kHz) mit der CF=0,8 kHz der Zelle übereinstimmte. Der Pegel des SAM-Stimulus lag bei 50 dB SPL. Die neuronale Antwort auf den Stimulus hatte einen phasisch-tonischen Zeitverlauf und hielt über die gesamte Stimulusdauer an. In der Spektralanalyse (Abb. 3.19.A) des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals sind die Trägerfrequenz (f_c) und die zwei für SAM-Stimuli charakteristischen Seitenbänder bei $f_c - f_m$ und $f_c + f_m$ deutlich zu erkennen. Die spektralen Komponenten des Stimulus liegen weit oberhalb des exzitatorischen Antwortbereichs der Zelle. Zusätzlich zu den Stimuluskomponenten sind im Spektrum noch weitere Komponenten zu erkennen, die verschiedenen Verzerrungsprodukten zugeordnet werden können. Man beachte besonders das lokale Maximum bei der Modulationsfrequenz (f_m) des SAM-Tons bzw. der Frequenz des quadratischen Verzerrungsproduktes aus der Kombination von Trägerfrequenz und Seitenbändern ($f_c - [f_c - f_m]$ bzw. $[f_c + f_m] - f_c$).

In Abbildung 3.19.C und D ist die Stimulation desselben Neurons mit zwei Reintönen $f_1 = 6$ kHz und $f_2 = 6,83$ kHz und den Pegeln $L_1 = 50$ dB SPL und $L_2 = 40$ dB SPL dargestellt. Die neuronale Antwort des Neurons ist vergleichbar mit der während SAM-Stimulation gemessenen Antwort. Die Spektralanalyse des im Gehörgang gemessenen Signals zeigt die beiden Stimuli f_1 und f_2 , die weit oberhalb des exzitatorischen Antwortbereichs liegen. Außerdem sind die otoakustischen Emissionen verschiedener cochleärer Verzerrungsprodukte zu erkennen, unter anderem auch ein quadratisches Verzerrungsprodukt mit der Frequenz $f_2 - f_1 = 0,83$ kHz. Die Stärke der neuronalen Antwort während SAM und Zweitonstimulation war vergleichbar mit der Antwort auf einen einzelnen Ton mit 0,83 kHz und 35 dB SPL (Abb. 3.19.F). Eine separate Präsentation von f_1 bzw. eine Präsentation des 'unmodulierte' SAM-Stimulus führte zu keiner neuronalen Aktivität.

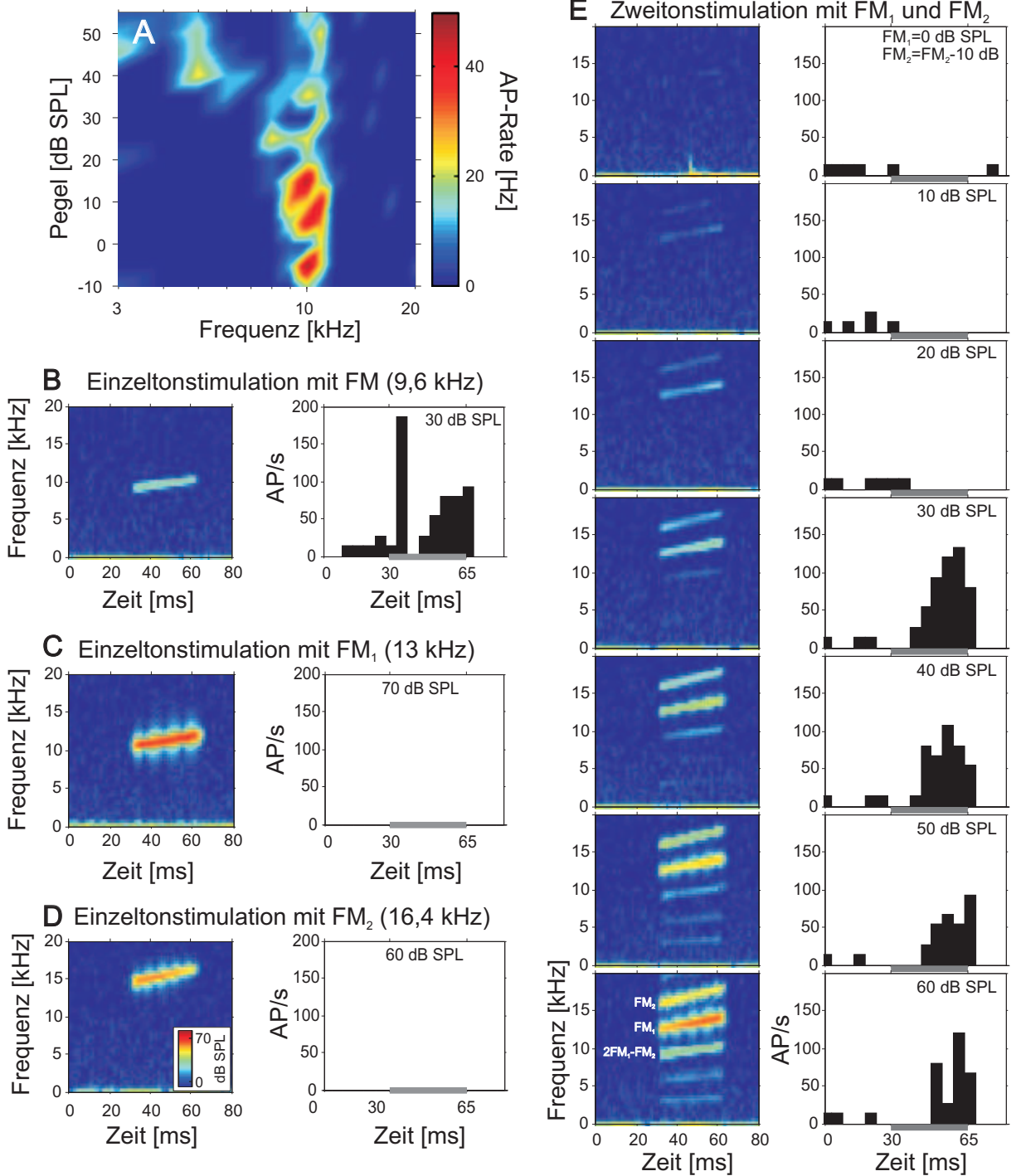
3.4.2 Frequenzmodulierte Sinustöne

Als Stimuli dienten zwei simultan präsentierte Sinustöne deren Frequenzen während der Stimuluspräsentation linear um $\pm 0,05$ Oktaven um die Zentrumsfrequenzen FM_1 und FM_2 moduliert wurden. Ein durch diese Stimuli generiertes kubisches Verzerrungsprodukt ($2FM_1 - FM_2$) ist ebenfalls frequenzmoduliert. Die beiden Zentrumsfrequenzen der beiden Stimuli wurden jeweils so gewählt, dass das kubische Verzerrungsprodukt innerhalb des exzitatorischen Antwortbereichs des getesteten Neurons lag.

Abbildung 3.20 zeigt die Stimulation eines Neurons (CF=10kHz) durch die beiden hochfrequenten FM-Töne ($FM_1 = 13$ kHz und $FM_2 = 16,4$ kHz) bei steigendem Stimuluspegel (Abb. 3.20.E). Beide FM-Stimuli lagen vollständig außerhalb des exzitatorischen Antwortbereichs der Zelle und evozierten separat präsentiert keine neuronale Antwort (Abb.

3.20.C und D). Die Simultane Präsentation der beiden Stimuli evozierte allerdings eine deutliche neuronale Antwort ab einem FM_1 -Stimuluspegel von ca. 30 dB SPL. Das während Zweitonstimulation simultan im Gehörgang gemessene akustische Signal ist als Spektrogramm in Abbildung 3.20.E für die jeweiligen Stimuluspegel dargestellt. Ab FM_1 -Stimuluspegeln von ca. 30 dB SPL sind weitere frequenzmodulierte Komponenten im Spektrogramm zu erkennen, die verschiedenen in der Cochlea generierten Verzerrungsprodukten zugeordnet werden können. Das prominenteste Verzerrungsprodukt, ist das kubische Verzerrungsprodukt mit der Frequenz $2FM_1-FM_2$. Die spektrale Energie dieses Verzerrungsproduktes lag im exzitatorischen Antwortbereich des Neurons und ein einzelner FM-Ton gleicher Länge, Zentrumsfrequenz und Frequenzmodulation evozierte eine vergleichbare neuronale Antwort wenn er als Stimulus verwendet wurde (Abb. 3.20.B).

Abbildung 3.20 (nächste Seite): Stimulation eines Neurons durch zwei hochfrequente frequenzmodulierte Stimulustöne. **A:** Farbcodierte Karte des exzitatorischen Antwortbereichs des Neurons (CF=10 kHz). **B rechts:** Neuronale Antwort auf die Stimulation durch einen einzelnen frequenzmodulierten Ton (30 dB SPL) mit einer Zentrumsfrequenz von 9,6 kHz die während der Stimulusdauer (25 ms plus 5 ms Start- und Endflanke, grauer Balken) linear um $\pm 0,05$ Oktaven moduliert wurde. 15 Stimuluswiederholungen wurden gemittelt und die Histogramm Klassenbreite war 5 ms. **links:** Spektrogramm des im Gehörgang gemessenen akustischen Signals während der FM-Stimulation. **C:** Stimulation durch FM_1 (13 kHz; $\pm 0,05$ Okt.; 70 dB SPL). Darstellung wie in B. **D:** Stimulation durch FM_2 (16,4 kHz; $\pm 0,05$ Okt.; 60 dB SPL). Darstellung wie in B. **E:** Simultane Stimulation mit FM_1 und FM_2 für unterschiedliche Stimuluspegel. Die jeweiligen FM_1 -Stimuluspegel sind im PSTH angegeben ($FM_2 = FM_1 - 10$ dB). Darstellung wie in B. Ab Stimuluspegeln von ca. 30 dB SPL ist das Auftreten von verschiedenen frequenzmodulierten Verzerrungsprodukten im Spektrogramm zu beobachten.



4 Diskussion

4.1 Generelle neuronale Antwortcharakteristiken

Die in dieser Arbeit untersuchten neuronalen Antworteigenschaften der Neurone des Colliculus inferior während der Präsentation von einzelnen Reintönen zeigen gute Übereinstimmungen mit in der Literatur beschriebenen Eigenschaften von IC Neuronen.

Die mit zunehmender Elektroden tiefe ansteigenden charakteristischen Frequenzen der Neurone spiegeln die für den Zentralkern des IC typische Tonotopie wieder, bei der tiefe CF dorsal und hohe CF ventral repräsentiert sind (z.B. D. M. Harris et al., 1997; Schreiner und Langner, 1997; Felix und Portfors, 2007). Die relative Verteilung der neuronalen Schwellenwerte in Abhängigkeit der CF der Neurone ähnelt der Verhaltenshörschwelle (Ryan, 1976) und der Hirnstammpotential-Schwellenkurve (Müller, 1996) der Wüstenrennmaus. Allerdings sind die neuronalen Schwellenwerte geringfügig sensitiver als die im Verhaltensparadigma gemessenen Reaktionsschwellen, was auch für extrazelluläre Ableitungen vom Hörnerv (Müller, 1996) und Ableitungen von Neuronen des antero-ventralen cochleären Nukleus (Faulstich und Kössl, 1999) der Wüstenrennmaus gezeigt wurde. Auch bei anderen Versuchstieren wurden neuronale Schwellenpegel von IC Neuronen bestimmt, die bis zu 20 dB unter den im Verhaltensversuch bestimmten Reaktionsschwellen lagen (Maus: Egorova et al., 2001, Chinchilla: Alkhatib, 2007). Diese Diskrepanz macht deutlich, dass ein akustischer Reiz, auch wenn er zu schwach ist, um eine Wahrnehmung bzw. ein Verhalten hervorzurufen, durchaus neuronale Aktivität evozieren kann. Ähnliche Unterschiede zwischen neuronaler Schwelle und Wahrnehmungsschwelle sind auch für andere sensorische Systeme beschrieben. Beispielsweise sind ca. 10-30 Photonen notwendig, um einen kurzen Lichtblitz zu detektieren, wogegen bekannt ist, dass die Sinneszellen und Nervenzellen der Retina bereits durch einzelne Photonen erregt werden können (Field et al., 2005).

Die Mehrzahl der exzitatorischen rezeptiven Felder der gemessenen Neurone (67 %) hatten V-förmige Antwortbereiche. Ähnlich häufig wurde dieser Antworttyp auch bei colliculären Neuronen anderer Tierarten gefunden. Beispielsweise zeigten 58 % der IC Neurone der Ratte (Malmierca et al., 2003), 50 % der IC Neurone der Maus (Egorova et al., 2001) und 77 % der IC Neurone des Meerschweinchens (LeBeau et al., 2001) solche V-förmigen

Antwortbereiche. Diese ‘einfachen’ Antwortbereiche gleichen denen von Hörnervfasern, bei denen ausschließlich dieser Antworttyp gefunden wird (Schmiedt, 1989; Taberner und Liberman, 2005). Komplexere neuronale Antwortbereiche können durch die Interaktion von exzitatorischen und inhibitorischen Eingängen der Neurone auf verschiedenen Ebenen der Hörbahn, auch im IC, entstehen. So gehen beispielsweise die meisten komplexen Antwortbereiche in V-förmige Antwortbereiche über, wenn die inhibitorischen Eingänge der IC Neurone, durch die Applikation von Strychnin (Glycin-Antagonist) und/oder Bicucullin (GABA-Antagonist) blockiert werden (LeBeau et al., 2001). Auch in der vorliegenden Arbeit konnte bei der Mehrzahl (10 von 12) der Neurone mit geschlossenen oder komplexen Abstimmkurven, ein starker inhibitorischer Einfluss auf die neuronale Antwort beobachtet werden.

Die spontane Aktionspotentialrate der Neurone, die in Abwesenheit eines akustischen Stimulus gemessen wurde, lag im Durchschnitt bei 3,8 Aktionspotentialen pro Sekunde. Vergleichbare Spontanraten colliculärer Neurone wurden ebenfalls in verschiedenen anderen Studien bestimmt (LeBeau et al., 2001; Hernández et al., 2005). Allerdings wies weniger als die Hälfte der in der vorliegenden Arbeit gemessenen Neurone (43 %) eine Spontanaktivität mit einer Rate von mehr als 2 Aktionspotentialen pro Sekunde auf. Das sind deutlich weniger spontanaktive Neurone, als in anderen Studien für IC Neurone der Wüstenrennmaus (Ochse, 2004) und des Meerschweinchens (Syka et al., 2000) beschrieben wurden. Möglicherweise erklärt sich die geringere Anzahl spontanaktiver Neurone in dieser Arbeit mit einer Fokussierung auf die Messung der Antworten einzelner Nervenzellen, was durch den Einsatz von hochohmigen Glaselektroden und eines ‘Spike-Sorting’ Algorithmus erreicht werden sollte. Vielzelleitungen beinhalten dagegen meist die Aktivität von 3-4 einzelnen Neuronen, wodurch sich auch die gemessene Spontanaktivität summieren und erhöhen würde. Für diese Annahme spricht auch, dass bei *in vivo* Patch-Clamp Experimenten an Zellen des Colliculus inferior der Maus und der Ratte, bei denen ausschließlich die Aktivität eines einzelnen Neurons gemessen wurde, sehr wenige Neurone (15 %) spontane Aktivität aufwiesen (Tan et al., 2007). Eine andere Erklärung für die geringe Anzahl an spontanaktiven Neuronen könnte ein Einfluss der verwendeten Narkose auf die Aktivität der Neurone sein. Von einer reduzierten neuronalen Spontanaktivität während Ketamin Narkose wurde beispielsweise von Zurita et al. (1994) berichtet. Allerdings untersuchte die genannte Studie Neurone des auditorischen Thalamus und Kortex und ist deshalb nicht direkt mit den hier vorgestellten Messungen vergleichbar. Gegen einen Einfluss der Narkose spricht, dass in einer aktuellen Studie keine signifikanten Unterschiede in der Spontanaktivität von IC Neuronen zwischen mit Ketamin-Rompun betäubten und wachen Wüstenrennmäusen gefunden wurden (Ter-Mikaelian et al., 2007).

4.2 Neuronale Verzerrungsproduktkorrelate

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die neuronale Antwort von Nervenzellen im Colliculus inferior der Wüstenrennmaus auf die Stimulation durch ein in der Cochlea generiertes Verzerrungsprodukt zu messen. Zur Generierung der cochleären Verzerrungsprodukte wurden zwei hochfrequente Sinustöne (f_1 und f_2 , $f_1 < f_2$) verwendet, die beide außerhalb des exzitatorischen rezeptiven Feldes der Zelle lagen. Das Frequenzverhältnis der beiden Stimulustöne wurde immer so gewählt, dass ein kubisches Verzerrungsprodukt (mit der Frequenz $2f_1 - f_2$) oder quadratisches Verzerrungsprodukt (mit der Frequenz $f_2 - f_1$) an oder nahe bei der CF des Neurons lag. Obwohl die Stimulustöne einzeln präsentiert erwartungsgemäß keine neuronale Antwort evozierten (für Pegel ≤ 60 dB SPL), war in 95 % der Zweittonmessungen eine deutliche, überschwellige neuronale Antwort messbar. Diese neuronale Aktivität wird durch ein cochleäres Verzerrungsprodukt evoziert, das sich von seinem Entstehungsort, dem Überlappungsbereich der beiden Stimuluswanderwellen, in der Cochlea ausbreitet und vergleichbar mit einem externen Stimulus gleicher Frequenz, die Basilarmembran am charakteristischen Frequenzort in Schwingung versetzt. Die Transduktion der Basilarmembranschwingung durch die inneren Haarzellen am charakteristischen Ort des Verzerrungsproduktes führt zu einer Repräsentation des Verzerrungsproduktes in den nachfolgenden neuronalen Strukturen. Diese neuronalen Korrelate des Verzerrungsproduktes repräsentieren also einen Ton, der im Stimulussignal nicht vorhanden war und erst in der Cochlea entstanden ist.

Neuronale Korrelate cochleärer Verzerrungsprodukte wurden bereits auf verschiedenen Stationen der Hörbahn gemessen: angefangen beim auditorischen Nerv (Fahey und Allen, 1985, Kim et al., 1980, Buunen und Rhode, 1978) über den cochleären Nucleus (Faulstich und Kössl, 1999, Smoorenburg et al., 1976), Colliculus inferior (Arnold und Burkard, 1998, McAlpine, 2004) und dem auditorischen Thalamus (Horner et al., 1983) bis hin zum auditorischen Kortex (Purcell et al., 2007). Im Gegensatz zu den meisten anderen Studien wurden in der hier vorgestellten Arbeit allerdings neben den neuronalen Korrelaten auch die otoakustischen Emissionen der Verzerrungsprodukte gemessen. Diese akustischen Emissionen werden aus der Cochlea heraus, revers über das Mittelohr in den Gehörgang übertragen, wo sie mit Hilfe eines sensitiven Mikrophons gemessen werden können. In den oben aufgeführten Veröffentlichungen war es bislang nicht möglich gewesen, otoakustische Emissionen und neuronale Verzerrungsproduktkorrelate simultan unter Verwendung desselben Stimulus zu erfassen. Die simultane Messung beider Phänomene macht einen direkten Vergleich zwischen einer relativ peripheren Messung der Verzerrungsprodukte (otoakustische Emissionen) mit einer möglicherweise stark veränderten neuronalen Repräsentation im zentralen Nervensystem (neuronale Korrelate) möglich. Die Eigenschaften der

neuronalen Repräsentation der cochleären Verzerrungsprodukte können über den Vergleich mit der neuronalen Repräsentation eines Reintons gleicher Frequenz bestimmt werden.

Die gemessenen neuronalen Korrelate der cochleären Zweiton-Verzerrungsprodukte zeigen gute Übereinstimmungen mit anderen, in der Literatur beschriebenen Ergebnissen physiologischer Messungen cochleärer Verzerrungsprodukte. Beispielsweise lag die neuronale $2f_1-f_2$ Verzerrungsproduktschwelle, also der Stimuluspegel L_1 , der während Zweitonstimulation notwendig war um neuronale Aktivität zu evozieren, durchschnittlich 33 dB (Bereich: 5-50 dB) oberhalb der CF-Einzeltonschwelle. Umgekehrt bedeutet dies, dass der intracochleäre Verzerrungsproduktpegel im schwelennahen Bereich durchschnittlich 33 dB unterhalb des Stimuluspegels L_1 lag. Vergleichbare relative Verzerrungsproduktamplituden während Zweitonstimulation sind für Messungen der Basilarmembranschwingung (Robles et al., 1997: 20-60 dB unterhalb des Primärtonpegels) oder des Rezeptorpotentials innerer Haarzellen (Nuttall und Dolan, 1990: 25-30 dB unterhalb des Primärtonpegels) beschrieben. Auch die in der Literatur beschriebenen neuronalen Korrelate des kubischen Verzerrungsproduktes im auditorischen Nerv (Kim et al., 1980), cochleären Nucleus (Faulstich und Kössl, 1999, Fahey und Allen, 1985) und auditorischen Thalamus (Horner et al., 1983) zeigen gute Übereinstimmungen mit den hier vorgestellten Ergebnissen.

Bei Messungen, in denen das quadratische Verzerrungsprodukt f_2-f_1 als neuronaler Stimulus getestet wurde, musste der Stimuluspegel L_1 zwischen 7 dB unterhalb und 56 dB oberhalb der Einzeltonschwelle liegen, um neuronale Aktivität zu evozieren. Diese Werte passen gut zu den Schwellenwerten der neuronalen Verzerrungsproduktkorrelate die für Neurone des cochleären Nucleus der Katze gemessen wurden (Smoorenburg et al., 1976). Auch bei intrazellulären Messungen an inneren Haarzellen konnte eine starke f_2-f_1 Antwort schon für niedrige (<30 dB SPL) Schallpegel gezeigt werden (Nuttall und Dolan, 1993).

Interessanterweise konnten in der vorliegenden Arbeit neuronale Verzerrungsproduktkorrelate auch durch komplexere Stimuli evoziert werden. Beispielsweise konnte eine starke neuronale Antwort auf die simultane Präsentation von zwei hochfrequenten frequenzmodulierten Stimulustönen hervorgerufen werden, obwohl die Stimuli einzeln präsentiert keine neuronale Antwort evozierten. Während der Stimulation konnte ein, durch die frequenzmodulierten Stimuli generiertes kubisches Verzerrungsprodukt (ebenfalls ein frequenzmodulierter Ton), als otoakustische Emission im Gehörgang gemessen werden. Die Zentrumsfrequenz dieses Verzerrungsproduktes lag bei der charakteristischen Frequenz des Neurons. Diese Ergebnisse legen nahe, dass auch komplexe Stimuli, deren spektrale Zusammensetzung frequenzmodulierte Komponenten beinhaltet (beispielsweise Kommunikationslaute und Sprache), cochleäre Verzerrungsprodukte evozieren können und dass deren neuronale Korrelate zur zentralnervösen Repräsentation des Stimulus beitragen.

4.3 Intracochleäre Auslöschung der Verzerrungsprodukte

Um sicherzustellen, dass das intracochleäre Verzerrungsprodukt der einzige erregende Stimulus für das jeweilige Neuron war, wurde bei einem Teil der Versuche das Verzerrungsprodukt direkt in der Cochlea ausgelöscht und die Antwort des Neurons gemessen.

Dazu wurde während Zweittonstimulation ein dritter Ton mit der Frequenz des Verzerrungsproduktes, aber einer Phase, die um 180° zur intracochleären Verzerrungsproduktphase verschoben war, präsentiert. Wenn die neuronale Aktivität durch das intracochleäre Verzerrungsprodukt evoziert wird, so müsste während der Auslöschung der Basilar membran-schwingung am charakteristischen Ort des Verzerrungsproduktes, eine Auslöschung der neuronalen Antwort zu beobachten sein. Dies konnte von McAlpine (2004) für Korrelate des quadratischen Verzerrungsproduktes bei Neuronen des Colliculus inferior des Meerschweinchens gezeigt werden. Die Auslöschung des Verzerrungsproduktes im Rezeptororgan führt natürlich auch zur Auslöschung der Wahrnehmung des Verzerrungsproduktes, was in verschiedenen psychophysischen Untersuchungen am Menschen gezeigt werden konnte (Zwicker und Harris, 1990; Furst et al., 1988; Pressnitzer und Patterson, 2001).

In der vorliegenden Arbeit, konnten neuronale Antworten auf cochleäre Verzerrungsprodukte in 89 % der getesteten Fälle erfolgreich ausgelöscht werden. Die Auslöschung war für beide Verzerrungsprodukttypen ($2f_1-f_2$ und f_2-f_1) und im gesamten getesteten Frequenzbereich möglich. Außerdem konnten in allen Fällen die otoakustischen Emissionen des jeweiligen Verzerrungsproduktes im Gehörgang des Tieres ausgelöscht werden. Die Pegel und Phasenwerte des dritten Tons, die zur Auslöschung der neuronalen Antwort bzw. der otoakustischen Emission hinreichend waren, beschrieben jeweils einen einzelnen, klar abgegrenzten Pegel-/Phasenbereich.

Die Ergebnisse legen nahe, dass das jeweilige Verzerrungsprodukt, zumindest für die getesteten Stimuluspegel, der einzige erregende Stimulus für das Neuron war und weder andere spektrale Komponenten, noch zentrale neuronale Mechanismen die neuronale Antwort während Zweittonstimulation evozierten. Die nicht erfolgreiche Auslöschung der neuronalen Aktivität in den verbleibenden 11 % der Messungen lässt sich größtenteils auf die ungünstigen Messsituationen in diesen Fällen zurückführen. Da das zur Auslöschung der Verzerrungsprodukte notwendige Messparadigma sehr viele Stimuluskombinationen verlangte, konnten nur relativ wenige (üblicherweise vier) Stimuluswiederholungen präsentiert werden. Eine Zelle mit variabler, niedriger Antwortrate, liefert unter Umständen

zu wenig Aktionspotentiale für die exakte Bestimmung eines klar abgegrenzten Pegel- und Phasenbereichs der neuronalen Auslöschung.

Vergleichbarkeit zwischen otoakustischen Emissionen und neuronalen Korrelaten der cochleären Verzerrungsprodukte

Durch die simultane Messung der otoakustischen Emissionen während der Auslöschung des Verzerrungsproduktes in der Cochlea war es möglich, die Charakteristik der rückwärtigen Übertragung des Verzerrungsproduktes aus der Cochlea in den Gehörgang zu untersuchen. Der optimale Pegel des 'Auslösch'-Tons zur Auslöschung der Emission im Gehörgang entsprach dem DPOAE-Pegel, der in Abwesenheit des Auslöschtons zu messen war, was den Gehörgang als Ort der akustischen Auslöschung nahe legt.

Für Verzerrungsproduktfrequenzen oberhalb von 1,3 kHz unterschied sich der L_3 -Pegel, der notwendig war, um die neuronale Antwort auszulöschen vom L_3 -Pegel zur Auslöschung der otoakustischen Emission um durchschnittlich nur 3,2 dB. Diese minimale Differenz legt nahe, dass der intracochleäre Pegel des Verzerrungsproduktes ungefähr dem am Trommelfell gemessenen DPOAE-Pegel entsprach und dass das Verzerrungsprodukt bei der Reemission aus der Cochlea kaum Energie verloren hat. Der deutliche lineare Zusammenhang zwischen DPOAE-Pegel und neuronalem L_3 -Auslöschpegel (Abb. 3.18), mit einer Regressionssteigung von ca. 1 dB/dB ($r^2 = 0,7$), unterstützt die Annahme einer verlustfreien Reemission der Verzerrungsprodukte mit Frequenzen über 1,3 kHz.

Diese Interpretation wird durch die Messungen der neuronalen und akustischen Verzerrungsproduktschwellen (Abb. 3.12) bestätigt, die zeigen, dass für Verzerrungsproduktfrequenzen oberhalb von 1,3 kHz ungefähr gleiche Stimuluspegel zur Generierung von otoakustischen Emissionen und neuronalen Verzerrungsproduktkorrelaten auf Schwellenniveau ausreichend sind. Vergleichbare akustische und neuronale Schwellenunterschiede der Verzerrungsprodukte in diesem Frequenzbereich wurden auch für Neurone des AVCN gemessen, sowohl bei der Wüstenrennmaus (Faulstich und Kössl, 1999) als auch bei der Katze (Fahey und Allen, 1985).

Die Interpretation einer gleichwertigen Vor- und Rückwärtsübertragung des Mittelohrs widerspricht allerdings Ergebnissen von Magnan et al. (1997) (Meerschweinchen) und Dong und Olson, 2006 (Wüstenrennmaus). In beide Studien wurde sowohl der intracochleäre Verzerrungsproduktpegel mit Hilfe eines Drucksensors, als auch die otoakustischen Emissionen im Gehörgang gemessen und eine Abschwächung des Verzerrungsproduktpegels von ca. 10 dB bei der rückwärtigen Übertragung in den Gehörgang gefunden. Beide Studien erklären diese einseitige Abschwächung durch die unterschiedliche Beladung

(engl. load) der Mittellohrausgänge (Cochlea bzw. Gehörgang) und deren Einfluss auf die vor- und rückwärtige Übertragung.

Ein möglicher Grund dafür, dass in dieser Arbeit keine Hinweise auf eine generelle Abschwächung der otoakustischen Emissionen durch das Mittelohr, weder bei den Auslöschversuchen noch bei dem Vergleich der akustischen und neuronalen Verzerrungsschwellen zu finden waren, könnte an den verwendeten, niedrigen Stimuluslautstärken liegen. Beispielsweise ist ein abschwächender Effekt durch das Einsetzen des Mittelohrreflexes bei den von Dong und Olson (2006) verwendeten Stimuluslautstärken von 80 und 90 dB SPL nicht auszuschließen. Für die Ratte wurde gezeigt, dass bereits ab Stimuluslautstärken von 80 dB SPL der Mittelohrreflex einen abschwächenden Einfluss auf die Übertragungsleistung des Mittelohrs hat (Pilz et al., 1997). Bei 90 dB SPL Stimuluslautstärke schwächt das Mittelohr das Signal um ca. 8 dB ab.

Außerdem ist der stark invasive Charakter der zitierten Studien zu erwähnen, in denen die Bulla großflächig geöffnet werden musste, um einen Zugang zur Cochlea zu erlangen. Für die Wüstenrennmaus wurde gezeigt, dass das Öffnen der Bulla zu einer Reduktion der DPOAE-Pegel um bis zu 10 dB führen kann (Büki et al., 2002). Diese methodologischen Unterschiede zur vorliegenden Arbeit und die Vergleichbarkeiten zu den Arbeiten von Faulstich und Kössl (1999) und Fahey und Allen (1985), die mit ähnlichen Methoden durchgeführt wurden, bringt mich zu dem Schluss, dass die in dieser Arbeit bestimmten intracochleären Verzerrungsproduktpegel für Frequenzen über 1,3 kHz vergleichbar mit den Emissionspegeln im Gehörgang sein müssen, und dass die Verzerrungsprodukte bei der Emission in den Gehörgang nicht oder nur minimal (< 5 dB) durch das Mittelohr abgeschwächt werden.

Bei tieferen Verzerrungsproduktfrequenzen (< 1,3 kHz) unterscheiden sich die optimalen Pegel des dritten Tons zur Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktantwort und der akustischen Verzerrungsproduktmission allerdings zunehmend um bis zu 34 dB. Auch die Stärke der Korrelation zwischen DPOAE-Pegel und L_3 -Pegel hinreichend zur Auslöschung der neuronalen Antwort nimmt deutlich ab, wenn die Messungen mit Verzerrungsproduktfrequenzen unter 1,3 kHz in die Analyse miteinbezogen werden (Abb. 3.18). Auch hier zeigen die Unterschiede der akustischen und neuronalen Verzerrungsproduktschwellen einen vergleichbaren Trend, sowohl in dieser Arbeit als auch in der Arbeit von Faulstich und Kössl (1999). Schließlich wurde auch in psychophysischen Studien beim Menschen beobachtet, dass zur Auslöschung der Wahrnehmbarkeit tieffrequenter Verzerrungsprodukte höhere Auslöschpegel notwendig waren (Zwicker und Harris, 1990).

Die niedrigeren Pegel zur Auslöschung der Emission (verglichen mit dem Pegel zur neuronalen Auslöschung) und die größeren neuronalen und akustischen Schwellenunterschiede deuten an, dass der Pegel der otoakustischen Emission im Gehörgang niedriger als

der entsprechende intracochleäre Verzerrungsproduktpegel war. Eine mögliche Erklärung für diesen, zu tiefen Frequenzen hin ansteigenden Pegelunterschied ist eine frequenzspezifische Abschwächung durch das Mittelohr. Eine solche Verringerung der Mittelohrübertragungsleistung würde sowohl die rückwärtige Übertragung der Emission in den Gehörgang, als auch die Übertragung des Auslöschtons in die Cochlea betreffen und zu dem beobachteten Pegelunterschied führen. Für die Wüstenrennmaus hat Olson (1998) die Mittelohrstransferfunktion mit Hilfe eines intracochleären Drucksensors und extern applizierter Töne gemessen. Während die Transferfunktion für Frequenzen oberhalb von 2 kHz einen Verstärkungsfaktor von ca. 30 dB hat, der sich mit der Frequenz kaum ändert, nimmt der Verstärkungsfaktor zu tieferen Frequenzen deutlich bis auf ca. 10 dB ab. Vergleichbare Verschlechterungen der Übertragungsleistung des Mittelohrs bei tiefen Frequenzen wurden auch beim Meerschweinchen (Magnan et al., 1999), bei der Katze (Puria und Allen, 1998) und beim Menschen (Puria, 2003) gefunden. Diese frequenzspezifische Verschlechterung der Mittelohrübertragungsleistung könnte für die beschriebenen Unterschiede der Schwellen und Auslöschpegel verantwortlich sein, und wird weiter unten noch ausführlicher diskutiert.

Ein kritischer Punkt beim Vergleich von akustischen Emissionen und neuronalen Korrelaten cochleärer Verzerrungsprodukte ist der mögliche Einfluss einer zweiten Verzerrungsproduktquelle auf den Gesamtpegel der otoakustischen Emissionen (vergleiche: Heitmann et al., 1998; Talmadge et al., 1999; Mauermann et al., 1999). Dabei wird diskutiert, dass sich akustische Reflexionen der Verzerrungsproduktwandlerwelle vom Abbildungsort mit den 'normalen' Emissionen vom Entstehungsort, also dem Überlappungsbereich der Stimulustöne, mischen und zur Gesamtamplitude der am Trommelfell gemessenen otoakustischen Emission beitragen. Solche akustischen Reflexionen von spezifischen Orten in der Cochlea sind beispielsweise verantwortlich für otoakustische Emissionen, die nach der Stimulation des Ohrs durch kurze Klicklaute gemessen werden können (Kemp, 2002). Eine zweite Verzerrungsproduktquelle, die einen Einfluss auf den im Gehörgang gemessenen Emissionspegel, nicht aber die auf die neuronale Verzerrungsproduktantwort hat, würde die Vergleichbarkeit der beiden Messungen erschweren.

In der vorliegenden Arbeit konnte ich allerdings keine Hinweise auf eine Beteiligung akustischer Reflexionen vom Abbildungsort der Verzerrungsprodukte an der gemessenen DPOAE-Amplitude feststellen. Sollte die Basilarmembranschwingung am charakteristischen Ort des Verzerrungsproduktes zur DPOAE-Amplitude und/oder Phase beitragen, so müssten während der Auslöschung dieser Basilarmembranschwingung durch einen dritten Ton, also der Auslöschung der neuronalen Verzerrungsproduktantwort, deutliche Veränderungen der DPOAE-Amplitude und/oder Phase zu messen sein. Bezogen auf die hier vorgestellten Auslöschversuche würde das bedeuten, dass die Iso-Konturkarten des

DPOAE-Pegels während akustischer Auslöschung einen zweiten Auslöschbereich aufweisen müssten, der sich mit dem Phasen-/Pegelbereich der neuronalen Auslöschung decken würde. Dies war nicht der Fall. Bei allen Versuchen wurde lediglich ein einzelner Phasen-/Pegelbereich des Auslöschtons gefunden, mit dem eine klare Reduktion bzw. Auslöschung des DPOAE-Pegels möglich war. Des Weiteren waren ausschließlich in diesem einen Bereich Phasensprünge zu beobachten, die auf eine Phasenauslöschung der DPOAE hindeuteten. Dieser akustische Auslöschbereich deckte sich üblicherweise nicht mit dem Phasen-/Pegelbereich zur neuronalen Auslöschung.

Dieser Befund bekräftigt Ergebnisse von Mills (2000) die zeigen, dass der DPOAE-Pegel bei der Wüstenrennmaus durch einen dritten Ton ähnlicher Frequenz nicht supprimiert werden kann. Das spricht gegen eine Beteiligung von akustischen Reflexionen vom charakteristischen Ort des Verzerrungsproduktes an der DPOAE-Amplitude im Gehörgang, da diese Komponenten durch den dritten Ton supprimiert werden müssten und somit eine Reduktion des DPOAE-Pegels zu erwarten wäre. Auch die Tatsache, dass in dieser Arbeit größtenteils Stimulusfrequenzverhältnisse (f_2/f_1) größer als 1,1 verwendet wurden, akustische Reflexionen der Wanderwelle allerdings hauptsächlich bei kleinen Stimulusfrequenzverhältnissen zur DPOAE-Amplitude beitragen (Rhode, 2007), bekräftigt die Annahme, dass die gemessenen otoakustischen Emissionen vom Entstehungsort der Verzerrungsprodukte stammen.

4.4 Antwortcharakteristiken der neuronalen Verzerrungsproduktkorrelate

Das zeitliche Antwortmuster, mit dem die Neurone auf das intracochleäre Verzerrungsprodukt reagierten, entsprach in den meisten Fällen dem Antwortmuster, das während Einzeltonstimulation mit gleicher Frequenz und entsprechendem Pegel zu messen war. Während Zweitonstimulation war allerdings häufig der phasische Anteil der neuronalen Antwort deutlich reduziert (Abb. 3.8). Ein verstärkter Einfluss auf die initiale neuronale Antwort macht sich auch beim Vergleich der neuronalen Latenzen während CF-Einzelton- und Zweitonstimulation bemerkbar (Abb. 3.14). Die Neurone antworteten im Durchschnitt 2,7 ms später auf die Stimulation durch das intracochleäre Verzerrungsprodukt als auf einen Reinton bei der CF. Neurone des AVNC antworteten im Durchschnitt nur 1,1 ms später auf den Verzerrungsproduktstimulus als auf einen entsprechenden Reinton (Faulstich und Kössl, 1999).

Ein möglicher Grund für die Verzögerung der initialen Antwort könnte ein gedämpftes und verzögertes Einsetzen des Verzerrungsproduktstimulus sein. Abhängig vom Stimu-

lationsparadigma wurden beim Kaninchen Verzögerungen des Verzerrungsproduktes von 1-3 ms bezogen auf den Beginn der Stimulustöne gemessen (Whitehead et al., 1996). Ein langsames Anwachsen der Verzerrungsproduktpegel könnte auch zu einer zeitlichen Streuung der ersten Aktionspotentiale und damit zur Reduktion der phasischen Anteile im PSTH führen.

Eine weitere Erklärung für eine reduzierte und verzögerte Antwort der Neurone während Zweitonstimulation könnte ein inhibitorischer Einfluss der hochfrequenten Stimulustöne auf die Verzerrungsproduktantwort sein. Die große Mehrzahl, wenn nicht alle Neurone des IC stehen unter dem Einfluss der inhibitorischen Neurotransmitter GABA und/oder Glycin und allein ein Viertel der Neurone ist selbst GABAerg (Merchán et al., 2005). Inhibitorische Seitenbänder von IC Neuronen, also Frequenz-/Pegelbereiche in denen die Präsentation eines Tons die Antwort des Neurons hemmen kann, wurden sowohl in dieser als auch in vielen anderen Studien und bei unterschiedlichen Versuchstieren gemessen (z.B. Egorova et al., 2001; Ehret und Merzenich, 1988; Alkhatib et al., 2006). Die hochfrequenten Stimulustöne f_1 und f_2 während Zweitonstimulation lagen häufig im Bereich dieser inhibitorischen Felder, was entweder direkt zu beobachten war (Abb. 3.9) oder worauf die reduzierte Spontanaktivität während der separaten Präsentation der Stimuli hindeutete (Abb. 3.8). Die Antwort eines Neurons auf ein während Zweitonstimulation generiertes tieffrequentes Verzerrungsprodukt könnte so durch die von den Stimulustönen induzierte Inhibition reduziert werden. Lokale Inhibition im IC erhöht ausserdem die Latenz der neuronalen Antwort auf einen Tonstimulus (Yin et al., 2008). Auf diese Weise könnten lokale inhibitorische Mechanismen im IC auch die neuronale Latenz der Verzerrungsproduktantwort erhöhen, was den kleineren Latenzunterschied zwischen Verzerrungsproduktantwort und Reintonantwort der Neurone des AVCN erklären würde (Faulstich und Kössl, 1999).

Bei der Ratte konnte durch eine direkte pharmakologische Beeinflussung von IC Neuronen gezeigt werden, dass eine durch GABA oder Glycin induzierte Inhibition vor allem die frühe oder initiale Antwort der Neurone reduzierte, während die tonische Antwort deutlich weniger betroffen war (Yin et al., 2008). Dieser Befund macht deutlich, warum bei den hier vorgestellten Ergebnissen besonders häufig die initiale Antwort der Neurone auf die Verzerrungsprodukte inhibiert war, während die tonische Antwort kaum reduziert oder sogar erhöht sein konnte (Abb. 3.8 und 3.9).

Ein wesentlicher Unterschied zwischen Verzerrungsproduktantwort und CF-Einzeltonantwort bestand auch in der maximalen Antwortstärke, mit der die Neurone auf die jeweilige Stimulation reagierten. Um die Maximalantwort der beiden Stimulationsparadigmen vergleichen zu können, wurden nur solche Neurone zur Auswertung herangezogen, die sowohl während Einzelton- als auch während Zweitonstimulation einen nicht-monotonen oder gesättigten Intensitätskennlinienverlauf aufwiesen. Dadurch war gewährleistet, dass

die maximalen Antwortraten eines Neurons nicht außerhalb des getesteten Stimuluspegelbereichs lagen.

Die große Mehrheit der getesteten Neurone (73 %) reagierte mit einer um mindestens 20 % reduzierten maximalen Antwort während Zweitonstimulation, verglichen mit der maximalen Antwort, die während CF-Einzeltonstimulation zu messen war. Auch hier ist der, oben bereits erwähnte, inhibitorische Einfluss der Stimulustöne während Zweitonstimulation ein wahrscheinlicher Mechanismus für die reduzierte Antwort während Zweitonstimulation. Die im Durchschnitt geringere Reduktion der maximalen Verzerrungsproduktantwort während der Stimulation durch ein f_2 - f_1 Verzerrungsprodukt (-7 %) im Vergleich zur $2f_1$ - f_2 Verzerrungsproduktstimulation (-20 %) lässt sich mit dem größeren Abstand der Stimulustöne zu den inhibitorischen Feldern der Neurone erklären. Da der Frequenzabstand der Stimulustöne zur CF bei den Messungen der f_2 - f_1 Verzerrungsproduktkorrelate deutlich größer war als bei den Messungen der $2f_1$ - f_2 Verzerrungsproduktkorrelate (Abb. 3.7), war auch der Frequenzabstand zu den potentiellen hochfrequenten inhibitorischen Seitenbändern erhöht (Abb. 3.5). Dadurch vermittelten die Stimulustöne während der $2f_1$ - f_2 Messungen wahrscheinlich einen stärkeren inhibitorischen Einfluss auf die Antwort des Neurons als das während der f_2 - f_1 Messungen der Fall war.

Erstaunlicherweise zeigte ein Teil der gemessenen Neurone (17 %) eine deutlich (≥ 20 %) erhöhte maximale Aktionspotentialrate während Zweitonstimulation verglichen mit CF-Einzeltonstimulation. Eine Erhöhung der neuronalen Aktivität war auch bei Zellen zu beobachten, bei denen eine separate Präsentation der beiden Stimuli eine inhibitorische Wirkung auf die neuronal Antwort hatte (siehe 3.8). Diese Erhöhung der neuronalen Aktivität könnte durch fazilitierende Mechanismen hervorgerufen werden, wie sie für Neurone des IC von Fledermäusen (Portfors und Wenstrup, 2002) und Nagern (Egorova et al., 2001; Felix und Portfors, 2007; Portfors und Felix, 2005) beschrieben wurden. Portfors und Felix (2005) konnten zeigen, dass 16 % der IC Neurone der Maus eine um mehr als 20 % erhöhte Antwortrate auf einen Ton mit ihrer charakteristischen Frequenz zeigten, wenn gleichzeitig ein weiterer hochfrequenter Ton präsentiert wurde. Das entspricht dem Anteil der in dieser Arbeit gemessenen Neurone mit erhöhter neuronaler Aktivität während Zweitonstimulation und legt nahe, dass fazilitierende Mechanismen im Colliculus inferior die neuronale Antwort auf cochleäre Verzerrungsprodukte verstärken könnten.

Neuronale Verzerrungsproduktkorrelate mit unter-schweligen Stimulustönen

Der Vergleich der neuronalen Verzerrungsproduktschwelle mit der CF-Einzeltonschwelle macht deutlich, dass bei einem Teil der Neurone während Zweitonstimulation Stimuluspegel um oder sogar unterhalb der Einzeltonschwelle ausreichten, um neuronale Antworten

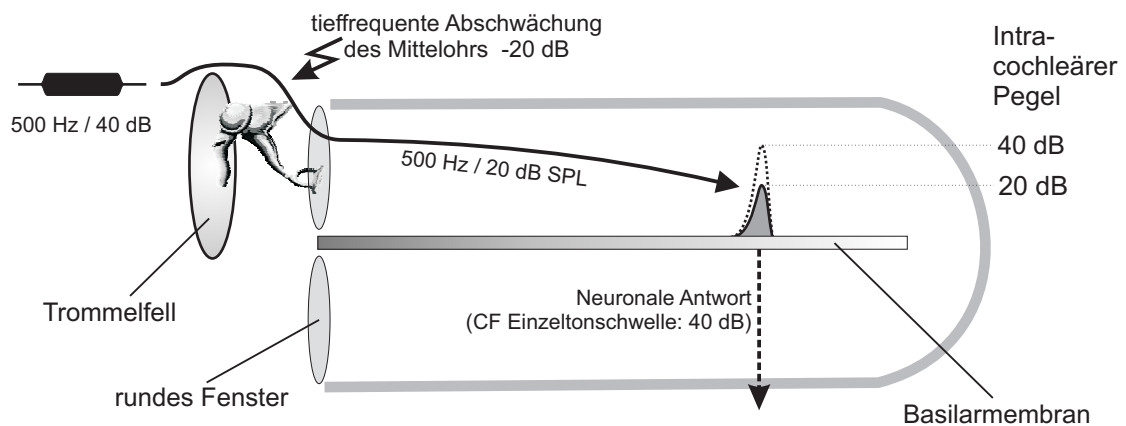
hervorzurufen. Diese unterschwelligen Antworten waren nur für Neurone mit einer tiefen CF zu finden, die üblicherweise durch ein quadratisches Verzerrungsprodukt stimuliert wurden (Abb. 3.12). Bei einem Teil der Messungen wurde das Verzerrungsprodukt und damit die neuronale Antwort durch einen dritten Ton ausgelöscht, was das intracochleäre Verzerrungsprodukt als Quelle der neuronalen Aktivität bestätigt. Solche unterschwelligen neuronalen Antworten auf cochleäre Verzerrungsprodukte wurden bereits bei Neuronen des antero-ventralen cochleären Nukleus der Katze gemessen (Smoorenburg et al., 1976).

Auf den ersten Blick scheinen diese unterschwelligen Antworten sehr verwunderlich. Die klassische Sichtweise von rezeptiven Feldern auditorischer Neurone ist, dass der niedrigste Stimuluspegel, der ausreicht, um eine neuronale Antwort zu evozieren, für einen Ton mit der charakteristischen Frequenz des Neurons zu messen ist. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen nun, dass zwei Stimulustöne, die weit oberhalb des rezeptiven Feldes der Zelle lagen und separat präsentiert keine neuronale Antwort evozierten, neuronale Antworten schon mit unterschwelligen Stimuluspegeln hervorrufen konnten.

Eine mögliche Erklärung für diese unterschwelligen Antworten ist die oben bereits diskutierte frequenzspezifische Abschwächung des Mittelohrs bei tiefen Frequenzen (< 2 kHz). Ein einzelner Stimuluston, wie er zur Bestimmung des rezeptiven Feldes eines Neurons üblicherweise verwendet wird, könnte durch die tieffrequenten Abschwächung des Mittelohrs um 10-25 dB (relativ zur Mittelohrübertragung oberhalb von 2 kHz, siehe: Olson, 1998) abgeschwächt werden. Daraus könnten erhöhte Schwellen tieffrequenter Neurone resultieren. Die während Zweittonstimulation verwendeten hochfrequenten Stimulustöne lagen allerdings immer deutlich über 2 kHz, also in einem Frequenzbereich optimaler Mittelohrübertragung bei der Wüstenrennmaus (Olson, 1998). Wenn nun die tieffrequente Abschwächung des Mittelohrs den intracochleären Pegelunterschied zwischen den Stimulustönen und dem durch sie evozierten tieffrequenten Verzerrungsprodukt übersteigen würde, so könnten neuronale Verzerrungsproduktkorrelate schon mit unterschwelligen Stimuluspegeln evoziert werden.

Die im Gehörgang gemessenen otoakustischen Emissionen können maximale Pegel von -8 dB (relativ zu den Stimuluspegeln) erreichen (Eckrich et al., 2007). Direkte Messungen der Basilarmembranschwingung zeigen vergleichbare relative Verzerrungsproduktpegel auch in der Cochlea (-10 dB relativ zu den Primärtönen, (Rhode, 2007)). Damit übersteigt die frequenzspezifische Abschwächung des Mittelohrs der Wüstenrennmaus bei tiefen Frequenzen den Pegelunterschied zwischen den Stimulustönen und dem Verzerrungsprodukt deutlich und macht den hypothetischen Mechanismus der unterschwelligen Verzerrungsproduktantworten möglich. Eine schematische Darstellung dieses Mechanismus ist in Abbildung 4.1 gezeigt.

A: Einzeltonstimulation mit 500 Hz / 40 dB SPL



B: Zweitonstimulation mit $f_1=8000$ und $f_2=8500$ Hz / 35 dB SPL

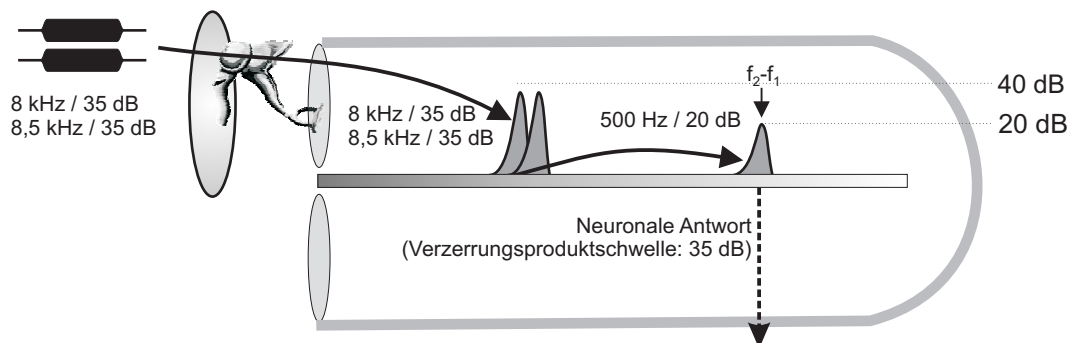


Abbildung 4.1: Einfluss des Mittelohrs auf die neuronale Einzeltonschwelle und die neuronale Verzerrungsproduktschwelle während Zweitonstimulation. Schematische Darstellung der Cochlea und des Mittelohrs. **A:** Die frequenzspezifische Abschwächung durch das Mittelohr bei tiefen Frequenzen (z.B. -20 dB) führt zu einem reduzierten intracochleären Einzeltonpegel und damit zu einer scheinbar erhöhten Einzeltonschwelle. **B:** Die hochfrequenten Primärtöne und das während Zweitonstimulation evozierte intracochleäre Verzerrungsprodukt sind von der tieffrequenten Abschwächung des Mittelohrs nicht betroffen. Dadurch reichen unterschwellige Stimuluspegel aus, um eine neuronale Aktivität zu evozieren.

4.5 Verzerrungsprodukte und Tonhöhenwahrnehmung

Eine alternative Erklärung für diese unterschweligen neuronalen Antworten auf hochfrequenten Stimuli, die aus mehreren einzelnen Frequenzkomponenten bestehen, könnte ein zentraler neuronaler Mechanismus zur Integration der einzelnen Frequenzen bieten. Solche Mechanismen wurden von mehreren Arbeitsgruppen als ein mögliches neuronales Korrelat der Tonhöhenwahrnehmung vorgeschlagen (z.B. Schulze und Langner, 1999; Bendor und Wang, 2006). Die Tonhöhe (engl. *Pitch*) eines Klangs entspricht, vereinfacht gesagt, der Grundfrequenz f_0 (oder Fundamentalfrequenz) eines multiharmonischen Tons, dessen spektrale Komponenten den ganzzahligen Vielfachen der Grundfrequenz entsprechen. Beispielsweise entspricht die wahrgenommene Tonhöhe eines multiharmonischen Klangs mit den Frequenzkomponenten 440, 880, 1320, 1760 Hz der Tonhöhe eines einzelnen 440 Hz Sinustons, was dem Kammerton a' entspricht. Diese Tonhöhe wird auch dann noch wahrgenommen, wenn die Grundfrequenz f_0 als spektrale Komponente im Stimulus gar nicht vorhanden ist. In diesem Fall spricht man von einem multiharmonischen Komplexton mit fehlender Grundfrequenz (engl. *missing fundamental complex tone*).

In Studien, in denen solche multiharmonischen Töne mit fehlender Fundamentalfrequenz als Stimuli verwendet wurden, konnten Neurone im IC (Biebel und Langner, 2002) und im auditorischen Kortex (Bendor und Wang, 2005, Kurt et al., 2008, Schulze und Langner, 1999, Schulze et al., 2002) gefunden werden, die auf den Komplexton reagierten, obwohl die einzelnen Frequenzkomponenten klar oberhalb des rezeptiven Feldes der Zelle lagen. Die charakteristische Frequenz der Neurone entsprach dabei der Fundamentalfrequenz des verwendeten Stimulus bzw. dem Frequenzabstand der einzelnen Spektralkomponenten zueinander. In einigen Fällen lag der Pegel der einzelnen Frequenzkomponenten, der hinreichend zur Evozierung neuronaler Aktivität war, im Bereich (± 10 dB) der neuronalen Reintonchwelle bei CF (Bendor und Wang, 2005), was als Argument für den zentralnervösen Ursprung der neuronalen Aktivität angesehen wurde. Diese als 'pitch neurons' bezeichneten Zellen werden als neuronales Korrelat der Periodizitätsanalyse oder Tonhöhenwahrnehmung diskutiert, da sie nicht auf die einzelnen Komponenten, sondern auf deren gleichmäßige Frequenzschrittweite bzw. Fundamentalfrequenz abgestimmt sind.

Obwohl die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Antworten der tieffrequenten Neurone während hochfrequenter Zweittonstimulation, denen eines hypothetischen 'pitch neurons' entsprachen, konnten keine Hinweise auf einen zentralen Mechanismus zur spektralen Integration der Stimuli gefunden werden. Im Gegenteil, die gemessenen Daten zeigen, dass ein in der Cochlea generiertes Verzerrungsprodukt der einzige Stimulus für die tieffrequenten Neurone war. Im Besonderen wird diese Annahme durch die Versuche unterstützt, in denen gezeigt wurde, dass durch die direkte Auslöschung der Verzerrungsprodukte in der

Cochlea eine vollständige Auslöschung der neuronalen Antwort möglich ist. Die diskutierte frequenzspezifische Abschwächung des Mittelohrs kann die neuronalen Antworten auf unterschwellige Stimuluspegel erklären und widerspricht damit dem Argument von Bendor und Wang (2005), dass Verzerrungsprodukte nicht für die in ihrer Arbeit gefundenen unterschweligen neuronalen Antworten verantwortlich sein können, da sie üblicherweise 10-20 dB leiser als die Stimulustöne generiert werden.

Im Gegensatz zu den zitierten Arbeiten wurden in dieser Arbeit nur zwei Stimuli (f_1 und f_2) statt der sonst üblichen drei oder mehr Spektralkomponenten, verwendet. Die Stimuli wurden über separate Lautsprecher und ein geschlossenes Kopplersystem appliziert, was den großen Vorteil hatte, dass keine Zweitonverzerrungen im Stimulationssystem entstehen konnten. Testweise wurden aber auch SAM-Stimuli mit drei Spektralkomponenten zur Generierung cochleärer Verzerrungsprodukte und ihrer neuronalen Korrelate verwendet und die gemessenen neuronalen Antworten entsprachen denen während Zweitonstimulation. Die Verwendung einer größeren Anzahl von Spektralkomponenten kann den Pegel eines tieffrequenten f_2-f_1 Verzerrungsproduktes sogar zusätzlich erhöhen (Pressnitzer und Patterson, 2001).

In der vorliegenden Studie verhinderte die Verwendung eines geschlossenen Kopplersystems eine Veränderung des Stimulussignals durch das Außenohr. Für das Außenohr des Chinchillas wurde beispielsweise eine frequenzspezifische Verstärkung des Schalls von mehr als 10 dB im Frequenzbereich zwischen 3 und 5 kHz gemessen (Murphy und Davis, 1998). Unter natürlichen Bedingungen könnte eine spezifische Verstärkung der Stimuli in diesem Frequenzbereich auch lautere Verzerrungsprodukte nach sich ziehen, wodurch die Schwellen der neuronalen Verzerrungsproduktkorrelate weiter vermindert würden.

Erste Hinweise auf einen möglichen cochleären Ursprung der neuronalen Aktivität hypothetischer ‘pitch neurons’ im IC des Meerschweinchens wurden von McAlpine (2004) präsentiert. In den vorgestellten Experimenten konnte er zeigen, dass sich die neuronale Aktivität tieffrequenter Neurone auf die Präsentation hochfrequenter SAM-Stimuli, deren Modulationsfrequenz der charakteristischen Frequenz der Neurone entsprach, durch die Präsentation eines dritten Tons auslöschbar ließ. McAlpine verwendete dabei Stimulusparameter, die mit denen der oben zitierten Studien übereinstimmten. Aufgrund der Auslöschbarkeit der neuronalen Antwort durch einen dritten Ton, schlug McAlpine (2004) cochleäre Verzerrungsprodukte als Quelle der neuronalen Aktivität vor.

Die vorliegenden Ergebnisse werfen die Frage auf, inwieweit cochleäre Verzerrungsprodukte an der neuronalen Verarbeitung und Wahrnehmung komplexer Töne beteiligt sind oder diese beeinflussen. Die Frequenz eines quadratischen Verzerrungsproduktes (f_2-f_1), das von zwei nebeneinander liegenden Spektralkomponenten eines harmonischen Komplextons evoziert wird, entspricht stets der Fundamentalfrequenz f_0 oder Grundfrequenz

des Komplextons. Das quadratische Verzerrungsprodukt wäre damit ein idealer Marker für die Grundfrequenz oder Tonhöhe eines Klangs und die gezeigte neuronale Repräsentation der Verzerrungsprodukte könnte die Grundlage für die Wahrnehmung der Tonhöhe bilden. Eine alleinige Rolle cochleärer Verzerrungsprodukte bei der Tonhöhenwahrnehmung konnte allerdings durch Experimente ausgeschlossen werden, in denen gezeigt wurde, dass auch die binaurale Präsentation von zwei Einzeltönen eine, wenn auch schwächere, Wahrnehmung der Tonhöhe hervorrief (Houtsma und Goldstein, 1972). Die binaurale Präsentation einzelner Frequenzkomponenten schließt die Generierung von cochleären Verzerrungsprodukten in einem Ohr aus und spricht somit für einen neuronalen Mechanismus der Tonhöhenwahrnehmung, der auf einer zentralen Integration der einzelnen Spektralkomponenten basiert. Auch der beobachtete Effekt, dass sich die wahrgenommene Tonhöhe bei einer gleichmäßigen Frequenzverschiebung der Spektralkomponenten (wobei der Frequenzabstand und die Frequenz des f_2-f_1 Verzerrungsprodukts konstant bleiben) geringfügig ändert, lässt sich durch Verzerrungsprodukte als Tonhöhenmarker nicht erklären (Smoorenburg, 1970).

Allerdings konnte in verschiedenen psychophysischen Experimenten beim Menschen ein deutlicher Einfluss der cochleären Verzerrungsprodukte auf die Wahrnehmung komplexer Töne und deren Tonhöhe gezeigt werden (Houtsma und Goldstein, 1972, Smoorenburg, 1970, Pressnitzer und Patterson, 2001). Beispielweise untersuchten Pressnitzer und Patterson (2001) die minimal wahrnehmbare Tonhöhe eines multiharmonischen Komplextons, dessen tieffrequente Spektralkomponenten (also auch die Grundfrequenz f_0) fehlten. Während der Maskierung der cochleären Verzerrungsprodukte durch die zusätzliche Präsentation eines tiefpassgefilterten Rauschens, verschlechterte sich die Wahrnehmung der Tonhöhen zum Teil erheblich. Die Pegel der f_2-f_1 Verzerrungsprodukte konnten mit Hilfe von Auslöschexperimenten bestimmt werden. Die gefundenen relativen Verzerrungsproduktamplituden (-10 dB relativ zu den Stimulustönen) passen gut zu den in dieser Arbeit gemessenen Verzerrungsproduktamplituden. Auch bei Versuchen, in denen die Fähigkeit zur Frequenzunterscheidung musikalischer Intervalle und Melodien getestet wurde, konnte eine unterstützende Funktion von cochleären Verzerrungsprodukten gezeigt werden (Houtsma und Goldstein, 1972). Dabei scheinen vor allem auch die kubischen Verzerrungsprodukte (z.B. $2f_1-f_2$) eine entscheidende Rolle zu spielen. Im Gegensatz zum quadratischen Verzerrungsprodukt (f_2-f_1) spiegeln sie die Grundfrequenz f_0 eines harmonischen Stimulus nicht direkt wieder, aber sie erhöhen die Anzahl der spektralen Komponenten des Stimulus und können damit zu einer verbesserten Wahrnehmung der Tonhöhe beitragen.

Obwohl cochleäre Verzerrungsprodukte üblicherweise durch die Präsentation von zwei Reintönen unterschiedlicher Frequenzen evoziert werden, können auch komplexere Töne als Stimuli verwendet werden. In dieser Arbeit wurden beispielsweise otoakustische Emis-

sionen und neuronale Korrelate von Verzerrungsprodukten gemessen, die mit frequenzmodulierten oder amplitudenmodulierten Stimuli evoziert wurden. Beide Stimuli sind sowohl in ihrer Zeit- als auch Frequenzdimension komplexer als ein einfacher Reinton. Beide Stimulustypen evozierten otoakustische Emissionen und robuste neuronale Verzerrungsproduktkorrelate.

Bandpass gefiltertes Rauschen in Kombination mit einem tieffrequenteren Reinton ist ein weiterer effektiver Stimulus zur Generierung cochleärer Verzerrungsprodukte (Greenwood, 1971). Das durch diese Stimuluskombination evozierte $2f_1-f_2$ Verzerrungsprodukt ist ebenfalls ein Bandpass gefiltertes Rauschen. Ein schmalbandiger Rauschstimulus, dessen Amplitude sinusförmig moduliert ist, evoziert ein quadratisches Verzerrungsprodukt an der Modulationsfrequenz (Wiegand und Patterson, 1999). Interessanterweise ist die Modulationsrate oder Tonhöhe des amplitudenmodulierten Schmalbandrauschens nicht mehr wahrzunehmen, wenn das quadratische Verzerrungsprodukt durch einen weiteren Ton ausgelöscht wird. Die Kombination aus einem hochfrequenten frequenzmodulierten Stimuluston und tieffrequentem Reinton evoziert ebenfalls cochleäre Verzerrungsprodukte, deren neuronale Korrelate im IC der Katze gemessen werden konnten (McAnally und Calford, 1989). Die Transposition des frequenzmodulierten Stimulus in einen tieferen Frequenzbereich, durch die Generierung eines entsprechenden Verzerrungsproduktes, wird von McAnally und Calford (1990) als Schlüssel für eine erhöhte Sensitivität bei der Wahrnehmung der Modulationsrate angesehen.

4.6 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eine robuste neuronale Repräsentation von cochleären Verzerrungsprodukten im auditorischen Mittelhirn der Wüstenrennmaus. Nahezu alle untersuchten Neurone reagierten auf die, in der Cochlea generierten Verzerrungsprodukte, welche im eigentlichen Stimulussignal nicht vorhanden waren. Diese Resultate machen deutlich, dass während der Stimulation durch einen komplexen Ton mit mehreren Spektralkomponenten, zumindest bei der Wüstenrennmaus, cochleäre Verzerrungsprodukte einen deutlichen Anteil an der neuronalen Repräsentation des Stimulus haben.

Die neuronale Antwortcharakteristik und Antwortstärke der Nervenzellen auf die intracochleären Signale konnte zudem deutlich von der Antwort auf einen Reinton gleicher Frequenz abweichen. Ein Teil der Neurone antwortete mit einer signifikant reduzierten Antwortstärke auf die cochleären Verzerrungsprodukte, was wahrscheinlich durch inhibitorische neuronale Mechanismen vermittelt wurde. Diese Neurone stellen für die nachfolgenden Gehirnareale eine neuronale Repräsentation des Stimulussignals bereit, die dem

ursprünglichen Stimulussignal gleicht, und in dem die, in der Cochlea generierten, Verzerrungsprodukte unterdrückt oder "weggefiltert" wurden.

Bei einem anderen Teil der Neurone war eine deutliche Verstärkung oder Fazilitierung der neuronalen Antwort auf die cochleären Verzerrungsprodukte zu beobachten. Außerdem konnten, besonders bei tieffrequenten Neuronen, neuronale Antworten auf cochleäre Verzerrungsprodukte bereits für unterschwellige Stimuluspegel gemessen werden. Auch der Dynamikbereich der Stimuluspegel, der zur Evozierung einer neuronalen Verzerrungsproduktantwort führte, konnte im Vergleich zum Dynamikbereich während Reintonstimulation deutlich erhöht sein. Diese Antwortcharakteristiken könnten die Basis für eine spezifische Verarbeitung der Verzerrungsprodukte durch höher gelegene Gehirnareale darstellen. Psychophysische Versuche deuten darauf hin, dass dies beispielsweise bei der Extraktion der Tonhöhe eine Rolle spielen könnte.

Die Ergebnisse machen deutlich, dass die nichtlinearen Eigenschaften der Cochlea einen wesentlichen Faktor für zentralnervösen Mechanismen des Hörens darstellen und in verwendeten Modelle und Analysemethoden miteinbezogen werden müssen.

Literaturverzeichnis

- Alkhatib, A. (2007). *Teilverlust der inneren Haarzellen und die Folgen für die neuronale Erregung und Hemmung im auditorischen Mittelhirn des Chinchillas*. Dissertation, Johann Wolfgang Goethe -Universität in Frankfurt am Main.
- Alkhatib, A., Biebel, U. und Smolders, J. (2006). Inhibitory and excitatory response areas of neurons in the central nucleus of the inferior colliculus in unanesthetized chinchillas. *Exp Brain Res*, 174, 124-43.
- Arnold, S. und Burkard, R. (1998). The auditory evoked potential difference tone and cubic difference tone measured from the inferior colliculus of the chinchilla. *J Acoust Soc Am*, 104, 1565-1573.
- Ashmore, J. (2002). Biophysics of the cochlea - biomechanics and ion channelopathies. *Br Med Bull*, 63, 59-72.
- Bendor, D. und Wang, X. (2005). The neuronal representation of pitch in primate auditory cortex. *Nature*, 436, 1161-1165.
- Bendor, D. und Wang, X. (2006). Cortical representations of pitch in monkeys and humans. *Curr Opin Neurobiol*, 16, 391-9.
- Biebel, U. W. und Langner, G. (2002). Evidence for interactions across frequency channels in the inferior colliculus of awake chinchilla. *Hear Res*, 169, 151-168.
- Büki, B., de, K. E., Wit, H. und Avan, P. (2002). Detection of intracochlear and intracranial pressure changes with otoacoustic emissions: a gerbil model. *Hear Res*, 167, 180-91.
- Brandão, M., Anseloni, V., Pandóssio, J., De, A. J. und Castilho, V. (1999). Neurochemical mechanisms of the defensive behavior in the dorsal midbrain. *Neurosci Biobehav Rev*, 23, 863-75.
- Braun, M. (2000). Inferior colliculus as candidate for pitch extraction: multiple support from statistics of bilateral spontaneous otoacoustic emissions. *Hear Res*, 145, 130-140.
- Brownell, W., Bader, C., Bertrand, D. und de, R. Y. (1985). Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science*, 227, 194-6.

- Buunen, T. J. und Rhode, W. S. (1978). Responses of fibers in the cat's auditory nerve to the cubic difference tone. *J Acoust Soc Am*, 64, 772-781.
- Cant, N. B. (2005). Projections from the Cochlear Nuclear Complex to the Inferior Colliculus. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 115-131). Springer Science+Business Media, Inc.
- Cant, N. B. und Benson, C. G. (2006). Organization of the inferior colliculus of the gerbil (*Meriones unguiculatus*): differences in distribution of projections from the cochlear nuclei and the superior olivary complex. *J Comp Neurol*, 495, 511-528.
- Cant, N. B. und Benson, C. G. (2008). Organization of the inferior colliculus of the gerbil (*Meriones unguiculatus*): Projections from the cochlear nucleus. *Neuroscience*.
- Casseday, J. H., Fremouw, T. und Covey, E. (2002). The inferior colliculus: a hub for the central auditory system. In R. F. D Oertel und A. Popper (Hg.), *Integrative functions in the mammalian auditory pathway* (Bd. 15, S. 238-318). Springer Verlag, Berlin.
- Dallos, P. (1992). The active cochlea. *J Neurosci*, 12, 4575-85.
- Dallos, P., Zheng, J. und Cheatham, M. (2006). Prestin and the cochlear amplifier. *J Physiol*, 576, 37-42.
- deRibaupierre, F. (1996). Acoustical Information Processing in the Auditory Thalamus and Cerebral Cortex. In R. R. G. Ehret (Hg.), *The central auditory system* (S. 259-316). New York, Oxford University Press.
- Dong, W. und Olson, E. S. (2006). Middle ear forward and reverse transmission in gerbil. *J Neurophysiol*, 95, 2951-2961.
- Eckrich, T., Foeller, E., Stuermer, I. W., Gaese, B. H. und Kössl, M. (2007). Strain-dependence of age-related cochlear hearing loss in wild and domesticated Mongolian gerbils. *Hear Res*, 235, 72-9.
- Egorova, M., Ehret, G., Vartanian, I. und Esser, K. H. (2001). Frequency response areas of neurons in the mouse inferior colliculus. I. Threshold and tuning characteristics. *Exp Brain Res*, 140, 145-161.
- Eguiluz, V. M., Ospeck, M., Choe, Y., Hudspeth, A. und Magnasco, M. O. (2000). Essential Nonlinearities in Hearing. *Phys. Rev. Lett.*, 84, 5232-5235.
- Ehret, G. (1996). The auditory midbrain, aßhunting yardöf acoustical information processing. In R. R. G. Ehret (Hg.), *The central auditory system* (S. 259-316). New York, Oxford University Press.
- Ehret, G., Egorova, M., Hage, S. R. und Müller, B. A. (2003). Spatial map of frequency tuning-curve shapes in the mouse inferior colliculus. *Neuroreport*, 14, 1365-1369.
- Ehret, G. und Merzenich, M. (1988). Complex sound analysis (frequency resolution, filtering and spectral integration) by single units of the inferior colliculus of the cat.

- Brain Res*, 472, 139-63.
- Ehret, G. und Schreiner, C. E. (2005). Spectral and Intensity Coding in the Auditory Midbrain. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 312-345). Springer Science+Business Media, Inc.
- Fahey, P. F. und Allen, J. B. (1985). Nonlinear phenomena as observed in the ear canal and at the auditory nerve. *J Acoust Soc Am*, 77, 599-612.
- Faulstich, M. und Kössl, M. (1999). Neuronal response to cochlear distortion products in the anteroventral cochlear nucleus of the gerbil. *J Acoust Soc Am*, 105, 491-502.
- Felix, R. A. und Portfors, C. V. (2007). Excitatory, inhibitory and facilitatory frequency response areas in the inferior colliculus of hearing impaired mice. *Hear Res*, 228, 212-29.
- Fiala, J. (2005). Reconstruct: a free editor for serial section microscopy. *J Microsc*, 218, 52-61.
- Field, G., Sampath, A. und Rieke, F. (2005). Retinal processing near absolute threshold: from behavior to mechanism. *Annu Rev Physiol*, 67, 491-514.
- Frank, G., Hemmert, W. und Gummer, A. (1999). Limiting dynamics of high-frequency electromechanical transduction of outer hair cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 4420-5.
- Furst, M., Rabinowitz, W. M. und Zurek, P. M. (1988). Ear canal acoustic distortion at 2f₁-f₂ from human ears: relation to other emissions and perceived combination tones. *J Acoust Soc Am*, 84, 215-221.
- Géléoc, G., Lennan, G., Richardson, G. und Kros, C. (1997). A quantitative comparison of mechano-electrical transduction in vestibular and auditory hair cells of neonatal mice. *Proc Biol Sci*, 264, 611-21.
- Göpfert, M., Humphris, A., Albert, J., Robert, D. und Hendrich, O. (2005). Power gain exhibited by motile mechanosensory neurons in *Drosophila* ears. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 325-30.
- Greenwood, D. (1971). Aural combination tones and auditory masking. *J Acoust Soc Am*, 50, 502-43.
- Greenwood, D., Merzenich, M. und Roth, G. (1976). Some preliminary observations on the interrelations between two-tone suppression and combination-tone driving in the anteroventral cochlear nucleus of the cat. *J Acoust Soc Am*, 59, 607-33.
- Hage, S. R. und Ehret, G. (2003). Mapping responses to frequency sweeps and tones in the inferior colliculus of house mice. *Eur J Neurosci*, 18, 2301-2312.
- Harris, D. M., Shannon, R. V., Snyder, R. und Carney, E. (1997). Multi-unit mapping of acoustic stimuli in gerbil inferior colliculus. *Hear Res*, 108, 145-156.

- Harris, K. D., Henze, D. A., Csicsvari, J., Hirase, H. und Buzsáki, G. (2000). Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. *J Neurophysiol*, 84, 401-414.
- Hauser, R. und Probst, R. (1991). The influence of systematic primary-tone level variation L2-L1 on the acoustic distortion product emission 2f1-f2 in normal human ears. *J Acoust Soc Am*, 89, 280-286.
- Heitmann, J., Waldmann, B., Schnitzler, H. U., Plinkert, P. K. und Zenner, H. P. (1998). Suppression of distortion product otoacoustic emissions (DPOAE) near 2f-f removes DP-gram fine structure - Evidence for a secondary generator. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 103, 1527.
- Hernández, O., Espinosa, N., Pérez-González, D. und Malmierca, M. S. (2005). The inferior colliculus of the rat: a quantitative analysis of monaural frequency response areas. *Neuroscience*, 132, 203-217.
- Hjálmarsdóttir, B. (2005). *Hämodynamische Untersuchung zur vollständig antagonisierbaren Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl im Vergleich zur Ketamin/Xylazin- Kombinationsanästhesie bei der Maus*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Horner, K., Ribaupierre, Y. de und Ribaupierre, F. de. (1983). Neural correlates of cubic difference tones in the medial geniculate body of the cat. *Hear Res*, 11, 343-357.
- Houtsma, A. J. M. und Goldstein, J. L. (1972). The Central Origin of the Pitch of Complex Tones: Evidence from Musical Interval Recognition. *J Acoust Soc Am*, 51, 520-529.
- Hudspeth, A. J. (2000). Hearing. In J. S. Eric R. Kandel und T. Jessell (Hg.), *Principles of neural science* (Bd. 4th ed, Kap. Chapter 31). Elsevier.
- Kemp, D. (2002). Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull*, 63, 223-41.
- Kim, D. O. (1980). Cochlear mechanics: implications of electrophysiological and acoustical observations. *Hear Res*, 2, 297-317.
- Kim, D. O., Molnar, C. E. und Matthews, J. W. (1980). Cochlear mechanics: nonlinear behavior in two-tone responses as reflected in cochlear-nerve-fiber responses and in ear-canal sound pressure. *J Acoust Soc Am*, 67, 1704-1721.
- Kössl, M. und Coro, F. (2006). L1,L2 maps of distortion-product otoacoustic emissions from a moth ear with only two auditory receptor neurons. *J Acoust Soc Am*, 120, 3822-31.
- Kulesza, R., Viñuela, A., Saldaña, E. und Berrebi, A. (2002). Unbiased stereological estimates of neuron number in subcortical auditory nuclei of the rat. *Hear Res*, 168, 12-24.

- Kurt, S., Deutscher, A., Crook, J., Ohl, F., Budinger, E., Moeller, C. et al. (2008). Auditory cortical contrast enhancing by global winner-take-all inhibitory interactions. *PLoS ONE*, 3, e1735.
- LeBeau, F., Malmierca, M. und Rees, A. (2001). Iontophoresis in vivo demonstrates a key role for GABA(A) and glycinergic inhibition in shaping frequency response areas in the inferior colliculus of guinea pig. *J Neurosci*, 21, 7303-12.
- Lewicki, M. S. (1998). A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network*, 9, R53-R78.
- Magnan, P., Avan, P., Dancer, A., Smurzynski, J. und Probst, R. (1997). Reverse middle-ear transfer function in the guinea pig measured with cubic difference tones. *Hear Res*, 107, 41-45.
- Magnan, P., Dancer, A., Probst, R., Smurzynski, J. und Avan, P. (1999). Intracochlear acoustic pressure measurements: transfer functions of the middle ear and cochlear mechanics. *Audiol Neurootol*, 4, 123-128.
- Malmierca, M., Hernández, O., Falconi, A., Lopez-Poveda, E., Merchán, M. und Rees, A. (2003). The commissure of the inferior colliculus shapes frequency response areas in rat: an in vivo study using reversible blockade with microinjection of kynurenic acid. *Exp Brain Res*, 153, 522-9.
- Malmierca, M., Izquierdo, M., Cristaudo, S., Hernández, O., Pérez-González, D., Covey, E. et al. (2008). A discontinuous tonotopic organization in the inferior colliculus of the rat. *J Neurosci*, 28, 4767-76.
- Malmierca, M., Rees, A., Le, B. F. und Bjaalie, J. (1995). Laminar organization of frequency-defined local axons within and between the inferior colliculi of the guinea pig. *J Comp Neurol*, 357, 124-44.
- Martin, P., Mehta, A. und Hudspeth, A. (2000). Negative hair-bundle stiffness betrays a mechanism for mechanical amplification by the hair cell. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 12026-31.
- Mauermann, M., Uppenkamp, S., Hengel, P. W. van und Kollmeier, B. (1999). Evidence for the distortion product frequency place as a source of distortion product otoacoustic emission (DPOAE) fine structure in humans. I. Fine structure and higher-order DPOAE as a function of the frequency ratio f_2/f_1 . *J Acoust Soc Am*, 106, 3473-3483.
- McAlpine, D. (2004). Neural sensitivity to periodicity in the inferior colliculus: evidence for the role of cochlear distortions. *J Neurophysiol*, 92, 1295-1311.
- McAnally, K. I. und Calford, M. B. (1989). Spectral hyperacuity in the cat: neural response to frequency modulated tone pairs. *Hear Res*, 41, 237-248.

- McAnally, K. I. und Calford, M. B. (1990). A psychophysical study of spectral hyperacuity. *Hear Res*, 44, 93-96.
- Merchán, M., Aguilar, L. A., Lopez-Poveda, E. A. und Malmierca, M. S. (2005). The inferior colliculus of the rat: Quantitative immunocytochemical study of GABA and glycine. *Neuroscience*, 136, 907-925.
- Mills, D. M. (2000). Frequency responses of two- and three-tone distortion product otoacoustic emissions in Mongolian gerbils. *J Acoust Soc Am*, 107, 2586-2602.
- Müller, M. (1996). The cochlear place-frequency map of the adult and developing Mongolian gerbil. *Hear Res*, 94, 148-156.
- Murphy, W. und Davis, R. (1998). The role of the chinchilla pinna and ear canal in electrophysiological measures of hearing thresholds. *J Acoust Soc Am*, 103, 1951-6.
- Nataraj, K. und Wenstrup, J. J. (2005). Roles of inhibition in creating complex auditory responses in the inferior colliculus: facilitated combination-sensitive neurons. *J Neurophysiol*, 93, 3294-3312.
- Neuweiler, G. und Heldmaier, G. (2003). *Vergleichende Tierphysiologie*. Springer-Verlag Berlin.
- Nuttall, A. L. und Dolan, D. F. (1990). Inner hair cell responses to the 2f1-f2 intermodulation distortion product. *J Acoust Soc Am*, 87, 782-790.
- Nuttall, A. L. und Dolan, D. F. (1993). Intermodulation distortion (F2-F1) in inner hair cell and basilar membrane responses. *J Acoust Soc Am*, 93, 2061-8.
- Ochse, M. (2004). *Neuronale Kodierung von Tonhöhen und harmonischen Relationen im auditorischen Mittelhirn der Rennmaus (Meriones unguiculatus)*. Dissertation, Technischen Universität Darmstadt.
- Oliver, D. L. (2005). Neuronal Organization in the Inferior Colliculus. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 69-114). Springer Science+Business Media, Inc.
- Olson, E. S. (1998). Observing middle and inner ear mechanics with novel intracochlear pressure sensors. *J Acoust Soc Am*, 103, 3445-3463.
- Oxenham, A. J. und Bacon, S. P. (2003). Cochlear compression: perceptual measures and implications for normal and impaired hearing. *Ear Hear*, 24, 352-366.
- Pilz, P., Ostwald, J., Kreiter, A. und Schnitzler, H. (1997). Effect of the middle ear reflex on sound transmission to the inner ear of rat. *Hear Res*, 105, 171-82.
- Portfors, C. V. und Felix, R. A. (2005). Spectral integration in the inferior colliculus of the CBA/CaJ mouse. *Neuroscience*, 136, 1159-1170.
- Portfors, C. V. und Wenstrup, J. J. (1999). Delay-tuned neurons in the inferior colliculus of the mustached bat: implications for analyses of target distance. *J Neurophysiol*,

- 82, 1326-1338.
- Portfors, C. V. und Wenstrup, J. J. (2002). Excitatory and facilitatory frequency response areas in the inferior colliculus of the mustached bat. *Hear Res*, 168, 131-8.
- Pressnitzer, D. und Patterson, R. (2001). Distortion products and the perceived pitch of harmonic complex tones. , unpublished.
- Pérez-González, D., Malmierca, M. und Covey, E. (2005). Novelty detector neurons in the mammalian auditory midbrain. *Eur J Neurosci*, 22, 2879-85.
- Purcell, D. W., Ross, B., Picton, T. W. und Pantev, C. (2007). Cortical responses to the 2f1-f2 combination tone measured indirectly using magnetoencephalography. *J Acoust Soc Am*, 122, 992-1003.
- Puria, S. (2003). Measurements of human middle ear forward and reverse acoustics: implications for otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am*, 113, 2773-2789.
- Puria, S. und Allen, J. B. (1998). Measurements and model of the cat middle ear: evidence of tympanic membrane acoustic delay. *J Acoust Soc Am*, 104, 3463-3481.
- Rajan, R. (1997). Auditory response areas altered by intermodulation distortion products from background tones. *Neuroreport*, 8, 3177-3182.
- Rübsamen, R., Mills, D. M. und Rubel, E. W. (1995). Effects of furosemide on distortion product otoacoustic emissions and on neuronal responses in the anteroventral cochlear nucleus. *J Neurophysiol*, 74, 1628-1638.
- Ren, T. (2004). Reverse propagation of sound in the gerbil cochlea. *Nat Neurosci*, 7, 333-334.
- Rhode, W. S. (2007). Distortion product otoacoustic emissions and basilar membrane vibration in the 6-9 kHz region of sensitive chinchilla cochleae. *J Acoust Soc Am*, 122, 2725-2737.
- Robles, L. und Ruggero, M. A. (2001). Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol Rev*, 81, 1305-1352.
- Robles, L., Ruggero, M. A. und Rich, N. C. (1991). Two-tone distortion in the basilar membrane of the cochlea. *Nature*, 349, 413-414.
- Robles, L., Ruggero, M. A. und Rich, N. C. (1997). Two-tone distortion on the basilar membrane of the chinchilla cochlea. *J Neurophysiol*, 77, 2385-2399.
- Ryan, A. (1976). Hearing sensitivity of the mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J Acoust Soc Am*, 59, 1222-1226.
- Schmiedt, R. (1989). Spontaneous rates, thresholds and tuning of auditory-nerve fibers in the gerbil: comparisons to cat data. *Hear Res*, 42, 23-35.

- Schreiner, C. E. und Langner, G. (1997). Laminar fine structure of frequency organization in auditory midbrain. *Nature*, 388, 383-386.
- Schreiner, C. E. und Winer, J. (2007). Auditory cortex mapmaking: principles, projections, and plasticity. *Neuron*, 56, 356-65.
- Schulze, H., Hess, A., Ohl, F. W. und Scheich, H. (2002). Superposition of horseshoe-like periodicity and linear tonotopic maps in auditory cortex of the Mongolian gerbil. *Eur J Neurosci*, 15, 1077-1084.
- Schulze, H. und 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. und 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.
- Smooenburg, G. F. (1970). Pitch perception of two-frequency stimuli. *J Acoust Soc Am*, 48, 924-942.
- Smooenburg, G. F., Gibson, M. M., Kitzes, L. M., Rose, J. E. und Hind, J. E. (1976). Correlates of combination tones observed in the response of neurons in the anteroventral cochlear nucleus of the cat. *J Acoust Soc Am*, 59, 945-962.
- Syka, J., Popelár, J., Kvasnák, E. und Astl, J. (2000). Response properties of neurons in the central nucleus and external and dorsal cortices of the inferior colliculus in guinea pig. *Exp Brain Res*, 133, 254-266.
- Taberner, A. und Liberman, M. (2005). Response properties of single auditory nerve fibers in the mouse. *J Neurophysiol*, 93, 557-69.
- Talmdage, C. L., Long, G. R., Tubis, A. und Dhar, S. (1999). Experimental confirmation of the two-source interference model for the fine structure of distortion product otoacoustic emissions. *J Acoust Soc Am*, 105, 275-292.
- Tan, M., Theeuwes, H., Feenstra, L. und Borst, J. (2007). Membrane properties and firing patterns of inferior colliculus neurons: an in vivo patch-clamp study in rodents. *J Neurophysiol*, 98, 443-53.
- Ter-Mikaelian, M., Sanes, D. und Semple, M. (2007). Transformation of temporal properties between auditory midbrain and cortex in the awake Mongolian gerbil. *J Neurosci*, 27, 6091-102.
- Thompson, A. M. (2005). Descending Connections of the Auditory Midbrain. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 182-199). Springer Science+Business Media, Inc.

- Wenstrup, J. J. (2005). The Tectothalamic System. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 200-230). Springer Science+Business Media, Inc.
- Wenstrup, J. J. und Leroy, S. A. (2001). Spectral integration in the inferior colliculus: role of glycinergic inhibition in response facilitation. *J Neurosci*, *21*, RC124.
- Whitehead, M. L., Stagner, B. B., Martin, G. K. und Lonsbury-Martin, B. L. (1996). Visualization of the onset of distortion-product otoacoustic emissions, and measurement of their latency. *J Acoust Soc Am*, *100*, 1663-1679.
- Wiegrebe, L. und Patterson, R. D. (1999). Quantifying the distortion products generated by amplitude-modulated noise. *J Acoust Soc Am*, *106*, 2709-2718.
- Winer, J. A. (2005). Three Systems of Descending Projections to the Inferior Colliculus. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 231-247). Springer Science+Business Media, Inc.
- Winer, J. A. und Schreiner, C. E. (2005). The Central Auditory System: A Functional Analysis. In C. E. S. Jeffery A. Winer (Hg.), *The inferior colliculus* (S. 1-68). Springer Science+Business Media, Inc.
- Yin, S., Chen, Z., Yu, D., Feng, Y. und Wang, J. (2008). Local inhibition shapes duration tuning in the inferior colliculus of guinea pigs. *Hear Res*, *237*, 32-48.
- Zurita, P., Villa, A., de, R. Y., de, R. F. und Rouiller, E. (1994). Changes of single unit activity in the cat's auditory thalamus and cortex associated to different anesthetic conditions. *Neurosci Res*, *19*, 303-16.
- Zwicker, E. und Harris, F. P. (1990). Psychoacoustical and ear canal cancellation of (2f1-f2)-distortion products. *J Acoust Soc Am*, *87*, 2583-2591.

Danksagung

Besonders bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Manfred Kössl für die Überlassung des Themas und die Betreuung dieser Arbeit. Seine ständige Bereitschaft mir bei technischen Problemen am Setup zu helfen und die interessanten Diskussionen über verschiedene Themen der Biologie und Neurowissenschaften, trugen sehr zum Fortgang dieser Arbeit und zur Weiterentwicklung meines wissenschaftlichen Denkens bei.

Herrn Prof. Dr. Jean Smolders danke ich für die Begutachtung meiner Arbeit.

Ein großes Dankeschön geht an allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Neurobiologie und Biosensorik. Speziell möchte ich Anna Wittekindt danken: für ihr offenes Ohr (mit Emissionen?), ihre hilfreichen Korrekturen des Manuskripts und natürlich das tolle efferechte Zweitprojekt.

Herrn PD DR. Bernhard Gaese möchte ich für die Hilfen und die interessanten Diskussionen danken, in denen er mir mit seinem fundierten Wissen über Biologie und Neurowissenschaft immer neue Impulse und Anregungen gab.

Danke auch an Wolfger von der Behrens und Peter Bänderle. Sie waren nicht nur direkte Sitznachbarn in unserer Doktorandenkammer, sondern immer auch Ratgeber, Diskussionspartner und immer für einen Spass zu haben. Vielen dank für die viele lustigen Stunden im Institut. Danke auch an Herrn Prof. Dr. Ernst-August Seyfarth für die Korrekturen. Vielen Dank für die nette Atmosphäre auch allen anderen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe: Stefanie, Cornelia, Doreen, Michael, Melanie, Jessica, Manuela, Edltraud, Edith, Heike, Nils ...

Allen Mitgliedern, dem Sprecher Prof. Dr. Herbert Zimmermann und der Koordinatorin Dr. Gabi Lahner des Graduiertenkollegs 'Neuronale Plastizität: Moleküle, Strukturen, Funktionen' möchte ich sehr danken. Die regelmäßigen Treffen, die interessanten Vorträge und Veranstaltungen, die ich im Rahmen des Graduiertenkollegs besuchen durfte, haben meinen wissenschaftlichen Horizont erweitert.

Bei der FAZIT-Stiftung möchte ich mich für das Promotionsabschlussstipendium bedanken, das mir in den letzten Monaten meiner Promotion half.

Meinen Eltern und meiner Familie möchte ich dafür danken, dass sie da sind. Meinem Vater außerdem für die hilfreichen Korrekturen.

Zuletzt, aber um so mehr gilt mein Dank meiner Freundin Paula und meiner Tochter Lara Marlene, die mir mit viel Verständnis und meistens auch Geduld durch die Jahre meiner Doktorarbeit geholfen haben.

DANKE!!!

Lebenslauf

Cornelius Abel

Adresse: Kiesstr. 2
60486 Frankfurt am Main

Geboren am: 09. Februar 1976

Ort: Frankfurt am Main

Schule & Studium

1986 – 1995 Wöhlergymnasium Frankfurt am Main

Mai 1995 Abitur

1995 – 1997 Biochemie Studium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

1997 – 2003 Biologie Studium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

2002 – 2003 Diplomand in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Manfred Kössl im Institut für Zellbiologie und Neurowissenschaft der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

März 2003 Abschluss: Diplom Biologie

seit März 2004 Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Manfred Kössl im Institut für Zellbiologie und Neurowissenschaft der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Stipendien

2004-2007 Stipendiat im Graduiertekolleg 'Neuronale Plastizität: Moleküle, Strukturen, Funktionen'

2007-2008 Promotionsabschlusstipendium der Fazit Stiftung, Frankfurt am Main

Publikationen

Cornelius Abel, Wolfgang Plaßmann und Manfred Kössl (2003). Comparison of auditory threshold curves measured with otoacoustic emissions and evoked cochlear potentials in gerbil. 29th Göttingen Neurobiology Conference 2003

Cornelius Abel und Manfred Kössl (2006). Neuronal Processing of Cochlear Distortion Products in the Midbrain - Simultaneous Acoustic and Electrophysiological Measurements. Assoc Res Otolaryngol Abs: 698

Anna Wittekindt, Cornelius Abel und Manfred Kössl (2008). Shifting the operating point of cochlear amplification? Impact of low frequency biasing and contralateral sound stimulation on DPOAE. Mechanics of Hearing, Keele 2008

Frankfurt, den 11. Juni. 2008

Selbstständigkeitserklärung

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

Frankfurt, den 11. Juni. 2008