

**GABAerge Inhibitionsmechanismen
und 2-Ton-Maskierung im Hörkortex
der Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*)**

Dissertation
an der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Rudolph Marsch
aus München

München, im Juni 2003

1.Gutachter: Prof. Dr. M.Kössl

2.Gutachter: Prof. Dr. G.Neuweiler

Tag der mündlichen Prüfung:

Für CARA und PETRA

**„Die Frage: „Haben sie ein Hirn“ kann einwandfrei
nur der Metzger beantworten.“**

Herbert Achternbusch

<u>ABKÜRZUNGEN...</u>	6
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	7
<u>1. ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	8
<u>2. EINLEITUNG...</u>	10
<u>2.1 Die Hörbahn der Säugetiere</u>	10
<u>2.2 Zeitmuster neuronaler Erregung als Informationsträger</u>	11
<u>2.3 Das Zwei-Ton-Paradigma</u>	12
<u>2.4 Zwei-Ton-Maskierung im auditorischen Kortex</u>	13
<u>2.5 Die GABA-Rezeptoren</u>	14
<u>2.6 Ziele der Studie</u>	16
<u>3. METHODEN</u>	17
<u>3.1 Präparation zur Elektrophysiologie</u>	17
<u>3.1.1 Versuchstiere</u>	17
<u>3.1.2 Anästhesie</u>	17
<u>3.1.3 Präparation</u>	17
<u>3.2 Elektrophysiologische Ableitung</u>	19
<u>3.3 Akustische Stimulation</u>	21
<u>3.3.1 Tuningkurven</u>	21
<u>3.3.2 Zwei-Ton-Paradigma</u>	22
<u>3.3.3 Veränderung des Inter-Stimulus-Intervals</u>	22
<u>3.3.4 Erhöhung der Intensität des Maskierers</u>	23
<u>3.4 Iontophorese und Pharmakologie</u>	24
<u>3.5 Datenanalyse</u>	26
<u>3.5.1 Kalkulation des rezeptives Feldes</u>	26
<u>3.5.2 Berechnung der inhibitorischen Bereiche</u>	27
<u>4. ERGEBNISSE</u>	31
<u>4.1 Eigenschaften der exzitatorischen Tuningkurven</u>	31
<u>4.2 Masking-Tuningkurven</u>	32
<u>4.3 Allgemeine Effekte von Bicucullin</u>	33

<u>4.4 Wirkung von Bicucullin auf die Masking-Tuningkurven</u>	34
<u>4.5 Allgemeine Effekte von CGP 55845 bzw. 46381</u>	40
<u>4.6 Wirkung von CGP auf die MTC</u>	41
<u>4.7 Veränderung der Intensität des Maskierers</u>	43
<u>4.8 Veränderung der Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma</u>	47
<u>4.9 Veränderung des Inter-Stimulus-Intervall</u>	52
<u>5. DISKUSSION</u>	58
<u>5.1 Methodische Überlegungen</u>	58
5.1.1 Anästhesie	58
5.1.2 Lage des Probe-Stimulus	59
5.1.3 Wahl des Inter-Stimulus-Intervalls	59
<u>5.2 Die 2-Ton-Maskierung</u>	60
<u>5.3 GABA_A als Ursache für die 2-Ton-Maskierung?</u>	62
5.3.1 Die exzitatorische TC im 2-Ton-Paradigma I: die spektrale Komponente	62
5.3.2 Die spektrale Komponente der 2-Ton-Maskierung	64
5.3.3 Die Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma II: die Intensitätskomponente	64
5.3.4 Die Intensitätskomponente der 2-Ton-Maskierung	66
<u>5.4 GABA_B als Ursache für die 2-Ton-Maskierung?</u>	68
<u>5.5 Veränderung des Inter-Stimulus-Intervalls</u>	70
<u>5.6 Alternativen zu GABA_A und GABA_B: Die „shunting inhibition“</u>	71
<u>5.7 Bemerkungen zur Kortex-Physiologie</u>	71
<u>6. LITERATURVERZEICHNIS</u>	73
<u>7. LEBENS LAUF</u>	79
<u>8. PUBLIKATIONEN</u>	80
<u>9. DANKSAGUNG</u>	81

Abkürzungen

A1	Primärer auditorischer Kortex
AC	Auditorischer Kortex
AVCN	Anteroventraler Nucleus cochlearis
BIC	Bicucullin
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CF	Charakteristische Frequenz
CN	Nucleus cochlearis
DCN	Dorsaler Nucleus cochlearis
GABA	γ -Aminobuttersäure
Glu	Glutamat
IC	Colliculus inferior
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
ISI	Inter-Stimulus-Intervall
KCl	Kaliumchlorid
MGB	medialer Kniekörper (Thalamus) (engl.: <i>medial geniculate body</i>)
MTC	Maskierbereich des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma
MTC-pd	Maskierbereich des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma vor der Applikation der Neuropharmaka (engl.: <i>masking tuning curve predrug</i>)
MTC-BIC	Maskierbereich des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma während der Applikation von BIC (engl.: <i>masking tuning curve</i>)
PVCN	Posteroventraler Nucleus cochlearis
RP	Repetitionsperiode
SD	Standardabweichung
SPO	Spontanaktivität
TC	Exzitatorische Tuningkurve (engl.: <i>tuning curve</i>)
TC-2TP	Exzitatorische Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma
TC-2TP-pd	Exzitatorische Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma vor der Applikation der Neuropharmaka
TC-2TP-BIC	Exzitatorische Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma während der Applikation von BIC
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung	1	Hörkortex der Wüstenrennmaus	Seite 22
Abb.	2	Ableitapparatur	23
Abb.	3	Verwendete Stimuli	26
Abb.	4	Mehrkanal-Elektrode	27
Abb.	5	Chemische Formeln: GABA, BIC, CGP 55845+46381	28
Abb.	6	Mehrkanal-Elektrode Carbostar-4	29
Abb.	7	Beispiel für TC-Berechnung	30
Abb.	8	Beispiel für MTC-Berechnung	31
Abb.	9	CF gegen Schwellensensitivität	34
Abb.	10	Raten-Intensitätsfunktion	35
Abb.	11	Vergleich exzitatorische TC und MTC	36
Abb.	12	Beispiel: TC – MTC-pd – MTC-BIC	38
Abb.	13	Drei Beispiele: TC – MTC-pd – MTC-BIC	40
Abb.	14	Vgl. Q_{40dB} - bzw. Q20A-Werte MTC-pd– MTC-BIC	41
Abb.	15	MTC 24 Frequenzschritte – MTC 40 Frequenzschritte	42
Abb.	16	Schwellensensitivität MTC-pd – MTC-BIC	43
Abb.	17	Drei Beispiele TC – MTC-pd – MTC-CGP	45
Abb.	18	Q_{40dB} -, Q20A- und Schwellenwerte MTC-CGP	46
Abb.	19	Erhöhung der Maskiererintensität pd – BIC	47
Abb.	20	Vgl. Aktivität Maskierer – Probe-Stimulus	48
Abb.	21	Vgl. Aktivität Probe-Stimulus pd – BIC	49
Abb.	22	Erhöhung der Maskiererintensität	50
Abb.	23	Schwellensensitivität TC – TC-2TP; TC-2TP-pd – TC-2TP-BIC; Q_{40dB} -Werte TC – TC-2TP-BIC	52
Abb.	24	Vgl. TC – TC-2TP-pd – TC-2TP-BIC und MTC	53
Abb.	25	Q_{40dB} -Werte TC-2TP – MTC vor und unter BIC-Einfluss	54
Abb.	26	Veränderung des ISI (30-660 ms)	56
Abb.	27	Veränderung des ISI (30-720 ms)	58
Abb.	28	Veränderung der Aktivität bei unterschiedlichen ISI pd – CGP – BIC	60
Abb.	29	Frequenzabhängigkeit der Maskierdauer	63
Abb.	30	Schema TC – TC-2TP-BIC – MTC-BIC	66
Abb.	31	Schema TC – MTC-pd – MTC-BIC	69

1. Zusammenfassung

Inhibition spielt auf allen Ebenen der Hörbahn eine entscheidende Rolle, um komplexe Schallstimuli präzise zu verarbeiten. Die meisten Neurone im auditorischen Kortex, der höchsten Verarbeitungsebene im Hörsystem, zeigen sowohl Exzitation wie auch Inhibition in Antwort auf die Präsentation eines Stimulus.

Eine Möglichkeit, Inhibitionsmechanismen zu untersuchen, bietet das 2-Ton-Paradigma. Bei der Präsentation von zwei Stimuli im Abstand von mehreren Millisekunden, von denen der erste Stimulus (Maskierer) in Frequenz und Intensität variiert, können die Auswirkungen auf die neuronale Verarbeitung des zweiten Reizes (Probe-Stimulus, konstant in Frequenz und Intensität) untersucht werden. Vorangegangene Studien zeigen, dass der Maskierer auch bei Frequenz-Intensitätskombinationen, welche außerhalb des exzitatorischen rezeptiven Feldes liegen, zu deutlicher Maskierung des Probe-Stimulus führt. Interessanterweise decken sich diese Bereiche mit Verbreiterungen der exzitatorischen Abstimmkurven, die während der Applikation des GABA_A-Antagonisten Bicucullin (BIC) bestimmt wurden. Dies führte zu der Vermutung, dass die inhibitorischen Seitenbänder, die im Rahmen der 2-Ton-Reizung erfasst werden, durch GABAerge Prozesse im Kortex zustande kommen. Diese Vermutung wurde in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe neurophysiologischer Ableitungen an leicht betäubten Mongolischen Wüstenrennmäusen (*Meriones unguiculatus*) im primären auditorischen Kortex untersucht und 2-Ton-Maskierbereiche vor und während der Applikation des GABA_A-Antagonisten BIC gemessen.

Im Vergleich zur exzitatorischen Tuningkurve war der Maskierbereich für den Probe-Stimulus im Kortex der Wüstenrennmaus deutlich breiter und waren die entsprechenden Q_{40dB}-Werte erniedrigt. Weiterhin war die Schwellensensitivität an der charakteristischen Frequenz der Neurone deutlich verbessert. Dies bedeutet, dass die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus im spektralen Bereich sowie im Intensitätsbereich über das rezeptive Feld des Neurons hinaus inhibiert wurde.

Die Blockierung der GABA_A-Rezeptoren durch BIC führte nicht, wie erwartet, zu einer Verschmälerung des Maskierbereichs. Stattdessen wurde eine Tendenz zu einer Erniedrigung der Q_{40dB}-Werte und damit zu einer Verbreiterung des Maskierbereichs unter BIC-Einfluss beobachtet. Außerdem wurde eine hoch signifikante Erhöhung der

Schwellenwerte festgestellt. Demzufolge wurde der Probe-Stimulus während der Applikation von BIC erst bei höheren Intensitäten des Maskierers inhibiert. Die Daten legen nahe, dass GABAerge Prozesse im Kortex nicht für laterale Inhibition, möglicherweise aber für schwelennahe Inhibition an der charakteristischen Frequenz von Bedeutung sind.

Ein weiterer, der 2-Ton-Maskierung zugrunde liegender Mechanismus könnte eine GABA_B-Rezeptor vermittelte Inhibition sein. Dies wurde in der vorliegenden Studie mit den GABA_B-Antagonisten CGP 55845 bzw. CGP 46381 untersucht (im Folgenden nur CGP). Während der Applikation von CGP wurde eine signifikante Erhöhung der Schwellenwerte des Maskierbereichs beobachtet, während die Q_{40dB}-Werte keine Veränderung zeigten. Da ein CGP-Einfluss nur bei wenigen Neuronen gezeigt werden konnte, ist eine Beteiligung einer GABA_B-Rezeptor vermittelten Inhibition im spektralen Bereich bei dem Phänomen der 2-Ton-Maskierung jedoch nicht auszuschließen.

Weiter wurde in dieser Studie die Bedeutung GABAerger Prozesse für die Dauer der Maskierung im 2-Ton-Paradigma untersucht. Dabei wurden der Maskierer und der Probe-Stimulus mit gleicher Frequenz und Intensität, aber variierenden Zeitabständen zwischen den Stimuli (Bereiche von 30-720 ms) vor und während der Applikation der GABA_A bzw. GABA_B-Antagonisten präsentiert. Bei 38% der Neurone konnte unter BIC-Einfluss eine Aufhebung der Inhibition bei kürzeren Abständen zwischen den präsentierten Stimuli gezeigt werden. Während der Applikation von CGP konnte dies nur bei 17% der Neurone beobachtet werden. Dies deutet darauf hin, dass die GABA_A-Rezeptor vermittelte Inhibition zumindest für langfristige zeitliche Interaktionen im Kortex wichtig ist.

Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten machen deutlich, dass im primären auditorischen Kortex GABAerge Inhibitionsmechanismen bei der Verarbeitung komplexer akustischer Ereignisse eine bedeutende Rolle spielen.

2. Einleitung

Viele natürliche Geräusche, Klänge in der Musik, Art-spezifische Vokalisation und auch die menschliche Sprache ermöglichen es trotz oder gerade durch eine hohe Komplexität ihrer akustischen Struktur dem „Zuhörenden“, seine Umwelt besser zu verstehen und gegebenenfalls darauf zu reagieren. Besonders die Vokalisation im Tierreich und die menschliche Kommunikation leisten einen enormen Beitrag zur innerartlichen Sozialstruktur einer Lebensgemeinschaft und machen deutlich, wie wichtig es für das einzelne Lebewesen ist, die akustische Information adäquat zu verarbeiten.

Diese Verarbeitung wird durch das auditorische System, bei den Säugetieren bestehend aus dem Außen- und Mittelohr, der Cochlea und der auditorischen Hörbahn im Gehirn ermöglicht.

2.1 Die Hörbahn der Säugetiere

Der Schall als adäquater Reiz des Hörsinns wird in der Cochlea durch eine mechano-elektrische Transduktion in elektrische Impulse des Nervus vestibulo-cochlearis (VIII. Hirnnerv) umgewandelt. Der Hörnerv verzweigt sich und innerviert die drei Unterkerne des Nucleus cochlearis (dorsaler (DCN), posteroventraler (PVCN) und anteroventraler Kern (AVCN)) in der Medulla oblongata. Von hier ziehen die Hörfasern als Lemniscus lateralis zum größten Teil auf die kontralaterale Seite zum Colliculus inferior (IC). Ein geringerer Teil führt ipsilateral vom CN zum IC. In diese Bahn sind einzelne Kerne aus dem oberen Olivenkomplex zwischengeschaltet, der eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von interauralen Zeitdifferenzen spielt. Im IC kreuzen einige Fasern zur Gegenseite, der Großteil zieht zum Corpus geniculatus mediale (MGB) des Thalamus. Aus dem MGB werden drei Hauptbahnen zum Kortex unterschieden. Aus den dorsalen Bereichen des MGB projizieren die Efferenzen vorwiegend in die dorsoposterioren Felder des auditorischen Kortex, aus dem medialen Teil des MGB in das anteriore auditorische Feld und aus dem ventralen MGB hauptsächlich in den primären auditorischen Kortex (A1).

Der auditorische Kortex (AC) ist die höchste Verarbeitungsebene der Hörbahn (beim Menschen: Area 41 nach Brodmann). Er ist bei den Säugetieren aufgrund seiner Zytoarchitektur, der intra- und interkortikalen Verbindungen, den Afferenzen und Efferenzen zu subkortikalen Gebieten und nicht zuletzt aufgrund der unterschiedlichen

physiologischen Eigenschaften der Neurone in verschiedene Felder einteilbar (siehe Abb. 1). Das größte Feld, der A1, zeigt eine tonotope Anordnung, wobei bei der Wüstenrennmaus tiefe Frequenzen caudal, hohe rostral angeordnet sind. Im benachbarten anterioren auditorischen Feld ist im Gegensatz dazu eine spiegelverkehrte Tonotopie zu beobachten. Neurone in den Feldern um den A1 und dem anterioren auditorischen Feld zeigen für gewöhnlich andere neuronale Antworteigenschaften (breitere Tuningkurven und längere Latenzen).

Wie der gesamte Neokortex lässt sich auch der auditorische Kortex aufgrund verschiedener Neuronentypen und kortiko-kortikaler Verbindungen bzw. subkortikaler Afferenzen und Efferenzen in sechs Schichten unterteilen. Der A1 gilt als der Haupteingangsbereich afferenter Bahnen, vor allem aus dem ventralen Bereich des MGB auf die Sternzellen der Schicht IV. Die Neurone aus der Schicht VI ziehen hauptsächlich in den kontralateralen auditorischen Kortex, und große Pyramidenzellen in der Schicht V bilden den Hauptaustausgang zu anderen sensorischen Arealen und in subkortikale Gebiete (z.B. MGB und IC) (Für einen Überblick der vielfältigen intra-, inter- und subkortikalen Verbindungen siehe Budinger et al. 2000a, 2000b).

2.2 Zeitmuster neuronaler Erregung als Informationsträger

Akustische Wahrnehmungsprozesse sind immer auch zeitlicher Natur, da Schallwellen zeitlich dynamische Prozesse sind. So besteht z.B. Sprache aus aufeinanderfolgenden Sequenzen spektral komplexer akustischer Ereignisse. Die Unterscheidung phonetischer Klassen wie Vokale oder Konsonanten basiert zu einem großen Teil auf der Analyse der zeitlichen Struktur des Signals. Temporale Informationen beinhalten z.B. Anfang und Ende eines Stimulus, die Dauer und die „stillen Intervalle“, d.h. die zeitliche Separation einzelner Bestandteile.

Eine wichtige Komponente bei der Kodierung zeitlicher Information eines akustischen Ereignisses ist der Zeitabstand zwischen zwei oder mehr akustisch relevanten Stimuli. Ein auditorisches Ereignis wird als zusammenhängende Struktur betrachtet oder in seine Segmente unterteilt, abhängig von den Abständen zwischen den einzelnen Anteilen (Bregman 1990). Der auditorische Kortex kann repetitive Reize nur bis zu einer Wiederholrate von wenigen Hz in Form zeitlich korrelierender Aktionspotentiale kodieren. Eine Reihe von Studien zeigte dies für die Präsentation von Stimulussequenzen, welche aus Reintönen oder Klickreizen bestehen (u.a. Creutzfeld et al 1980; Phillips et al. 1989). So konnten im auditorischen Kortex der Ratte nur

Stimulus-synchronisierte Antworten bis zu einer Repetitionsrate der präsentierten Stimuli zwischen 5 und maximal 15 Hz beobachtet werden (Kilgard und Merzenich 1999). Lu et al. (2001) konnten jedoch kortikale Neurone (so genannte „Non-synchronized neurons“) beobachten, die bei einer Präsentation von „langsamen“ Stimulussequenzen (click-trains) nicht antworteten und erst ab Repetitionsraten von etwa 50 Hz eine deutliche Stimulus-evozierte Aktivität zeigten. Dies deutet darauf hin, dass eine Kombination aus Zeit- und Raten-kodierenden Neuronen die neuronale Basis für die Verarbeitung zeitlicher Information im auditorischen Kortex darstellt.

In diesen Untersuchungen wurden jedoch immer nur Stimuli mit identischem spektralen Gehalt verwendet. Natürliche akustische Reize ändern sich jedoch in ihrer Frequenzstruktur als Funktion der Zeit. Aus diesem Grund wurde in dieser Studie untersucht, wie kortikale Neurone auf komplexe Stimulussequenzen antworten, die sich auch in ihrer spektralen Komponente unterscheiden.

2.3 Das Zwei-Ton-Paradigma

Bei der Präsentation zweier Schallreize, die gleichzeitig („simultaneous masking“) oder mit einem kurzen Abstand im Millisekundenbereich voneinander präsentiert werden („non-simultaneous masking“), kommt es zu einer Wechselwirkung der neuronalen Aktivitäten als Antwort auf die zwei Stimuli (2-Ton-Maskierung). In der Regel zeigt sich dies bei der nicht-simultanen Vorwärtsmaskierung, indem der erste präsentierte Stimulus (Maskierer) die neuronale Aktivität auf den zweiten Stimulus (Probe-Stimulus) maskiert.

Das Phänomen der 2-Ton-Maskierung zeigt sich bereits in der Cochlea (simultane Maskierung z.B. bei Sellick und Russell 1979; Ruggero et al. 1992). Auch im auditorischen Nerv konnte eine Maskierung des Probe-Stimulus beobachtet werden (Vorwärtsmaskierung bei Smith 1977). Dies deutet aber darauf hin, dass simultane und nicht-simultane Maskierung auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen. Harris und Dallos (1979) untersuchten im auditorischen Nerv, bei welchen Frequenzen es zu einer Maskierung des Probe-Stimulus kommen kann. Dabei zeigte sich, dass bei einer simultanen Präsentation beider Stimuli die Frequenzen des Maskierers auch außerhalb des rezeptiven Feldes liegen konnten, um den Probe-Stimulus zu maskieren („2-tone-suppression“). Bei einer Vorwärtsmaskierung musste die Frequenz des ersten Stimulus jedoch innerhalb des rezeptiven Feldes liegen, um den zweiten Stimulus zu maskieren.

Die zugrunde liegenden Ursachen für die Vorwärtsmaskierung sind noch unklar. Im auditorischen Nerv konnte beobachtet werden, dass die Maskierdauer (Abstand zwischen Maskierer und Probe-Stimulus) durchschnittlich 115 ms betragen musste, damit die neuronale Aktivität in Antwort auf den Maskierer nicht mehr die Aktivität Probe-Stimulus maskierte. Dies deutet darauf hin, dass eine mechanische Suppression auf der Ebene der Basilarmembran nicht ursächlich für das Phänomen der Vorwärtsmaskierung sein kann.

Für die Reduktion der neuronalen Aktivität in Antwort auf den zweiten Stimulus wird im Folgenden auch der Begriff der Inhibition verwendet, obgleich man beachten muss, dass diese Reduktion nicht von vornherein inhibitorischen postsynaptischen Potentialen unterliegt, sondern auch andere neuronale Ursachen haben kann.

Man kann das Phänomen der 2-Ton-Maskierung auf weiteren Ebenen der Hörbahn beobachten. Ab der Ebene des Nucleus cochlearis kann eine neuronale Inhibition des Probe-Stimulus festgestellt werden (dorsaler Nucleus cochlearis: Kaltenbach 1993; anteroventraler Nucleus cochlearis: Kopp-Scheinflug et al. 2002), ebenso im MGB (Schreiner 1981). Es zeigt sich, dass ein Maskierer, der außerhalb des rezeptiven Feldes liegt, die neuronale Aktivität in Antwort auf einen mit zeitlichem Abstand präsentierten Probe-Stimulus innerhalb des rezeptiven Feldes reduziert.

In der vorliegenden Studie wird das Phänomen der nicht-simultanen 2-Ton-Maskierung im primären auditorischen Kortex bei der Wüstenrennmaus untersucht.

2.4 Zwei-Ton-Maskierung im auditorischen Kortex

Ein Studie von Diamond und Neff (1957) zeigte, dass der auditorische Kortex eine tragende Rolle bei der Verarbeitung von sich wiederholenden Stimulussequenzen spielt. Wurde bei Katzen der A1 und der sekundäre auditorische Kortex läsioniert, waren sie nicht mehr in der Lage eine Unterscheidung zwischen den verschiedenen Stimulussequenzen zu treffen. Beschränkte sich die Läsion auf den A1 konnten die Tiere nach anfänglichen Unterscheidungsschwierigkeiten Stimulussequenzen mit unterschiedlichen zeitlichen Mustern, die sie präoperativ zu unterscheiden gelernt hatten, schrittweise wieder korrekt zuordnen. Das Phänomen der 2-Ton-Maskierung auf kortikaler Ebene wurde in einer Vielzahl von Studien beschrieben (z.B.: Sutter und Schreiner 1991; Shamma et al. 1993; Calford und Semple 1995; Brosch und Schreiner 1997; Sutter et al. 1999; Sutter und Loftus 2003 (im Druck)). Die Dauer der Maskierung (siehe 5.3) ist auf allen Ebenen der Hörbahn sehr variabel. Im A1 der Katze zeigte sich

ein Bereich von 40-430 ms (Mittelwert 143 ms) (Brosch und Schreiner 1997). Die Maskierdauer ist abhängig von der Intensität des Maskierers und des Probe-Stimulus und ebenso von den präsentierten Maskierfrequenzen. So konnte gezeigt werden, dass die Maskierdauer mit zunehmender Differenz zwischen Maskierfrequenz und charakteristischer Frequenz des Neurons deutlich abnimmt (Brosch und Schreiner 1997). Dies macht deutlich, dass sowohl temporale wie auch spektrale Parameter bei dem Phänomen der 2-Ton-Maskierung im auditorischen Kortex eine wichtige Rolle spielen.

Die Mechanismen, die zu einer Reduktion der neuronalen Aktivität auf einen Probe-Stimulus nach der Präsentation eines Maskierers, der außerhalb des rezeptiven Feldes des Neurons liegt, führen, sind bis heute unklar. Einen Hinweis auf die möglichen Ursachen gaben Studien von Wang et al. (2000), Chen und Jen (2000) und Foeller et al. (2001), die zeigten, dass eine Inhibition das exzitatorische rezeptive Feld im Spektral- und Intensitätsbereich einschränkt. Am Zustandekommen dieser inhibitorischen Seitenbänder des exzitatorischen rezeptiven Feldes ist ursächlich der Neurotransmitter GABA beteiligt.

2.5 Die GABA-Rezeptoren

$\text{H}_2\text{N}\cdot(\text{CH}_2)_3\cdot\text{COOH}$, Gamma-aminobuttersäure (oder auch Piperidinsäure), kurz GABA (*engl.*: gamma-aminobutyric acid) ist ein pflanzlicher Naturstoff, der als Decarboxylierungsprodukt der L-Glutaminsäure im γ -Aminobutyratweg, einem Nebenweg des Citratzyklus, gebildet wird (siehe Abb. 5A). GABA findet sich in etwa 40% der Neurone des zentralen Nervensystems von Säugern (Martin und Dunn 2002) und ist damit deren wichtigster inhibitorischer Neurotransmitter. Grundsätzlich kann GABA an zwei verschiedene Rezeptorklassen in der Nervenzellmembran binden: GABA_A - und GABA_C -Rezeptoren sind ionotrope Rezeptortypen, der GABA_B -Rezeptor ist metabotrop.

Der GABA_A -Rezeptor besteht aus einem Protein, das in fünf Untereinheiten ("subunits") unterteilt ist. Derzeit sind 18 verschiedene „subunits“ bekannt, die häufigste Form des GABA_A -Rezeptors besteht aus jeweils zwei α -1- und β -2- und einer γ -2-Untereinheit. Die Aktivierung des GABA_A -Rezeptors durch zwei GABA-Moleküle führt zu einem Einstrom von negativ geladenen Chloridionen in das Zellinnere, dadurch wird das Neuron hyperpolarisiert und schwerer erregbar (Krnjevic 1967). Eine kompetitive Blockierung dieses Mechanismus konnte bei der Applikation des

Pflanzenalkaloids Bicucullin (BIC) (aus dem Erdrauchgewächs *Corydalis genus*) beobachtet werden (Curtis et al. 1970). Bicucullin wirkt selektiv auf GABA_A-Rezeptoren und ist daher ein geeignetes Pharmazeutikum, um spezifische GABA_Aerge Inhibitionsmechanismen im zentralen Nervensystem zu untersuchen.

Bei einem Versuch, GABA-Rezeptoren an peripheren Nervenendigungen zu identifizieren, wurde festgestellt, dass GABA zwar die Noradrenalinausschüttung herabsetzt, dieser Effekt aber nicht mit BIC geblockt werden konnte (Hill und Bowery 1981). Der neue Subtyp, an den Baclofen (4-amino-3-(4-chlorophenyl) butanoic acid) bindet, eine chemische Verbindung, die keine Wirkung auf die Leitfähigkeit von Chloridionen zeigte, wurde als GABA_B-Rezeptor bezeichnet und weist eine völlig andere Struktur als der GABA_A-Rezeptor auf. Der funktionelle Rezeptor wird durch die Assoziation der Untereinheiten GABA_BR1 und GABA_BR2 über eine „coiled-coil“-Struktur im zytoplasmatischen Bereich gebildet und wird zur weit verbreiteten Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gezählt. Er ist aus einer Aminosäurekette mit einer großen, extrazellulären Bindungsdomäne für den Liganden GABA, aufgebaut. Weiter ist eine für seine Wirkungsspezifität entscheidende Eigenschaft, dass der GABA_B Rezeptor sowohl prä- wie auch postsynaptisch vorliegt. So wird an der präsynaptischen Seite eines Neurons durch Stimulation der GABA_B-Rezeptoren das Öffnen von Calciumkanälen unterdrückt und so die Ausschüttung von Neurotransmitter oder -peptid gestoppt. Dagegen wird an der postsynaptischen Seite durch stimulierte G-Protein-Untereinheiten entweder das Enzym Adenylatzyklase und damit die Synthese des zytosolischen Botenstoffes cAMP (zyklisches Adenosinmonophosphat) gehemmt, oder es werden direkt Membrankanäle geöffnet, die für Kaliumionen durchlässig sind. In jedem Falle resultiert daraus eine Hyperpolarisation mit langer Zeitkonstante, welche im Gegensatz steht zur „schnellen“ GABA_A-vermittelten Inhibition. Bisher sind neben Phaclofen eine Vielzahl an spezifischen GABA_B-Antagonisten entwickelt worden, so z.B. die in dieser Arbeit verwendeten Neuropharmaka CGP 55845 (Abb. 5C) und CGP 46381 (Abb. 5D). Dies ermöglicht, den spezifischen Einfluss von GABA über die post- und präsynaptischen GABA_B-Rezeptoren im auditorischen Kortex zu untersuchen.

2.6 Ziele der Studie

Um zu einem allgemeineren Verständnis zu gelangen, wie Neurone im primären auditorischen Kortex Stimulussequenzen kodieren, werden in dieser Studie zwei Stimuli präsentiert, die sich zum einen in Frequenz und Intensität, zum anderen durch verschiedene zeitliche Abstände zwischen den einzelnen Stimuli unterscheiden. Es soll untersucht werden, ob die in einem 2-Ton-Paradigma erzeugte Inhibition auf den Probe-Stimulus durch einen GABA_A- bzw. GABA_B-Rezeptor gesteuerten Mechanismus vermittelt wird. Ist dies der Fall, so sollte sich das Ausmaß der Inhibition während der iontophoretischen Applikation des GABA_A-Antagonisten Bicucullin bzw. der GABA_B-Antagonisten CGP 55845 oder CGP 46381 reduzieren.

Eine Veränderung in der Dauer der Inhibition bei der Präsentation von zwei Stimuli gleicher Frequenz und Intensität, aber unterschiedlichen Abständen zwischen den Stimuli vor und während der Applikation der Neuropharmaka sollte einen zusätzlichen Hinweis darauf geben, in welcher Weise GABAerge Mechanismen an Maskierungseffekten im auditorischen Kortex beteiligt sind.

3. Methoden

3.1 Präparation zur Elektrophysiologie

3.1.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 51 adulten Mongolischen Wüstenrennmäusen (*Meriones unguiculatus*) beiderlei Geschlechts durchgeführt, deren Gewicht zwischen 49 g und 92 g lag. Alle Tiere waren wildfarben und entstammten der Zucht des Departments Biologie II der LMU München. Die Tiere wurden nach den Bestimmungen für Labortierverfahren des deutschen Tierschutzgesetzes behandelt (Az. Reg. vs. Obb. 211-2531-37/98).

3.1.2 Anästhesie

Während der Präparation und der nachfolgenden elektrophysiologischen Experimente waren die Tiere anästhesiert. Die Tiere wurden mit einer intramuskulär verabreichten Initialdosis (130 mg/kg) aus Ketavet[®] (UPJOHN; Ketaminhydrochlorid, 100mg/ml) und Rompun[®] (BAYER; Xylazinhydrochlorid, 2%) in physiologischer NaCl-Lösung betäubt (Mischverhältnis Ketavet : NaCl : Rompun = 9:9:2). Während der Experimente wurde die Narkose mittels einer kontinuierlich subkutan zugegebenen Dosis (20-40 mg/kg/h) über eine Infusionspumpe (Harvard Apparatus Infusion Syringe Pump 22) aufrecht gehalten. Der Grad der Narkose wurde mittels des Zwischenzehenreflexes an den Hinterläufen, der Atmung und der Bewegung der Schnurrhaare überwacht.

3.1.3 Präparation

Zunächst wurde die Kopfhaut sagittal aufgeschnitten, das Bindegewebe durchtrennt und der Schädel auf einer Fläche von ca. 2 cm² freigelegt. Dieser wurde mittels eines Schabers von der Knochenhaut befreit und anschließend mit 70%igem Ethanol von Fettresten gereinigt. Eine Messingschraube wurde an Bregma mit Cyanacrylat fixiert und mit Zahnzement befestigt, sodass der Schädel dann in einer Halterung stabilisiert werden konnte. Der linke Temporalmuskel wurde entfernt und die darunter liegende Knochenplatte gesäubert. Durch eine Kraniotomie wurde der Kortex auf einer Fläche von ca. 6 mm² freigelegt, die Dura mater in einem möglichst kleinen Bereich entfernt und der Kortex durch physiologische NaCl-Lösung vor dem Austrocknen geschützt. Für

die indifferente Elektrode wurde etwa im Bereich von Lambda ein weiteres Loch gebohrt und ein Silberdraht im Gehirn fixiert. Die Elektrode wurde manuell so eingestellt, dass die Spitze in die physiologische Kochsalzlösung eintauchte, die Kortexoberfläche aber noch nicht berührte. Der weitere Vorschub der Elektrode wurde mittels eines Piezo-Vortriebes (Science Products PM-10) durchgeführt, welcher von außerhalb der schallgedämpften Ableitkabine gesteuert wurde.

Die Position des primären auditorischen Kortex (A1) wurde anhand einer Frequenzkarte (Abb. 1, Thomas et al. 1993) in Bezug auf Lambda und der Lage der kortikalen Blutgefäße (Sugimoto et al. 1997) bestimmt. Die Elektrode wurde tangential zur Kortexoberfläche bewegt, mit einer Neigung von ca. 5 Grad zur caudal-ventralen Achse, sodass es im Laufe einer Elektrodenpenetration aufgrund der Tonotopie des A1 zu einer Verschiebung der charakteristischen Frequenzen der Neurone von tiefen Frequenzen zu höheren Frequenzen kommt. Sowohl für das anteriore auditorische Feld als auch dorsalposteriore und ventroposteriore Feld würde die Frequenzverschiebung spiegelverkehrt verlaufen. Um ein Auskühlen des Tieres während des Experiments zu vermeiden, wurde die Körpertemperatur durch ein Heizkissen stabil auf 37 °C gehalten. Bei Bedarf wurde während der Präparation das Lokalanästhetikum Xylocain[®] (Astra; Lidocainhydrochlorid H₂O-frei, 2%) eingesetzt. Jeder Versuch wurde durch eine letale Dosis Pentobarbital (160 mg/kg) beendet. Die Versuchsdauer betrug 14-16 Stunden.

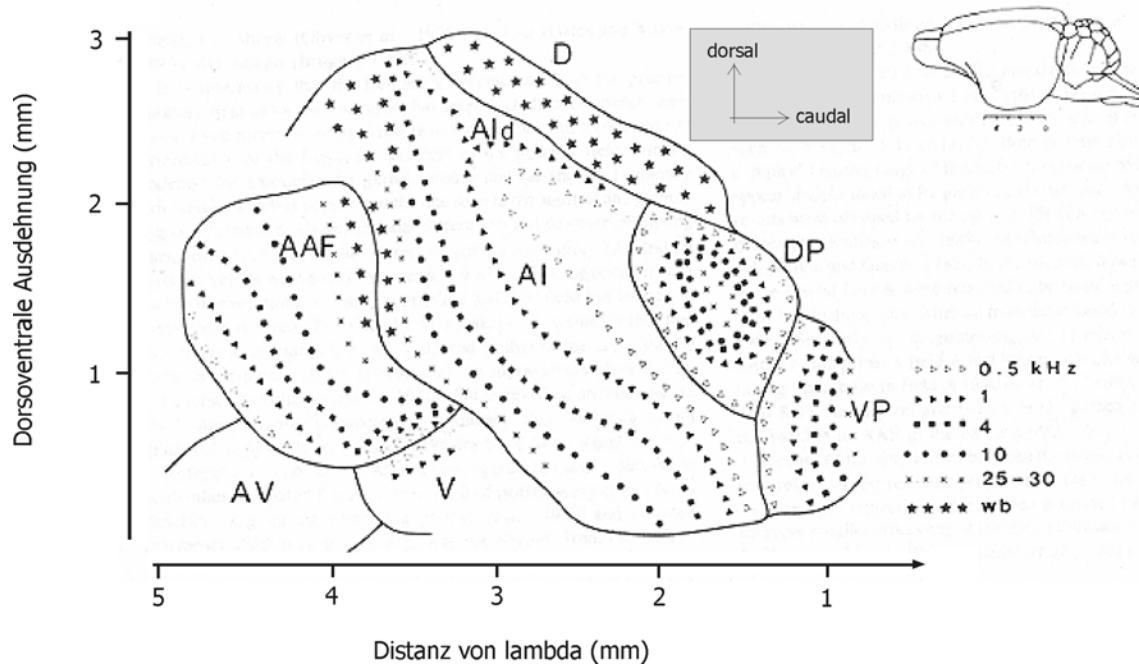
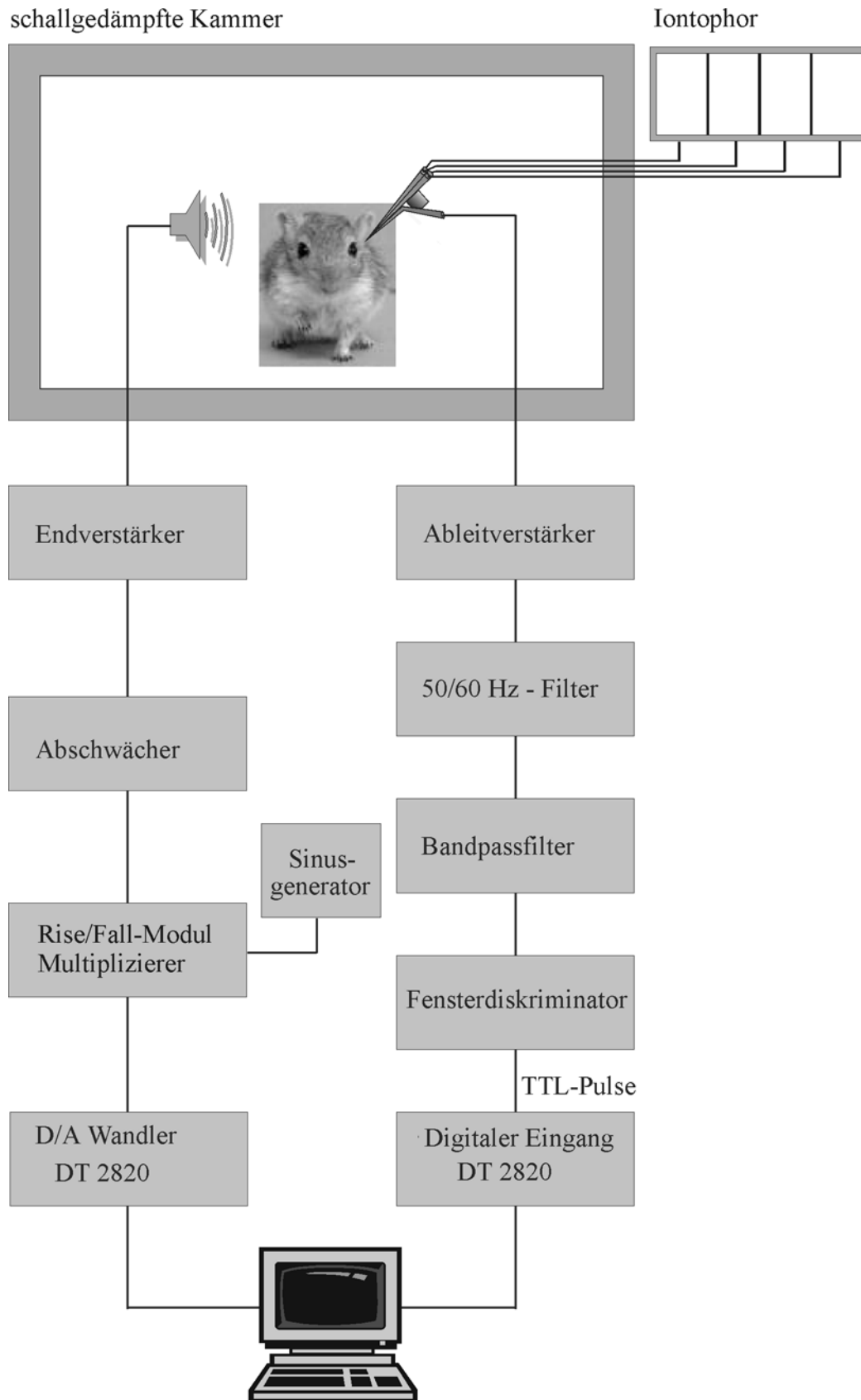


Abb. 1: Elektrophysiologisch gemessene Frequenzorganisation in der linken Hemisphäre im auditorischen Kortex der Mongolischen Wüstenrennmaus. Die Isofrequenzlinien in den einzelnen Feldern A1 (primärer auditorischer Kortex mit dem dorsalen Unterfeld A1d), AAF (anteriores auditorisches Feld), VP (ventroposteriores Feld), DP (dorsoposteriores Feld), D (dorsales Feld), V (ventrales Feld) und AV (anteriorventrales Feld) zeigen unterschiedliche Verläufe. Man beachte die tonotope Organisation des A1: hohe Frequenzen sind rostral, niedrige caudal lokalisiert. wb = breitbandig. Nach Thomas et al. (1993)

3.2 Elektrophysiologische Ableitung

Die elektrischen Signale der Ableitelektrode wurden 100fach verstärkt, in einen 50/60 Hz Störsignalfilter (Humbug, Quest Scientific, Canada) gespeist und anschließend in einem Frequenzbereich von 0,3-3,0 kHz bandpassgefiltert (Stanford SR 650). Über einen Fenster-Diskriminator (Eigenbau Jim Hartley, Sussex) wurden die Aktionspotentiale in digitale TTL-Pulse umgewandelt und über eine DT 2820 Data Translation Karte (DT 2820) in den Computer eingelesen (Abb. 2).

**Abb. 2:** Ableitapparatur

3.3 Akustische Stimulation

Die akustischen Stimuli bestanden ausschließlich aus Reintönen und wurden von einem 2-Kanal-Synthesizer (HP 8904 A) generiert. Zur Erzeugung kurzer Tonpulse wurden sie in Rise/Fall-Module eingegeben und dort mit dem Gate-Signal des D/A-Wandlers des Data Translation Board (DT 2820) multipliziert. Die Anstiegs- und Abfallflanken der Rise/Fall-Module waren im Regelfall auf 4 ms eingestellt. Von den Rise-Fall-Modulen wurden die Tonpulse über Computer-kontrollierte Abschwächer in einen Endverstärker (Rotel RB 9608) gespeist, an dem ein kalibrierter Lautsprecher (Canton XS) angeschlossen war (Abb. 2). Die Stimuli wurden im Freifeld präsentiert, dabei befand sich das Ohr des Versuchstiers orthogonal in einer Entfernung von 20 cm zum Lautsprecher.

Nachdem Aktionspotentiale von einzelnen Neuronen oder Multizellantworten isoliert worden waren, wurden Reintöne (Dauer 50 ms) unterschiedlicher Frequenz (in der Regel zwischen 0,5 und 27 kHz) und Intensität (in der Regel zwischen 10-80 dB SPL) mit einer Repetitionsperiode (RP) von 800 ms dargeboten (Abb. 3A). Ziel war es, eine reizkorrelierte, neuronale Aktivität in ihrem Frequenz- und Intensitätsbereich für die weiteren Messungen abschätzen zu können.

3.3.1 Tuningkurven

Es wurden 192 pseudorandomisierte Frequenz-Intensitätskombinationen präsentiert, d.h., sie wurden im ersten Durchlauf zufällig verteilt, in den weiteren Durchläufen wurde das verwendete Schema beibehalten. Die so entstandene Matrix bestand aus 24 logarithmisch verteilten Frequenzen und jeweils acht Amplitudenschritten. Es wurde versucht, den logarithmisch verteilten Frequenzbereich so zu wählen, dass sowohl auf der niederfrequenten als auch auf der hochfrequenten Seite der Tuningkurve (TC) ein Bereich von ca. 3 Oktaven (gemessen von der Flanke der exzitatorischen Tuningkurve bei höchster Intensität) ohne reizkorrelierte, neuronale Aktivität zu beobachten war, um die Lage der eventuell auftretenden inhibitorischen Seitenbänder auswerten zu können. Der präsentierte Intensitätsbereich betrug 80 dB bei einer Schrittweite von 10 dB. Ebenso wurde bei der Wahl des Intensitätsbereichs darauf geachtet, dass die Schwelle des Neurons 10-20 dB über der niedrigsten präsentierten Intensität lag. Diese Kriterien konnten nicht immer eingehalten werden, da eine präzise Auswertung des rezeptiven Feldes erst nach den Versuchen möglich war.

3.3.2 Zwei-Ton-Paradigma

Die inhibitorischen Seitenbänder eines rezeptiven Feldes kann man durch die Präsentation eines einzelnen Stimulus nicht zeigen, da die Spontanaktivität zu gering ist und es deshalb zu keiner messbaren Veränderung an den Rändern der TC kommt. Aus diesem Grund wurde ein Zwei-Ton-Paradigma entwickelt, das aus einem Maskierer und einem Probe-Stimulus besteht.

Die Parameter des Probe-Stimulus wurden konstant gehalten, die Frequenz wurde an die charakteristische Frequenz (CF) des Neuron gelegt, d.h., an die Frequenz, bei der eine neuronale Aktivität in Antwort auf den Einzelton bei der niedrigsten Intensität beobachtet werden konnte. Die Intensität lag meist 10-20 dB über der Schwelle der Tuningkurve, d.h., der Probe-Stimulus lag im rezeptiven Feld des Neurons. Damit beabsichtigte man, dass es bei allen präsentierten Stimulus-Kombinationen zu einer reizkorelierten Antwort kommen sollte.

Der Maskierer wurde dem Probe-Stimulus vorangestellt. Seine Parameter waren in Frequenz und Intensität variabel und entsprachen denen der in den oben beschriebenen Tuningkurvenmessungen verwendeten Reintöne. Der Probe-Stimulus wurde konstant gehalten und für jede Frequenz-Intensitätskombination mit einem Interstimulus-Intervall von 30 ms nach dem Maskierer präsentiert. (Abb. 3B). Die RP wurde von anfänglich 800 ms auf 1500 ms verlängert. Dadurch hätte sich die Dauer einer Datenerfassung von 15 min auf 29 min verlängert, es wurde deshalb jede Frequenz-Intensitätskombination nur noch viermal wiederholt (19 min). Die Stimulusdauer war in allen Experimenten sowohl für den Maskierer als auch für den Probe-Stimulus gleich lang und lag meist bei 50 ms. Bei 2 Neuronen wurde zusätzlich zu der üblichen Messung mit einer 8*24-Matrix ein Vergleich mit einer 8*40-Matrix durchgeführt. Der Frequenzbereich blieb dabei gleich, einzig die Frequenzauflösung wurde somit erhöht. Die Stimulusparameter wurden dabei nicht verändert.

3.3.3 Veränderung des Inter-Stimulus-Intervals

Beim "Inter-Stimulus-Intervall-Paradigma" waren sowohl die Frequenz als auch die Intensität des Maskierers und der Probe identisch und lagen bei der charakteristischen Frequenz des Neurons und 10-20 dB über der Schwelle. Die Stimulusdauer betrug auch hier jeweils 50 ms, die RP war auf 2500 ms verlängert. Jede Stimuluskombination

wurde bei einem Inter-Stimulus-Intervall (ISI) 40-mal wiederholt und wurde meist im Schema 30, 720, 180, 360, und 90 ms präsentiert (Abb. 3C).

3.3.4 Erhöhung der Intensität des Maskierers

Die Frequenz des Maskierers lag an der CF, die Intensität wurde in Schritten von 5 bzw. 10 dB von 10 auf 80 dB SPL erhöht. Beim Probe-Stimulus, der mit einem Abstand von 30 ms nach dem Ende des Maskierers präsentiert wurde, blieben sowohl die Frequenz (an der CF) als auch die Intensität (20 dB über der Schwelle) konstant. Die Dauer der Stimuli betrug 50 ms, die RP mindestens 1500 ms, und jedes Stimuluspaar wurde für jede Intensität des Maskierers mindestens 16-mal wiederholt (Abb. 3D).

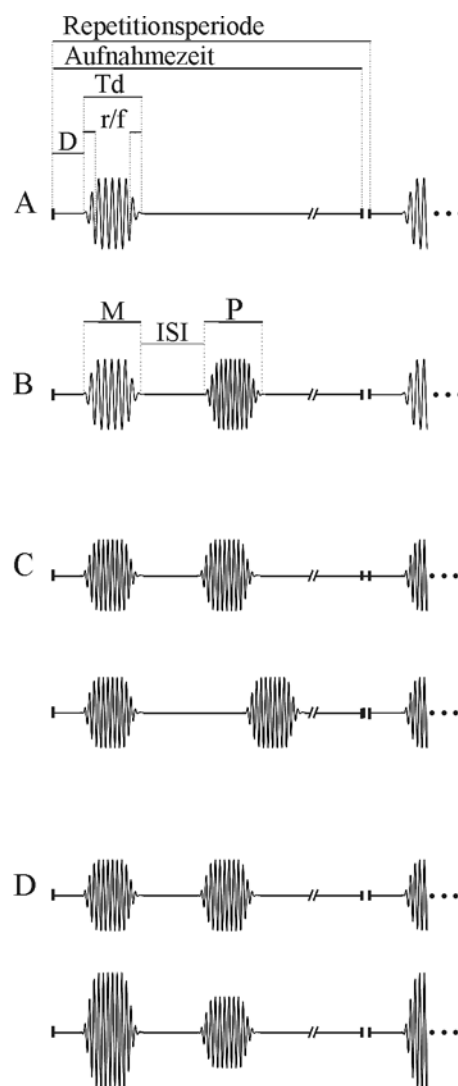


Abb. 3: Verwendete Stimuli für die Tuningkurven (A), das 2-Ton-Paradigma (B), die Veränderung des Inter-Stimulus-Intervalls (C) und die Erhöhung der Intensität des Maskierers (D). Die genauen

Werteangaben sind dem Text (3.3.1-3.3.4) zu entnehmen. D, Delay; ISI, Inter-Stimulus-Intervall; M, Maskierer; P, Probe-Stimulus; r/f, rise-fall-time; Td, Tondauer.

3.4 Iontophorese und Pharmakologie

Für die elektrophysiologischen Ableitungen und die Iontophorese wurden „piggyback multibarrel“-Elektroden hergestellt (Havey und Caspary 1980). Eine Ableitelektrode (Science Products GB 150F-10) wurde mit einem Horizontalelektrodenpuller (Sutter Instruments P-87) gezogen und die Spitze gebrochen (Widerstand in situ: 2-10 MOhm). Eine Mehrkanalelektrode (WPI 5B120F-4) wurde gezogen und so gebrochen, dass an der Spitze für jeden der vier Kanäle eine Öffnung von 2-4 μm entstand. Die Spitze der Einzelelektrode wurde in einem Winkel von ca. 30 Grad gebogen und mit Zahnzement so auf die Mehrkanalelektrode geklebt, dass ihre Öffnung 8-20 μm vorstand (Abb. 4).

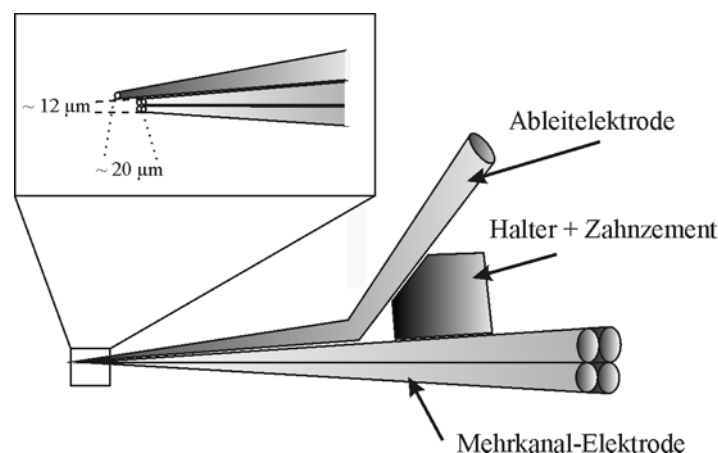


Abb. 4: Mehrkanal-Elektrode

Die Ableitelektrode wurde mit einer flexiblen Kanüle (WPI MicroFilTM 28 AWG) mit 3 M KCl gefüllt und mit Vaseline verschlossen. Ein Kanal der Mehrkanalelektrode wurde mit dem GABA_A-Rezeptorantagonisten Bicucullinmethiodid (5 mM, pH 3; Sigma; siehe Abb. 5 B) gefüllt. Im Laufe der Experimente wurde ein weiterer Kanal zuerst mit dem GABA_B-Rezeptorantagonisten CGP 55845 (25 mM, pH 5,2; nach Chowdhury und Rasmusson 2002; Tocris; siehe Abb. 5C), später mit CGP 46381 (100 mM, pH 5,2; Tocris; siehe Abb. 5D) gefüllt. Ein Kanal wurde für den Ausgleichsstrom benützt und mit 1 M NaCl-Lösung gefüllt.

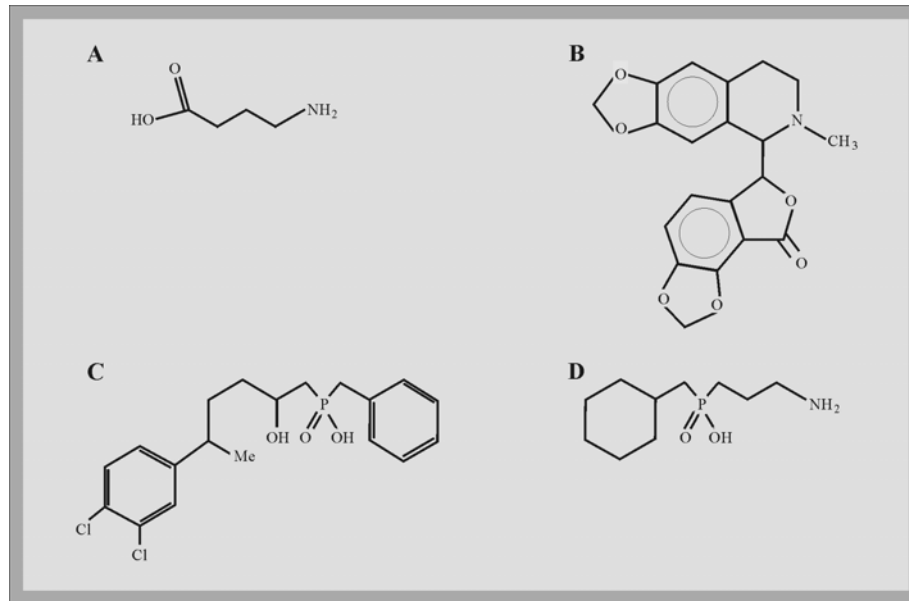


Abb. 5: A: GABA; B: Bicucullin; C: CGP 55845; D: CGP 46381.

Ein Mikroiontophoresesystem (WPI, S7061A) wurde verwendet, um die Applikation der Substanzen zu steuern. Der Haltestrom für BIC lag bei -10 nA, für CGP 55845 und CGP 46381 bei -15 nA. Die verwendeten Ströme lagen bei der Applikation von BIC zwischen 5 und 40 nA, bei CGP 55845 von 20-50 nA und für CGP 46381 von 20-90 nA. Der Ausgleichstrom wurde während der Applikation so eingestellt, dass der Gesamtstrom Null war.

Zusätzlich wurden Versuche mit einer kommerziell erhältlichen Mehrkanalelektrode (Carbostar-4 recording electrode; Kation Scientific, Minneapolis, USA) durchgeführt. Die Ableitelektrode bestand aus einer 5-8 μm dicken Karbonfaser, deren Spitze ca. 18 μm vor den drei Iontophoresekanälen lag. Diese bestanden aus Borosilicatglas und hatten einen Durchmesser von ca. 2-3 μm (Abb. 6).

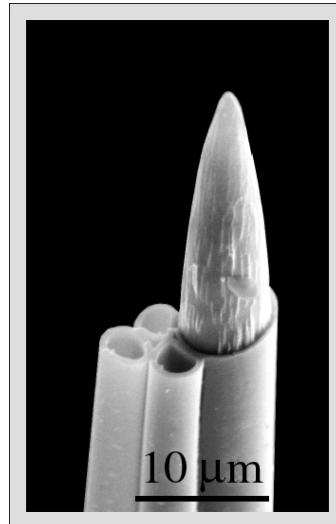


Abb. 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Mehrkanal-Elektrode Carbostar-4 (© Kation Scientific, Minneapolis, USA).

Eine Widerstandsmessung war aufgrund der kapazitiven Eigenschaften der Carbonfaserelektrode nicht möglich, wurde aber vom Hersteller mit 0,8 MOhm angegeben. Um eine mehrmalige Nutzung zu gewährleisten, erfolgte die Reinigung der Multibarrelektrode nach anfänglichen Versuchen mit DMSO (Dimethylsulfoxid) und Aceton am effektivsten mit H₂O dest.. Sofort nach Versuchsende wurden aus der Elektrode die neuropharmakologischen Substanzen mit einer MicroFil-Kanüle entfernt und nach mehrmaligem Durchspülen in einem Wasserbad gelagert. Kurz vor der nächsten Elektrodenpenetration (maximal 5 min) wurde das H₂O wieder aus den Kanälen gesogen und mit neuen Pharmaka gefüllt. Durch diese Reinigungsprozedur konnten die Elektroden durchschnittlich 4-5-mal wiederverwendet werden.

3.5 Datenanalyse

3.5.1 Kalkulation des rezeptives Feldes

Zur Berechnung des exzitatorischen rezeptiven Feldes (Tuningkurve, engl.: *tuningcurve* = TC) jedes Neurons wurden die Spontanaktivität (SPO) und die Standardabweichung (SD) aus der neuronalen Aktivität in der Regel in den ersten beiden Reihen der Frequenz-Intensität-Matrix, also über den gesamten Frequenzbereich und den zwei niedrigsten Intensitäten, in einem Antwortfenster von 48 ms ermittelt. Die Länge dieses Antwortfensters wurde über alle Neurone konstant gehalten, einzig die zeitliche Lage wurde der Dauer der Stimulus-evozierten neuronalen Aktivität angepasst. Als

Schwellenkriterium für das rezeptive Feld der Tuningkurve wurde $SPO + 2 * SD$ gewählt. Dieses Kriterium erwies sich über alle gemessenen Neurone als stabil und hielt einem optischen Vergleich des rezeptiven Feldes mit den Rohdaten stand. In Fällen, in denen das rezeptive Feld des Neurons in den Bereich der beiden niedrigsten Intensitäten hineinragt, wurden Frequenz-Intensitätskombinationen am Rand der Matrix gewählt. Die Anzahl der Antwortfenster wurde möglichst hoch gewählt (≥ 21), um eine präzise Berechnung der Spontanaktivität zu erhalten. In Abb. 7 ist ein Beispiel für die Berechnung der TC abgebildet.

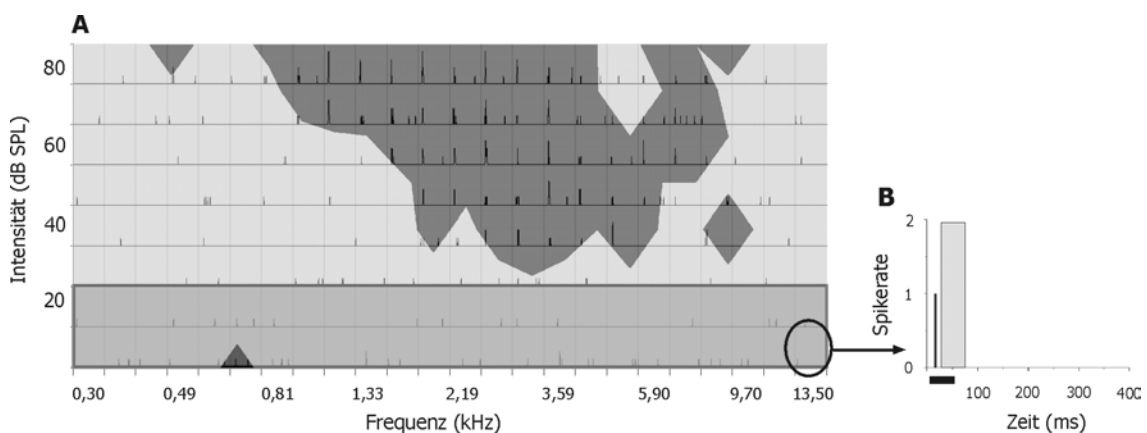


Abb. 7: Beispiel für die Berechnung einer exzitatorischen Tuningkurve. Unter A sind die 192 Frequenz-Intensitätskombinationen abgebildet. Bei diesem Beispiel wurde zur Berechnung des Schwellenkriteriums ein Zeitfenster von 48 ms (32-80 ms der Aufnahmezeit) verwendet (graues Rechteck in B). Bei 13,50 kHz und 10 dB SPL zeigt sich unter B keine neuronale Aktivität im Messfenster. Die neuronale Aktivität von 46 Frequenz-Intensitätskombinationen (Frequenzen von 0,3-13,50 kHz; Intensitäten von 10 und 20 dB SPL) wurden gemittelt (dunkelgrau umrahmt in A). Bei diesem Beispiel betrug die Spontanaktivität (Spo) im gewählten Fenster 0,17, die Standardabweichung (SD) 0,43. Nach dem Schwellenkriterium von $Spo + 2 * SD$ ergab sich ein Wert von 1,03. Wurde dieser Wert in einer Frequenz-Intensitätskombination im vorgegebenen Fenster überschritten, galt die Kombination als Teil der exzitatorischen Tuningkurve. Die Kombinationen wurden interpoliert und ergaben die Tuningkurve (graues Feld in A). Der schwarze Balken unter B markiert die Lage des Stimulus. Die Länge der einzelnen peri-stimulus-time-Histogramme (PSTH) beträgt 400 ms, die Binweite 4 ms, die Y-Achse der einzelnen PSTH beträgt 5 Spikes.

3.5.2 Berechnung der inhibitorischen Bereiche

Im Zwei-Ton-Paradigma wurde die neuronale Aktivität auf den Probe-Stimulus untersucht, die in Abhängigkeit von den Parametern des Maskiers unterschiedlich war. Von einer Maskierung bzw. Inhibition ist auszugehen, wenn bei der Präsentation des

Maskierers die neuronale Antwort auf den Probe-Stimulus im Vergleich zur Aktivität auf den Probe-Stimulus allein reduziert wird. Die mittlere neuronale Aktivität auf den Probe-Stimulus alleine wurde meist aus der Antwort auf die zwei niedrigsten Intensitäten und über alle 24 Frequenzen errechnet, sodass auch hier der Mittelwert über 48 Fenster gemessen wurde. Die verwendeten Zeitfenster bei den einzelnen Frequenz-Intensitätskombinationen variierten bezüglich ihrer Lage und Länge und waren an die Latenz und das neuronale Antwortmuster (phasisch – tonisch – Burst) des untersuchten Neurons angepasst. Um die neuronale Aktivität vor und während der Applikation der Neuropharmaka zu vergleichen wurde die Länge und die Lage des Zeitfensters bei diesen beiden Datenanalysen nicht mehr verändert. Um dies zu verdeutlichen, ist in Abb. 8 ein Beispiel für die Berechnung des inhibierten Bereichs (engl.: *masking tuning curve* = MTC) abgebildet.

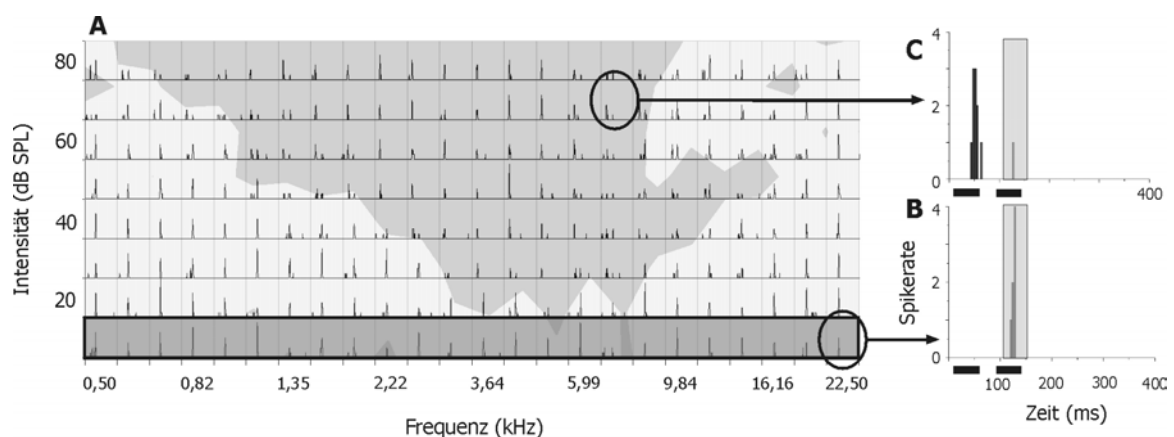


Abb. 8: Beispiel für die Berechnung einer MTC. Unter A sind die 192 Frequenz-Intensitätskombinationen abgebildet. Bei diesem Neuron wurden zur Berechnung der Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus bei einer Maskierintensität von 10 dB SPL alle verschiedenen Frequenz-Kombinationen herangezogen (dunkelgrau umrahmt in A). Das für die Antwort auf den Probe-Stimulus relevante Fenster wurde von 112-160 ms gewählt (B + C: graues Rechteck) und darin die Spikerate berechnet. Für die im Beispiel gezeigte Frequenz-Intensitätskombination von 22,5 kHz und 10 dB SPL ergaben sich 7 Spikes, für die 24 Kombinationen ergab es einen Mittelwert von 10,09. Das Inhibitionskriterium wurde auf 50% festgelegt, d.h., alle Frequenz-Intensitätskombinationen, bei denen die Spikerate im gewählten Fenster kleiner 5,05 war, wurden als vom Maskierer inhibiert betrachtet. Für die unter C gezeigte Frequenz-Intensitätskombination von 7,03 kHz und 70 dB SPL zeigte das Neuron in Antwort auf den Probe-Stimulus nur einen Spike. Diese Kombination wurde somit als vom Maskierer inhibiert betrachtet. Diese Gesamtheit der Kombinationen wurden interpoliert und ergaben die MTC (graues Feld in A). Die schwarzen Balken unter B und C markieren die Lage des Maskierers (10-60 ms) und des Probe-Stimulus (90-140 ms). Die Länge der einzelnen PSTH beträgt 400 ms, die Binweite 4 ms, die Y-Achse der einzelnen PSTH beträgt 8 Spikes.

Eine Softwareroutine (Testpoint, Keithley) interpolierte die Position der inhibierten Aktivität des Neurons und kalkulierte die MTC.

Für die weiteren Analysen wurden die CF und die Schwellenwerte notiert. Um festzustellen, inwieweit die MTC von GABAerger lokaler Inhibition beeinflusst war, wurden entsprechende Neuropharmaka während der Messung der MTC verabreicht. Da bei der Beobachtung der MTC vor und während der Applikation der Neuropharmaka in erster Linie die Bandbreite des inhibitorischen Bereichs von Interesse war, wurden die $Q_{10\text{dB}}$ bis $Q_{40\text{dB}}$ -Werte mit der Formel

$$Q_{10-40\text{dB}}\text{-Wert} = \frac{\text{CF}}{\text{Bandbreite 10 - 40 dB über CF}}$$

berechnet.

Da die $Q_{10\text{dB}}$ - bzw. $Q_{40\text{dB}}$ -Werte abhängig sind von der CF der MTC und diese sich verschieben konnten, musste man ein Maß schaffen, dass unabhängig von der CF war. Der Q_{20A} -Wert ersetzt die CF durch die vor und während der pharmakologischen Applikation konstanten Probe-Stimulusfrequenz. Er wurde demnach mit der Formel

$$Q_{20A}\text{-Wert} = \frac{\text{Frequenz des Probe-Stimulus}}{\text{Bandbreite 20 dB über Probe-Intensität}}$$

berechnet.

Um eine Veränderung der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte bzw. Q_{20A} -Werte vor und während der Applikation der Neuropharmaka zu zeigen wurde der Mittelwert der Q-Werte berechnet und der Quotient gebildet:

$$\text{MQ-Wert} = \frac{\text{Mittelwert der } Q_{40\text{dB}}\text{- bzw. } Q_{20A}\text{-Wert vor Applikation}}{\text{Mittelwert der } Q_{40\text{dB}}\text{- bzw. } Q_{20A}\text{-Wert während Applikation}}$$

Dabei zeigt ein MQ-Wert < 1 eine Verengung und ein MQ-Wert > 1 eine Verbreiterung der MTC während der Applikation der Neuropharmaka an.

Um zu zeigen, dass die applizierten neuropharmakologischen Substanzen auf das Neuron wirkten, wurde die neuronale Aktivität auf den Probe-Stimulus vor und

während der Applikation berechnet (entsprechend dem Mittelwert für die Berechnung des Schwellenwertkriteriums). Sie musste um mindestens 20% während der Applikation der Neuropharmaka gegenüber der Kontrolle angestiegen sein. Alle gemessenen Neurone, bei denen eine Aktivitätserhöhung zwar visuell erkennbar war, die das Schwellenkriterium aber nicht erfüllten, wurden nicht in die Auswertung einbezogen. Alternativ hätten auch Veränderungen der Spontanaktivität der untersuchten Neurone herangezogen werden können. Aufgrund der geringen zeitlichen Verzögerung zwischen den präsentierten Stimuli und der niedrigen Spontanaktivität im A1 ist dies jedoch mit Schwierigkeiten verbunden.

4. Ergebnisse

4.1 Eigenschaften der exzitatorischen Tuningkurven

Zu Beginn jeder Messreihe wurde die exzitatorische Tuningkurve des Neurons gemessen. Daraus ergaben sich die CF, die Schwellensensitivität, die $Q_{10\text{ dB}}$ - bzw. $Q_{40\text{ dB}}$ -Werte, die Spontanaktivität und deren Standardabweichung. Ein Vergleich der CF mit der Schwellensensitivität (Mittelwert: 19,79 dB SPL) der Neurone zeigt keine signifikant höheren Schwellenwerte bei höherer CF (Abb. 9) (CF-Bereich von 0,48-32,23 kHz). Auffallend ist die Häufung der CF im niederfrequenten Bereich, 68% liegen zwischen 0,48 und 7,19 kHz.

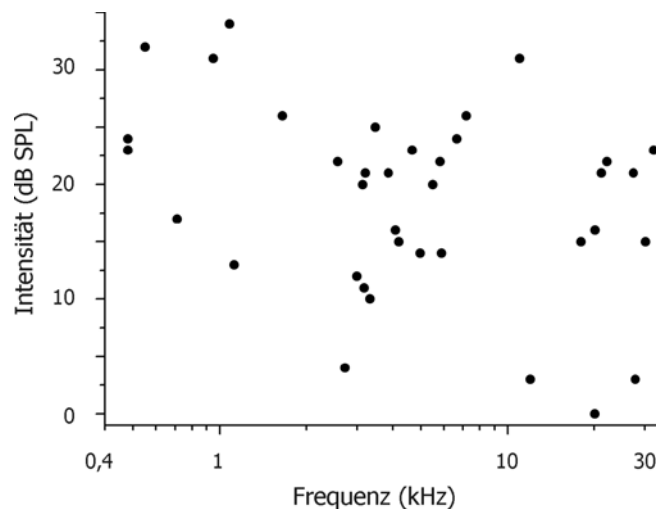


Abb. 9: Schwellenwerte der Neurone ($n=42$) in Abhängigkeit der CF. Man beachte die Überrepräsentation im niederfrequenten Bereich.

Eine Raten-Intensitätsfunktion, d.h., die Antwortstärke des Neurons in Abhängigkeit der Stimulusintensität, konnte bei 25 Neurone eindeutig bestimmt werden. Zur Definition von nicht-monotonem Antwortverhalten wurde nach den Vorgaben von Schreiner et al. (1992) vorgegangen: Ausgehend von der Intensität mit der stärksten neuronalen Antwort musste im weiteren Verlauf der Intensitätserhöhung die neuronale Aktivität mindestens um 90% abnehmen. Von den untersuchten Neuronen zeigen 7 (28%) ein monotonen und 18 (72%) ein nicht-monotonen Antwortverhalten. Von den übrigen 13 Neuronen können bei 85% zwei Aktivitätsmaxima bei unterschiedlichen Intensitäten beobachtet werden (Abb. 10).

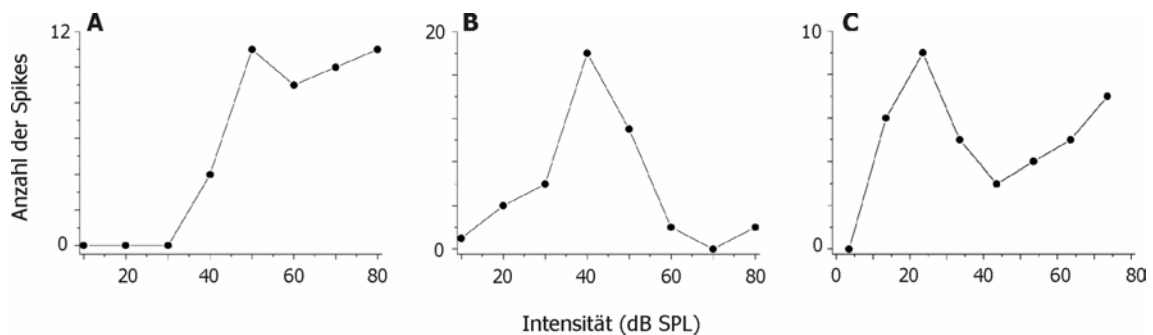


Abb. 10: Raten-Intensitätsfunktionen für ein monotones (A) und ein nicht-monotones (B) Antwortverhalten. Die Aktivität des Neurons unter C zeigt ein Maximum bei 23,5 dB SPL, fällt ab und steigt ab 53,5 dB SPL erneut an.

Der $Q_{10\text{ dB}}$ -Wert der untersuchten Neurone liegt im Mittel bei 3,61 (Bereich von 0,69-22,59), der $Q_{40\text{ dB}}$ -Wert bei 1,36 (Bereich von 0,33-3,5). Geht man von der Definition aus, dass TC als eng bezeichnet werden, wenn der $Q_{10\text{ dB}}$ -Wert > 2 ist, zeigten 61% ein enges rezeptives Feld (Pelleg-Toiba und Wollberg 1989).

4.2 Masking-Tuningkurven

Die „Masking-Tuningkurven“ (MTC) zeigen den Bereich der Maskierung auf den Probe-Stimulus während des 2-Ton-Paradigmas an. Bei einem Vergleich der CF der exzitatorischen TC mit der Frequenz, bei der die MTC die niedrigste Schwelle zeigt, kommt es zu keinen signifikanten Unterschieden. Dagegen wird bei den Schwellenwerten nach dem Wilcoxon-Test eine Signifikanz von $p=0,046$ beobachtet (Abb. 11A). Dies bedeutet, dass die Schwellensensitivität bei den TC niedriger ist als bei den MTC. In 53,6% der Fälle können niedrigere Schwellenwerte, in 31,7% höhere Schwellenwerte bei der MTC beobachtet werden (keine Änderung in 14,6%). Der Mittelwert der Schwellenwerte bei den TC liegt bei 19,44 dB SPL und wird im Mittel um 11,1% auf 17,29 dB SPL bei der MTC gesenkt.

In Abb. 11B werden die $Q_{40\text{ dB}}$ -Werte der exzitatorischen TC und der inhibitorischen MTC verglichen. Im Mittel liegen sie für die TC bei 1,37 und nehmen signifikant um 23,2% auf 1,06 für die MTC ab (Wilcoxon-Test, $p=0,027$). Dies bedeutet, dass eventuell vorhandene inhibitorische Seitenbänder am hoch- bzw. niederfrequenten Rand, aber auch unterhalb des exzitatorischen Feldes zu einer Vergrößerung des

Inhibitionsbereichs beitragen. Allerdings sind die Werte breit gestreut, für 13 von 37 Neuronen waren die $Q_{40\text{ dB}}$ -Werte der MTC um mindestens 20% niedriger als bei der exzitatorischen TC.

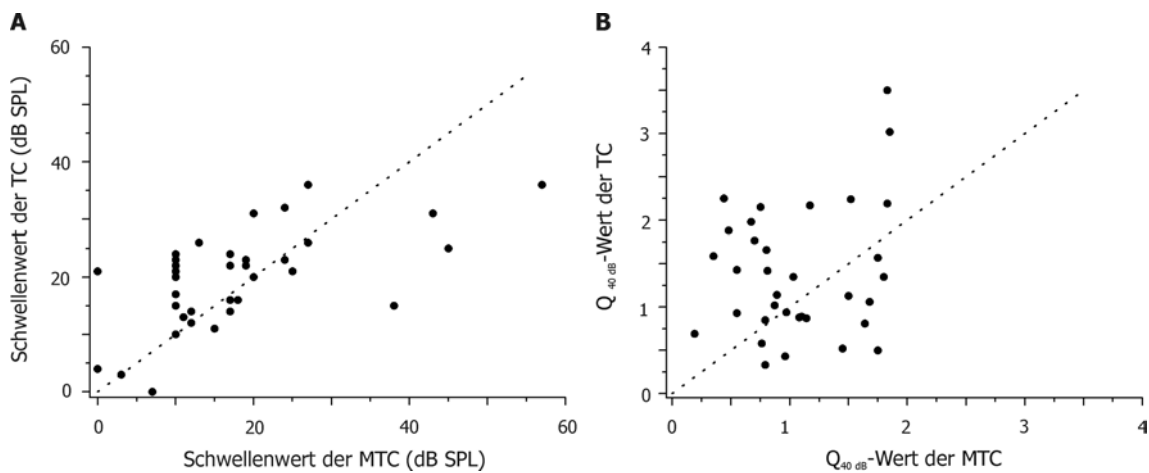


Abb. 11: **A:** Vergleich der Schwellenwerte der TC mit der MTC. Nach dem Wilcoxon-Test zeigt sich eine Signifikanz von $p=0,046$ zu niedrigeren Schwellenwerten der MTC ($n=41$). **B:** Vergleich der $Q_{40\text{ dB}}$ -Werte der MTC mit denjenigen der TC ($n=37$; vier Werte deckungsgleich). Im Mittel ist eine signifikante Erniedrigung der $Q_{40\text{ dB}}$ -Werte bei der MTC zu beobachten ($p=0,027$). Man beachte, dass hier das exzitatorische Feld des Neurons mit dem Maskierbereich auf den Probe-Stimulus des 2-Ton-Paradigma verglichen wird. Gepunktete Linien in A und B: Schwellen- bzw. $Q_{40\text{ dB}}$ -Äquivalenz.

4.3 Allgemeine Effekte von Bicucullin

Insgesamt wurde das 2-Ton-Paradigma 117-mal komplett vor und während der Applikation der Neuropharmaka gemessen. Davon wurden 36 Messungen während der Applikation von CGP, 81 während der BIC-Applikation vorgenommen. Bei insgesamt 33 Neuronen konnte eine MTC vor und während der Applikation von BIC berechnet werden. Bei den übrigen konnte keine oder eine zu geringe Erhöhung der Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus während der Applikation der Neuropharmaka festgestellt werden (siehe 3.5.2).

Ein Vergleich der neuronalen Aktivität vor und während der Applikation von BIC zeigt eine durchschnittliche Erhöhung von 160,15%, diese reicht von 27% bis 548%. Da die für eine Bestimmung der Spontanaktivität zur Verfügung stehende Aufnahmezeit vor Stimulusbeginn nur bei 10 ms lag, damit sehr kurz war und die neuronale Aktivität nach den Stimuli durch Inhibitionseinflüsse beeinträchtigt sein konnte, wurde die Wirkung

von Bicucullin nicht anhand einer Änderung der Spontanaktivität des Neurons sondern als Aktivitätsänderung auf den Probe-Stimulus gemessen (siehe 3.5.2). Das Antwortmuster änderte sich während der Applikation von BIC nicht nur in der Anzahl der Aktionspotentiale, auch der zeitliche Verlauf der Aktivität änderte sich in den untersuchten Neurone. Dies zeigte sich im Allgemeinen in einer Veränderung von einem eher phasischen in ein tonisches Antwortmuster.

4.4 Wirkung von Bicucullin auf die Masking-Tuningkurven

Die Effekte von BIC zeigen eine große Variabilität bezüglich des Maskierbereichs auf den Probe-Stimulus. Diese reicht von einer Vergrößerung bis zu einer Verkleinerung der MTC während der Applikation von BIC. Aus diesem Grund werden im Folgenden Beispiele für das unterschiedliche Verhalten einzelner Neurone gezeigt.

Ein Beispiel für den Einfluss, den BIC auf den Inhibitionsbereich der MTC haben konnte, ist in Abb. 12 zu sehen. Im Vergleich mit einer exzitatorischen TC und einer MTC vor der Applikation (MTC-predrug = MTC-pd) ist eine Verbreiterung der MTC während der Applikation von BIC (MTC-BIC) deutlich zu beobachten.

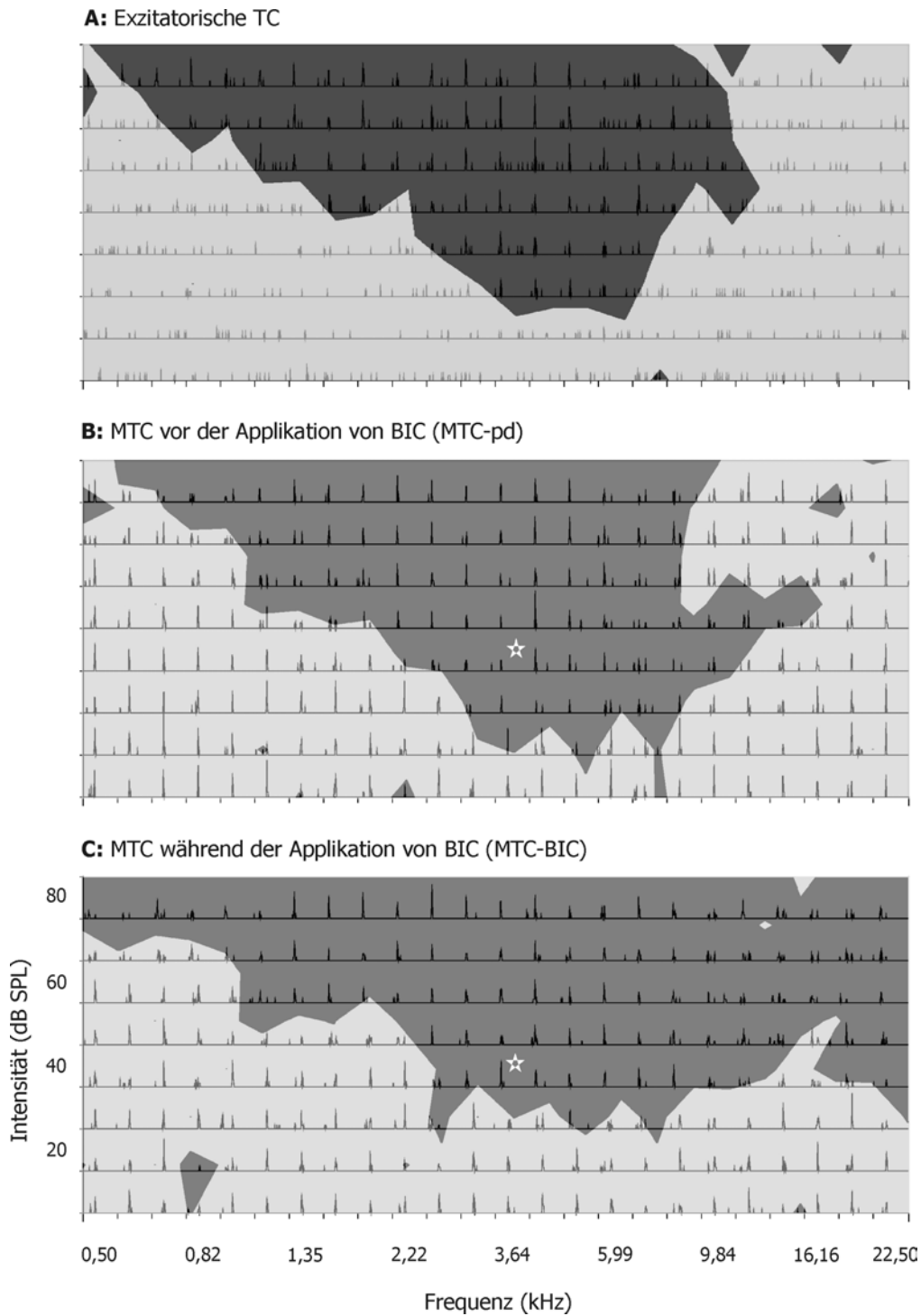


Abb. 12: Vergleich zwischen exzitatorischer TC (**A**) und inhibitorischer MTC vor (**B**, MTC-pd) und während (**C**, MTC-BIC) der Applikation von BIC. Im Hintergrund die einzelnen PSTH der Frequenz-Intensitätskombinationen, im Vordergrund die interpolierten exzitatorischen bzw. inhibitorischen Felder. In diesem Beispiel kam es zu einer deutlichen Verbreiterung der MTC besonders im hochfrequenten Bereich unter dem Einfluss von BIC (40 nA). Die Aufnahmedauer der einzelnen PSTH beträgt 400 ms, die RP 1100 ms, die Binweite 4 ms, die Y-Achse für die TC und die MTC-pd beträgt 8 Spikes, für die MTC-BIC 12 Spikes. Der weiße Stern markiert die Frequenz und die Intensität des Probe-Stimulus (3,64 kHz, 40 dB SPL).

Die Aktivität des Neurons auf den Probe-Stimulus vor der Applikation lag bei 4,87 Spikes/s und stieg auf 8,6 Spikes/s während der BIC-Applikation an. Der $Q_{40\text{dB}}$ -Wert beträgt bei der MTC-pd 0,87 und nimmt um 0,2 auf 0,67 während der BIC-Applikation ab. Dies macht deutlich, dass die inhibitorischen Seitenbänder, in diesem Fall besonders im hochfrequenten Bereich des rezeptiven Feldes, Einfluss auf die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus nahmen. In diesem Beispiel zeigte sich allerdings erst bei der Auswertung, dass nicht der gesamte Inhibitionsbereich während der BIC-Applikation erfasst werden konnte, da die präsentierte Frequenz des Maskierers nur bis 22,5 kHz reichte. Man kann davon ausgehen, dass der Inhibitionsbereich größer und die daraus resultierenden $Q_{40\text{dB}}$ -Werte bzw. Q20A-Werte kleiner waren.

Falls die Maskierung durch lokale GABA_A -erge Inhibition im primären Hörkortex erzeugt würde, wäre unter BIC-Einwirkung eine Verkleinerung der MTC zu erwarten. Dies ist hier nicht zu beobachten. Ein Vergleich der Q20A-Werte zeigt für die MTC-pd einen Wert von 0,520 und für die MTC-BIC 0,423. Es kam somit in diesem Fall zu einer Vergrößerung des Inhibitionsbereiches während der Applikation von BIC. Betrachtet man die Schwellensensitivität, so kann keine Veränderung während der Applikation von BIC festgestellt werden.

Für das Neuron, welches in Abb. 13A gezeigt ist, kommt es bei einer Aktivitätssteigerung während der BIC-Applikation von 107% zu keiner Veränderung des Maskierbereiches ($Q_{40\text{dB}}$ -Wert pd/BIC = 1,80/1,61; Q20A pd/BIC: 1,73/1,68), jedoch zu einer Erhöhung des Schwellenwertes der MTC von 7 auf 15 dB SPL.

Das nicht-monotone Neuron in Abb. 13B zeigt einen schmalen exzitatorischen Bereich ($Q_{40\text{dB}}$ -Wert: 4,15). Der $Q_{40\text{dB}}$ -Wert für die MTC-pd liegt bei 1,85, der Q20A-Wert bei 1,86. Während der Applikation von BIC kam es bei diesem Neuron zu einer Aktivitätssteigerung um 228%. Es wird eine deutliche Erniedrigung der Q-Werte berechnet ($Q_{40\text{dB}}$ -Wert: 1,21; Q20A: 0,877). Eine Veränderung der Schwellensensitivität kann nicht beobachtet werden.

Eine Verkleinerung des Maskierbereichs während der Applikation von BIC (Aktivitätssteigerung um 548%) ist in Abb. 13C dargestellt. Das Neuron zeigte eine exzitatorische TC mit einem nieder- und einem hochfrequenten Antwortbereich. Der Maskierbereich ist hier deutlich reduziert, der Q20A-Wert von 0,09 auf 0,45 während der BIC-Applikation angestiegen. Beide Bereiche wurden aber weiterhin inhibiert, im hochfrequenten Teil stärker vor, im niederfrequenten Bereich stärker während der

Applikation von BIC. Der Schwellenwert steigt von 10 dB SPL vor auf 26 dB SPL während der Applikation von BIC an.

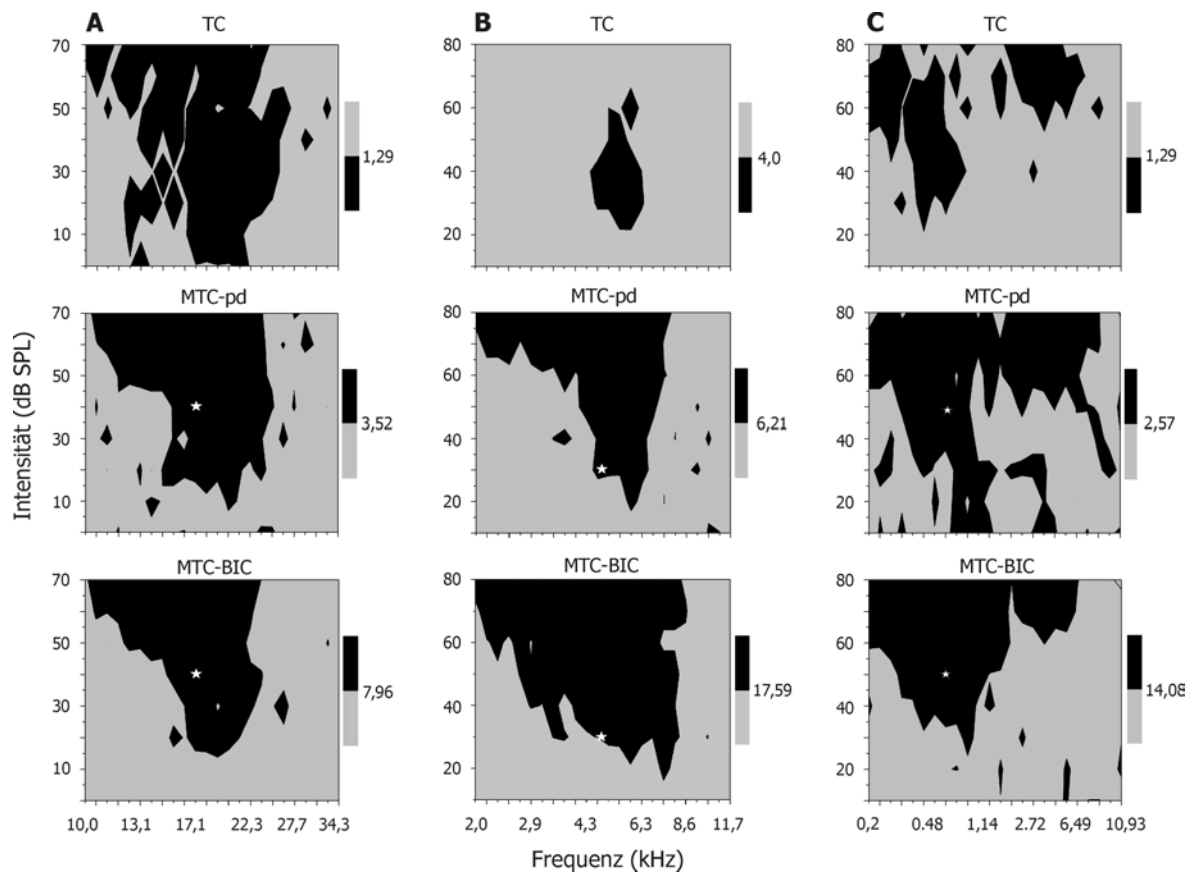


Abb. 13: Drei Beispiele (**A**, **B** und **C**) für die Veränderung der MTC während der Applikation von BIC. Gezeigt sind die exzitatorische TC (Oben), die MTC vor (MTC-pd; Mitte) und während (MTC-BIC; Unten) der Applikation. Unter **A** kommt es zu keiner Veränderung der MTC, eine deutliche Vergrößerung des inhibierten Bereiches ist unter **B** zu erkennen, und **C** zeigt eine Verkleinerung der MTC während der Applikation von BIC. Die Sterne markieren die Frequenz und die Intensität des Probe-Stimulus. Die Werte zeigen bei der TC das Schwellenkriterium von $SPO + 2 * SD$ an, bei den MTC eine Reduktion der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus um 50%. Die RP war bei A 1500 ms, bei B und C 800 ms. Die Stromstärken für die BIC-Applikation waren unter A 15 nA, bei B 30nA und bei C 35 nA.

Abb. 13 macht deutlich, dass die inhibierten Felder der Neurone sehr unterschiedlich ausfielen. Ein Vergleich der Q_{40dB} -Werte vor und während der Applikation von BIC zeigt nur eine Tendenz zu einer Verbreiterung der MTC (Wilcoxon-Test, $p=0,194$, Abb. 14A). Der MQ-Wert (siehe 3.5.2) von 1,59 ($SD=1,32$) bestätigt die Tendenz zur Verbreiterung. Allerdings relativiert sich der Eindruck, dass BIC einen Einfluss auf die Breite der MTC nimmt in der Betrachtung der Q_{20A} -Werte, da diese von den Schwellenwerten der MTC unabhängig berechnet werden. Die Regressionsgerade in

Abb. 14B stimmt annähernd mit der Geraden überein, die keine Änderung der Q20A-Werte vor und während der Applikation von BIC anzeigt. Der MQ-Wert beträgt hier 1.16 (SD=0,69) und zeigte, dass es nur zu einer minimalen Verbreiterung der MTC gekommen ist.

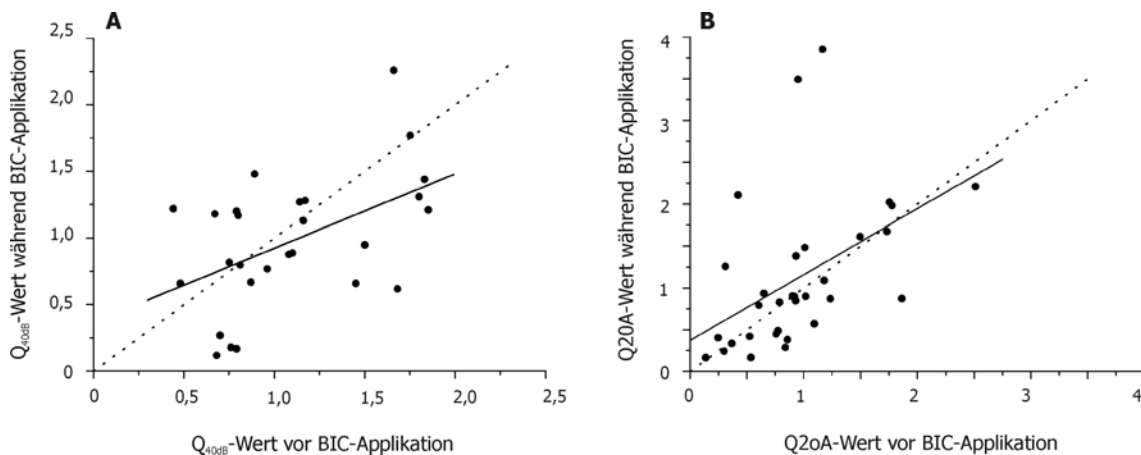


Abb. 14: A: Vergleich der Q_{40dB} -Werte (links, $n=27$) und der Q20A-Werte (rechts, $n=32$) vor und während der Applikation von BIC. Die Regressionsgerade (durchgezogene Linien) zeigt für die Q_{40dB} -Werte eine Tendenz zur Verbreiterung des inhibierten Feldes an. **B:** Beim Vergleich der Q20A-Werte vor und während der BIC-Applikation zeigt sich kein Unterschied bei der Regressionsgerade(durchgezogene Linie). Die gestrichelten Linien in A und B zeigen die Q_{40dB} - bzw. Q20A Äquivalenz vor und während der Applikation von BIC an.

Möglicherweise war jedoch die Frequenzauflösung der MTC nicht ausreichend, um kleine Veränderungen der Bandbreite zu erfassen. Aus diesem Grund wurde bei 2 Neuronen die Frequenzauflösung während eines Experiments von 24 auf 40 Frequenzschritte erhöht (Abb. 15) (siehe 3.3.2). Der Vergleich zeigt nur minimale Unterschiede bei den Q20A-Werten (pd: 0,50, BIC: 0,54). Eine Erhöhung der Schwellensensitivität konnte nur bei zwei Frequenz-Intensitätskombinationen beobachtet werden und muss im Zusammenhang mit dem niedrigeren Schwellenkriterium der 8*40-Matrix gesehen werden. Die Anzahl der Durchläufe wurde aus zeitlichen Gründen von vier bei der 8*24-Matrix (= 192 Frequenz-Intensitätskombinationen) auf zwei bei der 8*40-Matrix (= 320 Frequenz-Intensitätskombinationen) reduziert. Aus diesem Grund war auch die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus und demzufolge das Inhibitionskriterium (siehe Skalierung) bei der Präsentation der 8*40-Matrix deutlich reduziert.

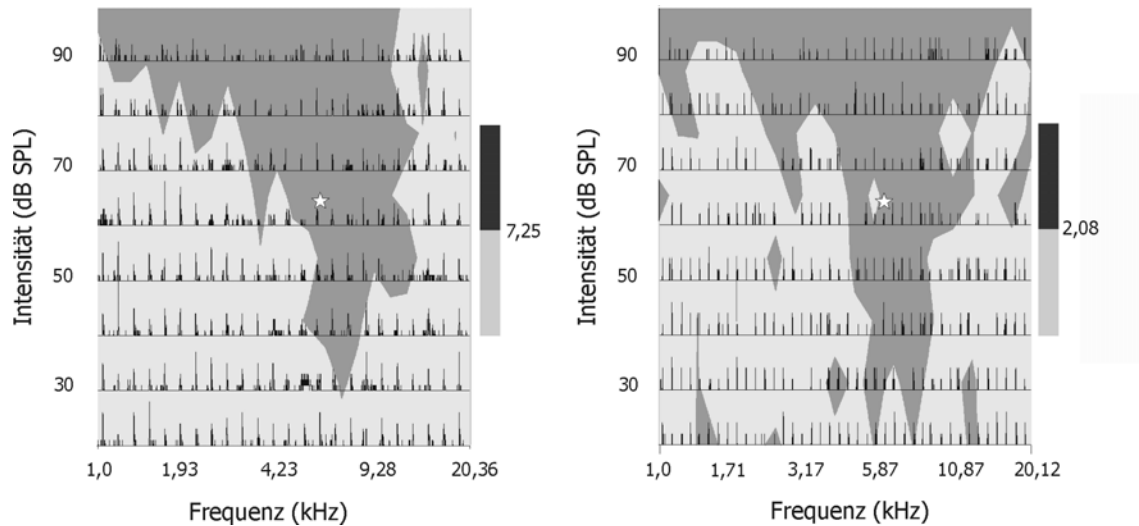


Abb. 15: Vergleich einer MTC bei einer Frequenzauflösung von 24 Schritten (8×24 -Matrix, links) gegenüber nachfolgender Aufnahme mit 40 Schritten (8×40 -Matrix, rechts). Die Q20A-Werte unterscheiden sich nur unwesentlich (siehe Text). Die weißen Sterne markieren die Frequenz und Intensität des Probe-Stimulus (6,26 kHz, 60 dB SPL). Im Hintergrund die PSTH der einzelnen Frequenz-Intensitätskombinationen (Länge: 400, ms, Binweite: 4 ms, Y-Achse: 8 Spikes), im Vordergrund der interpolierte Maskierbereich auf den Probe-Stimulus.

Wie unter 4.2 beschrieben, kann bei den Schwellenwerten der MTC gegenüber denjenigen der TC ein Rückgang um 11,1% beobachtet werden (siehe Abb. 11A). Vergleicht man die MTC vor und während der Applikation von BIC, so zeigt sich eine hoch signifikante Erhöhung der Schwellenwerte (Abb. 16). Bei 56% der MTC kommt es zu einem Anstieg während der Applikation von BIC, 13,3% der gemessenen MTC zeigen eine Abnahme der Schwellenwerte durch BIC. Bei 30,0% kann keine Veränderung ($n=9$, jeweils zwei Punkte bei 0,3, 10 und 20 dB SPL) beobachtet werden. Davon jedoch sind bei sieben MTC die sensitivsten Schwellenwerte bei der niedrigsten präsentierten Intensität zu finden, so dass eine weitere Erniedrigung nicht auszuschließen ist. Der Mittelwert der gemessenen Schwellen steigt um 17,2% von 17,97 dB SPL auf 21,61 dB SPL und liegt somit höher als der Mittelwert der Schwelle für die TC mit 19,44 dB SPL. Dieser Vergleich weist eine hohe Signifikanz auf (Wilcoxon-Test, $p=0,006$).

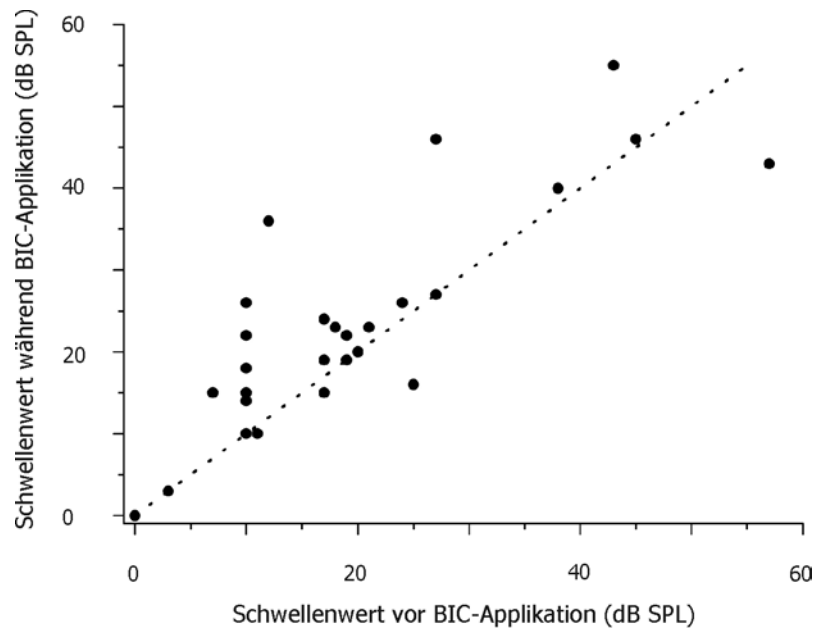


Abb. 16: Schwellenwerte der MTC vor und während der Applikation von BIC ($n=31$, vier Werte deckungsgleich). Es kommt zu einer hoch signifikanten Erhöhung der Schwellenwerte unter BIC-Einfluss (Wilcoxon-Test, $p < 0,006$). Die gestrichelte Linie zeigt Schwellenäquivalenz an.

Es zeigt sich bei der Betrachtung der von der Schwelle unabhängigen Q_{20A} -Werte keine Veränderung vor und während der Applikation von BIC (siehe Abb. 14B). Weiter kann eine Erhöhung der Schwellenwerte während der BIC-Applikation beobachtet werden. Dies würde bedeuten, dass die Bandbreite der MTC im Bereich höherer Intensitäten größer wurde. Dies konnte bei den, vom Schwellenwert der MTC abhängigen Q_{40dB} -Werte festgestellt werden (siehe Abb. 14). Demzufolge verbreitert sich die MTC während der Applikation von BIC.

4.5 Allgemeine Effekte von CGP 55845 bzw. 46381

Da die Ergebnisse darauf hindeuteten, dass der $GABA_A$ -Antagonist Bicucullin nur bedingt Einfluss auf die inhibitorischen Mechanismen im spektralen Kontext der 2-Ton-Maskierung spielt, wurde überlegt, welche weiteren neuronalen Mechanismen zu einer Reduktion der Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus beitragen könnten. Der $GABA_B$ -Rezeptor ist im Gegensatz zum ionotropen $GABA_A$ -Rezeptor ein metabotroper Rezeptortyp. Aufgrund der Modulation von „späten“ inhibitorischen postsynaptischen Potentialen (über eine „second-messenger“-Kaskade) könnte er eine maßgebliche Rolle bei der Vorwärtsmaskierung spielen.

Bei der iontophoretischen Applikation von CGP 55845 bzw. CGP 46381 kam es nur bei 11 von 36 gemessenen Neuronen zu einer Erhöhung der Stimulus-evozierten Aktivität um mindestens 20%. Bei den übrigen Neuronen konnte nur eine geringfügige oder gar keine Änderung beobachtet werden, so dass diese nicht in die weitere Auswertung einbezogen wurden. Die Gründe, die zu dieser geringen Anzahl an durch CGP beeinflussten Neurone führen könnten, müssen noch diskutiert werden.

Eine Unterscheidung zwischen den zwei verwendeten GABA_B-Antagonisten CGP 55845 bzw. CGP 46381 wird im Folgenden nicht mehr getroffen, da hier keine Veränderung bei der neuronalen Aktivität in Antwort auf die Stimuli während der Applizierung der neuropharmakologischen Substanzen festgestellt werden konnte.

Ein Vergleich vor und während der Applikation von CGP zeigt eine durchschnittliche Erhöhung von 61% (Bereich von 31%-343%). Trotz der Verwendung höherer Stromstärken und höherer Konzentrationen liegt die Aktivitätssteigerung somit deutlich unter der Aktivitätssteigerung während BIC-Einfluss (160%) (siehe 3.4).

4.6 Wirkung von CGP auf die MTC

Auch bei der Wirkung von CGP auf die MTC ist keine Tendenz zu einer Vergrößerung oder Verkleinerung des Inhibitionsbereichs zu beobachten. Abb. 16 zeigt drei Beispiele für exzitatorische TC, MTC und die Wirkung von CGP auf die MTC.

Abb. 17A zeigt die Wirkung von CGP auf die MTC (unten) im Vergleich zur MTC vor der Applikation (mitte) und der exzitatorischen TC (oben). Die Aktivität auf den Probe-Stimulus beträgt bei der MTC-pd 10,42 Spikes/s und stieg auf 16,6 Spikes/s während der iontophoretischen Applikation von CGP an. Die Q_{40dB} -Werte ändern sich nur minimal von 1,06 für die MTC-pd auf 0,96 für die MTC-CGP. Der Grund hierfür ist die Verschiebung der CF von 1,33 kHz auf 0,9 kHz. Bei der Betrachtung der Schwellenwert unabhängigen Q_{20A} -Werte zeigt sich eine deutliche Erhöhung von 0,61 auf 2,07, also eine Verkleinerung der MTC während der Applikation von CGP.

Ein anderes Beispiel zeigt den entgegengesetzten Fall (Abb. 17B), bei dem sich die MTC durch die Applikation von CGP minimal verbreitert. Der Q_{20A} -Wert nimmt von 0,77 bei der MTC-pd auf 0,60 bei der MTC-CGP ab.

Die exzitatorische TC (Oben) im Beispiel in Abb. 17C zeigt ein eher enges rezeptives Feld (Q_{40dB} -Wert: 1.59), bei der entsprechenden MTC-pd (Mitte) wird dagegen die neuronale Aktivität auf den Probe-Stimulus in einem breiten Frequenzbereich inhibiert

($Q_{40\text{dB}}$ -Wert: 0,35; $Q_{20\text{A}}$ -Wert: 0,24). Während der Applikation von CGP (Unten) bleibt die Grundform der MTC-pd zwar erhalten, es zeigen sich aber Lücken im Bereich der inhibitorischen Seitenbänder. Im Bereich des exzitatorischen rezeptiven Feldes des Neurons kommt es weiterhin zu einer Inhibition auf den Probe-Stimulus.

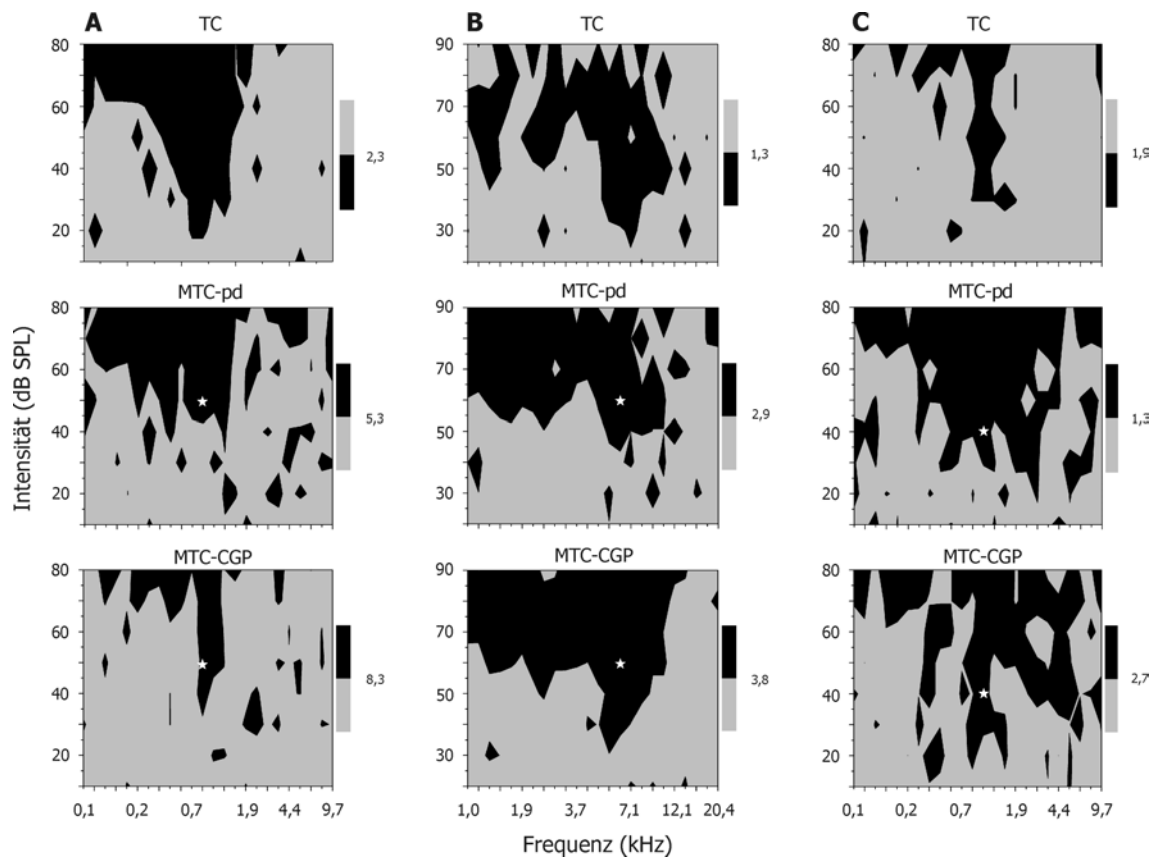


Abb. 17: Drei Beispiele für die Veränderung der MTC während der Applikation von CGP. Oben die exzitatorischen TC, in der Mitte die MTC vor und unten während der Applikation von CGP. In **A** und **C** ist eine deutliche Reduzierung des inhibierten Feldes zu erkennen, unter **B** zeigt sich eine Verbreiterung der MTC. Weiße Sterne markieren die Frequenz und die Intensität der Probe-Stimuli. Die Werte zeigen bei der TC das Schwellenkriterium von $SPO + 2 * SD$ an, bei den MTC eine Reduktion der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus um 50% an. Die RP war 1500 ms, die Stromstärken für die CGP-Applikation waren bei A 42 nA, bei B 40 nA und bei C 35 nA.

Wie schon in Abb. 14A für die MTC während der BIC-Applikation gezeigt, kann man bei den $Q_{40\text{dB}}$ -Werten von einer Tendenz zur Vergrößerung der MTC ausgehen (Abb. 18A) (Wilcoxon-Test, $p=0,328$), die Werte sind jedoch sehr gestreut. Die Schwellenwert unabhängigen $Q_{20\text{A}}$ -Werte in Abb. 18B zeigen keine Tendenz zu einer Änderung der Größe der MTC. Dagegen wird wie auch schon bei der Applikation von BIC ein Anstieg bei den Schwellenwerten deutlich (Abb. 18C). Trotz der geringen

Anzahl an Werten zeigt sich auch hier nach dem Wilcoxon-Test eine Signifikanz ($p=0,037$). Geht man davon aus, dass sich die Bandbreite 20 dB über des Probe-Stimulus bei der CGP-Applikation nicht verändert, die Q_{40dB} -Werte eine Tendenz zu einer Verbreiterung zeigen und die Schwellenwerte signifikant ansteigen, würde sich auch während der CGP-Applikation die MTC im Bereich höherer Intensitäten verbreitern.

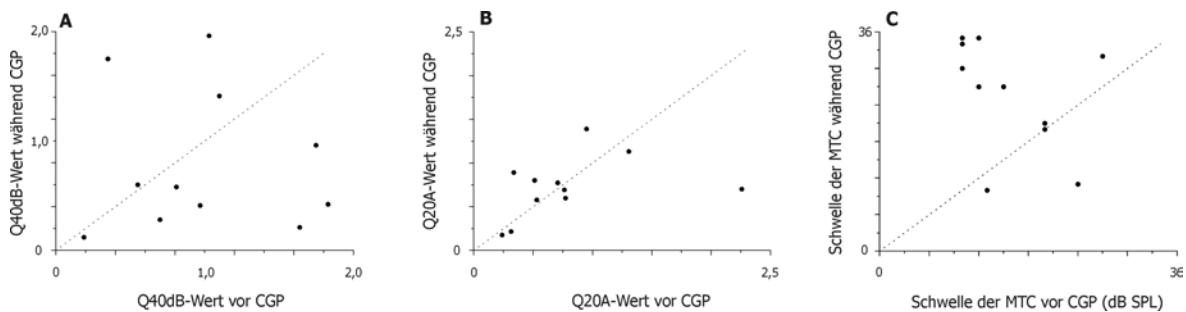


Abb. 18: Vergleich der Q_{40dB} -Werte (**A**), der Q_{20A} -Werte (**B**) und der Schwelle (**C**) vor und während der Applikation von CGP. Nur bei den Schwellenwerten zeigt sich eine Signifikanz zu einer Erhöhung der Schwelle während der Applikation (Wilcoxon-Test, $p=0,037$). Die gestrichelten Linien zeigen die jeweiligen Äquivalenzen an.

4.7 Veränderung der Intensität des Maskierers

Es wurde versucht, mittels eines Intensitätsparadigmas (siehe 3.3.4) mit einer erhöhten Anzahl an Durchläufen und kleineren Intensitätsschritten (bis 5 dB) die neuronalen Aktivitäten in Antwort auf den Maskierer bei ansteigender Intensität und konstantem Probe-Stimulus zu erfassen und damit etwaige Inhibitionsmechanismen zu untersuchen. In dem hier gezeigten Beispiel (Abb. 19) wurde die Intensität des Maskierers von 20 auf 95 dB SPL in 16 Schritten von 5 dB erhöht. Das Neuron antwortete bei den Intensitäten von 20-35 dB SPL nur auf den Probe-Stimulus, ab ca. 60-95 dB SPL vorwiegend auf den Maskierer. Bei 40 dB SPL antwortete das Neuron sowohl auf den Maskierer als auch auf den Probe-Stimulus, allerdings mit einer deutlichen Latenzverschiebung bei der Aktivität in Antwort auf den Maskierer (bei 18A: 38 ms bei 40 dB SPL gegenüber 26 ms bei 60 dB SPL). Beachtenswert in Abb. 18 ist weiterhin die länger andauernde Inhibition nach dem Maskierer, je höher dessen Intensität war. Hier zeigte sich eine Abhängigkeit der Stärke der Inhibition von der Intensität des Maskierers.

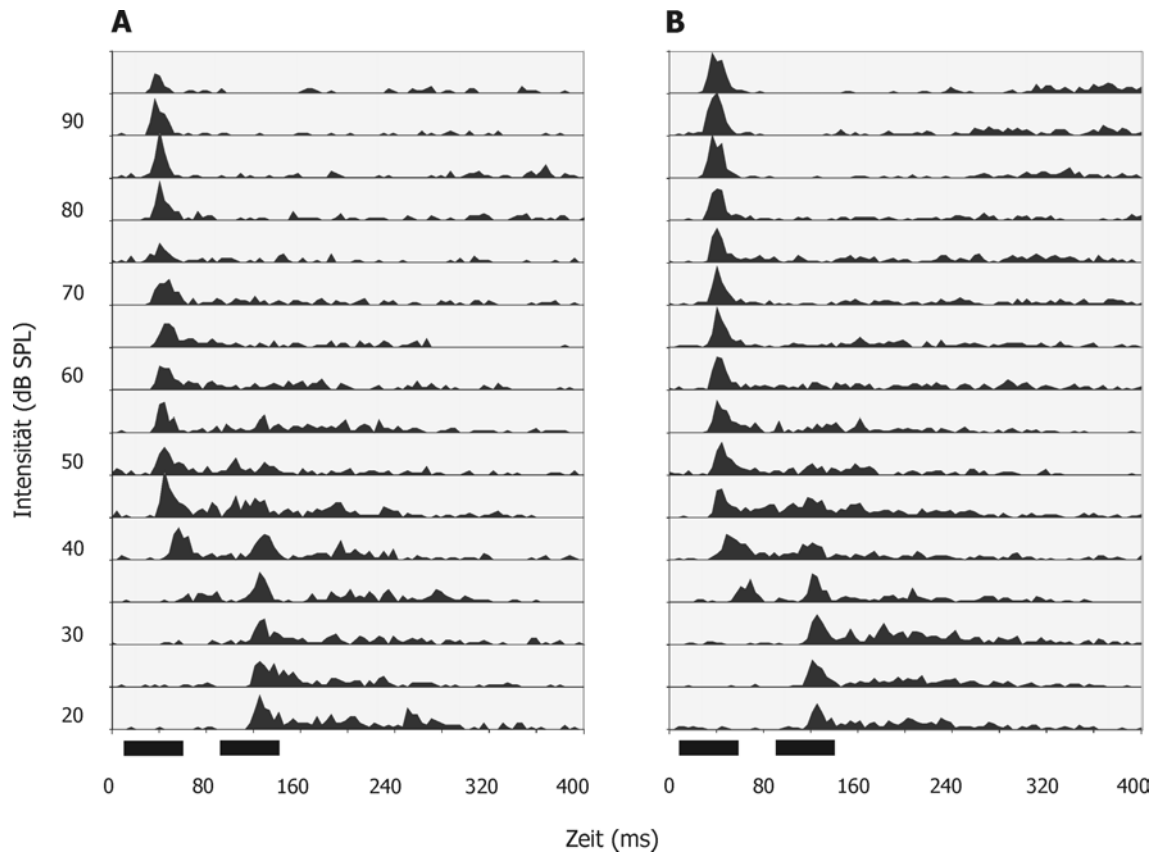


Abb. 19: Erhöhung der Intensität des Maskierers vor (**A**) und während (**B**) der Applikation von BIC. Die Intensität des Maskierers (Beginn bei 10 ms, Dauer: 50 ms, Frequenz: 1,07 kHz) wurde in Schritten von 5 dB erhöht. Der Probe-Stimulus (Beginn bei 90 ms, Dauer: 50 ms) lag unverändert bei 50 dB SPL und 1,07 kHz. Je lauter der Maskierer wurde, umso stärker und länger andauernd wurde die neuronale Aktivität auf den Probe-Stimulus inhibiert. Der Vergleich zwischen der Kontrollmessung vor und während der Applikation von BIC zeigt nur eine Erhöhung der neuronalen Aktivität in Antwort auf die Stimuli (die PSTH Y-Achse für A ist 20, für B 30 Spikes). Jede Box repräsentiert ein PSTH der durchschnittlichen neuronalen Aktivität über 20 Durchläufe. Die schwarzen Balken repräsentieren die Position der Stimuli. Die Binweite ist 4 ms.

In Abb. 20 sind die Spikeraten in Antwort auf den Maskierer und in Antwort auf den Probe-Stimulus in Abhängigkeit von der Intensität des Maskierers aus den Daten von Abb. 19A gezeigt. Die Aktivität auf den Probe-Stimulus nimmt kontinuierlich mit zunehmender Intensität des Maskierers ab. Demgegenüber steht der sprunghafte Anstieg der neuronalen Aktivität auf den Maskierer ab etwa 40 dB SPL. Wird der Probe-Stimulus bei 35 dB SPL des Maskierers noch mit 61 Spikes beantwortet, so reduziert sich die Antwortstärke auf 31 Spikes bei 55 dB SPL Maskiererintensität. Demgegenüber nimmt die Spikerate des Maskierers bei 35 dB SPL von 4 auf 64 Spikes bei 55 dB SPL zu.

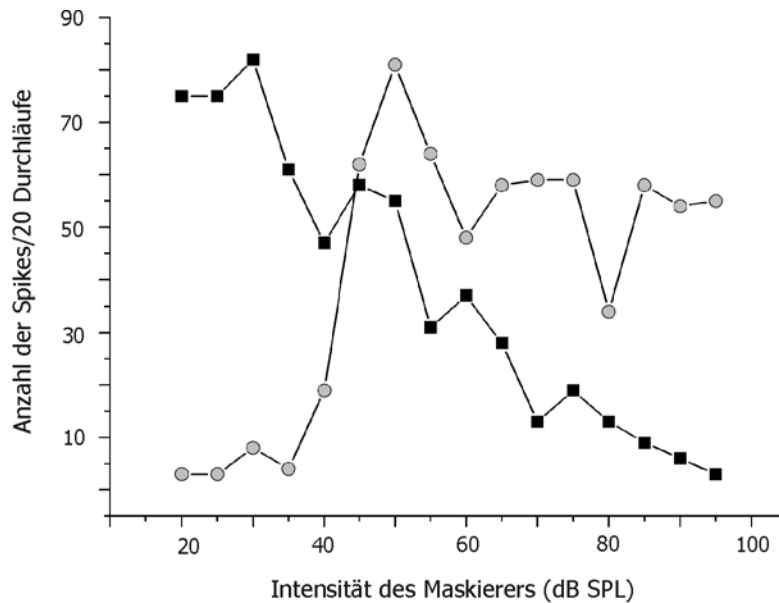


Abb. 20: Spikerate des Neurons aus Abb. 19A auf den Maskierer (graue Kreise) und auf den Probe-Stimulus (schwarze Vierecke). Die Ordinate bezieht sich nur auf die Intensität des Maskierers, der Probe-Stimulus blieb bei 50 dB SPL konstant. Man beachte das kontinuierliche Absinken der Aktivität auf den Probe-Stimulus bei steigender Maskiererintensität und den sprunghaften Anstieg der Aktivität auf den Maskierer ab 40 dB SPL. Das Messfenster für die neuronale Aktivität in Antwort auf den Maskierer lag zwischen 32-80 ms und für den Probe-Stimulus zwischen 112-160 ms.

Da die Schwellensensitivität der MTC, wie unter 4.4 gezeigt, während der Applikation von BIC ansteigt, war es von Interesse festzustellen, ob sich dies auch in den detaillierten Intensitätskennlinien widerspiegelt. Dazu wurde die Aktivität auf den Probe-Stimulus vor und während der Applikation von BIC untersucht (Abb. 21). In beiden Fällen nimmt die neuronale Aktivität mit steigender Intensität des Maskierers kontinuierlich ab, jedoch ist sie während der BIC-Applikation bei niedrigen Maskiererintensitäten höher (siehe Regressionsgeraden in Abb. 21). In den vorhergegangenen Auswertungen wurde als Schwellenkriterium der Inhibition des Probe-Stimulus die Aktivitätsverminderung um 50% verwendet. So werden auch hier in Abb. 20 der Mittelwert der ersten drei Werte berechnet und 50% als Inhibitions-kriterium angesehen (vor Applikation: 39, während: 41). Verbindet man diese Spikerate mit der Regressionsgerade, erhält man die Inhibitionsschwellen von 57 dB SPL vor und 67 dB SPL während der Applikation von BIC. Dies bedeutet, dass es zu einer Inhibition (Aktivitätsreduktion um mindestens 50%) des Probe-Stimulus erst bei einer, um 10 dB höheren Intensität des Maskierers während der BIC-Applikation kommt.

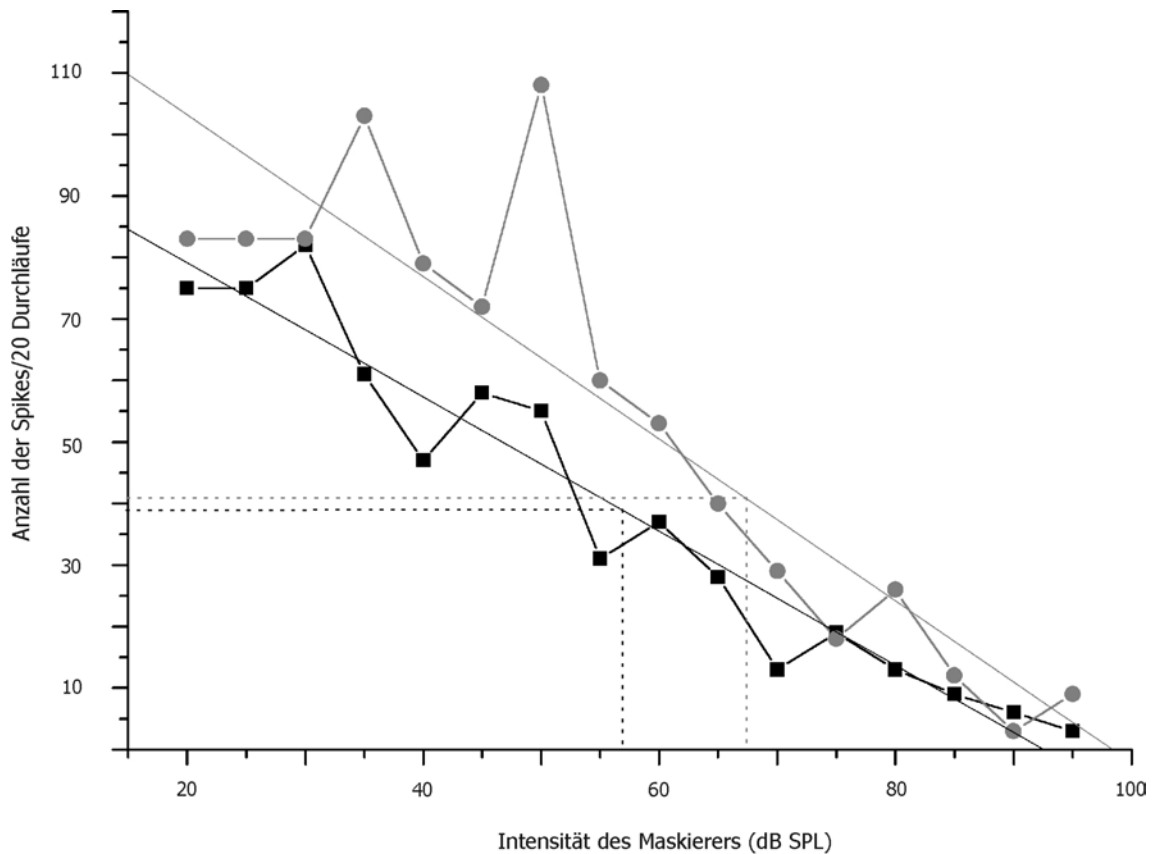


Abb. 21: Absinken der neuronalen Aktivität auf den Probe-Stimulus vor (schwarz) und während (grau) der Applikation von BIC in Abhängigkeit der Intensität des Maskierers. Das Inhibitions-kriterium von 50% der Spikerate wurde jeweils aus den drei ersten Werten errechnet und durch die gestrichelte Linie mit den Regressionsgeraden (durchgezogene Linien) verbunden. Auf die Intensität des Maskierers übertragen zeigt sich vor der Applikation eine Inhibitionsschwelle von 57 dB SPL, während der Applikation steigt sie auf 67 dB SPL an.

Im Beispiel in Abb. 22 kommt es zu einer deutlichen Inhibition der neuronalen Antwort auf den Probe-Stimulus ohne vorherige Aktivierung des Neurons auf den Maskierer. Hier reicht der Intensitätsbereich des Maskierers von 10-80 dB SPL, präsentiert in Schritten von 10 dB. Bei einer Intensität von 10-30 dB SPL antwortet das Neuron mit einer nahezu konstanten Aktivität auf den Probe-Stimulus, bei 40 dB wird die neuronale Antwort stark abgeschwächt, und es kommt zu einer Veränderung im zeitlichen Antwortmuster, obwohl die Intensität des Maskierers noch zu gering ist, um eine neuronale Aktivität hervorzurufen (Pfeil). Erst ab 50 dB SPL kann eine Maskierer-erzogene Aktivität bei gleichzeitiger Inhibition der Antwort auf den Probe-Stimulus beobachtet werden.

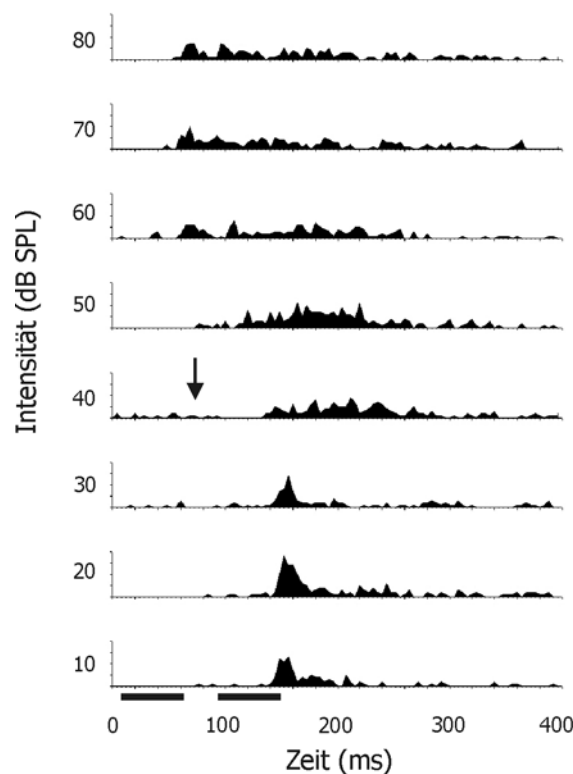


Abb. 22: PST-Histogramme bei ansteigender Intensität des Maskierers bei konstantem Probe-Stimulus (17,10 kHz, 50 dB SPL). Zwischen 10 und 30 dB SPL antwortet das Neuron nur auf den Probe-Stimulus, ab 60 dB SPL vorwiegend auf den Maskierer. Bei 40 dB SPL zeigte sich noch keine Stimulus-evozierte Aktivität auf den Maskierer (Pfeil), es kam dennoch zu einer Inhibition und zeitlichen Verbreiterung der Antwort auf den Probe-Stimulus. Die Binweite der einzelnen PSTH ist 4 ms, die Y-Achse ist 20 Spikes. Die schwarzen Balken repräsentieren die zeitliche Position der Stimuli.

4.8 Veränderung der Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma

Die möglichen Ursachen, die zu einer Beeinflussung der Inhibition der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus führten, müssen im Einzelnen noch diskutiert werden. Eine Möglichkeit wäre, dass durch die exzitatorische Antwort eines Neurons durch den Maskierer die Wahrscheinlichkeit für die nachfolgende Erregung durch den Probe-Stimulus gesunken ist. Wie frühere Arbeiten zeigten, vergrößert sich das exzitatorische Feld während der Applikation von BIC sowohl im spektralen Bereich wie auch bei der Schwellensensitivität (Wang et al. 2000; Chen und Jen 2000; Foeller et al. 2001). Wenn sich die neuronale Aktivität in Antwort auf den Maskierer während der Applikation von BIC im spektralen Bereich verbreitert und die Schwellensensitivität erhöht wird, hätte dies auch einen Einfluss auf die nachfolgende neuronale Antwort auf

den Probe-Stimulus. Deshalb ist es von Interesse, die exzitatorische Aktivität des Neurons in Antwort auf den Maskierer im 2-Ton-Paradigma zu untersuchen.

Die Frequenz-Intensitätskombinationen für den Maskierer im 2-Ton-Paradigma entsprechen den Kombinationen, die bei einer Messung der exzitatorischen TC verwendet werden (siehe 3.3.2). Aus diesem Grund kann ein direkter Vergleich der TC und der exzitatorischen Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma (=TC-2TP), welche der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer entspricht, vor und während der Applikation von BIC angestellt werden.

Zu einer Verschiebung der CF des Neurons kommt es erwartungsgemäß nicht. Bei einem Vergleich der Schwellensensitivität zeigt sich eine Signifikanz zu höheren Schwellenwerten bei der TC-2TP (Wilcoxon-Test: $p = 0,018$) (Abb. 23A). Der Mittelwert der Schwellenwerte liegt bei der TC bei 18,55 dB SPL und wird im Mittel um 26% auf 23,33 dB SPL bei der TC-2TP erhöht. Da die präsentierten Stimuli bei der Messung der TC und der TC-2TP identisch waren, dürften sich keine Veränderung der Schwellensensitivität ergeben. Dagegen kommt es nur zu einer minimalen Erhöhung der Schwellensensitivität der TC-2TP während der Applikation von BIC (Abb. 23B) (Mittelwert der Schwellen vor/während BIC-Applikation: 23,33/21,48 dB SPL; Wilcoxon-Test: $p = 0,28$).

Bei einem Vergleich der Q_{40dB} -Werte der TC und der TC-2TP während der Applikation von BIC wird eine Erniedrigung von 28% beobachtet (Abb. 23C). Die exzitatorische TC im 2-Ton-Paradigma verbreitert sich signifikant während der Applikation von BIC (Wilcoxon-Test: $p=0,028$). Die zwei Ergebnisse, die gleichbleibende Schwellensensitivität und die signifikante Verbreiterung der TC-2TP während der Applikation von BIC stehen im Gegensatz zu den unter 4.4 für die MTC aufgeführten Daten und müssen diskutiert werden.

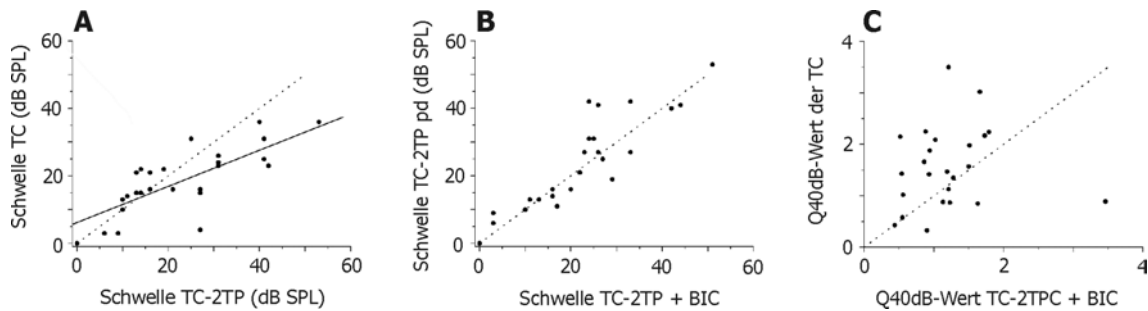


Abb. 23: **A:** Vergleich der Schwellenwerte der TC und der TC im 2-Ton-Paradigma (TC-2TP). Eine signifikante Erhöhung der Schwellenwerte bei der TC-2TP ist zu beobachten (Wilcoxon-Test: $p=0,018$) (Regressionsgerade = durchgezogene Linie; $n=27$). **B:** Während der Applikation von BIC kommt es zu keiner Veränderung der Schwellensensitivität der TC-2TP ($n=27$) im Vergleich zur TC-2TP vor der Applikation. **C:** Vergleich der Q_{40dB} -Werte der TC und der TC-2TP während der BIC-Applikation. Es kann eine signifikante Erniedrigung der Q_{40dB} -Werte festgestellt werden (Wilcoxon-Test: $p=0,028$; $n=24$). Dies bedeutet, dass sich das exzitatorische Feld des Neurons während der BIC-Applikation verbreitert. Die gestrichelten Linien zeigen die jeweilige Äquivalenzen an.

In Abb. 24 ist ein Beispiel für die Verbreiterung der TC im 2-Ton-Paradigma während der BIC-Applikation gezeigt (graue Linien in A, B1 und C1). Das Beispiel zeigt weiterhin eine Inhibition des Probe-Stimulus, ohne dass es zu einer neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer kommt (siehe auch Abb. 21). Das Neuron zeigte eine exzitatorische TC (Oben) mit einem nicht-monotonem Antwortverhalten, deren Q_{40dB} -Wert bei 4,15 liegt. Der Bereich der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer bei der Präsentation des 2-Ton-Paradigma (B1, grau umrandet) verändert sich gegenüber der TC nur minimal. Ein Vergleich mit der MTC zeigt, dass es besonders im niederfrequenten Bereich bei hohen Intensitäten zu einer deutlichen Inhibition des Probe-Stimulus kommt (B2, siehe auch Abb. 12B). Während der Applikation von BIC verbreitert sich die TC im 2-Ton-Paradigma (C1) sowohl im nieder- wie im hochfrequenten Bereich (Q_{40dB} -Wert: 1,02). Auch die MTC während der BIC-Applikation (C2) zeigt eine Verbreiterung (Q_{40dB} -Wert vor/während BIC-Applikation: 1,85/1,21).

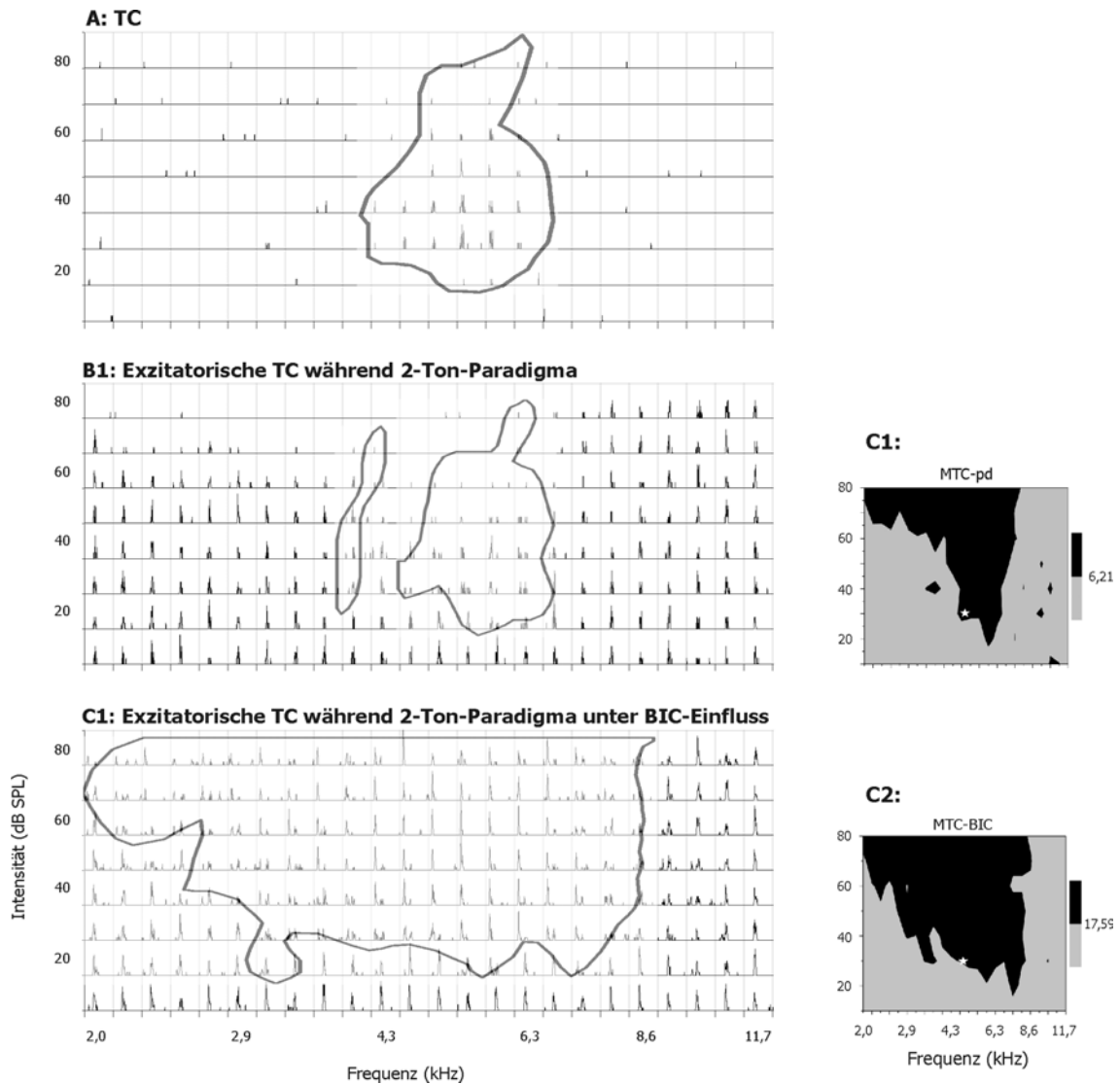


Abb. 24: Vergleich der PSTH einer exzitatorischen TC (**A**) und der Präsentation des 2-Ton-Paradigmas vor (**B1**) und während der Applikation von BIC (**C1**). Grau umrandet sind bei B1 und C1 die Bereiche, bei denen es zu einer neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer im 2-Ton Paradigma kommt. Unter **B2** und **C2** sind die dazugehörigen MTC zu sehen. Die TC-2TP hat sich vor der BIC-Applikation nur unwesentlich verändert, zeigt aber während der Applikation einen deutliche Größenzunahme. Ebenso verbreitert sich die MTC (C1 zu C2). Man beachte unter B1, dass eine exzitatorische Aktivität in Antwort auf den Maskierer nicht nötig ist, um den Probe-Stimulus zu inhibieren. Die Aufnahmedauer der PSTH betrug 400 ms, die Binweite 4 ms und die RP 800 ms. Die Frequenz und die Intensität des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma lagen bei 5,44 kHz und 30 dB SPL. Details zu B2 und C2 siehe Abb. 13B.

Die Verbreiterung des exzitatorischen rezeptiven Feldes während der Applikation von BIC (siehe Abb. 23C), zeigt sich auch hier wieder. Bei einem Vergleich der exzitatorischen TC im 2-Ton-Paradigma (Abb. 24C1) mit der MTC während der BIC-Applikation (Abb. 24C2) kann eine deutliche Übereinstimmungen in den

Kurvenverläufen ($Q_{40\text{dB}}$ -Werte während BIC-Applikation: TC-2TC: 1,02, MTC: 1,21) beobachtet werden. Es wäre denkbar, dass die MTC, also die Maskierbereiche des Probe-Stimulus, explizit während der Aufhebung der GABA_A -ergen Inhibition durch BIC an die exzitatorische neuronale Aktivität in Antwort auf den Maskierer gekoppelt ist. Um dies zeigen zu können, musste man die $Q_{40\text{dB}}$ -Werte der MTC unter BIC-Einfluss mit den $Q_{40\text{dB}}$ -Werten der TC im 2-Ton-Paradigma während BIC-Applikation vergleichen. Wie in Abb. 25 dargestellt, bleiben die Werte während der Applikation von BIC (graue Vierecke) relativ konstant. Im Mittel liegen sie für die MTC-BIC bei 1,14, für die TC-2TP während der BIC-Applikation bei 1,21. Dies bedeutet, dass die TC-2TP *während* der BIC-Applikation (siehe Abb. 23C) in gleichem Maße in der Bandbreite zugenommen hat wie die MTC.

Weiter ist in Abb. 25 der Vergleich der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte der TC-2TP und der MTC *vor* der BIC-Applikation dargestellt (schwarze Punkte). Es zeigen sich im Vergleich zur TC-2TP (im Mittel 1,10) höhere $Q_{40\text{dB}}$ -Werte für die MTC (im Mittel 1,36). Dies bedeutet, dass die MTC eine geringere Bandbreite als die exzitatorische TC im 2-Ton-Paradigma *vor* der Applikation von BIC aufweist. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit dem Vergleich der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte der MTC vor und während der Applikation von BIC (siehe Abb. 14A).

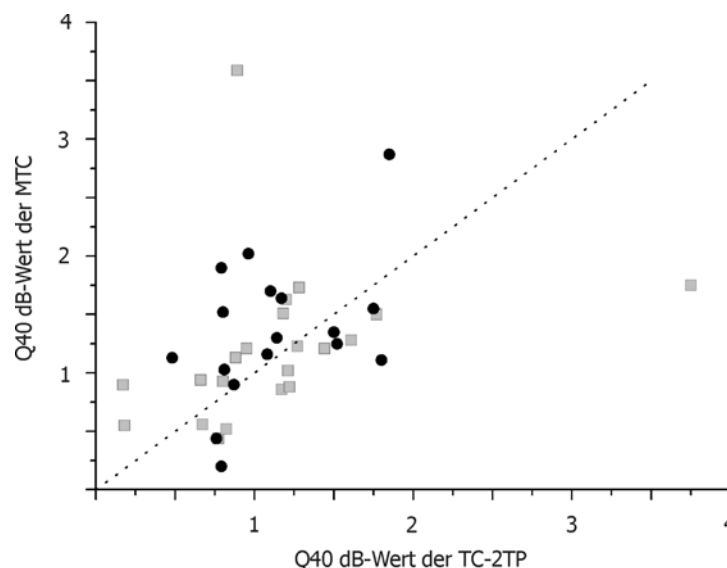


Abb. 25: Vergleich der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte der exzitatorischen TC-2TP und der MTC vor (schwarze Kreise, $n=17$) und während (graue Vierecke, $n=21$) der Applikation von BIC. Es kann eine Verkleinerung der Bandbreite *vor* der Applikation beobachtet werden. *Während* der Applikation zeigt sich keine Veränderung zwischen der exzitatorischen TC-2TP und der MTC. Die gestrichelte Linie zeigt die $Q_{40\text{dB}}$ -Äquivalenz an.

4.9 Veränderung des Inter-Stimulus-Intervall

Brosch und Schreiner (1997) konnten zeigen, dass die Dauer der Inhibition im Anschluss an die Präsentation des Maskierers abhängig von der gewählten Frequenz des Maskierers war. Die Dauer sank im Mittel auf 44 ms bei einer Verschiebung der Frequenz des Maskierers gegenüber der CF des Neurons um eine Oktave. Aus diesem Grund wurde hier bei der Messung der MTC ein ISI von 30 ms verwendet, um auszuschließen, dass der Probe-Stimulus außerhalb des Maskierbereichs lag. Bei einer Maskierfrequenz, die an der CF lag, war die Inhibitionsdauer nach Brosch und Schreiner (1997) am ausgeprägtesten (Mittelwert: 143 ± 71 ms). Demzufolge war es von Interesse, die Inhibition im temporalen Kontext bei gleicher Frequenz und Intensität des Maskierers und des Probe-Stimulus an der CF des Neurons zu beobachten.

Um dies zu untersuchen, wurden, wie unter 3.3.3 dargestellt, Maskierer und Probe-Stimulus mit unterschiedlichen zeitlichen Abständen zwischen den Stimuli (ISI) präsentiert. Die neuronale Aktivität in diesem Stimulusparadigma wurde bei elf Neuronen vor und während der Applikation von BIC und/oder CGP gemessen. Eine Auswertung über alle Neurone hinweg war nicht möglich, da das Antwortverhalten der einzelnen Neurone zu variabel war.

Ein Beispiel ist in Abb. 26 gezeigt, bei dem die neuronale Aktivität bei den ISI von 30, 90, 180, 360 und 660 ms gemessen wurde. Des Weiteren wurde Einfluss der Neuropharmaka vor und während der Applikation von CGP und BIC beobachtet.

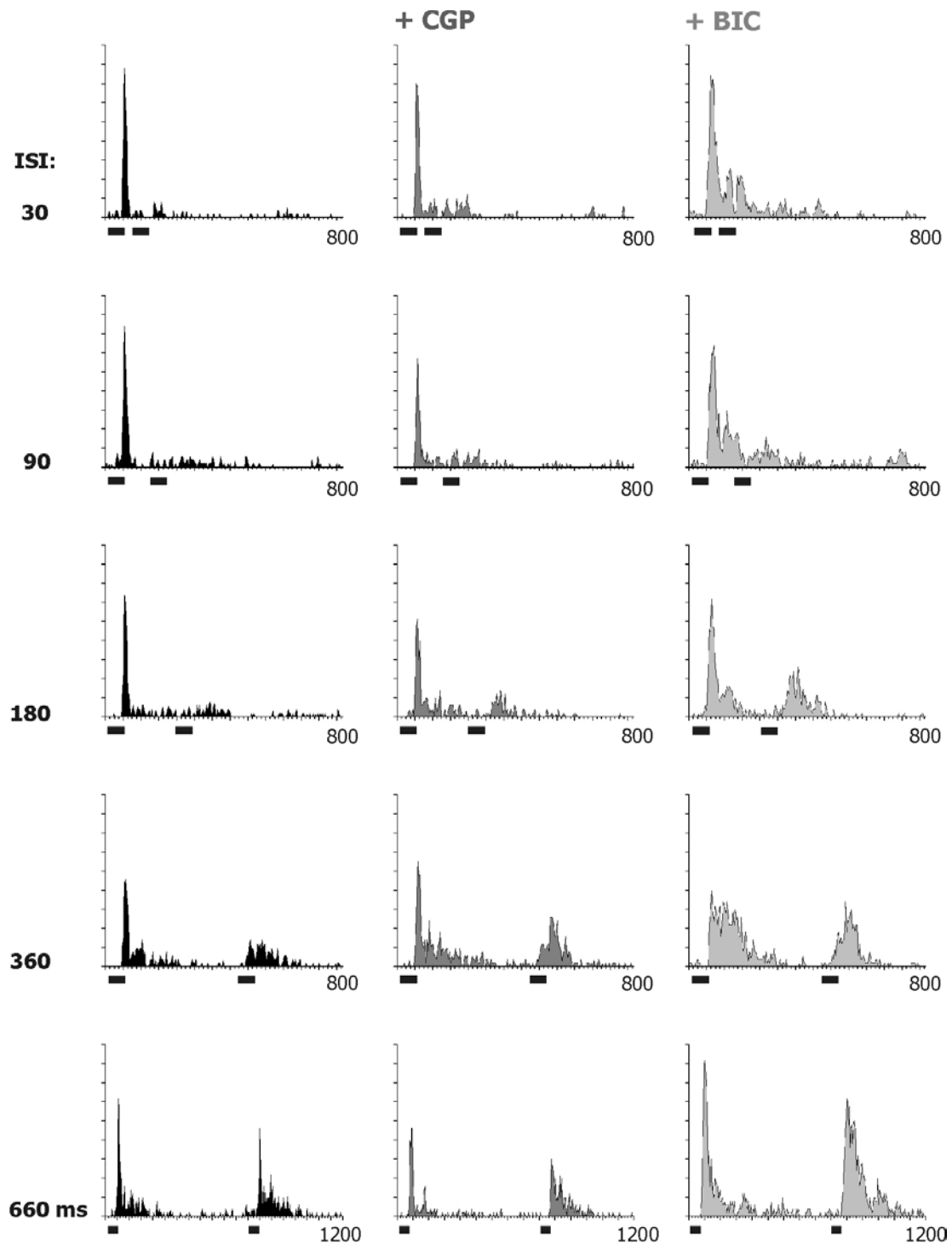


Abb. 26.: PST-Histogramme eines Neurons bei unterschiedlichen ISI (30-660 ms) vor (schwarz, linke Reihe) und während der Applikation von CGP (dunkelgrau, mitte) und BIC (grau, rechte Reihe). Bei der Kontrollmessung zeigt sich erst ab einem ISI von 360 ms eine deutliche Antwort auf den Probe-Stimulus. Während der CGP-Applikation zeichnet sich bereits ab einem ISI von 180 ms eine reizkorrelierte Aktivität ab. Unter BIC-Einwirkung zeigt sich eine evozierte Aktivität auf den Probe-Stimulus ab 90 ms. Die schwarzen Balken zeigen die Position der Stimuli (18,85 kHz/50 dB SPL) an. Die Aufnahmedauer betrug bei den ISI von 30-360 ms 800 ms, bei einem ISI von 660 ms wurde sie auf 1200 ms erhöht. Die Binweite ist 4 ms, die Y-Achsen 45 Spikes.

Man beachte, dass die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus bei der Kontrolle und während der CGP-Applikation erst bei einem ISI von 660 ms dem Niveau der Antwortstärke auf den Maskierer entspricht. Die Antwort auf die einzelnen Stimuli ist vor und während der Iontophorese deutlich unterschiedlich. Zeigt das Neuron bei der Kontrolle und während der Applikation von CGP noch ein kurzes Antwortmuster, ändert sich dies unter BIC-Einfluss zu einer länger andauernden Aktivität. Betrachtet man die Antworten auf den Probe-Stimulus bei der Kontrolle, zeigt sich bei einem ISI von 360 ms eine eindeutige Stimulus-evozierte Antwort. Bei der Applikation von CGP ist eine Antwort spätestens bei einem ISI von 180 ms zu beobachten, während der Applikation von BIC ist bereits bei einem ISI von 90 ms eine neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus zu erkennen. Bei einem ISI von 30 ms besteht die Schwierigkeit, dass eine Trennung der neuronalen Antworten auf den Maskierer gegenüber dem Probe-Stimulus nur schwer vorzunehmen ist, da es vor allem unter BIC-Einwirkung zu lang andauernden Antworten kam.

Das Beispiel in Abb. 27 zeigt die neuronale Aktivität bei den ISI von 30, 90, 180, 360 und 720 ms vor und während der Applikation von CGP und BIC. Die Wirkung der neuropharmakologischen Applikation zeigt sich in einer Erhöhung der neuronalen Gesamtaktivität (berechnet bei einem ISI von 90 ms) über den gesamten Aufnahmebereich während der CGP-Applikation um 183%, während der Applikation von BIC um 357%. Ein Unterschied der neuronalen Aktivität im zeitlichen Kontext ist zwischen der Kontrolle und während der CGP-Applikation nicht auszumachen. Unter BIC-Einfluss erreichte die Aktivität auf den zweiten Stimulus bereits bei einem ISI von 90 ms die des ersten. Bei der Kontrollmessung und während der Applikation von CGP zeigt sich dies erst bei einem ISI von 360 ms. Auch hier kann man aufgrund des länger andauernden Antwortmusters während der Applikation von BIC bei einem ISI von 30 ms nicht eindeutig zwischen der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer und den Probe-Stimulus unterscheiden, so dass es offen bleiben muss, ob es auch hier schon zu einer Aufhebung möglicher inhibitorischer Mechanismen kommt.

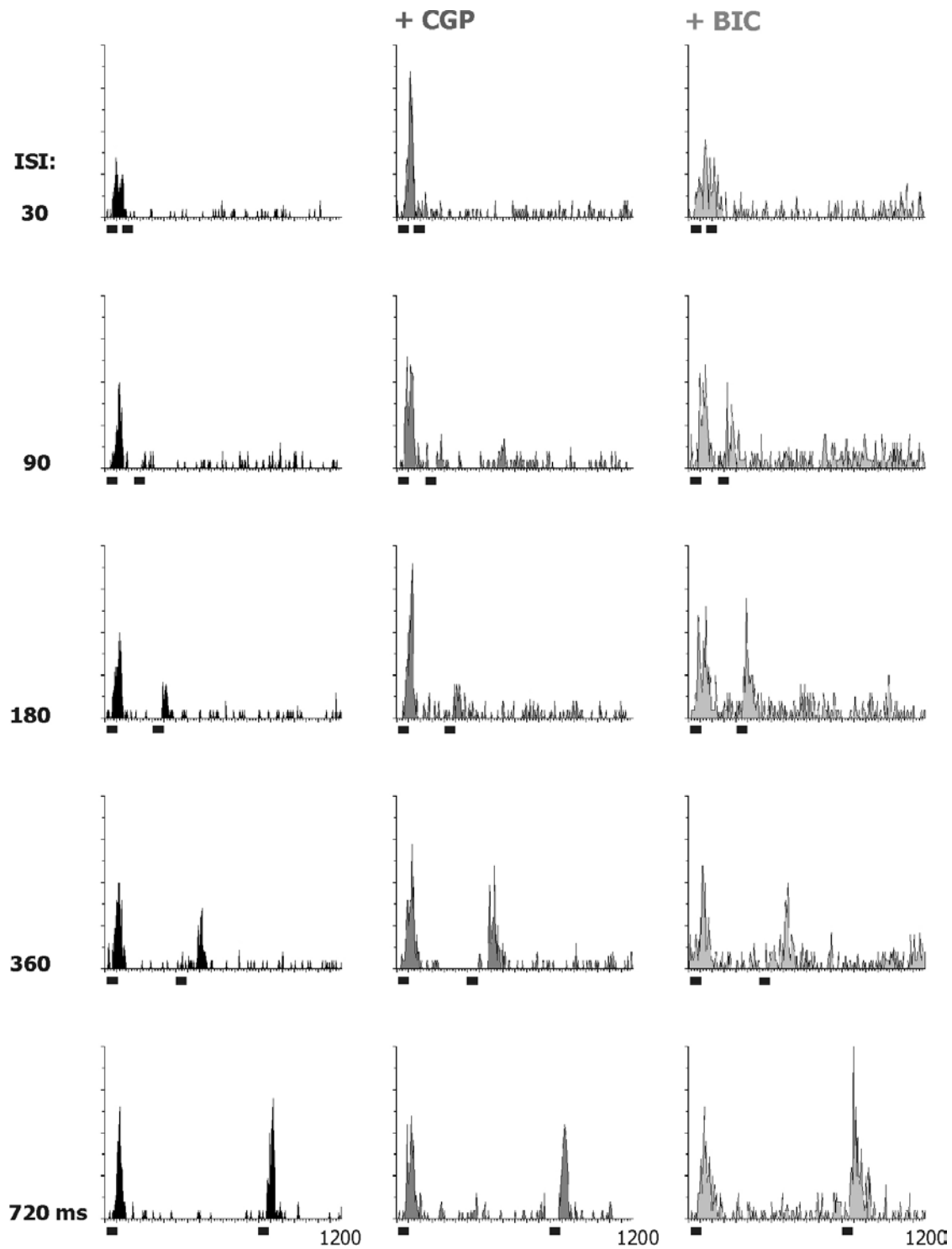


Abb. 27: PST-Histogramme eines Neurons bei unterschiedlichen ISI (30-720 ms) vor (schwarz, linke Reihe) und während der Applikation von CGP (dunkelgrau, mitte) und BIC (grau, rechte Reihe). Während der BIC-Applikation nimmt die Antwortstärke auf den Probe-Stimulus schon bei kürzeren ISI zu und erreicht das Niveau der Aktivität als Antwort auf den Maskierer bereits bei einem ISI von 90 ms. Die Aufnahmezeit betrug 1200 ms, die Binweite ist 4 ms, die Y-Achse bei allen PSTH ist 20 Spikes. Die schwarzen Balken zeigen die Position der Stimuli an (6,26 kHz, 40 dB SPL).

Ein Problem der Auswertung der neuronalen Aktivität bei der Veränderung der ISI über alle Neurone ist das Schwellenkriterium. Bei genauer Betrachtung der „peri-stimulus-time-histograms“ (PSTH) in Abb. 27 für das ISI von 90 ms erkennt man auch bei der Kontrolle eine durch den Probe-Stimulus-evozierte neuronale Aktivität. Aus diesem Grund wurden alle elf Neurone in Abb. 28 individuell unterschieden. Dazu wird in Abb. 28A das Schwellenkriterium der MTC verwendet. Als nicht mehr einer Inhibition unterliegend wird das ISI betrachtet, bei dem die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus mindestens 50% der Aktivität auf den Maskierer erreicht hat.

Bei einem Vergleich der Kontrolle gegenüber BIC zeigt sich dies bei vier von acht Neuronen bei kürzeren ISI (Neuron 3,7,9 und 11). Bei zwei Neuronen wurde das Schwellenkriterium erst bei einem größeren Abstand zwischen Maskierer und Probe-Stimulus erreicht (Neuron 1 und 5). Vergleicht man die Kontrolle mit den CGP-Werten, kann nur bei einem Neuron eine Aufhebung der Inhibition bei kürzerem ISI beobachtet werden (Neuron 2).

Eine Erhöhung der Aktivität auf den Probe-Stimulus durch die Applikation von BIC/CGP würde auch zu einem Erreichen des Schwellenkriteriums von 50% bei kürzeren ISI führen. Aus diesem Grund war es von Interesse, bei welchen ISI das Neuron auf den Probe-Stimulus antwortete. Dazu wird unter Abb. 28B ein rein visuelles Schwellenkriterium gesetzt und beobachtet, ab welchem ISI es, unabhängig von der Gesamtaktivität, zu einer Probe-Stimulus-evozierten neuronalen Aktivität kommt.

Es zeigt sich bei einem Vergleich der Kontrolle mit BIC, dass bei drei von acht Neuronen eine neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus bei kürzeren ISI während der Applikation von BIC zu beobachten ist (Neuron 5, 9 und 11). Während der CGP-Applikation kann nur einmal eine neuronale Aktivität bei kürzeren ISI gezeigt werden (Neuron 9). Bei acht der elf Neurone kommt es zu einer Probe-Stimulus-evozierten Aktivität bei identischen ISI.

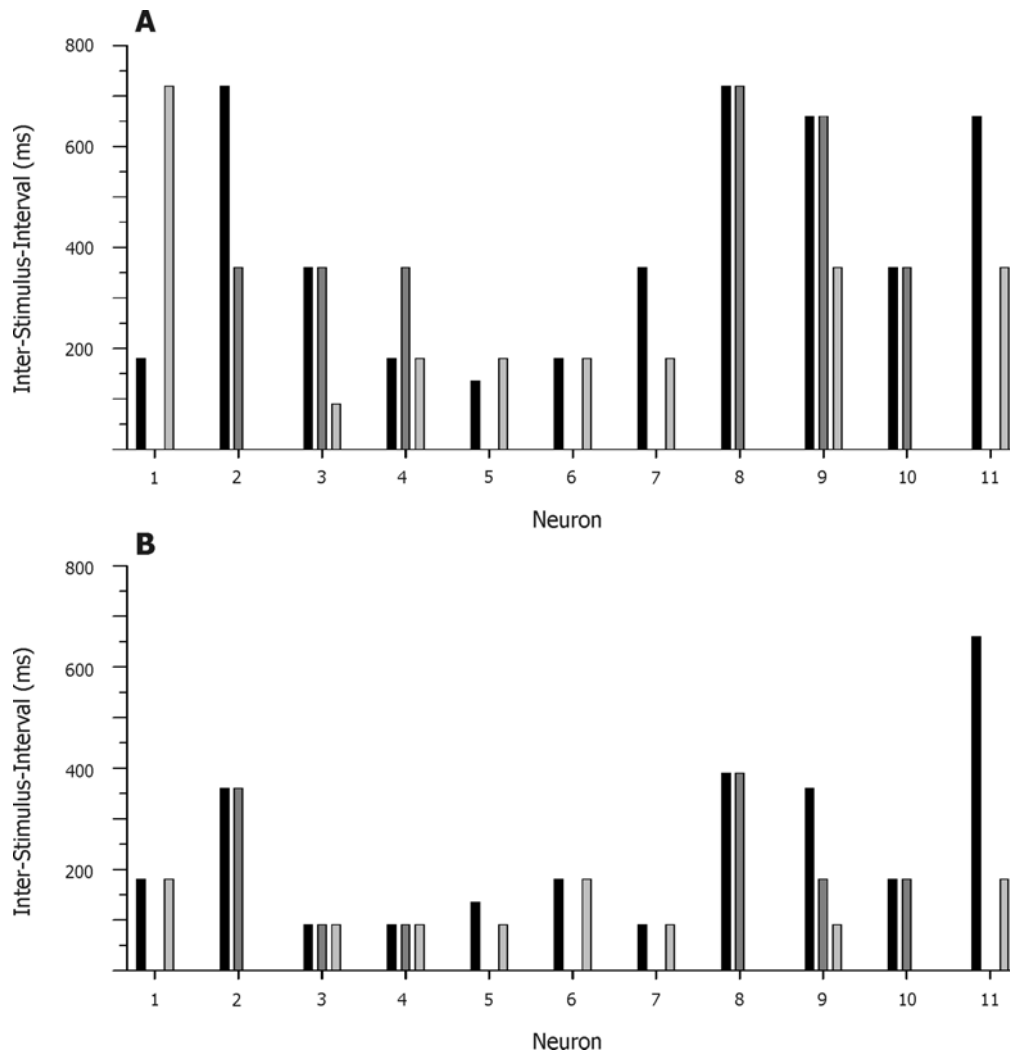


Abb. 28: **A:** Gezeigt ist bei elf Neuronen das ISI, bei dem die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus das Schwellenkriterium von mindestens 50% der neuronalen Aktivität auf den Maskierer erreicht hat. Das ISI ist für jedes Neuron vor (schwarze Balken) und während der Applikation von CGP (dunkelgraue Balken) und BIC (graue Balken) aufgetragen. **B:** Es wurde das ISI verzeichnet, bei dem eine visuell erkennbare neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus beobachtet wurde (Farbgebung wie unter A) (Neuron 9 siehe Abb. 26; Neuron 3 siehe Abb. 27).

5. Diskussion

5.1 Methodische Überlegungen

5.1.1 Anästhesie

Die in dieser Arbeit dargestellten Versuche wurden an Ketamin-anästhesierten Tieren durchgeführt. Es handelt sich bei dem Hypnoanalgetikum Ketaminhydrochlorid um einen nicht-kompetitiven NMDA-Antagonisten (Liu et al. 2001). Auf das häufig verwendete Anästhetikum Pentobarbital wurde verzichtet, da die Bindung von Barbituraten an GABA_A-Rezeptoren eine Verlängerung der mittleren Kanalöffnungszeiten bewirkt (Steinbach und Akk 2001) und dadurch eventuell die Wirkung des hier verwendeten GABA_A-Antagonisten Bicucullin (BIC) beeinflusst hätte. Bei einem Vergleich von wachen und anästhesierten Wüstenrennmäusen (Ketamin-Xylazinhydrochlorid-Narkose) konnte eine signifikante Erhöhung der Schwellenwerte während der Betäubung gezeigt werden (Bereiche: wach: -10-30 dB SPL; anästhesiert: 10-50 dB SPL; Schulze & Langner 1997). In Bezug auf die Maskierung im 2-Ton-Paradigma wäre es sicher von Vorteil gewesen, beim wachen Tier eine elektrophysiologische Ableitung durchzuführen. Ein Versuch im Rahmen dieser Arbeit scheiterte jedoch an der Vielzahl von Störungen, die durch die Bewegungen des Tieres hervorgerufen wurden. Da die Präsentation der Teststimuli zwischen 75 und 120 min in Anspruch nahm, konnte keine störungsfreie Ableitung durchgeführt werden.

Creutzfeldt et al. (1980) konnten auch am wachen Meerschweinchen im Thalamus und im auditorischen Kortex eine Maskierung im 2-Ton-Paradigma beobachten. Dadurch kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei dem Phänomen der 2-Ton-Maskierung um ein Betäubungsartefakt handelt.

Weiter wurden bei Vergleichen der Maskierbereiche zwischen Pentobarbital und Ketamin-anästhesierten Tieren keine Unterschiede festgestellt (Calford und Semple 1995; Brosch und Schreiner 1997). Dies zeigt, dass die Betäubung nur geringen Einfluss auf die hier untersuchten Maskierungsphänomene haben kann, da beide Neuropharmaka die neuronale Aktivität unterschiedlich modulieren.

5.1.2 Lage des Probe-Stimulus

Wie unter 3.3.2 beschrieben, wurde der Probe-Stimulus „online“ an die charakteristische Frequenz (CF) des Neurons und 20 dB über die Schwelle gelegt. Bei einer präzisen „offline“-Analyse nach dem Versuch wurde die exakte CF und Schwellensensitivität bestimmt. Bei einigen Messreihen konnte die gewählte Frequenz des Probe-Stimulus auch im Bereich der nieder- bzw. hochfrequenten Flanke der TC liegen. Ebenso betrug die Intensität des Probe-Stimulus mitunter mehr als die geplanten 20 dB über der Schwellensensitivität des Neurons. Eine Arbeit von Calford und Semple (1995) zeigte, dass es bei der Verschiebung des Probe-Stimulus in der Frequenz und der Intensität auch zu einer Verschiebung der MTC gekommen war, jedoch wurde immer eine Inhibition der neuronalen Aktivität im Bereich des Probe-Stimulus beobachtet. Dies bedeutet, dass die Lage des Probe-Stimulus bezüglich seiner Frequenz und Intensität, natürlich nur sofern er innerhalb des rezeptiven Feldes des Neuron lag, nicht relevant für die hier gezeigten Untersuchungen war, da der einmal gewählte Probe-Stimulus vor und während der Applikation der Neuropharmaka konstant blieb.

5.1.3 Wahl des Inter-Stimulus-Intervalls

Eine wichtige Eigenschaft der Vorwärtsmaskierung ist die Dauer der Inhibition. Der hier verwendete Abstand zwischen dem Maskierer und dem Probe-Stimulus variierte nicht bei den Messungen der MTC vor und während der Applikation von BIC und wurde auf 30 ms festgelegt. Dieses Intervall erwies sich aufgrund von eigenen Vorversuchen und den Ergebnissen von Brosch und Schreiner (1997) als adäquat, da es kurz genug war, um den Maskierungseffekt noch zu zeigen. In der Studie von Brosch und Schreiner (1997) wurde festgestellt, dass die Dauer der Inhibition abhängig von der Frequenz des Maskierers war. Im Durchschnitt lag sie im A1 der Katze bei 143 ± 71 ms. Bei einer Verschiebung der Frequenz des Maskierers um eine Oktave unterhalb der CF betrug die Inhibitionsdauer nur noch 44 ms (Abb. 29). Wollte man also den Maskierungsbereich im spektralen Kontext, d.h., den unterschiedlichen Einfluss der Maskierfrequenz auf die Maskierung des Probe-Stimulus vor und während der Applikation von BIC und/oder CGP untersuchen, wie dies hier geschehen ist, musste ein kurzes Inter-Stimulus-Intervall (ISI) verwendet werden. Bei einem längeren ISI wären nur die Probe-Stimuli inhibiert worden, bei denen der vorher präsentierte Maskierer im Bereich der CF gelegen hätte.

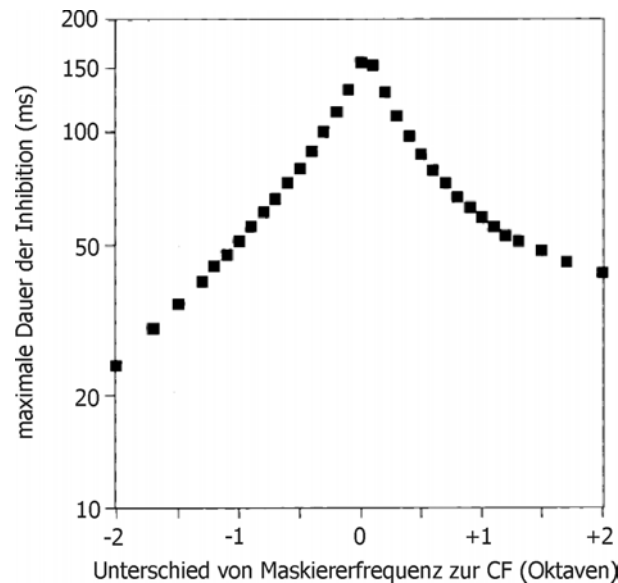


Abb. 29: Abhängigkeit der Dauer der Inhibition im 2-Ton-Paradigma von der Frequenz des Maskierers (nach Brosch und Schreiner 1997).

Bei den hier gezeigten Versuchen, bei denen das ISI verändert wurde (siehe 4.9), blieb die Frequenz und Intensität des Maskierers und des Probe-Stimulus konstant und wurde auf die CF des Neurons gelegt. Die Dauer der Inhibition auf den Maskierer war bei jedem Neuron individuell unterschiedlich. So lag bei Neuronen im A1 der Katze der Bereich des ISI, bei dem ein Maskierungseffekt gezeigt werden konnte, zwischen 53-430 ms (Brosch und Schreiner 1997). Bei der Messung eines Neurons bei variierendem ISI aber blieb der Zeitbereich der Maskierung konstant. So war es möglich, einen Vergleich im temporalen Kontext der 2-Ton-Maskierung vor und während der Applikation der Neuropharmaka zu untersuchen.

Das Problem, das sich bei dieser Versuchsanordnung ergab, war die Trennung der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer von der Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus bei einem ISI von 30 ms.

5.2 Die 2-Ton-Maskierung

Um das Phänomen der 2-Ton-Maskierung zu verstehen, muss man die Unterschiede der simultanen 2-Ton-Suppression, der nicht-simultanen 2-Ton-Maskierung auf der Ebene des auditorischen Nerven und der 2-Ton-Maskierung auf höheren Ebenen der Hörbahn betrachten.

Bei der simultanen 2-Ton-Suppression werden der Maskierer mit variierenden Frequenzen und Intensitäten und ein konstanter Probe-Stimulus an der CF des Neurons gleichzeitig präsentiert. Auf der Ebene des auditorischen Nervs zeigte sich, dass eine Maskierung des Probe-Stimulus nicht von einer neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer abhängig ist (Harris und Dallos 1979). Die Maskierfrequenzen, die zu einer Maskierung des Probe-Stimulus führten, lagen an den nieder- und hochfrequenten Flanken der exzitatorischen Tuningkurve, aber nicht zwangsläufig innerhalb des rezeptiven Feldes des Neurons. Für die simultane 2-Ton-Suppression in der Cochlea konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Suppression auf den Probe-Stimulus stärker war, wenn die Frequenz des Maskierers tiefer war als die CF (Ruggero et al. 1992).

Bei der nicht-simultanen 2-Ton-Maskierung (zeitlicher Abstand zwischen Maskierer und Probe-Stimulus) im auditorischen Nerv konnte beobachtet werden, dass nur wenn der Maskierer im rezeptiven Feld des Neurons lag, die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus inhibiert wurde (Harris und Dallos 1979). Weiterhin ist die Maskierung des Probe-Stimulus in ihrem Ausmaß abhängig von der Stärke der exzitatorischen Aktivität in Antwort auf den Maskierer, unabhängig von der absoluten Frequenz und der Intensität des Maskierers (Harris und Dallos 1979). Dies bedeutet, dass das Ausmaß der Maskierung des Probe-Stimulus bei unterschiedlichen Maskierfrequenzen gleich blieb, sofern die exzitatorische Aktivität auf den Maskierer gleich stark war. Es konnte festgestellt werden, dass die Dauer der Inhibition im auditorischen Nerv abhängig ist von der Spontanaktivität der Neurone (Relkin und Doucet 1991). Je niedriger die Spontanaktivität war, desto länger war die Dauer der Inhibition. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass den Phänomenen der simultanen 2-Ton-Suppression und der nicht-simultanen 2-Ton-Maskierung im auditorischen Nerv unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen. Die simultane 2-Ton-Suppression unterliegt vermutlich einer mechanischen Suppression auf der Ebene der Basilarmembran. Eine nicht simultane 2-Ton-Maskierung ist eng an die exzitatorische neuronale Aktivität des Maskierers im rezeptiven Feld gekoppelt. Dies deutet eher auf einen „recovery“-Effekt, eine Erholungsphase des Neurons hin. Die unterschiedliche Dauer der Inhibition bei Neuronen mit hoher bzw. niedriger Spontanrate (Relkin und Doucet 1991) würden dadurch erklärt werden.

Anders zeigt sich dagegen das Phänomen der nicht-simultanen 2-Ton-Maskierung auf höheren Ebenen der Hörbahn. Allgemein kann hier beobachtet werden, dass auch Frequenzen des Maskierers, die außerhalb des rezeptiven Feldes liegen, die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus innerhalb des rezeptiven Feldes inhibieren können. Dies wurde bereits in einer Vielzahl von Studien bei verschiedenen Spezies und auf unterschiedlichen Stufen der Hörbahn beschrieben (DCN (Goldhamster): Kaltenbach et al. 1993) (AVCN (Wüstenrennmaus): Kopp-Scheinpflug et al. 2002) (MGB (Meerschweinchen): Schreiner 1981) (A1 (Katze): Calford & Semple 1995) (A1 (Katze): Brosch und Schreiner 1997) (A1 (Katze): Sutter et al. 1999) (AC (Katze): Sutter und Loftus 2003 (im Druck)). Weiterhin ist es nicht nötig, dass das Neuron eine exzitatorische Aktivität in Antwort auf den Maskierer zeigt, um den Probe-Stimulus zu inhibieren (siehe Abb. 23). Demnach müssen andere Mechanismen als im Hörnerv für die Maskierung des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma auf höheren Ebenen der Hörbahn verantwortlich sein.

5.3 GABA_A als Ursache für die 2-Ton-Maskierung?

Das Ausmaß der Maskierbereiche im 2-Ton-Paradigma ist im auditorischen Kortex in etwa äquivalent zur Ausdehnung der exzitatorischen TC in ihrem Spektral- und Intensitätsbereich während der Applikation von BIC (Wang et al. 2000; Chen und Jen 2000; Foeller et al. 2001). Dies führte zu der Vermutung, dass die inhibitorischen Seitenbänder, die im Rahmen der 2-Ton-Reizung erfasst werden, durch GABAerge Prozesse im Kortex zustande kommen. Im Folgenden sollen die einzelnen Ergebnisse im Hinblick auf die zugrunde liegenden Mechanismen diskutiert werden.

5.3.1 Die exzitatorische TC im 2-Ton-Paradigma I: die spektrale Komponente

Aufgrund der Frequenz-Intensitätskombinationen, die bei der Messung einer exzitatorischen TC verwendet wurden, sowie den identischen Kombinationen des Maskierers im 2-Ton-Paradigma konnte ein direkter Vergleich der exzitatorischen Aktivität in Antwort auf den Einzelton mit der exzitatorischen Aktivität auf den Maskierer im 2-Ton-Paradigma angestellt werden.

Die hier präsentierten Daten zeigen eine signifikante Abnahme der Q_{40dB} -Werte während der Applikation von BIC und somit eine Verbreiterung der rezeptiven Felder im Rahmen des 2-Ton-Paradigmas (siehe Schema Abb. 30A und B). Es wurde bereits in einer Vielzahl von Studien auf verschiedenen Stufen des auditorischen Systems

beschrieben, dass exzitatorische Tuningkurven einer GABAergen Inhibition unterliegen (z.B.: DCN (Ratte): Yajima und Hayashi (1990); IC (Fledermaus): Vater et al. (1992); MGB (Fledermaus): Suga et al. (1997); Kortex Analog beim Vogel: Müller und Scheich (1988); A1: Chinchilla: Wang et al. (2000); Fledermaus: Chen und Jen (2000); Wüstenrennmaus: Foeller et al. (2001)).

Es konnte hier gezeigt werden, dass während der Applikation von BIC die Q_{40dB} -Werte der exzitatorischen TC im 2-Ton-Paradigma (TC-2TP-BIC) und der Maskierbereich des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma (MTC-BIC) eine deutliche Übereinstimmung aufweisen (siehe Abb. 24 und Schema in Abb. 30B und C). Die Vermutung liegt nahe, dass die Verbreiterung der MTC an die Verbreiterung der exzitatorischen TC gekoppelt ist. Dies bedeutet, dass *während* der Applikation von BIC die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus durch die exzitatorische Aktivität in Antwort auf den Maskierer inhibiert wird, wie das auf der Ebene des auditorischen Nervs gezeigt wurde (siehe 5.2; Harris und Dallos 1979). Dem widerspricht, dass *vor* der Applikation von BIC der Maskierbereich des Probe-Stimulus (MTC-pd) gegenüber der exzitatorischen Aktivität in Antwort auf den Maskierer im 2-Ton-Paradigma (TC-2TP-pd) deutlich geringer war (siehe Abb. 25).

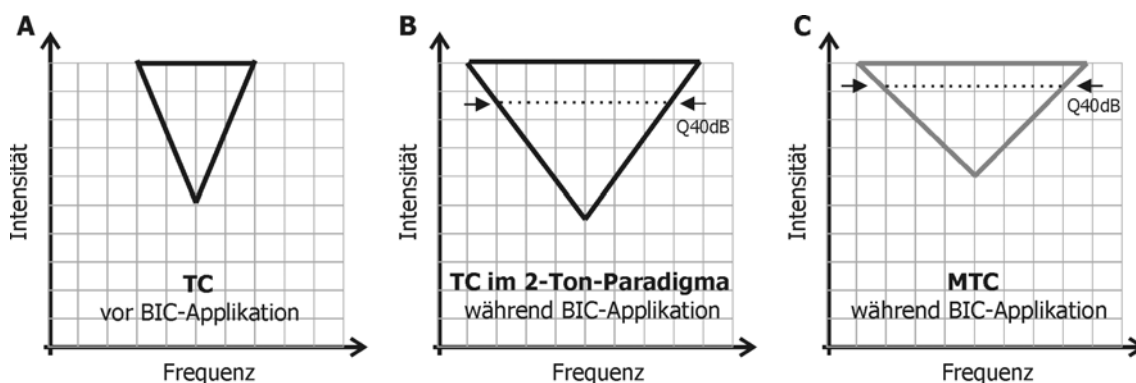


Abb. 30: Schema zum Vergleich der exzitatorischen TC in Antwort auf einen Einzelton (**A**), der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer bei der Präsentation des 2-Ton-Paradigmas während der Applikation von BIC (TC-2TP-BIC, **B**) und dem Maskierbereich des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma während der BIC-Applikation (MTC-BIC, **C**). Man beachte, dass die exzitatorische Aktivität auf den Maskierer im 2-Ton-Paradigma in gleichem Maße verbreitert wird wie der Maskierbereich auf den Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma (gepunktete Linie: Messbereich für Q_{40dB} -Werte).

5.3.2 Die spektrale Komponente der 2-Ton-Maskierung

Die Applikation des GABA_A-Antagonisten BIC führt nicht wie erwartet zu einer signifikanten Erhöhung der Q_{40dB}- bzw. Q_{20A}-Werte der MTC. Demzufolge kam es nicht zu einer Verkleinerung der MTC im Frequenzbereich. Die hier beschriebenen Beispiele zeigen eine Streuung der Veränderung des Maskierbereiches im spektralen Kontext während der BIC-Applikation, bei 77% der untersuchten Neurone kommt es zu einer Erhöhung bzw. Erniedrigung der Q_{40dB}-Werte um mindestens 10%. Dies bedeutet, dass es bei einer Subpopulation der untersuchten Neurone durch die Blockierung der GABAergen Inhibition durch BIC zu einer Vergrößerung des Maskierbereichs des Probe-Stimulus kommt, während eine andere Gruppe von Neuronen eine Reduzierung in den Ausmaßen der MTC zeigt. Eine Studie von Shamma und Symmes (1985) konnte im AC des Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) vier Neuronentypen beobachten, die Unterschiede in ihrem inhibitorischen Antwortverhalten aufwiesen. Dies lässt vermuten, dass im A1 verschiedene Neuronentypen vorliegen, die eine unterschiedliche neuronale Aktivität auf die Präsentation des 2-Ton-Paradigmas zeigen.

In der Gesamtheit der untersuchten Neurone können keine Unterschiede bei den Q_{20A}-Werten beobachtet werden. Die Q_{40dB}-Werte zeigen lediglich eine Tendenz zu einer Abnahme und dementsprechend zu einer Verbreiterung der MTC während der Applikation von BIC (siehe Abb. 31). Eine mögliche Ursache, dass eine Verschmälerung der MTC im spektralen Bereich unter BIC-Einfluss nicht beobachtet wird, könnte in einer zu geringen Frequenzauflösung der präsentierten Stimuli liegen. Die Q_{40dB}- bzw. Q_{20A}-Werte der Messreihen, bei denen die logarithmisch verteilten Frequenz-Kombinationen in einem festgelegten Bereich von 24 auf 40 erhöht wurden (siehe Abb. 14), zeigen keine Unterschiede. Weiter wurden die MTC respektive die Frequenzen zur Berechnung der Q_{40dB}- bzw. Q_{20A}-Werte interpoliert und würden demnach bei einer höheren Frequenzauflösung keine deutlich unterschiedlichen Werte zeigen.

5.3.3 Die Tuningkurve im 2-Ton-Paradigma II: die Intensitätskomponente

Wie in Abb. 23A beschrieben, steigen die Schwellenwerte der TC im 2-Ton-Paradigma signifikant gegenüber denen der exzitatorischen TC an.

Eine durch die lange Aufnahmedauer bedingte Abnahme der Gesamtaktivität des gemessenen Neurons kann ausgeschlossen werden, da es bei einem Vergleich der

exzitatorischen TC im 2-Ton-Paradigma vor und während der Applikation von BIC zu keiner Veränderung kommt und die neuronale Aktivität in diesem Fall auch hier hätte abnehmen müssen.

Deshalb scheint es, dass die neuronale Verarbeitung des Probe-Stimulus im 2-Ton-Paradigma Einfluss auf die neuronale Aktivität in Antwort auf den Maskierer nahm.

Eine mögliche Erklärung für die Erhöhung der Schwellenwerte könnte im sogenannten „backward masking“ liegen. Die späte neuronale Aktivität in Antwort auf einen ersten Stimulus wird durch einen zweiten, zeitlich mit dem ersten Stimulus nicht überlappenden Stimulus inhibiert. Derartige Phänomene konnten bislang jedoch nur gezeigt werden, wenn das ISI sehr gering war und nur für Neurone, deren Aktivität auf den ersten Stimulus eine „late response“ zeigte, die zeitlich in die Präsentation des zweiten Stimulus hineinragte (Brosch et al. 1998). Durch die zeitliche Verschiebung des Auswertfensters auf die neuronale Aktivität in Antwort auf die einzelnen Stimuli (siehe 3.5.2) und das lange ISI von 30 ms kann deshalb „backward masking“ als Ursache für Veränderungen in der Aktivität auf den Maskierer ausgeschlossen werden.

Weiter besteht die Möglichkeit, dass eine lang andauernde Inhibition in Antwort auf den Probe-Stimulus Ursache für die Erhöhung der Schwellenwerte war. Dies bedeutet, dass der Probe-Stimulus des einen Maskierer-Probe-Paars die neuronale Aktivität des Maskierers des folgenden Paares inhibiert. Einen Hinweis darauf gibt eine Studie von Hocherman und Gilat (1981), die zeigte, dass sich im AC der Katze die Aktivität der Neurone in Antwort auf einen Einzelstimulus mit einer Repetitionsperiode < 1600 ms (abhängig von der Tondauer, hier: 100 ms) verminderte. Dies würde bedeuten, dass schwache neuronale Aktivitäten in den Grenzbereichen des rezeptiven Feldes inhibiert wurden und die Ausmaße der exzitatorischen TC reduzierten. Zu beachten ist, dass dies, zusätzlich zur Erhöhung der Schwellenwerte, auch zu einer Verringerung der Bandbreite und demzufolge zu einer Erhöhung der $Q_{40\text{dB}}$ -Werte geführt hätte, die aber nicht zu beobachten war.

Bei der Betrachtung der exzitatorischen TC im 2-Ton-Paradigma sollte es demgegenüber zu einer Erniedrigung der Schwellenwerte unter BIC-Einfluss kommen (siehe 5.2). Sie nahm im Mittel nur um 1,85 dB ab, deutlich geringer als in den Studien von Foeller et al. (2001) bei der Wüstenrennmaus mit einer durchschnittlichen Abnahme der Schwellenwerte um 5,5 dB, bei Chen und Jen (2000) mit einer Abnahme um 6,46 dB bei der Fledermaus *Eptesicus fuscus* und bei Wang et al. (2000) beim

Chinchilla um 9,4 dB. Es wäre möglich, dass die Menge an iontophoretisch appliziertem BIC nicht ausreichend war, um eine deutlichere Zunahme der Schwellensensitivität beobachten zu können. In einer Studie von Wang et al. (2000) zeigte sich an einem Beispiel, dass die Bandbreite einer exzitatorischen TC nach drei Minuten BIC-Applikation (40 nA) deutlich zunahm, die Schwellensensitivität aber nahezu unverändert blieb. Erst nach 20 minütiger Applikation konnte eine weitere spektrale Verbreiterung der TC und eine deutliche Abnahme der Schwellenwerte beobachtet werden. Dem steht jedoch gegenüber, dass die hier gezeigte durchschnittliche Erhöhung der neuronalen Aktivität auf den Stimulus während der BIC-Applikation bei 160% lag und in etwa das Niveau erreichte, bei dem Foeller et al. (2001) eine Erniedrigung der Schwellenwerte feststellen konnten (235%).

5.3.4 Die Intensitätskomponente der 2-Ton-Maskierung

Während der BIC-Applikation kann eine hoch signifikante Erhöhung der Schwellenwerte der MTC beobachtet werden. (siehe Abb. 15 und Schema in Abb. 31).

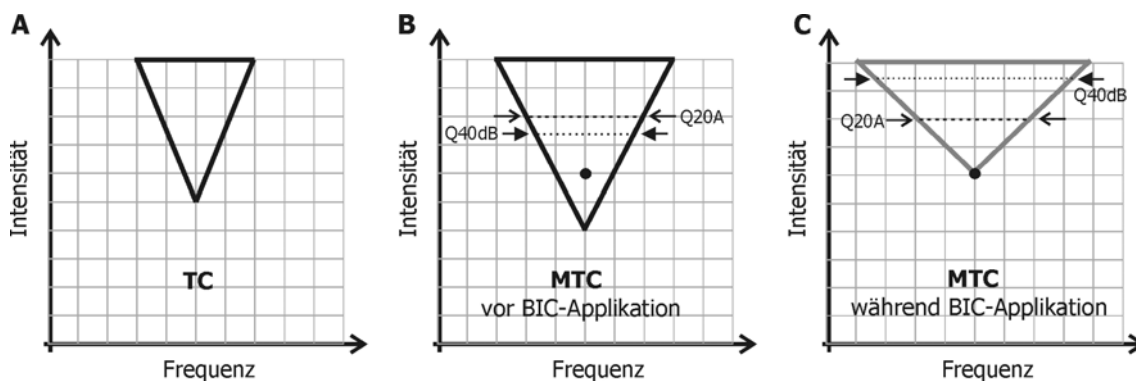


Abb. 31: Schema zum Vergleich der exzitatorischen TC (A) und der MTC vor (B) und während (C) der Applikation von BIC. Es kommt zu einer Erhöhung der Schwellenwerte der MTC während der BIC-Applikation. Die Schwellen unabhängigen Q20A-Werte (gepunktete Linie) zeigen keine Veränderung, die Q_{40dB}-Werte zeigen eine Tendenz zur Abnahme (gestrichelte Linie) und somit eine Verbreiterung der MTC während der BIC-Applikation. Der schwarze Kreis markiert die Position des Probe-Stimulus.

Wie sich bei Untersuchungen des exzitatorischen rezeptiven Feldes vor und während der Applikation von BIC zeigte, setzte BIC die Schwellenwerte in 63% der untersuchten Neurone im A1 der Wüstenrennmaus herab (Foeller et al. 2001). Dies deutet darauf hin, dass es sich bei der GABA_A-vermittelten Inhibition nicht nur um eine laterale Inhibition handelt, sondern dass GABAerge Prozesse vor allem auch für leise Schallpegel am

Minimum der Tuningkurve wichtig sind. In diesem Sinne könnte die Erhöhung der Schwellenwerte bei der Präsentation des 2-Ton-Paradigmas durch den GABA_A-Rezeptor vermittelt werden.

Wie man in Abb. 21 sehen kann, nimmt mit steigender Intensität des Maskierers die Maskierungsstärke kontinuierlich ab, sowohl für die Messung vor wie während der Applikation von BIC. Die neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus ist bei niedrigen Maskiererintensitäten unter BIC-Einfluss stärker als vor der Applikation. Dies lässt vermuten, dass die signifikante Erhöhung der Schwellenwerte während der BIC-Applikation auf die Erhöhung der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus und damit auf ein Erreichen des Inhibitionskriteriums bei höheren Schwellenwerten zurückzuführen ist.

Um zu klären, ob die Maskierung des Probe-Stimulus im Rahmen einer 2-Ton-Maskierung auf kortikale GABA_Aerge Inhibition zurückzuführen ist, wurde die MTC vor und während der Applikation von BIC untersucht. Bezüglich der hier gezeigten Daten muss man feststellen:

- Es konnte keine Verkleinerung der MTC im spektralen Kontext beobachtet werden.
- Die Erhöhung der Schwellenwerte der MTC ist hoch signifikant, könnte aber auch auf die erhöhte Stimulus-evozierte Aktivität während der BIC-Applikation zurückzuführen sein.

Die Daten legen nahe, dass GABAerge Prozesse im Kortex nicht für laterale Inhibition bei der 2-Ton Maskierung, möglicherweise aber für schwellennahe Inhibition an der charakteristischen Frequenz des Neurons von Bedeutung sind.

Ein Hinweis, der außerhalb der hier erhobenen Daten darauf schließen lässt, dass der Einfluss von GABA_A-Rezeptor vermittelter Inhibition nicht ursächlich für die Maskierung im 2-Ton-Paradigma ist, zeigte sich bei einem Vergleich zwischen Pentobarbital- und Ketamin-anästhesierten Tieren (Calford und Semple 1995; Brosch und Schreiner 1997). Es konnten keine ersichtlichen Unterschiede bei der neuronalen Aktivität und der Maskierung des Probe-Stimulus während der Präsentation des 2-Ton-Paradigma bei den unterschiedlichen Anästhetika festgestellt werden. Da Barbiturate den Effekt an GABA_A-Rezeptoren potenzieren (Franks und Lieb 1994; Steinbach und Akk 2001) (siehe 5.1), hätte es bereits hier Hinweise darauf geben müssen.

Exkurs in den visuellen Kortex

Wenn man davon ausgeht, dass die laterale Inhibition ein genereller Mechanismus der kortikalen Verarbeitung ist, können zum Vergleich auch Studien herangezogen werden, die vergleichbare Stimuli in anderen sensorischen Arealen des Kortex präsentierten. So untersuchte Nelson (1991a, b) mögliche Inhibitionsmechanismen vor und während der Applikation von BIC bei visuellen Kortexneuronen in Antwort auf die Präsentation zweier Balken optimaler Größe und Orientierung, aber mit unterschiedlichen ISI. Es zeigte sich, dass BIC die Spontanaktivität erhöhte und die grundlegenden Eigenschaften des rezeptiven Feldes auf einen präsentierten Balken veränderte, die neuronale Inhibition auf den zweiten präsentierten Stimulus jedoch nicht durch BIC aufgehoben werden konnte. Dies würde mit den hier gezeigten Daten übereinstimmen.

Ein weiterer wichtiger Hinweis dafür, dass GABA_A-Rezeptoren vermeintlich keine Rolle bei der Maskierung des zweiten Stimulus spielen, wurde bei einem weiteren Versuch von Nelson (1991b) am visuellen Kortex der Katze gezeigt. Es wurden zwei visuelle Stimuli optimaler Orientierung und Größe präsentiert und beobachtet, dass die neuronale Aktivität auf den zweiten Stimulus inhibiert wurde. Daraufhin wurde einer der beiden visuellen Stimuli durch die iontophoretische Applikation von Glutamat (Glu) oder Kaliumchlorid (KCl) ersetzt. Wäre die Maskierung die Folge eines visuell aktivierten *postsynaptischen* Prozesses, sollte der Austausch des zweiten Stimulus durch die KCl/Glu-Applikation weiterhin zu einer Maskierung führen. Bei einem Austausch des ersten Stimulus durch KCl/Glu-Applikation sollte sich keine Maskierung zeigen. Wäre die Maskierung durch einen visuell aktivierten *präsynaptischen* Prozess ausgelöst, sollte sich sowohl bei Austausch des ersten als auch des zweiten visuellen Stimulus unter dem Einfluss der KCl/Glu-Applikation keine Maskierung zeigen. Es wurde beobachtet, dass die Maskierung nicht durch iontophoretische Applikation von Glu oder KCl hervorgerufen werden konnte. Dies deutet daraufhin hin, dass bei der Präsentation eines Maskierungsparadigmas die Erregbarkeit im Bereich des Soma nicht verändert wird und der Maskierung des zweiten Stimulus eventuell ein präsynaptischer Inhibitionsmechanismus zugrunde liegt.

5.4 GABA_B als Ursache für die 2-Ton-Maskierung?

Bicucullin ist in seinem Wirkungsspektrum begrenzt, da es nur postsynaptische Inhibition durch schnelle, Chlorid-abhängige GABA_A-Rezeptoren blockiert. GABA

wirkt dagegen noch auf weitere Rezeptortypen, so z.B. auf GABA_B-Rezeptoren, die einen unterschiedlichen Inhibitionsmechanismus aufweisen. Auf präsynaptischer Seite setzen sie die Transmitterausschüttung herab (Bowery et al. 1980) und postsynaptisch vermitteln sie über ein „second-messenger“-System ein lange andauerndes Kalium-abhängiges IPSP (inhibitorisches postsynaptisches Potential) (Dutar und Nicoll 1988). Deshalb wäre der sowohl prä- als auch postsynaptisch lokalisierte GABA_B-Rezeptor ein möglicher Kandidat für die Inhibition der neuronalen Aktivität auf den Probe-Stimulus.

Die Anzahl der untersuchten Neurone mit eindeutigen Effekten von CGP war sehr niedrig, so dass eine eindeutige Aussage über die Resultate schwer fällt. Der Grund hierfür liegt möglicherweise in einer geringen Anzahl an GABA_B-Rezeptoren im auditorischen Kortex. Histologische Studien über ihre Verteilung im auditorischen Kortex liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor. Eine immunohistochemische Lokalisation des GABA_B-Rezeptors im ZNS der Ratte zeigte eine niedrige bis mittlere Verteilung im Temporallappen des Neokortex über alle sechs Schichten (Margeta-Mitrovic et al. 1999). Im visuellen Kortex der Ratte zeigten sich bei den untersuchten Strukturen nur in 21% der Fälle die beiden GABA_B-Rezeptor-Untereinheiten an Typ-1-Synapsen (Gonchar et al. 2001). Zu beachten ist allerdings, dass sich die Häufigkeit GABAerger Neurone im auditorischen Kortex von Art zu Art unterscheidet (Katze: 25%, Prieto et al. 1994; Wüstenrennmaus: 15%, Foeller et al. 2001; Frettchen: 10%, Gao et al. 1999). Ein Vergleich von verschiedenen sensorischen Systemen und unterschiedlichen Arten ist daher problematisch.

Die Applikation des GABA_B-Antagonisten CGP führt nicht wie erwartet zu einer signifikanten Verminderung der Q_{40dB}- bzw. Q_{20A}-Werte der MTC. Es zeigt sich vielmehr eine signifikante Erhöhung der Schwellenwerte, vergleichbar der Erhöhung unter BIC-Einfluss. Die Erhöhung der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus während der CGP-Applikation könnte für ein Erreichen des Inhibitionskriterium des Probe-Stimulus bei höheren Schwellenwerten ursächlich sein (siehe Schwellenwerterhöhung während BIC-Applikation 5.3.4). Aufgrund der wenigen Neurone mit eindeutigem CGP-Effekt kann man eine Beteiligung des GABA_B-Rezeptors bei dem Phänomen der 2-Ton-Maskierung weder ausschließen noch zugrunde legen. Da GABA_B-Rezeptor-vermittelte Prozesse längere Zeitkonstanten aufweisen (durchschnittliche Inhibitionsdauer im entorhinalen Kortex der Ratte: 403

ms, Lingenhöhl und Olpe 1993), könnte für eine genauere Untersuchung der Wirkung von CGP die Verwendung großer Stimulusabstände (ISI) wichtig sein.

5.5 Veränderung des Inter-Stimulus-Intervalls

Wie unter 5.1.3 bereits erwähnt, ist die Dauer der Inhibition in einem starken Maße von der Frequenz des vorher präsentierten Maskierers abhängig (Brosch und Schreiner 1997). Um die zeitlichen Eigenschaften der Maskierung zu untersuchen, wurde deshalb die Maskierer- und die Probefrequenz konstant gehalten und an die CF des Neurons gelegt.

Bei der Auswertung neuronaler Aktivität zeigt sich bei den untersuchten Neuronen ein Hinweis auf eine Reduktion der Inhibitionsdauer bei kürzeren ISI während der Applikation von BIC. In diese Richtung deuten auch die eigenen Vorversuche, bei denen die neuronale Aktivität auf sich wiederholende Stimuli (RP von 100-800 ms) getestet wurde. Hier zeigte sich bei einigen Neuronen, dass sie während der Applikation von BIC kürzeren Repetitionsperioden folgen konnten. Dies deutet eine mögliche Rolle bei zeitlichen Verarbeitungsprozessen intrakortikaler GABA_Aerger Inhibitionsmechanismen an.

Während der Applikation von CGP kam es dagegen nur in einem Fall zu einer Reduktion der Inhibitionsdauer bei einem kürzeren ISI. Bei In-vitro-Messungen an Neuronen im Hippocampus der Ratte konnte gezeigt werden, dass die durch GABA_B-Rezeptoren vermittelten langsamen IPSP bei elektrischer Reizung mit zwei Stimuli bei einem ISI von 140-200 ms durch die Applikation von CGP aufgehoben werden konnten (Davies et al. 1993). Auch In-vivo-Studien im motorischen Kortex der Katze belegen eine Aufhebung der GABA_B-Rezeptor vermittelten Inhibition in diesem Zeitbereich (Chowdhury und Matsunami 2002). Bei den hier präsentierten Stimuli hätte sich demnach eine verstärkte neuronale Aktivität in Antwort auf den Probe-Stimulus bei einem ISI von 180 ms zeigen müssen. Eine Studie im IC der Ratte, bei der zwei Stimuli identischer Frequenz und Intensität mit einem ISI von 200 ms präsentiert wurden, konnte während der iontophoretischen oder systemischen Applikation eines GABA_B-Antagonisten (CGP 35348) eine Erhöhung der neuronalen Aktivität auf den Maskierer, aber keine Aufhebung der Maskierung auf den Probe-Stimulus beobachtet werden (Vaughn et al. 1996). Die hier gezeigten Daten deuten darauf hin, dass auch im auditorischen Kortex die Inhibition aufeinander folgender Stimuli nicht durch GABA_B-Rezeptoren vermittelt wird.

5.6 Alternativen zu GABA_A und GABA_B: Die „shunting inhibition“

Die, bei der Messung der MTC erhobenen Daten zeigen, dass die GABA_A-Rezeptoren im spektralen Bereich nur eine untergeordnete Rolle bei der 2-Ton-Maskierung spielen. Postsynaptische Mechanismen könnten aber zu einer Maskierung des Probe-Stimulus im spektralen Bereich führen, wenn sie nicht über eine Hyperpolarisation vermittelt werden. Dazu sei gesagt, dass es Mechanismen der Inhibition gibt, die synaptische Exzitation abschwächen. Es kommt bei einer „shunting (oder auch „silent“) inhibition“ nur in Abhängigkeit einer Exzitation zu einem Öffnen von Ionenkanälen, und damit zu einer abgeschwächteren Depolarisation des Neurons (Poggio und Koch 1987). Würde der Mechanismus der „shunting inhibition“ auch im auditorischen Kortex vorliegen und über andere Rezeptorklassen als den GABA_A-Rezeptor vermittelt werden, würde man bei der 2-Ton-Maskierung bei der Applikation von BIC keine Aufhebung der Maskierung auf den Probe-Stimulus beobachten. Wenn der GABA_A-Rezeptor eine wichtige Rolle für die Graduierung der Exzitation spielen sollte (Borg-Graham et al. 1998), müsste sich die MTC durch die Blockierung der GABA_A-Rezeptoren unter BIC-Einfluss verkleinern. Dies konnte bei den hier erhobenen Daten nicht beobachtet werden. Um etwaige Mechanismen der „shunting inhibition“ über den GABA_A-Rezeptor präziser untersuchen zu können, müsste man Unterschiede der neuronalen Aktivität vor und während der Applikation von Picrotoxin, einem im Gegensatz zu BIC nicht-kompetitiven GABA_A-Rezeptorantagonisten, untersuchen.

5.7 Bemerkungen zur Kortex-Physiologie

Man darf bei allen Überlegungen, ob die 2-Ton-Maskierung einer intrakortikalen Inhibition unterliegt oder bereits auf subkortikaler Ebene verarbeitet wird, nicht außer Acht lassen, dass der auditorische Kortex die höchste Ebene der Verarbeitung akustischer Reize darstellt. Aus diesem Grund werden komplexe Stimuli von Neuronen innerhalb des auditorischen Kortex unterschiedlich verarbeitet. So konnten Shamma und Symmes (1985) im auditorischen Kortex des Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) bei der simultanen Präsentation zweier Stimuli vier Neuronentypen ausmachen, die Unterschiede in ihrem inhibitorischen Antwortverhalten zeigten. So wies z.B. Typ A eine Inhibition bei der Präsentation des Maskierers über einen großen Frequenzbereich (bis zu zwei Oktaven auf der nieder- und hochfrequenten Seite der CF) auf, während

Typ C dagegen keine Inhibition der neuronalen Aktivität in Antwort auf den Maskierer zeigte.

Aufgrund der Komplexität des auditorischen Kortex wäre es von Interesse, die unterschiedlichen Verarbeitungsmechanismen zwischen den verschiedenen Neuronentypen zu untersuchen. Dies ist aber erst nach einer Klassifizierung möglich, was eine große Anzahl an Messreihen erfordern würde.

Des Weiteren wäre es möglich, die neuronalen Mechanismen der Inhibition präziser einzugrenzen. Die Rolle des GABA_B-Rezeptors auf die Inhibition im auditorischen Kortex wurde bislang nicht sehr ausführlich untersucht. Daher wäre es sicher von großem Interesse, die unterschiedlichen prä- und postsynaptischen Wirkungsmechanismen der GABA_B-Rezeptoren iontophoretisch zu blockieren und die Veränderung in der neuronalen Aktivität aufzuzeigen. Derzeit ist jedoch noch kein differenziert wirkender GABA_B-Rezeptorantagonist entwickelt.

Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen elektrophysiologischen und neuropharmakologischen Einblicke in die Exzitations- und Inhibitionsmechanismen von Neuronen bei der Präsentation komplexer akustischer Ereignisse tragen einen kleinen Teil zu einem präziseren Wissen über die Stimulusverarbeitung im primären auditorischen Kortex bei. Es werden aber auch neue Fragen aufgeworfen, wie z.B. die Rolle des GABA_B-Rezeptors im A1, die Ansatzpunkte für neue Studien bieten.

6. Literaturverzeichnis

- Borg-Graham LJ, Monier C und Fregnac Y (1998) Visual input evokes transient and strong shunting inhibition in visual cortical neurons. *Nature*. 393: 369-373
- Bowery NG, Hill DR, Hudson AL, Doble A, Middlemiss DN, Shaw J und Turnbull M (1980) (-)Baclofen decreases neurotransmitter release in the mammalian CNS by an action at a novel GABA receptor. *Nature*. 283: 92-94
- Bregman AS, Liao C und Levitan R (1990) Auditory grouping based on fundamental frequency and formant peak frequency. *Can.J.Psychol.* 44: 400-413
- Brosch M und Schreiner CE (1997) Time course of forward masking tuning curves in cat primary auditory cortex. *J.Neurophysiol.* 77: 923-943
- Brosch M, Schulz A und Scheich H (1998) Neuronal mechanisms of auditory backward recognition masking in macaque auditory cortex. *Neuroreport*. 9: 2551-2555
- Budinger E, Heil P und Scheich H (2000a) Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). III. Anatomical subdivisions and corticocortical connections. *Eur.J.Neurosci.* 12: 2425-2451
- Budinger E, Heil P und Scheich H (2000b) Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). IV. Connections with anatomically characterized subcortical structures. *Eur.J.Neurosci.* 12: 2452-2474
- Calford MB und Semple MN (1995) Monaural inhibition in cat auditory cortex. *J.Neurophysiol.* 73: 1876-1891
- Chen QC und Jen PH (2000) Bicuculline application affects discharge patterns, rate-intensity functions, and frequency tuning characteristics of bat auditory cortical neurons. *Hear.Res.* 150: 161-174

- Chowdhury SA und Matsunami KI (2002) GABA-B-related activity in processing of transcallosal response in cat motor cortex. *Journal of Neuroscience Research*. 68: 489-495
- Chowdhury SA und Rasmusson DD (2002) Comparison of receptive field expansion produced by GABA(B) and GABA(A) receptor antagonists in raccoon primary somatosensory cortex. *Exp.Brain Res*. 144: 114-121
- Creutzfeldt O, Hellweg FC und Schreiner C (1980) Thalamocortical transformation of responses to complex auditory stimuli. *Exp.Brain Res*. 39: 87-104
- Curtis DR, Duggan AW, Felix D und Johnston GA (1970) GABA, bicuculline and central inhibition. *Nature*. 226: 1222-1224
- Davies CH, Pozza MF und Collingridge GL (1993) CGP 55845A: a potent antagonist of GABAB receptors in the CA1 region of rat hippocampus. *Neuropharmacology*. 32: 1071-1073
- Diamond IT und Neff WD (1957) Ablation of temporal cortex and discrimination of auditory patterns. *J.Neurophysiol*. 20: 300-315
- Dutar P und Nicoll RA (1988) A physiological role for GABAB receptors in the central nervous system. *Nature*. 332: 156-158
- Foeller E, Vater M und Kossel M (2001) Laminar analysis of inhibition in the gerbil primary auditory cortex. *J.Assoc.Res.Otolaryngol*. 2: 279-296
- Franks NP und Lieb WR (1994) Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature*. 367: 607-614
- Gao WJ, Newman DE, Wormington AB und Pallas SL (1999) Development of inhibitory circuitry in visual and auditory cortex of postnatal ferrets: immunocytochemical localization of GABAergic neurons. *J.Comp Neurol*. 409: 261-273
- Gonchar Y, Pang L, Malitschek B, Bettler B und Burkhalter A (2001) Subcellular localization of GABA(B) receptor subunits in rat visual cortex. *J.Comp Neurol*. 431: 182-197

- Harris DM und Dallos P (1979) Forward masking of auditory nerve fiber responses. *J.Neurophysiol.* 42: 1083-1107
- Havey DC und Caspary DM (1980) A simple technique for constructing piggy back multibarrel electrodes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 48: 249-251
- Hocherman S und Gilate (1981) Dependence of auditory Cortex evoked unit activity on inter stimulus interval in the cat. *Journal of Neurophysiology. Bethesda.* 45: 987-997
- Kaltenbach JA, Meleca RJ, Falzarano PR, Myers SF und Simpson TH (1993) Forward masking properties of neurons in the dorsal cochlear nucleus: possible role in the process of echo suppression. *Hear.Res.* 67: 35-44
- Kilgard MP und Merzenich MM (1999) Distributed representation of spectral and temporal information in rat primary auditory cortex. *Hear.Res.* 134: 16-28
- Kopp-Scheinflug C, Dehmel S, Dorrscheidt GJ und Rubsamen R (2002) Interaction of excitation and inhibition in anteroventral cochlear nucleus neurons that receive large endbulb synaptic endings. *J.Neurosci.* 22: 11004-11018
- Krnjevic K (1967) Chemical transmission and cortical arousal. *Anesthesiology.* 28: 100-105
- Lingenhöhl K. und Olpe H.-R. (1993) Blockade of the late inhibitory postsynaptic potential in vivo by the GABA(B) antagonist CGP 46381. *Pharmacology Communications.* 3: 49-54
- Liu HT, Hollmann MW, Liu WH, Hoenemann CW und Durieux ME (2001) Modulation of NMDA receptor function by ketamine and magnesium: Part I. *Anesth.Analg.* 92: 1173-1181
- Lu T, Liang L und Wang X (2001) Neural representations of temporally asymmetric stimuli in the auditory cortex of awake primates. *J.Neurophysiol.* 85: 2364-2380
- Margeta-Mitrovic M, Mitrovic I, Riley RC, Jan LY und Basbaum AI (1999) Immunohistochemical localization of GABA(B) receptors in the rat central nervous system. *J.Comp.Neurol.* 405: 299-321

- Martin IL, Dunn SMJ (2002) GABA Receptors. Tocris Reviews No.20
- Muller CM und Scheich H (1988) Contribution of GABAergic inhibition to the response characteristics of auditory units in the avian forebrain. *J.Neurophysiol.* 59: 1673-1689
- Nelson SB (1991a) Temporal interactions in the cat visual system. I. Orientation-selective suppression in the visual cortex. *J.Neurosci.* 11: 344-356
- Nelson SB (1991b) Temporal interactions in the cat visual system. III. Pharmacological studies of cortical suppression suggest a presynaptic mechanism. *J.Neurosci.* 11: 369-380
- Pelleg-Toiba R und Wollberg Z (1989) Tuning properties of auditory cortex cells in the awake squirrel monkey. *Exp.Brain Res.* 74: 353-364
- Phillips DP, Hall SE und Hollett JL (1989) Repetition rate and signal level effects on neuronal responses to brief tone pulses in cat auditory cortex. *J.Acoust.Soc.Am.* 85: 2537-2549
- Poggio T und Koch C (1987) Synapses that compute motion. *Sci.Am.* 256: 46-52
- Prieto JJ, Peterson BA und Winer JA (1994a) Laminar distribution and neuronal targets of GABAergic axon terminals in cat primary auditory cortex (AI). *J.Comp Neurol.* 344: 383-402
- Prieto JJ, Peterson BA und Winer JA (1994b) Morphology and spatial distribution of GABAergic neurons in cat primary auditory cortex (AI). *J.Comp Neurol.* 344: 349-382
- Relkin EM und Doucet JR (1991) Recovery from prior stimulation. I: Relationship to spontaneous firing rates of primary auditory neurons. *Hear.Res.* 55: 215-222
- Ruggero MA, Robles L und Rich NC (1992a) Two-tone suppression in the basilar membrane of the cochlea: mechanical basis of auditory-nerve rate suppression. *J.Neurophysiol.* 68: 1087-1099

- Ruggero MA, Robles L, Rich NC und Recio A (1992b) Basilar membrane responses to two-tone and broadband stimuli. *Philos.Trans.R.Soc.Lond.B.Biol.Sci.* 336: 307-5
- Schreiner CE (1981) Poststimulatory effects in the medial geniculate body of guinea pigs. In: Syka J und Aitkin L (Eds) *Neuronal mechanisms of Hearing*. Plenum Press, New York, 191-196
- Schreiner CE, Mendelson JR und Sutter ML (1992) Functional topography of cat primary auditory cortex: representation of tone intensity. *Exp.Brain Res.* 92: 105-122
- 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
- Sellick PM und Russell IJ (1979) Two-tone suppression in cochlear hair cells. *Hear Res.* 1: 227-236
- Shamma SA, Fleshman JW, Wiser PR und Versnel H (1993) Organization of response areas in ferret primary auditory cortex. *J.Neurophysiol.* 69: 367-383
- Shamma SA und Symmes D (1985) Patterns of inhibition in auditory cortical cells in awake squirrel monkeys. *Hear.Res.* 19: 1-13
- Smith RL (1977) Short-term adaptation in single auditory nerve fibers: some poststimulatory effects. *J.Neurophysiol.* 40: 1098-1111
- Steinbach JH und Akk G (2001) Modulation of GABA(A) receptor channel gating by pentobarbital. *J.Physiol.* 537: 715-733
- Suga N, Zhang Y und Yan J (1997) Sharpening of frequency tuning by inhibition in the thalamic auditory nucleus of the mustached bat. *J.Neurophysiol.* 77: 2098-2114
- Sugimoto S, Sakurada M, Horikawa J und Taniguchi I (1997) The columnar and layer-specific response properties of neurons in the primary auditory cortex of Mongolian gerbils. *Hear.Res.* 112: 175-185

- Sutter ML und Loftus WC (2003) Excitatory and inhibitory tuning in auditory cortex: evidence for multiple inhibitory mechanisms. *J.Neurophysiol.* im Druck
- Sutter ML und Schreiner CE (1991) Physiology and topography of neurons with multipeaked tuning curves in cat primary auditory cortex. *J.Neurophysiol.* 65: 1207-1226
- Sutter ML, Schreiner CE, McLean M, O'connor KN und Loftus WC (1999) Organization of inhibitory frequency receptive fields in cat primary auditory cortex. *J.Neurophysiol.* 82: 2358-2371
- Thomas H, Tillein J, Heil P und Scheich H (1993) Functional organization of auditory cortex in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). I. Electrophysiological mapping of frequency representation and distinction of fields. *Eur.J.Neurosci.* 5: 882-897
- Vater M, Habbicht H, Kossl M und Grothe B (1992) The functional role of GABA and glycine in monaural and binaural processing in the inferior colliculus of horseshoe bats. *J.Comp Physiol [A]*. 171: 541-553
- Vaughn MD, Pozza MF und Lingenhohl K (1996) Excitatory acoustic responses in the inferior colliculus of the rat are increased by GABAB receptor blockade. *Neuropharmacology.* 35: 1761-1767
- Wang J, Caspary D und Salvi RJ (2000) GABA-A antagonist causes dramatic expansion of tuning in primary auditory cortex. *Neuroreport.* 11: 1137-1140
- Yajima Y und Hayashi Y (1990) GABAergic inhibition upon auditory response properties of neurons in the dorsal cochlear nucleus of the rat. *Exp.Brain.Res.* 81: 581-588

7. Lebenslauf

Rudolph Marsch

Am Bach 5
 81735 München
 Tel.: +49-89-40906146
 0179-5239134
 Email: marsch@zi.biologie.uni-muenchen.de

Geburtsdatum: 18. November 1968
Geburtsort: München
Familienstand: nicht verheiratet, Eine Tochter, Cara
 geb.: 6. Dezember 2000

Ausbildung und Hochschulstudium:

Juli 1991	Abitur am Albert-Einstein-Gymnasium, München
Okt. 1991 - Dez. 1992	Zivildienst
Okt. 1993 - März 2000	Studium der Biologie an der LMU München
März 1996	Vordiplom in Zoologie, Botanik, Biochemie, Genetik, Mikrobiologie, Anthropologie
Mai 1999 - Jan 2000	Diplomarbeit: "Zeitliche Verarbeitung von Reintönen im auditorischen Kortex bei <i>Meriones unguiculatus</i> "
März 2000	Diplom mit Hauptfach Neurophysiologie und den Nebenfächern Biochemie, Botanik, Zoologie
seit Mai 2000	Promotion am Department Biologie II Fachbereich Neurophysiologie der LMU München, Abt. Prof. G. Neuweiler bei Prof. M. Kössl "GABAerge Inhibitionsmechanismen und 2-Ton-Maskierung im Hörkortex der Wüstenrennmaus (<i>Meriones unguiculatus</i>)"
seit Mai 2000	wissenschaftlicher Angestellter an der LMU München, Abt. Prof. G. Neuweiler bei Prof. M. Kössl (seit Oktober 2001 an der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt/M.)

8. Publikationen

- Oktober 1999 R.Marsch und M.Kössl "Influences of repetition rate and stimulus duration on auditory cortical response patterns"
Cognitive Neuroscience, Bremen
- Januar 2002 R.Marsch, E.Foeller und M.Kössl "Influences of bicuculline on 2-tone masking and processing of repetitive stimuli in the primary auditory cortex of the gerbil"
25th ARO 2002 Mid Winter Meeting, St.Petersburg Beach, USA

9. Danksagung

Besonders bedanken möchte ich mich bei Prof. Manfred Kössl für die Überlassung des Themas und für seine ständige Bereitschaft bei Problemen jeglicher Art zu helfen und dies trotz der Distanz München-Frankfurt. Weiterhin bedanken möchte ich mich für seine Mühe, sein fachliches Wissen an mich weiterzugeben und auch dafür, dass er innerhalb einer Minute das Problem am Setup entdeckt hatte, wonach ich am Anfang mehrere Stunden vergeblich gesucht hatte.

Mein besonderer Dank geht an Prof. Neuweiler, weil er es mir u.a. finanziell ermöglicht hatte, diese Arbeit am Department Biologie II anzufertigen, und außerdem für die anregenden Diskussionen im Rahmen der Montagsseminare.

Für die Durchsicht des Manuskripts, die Anregungen und nicht nur dafür, möchte ich mich bei Dr. Elisabeth Foeller, Dr. Antje Brand und Dr. Uwe Firzlaff bedanken.

Für die Verbesserung des einen Rechtschreibfehlers möchte ich mich bei Bernd Strasser und Winne Hörning bedanken.

Bei Dr. Petra Weissenbacher, Tom Fenzl, Andi Nixdorf und Markus Drexl möchte ich mich ganz besonders für die schöne Zeit auch außerhalb des universitären Alltags bedanken. Ich hoffe sehr, wir werden uns trotz der unterschiedlichen Wege weiterhin sehen.

Dies gilt auch für die gesamte Arbeitsgruppe, Claudia Schulte, Sabine Peisker, Andrea Gabereder, Jan Grunwald, Alexandra Stein, Michael Sala, Ariane Santoso, Maike Schuchmann, Dieter Leippert, Dr. Lutz Wiegrebe, Dr. Alex Kaiser, Prof. Schlegel, Prof. Schuller, Dr. Schweizer und Frau Young. Bei Ihnen möchte ich mich für die Beantwortung manch fachlicher Fragen, der netten Atmosphäre und die Präsenz Einiger an der Raucherbank bedanken.

Für die Gastfreundschaft während meiner „Klausur“ möchte ich mich bei Babara Denk und Patrick van Lankeren noch einmal bedanken. Auch wenn ich Ende Mai bei Ihnen im Winterpulli am Laptop sitzen musste und der Swimming-Pool nicht benutzbar war.

Für die anregenden Diskussionen im JoCa und anderswo bedanke ich mich bei Marco und Martina Scelsi (auch für die Laptop-Unterstützung) sowie bei Bernhard Schmidhuber für mathematisch relevante Fragen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Mutter Elfriede, ohne deren jahrelang anhaltende liebevolle, und auch monetäre Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Und natürlich möchte ich mich auch bei meiner ganzen Familie, meinen Schwestern Evi und Ulli und Allen, die dazugehören bedanken.

Auf diese Weise möchte ich mich bei meiner Zuckerschnecke Cara entschuldigen, dass ich besonders in der Endphase dieser Arbeit so wenig Zeit für die Tick-Tack-Uhr hatte und nicht viel mit ihr schaukeln konnte. Wird aber nachgeholt! Versprochen!

Ganz HERZlich muss ich mich bei meiner Pippilotta bedanken, dass sie mich in dieser anstrengenden Zeit ertragen hat, alle Probleme von mir fernhielt und immer aufmunternde Worte für mich fand. Man kann es leider nicht so kurz ausdrücken. Danke für die Aufrechterhaltung *meiner* neuronalen Aktivität.

Die Arbeit wurde von mir selbständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel durchgeführt

München, den 30.Juni 2003