
Das efferente System und die cochleäre Mikromechanik der Schnurrbartfledermaus

Markus Drexl



München 2003

Das efferente System und die cochleäre Mikromechanik der Schnurrbartfledermaus

Markus Drexl

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

vorgelegt von
Markus Drexl
aus Landsberg a. Lech

München, den 4. Juli 2003

Erstgutachter: Prof. Dr. Manfred Kössl
Zweitgutachter: Prof. Dr. Dr. Gerhard Neuweiler
Tag der mündlichen Prüfung: 22. August 2003

Für Bille

Ducunt volentem fata,
nolentem trahunt (Seneca, ep. 107, 11)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	ix
Abkürzungsverzeichnis	xi
Zusammenfassung	xv
1 Einleitung: Die nichtlineare Cochlea und das efferente System	1
1.1 Das Hören der Säugetiere	1
1.1.1 Das Cortische Organ	1
1.1.2 Der Transduktionsprozeß	4
1.1.3 Die Hörbahn	7
1.2 Otoakustische Emissionen und ihre praktische Anwendung	8
1.3 Die Schnurrbartfledermaus als Modelltier für die cochleäre Mikromechanik	10
1.4 Das efferente System und seine Funktionen	15
1.4.1 Das efferente System der Normalsäuger	15
1.4.2 Das efferente System der Schnurrbartfledermaus	17
2 Material und Methoden	19
2.1 Akustische Messungen	19
2.1.1 Verzerrungsprodukt otoakustische Emissionen (DPOAE)	20
2.1.2 Verzögerte otoakustische Emissionen (DEOAE)	21
2.2 Cochleäre Mikrophonpotentiale	22
2.3 Elektrische Stimulation von Gehirnarealen	24
2.4 Die Anästhesie mit Isofluran	25
2.5 Statistische Analyse	27
3 Ergebnisse	29
3.1 Beeinflussung der OAE durch kontralaterale akustische Stimulation	29
3.2 Die Eigenschaften von DPOAE und deren Beeinflussung durch kontralaterale akustische Stimulation während der Isofluranapplikation	37
3.3 Isofluran und spontane otoakustische Emissionen	39
3.4 Beeinflussung von DEOAE und CM durch elektrische Stimulation des ICc und des auditorischen Cortex	45
3.4.1 Elektrische Stimulierung des ICc während der Messung von cochleären Mikrophonpotentialen	45
3.4.2 Elektrische Stimulierung des primären auditorischen Cortex während der Messung von DEOAE	53

4 Diskussion	55
4.1 Der Einfluß kontralateraler akustischer Stimulierung auf die Generierung von OAE	55
4.1.1 Methodische Betrachtungen	55
4.1.2 Der Einfluß der spektralen Bandbreite des kontralateralen Stimulus auf die Generierung von OAE	56
4.1.3 Der Einfluß des individuellen, kontralateral präsentierten Echoortungsrufs auf die Generierung von OAE	57
4.1.4 Eine durch das efferente System kontrollierte Hopf-Verzweigung in der Cochlea der Schnurrbartfledermaus?	58
4.2 Der Einfluß der Isoflurananästhesie auf die Generierung von OAE und auf die Aktivität des efferenten Systems	60
4.2.1 Die Generierung von DPOAE während der Applikation von Isofluran	60
4.2.2 Beeinflussung der Druckverhältnisse im Innenohr durch allgemeine Anästhetika	62
4.2.3 Beeinflussung des cochleären Blutflusses und seiner Autoregulation durch allgemeine Anästhetika	62
4.2.4 Beeinflussung des Mittelohrmuskelreflexes durch allgemeine Anästhetika	63
4.2.5 Beeinflussung des olivocochleären efferenten Reflexes durch allgemeine Anästhetika	64
4.3 Der Einfluß elektrischer Stimulation des ICc auf cochleäre Mikrophonpotentiale	66
4.3.1 Methodische Betrachtungen	66
4.3.2 Elektrische Stimulation des ICc bewirkt eine Verschiebung der cochleären Resonanzfrequenz	68
4.3.3 Die Relevanz der Modulation von Haarzellen durch das absteigende auditorische System	72
4.4 Schlußfolgerungen	74
Literaturverzeichnis	77
Lebenslauf	91
Publikationen	93
Danksagung	95
Ehrenwörtliche Erklärung	97

Abbildungsverzeichnis

1.1	Querschnitt durch eine Cochleawindung	2
1.2	Querschnitt durch die <i>Scala media</i> der Cochlea	3
1.3	Seitenansicht von Gehörgang, Mittelohr und Cochlea	5
1.4	Portrait der Schnurrbartfledermaus, <i>Pteronotus p. parnellii</i>	11
1.5	Der Echoortungsruf der Schnurrbartfledermaus	12
1.6	Horizontalprojektion der Basalwindung der Cochlea der Schnurrbartfledermaus	13
1.7	Morphologische Spezialisierungen innerhalb der Cochlea der Schnurrbartfledermaus	14
1.8	Schema des olivocochleären efferenten Systems der Normalsäuger	16
1.9	Schematische Darstellung des olivocochleären efferenten Systems der Schnurrbartfledermaus	18
2.1	Der Versuchsaufbau für die Messung otoakustischer Emissionen mit einem Kopplersystem	20
2.2	Evozierung von DPOAE	21
2.3	Evozierung von DEOAE	23
2.4	Implantierung der CM-Elektroden	24
2.5	Kreissystem für die Betäubung mit Isofluran	26
3.1	Vergleich der Ruhfrequenz (CF_2) und der $2f_1 - f_2$ -Frequenz von wachen und anästhesierten Fledermäusen.	30
3.2	DPOAE-Wachstumsfunktionen während kontralateraler, akustischer Stimulation mit Breitbandrauschen bei verschiedenen Pegeln	30
3.3	Wachstumsfunktionen der $2f_1 - f_2$ DPOAE-Amplituden während kontralateraler, akustischer Stimulation mit Breitbandrauschen	32
3.4	Gemittelte Wachstumskurven der DPOAE-Amplitude während kontralateraler Stimulation mit CLN	33
3.5	DPOAE-Wachstumsfunktionen, evoziert mit 30 kHz, während kontralateraler, akustischer Stimulation mit CLN.	33
3.6	DPOAE evoziert mit konstanten Primärtonpegel während kontralateraler Stimulation mit Reintönen	34
3.7	DPOAE-Wachstumsfunktionen während der kontralateralen Präsentation des jeweiligen, individuellen Echoortungsrufes	35
3.8	DEOAE Q-Werte während kontralateraler Präsentation der individuellen Echoortungsrufe	36
3.9	Box-plot der l_2 -Pegel zum Erreichen des Schwellenkriteriums für den DPOAE-Pegel	38

3.10	Box-plot der DPOAE-Amplituden der Kontroll- und Isoflurangruppe bei Primärtonpegeln l_2 von 30 und 40 dB SPL	38
3.11	DPOAE-Wachstumsfunktionen während kontralateraler akustischer Stimulation mit CLN, gemessen während der Applikation von Isofluran	40
3.12	Spontane otoakustische Emission bei 60.4 kHz und einem Pegel von 42 dB SPL	40
3.13	Suppression von SOAE durch akustische Stimuli	41
3.14	Pseudo-SOAE	42
3.15	Beeinflussung der SOAE durch verschiedene Isoflurankonzentrationen	43
3.16	Abhängigkeit der DPOAE-Amplitude von der Isoflurankonzentration	44
3.17	Evozierung von cochleären Mikrophonpotentialen	46
3.18	Schwebungen in der cochleären Nachschwingung einer mit Isofluran betäubten Schnurrbartfledermaus	47
3.19	Verschiebung der optimalen Stimulusfrequenz für die CM-Evozierung (BF-CM) während elektrischer Stimulation	48
3.20	Verschiebung der Resonanzfrequenz des CM während elektrischer Stimulation im kontralateralen ICc	49
3.21	Veränderung der CM-BF und der Frequenz der Nachschwingung des cochleären Mikrophonpotentials	50
3.22	Veränderung der CM-Amplitude und der Amplitude der Nachschwingung während elektrischer Stimulation des ICc	50
3.23	Verringerung der CM-Amplitude als Funktion der Zeit während elektrischer Stimulation des kontralateralen ICc	51
3.24	Erhöhung der CM-Amplitude während elektrischer Stimulation des ICc	52
3.25	Veränderung der gemittelten Wachstumsfunktion cochleärer Mikrophonpotentiale während elektrischer Stimulation im ICc	52
3.26	Veränderung der Amplitude der DEOAE-Nachschwingung nach elektrischer Stimulation im kontralateralen primären auditorischen Cortex	53
4.1	Die Hopfverzweigung	59
4.2	Die tonotope Repräsentation im ICc der Schnurrbartfledermaus	70

Abkürzungsverzeichnis

$2f_1 - f_2$	Kubisches Verzerrungsprodukt
f_1	Primärtonfrequenz f_1
f_2	Primärtonfrequenz f_2
l_1	Pegel des Primärtons f_1
l_2	Pegel des Primärtons f_2
AC	Auditorischer Cortex
ACh	Acetylcholin
BF	Beste Frequenz, d.h. die optimale Anregungsfrequenz
BF-CM	Optimale Anregungsfrequenz zur Erzielung maximaler Amplituden des cochleären Mikrophonpotentials
BM	Basilarmembran
CAP	<i>Compound action potential</i> (engl.), Summenaktionspotential
CEC	<i>Contralateral echolocation call</i> (engl.), kontralateral präsentierter Echoortungsruf
CF_2	Konstantfrequenter Anteil der 2. Harmonischen des Echoortungsrufes der Schnurrbartfledermaus
CF	Charakteristische Frequenz
CLN	<i>Contralateral noise</i> (engl.), kontralateral präsentiertes Breitbandrauschen
CM	Cochleäres Mikrophonpotential
COCB	<i>Crossed olivocochlear bundle</i> (engl.), gekreuztes, d.h. von einer Gehirnhälfte zur anderen verlaufendes olivocochleäres Bündel
CRF	<i>Cochlear resonance frequency</i> (engl.), cochleäre Resonanzfrequenz
DEOAE	<i>Delayed otoacoustic emission</i> (engl.), verzögerte otoakustische Emission
DMPO	<i>Dorsomedialer periolivärer Nucleus</i> , eine Gehirnregion im Hirnstamm

DPOAE	<i>Distortion product otoacoustic emission</i> (engl.), Verzerrungsprodukt otoakustische Emission
DT	<i>Decay time</i> (engl.), die Zeit, innerhalb der die Nachschwingungsamplitude auf 37 % ihres Anfangswertes sinkt
EP	evoziertes Potential
FFT	<i>Fast Fourier Transformation</i> (engl.), Algorithmus zur Berechnung eines Frequenzspektrums
ICc	<i>Central inferior colliculus</i> (engl.), zentraler Bereich des <i>Colliculus inferior</i>
ICd	<i>Dorsal inferior colliculus</i> (engl.), dorsaler Bereich des <i>Colliculus inferior</i>
ICx	<i>external inferior colliculus</i> (engl.), externer Bereich des <i>Colliculus inferior</i>
IC	<i>Colliculus inferior</i> , ein Hirnareal im Mittelhirn
IHC	<i>Inner hair cell</i> (engl.), innere Haarzelle
LOC	Laterales olivocochleäres Bündel
MEM	<i>Middle ear muscles</i> (engl.), Mittelohrmuskeln
MOC	Mediales olivocochleäres Bündel
MSO	<i>Medial superior olivary complex</i> (engl.), medialer oberer Olivenkomplex; Teil des SOC
LSO	<i>Lateral superior olivary complex</i> (engl.), lateraler oberer Olivenkomplex; Teil des SOC
OAE	Otoakustische Emission
OCB	Olivocochleäres Bündel
OHC	<i>Outer hair cell</i> (engl.), äußere Haarzelle
Q-Wert	Maß für die Dämpfung und damit die Nachschwingzeit eines Resonators
SI	<i>Sparsely innervated zone</i> (engl.), spärlich innervierter Bereich der Cochlea der Schnurrbartfledermaus
SOAE	Spontane otoakustische Emission
SOC	<i>Superior olivary complex</i> (engl.), oberer Olivenkomplex
SSC	<i>Subsurface cisterns</i> (engl.), Ca^{2+} -speichernde Organellen in den äußeren Haarzellen

TEOAE	<i>Transient evoked otoacoustic emission</i> (engl.), synonymer Begriff für DEOAE
TM	Tektorialmembran
UOCB	<i>Uncrossed olivocochlear bundle</i> (engl.), ungekreuztes olivocochleäres Bündel
WW	Wanderwelle

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Kontrolle des Innenohrs durch Nervenfasern des absteigenden auditorischen Systems in der neuweltlichen Schnurrbartfledermaus *Pteronotus p. parnellii*.

Um Veränderung im Innenohr zu detektieren, stützten sich die Experimente auf zwei Meßgrößen. Zum einen wurden sogenannte otoakustische Emissionen gemessen, aktiv vom Innenohr produzierte Schallereignisse, die in gegensätzlicher Richtung zum eigentlichen Hörprozeß zum Mittelohr geleitet werden. Im Gehörgang lassen sie sich dann mit einem empfindlichen Mikrophon messen. Otoakustische Emissionen sind gut geeignet, um Veränderungen im Innenohr festzustellen, da sie dort durch aktive Prozesse generiert werden. Als weitere Meßgröße wurden die elektrischen Potentiale der Schallrezeptoren in der Gehörschnecke des Innenohrs, der Cochlea, gemessen. Diese sogenannten Haarzellen sind Mechanorezeptoren, die einen Stereoziliensaum besitzen, mit dem die Schallwellen letztlich im Innenohr detektiert werden. Die Haarzellen werden in zwei Klassen eingeteilt, wobei die sogenannten inneren Haarzellen die eigentlichen Rezeptoren darstellen. Deren Aktivität wird vom Hörnerv kodiert und in der aufsteigenden Hörbahn verarbeitet. Die äußeren Haarzellen sind neben ihrer Rezeptorfunktion auch Effektoren und können durch periodische Kontraktionen ihres Somas aktiv mechanische Energie erzeugen, die einlaufende Schallwellen zusätzlich verstärkt. Dieser Vorgang ist die Grundlage für die sensitive Schallwahrnehmung im Gehör der Säugetiere. Die äußeren Haarzellen gehen synaptische Kontakte mit efferenten Fasern der absteigenden auditorischen Hörbahn ein, die die elektrischen und mechanischen Eigenschaften der äußeren Haarzellen verändern können. Die Schnurrbartfledermaus eignet sich besonders für derartige Experimente, da ihr Innenohr zahlreiche morphologische Spezialisierungen aufweist. Diese Spezialisierungen bilden einen scharf abgestimmten Resonanzmechanismus, der besonders deutliche cochleäre Antworten produziert. Dieser Resonanzmechanismus leistet in der Schnurrbartfledermaus einen entscheidenden Beitrag zur selektiven Wahrnehmung von Beuteechos.

Das efferente System läßt sich durch akustische Stimulierung des kontralateralen Ohres aktivieren, was in dieser Studie mit verschiedenartigen Tonstimuli durchgeführt wurde. Dabei riefen Rauschstimuli eine Verringerung der Meßgröße hervor, der individuelle Echoortungslaut der Fledermaus hingegen bewirkte eine Vergrößerung. Das efferente System der Schnurrbartfledermaus scheint selektiv auf verschiedenartige akustische Stimuli mit unterschiedlicher Aktivität zu reagieren und je nach Art des Stimulus einen dämpfenden oder aktivierenden Einfluß auf die Aktivität der Cochlea zu nehmen.

In einer Erweiterung der Experimente an unbetäubten Fledermäusen wurde der Einfluß des gasförmigen Anästhetikums Isofluran untersucht. Während der Applikation von Isofluran zeigte sich eine Erhöhung der cochleären Aktivität, was sich in einer Vergrößerung der Amplituden der otoakustischen Emissionen manifestierte. Gleichzeitig

kam es zu einer Verringerung der suppressiven Effekte des efferenten Systems, das durch akustische Stimuli aktiviert wurde, um durchschnittlich 70%. Isofluran scheint also die Aktivität des efferenten Systems zu verringern. Geht man davon aus, daß das efferente System im Ruhezustand einen intermediären suppressiven Einfluß auf die Cochleamechanik hat, würde eine Verringerung der efferenten Aktivität eine Disinhibition der Cochleamechanik und eine Erhöhung cochleärer Antworten bedeuten.

In einem weiteren Experiment wurde versucht, die Eingänge des efferenten Systems in der absteigenden Hörbahn elektrisch zu aktivieren. Dies geschah im *Colliculus inferior*, einem Kern des Mittelhirns. Die elektrische Stimulierung führt zu einer Verringerung der Amplitude der cochleären Mikrofonpotentiale und zu einer Erhöhung der cochleären Schwingungsfrequenz. Somit steuern höhere Zentren der Hörbahn das efferente System und modulieren die Aktivität der Cochlea.

Das efferente System der Schnurrbartfledermaus scheint eine wichtige Rolle bei der selektiven Wahrnehmung von biologisch relevanten Signalen, wie beispielsweise Echoortungsrufe, zu spielen. Zudem könnte in der Schnurrbartfledermaus die Kontrolle des kritisch abgestimmten Schwingungsmechanismus eine wichtige Aufgabe des efferenten Systems darstellen. Ist diese Kontrolle beeinträchtigt, neigt die cochleäre Mikromechanik zu spontanen Oszillationen, die die Wahrnehmung biologischer Signale beeinträchtigen können. Der Resonanzmechanismus der Schnurrbartfledermaus besteht aus zumindest zwei Resonatoren, die gekoppelt über äußere Haarzellen, synchronisiert werden müssen, um ihre Funktion optimal ausüben zu können. Dabei könnte das efferente System durch Kontrolle der Eigenschaften der äußeren Haarzellen einen wichtigen Beitrag leisten.

1 Einleitung: Die nichtlineare Cochlea und das efferente System

Das Hören ist ein einzigartiger Sinn. Keine andere Sinnesmodalität vereinigt so viele komplexe physikalische und neurobiologische Phänomene in sich wie das Hören. Bereits ein Schalldruck der sehr geringen Intensität von $20 \mu\text{Pa}$ kann vom Menschen wahrgenommen werden. Kräfte, die deutlich geringer als die Brownsche Molekularbewegung sind, reichen dabei aus, um spezifische Rezeptorzellen des Innenohrs zu stimulieren. Diese Sensitivität des Innenohrs wird erreicht durch eine mikromechanische Meisterleistung der Innenohrkonstruktion, gepaart mit einem elektromechanischen Verstärkungsmechanismus, der selbst sehr hohen Frequenzen folgen kann. Im folgenden soll ein kurzer Abriss der Vorgänge während des Hörens erfolgen und im Anschluß daran die Steuerung der Hörprozesse durch absteigende Fasern der Hörbahn, des efferenten Systems, erläutert werden. Anschließend wird das Versuchstier vorgestellt, und die Eigenschaften werden erläutert, die es zu einem idealen Modelltier machen.

1.1 Das Hören der Säugetiere

Das Gehör der Säugetiere besitzt eine außergewöhnliche Sensitivität für die Detektion von Schall, die landlebende Säuger als periodische Schwankung des Luftdrucks, der im Mittel 10^5 Pa beträgt, erfahren. Im Wasser lebende Säuger, wie beispielsweise die Wale, nehmen Veränderungen des Wasserdrucks wahr. Im menschlichen Gehör reicht bei einer Tonhöhe von 1 kHz bereits eine Druckänderung von $20 \mu\text{Pa}$ aus, um eine Schallempfindung auszulösen. Die Strukturen in der Gehörschnecke (Cochlea), die während des Hörprozesses bewegt werden, werden dabei an der Detektionsschwelle um Beträge ausgelenkt, die in der Größenordnung von Atombindungen liegen und wenige 100 \AA betragen.

1.1.1 Das Cortische Organ

Die wichtigste Struktur der Cochlea ist das Cortische Organ, das die eigentlichen Rezeptoren, die Haarzellen, enthält. Es befindet sich im mittleren von drei flüssigkeitsgefüllten Kompartimenten der Cochlea, das man als *Scala media* bezeichnet (siehe Abb. 1.1). Die *Scala media* wird begrenzt von der *Scala tympani* und der *Scala vestibuli*. Diese drei Kompartimente unterscheiden sich insbesondere in ihrer Ionenkomposition. Eine Besonderheit stellt dabei die *Scala media* dar, die Endolymphe beinhaltet, welche sich gegenüber sonstigen extrazellulären Flüssigkeiten durch ihren hohen Anteil an K^+ -Ionen und einer geringen Na^+ -Konzentration auszeichnet. Das flüssige Medium in der

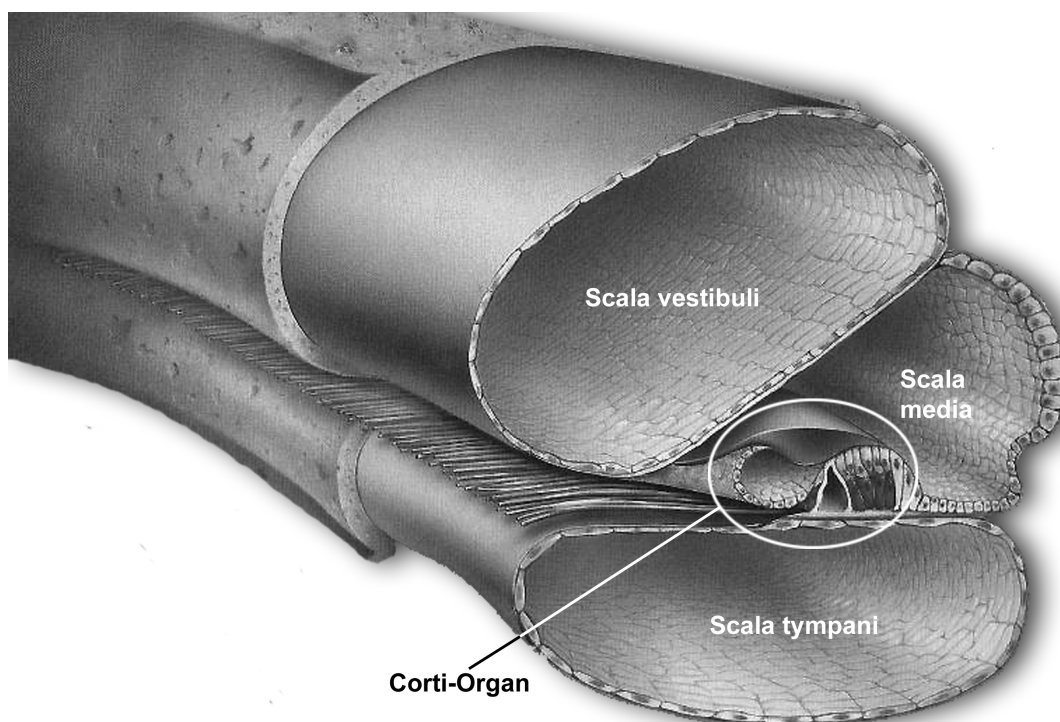


Abbildung 1.1: Querschnitt durch eine Windung der schneckenförmig aufgewundenen Cochlea. Man erkennt die Aufteilung in drei flüssigkeitsgefüllte Kompartimente. Im mittleren Kompartiment, der *Scala media*, befindet sich das *Cortische Organ*, die Struktur in der sich die Haarzellen befinden. Dort findet die mechanoelektrische Transduktion eines akustischen Signals in elektrische Potentiale statt. Die *Scala media* enthält Endolymphe, während die *Scala vestibuli* und *Scala tympani* Perilymphe enthalten.

Scala tympani und der *Scala vestibuli* bezeichnet man als Perilymphe, deren Ionenzusammensetzung sonstigen extrazellulären Flüssigkeiten ähnelt.

Das *Cortische Organ* enthält zwei morphologisch und funktionell unterschiedliche Haarzelltypen, die auf einer azellulären Struktur, der Basilarmembran (BM) angeordnet sind: Die inneren Haarzellen befinden sich in direkter Nachbarschaft des knöchernen Cochleazentrums (*Modiolus*), und dienen der eigentlichen Reizaufnahme, so daß sie dementsprechend eine reiche afferente Innervierung besitzen. Die äußeren Haarzellen findet man in der Nähe der Cochleaoberfläche. Sie besitzen nur eine geringe afferente Innervierung und ihre Hauptaufgabe liegt in der aktiven Verstärkung einlaufender Schallstimuli. Die Haarzellen sind entlang der Basilarmembran in drei Reihen von äußeren Haarzellen (OHC) angeordnet, während die inneren (IHC) nur in einer einfachen Reihe vorliegen (siehe Abb. 1.2).

Bei vielen Säugerarten weisen die OHC morphologische Gradienten auf: Ihre Länge nimmt vom ovalen Fenster (Basis) ausgehend zur Spitze der Cochlea (Apex) kontinuierlich zu (Pujol et al., 1999). Dieses Phänomen ist eng verknüpft mit der Tonotopie, der ortsgetreuen Abbildung einer bestimmten Frequenz auf der Basilarmembran. Dies

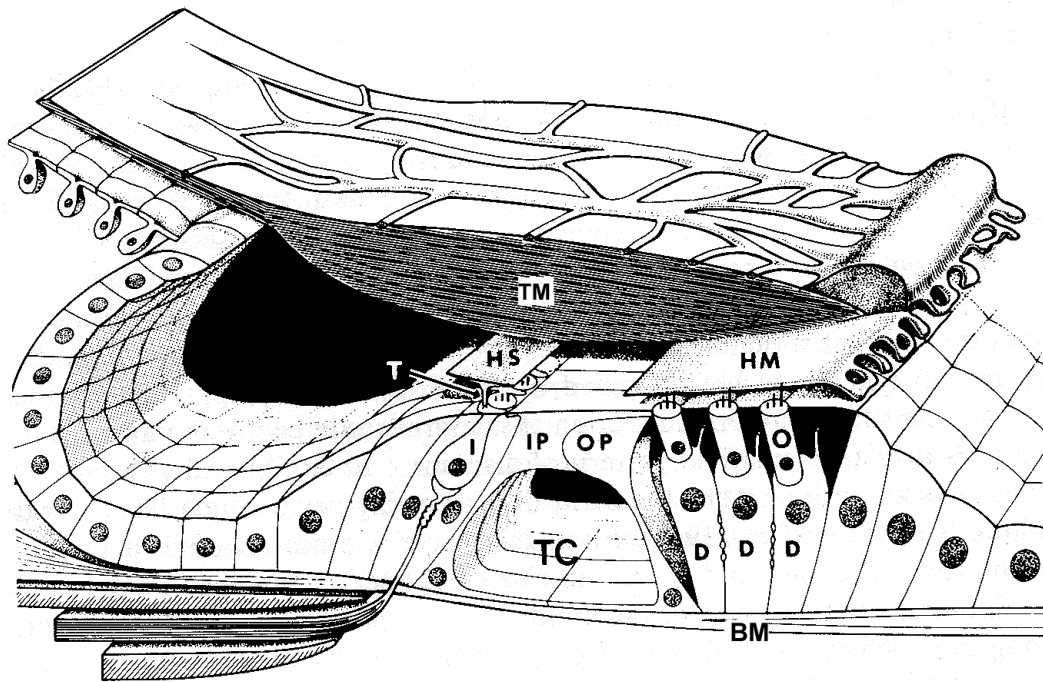


Abbildung 1.2: Querschnitt durch die *Scala media* der Cochlea. Deutlich sind drei Reihen von äußeren Haarzellen (O), auf Deiterszellen (D) sitzend, zu erkennen, denen eine Reihe von inneren Haarzellen (I) gegenüberliegt. Die beiden Haarzellpopulationen werden durch die inneren (IP) und äußeren Pfeilerzellen (OP) getrennt, die den Corti-Tunnel (TC) bilden. Unterhalb des Corti-Tunnels liegt die Basilarmembran (BM), der die genannten Strukturen aufsitzen. Sie werden von der Tektorialmembran (TM) bedeckt, die über Hardestys Membran (HM) mit den Stereozilien der äußeren Haarzellen verbunden ist. Die Trabekel (T) des Hensen-Streifens (HS) kontaktieren die Kutikularplatte der inneren Haarzellen (I). Verändert nach Echteler et al. (1994).

bedeutet, daß in der Cochlea eine Frequenz-Orts-Transformation vorgenommen wird, die es ermöglicht, die Verarbeitung einer definierten Frequenz auf einen bestimmten Membranort zu beschränken. Dies ist ein zentrales Prinzip innerhalb des Transduktionsprozesses der Cochlea, also der Kodierung eines akustischen Stimulus in Nervenimpulse.

1.1.2 Der Transduktionsprozeß

Die erste Station einer Schallwelle bei ihrer Wanderung zur Cochlea ist das Außenohr, das bei Säugern als wichtigste Bestandteile aus *Pinna* und *Tragus* besteht. Es läßt sich annähernd als ein konischer Trichter beschreiben, der bereits frequenzselektive Verstärkungs- und Abschwächungseffekte zeigt. Von dort wird der Schall weiter zum Gehörgang (*Meatus*) geleitet, der am Trommelfell (*Tympanum*) endet, das er in Schwingung versetzt. Das Trommelfell besteht aus mehreren Gewebelagen und ist in zwei Bereiche unterteilt, dem *Pars flaccida* und dem *Pars tensa*. An letzterem setzt die Gehörknöchelchenkette mit ihrem ersten Knochen, dem Hammer (*Malleus*) an. Das *Tympanum* ist letztendlich am knöchernen Teil des Gehörgangs mit einem ringförmiges Ligament (*Ligamentum annularis*) befestigt. Die Vibrationen des *Tympanum* werden vom *Malleus* auf die weiteren Bestandteile der Gehörknöchelchenkette Amboß (*Incus*) und Steigbügel (*Stapes*) und von dort zur basalen Begrenzung der *Scala vestibuli*, dem ovalen Fenster, übertragen. Hier gelangt die Schallenergie in das flüssige Medium der Cochlea (siehe Abb. 1.3). *Tympanum* und Gehörknöchelchenkette üben dabei bereits eine Verstärkerfunktion aus, indem sie den am Trommelfell einlaufenden Schall um bis zu 30 dB verstärken. Diese Verstärkung ist nötig, um eine Impedanzanpassung zu erreichen, denn das flüssige Medium des Innenohrs weist eine wesentlich höhere Impedanz als die des luftgefüllten Mittelohrs auf. Ohne diese Anpassung würden mehr als 99% des Schalls am ovalen Fenster reflektiert werden. Das runde Fenster stellt das basale Ende der *Scala tympani* dar, die am apikalen Ende vom *Helikotrema* begrenzt wird, über das sie mit der *Scala vestibuli* kommuniziert. Der *Stapes* steht mit dem ovalen Fenster in Verbindung, dessen Auslenkung nun die Schallwelle vom gasförmigen Medium Luft in das flüssige Medium der Perilymphe überführt. So entsteht eine Druckwelle, die alle drei *Scalae* durchquert und etwa mit der Geschwindigkeit von Schall in Wasser (1550 m/s) innerhalb weniger Mikrosekunden die ganze Cochlea durchläuft (Robles und Ruggero, 2001). Diese Druckwelle versetzt auch die Basilarmembran in Schwingung, wofür sich gemeinhin der Begriff „Wanderwelle“ (WW) etabliert hat. Damit bezeichnet man die von der Basis zum Apex wandernde Auslenkung der BM, die ihr Maximum an einem für die Frequenz charakteristischen, tonotopen Ort erreicht. Somit ist jedem Ort der Basilarmembran eine charakteristische Frequenz (CF) zugeordnet, wobei lange Zeit davon ausgegangen wurde, daß die charakteristische Frequenz eines Membranortes durch die Steifheit der BM bestimmt wird. Bereits von Békésy ermittelt für die BM einen baso-apikalen Gradienten von abnehmender Steifheit, der zur Abbildung von hohen Frequenzen an der Basis und von niedrigen Frequenzen am Apex führt (von Békésy, 1956). Aktuelle Resultate ergaben jedoch, daß die mechanischen Gradienten und die longitudinale Kopplung entlang der Basilarmembran nicht ausreichend sind,

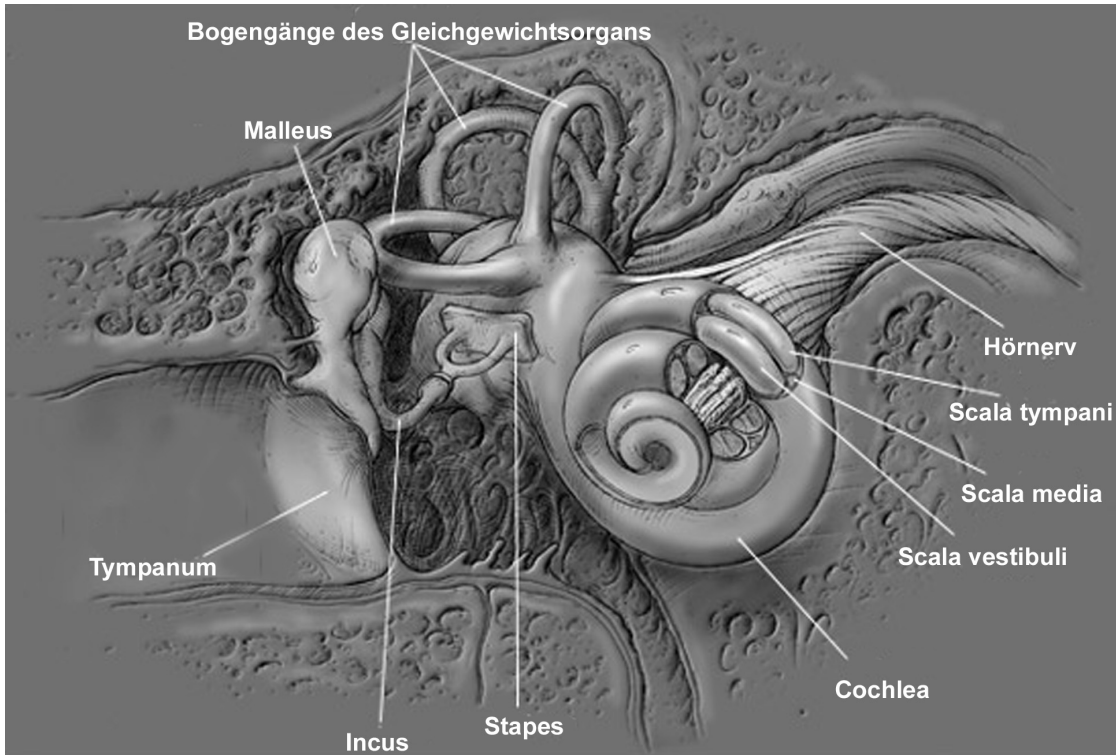


Abbildung 1.3: Seitenansicht von Gehörgang, Mittelohr und Cochlea. Die Schwingungen des Trommelfells (*Tympanum*) werden über die drei Gehörknöchelchen Hammer (*Malleus*), Amboß (*Incus*) und Steigbügel (*Stapes*) auf das ovale Fenster der Cochlea übertragen. In der schematischen Darstellung ist die Lage der *Scalae* in der aufgewundenen Cochlea gezeigt.

um den entsprechenden Frequenzbereich tonotop abzubilden (Duke und Julicher, 2003; Naidu und Mountain, 1998; Richter et al., 1998; Voldrich, 1978).

In jüngster Zeit häufen sich Befunde, die gegen eine klassische Wanderwelle im Sinne von v. Békésy sprechen (Cooper und Rhode, 1996; Magnan et al., 1999). Eine alternative Betrachtungsweise der tonotopen Abbildung auf der Basilarmembran stellt eine Batterie von auf die jeweilige CF des Membranortes abgestimmten Resonatoren dar. Deren Einschwingzeit hängt vom Grad der Frequenzabstimmung ab und nimmt von der Basis zum Apex zu (z.B. Duke und Julicher, 2003). Dieser Theorie zufolge existiert die klassische WW, die von der Basis zum CF-Ort wandert, nur bei hohen Stimuluspegeln und erreicht ihre Maximalamplitude an einem Ort dessen CF eine halbe Oktave höher (im apikalen Bereich der Cochlea) oder niedriger (im basalen Bereich der Cochlea) liegt als bei moderaten Schallpegeln (Braun, 1994). Die für den Hörprozeß wichtige lokale Resonanz am eigentlichen CF-Ort erzeugt als Epiphänomen eine lokale Wanderwelle, die auf wenige hundert Mikrometer basal und apikal vom CF-Ort begrenzt ist und ein Resultat der sukzessive einschwingenden Resonatoren darstellt (Nilsen und Russell, 1999, 2000; Ren, 2002).

Äußere Haarzellen am CF-Membranort detektieren die Schwingungen des Cortischen Organs. Dies geschieht durch Auslenkungen der Stereozilien der äußeren Haarzellen (OHC), was durch Scherbewegungen zwischen Basilarmembran und der den Stereozilien aufliegenden Tektorialmembran, einer azellulären, gelartigen Struktur, verursacht wird. Die Auslenkung der Stereozilien führt zur Öffnung von speziellen Kationenkanälen (MET-Kanäle), die sich im apikalen Bereich der Stereozilien befinden. Eine Haarzelle besitzt ein Bündel von Stereozilien, das man als Haarbündel bezeichnet. Sie sind bei den OHC meist V- bzw. W-förmig in Reihen angeordnet und weisen einen Längengradienten auf. Die Auslenkung des Haarbündels zum größten Stereocilium hin führt zur Öffnung, die Auslenkung zur entgegengesetzten Seite zur Schließung der MET-Kanäle.

Durch den geöffneten Ionenkanal strömen hauptsächlich K^+ - und Ca^{2+} -Ionen in die Haarzelle ein, getrieben durch den elektrochemischen Gradienten zwischen Endolymphe und intrazellulärem Medium der OHC. Der Einstrom von Kationen durch die geöffneten Ionenkanäle führt zur Depolarisation der OHC, das Schließen der Kanäle zur Hyperpolarisation. OHC sind in der Lage, diese Änderung ihres Membranpotentials mit einer Längenänderung zu beantworten, wobei eine Depolarisation zur Kontraktion, eine Hyperpolarisation zur Elongation der Haarzelle führt (Brownell et al., 1985). Verantwortlich für diese Längenänderung ist ein Membranprotein namens Prestin (Dallos und Fakler, 2002; Zheng et al., 2002, 2000a), das vermutlich seine Konformation in Abhängigkeit vom Membranpotential ändert (Oliver et al., 2001; Santos-Sacchi und Navarrete, 2002). Dieses Motorprotein verleiht der Haarzelle ihre piezoelektrischen Eigenschaften (Ludwig et al., 2001), befähigt es also sowohl zur mechanoelektrischen als auch zur elektromechanischen Transduktion. Die äußere Haarzelle vereint in sich somit Rezeptor- und Effektoreigenschaften und ist in der Lage, aktiv mechanische Energie zu erzeugen, ohne daß dabei in der Haarzelle ATP hydrolysiert wird. Die notwendige Energie wird in Form eines Potentialgefälles zwischen Endo- und Perilymphe zur Verfügung gestellt, das von Ionenpumpen in den Marginalzellen

der *Stria vascularis* aufrecht erhalten wird. Dies erfüllt die Forderung der Schnelligkeit dieses Prozesses, der auch hochfrequenten Schwingungen bis zumindest 70 kHz folgen kann (Frank et al., 1999). Die somit aktiv erzeugte mechanische Energie wird in die Membranschwingung am CF-Ort zurückgeführt und verstärkt die ursprüngliche effektiv zur Verfügung stehende Stimulusenergie um bis zu 60 dB. Dieses Konzept ist bekannt als das des cochleären Verstärkers (Davis, 1983) und ermöglicht erst die außerordentliche Sensitivität des Gehörs der Säugetiere. Dieser Verstärkungsprozess verhält sich höchst nichtlinear und sättigt bei Eingangspegeln, die etwa 60 dB SPL übersteigen. Die aktive Generierung mechanischer Energie im Innenohr zum Erreichen der außerordentlichen Sensitivität des Säugergehörs wurde bereits Mitte des letzten Jahrhunderts gefordert (Gold, 1948; Gold und Pumphrey, 1948). Der aktive Prozeß des cochleären Verstärkers ist auch die Grundlage für die Entstehung von otoakustischen Emissionen, also von aktiv im Innenohr generiertem Schall, der mit sensitiven Mikrofonen im Gehörgang aufgezeichnet werden kann. Mit der Betrachtungsweise eines vom Membranpotential getriebenen, elektromotilen Prozesses in der lateralen Zellmembran der OHC taucht allerdings auch ein bislang ungelöstes Problem auf. So sind zwar elektromotile Bewegungen von mehr als 70 kHz nachgewiesen (Frank et al., 1999), jedoch nur unter in vitro-Bedingungen mit einem extern angelegten Wechselstrompotential. Beim natürlicherweise auftretenden Rezeptorpotential der OHC stellt sich jedoch das Problem der Tiefpaßfilterung durch die Membraneigenschaften, die ab einer Frequenz von 1 kHz pro Oktave mit einem Verlust von 6 dB zu Buche schlägt (Santos-Sacchi et al., 1998). Dementsprechend ist ein reizesynchrones Umladen der Membran, die letztendlich ein RC-Glied, also eine Kombination aus Widerstand und Kondensator darstellt, nicht mehr gewährleistet. Diese Problematik wird momentan intensiv diskutiert und es existieren bereits die unterschiedlichsten Erklärungsversuche (Dong et al., 2002; Iwasa, 2001; Raphael et al., 2000; Rybalchenko und Santos-Sacchi, 2003; Santos-Sacchi et al., 1998; Spector et al., 2003).

1.1.3 Die Hörbahn

Nachdem akustische Reize in der Cochlea verarbeitet und im Hörnerv als Aktionspotentiale kodiert wurden, beginnt die Verarbeitung der im Stimulus enthaltenen Information in der aufsteigenden Hörbahn. Die aufsteigende Hörbahn übertrifft aufsteigende Bahnen anderer sensorischer Systeme wie des visuellen oder somatosensorischen Systems bei weitem an Komplexität. Sie stellt die Verbindung zwischen der Peripherie, dem Hörnerv, und den die Hierarchie des Hörens krönenden primären auditorischen Cortex her. Im folgenden sollen kurz die Umschaltstationen der Hörbahn erläutert werden: vom Hörnerv ausgehend beginnt die Hörbahn beim *Nucleus cochlearis* im Hirnstamm und kreuzt von hier zur anderen Gehirnhälfte, wobei bereits weitere Kerne, wie der *Nucleus olivaris superior* (SOC), in die Hörbahn integriert sind. Auf der kontralateralen Seite zieht die Hörbahn dann als *Lemniscus lateralis* zum *Colliculus inferior* (IC) weiter, der sich in weitere Regionen, bezeichnet nach ihrer Lage, einteilen läßt. Eine einfache Einteilung geht von den drei Regionen ICc (im zentralen Bereich des IC), ICd (im dorsalen Bereich des IC) und ICx (im äußeren Bereich des IC) aus. Die Hörbahn

führt dann weiter zum *Corpus geniculatum mediale* im Thalamus, von wo aus sie dann am primären auditorischen Cortex endet.

1.2 Otoakustische Emissionen und ihre praktische Anwendung

Vor 25 Jahren entdeckte Kemp (1978) eine Eigenschaft der menschlichen Cochlea, die bis dato übersehen wurde: die Abstrahlung von Schall aus dem menschlichen Ohr nach Stimulierung mit einem akustischen Reiz. Dieses Phänomen, in umgekehrter Richtung zum eigentlichen Hörprozeß verlaufend, nannte er Kemp-Echo. Anekdotisch waren mit dem bloßen Ohr wahrnehmbare Schallemissionen aus Hundehörschalen berichtet worden, aber David Kemp war der erste, der dieses Phänomen wissenschaftlich abhandelte. Zwischenzeitlich existiert eine Fülle von wissenschaftlichen Arbeiten, die sich diesem Phänomen widmen, das nun übereinstimmend mit dem Begriff otoakustische Emission (OAE) bezeichnet wird. Wenn auch Kemp (1978) die von ihm beobachteten cochleären Echos ohne Bemühung eines aktiven Prozesses erklärte, so herrscht heute nahezu Übereinstimmung, daß die Generierung von OAE eng mit den aktiven Eigenschaften der äußeren Haarzellen zusammenhängt (Wilson, 1980). Für cochleäre Echos, also durch einen tonalen Stimulus hervorgerufene OAE, vermutet man, daß ein Teil der einlaufenden Schallwellen an Inhomogenitäten der Basilar- und Tektorialmembran reflektiert wird und zurück zum ovalen Fenster wandert, um letztlich die Gehörknöchelchen und das *Tympanum* in Bewegung zu versetzen. Die reflektierten Schallwellen werden zusätzlich durch die Aktivität des cochleären Verstärkers amplifiziert (Shera und Guinan, 1999). Durch einen Reinton hervorgerufene OAE, wie sie auch innerhalb dieser Arbeit gemessen wurden, bezeichnet man als verzögerte otoakustische Emission (delayed evoked otoacoustic emission, DEOAE), da die OAE mit einer Verzögerung von mehreren Millisekunden nach Ende des Tonstimulus meßbar sind.

Inzwischen sind otoakustische Emissionen an vielen Säugern (z.B. Faulstich et al., 1996; Kössl, 1994b; Withnell et al., 2003), Reptilien (Manley und Kirk, 2001), Amphibien (van Dijk und Manley, 2001), Vögeln (Kettembeil et al., 1995) und sogar Evertebraten (Coro und Kössl, 1998; Kössl und Boyan, 2000) mit einer Vielzahl von Methoden evoziert worden. Eines der am Häufigsten verwendeten Meßprotokolle ist das der Verzerrungsprodukt-otoakustischen Emission (*Distortion product otoacoustic emission*, DPOAE). Dabei wird das Ohr gleichzeitig mit einer Kombination von zwei in der Frequenz verschiedenen Primärtönen f_1 und f_2 stimuliert. Die gleichzeitige Verarbeitung dieser zwei Reintöne im Innenohr führt zur Generierung von nicht in den eigentlichen Stimuli enthaltenen Frequenzen, am deutlichsten bei der Frequenz $2f_1 - f_2$. Diese sogenannten kubischen Verzerrungsprodukte werden vermutlich im Bereich der Überlappung der tonotopen Abbildung von f_1 und f_2 generiert, weswegen sich die beiden Primärtöne in einem engen Frequenzverhältnis zueinander befinden müssen. Die kubischen Verzerrungsprodukte wandern ihrerseits entsprechend ihrer Frequenz zu ihren tonotopen Abbildungsstellen auf Basilar- und Tektorialmembran, wo sie möglicherweise durch cochleäre Aktivität weiter verstärkt werden (Brown et al., 1996; Shera und Guinan, 1999).

DPOAE lassen sich mathematisch relativ einfach beschreiben und deren Frequenzen in Abhängigkeit von den Primärtonfrequenzen exakt berechnen (Geisler, 1998): Das nicht-lineare Verhalten der Cochlea läßt sich gut mit einer Potenzreihe beschreiben. Dabei läßt sich das von den Edukten $x(t)$ produzierte Ergebnis $y(t)$ mit einer aufaddierten Reihe von mehreren $x(t)$ Termen annähern, die ansteigende Exponenten haben, also

$$ax + bx^2 + cx^3 + dx^4 \dots$$

Wenn man $x(t)$ mit der Summe zweier Sinustöne gleichsetzt, in diesem Fall der Primärtöne f_1 und f_2 , also

$$\sin(2\pi f_1 t) + \sin(2\pi f_2 t),$$

dann ergibt sich durch trigonometrische Umformung, daß die Komponenten der Gleichung mit ungeraden Exponenten die kubischen Verzerrungsprodukte

$$\sin(2\pi[2f_1 \pm f_2]t)$$

produzieren. Komponenten der Gleichung mit geraden Exponenten produzieren die sogenannten Differenztöne

$$\cos(2\pi[f_1 \pm f_2]t).$$

Daraus läßt sich ersehen, daß bei vielgliedrigen Potenzreihen zusätzlich zu $2f_1 - f_2$ und $2f_2 - f_1$ auch Verzerrungsprodukte höherer Ordnung wie $3f_1 - 2f_2$ oder $4f_1 - 3f_2$ entstehen, die ebenfalls von den Gliedern der Potenzreihe mit ungeraden Exponenten bestimmt werden (siehe auch Abb. 2.2 hierzu).

DPOAE haben zwischenzeitlich auch in der klinischen Anwendung einen hohen Stellenwert und dienen zur nichtinvasiven Diagnose diverser pathologischer Zustände der Cochlea (z.B. Boege und Janssen, 2002; Gorga et al., 1997). Da die pharmakologische Manipulation der Cochlea auch die Generierung der DPOAE beeinträchtigt (z.B. Cazals, 2000; Kössl und Vater, 2000; Lukashkin et al., 2002), scheinen OAE Produkte aktiver cochleärer Prozesse zu sein und sind somit geeignet, Veränderungen in der aktiven Cochlea zu detektieren. Eine besondere Klasse der OAE bilden die sogenannten spontanen otoakustischen Emissionen (SOAE), die ohne jegliche akustische Stimulierung im Gehörgang meßbar sind. SOAE sind reintonähnliche Schallereignisse und bereits in Fledermäusen (Kössl, 1994b), Primaten (Martin et al., 1988) einschließlich des Menschen (McFadden und Pasanen, 1999), in Vögeln und Echsen (Köppl, 1995) und in mehreren Froschspezies (van Dijk et al., 1996) beschrieben. Man schreibt diese aktive Generierung von Schall im Innenohr der spontanen Aktivität der äußeren Haarzellen zu: Die Existenz von otoakustischen Emissionen ist eines der schlagkräftigsten Argumente für das Konzept des cochleären Verstärkers, basierend auf in Rückkopplungsschleifen geschalteten OHC. Solche Rückkopplungssysteme können unter bestimmten Umständen instabil werden und fortdauernde spontane Oszillationen produzieren. Mathematische

und elektronische Modelle der Cochlea, die Rückkopplungssysteme beinhalten, zeigen ebenfalls spontane Oszillationen (Fukazawa und Tanaka, 1996; Zwicker, 1986). Das Membranpotential der OHC fluktuiert aufgrund der Öffnungswahrscheinlichkeit der Ionenkanäle ständig, was von den spannungssensitiven Motorproteinen der lateralen Zellmembran detektiert und in mechanische Energie durch Änderung der OHC-Länge transformiert wird. Betrachtet man die gesamte OHC-Population der Cochlea, sollte sich die spontane Aktivität der OHC aufgrund der stochastischen Natur dieser Potentialschwankungen herausmitteln. Wird jedoch ein kleiner Teil der OHC-Population beispielsweise durch eine morphologische Inhomogenität funktionell gekoppelt, so könnte dies zu einer konzertierten Aktivität dieser gekoppelten OHC führen. Somit wird aktiv durch den Prozess der reversen Transduktion mechanische Energie erzeugt, die durch die Flüssigkeitsvolumina der Scalae zum Mittelohr transportiert wird und dann als SOAE im Gehörgang meßbar ist. SOAE sind ein hervorragendes Werkzeug zur Bestimmung der Auswirkungen von Cochleamanipulationen. Artefakte durch den akustischen Stimulus, der zur Evozierung anderer OAE-Arten benötigt wird, sind ausgeschlossen, und somit sind SOAE ein reines Produkt der cochleären Aktivität. Leider sind SOAE relativ selten zu beobachten und weisen häufig nur einen sehr geringen Pegel auf.

1.3 Die Schnurrbartfledermaus als Modelltier für die cochleäre Mikromechanik

Die Schnurrbartfledermaus (*Pteronotus p. parnellii*, siehe Abb. 1.4) stellt einen insektivoren Vertreter der *Mikrochiroptera* dar und ist hauptsächlich im mittel- und südamerikanischen Raum beheimatet. Diese Spezies benutzt, wie alle *Mikrochiroptera*, Echoortungslaute zur Orientierung und zum Beutefang. Nach der Art der ausgestoßenen Echoortungsrufe ordnet man diese Spezies den sogenannten CF-FM-Fledermäusen zu, da sich ihr Laut aus einem ca. 20 ms langen konstantfrequenten Anteil zusammensetzt, der von einer kurzen, ca. 20 kHz umfassenden Frequenzabwärtsmodulation begrenzt wird. Der ausgestoßene Laut ist multiharmonisch, wobei die zweite Harmonische mit etwa 61 kHz die meiste Energie enthält und daher als dominante Harmonische oder CF_2 bezeichnet wird.

Dieser Harmonischen fällt auch die wichtigste Rolle bei der Echoortung zu. Betrachtet man das Sonagramm eines Echoortungsrufes der Schnurrbartfledermaus (Abb. 1.5), wird augenfällig, daß man diesen Laut treffenderweise als FM/CF/FM-Laut klassifizieren müßte, da er von einer Frequenzaufwärtsmodulation eingeleitet wird. Die Schnurrbartfledermaus jagt ihre Beute, zumeist fliegende Insekten, in dichtem Blattwerk.

Mit dem konstantfrequenten Anteil des Echoortungsrufes der CF_2 detektiert die Schnurrbartfledermaus den Flügelschlag von Beuteinsekten. Dem CF-Anteil des Sonarsignals wird durch die Flügelbewegungen der Insekten eine Amplituden- und Frequenzmodulation aufgeprägt, die die für den Beutefang relevante Information darstellt. Relativbewegungen zwischen Beute und Fledermaus bewirken eine Doppler-

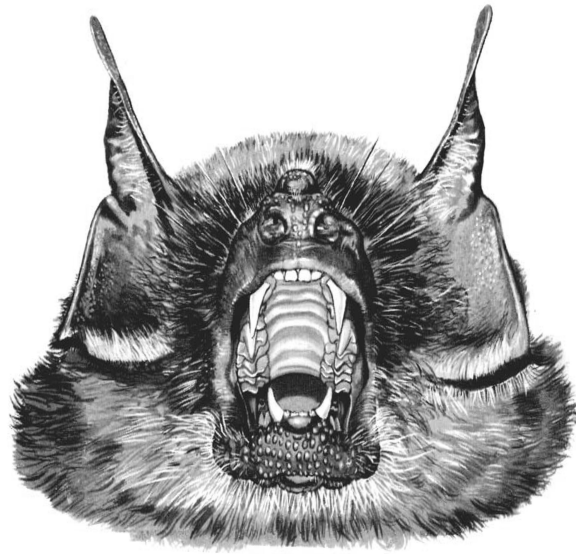


Abbildung 1.4: Portrait der Schnurrbartfledermaus, *Pteronotus p. parnellii*. Die Schnurrbartfledermaus ist im mittel- und südamerikanischen Raum beheimatet und jagt fliegende Insekten innerhalb dichter Vegetation. Zeichnung entnommen aus Silva (1979).

Verschiebung des reflektierten Echos, die die Schnurrbartfledermaus durch Anpassung der Frequenz des ausgestoßenen Echoortungsrufes kompensiert und dadurch sicherstellt, daß das empfangene Echo in einem eng umgrenzten Frequenzbereich bleibt. Die Echoortungssituation der Schnurrbartfledermaus läßt sich somit mit dem Hörfunk vergleichen, wo einer ansonsten bedeutungslosen Trägerfrequenz Amplituden- oder Frequenzmodulationen aufgeprägt werden, um die eigentliche Information zum Empfänger zu transportieren (Neuweiler, 2000).

In der Cochlea der Schnurrbartfledermaus sind zahlreiche mikromechanische Spezialisierungen verwirklicht, die mit einer im Tierreich einzigartigen Präzision die genaue Wahrnehmung von Frequenzänderungen im CF-Teil des Echoortungsrufes ermöglichen. Anatomische Untersuchungen der Cochlea brachten einige morphologische Irregularitäten ans Licht. Zunächst findet sich in der Cochlea eine intensiv innervierte Region (CF_2 -Region), in der die für die Echoortung relevante Frequenz von etwa 61 kHz tonotop abgebildet ist (Kössl und Vater, 1985a). Basal von diesem Bereich, zwischen etwa 20 und 45% der Gesamtlänge der Cochlea, nimmt die Innervierung deutlich ab, weshalb diese Region als spärlich innervierte Region (SI) bezeichnet wird (siehe Abb. 1.6).

Innerhalb dieses Bereiches treten jedoch abrupte Veränderung der Tektorialmembran (TM) und Basilarmembran (BM) auf: So ist die Befestigung der TM am Spirallimbus in diesem Bereich im Vergleich zu den angrenzenden Regionen deutlich verringert. Auch die Fläche der TM ist reduziert. Eine indirekte Frequenzkarte dieser Region (Kössl und

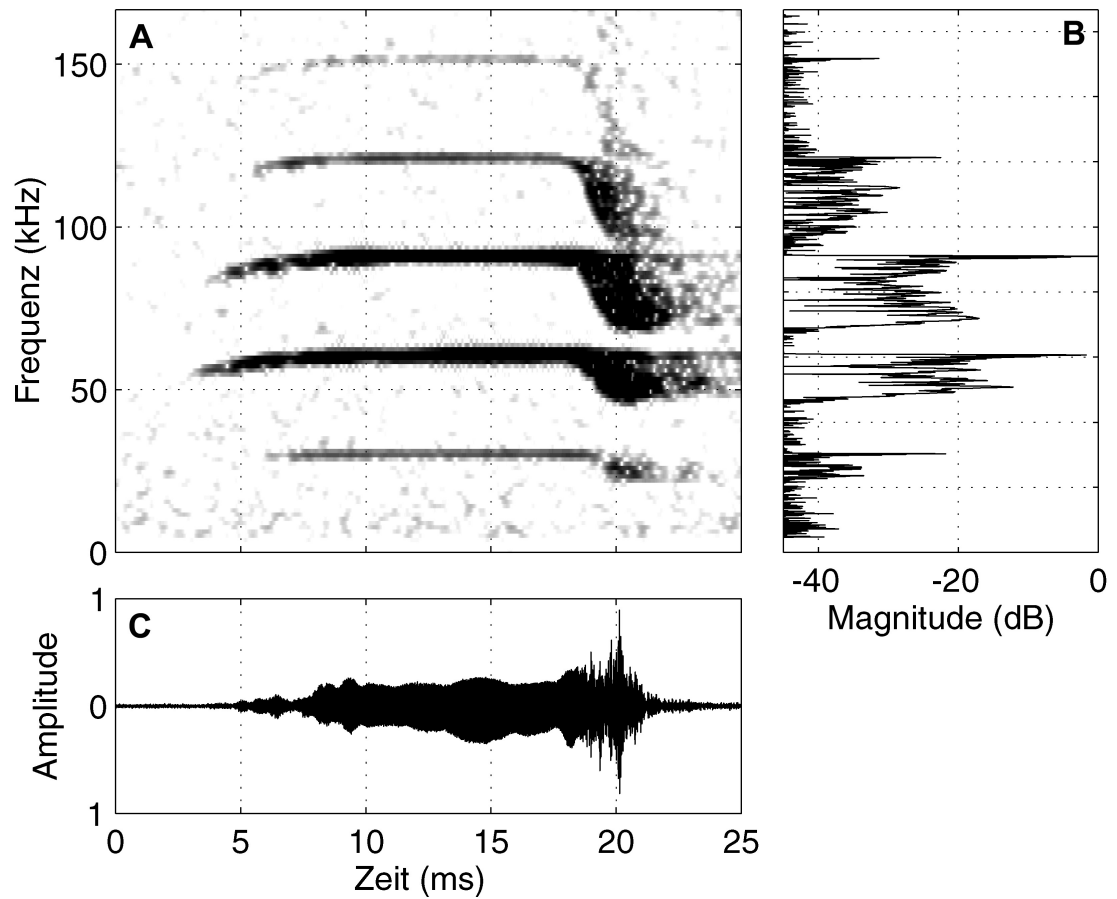


Abbildung 1.5: Der multiharmonische Echoortungsruf der Schnurrbartfledermaus dargestellt als Sonagramm (A), FFT-Spektrum (B) und als Zeitsignal (C). Einer kurzen Frequenz-Aufwärtsmodulation folgt ein etwa 20 ms langer, konstantfrequenter Anteil, der dann wiederum von einer kurzen Frequenz-Abwärtsmodulation beendet wird. Die zweite Harmonische, deren konstantfrequenter Anteil bei etwa 61 kHz liegt (CF_2) besitzt die größte Energie und wird daher auch als dominante Harmonische bezeichnet.

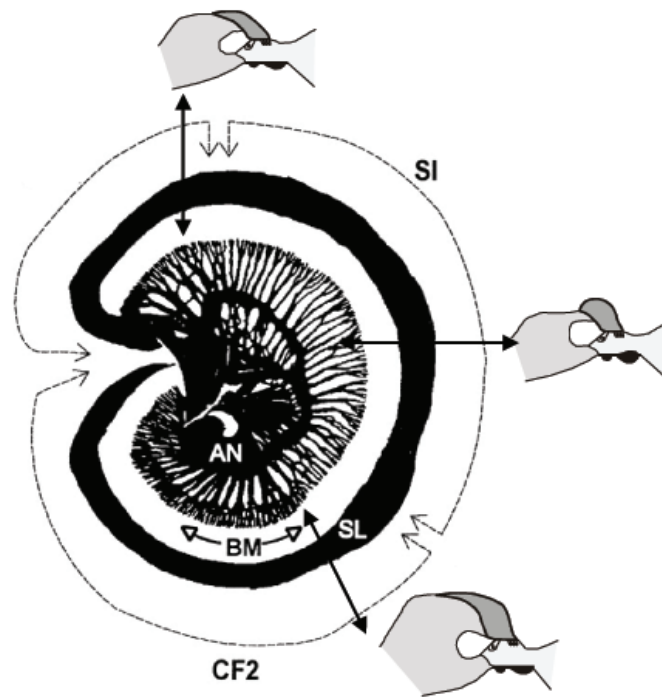


Abbildung 1.6: *Camera Lucida*-Zeichnung einer Horizontalprojektion der basalen Cochleawindung der Schnurrbartfledermaus. Deutlich ist der unterschiedliche Grad der Innervierung in unterschiedlichen Regionen der Cochlea zu erkennen (SI, CF_2). Die drei Graphiken veranschaulichen Radialschnitte durch die angegebenen Bereiche und demonstrieren die morphologischen Spezialisierungen dieser Regionen. CF_2 : Abbildungsort des konstantfrequenten Anteils der 2. Harmonischen des Echoortungsrufes, SI: *Spar-sely innervated region*, spärlich innervierte Region, AN: Hörnerv, SL: Spirallimbus, BM: Basilarmembran. Verändert nach Russell et al. (2003).

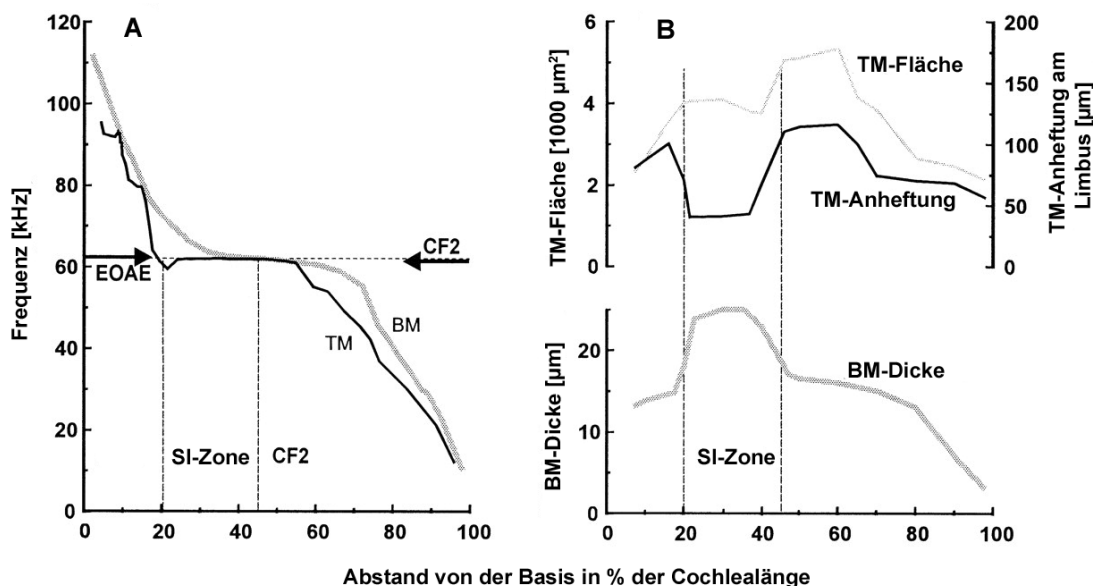


Abbildung 1.7: A: Frequenzkarte der Basilmembran (BM) und der Tektorialmembran (TM). Die Frequenzabbildung auf der TM ist mit Ausnahme der CF_2 -Region um eine $\frac{1}{4}$ Oktave zu niedrigeren Frequenzen verschoben. B: Spezialisierungen von BM, TM und deren Befestigung am Spirallimbus als Funktion der Entfernung von der Cochleabasis. Zwischen 20 und 45 % der Cochleagesamtlänge treten abrupte Veränderungen in der Morphologie auf. Verändert nach Russell und Kössl (1999).

Vater, 1996) beweist, daß diese Region gänzlich auf 61 kHz abgestimmt ist. Die Dicke der unter der TM dieses Bereiches liegenden BM ist deutlich erhöht. In diesem Bereich der BM werden Frequenzen von 61 bis 72 kHz abgebildet (Kössl und Vater, 1985a). Die Frequenzabbildung auf der TM ist somit, mit Ausnahme der CF_2 -Region, gegenüber der BM um etwa eine $\frac{1}{4}$ Oktave zu tieferen Frequenzen verschoben. Etwa 45% der Cochlea sind somit der Prozessierung des CF_2 -Echos gewidmet (siehe Abb. 1.7).

Für diese räumliche Überrepräsentation eines engen Frequenzbereichs hat sich der Begriff „auditorische Fovea“ etabliert. Zur Funktionalität der morphologischen Spezialisierungen wurde ein Modell entwickelt (Kössl und Russell, 1995; Russell und Kössl, 1999): Es verdeutlicht die Vorstellung, daß es bei einer akustischen Stimulation der oben genannten Regionen mit etwa 61 kHz zur Entstehung von stehenden Wellen innerhalb von funktionellen Kompartimenten in der SI-Region kommt. Diese Kompartimente sind durch die oben genannten morphologischen Spezialisierungen verwicklicht. Für die SI-Region wird ein nahezu kritisch abgestimmter, wenig gedämpfter Resonanzmechanismus vorgeschlagen, der für eine zusätzliche Generierung von Energie sorgt. Diese Energie wird, erzwungen durch die morphologischen Spezialisierungen in der SI-Region, sehr fokussiert am Ort der tonotopen Repräsentation von 61 kHz freigesetzt. Aufgrund der Analogie zum Funktionsprinzip eines Lasers wurde für diesen Mechanismus der Begriff „akustischer Laser“ geprägt (Russell und Kössl, 1999). Dieses Modell ist ein Erklärungsversuch für die außerordentliche Frequenzabstimmung in der CF_2 -Region, in der Q_{10dB} -Werte (CF der Abstimmkurve geteilt durch die Band-

breite 10 dB darüber) von bis zu 600 in mechanischen (Kössl und Russell, 1995; Russell und Kössl, 1999) oder neurophysiologischen (Kössl und Vater, 1990; Suga und Jen, 1977; Suga et al., 1975) Messungen erreicht werden. Der hochentwickelte Resonanzmechanismus ist verantwortlich für die lauten otoakustischen Emissionen und die langen Nachschwingzeiten cochleärer Antworten von bis zu 20 ms, wie sie in Messungen von cochleären Mikrofonpotentialen und DEOAE nach Stimulusende sichtbar werden (Henson et al., 1985; Kössl und Vater, 1995; Suga und Jen, 1977). Die kritische Abstimmung der cochleären Resonanz zeigt sich auch im gelegentlichen Auftreten von spontanen otoakustischen Emissionen (Drexler und Kössl, 2003; Kössl, 1994b), die meist einen ungewöhnlich hohen Pegel aufweisen. Die außerordentliche Frequenzselektivität der Resonatoren wird auf Kosten der zeitlichen Auflösung erreicht, was die mechanoelektrische Transduktion verlangsamt. Das macht die Schnurrbartfledermaus zu einem idealen Versuchstier um durch das efferente System induzierte Veränderungen in der cochleären Mikromechanik zu untersuchen.

1.4 Das efferente System und seine Funktionen

1.4.1 Das efferente System der Normalsäuger

Die Haarzellen der Cochlea erhalten nicht nur eine reiche afferente Innervierung durch Typ I-Fasern des Spiralganglions, sondern auch eine absteigende Innervierung in Form des efferenten Systems. Historisch wurde das efferente System, also die Gesamtheit der efferenten Fasern, in zwei Gruppen eingeteilt:

Das gekreuzte olivocochleäre Bündel der efferenten Fasern (COCB) hat seinen Ursprung in der Umgebung des kontralateralen oberen Olivenkomplexes (SOC) des Hirnstamms, überquert die Mittellinie des Gehirns auf Höhe des Bodens des vierten Ventrikels und zieht dann zur ipsilateralen Cochlea. Dabei gibt die Lagebezeichnung ipsilateral die Seite an, an der die Meßgröße aufgenommen wird, der Begriff kontralateral bezeichnet dementsprechend die gegenüberliegende Seite. Die Somata der efferenten Fasern des ungekreuzten olivocochleären Bündels (UOCB) finden sich in der Umgebung des ipsilateralen SOC und innervieren die Cochlea dieser Seite (siehe Abb. 1.8).

Eine moderne Einteilung des efferenten Systems ergänzt die obengenannte, indem sie die efferenten Fasern je nach Lage ihrer Somata im lateralen oder medialen superioren Olivenkomplex in laterale (LOC) bzw. mediale olivocochleäre Fasern (MOC) einteilt. Diese Einteilung berücksichtigt nicht nur die unterschiedliche Lage der Somata, sondern auch Unterschiede in Morphologie und Funktion von LOC und MOC. So sind Axone des MOC myelinisiert und weisen einen größeren Axondurchmesser auf als die unmyelinisierten Axone des LOC. Zudem projizieren die Fasern des MOC in ihrer Großzahl zur kontralateralen Cochlea und gehen dort synaptische Kontakte mit dem basalen Pol der Somata der OHC ein (siehe Abb. 1.8). Die dem MOC zahlenmäßig überlegene Fasern des LOC hingegen innervieren hauptsächlich die ipsilaterale Cochlea, wobei sie synaptische Kontakte mit afferenten Neuronen vom Typ I des Spiralganglions eingehen.

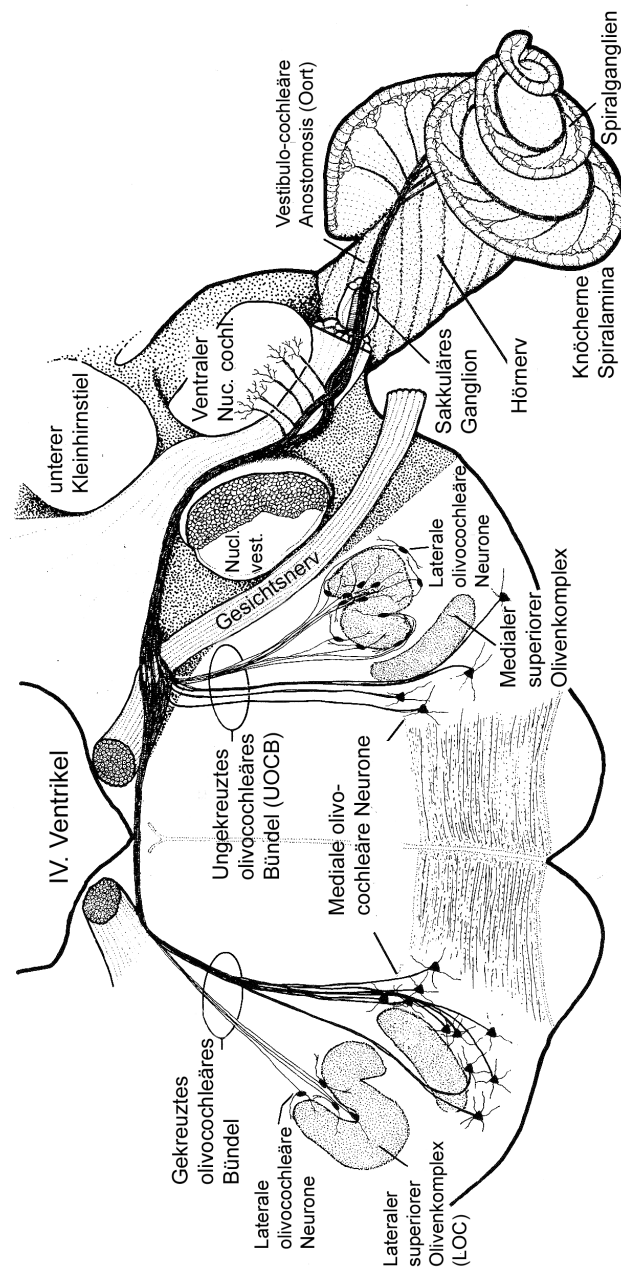


Abbildung 1.8: Schema des olivocochleären Systems der Normal Säuger. Gezeigt sind der Ursprung der Neurone des lateralen und medialen efferenten Systems im oberen Olivenkomplex (SOC). Besonders die Fasern des medialen efferenten Systems queren die Mittellinie am Boden des IV. Ventrikels und innervieren die Haarzellen der kontralateralen Cochlea. Verändert nach Warr et al. (1986).

Ein bereits intensiv untersuchtes Phänomen stellt der Befund dar, daß die akustische Stimulation des kontralateralen Ohres die Antworteigenschaften des ipsilateralen Ohres beeinflusst. Diese Veränderungen wurden in zahlreichen Studien gezeigt, die sich unterschiedlicher Meßtechniken bedienen, wie beispielsweise der Messung cochleärer Mikrofonpotentiale (Fex, 1959), auditorischer Summenpotentiale (*Compound action potentials*, CAP) in der aufsteigenden Hörbahn und otoakustischer Emissionen (z.B.: Mountain et al., 1980; Siegel und Kim, 1982). In all diesen Studien wird als Effekt der akustischen Stimulation meist eine Verringerung der Amplitude der Meßgröße genannt. Die erzielten Effekte werden der Aktivität der MOC-Fasern zugeschrieben. Klassischerweise wird für die Funktion des efferenten Systems bei normalen Säugern vorgeschlagen, daß es zur Verbesserung des Signal-Rausch-Abstands (Dolan und Nuttall, 1988; Kawase et al., 1993) und der Vergrößerung des Dynamikbereichs bei der Intensitätscodierung beiträgt (Geisler, 1974). Zusätzlich wurde für das efferente System eine Rolle bei der selektiven Aufmerksamkeit (Maison et al., 2001), bei der Kontrolle des cochleären Verstärkers (Mountain, 1980; Siegel und Kim, 1982) und beim Schutz der Cochlea vor lautem Schall formuliert (Rajan, 1990; Xie und Henson, 1998). Die Aktivierung des efferenten Systems durch akustische Reize wird oft als olivocochleärer oder efferenter Reflex bezeichnet.

1.4.2 Das efferente System der Schnurrbartfledermaus

Das efferente System der Schnurrbartfledermaus besteht im Grunde aus den gleichen Elementen wie das der nicht echoortenden Säugetiere (Bishop und Henson, 1987) und läßt sich dementsprechend ebenfalls in ein mediales (MOC) und laterales System (LOC) einteilen. Die MOC-Neurone bilden den *dorsomedialen periolivären Nucleus* (DMPO) und innervieren hauptsächlich die Somata der OHC der ipsi- und kontralateralen Cochlea, wobei die von einer Hirnhälfte zur anderen kreuzenden Fasern überwiegen. Die Neurone des LOC sind im *Nucleus interstitialis* gelegen und kontaktieren die afferenten Endigungen der Typ I-Neuronen des Spiralganglions in der ipsilateralen Cochlea (siehe Abb. 1.9). Das gekreuzte olivocochleäre Bündel besteht hauptsächlich aus Fasern des MOC. Im Gegensatz zu gewöhnlichen Laborsäugetieren bilden die OHC der Schnurrbartfledermaus nur je einen einzigen synaptischen Kontakt mit den medialen efferenten Fasern aus. Dabei gibt es einen Gradienten abnehmender Größe der efferenten Endigungen von der ersten zur dritten Reihe der OHC. Die größten efferenten Endigungen finden sich in der ersten Reihe der CF_2 -Region der Cochlea. Ein efferentes Neuron innerviert maximal sechs OHC, wobei sich diese Zahl in der auditorischen Fovea auf eine OHC verringert. Dies ermöglicht eine fein abgestimmte efferente Kontrolle der Cochleamechanik (Xie et al., 1993). Der Haupttransmitter des medialen efferenten Systems der Schnurrbartfledermaus scheint, wie bei anderen Säugern, Acetylcholin zu sein (Bishop und Henson, 1987).

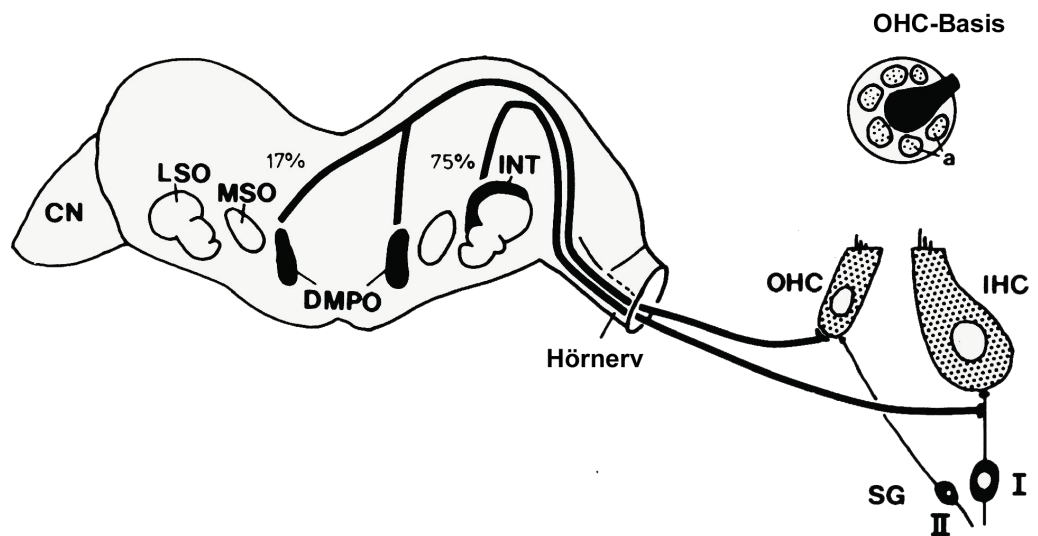


Abbildung 1.9: Schema des olivocochleären Systems der Schnurrbartfledermaus. Gezeigt sind der Ursprung der Neurone des lateralen und medialen efferenten Systems im *dorsomedialen periolivären Nucleus* (DMPO) und im *Nucleus interstitialis* (INT). Die eingesetzte Graphik zeigt, daß der jeweils einzige efferente synaptische Kontakt der OHC von einem Kranz aus afferenten Synapsen (a) umgeben ist. MSO: medialer oberer Olivenkomplex, LSO: laterale oberer Olivenkomplex, SG I bzw. II: Fasern des Spiralganglions vom Typ I bzw. II, CN: *Nucleus cochlearis*. Nach einer Graphik von M. Kössl.

2 Material und Methoden

2.1 Akustische Messungen

Im Rahmen dieser Studie wurden an insgesamt 21 Schnurrbartfledermäusen otoakustische Emissionen gemessen. Für jede Fledermaus wurde der konstantfrequente Anteil der zweiten Harmonischen des Echoortungsrufes (CF_2) unter der Verwendung der *Fast Fourier Transformation* (FFT) aus 20–25 Rufen bestimmt. Die CF_2 -Frequenz kann in Abhängigkeit von der Körpertemperatur und vorheriger Flugaktivität der Fledermaus um mehrere hundert Hertz schwanken (Henson et al., 1995). Die Experimente wurden deshalb in einer schallgedämpften, elektrisch isolierten und konstant beheizten Versuchskammer (30°C) durchgeführt. Um extensive Flugbewegungen vor dem Experiment zu verhindern, wurden die Versuchstiere in Käfigen mit den Abmessungen 60x50x40 cm gehalten. Während der Messungen wurden die Tiere in einem Schaumstoffhalter, der der Körperform angepasst wurde, fixiert, um heftige Bewegungen des Tieres zu verhindern. Zur Fixierung des Kopfes wurde ein Maulhalter angefertigt, der aus einem aus Zahnzement gefertigten Abdruck des Oberkiefers bestand. Ein geschlossenes Kopplersystem, das zwei als Lautsprecher betriebene $\frac{1}{2}$ Zoll B&K 4133 Mikrophonkapseln sowie ein Mikrophon ($\frac{1}{4}$ Zoll B&K 4135) enthielt, wurde unter optischer Kontrolle mit einem Operationsbinokular in den Meatus eingeführt. Die Distanz zwischen Kopplerspitze und Trommelfell betrug 0.3 bis 1 mm. An einer dritten $\frac{1}{2}$ Zoll Mikrophonkapsel wurde ein kleines konisches Plastikröhrchen angebracht, das in den kontralateralen Meatus eingeführt wurde und die akustischen Stimuli zur Stimulierung des efferenten Systems lieferte. Mit den Lautsprechern des Kopplersystems wurden die akustischen Stimuli erzeugt, die zur Evozierung von OAE nötig sind.

Die Generierung der akustischen Stimuli und das Einlesen der Daten wurden über Programme gesteuert, die in der Programmierumgebung Testpoint (Keithley) erstellt wurden. Die drei akustischen Stimuli wurden über eine D/A-Wandlung erzeugt, die von Microstar Dap DSP (Digital Signal Processing)-Karten vorgenommen wurde. Die erzeugten Signale wurden in drei GPIB (General Purpose Interface Bus)-gesteuerte Abschwächer (entwickelt von Jim Hartley, University of Sussex, Brighton) eingespeist und nach weiterer Verstärkung zu den Lautsprechern geschickt. Um definierte Schallpegel sicher zu stellen (dB re. 20 μ Pa) wurden die ipsilateralen Lautsprecher jeweils einzeln *in situ* mit Frequenzen von 1 bis 100 kHz vor dem eigentlichen Experiment kalibriert. Dies wurde in den Fällen wiederholt, in denen sich das Tier während des Experiments bewegte, was zu kleinen Änderungen der Kopplerposition führen kann. Der kontralaterale Lautsprecher wurde mit einem Mikrophon kalibriert, das sich im gleichen Abstand vom Lautsprecher befand wie das Trommelfell im eigentlichen Versuch. Die Gültigkeit der SPL Kalibrierung wurde regelmäßig durch standardisierte Mikrophonspannungen mit Hilfe eines Kalibrators überprüft, der einen Testton von 1 kHz

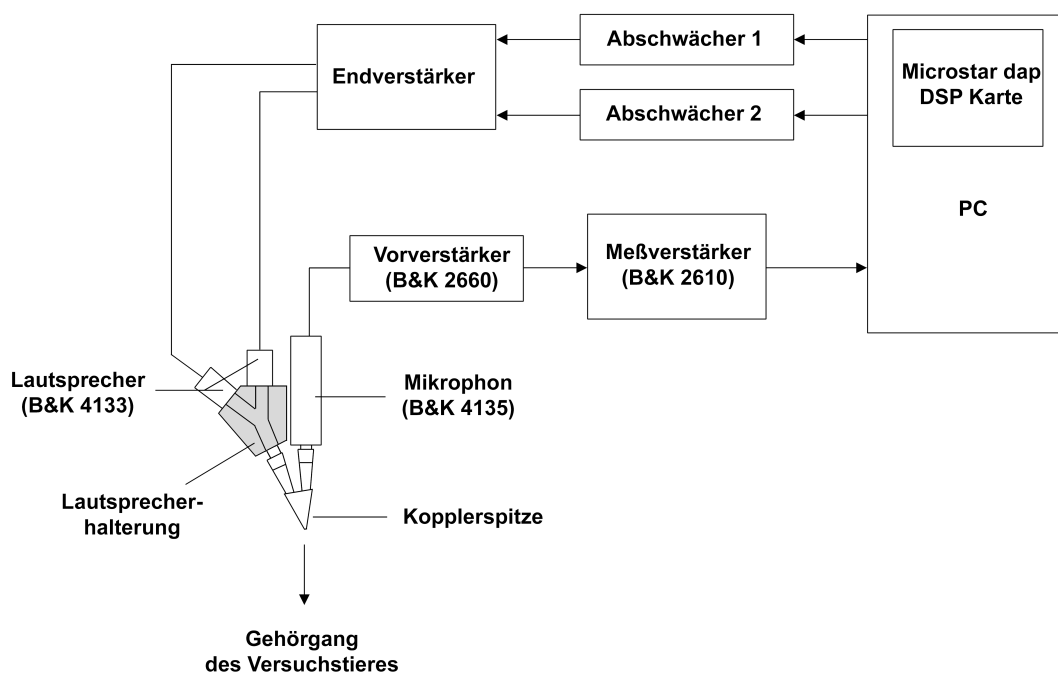


Abbildung 2.1: Der Versuchsaufbau für die Messung otoakustischer Emissionen mit einem Kopplersystem.

mit 94 dB SPL erzeugt. In allen Experimenten wurden die akustischen Stimuli mit einer Wiederholperiode von 25 ms geboten. Die Stimuli waren so gestaltet, daß der ipsilaterale Stimulus mit einer Verzögerung von fünf Millisekunden dem kontralateralen Stimulus folgte. Zur kontralateralen Stimulierung wurden Breitbandrauschen (1–100 kHz), Reintöne und der individuelle Echoortungsruf der Fledermaus eingesetzt. Für kontralaterale Stimuli bis 75 dB SPL konnte kein Übersprechen größer als der ipsilateral gemessene Rauschpegel von -16 ± 4 dB SPL gemessen werden. Die gemessenen otoakustischen Emissionen wurden über das Mikrophon und einen Meßverstärker (B&K 2610) in den A/D-Eingang der DAP-Karten gespeist. Alle Eingangs- und Ausgangskanäle der DAP-Karten wurden synchron mit 333 kHz pro Kanal abgetastet. Eine detaillierte Beschreibung des akustischen Kopplersystems (siehe Abb. 2.1) und des Aufnahmevorgangs findet sich bei Kössl (1994b); Kössl et al. (1999).

2.1.1 Verzerrungsprodukt otoakustische Emissionen (DPOAE)

DPOAE werden wahrscheinlich in der Überlappungszone der tonotopen Abbildung der akustischen Stimuli auf der Basilar- und Tektorialmembran in der Nähe des Abbildungsortes von f_2 generiert. Sie sollten deshalb die Aktivität der äußeren Haarzellen an diesem Ort widerspiegeln (Kössl, 1997). Es stellte sich heraus, daß das kubische Verzer-

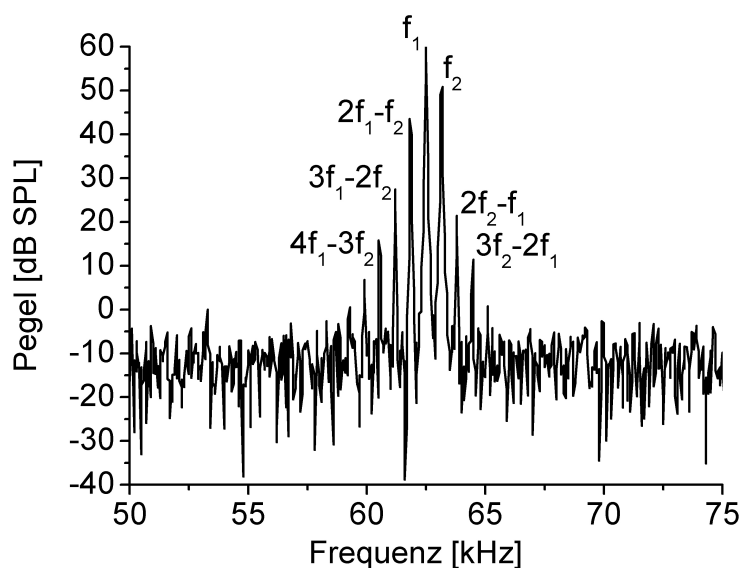


Abbildung 2.2: Beispiel für die Evozierung von DPOAE. Das $2f_1 - f_2$ Verzerrungsprodukt ist das deutlichste und weist einen Pegel von 45 dB SPL auf. Die DPOAE wurde mit den Primärtönen $f_1=62.5$ kHz und $f_2=63.2$ kHz bei Stimuluspegeln von 60 bzw. 50 dB SPL evoziert. Es treten auch Verzerrungsprodukte anderer Ordnungen, wie z. B. $3f_1 - 2f_2$ oder $2f_2 - f_1$ auf.

rungsprodukt $2f_1 - f_2$ am deutlichsten meßbar ist (siehe Abb. 2.2). Der DPOAE-Pegel wurde dadurch optimiert, daß bei einer fixen Frequenz von f_2 bei etwa 30 und 60 kHz (etwa dem konstantfrequenten Anteil der 1. und 2. Harmonischen des Echoortungsrufes entsprechend) die Frequenz von f_1 kontinuierlich verändert wurde. Das Frequenzverhältnis von f_2/f_1 , das eine maximale Amplitude von $2f_1 - f_2$ (bei niedrigen Pegeln von f_1 und f_2) hervorruft, definiert man als das „beste Frequenzverhältnis“. Diese besten Frequenzverhältnisse lagen im Rahmen dieser Arbeit zwischen 1.001 und 1.2. Der Pegel von f_2 (l_2) wurde in Abhängigkeit vom f_1 -Pegel (l_1) entsprechend der Formel $l_2 = l_1 - 10$ eingestellt, was sich zur Evozierung maximaler $2f_1 - f_2$ Amplituden bei Säugetieren bewährt hat (Faulstich und Kössl, 2000; Foeller und Kössl, 2000; Kössl, 1994b; Kössl et al., 1996). Nachdem f_1 gemäß dem besten Frequenzverhältnis eingestellt wurde, wurden Wachstumfunktionen des Verzerrungsproduktes $2f_1 - f_2$ unter den unterschiedlichen Bedingungen (mit und ohne kontralaterale Stimulation durch verschiedene akustische Stimuli) gemessen. Dies geschah durch schrittweise Erhöhung von l_1 und l_2 in 5 dB Schritten, wobei das vorhin erläuterte Pegelverhältnis eingehalten wurde.

2.1.2 Verzögerte otoakustische Emissionen (DEOAE)

Zur Evozierung der DEOAE wurde das ipsilaterale Ohr mit einem kurzen Tonpuls (Dauer 2 ms, An- bzw. Abstiegszeit 0.2 ms) stimuliert und die resultierende Impuls-

antwort am *Tympanum* gemessen (siehe Abb. 2.3A). In der Schnurrbartfledermaus bestehen DEOAE aus langen Nachschwingungen, die nach dem Ende des evozierenden Stimulus meßbar sind. Die Frequenz und Dauer dieser Nachschwingung wurde dann während akustischer Stimulation des kontralateralen Ohres untersucht. Dazu wurde zunächst eine exponentielle Ausgleichsfunktion an die Einhüllende der Impulsantwort angepaßt. Mit dieser Ausgleichsfunktion wurde die Zeitkonstante der Nachschwingung bestimmt, im folgenden Abfallszeit (*Decay time*, DT) genannt. Die DT ist definiert als die Zeit, innerhalb der die Amplitude der Nachschwingung auf $\frac{1}{e} = 37\%$ des Anfangswertes, gemessen 0.1 ms nach Ende des ipsilateralen Stimulus, sinkt (siehe Abb. 2.3B). Mit dieser Abfallszeit wurde als Maß der Abstimmstärke, also als Grad der Frequenzselektivität der Cochleamechanik, der Q-Wert gemäß der Formel

$$Q = DT \times \pi \times CRF$$

(Henson et al., 1995) errechnet. Dabei entspricht CRF der cochleären Resonanzfrequenz, bestimmt aus der FFT für die Zeitspanne der Nachschwingung. Eine Eigenschaft von einfachen mechanischen Resonatoren, wie man sie möglicherweise auch in der Cochlea verwirklicht findet, ist, daß deren Abstimmstärke, also die Frequenzselektivität im umgekehrten Verhältnis zum Grad der Dämpfung steht. Das bedeutet, je schärfer die Frequenzabstimmung eines Resonators, umso geringer ist seine Dämpfung und umso länger dauert das Ein- und Ausschwingen (z.B. den Hartog, 1985). Der Q-Wert ist direkt proportional zur Ausschwingzeit oder DT der cochleären Resonatoren, und somit bedeutet ein großer Q-Wert eine lange Ausschwingzeit, geringe Dämpfung und damit eine scharfe Frequenzabstimmung.

2.2 Cochleäre Mikrofonpotentiale

Um die operativen Maßnahmen zur Implantation der chronischen Elektrode durchführen zu können, war es notwendig, die Versuchstiere zu narkotisieren. Dies wurde normalerweise mit einer Mischung aus Pentobarbital und Ketamin (2 mg Pentobarbital plus 1 mg Ketamin pro 100 g Körpergewicht) vorgenommen, in einigen Fällen aber auch mit dem volatilen Anästhetikum Isofluran (siehe Kapitel 2.4). Der chirurgische Eingriff folgte der Methode von Henson und Pollak (1972): Nachdem entlang der Mittellinie des Schädels ein Schnitt in der Kopfhaut geführt wurde, wurde sowohl die Haut als auch dem Schädelknochen anliegende Muskeln zur Seite geschoben bzw. entfernt. Nach Entfernung der Knochenhaut wurde der Schädel gesäubert und auf dem Schädelknochen ein Metallstift mit Cyanacrylklebstoff und lichthärtenden Dentalklebstoff befestigt.

Am Occipitalabfall des Schädels wurde mit einer feinen Kanüle ein kleines Loch gebohrt, durch das man eine im Ätzbad angespitzte Wolframelektrode (Impedanz etwa 0.5 MOhm) einführt. Die Elektrode wurde durch das *Cerebellum* geschoben, bis die Elektrodenspitze gerade den *Aquaeductus cochlearis* der Cochlea erreichte (siehe Abb. 2.4), über den die Perilymphe der Cochlea mit der Cerebrospinalflüssigkeit kommuniziert. Während der schrittweisen Einführung der Elektrode wurden ständig aku-

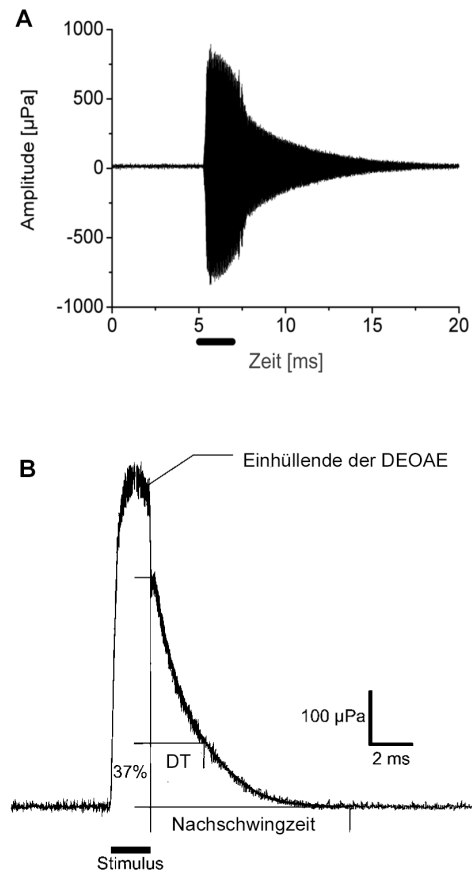


Abbildung 2.3: (A) Evozierung von verzögerten otoakustischen Emissionen (DEOAE) mit einem Reinton von 61.7 kHz und 35 dB SPL (Dauer 2ms, symbolisiert mit einem schwarzen Balken). In der Schnurrbartfledermaus ist nach Stimulusende eine deutliche Nachschwingung zu erkennen. (B) Berechnung der Abfallszeit aus der halbwellengleichgerichteten Einhüllenden der DEOAE-Nachschwingung. Die Abfallszeit (DT) ist die Zeit, innerhalb der die Amplitude der Nachschwingung, gemessen 0.1 ms nach Stimulusende, auf 37 % des Anfangswertes absinkt. Die DEOAE wurde mit 61.1 kHz und 30 dB SPL evoziert.

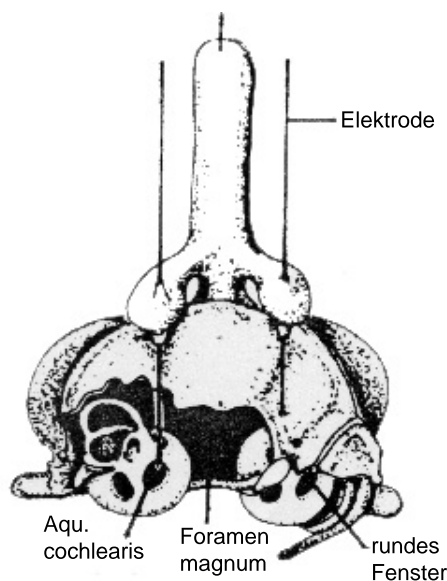


Abbildung 2.4: Implantierung der CM-Elektroden in den *Aquaeductus cochlearis* der Schnurrbartfledermaus. Die Elektrode wird durch ein Loch am Occipitalabfall des Hinterkopfs durch das *Cerebellum* bis zum Beginn des *Aquaeductus cochlearis* geschoben. Verändert nach Henson und Pollak (1972).

stische Stimuli mit einer Frequenz nahe der CF_2 des jeweiligen Tieres geboten, um die Entwicklung der abgeleiteten Mikrofonpotentiale zu beobachten. Sobald keine Erhöhung der Potentialamplitude mit fortschreitender Penetrationstiefe mehr zu beobachten war, wurde die Elektrode an dieser Position belassen und mit Cyanacrylkleber und lichterhärtendem Dentalzement fixiert. Eine im Vorderhirn positionierte indifferente Ag/AgCl-Elektrode diente der Erdung. Nach einer postoperativen Erholungszeit von 2-3 Tagen konnte mit der Ableitung von cochleären Mikrofonpotentialen begonnen werden. Um die Mikrofonpotentiale abzuleiten, wurden die wachen Fledermäuse wiederum in den Schaumstoffhalter gesetzt und der Schädel über den aufgesetzten Metallstift fixiert. Das mit den implantierten Elektroden abgeleitete Potential wurde mit einem batteriebetriebenen Meßverstärker (entworfen von Jim Hartley, University of Sussex, Brighton) verstärkt (Verstärkungsfaktor 10000x) und mit einem Bandpaß gefiltert (50 Hz bis 120 kHz.) Das Signal wurde zur weiteren Analyse in den A/D Eingang der Dap-Karte gespeist.

2.3 Elektrische Stimulation von Gehirnarealen

Zur Stimulierung des *Colliculus inferior* und von Regionen im *auditorischen Cortex (AC)* wurden weitere Wolframelektroden implantiert. Dazu wurde zunächst nach morphologischen Merkmalen des Schädels die entsprechende Region im kontralateralen IC und AC aufgesucht. Durch ein Loch im Schädelknochen über der jeweiligen Region wurde die Stimulationselektrode eingeführt und Tonpulse mit ansteigender Frequenz

zwischen 10 und 100 kHz präsentiert. Durch die Aufnahme von evozierten akustischen Potentialen kann man die optimale Lage der Reizelektrode im entsprechenden auditorischen Gebiet verifizieren. Eine weitere indifferente Elektrode für die Erdung wurde fest im Vorderhirn implantiert, sofern nicht bipolare Wolframelektroden verwendet wurden. Die dorsoventrale Penetrationstiefe der Stimulationselektrode wurde über einen Mikromanipulator verändert. IC und AC wurden mit kontinuierlichen Reizfolgen, bestehend aus monophasischen, rechtecksförmigen Impulsen (Pulsdauer 2ms, Pulsfrequenz 500 Hz, Stromstärke maximal $10 \mu A$) gereizt, die von einem netzstromunabhängigen Konstantstromgerät (WPI Stimulus Isolator) generiert wurden.

2.4 Die Anästhesie mit Isofluran

Da die Anästhesie mit Isofluran apparativ aufwendig ist, und die Isoflurannarkose für Schnurrbartfledermäuse bislang noch nicht etabliert war, soll diese Narkoseform im folgenden genauer erläutert werden. Isofluran ist ein polyhalogener Methylethylether mit stark lipophilen Eigenschaften und besitzt die Summenformel $C_3H_2ClF_5O$. Es löst das inzwischen in der Tiermedizin nicht mehr verwendete Halothan ab, mit dem es strukturelle Eigenschaften teilt und das auch ähnlich wirkt, jedoch im Verdacht steht, eine kanzerogene Wirkung auf die Leber auszuüben. Isofluran ist bei Raumtemperatur flüssig, wenn auch mit beachtlichem Gasdruck. In einem Großteil der Experimente wurde das Narkosegerät Narkoquip (Fa. Völker, Kaltenkirchen) verwendet, ein geschlossen einsetzbares Kreissystem mit vorgeschalteten Verdampfer (siehe Abb. 2.5). Dieser Verdampfer, ein TEC3 Präzisionsverdampfer für Isofluran (Ohmeda Iso-tec3, Fa. Ohmeda, West Yorkshire, GB), überführt das Betäubungsmittel vom flüssigen in den gasförmigen Zustand und mischt es mit dem Trägergas, medizinischem Sauerstoff, in kontrollierbaren Verhältnissen. Bei kleinen Säugern sind sehr geringe Mengen von Trägergas (wenige 100 ml O_2 /min) ausreichend, um das Tier in einen stabilen Narkosezustand zu versetzen. Um dennoch eine Zirkulation des Narkosegasgemisches zu gewährleisten, wird ein Ventilator (Narkosegasgebläseeinheit Typ 2350, Fa. GW-Elektronik GmbH, München) in den Narkosekreislauf integriert.

Dabei wird dem Versuchstier über einen Schlauch das Narkosegas zugeführt, gleichzeitig kehrt das ausgeatmete Volumen über einen weiteren Schlauch in das Betäubungssystem zurück, in dem es durch einen Kohlendioxidabsorber vom CO_2 befreit und dem Tier nach Zumischung von Frischgas wieder zugeführt wird. Eine Schwierigkeit stellt bei kleinen Säugern die Zuführung des Betäubungsgases während der Erhaltung der Narkose über eine Maske dar, zumal der Schädel für experimentelle Manipulationen nicht verdeckt werden soll. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Narkosegaszuführung in den bereits genannten Maulhalter inkorporiert, so daß lediglich der Schnauzenbereich unzugänglich wurde. Zur Einleitung der Narkose wurden die Versuchstiere in eine mit Isofluran (4%) gefüllte zylindrische Box (Ginder, 2000) überführt. Die Isoflurannarkose erwies sich sowohl bei chirurgischen Eingriffen als auch zur Sedierung während nichtinvasiver Messungen als überaus vorteilhaft. Im Vergleich zu gängigen Injektionsnarkosen zeichnet sich die Isoflurannarkose durch sehr geringe An- und vor

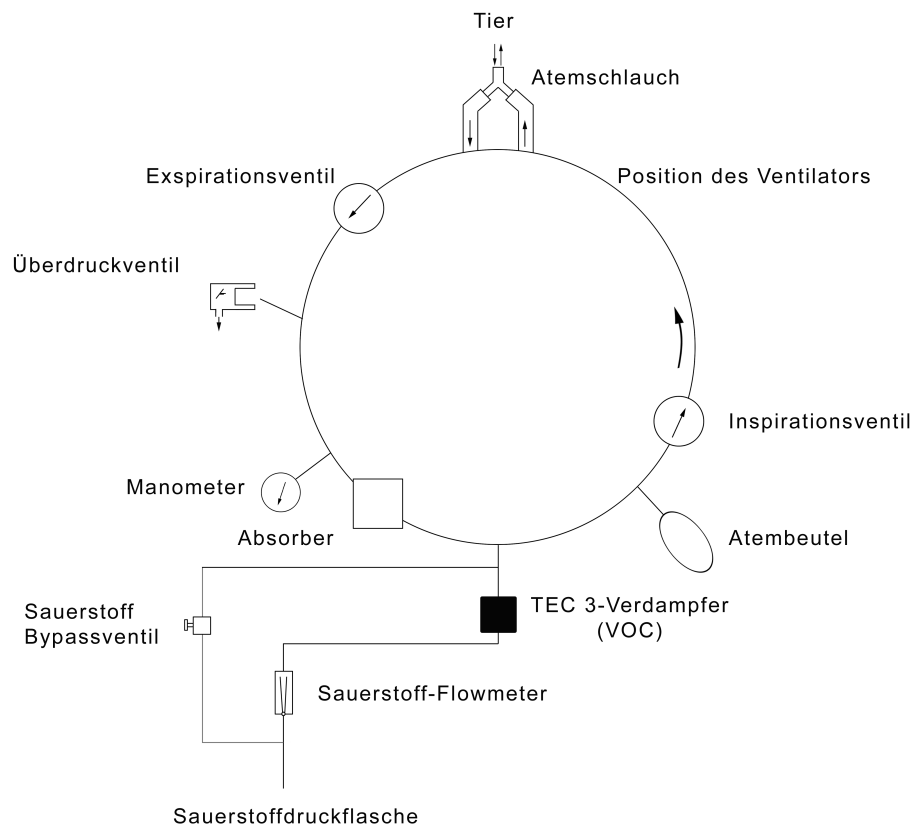


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des Kreissystems für die Isofluranbetäubung mit vorgeschaltetem TEC3-Verdampfer. Ein Ventilator sorgt für die Bewegung des Atemgasstroms bei geringen Durchflußraten des Trägergases. Das rückgeatmete Gasmisch wird im Absorber vom CO_2 befreit. Verändert nach Ginder (2000).

allem Abflutzeiten aus. Nach chirurgischen Eingriffen sind die Tiere bereits nach wenigen Stunden wieder völlig hergestellt und erscheinen wesentlich vitaler. Eine genaue Untersuchung zur Auswirkung der Isofluranbetäubung auf das periphere auditorische System findet sich im Ergebnisteil.

2.5 Statistische Analyse

Statistische Analysen wurden mit Hilfe des Programmes SPSS 11.0 (SPSS Inc.) durchgeführt und schlossen einseitige Wilcoxon-Tests, Mann-Whitney-U-Tests und t-Tests ein.

3 Ergebnisse

3.1 Beeinflussung der OAE durch kontralaterale akustische Stimulation

Zunächst wurde der Echoortungsruf des Versuchstiers mittels einer *Fast Fourier Transformation* (FFT) analysiert und die Frequenz des konstantfrequenten Anteil der zweiten Harmonischen (CF_2) aus jeweils 20 Messungen gemittelt (siehe Abb. 3.1).

Die Frequenz der $2f_1 - f_2$ DPOAE sollte der cochleären Resonanzfrequenz (CRF) entsprechen, da nur dann maximale Amplituden der DPOAE auftreten. Aus der Literatur ist bekannt, daß die cochleäre Resonanzfrequenz etwa 400–800 Hz oberhalb der CF_2 -Frequenz liegt (Kössl und Vater, 1985b), und auch die Frequenz der $2f_1 - f_2$ DPOAE, evoziert mit optimalem Primärton- und Pegelverhältnis, liegt gewöhnlich immer oberhalb der CF_2 -Frequenz. Somit läßt sich anhand der CF_2 bereits die Lage der CRF abschätzen, was die Bestimmung der optimalen Frequenzverhältnisse für die Evozierung der DPOAE erleichtert. Die am wachen Tier ermittelten Werte für $2f_1 - f_2$ liegen im Mittel 470 ± 350 Hz (N=9) über der der jeweiligen CF_2 -Frequenz, für die anästhesierten Versuchstiere wurde eine gemittelte Differenz von 410 ± 240 Hz (N=13) bestimmt. Diese Werte sind auf statistischem Niveau nicht signifikant unterschiedlich (Mann-Whitney-U-Test). Die optimalen Frequenzverhältnisse f_2/f_1 lagen sowohl bei betäubten wie wachen Tieren in einem Bereich von 1.009 bis 1.015 und waren statistisch ebenfalls nicht unterschiedlich (Mann-Whitney-U-Test). Die durchschnittliche CF_2 -Frequenz der Echoortungsrufe der einzelnen Tiere lag im Bereich von 60 bis 61.92 kHz, wobei die einzelnen Tiere die CF_2 -Frequenz mit einer Standardabweichung von ± 160 Hz konstant hielten. Mit diesen Daten als Anhaltspunkt konnten nun die optimalen Parameter zur Evozierung des kubischen Verzerrungsproduktes $2f_1 - f_2$ bestimmt und durch schrittweise Anhebung des Pegels der Primärtöne l_1 und l_2 , eine Wachstumsfunktion des Verzerrungsproduktpegels erstellt werden. Dies wurde zunächst unter Kontrollbedingungen, i.e. ohne jegliche akustische Stimulation des kontralateralen Ohres durchgeführt.

In einem weiteren Schritt wurde diese Messung wiederholt, jedoch nun das kontralaterale Ohr mit einem breitbandigen Rauschstimulus (*Contralateral noise*, CLN, 1–100 kHz) beschallt. Der Pegel des Breitbandrauschens wurde schrittweise angehoben (siehe Abb. 3.2). Ein Vergleich von Wachstumskurven, die unter den beiden genannten experimentellen Bedingungen von neun Individuen (jeweils N=6) gewonnen wurden, zeigt als generelle Tendenz, daß die Darbietung von Rauschstimuli am kontralateralen Ohr eine Suppression des Emissionspegels bewirkt. Die ist in Abbildung 3.3 für vier Wachstumskurven von drei Fledermäusen exemplarisch gezeigt. An einer der Wachstumskurven wird demonstriert, wie die effektiv zur DPOAE-Generierung zur Verfügung stehende Energie während der kontralateralen Stimulation mit CLN reduziert wird: Der Primärtonpegel muß um 10 dB erhöht werden, um die gleiche DPOAE-Amplitude

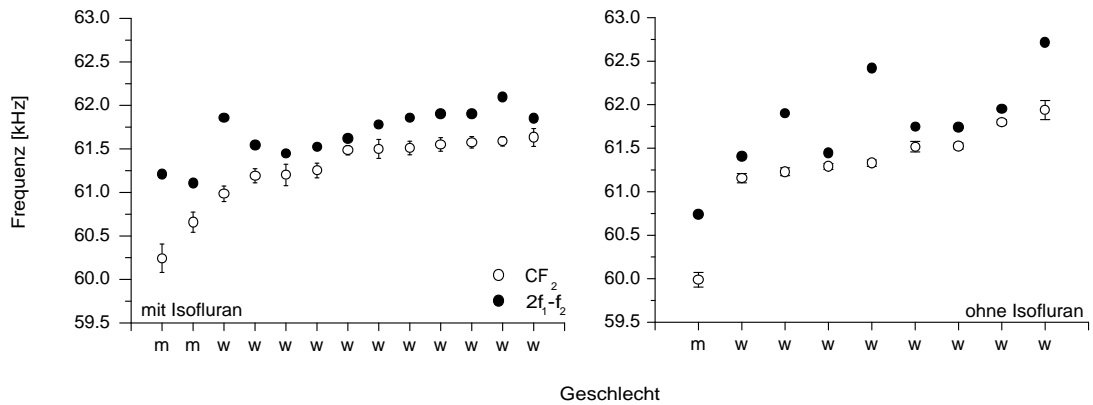


Abbildung 3.1: Vergleich der Frequenz des konstantfrequenten Anteils des Echoortungsrufes (CF_2) und der Frequenz der $2f_1 - f_2$ DPOAE von wachen und mit Isofluran betäubten Fledermäusen. Die $2f_1 - f_2$ Frequenz liegt immer oberhalb der entsprechenden CF_2 und sollte der Resonanzfrequenz der Cochlea entsprechen. Die Echoortungsrufe wurden jeweils vor dem eigentlichen Versuch aufgenommen. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der CF_2 (jeweils $N=20$). CF_2 und $2f_1 - f_2$ Frequenz unterscheiden sich bei Tieren, die mit Isofluran betäubt wurden im Mittel um 410 Hz, bei wachen Tieren um 470 Hz. Die Daten sind aufsteigend nach der Frequenz von CF_2 sortiert.

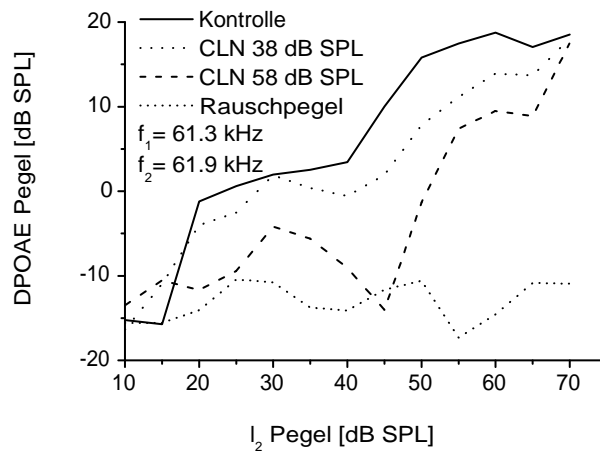


Abbildung 3.2: DPOAE-Wachstumsfunktionen während kontralateraler, akustischer Stimulation durch Breitbandrauschen (CLN) bei verschiedenen Pegeln. Gezeigt ist das Anwachsen des Pegels der $2f_1 - f_2$ DPOAE mit steigendem Stimuluspegel l_2 unter Kontrollbedingungen und während der kontralateralen Stimulation mit Breitbandrauschen von 38 und 58 dB SPL. Die Frequenz der Primärtöne lag bei 61,3 und 61,9 kHz.

wie unter Kontrollbedingungen zu erhalten (Abb. 3.3). Der Effekt ist dabei positiv mit dem Pegel des Breitbandrauschens korreliert (siehe Abb. 3.2). Für DPOAE, die mit einer f_2 -Frequenz von etwa 60 kHz (in der Nähe der jeweiligen CF_2 -Frequenz) evoziert wurden, bewirkt eine Präsentation von breitbandigem, kontralateral präsentiertem Rauschen von 58 dB SPL eine Suppression des DPOAE-Pegels von bis zu 14 dB. Tendenziell weisen die Wachstumsfunktionen unter CLN-Bedingungen eine geringere Steilheit auf, wobei die Effekte bei konstant bleibender, kontralateraler Stimulation um so deutlicher werden, je größer die Amplitude der Primärtöne ist (Abb. 3.4). Der Unterschied der gemittelten Wachstumskurven, die unter den beiden genannten Bedingungen gewonnen wurden, ist ab einem l_2 -Pegel von 30 dB SPL statistisch signifikant (t-test, $p < 0.05$, siehe Abb. 3.4). Der mittlere Pegelunterschied von l_2 , um unter Kontroll- und CLN-Bedingungen eine $2f_1 - f_2$ DPOAE mit einem Pegel von 15 dB SPL zu evozieren, beträgt 9.5 dB.

Um festzustellen, ob es sich bei der Suppression von DPOAE um spezifische, auf eine bestimmte Region der Cochlea beschränkte Effekte handelt, wurden die DPOAE mit einem weiteren Paar von Primärtonfrequenzen nahe dem konstantfrequentem Anteil der ersten Harmonischen des Echoortungsrufes bei etwa 30 kHz evoziert. Das Experiment wurde nach oben genanntem Schema wiederholt: wiederum wurde das kontralaterale Ohr mit CLN bei unterschiedlichen Pegeln stimuliert und die Veränderung der Wachstumsfunktionen der DPOAE verfolgt. Selbst bei hohen Intensitäten der kontralateralen Stimulierung bis 75 dB SPL konnte keine signifikante Änderung der DPOAE-Amplitude detektiert werden, was in Abbildung 3.5 für zwei Versuchstiere (jeweils $N=6$) dokumentiert wird.

In einem weiteren Experiment wurden die DPOAE wiederum mit Primärtonfrequenzen bei etwa 60 kHz (etwas oberhalb der CF_2 -Frequenz) evoziert, wobei die Primärtonpegel konstant gehalten wurden. Als kontralateraler Stimulus diente ein Reinton mit einem Pegel von 58 dB SPL, der, von einer Frequenz von 10 kHz ausgehend, in Schritten von 1 kHz auf 70 kHz erhöht wurde. Es wurde untersucht, ob es in Abhängigkeit von der Frequenz des kontralateralen Stimulus zu Veränderungen des Pegels des Verzerrungsproduktes kommt. Dieser Versuchsansatz wurde mit l_2 -Pegeln von 35 und 55 dB SPL an einem Versuchstier durchgeführt. Es konnte in keinem der Versuche eine signifikante Änderung der Emissionsamplitude beobachtet werden (siehe Abb. 3.6).

Um eine möglichst natürliche Art und Weise der kontralateralen Stimulation zu gewährleisten, wurden von den einzelnen Versuchstieren individuelle Echoortungsrufe digital aufgezeichnet und in der gleichen Art und Weise wie oben zur kontralateralen Stimulation eingesetzt. Hierzu wurden wiederum DPOAE-Wachstumsfunktionen mit Primärtonfrequenzen nahe bei 60 kHz gewonnen. Dies geschah wiederum unter Kontrollbedingungen (ohne jegliche kontralaterale Stimulation) und während der Präsentation des Echoortungsrufes mit einem Stimulationspegel von 58 dB SPL. Es wurden Daten von drei Versuchstieren gewonnen. In allen drei Datensätzen ist eine Tendenz zur Erhöhung der DPOAE-Amplitude zu erkennen, die jedoch statistisch nicht signifikant ist (siehe Abbildung 3.7). Zur Stützung der These, daß die kontralateral präsentierten Ortungssignale eine Erhöhung mechanischer Aktivität in der Cochlea hervorrufen können, wurde ein weiterer Typ aus der Familie der otoakustischen Emissionen gemes-

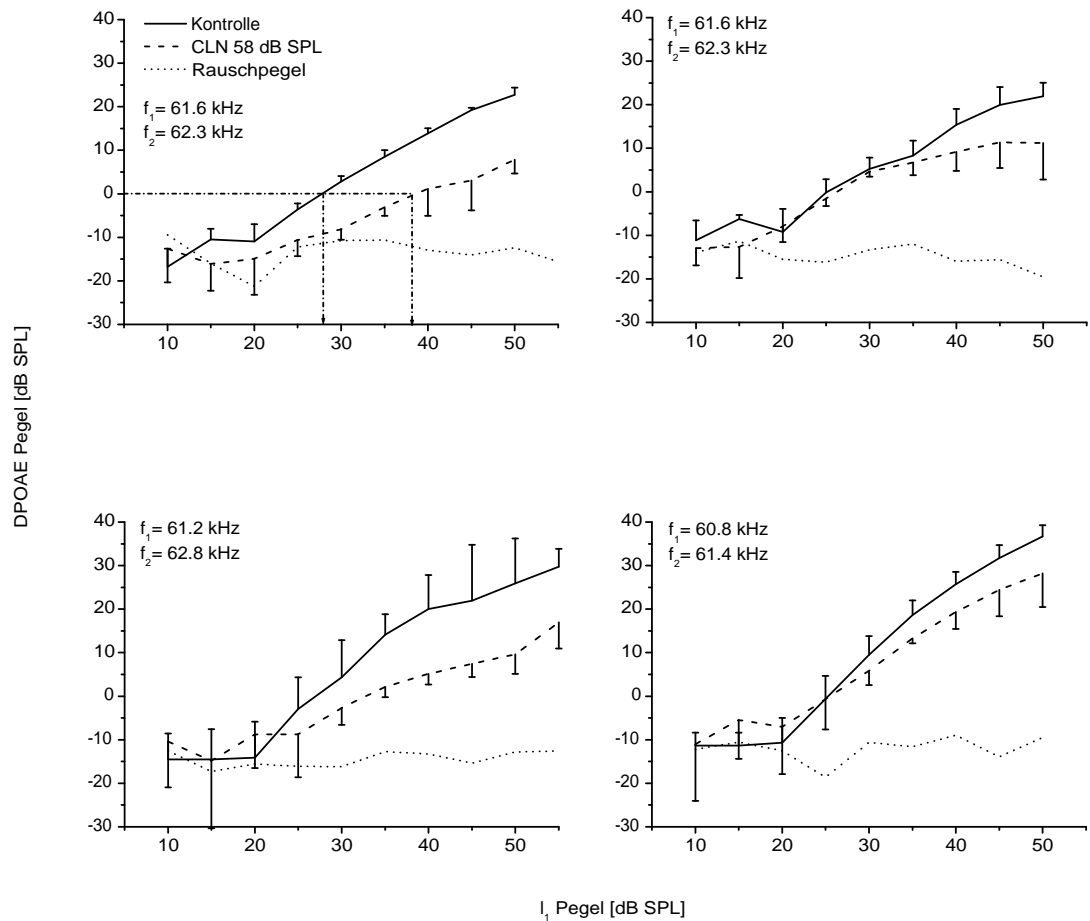


Abbildung 3.3: Vergleich von Wachstumsfunktionen der $2f_1 - f_2$ DPOAE-Amplituden unter Kontrollbedingungen (durchgezogene Linie) und mit kontralateraler, akustischer Stimulation (gestrichelte Linie) mit Breitbandrauschen (1-100 kHz, 58 dB SPL). Gezeigt sind Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ($N=6$) für vier Messungen von drei Versuchstieren. In einem Beispiel wird demonstriert, wie die kontralaterale akustische Stimulierung die DPOAE-Generierung beeinflusst: Um eine Emissionsamplitude von 0 dB SPL zu erreichen, muß der Primärtonpegel während kontralateraler Stimulierung um 10 dB gegenüber der Kontrollmessung erhöht werden. Die Primärtonfrequenzen sind bei der jeweiligen Graphik angegeben.

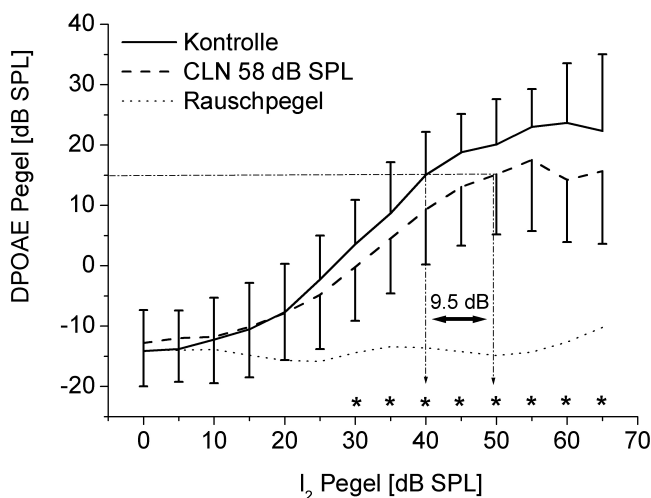


Abbildung 3.4: Bei konstantem kontralateralem Pegel des Breitbandrauschens (CLN) von 58 dB SPL nehmen die suppressiven Effekte mit zunehmenden ipsilateralen Pegel l_1 und l_2 zur Evozierung von Wachstumsfunktionen der $2f_1 - f_2$ DPOAE-Amplitude ebenfalls zu. Gezeigt werden die gemittelten Wachstumsfunktionen und ihre Standardabweichungen unter Kontroll- (durchgezogene Linie) und CLN-Bedingungen (gestrichelte Linie). Um eine $2f_1 - f_2$ DPOAE mit einer Amplitude von 15 dB SPL zu evozieren, müssen die Primärtöne während der Stimulation mit CLN im Mittel um 9,5 dB angehoben werden. Die Wachstumsfunktionen wurden von neun Fledermäusen (jeweils $N=6$) gewonnen. Statistisch signifikante Unterschiede (t -test, $p < 0.05$) zwischen den Kontroll- und CLN-Daten sind mit einem Sternsymbol gekennzeichnet.

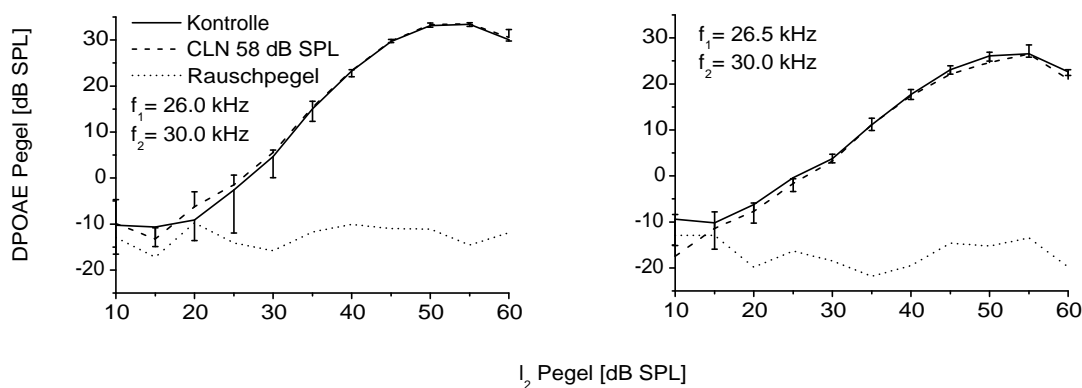


Abbildung 3.5: Vergleich von DPOAE-Wachstumsfunktionen unter Kontrollbedingungen und mit kontralateraler, akustischer Stimulation mit CLN, evoziert mit Primärtonfrequenzen von etwa 30 kHz (in der Nähe des konstantfrequenten Teils der ersten Harmonischen des Echoortungsrufes). Gezeigt werden Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ($N=6$) für zwei Versuchstiere während kontralateraler Stimulation mit 58 dB SPL.

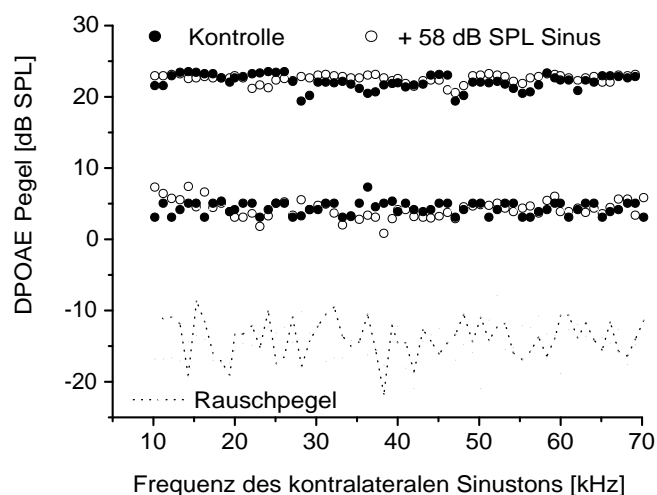


Abbildung 3.6: Abhängigkeit der $2f_1 - f_2$ DPOAE Amplitude, evoziert mit f_1 und f_2 nahe 60 kHz bei konstantem Pegel l_2 von 35 (im unteren Teil der Graphik) und 55 dB SPL (im oberen Teil der Graphik) während der kontralateralen Stimulation mit Reintönen. Die Frequenz der Reintöne lag zwischen 10 und 70 kHz und wurde mit einem Pegel von 58 dB SPL präsentiert. Die ausgefüllten Symbole stellen die Kontrollmessungen dar, die ungefüllten Symbole zeigen die Daten der Stimulierung mit Reintönen. Die gepunktete Linie repräsentiert den Rauschpegel.

sen. Es wurden DEOAE evoziert und Veränderungen der Abfallszeit (DT, siehe Kapitel 2.1.2) der DEOAE-Nachschwingungen während kontralateraler Stimulierung mit den jeweiligen, individuellen Echoortungsrufen im Vergleich zu Kontrollmessungen beobachtet. Dies geschah für fünf Fledermäuse, deren Echoortungsrufe vor dem eigentlichen Experiment digital aufgenommen wurden. Vergleicht man die Abfallszeiten der DEOAE, aus denen die Q-Werte errechnet wurden (siehe Kapitel 2.1.2), unter Kontrollbedingungen und während der kontralateralen Präsentation des individuellen, vorher aufgenommenen Echoortungsrufes (CEC), so zeigt sich ein komplexes Muster. In Abbildung 3.8A, B werden die Resultate aus 58 Messungen zusammengefasst, wobei korrespondierende Datenpunkte der beiden experimentellen Bedingungen während der Aufnahme durch eine Zeitspanne von 30 Sekunden getrennt waren. Die beobachteten Q-Werte lassen sich in Bereiche von niedrigen, mittleren und hohen Q-Werten einteilen. Gemäß dieser Einteilung treten qualitative Unterschiede während der kontralateralen Präsentation von Echoortungsrufen auf. Im Bereich niedriger Q-Werte bewirkt die kontralaterale Stimulation eine Erhöhung der Q-Werte (statistisch signifikant, Wilcoxon-Test, $p < 0.05$), in der Region mittlerer Q-Werte zeigt sich keine signifikante Änderung und im Bereich hoher Q-Werte kommt es zu einer Erniedrigung der Q-Werte (statistisch signifikant, Wilcoxon-Test, $p < 0.05$). Regressionsgeraden, welche für die Kontroll- und CEC-Daten berechnet wurden, unterscheiden sich in ihrer Steigung, wobei die Steigung der CEC-Regressionsgerade geringer ist (Abb. 3.8A, B).

Um auszuschließen, daß es sich bei dem beobachteten Effekt um ein Artefakt handelt,

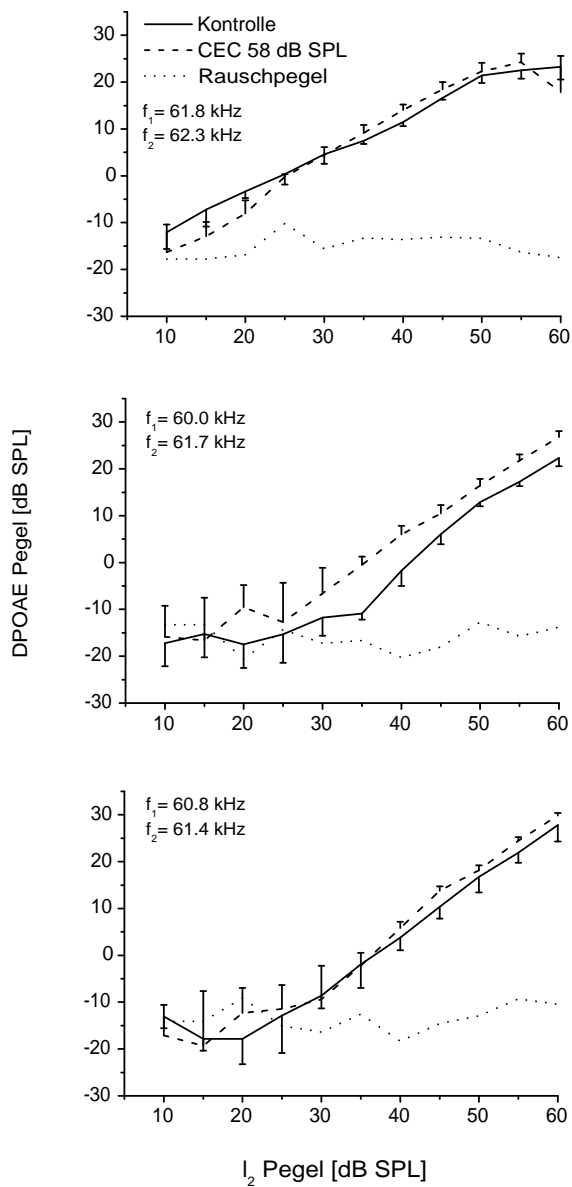


Abbildung 3.7: Wachstumsfunktionen der $2f_1 - f_2$ DPOAE-Amplitude, evoziert mit Primärtonfrequenzen nahe bei 60 kHz, wie bei der jeweiligen Graphik angegeben, unter Kontrollbedingungen (durchgezogene Linie) und während der kontralateralen Stimulation mit dem individuellen Echoortungsruf (CEC) mit einem Pegel von 58 dB SPL (gestrichelte Linie). Die gepunktete Linie zeigt den Rauschpegel an.

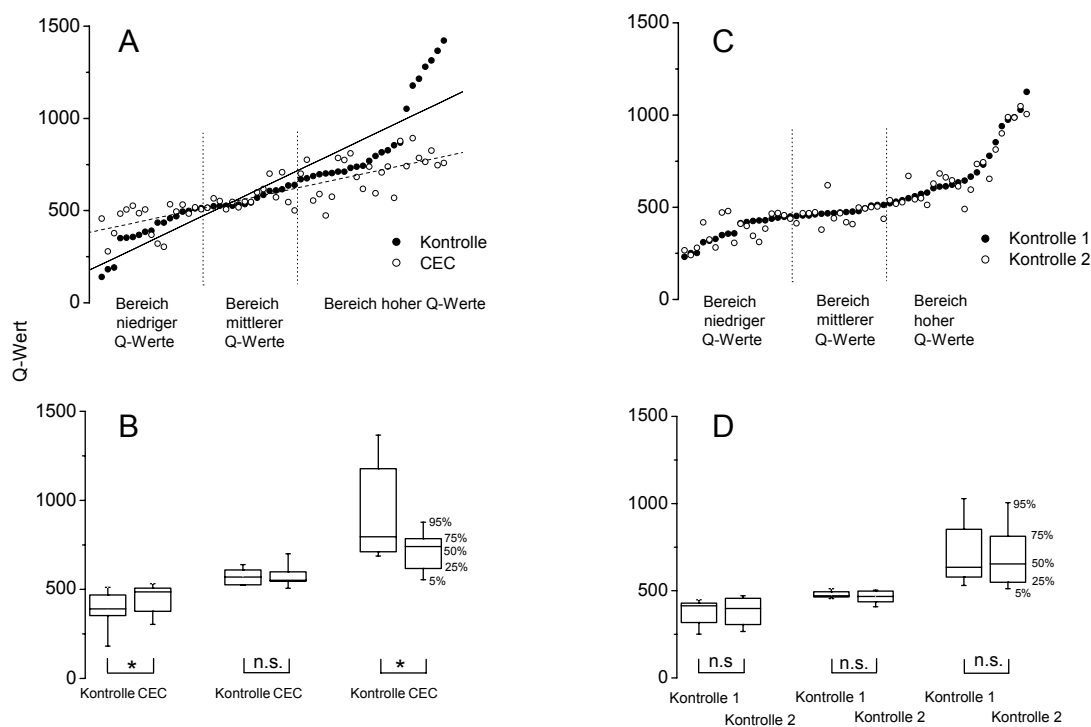


Abbildung 3.8: A, B: Verteilung der DEOAE Q-Werte, errechnet aus der Abfallszeit der DEOAE-Nachschwingung (N=56) für fünf Fledermäuse mit (CEC, offene Symbole) und ohne kontralateraler Präsentation von Echoortungsrufen bei einem Pegel von 58 dB SPL (Kontrolle, gefüllte Symbole). Durchgezogene bzw. gestrichelte Linien repräsentieren Regressionsgeraden der Kontroll- bzw. CEC-Werte. Die Kontrollwerte sind nach ansteigendem Q-Wert geordnet und können in Bereiche niedriger, mittlerer und hoher Q-Werte aufgeteilt werden. C, D: Kontrollplot, unter den gleichen Bedingungen wie in (A) und (B), jedoch ohne jegliche kontralaterale Stimulation. (B) und (D) zeigen die Q-Wert-Verteilung unter beiden Bedingungen als Boxplots. Die Perzentilgrenzen sind am äußersten rechten Plot angegeben. DEOAE wurden mit Frequenzen zwischen 59.5 und 62 kHz bei einem Stimuluspegel von 45 dB SPL evoziert, der jeweiligen cochleären Resonanzfrequenz der Fledermaus entsprechend. Signifikante Unterschiede sind durch einen Stern, nicht signifikante Unterschiede durch „n.s.“ gekennzeichnet.

entstanden durch die Art der Auftragung, wurden Kontrollmessungen durchgeführt. Diese waren in der gleichen Art und Weise wie oben geschildert gestaltet, wobei die beiden Messungen wiederum durch ein Zeitintervall von 30 Sekunden voneinander getrennt waren. Es wurde keinerlei kontralaterale Stimulation verwendet. Die beiden auf diese Weise gemessenen Kurven zeigen in keinem der drei definierten Q-Wert-Bereiche einen signifikanten Unterschied. Damit können Artefakte der Meßdatenerhebung oder der Auftragsweise der Daten ausgeschlossen werden (Abb. 3.8C, D).

3.2 Die Eigenschaften von DPOAE und deren Beeinflussung durch kontralaterale akustische Stimulation während der Isofluranapplikation

Wie bereits in Kapitel 2.4 beschrieben, wurde die Isoflurananästhesie erstmalig für Schnurrbartfledermäuse etabliert. Eine der wichtigen Fragestellungen, die sich hierbei ergeben, ist die der Beeinflussung von OAE durch diese Narkoseform. Gängige Injektionsnarkosen beeinträchtigen in hohem Maße die Generierung von OAE (Harel et al., 1997; Hatzopoulos et al., 2002; Zheng et al., 1997) und schwächen die Aussagekraft der Resultate ab. Die im Weiteren geschilderten Versuche wurden an zwei Versuchstiergruppen durchgeführt: Bei den Tieren der Kontrollgruppe wurden alle Versuche ohne jegliche Anästhesie durchgeführt, bei denen der Isofluranguppen wurden die Versuche während der Applikation von 1.5% Isofluran mit einer Durchflußrate von 0.8–2 l O₂/min ausgeführt.

Zunächst wurden wiederum die optimalen Parameter zur Evozierung des $2f_1 - f_2$ -Verzerrungsproduktes bestimmt und daraufhin durch Anheben der Primärtonpegel in 5 dB Schritten Wachstumsfunktionen ermittelt. Es wurden in beiden Gruppen jeweils 100 Messungen von 14 Tieren ausgewertet. Aus den Wachstumsfunktionen wurden mittels Interpolation der Datenpunkte die l_2 -Pegel bestimmt, die nötig waren, um eine $2f_1 - f_2$ Emissionsamplitude von -10 bzw. 0 dB SPL zu erreichen. Außerdem wurde aus jeder Messung die $2f_1 - f_2$ -Emissionsamplitude bei l_2 -Pegeln von 30 und 40 dB SPL bestimmt, einem Pegelbereich, in dem der cochleäre Verstärker eine große Aktivität zeigen sollte. In der Kontrollgruppe betrug der Median der l_2 -Pegel zum Erreichen der -10 dB SPL Schwelle 19 dB SPL, zum Erreichen der 0 dB SPL Schwelle 28 dB SPL (siehe Abb. 3.9). In der Isofluranguppen wurde für den Median des l_2 -Pegels zum Erreichen der -10 dB SPL Schwelle ein Wert von 16 dB SPL bestimmt, für den der 0 dB SPL Schwelle betrug der Median 28 dB SPL (Abb. 3.9). Bei einem l_2 -Pegel von 30 dB SPL betrug der Median der Emissionsamplitude in der Kontrollgruppe -3.8 dB SPL, bei einem l_2 -Pegel von 40 dB SPL 6.8 dB SPL (siehe Abb. 3.10).

Bei einem l_2 -Pegel von 30 dB SPL betrug der Median der gemessenen Emissionsamplituden in der Isofluranguppen 2.8 dB SPL, bei einem l_2 -Pegel von 40 dB SPL betrug er 17.5 dB SPL (siehe Abb. 3.10). Die Resultate sind in Tabelle 3.1 zusammengefaßt.

Versuchsbe- dingung	l_2 (Krit.: -10 dB SPL) [dB SPL]	l_2 (Krit.: 0 dB SPL) [dB SPL]	DPOAE-Pegel ($l_2=30$ dB SPL) [dB SPL]	DPOAE-Pegel ($l_2=40$ dB SPL) [dB SPL]
Kontrolle	19	28	-3.8	6.8
Isofluran	16	28	2.8	17.5

Tabelle 3.1: Zusammenfassung der Mediane der an wachen und isofluranbetäubten (1.5%) Tieren erhobenen Werte (jeweils 14 Fledermäuse, N=100). Es werden die l_2 Pegel zum Erreichen eines Schwellenkriteriums von -10 bzw 0 dB SPL, sowie die $2f_1 - f_2$ DPOAE Amplitude bei l_2 Pegeln von 30 bzw. 40 dB SPL verglichen.

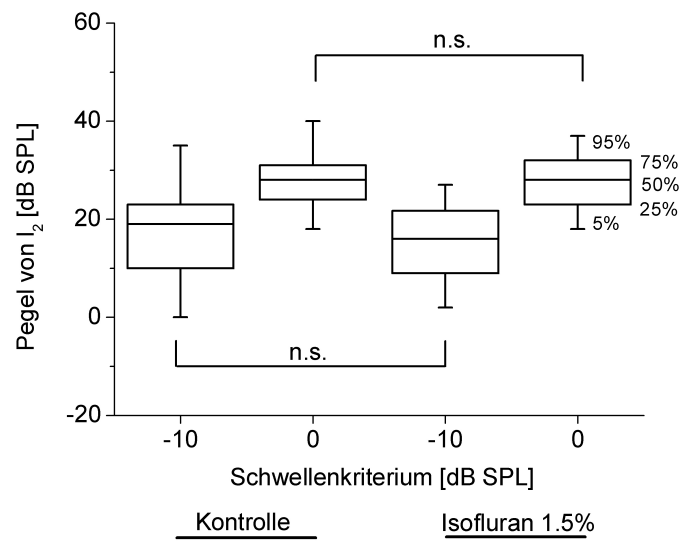


Abbildung 3.9: Box-Plot der l_2 -Pegel, die nötig waren, um das Schwellenkriterium des $2f_1 - f_2$ DPOAE-Pegels von -10 bzw. 0 dB SPL zu erreichen. Die Daten wurden von wachen und mit Isofluran betäubten Tieren gewonnen, wobei die verwendete Isoflurankonzentration 1.5% betrug. Entsprechende Werte aus den Kontroll- und Isoflurangruppen sind statistisch nicht unterschiedlich. Die Perzentilgrenzen der Box-plots sind an der äußersten rechten Box angegeben.

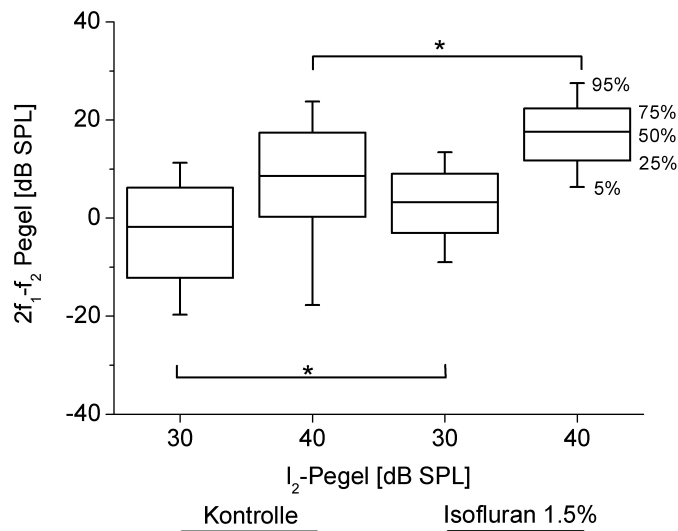


Abbildung 3.10: Box-Plot der DPOAE-Amplituden, bestimmt aus Wachstumsfunktionen von Kontroll- und Isoflurangruppe bei Primärtonpegeln l_2 von 30 und 40 dB SPL. Die verwendete Isoflurankonzentration betrug 1.5%. Die jeweiligen Werte aus den beiden Gruppen sind statistisch unterschiedlich (Mann-Whitney-U-Test, durch einen Stern gekennzeichnet), wobei die DPOAE-Amplituden der Isoflurangruppe bei beiden getesteten Primärtonpegeln signifikant größer sind ($p < 0.001$).

Die gewonnenen Werte der beiden Gruppen wurden statistisch auf signifikante Unterschiede getestet. Ein Vergleich zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich des Emissionspegels ergab, daß sowohl bei einem l_2 -Pegel von 30 wie auch von 40 dB SPL die Emissionsamplitude der Isoflurangruppe höchst signifikant größer ist (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0.001$). Vergleicht man jedoch die Werte der l_2 -Pegel, die zum Erreichen des Schwellenkriteriums nötig waren, so läßt sich zwischen den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied feststellen. Um zu klären, ob die Isoflurananästhesie auch Auswirkungen auf mutmaßliche efferente Effekte hat, induziert durch kontralaterale Stimulation, wurde den Tieren der Isofluran-Gruppe wiederum eine kontralaterale Stimulation mit breitbandigem Rauschen (1–100 kHz) unterschiedlicher Lautstärke geboten. Für zehn Versuchstiere wurden DPOAE-Wachstumskurven, evoziert mit Primärtonfrequenzen nahe bei 60 kHz, durch Anheben der Primärtonpegel in 5 dB-Schritten gewonnen, während dem kontralateralen Ohr breitbandiges Rauschen mit einem Pegel von 58 dB SPL geboten wurde. Im Vergleich zu den Resultaten der Gruppe der nicht anästhesierten Versuchstiere zeigt sich eine wesentlich schwächere Ausprägung eines durch das olivocochleäre System vermittelten suppressiven Effektes. Bei einem CLN-Pegel von 58 dB SPL wurde innerhalb der 50 vorgenommenen Messungen eine mittlere Reduktion der effektiv zur DPOAE-Generierung zur Verfügung stehenden Energie von drei dB ermittelt. Das bedeutet, daß im Mittel während der kontralateralen Stimulierung mit CLN bei einem Pegel von 58 dB SPL der l_2 -Pegel um nur drei dB gegenüber der Kontrollmessung angehoben werden mußte, um eine $2f_1 - f_2$ DPOAE mit einem definierten Pegel von 15 dB SPL zu erzeugen (Abb. 3.11). Im Vergleich dazu waren beim wachen Tier im Mittel 9.5 dB nötig gewesen (siehe Abb. 3.4). Ab einem l_2 Pegel von 30 dB SPL treten statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden experimentellen Bedingungen auf (t-test, $p < 0.05$).

3.3 Isofluran und spontane otoakustische Emissionen

Während der obengenannten Experimente wurden die Tiere der Kontroll- und Isoflurangruppe auf spontane otoakustische Emissionen (SOAE) überprüft, was mit dem gleichen Koppler geschah, der auch zur Aufnahme der DPOAE benutzt wurde.

In der Kontrollgruppe wies von 14 untersuchten Tieren nur eines eine stabile SOAE auf (gezeigt in Abb. 3.12). Diese Emission war bei einer Frequenz von 60.47 kHz mit einem durchschnittlichen Pegel von 40 dB SPL überaus robust und über mehrere Tage meßbar. Zudem war die spontane Emission durch einen zusätzlichen, über den Koppler gebotenen Ton suppressierbar (Abb. 3.13), wobei der zusätzliche Ton, wenn er in einem geeigneten Verhältnis zur Frequenz der spontanen Emissionen stand, sogar eine gut meßbare $2f_1 - f_2$ DPOAE erzeugte. Dies wird besonders deutlich, wenn zur Suppression ein in der Frequenz ansteigender Ton benutzt wird, der, je mehr er sich der Frequenz der SOAE annähert, einen um so größeren suppressiven Einfluß auf die Amplitude der SOAE hat (Abb. 3.13). Interessant in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung, daß bei diesem Tier auch während der normalen Messung von DPOAE Pegelmaxima im Spektrum erscheinen, deren Frequenz verschieden ist von der der Primärtöne und der

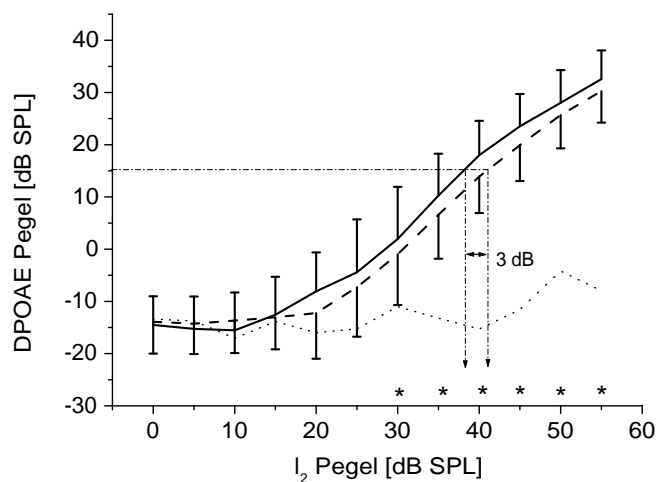


Abbildung 3.11: Gemittelte DPOAE-Wachstumsfunktionen und deren Standardabweichungen während der Applikation von Isofluran. Die Wachstumsfunktionen wurden mit Primärtonfrequenzen von etwa 60 kHz unter Kontrollbedingungen und während der Präsentation von CLN bei einem Pegel von 58 dB SPL evoziert. Um eine DPOAE-Amplitude von 15 dB SPL zu erreichen, muß der I_2 -Pegel gegenüber der Kontrollmessung um im Mittel drei dB angehoben werden. Die verwendete Isoflurankonzentration betrug 1.5%. Die Daten wurden an 10 Fledermäusen (jeweils $N=5$) erhoben. Sternsymbole markieren statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden experimentellen Bedingungen (t-test, $p < 0.05$).

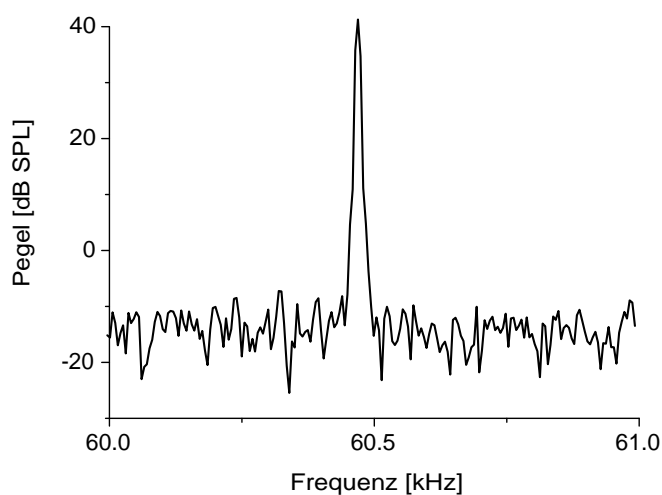


Abbildung 3.12: Spontane otoakustische Emission bei einer Frequenz von 61.4 kHz und einem Pegel von 42 dB SPL, gemessen an einer unbetäubten Schnurrbartfledermaus.

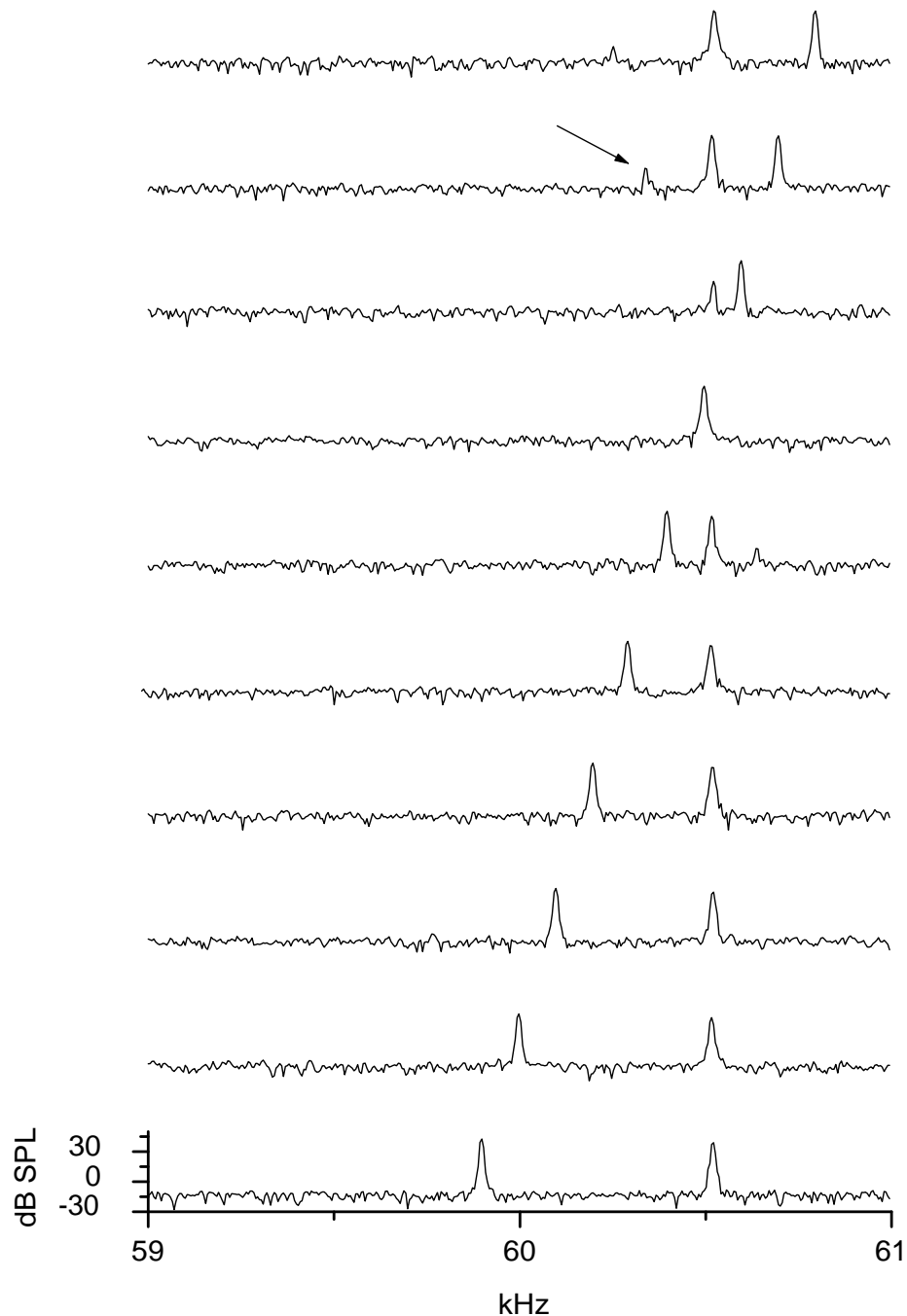


Abbildung 3.13: Suppression der SOAE durch einen extern generierten Reinton, der in seiner Frequenz verändert und dadurch der SOAE angenähert wird. In der Nähe der SOAE supprimiert der Suppressorton die SOAE, und zwar um so mehr, je mehr sich der Suppressor der SOAE annähert, bis sie schließlich gänzlich verschwindet. In diesem Beispiel entsteht bei einem geeigneten Frequenzverhältnis eine DPOAE (durch einen Pfeil gekennzeichnet), wobei SOAE und Suppressortöne als Primärtöne fungieren. Der Suppressortone wurde mit einem Pegel von 30 dB SPL geboten.

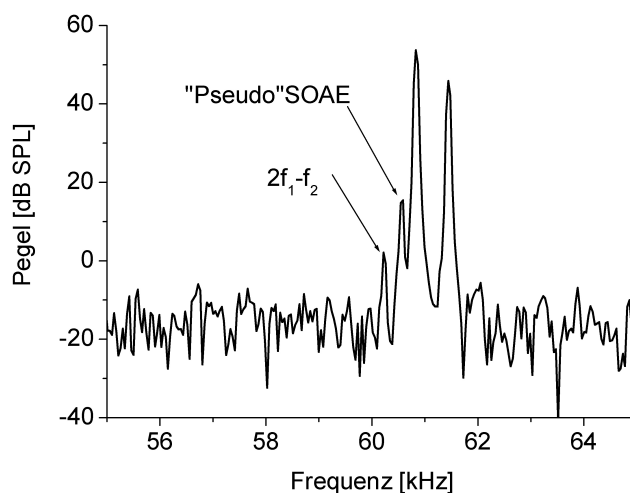


Abbildung 3.14: Auftreten einer zusätzlichen Frequenz während der Evozierung von DPOAE mit Primärtonfrequenzen nahe bei 61 kHz. Diese Frequenz ist verschieden von der der kubischen Verzerrungsprodukte und häufig identisch mit einer später meßbaren SOAE. Diese Ereignisse werden als die Vorstufe einer entstehenden SOAE interpretiert und dementsprechend als Pseudo-SOAE bezeichnet.

$2f_1 - f_2$ -Frequenz, aber nahezu identisch ist mit der Frequenz der SOAE, sofern sie vorhanden waren. Diese Ereignisse werden im folgenden Pseudo-SOAE genannt (siehe Abb. 3.14). Dieser Begriff soll veranschaulichen, daß es sich bei diesen SOAE nicht um SOAE im eigentlichen Sinne handelt, sondern um OAE an der Grenze zur spontanen Oszillation, die noch einen kleinen akustischen Impuls benötigen, um meßbar zu werden. Sie stellen möglicherweise die Vorstufe einer echten, sich im Entstehen befindlichen SOAE dar. Außerdem sei erwähnt, daß bei diesem Tier der akustisch aktivierte, vermutlich efferent vermittelte Effekt nur schwach ausgeprägt war, und erst bei hohen Pegeln (ab 78 dB SPL) auslösbar war. Innerhalb einer Gruppe von 15 unbetäubten Fledermäusen trat nur diese eine SOAE auf. In der Isoflurangruppe traten SOAE mit einer höheren Wahrscheinlichkeit auf: In einer Gruppe von 22 Fledermäusen konnten sechs robuste SOAE nachgewiesen werden, deren Frequenz nahezu identisch mit der bei diesen Messungen ebenfalls auftretenden Pseudo-SOAE ist. In der Isoflurangruppe traten Pseudo-SOAE mit einer wesentlich größeren Häufigkeit auf als in der Kontrollgruppe: Bei der Durchführung von 25 Messungen konnten dabei in 22 Messungen Pseudo-SOAE nachgewiesen werden. Die Frequenz dieser Emissionen lag in einem Bereich von 61 bis 62 kHz und war innerhalb der Messungen an einem Versuchstier über mehrere Tage konstant.

Zusätzlich wurde an einigen Tieren exemplarisch das Verhalten von SOAE, Pseudo-SOAE und DPOAE während der Anästhesie mit unterschiedlichen Isoflurankonzentrationen untersucht. Als generelle Tendenz läßt sich erkennen, daß hohe Isoflurankonzentrationen (3.5%) zu einer Suppression der Amplitude der SOAE führen, wie es exemplarisch in Abbildung 3.15 gezeigt ist. Niedrige Isoflurankonzentrationen (etwa

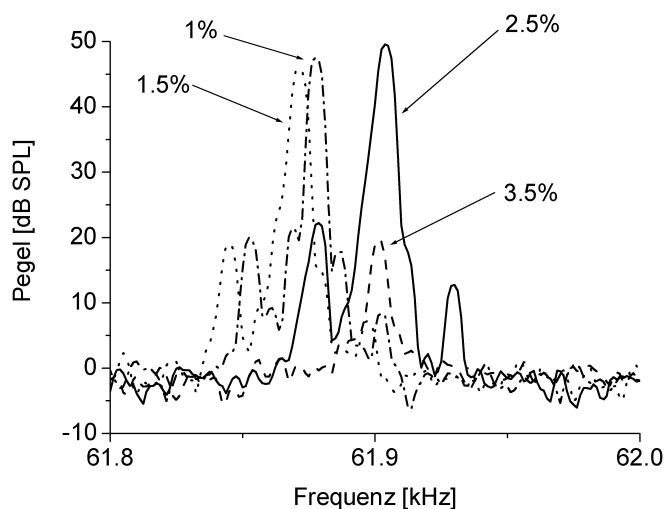


Abbildung 3.15: Beeinflussung der SOAE durch verschiedene Isoflurankonzentrationen. Hohe Isoflurankonzentrationen bewirken eine Suppression der SOAE. Man bemerke, daß die SOAE in diesem Fall aus einem Hauptmaximum und zwei Nebenmaxima besteht, die sich im gleichen Frequenzabstand vom Hauptmaximum befinden. Die verwendeten Isoflurankonzentration sind bei der jeweiligen Graphik angegeben.

1% Isofluran) bewirken nur geringfügige Änderungen in der Emissionsamplitude, die Emissionsfrequenz verschiebt sich jedoch zu niederen Frequenzen. Bemerkenswert in dem gezeigten Beispiel ist die Tatsache, daß die SOAE in diesem Fall aus einem Hauptmaximum und zwei Nebenmaxima besteht. Die Nebenmaxima befinden sich im gleichen Frequenzabstand zum Hauptmaximum (siehe zu diesem Phänomen auch Schloth und Zwicker, 1983; Talmadge et al., 1993), wobei die Nebenmaxima bei hohen Isoflurankonzentrationen verschwinden.

Bei den während der DPOAE-Messungen beobachteten Pseudo-DPOAE verhält es sich ganz ähnlich: bei Isoflurankonzentrationen von mehr als 3% verringert sich ihre Amplitude, jedoch verringert sie sich ebenfalls bei niedrigen Isoflurankonzentrationen (weniger als 1.5%). Auch die Amplitude des $2f_1 - f_2$ DPOAE erreicht bei einer Isoflurankonzentration von 2% ihr Maximum. Konzentrationen, die über- oder unterhalb dieses Wertes lagen, verringerten die DPOAE-Amplitude (siehe Abb. 3.16). Es scheint somit sowohl bei SOAE als auch bei Pseudo-SOAE eine intermediäre Isoflurankonzentration (ca. 2%) zu geben, die zu einer maximalen Amplitude bei beiden Emissionsarten führt.

Zusammenfassend läßt sich die Wirkung von Isofluran folgendermaßen darstellen: Die Applikation von Isofluran mit einer Konzentration von etwa 2% führt zu einer signifikanten Erhöhung der Amplitude der DPOAE, aber nicht zu einer Veränderung der Schwelle zur Evozierung von DPOAE mit einem definierten Pegel. Isofluran erhöht die Wahrscheinlichkeit des Auftretens der SOAE und erzeugt sogenannte Pseudo-SOAE. Es verringert den durch kontralaterale Beschallung hervorgerufenen Grad der Suppression um nahezu 70%.

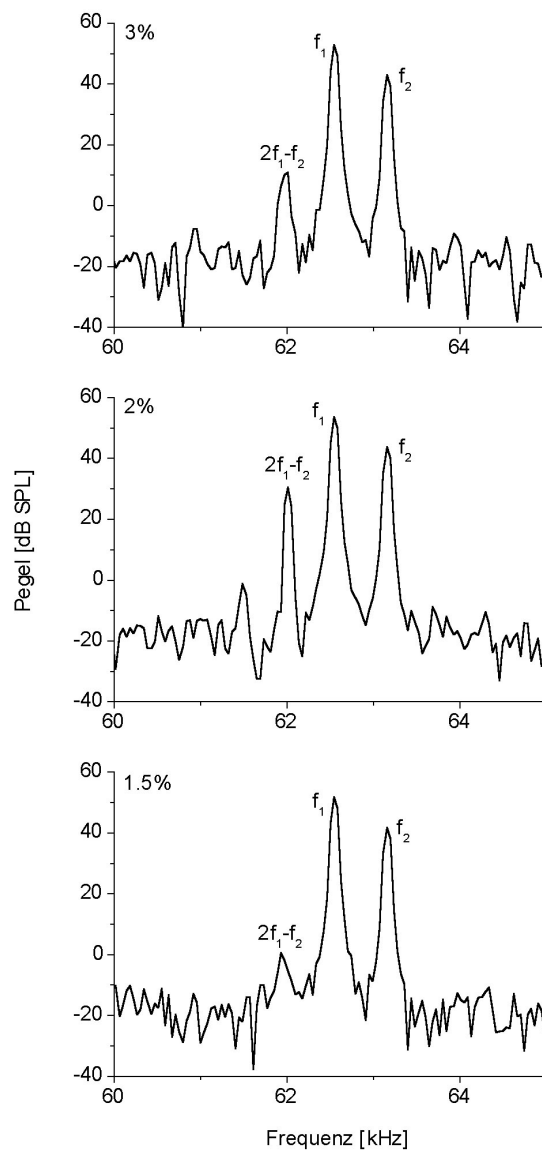


Abbildung 3.16: Beispiel für die Abhängigkeit der $2f_1 - f_2$ DPOAE-Amplitude von der Isoflurankonzentration. Bei konstanten akustischen Stimulationsparametern erreicht die DPOAE-Amplitude bei etwa 2% ihr Maximum. Bei höheren oder niedrigeren Isoflurankonzentrationen verringert sich die DPOAE-Amplitude.

3.4 Beeinflussung von DEOAE und CM durch elektrische Stimulation des ICc und des auditorischen Cortex

Um eine kontrollierte, fokale Stimulation des medialen efferenten Systems unabhängig von akustischen Stimuli zu ermöglichen, wurden eine Elektrode zur elektrischen Stimulation in den zentralen Bereich des *Colliculus inferior* (ICc) im Mittelhirn implantiert. Mittels der Messung von evozierten Potentialen im ICc wurde die Elektrode im Normalfall so positioniert, daß sie sich im Bereich der tonotopen Abbildung von etwa 60 kHz befand. Die elektrischen Reizungen wurden mit unterschiedlichen Stromstärken am wachen oder leicht sedierten Tier durchgeführt und Veränderungen verschiedener Parameter des cochleären Mikrofonpotentials bestimmt.

3.4.1 Elektrische Stimulierung des ICc während der Messung von cochleären Mikrofonpotentialen

Dem eigentlichen Versuch ging zunächst die Optimierung der Stimulusfrequenz zur Evozierung des cochleären Mikrofonpotentials voraus. Im Idealfall entspricht die Frequenz des Stimulus der cochleären Resonanzfrequenz und ruft somit eine maximale Amplitude des cochleären Mikrofonpotentials hervor. Zur Optimierung werden akustische Stimuli schrittweise in einem Frequenzfenster von etwa 4–5 kHz um die anhand der CF_2 -Frequenz abgeschätzten cochleären Resonanzfrequenz in Schritten von 100 Hz geboten (siehe Abb. 3.17). Entspricht die Stimulusfrequenz nicht exakt der cochleären Resonanzfrequenz, so treten sogenannte Schwebungen, Interferenzen zwischen Schwingungen mit ähnlicher Frequenz und geringer Dämpfung auf (den Hartog, 1985). Diese lassen sich im Mikrofonpotential als kleine Amplitudenmodulationen beobachten, wobei die Modulationsfrequenz der Differenz von erzwungener Schwingungsfrequenz (der Stimulusfrequenz) und der natürlichen Schwingungsfrequenz (der cochleären Resonanzfrequenz) entspricht. Mit fortschreitender Stimulusdauer dominiert die erzwungene Schwingung, und die Amplitudenmodulationen werden exponentiell kleiner (siehe Abb. 3.17). In dieser Hinsicht verhält sich die Cochleamechanik der Schnurrbartfledermaus also wie ein simpler Resonator mit einem Freiheitsgrad. Nach Stimulusende schwingen die cochleären Resonatoren mit ihrer natürlichen Frequenz aus. Diese Nachschwingung weist einen nahezu exponentiellen Abfall ihrer Amplitude auf. An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß in der Nachschwingung des cochleären Mikrofonpotentials nach Ende des akustischen Stimulus eigentlich keine Schwebung auftreten kann, da es für den Resonator, der diese Schwingung erzeugt, keinen Partner gibt, mit dem er interferieren könnte. In Kontrollmessungen einer mit Isofluran betäubten Fledermaus traten jedoch auch in der Nachschwingung Schwebungen auf (siehe Abb. 3.18). In der Diskussion wird auf dieses Phänomen näher eingegangen.

Nachdem die Parameter der Meßgröße, des cochleären Mikrofonpotentials, optimiert waren, wurde die bipolare bzw. in einigen Fällen monopolare Reizelektrode zunächst anhand optischer Landmarken in den kontralateralen ICc eingeführt. Da die efferente Innervierung der OHC tonotop erfolgt (Lieberman und Brown, 1986), wurde davon ausgegangen, daß eine elektrische Stimulierung der tonotopen Abbildung von

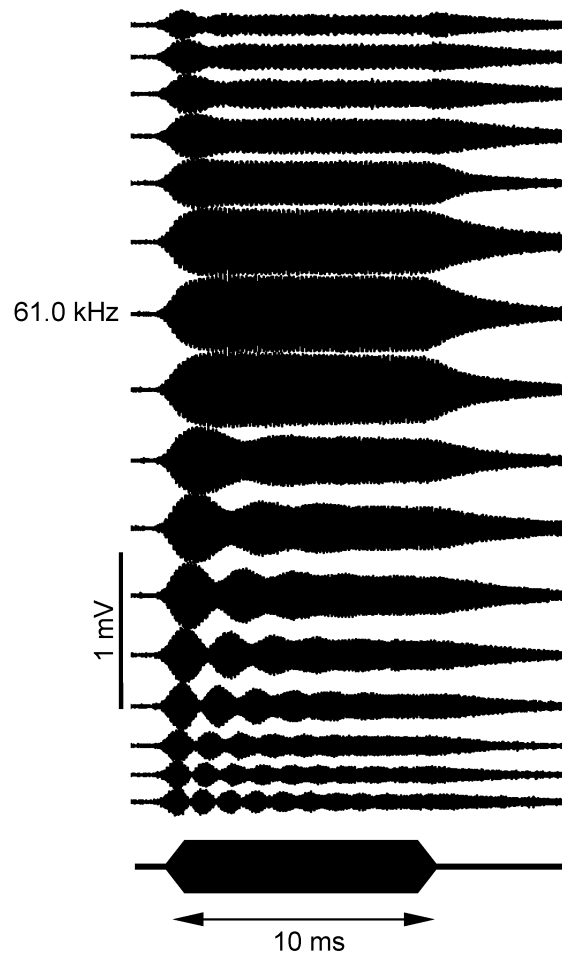


Abbildung 3.17: Evozierung von cochleären Mikrofonpotentialen mit Stimuli im Bereich von 60.1 - 61.6 kHz mit 40 dB SPL in Frequenzschritten von 100 Hz. Im hier gezeigten Beispiel liegt die optimale Stimulusfrequenz bei 61 kHz. Unter- und oberhalb dieser Frequenz tritt eine deutliche Schwebung auf, die zwischen Stimulus und cochleärer Resonanz entsteht, mit fortschreitender Stimulusdauer aber verschwindet, da die erzwungene Schwingung des Resonators zunehmend dominiert. Die Frequenz der Schwebung nimmt mit der Entfernung der Stimulusfrequenz von der Resonanzfrequenz zu.

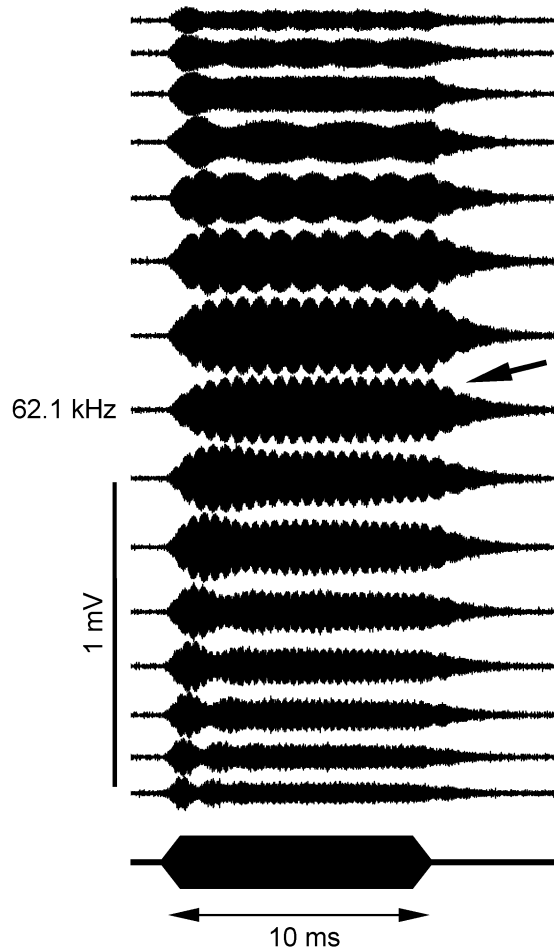


Abbildung 3.18: Im Mikrofonpotential der Schnurrbartfledermaus sind bei Stimulationsfrequenzen, die nicht exakt der cochleären Resonanzfrequenz entsprechen, Interferenzen zwischen Tonstimulus und cochleärer Resonanz zu beobachten. In der gezeigten Präparation treten diese sogenannten Schwebungen sowohl während der Dauer des Tonpulses als auch in der nach Stimulusende zu beobachteten Nachschwingung auf, auf die der Pfeil deutet. Es wurden Stimuli zwischen 61.4 und 62.8 kHz in 100 Hz Schritten mit 40 dB SPL verwendet. Das Versuchstier war mit Isofluran betäubt.

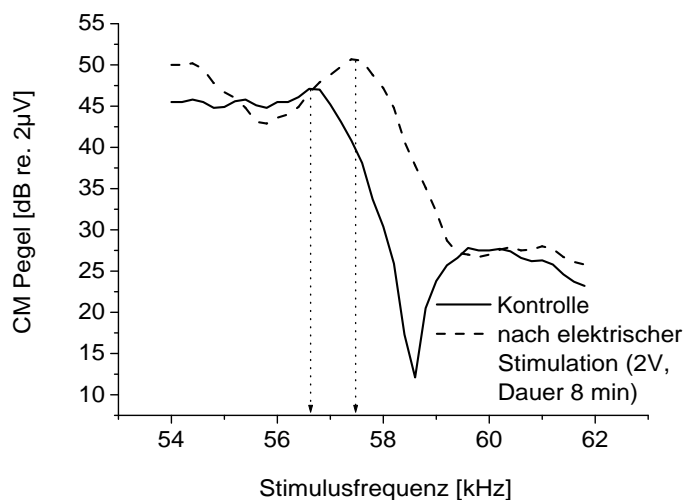


Abbildung 3.19: Elektrische Stimulierung im kontralateralen ICc verursacht eine Verschiebung der optimalen Stimulusfrequenz zur Evozierung maximaler CM-Amplituden (CM-BF). Die optimale Anregungsfrequenz verschiebt sich von 56.8 kHz auf 57.4 kHz und die Maximalamplitude erhöht sich um 3.7 dB. Der akustische Stimulus wurde mit einem Pegel von 50 dB SPL, der elektrische Stimulus 8 Minuten mit einer Spannung von 2 V präsentiert.

etwa 61 kHz auch die OHC am cochleären Abbildungsort von 61 kHz am effektivsten beeinflussen sollte. Um zu gewährleisten, daß die elektrische Stimulation Neurone, welche Frequenzen von etwa 61 kHz verarbeiten, sowie deren potentielle efferente Ausgangsbahnen stimulierte, wurden in unterschiedlichen Penetrationstiefen, und, wenn nötig, an anderen Penetrationsorten akustisch evozierte Potentiale (EP) abgeleitet. EP stellen die gesammelte elektrische Aktivität eines *Nucleus* oder eines Nervs dar, die durch die integrativen Eigenschaften einer Elektrode abgeleitet werden können. Die relativ lokal abgeleiteten Nahfeldpotentiale im IC zeichnen sich, wie die anderer Kerne der Hörbahn, durch eine anfängliche positiv-negative Welle aus, der eine breite negative Welle folgt. Die anfängliche positiv-negative Welle wird vermutlich durch die Eingänge des *Lemniscus lateralis* in den IC erzeugt, wobei die langsame negative Welle dendritischen Potentialen zugeschrieben wird (Moller und Burgess, 1986; Zappia et al., 1996). Die Reizelektrode wurde so positioniert, daß bei einer Stimulusfrequenz von etwa 60 kHz ein EP mit maximaler Amplitude abgeleitet werden konnte. Während der Messung der EP wurden Tonfrequenzen zwischen gewöhnlich 5 und 85 kHz getestet. Um die Effekte der elektrischen Stimulierung des ICc zu dokumentieren, wurden mehrere verschiedene Parameter der gleichzeitig abgeleiteten CM untersucht. Einerseits wurde vor und während der elektrischen Stimulation die Stimulusfrequenz bestimmt, welche maximale Amplituden des cochleären Mikrophonpotentials und seiner Nachschwingung hervorrief. Andererseits wurde die ausgeprägte Nachschwingung nach Stimulusende dazu benutzt, potentielle Veränderungen der Resonanzfrequenz und -amplitude durch efferente Aktivität, ausgelöst durch elektrische Stimulie-

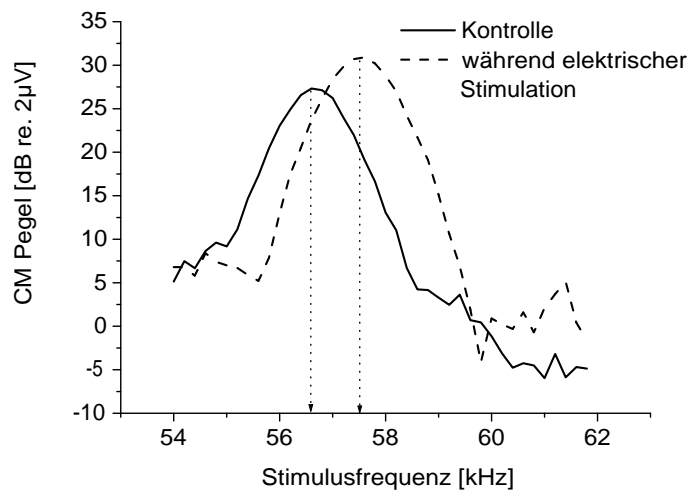


Abbildung 3.20: Verschiebung der Resonanzfrequenz der Nachschwingung des cochleären Mikrofonpotentials während der elektrischen Stimulation ($10\mu\text{A}$) im kontralateralen ICc bei einer Penetrationstiefe von $500\mu\text{m}$, dargestellt als Amplitudenspektrum. Deutlich ist eine Erhöhung der Resonanzfrequenz der CM-Nachschwingung von $56,5$ auf $57,5$ kHz zu erkennen. Die Resonanzamplitude erhöhte sich um 7 dB. Das cochleäre Mikrofonpotential wurde mit einem Stimuluspegel von 40 dB SPL evoziert.

rung im ICc, zu detektieren. Typischerweise zeigte sich eine Verschiebung der optimalen Anregungsfrequenz für das cochleäre Mikrofonpotential (CM-BF) zu höheren Frequenzen und eine Erhöhung der Maximalamplitude. Dies ist exemplarisch in Abb. 3.19 gezeigt. In diesem repräsentativen Beispiel verschiebt sich die CM-BF von $56,8$ auf $57,4$ kHz, wobei sich die Maximalamplitude um $3,7$ dB erhöht. Gleichzeitig wurden Amplitudenspektren der CM-Nachschwingung ermittelt. In Abbildung 3.20 ist in einem repräsentativen Beispiel die Verschiebung der Resonanzfrequenz der CM-Nachschwingung zu einer höheren Frequenz während der elektrischen Stimulation des ICc gezeigt. Gleichzeitig ist auch eine Erhöhung der Resonanzamplitude zu erkennen. Diese Experimente wurden an insgesamt sieben Fledermäusen durchgeführt. In Abbildung 3.21 sind die Frequenzänderungen der CM-BF und die Veränderung der Resonanzfrequenz nach Ende des Stimulus, bestimmt durch eine FFT (Zeitfenster 4 ms, 8192 Punkte), für die untersuchten Tiere zusammengefaßt.

Es zeigt sich eine Tendenz zur gleichzeitigen Erhöhung der CM-BF und der Resonanzfrequenz der Nachschwingung während der elektrischen Stimulierung des ICc. Die maximale Verschiebung der optimalen CM-Frequenz betrug $+800$ Hz, die gemittelte Frequenzverschiebung $+260$ Hz. Bei der Resonanzfrequenz wurden maximale Veränderungen von $+850$ Hz ermittelt, wobei der Mittelwert 100 Hz betrug. Hierbei muß erwähnt werden, daß auch Veränderungen zu niederen Frequenzen auftraten. Aus den gleichen Daten, aus denen die Frequenzänderungen bestimmt wurden (siehe Abb. 3.21), wurden auch Änderungen der CM-Amplituden und der Resonanzamplitude der Nachschwingung bestimmt (Abb. 3.22). Während der elektrischen Stimulierung

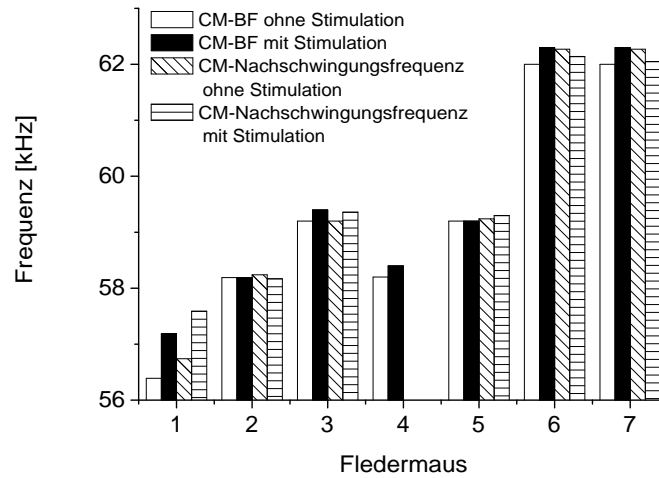


Abbildung 3.21: Veränderung der optimalen Stimulusfrequenz (CM-BF) und der Frequenz der Nachschwingung des cochleären Mikrophonopotentials der sieben untersuchten Fledermäuse, jeweils mit und ohne elektrischer Stimulation im kontralateralen ICc bei einer Penetrationstiefe von $500 \mu\text{m}$. Es wurden elektrische Stimuli mit $10 \mu\text{A}$ verwendet. Das cochleäre Mikrophonopotential wurde mit einem akustischen Stimulus von 40 dB SPL evoziert.

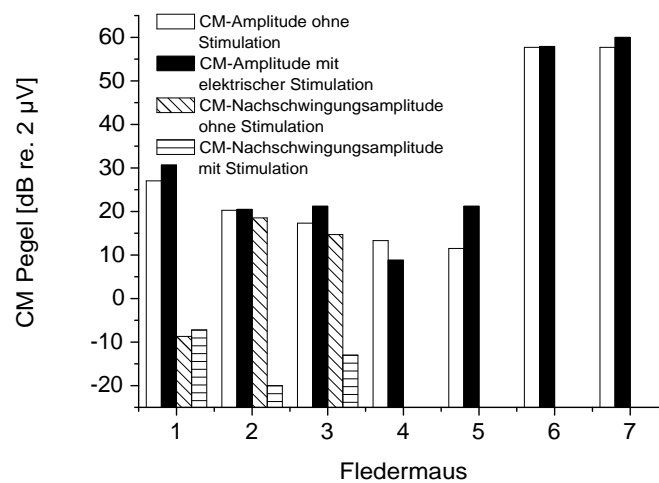


Abbildung 3.22: Veränderung der CM-Amplitude und der Amplitude der Nachschwingung während elektrischer Stimulation des kontralateralen ICc bei einer Penetrationstiefe von $500 \mu\text{m}$, dargestellt als Balkendiagramm für sieben Versuchstiere. Es wurden elektrische Stimuli mit $10 \mu\text{A}$ verwendet. Das cochleäre Mikrophonopotential wurde mit einem akustischen Stimulus von 40 dB SPL evoziert. In allen Versuchen wurde die Stimulusfrequenz zur Erzielung maximaler CM-Amplituden optimiert.

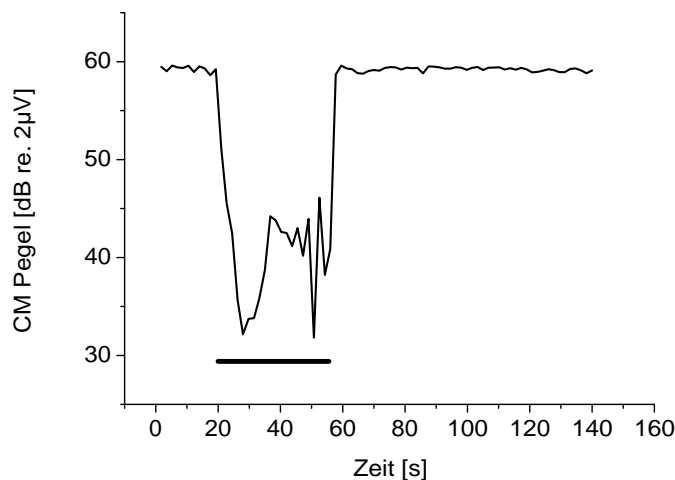


Abbildung 3.23: Veränderung der CM-Amplitude, evoziert mit einem akustischen Stimulus von 60.35 kHz und 70 dB SPL, als Funktion der Zeit während elektrischer Stimulation mit einer bipolaren Elektrode. Der kontralaterale ICc wurde mit einer Stromstärke von $5 \mu\text{A}$ bei einer Penetrationstiefe von $500 \mu\text{m}$ stimuliert. Es zeigen sich zwei Phasen der Amplitudenreduktion: Nach wenigen Sekunden kommt es zu einer raschen Abnahme der CM-Amplitude. Bei anhaltender elektrischer Stimulation erholt sich die CM-Amplitude nach etwa 10 Sekunden um 12 dB.

des ICc mit $10 \mu\text{A}$ nahm die CM-Amplitude um durchschnittlich 2.2 dB zu. Die Amplitude der Nachschwingung hingegen verringerte sich um durchschnittlich 21.5 dB (Abb. 3.22). In einigen Messungen wurde auch die Veränderung der CM-Amplitude als Funktion der Zeit verfolgt. Abbildung 3.23 zeigt die Verringerung der CM-Amplitude während elektrischer Stimulation des ICc und die Rückkehr zum Ausgangswert. Es zeigen sich zwei Phasen der Amplitudenreduktion: In einer ersten, sich schnell etablierenden Reaktion auf die elektrische Stimulation des ICc kommt es zu einer raschen Abnahme der Amplitude innerhalb weniger Sekunden. Bei anhaltender elektrischer Stimulation erholt sich die CM-Amplitude nach etwa 10 Sekunden um 12 dB. Dieser Grad der Suppression bleibt bis zum Ende der elektrischen Stimulierung erhalten. Wie bereits im vorangegangenen erwähnt, traten während der elektrischen Stimulation im ICc sowohl verringerte als auch erhöhte Amplituden von CM und CM-Nachschwingung auf. Im Gegensatz dazu zeigt das Beispiel in 3.24 die Erhöhung der CM-Amplitude als Funktion der Zeit während elektrischer Stimulation des ICc.

In diesen Beispielen, in denen die Entwicklung des efferenten Effektes als Funktion der Zeit verfolgt wurde, bewegten sich die Zeitkonstanten für das Entstehen und das Verschwinden des Effektes im Bereich von Sekunden.

Um die Auswirkung elektrischer Stimulation im ICc auf die CM-Amplitude zu untersuchen, wurden durch schrittweises Erhöhung des Pegels des akustischen Stimulus und der Beobachtung der Veränderung der CM-Amplitude (N=21, fünf Fledermäuse) Wachstumsfunktionen unter Kontrollbedingungen (ohne elektrische Stimulation) und

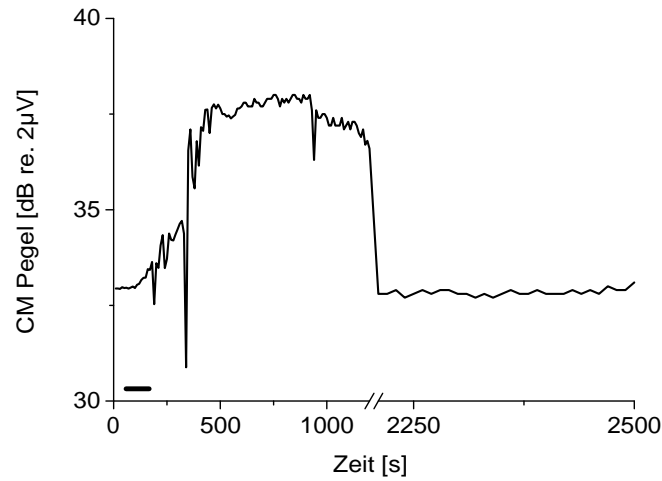


Abbildung 3.24: Erhöhung der CM-Amplitude während anhaltender elektrischer Stimulation im kontralateralen ICc bei einer Penetrationstiefe von $500\ \mu\text{m}$ mit 2 V. Das cochleäre Mikrophonpotential wurde mit einem Stimulus von 60.8 kHz und 45 dB SPL evoziert. Die CM-Amplitude kehrt mehrere 100 Sekunden nach Ende der elektrischen Stimulation wieder zum Ausgangswert zurück. Die Dauer des elektrischen Stimulus ist durch einen Balken kenntlich gemacht.

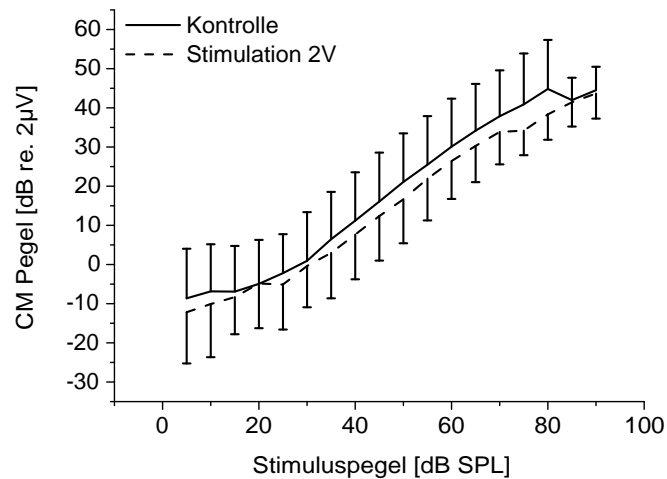


Abbildung 3.25: Elektrische Stimulierung im kontralateralen ICc mit $5\ \mu\text{A}$ bei einer Penetrationstiefe von $500\ \mu\text{m}$ verursacht eine statistisch nicht signifikante Reduktion der Steilheit der gemittelten Wachstumskurven von cochleären Mikrophonpotentialen. Gezeigt sind die gemittelten Wachstumskurven und deren Standardabweichungen von fünf Fledermäusen (N=21).

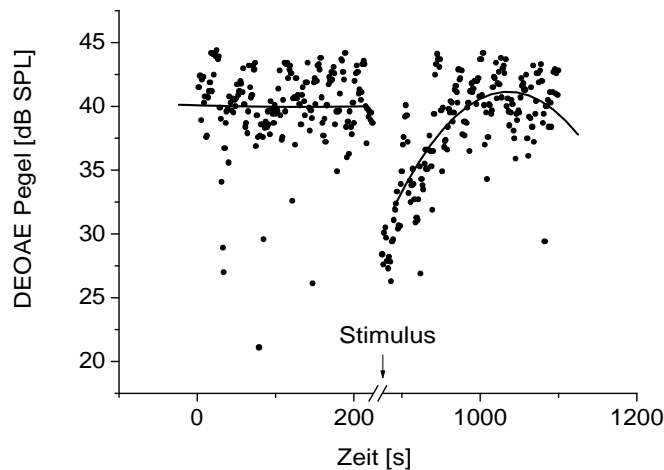


Abbildung 3.26: Veränderung der DEOAE-Amplitude nach elektrischer Stimulation im auditorischen Cortex mit 600 nA für 10 Minuten. Nach Ende der elektrischen Stimulation erholt sich die Amplitude der DEOAE-Nachschwingung innerhalb von 100 Sekunden. Die DEOAE wurde mit einem Stimulus von 61.3 kHz und 50 dB SPL evoziert.

während elektrischer Stimulation des ICc ermittelt. Es zeigt sich eine (statistisch jedoch nicht signifikante) im Vergleich zur Kontrollkurve um im Mittel drei dB flacher ansteigende Wachstumsfunktion unter Stimulationsbedingungen (siehe Abb. 3.25).

3.4.2 Elektrische Stimulierung des primären auditorischen Cortex während der Messung von DEOAE

Zur Klärung der Frage, ob die elektrische Stimulation primärer Areale des auditorischen Cortex (AC) Auswirkungen auf die Eigenschaften der Cochlea hat, wurden im AC ebenfalls Reizelektroden positioniert. Analog zur im vorangegangenen geschilderten elektrischen Stimulation des ICc wurde zunächst durch die Messung auditorischer evozierter Potentiale versucht, den primären auditorischen Cortex aufzusuchen, in dem die CF_2 innerhalb eines rostrocaudalen tonotopen Gradienten abgebildet wird. Sobald eine CF_2 -verarbeitende Region identifiziert werden konnte, wurde die Reizelektrode in dieser Region positioniert. Zur Bestimmung des durch die kortikale Stimulation ausgelösten efferenten Effekts wurden vor und nach der elektrischen Stimulation DEOAE mit einem konstanten Tonstimulus evoziert und die Amplitude der DEOAE-Nachschwingung bestimmt.

Um den zeitlichen Verlauf der Effekte zu dokumentieren, wurden die Messungen mit einem Intervall von 1.25 s über einen Zeitraum von 20 Minuten wiederholt. Diese Versuche wurden an zwei Fledermäusen durchgeführt. Leider konnte nur in einer Messung eine Veränderung der Meßgröße dokumentiert werden, was vermutlich mit der komplexen Situation im primären auditorischen Cortex der Schnurrbartfledermaus zusammenhängt. In der gezeigten Messung (Abb. 3.26) konnte eine Verrin-

gerung der DEOAE-Amplitude nach elektrischer Stimulation festgestellt werden, die mit einer Zeitkonstante von mehreren 100 Millisekunden wieder zum Ausgangswert zurückkehrt. In keiner der durchgeführten Messungen fand sich während der elektrischen Stimulation kortikaler Areale eine Veränderung der Frequenz der DEOAE-Nachschwingung.

4 Diskussion

4.1 Der Einfluß kontralateraler akustischer Stimulierung auf die Generierung von OAE

4.1.1 Methodische Betrachtungen

In dieser Studie wurde der Einfluß efferenter Aktivität auf die cochleäre Mikromechanik untersucht. Bei der Durchführung solcher Experimente ist eine sorgfältige Betrachtung der Veränderung cochleärer Aktivität von Nöten. Bei der akustischen Aktivierung des efferenten Systems ist als wichtigste Quelle von Artefakten der Mittelohrmuskelreflex zu nennen, der beidseitig auslösbar ist (Übersichtsartikel: Borg und Counter, 1989). Somit kann kontralaterale akustische Stimulierung mit Reizen ausreichender Amplitude zu Kontraktionen der Mittelohrmuskeln (MEM) führen und die Amplitude der OAE verändern (z.B. Buki et al., 2000). Durch eine entsprechende Wahl der Stimulusparadigmen läßt sich dies jedoch nahezu ausschließen, was im folgenden näher erläutert werden soll.

Henson et al. (1995) zeigten, daß in der Schnurrbartfledermaus Schallpegel von mindestens 75 dB SPL nötig sind, um Mittelohrkontraktionen auszulösen. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb ipsilaterale Stimuluspegel zwischen 25 und 60 dB SPL verwendet. Zudem zeigen die MEM der Schnurrbartfledermaus das Verhalten eines Hochpaßfilters, so daß Frequenzen höher als 57 kHz durch die MEM-Aktivität kaum mehr abgeschwächt werden (Pollak und Henson, 1973). In dieser Arbeit wurden jedoch größtenteils ipsilaterale akustische Stimuli mit Frequenzen von mehr als 57 kHz verwendet, so daß, selbst wenn die MEM aktiviert wurden, eine Abschwächung der akustischen Stimuli unwahrscheinlich ist. Suga und Jen (1975) berichten, daß die Schwelle für MEM-Kontraktionen mit steigender Frequenz ebenfalls ansteigt, was zu keiner detektierbaren Abschwächung eines Testtons von 70 kHz und 90 dB SPL durch MEM-Aktivität führt. Dementsprechend ist die Aktivierung der MEM durch den ipsilateralen Stimulus unwahrscheinlich, da ausnahmslos hohe Stimulusfrequenzen (30 und 60 kHz) bei Pegeln von maximal 70 dB SPL verwendet wurden.

Da der MEM-Reflex, wie bereits eingangs erwähnt, beidseitig ausgelöst werden kann, muß auch der kontralaterale Stimulus als potentieller Auslöser für MEM-Kontraktionen in Betracht gezogen werden. Die akustisch ausgelösten, efferenten Effekte konnten jedoch auch mit Stimulusintensitäten weit unterhalb von 60 dB SPL erzielt werden. Diese Stimuluspegel liegen somit unterhalb der von Suga und Jen (1975) berichteten Schwelle für die Auslösung des MEM-Reflexes durch niederfrequente Stimuli. Deshalb scheint es unwahrscheinlich, daß die beobachteten Effekte durch die Aktivität der MEM zustande kamen. Die beobachteten Veränderungen der OAE-Amplitude und der DEOAE-Nachschwingzeit können mit großer Sicherheit der Akti-

vität des medialen efferenten Systems zugeschrieben werden. Dies erfährt noch weitere Unterstützung durch Kontrollexperimente: Die Impulsantwort eines Stimulus mit einer Frequenz, verschieden von der der cochleären Resonanz, konnte durch kontralaterale akustische Stimulierung mit hohen Pegeln (80 dB SPL) nicht beeinträchtigt werden. In der Literatur finden sich auch Hinweise für eine Verstärkung cochleärer Antworten durch MEM-Aktivität. Pilz et al. (1997) zeigten eine Verschiebung der nichtlinearen, glockenförmigen Wachstumfunktion von CM zu höheren Eingangspegeln, was letztendlich zu einer Erhöhung der CM-Amplitude führt. Dieser Effekt erfordert jedoch einen Stimuluspegel von mehr als 100 dB SPL und ist am ausgeprägtesten bei niedrigen Stimulusfrequenzen (5 kHz). Der maximale verstärkende Effekt der CM-Amplitude, gezeigt von Nuttall (1974) mit Tonstimuli zwischen zwei und drei kHz, wurde durch elektrische Stimulation des *Tensor tympani* verursacht, was eine nahezu maximale Kontraktion dieses Mittelohrmuskels bewirkte. Dies stellt möglicherweise nicht den natürlichen Kontraktionszustand der Mittelohrmuskeln, verursacht durch moderate akustische Stimulation, dar. In keiner der Studien, die sich mit der auditorischen Peripherie der Fledermäuse beschäftigte (Henson, 1965; Henson et al., 1995; Russell et al., 2003; Suga und Jen, 1975) wurde eine Vergrößerung der Amplitude cochleärer Antworten durch MEM-Aktivität berichtet. Abschließend muß erwähnt werden, daß das Antwortverhalten der Cochlea, stimuliert mit Frequenzen nahe bei oder identisch mit der CRF, höchst nicht-linear ist und kleine Änderungen des Eingangspegels große Änderungen im Antwortverhalten verursachen. Um kleine Fluktuationen in der Amplitude der akustischen Stimuli, verursacht durch Bewegungen der wachen Versuchstiere, auszuschließen, wurde das Aufnahmesystem während der Experimente häufig rekaliert. Außerdem scheinen die Q-Werte der Nachschwingung der DEOAE-Messungen vom Stimuluspegel unabhängig zu sein. Henson et al. (1995) berichten, daß die Q-Werte der Nachschwingungen von CM (vergleichbar mit denen der DEOAE, siehe Drexl und Kössl (2003)), zumindest in einem Bereich von 61 bis 78 dB SPL unabhängig von der Amplitude des evozierenden Stimulus sind.

4.1.2 Der Einfluß der spektralen Bandbreite des kontralateralen Stimulus auf die Generierung von OAE

In mehreren Studien an unterschiedlichen Spezies wurde bereits die Suppression der Cochleamechanik durch kontralaterale Stimulation mit Breitbandrauschen demonstriert (Meerschweinchen: Kujawa et al. (1993, 1994); Popelar et al. (1999), Mensch: Berlin et al. (1993); Buki et al. (2000); Collet et al. (1990); Giraud et al. (1995); Micheyl et al. (1999); Velenovsky und Glatcke (2002)), ein Resultat, das auch innerhalb dieser Studie für die Schnurrbartfledermaus bestätigt werden konnte. In der Schnurrbartfledermaus besteht eine positive Korrelation zwischen dem Pegel des kontralateral präsentierten Breitbandrauschen und der Abnahme der Steilheit der DPOAE-Wachstumskurven. Breitbandrauschen ist gleichzeitig auch der effektivste Stimulus für eine Suppression der OAE, wohingegen Reintöne keine Änderung der DPOAE-Wachstumskurven bewirkten. Dieser Befund ist vergleichbar mit Experimenten, die an Menschen durchgeführt wurden und innerhalb derer der Zusammenhang zwi-

schen der spektralen Stimulusbandbreite und dem Grad der Suppression otoakustischer Emissionen untersucht wurde (Berlin et al., 1993; Maison et al., 2000; Velenovsky und Glattke, 2002). In allen genannten Studien wurde eine positive Korrelation zwischen Stimulusbandbreite und dem Grad der Suppression otoakustischer Emissionen nachgewiesen. Eine mögliche Erklärung für die größere Effizienz von Breitbandrauschen könnte in einer Verstärkung der Aktivität des MOC durch eine räumliche Integration seiner Eingänge liegen. Dabei aktiviert ein breitbandiger Rauschstimulus eine größere Zahl der Eingänge als ein spektral schmalbandiger Stimulus. Außerdem wurde nachgewiesen, daß sich die Aktivität medialer efferenter Fasern erhöht, wenn der Stimulus Amplitudenfluktuationen aufweist (Gummer et al., 1988). Ein breitbandiges Rauschen weist aufgrund seiner stochastischen Natur ausgeprägte Amplitudenfluktuationen auf und erhöht somit die Aktivität des MOC gegenüber einem spektral schmalbandigem Stimulus (Maison et al., 2000).

Die kontralaterale Präsentation von Reintönen bewirkte keinerlei Suppression der OAE in der vorliegenden Arbeit. Gründe hierfür sind möglicherweise in den oben genannten Erklärungsansätzen zu finden: Bei Versuchen mit Menschen wurde die Schwelle zur Evozierung von signifikanten suppressiven Effekten mit Reintönen auf mindestens 60 dB SPL beziffert (Maison et al., 2000). Sollte die Schwelle zur Evozierung von suppressiven Effekten in der Schnurrbartfledermaus höher liegen als die des Menschen, so ist es vorstellbar, daß die Pegel der kontralateral präsentierten Reintöne nicht ausreichend hoch waren, um eine durch das efferente System vermittelte Suppression von OAE zu bewirken. Die verwendeten Stimuluspegel lagen bei maximal 60 dB SPL, um eine ungewollte Aktivierung des Mittelohrmuskelreflexes zu vermeiden.

4.1.3 Der Einfluß des individuellen, kontralateral präsentierten Echoortungsrufs auf die Generierung von OAE

Die kontralaterale Präsentation des eigenen Echoortungsrufes bewirkte zwei gegenläufige Effekte: Eine Verwendung moderater Stimuluspegel führte im Gegensatz zur Präsentation von breitbandigem Rauschen zu einer Vergrößerung der OAE-Amplituden bzw. bei einem Teil der untersuchten Fledermäuse zu einer Verlängerung der DEOAE-Nachschwingungen. Beim Menschen fanden Micheyl et al. (1999) eine nichtmonotone, frequenzabhängige, durch kontralaterale Stimulierung verursachte Suppression von *Transient evoked otoacoustic emissions* (TEOAE, äquivalent zu DEOAE). Zusätzlich berichten diese Autoren für die Messungen von DPOAE von sowohl suppressiven wie auch verstärkenden Effekten während der gleichen Stimulusbedingungen innerhalb verschiedener Sitzungen. Ähnliche Resultate finden sich auch in einer Arbeit von Siegel und Kim (1982), die das OCB mit elektrischen Stimuli aktivierten. Dolan et al. (1997) zeigten eine Suppression und eine Vergrößerung der Basilarmembranbewegungen mit unterschiedlichen Stimulusparadigmen. Die vermutlich durch die efferente Aktivität hervorgerufene Verstärkung von OAE muß nicht zwangsläufig an eine Verstärkung der Basilarmembranbewegung und somit an eine Erhöhung effektiv in der Cochlea verfügbarer Energie gekoppelt sein. Die Generierung und Quelle otoakustischer Emissionen sind immer noch Gegenstand kontroverser Debatten (Lukashkin

et al., 2002; Shera und Guinan, 1999). Folgt man der Hypothese multipler Quellen der OAE-Entstehung, so ist eine Verstärkung dadurch denkbar, daß sich das Zusammenspiel mehrerer OAE-Quellen durch efferente Aktivität verändert. Falls interferierende und sich möglicherweise gegenseitig auslöschende OAE-Quellen durch efferente Aktivität verändert werden, so bedingt eine resultierende Verstärkung der OAE nicht notwendigerweise eine Erhöhung der Amplituden einer ihrer Komponenten. Es wäre dann ausreichend, wenn eine dieser Quellen ihre Phasenlage verändert, was zu einer Verschiebung des Interferenzmusters führen könnte.

4.1.4 Eine durch das efferente System kontrollierte Hopf-Verzweigung in der Cochlea der Schnurrbartfledermaus?

Wenn man davon ausgeht, daß das efferente System im Ruhezustand eine genügend hohe Spontanaktivität (Lieberman und Brown, 1986) besitzt, um einen intermediären suppressiven Effekt auf die Cochleamechanik auszuüben, so ist eine alternative Hypothese zur Verstärkung der OAE denkbar. Zheng et al. (2000b) berichten von einer Erhöhung der DPOAE-Amplituden nach der Durchtrennung des OCB, und auch Jock et al. (1996) erwähnen eine ähnliche Erhöhung nach Eliminierung des afferenten Eingangs des efferenten Reflexes. Innerhalb dieser Arbeit wurde eine Verstärkung der DPOAE durch kontralaterale Präsentation von Echoortungsrufen hervorgerufen. Vorausgesetzt, daß sich die Mikromechanik der Cochlea im Ruhezustand in einem durch die tonische Aktivität des efferenten Systems suppremierten Zustand befindet, würde eine Eliminierung der efferenten Kontrolle zu einer Vergrößerung der OAE führen. Einen ähnlichen Effekt hätte eine Verringerung der efferenten Kontrolle gegenüber dem Ruhezustand durch Modulation des Ursprungs des MOC im SOC. Es gibt indirekte Hinweise für diese Hypothese: Liberman (1990) zeigte, daß eine Eliminierung der efferenten Innervierung der Cochlea zu einer Reduktion der Spontanaktivität der cochleären afferenten Fasern führt. Demzufolge würde die Mikromechanik der Cochlea über ein Regulationssystem verfügen, das es im Ruhezustand auf einem intermediären suppremierten Niveau hält, von dem aus die Aktivität der Cochlea erhöht (was einer Disinhibition gleichkommen würde) oder erniedrigt werden kann. Besonders interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse, die in Abbildung 3.8 gezeigt werden. Hier führte die kontralaterale Präsentation von Echoortungsrufen zu einem differenzierten Effekt auf den aus der DEOAE-Nachschwingung errechneten Q-Wert: Bei Versuchstieren, die bereits während des Kontrollversuches einen hohen Q-Wert aufwiesen (was auf eine bereits relativ ungedämpfte Mikromechanik hinweist), führte die kontralaterale Stimulierung zu einer Suppression der Nachschwingung und damit zu einer Verringerung des Q-Wertes. Bei Fledermäusen, die einen geringeren Q-Wert zeigten, führte die kontralaterale Stimulierung zu einer Verlängerung der Nachschwingung und somit zu einer Erhöhung des Q-Wertes. Betrachtet man die Regressionsgeraden der Kontroll- und CEC-Werte in Abbildung 3.8, so offenbart sich eine attraktive Hypothese für die Funktion des efferenten Systems in der Schnurrbartfledermaus: Es scheint dafür zu sorgen, daß sich die Mikromechanik auf einem intermediären Dämpfungsniveau befindet. Faßt man die Cochlea der Schnurrbartfledermaus als eine Bank von Resonatoren auf, die

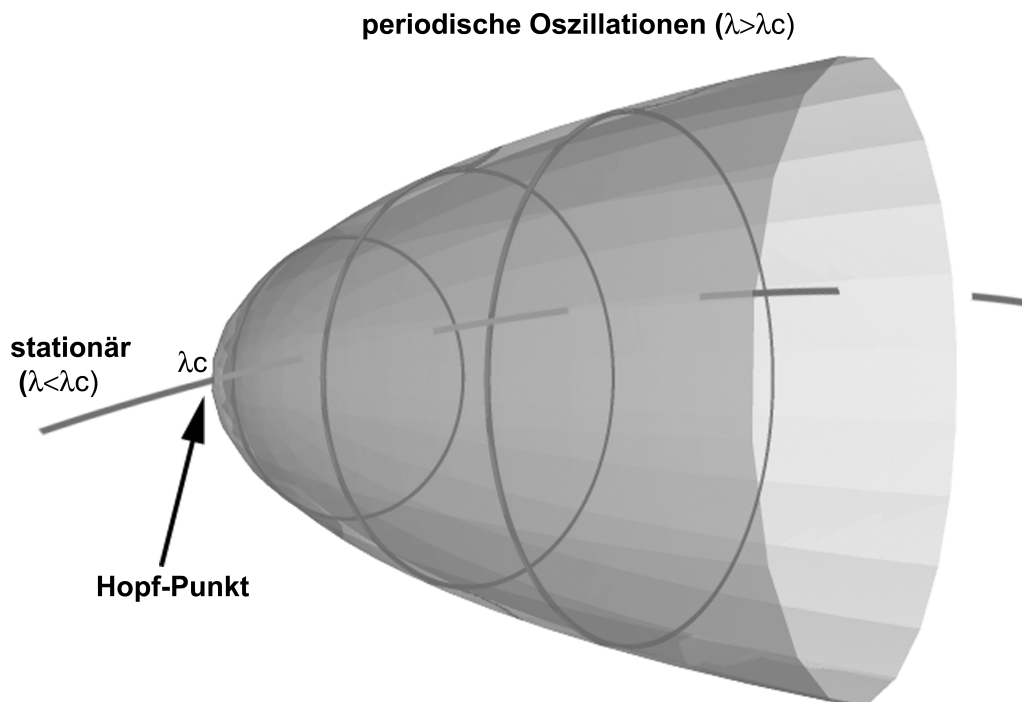


Abbildung 4.1: Die Hopfverzweigung als ein Konzept zur Erklärung der nicht-linearen Eigenschaften der Cochlea in einer graphischen Darstellung. Ein der Hopfverzweigung gehorchendes System wird durch einen Kontrollparameter λ kontrolliert. Unterhalb eines kritischen Wertes λ_c befindet sich das System in einem stabilen stationären Zustand. Für $\lambda > \lambda_c$ geht das System in spontane periodische Oszillationen über. Ist $\lambda = \lambda_c$ befindet sich das System am Hopfpunkt und weist maximale Sensitivität auf.

sich am Rande einer kritischen Instabilität, und somit in einem Zustand maximaler Sensitivität befinden, so kommt dem efferenten System eine besondere Rolle zu: Zahlreiche Autoren schlagen zur Erklärung der nichtlinearen Eigenschaften der Haarzellen der Wirbeltiere das Konzept der sich selbst abstimmenden Hopfverzweigung vor (Camalet et al., 2000; Duke und Julicher, 2003; Magnasco, 2003; Martin und Hudspeth, 2001; Ospeck et al., 2001; Zhan et al., 2002): Dieses Konzept beinhaltet die Vorstellung, daß die aktive Verstärkung von leisem Schall durch ein dynamisches System gewährleistet wird, das sich an der Schwelle zu einer oszillatorischen Instabilität befindet. Dieses System wird durch einen einzigen postulierten Parameter λ kontrolliert (Camalet et al., 2000; Ospeck et al., 2001): Unterhalb eines kritischen Wertes für λ , also $\lambda < \lambda_c$ ist das System stationär. Wenn $\lambda > \lambda_c$ ist, entstehen spontane Oszillationen (siehe Abb. 4.1). Am kritischen Punkt, welcher den Hopf-Punkt darstellt, ist $\lambda = \lambda_c$, das System zeigt eine maximale Sensitivität und ist im höchsten Maße ungedämpft (Camalet et al., 2000). Das System oszilliert, sobald es einen winzigen Impuls erhält. Haarzellen, die dieser Gesetzmäßigkeit gehorchen, befinden sich also genau an der Grenze zur spontanen Oszillation und sind außerordentlich sensitiv für die Stimulierung mit periodischen Rei-

zen ihrer eigenen charakteristischen Frequenz (Duke und Julicher, 2003). Ein dem Konzept der Hopf-Verzweigung gehorchendes System ist ideal zur Detektion von Schall, da es ein extremes Frequenzauflösungsverhalten, extreme Sensitivität und eine nichtlineare Verstärkung gewährleistet, die ein weites Spektrum von Stimulusintensitäten in einen schmalen Antwortbereich komprimiert. Das ursprüngliche Modell geht davon aus, daß der Arbeitspunkt der Haarzellen durch ein eigenes Rückkopplungssystem in der Nähe des Hopf-Punktes gehalten wird, was von den Adaptationsmechanismen der MET-Kanäle geleistet wird, die für die Haarzelle der Nichtsäuger bereits anerkannt sind (Eatock et al., 1987; Holt und Corey, 2000; Hudspeth et al., 2000). Bei den Säugtieren könnte diese Funktion jedoch vom efferenten System übernommen werden. Das efferente System könnte als der postulierte Kontrollparameter λ das Membranpotential der OHC kontrollieren und somit die optimale Abstimmung der Mikromechanik beeinflussen. Ein intaktes efferentes System könnte somit einen suppressiven Einfluß auf die cochleäre Mikromechanik ausüben, um spontane Oszillationen zu verhindern. Dies ist in der Schnurrbartfledermaus besonders wichtig, da diese Spezies, wie bereits in der Einleitung dargestellt, über Spezialisierung in der Cochlea verfügt, die einen extrem abgestimmten Resonanzmechanismus bilden. Sollte dieser cochleäre Resonator seine Kontrolle verlieren, produziert er spontane Oszillationen, die möglicherweise die Wahrnehmung biologisch relevanter Signale, wie Echoortungsrufe, beeinträchtigen.

4.2 Der Einfluß der Isoflurananästhesie auf die Generierung von OAE und auf die Aktivität des efferenten Systems

4.2.1 Die Generierung von DPOAE während der Applikation von Isofluran

Innerhalb dieser Arbeit wurde die Generierung von DPOAE am wachen und mit Isofluran betäubten Tier untersucht. Es zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede in der Steilheit der DPOAE-Wachstumsfunktionen, wobei in den Tieren aus der Isoflurangruppe größere DPOAE-Pegel als Funktion des Primärtonpegels l_2 erzielt wurden. Die Schwelle, also der Primärtonpegel, der nötig war, um eine definierte DPOAE-Amplitude von -10 bzw. 0 dB SPL zu evozieren, erwies sich in der Isoflurangruppe gegenüber der Kontrollgruppe als nicht signifikant unterschiedlich. Ein generelles Problem der Messung von OAE am betäubten Tier ist, daß jegliche Art von Anästhesie oder Sedierung den physiologischen Zustand der Cochlea beeinträchtigt und damit auch cochleäre Produkte wie OAE verändert, die sehr sensitiv auf solche Störungen reagieren. Meistens wird von einer Reduktion der OAE-Amplitude berichtet, die auf verschiedene Ursachen zurückzuführen ist. Hatzopoulos et al. (2002) berichten von einer Erniedrigung der DPOAE-Amplitude, gemessen an Ratten, die mit der weit verbreiteten Mischung aus Ketamin und Xylazin betäubt wurden. Die Autoren schreiben die beobachteten Effekte der Entstehung eines Unterdrucks im Mittelohr zu, vermutlich verursacht durch die anästhetisch bedingte Veränderung der Aktivität der Muskeln der Eustachschen Röhre, die das Mittelohr ventiliert (z.B. Manley und Johnstone, 1974). Diese Beobachtungen gehen einher mit denen von Zheng et al. (1997), die DPOAE-Messungen an Wüstenrennmäusen durchführten, die mit einer Mischung aus Keta-

min und Pentobarbital betäubt wurden. Auch hier trat eine Verringerung der DPOAE-Amplitude auf. Die Autoren konnten zudem die durch die Anästhesie hervorgerufenen Effekte durch Anlegen eines Unterdrucks nachahmen. Dies stützt die These, daß diese Veränderungen tatsächlich auf eine durch das jeweilige Anästhetikum hervorgerufenen Änderung der Druckverhältnisse im Mittelohr bewirkt werden. Diese Effekte waren am Ausgeprägtesten bei der Verwendung niederfrequenter Stimuli und wurden auch durch Untersuchungen am Menschen, die den Einfluß des Mittelohrdrucks auf die Generierung von TEOAE zum Inhalt hatten, gezeigt (Sill et al., 1993; Veuillet et al., 1992). Auch im Vogelmodell konnte eine Verringerung der DPOAE-Amplitude durch Injektion von Ketamin und Pentobarbital gezeigt werden (Kettebeil et al., 1995). Eine weitere Studie (Harel et al., 1997) verfolgt einen ähnlichen Ansatz wie die oben genannten und untersucht den Einfluß der Injektion von Ketamin und Xylazin auf die Generierung von OAE im Chinchilla. Die Autoren berichten von einer Erhöhung der OAE-Amplitude und schreiben diesen Effekt einer Erniedrigung der Aktivität des olivocochleären Systems zu, sei es durch eine direkte Beeinflussung oder durch eine Veränderung der aufsteigenden oder absteigenden Eingänge des MOC. Somit würde der Effekt der verwendeten Anästhetika auf einer Disinhibition des Mechanismus beruhen, der die OAE generiert (Harel et al., 1997). Dies geht einher mit der Beobachtung von Liberman (1989), der zeigen konnte, daß sich die Aktivität des olivocochleären Systems mit der Tiefe der Anästhesie verringert. Die Vergrößerung der DPOAE-Amplitude innerhalb der Studie von Harel et al. (1997) ist allerdings möglicherweise auf eine ungünstige Wahl des zeitlichen Beobachtungsfensters zurückzuführen (Hatzopoulos et al., 2002). Die im vorangegangenen zusammengefaßten Beobachtungen zur Veränderung der DPOAE-Amplitude sind mit großer Wahrscheinlichkeit auch von der häufig schwer zu bestimmenden Narkosetiefe abhängig. Zumindest Hatzopoulos et al. (2002); Lonsbury-Martin et al. (1987); Zheng et al. (1997) fanden für geringe Narkosetiefen keine Veränderung der DPOAE-Amplitude. Somit finden sich für gängige Narkotika je nach Autor eine Verringerung, Vergrößerung oder keine Veränderung der DPOAE-Amplitude. Der Mechanismus, der die Grundlage für diese Effekte darstellt, wird hauptsächlich den Druckverhältnissen im Mittelohr oder der Aktivität des medialen efferenten Systems zugeschrieben. Für Inhalationsanästhetika finden sich wenig vergleichbare Studien zur Beeinflussung der DPOAE-Amplituden. Ferber-Viart et al. (1998) untersuchten die Auswirkung der Isofluranapplikation auf die Generierung von TEOAE am Menschen und fanden wiederum eine Verringerung der OAE-Amplitude. Auf der Annahme basierend, daß die Mikrozirkulation in der Cochlea einer Autoregulation unterliegt (Brown und Nuttall, 1994; Ren et al., 1995), schlagen die Autoren eine Regulierung des cochleären Blutflusses in Analogie zur Kontrolle des cerebralen Blutflusses vor. Isofluran scheint den cerebralen Blutfluß und dessen Autoregulation zu verringern (Hoffman et al., 1991) und könnte somit, wenn man einen ähnliche Mechanismus für den cochleären Blutfluß annimmt, die Generierung von OAE in der Cochlea verringern (Ferber-Viart et al., 1998). Auch im Vogelmodell (Kettebeil et al., 1995) wurde die Reduktion von DPOAE durch Applikation von Halothan, ein dem Isofluran in Struktur und Funktion nahe verwandtes Inhalationsanästhetikum, gezeigt. Bissinger et al. (2000) demonstrierten, daß Isofluran den Mittelohrmuskelreflex des Menschen, der scheinbar

gänzlich auf der Aktivität des Stapedialmuskels beruht, eliminiert. Volatile Anästhetika scheinen ihre Wirkung durch Interaktion mit neuronalen Membranen zu erlangen, was zu einer generellen Depression neuronaler Aktivität führen könnte (Bissinger et al., 2000; Cheung et al., 2001). Der Wissensstand zur Auswirkung von Injektions- und Inhalationsnarkotika auf die Generierung von OAE, aber auch zur Wirkungsweise allgemeiner Anästhesie an sich (Antkowiak, 2001; Franks und Lieb, 1994) ist relativ spärlich und uneinheitlich. Es scheint der Befund vorzuherrschen, daß allgemeine Anästhesie die Generierung von OAE supprimiert. Die im vorangegangenen erwähnten Vorschläge zum Wirkungsmechanismus dieses Effektes in der Literatur sind vielfältig. Sie werden im folgenden zusammengefaßt und auf ihre Plausibilität als Grundlage der in dieser Arbeit berichteten Effekte geprüft.

4.2.2 Beeinflussung der Druckverhältnisse im Innenohr durch allgemeine Anästhetika

In der Literatur wird relativ einheitlich von einer Verringerung des Mittelohrdruckes während der Anwendung allgemeiner Anästhesie und einer damit verbundenen Verringerung der OAE-Amplituden berichtet. Diese Effekte werden der Beeinflussung der druckabhängigen Steifheit des Mittelohrkompartmentes zugeschrieben und wirken sich dementsprechend auf die Verarbeitung tiefer Frequenzen aus, deren Übertragung steifheitslimitiert ist. Zheng et al. (1997) geben als Frequenzobergrenze für diesen Effekt bei der Wüstenrennmaus 6 kHz an. Dieser Ansatz scheint zur Klärung der Resultate dieser Arbeit nicht geeignet zu sein, da es relativ unwahrscheinlich ist, daß eine Abweichung des Mittelohrdruckes vom Normalwert zu einer Erhöhung der OAE-Amplituden führt. Die OAE in dieser Arbeit wurden zudem ausschließlich mit sehr hochfrequenten akustischen Stimuli (60 kHz) evoziert, was durch den Bereich höchster cochleärer Sensitivität der echoortenden Fledermaus bedingt ist. Zudem bilden sich gravierende Veränderungen des Mittelohrdruckes normalerweise innerhalb von 10–15 Minuten aus (Zheng et al., 1997). Die in der Schnurrbartfledermaus beobachteten Effekte reagierten mit einer relativ kurzen Zeitkonstante im Bereich von 1–2 Minuten auf eine Veränderung der Narkosetiefe. Somit ist eine Druckänderung im Innenohr, die sich langsam ausbildet, mit großer Wahrscheinlichkeit als Ursache der Vergrößerung der OAE-Amplituden auszuschließen. Zudem sollten solche Veränderungen die Übertragungseigenschaften des Mittelohrs verschlechtern, was sich auch in einer Erhöhung der DPOAE-Schwellen zeigen sollte. Ein Vergleich der DPOAE-Schwellen aus der Isofluran- und der Kontrollgruppe (siehe Abb. 3.9) ergab jedoch keine signifikante Veränderung.

4.2.3 Beeinflussung des cochleären Blutflusses und seiner Autoregulation durch allgemeine Anästhetika

Für jegliche Form der Anästhesie ist davon auszugehen, daß sie den physiologischen Normalzustand des anästhesierten Organismus stört. Dies kann sich auch auf die Mikrozirkulation der Cochlea und damit auf den cochleären Blutfluß und seine Autore-

gulation erstrecken. In der Literatur wird, analog zum cerebralen Blutfluß, eine Verringerung des cochleären Blutflusses angenommen. Dies könnte in einer Verminderung der Aktivität der *Stria vascularis* münden, in deren Marginalzellen die Kationentransporter sitzen, die für die Aufrechterhaltung des endocochleären Potentials sorgen. Eine Veränderung des endocochleären Potentials würde sich negativ auf die elektromotilen Eigenschaften der OHC und ihrer Fähigkeit zur Erzeugung von OAE auswirken, wie es experimentell durch eine Intoxikation der *Stria vascularis* mit dem Schleifendiuretikum Furosemid gezeigt wurde (z.B. Lukashkin et al., 2002). Auch dieser Ansatz bietet keine Erklärung für eine Erhöhung der OAE-Amplituden, die in dieser Studie beobachtet wurden. Sollte sich der cochleäre Blutfluß während der Isoflurananästhesie tatsächlich verringern, so ist eine Erhöhung der cochleären Aktivität, wie sie innerhalb dieser Arbeit beobachtet wurde, nicht zu erwarten. Als Hypothese könnte man eine Erhöhung des cochleären Blutflusses während der Applikation von Isofluran fordern, der dann zu einer überoptimalen Cochleafunktion mit der Folge erhöhter OAE-Amplituden führt. Hierfür finden sich keinerlei Indizien in der Literatur, so daß diese Annahme reine Spekulation bleibt.

4.2.4 Beeinflussung des Mittelohrmuskelreflexes durch allgemeine Anästhetika

Die muskelrelaxierende Wirkung von Isofluran wird in der Literatur ausführlich diskutiert. Zur Art und Weise der Beeinflussung nikotinerger Acetylcholinrezeptoren an der motorischen Endplatte quergestreifter Muskulatur ist eine große Zahl von Studien verfügbar (z.B. Bufler et al., 1994; Dilger et al., 1991, 1993). Zudem gibt es Hinweise, daß Isofluran auf die glatte Muskulatur von Gefäßwänden relaxierend wirkt (z.B. Jensen et al., 1992). Somit sollte Isofluran auch auf die kleinsten quergestreiften Muskeln der Säugetiere, die Mittelohrmuskeln wirken. Bissinger et al. (2000) berichten von einer völligen Absenz des akustischen Reflexes des Menschen während der Anästhesie mit Isofluran in klinisch üblichen Dosen. Innerhalb dieser Studie wurde die Funktionsfähigkeit des akustischen Reflexes nicht getestet, da die Pegel der verwendeten akustischen Stimuli unterhalb der Schwelle zum Auslösen des Reflexes lagen. Jedoch konnte in einem weiteren Experiment mit der Fledermaus *Phyllostomus discolor* (Daten nicht gezeigt) die Absenz des akustischen Reflexes während der Isoflurananästhesie bestätigt werden: Selbst bei einer kontralateralen Präsentation von Breitbandrauschen mit einem Pegel von 85 dB SPL konnte keine Veränderung der ipsilateral gemessenen DPOAE-Amplitude verzeichnet werden. Eine Vergrößerung der DPOAE-Amplitude durch verringerte Aktivität der Mittelohrmuskeln wäre nur bei einer tonischen Kontraktion denkbar, was für diese quergestreiften Muskeln ausgeschlossen werden kann. Sollte eine Veränderung im Tonus des Trommelfells und damit des Energiepegels, der die Cochlea erreicht, während der Isoflurananästhesie eintreten, so kann dies nur auf eine Veränderung der myogenen Spannung des *Tensor tympani* oder der elastischen Fasern im *Tympanum* zurückgeführt werden. In der Schnurrbartfledermaus wurde jedoch die Existenz eines dritten Mittelohrmuskels nachgewiesen (Henson und Henson, 2000), der sich aus Schichten von glatter Muskulatur im *Annulus fibrosus*, einer peripheren, ringförmigen Verdickung der *Pars tensa* des Trommelfells zusammensetzt. Die glatte

Muskulatur, wie sie sich in Blutgefäßen oder Sphinktern findet, ist so gestaltet, daß sie die Fähigkeit zu kontinuierlichen Kontraktionen besitzt. Die Funktionalität dieser glatten Muskulatur im *Annulus fibrosus* wurde in der Wüstenrennmaus bereits genauer untersucht (Yang und Henson, 2002): Die Applikation von Substanzen, die eine Kontraktion glatter Muskulatur auslösen (Noradrenalin und Vanadat in dieser Studie) führten bei niedrigen Stimulationsfrequenzen zur Erhöhung von CM-Schwellen um bis zu 9 dB. Die Autoren schlagen vor, daß die glatte Muskulatur im *Annulus fibrosus* durch Steuerung der Trommelfellspannung einen entscheidenden Beitrag zur Kontrolle des Energiepegels, der die Cochlea erreicht, leistet (Yang und Henson, 2002). Da alle glatten Muskulaturssysteme zumindest teilweise von Nervenfasern des autonomen Nervensystems innerviert werden, ist zu vermuten, daß es sich auch mit der glatten Muskulatur des *Annulus fibrosus* so verhält. Es gibt einige Studien, die von Effekten elektrischer Stimulation des sympathischen Systems, insbesondere des *Ganglion cervicale im Truncus sympathicus*, auf die Hörfunktion berichten. Diese Studien schreiben die beobachteten Effekte aber entweder direkten Veränderungen in der Cochlea oder der Aktivierung des olivocochleären Systems über eine hypothetische Verbindung mit dem autonomen Nervensystem zu (z.B. Horner et al., 2001; Kujawa und Liberman, 1997; Rajan, 1995). Es scheint aber wahrscheinlicher, daß eine elektrische Stimulation des *Ganglion cervicale* die Aktivität der glatten Muskulatur des *Annulus fibrosus* beeinflusst (Yang und Henson, 2002). Da Isofluran mit dem ryanodinsensitiven Rezeptor im *sarkoplasmatischen Retikulum* wechselwirkt und offensichtlich die Bereitstellung von Ca^{2+} in das Sarkoplasma verringert (Sill et al., 1993), wäre dadurch eine Veränderung des Muskeltonus im *Annulus fibrosus* denkbar. Dies könnte zu einer Vergrößerung von OAE-Amplituden führen, falls sich die Übertragungseigenschaften des Mittelohrs dadurch verändern. Allerdings ist zu erwarten, daß dieser geschilderte Mechanismus seine größte Effizienz bei niedrigen Amplituden entfaltet, da er bei überschwelligen akustischen Pegeln von der Aktivität der MEM überdeckt wird.

4.2.5 Beeinflussung des olivocochleären efferenten Reflexes durch allgemeine Anästhetika

Geht man davon aus, wie oben bereits angedeutet, daß das olivocochleäre System einen tonischen, suppressiven Einfluß auf die Cochlea in Ruhe ausübt, ergeben sich mehrere Ansatzpunkte für die Wirkung von Isofluran im Zusammenhang mit erhöhter cochleärer Aktivität: Für Isofluran wurde ein suppressiver Effekt auf das zentrale auditive System ermittelt. Cheung et al. (2001) zeigen eine Verringerung der Spontanaktivität auditorischer kortikaler Neurone. Die Wirkungsweise von Isofluran, wie auch anderer Inhalationsnarkotika ist immer noch umstritten. Der anästhetische Effekt greift wohl an mehreren Ansatzpunkten im zentralen Nervensystem an: Ein traditioneller Erklärungsansatz geht davon aus, daß sich das hoch lipophile Isofluran, das mühelos die Blut-Hirn-Schranke durchquert und so in das zentrale Nervensystem gelangt, die Struktur der Phospholipiddoppelmembran der Neurone verändert. Dieser eher unspezifische Vorgang würde durch die Einlagerung der Isofluranmoleküle in die Zellmembran der Neurone deren Struktur stören und dadurch die Erregungsweiterleitung be-

einträchtigen (z.B. Janoff et al., 1981). Inzwischen geht man aber davon aus, daß volatile Anästhetika auch spezifisch mit Membranproteinen wie Rezeptoren und Ionenkanälen wechselwirken und deren Struktur und Funktion verändern. Dies wurde besonders eindrucksvoll durch die Demonstration der selektiven Wirkung der Stereoisomere des Isofluran gezeigt (Franks und Lieb, 1991). Für das efferente System ergeben sich zwei Hauptansatzpunkte:

Isofluran wechselwirkt mit nikotinergen Acetylcholinrezeptoren (Dilger et al., 1991, 1993; Scheller et al., 1997). Dies kann sowohl zu einer Depression des Mittelohrmuskelreflexes führen, als auch zu einer Verminderung der Aktivität des medialen efferenten Systems, das die OHC über cholinerge Synapsen kontaktiert. Der postsynaptische Acetylcholinrezeptor der OHC setzt sich jedoch aus $\alpha 9$ - und $\alpha 10$ -Untereinheiten zusammen (Elgoyhen et al., 2001), die ein ungewöhnliches pharmakologisches Profil aufweisen (Verbitsky et al., 2000). Die Wechselwirkung von Isofluran mit nikotinergen Acetylcholinrezeptoren zeigt sich in einer Reduktion des Rezeptorstroms und scheint auf einer Blockierung des Acetylcholinrezeptors zu beruhen (Bufler et al., 1994). Klassische nikotinerge Antagonisten haben sich auch als effektiv in der Blockierung der $\alpha 9$ -Untereinheit (Verbitsky et al., 2000) des cochleären Acetylcholinrezeptors erwiesen. Sollte sich diese Gemeinsamkeit zwischen klassischem nikotinergen Acetylcholinrezeptor und dem cochleären $\alpha 9$ - $\alpha 10$ -Rezeptor auch auf die Wirkung von Isofluran übertragen lassen, so wäre eine Verringerung des hyperpolarisierenden Rezeptorstroms an der efferenten Synapse unter dem Einfluß von Isofluran durchaus denkbar. Dies würde die Cochlea funktionell disinhibieren und sie in einen hyperaktiven Zustand überführen, wofür die vergrößerten OAE-Amplituden und die erhöhte Inzidenz der spontanen OAE sprechen. Sollte das efferente System die Hauptrolle bei der Regulation des cochleären Verstärkers durch die Kontrolle des Membranpotentials spielen, so ist die erhöhte Rate von SOAE möglicherweise ein Indiz dafür, daß sich der Arbeitspunkt der Cochlea zum Hopf-Punkt verschoben hat. Dies führt zwangsläufig zu einem Übergang der cochleären Aktivität von erzwungener Schwingung hin zu spontanen Oszillationen.

Einen weiteren Ansatzpunkt stellen die *Subsurface Cisterns* (SSC) der OHC dar. Bei den SSC handelt es sich um Organellen, die dem *sarkoplasmatischen Retikulum* ähnlich sind und als Ca^{2+} -Speicher fungieren. Aus diesen Organellen wird nach der Bindung von ACh an den $\alpha 9$ - $\alpha 10$ -Rezeptor Ca^{2+} freigesetzt. Eine wichtige Rolle spielen dabei ryanodinsensitive Rezeptoren in den SSC, die nach der Bindung von Ca^{2+} , das durch die Ionenkanäle der $\alpha 9$ - $\alpha 10$ -Rezeptoren in die OHC strömt, weiteres Ca^{2+} entlassen. Die Ca^{2+} -Ionen bewirken ihrerseits die Öffnung Ca^{2+} -sensitiver K^+ -Kanäle im basalen Bereich der OHC. Dies führt zur Hyperpolarisation der Haarzelle und, zusammen mit weiteren Veränderungen der axialen Steifheit der OHC über Ca^{2+} -gesteuerte *Second-Messenger* Kaskaden, zu einer Suppression des cochleären Verstärkers. Es wurde gezeigt, daß die Mobilisation von Ca^{2+} aus dem *sarkoplasmatischen Retikulum* glatter Muskulatur durch Isofluran inhibiert wird (Sill et al., 1993), was möglicherweise auf eine Blockierung des ryanodinsensitiven Rezeptors zurückzuführen ist. Wenn sich dieses Resultat auf die OHC übertragen ließe, dann wäre das eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die Erhöhung cochleärer Aktivität während der Applikation von Isofluran. Neben diesen sehr spezifischen Wirkungen auf die OHC sollte man auch Beeinträchtigun-

gen der Erregungsfähigkeit der Neurone des medialen efferenten Systems in Betracht ziehen. Aber auch die Eingänge des medialen efferenten Systems aus dem auf- und absteigenden auditorischen System könnten durch Isofluran beeinträchtigt werden. Sollte dieser Effekt vorwiegend inhibitorischer Natur sein, so verringert dies die Aktivität des medialen efferenten Systems, und führt, wenn man wiederum von einem supprimierten Grundzustand der Cochlea ausgeht, zu einer Disinhibition der cochleären Aktivität. Zusammenfassend ist eine Beteiligung des efferenten Systems an den beobachteten Effekten sehr wahrscheinlich. Besonders die Verringerung der akustisch ausgelösten efferenten Suppression der OAE spricht für eine partielle Inhibition des efferenten Systems. Die beobachtete Erhöhung der OAE-Amplituden und der Rate der spontanen und pseudo-spontanen otoakustischen Emissionen während der Anwendung von Isofluran stützt die Hypothese, daß das efferente System einen konstanten supprimierenden Einfluß auf die Aktivität der Cochlea hat. Eine Verringerung des efferenten Einflusses könnte zu einer Erhöhung spontaner und erzwungener Oszillationen der Cochlea führen. Auch eine Beteiligung der glatten Muskulatur des *Annulus fibrosus* kann nicht ausgeschlossen werden und liefert eine Erklärung für die Erhöhung der OAE-Amplituden und die höhere Rate von spontanen und pseudo-spontanen OAE, jedoch nicht für die Verringerung des olivocochleären Reflexes.

4.3 Der Einfluß elektrischer Stimulation des ICc auf cochleäre Mikrofonpotentiale

4.3.1 Methodische Betrachtungen

Zur Klärung der Frage, ob Eingänge aus dem absteigenden auditorischen System eine Rolle bei der Aktivierung des medialen efferenten Systems in der Schnurrbartfledermaus spielen, wurden Reizelektroden in den ICc implantiert und versucht, den ICc durch elektrische Stimulation zu aktivieren. Der ICc sendet exzitatorische Eingänge zum SOC und trägt somit zur Aktivierung des medialen efferenten Systems bei. Um die Auswirkungen dieser Stimulation auf die Cochlea zu bestimmen, wurden cochleäre Mikrofonpotentiale abgeleitet und deren Amplitude bestimmt. Die Cochlea der Schnurrbartfledermaus besitzt außerordentliche Resonanzeigenschaften, was sich unter anderem in langen Nachschwingzeiten des CM nach Stimulusende zeigt. Somit stehen mit der Frequenz, die unabhängig von der Frequenz des tonalen Stimulus ist (siehe Suga und Jen, 1977), und der Amplitude dieser Nachschwingung zusätzlich zur CM-Amplitude in der Schnurrbartfledermaus weitere Meßgrößen zur Verfügung. Mulders und Robertson (2000a) stellen zwei Forderungen für gültige Messungen zur Aktivierung des efferenten Systems durch elektrische Stimulierung und deren Auswirkung auf cochleäre Mikrofonpotentiale auf: Zum einen sollten die Versuchstiere paralytisiert werden, um eine ungewollte Aktivierung des Mittelohrmuskelreflexes zu verhindern. Zum anderen sollte eine Aktivierung der efferenten Synapse an den OHC zu einer Potenzierung der CM führen (Fex, 1959), was vermutlich durch den verstärkten Fluß von Kationen aus der Endolymphe durch die äußeren Haarzellen hervorgerufen wird. Dies ist Teil der postsynaptischen Vorgänge im basolateralen Bereich der

OHC und rührt von der Öffnung Ca^{2+} -sensitiver K^+ -Kanäle. In der Schnurrbartfledermaus wurden solche Erhöhungen der CM-Amplitude durch efferente Stimulation nicht beobachtet (Henson et al., 1995; Suga et al., 2000), was auch die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen. Eine Erklärung für die Abwesenheit dieser Effekte in der Schnurrbartfledermaus könnten die außergewöhnlichen resonanten Eigenschaften der Cochlea dieser Spezies sein. Die intrinsische cochleäre Resonanz dominiert möglicherweise die Leitfähigkeitsänderungen und damit das Rezeptorpotential der OHC. Zusätzlich ist die Erhöhung der CM-Amplituden durch efferente Stimulierung möglicherweise an niedrige Stimulusfrequenzen gebunden. In Experimenten mit Meerschweinchen konnte nachgewiesen werden, daß die Hyperpolarisierung von inneren Haarzellen, wie es *in situ* durch Strominjektionen gezeigt wurde, durch die Tiefpaßfiltereigenschaften der Zellmembran bei hohen Stimulusfrequenzen abgeschwächt wird (Russell und Kössl, 1992). Sollte diese Eigenschaft auch auf die OHC der Schnurrbartfledermaus übertragbar sein, so wäre dies eine alternative Erklärung für die Abwesenheit dieser Effekte bei Fledermäusen, deren auditorisches System auf die Verarbeitung hochfrequenter Schalle spezialisiert ist.

In dieser Studie war es nicht möglich, die Mittelohrmuskeln auf pharmakologischem Wege oder durch einen chirurgischen Eingriff auszuschalten. In vielen Studien, die den Einfluß elektrischer Stimulation des IC und die damit verbundene Aktivierung des efferenten Systems untersuchen, werden die Tiere zur Ausschaltung der Mittelohrmuskeln paralytisiert. Dies macht die Beatmung der Tiere über eine Tracheotomie notwendig, einen Eingriff, der in der Schnurrbartfledermaus aufgrund der besonderen anatomischen Verhältnisse in der *Trachea* nahezu ausgeschlossen bleibt. Auch eine chirurgische Durchtrennung der Mittelohrmuskeln ist wegen der filigranen Strukturen in der Schnurrbartfledermaus nur mit geringer Erfolgsrate und hohem Tieraufwand durchführbar (Pollak und Henson, 1973).

Bei der elektrischen Stimulierung des ICc ist zwar die akustische Aktivierung der MEM durch den kontralateralen Stimulus ausgeschlossen, jedoch zeigt sich eine weitere Schwierigkeit: Die elektrische Stimulation des ICc sollte aufgrund der absteigenden Projektion zum SOC auch zu einer Stimulation der *Nuclei* dieser Region führen, was sich diese Studie zur Aktivierung des efferenten Systems zu Nutze machte. In der Literatur finden sich allerdings auch Berichte über Eingänge aus dem SOC in motorische Kerne des Trigeminus- und Fazialnervs, aus denen Motoneurone zum *Tensor tympani* und *Musculus stapedius* führen. Für den Mittelohrmuskelreflex wird ein Reflexbogen vermutet, der aus einer Kette von vier Neuronen besteht, vermutlich primäre auditorische Neurone, Neurone des *Nucleus cochlearis*, des SOC und Motoneurone des Trigeminus- und Fazialnervs (Borg und Counter, 1989; Rouiller et al., 1986; Suga und Jen, 1975). Falls solch ein Reflexbogen in der Schnurrbartfledermaus existiert, ist eine Aktivierung der Mittelohrmuskeln durch elektrische Stimulierung des ICc nicht ausgeschlossen (Huffman und Henson, 1990). Jedoch wurde durch eine sorgfältige stereotaktische Positionierung der Reizelektrode und entsprechende Wahl der Reizstromstärke versucht auszuschließen, daß die elektrische Stimulierung auch benachbarte Regionen aktiviert. Während der elektrischen Stimulation konnte keine Aktivität der Gesichtsmuskulatur festgestellt werden, was gegen eine Aktivität von Trigeminus- und Fazial-

nervs spricht. Da die in der vorliegenden Arbeit dokumentierten Effekte relativ eng an die Platzierung der Elektrode in der tonotopischen Abbildung von ca. 62 kHz im ICc gebunden ist, läßt sich eine unspezifische Aktivierung der Mittelohrmuskeln und ihrer Innervation durch elektrische Stimulation relativ sicher ausschließen.

4.3.2 Elektrische Stimulation des ICc bewirkt eine Verschiebung der cochleären Resonanzfrequenz

Die Rolle des IC innerhalb des auditorischen efferenten Systems

Die klassische Methode der elektrischen Aktivierung des efferenten Systems ist die Stimulation des gekreuzten olivocochleären Bündels (COCB), das sich am besten am Grund des vierten Ventrikels aufsuchen läßt, wo es von einer Gehirnhälfte zur anderen kreuzt. Galambos (1956) berichtet, daß die elektrische Stimulierung von olivocochleären Neuronen zu einer Schwellenerhöhung der Hörnervantworten bei Katzen führte. Seitdem sind viele Studien durchgeführt worden, in denen übereinstimmend festgestellt wurde, daß die elektrische Stimulation des COCB zu einer leichten Erhöhung der CM-Amplitude und zu einer deutlichen Suppression der Summenaktionspotentialen des Hörnervs (CAP) führt (Übersichtsartikel: Guinan, 1996). Mountain (1980); Siegel und Kim (1982) zeigten, daß die elektrische Stimulation des COCB bei Meerschweinchen zu einer Suppression von otoakustischen Emissionen führt. Reiter und Liberman (1995) demonstrierten, daß elektrische Stimulation des COCB in Meerschweinchen das Ausmaß der temporären Schwellenerhöhung, verursacht durch traumatische Schallpegel, verringert. Gifford und Guinan (1987) führten elektrische Stimulationen des COCB und von Somata des MOC in der Katze durch und beobachteten in beiden Ansätzen eine Verringerung der CAP-Schwellen und eine Erhöhung der CM-Amplituden.

Die Rolle des IC innerhalb des efferenten auditorischen Systems wurde bislang relativ spärlich untersucht: Rajan (1990) berichtet, daß elektrische Stimulation des IC in paralysierten Meerschweinchen zu einer Reduktion temporärer Schwellenerhöhung, hervorgerufen durch sehr laute Schallpegel, führt. Mulders und Robertson (2000a) zeigten mit mehreren Methoden an paralysierten und anästhesierten Ratten, daß die elektrische Stimulation des IC zu einer Verringerung des CAP und zu einer Erhöhung des CM führt. Die Autoren schließen daraus, daß der IC einen leichten exzitatorischen Einfluß auf das mediale olivocochleäre System hat. Scates et al. (1999) demonstrierten eine Reduktion der $2f_1 - f_2$ DPOAE-Amplitude während der elektrischen Stimulation des IC an nicht paralysierten, anästhesierten Ratten, wobei die Effekte mit 7 bis 25 dB sehr deutlich waren. Rajan (1990) vermutete deshalb, daß die von Scates et al. (1999) beobachteten Effekte auf die Aktivität der Mittelohrmuskeln zurückzuführen sind. Popelar et al. (2002) führten ebenfalls eine Studie zur elektrischen Stimulation des IC und deren Auswirkung auf $2f_1 - f_2$ DPOAE an anästhesierten Meerschweinchen durch. Die Autoren beschreiben eine relative kleine Verringerung der DPOAE-Amplitude um 0.1–2 dB und konnten diese Suppression durch intramuskuläre Injektion von Gentamycin aufheben. Gentamycin blockiert vermutlich mit Acetylcholinrezeptoren assoziierte Ca^{2+} -Kanäle am basolateralen Pol der OHC, so daß die Acetylcholin-induzierten Vorgänge

in der OHC nicht ablaufen können (Avan et al., 1996; Blanchet et al., 2000; Smith et al., 1994; Yoshida et al., 1999). Allerdings blockiert Gentamycin auch die Übertragung an normalen motorischen Endplatten der quergestreiften Muskulatur, wie es sich am deutlichsten durch die Lähmungserscheinungen an der Injektionsstelle zeigt. Gentamycin könnte somit auch die Aktivität der Mittelohrmuskulatur unterbinden. So bleibt zur einwandfreien Beantwortung der Frage, ob suppressive Effekte in der Cochlea ihren Ursprung im efferenten System oder in der Aktivität der Mittelohrmuskeln haben, nur das Durchtrennen der Mittelohrmuskeln. Xiao und Suga (2002) gehen in der Untersuchung des Einflusses des absteigenden auditorischen Systems noch einen Schritt weiter und untersuchen die cortikofugale Modulation der Cochlea in der Schnurrbartfledermaus durch elektrische Stimulation eng definierter Areale des auditorischen Cortex. Sie beobachteten Frequenzänderungen der optimalen Anregungsfrequenz des CM und der Nachschwingung des CM, die Resultaten, erhalten durch elektrische Stimulation des IC in der Schnurrbartfledermaus, sehr ähnlich sind (Suga et al., 2000). Auch in einer klinischen Studie an Menschen, denen aus medizinischen Gründen unilateral der *Heschl Gyrus* entfernt werden mußte, wurde dem auditorischen Cortex eine modulatorische Rolle für das efferente System zugeschrieben, da bei diesen Patienten der efferente Reflex beträchtlich verringert war (Khalfa et al., 2001).

Das auditorische efferente System ist tonotop organisiert

Veränderungen der Frequenz der Nachschwingung während elektrischer Stimulation des ICc stellen eine besonders interessante Möglichkeit dar, durch das efferente System verursachte Veränderungen in der Cochlea, insbesondere an den OHC, festzustellen. Die elektrische Stimulation des ICc innerhalb dieser Arbeit führte zu einer Verschiebung der optimalen Anregungsfrequenz des Tonstimulus für die CM (CM-BF) und zu einer Veränderung der Resonanzfrequenz der CM-Nachschwingung. Um solche Effekte hervorzurufen, war es nötig, die Elektroden im Bereich der tonotopischen Abbildung im ICc von etwa 62 kHz, der Frequenz des konstantfrequenten Anteils der zweiten Harmonischen des Echoortungsrufes zu platzieren. Auch Suga et al. (2000) platzierten die Reizelektrode am Ort der tonotopen Abbildung von 62.32 kHz im ICc der Schnurrbartfledermaus, machen jedoch keine Aussage, ob andere Reizpositionen ineffektiv waren. In der Studie von Scates et al. (1999) werden die Reizorte im IC der Ratte nur grob in ICc, ICd und ICx eingeteilt, wobei die elektrische Stimulation des ICx den größten Effekt hervorrief und die Positionierung im ICd keinen Einfluß auf die Meßgröße hatte. Mulders und Robertson (2000a) konnten ab einer Penetrationstiefe von zwei Millimeter keine Korrelation der suppressiven Effekte mit der Positionierung der Stimulations-elektrode im IC der Ratte oder des Meerschweinchens feststellen, mit Ausnahme des ICd, in dem keinerlei Effekte ausgelöst werden konnten. Popelar et al. (2002) führten in der Ratte systematische Tests zur Effektivität der Reizelektrodenposition mit multiplen Koordinatenkombinationen durch und fanden wenige Elektrodenpositionen, die überhaupt deutliche suppressive Effekte hervorriefen. Deutliche Effekte wurden aber wiederum nur durch Stimulation des ICc und ICx erzielt. Auch innerhalb dieser Arbeit führte die elektrische Reizung des IC der Schnurrbartfledermaus an Orten, die in

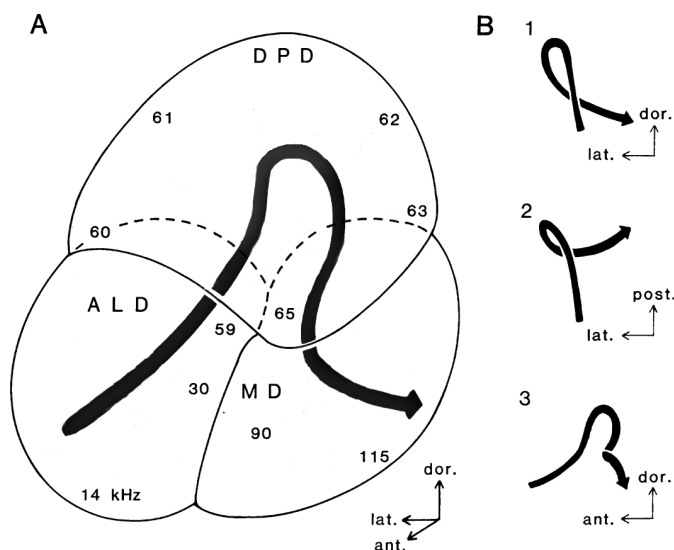


Abbildung 4.2: Tonotopie Repräsentation im ICc der Schnurrbartfledermaus: (A) der rechte ICc in einer anteromedialen Ansicht. Die dicke Linie stellt die Frequenzachse dar. In der tonotopischen Abbildung von 60-63 kHz vollführt die Frequenzachse eine Kurve. (B) Zur besseren Darstellung der Frequenzachse ist sie in drei zweidimensionalen Darstellungen gezeigt: frontal (B1), horizontal (B2) und sagittal (B3). Abbildung verändert nach Hattori und Suga (1997).

größerem Umfang von diesen Positionen abweichen, insbesondere außerhalb des ICc und an der Oberfläche, zu keinerlei Effekten. Zunächst kann eine Aktivierung des olivocochleären Systems natürlich nur dann erfolgreich sein, wenn die gereizte Region des IC auch absteigende Projektion zu Somata des olivocochleären Systems im SOC schickt und mit diesen synaptische Kontakte eingeht, was bei Säugern generell nur im ICx und ICc der Fall ist (Übersichtsartikel: Huffman und Henson, 1990; Schofield und Cant, 1999). Zudem ist das gesamte absteigende auditorische System, für das Suga et al. (2000) den Begriff „corticofugales auditorisches System“ prägte, tonotop organisiert (Huffman und Henson, 1990; Malmierca et al., 1996; Suga et al., 2000). Die efferenten Neurone des OCB zeigen eine den afferenten Fasern ähnliche Abstimmung, wenn auch mit etwas breiteren Tuningkurven, aber mit einer eindeutigen CF (Lieberman und Brown, 1986). Einer definierten Frequenz zugeordnete Regionen des IC sollten demnach zu Arealen im SOC projizieren, die diesen Frequenzen gewidmet sind und in denen sich wiederum die Somata medialer efferenter Fasern mit einer der tonotopischen Anordnung entsprechenden CF befinden. Die dichteste efferente Innervierung von OHC findet sich in der Cochlea der Schnurrbartfledermaus in der auditorischen Fovea (Xie et al., 1993), einer Region, die mit der verhaltensrelevanten Prozessierung der CF_2 -Frequenz von etwa 61 kHz betraut ist.

Die Verarbeitung der CF_2 -Frequenz ist im gesamten auditorischen System der Schnurrbartfledermaus überrepräsentiert und zeigt sich auch in der Frequenzkarte des ICc, die zwar annähernd eine ventro-dorsale Frequenzabbildung aufweist, jedoch im Bereich der Repräsentation von 60-63 kHz eine scharfe Biegung vollführt (siehe Abb. 4.2). So-

mit führt die elektrische Stimulation von IC-Arealen, in denen die CF_2 repräsentiert wird, zu einer Aktivierungskette, die letztendlich zu einer Aktivierung des efferenten Systems in der CF_2 -Region der Cochlea führt. Dort befindet sich der Resonanzmechanismus, der für die Produktion von lauten OAE und langen Nachschwingungen von CM und DEOAE verantwortlich ist. Die Überrepräsentation der CF_2 im auditorischen System der Schnurrbartfledermaus mag ein Grund für die Limitierung der im IC erzielten Effekte auf die Region der tonotopen Abbildung von 62 kHz sein. Die optimale Stimulusfrequenz verschob sich während der elektrischen Stimulation immer zu höheren Frequenzen oder verändert sich nicht, während bei der Frequenz der Nachschwingung sowohl positive wie auch negative Veränderungen auftraten. Suga et al. (2000) berichten in einem Einzelfall von einer Verschiebung der Frequenz der CM-Nachschwingung hin zu höheren Frequenzen während elektrischer Stimulation des ICc. Die Autoren berichten ebenfalls von einer Verschärfung der cochleären Abstimmung, was sich in einer Verlängerung der cochleären Nachschwingzeit bemerkbar macht. Das letztgenannte Resultat ist jedoch zweifelhaft, da die gezeigten Beispiele, in denen eine Verlängerung der Nachschwingzeit festgestellt wurde, auch einen erhöhten Rauschpegel aufweisen (siehe Abb. 2 in Suga et al., 2000). Innerhalb dieser Arbeit konnten zwar Frequenzveränderungen der CM-Nachschwingung festgestellt werden, jedoch keine signifikante Verlängerung der Nachschwingzeit.

Xiao und Suga (2002) zeigten durch fokale elektrische Stimulation genau definierter Areale im auditorischen Cortex der Schnurrbartfledermaus eine Beeinflussung der optimalen Stimulusfrequenz (BF) für die Evozierung von cochleären Mikrofonpotentialen (CM). Das Vorzeichen dieses Effekts war vom Verhältnis zwischen der CF der kortikalen Neurone und der BF des CM abhängig: Waren die beiden charakteristischen Frequenzen identisch, kam es zu keiner Änderung. War die CF des kortikalen Neurons niedriger als die BF des CM kam es zu einer Erhöhung der CM-BF, war sie höher, führte es zu einer Erniedrigung der CM-BF. Da diese sehr spezifische Modulation über das cortikofugale System zu den OHC gelangen muß, das auch den IC als Station enthält (Suga et al., 2000), ist es möglich, daß eine elektrische Stimulation geeigneter Areale im ICc zu den oben genannten Modulationen führt. Allerdings war es mit den in dieser Studie verwendeten Elektroden nicht möglich, genaue Aussagen über die Abstimmeeigenschaften einzelner Neurone der stimulierten Areale im ICc zu machen und somit analog zu Xiao und Suga (2002) eine Korrelation zwischen CM-BF und der CF des stimulierten IC-Areals und dem Vorzeichen der beobachteten CM-BF-Veränderung zu machen.

Zwei unterschiedliche Zeitkonstanten für efferente Veränderungen der Cochleamechanik

Die in dieser Arbeit beobachteten Frequenzveränderungen übertreffen mit bis zu +850 Hz die in Suga et al. (2000) exemplarisch gezeigten Veränderungen der Frequenz der CM-Nachschwingung von etwa +100 Hz. Die in Xiao und Suga (2002) beschriebenen Veränderungen der CM-BF während kortikaler Stimulation führten zu maximalen Frequenzverschiebungen von 250 Hz. Die beobachteten Frequenzverschiebungen inner-

halb der CM-Messungen sind ein Indiz dafür, daß Veränderungen an den OHC Ursache der beobachteten Effekte sind. Zudem scheinen die OHC in der Cochlea der Schnurrbartfledermaus, die von der passiven Cochleamechanik dominiert wird (Kössl und Vater, 2000), eine kontrollierende oder regulierende Funktion zu haben. Für die beobachteten Frequenzverschiebungen innerhalb dieser Arbeit gibt es mehrere Erklärungsansätze. Zunächst bewirkt die Ausschüttung von ACh in den synaptischen Spalt eine Erhöhung der K^+ -Leitfähigkeit der basolateralen Membran der OHC, was zu einer Hyperpolarisation der OHC führt. Dies verändert die axiale Steifheit, die Fähigkeit zur Elektromotilität der OHC und damit die Effizienz des cochleären Verstärkers (z.B Dallos und He, 2000; Dallos et al., 1997; Russell und Murugasu, 1997) und macht sich möglicherweise in einer Veränderung der Resonanzfrequenz bemerkbar. Diese durch das efferente System eingeleiteten Veränderungen der OHC laufen mit zwei unterschiedlichen Zeitkonstanten ab (Cooper und Guinan, 2003): Veränderungen in der Aktivität des cochleären Verstärkers manifestieren sich innerhalb von Millisekunden, Veränderungen in der Steifheit der OHC benötigen mehrere Sekunden, um sich zu etablieren. Da die cochleäre Resonanz in der Schnurrbartfledermaus mit zunehmender Stimulusamplitude tiefere Frequenzwerte annimmt (Kössl und Vater, 1985b), könnte eine durch das efferente System bewirkte Veränderung des effektiv in der Cochlea wirkenden Energiepegels zu einer Erhöhung der Resonanzfrequenz führen, aber im Umkehrschluß auch zu einer Erniedrigung der Resonanzfrequenz.

4.3.3 Die Relevanz der Modulation von Haarzellen durch das absteigende auditorische System

Relevanz für das Echoortungssystem

Bei der Interpretation der durch elektrische Stimulation ausgelösten Effekte stellt sich zunächst immer die Frage, inwieweit solche künstlichen Situationen Rückschlüsse auf verhaltensrelevante Mechanismen zulassen. Innerhalb dieser Arbeit wurden Frequenzveränderungen der CM-BF gezeigt, die eine veränderte Abstimmung der OHC nahelegen. Veränderung der CM-BF treten bei der Schnurrbartfledermaus auch in natürlichen Situationen auf: Während des Fluges erhöht sich die CM-BF um 0.15 ± 0.1 kHz (Huffman und Henson, 1993), wobei bei der Modulation der CM-BF der OHC das olivocochleäre System beteiligt zu sein scheint (Goldberg und Henson, 1998). Die Schnurrbartfledermaus kompensiert Dopplerverschiebungen des Echos der ausgesandten Ultraschallsignale durch Anpassung der Ruffrequenz, so daß die Echos etwa 200 Hz oberhalb der CF_2 liegen. Das absteigende auditorische System der Fledermaus kontrolliert vermutlich die Frequenzabstimmung der äußeren Haarzellen und sorgt so möglicherweise ebenfalls für eine sensitive Wahrnehmung von dopplerverschobenen Echos (Xiao und Suga, 2002). Dementsprechend modulieren olivocochleäre efferente Fasern die Frequenzabstimmung der OHC entsprechend den Signalen, die sie vom IC erhalten. Die Ergebnisse von Xiao und Suga (2002) lassen sogar den Schluß zu, daß der auditorische Cortex die Aktivität des olivocochleären Systems beeinflußt. Dies erfährt weitere Unterstützung durch den Nachweis einer direkten Innervation von olivocochleären Neu-

ronen durch eine direkte Projektion aus dem auditorischen Cortex der Ratte (Mulders und Robertson, 2000b).

Relevanz für die Funktionalität der cochleären Resonatoren

Eine Feinanalyse des Schwingungsmechanismus, der für die außergewöhnliche Resonanz der Cochlea der Schnurrbartfledermaus sorgt, ergab in Ergänzung des in Abschnitt 1.3 erläuterten Modells weitere Details: Verantwortlich für die cochleäre Resonanz der Schnurrbartfledermaus sind zwei Resonatoren (Russell und Kössl, 1999), die, über äußere Haarzellen funktionell gekoppelt, miteinander wechselwirken. Diese zwei Resonatoren lassen sich während der Messung von CM mit einem kontinuierlichen Stimulus von mehreren Millisekunden Dauer durch eine detaillierte zeitliche Analyse des CM identifizieren. Eine Millisekunde nach Beginn des akustischen Stimulus ähneln die Eigenschaften des CM denen eines von einer passiven Cochlea produzierten Potentials: Es weist eine relative Insensitivität, lineare Wachstumsfunktionen und breite Abstimmkurven auf. Zwei Millisekunden nach Beginn des akustischen Stimulus und im weiteren Verlauf sind die Eigenschaften des CM die einer aktiven Cochlea, mit kompressiven Wachstumsfunktionen, einer scharfen Frequenzabstimmung und einer 50-60 dB höheren Sensitivität (Russell et al., 2003).

Der unterschiedliche Grad der Abstimmung der beiden Resonatoren läßt sich auch an den unterschiedlichen Ein- und Ausschwingzeiten erkennen. Dies äußert sich in deutlichen Amplitudenmaxima des CM zu Beginn und Ende des akustischen Stimulus, den CM-on und CM-off Potentialen (Suga und Jen, 1977; Suga et al., 1975), wo die beiden Resonatoren außer Phase schwingen. Bei andauerndem Stimulus synchronisieren sich beide Resonatoren und schwingen in Phase mit einer gemeinsamen Resonanzfrequenz. Dies führt bei lauten Pegeln zu einer Verringerung der Scherbewegung, der Transduktion und damit der Amplitude des CM. Die Rolle des efferenten Systems hierbei könnte in der Kontrolle und Steuerung des Synchronisationsprozesses der beiden Resonatoren liegen. Beide Resonatoren (BM und *Lamina reticularis* bzw. TM und die Stereozilien der OHC) sind funktionell und strukturell über die OHC gekoppelt. Eine Veränderung der Eigenschaften der OHC durch das olivocochleäre efferente System könnte somit die Kopplung und damit die Synchronisation der beiden Resonatoren beeinträchtigen. Innerhalb dieser Arbeit wurde in einem Beispiel eine Schwebung in der Nachschwingung des CM beobachtet. Solche Ereignisse treten normalerweise nicht auf: Während der langen Nachschwingung, vermutlich vom scharf abgestimmten Resonator der Cochlea, der TM und den Stereozilien der OHC, erzeugt, ist kein weiterer Resonator aktiv, mit dem eine Interferenz etabliert werden könnte. Die beobachtete Schwebung wurde dabei an einem Tier unter Isoflurananästhesie beobachtet. Im vorangegangenen wurde bereits eine Beeinträchtigung der Funktion des efferenten Systems durch die Isoflurananästhesie vorgeschlagen. Somit wäre für den geschilderten Fall denkbar, daß Isofluran die efferente Aktivität beeinträchtigt und damit eine Veränderung der Abstimmung und Synchronisation der cochleären Resonatoren bewirkt hat. Die Interferenz der beiden nun unterschiedlich abgestimmten Resonatoren könnte dann die beobachtete Schwebung in der Nachschwingung des CM bewirken.

4.4 Schlußfolgerungen

In dieser Arbeit wurde das olivocochleäre System auf akustischem, elektrischem und pharmakologischem Wege stimuliert bzw. manipuliert. Es konnte gezeigt werden, daß die Rolle des efferenten Systems der Schnurrbartfledermaus über die in nichtechoortenden Säugern hinausgeht: Klassischerweise wird für Normal Säuger vorgeschlagen, daß das efferente System zur Verbesserung des Signal-Rausch-Abstandes (Dolan und Nuttall, 1988; Kawase et al., 1993) und zur Vergrößerung des Dynamikbereichs bei der Intensitätskodierung beiträgt (Geisler, 1974). Zusätzlich wurde für das efferente System eine Rolle bei der selektiven Aufmerksamkeit (Maison et al., 2001), bei der Regulierung der cochleären Verstärkung (Mountain, 1980; Siegel und Kim, 1982) und beim Schutz der Cochlea vor lautem Schall formuliert (Rajan, 1990; Xie und Henson, 1998). Der letztgenannte Vorschlag war lange Zeit eine der favorisierten Hauptfunktionen des efferenten Systems. In letzter Zeit häufen sich aber die Stimmen, die eine Entwicklung des efferenten Systems als evolutionäre Reaktion auf potentiell das Innenohr schädigende, natürliche Schallquellen ausschließen (z.B. Kirk und Smith, 2003). Die schädlichste Schallquelle der ein Lebewesen natürlicherweise ausgesetzt ist, ist die eigene Vokalisation. Davor schützen jedoch in vielen Spezies die mit der Vokalisation häufig synkinetisch aktivierten Mittelohrmuskeln.

In der Schnurrbartfledermaus spielt die Verbesserung des Signal-Rausch-Abstandes mit Sicherheit eine Rolle, und auch eine selektive Regulation des cochleären Verstärkers konnte innerhalb dieser Arbeit anhand der stimulusabhängigen efferenten Suppression bzw. Verstärkung der OAE gezeigt werden. Jedoch scheint das efferente System der Schnurrbartfledermaus zusätzlich die kritisch abgestimmten Resonatoren der Cochlea zu kontrollieren. Das efferente System sollte verhindern, daß spontane Oszillationen der Mikromechanik entstehen, was nicht immer perfekt gelingt, wie es das gelegentliche Auftreten von spontanen otoakustischen Emissionen beweist. Durch eine rasche Umkehr des Membranpotentials der OHC könnte das efferente System die Funktion von Dämpfern erfüllen, wie sie auch jedes Piano besitzt, um ein langes Nachschwingen nach dem Anschlagen einer Note zu verhindern. Zudem scheint der cochleäre Resonanzmechanismus der Schnurrbartfledermaus die Synchronisation von zwei Resonatoren zu erfordern, die über die OHC gekoppelt sind. Die Eigenschaften der OHC könnten durch das efferente System kontrolliert und somit der Synchronisationsprozess gesteuert werden.

Fledermäuse aus der Familie der *Rhinolophidae* (Bruns und Schmieszek, 1980) und *Hipposideridae* (Dannhof und Bruns, 1991) besitzen keine efferenten Synapsen an ihren OHC. Besonders Spezies aus der Familie der *Rhinolophidae* weisen zahlreiche Ähnlichkeiten mit der Schnurrbartfledermaus im Echoortungs- und Jagdverhalten auf und nutzen ähnliche Habitate (Henson et al., 1985; Kössl, 1994a,b). Ebenso kompensieren sie Doppler-Verschiebungen des Echoortungsrufes, weisen morphologische Spezialisierungen in der Cochlea auf und besitzen eine auditorische Fovea (Henson et al., 1985; Kössl, 1994a,b). Somit scheint die oben aufgestellte These widersprüchlich, denn falls das efferente System in einer Spezies eine so tragende Rolle spielt, wie kann dann eine andere vergleichbare Spezies dieses System entbehren (siehe dazu auch Henson et al.,

1995)? Die Lösung mag in einem gravierenden Unterschied zwischen den genannten Spezies liegen. Bei einem Vertreter der *Rhinolophidae*, *Rhinolophus rouxi*, wurden die physiologischen Eigenschaften des Innenohrs untersucht (Henson et al., 1985) und festgestellt, daß die resonanten Eigenschaften der Cochlea wesentlich geringer ausgeprägt sind als bei der Schnurrbartfledermaus (Kössl, 1994a,b). Demzufolge mag das efferente System bei dieser Spezies im Laufe der Evolution nutzlos geworden sein, da es keinen extrem abgestimmten Resonanzmechanismus mehr gibt, der einer efferenten Kontrolle bedarf, um spontane Oszillationen zu verhindern. Die efferente Kontrolle der Cochleamechanik ist somit möglicherweise durch eine mechanische Kontrolle abgelöst worden, die die Cochleamechanik von *Rhinolophus rouxi* stark dämpft. Diese Aufgabe könnte durch Fibroblasten im Spiralligament übernommen werden, eine der Strukturen, an der die Basilarmembran befestigt ist (Henson und Henson, 1988). Diese Fibroblasten liefern möglicherweise durch Spannung der Basilarmembran die notwendige mechanische Kontrolle der Cochleamechanik.

Literaturverzeichnis

- Antkowiak, B. (2001). How do general anaesthetics work? *Naturwissenschaften*, 88(5):201–213.
- Avan, P., Erre, J. P., da Costa, D. L., Aran, J. M., und Popelar, J. (1996). The efferent-mediated suppression of otoacoustic emissions in awake guinea pigs and its reversible blockage by gentamicin. *Exp. Brain Res.*, 109(1):9–16.
- Berlin, C. I., Hood, L. J., Wen, H., Szabo, P., Cecola, R. P., Rigby, P., und Jackson, D. F. (1993). Contralateral suppression of non-linear click-evoked otoacoustic emissions. *Hear. Res.*, 71(1-2):1–11.
- Bishop, A. L. und Henson, O. W. (1987). The efferent cochlear projections of the superior olivary complex in the mustached bat. *Hear. Res.*, 31(2):175–182.
- Bissinger, U., Plinkert, P. K., Sesterhenn, G., Grimm, A., und Lenz, G. (2000). Influence of volatile and intravenous anesthetics on the threshold of the acoustically evoked stapedius reflex. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 257(7):349–354.
- Blanchet, C., ErosteGUI, C., Sugasawa, M., und Dulon, D. (2000). Gentamicin blocks ach-evoked k⁺ current in guinea-pig outer hair cells by impairing ca²⁺ entry at the cholinergic receptor. *J. Physiol.*, 525 Pt 3:641–654.
- Boege, P. und Janssen, T. (2002). Pure-tone threshold estimation from extrapolated distortion product otoacoustic emission i/o-functions in normal and cochlear hearing loss ears. *J. Acoust. Soc. Am.*, 111(4):1810–1818.
- Borg, E. und Counter, S. A. (1989). The middle-ear muscles. *Sci. Am.*, 261(2):74–80.
- Braun, M. (1994). Tuned hair cells for hearing, but tuned basilar membrane for overload protection: evidence from dolphins, bats, and desert rodents. *Hear. Res.*, 78(1):98–114.
- Brown, A. M., Harris, F. P., und Beveridge, H. A. (1996). Two sources of acoustic distortion products from the human cochlea. *J. Acoust. Soc. Am.*, 100(5):3260–3267.
- Brown, J. N. und Nuttall, A. L. (1994). Autoregulation of cochlear blood flow in guinea pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 266(2):H458–H467.
- Brownell, W. E., Bader, C. R., Bertrand, D., und de Ribaupierre, Y. (1985). Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science*, 227(4683):194–196.
- Bruns, V. und Schmieszek, E. (1980). Cochlear innervation in the greater horseshoe bat: demonstration of an acoustic fovea. *Hear. Res.*, 3(1):27–43.

- Bufler, J., Pichlmeier, R., Schneck, H. J., Hussman, H., und Franke, C. (1994). Block of nicotinic acetylcholine-activated channels of cultured mouse myotubes by isoflurane. *Neurosci. Lett.*, 168(1-2):135–138.
- Buki, B., Wit, H. P., und Avan, P. (2000). Olivocochlear efferent vs. middle-ear contributions to the alteration of otoacoustic emissions by contralateral noise. *Brain Res.*, 852(1):140–150.
- Camalet, S., Duke, T., Julicher, F., und Prost, J. (2000). Auditory sensitivity provided by self-tuned critical oscillations of hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97(7):3183–3188.
- Cazals, Y. (2000). Auditory sensori-neural alterations induced by salicylate. *Progress in Neurobiology*, 62(6):583–631.
- Cheung, S. W., Nagarajan, S. S., Bedenbaugh, P. H., Schreiner, C. E., Wang, X., und Wong, A. (2001). Auditory cortical neuron response differences under isoflurane versus pentobarbital anesthesia. *Hear. Res.*, 156(1-2):115–127.
- Collet, L., Kemp, D. T., Veuille, E., Duclaux, R., Moulin, A., und Morgon, A. (1990). Effect of contralateral auditory stimuli on active cochlear micro-mechanical properties in human subjects. *Hear. Res.*, 43(2-3):251–261.
- Cooper, N. P. und Guinan, J. J. (2003). Separate mechanical processes underlie fast and slow effects of medial olivocochlear efferent activity. *J Physiol*, 548(1):307–312.
- Cooper, N. P. und Rhode, W. S. (1996). Fast travelling waves, slow travelling waves and their interactions in experimental studies of apical cochlear mechanics. *Auditory Neuroscience*, 2:289–299.
- Coro, F. und Kössl, M. (1998). Distortion-product otoacoustic emissions from the tympanic organ in two noctuid moths. *J. Comp Physiol A*, 183:525–531.
- Dallos, P. und Fakler, B. (2002). Prestin, a new type of motor protein. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 3(2):104–111.
- Dallos, P. und He, D. Z. (2000). Two models of outer hair cell stiffness and motility. *JARO*, 01:283–291.
- Dallos, P., He, D. Z., Lin, X., Sziklai, I., Mehta, S., und Evans, B. N. (1997). Acetylcholine, outer hair cell electromotility, and the cochlear amplifier. *J. Neurosci.*, 17(6):2212–2226.
- Dannhof, B. J. und Bruns, V. (1991). The organ of corti in the bat *hipposideros bicolor*. *Hear. Res.*, 53(2):253–268.
- Davis, H. (1983). An active process in cochlear mechanics. *Hear. Res.*, 9(1):79–90.
- den Hartog, J. P. (1985). *Mechanical Vibrations*. Dover Publications, Inc., New York.

- Dilger, J. P., Brett, R. S., und Lesko, L. A. (1991). Effects of isoflurane on acetylcholine receptor channels.1. single-channel currents. *Mol. Pharmacol.*, 41:127–133.
- Dilger, J. P., Brett, R. S., und Mody, H. I. (1993). The effects of isoflurane on acetylcholine channels.:2. currents elicited by rapid perfusion of acetylcholine. *Mol. Pharmacol.*, 44:1056–1063.
- Dolan, D. F., Guo, M. H., und Nuttall, A. L. (1997). Frequency-dependent enhancement of basilar membrane velocity during olivocochlear bundle stimulation. *J. Acoust. Soc. Am.*, 102(6):3587–3596.
- Dolan, D. F. und Nuttall, A. L. (1988). Masked cochlear whole-nerve response intensity functions altered by electrical stimulation of the crossed olivocochlear bundle. *J. Acoust. Soc. Am.*, 3:1081–1086.
- Dong, X. X., Ospeck, M., und Iwasa, K. H. (2002). Piezoelectric reciprocal relationship of the membrane motor in the cochlear outer hair cell. *Biophys. J.*, 82(3):1254–1259.
- Drexler, M. und Kössl, M. (2003). Sound-evoked efferent effects on cochlear mechanics of the mustached bat. Unpublished Work.
- Duke, T. und Julicher, F. (2003). Active traveling wave in the cochlea. *Phys. Rev. Lett.*, 90(15):158101–1–158101–4.
- Eaton, R. A., Corey, D. P., und Hudspeth, A. J. (1987). Adaptation of mechano-electrical transduction in hair cells of the bullfrog's sacculus. *J. Neurosci.*, 7(9):2821–2836.
- Echteler, S. M., Fay, R. R., und Popper, A. N. (1994). Structure of the mammalian cochlea. In Fay, R. R. und Popper, A. N., editors, *Comparative Hearing: Mammals*, book chapter 5, pages 134–171. Springer-Verlag.
- Elgoyhen, A. B., Vetter, D. E., Katz, E., Rothlin, C. V., Heinemann, S. F., und Boulter, J. (2001). $\alpha 10$: A determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 98(6):3501–3506.
- Faulstich, M., Kössl, M., und Reimer, K. (1996). Analysis of non-linear cochlear mechanics in the marsupial *Monodelphis domestica*: ancestral and modern mammalian features. *Hear. Res.*, 94(1-2):47–53.
- Faulstich, M. und Kössl, M. (2000). Evidence for multiple dpoae components based upon group delay of the 2f(1)-f(2) distortion in the gerbil. *Hear. Res.*, 140(1-2):99–110.
- Ferber-Viart, C., Preckel, M. P., Dubreuil, C., Banssillon, V., und Duclaux, R. (1998). Effect of anesthesia on transient evoked otoacoustic emissions in humans: A comparison between propofol and isoflurane. *Hearing. Research.*, 121(1-2):53–61.
- Fex, J. (1959). Augmentation of cochlear microphonic by stimulation of efferent fibres to the cochlea. *Acta Otolaryngol.*, 50:540–541.

- Foeller, E. und Kössl, M. (2000). Mechanical adaptations for echolocation in the cochlea of the bat *hipposideros lankadiva*. *J. Comp Physiol [A]*, 186(9):859–870.
- Frank, G., Hemmert, W., und Gummer, A. W. (1999). Limiting dynamics of high-frequency electromechanical transduction of outer hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 96(8):4420–4425.
- Franks, N. P. und Lieb, W. R. (1991). Stereospecific effects of inhalational general anesthetic optical isomers on nerve ion channels. *Science*, 254:427–430.
- Franks, N. P. und Lieb, W. R. (1994). Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature*, 367(6464):607–614.
- Fukazawa, T. und Tanaka, Y. (1996). Spontaneous otoacoustic emissions in an active feed-forward model of the cochlea. *Hearing Research*, 95(1-2):135–143.
- Galambos, R. (1956). Suppression of auditory nerve activity by stimulation of efferent fibers to the cochlea. *J. Neurophysiol.*, 19:424–437.
- Geisler, C. D. (1974). Letter: Hypothesis on the function of the crossed olivocochlear bundle. *J Acoust. Soc. Am.*, 56(6):1908–1909.
- Geisler, C. D. (1998). *From sound to synapse*. Oxford University Press, New York.
- Gifford, M. L. und Guinan, J. J. (1987). Effects of electrical stimulation of medial olivocochlear neurons on ipsilateral and contralateral cochlear responses. *Hear. Res.*, 29(2-3):179–194.
- Ginder, M. (2000). *Erprobung eines Inhalationssystems mit vorgeschaltetem bzw. integriertem verdampfer für Isofluran unter Minimal-Flow-Bedingungen bei der Ratte*. Dissertation, Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Giraud, A. L., Collet, L., Chery-Croze, S., Magnan, J., und Chays, A. (1995). Evidence of a medial olivocochlear involvement in contralateral suppression of otoacoustic emissions in humans. *Brain Research*, 705(1-2):15–23.
- Gold, T. (1948). Hearing ii. the physical basis of the action of the cochlea. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 135(881):492–498.
- Gold, T. und Pumphrey, R. J. (1948). Hearing i. the cochlea as a frequency analyser. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 135(881):462–491.
- Goldberg, R. L. und Henson, O. W. (1998). Changes in cochlear mechanics during vocalization: evidence for a phasic medial efferent effect. *Hear. Res.*, 122(1-2):71–81.
- Gorga, M. P., Neely, S. T., Ohlrich, B., Hoover, B., Redner, J., und Peters, J. (1997). From laboratory to clinic: a large scale study of distortion product otoacoustic emissions in ears with normal hearing and ears with hearing loss. *Ear Hear.*, 18(6):440–455.

- Guinan, J. J. (1996). Physiology of olivocochlear efferents. In Dallos, P., Popper, A. N., und Fay, R. R., editors, *The Cochlea*, Handbook of auditory research, pages 435–502. Springer-Verlag.
- Gummer, M., Yates, G. K., und Johnstone, B. M. (1988). Modulation transfer function of efferent neurones in the guinea pig cochlea. *Hear. Res.*, 36(1):41–51.
- Harel, N., Kakigi, A., Hirakawa, H., Mount, R. J., und Harrison, R. V. (1997). The effects of anesthesia on otoacoustic emissions. *Hear. Res.*, 110(1-2):25–33.
- Hattori, T. und Suga, N. (1997). The inferior colliculus of the mustached bat has the frequency-vs- latency coordinates. *J Comp Physiol [A]*, 180(3):271–284.
- Hatzopoulos, S., Petruccelli, J., Laurell, G., Finesso, M., und Martini, A. (2002). Evaluation of anesthesia effects in a rat animal model using otoacoustic emission protocols(1). *Hear. Res.*, 170(1-2):12–21.
- Henson, M. M. und Henson, O. W. (1988). Tension fibroblasts and the connective tissue matrix of the spiral ligament. *Hear. Res.*, 35(2-3):237–258.
- Henson, O. W. (1965). The activity and function of the middle-ear muscles in echolocating bats. *J. Physiol Lond*, 180(4):871–887.
- Henson, O. W. und Henson, M. M. (2000). The tympanic membrane: highly developed smooth muscle arrays in the annulus fibrosus of mustached bats. *JARO*, 01:25–32.
- Henson, O. W. und Pollak, G. D. (1972). A technique for chronic implantation of electrodes in the cochleae of bats. *Physiol Behav.*, 8(6):1185–1187.
- Henson, O. W., Schuller, G., und Vater, M. (1985). A comparative study of the physiological properties of the inner ear in doppler shift compensating bats (*rhinolophus rouxi* and *pteronotus parnellii*). *J. Comp. Physiol. [A]*, 157(5):587–597.
- Henson, O. W., Xie, D. H., Keating, A. W., und Henson, M. M. (1995). The effect of contralateral stimulation on cochlear resonance and damping in the mustached bat: the role of the medial efferent system. *Hear. Res.*, 86(1-2):111–124.
- Hoffman, W. E., Edelman, G., Kochs, E., Werner, C., Segil, L., und Albrecht, R. F. (1991). Cerebral autoregulation in awake versus isoflurane-anesthetized rats. *Anesth. Analg.*, 73(6):753–757.
- Holt, J. R. und Corey, D. P. (2000). Two mechanisms for transducer adaptation in vertebrate hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 97(22):11730–11735.
- Horner, K. C., Giraudet, F., Lucciano, M., und Cazals, Y. (2001). Sympathectomy improves the ear's resistance to acoustic trauma—could stress render the ear more sensitive? *Eur. J. Neurosci.*, 13(2):405–408.

- Hudspeth, A. J., Choe, Y., Mehta, A. D., und Martin, P. (2000). Putting ion channels to work: Mechano-electrical transduction, adaptation, and amplification by hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97(22):11765–11772.
- Huffman, R. F. und Henson, O. W. (1990). The descending auditory pathway and acousticomotor systems: connections with the inferior colliculus. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 15(3):295–323.
- Huffman, R. F. und Henson, O. W. (1993). Labile cochlear tuning in the mustached bat. i. concomitant shifts in biosonar emission frequency. *J. Comp Physiol A*, 171(6):725–734.
- Iwasa, K. H. (2001). A two-state piezoelectric model for outer hair cell motility. *Biophys. J.*, 81(5):2495–2506.
- Janoff, A. S., Pringle, M. J., und Miller, K. W. (1981). Correlation of general anesthetic potency with solubility in membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 649(1):125–128.
- Jensen, N. F., Todd, M. M., Kramer, D. J., Leonard, P. A., und Warner, D. S. (1992). A comparison of the vasodilating effects of halothane and isoflurane on the isolated rabbit basilar artery with and without intact endothelium. *Anesthesiology*, 76(4):624–634.
- Jock, B. M., Hamernik, R. P., Aldrich, L. G., Ahroon, W. A., Petriello, K. L., und Johnson, A. R. (1996). Evoked-potential thresholds and cubic distortion product otoacoustic emissions in the chinchilla following carboplatin treatment and noise exposure. *Hear. Res.*, 96(1-2):179–190.
- Kawase, T., Delgutte, B., und Liberman, M. C. (1993). Antimasking effects of the olivocochlear reflex. ii. enhancement of auditory-nerve response to masked tones. *J Neurophysiol*, 70(6):2533–2549.
- Kemp, D. T. (1978). Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J. Acoust. Soc. Am.*, 64(5):1386–1391.
- Kettembeil, S., Manley, G. A., und Siegl, E. (1995). Distortion-product otoacoustic emissions and their anaesthesia sensitivity in the european starling and the chicken. *Hear. Res.*, 86(1-2):47–62.
- Khalifa, S., Bougeard, R., Morand, N., Veuillet, E., Isnard, J., Guenot, M., Ryvlin, P., Fischer, C., und Collet, L. (2001). Evidence of peripheral auditory activity modulation by the auditory cortex in humans. *Neuroscience*, 104(2):347–358.
- Kirk, E. C. und Smith, D. W. (2003). Protection from acoustic trauma is not a primary function of the medial olivocochlear efferent system. *JARO, Online-Version verfügbar*.
- Köppl, C. (1995). Otoacoustic emissions as an indicator for active cochlear mechanics: a primitive property of vertebrate auditory organs. In Manley, G. A., Klump, G. M., Köppl, C., Fastl, H., und Oeckinghaus, H., editors, *Advances in Hearing Research*, pages 207–216. World Scientific.

- Kössl, M. (1994a). Evidence for a mechanical filter in the cochlea of the 'constant frequency' bats, *rhinolophus rouxi* and *pteronotus parnellii*. *Hear. Res.*, 72(1-2):73–80.
- Kössl, M. (1994b). Otoacoustic emissions from the cochlea of the 'constant frequency' bats, *pteronotus parnellii* and *rhinolophus rouxi*. *Hear. Res.*, 72(1-2):59–72.
- Kössl, M. (1997). Sound emission from cochlear filters and foveae—does the auditory sense organ make sense? *Naturwissenschaften*, 84(1):9–16.
- Kössl, M. und Boyan, G. S. (2000). Acoustic distortion products from the ear of a grasshopper. *J. Acoust. Soc. Am.*, 104(1):326–335.
- Kössl, M., Frank, G., Burda, H., und Muller, M. (1996). Acoustic distortion products from the cochlea of the blind african mole rat, *cryptomys spec.* *J. Comp Physiol [A]*, 178(3):427–434.
- Kössl, M., Mayer, F., Frank, G., Faulstich, M., und Russell, I. J. (1999). Evolutionary adaptations of cochlear function in jamaican mormoopid bats. *J. Comp Physiol [A]*, 185(3):217–228.
- Kössl, M. und Russell, I. J. (1995). Basilar membrane resonance in the cochlea of the mustached bat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 92(1):276–279.
- Kössl, M. und Vater, M. (1985a). The cochlear frequency map of the mustache bat, *pteronotus parnellii*. *J. Comp Physiol [A]*, 157(5):687–697.
- Kössl, M. und Vater, M. (1985b). Evoked acoustic emissions and cochlear microphonics in the mustache bat, *pteronotus parnellii*. *Hear. Res.*, 19(2):157–170.
- Kössl, M. und Vater, M. (1990). Resonance phenomena in the cochlea of the mustached bat and their contribution to neuronal response characteristics in the cochlear nucleus. *J. Comp. Physiol. [A]*, 5:711–720.
- Kössl, M. und Vater, M. (1995). Cochlear structure and function in bats. In Fay, R. R. und Popper, A. N., editors, *Hearing by bats*, Springer Handbook of Auditory Research, book chapter 5, pages 191–214. Springer.
- Kössl, M. und Vater, M. (1996). A tectorial membrane fovea in the cochlea of the mustached bat. *Naturwissenschaften*, 83(2):89–91.
- Kössl, M. und Vater, M. (2000). Consequences of outer hair cell damage for otoacoustic emissions and audio- vocal feedback in the mustache bat. *JARO*, 01:300–314.
- Kujawa, S. G., Glatcke, T. J., Fallon, M., und Bobbin, R. P. (1993). Contralateral sound suppresses distortion product otoacoustic emissions through cholinergic mechanisms. *Hear. Res.*, 68(1):97–106.
- Kujawa, S. G., Glatcke, T. J., Fallon, M., und Bobbin, R. P. (1994). A nicotinic-like receptor mediates suppression of distortion product otoacoustic emissions by contralateral sound. *Hear. Res.*, 74(1-2):122–134.

- Kujawa, S. G. und Liberman, M. C. (1997). Conditioning-related protection from acoustic injury: effects of chronic deafferentation and sham surgery. *J. Neurophysiol.*, 78(6):3095–3106.
- Liberman, M. C. (1989). Rapid assessment of sound-evoked olivocochlear feedback: suppression of compound action potentials by contralateral sound. *Hear. Res.*, 38(1-2):47–56.
- Liberman, M. C. (1990). Effects of chronic cochlear de-efferentation on auditory-nerve response. *Hear. Res.*, 49(1-3):209–223.
- Liberman, M. C. und Brown, M. C. (1986). Physiology and anatomy of single olivocochlear neurons in the cat. *Hear. Res.*, 24(1):17–36.
- Lonsbury-Martin, B. L., Martin, G. K., Probst, R., und Coats, A. C. (1987). Acoustic distortion products in rabbit ear canal. i. basic features and physiological vulnerability. *Hear. Res.*, 28(2-3):173–189.
- Ludwig, J., Oliver, D., Frank, G., Klocker, N., Gummer, A. W., und Fakler, B. (2001). Reciprocal electromechanical properties of rat prestin: the motor molecule from rat outer hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 98(7):4178–4183.
- Lukashkin, A. N., Lukashkina, V. A., und Russell, I. J. (2002). One source for distortion product otoacoustic emissions generated by low- and high-level primaries. *J Acoust. Soc. Am.*, 111(6):2740–2748.
- Magnan, P., Dancer, A., Probst, R., Smurzynski, J., und Avan, P. (1999). Intracochlear acoustic pressure measurements: transfer functions of the middle ear and cochlear mechanics. *Audiol. Neurootol.*, 4(3-4):123–128.
- Magnasco, M. O. (2003). A wave traveling over a hopf instability shapes the cochlear tuning curve. *Phys. Rev. Lett.*, 90(5):058101–1–058101–4.
- Maison, S., Micheyl, C., Andeol, G., Gallego, S., und Collet, L. (2000). Activation of medial olivocochlear efferent system in humans: influence of stimulus bandwidth. *Hear. Res.*, 140(1-2):111–125.
- Maison, S., Micheyl, C., und Collet, L. (2001). Influence of focused auditory attention on cochlear activity in humans. *Psychophysiology*, 38(1):35–40.
- Malmierca, M. S., Beau, F. E. L., und Rees, A. (1996). The topographical organization of descending projections from the central nucleus of the inferior colliculus in guinea pig. *Hear. Res.*, 93:167–180.
- Manley, G. A. und Johnstone, B. M. (1974). Middle-ear function in the guinea pig. *J Acoust. Soc. Am.*, 56(2):571–576.
- Manley, G. A. und Kirk, D. L. (2001). The influence of injected ac and dc on spontaneous otoacoustic emissions in the bobtail lizard. *JARO*, 3:200–208.

- Martin, G. K., Lonsbury-Martin, B. L., Probst, R., und Coats, A. C. (1988). Spontaneous otoacoustic emissions in a nonhuman primate. i. basic features and relations to other emissions. *Hear. Res.*, 33:49–68.
- Martin, P. und Hudspeth, A. J. (2001). Compressive nonlinearity in the hair bundle's active response to mechanical stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 98(25):14386–14391.
- McFadden, D. und Pasanen, E. G. (1999). Spontaneous otoacoustic emissions in heterosexuals, homosexuals, and bisexuals. *J. Acoust. Soc. Am.*, 105(4):2403–2413.
- Micheyl, C., Maison, S., Carlyon, R. P., Andeol, G., und Collet, L. (1999). Contralateral suppression of transiently evoked otoacoustic emissions by harmonic complex tones in humans. *J. Acoust. Soc. Am.*, 105(1):293–305.
- Moller, A. R. und Burgess, J. (1986). Neural generators of the brain-stem auditory evoked potentials (baeps) in the rhesus monkey. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 65(5):361–372.
- Mountain, D. C. (1980). Changes in endolymphatic potential and crossed olivocochlear bundle stimulation alter cochlear mechanics. *Science*, 210(4465):71–72.
- Mountain, D. C., Geisler, C. D., und Hubbard, A. E. (1980). Stimulation of efferents alters the cochlear microphonic and the sound-induced resistance changes measured in scale media of the guinea pig. *Hear. Res.*, 3(3):231–240.
- Mulders, W. H. A. M. und Robertson, D. (2000a). Effects on cochlear responses of activation of descending pathways from the inferior colliculus. *Hear. Res.*, 149(1-2):11–23.
- Mulders, W. H. A. M. und Robertson, D. (2000b). Evidence for direct cortical innervation of medial olivocochlear neurones in rats. *Hearing. Research.*, 144(1-2):65–72.
- Naidu, R. C. und Mountain, D. C. (1998). Measurements of the stiffness map challenge a basic tenet of cochlear theories. *Hear. Res.*, 124(1-2):124–131.
- Neuweiler, G. (2000). *The biology of bats*. Oxford University Press, New York.
- Nilsen, K. E. und Russell, I. J. (1999). Timing of cochlear feedback: spatial and temporal representation of a tone across the basilar membrane. *Nat. Neurosci.*, 2(7):642–648.
- Nilsen, K. E. und Russell, I. J. (2000). The spatial and temporal representation of a tone on the guinea pig basilar membrane. *PNAS*, 97(22):11751–11758.
- Nuttall, A. L. (1974). Tympanic muscle effects on middle-ear transfer characteristic. *J. Acoust. Soc. Am.*, 56(4):1239–1247.
- Oliver, D., He, D. Z., Klocker, N., Ludwig, J., Schulte, U., Waldegger, S., Ruppertsberg, J. P., Dallos, P., und Fakler, B. (2001). Intracellular anions as the voltage sensor of prestin, the outer hair cell motor protein. *Science*, 292(5525):2340–2343.

- Ospeck, M., Eguiluz, V. M., und Magnasco, M. O. (2001). Evidence of a hopf bifurcation in frog hair cells. *Biophys. J.*, 80(6):2597–2607.
- Pilz, P. K. D., Ostwald, J., Kreiter, A., und Schnitzler, H.-U. (1997). Effect of the middle ear reflex on sound transmission to the inner ear of rat. *Hearing Research*, 105(1-2):171–182.
- Pollak, G. und Henson, O. W. (1973). Specialized functional aspects of the middle ear muscles in the bat, *chilonycteris parnellii*. *J. Comp Physiol A*, 84:167–174.
- Popelar, J., Mazelova, J., und Syka, J. (2002). Effects of electrical stimulation of the inferior colliculus on 2f(1)- f(2) distortion product otoacoustic emissions in anesthetized guinea pigs. *Hear. Res.*, 170(1-2):116–126.
- Popelar, J., Valvoda, J., und Syka, J. (1999). Acoustically and electrically evoked contralateral suppression of otoacoustic emissions in guinea pigs. *Hear. Res.*, 135(1-2):61–70.
- Pujol, R., Lenoir, M., Ladrech, S., Tribillac, F., und Rebillard, G. (1999). Correlation within and across species between the length of outer hair cells and the frequency coding of the cochlea. In Cazals, Y., Demany, L., und Horner, K. C., editors, *Auditory Physiology and Perception*, pages 45–52. Pergamon Press.
- Rajan, R. (1990). Electrical stimulation of the inferior colliculus at low rates protects the cochlea from auditory desensitization. *Brain Res.*, 506(2):192–204.
- Rajan, R. (1995). Involvement of cochlear efferent pathways in protective effects elicited with binaural loud sound exposure in cats. *J Neurophysiol.*, 74(2):582–597.
- Raphael, R. M., Popel, A. S., und Brownell, W. E. (2000). A membrane bending model of outer hair cell electromotility. *Biophys. J.*, 78(6):2844–2862.
- Reiter, E. R. und Liberman, M. C. (1995). Efferent-mediated protection from acoustic overexposure: relation to slow effects of olivocochlear stimulation. *J Neurophysiol.*, 73(2):506–514.
- Ren, T. (2002). Longitudinal pattern of basilar membrane vibration in the sensitive cochlea. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99(26):17101–17106.
- Ren, T., Brown, N. J., Zhang, M., Nuttall, A. L., und Miller, J. M. (1995). A reversible ischemia model in gerbil cochlea. *Hear. Res.*, 92(1-2):30–37.
- Richter, C. P., Evans, B. N., Edge, R. M., und Dallos, P. (1998). Basilar membrane vibration in the gerbil hemicochlea. *J Neurophysiol*, 79(5):2255–2264.
- Robles, L. und Ruggero, M. A. (2001). Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol Rev.*, 81(3):1305–1352.

- Rouiller, E. M., Capt, M., Dolivo, M., und Ribaupierre, F. D. (1986). Tensor tympani reflex pathways studied with retrograde horseradish peroxidase and transneuronal viral tracing techniques. *Neurosci. Lett.*, 72(3):247–252.
- Russell, I. J., Drexler, M., Foeller, E., Vater, M., und Kössl, M. (2003). Synchronization of a non-linear oscillator: processing the cf component of the echo-response signal in the cochlea of the mustached bat. Unpublished Work.
- Russell, I. J. und Kössl, M. (1992). Modulation of hair cell voltage responses to tones by low-frequency biasing of the basilar membrane in the guinea pig cochlea. *J Neurosci.*, 12(5):1587–1601.
- Russell, I. J. und Kössl, M. (1999). Micromechanical responses to tones in the auditory fovea of the greater mustached bat's cochlea. *J. Neurophysiol.*, 82(2):676–686.
- Russell, I. J. und Murugasu, E. (1997). Medial efferent inhibition suppresses basilar membrane responses to near characteristic frequency tones of moderate to high intensities. *J. Acoust. Soc. Am.*, 102(3):1734–1738.
- Rybalchenko, V. und Santos-Sacchi, J. (2003). Cl⁻ flux through a non-selective, stretch-sensitive conductance influences the outer hair cell motor of the guinea-pig. *J. Physiol.*, 547(3):873–891.
- Santos-Sacchi, J., Kakehata, S., Kikuchi, T., Katori, Y., und Takasaka, T. (1998). Density of motility-related charge in the outer hair cell of the guinea pig is inversely related to best frequency. *Neurosci. Lett.*, 256(3):155–158.
- Santos-Sacchi, J. und Navarrete, E. (2002). Voltage-dependent changes in specific membrane capacitance caused by prestin, the outer hair cell lateral membrane motor. *Pflügers Arch.*, 444:99–106.
- Scates, K. W., Woods, C. I., und Azeredo, W. J. (1999). Inferior colliculus stimulation and changes in 2f1-f2 distortion product otoacoustic emissions in the rat. *Hear. Res.*, 128(1-2):51–60.
- Scheller, M., Bufler, J., Schneck, H., Kochs, E., und Franke, C. (1997). Isoflurane and sevoflurane interact with the nicotinic acetylcholine receptor channels in micromolar concentrations. *Anesthesiology*, 86(1):118–127.
- Schloth, E. und Zwicker, E. (1983). Mechanical and acoustical influences on spontaneous oto-acoustic emissions. *Hear. Res.*, 11(3):285–293.
- Schofield, B. R. und Cant, N. B. (1999). Descending auditory pathways: projections from the inferior colliculus contact superior olivary cells that project bilaterally to the cochlear nuclei. *J Comp Neurol.*, 409(2):210–223.
- Shera, C. A. und Guinan, J. J. (1999). Evoked otoacoustic emissions arise by two fundamentally different mechanisms: a taxonomy for mammalian oaes. *J. Acoust. Soc. Am.*, 105(2):782–798.

- Siegel, J. H. und Kim, D. O. (1982). Efferent neural control of cochlear mechanics? Olivocochlear bundle stimulation affects cochlear biomechanical nonlinearity. *Hear. Res.*, 6(2):171–182.
- Sill, J. C., Eskuri, S., Nelson, R., Tarara, J., und Dyke, R. A. V. (1993). The volatile anesthetic isoflurane attenuates Ca^{++} mobilization in cultured vascular smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 265(1):74–80.
- Silva, G. (1979). *Los murcielagos de Cuba*. Editorial Academica, Havanna.
- Smith, D. W., Erre, J. P., und Aran, J. M. (1994). Rapid, reversible elimination of medial olivocochlear efferent function following single injections of gentamicin in the guinea pig. *Brain Res.*, 652(2):243–248.
- Spector, A. A., Brownell, W. E., und Popel, A. S. (2003). Effect of outer hair cell piezoelectricity on high-frequency receptor potentials. *J. Acoust. Soc. Am.*, 113(1):453–461.
- Suga, N., Gao, E., Zhang, Y., Ma, X., und Olsen, J. F. (2000). The corticofugal system for hearing: Recent progress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 97(22):11807–11814.
- Suga, N. und Jen, P. H. (1975). Peripheral control of acoustic signals in the auditory system of echolocating bats. *J. Exp. Biol.*, 62(2):277–311.
- Suga, N. und Jen, P. H. (1977). Further studies on the peripheral auditory system of 'cf-fm' bats specialized for fine frequency analysis of doppler-shifted echoes. *J. Exp. Biol.*, 69:207–232.
- Suga, N., Simmons, J. A., und Jen, P. H. (1975). Peripheral specialization for fine analysis of doppler-shifted echoes in the auditory system of the 'cf-fm' bat *pteropus parnellii*. *J. Exp. Biol.*, 63(1):161–192.
- Talmadge, C. L., Long, G. R., Murphy, W. J., und Tubis, A. (1993). New off-line method for detecting spontaneous otoacoustic emissions in human subjects. *Hear. Res.*, 71(1-2):170–182.
- van Dijk, P. und Manley, G. A. (2001). Distortion product otoacoustic emissions in the tree frog *hyla cinerea*. *Hear. Res.*, 153(1-2):14–22.
- van Dijk, P., Narins, P. M., und Jianxin, W. (1996). Spontaneous otoacoustic emissions in seven frog species. *Hearing Research*, 101(1-2):102–112.
- Velenovsky, D. S. und Glattke, T. J. (2002). The effect of noise bandwidth on the contralateral suppression of transient evoked otoacoustic emissions. *Hear. Res.*, 164(1-2):39–48.
- Verbitsky, M., Rothlin, C. V., Katz, E., und Elgoyhen, A. B. (2000). Mixed nicotinic-muscarinic properties of the $\alpha 9$ nicotinic cholinergic receptor. *Neuropharmacology*, 39:2515–2524.

- VeUILLET, E., COLLET, L., und MORGON, A. (1992). Differential effects of ear-canal pressure and contralateral acoustic stimulation on evoked otoacoustic emissions in humans. *Hear. Res.*, 61(1-2):47–55.
- VOLDRICH, L. (1978). Mechanical properties of basilar membrane. *Acta Otolaryngol.*, 86(5-6):331–335.
- VON BÉKÉSY, G. (1956). Current status of theories of hearing. *Science*, 123(3201):779–783.
- WARR, W. B., GUINAN, J. J., und WHITE, J. S. (1986). Organization of the efferent fibers: The lateral and medial olivocochlear systems. In Altschuler, R. A., Hoffman, D. W., und Bobbin, R. P., editors, *Neurobiology of Hearing: Cochlea*, book chapter 18, pages 333–348. Raven Press.
- WILSON, J. P. (1980). Evidence for a cochlear origin for acoustic re-emissions, threshold fine-structure and tonal tinnitus. *Hear. Res.*, 2(3-4):233–252.
- WITHNELL, R. H., SHAFFER, L. A., und TALMADGE, C. L. (2003). Generation of dpoaes in the guinea pig. *Hear. Res.*, 178(1-2):106–117.
- XIAO, Z. und SUGA, N. (2002). Modulation of cochlear hair cells by the auditory cortex in the mustached bat. *Nat. Neurosci.*, 5(1):57–63.
- XIE, D. H., HENSON, M. M., BISHOP, A. L., und HENSON-OW, J. (1993). Efferent terminals in the cochlea of the mustached bat: quantitative data. *Hear. Res.*, 66(1):81–90.
- XIE, D. H. und HENSON, O. W. (1998). Tonic efferent-induced cochlear damping in roosting and echolocating mustached bats. *Hear. Res.*, 124(1-2):60–68.
- YANG, X. und HENSON, O. W. (2002). Smooth muscle in the annulus fibrosus of the tympanic membrane: physiological effects on sound transmission in the gerbil. *Hear. Res.*, 164(1-2):105–114.
- YOSHIDA, N., LIBERMAN, M. C., BROWN, M. C., und SEWELL, W. F. (1999). Gentamicin blocks both fast and slow effects of olivocochlear activation in anesthetized guinea pigs. *J. Neurophysiol.*, 82(6):3168–3174.
- ZAPPÀ, M., CHEEK, J. C., und LUDERS, H. (1996). Brain-stem auditory evoked potentials (baeps) from basal surface of temporal lobe recorded from chronic subdural electrodes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 100(2):141–151.
- ZHAN, M., WEI, G. W., LAI, C. H., LAI, Y. C., und LIU, Z. (2002). Coherence resonance near the hopf bifurcation in coupled chaotic oscillators. *Phys. Rev. E. Stat. Nonlin. Soft. Matter Phys.*, 66(3 Pt 2A):036201–1–036201–5.
- ZHENG, J., MADISON, L. D., OLIVER, D., FAKLER, B., und DALLOS, P. (2002). Prestin, the motor protein of outer hair cells. *Audiol. Neurootol.*, 7:9–12.

- Zheng, J., Shen, W., He, D. Z., Long, K. B., Madison, L. D., und Dallos, P. (2000a). Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature*, 405(6783):149–155.
- Zheng, X. Y., McFadden, S. L., Henderson, D., Ding, D. L., und Burkard, R. (2000b). Cochlear microphonics and otoacoustic emissions in chronically de-efferented chinchilla. *Hear. Res.*, 143(1-2):14–22.
- Zheng, Y., Ohyama, K., Hozawa, K., Wada, H., und Takasaka, T. (1997). Effect of anesthetic agents and middle ear pressure application on distortion product otoacoustic emission in the gerbil. *Hearing. Research.*, 112(1-2):-2.
- Zwicker, E. (1986). 'otoacoustic' emissions in a nonlinear cochlear hardware model with feedback. *J. Acoust. Soc. Am.*, 80(1):154–162.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Markus Drexl
Robert-Raudner-Str. 9F
85736 Oberschleißheim

Tel.: (089) 31 59 57 56
e-Mail: markus.drexl@stud.uni-muenchen.de

Geb. am 31. 03. 1974 in Landsberg a. Lech

Schulbildung

1980–1984 Grundschule in Utting
1984–1993 Rhabanus-Maurus-Gymnasium in St. Ottilien
9.07. 1993 allg. Hochschulreife

Zivildienst

10/1993–10/1994 Zivildienst am Altenheim St. Margareth in Augsburg

Studium

11/1994–7/1995 Studium der Forstwissenschaft an der LMU München
11/1995 Beginn des Studiums des Gymnasiallehramts an der LMU München
mit den Fächern Biologie und Chemie
1997 Vordiplom Biologie, Zwischenprüfung Chemie
1999 Beginn der Diplomarbeit bei Prof. Dr. Kössl. Thema: Efferente Kon-
trolle der Cochleamechanik bei der Fledermaus *Pteronotus p. parnel-
lii*
31.05.2000 Diplomhauptprüfung Biologie an der LMU München. Hauptfach:
Neurobiologie; Nebenfächer: Org. Chemie, Anthropologie und Hu-
mangenetik, Genetik
07/2000–08/2003 Promotion bei Prof. Dr. Kössl. Thema: Das efferente System und die
cochleäre Mikromechanik der Schnurrbartfledermaus

Auslandsaufenthalte

- 08/2000 Forschungsaufenthalt an der Universidad de La Habana, Departamento de Biología Animal y Humana, Havanna, Kuba
- 07/2001 Forschungsaufenthalt an der University of Sussex, Brighton, im Labor von Prof. Russell
- 08/2001 Forschungsaufenthalt an der Universidad de La Habana, Departamento de Biología Animal y Humana, Havanna, Kuba

Publikationen

Markus Drexl und Manfred Kössl (2003). Sound-evoked efferent effects on cochlear mechanics of the mustached bat. (eingereicht bei Hearing Research)

Markus Drexl, Michael Faulstich, Boris v. Stebut, Susanne Radtke-Schuller und Manfred Kössl (2003). Distortion product otoacoustic emissions and auditory evoked potentials in the hedgehog tenrec, *Echinops telfairi*. JARO (akzeptiert)

Manfred Kössl, Elisabeth Foeller, Markus Drexl, Marianne Vater, Emanuel Mora, Frank Coro and Ian J. Russell (2003). Postnatal development of the cochlear function in the mustached bat, *Pteronotus parnellii*. J. Neurophysiol. (akzeptiert)

Ian J. Russell, Markus Drexl, Elisabeth Foeller, Marianne Vater und Manfred Kössl (2003). Synchronization of a non-linear oscillator: processing the cf component of the echo-response signal in the cochlea of the mustached bat. (eingereicht bei J. Neurosci.)

Ian J. Russell, Markus Drexl, Elisabeth Foeller, Marianne Vater und Manfred Kössl (2003). The development of the cochlear resonance in the mustached bat *Pteronotus parnellii*. (eingereicht bei J. Neurosci.)

Iris Pibal, Markus Drexl, und Manfred Kössl (2002). Level dependence of optimal stimulus level difference for evoking DPOAEs in the gerbil. Hear. Res.174, 260-263.

Danksagung

Zunächst gilt mein Dank Prof. Manfred Kössl für die Überlassung des Themas und die Betreuung dieser Arbeit. Seine ständige Bereitschaft für technische und gedankliche Innovationen trugen sehr zum Fortgang dieser Arbeit und zur Weiterentwicklung meines wissenschaftlichen Denkens bei. Auch für die Gewährung des Unterschlupfes während der „Frankfurter Phase“ sei ihm herzlichst gedankt. Durch die Mitarbeit am Kubaprojekt konnte ich in die „neurobiologische Feldforschung“ hineinschnuppern. Vielen Dank für diese unvergeßliche Zeit.

Prof. Neuweiler schulde ich Dank dafür, daß er mich für den wissenschaftlichen Werdegang in den Neurowissenschaften begeisterte und mir half, so manche Hürden dabei zu nehmen.

In Brighton danke ich Prof. Ian Russell und Dr. Andrei Lukashkin für die zahlreichen Anregungen und die schönen Aufenthalte an der University of Sussex. Dr. Viktoria Lukashkina stand mir mit Ihren hervorragenden präparativen Fähigkeiten und den leckersten Fleischbällchen der Welt zur Seite.

Dr. Julia Henke vom Klinikum Rechts der Isar zeigte mir die Welt der Isoflurananästhesie.

Dr. Lutz Wiegrebe sorgte immer wieder für Motivation in Stunden des Zweifels und half bei technischen Problemen. Danke auch für die anregenden Diskussionen und die gelegentlichen psychoanalytischen Gespräche.

Claudia Schulte sortierte immer wieder geduldig meine Literaturdatenbank.

Erika Young wußte Rat bei kleinen Problemchen und verbreitete viel Fröhlichkeit.

Jessica Schneider in Frankfurt löste all meine Verwaltungsschwierigkeiten.

Bei den obligatorischen Computerproblemen kurz vor der Abgabe dieser Arbeit half mir Fried Molter.

Die ganze Arbeitsgruppe, besonders, Tom Fenzl, Dr. Uwe Firzlaff, Dr. Elisabeth Foeller, Jan Grunwald, Dr. Alex Kaiser, Horst König, Dieter Leippert, Rudi Marsch, Andi Nixdorf, Sabine Peisker, Michael Sala, Ariane Santoso, Maik Schuchmann, Alex Stein und Dr. Petra Weißenbacher sorgten für eine einmalige Arbeitsatmosphäre und viele gemeinsame Freizeitaktivitäten. Viele von Ihnen sind mir zu lieben Freunden geworden.

Dr. Antje Brand sorgte für den Kontakt zur Heimat während der „Frankfurter Phase“ und stärkte mein Durchhaltevermögen.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die Unterstützung, das rege Interesse an meinem akademischen Werdegang und besonders meiner Mutter für die vielen kleinen Urlaube am Ammersee. Vielen Dank auch an Chris für das Lesen des Manuskripts und an Karin, Juliane und Kilian für die oft dringend notwendige Abwechslung.

Ein ganz besonderes Dankeschön geht an Bille, die mir mit viel Verständnis fast seit Beginn der Promotion zur Seite steht und mich heil durch schwierige Phasen brachte. Ihr gebührt auch Dank für die mehrmalige Durchsicht des Manuskripts und viele gestalterische Ratschläge.

Ehrenwörtliche Erklärung

Die Arbeit wurde von mir selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt.