

# **Die prätektale Region**

**bei der**

**Fledermaus *Phyllostomus discolor***

**- eine audio-motorische Schnittstelle ? -**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Naturwissenschaften

an der biologischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

**Andreas Nixdorf**

aus Mallersdorf

2003

Dissertation eingereicht am 26.05.2003

1. Gutachter:

Prof. Dr. Gerd Schuller

2. Gutachter:

Prof. Dr. Gerhard Neuweiler

Tag der mündlichen Prüfung:

14.07.2003

Meinen Eltern  
und  
meiner Tati

„ ... Der Weg ist lang und schwer, der aus der Dunkelheit führt zum Licht empor ... „

*John Milton, Das verlorene Paradies (1667)*

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>AUDIO-MOTORISCHE INTEGRATION .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>DIE PRÄTEKTALE REGION .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3</b>	<b>DIE FLEDERMAUS PHYLLOSTOMUS DISCOLOR.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4</b>	<b>ZIEL DER ARBEIT.....</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>VERSUCHSTIERE .....</b>	<b>9</b>
<b>3.2</b>	<b>GEHIRNATLAS,PRÄPARATION UND STEREOTAXIE.....</b>	<b>9</b>
3.2.1	GEHIRNATLAS .....	9
3.2.2	PRÄPARATION UND STEREOTAKTISCHE METHODE.....	10
<b>3.3</b>	<b>EXPERIMENTE.....</b>	<b>12</b>
3.3.1	VERSUCHSBEDINGUNGEN .....	12
3.3.2	VERSUCHSAUFBAU .....	12
3.3.2.1.	Elektrische Mikrostimulation.....	13
3.3.2.2	Akustische Reizgebung und elektrophysiologische Ableitungen .....	13
3.3.2.3	Elektrische Reizgebung und elektrophysiologische Ableitungen.....	14
3.3.2.4	Pharmakologische Stimulation .....	15
3.3.2.5	Akustische Reize und Vorgehensweise .....	15
3.3.2.5.1	Akustische Reize.....	15
3.3.2.5.2	Versuchsdurchführung.....	15
<b>3.4</b>	<b>BEGLEITENDE TRACER-STUDIEN.....</b>	<b>16</b>
<b>3.5</b>	<b>PERFUSION UND HISTOLOGISCHE AUFARBEITUNG.....</b>	<b>16</b>
<b>3.6</b>	<b>AUSWERTUNG .....</b>	<b>17</b>
3.6.1	VERIFIZIERUNG DER STIMULATIONS- UND ABLEITPUNKTE .....	17
3.6.2	AUSWERTUNG DER AUSGELÖSTEN VOKALISATIONEN .....	17
3.6.3	AUSWERTUNG ELEKTROPHYSIOLOGIE .....	18
<b>3.7</b>	<b>STATISTISCHE ANALYSE .....</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>20</b>

<b>4.1</b>	<b>LOKALISATION DER PRÄTEKTALEN REGION .....</b>	<b>20</b>
<b>4.2</b>	<b>STIMULATIONSEXPERIMENTE IN DER PRÄTEKTALEN REGION .....</b>	<b>22</b>
4.2.1	ELEKTRISCHE MIKROSTIMULATION .....	22
4.2.2	PHARMAKOLOGISCHE STIMULATION.....	28
<b>4.3</b>	<b>ELEKTROPHYSIOLOGIE.....</b>	<b>29</b>
4.3.1	LAGE AKUSTISCH TREIBBARER NEURONEN IN DER AP .....	29
4.3.2	ANTWORTEN VON NEURONEN BZW. NEURONENGRUPPEN AUF AKUSTISCHE REIZE .....	31
4.3.2.1	Neuronale Antwortmuster.....	31
4.3.2.2	Einteilung der akustisch aktiven Neuronen bzw. Neuronengruppen .....	33
4.3.2.3	Neuronale Antworten auf Reintöne .....	33
4.3.2.4	Neuronale Antworten auf abwärts frequenzmodulierte Reize .....	39
4.3.2.5	Vergleiche neuronaler Aktivitäten .....	41
4.3.3.	ABHÄNGIGKEIT VON DER REIZDAUER.....	41
4.3.3.1	„Doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen.....	45
4.3.3.2	Phasische Neuronen .....	46
4.3.3.3	Tonische Neuronen .....	47
4.3.3.4	Bevorzugte Reizdauern .....	47
4.3.4	NEURONALE ANTWORTEN AUF DOPPELREIZE .....	47
4.3.4.1	„Doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen.....	48
4.3.4.2	Phasisch antwortende Neuronen .....	50
4.3.4.3	Bevorzugte Interstimulusintervalle bei Doppelreizen.....	52
4.3.5	NEURONALE ANTWORTEN IM COLLICULUS SUPERIOR .....	52
<b>4.4</b>	<b>ELEKTROPHYSIOLOGISCHE ABLEITUNGEN WÄHREND DER VOKALISATION.....</b>	<b>53</b>
<b>4.5</b>	<b>ANATOMISCHE UNTERSUCHUNG DER PRÄTEKTALEN REGION .....</b>	<b>57</b>
4.5.1	LOKALISATION DER TRACERINJEKTIONEN .....	58
4.5.2	VERBINDUNGEN VON UND ZUR PRÄTEKTALEN REGION .....	60
4.5.2.1	Cortikale Verbindungen der prätektalen Region .....	60
4.5.2.2	Verbindungen der AP zu Gebieten des Mittelhirns und Hirnstamms.....	62
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>65</b>
<b>5.1</b>	<b>DIE AP BEI <i>P. DISCOLOR</i>.....</b>	<b>65</b>
5.1.1	LOKALISATION DER AP.....	65
5.1.1	AFFERENTE UND EFFERENTE VERBINDUNGEN DER AP BEI <i>P. DISCOLOR</i> .....	66
<b>5.2</b>	<b>MIKROSTIMULATION IN BEREICHEN DER AP .....</b>	<b>70</b>
5.2.1	ELEKTRISCHE MIKROSTIMULATION .....	70

---

5.2.2	PHARMAKOLOGISCHE MIKROSTIMULATION.....	71
5.2.3	AUSGELÖSTE VOKALISATIONEN IN DER AP .....	72
<b>5.3</b>	<b>ELEKTROPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER AP .....</b>	<b>74</b>
5.3.1	AKUSTISCHE AFFERENZEN IN DIE AP .....	74
5.3.2	ALLGEMEINE ANTWORTEIGENSCHAFTEN PRÄTEKTALER NEURONEN .....	75
5.3.3	ANTWORTMUSTER VON PRÄTEKTALEN NEURONEN .....	77
5.3.4	REIZLÄNGENABHÄNGIGKEIT PRÄTEKTALER NEURONEN .....	78
5.3.5	NEURONALE ANTWORTEN AUF DOPPELREIZE .....	80
<b>5.4</b>	<b>NEURONALE ANTWORTEN WÄHREND DER VOKALISATION .....</b>	<b>82</b>
<b>5.5</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNG UND MÖGLICHE FUNKTIONELLE BEDEUTUNG DER AP .....</b>	<b>83</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>85</b>
<b>7</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>95</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

¼	¼ inch Ultraschallmikrophon
AD	Analog-Digital-Wandler
Amp	Verstärker
AmpDel	Verstärker für Delayussignal
Att	programmierbarer Abschwächer
Ar	Signaladdierer
Amy	Amygdala
AP	prätektale Region
APT	anteriorer prätektaler Kern
B	B- oder Zeitband-Charakteristik
Ca	anteriore Commissur
Cc	Corpus callosum
Cla	Clastrum
Cor	Cortex
DA	Digital-Analog-Wandler
DSP (1 & 2)	Digitale Signalverarbeitungsboards
EL	Elektrode
ET	Event Timer
ExtAtt	externer (manuell bedienbarer) Abschwächer
Fil	Filter
FM	abwärts frequenzmodulierter Reiz
Hab	Habenulae
HDD	Festplatte
Hyp	Hippocampus
IC	Colliculus inferior
Int	Intensität
kS	nicht auswertbar
L	L- oder Langzeit-Charakteristik
lcbNcl	lateral Kleinhirnkern
LGB	lateral Kniehöcker
LL	lateral Lemniskus
LS	Lautsprecher
M	M- oder multiple Charakteristik
MGB	medialer Kniehöcker
MPT	medialer prätektaler Kern
NBIC	Nucleus des Brachiums des Inferior Colliculus
NCAT	Nucleus des zentralen akustischen Traktes
Ncun	Nucleus cuneiformis
NOT	Nucleus des optischen Traktes
NPK	Nucleus der posterioren Commissur
NR	Nucleus ruber
nRs	keine Reizlängenselektivität
M_EL	Mikrostimulationselektrode
mIF	lateral Augenmuskelkern
OPT	olivärer prätektaler Kern
PAG	periaqueduktales Grau

---

PLA	paralemniskale Zone
Pons	pontines Grau
PPT	posteriorer prätektaler Kern
PreAmp	Ableitvorverstärker
Put	Putamen
RF	retikuläre Formation
RT	Reinton
S	S- oder Kurzzeit-Charakteristik
SC	Colliculus superior
SC (Aufbau)	Spikeconditioner
SD	Schwellendiskriminator
SN	Substantia nigra
Sub	Subiculum
ThalStr	nicht näher identifizierte thalamische Strukturen
T	Trigger
VI	ventro-lateraler thalamischer Nucleus
Vm	ventro-medialer thalamischer Nucleus
Vpl	ventraler postero-lateraler thalamischer Nucleus

## 1 Zusammenfassung

Das audio-motorische Integrationssystem bei Fledermäusen besteht aus drei funktionellen Komponenten. Diese drei Komponenten sind das Hörsystem (sensorische Komponente), das absteigende Vokalisationssystem bzw. andere motorische Systeme für Orientierungsbewegungen (motorische Komponenten) und Übergangsstrukturen bzw. Schnittstellen, die der Übertragung der akustischen Information auf die motorischen Ausgabesysteme dienen und akustische Rückkopplungseffekte vermitteln. Audio-motorische Schnittstellen sind dadurch gekennzeichnet, dass sie weder einer akustischen noch einer motorischen Funktion direkt zugeordnet werden können. Vorangegangene Untersuchungen zeigten, dass die prätektale Region (AP), am Übergangsbereich von Di- zu Mesencephalon lokalisiert, die Voraussetzungen einer möglichen audio-motorischen Schnittstelle erfüllt (Schuller, 1998). Ziel dieser Studie war es, die AP der Fledermaus *Phyllostomus discolor* auf die Auslösbarkeit von Vokalisationen zu untersuchen und physiologische Eigenschaften prätektaler Neuronen hinsichtlich akustischer Reize und während der Vokalisation zu charakterisieren. Dies sollte zum Verstehen und zur Klärung der Einbindung der, vor diesem Hintergrund bislang kaum untersuchten, AP in audio-motorische bzw. audio-vokale Integrationsnetze beitragen.

Die Lage und Ausdehnung der AP von *P. discolor* wurde gegenüber benachbarten Gehirnstrukturen abgegrenzt. Über einen Bereich von ca. 580  $\mu\text{m}$  rostro-caudaler, ca. 600  $\mu\text{m}$  medio-lateraler und ca. 1000  $\mu\text{m}$  dorso-ventraler Ausdehnung konnten in der AP elektrisch Vokalisationen ausgelöst werden (20–55  $\mu\text{A}$  Auslösestromstärke). Der am empfindlichsten für die Vokalisationsauslösung differenzierte Bereich (20–30  $\mu\text{A}$  Auslösestromstärke) war im rostro-medianen Teil der AP lokalisiert und hatte eine rostro-caudale Ausdehnung von ca. 420  $\mu\text{m}$ , eine medio-laterale Ausdehnung von ca. 400  $\mu\text{m}$  und eine dorso-ventrale Ausdehnung von ca. 400  $\mu\text{m}$ . Die elektrisch ausgelösten Vokalisationen bestanden aus vier bis fünf unterscheidbaren Harmonischen und entsprachen in ihrer spektro-temporalen Zusammensetzung Echoortungsrufen von *P. discolor*. Mikrodialyse mit Kaininsäure, zum Ausschluß möglicher elektrischer Faserstimulation, im caudalen Auslösebereich führte ebenfalls zur Auslösbarkeit oben beschriebener Vokalisationen. Begleitende Tracerstudien zeigten efferente Projektionen von der AP in den Nucleus ruber, in das pontine Grau und in die contralaterale AP. Ursprünge afferenter Projektionen zur AP konnten im Bereich des Cortex, des Colliculus inferior, des Cerebellums, und des Nucleus ruber charakterisiert werden. Innerhalb der AP konnten Neuronen durch akustische Reize (aufgenommene Eigenvokalisationen, abwärts frequenzmodu-

lierte Reize und Reintöne) aktiviert werden. Insgesamt wurde von 63 prätektalen Neuronen abgeleitet, wobei drei generelle neuronale Antwortmuster auf akustische Reize charakterisiert werden konnten. Die abgeleiteten Neuronen antworteten entweder mit einer phasischen Aktivität, einer „doppelt-phasischen“ Aktivität oder einer tonischen Aktivität auf die präsentierten akustischen Reize. Von 53 abgeleiteten Neuronen wurden die neuronalen Antworten auf abwärts frequenzmodulierte und Reintöne verglichen. 47 der Neuronen (88,7 %) antworteten sowohl auf Reintöne als auch auf abwärts frequenzmodulierte Reize mit vergleichbarer Aktivität. Sechs Neuronen (11,2 %) antworteten ebenfalls auf beide Reizklassen, jedoch mit einer statistisch signifikanten Präferenz für Reintöne. Die Abstimmkurven der Neuronen hatten einen V-förmigen Verlauf und zeigten  $Q_{10\text{ dB}}$ -Werte zwischen 4–20. Die Aktivität von 37 Neuronen wurde auf eine mögliche Abhängigkeit von der Reizdauer untersucht. Bei allen 37 Neuronen konnten mit Reintönen und / oder abwärts frequenzmodulierten Reizen unterschiedlicher Dauer Aktivitätsveränderungen beobachtet werden. Insgesamt konnten fünf neuronale reizdauerabhängige Aktivitätsverläufe differenziert werden. Der größte Teil der gemessenen bevorzugten Reizdauern lag in einem Bereich von 2 bis 11 ms. Auf eine mögliche Aktivierung durch Doppelreize wurden 22 prätektale Neuronen untersucht. Acht „doppelt-phasisch“ und ein phasisch antwortendes Neuron zeigten eindeutige Antworten auf Kombinationen von abwärts frequenzmodulierten Reizen mit bestimmten Interstimulusintervallen. Die bevorzugten Interstimulusintervalle lagen in einem Bereich von 3,2 bis 9,8 ms. Während elektrisch ausgelöster Vokalisationen konnte von 10 prätektalen Neuronen abgeleitet werden. Neun der 10 untersuchten Neuronen zeigten eine tonische Aktivität vor der Vokalisation. Ein Neuron zeigte während der Vokalisation eine tonische Aktivität. Auf akustische Reize allein waren fünf der 10 Neuronen aktivierbar. Die akustischen Eigenschaften waren ähnlich denen der phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen. Diese „vokalaktiven“ und gleichzeitig akustisch aktivierbaren Neuronen stellen integrative Einheiten dar, die akustische und motorische Informationen zusammenschalten. Die Ergebnisse der Untersuchung der AP von *P. discolor* mit elektrischer und pharmakologischer Mikrostimulation, histologischen Methoden und elektrophysiologischen Ableitungen untermauern die Annahme, dass die AP eine audio-motorische Schnittstelle darstellt. Neben einer Einbindung in audio-vokale Regelkreise könnte die AP an der Vermittlung schneller Orientierungsbewegung analog zur Vermittlung von Reflexen im visuellen System beteiligt sein

## 2 Einleitung

### 2.1 Audio-motorische Integration

Zur Verhaltenssteuerung müssen permanent Informationen über die Sinnessysteme aus der Umwelt aufgenommen und auf motorische Systeme umgeschaltet werden. Diese Umschaltung wird allgemein als senso-motorische Integration bezeichnet. Bei der senso-motorischen Integration können verschiedene Sinnessysteme gleichzeitig beteiligt sein, die in komplexen Wechselwirkungen zueinander auf die Motorik einwirken, wie beispielsweise das vestibulare, das visuelle und propriozeptive System beim aufrechten Stehen (Peterka, 2002). Die senso-motorische Integration ist kein stereotyper und unveränderlicher Vorgang, sondern wird durch Rückkopplung aktiv kontrolliert, modifiziert und beeinflusst (z.B.: Shipley et al, 1988; Marino et al., 1999; Leonardo & Konishi, 1999; Peterka, 2002). Sie erfolgt in keinem einzelnen übergeordneten oder abgegrenzten Verarbeitungszentrum im Gehirn, sondern findet in verteilten Strukturen auf unterschiedlichen hierarchischen Ebenen statt (z.B.: Marino et al., 1999; Brainard & Doupe, 2000).

Fledermäuse orientieren sich in der Dunkelheit vorwiegend über ihr Echoortungssystem, indem sie die akustische Echoinformationen aus der Umwelt benutzen. Fledermäuse passen laufend die Parameter ihrer Echoortungslaute an die jeweilige aktuelle Jagdsituation an. Bei Annäherung an ein Ziel erhöhen sie die Rate ihrer Lautaussendungen und verkürzen zudem die Dauer der Laute (Simmons et al., 1979). Bestimmte Fledermausarten aus der Familie der Rhinolophiden und Mormoopiden können darüber hinaus ihre Ruffrequenz absenken, um das vom Ziel zurückkommende Echo bezüglich der Fluggeschwindigkeit in dem für die Analyse der Echoortungslaute wichtigen Frequenzbereich zu halten (Doppler-Shift-Kompensation; Schnitzler, 1968). Bewegliche Ohren fixieren während der Jagd bzw. der Echoortungssituation das Ziel im optimalen Fokus. All diese Einstellungen der verschiedenen Eigenschaften des Echoortungslautes bzw. der akustisch bedingten Orientierungsbewegungen werden über vorher oben angesprochene Rückkopplungsmechanismen geregelt. Daher stellen Fledermäuse ausgezeichnete Objekte zur Untersuchung der senso-motorischen bzw. hier speziell der audio-motorischen Integration und beteiligter Rückkopplungseffekte dar. Besondere Bedeutung kommt hier den akustisch gesteuerten Verhaltensweisen der Vokalisation zu. Das audio-motorische bzw. audio-vokale Integrationssystem kann in drei funktionelle Komponenten unterteilt werden:

- a. das Hörsystem als **sensorische Komponente**
- b. das absteigende Vokalisationssystem und andere motorische Systeme für Orientierungsbewegungen als **motorische Komponente(n)**
- c. Übergangsstrukturen, funktionell weder rein sensorisch noch rein motorisch, die der **Umschaltung der sensorischen auf die motorische Komponente** dienen und Rückkopplungseffekte mit vermitteln.

Die sensorische Komponente, das auditorische System, ist bei Fledermäusen sehr gut ausgebildet und Strukturen der Hörbahn sind, im Gegensatz zu nicht echoortenden Säugern, stark vergrößert repräsentiert (Neuweiler, 1996). Physiologisch und anatomisch sind die einzelnen Stationen der Hörbahn, der Nucleus cochlearis mit weiteren Hirnstammgebieten (zum Überblick: Vater, 2000), der Colliculus inferior (zum Überblick: Schweizer, 1981; Pollak and Park, 1995; Covey & Casseday, 1999) und der Thalamus (zum Überblick: Wenstrup, 1995) bis hin zum auditorischen Cortex (zum Überblick: O'Neill, 1995; Radtke-Schuller, 2001) bei Fledermäusen eingehend charakterisiert und beschrieben worden.

Die motorische Komponente, speziell das absteigende Vokalisationssystem, ist ebenfalls gut untersucht und besteht aus mehreren funktionellen Unterkomponenten, die für die Steuerung des Kehlkopfes (Larynx), der Respiration und besonders bei Affen für die Ansteuerung supralaryngealer Strukturen (Jürgens, 2002) zuständig sind. Bei Fledermäusen, die ihre Echoortungslaute durch die Nase aussenden, ist die spektrale und temporale Zusammensetzung der Vokalisation fast ausschließlich durch den Larynx kontrolliert und supralaryngeale Aktivität hat hierauf wenig Einfluss (Schuller & Radtke-Schuller, 1988). Die laryngeale Ansteuerung läuft bei Fledermäusen wie bei allen anderen Säugertieren über den oberen und unteren Larynxnerv, deren Motorneurone im Nucleus ambiguus lokalisiert sind (Schweizer et al, 1981; Rübsamen & Betz; 1986; Rübsamen & Schweizer, 1986). Der Nucleus ambiguus erhält Projektionen aus dem periaqueduktalen Grau, einer wichtigen Relaisstation des absteigenden Vokalisationssystems (Huffman & Henson, 1990; Jürgens, 2002).

Senso-motorische Übergangstrukturen sind dadurch gekennzeichnet, dass sie direkt weder einer sensorischen noch einer motorischen Funktion zugeordnet werden können. Vielmehr handelt es sich um Strukturen, die auf der einen Seite sensorische Eingänge, also im Falle der Fledermaus akustische, aufweisen und auf der anderen Seite Verbindung zu prämotorischen bzw. motorischen Gebieten zeigen.

Um Gehirngebiete, die in die audio-vokale Integration eingebunden sind, zu identifizieren, wurden mit elektrischer und pharmakologischer Mikrostimulation Bereiche des Mittel- und Zwischenhirns bei Fledermäusen untersucht. So konnten in den mittleren und tiefen Schichten des Colliculus superior (SC: Schuller & Radtke-Schuller 1990; Valentine et al., 2002), im tiefen mesencephalischen Nucleus (DMN: Schuller & Radtke-Schuller 1990), in der dorsalen und lateralen retikulären Formation des Mittelhirns (RF: Schuller & Radtke-Schuller 1990), im Nucleus des zentralen akustischen Trakts (NCAT: Behrend & Schuller 2000), im Nucleus des Brachiums des Colliculus inferior (NBIC: Schuller, 1998), in der paralemniskalen Zone (PLA: Schuller & Radtke-Schuller 1990; Schuller et al., 1997; Pillat & Schuller, 1998; Fenzl & Schuller, 2002), im periaqueduktalen Grau (PAG: Fenzl & Schuller, 2002) und in der prätektalen Region (AP: Schuller, 1998) artspezifische Echoortungslaute ausgelöst werden.

Hieraus kann auf eine Einbindung bzw. Einflussnahme dieser Gebiete im absteigenden Vokalisationssystem der Fledermaus geschlossen werden. Durch Tracerexperimente konnten bei einem Teil dieser Gebiete direkte Afferenzen aus akustischen Strukturen nachgewiesen werden, so z.B. im SC (Huffman & Henson, 1990), im NCAT (Behrend & Schuller, 2000) und in der AP (Schuller, 1998). Indirekte akustische Afferenzen, d.h. Afferenzen aus einem der akustischen Struktur nachgeschalteten Gebiet, konnten im paralemniskalen Areal (Schuller et al., 1997) gezeigt werden.

Bei der Fledermaus *R. rouxi* wurden einige der Gebiete funktionell und physiologisch im Zusammenhang mit der Doppler-Shift-Kompensation (DSC), einem sehr guten Beispiel für einen akustischen Rückkopplungseffekt, untersucht. So zeigten elektrophysiologische Ableitungen an Neuronen der PLA während aktiver Vokalisation neuronale Aktivität, die von den Parametern der Vokalisation abhängig waren. Die PLA schien eine wichtige Struktur bei der Vermittlung der DSC darzustellen (Metzner, 1989; Metzner 1993). Andererseits zeigte eine funktionelle Läsionsstudie in diesem Gebiet, dass auch bei beidseitiger Zerstörung der PLA die Fähigkeit zur DSC erhalten blieb (Pillat & Schuller, 1998). Elektrophysiologische Ableitungen im NCAT zeigten, dass hier die Neuronen sehr scharfe Abstimmkurven aufwiesen und beste Frequenzen knapp überhalb der Ruhefrequenz der Fledermaus, die der Hauptkomponente des Echoortungslautes entspricht, aufwiesen. Einseitige Zerstörung durch elektrische Läsionen des NCAT führten zu einer Verminderung der Präzision der DSC (Behrend & Schuller, 2000). Im NBIC erzeugten beidseitige Läsionen einen Ausfall der DSC, während die Ruhefrequenz, also die normale Ruffrequenz der Fledermaus im stationären Zustand, dagegen nicht beeinflusst wurde (Schuller, 1998).

## 2.2 Die prätektale Region

Die prätektale Region (AP) ist am Übergang von Di- zu Mesencephalon lokalisiert und bildet zusammen mit der Epiphyse und den Habenulae den Epithalamus (Trepel, 1999). Anatomisch kann die AP in mehrere Unterkerne unterteilt werden, wobei die Anzahl der Unterkerne in der Literatur variiert. So konnten bei der Ratte mit dem anterioren prätektalen Kern (APT), dem olivären prätektalen Kern (OPT), dem posterioren prätektalen Kern (PPT) und dem Nucleus des optischen Traktes (NOT) insgesamt vier prätektale Unterkerne identifiziert werden (Scalia & Arango, 1979). Bei der Katze wurden sechs Unterkerne charakterisiert, wobei zu den vier bei der Ratte gefundenen Unterkernen noch ein medialer prätektaler Kern (MPT) unterschieden wurde und der Nucleus der posterioren Kommissur (NPK) der AP zugeordnet wurde (Avendano & Juretschke, 1980).

Die AP ist funktionell an der Rückkopplung visueller und somatosensorischer Information auf prämotorische Systeme beteiligt. Im visuellen System ist sie an der Steuerung des Pupillenreflexes (Magoun & Ranson 1935), des Akkomodationsreflexes (Zilles & Rehkämper, 1998) und des optokinetischen Nystagmus, der Kombination von Folgebewegungen des Auges auf einen bewegten Gegenstand und entgegengerichteten schnellen Augenbewegungen, beteiligt. Im prätektalen Unterkerne NOT konnte mit elektrischer Mikrostimulation Nystagmus ausgelöst werden (Schiff et al., 1988) und Läsionen in diesem Kerngebiet führten zur Aufhebung des Nystagmus (Schiff et al., 1990). Physiologisch sind neuronale Antworten aus dem NOT gut charakterisiert. Neuronen des NOT antworten auf horizontal bewegte großflächige Objekte (Hoffmann & Distler, 1989; Inoue et al., 2000, Ibbotson & Price, 2001). Diese Stimuli simulieren den optischen Fluss, der zur Verhaltensreaktion des optokinetischen Nystagmus führt. Der NOT erhält Afferenzen aus der Retina (Fledermaus: Reimer, 1989), dem visuellen Cortex (Affe: Benevento & Standage, 1983, Hutchins & Weber, 1985; Hoffman et al., 1992) und dem Colliculus superior (Katze: Sato & Ohtsuka, 1996). Efferenzen des NOT projizieren zum Edinger Westphal Kern, einer prämotorischen Struktur der Okulomotorik (Zilles & Rehkämper, 1998) und in den Colliculus superior (z.B.: Fledermaus: Covey et al., 1987; Ratte: Cadusseau & Roger, 1985; Mihailoff, 1995; Frettchen: Jiang et al., 1997), einer multimodalen Integrationsstation im Mittelhirn für visuelle und akustische Informationen.

Im somatosensorischen System ist die prätektale Region, genauer der anteriore Unterkerne APT, funktionell an der Weiterleitung bzw. Modulation der Nocizeption beteiligt. Elektrische Stimulation im APT unterdrückt die Schmerzwahrnehmung (Rückziehreflex: Roberts & Rees, 1986; Kieferöffnungsreflex: Chiang et al., 1989; Chiang et al., 1991), so dass die APT als Relaisstation gesehen werden kann, die die Weiterleitung von Schmerzinformationen an die Motorik im Rückenmark

kontrolliert (Rosa et al., 1998).

Der anteriore Kern der AP erhält Afferenzen aus dem Rückenmark (z.B.: Katze: Berkley & Mash, 1978; Affe: Wiberg et al., 1987), der Medulla (z.B.: Ratte: Yoshida et al., 1992), dem Mittelhirn (z.B.: Ratte: Rosa et al., 1998; Katze: Sato & Ohtsuka, 1996; Frosch: Feng & Lin, 1991) und dem somatosensorischen Cortex (z.B.: Ratte: Foster et al., 1989; Katze: Berkley & Mash, 1978). Efferente Fasern projizieren ins Rückenmark (Fisch: New et al., 1998), in die Medulla (Ratte: Zagon et al., 1995), das Mittelhirn (Ratte: Mihailoff, 1995) und den Thalamus (Katze: Weber et al., 1986).

Auf der Ebene des akustischen Systems zeigten einige anatomische Studien Afferenzen aus akustischen Gebieten in die prätektale Region (Kudo et al., 1983; Wenstrup et al., 1994; Casseday et al., 1989; Schuller, 1998; Schuller et al., 1997; Behrend & Schuller, 2000). Eine Charakterisierung der physiologischen Eigenschaften prätektaler Neuronen auf akustische Reize ist bislang aber noch nicht erfolgt.

### 2.3 Die Fledermaus *Phyllostomus discolor*

Als Versuchstier wurde im Rahmen dieser Arbeit die neotropische Fledermaus *Phyllostomus discolor* verwendet. *P. discolor*, die kleine Lanzennase, stammt aus der Familie der Phyllostomidae (Blattnasen), einer der größeren Familien aus der Unterordnung der Mikrochiropteren mit 6 Unterfamilien und 148 Arten. Phyllostomiden sind in Amerika, vom südwestlichen Teil der USA bis in den nördlichen Teil von Argentinien beheimatet und umfassen Individuen mit omnivoren (z.B.: *Phyllostomus discolor*; *Phyllostomus hastatus*), frugivoren (z.B.: *Glossophaga soricina*) und sanguivoren (*Desmodus rotundus*) Ernährungsweisen. *P. discolor* emittiert nasal kurze abwärts frequenzmodulierte multiharmonische Echoortungslaute, die einen Frequenzbereich von 15 bis 100 kHz abdecken und eine Dauer von 0,3 bis 2,5 ms haben und dem allgemeinen Phyllostomidentyp entsprechen (Rother & Schmidt, 1982). Zusätzlich zu den Echoortungslauten hat *P. discolor* ein großes Repertoire an Kommunikationslauten, die sich in spektraler und temporaler Zusammensetzung von Echoortungslauten stark unterscheiden (Pistohl, 1998; Fenzl & Schuller, 2002).

### 2.4 Ziel der Arbeit

Die AP stellt in visuellen und somatosensorischen Funktionskreisen eine wichtige Integrationsstelle dar, über die sensorische Information auf prämotorische Gebiete umgeschaltet wird. Eine Beteiligung an audio-motorischen Regelkreisen wurde bisher kaum erwogen oder experimentell unter-

sucht. Das Wissen über physiologische Eigenschaften von prätektalen Neuronen beschränkt sich vorwiegend auf Antworteigenschaften bei der visuellen Informationsverarbeitung.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die AP mit einem breiten Repertoire aus Mikrostimulation, elektrophysiologischen Ableitungen und histologischen Methoden bezüglich ihrer Einbindung in audio-motorische bzw. audio-vokale Integrationsnetze zu charakterisieren. Die Auslösung von Vokalisationen mit elektrischer Mikrostimulation in der AP von *P. discolor* sollte zeigen, an welchen Orten, eventuell spezifisch, welche Art von Vokalisation ausgelöst werden konnte und welche Zusammensetzung die ausgelösten Vokalisationen hatten. Weiterführend sollte mit elektrophysiologischen Ableitungen geklärt werden, ob prätektale Neuronen durch akustische Reize aktivierbar sind und wenn ja welche akustischen Antwortmuster bei prätektalen Neuronen auftreten und welche Parameter der akustischen Reize zu Antwortänderungen führen. Als weiteres Ziel sollte geklärt werden, inwieweit neurophysiologisch unterschiedliche Gebiete in der AP differenziert werden können. Von besonderer Wichtigkeit war der Ansatz, prätektale Neuronen in einer akuten Verhaltensreaktion, d.h. auch während aktiver Vokalisation, zu untersuchen. Dabei sollte überprüft werden, ob prätektale Neuronen vor und / oder während der Vokalisation aktiv sind und welche Antwortmuster hier zu finden sind. Dies konnte durch eine Kombination aus elektrischer Mikrostimulation und elektrophysiologischer Ableitung erreicht werden. Mögliche vokalaktive Neuronen sollten im Folgenden mit akustischen Reizen getestet werden. Vor und während der Vokalisation aktive Neuronen, die auch durch akustische Reize aktivierbar sind, könnten als neuronale Elemente zur audio-motorischen Integration in der AP interpretiert werden. Tracerinjektionen in physiologisch charakterisierte prätektale Bereiche sollten die afferenten und efferenten Verbindungen der AP charakterisieren und die Bedeutung der AP als audio-vokale Umschaltstelle histologisch untermauern.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Versuchstiere

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an 13 männlichen Tieren der Art *Phyllostomus discolor* durchgeführt. Die Tiere stammten aus abteilungseigener Zucht und wurden in einem klimatisierten Raum unter annähernd natürlichen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen ( $\sim 28^\circ$  Celsius,  $\sim 80\%$  Luftfeuchtigkeit, 12h:12h Hell-Dunkel-Phase) gehalten. Während des Versuchszeitraumes waren sie von den anderen Tieren im Stall separiert untergebracht.

Die Tiere wurden nach den Bestimmungen für Labortierverfahren des deutschen Tierschutzgesetzes behandelt (Genehmigung 211-2531-37/98, Reg. Oberbayern)

### 3.2 Gehirnatlas, Präparation und Stereotaxie

#### 3.2.1 Gehirnatlas

Um die für die Hufeisennasenfledermaus *Rhinolophus rouxi* entwickelte Stereotaxie (Schuller et al, 1986) auch für *P. discolor* vollständig nutzen zu können, musste eine Schädelkonturlinie und ein vorläufiger Gehirnatlas erstellt werden.

Bei einem in 4 % Paraformaldehyd fixierten Tier wurde die Schädeloberfläche freipräpariert und vollständig von Gewebe gesäubert. Anschließend wurde der Schädel in einer stereotaktischen Apparatur befestigt und die Schädeloberfläche mit einer dünnen Metallsonde 250  $\mu\text{m}$  lateral vom Schädelkamm vom rostralen Augenbereich bis zum caudalen Hinterhauptsabfall in 250  $\mu\text{m}$ -Schritten abgetastet (Schuller et al, 1986).

Danach wurden an vier, über die rostro-caudale Länge verteilten Stellen mit einem Miniaturbohrer 250  $\mu\text{m}$  große Löcher in den Schädel gebohrt und das darunter liegende Gewebe mittels in Farbstoff (pontamine sky blue, Hopkins & Williams, Essex, England) getränkten Sonden angefärbt. Nach dieser Prozedur wurde das Gehirn vollständig freipräpariert und für die anatomische Aufarbeitung in einer definierten Position (im folgenden als Normposition bezeichnet) eingebettet, die für alle weiteren Versuchstiere in dieser Form beibehalten wurde.

Das Gehirn wurde mit einem Gefrierschnittmikrotom geschnitten (42  $\mu\text{m}$  Schnittdicke) und zwei Schnittserien angefertigt (siehe Punkt 3.5). Bei der folgenden anatomischen Untersuchung der Schnittserien konnte anhand der gefärbten Stichkanäle und Eintrittsöffnungen der Sonden die Lage des Gehirns mit der Schädeloberfläche bzw. der gemessenen Schädelkonturlinie in Übereinstim-

mung gebracht werden. Den Schädelkonturen der folgenden Versuchstiere konnten durch Überlagerung mit dieser „Standard“-Schädelkontur die beiden Schnittserien zugeordnet werden. Diese dienten als vorläufiger Gehirnatlas zur Planung und experimentellen Durchführung.

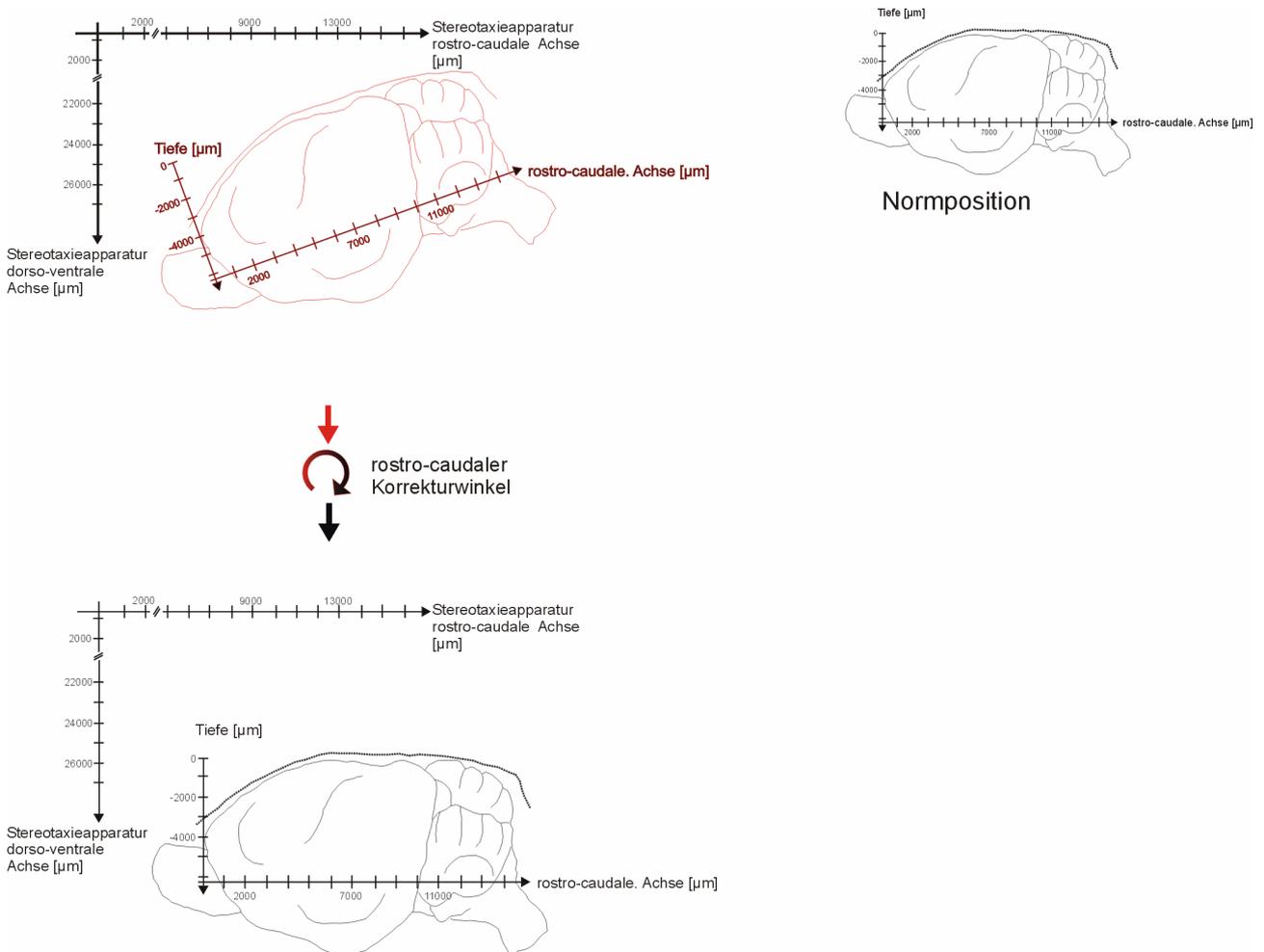
### 3.2.2 Präparation und stereotaktische Methode

Zur Präparation wurde das einzelne Versuchstier in eine dafür angepasste Halteform (Eigenkonstruktion) gesetzt und der Kopf über einen ebenfalls angepassten Maulhalter (Eigenkonstruktion) in natürlicher Stellung zum Körper fixiert. Zur Narkose wurde Halothan (ASID, Böblingen, Deutschland) oder Isofluran (Curamed, Karlsruhe, Deutschland) über eigens dafür vorgesehene Vaporisatoren (Halothan: Vapor 19.3; Drägerwerk, Lübeck, Deutschland und Isofluran: HNG 6; H. Hölzel GmbH, Wörth/Hörlkofen, Deutschland) zusammen mit Raumluft als Gasgemisch appliziert. Die Kopfhaut des Tieres wurde mit einem Medianschnitt in rostro-caudaler Längsrichtung eröffnet (Augenlinie bis Hinterhauptsabfall). Die darunter liegende Muskulatur wurde zur Seite präpariert und mit Gelatineschwämmchen (Gelastyp, Aventis Pharma GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) in dieser Position fixiert. Etwaige auftretende kleinere Blutungen wurden mit AlCl (Orbat, Lege Artis Pharma GmbH u. Co KG, Dettenhausen, Deutschland) gestoppt. Der so freigelegte Schädelknochen wurde von Geweberesten gesäubert, angeätzt (Esticid, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) und ein Haltestift aus Metall mit Mehrkomponentenmaterialien aus der Zahnheilkunde (Denthesive, Charisma; Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) auf den Knochen aufgeklebt. Die gesamte Präparation wurde unter dem Binokular durchgeführt.

Nach einer Ruhepause von 24 h wurde das Tier in der Halteform an der Stereotaxie-Apparatur befestigt und der Kopf mittels des Haltestiftes in rostro-caudaler Längsrichtung fixiert.

Mit einer auf einen Referenzpunkt an der Stereotaxie-Apparatur ausgerichteten Metallsonde wurde die Schädelkonturlinie des Versuchstieres in rostro-caudaler Richtung, wie unter Punkt 3.2.1 beschrieben, abgetastet. Die erhaltene Schädelkontur in rostro-caudaler Richtung wurde mit der oben beschriebenen „Standard“-Schädelkontur in Übereinstimmung gebracht. Die Ausgangsposition des Tieres im Versuch wurde so eingestellt, dass das Gehirn in der Normposition ausgerichtet war. Zeigte es sich, dass die aktuelle Ausrichtung des Schädels bzw. der Schädelkontur (bestimmt durch das Aufsetzen des Halters) und damit des Gehirns bezüglich zur Normposition nach unten oder oben verschoben war, wurde sie mit dem sich aus der Verschiebung ergebenden Drehwinkel wieder auf die Normposition korrigiert. Brachte die folgende Abtastung nach lateral vom Schädelkamm zu beiden Seiten ungleiche Werte, d.h. war eine medio-laterale Drehung vorhanden, wurde diese eben-

falls mit dem sich aus dieser Verschiebung ergebenden Drehwinkel korrigiert. Die Vorgehensweise der Anpassung wird in Abbildung 3-1 am Beispiel einer rostro-caudalen Verschiebung nochmals im Überblick erläutert.



**Abbildung 3-1: Methode der Stereotaxie nach Schuller et al. (1986)**

Die Schädelkontur mit dem darunter liegenden Gehirn im oberen Teil der Abbildung (rot gezeichnet) hat gegenüber der „Standard“-Schädelkontur und dem Gehirn in Normposition (rechts: schwarz gezeichnet) einen rostro-caudalen Verschiebungswinkel. Zur Korrektur wird dieser Verschiebungswinkel berechnet (siehe Bildmitte) und über die Stereotaxieapparatur die Haltung des Tieres in diesem Winkel verändert, so dass die neue Lage des Tieres dem der Normposition entspricht. Das oberhalb der jeweiligen Kontur angegebene Koordinatensystem repräsentiert die Stereotaxieapparatur, in der das Tier abgetastet wurde.

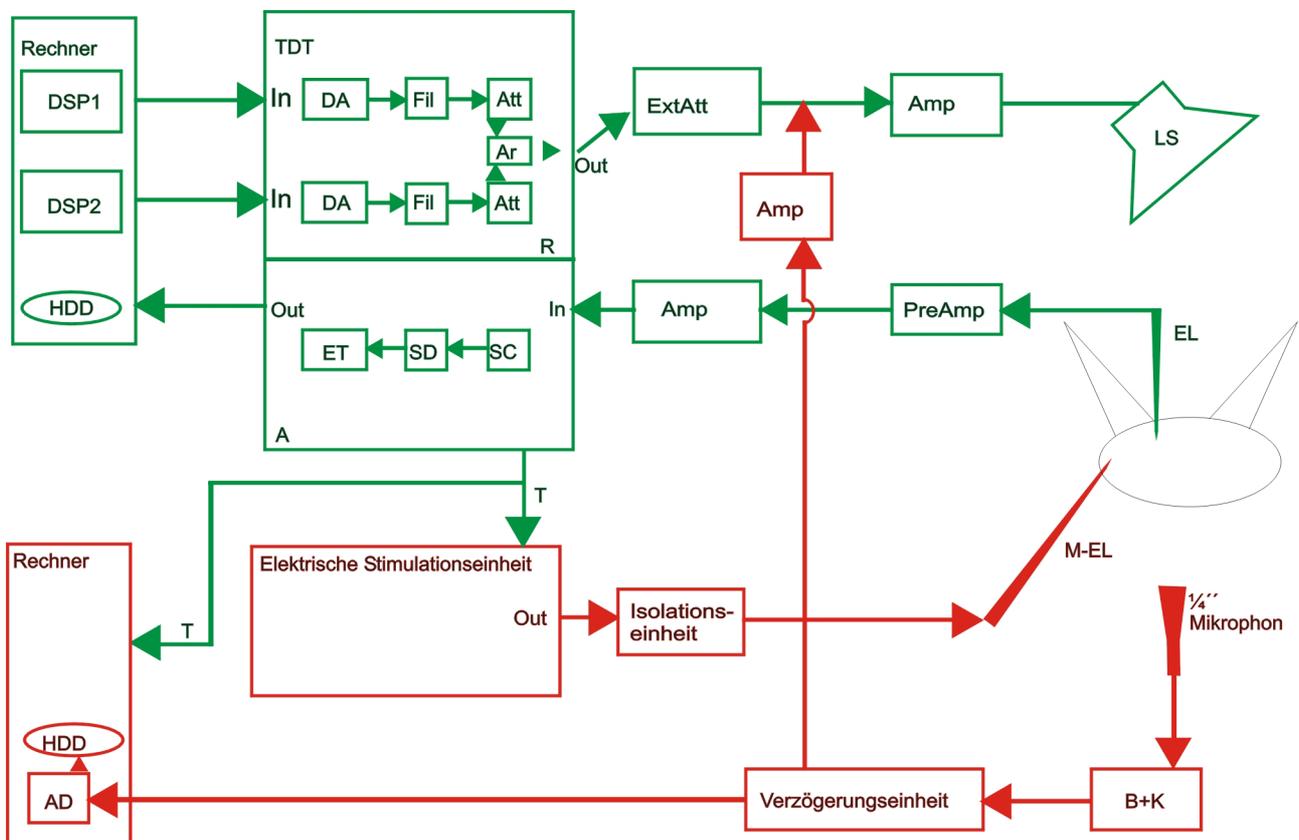
Am ersten Versuchstag wurde, basierend auf dem vorläufigen Gehirnatlas, in den Schädelknochen des Versuchstieres ein 300 x 300 µm großes Loch gebohrt und die darunter liegende Gehirnhaut mit einem dünnen, eigens dafür angespitzten Silberdraht angeritzt und zur Seite geschoben. Je nach Bedarf wurden noch ein bis zwei weitere Öffnungen im Laufe des Experiments in den Schädelknochen gebohrt.

### 3.3 Experimente

#### 3.3.1 Versuchsbedingungen

Alle Experimente wurden am wachen Tier durchgeführt. Die Tiere befanden sich nicht länger als 4–5 Stunden täglich im Versuch. Um die Tiere nicht zu betäuben, jedoch aber während des Versuches ruhig zu stellen, wurde ein Beruhigungsmittel (Rompun<sup>®</sup> / isotonische NaCl-Lsg; 0.1 ml Rompun auf 4.9 ml isotonische NaCl-Lsg; 0.1 ml / 10g Körpergewicht) gespritzt.

#### 3.3.2 Versuchsaufbau



**Abbildung 3-2: Vereinfachtes Blockschaltbild des Versuchsaufbaus**

Teile des Versuchsaufbaus die zur elektrischen Mikrostimulation verwendet wurden sind rot gekennzeichnet, Teile die zu elektrophysiologischen Ableitungen verwendet wurden sind grün gekennzeichnet.

**TDT (R):** TDT-Module für die Reizgebungsseite; **TDT (A):** TDT-Module für die Aufnahmeseite;  
 $\frac{1}{4}$  :  $\frac{1}{4}$  '' Ultraschallmikrophon; **AD:** Analog-Digital-Wandler; **Amp:** Verstärker; **AmpDel:** Verstärker für Delayussignal **Att:** programmierbarer Abschwächer; **Ar:** Signaladdierer; **DA:** Digital-Analog-Wandler; **DSP** (1 & 2): Digitale Signalverarbeitungsboards; **EL:** Elektrode; **ET:** Event Timer **ExtAtt:** externer (manuell bedienbarer) Abschwächer; **Fil:** Filter; **LS:** Lautsprecher; **M\_EL:** Mikrostimulationselektrode; **PreAmp:** Ableitvorverstärker; **SD:** Schwellendiskriminator; **SC:** Spikeconditioner; **HDD:** Festplatte; **T:** Trigger;

Abbildung 3-2 zeigt schematisiert die Versuchsanordnungen zur elektrischen Mikrostimulation (rot), zur akustischen Reizgebung und elektrophysiologischen Ableitung (grün) und zur elektrischen Reizgebung mit gleichzeitiger elektrophysiologischer Ableitung (Kombination rot, grün) im Gesamtüberblick.

### 3.3.2.1. Elektrische Mikrostimulation

Die elektrischen Reize wurden in einem Reizgenerator (S48, Grass Instruments, Quincy, USA) erzeugt und über eine Isolationseinheit (PSIU 6, Grass Instruments, Quincy, USA) mit negativer Polarität an die Reizelektrode (Parylene beschichtete Wolframelektrode, Spitzendurchmesser 2–3  $\mu\text{m}$ ,  $\sim 2$  MOhm Widerstand, Micro Probe Inc.; Potomoc, USA) weitergegeben. Die Reize bestanden aus einer Folge von Rechteckpulsen von 100  $\mu\text{s}$  Dauer. Die Pulse wurden zu Pulsfolgen von 15ms Dauer bei einer Frequenz von 1 kHz zusammengefasst. Die Wiederholraten der Pulsfolgen lagen zwischen 2 und 10 Hz. Die Stimulationsstromstärken lagen zwischen 10–80  $\mu\text{A}$ .

Zur Aufnahme der ausgelösten Vokalisationen wurde ein 1/4-inch Kondensormikrophon (Typ 4135, Brüel und Kjaer; Naerum, Dänemark) verwendet. Die über das Mikrophon aufgenommenen Vokalisationen wurden verstärkt (Typ 2160, Brüel und Kjaer; Naerum, Dänemark) und durch einen Analog-Digital-Wandler (CIO-DAS M1, Plug in, Eichenau, Deutschland) im Rechner über ein selbstgeschriebenes Programm mit einer Abtastrate von 250 kHz aufgezeichnet und gespeichert. Zur optischen Kontrolle diente ein Oszilloskop (V302B, Hitachi; Rodgau, Deutschland).

Das Abtasten der prätektalen Region erfolgte vom Penetrationspunkt aus in Winkelintervallen von  $2^\circ$  fächerartig in rostro-caudaler und medio-lateraler Richtung. Konnten an einem Ort Vokalisationen ausgelöst werden, wurden die Auslöseschwellen protokolliert. Zusätzlich wurden über eine CCD-Kamera (Dr. Seitner Datentechnik, Seefeld, Deutschland) und einen Monitor (TC 800 E4D, Panasonic, Osaka, Japan) weitere die Vokalisationen begleitende Körperreaktionen des Tieres während der Stimulation beobachtet und mitprotokolliert.

### 3.3.2.2 Akustische Reizgebung und elektrophysiologische Ableitungen

Die digitale Form der akustischen Reize wurden am Computer generiert (Eigenentwicklung Spike 6.1; D. Molter und B. Warren) und über Lichtleiterkabel an einen Digital-Analog-Wandler übergeben, gefiltert und abgeschwächt (DA 3-2, DA 3-4, FT 6-2, PA 4; \*Tucker Davies Technologies, Gainesville, USA). Das Signal konnte danach bei Bedarf nochmals manuell abgeschwächt werden (Attenuator 350C/D; Hewlett Packard, Loveland, USA) und wurde über einen Endverstärker (Po-

wer Amplifier Type 2610; Brüel und Kjaer; Naerum, Dänemark) an den Lautsprecher (Polaroid Transducer 8665, Messring, Gräfelfing, Deutschland) übergeben.

Der Frequenzgang des Lautsprechers zeigte zwischen 30 und 100 kHz eine flache Kennlinie innerhalb von  $\pm 5$  dB und war kontralateral zur Penetration in 20 cm Entfernung zum Tier positioniert. Alle Experimente wurden in einer echoarmen Kammer durchgeführt.

Die Antworten prätektaler Neuronen wurden extrazellulär mittels Glaselektroden abgeleitet. Die Elektroden, mit 2 M NaCl-Lösung und 2% pontamine sky blue (Hopkins & Williams, Essex, England) gefüllt, hatten einen Spitzendurchmesser von 2–5  $\mu\text{m}$  und zwischen 3–5 M $\Omega$  Impedanz (bei 1kHz). Direkt nachgeschaltet war ein Ableitvorverstärker (Electro 705; WPI, Berlin, Deutschland), der außerdem den Ausgleich durch die Elektrodenkonfiguration entstehender störender Kapazitäten ermöglichte. Nach nochmaliger Verstärkung (PM 5171; Phillips, Hamburg, Deutschland) wurde das Signal bandpass-gefiltert (PC1\*, Eckfrequenzen 700–4000 Hz). Im nachfolgenden Schwellendiskriminator (SD1\*) konnten Spannungsschwellen festgelegt werden, bei denen Aktionspotentiale (Spikes), die diese Schwelle erreichten, einen zeitlich korrelierten TTL-Puls (Transistor-Transistor-Logik) auslösten. Das zeitliche Auftreten der Pulse und somit der Spikes wurde über den Event Timer (ET1\*) festgehalten und als Dot-Raster-Diagramm gespeichert (über Spike 6.1; D. Molter und B. Warren).

### 3.3.2.3 Elektrische Reizgebung und elektrophysiologische Ableitungen

Zur elektrophysiologischen Ableitung während der Vokalisation musste das Tier zum Vokalisieren gebracht werden. Durch die Kombination der beiden Versuchsanordnungen konnten elektrische Mikrostimulation mit elektrophysiologischer Ableitung vereint werden. Der Trigger des Ableitbaus steuerte den Stimulator an und ermöglichte eine genaue zeitliche Korrelation zwischen der durch den elektrischen Reiz ausgelösten Vokalisation und der gleichzeitig laufenden Ableitnahme. Die ausgelösten Vokalisationen wurden parallel dazu über ein selbstgeschriebenes Programm an einem zweiten Rechner aufgezeichnet.

Zusätzlich konnte eine analoge Verzögerungseinheit (Delayius, GAP-Soft, Uffing, Deutschland) dazwischengeschaltet werden, um die Eigenvokalisationen des Tieres als akustische Reize zurückspielen zu können. Dazu wurde die ausgelöste Vokalisation parallel zur Aufnahme in die Verzögerungseinheit gespielt, danach verstärkt (TCE 7606, Toellner, Herdecke, Deutschland) und über den Endverstärker an den Lautsprecher geleitet.

### 3.3.2.4 Pharmakologische Stimulation

Zur pharmakologischen Stimulation wurde der Glutamat-Agonist Kaininsäure (144pM in 0,9 % NaCl-Lösung) verwendet. Die Lösung wurde in eine Mikrospritze gefüllt (1002 TLL 2.5ml; Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz) und über eine Spritzenpumpe (Univentor 801, TSE Systems, Bad Homburg, Deutschland) mit einer Fußrate von 1.2 µl / min durch die ins Gehirn eingeführte Mikrodialyseprobe (Type MAB4.15.1CA; Microbiotech, Schweden) gespült. Die durch die Mikrodialyse ausgelösten Vokalisationen und Körperreaktionen wurden am Oszilloskop und am Monitor überwacht und die Vokalisationen in Abständen von einer Minute aufgezeichnet.

### 3.3.2.5 Akustische Reize und Vorgehensweise

#### 3.3.2.5.1 Akustische Reize

Als akustische Reize wurden Reintöne (RT; 30–99 kHz; 2–12 ms Dauer), abwärts frequenzmodulierte Reize (FM; Mittenfrequenzen 35–85 kHz, 20–30 kHz Frequenzhub, 2-18 ms Dauer) und aufgenommene Eigenvokalisationen des Tieres (in der AP elektrisch ausgelöst, ca. 1 ms Dauer) verwendet. Alle Reize hatten eine An- und Abstiegs-Flanke von 0,5 ms, lediglich Eigenvokalisationen hatten aufgrund ihrer kurzen Dauer eine An- und Abstiegsflanke von 0,2 ms. Standardmäßig wurden alle akustischen Reize bei 95 dB SPL (gemessen an Position des Tieres in 20 cm Entfernung zum Lautsprecher) und 10 ms nach Beginn der Aufnahme präsentiert.

Die Intensität der akustischen Reize wurden nur bei der Aufzeichnung von Abstimmkurven bzw. der Ermittlung der besten Frequenz (bF) eines Neurons verändert. Alle Reize wurden pro Aufnahme 10 mal wiederholt. Aufgenommene Eigenvokalisationen bildeten mit 50–100 Wiederholungen pro Aufnahme eine Ausnahme, da sie als Suchstimulus verwendet wurden.

#### 3.3.2.5.2 Versuchsdurchführung

Konnte im Versuch ein akustisch treibbares Neuron lokalisiert werden, wurde dieses über den Schwellendiskriminator (SD1) isoliert und mit Eigenvokalisationen, Reintönen und abwärts frequenzmodulierten Reizen getestet. Bis auf die aufgenommenen Eigenvokalisationen hatten die akustischen Reize eine feste Dauer von 5 ms. Anhand der Dot-Raster-Aufnahmen wurden visuell der Reinton und der abwärts frequenzmodulierte Reiz bestimmt (stärkster Reinton (sRT), stärkster abwärts frequenzmodulierter Reiz (sFM)), der jeweils die stärkste neuronale Antwort hervorrief. Diese beiden Reize wurden dem Tier in verschiedener Dauer präsentiert (sRT: 2 – 12 ms Dauer; sFM: 2 – 18 ms Dauer mit festem Frequenzhub). Zusätzlich wurde dem Tier der sFM als Doppel-

reiz mit variablem Interstimulusintervall vorgespielt. Dazu wurde der sFM auf dem 2. Kanal der Reizapparatur mit unterschiedlichen Interstimulusintervallen (1 – 21 ms) 10 dB abgeschwächt generiert und über einen Signaladdierer mit dem 1. Puls auf Kanal 1 zu einem Doppelreiz kombiniert.

Über die, durch elektrische Mikrostimulation im Übergangsbereich von Colliculus inferior und paralemniskaler Zone ausgelösten Vokalisationen und gleichzeitiger Ableitung in der prätektalen Region wurden mögliche vokalaktive Neuronen untersucht. Wenn vokalaktive Neuronen charakterisiert waren und gehalten werden konnten, wurden noch ihre möglichen akustischen Eigenschaften in oben beschriebener Weise untersucht.

### 3.4 Begleitende Tracer-Studien

Zur Untersuchung der Verschaltung der prätektalen Region mit anderen Gehirnstrukturen wurde mit Meerrettich-Peroxidase markiertes Weizenkeim-Agglutinin (WGA-HRP, L 3892; Sigma, Taufkirchen, Deutschland) injiziert. WGA-HRP wurde in isotonischer NaCl-Lösung (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) als 2 % Lösung hergestellt. Die WGA-HRP Lösung wurde iontophoretisch über eine Glaskapillare mit 20 µm Durchmesser mit einer Stromstärke von + 0.8 µA und 15 min Dauer appliziert.

### 3.5 Perfusion und histologische Aufarbeitung

Nach Beendigung des Experiments wurden die Tiere mit Barbitol lethal narkotisiert und intrakardial perfundiert. Zum Spülen wurde eine physiologische Kochsalzlösung (incl. 0.1 ml Liquimin zur Verhinderung der Blutgerinnung) 5 min mit einer Flussrate von 4 ml /min in das Kreislaufsystem gebracht. Anschließend folgte für 30–40 min eine Fixierlösung. Diese richtete sich nach experimentellen Gegebenheiten. Bei einer WGA-HRP Injektion enthielt die Fixierlösung neben Paraformaldehyd (1 %) noch Glutaraldehyd (1.25 %). Ohne Tracerinjektion bestand die Fixierlösung allein aus einer Paraformaldehydlösung (4 %). Nach der Fixierlösung wurde zur Kryoprotektion mit 5 und 10 % Saccharoselösung gespült und das Gehirn danach freipräpariert.

Nach der Präparation wurde das Gehirn zur Kryoprotektion über mehrere Stunden in eine 20 % Saccharoselösung gegeben und danach über Nacht in einer 30 % Saccharoselösung gelagert. Nach dieser Prozedur wurde es eingebettet (siehe auch Punkt 3.2.1) und histologisch aufgearbeitet.

WGA-HRP markierte Gehirne wurden in drei parallele Serien (42 µm Schnittdicke) aufgearbeitet. Eine Schnittserie wurde nach der Paratungstate-Methode (Llewellyn et al, 1993), die zweite nach

der TMB-Methode (Tetra-methyl-benzidin; Mesulam et al., 1979) und die dritte nach der DAB-Methode (3'-3' Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid; Adams, 1977) aufgearbeitet. Die Paratungstate-Serie wurde Nissl gegengefärbt, die DAB-Serie nach der Cytochrom-C-Methode (Wong-Riley, 1979) weiterverarbeitet. Die TMB-Serie wurde nicht gegengefärbt. Nicht WGA-HRP markierte Gehirne wurden in zwei parallele Serien (42µm Schnittdicke) aufgearbeitet und eine Nissl- und eine Gallyas-Färbung (Faserfärbung) angefertigt.

### 3.6 Auswertung

#### 3.6.1 Verifizierung der Stimulations- und Ableitpunkte

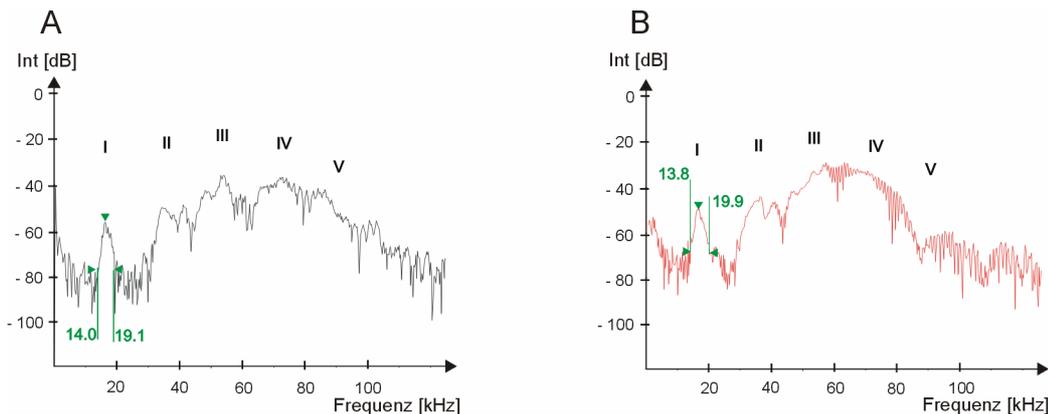
Bei jedem Versuchstier wurde eine elektrische Läsion gesetzt. Dazu wurde über die Stimulationselektrode ein Gleichstrom von  $-2.5 \mu\text{A}$  über 3 min. appliziert (S48, Grass Instruments, Quincy, USA). Danach wurde die Elektrode mit einer Geschwindigkeit von  $200 \mu\text{m} / 10 \text{ s}$  aus dem Gewebe gezogen, wobei weiter Strom appliziert wurde. Daraus resultierte eine unter dem Mikroskop gut sichtbare Vernarbung des Gewebes. Nach der histologischen Aufarbeitung des jeweiligen Versuchstieres wurde die Schnittserie im Bereich der prätektalen Region per CCD-Kamera eingeleitet (DMC; Polaroid; Offenbach, Deutschland) und die Bilder in ein maßstabsgetreues Koordinatensystem gebracht. Anhand der internen Markierung bzw. Gewebevernarbung (Läsion) wurden alle eingestellten Winkel und gefahrenen Elektrodenstrecken softwaregestützt (Eigenentwicklung) berechnet und die Orte in die jeweiligen Schnittaufnahmen eingetragen und abgespeichert.

Die Aufnahmen des prätektalen Bereichs jeder Schnittserie wurden mit den Aufnahmen des Standardatlas verglichen und anhand der vorhandenen Mittel- / Zwischenhirnstrukturen in Übereinstimmung gebracht. Die so auf den Standardatlas übertragenen Stimulations- bzw. Ableitpunkte aller herangezogenen Versuchstiere wurden auf repräsentative Schnitte zusammengefasst.

#### 3.6.2 Auswertung der ausgelösten Vokalisationen

Zur Analyse und Charakterisierung von elektrisch und pharmakologisch ausgelösten Vokalisationen sowie von spontanen Vokalisationen wurde die 1. Harmonische oder Grundfrequenz herangezogen, da die 2. bis 4. Harmonische der multiharmonischen Laute durchweg schwer zu differenzieren war. Abbildung 3-3 zeigt die Fourierspektren einer typischen elektrisch ausgelösten (schwarz) und einer spontanen Vokalisation (rot). Als Kriterium zur Auswertbarkeit wurde festgelegt, dass die Amplitudenspitze mindestens einen Abstand von 20 dB überhalb des Rauschens aufweisen musste. Von

der Intensitätsspitze (siehe Markierung) ausgehend wurde dementsprechend jeweils 20 dB unterhalb die Start- und Endfrequenz gemessen (siehe weitere Markierungen). Vokalisationen, die dieses Kriterium nicht erfüllten wurden nicht in die spektrale Auswertung miteinbezogen. Aus den gemessenen Grundfrequenzen wurden folgend die Frequenzbereiche der energiereichen 3. und 4. Harmonischen errechnet.



### Abbildung 3-3: Spektrale Zusammensetzung einer ausgelösten Vokalisation

Powerspektrum einer in der prätektalen Region durch elektrische Mikrostimulation ( $25 \mu\text{A}$ ) ausgelösten Vokalisation (A) im Vergleich mit dem Powerspektrum einer spontan emittierten Vokalisation (B). Auf der Ordinate ist die relative Intensität in dB SPL aufgetragen, auf der Abszisse ist die Frequenz in kHz aufgetragen. Die spontane Vokalisation war gegenüber der ausgelösten Vokalisation in ihrer relativen Intensität etwas erhöht. Beide Vokalisationen sind aus vier identifizierbaren Harmonischen aufgebaut, wobei bei der elektrisch ausgelösten Vokalisation noch eine 5. Harmonische erkennbar ist.

Die vier bzw. fünf Harmonischen sind mit römischen Ziffern gekennzeichnet. Der Peak der 1. Harmonischen, die zur Auswertung herangezogen wurde, ist markiert sowie die beiden flankierenden Start- und Endfrequenzen 20dB unterhalb der relativen Spitzenintensität.

### 3.6.3 Auswertung Elektrophysiologie

Aus den vorhandenen Dot-Raster-Diagrammen wurden softwaregestützt (Eigenentwicklung: D. Molter & B. Warren) Peri-Stimulus-Zeit-Histogramme (PSTH) berechnet. Hierbei wurden die Aktionspotentiale oder Spikes, die in gleichen Abständen nach Beginn jeweils identischer Reize auftraten in vorgegebenen Zeitintervallen (Bins) aufsummiert. Bei Neuronen mit phasischem Antwortmuster wurde eine Binbreite von 1 ms gewählt, während bei Neuronen bzw. Neuronengruppen mit tonischem Antwortmuster eine Binbreite von 2 – 5 ms gesetzt wurde. Die über alle Reizpräsentationen aufsummierten Spikezahlen pro Binbreite wurden ermittelt. Zur Klärung der Präferenz für eine der beiden Reizklassen (Reintöne und abwärts frequenzmodulierte Reize) wurden die Bins mit den maximalen Antworten des Neurons auf eine Folge von akustischen Reizen der jeweiligen Reizklasse ermittelt und untereinander verglichen.

Im speziellen Fall der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen waren zwei zeitlich verzögerte maximale Antworten des Neurons charakterisierbar, die dann als Maximalantwort der 1. und 2. Aktivität gewertet wurden. Zur Analyse der Selektivität prätektaler Neuronen auf bestimmte Reizdauern wurden Zeitfenster fester Größe und festen Anfangspunktes gesetzt (Pinheiro et al 1991, Ehrlich et al 1997; Galazyuk & Feng, 1997 und Fuzessery & Hall, 1999). Bei Neuronen mit phasischem und „doppelt-phasischem“ Antwortmuster wurde ein 10 ms langes Zeitfenster 2 ms vor Beginn des akustischen Reizes gesetzt. Speziell bei „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen wurde zur Analyse der 2. Aktivität ein zweites 10 ms langes Zeitfenster direkt an das erste Zeitfenster angeschlossen. Die beiden aufeinander folgenden Zeitfenster überlappten sich nie und beide Aktivitäten „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen konnten getrennt analysiert werden. Bei Neuronen bzw. Neuronengruppen mit tonischem Antwortmuster wurden Zeitfenster von 60 ms ab Beginn des akustischen Reizes gesetzt. Die in den Zeitfenstern über die Reizpräsentationen aufsummierten Spikezahlen pro Reizdauer wurden bestimmt und zur Analyse gegen die Reizdauer aufgetragen. Die Latenz einer neuronalen Antwort wurde als die Zeit vom Beginn des akustischen Reizes bis zum Zeitpunkt der ersten Überschreitung der Spontanaktivität bestimmt (First-spike-latency). Die Spontanaktivität, wenn vorhanden, wurde bei allen Analysen von der Aktivität abgezogen.

### 3.7 Statistische Analyse

Zur Analyse der aus den PSTH's gemessenen maximalen Antworten auf die jeweilige Folge von Reintönen und abwärts frequenzmodulierten Reizen innerhalb der einzelnen Neuronen oder Neuronengruppen wurde der Wilcoxon-Test (nicht parametrischer Test für zwei verbundene Stichproben) verwendet. Damit sollte eine mögliche signifikante Präferenz eines Neurons oder einer Neuronengruppen auf einen der beiden akustischen Reize gezeigt werden.

Zur Analyse unterschiedlicher Neuronenpopulationen (Frequenzverteilung innerhalb der prätektalen Region) wurde der Mann-Whitney-U-Test (nicht parametrischer Test für zwei unabhängige Stichproben) verwendet. Zur vergleichenden Analyse der ausgelösten Vokalisationen der herangezogenen Versuchstiere mit spontanen Vokalisationen eines sich frei verhaltenden Tieres wurde ebenfalls der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Bei beiden Tests ergab sich eine Signifikanz bei einem p-Wert  $< 0.05$ .

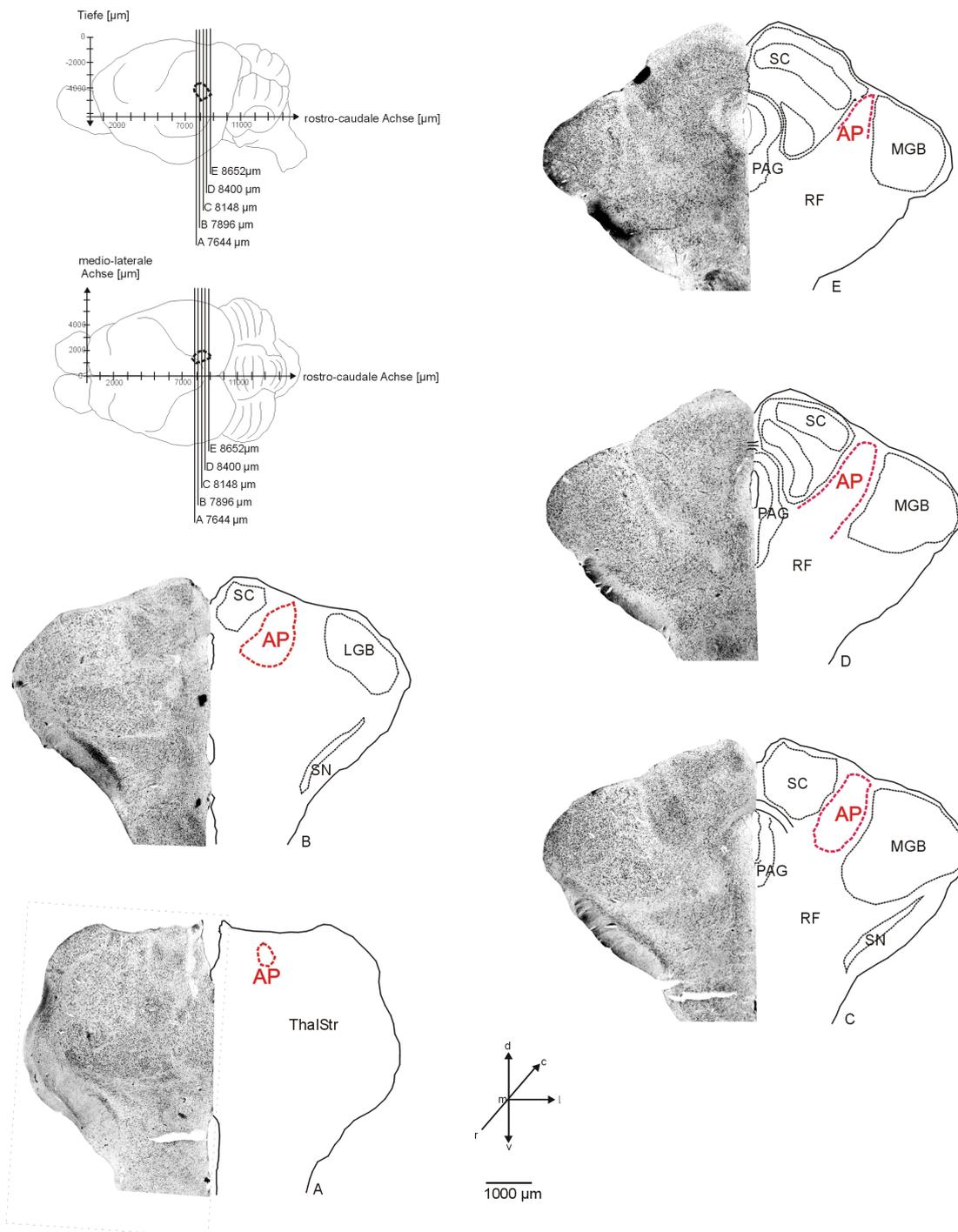
## 4 Ergebnisse

### 4.1 Lokalisation der prätektalen Region

Untersuchungen zur Lokalisation und Anatomie der prätektalen Region (im folgenden nur als AP bezeichnet) basieren auf Daten von 13 Versuchstieren. Die AP konnte in den mit unterschiedlichen Methoden (siehe Kapitel 3, Punkt 3.5) aufgearbeiteten Gehirnen als ein uniformes, vom größten Teil der angrenzenden Strukturen gut abzutrennendes Gebiet charakterisiert werden. Es war in der vorliegenden Arbeit aber nicht möglich die AP von *P. discolor*, wie in der Literatur beschrieben in ihre verschiedenen Unterkerne zu differenzieren (Scalia & Arango 1979; Avendano & Juretschke, 1980).

Die AP ist am Übergang von Mes- zu Diencephalon lokalisiert und ihre Ausdehnung in rostro-caudaler (r/c) Richtung beträgt bei *P. discolor* im Mittel ca. 1000  $\mu\text{m}$  (r/c: 7600  $\mu\text{m}$  bis 8652  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten). An der breitesten Stelle dehnt sie sich medio-lateral ca. 1100  $\mu\text{m}$  (r/c: zwischen 8148  $\mu\text{m}$  und 8400  $\mu\text{m}$ ) und in dorso-ventraler Richtung ca. 1400  $\mu\text{m}$  (r/c: zwischen 8316  $\mu\text{m}$  und 8400  $\mu\text{m}$ ) aus. Abbildung 4-1 zeigt 5 Gehirnschnitte (A-E) aus dem Bereich der AP von *P. discolor*. Im rostralsten Bereich (7642  $\mu\text{m}$ , Schnitt A) stellt die AP nur eine kleine Struktur dar, die medial, lateral und ventral von verschiedenen, im Rahmen dieser Arbeit nicht näher differenzierten thalamischen Kernen begrenzt wird. Der dorsale Anfang der AP in diesem Bereich liegt bei einer Tiefe von ca. 3600  $\mu\text{m}$  fast direkt unter dem Zwischenhirndach. Ventral schließen thalamische Kerne bei einer Tiefe von ca. 4100  $\mu\text{m}$  an die AP an. Im beginnenden rostro-medianen (7896  $\mu\text{m}$ , Schnitt B) und medianen Bereich (8148  $\mu\text{m}$ , Schnitt C) schiebt sich dorso-medial der Colliculus superior (SC) zwischen AP und periaqueduktales Grau (PAG) und drängt die AP immer mehr nach lateral. Dort begrenzt der laterale (LGB), bzw. mehr caudal der mediale Kniehöcker (MGB) die AP. Ventral schließt die retikuläre Formation (RF) die AP ab. Die dorsale Grenze der AP liegt bei ca. 3700 – 3900  $\mu\text{m}$ , während sich die ventrale Grenze in ca. 4500 – 4800  $\mu\text{m}$  Tiefe befindet.

Im folgenden median-caudalen (8400  $\mu\text{m}$ , Schnitt D) bzw. caudalen (8652  $\mu\text{m}$ , Schnitt E) Bereich erreicht die laterale Verdrängung der AP durch den SC ihr größtes Ausmaß. Gleichzeitig verliert die AP selbst an Größe (siehe Verlauf AP von Schnitt D und E) und ist im caudalen Bereich (Schnitt E) nur mehr ein kleiner Streifen von ca. 300  $\mu\text{m}$  medio-lateraler und 700  $\mu\text{m}$  dorso-ventraler Ausdehnung. Die dorsale und ventrale Tiefenlage in diesem Teil bleibt weitgehend dieselbe wie bei davor liegenden Teilen. Während die AP im vorderen Bereich (Schnitt A-C) von allen angrenzenden



#### Abbildung 4-1: Lokalisation der prätektalen Region bei *Phyllostomus discolor*

Serie von fünf Frontalschnitten durch die prätektale Region (AP). Der gezeigte Bereich erstreckt sich vom rostralen Anfang der AP bis zu deren caudalem Ende (7644 µm - 8652 µm in Atlaskoordinaten). In der Übersichtsdarstellung oben links ist die rostro-caudale, dorso-ventrale (als Tiefe bezeichnet; auch für folgende Übersichtsdarstellungen) und medio-laterale Ausdehnung der AP im Gehirn von *P. discolor* dargestellt. Die AP kann in den Nissl-gefärbten Schnitten in den rostralen bis mittleren Anteilen (Schnitte A-C) gut von angrenzenden Strukturen abgetrennt werden. In den caudalen Teilen (Schnitte D und E) fällt die Grenzung zur retikularen Formation schwer.

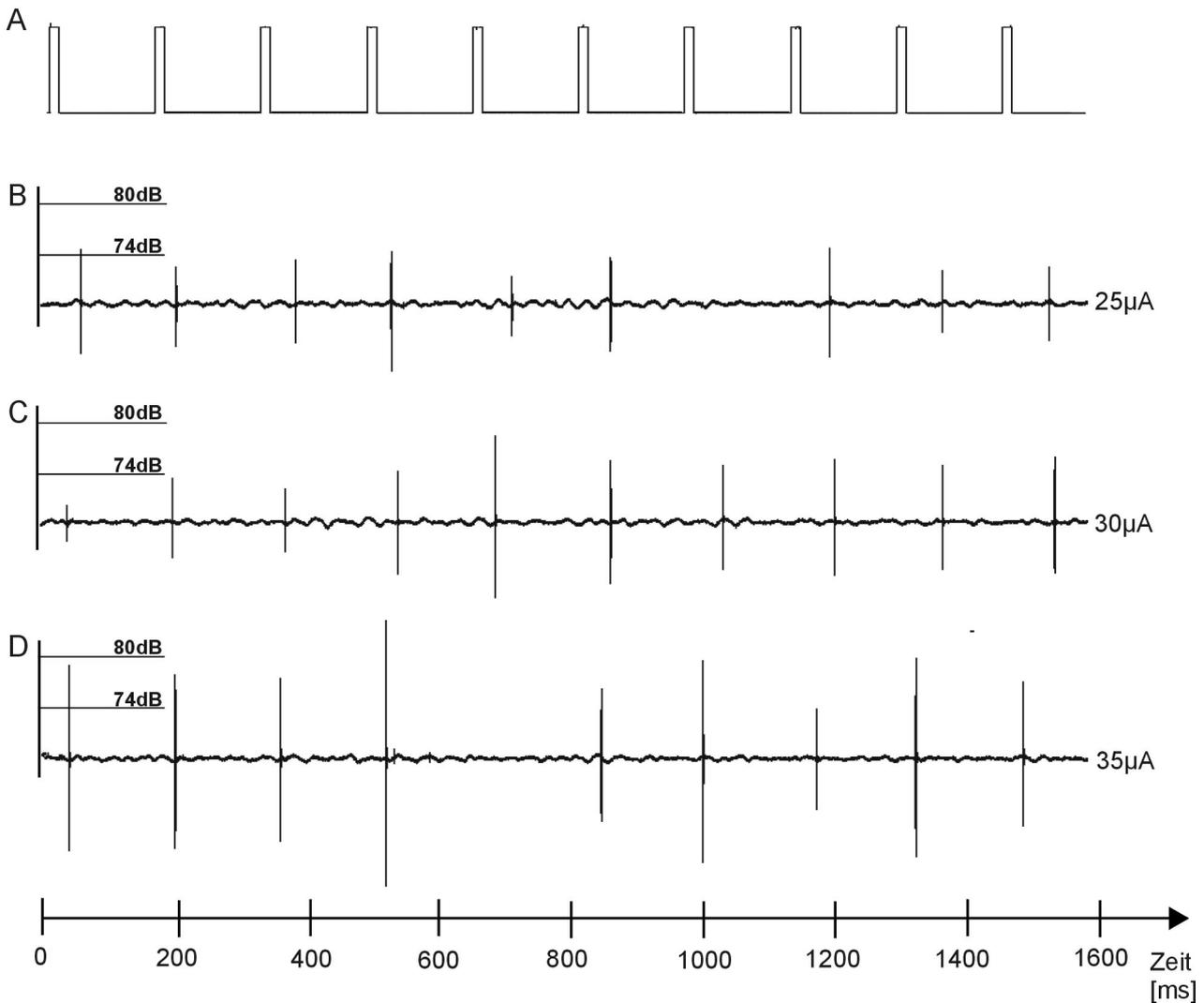
**AP:** prätektale Region; **LGB:** lateraler Kniehöcker; **MGB:** medialer Kniehöcker; **PAG:** periaqueduktales Grau; **RF:** retikuläre Formation; **SC:** Colliculus superior; **SN:** Substantia nigra; **ThalStr.:** nicht näher identifizierte thalamische Strukturen

Strukturen gut abgetrennt werden konnte, war im caudalen Bereich (Schnitt D, E) eine genaue Abgrenzung zur RF zuweilen schwierig.

## 4.2 Stimulationsexperimente in der prätektalen Region

### 4.2.1 Elektrische Mikrostimulation

Die Daten zur elektrischen Mikrostimulation in der AP stammen von fünf Versuchstieren. Es konnte ein Bereich innerhalb der AP charakterisiert werden, in dem Vokalisationen durch elektrische Mikrostimulation auslösbar waren. Abbildung 4-2 zeigt ein für diesen Bereich der AP typisches Ergebnis der elektrischen Mikrostimulation. Spur A zeigt den Verlauf der elektrischen Reize als 10 Pulsfolgen von jeweils 15 ms Dauer. Spur B zeigt die zu den elektrischen Reizen korrelierten ausgelösten Vokalisationen bei der Schwellenstromstärke von 25  $\mu\text{A}$ . Zwischen Reizbeginn und Beginn der Vokalisation war die Latenz in diesem Fall inkonsistent zwischen 45-60 ms und nicht jeder Reiz löste eine Vokalisation aus. Die Intensität der Vokalisationen war schwankend und lag durchschnittlich etwas unter 74 dB SPL. Spur C zeigt eine weitere Aufnahme am gleichen Stimulationsort mit einer Stromstärke von 30  $\mu\text{A}$ , d.h. 5  $\mu\text{A}$  über der Auslöseschwelle. Hier löste jede Pulsfolge eine Vokalisation aus. Die Latenz verringerte sich etwas auf 40-55 ms und die Intensität der ausgelösten Vokalisationen vergrößerte sich minimal auf durchschnittlich 74 dB SPL. Spur D zeigt eine weitere Aufnahme am gleichen Stimulationsort mit einer Stimulationsstromstärke von 35  $\mu\text{A}$ , also 10  $\mu\text{A}$  über dem Schwellenwert. Hier war die Latenz stabil zwischen 35-40 ms und die Intensitätswerte der Vokalisationen lagen im Vergleich zur Spur C nochmals erhöht zwischen 74-80 dB SPL mit einem Intensitätswert über 80 dB SPL. Generell zeigte sich bei allen fünf Versuchstieren das gleiche Bild. An der Auslöseschwelle (zwischen 20-30  $\mu\text{A}$ ) waren die Latenzen zwischen elektrischen Reiz und ausgelöster Vokalisation sehr variabel (40-80 ms) und nicht jeder elektrische Reiz löste eine Vokalisation aus. 5-10  $\mu\text{A}$  über der Schwelle wurden die Latenzen kürzer, weniger variabel (35-40 ms) und fast jeder elektrische Reiz löste eine Vokalisation aus. Einzelne Ausfälle von Vokalisationen konnten jedoch bei allen Tieren beobachtet werden. In der dargestellten Stimulationssituation war eine tendenzielle Abhängigkeit der Vokalisationsintensität von der Stimulationsstromstärke bemerkbar, jedoch konnte eine systematische Abhängigkeit der Vokalisationsintensität von der Stimulationsstromstärke innerhalb der prätektalen Stimulationsorte nicht beobachtet werden.



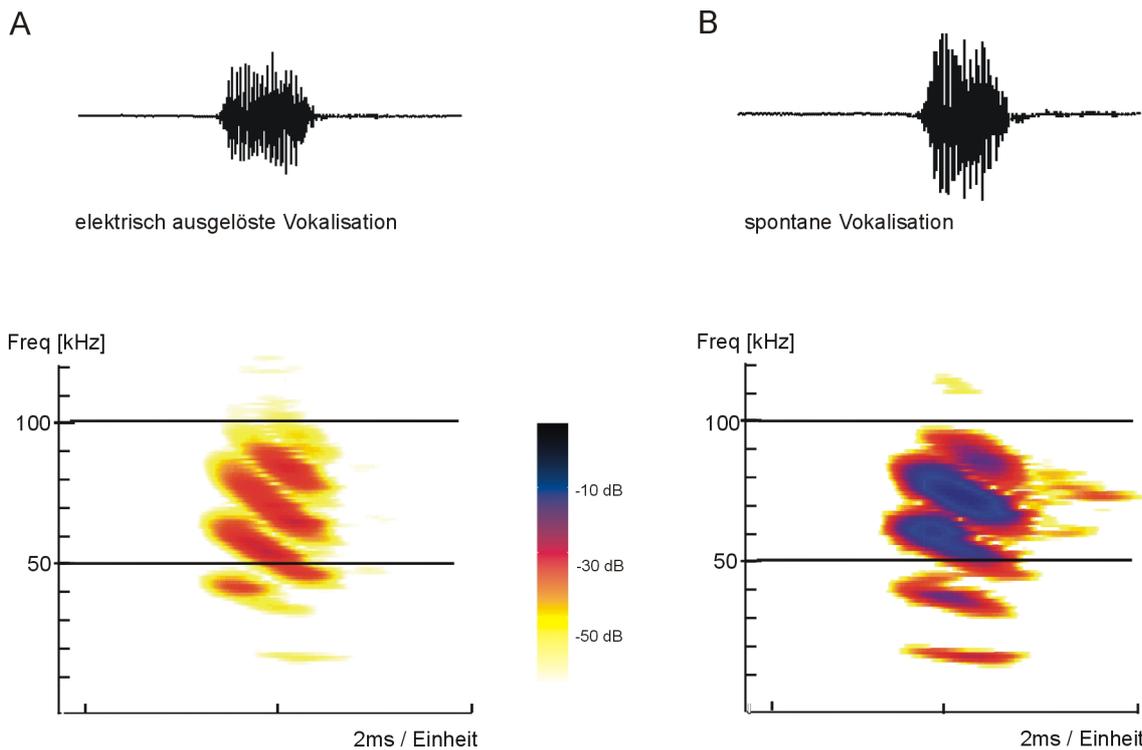
**Abbildung 4-2: Elektrische Mikrostimulation in der prätektalen Region**

*Spur A:* Folge von 10 elektrischen Reizen (Pulsfolgen) über einen Zeitraum von 1600 ms.

*Spuren B, C, D:* Aufnahmespuren der durch die elektrischen Reize ausgelösten Vokalisationen am gleichen Stimulationsort in der AP für Reizströme von 25 (Spur B), 30 (Spur C) und 35  $\mu\text{A}$  (Spur D). Die jeweiligen Auslösestromstärken sind rechts neben der Spur angezeigt. Der Auslöseort befand sich im für die Vokalisationsauslösung sensiblen Bereich bei 8064  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten (siehe Abbildung 4-4, Schnitt B). Der Intensitätsbereich der Vokalisationen ist für einen Bereich von 74 bis 80 dB SPL angegeben.

Im Bereich der prätektalen Region konnte durch elektrische Mikrostimulation nur ein Typ von Vokalisation unabhängig von der Stimulationsstromstärke ausgelöst werden. Abbildung 4-3A zeigt eine solche, bei allen Versuchstieren auslösbare Vokalisation im Detail. Es handelte sich dabei um einen kurzen, multiharmonischen (5 unterscheidbare Harmonische) abwärts frequenzmodulierten Laut. Insgesamt wurden 132 durch elektrische Mikrostimulation ausgelöste Vokalisationen untersucht. Bei allen 132 Vokalisationen wurde die Lautdauer gemessen. 76 der 132 Vokalisationen

(57 %) erfüllten das 20 dB-Kriterium (Kap. 3; Punkt 3.6.2) und wurden auf ihre spektrale Zusammensetzung hin untersucht. Im Mittel betrug die Dauer einer ausgelösten Vokalisation 0,97 ms ( $\pm$  0,18 ms SA). Die Startfrequenz der gemessenen 1. Harmonischen lag bei 18,3 kHz ( $\pm$  1,0 kHz) und der Sweep endete bei 14,2 kHz ( $\pm$  0,8 kHz). Die energiereichsten Harmonischen waren die 3. und 4. Harmonische mit errechneten Frequenzbereichen von 54,9 kHz ( $\pm$  3,0 kHz) bis 42,9 kHz ( $\pm$  2,4 kHz), bzw. 73,2 kHz ( $\pm$  4,0 kHz) bis 57,2 kHz ( $\pm$  3,2 kHz).



**Abbildung 4-3: Spektro-temporale Zusammensetzung ausgelöster und spontaner Vokalisationen**

Zeitliche und spektrale Zusammensetzung einer ausgelösten (A) und einer spontanen (B) Vokalisation von *P. discolor*. Die ausgelöste Vokalisation hatte wie die spontane Vokalisation eine Länge von ca. 1,1 ms. Spektral hatten beide Vokalisationen eine identische Zusammensetzung. Beide Vokalisationen waren abwärts frequenzmoduliert und multiharmonisch (5 unterscheidbare Harmonische) mit dem Großteil der Energie innerhalb der 3. und 4. Harmonischen. Im Gegensatz zu den errechneten Frequenzbereichen (siehe Text) decken die 3. und 4. Harmonische in der Abbildung höhere Frequenzbereiche ab. Um die 1. Harmonische, die im Vergleich zur 3. und 4. Harmonischen 20-30 dB leiser ist, in dieser Darstellungsform zeigen zu können muss Darstellungsschwelle gering sein. Damit werden spektrale Überlappungen der energiereichen 3. und 4. Harmonischen mit dargestellt. Die errechneten Frequenzbereiche sind jedoch in diesen Bereichen hoher relativer Intensität der 3. und 4. Harmonischen enthalten. Gleiches gilt für die folgende Abbildung 4-5 zu pharmakologisch ausgelösten Vokalisationen. Die Farbkodierung zwischen beiden spektralen Darstellungen gibt die relative Intensität an. Die ausgelöste Vokalisation hatte eine Intensität von 80 dB SPL.

Bei einem Tier konnten im Käfig spontane Vokalisationen aufgezeichnet werden. Alle spontan emittierten Vokalisationen waren kurz, multiharmonisch (4-5 unterscheidbare Harmonische) und abwärts frequenzmoduliert (siehe Abbildung 4-3B). Insgesamt wurden 91 spontane Vokalisationen untersucht. Bei allen 91 Vokalisationen wurde die Lautdauer gemessen. 45 der 91 Vokalisationen

(49 %) erfüllten das 20 dB-Kriterium und wurden auf ihre spektrale Zusammensetzung hin untersucht. Die durchschnittliche Dauer einer spontanen Vokalisation betrug 1.01 ms (+/- 0,31 ms SA). Der Beginn der 1. Harmonischen lag bei 18,58 kHz (+/- 0,93 kHz) und endete bei 13,36 kHz (+/- 0,81 kHz). Die errechnete 3. und 4. Harmonische lagen bei 55,74 kHz (+/- 2,8 kHz) bis 40,1 kHz (+/- 2,4 kHz), bzw. 74,32 kHz (+/- 3,7 kHz) bis 53,44 kHz (+/- 3,2 kHz). Damit entsprachen diese Vokalisationen denen von Rother und Schmidt (1982) bei *P. discolor* als Echoortungslaute beschriebenen Vokalisationen.

Tabelle 4-1 zeigt die Ergebnisse eines statistischen Vergleichs (Mann-Whitney-U-Test, siehe auch Kapitel 3, Punkt 3.7). Verglichen wurde die Dauer der Vokalisationen und die Start- und Endfrequenz der 1. Harmonischen der beiden Vokalisations-Gruppen. Die Dauer elektrisch ausgelöster Vokalisationen unterschied sich nicht signifikant von der Dauer spontan emittierter Vokalisationen. Auch waren die Anfangsfrequenzen der 1. Harmonischen beider Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Lediglich die Endfrequenzen der 1. Harmonischen der beiden untersuchten Gruppen zeigten einen signifikanten Unterschied. Im Gegensatz zur Endfrequenz der 1. Harmonischen spontaner Vokalisationen war die Endfrequenz der 1. Harmonischen elektrisch ausgelöster Vokalisationen um 1 kHz erhöht.

	Ausgelöste Vokalisationen n (Länge) = 132 n (H <sub>1</sub> ) = 76	Spontane Vokalisationen n (Länge) = 91 n (H <sub>1</sub> ) = 45	p
Länge [ms]	0,97 (+/- 0,18)	1,01 (+/- 0,30)	0,986
H <sub>1</sub> B [kHz]	18,3 (+/- 1,0)	18,58 (+/- 0,93)	0,083
H <sub>1</sub> E [kHz]	14,2 (+/- 0,8)	13,36 (+/- 0,81)	≤ 0,05

**Tabelle 4-1 Statistischer Vergleich von Parametern ausgelöster und spontaner Vokalisationen**

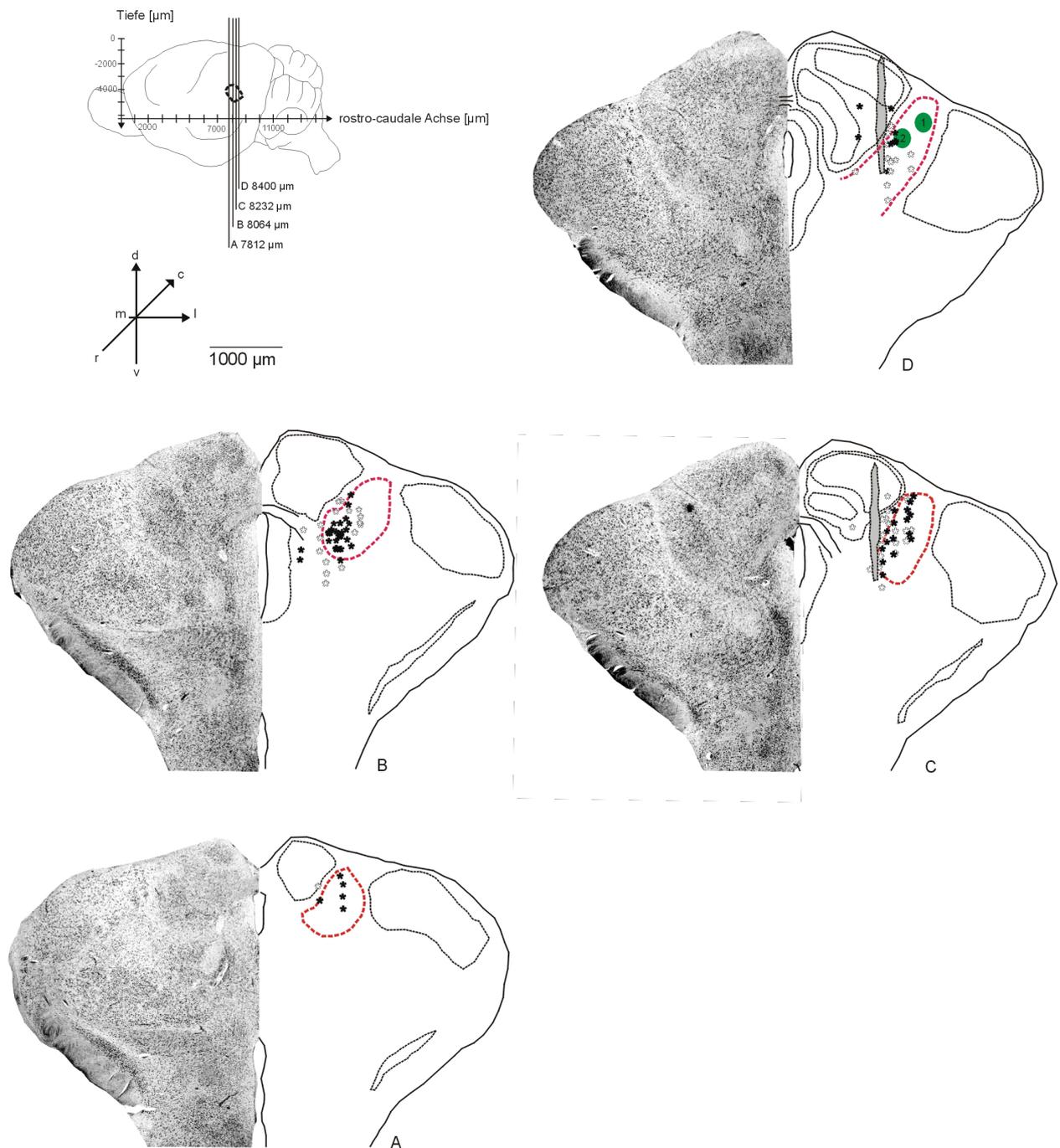
Vergleich der in der AP ausgelösten Vokalisationen mit spontanen Vokalisationen eines sich frei bewegenden Tieres. Ein signifikanter Unterschied war bei  $p < 0,05$  gegeben.

Insgesamt wurden 132 ausgelöste Vokalisationen mit 91 spontanen Vokalisationen bezüglich der Lautdauer verglichen. Zum Vergleich der spektralen Zusammensetzung wurden 76 ausgelöste Vokalisationen 45 spontanen Vokalisationen gegenübergestellt. Nur im Fall der Endfrequenz der ersten Harmonischen (H<sub>1</sub>E) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen ausgelösten und spontanen Vokalisationen gezeigt werden. Die Startfrequenz der 1. Harmonischen (H<sub>1</sub>B) und die Lautdauer der Vokalisationen waren nicht signifikant unterschiedlich.

Ein Stimulationsort in der AP wurde als spezifisch für die Auslösung von Vokalisationen betrachtet, wenn außer begleitender Ohr- und Nasenblattbewegungen keine weiteren Körperreaktionen zu-

sätzlich zu den Vokalisationen ausgelöst werden konnten (Schuller & Radtke-Schuller; 1990). Abbildung 4-4 zeigt Lage und Ausdehnung prätektaler Bereiche, die dieses Kriterium erfüllten. Dargestellt sind alle Stimulationpunkte aus fünf Versuchstieren, die einen Bereich von etwa 580  $\mu\text{m}$  (7812  $\mu\text{m}$  – 8400  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten) in rostro-caudaler, ca. 600  $\mu\text{m}$  in medio-lateraler und ca. 1000  $\mu\text{m}$  in dorso-ventraler Ausdehnung innerhalb der AP abdeckten. Dabei repräsentieren schwarze Sterne Auslöseschwellen im Bereich von 20-30  $\mu\text{A}$  und weiße Sterne Auslöseschwellen im Bereich von 35-50  $\mu\text{A}$ . Der für die Auslösbarkeit von Vokalisationen empfindliche Bereich begann bei *P. discolor* im rostralen Teil der AP (Schnitt A, 7812  $\mu\text{m}$ ). Hier waren in einem schmalen dorso-medialen Bereich Vokalisationen mit geringen Stromstärken von 20-30  $\mu\text{A}$  auslösbar, die nur von Ohr- und Nasenblattbewegungen begleitet wurden. Überhalb prätektaler Strukturen, medial zum beginnenden PAG bzw. lateral zum beginnenden MGB, waren keine Vokalisationen auslösbar. Auch in den ventralen Schichten unterhalb prätektaler Strukturen konnten keine Vokalisationen, jedoch starke Körperbewegungen ausgelöst werden. Der für die Vokalisationsauslösung empfindlichste Bereich der AP war 250  $\mu\text{m}$  weiter caudal, bei 8064  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten (Schnitt B), lokalisiert. In einem ventral-medialen Teil der AP von ca. 400  $\mu\text{m}$  medio-lateraler und ca. 400  $\mu\text{m}$  dorso-ventraler Ausdehnung konnten bei 20–30  $\mu\text{A}$  Reizstromstärke Vokalisationen ausgelöst werden, die von leichten Nasenblatt- und Ohrbewegungen begleitet wurden. Medial trennte ein Gebiet höherer Auslöseschwellen (35-50  $\mu\text{A}$ ) diesen auslösesensiblen Vokalisationsbereich gegenüber den beginnenden Strukturen des PAG ab. In den Strukturen des PAG selbst konnten ebenfalls mit niedrigen Stimulationsströmen (10-20  $\mu\text{A}$ ) Vokalisationen ausgelöst werden, die sich in ihrer temporalen und spektralen Struktur nicht von in der AP ausgelösten oder spontanen Vokalisationen unterschieden. Jedoch wurden diese von starken stimuluskorrelierten Körperbewegungen (Flügel, Maul, Rumpf) begleitet oder das Tier zeigte starke Bewegungen nach der Reizung.

Lateral wie ventral wurde der prätektale Vokalisationsbereich von Gebieten mit höheren Auslöseschwellen umschlossen, jenseits deren Grenzen keine Vokalisationen mehr ausgelöst werden konnten. Etwa 160  $\mu\text{m}$  weiter caudal (Schnitt C, 8232  $\mu\text{m}$ ) war kein klar definierter Bereich niedriger und hoher Schwellenwerte zur Auslösung einer Vokalisation mehr vorhanden. Es handelte sich um eine ca. 1000  $\mu\text{m}$  lange bandähnliche Struktur am medialen Randbereich der AP, in der mit niedrigen Stromstärken (20-30  $\mu\text{A}$ ) Vokalisationen ausgelöst werden konnten, die aber von Bereichen mit höheren Auslöseschwellen (35-50  $\mu\text{A}$ ) durchsetzt waren. Gegenüber dem Colliculus superior war dieser Bereich durch ein Gebiet abgetrennt, in dem auch mit hohen Stromstärken (80  $\mu\text{A}$ ) keine Vokalisationen ausgelöst werden konnten. Lateral zur Struktur des MGB konnten ebenfalls keine Vo-



#### Abbildung 4-4: Stimulationsorte im Bereich der AP

Serie von Nissl-gefärbten Frontalschnitten, in denen die für die Auslösbarkeit von Vokalisationen empfindlichen und unempfindlichen Bereiche der AP dargestellt werden. Die angrenzenden Strukturen sind hier und in den folgenden Abbildungen der Übersichtlichkeit halber nicht mehr explizit bezeichnet und entsprechen denen in Abbildung 4-1.

★: Stimulationsorte mit Auslöseschwellen von 20 - 30 µA;

☆: Stimulationsorte mit Auslöseschwellen von 35 - 50 µA;

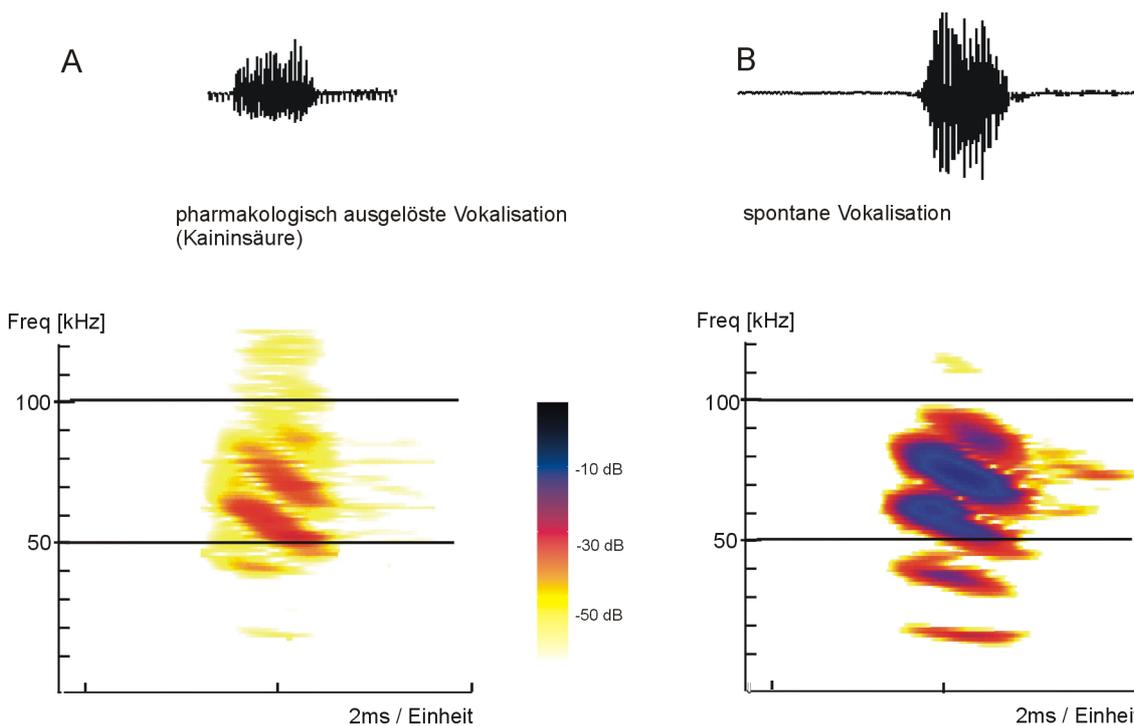
gestrichelter Bereich (grau): unempfindlich für die Vokalisationsauslösung;

①, ②: Dialyseorte für Kaininsäure;

kalisationen mehr ausgelöst werden. Im ventralen Bereich waren hohe Stromstärken (35-50  $\mu\text{A}$ ) zur Auslösung einer Vokalisation notwendig, bzw. wurden auch starke Körperbewegungen mit ausgelöst. In einem sehr caudalen Teilbereich der AP (Schnitt D; 8400  $\mu\text{m}$ ) konnten mit niedrigen Stromstärken (20-30  $\mu\text{A}$ ) nur noch in einem kleinen dorsalen Randbereich Vokalisationen ausgelöst werden. Zum Colliculus superior hin wurde dieser Bereich wieder durch ein Gebiet ohne Vokalisationsauslösbarkeit abgetrennt. Jenseits dieser Grenze fanden sich nun im Colliculus superior Bereiche, in denen Vokalisationen ausgelöst werden konnten, die sich weder temporal noch spektral von spontanen Vokalisationen unterschieden. Die Auslöseorte im Colliculus superior lagen im Vergleich zur AP jedoch mehr dorsal und mehr zur Gehirn-Mittellinie hin und konnten dadurch von prätektalen Auslöseorten unterschieden werden.

#### 4.2.2 Pharmakologische Stimulation

Bei einem Tier wurde an zwei Stellen im caudalen Bereich der AP (siehe Abbildung 4-4; Schnitt D) über eine Mikrodialyse-Probe Kaininsäure appliziert. Da Kaininsäure (Glutamatagonist) nur Zellkörper und aufgrund fehlender Rezeptoren keine Axone aktiviert, kann auf diese Weise die Auslösung von Vokalisationen durch Stimulierung von durchlaufenden Faserbündeln ausgeschlossen werden. Beide Stimulationsorte befanden sich in einem caudalen Bereich der AP. Die Applizierung von Kaininsäure über 30 Minuten führte am ersten, lateral zum medialen Kniehöcker gelegenen Injektionsort (❶, Abb. 4-4) zu keiner Auslösung von Vokalisationen bzw. weiteren Körperbewegungen. Am zweiten, mehr medial gelegenen Injektionsort (❷, Abb. 4-4) führte die Applizierung von Kaininsäure nach 3 Minuten zu Vokalisationen und begleitenden Nasen- und Ohrbewegungen. Das Tier emittierte mit einer Rate von 7 Hz einzelne Vokalisationen. Abbildung 4-5A zeigt eine durch die Kaininsäure-Mikrodialyse ausgelöste Vokalisation im Vergleich zu einer spontanen Vokalisation (Abbildung 4-5 B). Es wurden 24 durch Kaininsäure ausgelöste Vokalisationen untersucht. Alle ausgelösten Vokalisationen waren multiharmonisch (4-5 unterscheidbare Harmonische) abwärts frequenzmoduliert und entsprachen den vorher beschriebenen Echoortungsrufen von *P. discolor*. Bei allen 24 Vokalisationen wurde die Lautdauer gemessen. Die durchschnittliche Dauer der pharmakologisch ausgelösten Vokalisationen betrug 0,97 ms ( $\pm$  0,07 ms SA) und war nicht signifikant unterschiedlich zu spontan emittierten Vokalisationen (Mann-Whitney-U-Test;  $p = 0,978$ ). Spektral konnten, aufgrund nicht optimaler Aufnahmebedingungen, nur fünf Vokalisationen ausgewertet werden (20 dB Kriterium, siehe Kapitel 3, Punkt 3.6.2). Mit 21,82 kHz ( $\pm$  1,12 kHz) war die durchschnittliche Startfrequenz der 1. Harmonischen etwas höher als die Startfrequenz spontan



**Abbildung 4-5: Spektro-temporale Zusammensetzung ausgelöster und spontaner Vokalisationen**  
 Spektro-temporale Zusammensetzung einer im caudalen Teil der AP durch Kaininsäure ausgelösten (A) und einer spontanen (B) Vokalisation von *P. discolor*. Die ausgelöste Vokalisation hatte wie die spontane Vokalisation eine Lautdauer von 1,1 ms. Beide Vokalisationen hatten eine identische spektrale Struktur. Sie waren multiharmonisch (5 unterscheidbare Harmonische) und abwärts frequenzmoduliert mit dem Bereich stärkster Energie in der 3. und 4. Harmonischen. Die Intensität der ausgelösten Vokalisation lag bei 70 dB SPL.

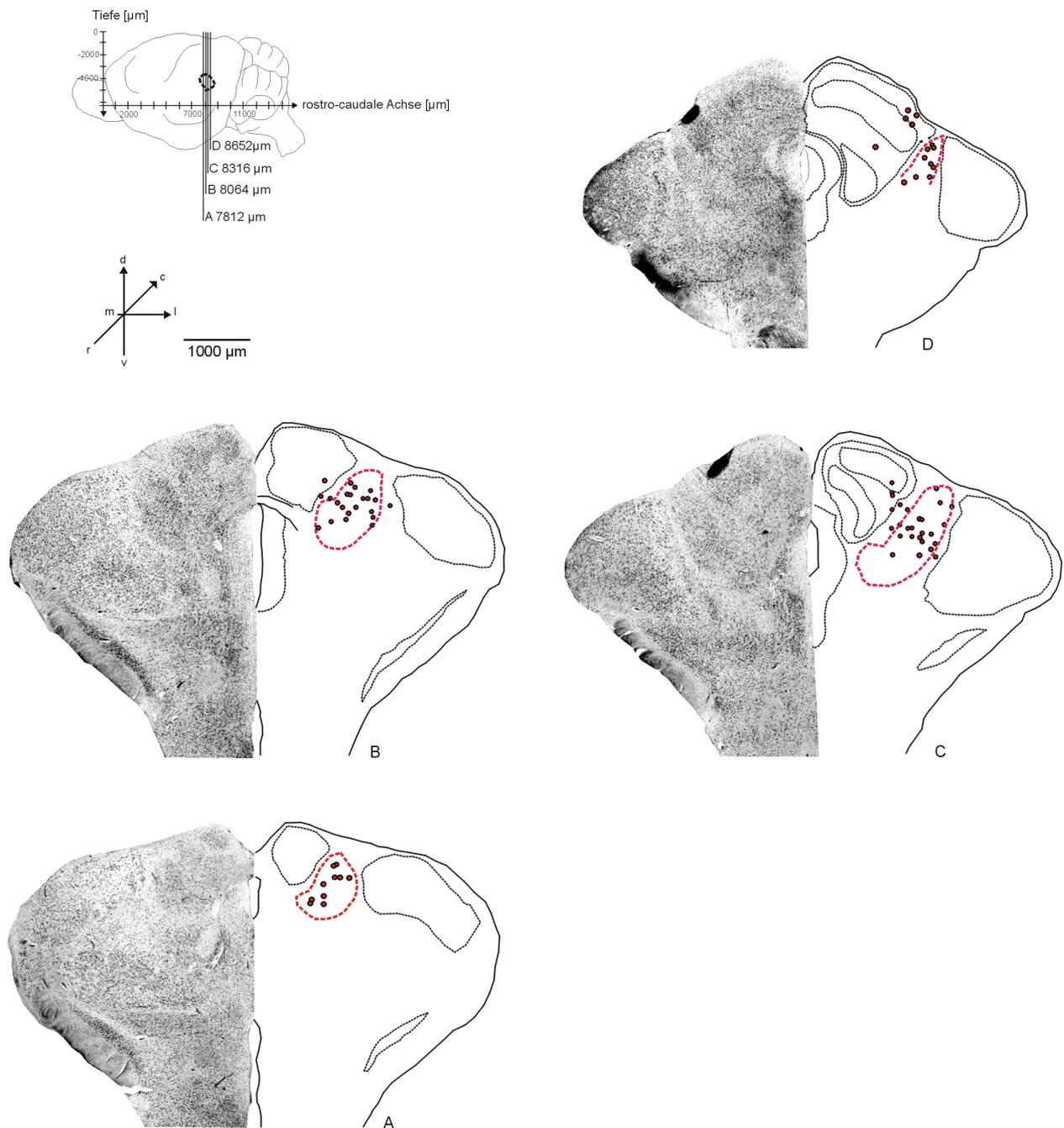
emittierter Vokalisationen. Die durchschnittliche Endfrequenz betrug 13,4 kHz ( $\pm$  1,38 kHz) und lag im Bereich der Endfrequenz spontan ausgelöster Vokalisationen. Aufgrund der geringen Anzahl spektral auswertbarer Vokalisationen konnte kein aussagekräftiger statistischer Test durchgeführt werden.

### 4.3 Elektrophysiologie

#### 4.3.1 Lage akustisch treibbarer Neuronen in der AP

Die Daten zu den elektrophysiologischen Ableitungen stammen von sechs Versuchstieren. Insgesamt wurde von 72 Einheiten (55 Neuronen (N) / 17 Neuronengruppen (NG, 2-3 Neuronen)) abgeleitet. Davon waren 63 Einheiten (50 N / 13 NG) in der AP und Übergangsbereichen und neun Einheiten (5 N / 4 NG) im rostro-medialen Teil des SC lokalisiert.

Abbildung 4-6 zeigt Lage und Verteilung akustisch treibbarer Einheiten in der AP und angrenzen



**Abbildung 4-6: Ableitorte im Bereich der AP**

Die vier Nissl-gefärbten Frontalschnitte decken einen rostro-caudalen prätektalen Bereich von ca. 840 µm ab und zeigen die Lage aller abgeleiteten 72 Neurone bzw. Neuronengruppen. Verglichen mit dem differenzierten Bereich in dem Vokalisationen ausgelöst werden konnten (siehe Abbildung 4-4) war der Bereich in dem akustisch aktivierbare Neurone charakterisiert werden konnten nach caudal um 200 µm ausgedehnt.

den Gebieten. Neuronen bzw. Neuronengruppen, die auf akustische Reize antworteten, wurden innerhalb der AP in einem Bereich von 840 µm rostro-caudaler Ausdehnung erfasst (Schnitt A-D; 7812 µm – 8652 µm in Atlaskoordinaten), der auch die für die Vokalisationsauslösung sensiblen

Bereiche enthielt (vgl. Abbildung 4-4). Ableitpunkte im SC lagen überhalb prätektaler Bereiche in den mittleren bzw. tiefen collicularen Schichten (siehe Schnitt C und D).

## **4.3.2 Antworten von Neuronen bzw. Neuronengruppen auf akustische Reize**

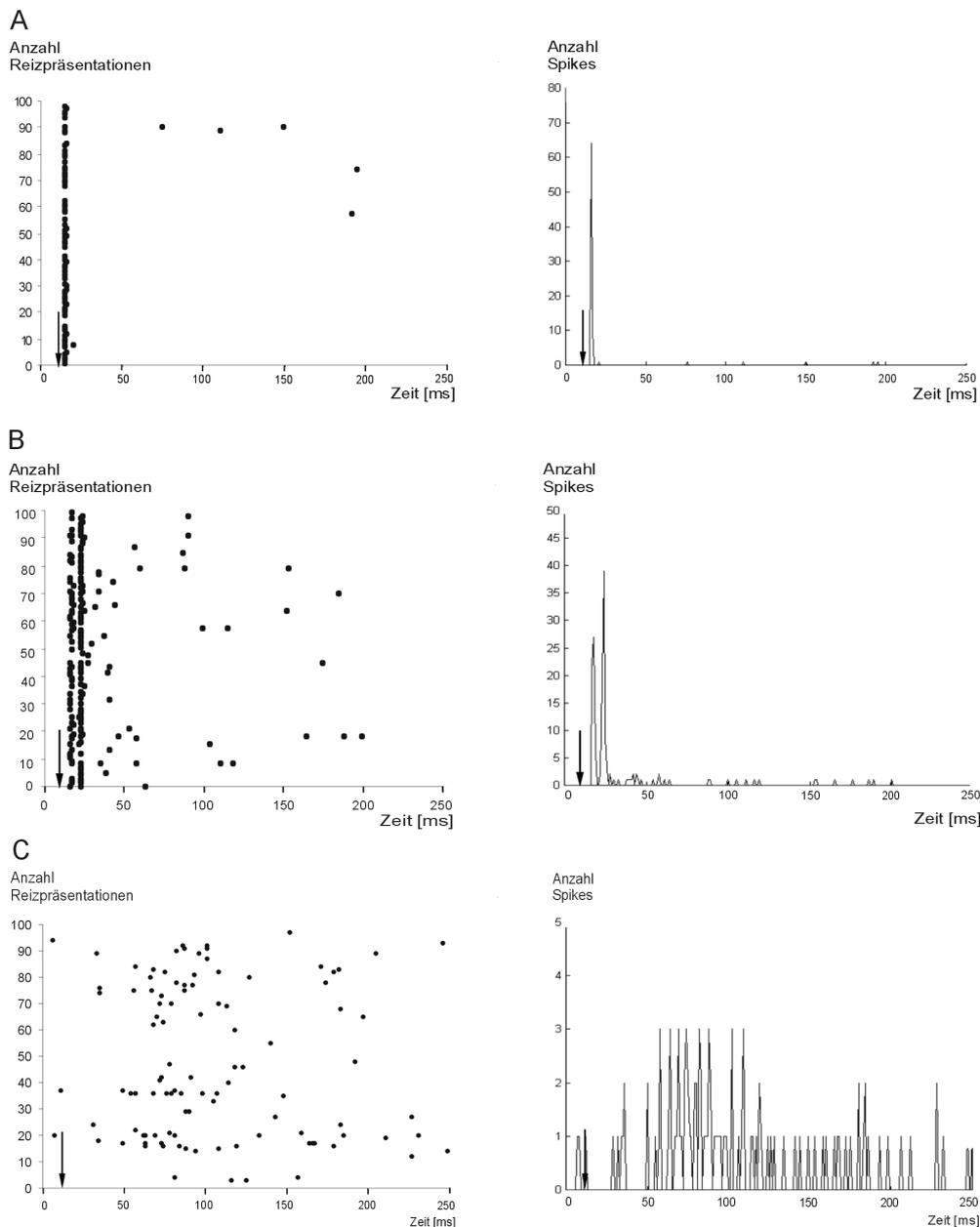
### **4.3.2.1 Neuronale Antwortmuster**

Von den 63 abgeleiteten prätektalen Einheiten zeigten 30 Neuronen ein „doppelt-phasisches Antwortmuster (48 %), 13 Neuronen ein phasisches Antwortmuster (20 %) und 20 Neuronen bzw. Neuronengruppen (32 %) ein tonisches Antwortmuster auf akustische Reize.

Die Abbildung 4-7 stellt die gefundenen Antwortmuster prätektaler Neuronen bzw. Neuronengruppen auf akustische Reize im Vergleich dar. Phasisch antwortende Neuronen (A) reagierten mit einer präzisen Aktivität auf den Beginn des akustischen Reizes („on-Antwort“). „Doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen (B) reagierten ähnlich phasisch antwortenden Neuronen mit einer präzisen Aktivität („on-Antwort“) auf den akustischen Reiz, wobei nach einer zwischen 4-12 ms andauernden Verzögerung noch ein zweiter phasischer Aktivitätsverlauf beobachtbar war. Neuronen mit phasischer bzw. „doppelt-phasischer“ Aktivität waren kaum spontanaktiv. Wenn Spontanaktivität auftrat, war sie schwach ausgeprägt ( $\leq 4$  Spike / s).

Im Gegensatz dazu waren Neuronen bzw. Neuronengruppen mit tonischem Antwortverhalten meist spontanaktiv (3-40 Spikes / s) und auf den akustischen Reiz folgte eine tonische Aktivität über eine Dauer von 40-50 ms. Danach ging die Aktivität in die Spontanaktivität über. Ob die Erhöhung der Aktivität auf den Beginn („on-Antwort“) oder das Ende des akustischen Reizes („off-Antwort“) erfolgte, konnte in den meisten Fällen nicht eindeutig geklärt werden.

Die folgenden Abbildungen zu Antworten prätektaler Neuronen auf akustische Reize behandeln in erster Linie phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen, da auf diese der größte Teil der erhobenen Daten fällt.



**Abb. 4-7: Antwortmuster prätektaler Neuronen bzw. Neuronengruppen**

Dot-Raster-Diagramme und korrespondierende PSTH (1 ms Binbreite) neuronaler Antworten von drei Neuronen bzw. Neuronengruppen in der AP auf akustische Reize über einen Aufnahmezeitraum von 250 ms. Die schwarzen Pfeile markieren den Beginn des akustischen Reizes, in diesem Fall einer ca. 1,2 ms dauernden aufgezeichneten Vokalisation des Tieres (elektrische Mikrostimulation) die mit einer Verzögerung von 10 ms nach Aufnahmebeginn präsentiert wurde. Der akustische Reiz wurde in allen drei Fällen 100 mal dargestellt. Es konnten insgesamt drei unterschiedliche Antwortmuster prätektaler Neuronen differenziert werden.

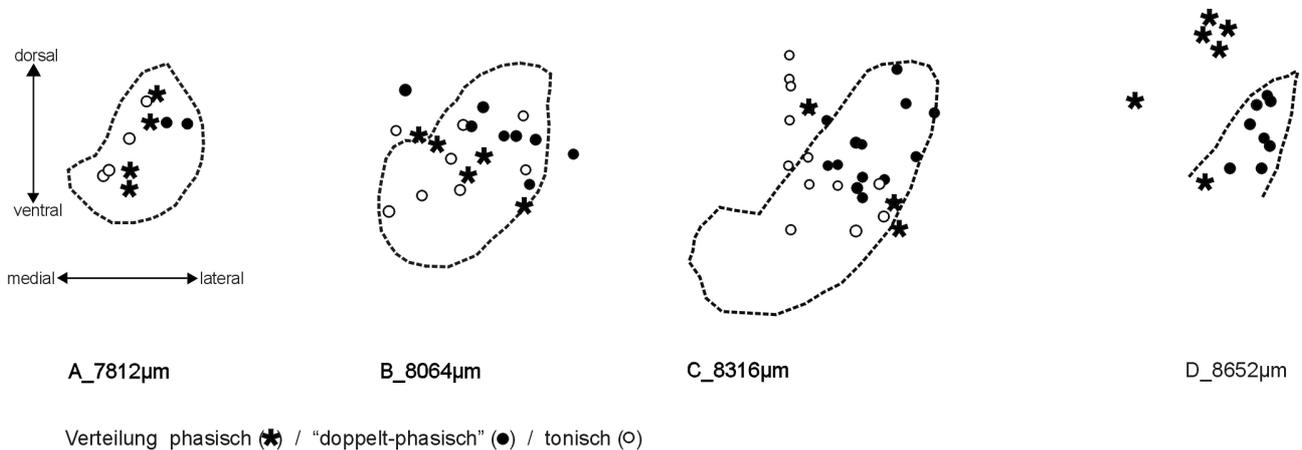
**A:** Antwort eines Neurons mit phasischem Aktivitätsmuster. Das Neuron antwortete auf akustischen Reiz nach einer Latenz von 6 ms.

**B:** Antwort eines Neurons mit „doppelt-phasischem“ Aktivitätsmuster. Das Neuron antwortete auf den akustischen Reiz mit einer phasischen Aktivität nach einer Latenz von 6 ms, gefolgt von einer phasischen 2. Aktivität nach einer Verzögerung zur ersten Aktivität von 10 ms.

**C:** Antwort einer Neuronengruppe (zwei Neuronen) mit tonischem Aktivitätsmuster. Die Neuronengruppe antwortete auf den akustischen Reiz nach einer Latenz von 40 ms mit einer tonischen Aktivität über 50 ms – 60 ms.

### 4.3.2.2 Einteilung der akustisch aktiven Neuronen bzw. Neuronengruppen

Abbildung 4-8 zeigt die Grenzmarkierungen des AP-Bereichs in der Frontalebene bei verschiedenen r/c-Koordinaten und die Lage der akustisch treibbaren Neuronen bzw. Neuronengruppen aus Abbildung 4-6 im vergrößerten Überblick.



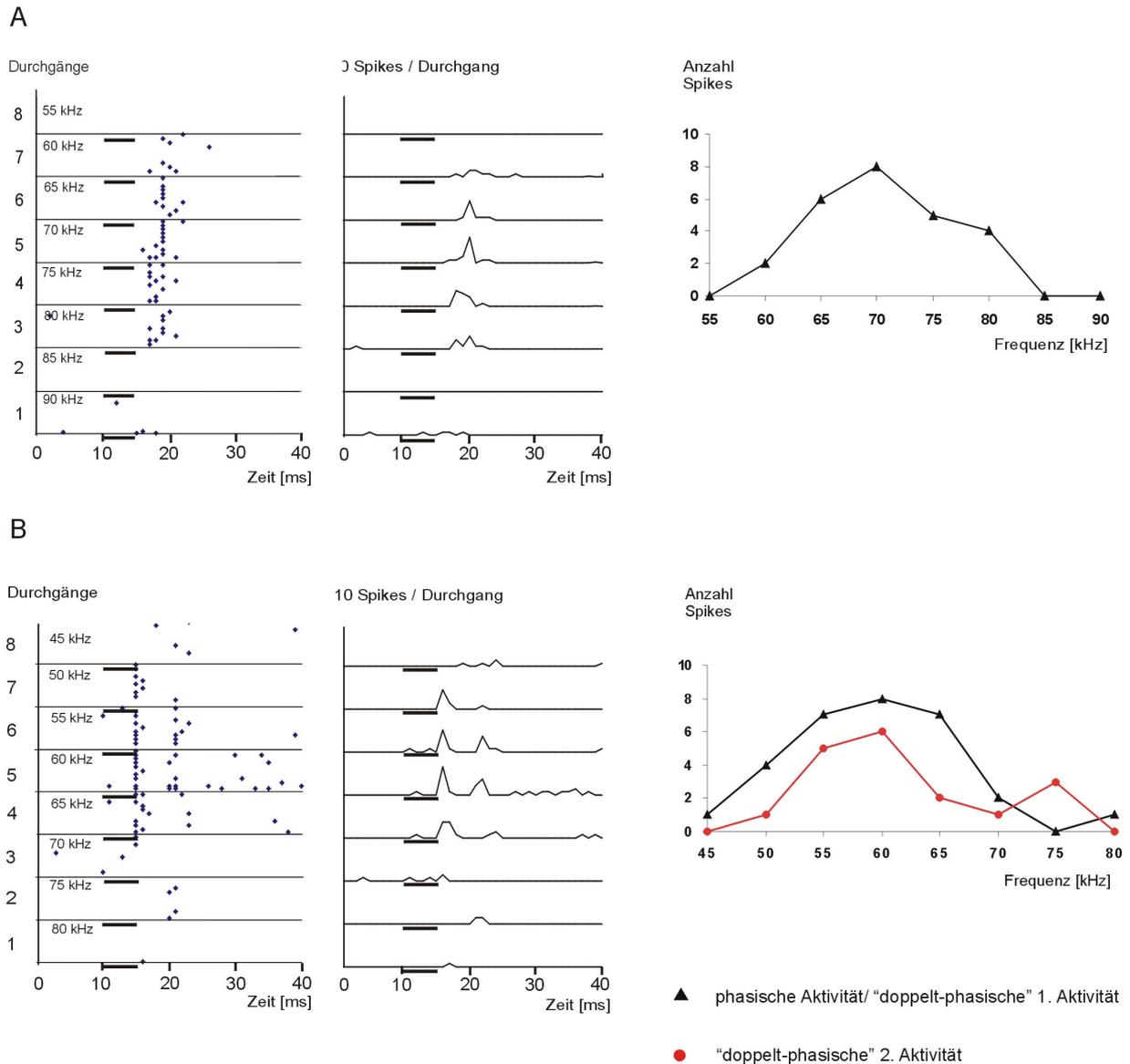
**Abbildung 4-8: Verteilung der Neuronen bzw. Neuronengruppen bezüglich der drei Antwortmuster**  
 Dargestellt sind die Abgrenzungen der AP aus Abbildung 4-6. Die angrenzenden Strukturen wurden weggelassen. Die rostro-caudale Lage ist in  $\mu\text{m}$  Atlaskoordinaten angegeben. Die Lage der 72 abgeleiteten Neurone ist in phasisch antwortende (★), „doppelt-phasisch“ antwortende (●) und tonisch antwortende (○) Neurone bzw. Neuronengruppen differenziert.

Im rostralen Teil (A) lagen tonisch antwortende Neuronen bzw. Neuronengruppen nahe der medialen AP-Grenze, während phasisch und „doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen bis auf einen kleinen ventralen Teil den übrigen prätektalen Bereich bedeckten. Der Bereich tonisch antwortender Neuronen dehnte sich nach caudal zur AP-Mitte hin aus (B), während phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen, mit einigen dazwischen liegenden tonisch antwortenden Neuronen bzw. Neuronengruppen, in einem dorso-medialen Band lokalisiert waren. Eine Trennung in zwei separate Gruppen war hier nicht zu finden. Erst in mehr caudalen Teilen der AP (C) folgte eine Trennung in zwei separate Gruppen. Phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen lagen vermehrt in dorso-medialen Teilen der AP, während tonisch antwortende Einheiten ausschließlich in einem medialen, bzw. leicht ventralen Bereich zu finden waren. Im äußersten caudalen Teil der AP (D) traten fast nur noch Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster auf, die die gesamte Fläche abdeckten.

### 4.3.2.3 Neuronale Antworten auf Reintöne

Alle untersuchten Neuronen bzw. Neuronengruppen in der AP waren durch Reintöne aktivierbar. Abbildung 4-9A zeigt die Aktivität eines Neurons mit phasischem Antwortmuster auf acht ver-

schiedene Reintöne im Bereich von 55-90 kHz. Bei einer Frequenz von 60 kHz begann das Neuron nach einer Latenz von ca. 8 ms aktiv zu werden und diese Aktivität stieg bei Erhöhung der Reiz



**Abbildung 4-9: Neuronale Antworten auf Reintöne**

Dot-Raster-Diagramme und korrespondierende PSTH's zweier Neurone mit phasischem (A) und „doppelt-phasischem“ (B) Antwortmuster.

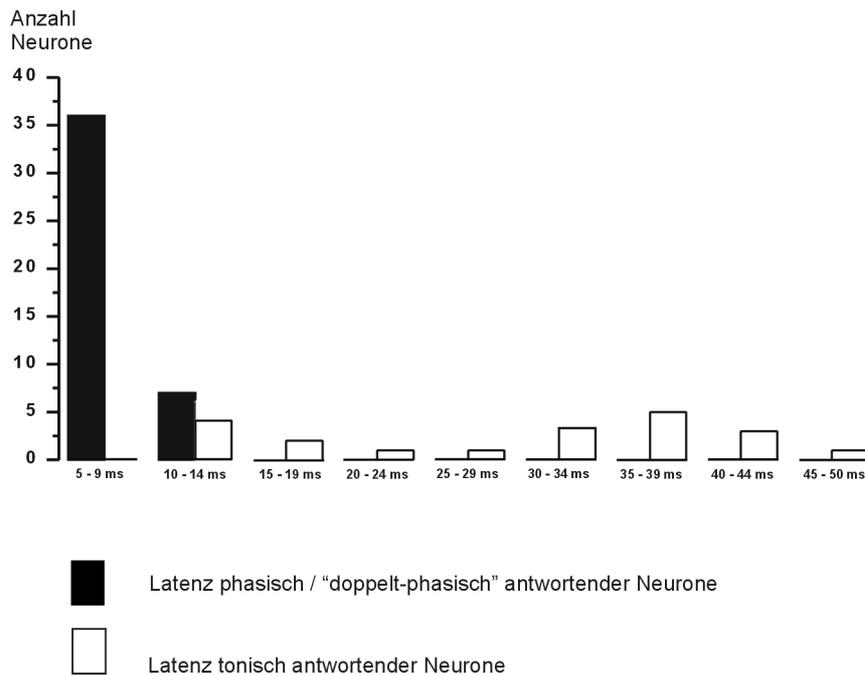
Die Beschreibung zum Aufbau der Abbildung ist identisch mit den folgenden Abbildungen 3-14, -16, -17, -20 und -21.

Die beiden abgebildeten Dot-Raster-Diagramme zeigen einen Ausschnitt von 40 ms nach Aufnahmebeginn. Eine Aufnahme bestand aus 8 bis 11 Durchgängen mit jeweils 10 Wiederholungen pro Durchgang. Rechts neben den Dot-Raster-Diagrammen sind die PSTH's zu den einzelnen Durchgängen über den gleichen Zeitraum dargestellt. Die Binbreite beträgt 1 ms, die maximale Spikezahl pro Durchgang (Ordinate) sind 10 Spikes / Bin. Ganz rechts wurden die aus den PSTH's gemessenen Antwortmaxima gegen die jeweilige Frequenz des Durchgangs aufgetragen. Diese Maxima wurden für statistische Tests zwischen den Reizklassen (Reintöne und abwärts frequenzmodulierte Reize) verwendet. Der akustische Reiz ist als schwarzer Balken unterhalb des jeweiligen Durchgangs eingezeichnet und hatte, ausser wo angegeben, eine Dauer von 5 ms.

frequenz kontinuierlich an. Die höchste Aktivität zeigte das Neuron bei 70 kHz und bei folgenden Frequenzen fiel diese wieder kontinuierlich ab und ging bei 85 kHz gegen Null. Abbildung 4-9B zeigt die Aktivität eines typischen prätektalen Neurons mit „doppelt-phasischem“ Antworttyp auf acht verschiedene Reintöne im Bereich von 45-80 kHz. Bei 50 kHz wurde das Neuron nach 6 ms Latenz aktiv. Diese Aktivität blieb über einen Bereich von 20 kHz erhalten, erreichte ein Maximum bei 60 kHz und fiel bei 75 kHz gegen Null ab. Bei 55 kHz setzte auf den akustischen Reiz eine zur 1. Aktivität um 6 ms verzögerte 2. Aktivität ein. Deren Verlauf war ähnlich dem der 1. Aktivität, jedoch in einem engeren Frequenzbereich von 55-65 kHz. Bei fast allen prätektalen Neuronen und Neuronengruppen löste nicht jeder akustische Reiz eine neuronale Antwort aus. Nur in sechs bis neun Fällen konnte bei den verwendeten 10 Wiederholungen pro Reiz eine neuronale reizgekoppelte Aktivität verzeichnet werden. Neuronengruppen mit tonischem Antwortmuster reagierten auf Reintöne vergleichbar mit Neuronen des phasischen und „doppelt-phasischen“ Antworttyps, allerdings wiesen sie mit größere Latenzen und größere Antwortbreiten auf.

Die Latenzen zwischen Einsetzen des akustischen Reizes und der neuronalen Antwort variierten stark zwischen den Neuronen unterschiedlichen Antwortmusters. Abbildung 4-10 zeigt die Verteilung der Latenzen. Bei tonisch antwortenden Neuronen bzw. Neuronengruppen war das Latenzspektrum über einen Bereich von 10–50 ms sehr breit gefächert und der größte Teil der gemessenen Latenzen lag in einem Bereich von 10–19 ms und 30–44 ms. Latenzen phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen waren hingegen ausschließlich über einen zeitlichen Bereich von 5–14 ms verteilt. Eine topographische Verteilung der Latenzen innerhalb der AP war nicht zu finden. Bei 32 der 43 Neuronen mit phasischem bzw. „doppelt-phasischem“ Antwortmuster konnten Abstimmkurven gemessen werden. Von den 32 Neuronen hatten 11 Neuronen ein phasisches Antwortmuster und 21 ein „doppelt-phasisches“ Antwortmuster. Bei 17 der 21 Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster konnte weiter die Abstimmkurve zur zweiten verzögerten Aktivität gemessen werden. Im oberen Diagramm in Abbildung 4-11A sind reizfrequenzabhängig die Intensitätsschwellenwertewerte (Einzelfrequenzen und Frequenzbänder) aller phasisch antwortenden Neuronen bzw. der 1. Aktivität der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen aufgetragen, bei denen noch Aktivität zu messen war. Im unteren Diagramm sind drei exemplarische Abstimmkurven aus dieser Gruppe dargestellt.

Neuronen mit phasischem Antwortmuster bzw. Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster (1. Aktivität) hatten beste Frequenzen bis auf eine Ausnahme in einem Bereich von 58-78 kHz. Der Durchschnitt lag bei 67,0 kHz +/- 7,3 kHz (71,7 kHz +/- 4,8 kHz bei phasisch antwortenden Neuro-

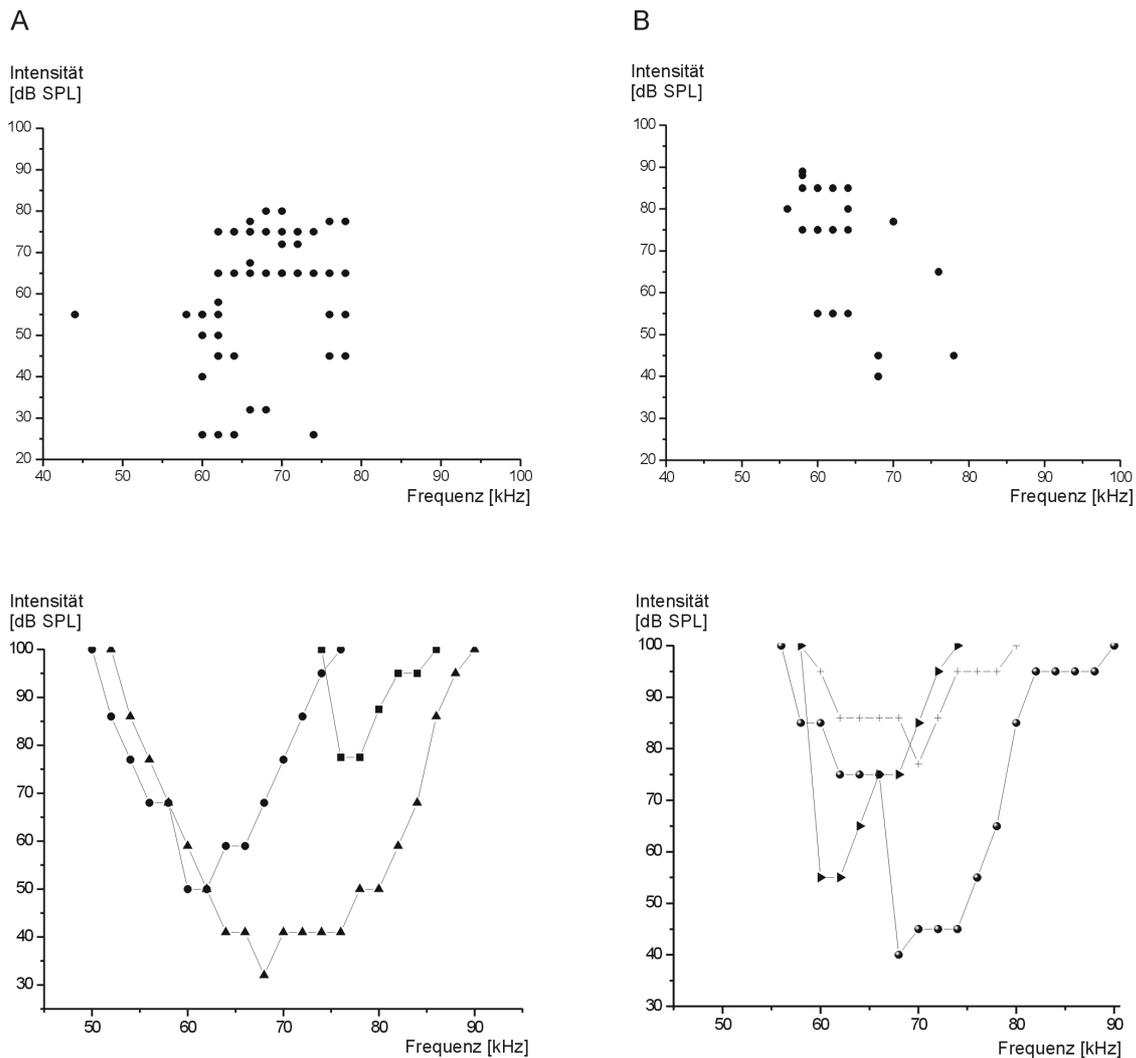


**Abbildung 4-10: Latenzen neuronaler Antworten**

Darstellung der Latenzverteilung von Neuronen mit tonischem (weiße Balken) und phasischem / „doppelt-phasischem“ Antwortmuster (schwarze Balken). Als Latenz wurde der Zeitraum von Reizbeginn bis zur ersten Überschreitung der Spontanaktivität (wenn vorhanden) am Beginn der neuronalen Antwort gemessen. Bei Neuronen mit doppelt-phasischem Antwortmuster war die Latenz der Bereich bis zur 1. Aktivität. Die Latenzen sind in 5 ms Intervalle eingeteilt. Der Latenzbereich von phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen liegt in einem Bereich von 5 – 14 ms wobei der Bereich von 5 – 9 ms überwiegt. Latenzen tonisch antwortender Neuronen bzw. Neuronengruppen lagen über einen weiten Bereich von 10 – 50 ms verstreut, mit einer Häufung bei 10 – 19 ms und 30 – 44 ms.

nen; 64,9 kHz +/- 7,9 kHz bei der 1. Aktivität „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen). Die Schwellenwerte lagen zwischen 26 und 80 dB SPL, wobei die Intensitätsschwelle im Mittel bei ca. 58,3 dB SPL +/- 16,0 dB SPL (58,3 dB SPL +/- 19,6 dB SPL bei phasisch antwortenden Neuronen; 58,3 dB SPL +/- 14,1 dB SPL bei der 1. Aktivität „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen) lag. Die Abstimmkurven hatten ausschließlich einen V-förmigen Verlauf. Oberhalb des Schwellenwertes, bzw. des Schwellenfrequenzbandes dehnte sich der exzitatorische Bereich entsprechend der Erhöhung der Lautstärke des akustischen Reizes zu beiden Seiten kontinuierlich aus.

Abbildung 4-11B zeigt im Vergleich dazu die Schwellenwerte und exemplarischen Abstimmkurven zur verzögerten 2. Aktivität der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen. Bezüglich ihrer 2. Aktivität befanden sich die besten Frequenzen „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen ebenfalls in Bereichen zwischen 58-78 kHz, wobei eine Präferenz zu niedrigeren Frequenzen zwischen 58-70 kHz festzustellen war (Abbildung 4-10B oben). Die Intensitätsschwelle betrug im Mittel 72,1 dB SPL (+/- 13,0 dB SPL). Die Abstimmkurven waren ebenfalls V-förmig mit einer kontinuierlichen



**Abbildung 4-11: Schwellenwerte und Abstimmkurven**

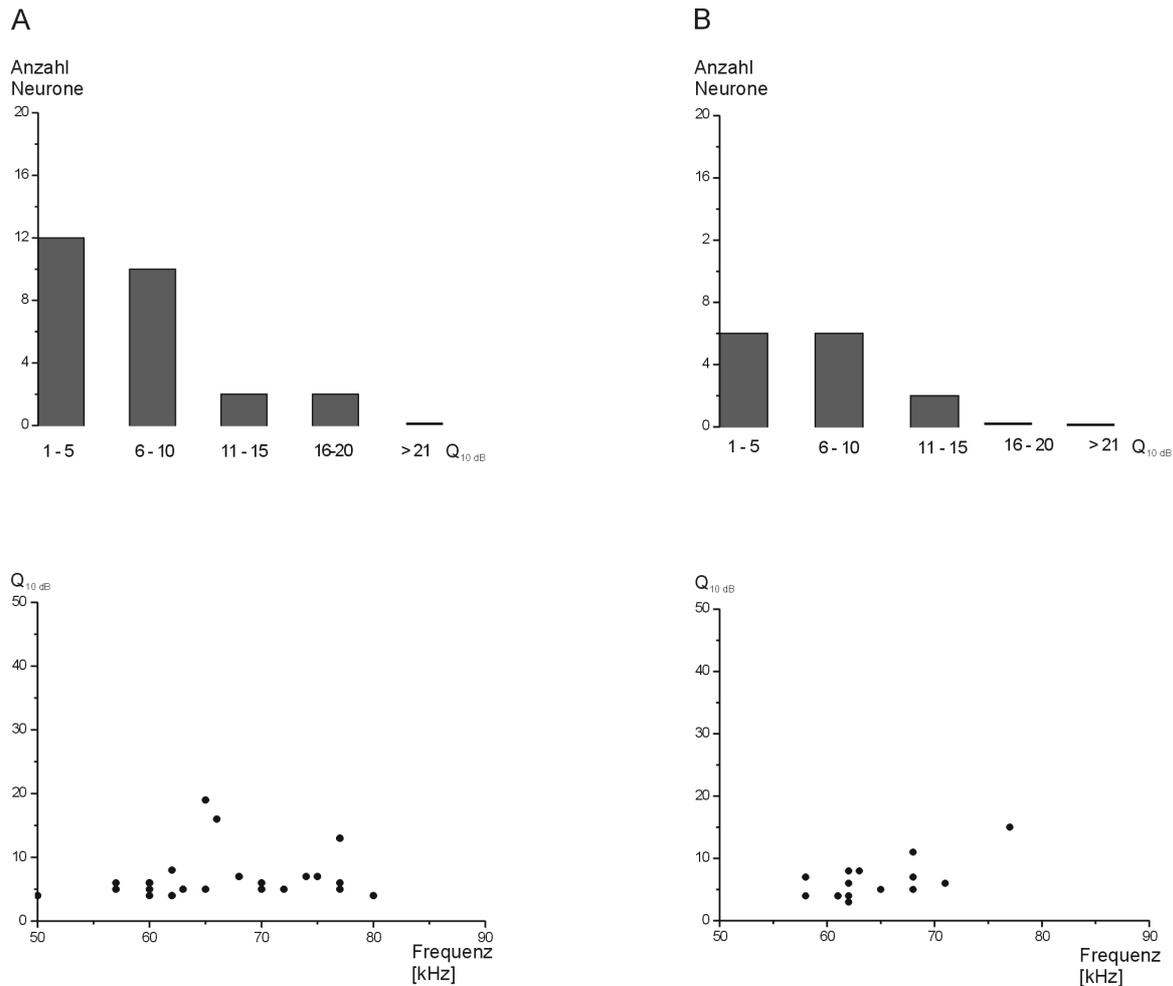
**A oben:** Beste Frequenzen und Schwellenintensitäten in dB SPL, bei denen die Neurone noch aktiv waren. Dargestellt sind die Schwellenwerte und besten Frequenzen von phasischen bzw. der 1. Aktivität „doppelt-phasischer“ Neuronen.

**unten:** Exemplarische Abstimmkurven dreier phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen.

**B** Oben / unten: Wie unter Punkt A, jedoch nur Schwellenintensitäten und Abstimmkurven der 2. Aktivität „doppelt-phasisch“ antwortender Neurone.

Ausbreitung des exzitatorischen Bereichs bei Erhöhung der Lautstärke. Vergleiche der besten Frequenzen und Intensitätsschwellen der 1. und 2. Aktivität „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen zeigten, dass die besten Frequenzen zwischen 1. und 2. Aktivitäten nicht signifikant unterschiedlich waren. Bezüglich der Intensität lagen die Schwellenwerte, an denen noch eine zweite Aktivität des Neurons gemessen werden konnte, aber signifikant höher ( $p < 0,05$ ) als die Schwellenwerte, an denen noch eine erste Aktivität des Neurons gemessen werden konnte. Abbildung 4-12A und B zeigen die aus den Abstimmkurven berechneten  $Q_{10dB}$ -Werte. Der  $Q_{10dB}$ -Wert ist der

Quotient aus der besten Frequenz eines Neurons durch das Frequenzband 10 dB überhalb der Schwellenintensität innerhalb der Abstimmkurve. Der  $Q_{10\text{dB}}$ -Wert stellt ein Maß für die Filtereigenschaft eines Neurons dar (Neuweiler, 1993).  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte phasisch bzw. „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen (1. Aktivität) und speziell die der 2. Aktivitäten „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen lagen zum größten Teil im Bereich von 1-10 während  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte im Bereich von



#### Abbildung 4-12: $Q_{10\text{dB}}$ -Werte

Insgesamt konnten 49 Abstimmkurven gemessen werden. Aus 38 Kurven konnten die  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte berechnet werden. Bei 11 Kurven konnte aufgrund von hohen Schwellenwerten bei der bF die Bandbreite 10 dB über der Schwelle nicht gemessen werden.

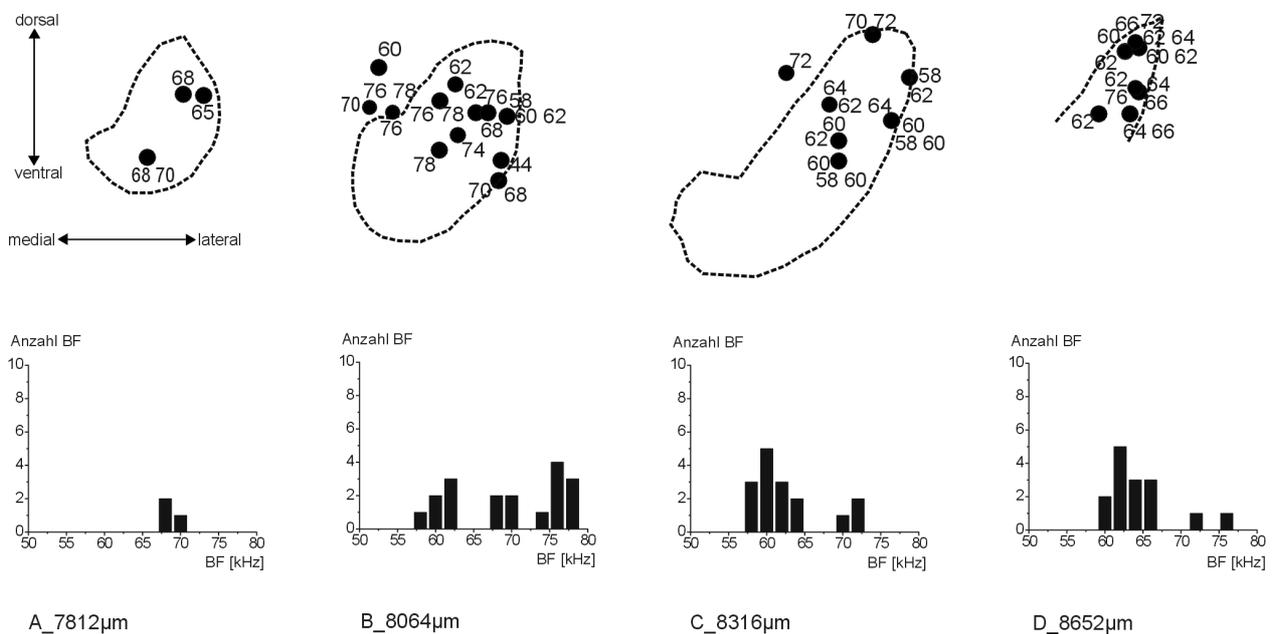
A: oben:  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte der phasisch und „doppelt-phasisch“ (1. Aktivität) antwortenden Neuronen. Die meisten  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte liegen in einem Bereich von 1- 10. Werte zwischen 11 – 20 sind nur vereinzelt zu finden.

unten:  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte sind in dieser Darstellung gegen die beste Frequenz aufgetragen. Die  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte sind homogen über den ganzen Frequenzbereich verteilt, in dem prätektale Neuronen Aktivität zeigen.

B: oben / unten: wie unter Punkt A, jedoch nur  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte der 2. Aktivität „doppelt-phasisch“ antwortender Neurone. Die  $Q_{10\text{dB}}$ -Werte scheinen zu höheren besten Frequenzen leicht anzusteigen.

11-20 im Vergleich dazu sehr selten auftraten.  $Q_{10dB}$ -Werte größer als 21 konnten in der AP nicht gemessen werden.

Die Position der 32 Neuronen mit besten Frequenzen (1. und 2. Aktivität) im Bereich der AP zeigt Abbildung 4-13. In rostro-medianen Teilen der AP (A und B) schienen überwiegend Neurone mit höheren besten Frequenzen lokalisiert zu sein (67,5 kHz  $\pm$  9,3 kHz), während im mehr caudalen Bereichen (C und D) Neuronen mit niedrigeren besten Frequenzen (62,5 kHz  $\pm$  4,6 kHz und 65,2 kHz  $\pm$  4,8 kHz) lokalisiert waren. Ein Vergleich der besten Frequenzen innerhalb der verschiedenen r/c-Ebenen untereinander ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied. Eine klare topographische Frequenzverteilung innerhalb der AP konnte damit nicht gesichert werden.



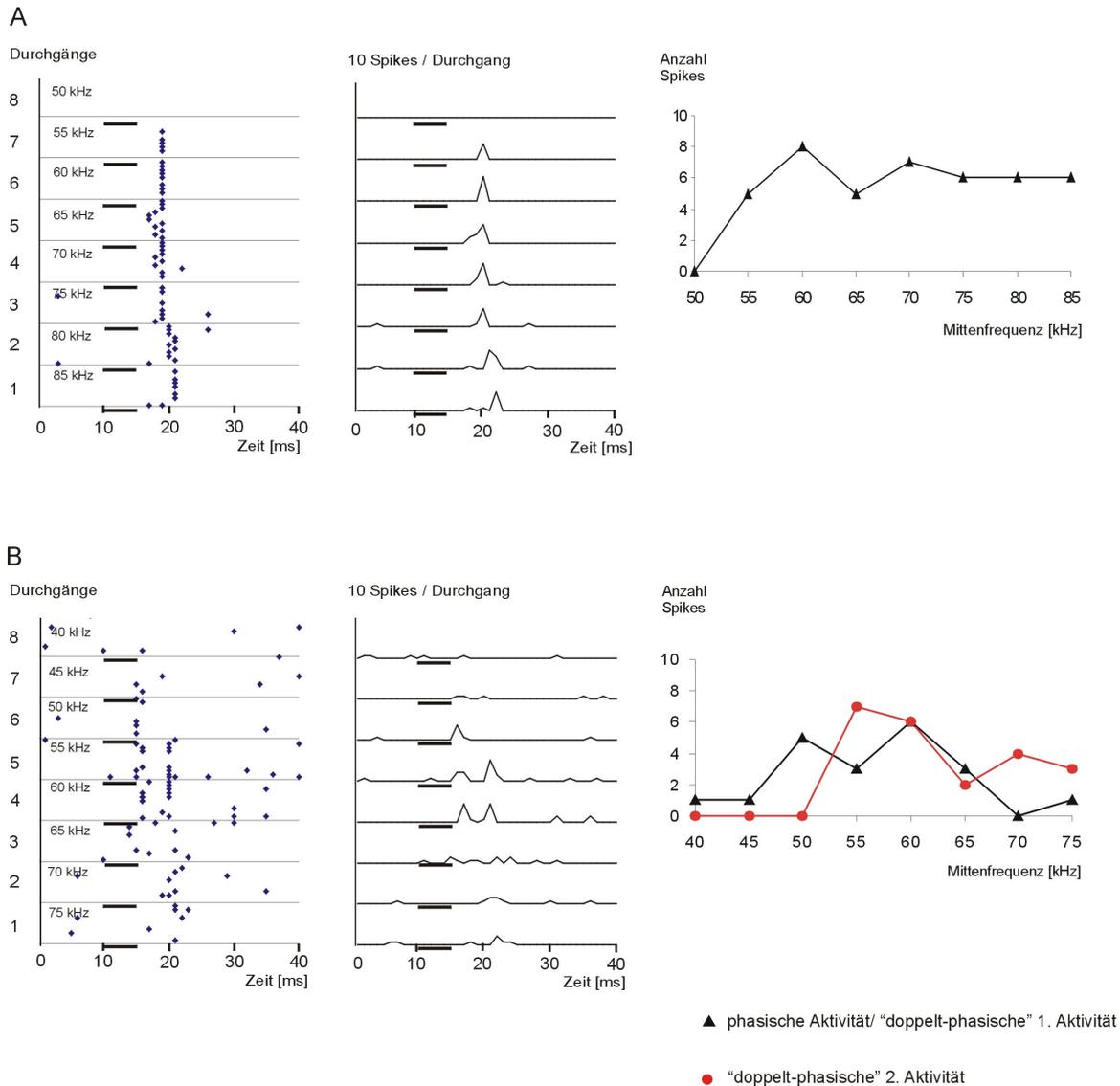
#### Abbildung 4-13: Frequenzverteilung innerhalb der AP

Lagepunkte und dazugehörige beste Frequenzen prätektaler Neuronen. Bei Neuronen mit zwei Frequenzangaben handelt es sich um Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster und zwei besten Frequenzen. Unterhalb der AP-Abgrenzungen ist die Anzahl und Verteilung gefundenen besten Frequenzen der jeweiligen Abgrenzung eingetragen. Im Abgrenzungsbereich B ist die beste Frequenz von 44 kHz in der Verteilungsabbildung nicht angeführt. Die rostro-caudale Lage ist in  $\mu$ m Atlaskoordinaten unterhalb der einzelnen Markierungen angegeben.

#### 4.3.2.4 Neuronale Antworten auf abwärts frequenzmodulierte Reize

Alle untersuchten Neuronen bzw. Neuronengruppen in der AP reagierten auf abwärts frequenzmodulierte Reize. Abbildung 4-14A zeigt die Aktivität des gleichen prätektalen Neurons wie unter Punkt 4.3.2.3 und Abbildung 4-9 beschrieben auf verschiedene abwärts frequenzmodulierte Reize

mit acht Mittenfrequenzen im Bereich von 50-85 kHz. Bei einer Mittenfrequenz von 55 kHz begann das Neuron aktiv zu werden und diese Aktivität stieg bei Erhöhung der Reizfrequenz an. Bei 60 kHz erreichte das Neuron die höchste Aktivität. Auch bei frequenzmodulierten Reizen hatte nicht jeder akustische Reiz im Bereich der besten Reizfrequenz eine Aktivität zur Folge. Der größte



**Abbildung 4-14: Neuronale Antworten auf abwärts frequenzmodulierte Reize**

Dot-Raster-Diagramme und korrespondierende PSTH der Antworten der gleichen zwei Neuronen aus Abbildung 4-8 auf abwärts frequenzmodulierte Reize. Die Reize hatten bei beiden Aufnahmen eine Länge von 5 ms und einen negativen Frequenzhub ( $\bullet$  F) von 20 kHz.

A: Antwort des Neurons mit phasischem Aktivitätsmuster auf acht abwärts frequenzmodulierte Reize mit einem Mittenfrequenzbereich von 50 bis 85 kHz.

B: Antwort des Neurons mit „doppelt-phasischem“ Aktivitätsmuster auf acht abwärts frequenzmodulierte Reize mit einem Mittenfrequenzbereich von 40 bis 75 kHz. Sonstige Darstellungsparameter wie in Abbildung 4-8.

Teil der prätektalen Neuronen und Neuronengruppen zeigte bei den 10 Wiederholungen pro Reizfrequenz in besten Bereichen eine Aktivität auf 6-9 der 10 Reizpräsentationen.

Abbildung 4-14B zeigt die Aktivität des gleichen unter Punkt 4.3.2.3 beschriebenen „doppelt-phasisch“ antwortenden Neurons auf acht verschiedene abwärts frequenzmodulierte Reize im Bereich von 40-75 kHz. Bei 50 kHz wurde das Neuron aktiv und diese erste Aktivität zog sich über einen Bereich von 15 kHz, erreichte ihr Maximum bei 60 kHz und fiel bei 65 kHz stark ab. Bei 55 kHz setzte bei diesem Neuron wieder parallel eine verzögerte zweite Aktivität auf den akustischen Reiz ein. Der Antwort-Verlauf war dem der ersten Aktivität ähnlich, die Verzögerung lag in einem Bereich von 6 ms.

#### 4.3.2.5 Vergleiche neuronaler Aktivitäten

Insgesamt wurden von 53 Neuronen bzw. Neuronengruppen (40 Neuronen mit phasischem bzw. „doppelt-phasischem“ Antwortmuster / 13 Neuronengruppen mit tonischem Antwortmuster) die maximalen Antworten auf Reintöne und abwärtsfrequenzmodulierte Reize miteinander verglichen (Wilcoxon-Test).

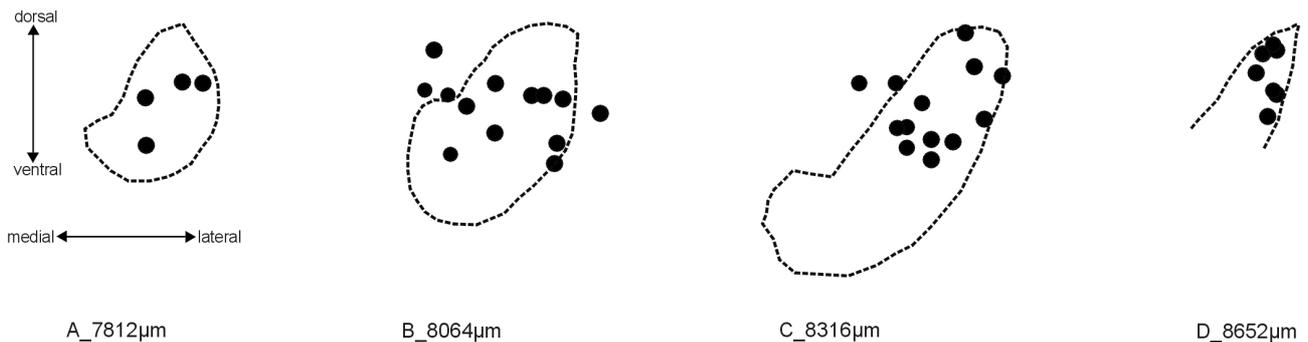
Sechs Neuronen bzw. Neuronengruppen (11,3 %; zwei phasisch antwortende Neuronen und vier tonisch antwortende Neuronengruppen) zeigten einen signifikanten Unterschied ( $p < 0.05$ ) in der neuronalen Aktivität bezüglich beider Reizklassen. Alle sechs Neuronen bzw. Neuronengruppen wiesen eine signifikant stärkere Aktivität auf Reintöne als auf abwärts frequenzmodulierte Reize auf. Alle anderen Neuronen bzw. Neuronengruppen (88,7 %) zeigten auf die beiden Reizklassen eine vergleichbare neuronale Aktivität.

#### 4.3.3. Neuronale Antworten auf unterschiedliche Reizdauern

37 der 63 Neuronen bzw. Neuronengruppen wurden auf ihre Selektivität für eine bestimmte Reizdauer untersucht. Als akustische Reize dienten die jeweiligen sRT's bzw. sFM's (stärkste Reintonfrequenz bzw. stärkste Mittenfrequenz; siehe auch Kapitel 3; Punkt 3.3.2.5.2) der untersuchten Neuronen. 26 der 37 Neuronen (70,2%) hatten ein „doppelt-phasisches“ Antwortmuster, sieben der 37 Neuronen hatten ein phasisches Antwortmuster und vier der Neuronen hatten ein tonisches Antwortmuster.

Eine Selektivität war gegeben, wenn das Aktivitätsmaximum auf eine bestimmte Reizdauer oder eine Folge von Reizdauern gegenüber den Aktivitätsmaxima kürzerer oder längerer Reizdauern um mehr als 50 % erhöht war, bzw. die Aktivitätsmaxima kürzerer oder längerer Reizdauern um mehr als 50 % gegenüber einer bestimmten Reizdauer oder Folge von Reizdauern erniedrigt waren

(Ehrlich et al., 1997; Galazyuk and Feng, 1997; Fuzessery and Hall, 1999; Casseday et al., 2000). Anhand dieses verwendeten Kriteriums konnten bei allen 37 getesteten Neuronen bzw. Neuronengruppen Veränderungen der neuronalen Aktivität in Abhängigkeit von der Reizdauer auf Reintöne und / oder abwärts frequenzmodulierte Reize beobachtet werden. Abbildung 4-15 zeigt die Lage der auf Reizdauerabhängigkeit untersuchten 37 Neuronen in den r/c-Ebenen der AP.



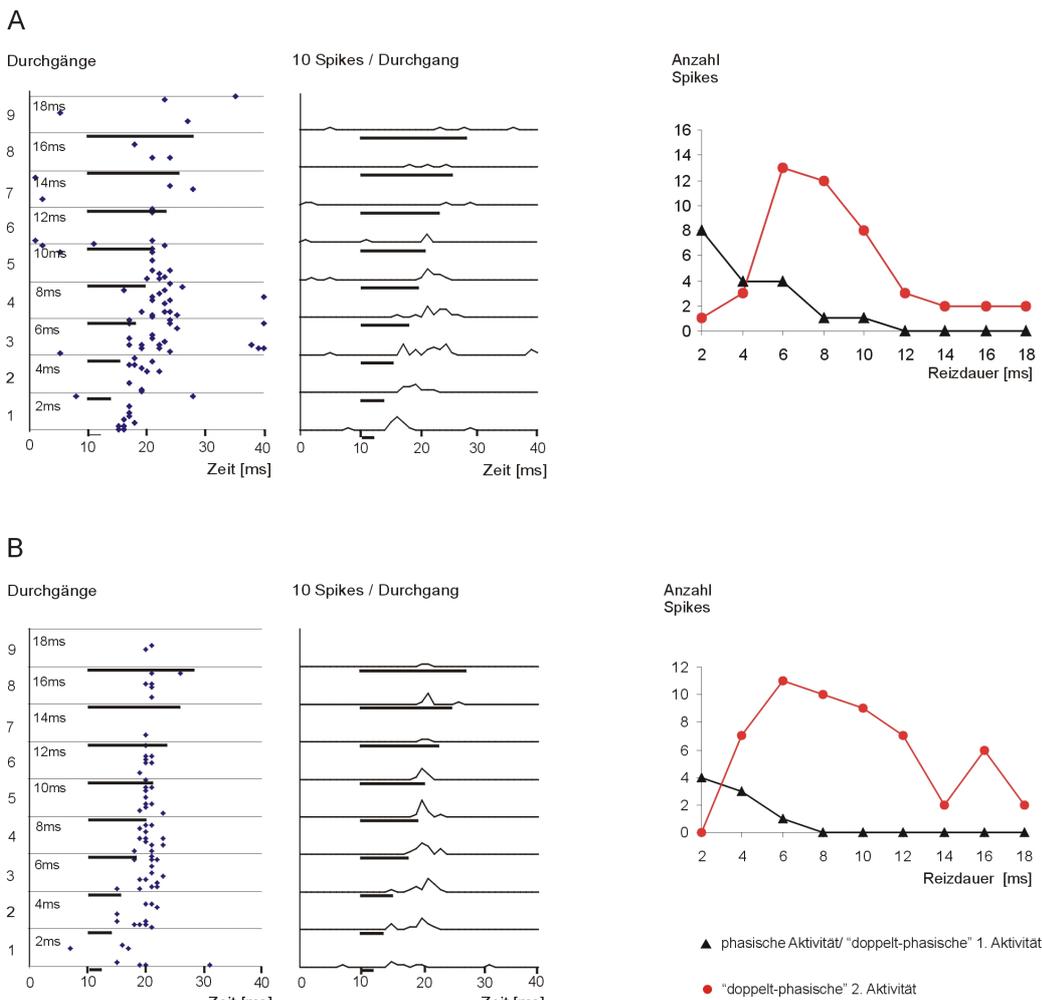
**Abbildung 4-15: Lagepunkte der auf Reizdauer untersuchten Neurone**

Lagedarstellung der auf die Reizdauer getesteten Neuronen im prätektalen Bereich. Unter den einzelnen Abbildungen ist die rostro-caudale Lage in µm Standardatlaskoordinaten angegeben. Alle der untersuchten Neurone zeigten auf Reintöne und / oder abwärts frequenzmodulierte Reize eine Aktivitätsveränderung bezüglich der Reizdauer.

Es konnten fünf unterschiedliche Reizdauercharakteristiken (Punkt i – v) in der Aktivität prätektaler Neuronen bzw. Neuronengruppen beobachtet werden, die in den Abbildungen 4-16 und 4-17 dargestellt sind.

(i.) Neuronen bzw. Neuronengruppen antworteten maximal auf die kürzeste präsentierte Reizdauer und die Antworten auf größere Reizdauern fielen auf Werte um weniger als 50 % der Maximalantwort ab (1. Aktivität in Abbildung 4-16A und 1. Aktivität in Abbildung 4-16B). Diese Neuronen zeigten in ihrer neuronalen Antwort eine Kurzzeit- oder S-Charakteristik. Diese Art der neuronalen Aktivierung konnte nur beobachtet werden, wenn als akustischer Reiz ein abwärts frequenzmodulierter Reiz (sFM) gewählt wurde.

(ii.) Neuronen bzw. Neuronengruppen antworteten maximal auf eine bestimmte Reizdauer und die Antworten auf Reizdauern unter- bzw. überhalb dieser Reizdauer fielen auf Werte < 50 % der Maximalantwort ab (2. Aktivität in Abbildung 4-16A und 1. Aktivität in Abbildung 4-17B). Diese Neuronen bzw. Neuronengruppen zeigten in ihrer neuronalen Antwort eine Zeitband- oder B-Charakteristik.



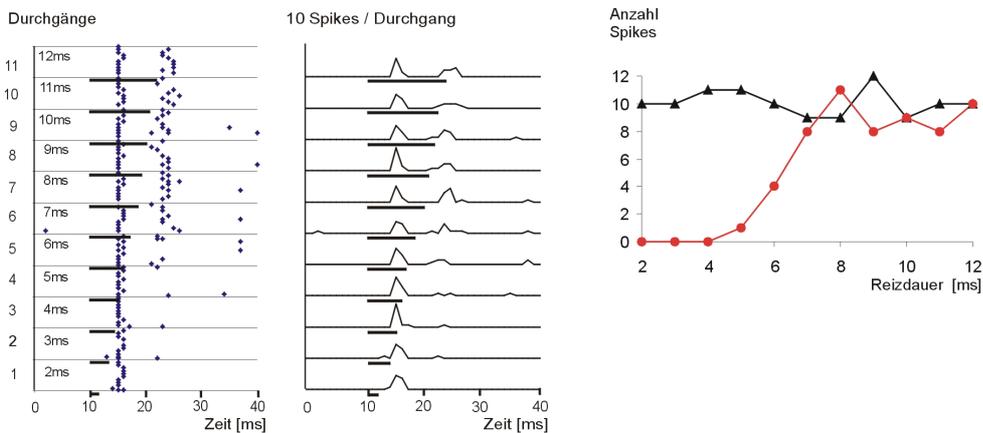
#### Abbildung 4-16: Abhängigkeit von der Reizdauer (abwärts frequenzmodulierte Reize)

Dargestellt sind die neuronalen Aktivitäten zweier Neurone mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster auf abwärts frequenzmodulierte Reize unterschiedlicher Dauer. In den jeweiligen Durchgängen ist die Reizdauer am linken Rand des Dot-Raster-Diagramms angegeben. Am rechten Bildrand ist für beide Neurone die Anzahl der Spikes pro Zeitfenster gegen die Reizdauer aufgetragen

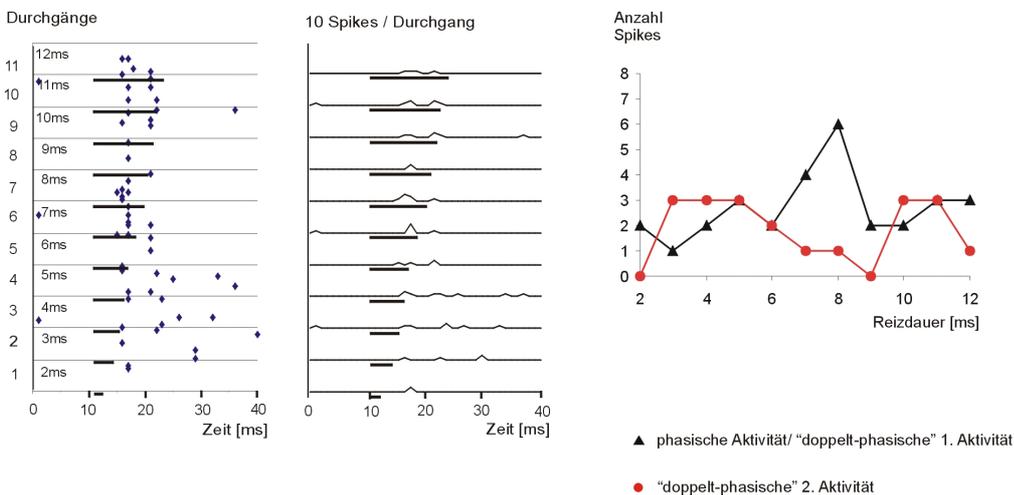
**A:** Antwort eines Neurons auf einen abwärts frequenzmodulierten Reiz mit einer Mittenfrequenz von 65 kHz und einem negativen Frequenzhub von 20 kHz. Nach einer Latenz von 7 ms zeigte das Neuron bei der kürzesten präsentierten Reizdauer die höchste Aktivität, die dann bei folgenden Reizdauern kontinuierlich abfiel und bei Reizdauern oberhalb von 10 ms nicht mehr vorhanden war. Ab einer Reizdauer von 4 ms war eine ca. 5 ms versetzte zweite Aktivität beobachtbar, die bei 6 ms Reizdauer ihr Maximum hatte und zu höheren Reizdauern wieder abfiel. Bezüglich der 1. Aktivität zeigte das Neuron eine S-Charakteristik, während die 2. Aktivität eine B-Charakteristik aufwies.

**B:** Antwort eines Neurons auf einen abwärts frequenzmodulierten Reiz mit einer Mittenfrequenz von 65 kHz und einem negativen Frequenzhub von 20 kHz. Bei einer Reizdauer von 2 ms zeigte das Neuron nach 6 ms Latenz die höchste Aktivität, die bei folgenden steigenden Reizdauern stetig geringer wurde und ab einer Reizlänge von 8 ms gegen Null ging. Ab einer Reizdauer von 4 ms zeigte das Neuron eine beginnende 2. Aktivität, die bei 6 ms Reizdauer ihr Maximum hatte und zu höheren Reizlängen abfiel und bei einer Reizdauer von 14 ms eine sehr geringe Aktivität zeigte. Bei der folgenden Reizdauer von 16 ms erhöhte sich die Aktivität aber wieder um mehr als das Doppelte und fiel bei der folgenden Reizdauer von 18 ms wieder um mehr als die Hälfte ab. Das Neuron zeigte bezüglich der 1. Aktivität wie das andere Neuron eine S-Charakteristik, während die 2. Aktivität mit den zwei getrennten Aktivitätsmaxima eine M-Charakteristik aufwies.

A



B



### Abbildung 4-17: Abhängigkeit von der Reizdauer (Reintöne)

Dargestellt sind die neuronalen Aktivitäten zweier Neurone mit doppelt-phasischem Antwortmuster auf Reintöne unterschiedlicher Dauer. In den jeweiligen Durchgängen ist die Reizdauer am linken Rand des Dot-Raster-Diagramms angegeben. Am rechten Bildrand ist für beide Neurone die Anzahl der Spikes pro Zeitfenster gegen die Reizdauer aufgetragen.

**A:** Antwort eines Neurons auf einen Reinton mit einer Frequenz von 70 kHz. Nach einer Latenz von 6 ms antwortete das Neuron mit gleichbleibender Aktivität auf den akustischen Reiz unabhängig von der Dauer des Reizes. Ab einer Reizdauer von 5 ms zeigte das Neuron eine ansteigende 2. Aktivität bis zu einer Reizlänge von 8 ms, die zu höheren Reizdauern wieder etwas abnahm und folgend annähernd konstant blieb. Bezüglich der 1. Aktivität zeigte das Neuron keine Abhängigkeit von der Reizdauer, während die 2. Aktivität eine L-Charakteristik aufwies.

**B:** Antwort eines Neurons auf einen Reinton mit einer Frequenz von 65 kHz. Das Neuron zeigte in seiner 1. Aktivität bei Reizdauern bis 6 ms schwankende Werte. Ab einer Reizdauer von 7 ms stieg die Aktivität an und erreichte bei 8 ms ihr Maximum. Bei der folgenden Reizdauer von 10 ms brach die 1. Aktivität des Neurons wieder um mehr als die Hälfte ein und blieb bei folgenden Reizdauern weiter gering. Ab einer Reizdauer von 3 ms zeigte das Neuron eine 2. Aktivität, die über eine Folge von Reizdauern kontinuierlich erhalten blieb und ab einer Reizdauer bei 7 ms um mehr als die Hälfte abnahm. Erst ab einer Reizdauer von 10 ms stieg die Aktivität wieder um mehr als das Doppelte an und fiel bei einer Reizdauer von 12 ms wieder stark ab. Bezüglich der 1. Aktivität zeigte das Neuron eine B-Charakteristik, während die 2. Aktivität des Neurons eine M-Charakteristik aufwies.

- (iii.) Neuronen bzw. Neuronengruppen zeigten bei kurzen akustischen Reizen keine Aktivität und begannen erst ab einer bestimmten Reizdauer zu antworten. Die Stärke der Antwort der Neuronen bzw. Neuronengruppen erhöhte sich kontinuierlich mit der Reizdauer und erreichte bei größeren Reizdauern einen Plateauwert oder stieg kontinuierlich bis zur größten getesteten Reizdauer an (2. Aktivität in Abbildung 4-17A). Diese Neuronen zeigten eine Langzeit- oder L-Charakteristik.
- (iv.) Neuronen bzw. Neuronengruppen zeigten im Rahmen der präsentierten akustischen Reize unterschiedlicher Dauer mehrere bevorzugte Reizdauern. Die Stärke der neuronalen Antwort unter- bzw. überhalb der jeweiligen bevorzugten Reizdauern war um mehr als 50 % erniedrigt (2. Aktivität in Abbildung 4-16B und 2. Aktivität in Abbildung 4-17B). Diese Neuronen bzw. Neuronengruppen zeigten eine multiple Charakteristik oder M-Charakteristik.
- (v.) Neuronen bzw. Neuronengruppen zeigten keinerlei von der Reizdauer abhängige Aktivität (1. Aktivität in Abbildung 4-17A).

#### 4.3.3.1 „Doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen

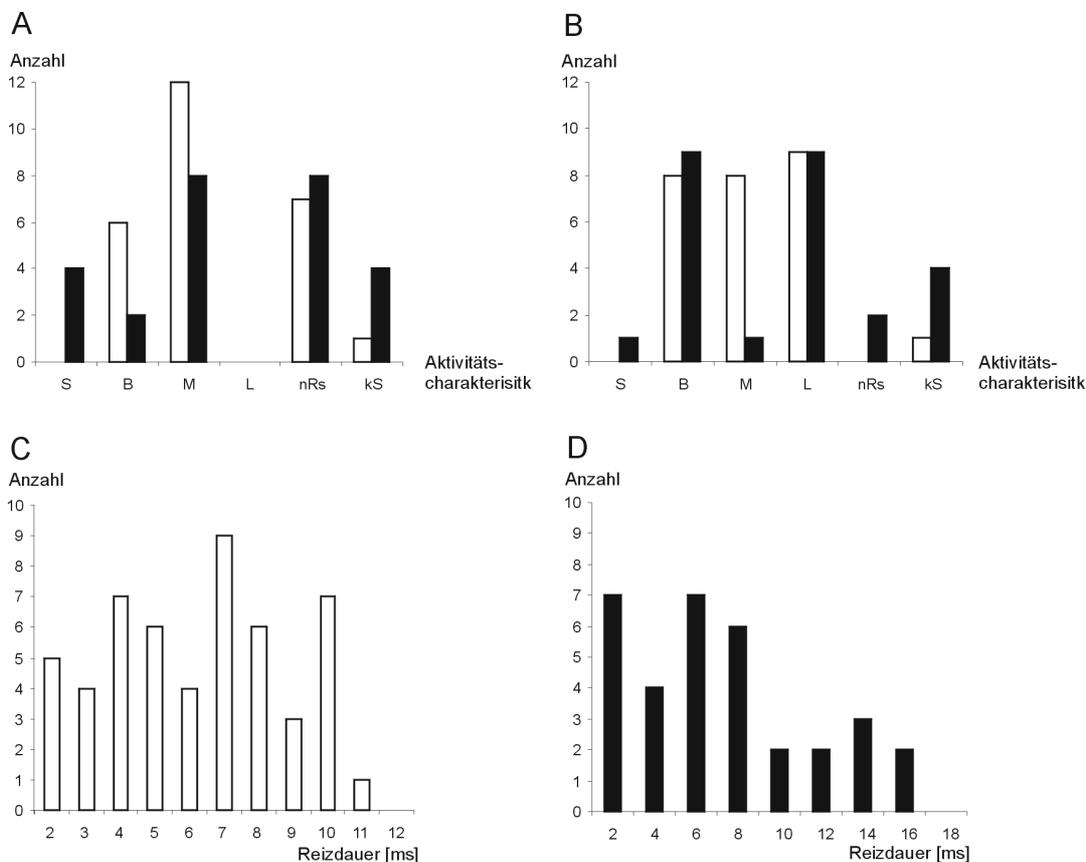
Alle 26 Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster zeigten in ihrer neuronalen Antwort auf die akustischen Reize in der 1. und / oder 2. Aktivität eine Selektivität für eine bestimmte Reizdauer. Besonders die 2. Aktivität der untersuchten Neuronen war stark von der Reizdauer abhängig. Abbildung 4-18A und B zeigen die beobachteten Reizdauercharakteristiken innerhalb der 1. Aktivität (A) und 2. Aktivität (B) „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen. Mit Reintönen unterschiedlicher Dauer wurden 25 der 26 Neuronen getestet. Dabei veränderte sich die 1. Aktivität von 18 der 25 Neuronen (72 %), während sie bei acht Neuronen unverändert blieb. 12 der 18 Neuronen zeigten eine M-Charakteristik, während sechs Neuronen eine B-Charakteristik zeigten. Innerhalb der 2. Aktivität ließen sich bei allen 25 Neuronen (100 %) Aktivitätsveränderungen bezüglich der Reizdauer beobachten. Neun der 25 Neuronen zeigten eine L-Charakteristik, acht eine B-Charakteristik und acht eine M-Charakteristik.

Mit abwärts frequenzmodulierten Reizen unterschiedlicher Dauer wurden 22 der 26 Neuronen getestet. 14 der 22 Neuronen (63,6 %) zeigten Veränderungen in der 1. Aktivität bei unterschiedlichen Reizdauern, während sie bei acht Neuronen unverändert blieb. Acht der 14 Neuronen zeigten eine M-Charakteristik, zwei Neuronen eine B-Charakteristik und vier Neuronen eine S-Charakteristik. Innerhalb der 2. Aktivität ließen sich bei 20 der 22 Neuronen (90,9 %) Aktivitätsveränderungen bezüglich der Reizdauer beobachten, während zwei Neuronen keine Veränderungen zeigten. Neun der

20 Neuronen zeigten eine B-Charakteristik, neun eine L-Charakteristik, ein Neuron zeigte eine M-Charakteristik und ein Neuron eine S-Charakteristik.

#### 4.3.3.2 Phasische Neuronen

Mit Reintönen unterschiedlicher Dauer wurden alle sieben Neuronen getestet. Fünf Neuronen zeigten eine M-Charakteristik in ihrer neuronalen Aktivität während zwei Neuronen keine Aktivitätsveränderungen zeigten. Mit abwärts frequenzmodulierten Reizen unterschiedlicher Dauer wurden sechs der sieben Neuronen getestet. Zwei zeigten in ihrer neuronalen Aktivität eine B-Charakteristik, zwei zeigten L-Charakteristik und zwei eine M-Charakteristik.



**Abbildung 4-18: Verteilung der Aktivitätscharakteristiken und bevorzugten Reizdauern**

**S:** S-Charakteristik; **B:** B-Charakteristik; **M:** M-Charakteristik; **L:** L-Charakteristik; **nRs:** nicht auf die Reizdauer selektiv; **kS:** nicht auswertbar;

**weiße Balken:** mit Reintönen getestete Neuronen; **schwarze Balken:** mit abwärts frequenzmodulierten Reizen getestete Neuronen.

Dargestellt ist die Ein- und Verteilung der neuronalen 1. (A) und 2. (B) Aktivitäten der 26 untersuchten „doppelt-phasisch“ antwortenden Neurone bezüglich der beobachteten Reizdauercharakteristiken. Die bevorzugten Reizdauern aller Neurone liegen bei Reintönen (C), soweit charakterisiert, in einem Bereich von 2 – 11 ms. Bei abwärts frequenzmodulierten Reizen (D) liegen die bevorzugten Reizdauern etwas höher zwischen 2 – 16 ms, wobei sich auch hier ein Großteil der bevorzugten Reizdauern in einem Bereich von 2 – 8 ms befindet

#### 4.3.3.3 Tonische Neuronen

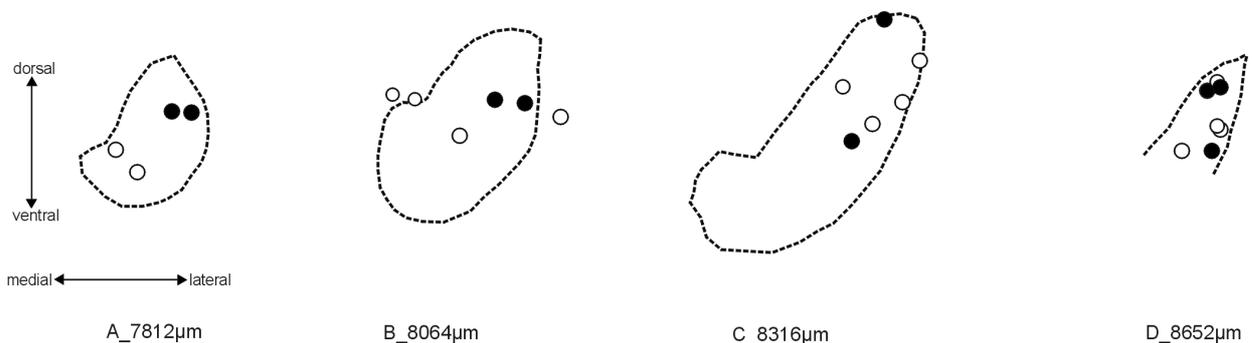
Auf Reintöne unterschiedlicher Dauer wurden alle vier Neuronen bzw. Neuronengruppen getestet. Ein Neuron bzw. Neuronengruppe zeigte eine B-Charakteristik und drei eine M-Charakteristik. Auf abwärts frequenzmodulierte Reize wurden zwei der vier Neuronen bzw. Neuronengruppen getestet. Ein Neuron bzw. Neuronengruppe zeigte eine B-Charakteristik und ein Neuron bzw. Neuronengruppe zeigte eine L-Charakteristik.

#### 4.3.3.4 Bevorzugte Reizdauern

Abbildungen 4-18C und D zeigen die bevorzugten Reizdauern der getesteten Neuronen innerhalb der AP bei Reintönen (C) und abwärts frequenzmodulierten Reizen (D). Bevorzugte Reizdauern wurden innerhalb der S-, B- und M-Charakteristiken ermittelt, da Neuronen, die in ihrer Antwort eine L-Charakteristik zeigten, keine bevorzugte Reizdauer aufwiesen. Die bevorzugten Reizdauern lagen bei Reintönen in einen Bereich von 2–11 ms und bei abwärts frequenzmodulierten Reizen etwas höher zwischen 2–16 ms, wobei ein Großteil in einem Bereich von 2–8 ms zu finden war.

#### 4.3.4 Neuronale Antworten auf Doppelreize

22 der 63 Neuronen bzw. Neuronengruppen (17 Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster, vier Neuronen mit phasischem Antwortmuster und eine Neuronengruppe mit tonischem Antwortmuster) wurden mit Doppelreizen getestet. Die tonisch antwortende Neuronengruppe zeigte keine Reaktion auf die Doppelreize. Acht der 17 Neuronen mit „doppelt-phasischem“ Antwortmuster sowie ein Neuron mit phasischem Antwortmuster zeigten eine eindeutige Reaktion auf



#### Abbildung 4-19: Lage der auf Doppelreize sensiblen Neurone

Dargestellt sind die Lage der Neurone, die mit Doppelreizen getestet wurden. Schwarz markierte Neurone repräsentieren durch Doppelreize aktivierbare Neurone, während die anderen Neurone keine speziellen Reaktionen auf diese Reize zeigten. Unterhalb der einzelnen Abbildungen ist die rostral-caudale Lage in  $\mu\text{m}$  Atlaskoordinaten angegeben.

Doppelreize. Abbildung 4-19 zeigt die Lage der mit Doppelreizen getesteten prätektalen Neuronen im Überblick. Die durch Doppelreize aktivierbaren Neuronen waren über die gesamte rostro-caudale Ausdehnung der AP verteilt.

#### 4.3.4.1 „Doppelt-phasisch“ antwortende Neuronen

Abbildung 4-20A zeigt die Antwort eines Neurons auf eine Reihe von Doppelreizen mit verschiedenen Interstimulusintervallen. Drei der acht Neuronen antworteten in dieser Art auf Doppelreize. Auf den 1. Reiz antwortete das Neuron mit einer konstanten Aktivität nach 8 ms Latenz. Auf den zum 1. Reiz verzögerten Beginn des 2. Reizes zeigte das Neuron eine 2. Aktivität für Interstimulusintervalle von 3,2 und 5,4 ms mit einem Antwortmaximum bei 5,4 ms. Längere Interstimulusintervalle als 5,4 ms führten zu keiner Antwort auf den zweiten Reiz. Die Latenz bis zum Auftreten der 2. Aktivität war bei dieser Gruppe konstant zum Beginn des Doppelreizes gekoppelt. Die Antwort eines anderen prätektalen Neurons zeigt Abbildung 4-20B. Vier der acht Neuronen antworteten in dieser Art auf die präsentierten Doppelreize. Ähnlich dem unter (A) beschriebenen Neuron antwortete dieses Neuron auf den 1. Reiz mit einer 1. Aktivität nach ca. 7 ms Latenz. Auf den zum 1. Reiz verzögerten Beginn des 2. Reizes zeigte das Neuron eine 2. Aktivität für Interstimulusintervalle von 7,6 und 9,8 ms mit einem Antwortmaximum bei 9,8 ms. Längere Interstimulusintervalle als 9,8 ms führten zu keiner Antwort auf den 2. Reiz. Im Gegensatz zum oben (A) beschriebenen Neuron war hier die 2. Aktivität an den 2. Reiz gekoppelt, was sich in einer Verschiebung der Latenz ausdrückte.

Abbildung 4-20C zeigt die Antwort eines weiteren Neurons des „doppelt-phasischen“ Antworttyps. Dieses Aktivitätsmuster konnte nur bei diesem einen Neuron gemessen werden. Auf den 1. Reiz antwortete dieses Neuron ähnlich den vorher beschriebenen Neuronen mit einer konstanten Aktivität nach ca. 7 ms Latenz. Die 2. Aktivität des Neurons war jedoch unabhängig vom 2. Reiz ebenfalls an den Beginn des Doppelreizes gekoppelt und zeigte keine Veränderung bezüglich unterschiedlicher Interstimulusintervalle. Ab einer Verzögerung des 2. Reizes von 9,8 ms trat bei diesem Neuron mit einer Latenz von 12-14 ms ein dritter Aktivitätsverlauf auf, der dem 2. Reiz folgte.

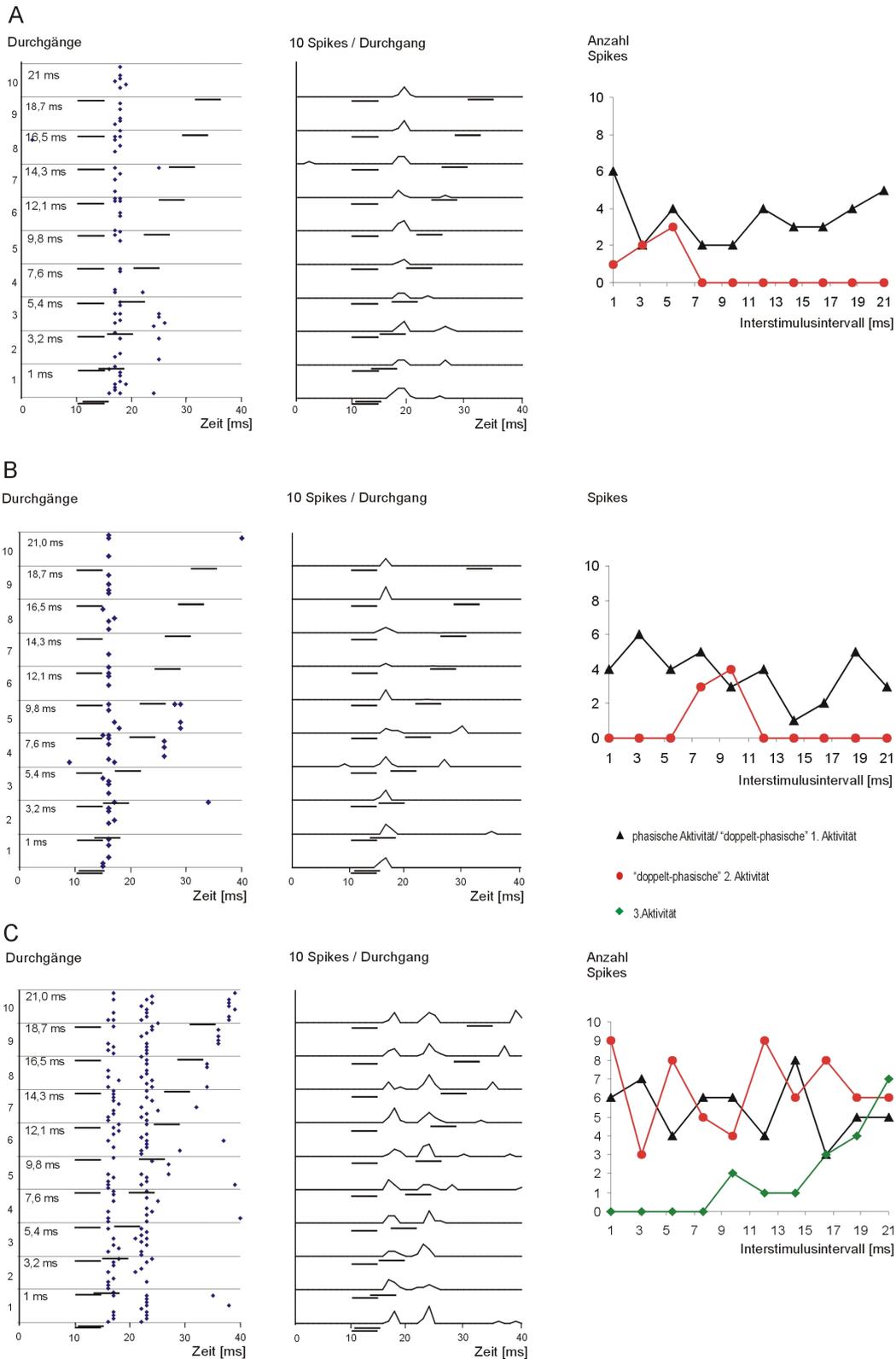


Abbildung 4-20: Legende siehe Seite 50

**Abbildung 4-20 Legende: Neuronale Antworten auf Doppelreize (Aktivitätsmuster)**

Darstellung neuronaler Antworten auf Doppelreize dreier unterschiedlicher „doppelt-phasisch“ antwortender Neuronen. In den jeweiligen Durchgängen ist das Interstimulusintervall zum Beginn des zweiten Reizes am linken Rand des Dot-Raster-Diagramms angegeben. Am rechten Rand sind die maximalen Antworten gegen die Interstimulusintervalle aufgetragen (für diese Darstellung wurde die maximale Spikezahl mit einer Binbreite von 2 ms ermittelt). Der 2. Reiz wurde bei allen drei Aufnahmen um 10 dB SPL bezüglich des 1. Reizes abgeschwächt. Der negative Frequenzhub bei allen abwärts frequenzmodulierten Reizen lag bei 20 kHz

A: Antwort eines Neurons auf eine Serie von Doppelreizen mit unterschiedlichen Interstimulusintervallen. Die beiden abwärtsfrequenzmodulierten Reize hatten eine Mittenfrequenz von 75 kHz. Drei von acht „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen zeigten dieses Antwortverhalten

B: Antwort eines Neurons auf eine Serie von Doppelreizen mit unterschiedlichen Interstimulusintervallen. Die beiden abwärtsfrequenzmodulierten Reize hatten eine Mittenfrequenz von 70 kHz. Vier von acht „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen zeigten dieses Antwortverhalten

C: Antwort eines Neurons auf eine Serie von Doppelreizen mit unterschiedlichen Interstimulusintervallen. Die beiden abwärtsfrequenzmodulierten Reize hatten eine Mittenfrequenz von 65 kHz. Nur dieses eine der acht „doppelt-phasisch“ antwortenden Neurone zeigte dieses spezielle Antwortverhalten.

**4.3.4.2 Phasisch antwortende Neuronen**

Abbildung 4-21 zeigt die gemessenen Aktivitäten des einen phasisch antwortenden Neurons. Bei Doppelreizen mit Interstimulusintervallen von 5,4 bis 12,1 ms wurde das Neuron aktiviert mit einem Antwortmaximum bei 9,8 ms (B). Längere Interstimulusintervalle führten zu keiner weiteren Aktivierung. Die Aktivierung dieses Neurons war auf den 2. Reiz gekoppelt, was zur Verschiebung der Latenz führte. Bei diesem Neuron konnte zusätzlich noch die Intensität des 2. Reizes variiert werden. Wurde der 2. Reiz gegenüber dem 1. Reiz nicht attenuiert, d.h. beide Reize hatten die gleiche Intensität, so wurde die neuronale Aktivität vermindert (A). War der 2. Reiz gegenüber dem 1. Reiz um 20 dB attenuiert, wurde die neuronale Aktivität ebenfalls vermindert (C).

**Abbildung. 4-21 siehe Seite 51****Legende: Neuronale Antworten auf Doppelreize (Intensitätsverhältnisse)**

Darstellung neuronaler Antworten auf Doppelreize eines phasisch antwortenden Neurons mit drei verschiedenen Intensitätsverhältnissen von 1. und 2. Reiz. In den jeweiligen Durchgängen ist das Interstimulusintervall zum Beginn des zweiten Reizes am linken Rand des Dot-Raster-Diagramms angegeben. Am rechten Rand (D) sind die maximalen Antworten zum jeweiligen Intensitätsverhältnis von 1. zu 2. Reiz gegen die Interstimulusintervalle aufgetragen (für diese Darstellung wurde analog zu Abbildung 4-20 die maximale Spikezahl für eine Binbreite von 2 ms ermittelt). Der abwärts frequenzmodulierte Reiz hatte eine Mittenfrequenz von 60 kHz und einen negativen Frequenzhub von 20 kHz

A: Der 2. Reiz war gegenüber dem 1. Reiz nicht abgeschwächt

B: Der 2. Reiz war gegenüber dem 1. Reiz um 10 dB SPL abgeschwächt.

C: Der 2. Reiz war gegenüber dem 1. Reiz um 20 dB SPL abgeschwächt

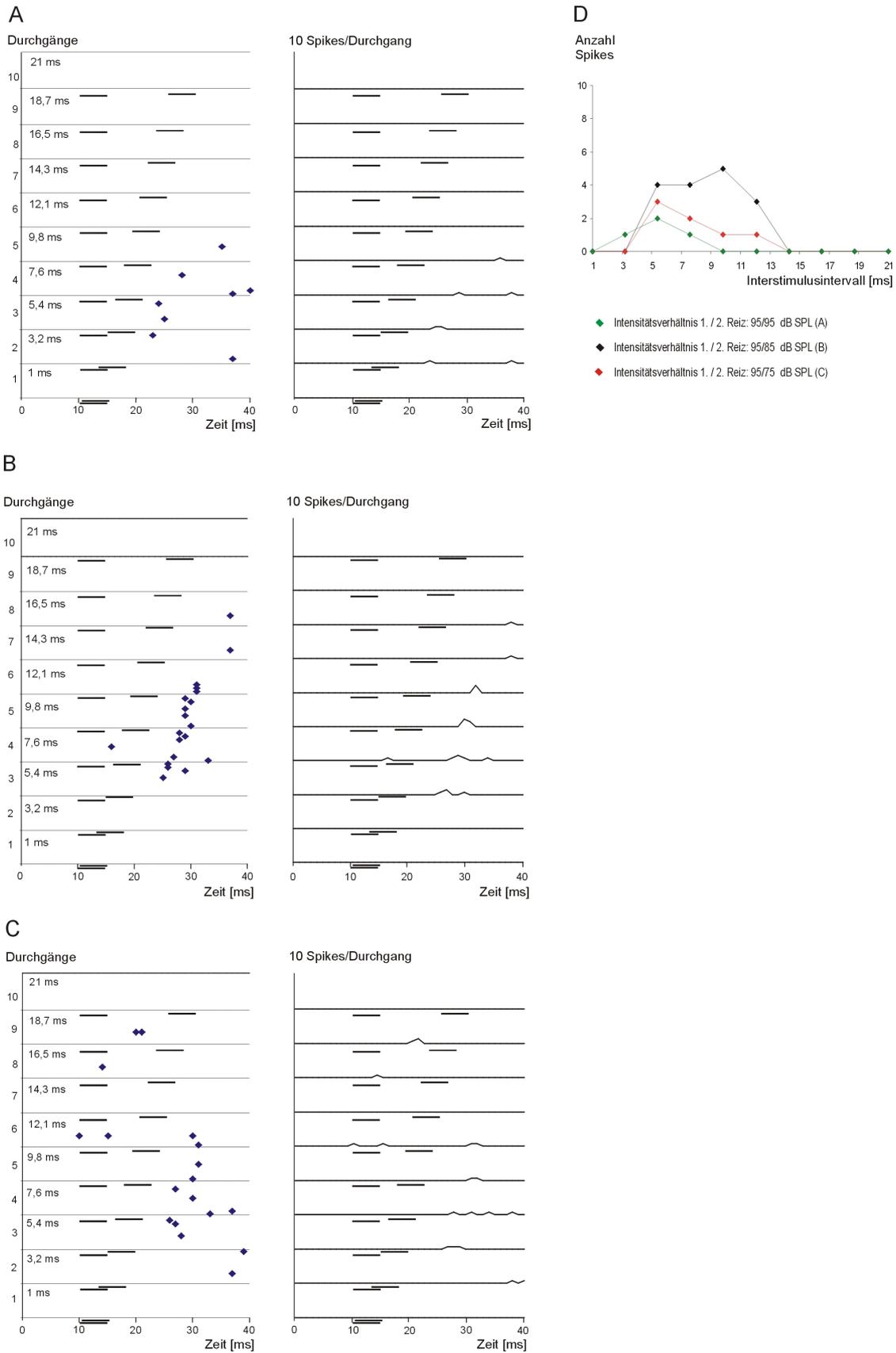
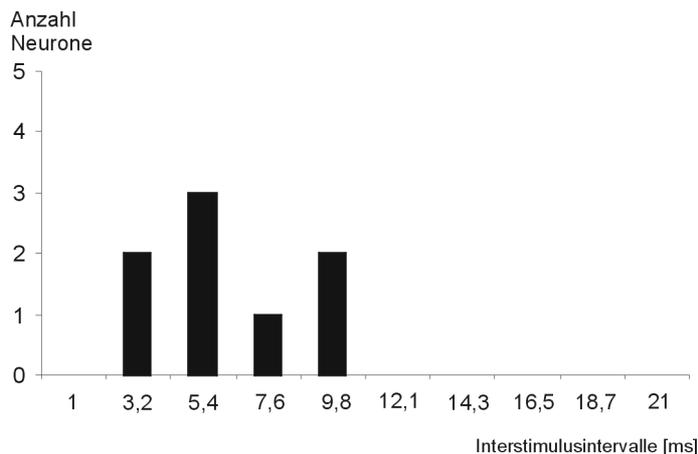


Abbildung 4-21: Legende siehe Seite 50

#### 4.3.4.3 Bevorzugte Interstimulusintervalle bei Doppelreizen

Abbildung 4-22 zeigt die Verteilung der bevorzugten Interstimulusintervalle im Überblick. Die untersuchten kombinationssensitiven prätektalen Neuronen zeigten auf Doppelreize eine eindeutige Reaktion, wenn die Interstimulusintervalle in einem Bereich von 3,2 bis 9,8 ms lagen mit einem Schwerpunkt im Bereich von 5,4 ms. Unter Einbeziehung der Schallgeschwindigkeit in Luft würden die gemessenen Interstimulusintervalle Objekt- bzw. Zielentfernungen von 54 bis 166 cm kodieren.



**Abbildung 4-22: Neuronale Antworten auf Doppelreize (Interstimulusintervalle)**

Dargestellt sind die gemessenen bevorzugten Interstimulusintervalle der durch Doppelreize aktivierbaren Neurone. Die im prätektalen Bereich mit Doppelreizen getesteten Neurone hatten bevorzugte Interstimulusintervalle zwischen 3,2 und 9,8 ms mit einem Maximum bei 5,4 ms.

#### 4.3.5 Neuronale Antworten im Colliculus superior

Der Colliculus superior wurde als angrenzendes Gebiet zur prätektalen Region nicht systematisch untersucht. Die Eigenschaften einiger Neuronen sollen zum Vergleich zu prätektalen Neuronen jedoch kurz dargestellt werden.

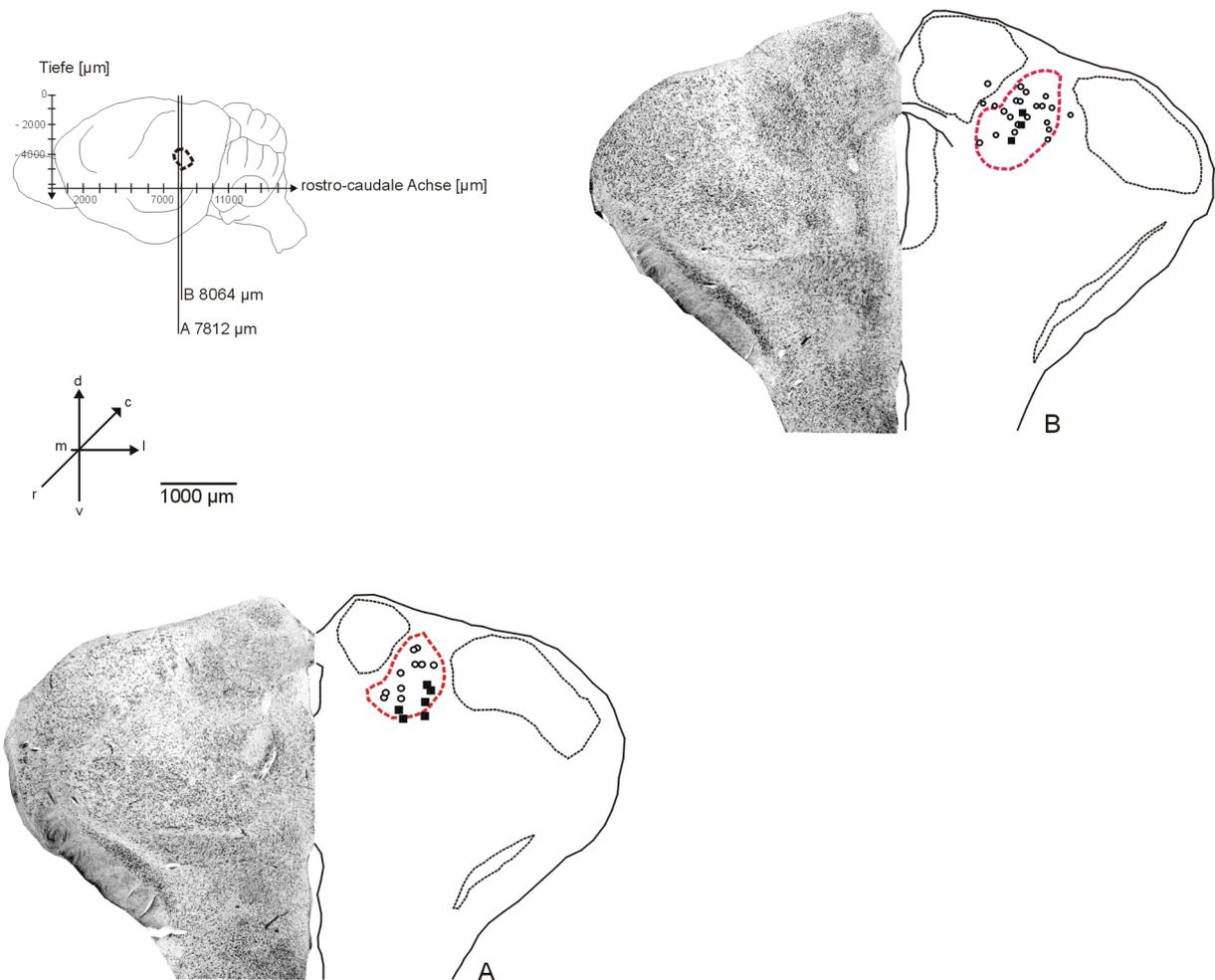
Insgesamt wurde von neun Neuronen im Bereich des Colliculus superior abgeleitet. Vier Neuronen hatten ein tonisches Antwortmuster und lagen in einem als rostro-medialer Bereich des Colliculus superior definierten Bereich (siehe Abbildung 4-6C). Die vier tonisch antwortenden Neuronen konnten nur anhand ihrer Lage als Neuronen bzw. Neuronengruppen dieses Bereichs bestimmt werden. Alle vier Neuronen zeigten tonisch antwortenden prätektalen Neuronen ähnliche Aktivierungsmuster auf Reintöne und abwärts frequenzmodulierte Reize mit Latenzen von 10–30 ms. Im Unterschied zu Neuronen bzw. Neuronengruppen der AP lagen sie in geringerer Tiefe bzw. in einem zu

den Grenzen der AP dorsalen Bereich.

Mehr caudal (siehe Abbildung 4-6D), im gut abzugrenzenden Bereichen des Colliculus superior, konnte von fünf Neuronen abgeleitet werden, die alle ein phasisches Antwortmuster zeigten. Keines dieser phasisch antwortenden Neuronen zeigte ein „doppelt-phasisches“ Antwortverhalten. Die Neuronen antworteten sowohl auf Reintöne als auch auf abwärts frequenzmodulierte Reize und hatten Latenzen von 5 ms. Auf akustische Reize unterschiedlicher Dauer war ein Neuron selektiv. Es zeigte eine B-Charakteristik. Von allen fünf Neuronen konnten die Abstimmkurven gemessen werden. Vier der fünf Neuronen zeigten V-förmige Abstimmkurven und hatten Intensitätsschwellen von 35 dB SPL +/- 8,16 dB SPL. Die  $Q_{10\text{ dB}}$ -Werte lagen bei 12,6 +/- 1,8. Ein Neuron zeigte eine Abstimmkurve mit zwei besten Frequenzen und hatte hohe Intensitätsschwellenwerte von 70 und 75 dB SPL. Auf Doppelreize zeigte keines der fünf Neuronen eine eindeutige Aktivierung.

#### 4.4 Elektrophysiologische Ableitungen während der Vokalisation

Die elektrophysiologischen Ableitungen während der Vokalisation stammen von zwei Tieren. Insgesamt wurde von 10 Neuronen im Bereich der AP während der Vokalisation abgeleitet. Vokalisationen wurden durch elektrische Mikrostimulation im Übergangsbereich Colliculus inferior / paralemniskale Zone im Mittelhirn von *P. discolor* mit Stromstärken von ca. 10-20  $\mu\text{A}$  contralateral zur Ableitposition ausgelöst. Der Abstand der Stimulationsstelle zur AP betrug ca. 2500  $\mu\text{m}$ . Stimulusartefakte und neuronale Antworten auf die Vokalisation konnten gut unterschieden werden. Bei den ausgelösten Vokalisationen handelte es sich um 1-1,5 ms lange multiharmonische (3-4 unterscheidbare Harmonische) Vokalisationen, die den Echoortungsrufen von *P. discolor* entsprachen. Die Antworten der Neuronen wurden über 250 ms ab dem Beginn der Stimulation aufgenommen. Abbildung 4-23 zeigt die Lage der abgeleiteten Neuronen in zwei frontalen Schnittebenen. Nur der rostrale bzw. rostro-mediane Teil der AP (r/c: 7812  $\mu\text{m}$  bis 8064  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten) wurde systematisch auf vokalisationskorrelierte Neuronen untersucht. Die gefundenen Neuronen lagen in einem ventralen Bereich der AP (A), der an thalamische Strukturen angrenzte und 250  $\mu\text{m}$  weiter caudal im Zentrum der AP lag (B). Im Falle des rostralen Bereichs (A) waren vokalaktive Neuronen im Vergleich zu akustisch aktivierbaren Neuronen mehr ventral gelegen, während im mehr caudalen Bereich (B) vokalaktive Neuronen innerhalb der Bereiche mit akustisch aktivierbaren Neuronen lokalisiert waren.



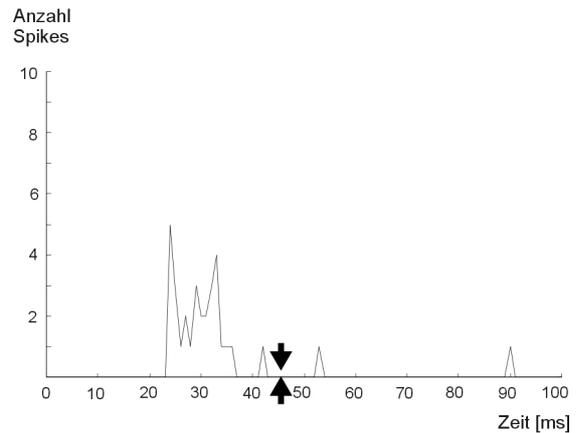
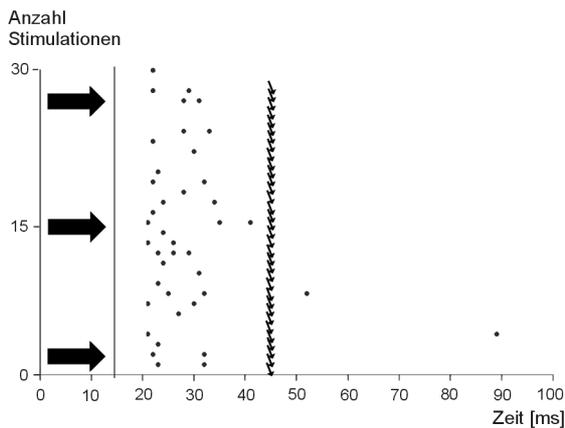
**Abbildung 4-23: Lage vokalisationsaktiver Neurone in der AP**

Lage der Neurone, von denen während elektrisch ausgelöster Vokalisationen im Bereich des IC oder der PLA abgeleitet wurde. Dargestellt ist der rostrale und beginnende mediane Teil der AP (7812 – 8064 µm in Atlaskoordinaten). Die Ableitpunkte der vokalisationsaktiven Neurone sind als Vierecke markiert. Zur Übersicht sind die Lagepunkte der in diesem Bereich gefundenen akustisch aktivierbaren Neurone als Kreise eingezeichnet.

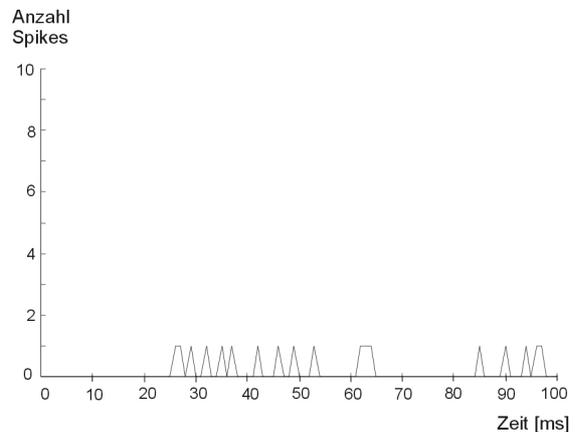
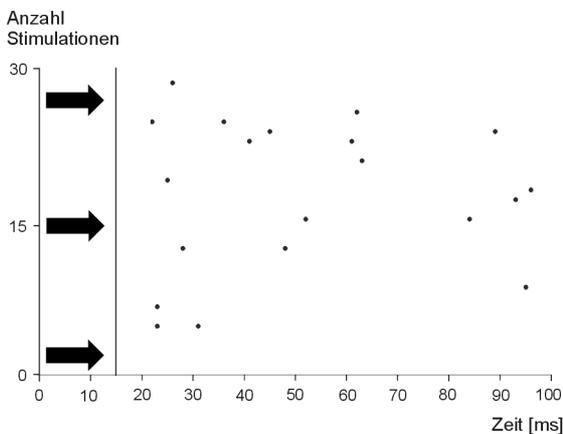
Abbildungen 4-24 und 4-25 zeigen exemplarische Beispiele von Antwortmustern prätektaler Neurone, die vor und / oder während ausgelöster Vokalisationen aktiv waren. Neun der 10 Neurone waren vor der Vokalisation aktiv. Zwischen Stimulusende und 5-10 ms vor dem Beginn der Vokalisation zeigten diese Neurone eine tonische Aktivität (Abb.4-24A). War die elektrische Stimulation im Colliculus inferior bzw. in der paralemniskalen Zone leicht unerschwellig, d.h. wurde keine Vokalisation ausgelöst, so konnte nur noch eine leichte Spontanaktivität der Neurone gemessen werden (Abb.4-24B).

Bei der Ableitung von sechs der neun Neurone wurde dem Versuchstier zusätzlich die ausgelöste eigene Vokalisation verzögert zurückgespielt. Damit konnte getestet werden, ob das Neuron zur

A



B



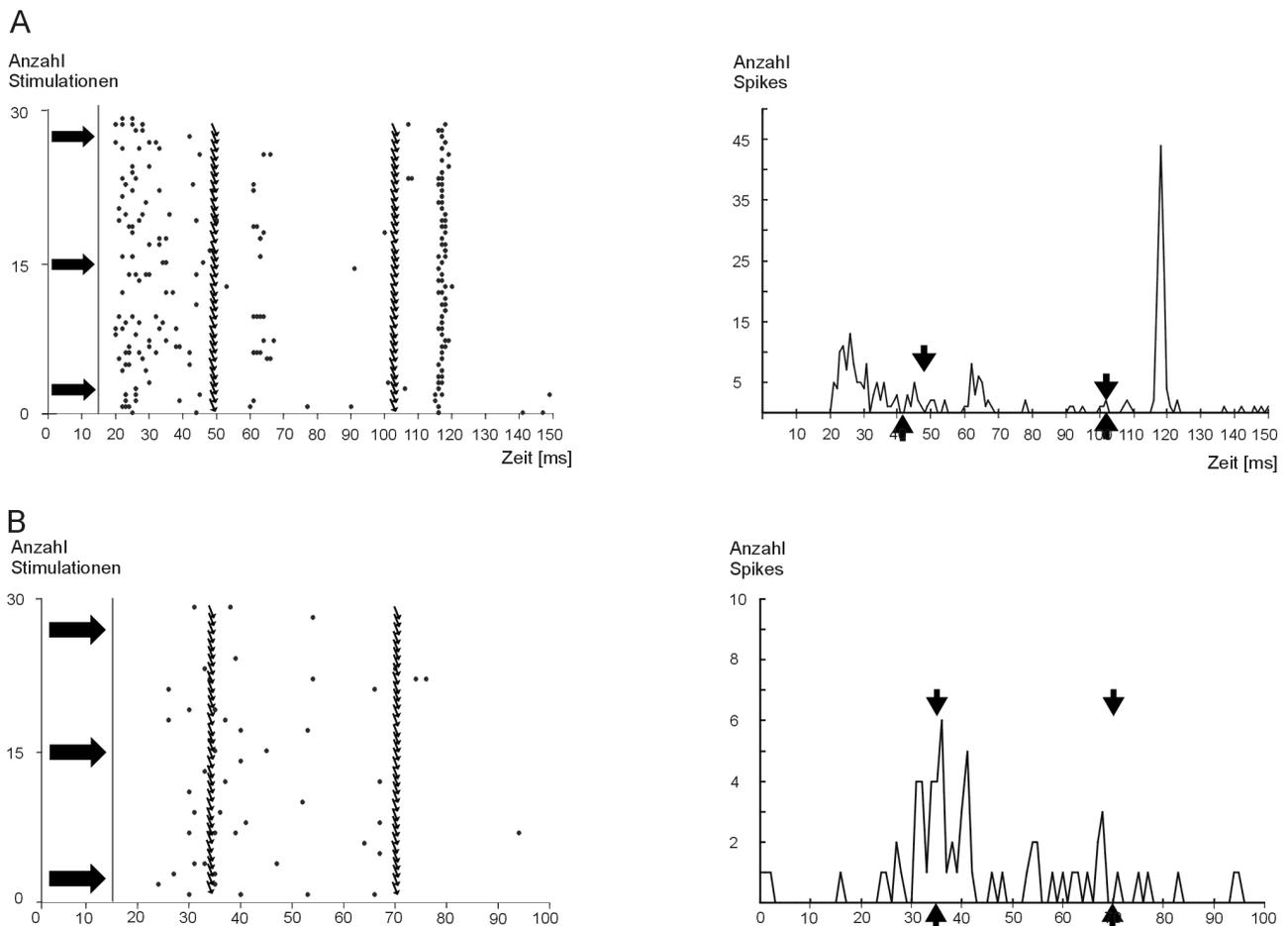
#### Abbildung. 4-24: Vokalisationsaktive Neurone in der AP I

Dargestellt sind die neuronalen Antworten eines Neurons während das Tier durch elektrische Mikrostimulation zur Vokalisation gebracht wurde (A) und während einer unterschwelligen Reizung ohne ausgelöste Vokalisationen (B). Der elektrische Reiz zur Vokalisationsauslösung begann zum Zeitpunkt 0 und dauerte 15 ms. Die schwarzen Pfeile und der abschließende Trennstrich symbolisieren diesen Stimuluszeitraum. Der Reiz zur elektrischen Auslösung der Vokalisation hatte eine Stärke von  $12 \mu\text{A}$ . Bei der unterschwelligen Reizung hatte der Reiz eine Stärke von  $11 \mu\text{A}$ . Die im Dot-Raster-Diagramm nach unten gerichteten Pfeilspitzen symbolisieren eine ausgelöste Vokalisation pro Durchgang. Die PSTH's rechts zeigen den gleichen Zeitraum mit einer Auflösung von 1 ms Binbreite. Die senkrecht gerichteten schwarzen Pfeile zeigen den Zeitpunkt des Beginns der ausgelösten Vokalisationen. In dieser Aufnahme wurde 30 mal stimuliert

A: Während das Tier durch die elektrische Mikrostimulation vokal aktiv war, konnte eine neuronale Aktivität bis ca. 10 ms vor dem Vokalisationsbeginn gemessen werden.

B: Wurde durch unterschwellige Stimulation keine Vokalisation ausgelöst, war keine Aktivität messbar.

Aktivität auf die Vokalisation auch eine Aktivität auf akustische Reize allein zeigte. Vier Neuronen wiesen auf diese zurückgespielte Vokalisation eine Aktivierung auf (Abb. 4-25A). Diese vier Neuronen und ein weiteres vokalisationsaktives Neuron wurden im Folgenden akustisch, ohne elektrische Mikrostimulation getestet. Drei Neuronen zeigten ein „doppelt-phasisches“ und zwei Neu



#### Abbildung 4-25: Vokalisationsaktive Neurone in der AP II

Dargestellt sind die neuronalen Antworten zweier Neuronen während das Tier durch elektrische Mikrostimulation zur Vokalisation gebracht wurde. In diesen beiden Fällen wurde die ausgelöste eigene Vokalisation verzögert zurückgespielt. Der elektrische Stimulus zur Vokalisationsauslösung begann zum Zeitpunkt 0 und dauerte 15 ms. Die schwarzen Pfeile und der abschließende Trennstrich symbolisieren diesen Stimuluszeitraum. Die im Dot-Raster-Diagramm nach unten gerichteten 2 Reihen von Pfeilspitzen symbolisieren die ausgelöste Vokalisation und die verzögert zurückgespielte Vokalisation. Die PSTH rechts zeigen den gleichen Zeitraum mit einer Auflösung von 1 ms Binbreite. Die senkrecht gerichteten schwarzen Pfeile zeigen den Zeitpunkt des Beginns der ausgelösten Vokalisationen und der verzögert zurückgespielten Vokalisationen. In diesen Aufnahme wurde jeweils 30 mal stimuliert

**A:** Beispiel eines vor der Vokalisation aktiven Neurons, das auch akustisch aktiv war. Der Stimulus zur elektrischen Auslösung der Vokalisation hatte eine Stärke von 20  $\mu\text{A}$ . Die Vokalisation wurde gespeichert und dem Tier in Echtzeit um 55 ms verzögert zurückgespielt. Das Neuron war bis kurz vor der Vokalisation aktiv, zeigte dann auf die eigene Vokalisation ein leichte, aber bemerkbare neuronale Antwort und wurde durch die verzögert zurückgespielte Vokalisation eindeutig aktiviert.

**B:** Aufnahme des einen in der AP gefundenen Neurons, das eine tonische Aktivität während der Vokalisation zeigte. Der Stimulus zur elektrischen Auslösung der Vokalisation hatte eine Stärke von 15  $\mu\text{A}$ . Auf die eigene Vokalisation und ein verzögertes Zurückspielen dieser Vokalisation nach 35 ms reagierte das Neuron nicht.

ronen ein phasisches Antwortmuster, ähnlich denen unter Punkt 4.3.2.3 und 4.3.2.4 beschriebenen Neuronen. Zwei der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen zeigten auf Reintöne und abwärts frequenzmodulierte Reize keine Unterschiede bezüglich der neuronalen Antwortstärken. Bei Dop-

pelreizen zeigten diese beiden Neuronen vergleichbare Reaktionen wie die unter Punkt 4.3.4 beschriebenen Neuronen. Auf den ersten abwärts frequenzmodulierten Reiz antworteten die Neuronen mit einer konstanten Aktivität nach 8 ms Latenz. Bei Interstimulusintervallen von 5,4 bis 9,8 bzw. 5,4 bis 7,6 ms zeigten beide Neuronen eine 2. Aktivität, die ihre Aktivitätsmaxima bei Interstimulusintervallen von 7,6 ms bzw. 5,4 ms hatten. Bei einem Neuron konnte analog zu Abbildung 4-20B, Punkt 4.3.4.1 eine Latenzverschiebung der 2. Aktivität bezüglich des 2. Reizes festgestellt werden, während bei dem anderen Neuron die Latenz zur 2. Aktivität konstant zum Beginn des Doppelreizes blieb. Bei einem der zwei Neuronen konnten zudem noch die Abstimmkurven beider Aktivitäten gemessen werden. Beide Kurven hatten ein V-förmiges Aussehen, ihre Intensitätsschwellen bei den besten Frequenzen (1. Aktivität bei 71 kHz, 2. Aktivität bei 64 kHz) lagen beide bei 75 dB SPL und die beiden  $Q_{10\text{ dB}}$ -Werte betragen 4,4 und 3,2. Das dritte „doppelt-phasisch“ antwortende Neuron konnte nicht ausgewertet werden.

Das phasisch antwortende Neuron war sowohl durch Reintöne als auch durch abwärts frequenzmodulierte Reize aktivierbar. Auf Doppelreize zeigte dieses Neuron keine spezielle Reaktion. Das zweite phasisch antwortende Neuron wurde nur mit einer aufgenommenen Eigenvokalisation getestet. Eines der 10 Neuronen war während der Vokalisation aktiv und zeigte eine um den Zeitpunkt der Vokalisation verteilte tonische Aktivität, die ihr Maximum zu Beginn der Vokalisation hatte (Abb. 4-25B). Die verzögert zurückgespielte Vokalisation zeigte bei diesem Neuron keine Reaktion. Weitere Tests mit akustischen Reizen führten zu keiner Aktivierung. Dieses Neuron war rein auf die Vokalisation aktiv.

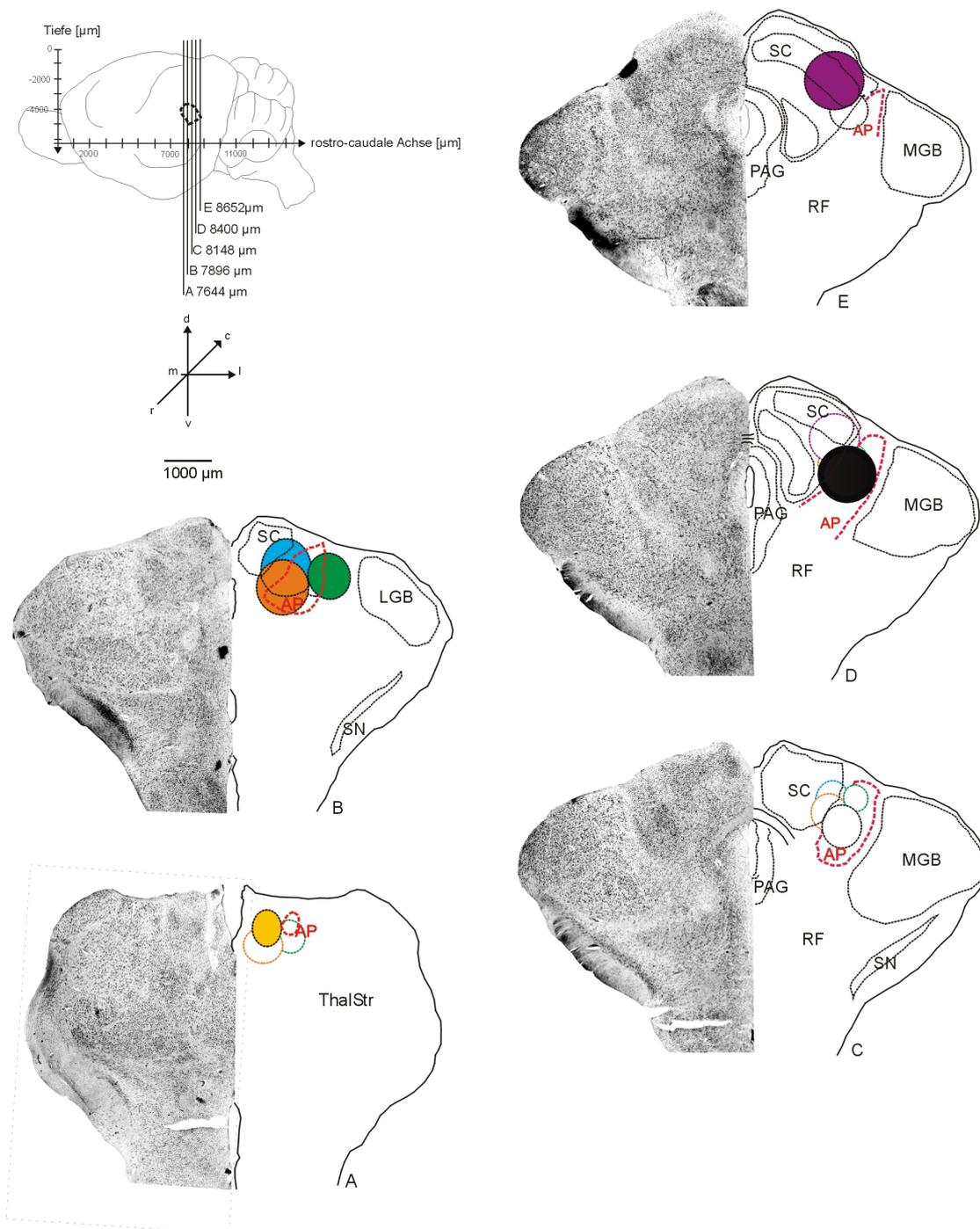
#### 4.5 Anatomische Untersuchung der prätektalen Region

Insgesamt wurde bei sechs Tieren eine 2 % WGA-HRP-Lösung als Tracer in den Bereich der AP (siehe auch Kap. 3, Punkt 3.4) injiziert. Die Ausdehnung des Injektionsort wurde bei jedem Versuchstier aus den nach der DAB-Cytochrom-C-Methode aufgearbeiteten Schnitten rekonstruiert und in den Standardatlas übertragen. Es wurden die Gebiete der höchsten Tracer-Dichte ohne umgebende Diffusionszone als Orte aktiver Aufnahme für WGA-HRP gewertet (Schuller et al., 1997). Anterograd und retrograd markierte Gehirnstrukturen wurden anhand der nach der Paratungstate-Methode (siehe auch Kap.3, Punkt 3.5) aufgearbeiteten und Nissl gegengefärbten Schnittserien rekonstruiert und in den Standardatlas übertragen.

### 4.5.1 Lokalisation der Tracerinjektionen

Abbildung 4-26 zeigt fünf Frontalschnitte aus dem Bereich der AP (analog Abbildung 4-1, Punkt 4.1). Vier der sechs Injektionsorte waren in prätektalen Bereichen (B, D) lokalisiert. Davon befanden sich drei in einem rostralen Teil der AP (B), während ein Injektionsort 500  $\mu\text{m}$  caudal (D) zu diesem Bereich gelegen war. Zwei der drei rostralen Injektionen bedeckten einen medialen bzw. ventralen, zur Gehirn-Mittellinie orientierten prätektalen Bereich (B (orange und blau)), während die dritte Injektion einen lateralen, zum medialen Kniehöcker angrenzenden Teil der AP bedeckte (B (grün)). Bei allen drei Injektionen wurden im geringen Ausmaß direkt angrenzende Gebiete des Colliculus superior auf der einen und Teile des lateral gelegenen medialen Kniehöckers auf der anderen Seite markiert. Der vierte, 500  $\mu\text{m}$  weiter caudal gelegene prätektale Injektionsort deckte innerhalb der dortigen prätektalen Grenzen mediale Bereiche ab und nur ein kleiner Bereich des Colliculus superior war betroffen.

Zwei der sechs Injektionsorte lagen fast gänzlich außerhalb prätektaler Gebiete. So war ein Injektionsort im Bereich der Habenulae rostral zur AP (A) zu finden. Diese Injektion bedeckte vor allem thalamische Strukturen und konnte Bereiche der AP, bis auf einen kleinen rostralen Teil, nicht markieren. Im anderen Fall konnte der Injektionsort allein in dem dorsal zur AP gelegenen Gebiet des Colliculus superior lokalisiert werden (E), wobei nur die rostralen Anteile dieser Injektion die AP dorsal leicht bedeckten (D).



**Abbildung 4-26: Injektionsorte WGA-HRP bei *Phyllostomus discolor***

Serie von 5 frontalen Gehirnschnitten durch die prätektale Region (AP). Der gezeigte Bereich erstreckt sich von 150 µm vor dem rostralen Anfang der AP bis zu deren caudalem Ende (7644 µm - 8652 µm in Atlaskoordinaten). In der Übersichtsdarstellung oben links ist die rostro-caudale und dorso-ventrale Ausdehnung (Tiefe) der AP im Gehirn von *P. discolor* dargestellt. Alle 6 Injektionsorte sind in unterschiedlichen Farben in die Schnitte eingetragen. Die gefüllten Bereiche entsprechen den Injektionsmittelpunkten, die in der gleichen Farbe umrandeten Flächen auf den angrenzenden Schnitten stellen die rostrale und caudale Ausbreitung der einzelnen Injektionen dar.

**AP:** prätektale Region; **LGB:** lateraler Kniehöcker; **MGB:** medialer Kniehöcker; **PAG:** periaqueduktales Grau; **RF:** retikuläre Formation; **SC:** Colliculus superior; **SN:** Substantia nigra; **ThalStr.:** nicht näher identifizierte thalamische Strukturen

## 4.5.2 Verbindungen von und zur prätektalen Region

### 4.5.2.1 Cortikale Verbindungen der prätektalen Region

Abbildung 4-27 zeigt fünf Frontalschnitte aus cortikalen Bereichen von ca. 4950  $\mu\text{m}$  rostro-caudaler Ausdehnung, in denen markierte Neuronen gefunden werden konnten. Der größte cortikale Bereich mit markierten Neuronen wurde für die Injektion gefunden, die laterale Teile der AP abgedeckt hatte (Abbildung 4-26, B (grün)). Die markierten Neuronen lagen in der cortikalen Schicht V über einen Bereich von ca. 1400  $\mu\text{m}$  in rostro-caudaler Ausdehnung (A-C) verteilt. In rostralen Cortexbereichen waren die markierten Neuronen in mehr ventralen Regionen zu finden (A), während sie mit zunehmender caudaler Lage mehr nach dorsal (B) und am caudalen Ende des markierten Cortexbereiches vorwiegend dorsal lokalisiert waren (C). In den mittleren Bereichen (B) war zusätzlich anterograde Markierung in Schicht IV von etwa 200  $\mu\text{m}$  rostro-caudaler Ausdehnung erkennbar.

Bei zwei Tieren mit mehr medialen und ventralen Injektionen, die zur Gehirnmittellinie liegende prätektale Bereiche abgedeckt hatten, konnten im Falle der mehr ventral liegenden Injektion (Abbildung 4-26, B (orange)) zwei ca. 4900  $\mu\text{m}$  auseinanderliegende markierte Bereiche im Cortex differenziert werden. Im Bereich des Claustrums (A) und des Subiculums (E) konnten retrograd markierte Neuronen gefunden werden, deren rostro-caudale Ausdehnung ca. 300  $\mu\text{m}$  bzw. ca. 200  $\mu\text{m}$  betrug.

Im Fall der medial gelegenen Injektion (Abbildung 4-26, B (blau)) wurden keine cortikalen Bereiche markiert. Im Cortex wurde durch die Injektion in den caudalen Teil der AP (Abbildung 4-26D) nur ein kleines dorsal gelegenes Gebiet markiert (D), das eine rostro-caudale Ausdehnung von ca. 150  $\mu\text{m}$  hatte.

Durch die Injektion in Bereiche des Colliculus superior waren bis auf einen kleinen Bereich von retrograd markierten Neuronen von ca. 200  $\mu\text{m}$  rostro-caudaler Ausdehnung im ventro-lateralen bzw. ventro-medialen thalamischen Kern (D) keine weiteren markierten Neuronen im Cortex zu finden. Durch die Injektion im Bereich der Habenulae war ein schmaler Bereich im Gebiet des Putamens anterograd markiert.

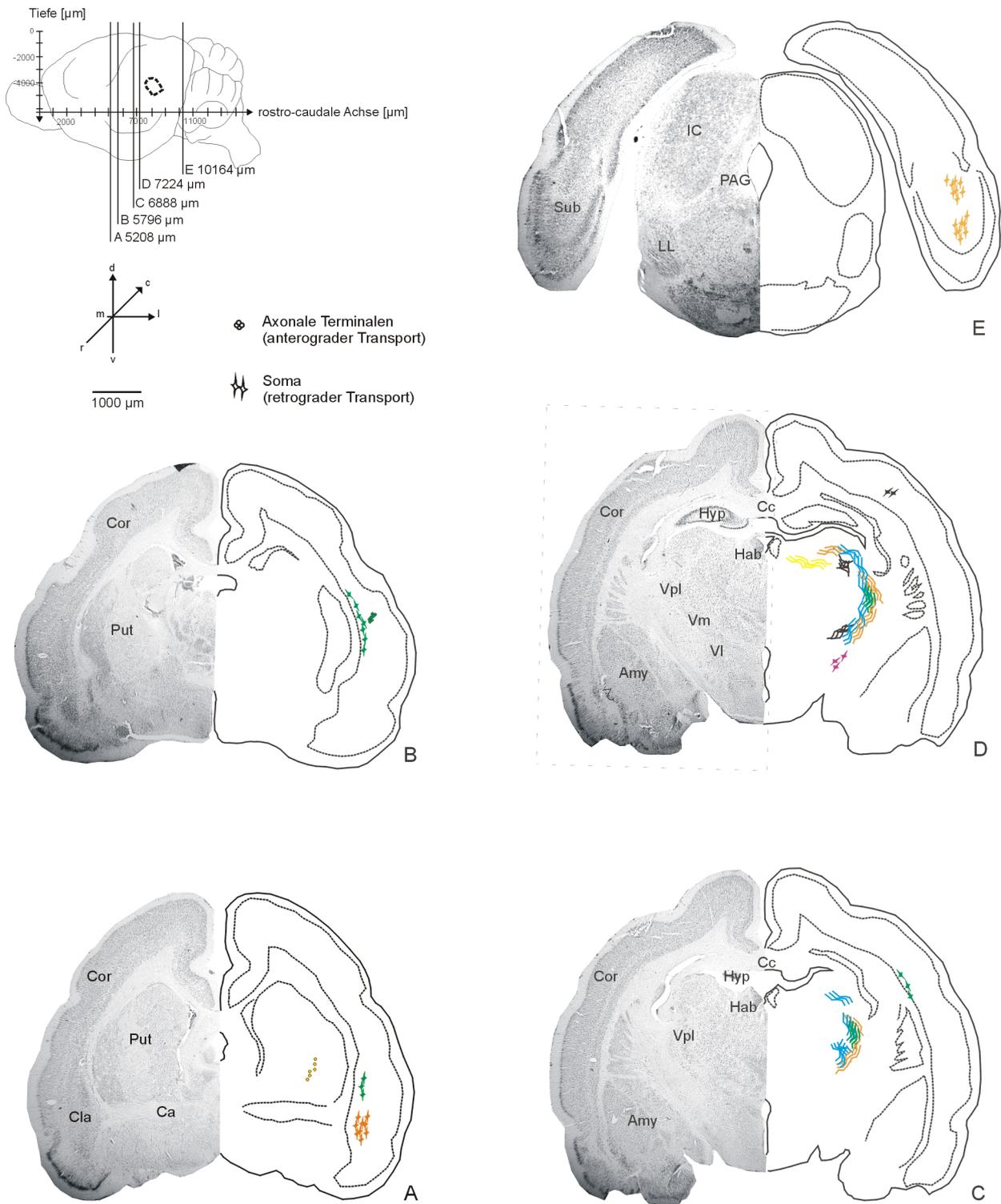


Abbildung 4-27: Legende siehe Seite 62

**Abbildung 4-27 Legende: Cortikale Verbindungen zur prätektalen Region**

Serie von 5 frontalen Gehirnschnitten durch cortikale Bereiche bei *P. discolor*. Das gezeigte Gebiet erstreckt sich über einen Bereich von 4950  $\mu\text{m}$ , vom Beginn der anterioren Commissur (5208  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten) bis zum Colliculus inferior (10164  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten). In der Übersichtsdarstellung oben links ist die rostro-caudale, dorso-ventrale und medio-laterale Ausdehnung der AP im Gehirn von *P. discolor* dargestellt. Markiertes Soma von Neuronen sind als Zellformen, markierte axonale Terminalen als kleine Punkte und Fasern als gewellte Striche dargestellt. Die Farbe der anterograd und retrograd markierten neuronalen Strukturen sowie Fasern bezieht sich auf die korrespondierende Farbe der jeweiligen Injektion in Abbildung 4-26. Die dargestellten Markierungen auf den einzelnen Schnitten repräsentieren die Mitte dieser Bereiche. Die Ausdehnung in rostraler bzw. caudaler Richtung ist folgend im Text beschrieben.

**Amy:** Amygdala; **Ca:** anteriore Commissur; **CC:** Corpus callosum; **Cla:** Claustrum; **Cor:** Cortex; **Hab:** Habenulae; **Hyp:** Hippocampus; **IC:** Colliculus inferior; **LL:** lateraler Lemniskus; **PAG:** periaqueduktales Grau; **Put:** Putamen; **Sub:** Subiculum; **VI:** ventro-lateraler thalamischer Nucleus; **Vm:** ventro-medialer thalamischer Nucleus; **Vpl:** ventraler postero-lateraler thalamischer Nucleus

**4.5.2.2 Verbindungen der AP zu Gebieten des Mittelhirns und Hirnstamms**

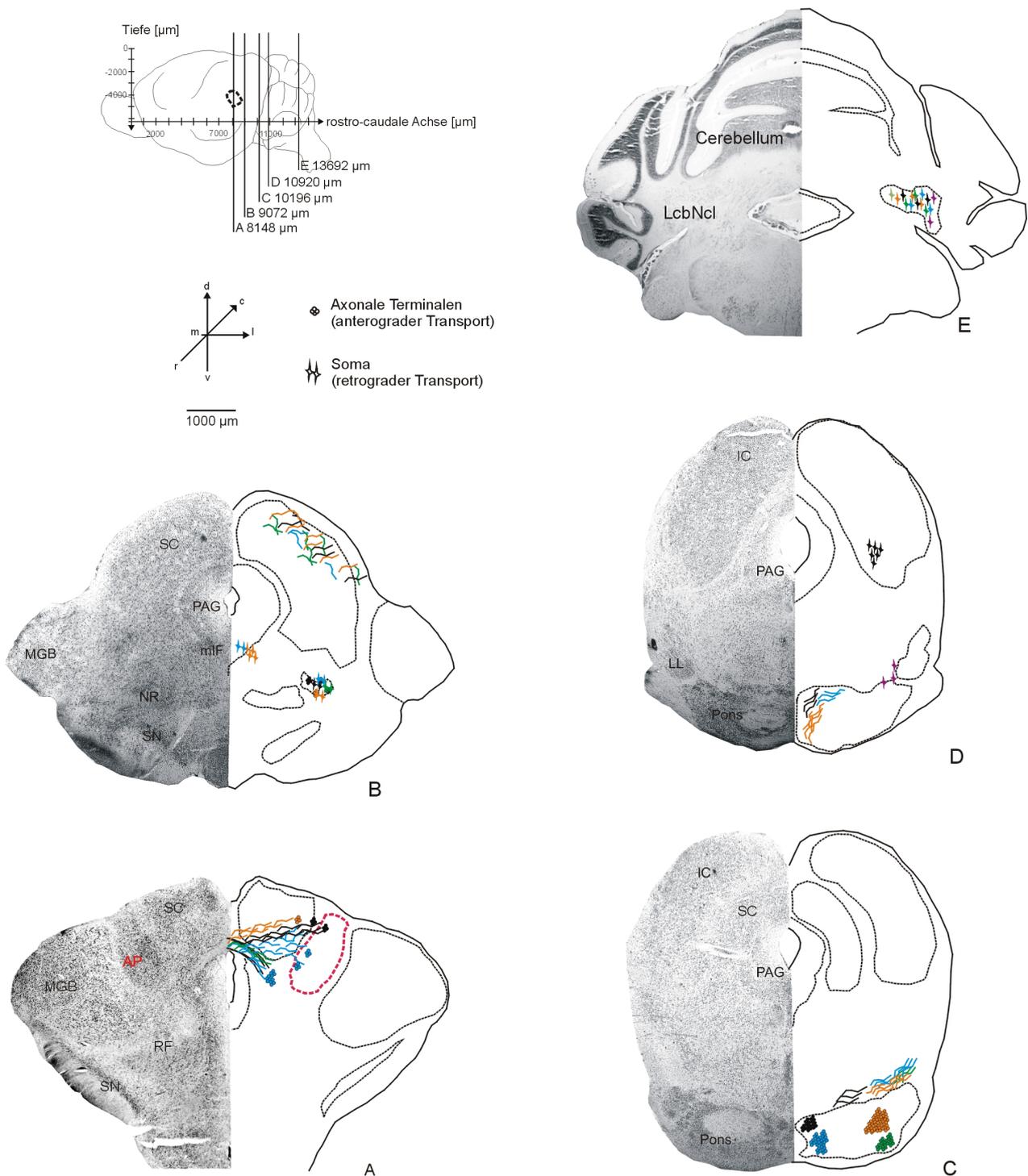
Abbildung 4-28 zeigt fünf Frontalschnitte aus einem Bereich von 5400  $\mu\text{m}$  rostro-caudaler Ausdehnung. In diesem Bereich, der Teile des Di-, Mes- und Metencephalon beinhaltet, konnte sowohl anterograder als auch retrograder Transport nachgewiesen werden.

Bei den vier Tieren, deren Injektionsort in prätektalen Gebieten lag, waren über die posteriore Kommissur Fasern in Richtung zur contralateralen AP-Seite (A (orange und grün)) und markierte Axonterminalen in der contralateralen AP zu finden (A (schwarz und blau)). In einem Fall war zusätzlich anterograder Transport in einem Bereich ventral zur AP vorhanden (A (blau)).

Im Nucleus ruber konnten bei diesen vier Tieren sowohl markierte Axonterminalen als auch markierte Neuronen über einen Bereich von ca. 400  $\mu\text{m}$  identifiziert werden (B). Bei zwei Tieren waren außerdem markierte Neuronen im medialen longitudinalen Fasciculus (Augenmuskelkern) zu finden (B (blau und orange)).

Bei allen vier Tieren konnte starker anterograder Transport über eine ca. 400  $\mu\text{m}$  lange rostro-caudale Ausdehnung im Bereich des pontinen Grau nachgewiesen werden (C), wobei individuell jeweils andere Bereiche dieser Struktur markiert waren. Im lateralen Kleinhirnkern konnten bei allen vier Tieren markierte Neuronen über einen Bereich von 800  $\mu\text{m}$  identifiziert werden. In den tiefen Schichten des Colliculus inferior konnten bei einem Tier (Abbildung 4-26, D (schwarz)) markierte Neuronen über eine rostrocaudale Ausdehnung von ca. 500  $\mu\text{m}$  lokalisiert werden.

Bei den beiden Tieren mit Injektionsorten außerhalb prätektaler Bereiche waren, im Falle des Injektionsortes in der Nähe der Habenulae (Abbildung 4-21, A (gelb)), im oben angegebenen Bereich des Di-, Mes- und Metencephalon keine markierten Axonterminalen oder markierte Neuronen zu finden. Bei der Injektion in den Colliculus superior (Abbildung 4-26, E (lila)) waren in einem Bereich von 150  $\mu\text{m}$  rostro-caudaler Ausdehnung, nahe des beginnenden lateralen Lemniskus, mar



**Abbildung 4-28: Verbindungen der prätektalen Region zu Gebieten des Mittelhirns und Hirnstamms**  
 Serie von 5 frontalen Gehirnschnitten durch Bereiche von Zwischenhirn, Mittelhirn und Hirnstamm bei *P. discolor*. Das gezeigte Gebiet erstreckt sich über einen Bereich von 5400  $\mu\text{m}$ , von der posterioren Commissur (8148  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten) bis zum Cerebellum (13692  $\mu\text{m}$  in Atlaskoordinaten). Die Darstellung und Farbcodierung ist in der Legende zu Abb. 4-27 erläutert.

**AP:** prätektale Region; **IC:** Colliculus inferior; **LcbNcl:** lateraler cerebellärer Nucleus; **LL:** lateraler Lemniskus; **MGB:** medialer Kniehöcker; **mIF:** medialer longitudinaler Fasciculus; **NR:** Nucleus ruber; **PAG:** periaqueduktales Grau; **Pons:** pontines Grau; **RF:** retikuläre Formation; **SC:** Colliculus superior; **SN:** Substantia nigra;

kierte Neuronen lokalisierbar (D). Weiter waren markierte Neuronen im lateralen cerebellären Nucleus über eine rostro-caudale Ausdehnung von ca. 400  $\mu\text{m}$  zu finden. Im Vergleich zu prätektalen Injektionen war die rostro-caudale Ausdehnung aber nur halb so groß.

## 5 Diskussion

Die prätektale Region (AP) stellt auf der Ebene der visuellen und somatosensorischen Reizverarbeitung eine Hirnstruktur dar, die sensorische Information auf prämotorische Strukturen überträgt (z.B.: Magoun & Ranson, 1935; Roberts & Rees, 1986; Schiff et al, 1988; Chiang et al. 1991; Rosa et al., 1998; Zilles & Rehkämper 1998).

Die Ergebnisse dieser Arbeit untermauern und ergänzen bestehende Befunde (Schuller, 1998), dass die AP auch an der Vermittlung von akustischer Information auf prämotorische Strukturen beteiligt ist.

### 5.1 Die AP bei *P. discolor*

#### 5.1.1 Lokalisation der AP

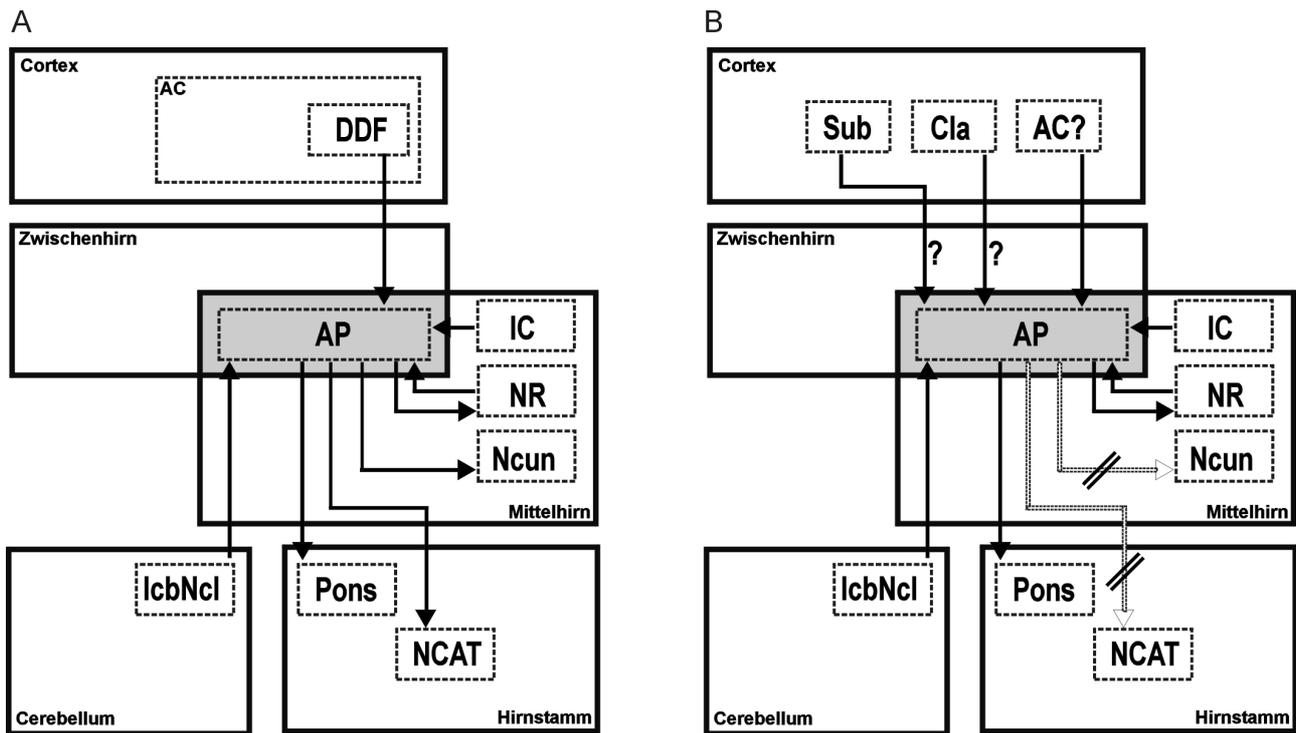
Lokalisation und Ausdehnung der AP wurde anhand von Vergleichen einer Serie von Frontalschnitten aus dem Mittel- und Zwischenhirnbereich von *P. discolor* mit den korrespondierenden Frontalschnitten aus den Gehirnatlanten von Ratte (Paxinos & Watson, 1986), Maus (Franklin & Paxinos, 2000) und der Fledermaus *R. rouxi* (Schuller, 1998) bestimmt. Auf Basis dieser Vergleiche konnte eine generelle Abgrenzung der AP gegenüber medial, dorsal und lateral angrenzenden Strukturen (PAG, SC, MGB) sicher erfolgen, während die Abgrenzung ventral gelegener Strukturen (RF) zuweilen schwierig war (Kap. 4, Abbildung 4-1 D,E). Bezüglich abgrenzbarer Strukturen innerhalb der AP sind in der Literatur widersprüchliche Angaben zu finden. So wurden bei der Ratte insgesamt vier prätektale Unterkerne identifiziert (Scalia & Arango, 1979), während bei der Katze fünf Unterkerne differenziert wurden und zusätzlich der Nucleus der posterioren Kommissur (NpK) zur AP gezählt wurde (Avendano & Juretschke, 1980). Anatomische Studien am Primaten führten, wie bei der Katze zur Abgrenzung von fünf prätektalen Unterkernen, wobei der NpK in diesem Fall nicht der AP zugeordnet wurde (Hutchins & Weber, 1985). Innerhalb verfügbarer Gehirnatlanten von Ratte (Paxinos & Watson, 1986) und Maus (Franklin & Paxinos, 2000) werden in den Grenzen der AP fünf Unterkerne unterschieden: der anteriore (APT), der oliväre (OPT), der posteriore (PPT) und der mediale prätektale Kern (MPT), sowie der Nucleus des optischen Traktes (NOT). Bei Ratte und Maus nimmt der größte prätektale Unterkern, der APT, ca. 70 % der prätektalen Fläche in frontaler Schnittebene ein und durchzieht in einer medio-ventralen Position kontinuierlich die gesamte rostro-caudale Ausdehnung der AP. Dorsal und dorso-medial dazu liegen

etwas unterhalb des Mittelhirndaches die Unterkerne MPT, OPT, PPT und der NOT und nehmen den restlichen dorsal zum APT liegenden Bereich der AP ein. Auf Basis der angefertigten Schnittserien war es bei *P. discolor* nicht möglich, innerhalb der Grenzen der AP die einzelnen Unterkerne klar zu differenzieren. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich aber bei dem gut abgrenzbaren AP-Bereich in *P. discolor*, zumindest bei dessen medialen und ventralen Anteilen, größtenteils um den APT, da dieser nach Lage und Ausdehnung dem APT von Maus und Ratte entspricht. Die bei Ratte und Maus dorsal und dorso-medial gelegenen weiteren prätektalen Unterkerne MPT, OPT, PPT und NOT konnten innerhalb der rostro-caudalen Ausdehnung des dorsal über dem APT liegenden Bereiches bei *P. discolor* nicht differenziert werden. Der NOT und OPT wurden bei *R. rouxi* im Rahmen einer Untersuchung retinaler Projektionen als dünne Zellschichten entlang der Oberfläche des Mittelhirndaches charakterisiert und zeigten, dass bei insektivoren Fledermäusen wie *R. rouxi* visuelle Strukturen stark reduziert sind (Reimer, 1989). *P. discolor* hat aber im Gegensatz zu *R. rouxi* gut entwickelte Augen und nutzt bei der Orientierung auch visuelle Informationen soweit vorhanden (Rother & Schmidt, 1982; Hoeller & Schmidt, 1996). Vermutlich ist daher bei *P. discolor* der NOT und OPT nicht in dem Maße reduziert wie in *R. rouxi*, was eine Homologisierung des Bereiches von OPT und NOT bei *P. discolor* bezüglich Lage und Ausdehnung mit dem korrespondierenden Bereich bei *R. rouxi* erschwert. Zu einer genaueren Abgrenzung sind Tracerinjektionen in Retina oder Sehnerv notwendig.

### 5.1.1 Afferente und efferente Verbindungen der AP bei *P. discolor*

In Tracerexperimenten zur neuronalen Verschaltung der AP in *R. rouxi* konnten eine Vielzahl von afferenten und efferenten Projektionen identifiziert und charakterisiert werden (Schuller, 1998). Die Vergleiche der bei *P. discolor* gefundenen neuronalen Verschaltungen der AP beziehen sich im weiteren Teil dieses Abschnitts, außer wo angegeben, auf die Befunde dieser Studie.

Bei *R. rouxi* konnten afferente Projektionen aus dem dorsalen Feld des dorsalen auditorischen Cortex (DDF), dem IC (zentraler Kern (ICc) und rostraler Pol (ICrp)), dem Nucleus des zentralen akustischen Trakts (NCAT), dem lateralen Kleinhirnkern (lcbNcl) und dem Nucleus ruber (NR) in die AP identifiziert werden. Weiter konnten efferente Projektionen aus der AP in Gebiete des pontinen Grau (Pons), in den NR und den Nucleus cuneiformis (Ncun) charakterisiert werden. Lage und Ausdehnung des IC, des lcbNcl, des NR, des NCAT und der Pons waren im Gehirn von *P. discolor* sicher abgrenzbar. Abbildung 5-1 zeigt das prätektale Verschaltungsschema von *R. rouxi* im



### Abbildung 5-1: Vereinfachte Verschaltungsschemata der AP

A: Verschaltungsschema der AP bei *R. rouxi* (nach Schuller, 1998) B: identifizierte Projektionen der AP bei *P. discolor*

Der graue Bereich der AP stellt den Übergangsbereich von Zwischen- und Mittelhirn dar. Efferente Projektionen sind mit Pfeilspitzen von der AP weg gekennzeichnet, afferente Projektionen mit Pfeilspitzen zur AP hin. Projektionen zum NCAT und Ncun (durchgestrichene weiße Pfeile) konnten bei *P. discolor* nicht identifiziert werden. Der Bereich des AC kann nur grob abgeschätzt werden. Weitere Einzelheiten sind im Text erläutert.

**AC:** Auditorischer Cortex; **AP:** prätektale Region; **Cla** Claustrum; **DDF:** dorsales Feld des dorsalen auditorischen Cortex; **IC:** Colliculus inferior; **NCAT:** Nucleus des zentralen akustischen Traktes; **Ncun:** Nucleus cuneiformis; **IcbNcl:** lateraler Kleinhirnkern; **NR:** Nucleus ruber; **Pons:** Pontines Grau; **Sub:** Subiculum;

Vergleich zu dem bei *P. discolor* identifizierten Verschaltungsschema. Im kortikalen Bereich waren retrograd markierte Neuronen bei *R. rouxi* in topographischer Anordnung im DDF zu finden. Rostral liegende Neuronen des DDF projizierten in caudale Teile der AP, während caudal liegende Neuronen des DDF in mehr rostrale Teile der AP projizierten. Der auditorische Cortex besteht bei *R. rouxi* aus mindestens sechs Feldern, wobei das DDF sich im parietalen Teil des auditorischen Cortex befindet (Radtker-Schuller, 2001). Bis zum jetzigen Zeitpunkt liegen über den Bereich, die Lage und die Ausdehnung des AC im Cortex von *P. discolor* keine Untersuchungen vor. Vergleiche der bei *P. discolor* kortikal markierten Bereiche mit korrespondierenden Bereichen aus Gehirnatlanten von Ratte (Paxinos & Watson, 1986), Maus (Franklin & Paxinos, 2000) und *R. rouxi* (Radtker-Schuller, 2001) lassen den Schluss zu, dass es sich dabei größtenteils um Bereiche des parietalen und rostralsten Teils des temporalen Cortex handelt. Auf Basis der Daten kann der markierte corti-

kale Bereich aber nicht eindeutig als auditorischer oder als Teil des auditorischen Cortex wie das DDF definiert werden. Die akustischen Antworten von Neuronen, die in der AP elektrophysiologisch abgeleitet werden konnten und auf die in folgenden Abschnitten näher eingegangen wird, sowie die Verbindungseigenschaften rostraler AP-Bereiche mit dem Cortex (Kap. 4; Punkt 4.5) weisen darauf hin, dass dieser cortikale Bereich ebenfalls akustisch aktive Neuronen enthalten dürfte. Vergleiche bezüglich Lage und Ausdehnung des AC der mit *P. discolor* näher verwandten Art *Carollia perspicilata* (Eiermann & Esser, 1999) unterstützen diese Befunde. Eindeutig klären ließe sich diese Einschätzung aber nur durch elektrophysiologische Ableitungen neuronaler Aktivität auf akustische Reize in diesen cortikalen Bereichen. Bei einer sehr ventralen Injektion in den rostralen Teil der AP von *P. discolor* (Kap. 4; Abbildung 4-26(orange)) waren markierte Neuronen im Claustrum und Subiculum klar identifizierbar. Das Claustrum ist eine sehr rostral gelegene Struktur unterhalb der Inselrinde und des piriformen Cortex. Diese Struktur ist in ihrer Funktion bisher noch nicht verstanden, es wird aber angenommen, dass in diesem Bereich eine Verarbeitung von Information aus dem limbischen System und verschiedenen Bereichen des Cortex stattfindet (Majak et al., 2000; Trepel, 1999). Der zweite markierte Bereich, das Subiculum ist eine sehr caudal liegende Struktur im Bereich des Hippocampus und ist an der Vermittlung des cortiko-hippocampalen Informationsaustausches beteiligt (O'Mara et al., 2001). Die Verbindungsbeschaffenheit des Claustrums wurde bisher vor allem auf der Ebene des Cortex untersucht (Majak et al., 2000) und subcorticale Verbindungen wurden dabei nicht erwähnt. Das Subiculum projiziert mit dem Nucleus reuniens des Thalamus und dem anterioren thalamischen Komplex in Bereiche des Thalamus (O'Mara et al., 2001), jedoch fehlen Projektionen in prätektale Bereiche. Diskutiert werden muss hier die bestehende Möglichkeit eines Tracerartefaktes, da speziell bei dieser Injektion entlang dem Einstichkanal der Iontophorese-Elektrode Tracer auch in Bereiche des Cortex gelangt war. Der dadurch nicht auszuschließende intracorticale Transport könnte für die Markierung der beiden Cortexareale verantwortlich sein. Unterstützt wird diese Annahme dadurch, dass bei *R. rouxi* keine retrograd markierte Neuronen in Claustrum oder Subiculum identifiziert werden konnten.

Die Pons ist eine Hirnstammstruktur, in der sensorische Information aus Cortex-, Zwischen- und Mittelhirngebieten u.a. zum Cerebellum übertragen wird (Trepel, 1999). Anterograde Markierungen nach Tracerinjektionen in akustische Hirngebiete (AC und IC) bei *R. rouxi* zeigten, dass auch akustische Information über diese Struktur zum Cerebellum geleitet wird (Schuller et al., 1991). Nach Tracerapplikation in der AP wurden bei *R. rouxi* je nach Lage des Injektionsortes innerhalb der rostro-caudalen Ausdehnung der AP mehr rostrale oder caudale Teile der Pons in zudem unter-

schiedlichen medio-lateralen und dorso-ventralen Bereichen markiert. Strukturen der Pons, in denen in einer früheren Studie Vokalisationen ausgelöst werden konnten (Schuller & Radtke-Schuller, 1990) lagen lateral zu diesen Markierungen. Die Abhängigkeit der Markierung vom Injektionsort war auch bei *P. discolor* gegeben, beschränkte sich jedoch auf Unterschiede in der Markierung des medio-lateralen und dorso-ventralen Bereichs.

Der IC gehörte bei *R. rouxi* zu der am intensivsten retrograd markierten Struktur. Der IC ist das Integrationszentrum der aufsteigenden Hörbahn und vor allem bei Fledermäusen sehr gut entwickelt. Anatomisch können bei *R. rouxi* vier Unterkerne (Schweizer, 1981) abgegrenzt werden, die alle unterschiedliche Verbindungsmuster aufweisen und unterschiedliche neurophysiologische Eigenschaften besitzen (zum Überblick: Pollak and Park, 1995; Covey & Casseday, 1999). Markierte Neuronen waren bei *R. rouxi* im ICc und am ICrp zu finden und auch hier konnten Abhängigkeiten der Markierungen vom Injektionsort differenziert werden. Neuronen im ICrp waren bei jeder Injektion in die AP zu finden, während die Lage von markierten Neuronen im ICc sich mit der rostro-caudalen Lage des Injektionsortes in der AP systematisch veränderte. Im Gegensatz dazu waren markierte Neuronen bei *P. discolor* im Bereich des IC ausschließlich bei einer caudal liegenden (Kap. 4, Abbildung 4-26D) prätektalen Injektion zu finden. Mehr rostrale Injektionen zeigten keine markierten Neuronen im IC. Die markierten Neuronen waren, auf Basis von Vergleichen anhand von Gehirnatlanten der Maus, der Ratte und *R. rouxi* nur auf den ICc beschränkt. Neuronen innerhalb des ICrp waren durch keine der vier Tracerinjektionen markiert.

Weiter wurden bei *R. rouxi* reziproke Verbindungen von der AP zum NR beschrieben. Der NR ist eine wichtige Schaltstelle des motorischen Systems, projiziert über extrapyramidale Bahnen auf die Motoneuronen im Rückenmark, die die distalen Extremitätenmuskeln ansteuern und erhält selbst Projektionen aus dem Kleinhirn (Trepel, 1999). Wie bei *R. rouxi* konnten diese reziproken Verbindungen auch für *P. discolor* bestätigt werden. Im Kleinhirn, das die Feinabstimmung von Bewegungen beeinflusst (Trepel, 1999), konnten bei *P. discolor* retrograd markierte Neuronen im lateralen Kleinhirnkern identifiziert werden, die auch bei *R. rouxi* nachgewiesen worden waren.

Bei *R. rouxi* konnten retrograd markierte Neuronen im NCAT beschrieben werden, einer Struktur, die über ihre Projektionen akustische Informationen extralemniskal am IC vorbei zum Thalamus sendet (Casseday et al., 1989). Bei *P. discolor* waren derartige retrograd markierte Neuronen, unabhängig von Injektionen in rostrale oder caudale AP-Bereiche, in dieser Struktur nicht identifizierbar. Ebenso waren keine markierten Bereiche oder Neuronen im Ncl. cuneiformis von *P. discolor* nachweisbar. Der Ncl. cuneiformis gilt als Bindeglied zum Ncl. ambiguus, der wiederum als motorischer

Endkern der Vokalmotorik gilt. Markierte Bereiche im Ncl. cuneiformis waren bei *R. rouxi* im rostralsten Teil zu finden, der ventral an den beginnenden SC angrenzt. In diesem Bereich waren markierte Neuronen jedoch schwer zu charakterisieren, da aufgrund der Nähe zum Injektionsort, Artefakte nicht ausgeschlossen werden konnten.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Fledermaus *P. discolor* im Vergleich zu *R. rouxi* ähnliche prätektale Anbindungen (Afferenzen und Efferenzen) an Strukturen im Cortex, Mittelhirn, Cerebellum und Hirnstamm aufweist. Innerhalb einzelner Strukturen sind jedoch Abweichungen in der Lage und Anordnung der markierten Neuronen bemerkbar. Trotz des Fehlens efferenter Projektionen zum Ncl. cuneiformis als Anbindung der AP zum vokalmotorisch eingebundenen Ncl. ambiguus besteht die Möglichkeit das die AP indirekt über die Pons mit dem Ncl. ambiguus verbunden ist (Rübsamen & Schweizer, 1986).

## 5.2 Mikrostimulation in Bereichen der AP

### 5.2.1 Elektrische Mikrostimulation

Ein wichtiger Punkt bei der Anwendung der elektrischen Mikrostimulation ist die Ausbreitung des applizierten elektrischen Stroms. Im Falle der AP ist dieser Punkt von besonderer Bedeutung, da in unmittelbarer Nähe Bereiche des Colliculus superior liegen, von denen bekannt ist, das dort mit niedrigen Reizströmen Echoortungslaute und Ohrbewegungen ausgelöst werden können (Schuller & Radtke-Schuller, 1990; Valentine et al., 2002; eigene Beobachtungen).

Ranck (1975) zeigte in seinem Überblick über verschiedene Stimulationsstudien mit monopolen Elektroden auf, dass die Ausbreitung des elektrischen Stromes stark von dem die Reizelektrode umgebenden Gewebe abhängig ist. Reizpulse von 200  $\mu$ s Dauer und einer Stromstärke zwischen 20 bis 30  $\mu$ A können Zellkörper über eine Entfernung von 80 - 110  $\mu$ m stimulieren, während Axone bzw. durchlaufende Fasern sogar über eine Entfernung zwischen 150 und 500  $\mu$ m noch erregt werden können. Dabei werden Fasern mit hoher Fortleitungsgeschwindigkeit (65 m/s) noch über größere Distanzen (500  $\mu$ m) stimuliert als Fasern mit niedriger Fortleitungsgeschwindigkeit (25 m/s) (150  $\mu$ m).

Bei den Stimulationsstudien zur prätektalen Region konnten ähnliche Verhältnisse aufgezeigt werden. In der Ebene der medio-lateralen Verteilung der Stimulationsorte (Kap.4; Abbildung 4-4B) lässt sich ablesen, dass bereits 150  $\mu$ m lateral und medial zu Stimulationsorten, an denen mit geringen Reizstromstärken (20-30  $\mu$ A) Vokalisationen ausgelöst werden konnten, mit gleichen Reiz-

stromstärken keine Vokalisationen mehr auslösbar waren. Erst eine Erhöhung der Reizstromstärke auf 35 - 50  $\mu\text{A}$  führte zur erneuten Auslösung von Vokalisationen. Weitere 150  $\mu\text{m}$  nach lateral konnten auch mit den höchsten verwendeten Reizstromstärken (80  $\mu\text{A}$ ) keine Vokalisationen mehr hervorgerufen werden. Das bedeutet, dass die Elemente deren Stimulation zur Auslösung der Vokalisation notwendig sind, sich in einem engen räumlichen Bereich konzentrieren. Wird die Elektrode aus diesem Bereich entfernt, vergrößert sich die Strecke zu den Elementen der Vokalisationsauslösbarkeit und es sind höhere Reizstromstärken zur Auslösung der Vokalisationen nötig. Hieraus lässt sich auf das räumliche Auflösungsvermögen der elektrischen Mikroreizung von besser als 150  $\mu\text{m}$  in dem untersuchten Bereich schließen. Bei einem Abstand der Reizelektrode vom Fokus der Vokalisationsauslösung in der AP von mehr als 150  $\mu\text{m}$  nach medial (Kap.4; Abbildung 4-4B) konnten Vokalisationen nach vorübergehender Schwellenerhöhung wieder mit niedrigeren Reizströmen (20-30  $\mu\text{A}$ ) ausgelöst werden. Das weist darauf hin, dass die Reizelektrode einem Bereich angenähert wurde, der ebenfalls Elemente enthält, deren Stimulation zur Auslösung von Vokalisationen führt. Zusätzlich zu den Vokalisationen wurden starke Bewegungen wie Flügelschlag oder Bewegungen des ganzen Körpers ausgelöst, die bei Stimulationsorten innerhalb der Grenzen der AP nicht beobachtet werden konnten, was auf eine Stimulation von Teilen des periaquäduktalen Grau (PAG) hinweist.

### 5.2.2 Pharmakologische Mikrostimulation

Bei elektrischer Mikrostimulation kann generell nicht differenziert werden, ob Neuronen der angezielten Region stimuliert werden oder ob nur durchlaufende Fasern von und zu anderen Gehirnstrukturen aktiviert werden. Zur Klärung dieser Frage wurde die lokale pharmakologische Reizung durch Mikrodialyse von Kaininsäure eingesetzt. Kaininsäure ist ein Glutamatagonist und aktiviert aufgrund fehlender Kaininsäurerezeptoren an Fasern nur Zellkörper. Auf diese Weise kann die Auslösung von Vokalisationen durch Stimulierung von durchlaufenden Faserbündeln ausgeschlossen werden (Pillat & Schuller, 1998; Fenzl & Schuller, 2002). Bei der Mikrodialyse wird Kaininsäure aus dem inneren Lumen der Dialyseprobe abgegeben, diffundiert in das umgebende Gewebe und baut entsprechend der Applikationszeit einen Konzentrationsgradienten im Gewebe auf (Fenzl & Schuller, 2002). Die Ausbreitung der Kaininsäure ist bei kurzen Applikationszeiten lokal auf die unmittelbare Umgebung der Dialyseprobe beschränkt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde bei einem Tier Kaininsäure in Bereiche der AP appliziert. 400  $\mu\text{m}$  lateral entfernt zu Stimulationsorten an denen elektrisch Vokalisationen ausgelöst werden konnten

(Abbildung 4-4 D, Kapitel 4), führte die Mikrodialyse über 30 min zu keiner Auslösung von Vokalisationen und / oder begleitenden Körperbewegungen. In diesem Bereich waren also keine Neuronen vorhanden, deren pharmakologische Stimulation zur Auslösung von Vokalisationen geführt hätte. Am Ort elektrisch auslösbarer Vokalisationen führte eine Mikrodialyse aber bereits nach 3 Minuten zur Auslösung von Vokalisationen. Das legt nahe, dass in diesem Bereich sowohl elektrisch als auch pharmakologisch prätektale Neuronen und keine „fibres of passage“ stimuliert wurden, deren Aktivierung auch die Auslösung von Vokalisationen zur Folge haben kann. Trotz der Nähe zum SC darf aufgrund der kurzen Dialysezeit von 3 Minuten angenommen werden, dass dort keine Neuronen stimuliert wurden. Die lange und doch nicht wirksame Dialysezeit über 30 Minuten am Applikationsort ❶ in 400 µm Entfernung vom vokalisationsaktiven Bereich gibt Aufschluss über die Reichweite des mikrodialysierten Kainats. Der stimulierbare (3 min, Applikationsort ❷) Bereich in der AP ist von Bereichen im SC, in denen durch elektrische Mikrostimulation mit geringen Reizströmen (20 - 30 µA) Vokalisationen ausgelöst werden konnten, mindestens 400 µm, also etwa gleich weit entfernt. Es ist demnach unwahrscheinlich, dass die applizierte Kaininsäure bis zu Bereichen des Colliculus superior diffundiert sein könnte.

Die pharmakologische Stimulation durch Kaininmikrodialyse kann im Rahmen dieser Arbeit nur als Hinweis angeführt werden, da die vorderen bzw. medialen Bereiche der prätektalen Region (Abbildung 4-4B, Kap. 4) nicht mit Kaininsäure getestet wurden. Eine systematische Untersuchung aller Unterkerne der AP mit Kaininsäureapplikation steht noch aus.

### 5.2.3 Ausgelöste Vokalisationen in der AP

Innerhalb der Grenzen der AP konnten bei *P. discolor* durch elektrische Mikrostimulation Vokalisationen ausgelöst werden. Der Bereich der Auslösbarkeit erstreckte sich ca. 580 µm in rostro-caudaler Richtung und hatte eine 600 µm medio-laterale und 1000 µm dorso-ventrale Ausdehnung. Der Bereich, in dem mit geringen Reizströmen (20–30 µA) Vokalisationen ausgelöst werden konnte, erstreckte sich innerhalb der vokalaktiven Zone über eine rostro-caudale bzw. medio-laterale Ausdehnung von 420 bzw. 400 µm. Im Gegensatz zu *R. rouxi* (Schuller, 1998) war der Bereich nicht auf die caudalen 2/3 der AP begrenzt, sondern im mittleren Teil der prätektalen rostro-caudalen Ausdehnung (Kap.4; Abbildung 4-4) lokalisiert. Bei den ausgelösten Vokalisationen handelte es sich um kurze, multiharmonisch aufgebaute (fünf Harmonische) abwärts frequenzmodulierte Ortungslaute (Kap. 4; Abbildung 4-3A), die dem allgemeinen Phyllostomidentyp entsprachen (Rother & Schmidt, 1982). Ein statistischer Vergleich von im Bereich der AP aufgenommenen aus-

gelösten Vokalisationen mit Aufnahmen spontan emittierter Vokalisationen (Kap. 4; Abbildung 4-3B), zeigte bezüglich der Lautdauer keine signifikanten Unterschiede (Kap.4; Tabelle 4-1). Im Rahmen der spektralen Analyse der 1. Harmonischen der Laute konnten bei der Startfrequenz ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen ausgelösten und spontanen Vokalisationen gefunden werden. Lediglich bei der Endfrequenz zeigte sich ein signifikanter Unterschied. Daraus ergibt sich im Vergleich beider Vokalisationsklassen bei elektrisch ausgelösten Vokalisationen ein etwas geringerer abwärts gerichteter Frequenzhub  $\Delta F$  über die mittlere Dauer von ca. 1 ms. Ob aber in diesem Fall schon von einer Veränderung der spektralen Zusammensetzung gesprochen werden kann ist fraglich. Dagegen sprechen vor allem die gleiche temporale Zusammensetzung und auf spektraler Ebene die identischen Startfrequenzen und der generell gleichartige zeitliche Frequenzverlauf. Es ist daher angebracht, die elektrisch ausgelösten Vokalisationen als identisch mit spontan emittierten Echoortungslauten anzusehen. Auch bei *R. rouxi* zeigten durch elektrische Mikrostimulation in prätektalen Bereichen ausgelöste Vokalisationen in temporaler und spektraler Zusammensetzung keine Unterschiede zu spontan emittierten Echoortungslauten (Schuller, 1998). Obwohl zuweilen eine tendenzielle Erhöhung der Vokalisationsintensität mit der Erhöhung der Stromstärke beobachtbar war, konnte eine systematische Abhängigkeit der Intensität der ausgelösten Echoortungslaute von der Stromstärke im Bereich der AP nicht beobachtet werden (Kap. 4; Abbildung 4-2). Dies deckt sich ebenfalls mit Befunden von *R. rouxi* (Schuller, 1998). Die im caudalen Bereich der AP durch Kaininsäure ausgelösten Vokalisationen waren in spektraler und temporaler Zusammensetzung ebenfalls identisch mit spontan emittierten Vokalisationen und stützen, zumindest für den caudalen Teil der AP die Annahme, dass dadurch in der AP liegende Neuronen stimuliert und aktiviert wurden.

Zur prämotorischen Bedeutung der AP für die Vokalisation kann zusammenfassend festgestellt werden, dass sie den absteigenden Vokalisationspfad nicht direkt beeinflusst. Anderenfalls müsste die elektrische Mikrostimulation Veränderungen der Vokalisationen induzieren, da das „normale“ neuronale Aktivitätsmuster in der AP durch die Strompulse verändert wird (Jürgens, 2002). Innerhalb der AP kann aber weder, wie im anterioren cingulaten Cortex (Gooler & O’Neill, 1987), die spektrale Zusammensetzung der Vokalisation verändert werden, noch können Verzerrungen der Vokalisationen wie bei der Reizung im pontinen Grau (Schuller & Radtke-Schuller, 1990) gemessen werden. Über die AP werden aller Wahrscheinlichkeit nach nur „Steuerpulse“ an Strukturen vermittelt, die in den absteigenden Vokalisationspfad eingebunden sind. Durch diese „Steuerpulse“ werden dann spezifische Verhaltensreaktionen (Vokalisationen) ausgelöst, aber keine Veränderun-

gen induziert (Schuller & Radtke-Schuller, 1990).

### 5.3 Elektrophysiologische Untersuchung der AP

Bisherige elektrophysiologische Untersuchungen der AP haben sich fast ausschließlich auf die Charakterisierung visueller prätektaler Teilgebiete beschränkt. Eine physiologische Charakterisierung prätektaler Neuronen bezüglich ihrer Antworteigenschaften auf akustische Reize war bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht vorhanden. Basierend auf anatomischen Untersuchungen zur Verschaltung zeigten einige wenige Studien (Schuller 1998; Casseday et al., 1989) die Möglichkeit auf, dass in der AP akustisch aktivbare Neuronen vorhanden sind.

Ziel dieses Teils der vorliegenden Studie war es daher, innerhalb der Grenzen der AP akustisch aktivierbare Neuronen zu lokalisieren, ihre physiologischen Eigenschaften zu analysieren und eventuell in der AP bezüglich der auditorischen Verarbeitung unterschiedliche Gebiete abzugrenzen. Abschließend sollte versucht werden, audio-motorische Neuronen innerhalb der AP nachzuweisen und zu charakterisieren, um die Rolle der AP innerhalb audio-motorischer Integrationsnetze differenzierter beurteilen zu können.

#### 5.3.1 Akustische Afferenzen zur AP

Bei *P. discolor* kommen zwei Strukturen als Quellen für akustische Eingänge in die AP in Betracht. Dabei handelt es sich um Bereiche des auditorischen Cortex (AC) und des zentralen Kerns des Colliculus inferior (ICc). Der AC stellt im Hörsystem das höchste Verarbeitungszentrum dar und ist in mehrere Areale unterteilt, deren Anzahl zwischen den untersuchten Fledermausspezies differiert und die verschiedene physiologische Eigenschaften besitzen (siehe z.B. *Eptesicus fuscus*: Dear et al., 1993; *Carrollia perspicilata*: Esser & Eiermann, 1999; *Pteronotus parnellii*: Fitzpatrick et al., 1998; *R. rouxi*: Radtke-Schuller & Schuller, 1995). Neuronen im AC von *R. rouxi*, die Afferenzen in die AP aufwiesen, lagen im dorsalen Feld des dorsalen auditorischen Cortex (DDF). Diese Neuronen werden vor allem durch Kombinationen der abwärts frequenzmodulierten Anteile (FM1|FM2 Anteil) des Echoortungsrufes dieser Spezies aktiviert und geben aller Wahrscheinlichkeit nach Informationen über den Abstand der Fledermaus zum Ziel weiter („target-range neurons“). Im DDF sind diese Neuronen nach ihren besten Verzögerungen zwischen den beiden aufeinander folgenden abwärts frequenzmodulierten Anteilen angeordnet (Schuller et al., 1991). Untersuchungen im AC von FM-Fledermäusen, wie *Myotis lucifugus* und *Eptesicus fuscus*, denen *P. discolor* bezüglich der

Echoortungsstrategie eher zuzuordnen ist als *R. rouxi*, zeigten, dass in rostral gelegenen Bereichen des AC Neuronenpopulationen differenziert werden konnten, die ebenfalls vor allem durch die Kombination zweier FM-Reizen aktiviert wurden (Sullivan, 1982; Dear et al., 1993).

Auf der Stufe des IC konvergieren die aufsteigenden parallelen Bahnen des Hörsystems, die aus dem Nucleus cochlearis und den nachgeschalteten Strukturen des Hirnstamms zum Mittelhirn ziehen (Vater, 2000). Neuronen des IC sind in Schichten nach ihren besten Frequenzen tonotop organisiert, wobei zusätzlich bei CF-Fledermäusen wie *R. rouxi* und *P. parnellii* der Frequenzbereich der stärksten Harmonischen bzw. der Ruhefrequenz überrepräsentiert ist (zum Überblick siehe Pollak & Park, 1995). Die möglichen akustischen Eingänge aus dem ICc und ICrp bei *R. rouxi* wurden vor allem vor dem Hintergrund einer möglichen Einbindung der AP in die neuronale Basis zur Doppler-Shift-Kompensation diskutiert. Anhand der tonotopen Organisation des ICc (Schuller & Pollak, 1979) kann angenommen werden, dass der größte Teil des afferenten Ursprungs vom ICc zur AP Neuronen enthält, die durch die individuelle Ruhefrequenz des Tieres und etwas darüber aktivierbar sind. Diese Neuronen des ICc haben bei *R. rouxi* extrem scharfe Abstimmkurven und dienen sehr wahrscheinlich zur Detektion kleinster Abweichungen der Echofrequenz (Neuweiler, 1990). Dadurch könnte die AP bei *R. rouxi* Informationen erhalten, wenn in einer Echoortungssituation die Echofrequenz aus dem Bereich der Ruhefrequenz driftet. Beim ICrp handelt es sich um eine weitere bei *R. rouxi* abgrenzbare Struktur des IC, die sich durch ihre Afferenzen vom ICc unterscheidet. Auf akustische Reize zeigten Neuronen in dieser Struktur bei *R. rouxi* andere Antwort-eigenschaften als Neuronen im ICc. Sie wurden durch Frequenzen unterhalb der Ruhefrequenz, d.h. Frequenzen des abschließenden FM-Teil des Echoortungsrufes aktiviert (Prechtel, 1995). Bei FM-Fledermäusen, die im Vergleich zu CF-Fledermäusen wie *R. rouxi* und *P. parnellii* eine andere Jagdstrategie verfolgen, ist ein Doppler-Shift-Kompensations-Verhalten bislang nicht dokumentiert worden. Untersuchungen im ICc von *E. fuscus* zeigen, dass bei FM-Fledermäusen die Überrepräsentation der Ruhefrequenz bzw. der stärksten Harmonischen des Echoortungsrufes nicht so extrem ausgebildet ist und auch die Unterteilung des IC in Teilstrukturen sich zu der bei *R. rouxi* unterscheidet (Casseday & Covey, 1992).

### 5.3.2 Allgemeine Antwortheigenschaften prätektaler Neuronen

Insgesamt konnte bei *P. discolor* von 72 Neuronen abgeleitet werden, die durch akustische Reize aktivierbar waren. 63 davon lagen innerhalb der Grenzen der AP und neun im dorsal angrenzenden Übergangsgebiet des SC. Die Neuronen antworteten unabhängig von ihrer rostro-caudalen Lage so-

wohl auf Reintöne als auch auf abwärts frequenzmodulierte Reize. Die Mehrheit der Neuronen (89 %) zeigten keine signifikanten Unterschiede in ihrer Aktivität auf die beiden Reizklassen. Die übrigen 11 % der Neuronen wiesen eine Präferenz für Reintöne auf, reagierten jedoch auch auf abwärts frequenzmodulierte Reize. Prätektale Neuronen scheinen demnach keine Spezifität für eine bestimmte Reizklasse zu haben, vielmehr müssen im Spektrum des akustischen Reizes nur die Frequenzen im Bereich der beiden stärksten Harmonischen des Echoortungsrufes enthalten sein. Entlang der einzelnen Strukturen der aufsteigenden Hörbahn werden viele Neuronen spezifisch durch eine bestimmte Reizklasse (z.B.: Reintöne oder frequenzmodulierte Reize) aktiviert und sind topographisch oder funktionell organisiert. Die fundamentalste Organisation ist die Anordnung von Neuronen nach ihren besten Frequenzen (bF) in isofrequenten Schichten. Diese tonotope Organisation findet man ausgehend vom Nucleus cochlearis (Vater, 2000), im IC (z.B.: Casseday & Covey, 1992), im MGB (z.B.: Wenstrup, 1999) bis hin zum AC (z.B.: Dear et al., 1993). Innerhalb der AP konnte keine tonotope Ordnung festgestellt werden. Die Tendenz einer topographischen Frequenzverteilung mit höheren besten Frequenzen (bF) in rostro-medianen Teilen der AP und mit niedrigeren bF's in caudalen Teilen der AP war statistisch nicht signifikant. Hier bleibt nachzuprüfen, ob eine größere Anzahl abgeleiteter Neuronen doch zum Nachweis einer topographischen Frequenzanordnung führen würde. Die gemessenen Abstimmkurven prätektaler Neuronen hatten alle einen V-förmigen Verlauf und die  $Q_{10\text{ dB}}$ -Werte, die als Maß für die Filterqualität eines Neurons dienen, lagen alle zwischen 4 und 20, mit Schwerpunkt im Bereich von 4-10. Damit kodieren prätektale Neuronen aller Wahrscheinlichkeit nach keine kleinen Veränderungen in der spektralen Struktur eines akustischen Signals. Auffallend war, dass prätektale Neuronen allgemein hohe Schwellenintensitäten aufwiesen. Im Gegensatz zu Neuronen im ICc von *E. fuscus*, wo der größte Teil Schwellenintensitäten zwischen 20 bis 40 dB SPL zeigte (Casseday & Covey, 1992) und Neuronen im SC von *P. discolor* (siehe Punkt 4.3.5, Kap 4) mit Schwellenintensitäten von durchschnittlich 35 dB SPL, lagen die Schwellenintensitäten prätektaler Neuronen bei durchschnittlich 58 SPL. Um bei den „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen auch die 2. Aktivität auszulösen waren durchschnittlich sogar 72 dB SPL notwendig.

Es ist festzuhalten, dass akustisch aktivierbare Neuronen sehr unselektiv auf die Art des akustischen Reizes antworten, solange dieser die Frequenzen der 3. und 4. Harmonischen des Echoortungsrufes von *P. discolor* in seinem Spektrum enthält. Der akustische Reiz muss weiterhin, im Gegensatz zu Neuronen in anderen Gebieten der Hörbahn, eine hohe Intensität besitzen um die Neuronen zu aktivieren. Prätektale Neuronen, soweit sie in dieser Studie untersucht wurden, haben keine engen Ab-

stimmeigenschaften und können daher nicht wie bei *R. rouxi* kleinste Veränderungen der spektralen Struktur eines akustischen Signals kodieren.

### 5.3.3 Antwortmuster von prätektalen Neuronen

Prätektale Neuronen zeigten auf akustische Reize drei unterschiedliche Antwortmuster. Entweder wiesen sie ein tonisches, ein phasisches oder ein „doppelt-phasisches“ Antwortmuster auf (siehe Abbildung 4-7, Kap. 4).

Casseday & Covey (1992) charakterisierten im ICc der FM-Fledermaus *E. fuscus* einige Neuronen, die zwei Arten von doppelten Abstimmkurven zeigten. Zum einen konnten sie von Neuronen ableiten, die bei der Messung der Abstimmkurven zwei Schwellenminima in voneinander getrennten Frequenzbereichen aufwiesen. Ähnliche Abstimmkurven konnten schon im lateralen Lemniscus von *R. rouxi* gemessen werden (Metzner & Radtke-Schuller, 1987). Zum anderen fanden sie Neuronen die zwei Aktivitätsspitzen aufwiesen, d.h. es traten hier zwei zeitlich versetzte neuronale Aktivitäten mit einer Zeitdifferenz von ca. 12 ms auf. Für beide Aktivitäten konnte jeweils eigene Abstimmkurven gemessen werden. Casseday und Covey (1992) schlossen Offset-Effekte als Ursache für die Entstehung der zweiten Aktivität aus, da die Latenz der zweiten Aktivität durch Variation der Reizdauer nicht beeinflussbar war. Nur wenige derartig antwortende Neuronen konnten im IC abgeleitet werden und ebenso wenig liegen Informationen über die Lage dieser Neuronen im ICc vor. Portfors & Wenstrup (1999) beschrieben das komplexe Antwortverhalten von Neuronen im ICc von *P. parnellii*, die durch die Kombination zweier abwärtsfrequenzmodulierter Reize (FM1 | FM3) aktivierbar waren. Auf die einzelnen Reize allein zeigten die Neuronen unterschiedliche Latenzen und Abstimmkurven, hatten also ein ähnliches Antwortverhalten wie die „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen bei *E. fuscus*. Die in der AP von *P. discolor* „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen sind vor allem den im ICc von *E. fuscus* abgeleiteten „doppelt-phasischen“ Neuronen in ihren allgemeinen Antworteigenschaften sehr ähnlich. Das Auftreten ähnlicher physiologischer Antworteigenschaften sowohl im IC (hier von *E. fuscus*) als auch in der AP von *P. discolor*, zeigt, dass die AP diese spezifische akustische Information aus dem IC erhalten könnte. Unterstützt wird diese Vorstellung durch die Projektionen, die nach Tracerinjektion in den caudalen Teil der AP (siehe auch Abbildung 4-28, Kap. 4) gefunden wurden. Diese Injektion deckte vorwiegend jenen Bereich ab, in dem der größte Teil der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen lokalisiert war. Nach dieser Injektion konnte eine Gruppe von retrograd markierten Neuronen im ventralen Teil des IC von *P. discolor* gefunden werden. Eine 200 µm weiter caudal zu diesem Injektionsort gelegene

Injektion in Bereiche des SC führte dagegen zu keinen markierten Neuronen im IC, was als weiterer Hinweis gewertet werden kann, dass die retrograd markierten Bereich im IC die Afferenzen zur AP darstellen. Neuronen bzw. Neuronengruppen, die ein tonisches Antwortmuster auf akustische Reize zeigten, waren vor allem ventral in rostralen bzw. medianen Bereichen der AP zu finden (siehe Abbildung 4-8, Kap. 4) und hatten zum Teil sehr lange Latenzen von bis zu 50 ms. Bei Injektionen in rostral-mediane Bereiche (siehe auch Abbildung 4-26B; Kap.4), wurden vor allem kortikale Neuronen retrograd markiert. Dies würde darauf hinweisen, dass die hier antwortenden Neuronen der AP Eingänge von Neuronen des auditorischen Cortex erhalten. Eine klare Abgrenzung zweier Populationen, die unterschiedliche akustische Afferenzen erhalten wird dadurch erschwert, dass die rostral-medianen Bereiche zum Teil einen Mischbereich von Neuronen mit phasischem, „doppelt-phasischem“ und tonischen Antwortmuster bildeten und eine präzise Zuordnung nicht erfolgen konnte (Abbildung 4-8A, B; Kap. 4).

### 5.3.4 Abhängigkeit von der Reizdauer

Neuronen, die eine Abhängigkeit von der Reizdauer des akustischen Reizes zeigten, wurden zuerst im Mittelhirn von Fröschen beschrieben (Narins & Capranica, 1980). Es stellte sich heraus, dass diese auf Reizdauern abgestimmt waren, die der Dauer von spezie-spezifischen Vokalisationen entsprachen (Gooler & Feng, 1992). Auch bei Fledermäusen konnten solche reizdauerabhängigen Neuronen charakterisiert werden. Als Kriterium für eine Reizdauerabhängigkeit wurde eine Erhöhung der neuronalen Antwort um 50 % bei einer bestimmten Reizdauer oder Folge von Reizdauern gegenüber kürzeren oder längeren akustischen Reizen definiert (Ehrlich et al., 1997; Galazyuk & Feng, 1997; Fuzessery & Hall, 1999; Casseday et al., 2000). In der AP von *P. discolor* wurden 37 Neuronen mit akustischen Reizen unterschiedlicher Dauer getestet und die neuronalen Antworten anhand des oben erwähnten Kriteriums ausgewertet. Bei allen untersuchten Neuronen war bezüglich dieses Kriteriums eine Abhängigkeit von der Dauer eines abwärts frequenzmodulierten Reizes und / oder eines Reintons festzustellen. Der Befund, dass Neuronen auf abwärts frequenzmodulierte Reize eine Abhängigkeit von der Reizdauer zeigten, wirft zu Recht die Frage auf, ob hier anstelle der Reizdauerabhängigkeit nicht die Veränderung der Abstiegsflanke der Frequenzmodulation über die Zeit für die Antwortänderung verantwortlich ist. Ehrlich et al. (1997) argumentierten zwar, dass eine Reizdauerabhängigkeit vorläge, wenn diese Neuronen auch auf unterschiedlich lange Reintöne Veränderungen im Sinne des oben beschriebenen Kriteriums in der neuronalen Antwort zeigten, jedoch fokussierten weitere Studien ihre Untersuchungen der Reizdauerabhängigkeit auf die Verwen-

dung von Reintönen (Galazyuk & Feng, 1997; Fuzessery & Hall, 1999).

Der erste Erklärungsversuch der Reizdauerabhängigkeit durch ein reines Koinzidenzmodell (Casseday et al., 1994) hatte eine Latenzverschiebung zum Offset des jeweiligen akustischen Reizes zur Folge, die auch an Neuronen im IC zum Teil gezeigt werden konnte (Ehrlich et al., 1997). Es konnte aber auch von IC-Neuronen abgeleitet werden, die keine solche Latenzverschiebung zeigten und den Schluß zuließen, dass mehrere Mechanismen an der Entstehung der Reizdauerabhängigkeit beteiligt sind (Fuzessery & Hall, 1999). Eine derartige Latenzverschiebung bei steigender Reizdauer konnte in der AP nur bei acht Neuronen gefunden werden, denen abwärts frequenzmodulierte Reize präsentiert wurden. Bei Reintönen zeigten diese Neuronen wie alle anderen Neuronen keine Latenzverschiebung mehr. Die Reizdauer-Charakteristika von Neuronen innerhalb der AP entsprachen denen, die im IC von anderen Fledermäusen zu finden waren (Pineiro et al., 1991; Galazyuk & Feng, 1997; Ehrlich et al., 1997; Fuzessery & Hall, 1999). Untersuchungen an *E. fuscus* (Ehrlich et al., 1997) und *Myotis lucifugus* (Galazyuk & Feng, 1997) zeigten, dass die bevorzugten Reizdauern bei Neuronen im IC und AC dieser Fledermäuse zwischen 1 bis 10 ms, mit einigen wenigen Ausnahmen bis 20 ms lagen. *E. fuscus* und *M. lucifugus* dehnen in der Suchphase ihre abwärts frequenzmodulierten Echoortungsrufe quasi CF-artig bis zu teilweise ca. 20 ms aus, so dass hier zur bevorzugten Reizdauer ein biologisches Korrelat der Dauer des Echoortungsrufes bestand. Untersuchungen bei *Antrozous p. pallidus*, die kürzere Echoortungspulse zwischen 1 bis 7 ms emittiert, zeigten, dass auch hier die bevorzugten Reizdauern im Bereich der Echoortungsrufe lagen (Fuzessery, 1993).

Bevorzugte Reizdauern bei Reintönen und abwärts frequenzmodulierten Reizen lagen bei reizdauerabhängigen Neuronen in der AP von *P. discolor* in einem Bereich von 2 bis 16 ms, wobei der größte Teil den Bereich zwischen 2-11 ms einnahm. Bisher ist bei *P. discolor* eine solche Veränderung der spektro-temporalen Zusammensetzung der Vokalisation in der Suchphase, wie bei *E. fuscus* und *M. lucifugus*, nicht beschrieben und die längsten charakterisierten Echoortungslaute liegen bei 2,5 ms (Rother & Schmidt, 1982). Jedoch können Echoortungslaute von sich im Freien bewegendes Fledermäusen verglichen mit sich im Labor bewegendes Fledermäusen größere Lautdauern aufweisen (Surlykke & Moss, 2000) und Pistohl (1998) beschrieb bei *P. discolor* sogenannte Zirplaute. Dabei handelte es sich um multiharmonische (3-5 Harmonische) Vokalisationen, deren stärkste Harmonische einen Frequenzbereich von 40 bis 90 kHz abdeckten. Sie waren bezüglich der Dauer der Laute in drei Klassen eingeteilt. Die kürzesten hatten eine durchschnittliche Dauer von 2,6 ms, die mittleren eine durchschnittliche Dauer von 5,9 ms und die längsten eine durchschnittli-

che Dauer von 14,2 ms. In den Verhaltensexperimenten von Pistohl wurden diese Zirplaute von den Tieren zum Teil bei der Begegnung mit Artgenossen an der Futterstelle abgegeben. Bezogen auf den spektralen Aufbau dieser Zirplaute, die sich bis auf die Lautdauer kaum von Echoortungslauten unterscheiden, könnte es sich bei dem kurzen und mittleren Zirplaut-Typ auch um Echoortungslaute zu bestimmten Zeitpunkten der Echoortungssituationen handeln. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass prätektale Neuronen anscheinend spezifische Informationen über die Dauer eines akustischen Reizes erhalten. Der größte Teil der bevorzugten Reizdauern liegen in einem Bereich, dem Echoortungsrufe bzw. spezifische Kommunikationslaute von *P. discolor* entsprechen.

### 5.3.5 Neuronale Antworten auf Doppelreize

An der Kodierung von Objekt- oder Zielentfernung sind im Hörsystem der Fledermaus aller Wahrscheinlichkeit nach so genannte kombinationssensitive Neuronen beteiligt. Kombinationsensitive Neuronen werden durch Doppelreize (simulierte Folge von Puls und Echo) bei bestimmten Interstimulusintervallen zwischen den Komponenten aktiviert, während sie auf die Einzelkomponenten oder bei anderen Interstimulusintervallen keine oder nur eine sehr schwach ausgeprägte Aktivität aufweisen (z.B.: Sullivan, 1982). Bei verschiedenen Fledermausarten konnten diese Neuronen auf verschiedenen Ebenen im Hörsystem, im AC (*M. lucifugus*: Sullivan, 1982; *E. fuscus*: Dear et al., 1993) im MGB (*P. parnellii*: Wenstrup, 1999) im SC bzw. an den SC angrenzenden Gebieten (*E. fuscus*: Valentine & Moss, 1997; Dear & Suga, 1995) und im IC (Portfors & Wenstrup, 1999) nachgewiesen werden.

Acht der 17 untersuchten „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen und eines der vier untersuchten phasisch antwortenden Neuronen in der AP zeigten spezifische Aktivitätsmuster auf die präsentierten Doppelreize. Während bei den „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen die 1. Aktivität unverändert blieb, wies die 2. Aktivität eindeutige Bezüge zu bestimmten Interstimulusintervallen auf. Die 2. Aktivität der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen zeigte Parallelen zu Antworteigenschaften kombinationssensitiver Neuronen, wie sie im AC von *M. lucifugus* (Sullivan, 1982) und im Mittelhirn von *E. fuscus* (Dear & Suga 1995) charakterisiert wurden. Hier führten Doppelreize mit bestimmten Interstimulusintervallen bei den untersuchten Neuronen zu einer Aktivierung. Die Aktivität war an den 2. Reiz der Doppelreizkomponenten gekoppelt, was zu einer Latenzverschiebung führte. Vier der „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen und das einfach phasisch antwortende Neuron in der AP zeigten gleichfalls eine solche an den 2. Reiz gekoppelte Aktivität mit einer Verschiebung der Latenz. Sullivan (1982) beschrieb auch kombinationssensitive

Neuronen, die mit konstanter Latenz zum Beginn des Doppelreizes bei bestimmten Interstimulusintervallen aktiviert wurden. Mit diesem Neurontyp können die anderen drei „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen verglichen werden, die eine eindeutige Antwort auf Doppelreize bei bestimmten Interstimulusintervallen zeigten, aber keine an den 2. Reiz gekoppelte Aktivität aufwiesen mit dementsprechend keiner Latenzverschiebung.

In ihrer Studie über kombinationssensitive Neuronen im SC von *E. fuscus* zeigten Valentine & Moss (1997), dass die Aktivität der Neuronen auf Doppelreize stark vom Intensitätsverhältnis des 1. und 2. Reizes abhängig war. Auf einen Doppelreiz mit dem bevorzugten Interstimulusintervall bei gleicher Intensität von 1. und 2. Reiz war keine oder nur sehr geringe Aktivität messbar, während bei einer geringeren Intensität des 2. Reizes eine stärkere Aktivität zu beobachten war. Ein ähnliches Antwortverhalten konnte bei dem untersuchten phasischen Neuron gemessen werden. Gleiche Intensitäten von 1. und 2. Reiz führten zu keiner bzw. einer sehr schwachen Aktivierung, während eine Abschwächung des 2. Reizes um 10 dB gegenüber dem 1. Reiz zu einer höheren Aktivierung führte. Eine weitere Abschwächung um 20 dB gegenüber dem 1. Reiz führte wieder zu einer verminderten Aktivität. Innerhalb der AP konnte aber nur dieses eine Neuron bezüglich unterschiedlicher Intensitäten des 2. Reizes charakterisiert werden.

Doppelreize, die bei prätektalen Neuronen die höchste Aktivität hervorriefen, hatten Interstimulusintervalle im Bereich von 3,2 bis 9,8 ms mit einem Schwerpunkt im Bereich von 5,4 ms. Unter natürlichen Echoortungsbedingungen entsprechen diese „Laufzeiten“ Objektentfernungen von 54 bis 166 cm. Im AC von *E. fuscus* konnten zwei Neuronenpopulationen mit bevorzugten Interstimulusintervallen im Bereich von 3 bis 9 ms und 12 bis 21 ms charakterisiert werden (Dear et al., 1993), während im Mittelhirn von *E. fuscus* nur Neuronenpopulationen nachgewiesen werden konnten, deren bevorzugte Interstimulusintervalle etwas höher im Bereich von 8 bis 17 ms bzw. 17 bis 30 ms lagen (Dear & Suga, 1995). Dear & Suga (1995) argumentierten, dass die im Mittelhirn gefundene Verteilung der beiden kombinationssensitiven Neuronenpopulationen spezifisch mit verschiedenen Stadien der Jagd (Suchphase, Annäherungsphase) korreliert sein könnte. Unterstützend konnten sie zeigen, dass bei Neuronen mit bevorzugten Interstimulusintervallen im Bereich von 8 bis 17 ms die beste Echointensität bei 60 dB +/- 16 dB SPL lag, während bei Neuronen mit bevorzugten Interstimulusintervallen zwischen 17 und 30 ms die beste Echointensität mit 45 dB +/- 10 dB SPL im Vergleich niedriger war.

Die bei dem phasisch antwortenden Neuron gefundene beste Echointensität lag bei 85 dB SPL und die Doppelreize, die zu einer Aktivierung führten, hatten Interstimulusintervalle in einem Bereich

von 5,4 bis 12,1 ms. Die hohen Intensitäten von 72,1 dB SPL +/- 13,0 dB SPL, die notwendig waren um bei „doppelt-phasisch“ antwortenden Neuronen die 2. Aktivität auszulösen (siehe Abbildung 4-11) weisen daraufhin, dass auch bei Doppelreizen nur „Echos“ mit hoher Intensität registriert werden. Damit würden die prätektalen Neuronen dem von Dear & Suga (1995) beobachteten Trend entsprechen, dass nämlich Neuronen, die eine Aktivierung auf Doppelreize mit kleinen Interstimulusintervallen zeigen, eine hohe Intensität zur Aktivierung benötigen.

Ein Spezialfall bildet das Neuron, das zusätzlich zur ersten und zweiten Aktivität noch eine dritte Aktivität auf die präsentierten Doppelreize zeigte. Im Gegensatz zu den anderen acht Neuronen zeigte dieses Neuron ab einem Interstimulusintervall von 9,8 ms eine 3. Aktivität, die zeitlich an den zweiten Reiz gekoppelt war und sich mit steigendem Interstimulusintervall vergrößerte (siehe Abbildung 4-20; Kapitel 4). Damit könnte das Neuron einer Gruppe von AP-Neuronen angehören, deren beste Interstimulusintervalle deutlich höher als die der acht anderen charakterisierten Neuronen liegen. Das könnte auf eine Existenz zweier Neuronengruppen hinweisen, die analog zu Dear & Suga (1995) spezifisch mit verschiedenen Verhaltenskontexten (Suchphase, Annäherungsphase) korreliert sind. Zum anderen könnte dieses Neuron aber hohe Repetitionsraten auflösen, was die stetig sich erhöhende Aktivierung erklären könnte, die im Gegensatz zu den neuronalen Antworten der anderen acht Neuronen steht. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die in der AP charakterisierten Neuronen durch Doppelreize aktiviert werden und gemeinsame physiologische Eigenschaften zu kombinationssensitiven Neuronen zeigen.

#### 5.4 Neuronale Antworten während der Vokalisation

Innerhalb des auf vokalisationsaktive neuronale Aktivitäten untersuchten rostro-medianen Teils der AP zeigten die untersuchten Neuronen eine zur Vokalisation korrelierte Aktivität. Zwischen Ende des elektrischen Stimulus und 5-10 ms vor Beginn der Vokalisation war eine tonische Aktivität feststellbar. Wurde unterschwellig gereizt und damit keine Vokalisation ausgelöst, war diese Aktivität nicht vorhanden. Bei einem Neuron war die Aktivität zeitlich eng an die Vokalisation gekoppelt. Die beiden Aktivitätsmuster sind denen bei der Fledermaus *R. rouxi* im Nucleus ambiguus und paralemniskalen Zone abgeleiteten tonischen Aktivitätsmuster ähnlich (Rübsamen & Betz, 1986; Metzner, 1993). Beide Strukturen sind in audio-motorische Verarbeitungsschritte mit eingebunden (siehe auch Punkt 2.1; Kap. 2).

Neuronen des Ncl. ambiguus, die eine tonische Aktivität vor der Vokalisation aufwiesen, zeigten

zum Teil diese auch allein während der Respiration (Rübsamen & Betz, 1986). Dagegen war bei prätektalen vokalaktiven Neuronen eine Aktivität nur bei der Vokalisation des Tieres vorhanden. War der elektrische Reiz (siehe Punkt 4.4; Kap.4) leicht unterschwellig, konnte bei den prätektalen Neuronen auch keine Aktivität mehr gemessen werden. Neuronen in der paralemniskalen Zone, die eine tonische Aktivität vor der Vokalisation aufwiesen, zeigten oft eine Korrelation zwischen Entladungsrate und Frequenz der jeweiligen Vokalisation und wurden auf eine mögliche Beteiligung an audio-vokalen Rückkopplungsmechanismen, speziell die der Doppler-Shift-Kompensation, diskutiert (Metzner, 1993). Eine Abhängigkeit der Entladungsrate von den verschiedenen Parametern der Vokalisation konnte bei prätektalen Neuronen in dieser Untersuchung nicht überprüft werden. Ähnlich den Neuronen in der paralemniskalen Zone konnte auch bei prätektalen Neuronen eine Aktivierung durch akustische Reize und die eigene zurückgespielte Vokalisation zusätzlich zur Aktivierung durch die Vokalisation gezeigt werden. Fünf der vokal aktiven Neuronen wurden auch durch akustische Reize aktiviert. Sie zeigten „doppelt-phasische“ oder phasische Antwortmuster mit vergleichbaren Antworten auf Reintöne und abwärts frequenzmodulierte Reize. Die Abstimmkurven wiesen einen V-förmigen Verlauf auf und die besten Interstimulusintervalle lagen im Bereich von 5,4 bis 9,8 ms, wenn eine Aktivierung durch Doppelreize gegeben war. Abhängigkeiten von der Reizdauer konnten bei diesen Neuronen nicht untersucht werden, jedoch zeigen sie ähnliche akustische Eigenschaften wie die „doppelt-phasisch“ und phasisch antwortenden prätektalen Neuronen.

Ein Neuron zeigte eine tonische Aktivierung nur während aktiver Vokalisation und könnte durch akustische Reize allein oder die zurückgespielte Eigenvokalisation nicht aktiviert werden. Eine Aktivität während der Vokalisation, ohne dass eine Aktivierung durch akustische Reize möglich ist, würde analog zu Rübsamen und Betz (1986) bedeuten, dass dieses Neuron nur in die motorische Informationsübertragung eingebunden ist. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass fast alle Neuronen in der AP Informationen in Korrelation mit motorischen Abläufen oder mit spezifischen akustischen Informationsinhalten verarbeiten. Damit stellen diese Neuronen vermutlich integrative Einheiten dar, über die akustische Information modulierend auf die Motorik einwirken könnte.

## 5.5 Schlussfolgerung und mögliche funktionelle Bedeutung der AP

Anhand der bislang vorliegenden Befunde auf anatomischer und mikrostimulativer Ebene wurde eine mögliche Beteiligung der AP an audio-motorischer Rückkopplung, speziell der Doppler-Shift-

Kompensation diskutiert (Schuller, 1998). Die Ergebnisse der elektrischen Mikrostimulation, sowie der elektrophysiologischen Charakterisierung der AP bei der FM-Fledermaus *P. discolor* bestätigen die bislang diskutierten Überlegungen, dass die AP eine audio-motorische Umschaltstelle darstellt. *P. discolor* zeigt mit ihren kurzen multiharmonischen FM-Lauten eine bei Fledermäusen häufig vorkommende Ortungsstrategie und unterscheidet sich damit von der spezialisierten CF-Fledermaus *R. rouxi*. Eine Einbindung der AP in die Doppler-Shift-Kompensation kann bei *P. discolor* daher nicht diskutiert werden. Analog zu bisher durchgeführten Untersuchungen in Mittelhirnbereichen von *R. rouxi* (Schuller & Radtke-Schuller, 1990) können auch in der AP von *P. discolor* nur Vokalisationen ausgelöst, aber nicht in ihrem spektro-temporalen Muster verändert werden. Das spricht für eine Auslösefunktion der AP, die aller Wahrscheinlichkeit nach abhängig von bestimmten Verhaltenskontexten Strukturen aktiviert, die an der Vokalisationsgenerierung beteiligt sind (Schuller 1998). Die AP erhält akustische Informationen ausschließlich aus einem Frequenzbereich, der dem der stärksten Harmonischen des Echoortungsrufes entspricht. Die kürzesten gemessenen Latenzen prätektaler Neuronen weisen auf eine relativ schnelle Aktivierung durch akustische Reize hin. Prätektale Neuronen zeigen weiter eine Abstimmung auf Reizdauern, die mit der Dauer ihrer multiharmonischen Echoortungslaute und längeren FM-Lauten korreliert ist. Damit erhalten und verarbeiten prätektale Neuronen sehr spezifische Informationen über die eigenen Echoortungsrufe bzw. möglicherweise Echoortungsrufe von Artgenossen, die sich im Bereich der Fledermaus aufhalten. Diese akustischen Informationen werden weiter spezifiziert, dadurch dass die Neuronen der AP zusätzlich Information über die Objektentfernung verarbeiten können. Die hohen Schwellen der prätektalen Neuronen beschränken ihre Funktion bei der audio-motorischen Verarbeitung auf den Nahbereich der Fledermaus. Durch die gefundenen efferenten Verbindungen zur Pons und zum Nucleus ruber und afferenten Verbindungen vom Cerebellum ist nicht nur eine Beteiligung an vokalisationskorrelierten Rückkopplungen denkbar, sondern es besteht auch die Möglichkeit, dass die AP analog zu ihrer Einbindung in visuelle Reflexe (Zilles & Rehkämper, 1998), an der Vermittlung schneller, akustisch gesteuerter Orientierungsbewegungen oder –reflexen beteiligt ist.

Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen elektrophysiologischen Einblicke in die akustischen und motorischen bzw. audio-motorischen Eigenschaften prätektaler Neuronen stellen eine erste Charakterisierung einer, auf dem Gebiet der akustischen Informationsverarbeitung bislang kaum untersuchten Struktur dar. Die verschiedenen charakterisierten physiologischen Eigenschaften wie die Abhängigkeit von der Reizdauer, die Aktivierung durch Doppelreize und die Integration von akustischer und motorischer Information stellen wichtige Ansatzpunkte für nachfolgende Studien dar.

## 6 Literaturverzeichnis

Adams, J. C. (1977). Technical considerations on the use of horseradish peroxidase as a neuronal marker. *Neuroscience* **1977** (2), 141-145.

Avendano, C. & Juretschke, M. A. (1980). The pretectal region of the cat: a structural and topographical study with stereotaxic coordinates. *J. Comp. Neurol.* **193** (1), 69-88.

Behrend, O., Schuller, G. (2000). The central acoustic tract and audio-vocal coupling in the horse-shoe bat, *Rhinolophus rouxi*. *Eur. J. Neurosci.* **12**, 4268-4280.

Benevento, L. A. & Standage, G. P. (1983). The organization of projections of the retinorecipient and nonretinorecipient nuclei of the pretectal complex and layers of the superior colliculus to the lateral pulvinar and medial pulvinar in the macaque monkey. *J. Comp. Neurol.* **217**, 307-336.

Berkley, K. J. & Mash, D. C. (1978). Somatic sensory projections to the pretectum in the cat. *Brain Res* **158**, 445-449.

Brainard, M. S. & Doupe, A. J. (2000). Auditory feedback in learning and maintenance of vocal behaviour. *Nat.Rev.Neurosci.*, **1** (1), 31-40.

Cadusseau, J. & Roger, M. (1985). Afferent projections to the superior colliculus in the rat, with special attention to the deep layers. *J. Hirnforsch.* **26** (6), 667-681.

Casseday, J. H., Kobler, J. B., Isbey, S. F. & Covey, E. (1989). Central acoustic tract in an echolocating bat: an extralemniscal auditory pathway to the thalamus. *J. Comp. Neurol.* **287** (2), 247-259.

Casseday, J. H. & Covey, E. (1992). Frequency tuning properties of neurons in the inferior colliculus of an FM bat. *J. Comp. Neurol.* **319**, 34-50.

Casseday, J. H., Ehrlich, D. & Covey, E. (1994). Neural tuning for sound duration: role of inhibitory mechanisms in the inferior colliculus. *Science*, **264**, 847-850.

Casseday, J. H., Ehrlich, D. & Covey, E. (2000). Neural measurement of sound duration: control by excitatory-inhibitory interactions in the inferior colliculus. *J. Neurophysiol.* **84** (3), 1475-1487.

- Chiang, C. Y., Chen, I. C., Dostrovsky, J. O. & Sessle, B. J. (1989). Inhibitory effect of stimulation of the anterior pretectal nucleus on the jaw-opening reflex. *Brain Res.* **497** (2), 325-333.
- Chiang, C. Y., Dostrovsky, J. O. & Sessle, B. J. (1991). Periaqueductal gray matter and nucleus raphe magnus involvement in anterior pretectal nucleus-induced inhibition of jaw-opening reflex in rats. *Brain Res.* **544** (1), 71-78.
- Covey, E., Hall, W. C. & Kobler, J. B. (1987). Subcortical connections of the superior colliculus in the mustache bat, *Pteronotus parnellii*. *J. Comp. Neurol.* **263** (2), 179-197.
- Covey, E. & Casseday, J. H. (1999). Timing in the auditory system of the bat. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 457-476.
- Dear, S. P., Fritz, J., Haresign, T., Ferragamo, M. & Simmons, J. A. (1993). Tonotopic and functional organization in the auditory cortex of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J. Neurophysiol.* **70** (5), 1988-2009.
- Dear, S. P. & Suga, N. (1995). Delay-tuned neurons in the midbrain of the big brown bat. *J. Neurophysiol.* **73** (3), 1084-1100.
- Ehrlich, D., Casseday, J. H. & Covey, E. (1997). Neural tuning to sound duration in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J. Neurophysiol.* **77** (5), 2360-2372.
- Esser, K. H. & Eiermann, A. (1999). Tonotopic organization and parcellation of auditory cortex in the FM-bat *Carollia perspicillata*. *European Journal of Neuroscience* **11** (10), 3669-3682.
- Feng, A. S. & Lin, W. Y. (1991). Differential innervation patterns of three divisions of frog auditory midbrain (torus semicircularis). *J. Comp. Neurol.* **306** (4), 613-630.
- Fenzl, T. & Schuller, G. (2002). Periaqueductal gray and the region of the paralemniscal area have different functions in the control of vocalization in the neotropical bat, *Phyllostomus discolor*. *European Journal of Neuroscience* **16** (10), 1974-1986.
- Fitzpatrick, D. C., Suga, N. & Olsen, J. F. (1998). Distribution of response types across entire hemispheres of the mustached bat's auditory cortex. *J. Comp. Neurol.* **391**, 353-365.
- Foster, G. A., Sizer, A. R., Rees, H. & Roberts, M.-H. T. (1989). Afferent projections to the rostral

- anterior pretectal nucleus of the rat a possible role in the processing of noxious stimuli. *Neuroscience* **1989** (29), 685-694.
- Franklin, K. B., Paxinos, G. (2000). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2<sup>nd</sup> Edition, Academic Press, London
- Fuzessery, Z. M., Buitenhoff, P., Andrews, B., Kennedy, J.M., (1993) Passive sound localization of prey by the pallid bat (*Antrozous p. pallidus*). *J. comp. Physiol.* **171**, 767-777.
- Fuzessery, Z. M. & Hall, J. C. (1999). Sound duration selectivity in the pallid bat inferior colliculus. *Hear. Res.* **137** (1-2), 137-154.
- Galazyuk, A. V. & Feng, A. S. (1997). Encoding of sound duration by neurons in the auditory cortex of the little brown bat, *Myotis lucifugus*. *J. Comp. Physiol. [A]* **180** (4), 301-311.
- Gooler, D. M. & O'Neill, W. E. (1987). Topographic representation of vocal frequency demonstrated by microstimulation of anterior cingulate cortex in the echolocating bat, *Pteronotus parnelli*. *J. Comp. Physiol. [A]* **161**, 283-294.
- Gooler, D. M. & Feng, A. S. (1992). Temporal coding in the frog auditory midbrain - The influence of duration and rise-fall time on the processing of complex amplitude-modulated stimuli. *J. Neurophysiol.* **67** (1), 1-22.
- Hoeller, P. & Schmidt, U. (1996). The orientation behaviour of the lesser spear-nosed bat, *Phyllostomus discolor* (Chiroptera) in a model roost: Concurrence of visual, echoacoustical and endogenous spatial information. *J. Comp. Phys. A Sensory Neural and Behavioral Physiology* **179** (2), 245-254.
- Hoffmann, K. P. & Distler, C. (1989). Quantitative analysis of visual receptive fields of neurons in nucleus of the optic tract and dorsal terminal nucleus of the accessory optic tract in macaque monkey. *Journal of Neurophysiology Bethesda* **62** (2), 416-428.
- Hoffmann, K. P., Distler, C. & Ilg, U. (1992). Callosal and superior temporal sulcus contributions to receptive field properties in the macaque monkey's nucleus of the optic tract and dorsal terminal nucleus of the accessory optic tract. *Journal of Comparative Neurology* **321**, (1), 150-162.
- Huffman, R. F. & Henson, O. W., Jr. (1990). The descending auditory pathway and acousticomotor

systems: connections with the inferior colliculus. *Brain Res. Rev.* **15** (3), 295-323.

Hutchins, B. & Weber, J. T. (1985). The pretectal complex of the monkey. A reinvestigation of the morphology and retinal terminations. *J. Comp. Neurol.* **232**, 425-442.

Ibbotson, M. R. & Price, N. S. (2001). Spatiotemporal tuning of directional neurons in mammalian and avian pretectum: a comparison of physiological properties. *J. Neurophysiol.* **86** (5), 2621-2624.

Inoue, Y., Takemura, A., Kawano, K. & Mustari, M. J. (2000). Role of the pretectal nucleus of the optic tract in short-latency ocular following responses in monkeys. *Exp. Brain Res.* **131** (3), 269-281.

Jiang, Z. D., Moore, D. R. & King, A. J. (1997). Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the ferret. *Brain Res.* **755** (2), 279-292.

Jürgens, U. (2002). A study of the central control of vocalization using the squirrel monkey. *Medical Engineering and Physics* **24**, 473-477.

Jürgens, U. (2002). Neural pathways underlying vocal control. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **26**, 235-258.

Kudo, M., Itoh, K., Kawamura, S. & Mizuno, N. (1983). Direct projections to the pretectum and the midbrain reticular formation from auditory relay nuclei in the lower brainstem of the cat. *Brain Res.* **288** (1-2), 13-19.

Leonardo, A. & Konishi, M. (1999). Decrystallization of adult birdsong by perturbation of auditory feedback. *Nature* **399**, 466-470.

Magoun, H. W., Ranson, S. W. (1935) The central path of the light reflex. A study of the effect of lesion. *Arch. Ophthalmol.*, **13**, 791-811

Majak, K., Kowianski, P., Morys, J., Spodnik, J., Karwacki, Z., Wisniewski, H., M. (2000). The limbic zone of the rabbit and rat claustrum: A study of the claustroringulate connections based on the retrograde axonal transport of fluorescent tracers. *Anatomy and Embryology* **201** (1), 15-25.

Marino, J., Martinez, L. & Canedo, A. (1999). Sensorimotor Integration at the Dorsal Column Nuclei. *News Physiol. Sci.* **14**, 231-237.

- Mesulam, M. M. & Rosene, D. L. (1979). Sensitivity in horseradish peroxidase neuro histochemistry a comparative and quantitative study of 9 methods. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. **27** (3), 763-773.
- Metzner, W. & Radtke-Schuller, S. (1987). The nuclei of the lateral lemniscus in the rufous horseshoe bat, *Rhinolophus rouxi*. A neurophysiological approach. *J. Comp. Physiol. [A]* **160** (3), 395-411.
- Metzner, W. (1989). A possible neuronal basis for Doppler-shift compensation in echo- locating horseshoe bats. *Nature* **341**, 529-532.
- Metzner, W. (1993). An audio-vocal interface in echolocating horseshoe bats. *J. Neurosci.* **13** (5), 1899-1915.
- Mihailoff, G. A. (1995). Orthograde axonal transport studies of projections from the zona incerta and pretectum to the basilar pontine nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* **360** (2), 301-318.
- Narins, P. M. & Capranica, R. R. (1980). Neural adaptations for processing the two-note call of the Puerto Rican treefrog, *Eleutherodactylus coqui*. *Brain Behav. Evol.* **17**, 48-66.
- Neuweiler, G. (1990). Auditory adaptations for prey capture in echolocating bats. *Physiol. Rev.* **70** (3), 615-641.
- Neuweiler G. (1993). *Biologie der Fledermäuse* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Neuweiler, G. (1996). Echoortung ein Modell für die Neurobiologie des Hörens. *Neuroforum* **96** (1), 4-17.
- New, J. G., Snyder, B. D. & Woodson, K. L. (1998). Descending neural projections to the spinal cord in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Anat. Rec.* **252** (2), 235-253.
- O' Mara, S. M., Commins, S., Anderson, M. & Gigg, J. (2001). The subiculum: A review of form, physiology and function. *Progress in Neurobiology Oxford* **64** (2), 129-155.
- O'Neill, W. E. (1995). The bat auditory cortex. In: Hearing by bats (Popper A. N. & Fay R. R. eds.), Springer Verlag, New York, 416-473.

- Paxinos, G., Watson, Ch. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 2<sup>nd</sup> Edition Academic Press, London.
- Peterka, R. J. (2002). Sensorimotor integration in human postural control. *J. Neurophysiol.* **88** (3), 1097-1118.
- Pillat, J. & Schuller, G. (1998). Audiovocal behavior of Doppler-shift compensation in the horseshoe bat survives bilateral lesion of the paralemniscal tegmental area. *Exp. Brain Res.* **119** (1), 17-26.
- Pinheiro, A. D., Wu, M. & Jen, P. H. (1991). Encoding repetition rate and duration in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J. Comp. Physiol. [A]* **169** (1), 69-85.
- Pisthol D. (1998). *Struktur und Funktion sozialer Laute bei der kleinen Lanzennase, Phyllostomus discolor (Chiroptera, Phyllostomidae)*, Dissertation, Fakultät der Naturwissenschaften der Universität Ulm.
- Pollak G. D. & Park T. J. (1995). The inferior colliculus. In: Hearing by bats (Popper A. N. & Fay R. R. eds.) Springer Verlag, New York, 297-367.
- Portfors, C., V & Wenstrup, J. J. (1999). Delay-tuned neurons in the inferior colliculus of the mustached bat: Implications for analyses of target distance. *Journal of Neurophysiology Bethesda* **82** (3), 1326-1338.
- Precht, H. (1995) Senso-motorische Wechselwirkung im auditorischen Mittelhirn der Hufeisennasen-Fledermaus *Rhinolophus rouxi*. Dissertation, Fakultät für Biologie der Ludwigs-Maximilians-Universität München.
- Radtke-Schuller, S. & Schuller, G. (1995). Auditory cortex of the rufous horseshoe bat. 1. Physiological response properties to acoustic stimuli and vocalizations and the topographical distribution of neurons. *Eur. J. Neurosci.* **7** (4), 570-591.
- Radtke-Schuller, S. (2001). Neuroarchitecture of the auditory cortex in the rufous horseshoe bat (*Rhinolophus rouxi*). *Anat. Embryol. (Berl)* **204** (1), 81-100.
- Ranck, J. B., Jr. (1975). Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central

nervous system: a review. *Brain Res.* **98** (3), 417-440.

Roberts, M.H.T., Rees, H. (1986) The antinociceptive effects of stimulating the pretectal nucleus of the rat. *Pain* **25**, 83-93

Reimer, K. (1989). Retinofugal projections in the rufous horseshoe bat, *Rhinolophus rouxi*. *Anat. Embryol. (Berl)* **180** (1), 89-98.

Rother, G. & Schmidt U. (1982). Der Einfluß visueller Information auf die Echoortung bei *Phyllostomus discolor* (Chiroptera). *Zeitschrift für Säugetierkunde* **47** (6), 324-334.

Rosa, M., L., Oliveira, M., A., Valente, R., B., Coimbra, N., C., Prado, W., A. (1998) Pharmacological and neuroanatomical evidence for the involvement of the anterior pretectal nucleus in the antinociception induced by stimulation of the dorsal raphe nucleus in rats. *Pain* **74**, 171-179

Rübsamen, R. & Schweizer, H. (1986). Control of echolocation pulses by neurons of the nucleus ambiguus in the rufous horseshoe bat, *Rhinolophus rouxi*. II. Afferent and efferent connections of the motor nucleus of the laryngeal nerves. *J. Comp. Physiol. [A]* **159** (5), 689-699.

Rübsamen, R. & Betz, M. (1986). Control of echolocation pulses by neurons of the nucleus ambiguus in the rufous horseshoe bat, *Rhinolophus rouxi*. I. Single unit recordings in the ventral motor nucleus of the laryngeal nerves in spontaneously vocalizing bats. *J. Comp. Physiol. [A]* **159** (5), 675-687.

Sato, A. & Ohtsuka, K. (1996). Projection from the accommodation-related area in the superior colliculus of the cat. *J. Comp. Neurol.* **367** (3), 465-476.

Scalia, F. & Arango, V. (1979). Topographic organization of the projections of the retina to the pretectal region in the rat. *Journal of Comparative Neurology* **186** (2), 271-292.

Schiff, D., Cohen, B. & Raphan, T. (1988). Nystagmus induced by stimulation of the nucleus of the optic tract in the monkey. *Experimental Brain Research.* **70**, 1-14.

Schiff, D., Cohen, B., Buettner-Ennever J. & Matsuo, V. (1990). Effects of lesions of the nucleus of the optic tract on optokinetic nystagmus and after-nystagmus in the monkey. *Experimental Brain Research* **79** (2), 225 -239.

- Schnitzler, H. U. (1968). Die Ultraschall-Ortungslaute der Hufeisen-Fledermäuse (Chiroptera, Rhinolophidae) in verschiedenen Orientierungssituationen. *Z. Vergl. Physiol.* **57**, 376-408.
- Schuller, G. & Pollak, G. (1979). Disproportionate frequency representation in the inferior colliculus of Doppler-compensating greater horseshoe bats: Evidence for an acoustic fovea. *J. Comp. Physiol. [A]* **132**, 47-54.
- Schuller, G., Radtke-Schuller, S. & Betz, M. (1986). A stereotaxic method for small animals using experimentally determined reference profiles. *J. Neurosci. Methods* **18** (4), 339-350.
- Schuller, G. & Radtke-Schuller, S. (1988). Neural control of vocalization in bats at peripheral to midbrain levels. In: The physiological control of mammalian vocalization (Newman, J. D., ed.) Plenum Press, New York and London, pp 67-86.
- Schuller, G. & Radtke-Schuller, S. (1990). Neural control of vocalization in bats: mapping of brainstem areas with electrical microstimulation eliciting species-specific echolocation calls in the rufous horseshoe bat. *Exp. Brain Res.* **79** (1), 192-206.
- Schuller, G., Covey, E. & Casseday, J. H. (1991). Auditory pontine grey: Connections and response properties in the horseshoe bat. *Eur. J. Neurosci.* **3**, 648-662.
- Schuller, G., O'Neill, W. E. & Radtke-Schuller, S. (1991). Facilitation and delay sensitivity of auditory cortex neurons in CF-FM bats, *Rhinolophus rouxi* and *Pteronotus p. parnellii*. *Eur. J. Neurosci.* **3** (11), 1165-1181.
- Schuller, G., Fischer, S. & Schweizer, H. (1997). Significance of the paralemniscal tegmental area for audio-motor control in the moustached bat, *Pteronotus p. parnellii*: the afferent off efferent connections of the paralemniscal area. *Eur. J. Neurosci.* **9** (2), 342-355.
- Schuller, G. (1998). Neural mechanisms of vocal control in bats. INABIS '98 - 5th Internet World Congr. Biomed. Sci. McMaster Univ. Can .
- Schweizer, H. (1981). The connections of the inferior colliculus and the organization of the brainstem auditory system in the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*). *J. Comp. Neurol.* **201** (1), 25-49.

- Shipley, C., Buchwald, J. S. & Carterette, E. C. (1988). The role of auditory feedback in the vocalizations of cats. *Exp. Brain Res.* **69** (2), 431-438.
- Simmons, J. A., Fenton, M. B. & O'Farrell, M. J. (1979). Echolocation and pursuit of prey by bats. *Science* **203**, 16-21.
- Sullivan, W. E. (1982). Neural representation of target distance in auditory cortex of the echolocating bat *Myotis lucifugus*. *J. Neurophysiol.* **48** (4), 1011-1032.
- Sullivan, W. E. (1982). Possible neural mechanisms of target distance coding in auditory system of the echolocating bat *Myotis lucifugus*. *J. Neurophysiol* **48** (4), 1033-1047.
- Surlykke, A. & Moss, C. F. (2000). Echolocation behavior of big brown bats, *Eptesicus fuscus*, in the field and the laboratory. *Journal of the Acoustical Society of America.* **108** (5), 2419 -2429.
- Trepel, M., (1999). Neuroanatomie -Struktur und Funktion, 2. Auflage, Urban & Fischer Verlag.
- Valentine D. E. & Moss C. F. (1997). Spatially selective auditory responses in the superior colliculus of the echolocating bat. *J. Neurosci.* **3** (1), 1720-1733.
- Valentine, D. E., Sinha, S. R. & Moss, C. F. (2002). Orienting responses and vocalizations produced by microstimulation in the superior colliculus of the echolocating bat, *Eptesicus fuscus*. *J. Comp. Physiol. [A]* **188** (2), 89-108.
- Vater, M. (2000). Auditory brainstem processing in bats. In: Auditory worlds: sensory analysis and perception in animals (Manley, G.A., Fastl, H., Kössl, M., Oeckinghaus, H.& Klump, G., eds.) Wiley-VCH, Wernheim, 142-152.
- Weber, J. T., Chen, I. L. & Hutchins, B. (1986). The pretectal complex of the cat: cells of origin of projections to the pulvinar nucleus. *Brain Res.* **397** (2), 389-394.
- Wenstrup, J. J., Larue, D. T. & Winer, J. A. (1994). Projections of physiologically defined subdivisions of the inferior colliculus in the mustached bat: targets in the medial geniculate body and extrathalamic nuclei. *J. Comp. Neurol.* **346** (2), 207-236.
- Wenstrup J.-J. (1995). The auditory thalamus in bats. In: Hearing by bats (Popper AN & Fay RR, eds.), Springer Verlag, New York, 369-415.

- Wenstrup, J. J. (1999). Frequency organization and responses to complex sounds in the medial geniculate body of the mustached bat. *J. Neurophysiol.* **82** (5), 2528-2544.
- Wiberg, M., Westman, J. & Blomqvist, A. (1987). Somatosensory projection to the mesencephalon: Anatomical study in the monkey. *J. Comp. Neurol.* **264**, 92-117.
- Wong-Riley, M. (1979). Changes in the visual system of monocularly sutured or enucleated cats demonstrable with the cytochrome oxidase technique. *Brain Res.* **171**, 11-28.
- Yoshida, A., Sessle, B. J., Dostrovsky, J. O. & Chiang, C. Y. (1992). Trigeminal and dorsal column nuclei projections to the anterior pretectal nucleus in the rat. *Brain Res.* **590** (1-2), 81-94.
- Zagon, A., Terenzi, M. G. & Roberts, M. H. (1995). Direct projections from the anterior pretectal nucleus to the ventral medulla oblongata in rats. *Neuroscience* **65** (1), 253-272.
- Zilles, K., Rehkämper, G. (1998). *Funktionelle Neuroanatomie*. 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg

## 7 Lebenslauf

### Angaben zur Person

Geburtsdatum: 02.08.1971  
Geburtsort: Mallersdorf  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### Schulbildung

09/82-07/91 Burkhardt-Gymnasium, Mallersdorf-Pfaffenberg  
  
10/91 Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

### Wehrdienst

10/91-03/93 Gebirgspionierkompanie 230, Brannenburg

### Studium

04/93-09/93 Universität Regensburg  
Fachbereich: physische Geographie, Nebenfach Botanik  
09/93-03/99 Universität Regensburg  
Fachbereich Biologie;  
Schwerpunkt: Zoologie  
Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe Prof. Dr. K. Hansen  
  
03/99 Abschluß: Hauptdiplom

### Promotion

05/99-05/03 Department Biologie II, LMU München  
Betreuung: Prof. Dr. Gerd Schuller

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Schuller für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Betreuung der Arbeit und seine stetige Hilfsbereitschaft bei experimentellen und fachlichen Belangen.

Frau Dr. Radtke-Schuller und Herr Dr. Schweizer danke ich für ihre Hilfsbereitschaft bei der Klärung anatomischer Probleme und speziell Frau Dr. Radtke-Schuller für ihre Unterstützung bei der Bildbearbeitung der anatomischen Schnitte

Claudia Schulte danke ich für ihre Hilfe bei der histologischen Aufarbeitung der Gehirne. Horst König danke ich für seine Unterstützung im technischen Bereich und Dieter Leippert für seine Unterstützung in allen Belangen des Tierstallbereichs und bei Fragen zur Statistik.

Dr Uwe Firzlaff danke ich für seine stetige Diskussionsbereitschaft und seine Bemühungen beim Korrekturlesen dieser Arbeit

Thomas Fenzl und Rudi Marsch ein großes Dankeschön für ihre Bereitschaft nochmals kurz vor knapp die Arbeit durchzusehen.

Thomas Fenzl, Rudi Marsch, Markus Drexl, Petra Weißenbacher, Jan Grunwald, Alexandra Stein und allen anderen der Abteilung danke ich für die sehr angenehme Atmosphäre, die viel zum Gelingen dieser Arbeit beitrug.

Ein sehr großes Dankeschön geht an Tatjana Tannenberg, ohne die ich manches Mal wohl aufgegeben hätte und die mir bei der Fertigstellung der Arbeit eine riesengroße Hilfe war.

Besonderer Dank auch an Peter Tannenberg für seine Unterstützung im Versorgungsbereich

Ein großes Dankeschön an Steffi Nixdorf, die noch so manchen Grammatikfehler fand.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern danken, ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

**Ehrenwörtliche Versicherung:**

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt.

München, den 26.05.2003

.....  
(Andreas Nixdorf)