

**Funktionelle Mikroarchitektur
rekurrenter corticothalamischer
Schaltkreise sowie deren
perzeptuelle Relevanz**

Max F.K. Happel

Otto-von-Guericke Universität zu Magdeburg, 2010

Funktionelle Mikroarchitektur rekurrenter
corticothalamischer Schaltkreise sowie deren
perzeptuelle Relevanz

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

von: **Dipl.-Biol. Max F.K. Happel**

geb. am 12. April 1982 in: Heidelberg

Gutachter: **Prof. Dr. Frank W. Ohl**

Prof. Dr. Günther Ehret

eingereicht am: 1. Dezember 2010

verteidigt am: 20. Mai 2011

Für mein Julchen

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift mit dem Titel

**Funktionelle Mikroarchitektur rekurrenter
corticothalamischer Schaltkreise sowie deren perzeptuelle
Relevanz**

selbstständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Das Zitieren aus bestehenden Werken ist entsprechend gekennzeichnet und die jeweilige Quelle angegeben.

Magdeburg, den 23. Mai 2011

Max Happel

Autor: Max F.K. Happel

Titel: Funktionelle Mikroarchitektur rekurrenter corticothalamischer Schaltkreise sowie deren perzeptuelle Relevanz

Stichwörter: Auditorischer Cortex, corticale Deaktivierung, corticale Mikroarchitektur, rekurrente corticothalamische *Feedback*-Schleifen, Strom-Quellen-Dichte-Analyse (CSD-Analyse), intracorticale Mikrostimulation (ICMS), Verhalten

Zusammenfassung: Neuronale Aktivität in primären sensorischen Arealen des Cortex ist geprägt durch raumzeitliche Muster, welche vor allem als Resultat der Repräsentation physikalischer Stimulusparameter (*Bottom-up*) in sogenannten topographischen Karten verstanden werden. Auf der Ebene des primären sensorischen Cortex konvergieren afferente thalamocorticale *Feedforward*-Projektionen mit lokalen, wie weitreichenden intracorticalen Schaltkreisen, sowie rekurrenten corticofugalen *Feedback*-Schaltkreisen. Des Weiteren weisen experimentelle Befunde darauf hin, dass die topographisch geprägten Muster in spezifische Kontext-abhängige, verhaltensadaptierte oder lerninduzierte corticale Prozessierungen (*Top-down*) eingebunden sind. Dabei konnte die funktionelle Rolle dieser Subsysteme zur Integration der *Bottom-up*- und *Top-down*-Prozessierungen bislang nur schwer auf die Funktionsweise der Mikroarchitektur corticaler Netzwerke abgebildet werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde durch Kombination verschiedener Methoden, wie Elektrophysiologie, Pharmakologie, Elektrostimulation und Verhaltensanalysen, die Konvergenz und Integration dieser Prozesse auf der Ebene thalamocorticaler und intracorticaler funktioneller Mikroschaltkreise untersucht. Die Arbeit gliedert sich dazu in drei Hauptteile. Die Experimente wurden alle am primären auditorischen Cortex von Mongolischen Wüstenrennmäusen (*Meriones unguiculatus*) durchgeführt. Im ersten Teil wurde die corticale Verarbeitung physikalischer Reizparameter auf der Ebene der funktionellen Mikroarchitektur thalamocorticaler und intracorticaler Projektionssysteme untersucht. Dazu wurde die Ableitung hoch aufgelöster laminarer Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen (CSD) nach Stimulation mit Reintönen variierender spektraler Distanz zur Bestfrequenz (BF) des Ableitortes kombiniert mit einer reversiblen pharmakologischen corticalen Deaktivierung sowie einer neuartigen Form der Residualanalyse. Dabei wurden die unterschiedlichen Beiträge der thalamocorticalen *Bottom-up*-Projektionen sowie der intracorticalen Eingänge zur spektralen Integration beschrieben. So konnte ein Mechanismus aufgedeckt werden, welcher eine raumzeitlich hoch präzise Integration thalamocorticaler und horizontaler, interkolumnärer Eingänge nach Stimulation mit Frequenzen nahe der BF erlaubt, wo die Überlappung spektraler Eingang aus beiden Systeme am stärksten ist. Durch den Vorteil der CSD-Analyse neuronale Aktivität auf der Ebene der funktionell-anatomischen Organisation der corticalen Mikroschaltkreise abzubilden, konnten die Ergebnisse dieser Arbeit und bisherige widersprüchliche Befunde zu einem konzeptuellen Modell der spektralen In-

tegration im primären auditorischen Cortex vereint werden. Im zweiten Teil wurden die verschiedenen Subsysteme der corticalen Schaltkreise durch spezifische intracorticale Mikrostimulation (ICMS) in den verschiedenen Schichten des Cortex selektiv aktiviert. Durch die gleichen methodischen Ansätze konnte gezeigt werden, dass, entgegen kürzlich publizierter Befunde, elektrische Stimulation die cortico-corticale Signalweiterleitung nicht per se durch Blockieren der lokalen Prozessierung unterbricht. Während dies nach Stimulation in den supragranulären Schichten tatsächlich der Fall war, erlaubte die ICMS in granulären und infragranulären Schichten eine polysynaptische intracorticale Weiterleitung. Des Weiteren konnte durch selektive Aktivierung der infragranulären Ausgangs-Schichten im Cortex und der dort entspringenden corticothalamischen *Feedback*-Projektionen ein direkter exzitatorischer und lokaler rekurrenter corticothalamischer Schaltkreise nachgewiesen werden. Die Existenz eines solchen lokalen rekurrenten überschwelligem Schaltkreises zwischen Cortex und Thalamus wurde seit Jahrzehnten kontrovers diskutiert. Zuletzt wurden die zuvor entwickelten Stimulationsstrategien zur differenziellen Rekrutierung der unterschiedlichen Projektionssysteme in einem Verhaltensexperiment als konditionierte Stimuli genutzt. Eine psychometrische Analyse der Detektionsleistung zeigte, dass die Generierung elektrisch evozierter Perzepte maßgeblich einer Rekrutierung der zuvor beschriebenen lokalen rekurrenten corticothalamischen Schaltkreise zu Grunde lag. Damit konnte nachgewiesen werden, dass ein neuer, bislang nicht vorgeschlagener Schaltkreis an der Vermittlung perzeptueller Effekte nach intracorticaler Mikrostimulation beteiligt ist, was Implikationen für alle vorherigen und zukünftigen Studien hat, welche durch ICMS evozierte Verhaltenseffekte untersuchen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit betonen, dass neuronale Dynamiken eine präzise raumzeitliche Integration afferenter *Bottom-up*-Information und intracorticaler Prozessierungen erlauben, welche die Generierung von perzeptuell bedeutungsrelevanten raumzeitlichen Mustern in corticalen Netzwerken bilden. Hierbei spielt die lokale Wiedereinführung („*re-entrance*“) neuronaler Informationen in die intrakolumnäre Prozessierung über rekurrente corticothalamische Schleifen eine wichtige Rolle für die Bereitstellung neuronale Signale, welche die Auslese durch globalere horizontale intraareale sowie interareale Prozessierungssysteme begünstigt. Eine solche funktionale „orthogonale“ Trennung der vertikalen, lokalen Prozessierung und nachgeschalteter weitreichender lateraler *Feedforward*-Aktivierungen verhindert möglicherweise eine Interferenz der corticalen Eingangs-Informationen und der folgenden Integrations- und Auslese-Mechanismen. Eine solche Form der topologischen Organisation corticaler Schaltkreise, welche sich von klassischen topographischen *Bottom-up*-Repräsentationen unterscheidet, ermöglicht es, die kognitiven Grundlagen der Perception auf der Ebene primärer corticaler Mikroschaltkreise besser zu verstehen.

Author: Max F.K. Happel

Title: Functional microarchitecture of recurrent corticothalamic loops and their perceptual relevance

Keywords: Auditory cortex, cortical silencing, cortical microcircuits, recurrent corticothalamic feedback loops, current-source-density-analysis (CSD-analysis), intracortical microstimulation (ICMS), behaviour

Abstract: Neuronal activity in primary sensory cortex is manifested in spatiotemporal patterns, which predominantly reflect map representations of physical stimulus properties (bottom-up) in so-called topographic maps. On a primary cortical level, afferent thalamocortical projections converge with local and long-distant intracortical microcircuits, as well as recurrent corticofugal feedback circuits. Further, recent research suggests that these spatiotemporal map-based patterns also reflect specific context-dependent, adaptable or learning-induced cortical demands (top-down). The functional role of the aforementioned subsystems for bottom-up- and top-down-processing has been hardly related to the underlying architecture of the cortical microcircuits.

In this work, a combination of methods, including electrophysiology, pharmacology, microstimulation and behavioural analysis, was used to investigate the convergence and integration of both processes of the involved thalamocortical and intracortical microcircuits. For this purpose, the work consists of three major parts. All experiments were conducted in the primary auditory cortex of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). The first investigated the contributions of sensory information from afferent feedforward thalamocortical projection systems and convergent intracortical microcircuits. To this aim, high-density recordings of laminar current-source-density (CSD) distributions after stimulation with pure tones of systematically varied spectral distance to the best frequency (BF) represented at the measurement site, have been combined with pharmacological silencing of cortical activity and analysis of the relative residual of the CSD-waveform. This approach has allowed identification of different feedforward thalamocortical or intracortical contributions to spectral integration. The quantitative analysis of the interaction of both input systems at various spectral distances from the BF uncovered a mechanism of temporally highly precise integration of both inputs in the close spectral neighbourhood of the BF, where the spectral overlap between thalamocortical and intracortical input is maximal. Combined with the advantage of CSD-analysis to relate neuronal activity to the laminar organization of the cortical microcircuitry, this allowed the development of a conceptual framework for spectral integration in primary auditory cortex that can unify previously conflicting models of spectral integration. In a second part, the different subsystems were selectively activated by using layer-specific intracortical microstimulation (ICMS). Using the same methods, it could be demonstrated, in contrast to recent studies, that electrical stimulation does not disrupt cortico-cortical signal propagation by

silencing the output of the cortical microcircuits per se. While activation of supragranular cortical layers by ICMS did indeed lead to suppression of cortical processing, stimulation of granular and infragranular cortical layers did not lead to a disruption of subsequent cortico-cortical signal propagation. Furthermore, the selective activation of the infragranular output layers evoked a re-entrant activation of cortex via thalamus. The existence of such local driving loops between sensory cortex and thalamus has been debated controversially on theoretical grounds for more than a decade. At last, the layer-specific stimulation protocols, activating different intracortical or subcortical projection systems, served as conditioned stimuli in a behavioural detection task. By analysis of detection performance it could be shown that recruitment of recurrent corticothalamic feedback loops most effectively contributed to signal detection demonstrating their functional relevance in perception. Hence, it could be demonstrated that a new pathway, not previously proposed, mediates the perceptual effects of intracortical microstimulation, which is critical for all previous and future studies employing ICMS for evoking behavioural effects.

These results emphasize the precise spatiotemporal integration of bottom-up information and intracortical processing and highlight the importance of their dynamic interaction for the generation of perceptually relevant spatiotemporal activity patterns in cortical microcircuits. In this framework, local re-entry of information into intracolumnar processing by recurrent corticothalamic feedback loops provided neural signals suitable for a read-out by more global intraregional and cross-regional cortical feedforward processing systems. Such an „orthogonal“ separation of local vertical processing and subsequent large scale lateral interactions might prevent interference between cortical input and subsequent read-out- and integration-mechanisms. Hence, such a topological organization of cortical networks, which though differs from classical topographical map-based representations, allows us to get a better understanding of the cognitive fundamentals of perception on the basis of the cortical microcircuitry.

Inhaltsverzeichnis

Selbstständigkeitserklärung	V
Zusammenfassung	VI
Inhaltsverzeichnis	X
1 Einleitung	1
1.1 Funktionelle Anatomie des primären sensorischen Cortex	3
1.1.1 Vertikale und horizontale kolumnäre Organisation lokaler corticaler Schaltkreise	5
1.1.2 Feedforward- und Feedback-Prozessierung im thalamocorticalen System	7
1.1.3 Das auditorische thalamocorticale System der Mongolischen Wüstenrennmaus als Modellsystem	10
1.1.4 Spektrale Integration als Modell thalamocorticaler Interaktionen	13
1.2 Methodische Ansätze zur Examination corticaler Funktionen	15
1.2.1 Corticale Deaktivierung: Pharmakologische Trennung thalamocorticaler und intracorticaler Interaktionen	16
1.2.2 Funktionelle Elektrostimulation: Korrelation von corticalen Erregungsmustern und Perzeption	17
1.3 Fragestellungen der vorliegenden Arbeit	18

2	Material und Methoden	21
2.1	Versuchsdesign	21
2.2	Design der Elektroden für Ableitung und Stimulation	22
2.2.1	Maßfertigung von Multikanal-Schaftelektroden	22
2.2.2	Tiefen-Elektroden-Array für die intracorticale Mikrostimulation	23
2.3	Chirurgische Präparation der Versuchstiere	25
2.4	Elektrophysiologische Untersuchungen	26
2.4.1	Elektrophysiologisches Multikanal-Ableitsystem	26
2.4.2	Grundlagen der Strom-Quellen-Dichte-Analyse	29
2.4.3	Pharmakologische Deaktivierung corticaler Aktivität	35
2.5	Histochemische Verfahren	36
2.6	Verhaltensexperimente	36
2.6.1	Block-Design der Verhaltensexperimente	37
2.6.2	Analyse der Verhaltensdaten	39
2.7	Statistische Analysen	40
3	Ergebnisse	42
3.1	Physiologische Strom-Quellen-Dichte- Verteilungen im auditorischen Cortex	42
3.1.1	Dissoziation thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Eingänge in AI	42
3.1.2	Aquirierung afferenter und intrinsischer synaptischer Popula- tionen in Abhängigkeit des Spektralgehaltes	45
3.1.3	Quantifizierung thalamocorticaler und intracorticaler Anteile der corticalen laminaren Aktivierungen	48
3.1.4	Laminare Konvergenz afferenter und intracorticaler synapti- scher Eingänge	49
3.1.5	Analyse der zeitlichen Struktur konvergenter Eingangssysteme im auditorischen Cortex	54

3.1.6	Weitreichende intracorticale Projektionen und ihr spektraler Beitrag	59
3.2	Histochemische und metabolische Verfahren	62
3.2.1	Histochemie und Histologie	62
3.2.2	Autometallographische Analyse der corticalen Deaktivierung .	62
3.3	Corticale Netzwerkaktivierungen nach intracorticaler Mikrostimulation	66
3.3.1	Lokale Netzwerkaktivierung nach schichtspezifischer Stimulation	67
3.3.2	Weitreichende polysynaptische Aktivierungen nach schichtspezifischer Stimulation	72
3.3.3	Reichweite der corticothalamischen Aktivierung rekurrenter Feedback-Kreisläufe	76
3.3.4	Trennung lokaler und weitreichender synaptischer Beiträge . .	77
3.4	Verhaltensexperimente zum Detektionslernen	84
3.4.1	Schichtabhängigkeit des überschwelligen Initiallernens	86
3.4.2	Psychometrische Funktionen: Schichtabhängigkeit des Detektionsschwellenwertes	87
3.4.3	Psychometrische Funktionen nach bipolarer Stimulation	89
4	Diskussion	93
4.1	Laminare Verarbeitung akustischer Reize im primären auditorischen Cortex	95
4.1.1	Zeitliche Präzision horizontaler und afferenter Eingänge in granulären Schichten	96
4.1.2	Lokale intrakolumnäre Prozessierung amplifiziert sensorische Eingänge	102
4.1.3	Vergleich unterschiedlicher pharmakologischer Deaktivierungsmethoden	103
4.1.4	Spektrale Integration: Modellsystem der zeitlich präzisen Interaktion thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Eingänge	105

4.2	Effekte der schichtspezifischen intracorticalen Mikrostimulation	108
4.2.1	Rekurrente corticothalamische Interaktionen als Ursprung lokaler corticaler Aktivierungsmuster	110
4.3	Perzeptuelle Effekte der intracorticalen Mikrostimulation	113
4.3.1	Rekurrente corticothalamische Interaktionen als Grundlage der Perzeption	115
4.3.2	Implikationen für medizintechnische Anwendungen	123
4.4	Abschließende Beurteilung und Ausblick	129
A	Anhang	133
A.1	Materialien und Geräte	134
A.2	Protokolle	137
A.2.1	Nissl-Färbung	137
A.2.2	Berliner Blau-Färbung	137
A.3	Abkürzungsverzeichnis	139
	Stichwortverzeichnis	141
	Abbildungsverzeichnis	143
	Tabellenverzeichnis	146
	Literaturverzeichnis	147
	Curriculum Vitae	173

*„Alle Wissenschaft wäre überflüssig, wenn die Erscheinungsform
und das Wesen der Dinge unmittelbar zusammenfielen“*

Karl Marx

1 Einleitung

Das „*Höhlengleichnis*“¹ des griechischen Philosophen Platon ist eine der ältesten, aus der Antike stammenden Versinnbildlichungen der Frage nach der Wirklichkeit unserer Wahrnehmung, welche immer wieder erkenntnistheoretische Diskussionen inspiriert hat. So formulierte auch die Kant'sche „Kritik der reinen Vernunft“ (1781) und die durch sie beeinflussten modernen Empiristen die Annahme, dass unsere Wahrnehmung der Objekte der äußeren Welt niemals genauen Aufschluss über ihre konkreten physikalischen Merkmale geben können - ganz im Einklang mit dem Zitat von Karl Marx (siehe vorherige Seite). Durch die modernen Methoden der Neurowissenschaften kann diese über Jahrhunderte diskutierte Frage nun auf eine neurobiologische Probe gestellt werden.

Da Perzeption und Wahrnehmung generell als Phänomene gelten, für welche corticale Systeme notwendig sind (Parvizi, 2009), ist der Teil des Cortex, an welchem die sensorische Information auf corticale Schaltkreise (engl.: *cortical microcircuits*) konvergiert, ein geeigneter Ort, um solche Fragen auf neuronaler Ebene zu untersuchen. Primäre sensorische Areale sind dabei zunächst durch topographisch organisierte Repräsentationen geprägt, welche sich aus den biophysikalischen Gegebenheiten des Signaltransduktionsprozesses und der nachfolgenden neuronalen Verarbeitungen ableiten lassen, und somit als subcorticale, afferente *Bottom-up*-Informationen² dem Cortex zur Verfügung stehen (Toga & Thompson, 2001; Chklovskii & Koulakov, 2004; Schreiner & Winer, 2007). Innerhalb der primären sensorischen Areale bestehen starke rekurrente, also wechselseitige, intrinsische Verbindungen und darüber

¹ *Politeia*, ca. 370 v.Chr.

² *Bottom-up*-Prozessierung: vollständig durch biophysikalische Reizparameter, wie beispielsweise Spektralgehalt, erklärbare Aspekte der neuronalen Verarbeitung

hinaus konvergieren zusätzlich *Feedback*-Verbindungen aus weitreichenden sensorischen, sowie assoziativen corticalen Arealen. Die Aktivität sensorischer Cortices spiegelt daher zum einen spezifische physikalische Parameter der peripheren Stimulation akkurat wider, wie ursprünglich am Beispiel der retinotopen oder tonotopen Karten in den primären Arealen des visuellen, bzw. auditorischen Cortex gezeigt (Hubel & Wiesel, 1959; Merzenich et al., 1975). Doch neben diesen *Bottom-up*-vermittelten Eigenschaften des corticalen Netzwerkes finden sich viele Hinweise darauf, dass die verbleibende Varianz der Aktivität primärer sensorischer Cortices durch höher-assoziative *Top-down*-Modulationen³ beeinflusst wird und somit auch komplexe kognitive Abläufe integrieren kann (Arieli et al., 1996; Ohl & Scheich, 1997a, 2005; Freeman, 2000a; Ohl et al., 2001; Nelken, 2004, 2008; Schroeder et al., 2010). Aus diesem Grund erlaubt die funktionelle Organisation des primären sensorischen Cortex, als Nexus zwischen subcorticalen, afferenten Eingängen und weitreichenden intracorticalen, rekurrenten Verschaltungen, die Konvergenz zwischen Stimulus-repräsentierender *Bottom-up*-Information und *Top-down*-Modulation. So konnte am Beispiel des auditorischen Cortex gezeigt werden, dass sich die Aktivitäten Kontext-spezifisch ändern können (Scheich et al., 2007) und sich selbst im Zuge der Kategorienbildung in einem Lernkontext distinkte raumzeitliche Muster in der corticalen Dynamik ergeben (Ohl et al., 2001). Dass bewusste Wahrnehmung tatsächlich schon auf der niedrigsten Stufe der corticalen Hierarchie, in primären sensorischen Arealen, beginnt, konnte am Beispiel internaler Repräsentation gezeigt werden (Crick & Koch, 1995; Kosslyn et al., 2001; King, 2006). Eine der noch offenen, zentralen Fragen dabei ist, welche neuronalen Mechanismen auf der Ebene der funktionellen Mikroarchitektur corticaler Netzwerke die Interaktion der verschiedenen *Feedforward*- und *Feedback*-Subsysteme erlauben und wie die sich daraus ergebenden dynamischen Zustandsänderungen corticaler Prozessierung die Generierung von Perzeption oder die Enkodierung von Lerninhalten ermöglichen (Callaway, 2004; Tsodyks & Gilbert, 2004; Gilbert & Sigman, 2007; Schäfer et al., 2007).

³ *Top-down*-Prozessierung: nicht vollständig durch physikalische Reizparameter erklärbare Varianz der neuronalen Verarbeitung basierend auf Einflüssen wie Aufmerksamkeit, Erwartungshaltung, Lernen etc.

In den letzten 50 Jahre haben technische Entwicklungen der anatomischen und elektrophysiologischen Methoden unser Verständnis der Hirnfunktionen revolutioniert, indem die neuronalen Schaltkreise in ihrer Feinstruktur und Funktion auf allen Betrachtungsebenen zum Untersuchungsgegenstand wurden. Vor der Einführung heutiger moderner Techniken war das wohl stärkste Werkzeug, um funktionell weitreichende Schlussfolgerungen neurobiologischer Zusammenhänge zu erlangen, das Nutzen spezifischer Hirnläsionen und deren Korrelation mit neurologischen Defiziten (Lomber & Galuske, 2002). Moderne methodische Ansätze ermöglichen heute neuronale Läsionen nicht durch chirurgische Eingriffe zu vollziehen, sondern durch technische oder pharmakologische Ansätze die Funktionen lokaler neuronaler Verbände temporär, also reversibel, zu deaktivieren. Diese reversiblen Deaktivierungsmethoden haben in den letzten Jahren große Beiträge zur Untersuchung der Zusammenhänge corticaler Struktur und Funktion geleistet, vor allem durch ihre Kombination mit klassischen elektrophysiologischen und lernexperimentellen Ansätzen (Payne et al., 1996).

In dieser Arbeit sollen eben solche kombinierten technischen Ansätze zur Untersuchung corticaler Regelkreisläufe genutzt werden, um die funktionelle Mikroarchitektur corticothalamischer Interaktionen elektrophysiologisch, sowie in Verhaltensexperimenten, zu untersuchen. Ziel ist es, bestimmte raumzeitliche Muster der Aktivierung im sensorischen Cortex, welche mit Mustern der Wahrnehmung und Perzeption korrelieren, zu klassifizieren und diese so strukturell-funktionellen Kriterien der corticalen Mikroarchitektur zu unterwerfen. So soll ein Brückenschlag der eingangs erläuterten Dichotomie zwischen der Repräsentation physikalischer Reizparameter und der perzeptuellen Auslese corticaler Netzwerkaktivierungen angestrebt werden.

1.1 Funktionelle Anatomie des primären sensorischen Cortex

Eine der größten Herausforderungen in der Erforschung der Arbeitsweise sensorischer Cortices ist die Etablierung kausaler Zusammenhänge zwischen struktu-

rellen und funktionellen corticalen Eigenschaften, sowie spezifischen Aspekten der Wahrnehmung (Friston, 2005). Hinsichtlich Struktur und Funktion wird der sensorische Cortex klassischerweise als Informations-Verarbeitungseinheit aufgefasst, welcher *Bottom-up*-Eingänge erhält, lokale Prozessierungen, charakterisiert durch rekurrente Exzitation und Inhibition, vollzieht und anschließend einen *Feedforward*-Ausgang zu höheren Bereichen generiert. Dieses Konzept spiegelt sich im lokalen kanonischen corticalen Mikroschaltkreis wieder, welcher zunächst von Hubel & Wiesel (1974) vorgeschlagen und schließlich weiter entwickelt wurde (siehe Abschnitt 1.1.1; Szentagothai, 1975; Douglas & Martin, 2004). Diese lokalen „Elaborationseinheiten“ innerhalb einer Region sind eingebettet in globalere interareale Netzwerke, deren Verbindungen zu anderen corticalen Kolumnen, anderen corticalen Arealen, sowie subcorticalen Strukturen klassischerweise als *Feedforward*- und *Feedback*-Projektionen bezeichnet werden (Felleman & Van Essen, 1991; Callaway, 2004). *Feedforward*-Projektionen gelten grundlegend als direkt erregende Vermittler, während die *Feedback*-Einflüsse auf die *Feedforward*-Verarbeitung zumeist als modulatorisch betrachtet werden (Callaway, 2004). In diesem Zusammenhang wurde auch gezeigt, dass corticofugale *Feedback*-Prozesse die sensorische Verarbeitung durch Modulation afferenter Eingänge optimieren (siehe Abschnitt 1.1.2 King, 1997; Rauschecker, 1998; Andolina et al., 2007) und veränderte corticale Antwort-Dynamiken ermöglichen (Alitto & Usrey, 2003). Diese bidirektionale Organisation verdeutlicht, dass die lokalen Funktionen der corticalen Schaltkreise eingebunden sind in globalere neuronale Dynamiken, welche durch wechselseitige Interaktionen der verschiedenen *Feedforward*- und *Feedback*-Systeme entstehen. Die verschiedenen Konfigurationen dieser corticalen Verknüpfungen erlauben vier Klassen von grundlegenden corticalen Prozessen: Integration, parallele Verarbeitung, Distribution und Wiedereinführung von Information über rekurrente Kreisläufe (Lamme & Roelfsema, 2000; Lamme et al., 2002). Die Rolle dieser Subprozesse bei der oben erläuterten neuronalen Dichotomie zwischen externer und interner Repräsentation ist dabei jedoch bislang nicht ausreichend verstanden.

1.1.1 Vertikale und horizontale kolumnäre Organisation lokaler corticaler Schaltkreise

Die anatomische Feinstruktur corticaler Netzwerke basiert prinzipiell auf einem einheitlichen Organisationsprinzip und gilt demnach auch für primär sensorische Areale. Der Cortex besteht prinzipiell aus sechs Schichten, welche durch Zelldichte und Zelltypen, sowie durch die Verschaltungen der Ein- und Ausgänge, voneinander unterschieden werden. Dabei zeigen sich einheitliche Prinzipien in der lokalen laminaren Struktur, also der vertikalen, kolumnären Organisation der kanonischen corticalen Mikroarchitektur (Szentagothai, 1975; Douglas & Martin, 2004), sowie auch einheitliche Prinzipien der weitreichenderen Verknüpfung dieser corticalen Module durch die horizontalen Verbindungen zwischen bestimmten Schichten (siehe Abbildung 1.1). Diese vertikale und horizontale Organisation der einzelnen Schichten erlaubt eine funktionelle Trennung: Dabei stellen die mittleren oder granulären Schichten III und vor allem IV die corticalen Eingangsschichten dar, in denen weitgehend die direkten afferenten, subcorticalen Projektionen aus den sensorischen thalamischen Kernen terminieren (Hackett, 2010). Die Anzahl thalamocorticaler Synapsen ist im Vergleich zu den starken rekurrenten exzitatorischen und inhibitorischen intracorticalen Verbindungen sehr gering. Primäre thalamocorticale Projektionen terminieren auf exzitatorischen, sowie inhibitorischen Neuronen, machen jedoch nur etwa 10-20% der Synapsen in den Eingangsschichten und unter 5% aller corticaler Synapsen in primären Feldern aus (Benshalom & White, 1986; Ahmed et al., 1997; Douglas & Martin, 2007).

Die oberen und unteren Schichten hingegen stellen die Haupt-Ausgangsschichten dar, da von ihnen Projektionen auf corticale Nachbarkolumnen, auf höhere corticale Areale, sowie zu subcorticalen Kernen ausgehen (Abbildung 1.1). In der vertikalen Orientierung verlaufen zwischen allen Schichten und Zelltypen intrakolumnäre Verschaltungen, welche crosslaminare Prozessierungen ermöglichen (Bannister, 2005; Atencio et al., 2009). Vor allem werden durch intrakolumnäre exzitatorische rekurrente Mikroschaltkreise zwischen Neuronen in Schicht IV und II/III die schwachen

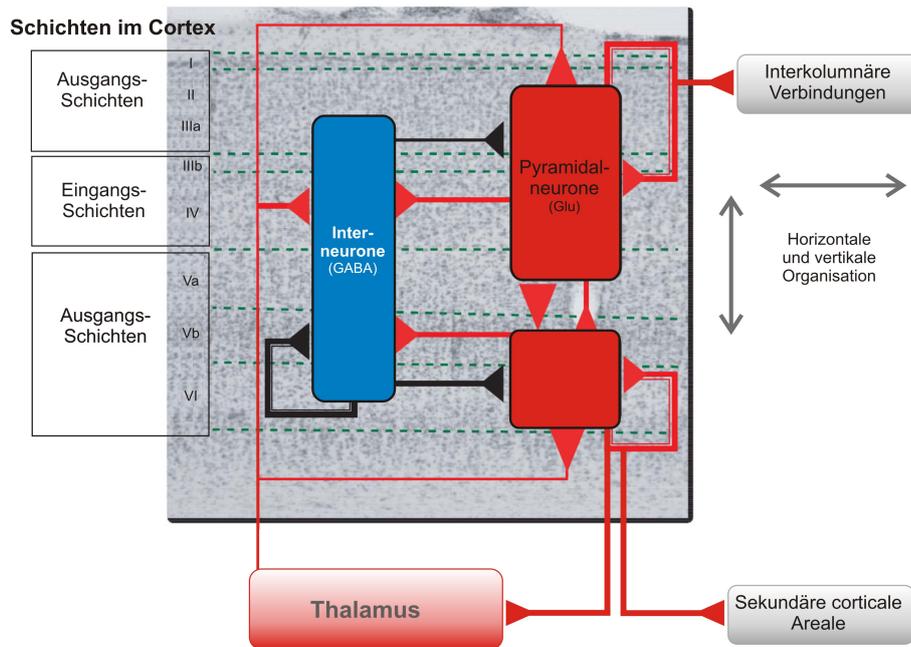


Abbildung 1.1: Die funktionelle Organisation der kanonischen corticalen Mikroarchitektur. Das Modell der kanonischen corticalen Kolumne besteht vereinfacht aus drei Neuronenpopulationen, welche alle miteinander interagieren: in supragranulären und granulären Schichten liegen größere und kleinere exzitatorische (glutamaterge) Pyramidalneurone (rot). Inhibitorische (GABAerge) Interneurone (blau) finden sich in allen Schichten. Der lokale (intrakolumnäre) corticale Schaltkreis ist dabei charakterisiert durch schwachen thalamischen Eingang auf alle drei Zelltypen, welcher am stärksten in granulären Eingangsschichten (vor allem IV) terminiert. Weiterhin sind die Zellpopulationen alle durch starke rekurrente Verschaltungen miteinander verbunden. Interkolumnäre (horizontale) Projektionen zwischen corticalen Nachbarbereichen verlaufen großteils in den oberen Ausgangsschichten (I/II). Pyramidalneuronen in den unteren Ausgangsschichten (V/VI) projizieren zu höheren corticalen (sekundären) Feldern und senden corticofugale *Feedback*-Verbindungen zu subcorticalen Kernen, inklusive dem Thalamus. Verändert nach Douglas & Martin (2004) und Logothetis et al. (2007).

afferenten Eingänge selektiv und lokal amplifiziert (Douglas & Martin, 2004; Liu et al., 2007), wobei dieser positive *Feedback*-Kreislauf unter direkter Kontrolle lokaler inhibitorischer Netzwerke steht (Douglas & Martin, 2007; Wu et al., 2008). Horizontale Verbindungen ermöglichen Wechselwirkungen zwischen Kolumnen, wobei direkte exzitatorische interkolumnäre Verbindungen vornehmlich in den granulären Schichten III-IV und modulatorische Verbindungen schichtunspezifisch in den corticalen Nachbarbereichen terminieren (Felleman & Van Essen, 1991; Callaway, 2004). Die Funktion der verschiedenen interkolumnären Verbindungen ist jedoch bislang noch nicht vollends verstanden. Zwar werden Stimulus-bezogene Antworteigenschaften weitgehend als *Bottom-up*-vermittelte Informationen angesehen, jedoch können

interkolumnäre Verbindungen modulatorischen Einfluß auf das corticale Abstimmverhalten selbst über weite corticale Areale haben (Metherate et al., 2005; Möller et al., 2010). Vor allem hinsichtlich der Verarbeitung komplexer Stimuli mit multiplen, konkurrierenden Eingängen scheint die kompetitive corticale Prozessierung auf weitreichenden intracorticalen Interaktionen zu basieren (Kurt et al., 2008; Möller et al., 2010). Horizontale Verbindungen können des Weiteren unter Kontextspezifischen Bedingungen die Ausgangsstärke einzelner Bereiche selektiv über weite corticale Bereiche hinweg modulieren (Adesnik & Scanziani, 2010; Atencio & Schreiner, 2010) und somit mögliche verhaltensrelevante neuronale Auslese-Mechanismen für lokale corticale Aktivierungen ermöglichen (Deliano et al., 2009). So reflektieren corticale Ausgangsinformationen vielmehr die lokale Prozessierung und Integration kompetitiver lokaler und weitreichender Wechselwirkungen, als einfache *Bottom-up*-vermittelte Integration subcorticaler Eingänge. Letztendlich sind für die sensorische Verarbeitung und anschließende perzeptuelle Auslese wechselseitige Interaktionen zwischen den verschiedenen lokalen, intraarealen und weitreichenden *Feedforward*- und *Feedback*-Verbindungen notwendig (Callaway, 2004; Sigman et al., 2005; Gilbert & Sigman, 2007).

1.1.2 Feedforward- und Feedback-Prozessierung im thalamocorticalen System

Die *Feedforward*- und *Feedback*-Verbindungen zwischen Strukturen höherer und niedriger Rangfolge des sensorischen Informationsflusses sind meist rekurrent (Maunsell & Newsome, 1987; Felleman & Van Essen, 1991). Das Konzept der direkt erregenden *Feedforward*- und modulatorischen *Feedback*-Prozessierung wird dabei auch im Zusammenhang mit corticothalamischen Projektions-Systemen diskutiert (Sherman & Guillery, 1998). Anatomisch lässt sich das zurückführen auf zwei distinkte Verschaltungs-Prinzipien, welche Cortex und Thalamus verbinden. Einerseits existieren direkte rekurrente Projektionen zwischen Bereichen des sensorischen Cortex und Thalamus mit gleichen Abstimmeeigenschaften, welche entsprechend die lokalen

modulatorischen corticofugalen *Feedback*-Projektionen darstellen (Rouiller & Welker, 2000). Andererseits projizieren Verbindungen aus dem Cortex in multisensorische und motorische Thalamuskern, welche anschließend in weitreichende corticale Areale höherer Ordnung verschaltet werden (Guillery & Sherman, 2002; Sherman & Guillery, 2002), so dass diese entsprechend als transthalämische *Feedforward*-Verbindungen zwischen corticalen Arealen anzusehen sind (Callaway, 2004).

Der lokalen corticothalamischen *Feedback*-Modulation kommen verschiedene Funktionen bei der sensorischen Verarbeitung zu, welche grundlegend in zwei Kategorien getrennt werden (Übersicht in: Alitto & Usrey, 2003; Briggs & Usrey, 2008). Die erste Kategorie des *Feedbacks* stellt eine selektive Anpassung der lokalen Abstimmereigenschaften spezifischer thalamischer Neuronenpopulationen durch weitgehend exzitatorische Einflüsse auf Neurone mit überlappenden rezeptiven Feldern (Villa et al., 1991; He et al., 1997, 2002; Yu et al., 2004) und globalere inhibitorische Einflüsse auf Neurone mit unterschiedlichen Abstimmereigenschaften dar (Suga & Ma, 2003; Suga, 2008; Briggs & Usrey, 2008). Diese Art der corticofugalen *Feedback*-Modulation wurde zuerst im auditorischen System als „Adaptive Filter-Theorie“ oder „Egozentrische Selektion“ beschrieben (Villa et al., 1991; Suga et al., 1997; Zhang et al., 1997) und findet sich auf thalamischer (Villa et al., 1991; Yu et al., 2004), wie colliculärer Ebene (Yan & Ehret, 2002; Yan et al., 2005) und über sensorische Modulitäten hinweg (Alitto & Usrey, 2003). Die zweite Kategorie der corticothalamischen *Feedback*-Prozessierung umfasst verschiedene Mechanismen, welche die Transmission sensorischer Informationen vom Thalamus zum Cortex selektiv verstärken. Diese Funktion des *Feedbacks* wird vermittelt durch Erhöhen von Feuerwahrscheinlichkeiten spezifischer thalamischer Neurone (Andolina et al., 2007), Koordination der Membranpotential-Schwankungen und der korrelierten Aktivität corticaler und thalamischer Neurone (Llinas et al., 1999; Destexhe, 2000; Steriade, 2006), sowie durch Reduktion der zeitlichen Variation thalamocorticaler Transmission (He et al., 1997; Wörgötter et al., 1998). So werden hochfrequente Gamma-Oszillationen in thalamocorticalen Kreisläufen lokal moduliert (Barth & MacDonald, 1996; Macdonald et al., 1998), was im Zusammenhang mit Aufmerksamkeitskontrolle (Destexhe,

2000) und corticaler synaptischer Kurzzeit-Potenzierung (Froemke et al., 2007) diskutiert wird. Corticothalamische *Feedback*-Modulationen können afferente Eingänge auf diese Weise Kontext-abhängig modulieren (King, 1997; Rauschecker, 1998; Ghazanfar et al., 2001; Andolina et al., 2007) und erlauben so eine Adaption sensorischer Verarbeitung in Abhängigkeit des Verhaltenskontextes (Nicollelis & Fanselow, 2002; McAlonan et al., 2008) durch Veränderung corticaler Antwort-Dynamiken (Alitto & Usrey, 2003) und plastische Änderungen corticaler rezeptiver Felder (Suga & Ma, 2003; Suga, 2008).

Bislang wurden diesen lokalen corticofugalen *Feedback*-Verbindungen weitgehend modulatorischer Einfluss auf thalamischer Ebene zugesprochen (Suga, 2008; Briggs & Usrey, 2008). Dennoch existieren vor allem im auditorischen System fundierte anatomische Hinweise, dass corticothalamische *Feedback*-Projektionen aus Schicht V im lemniskalen, also direkten sensorischen Teil des Thalamus, dem ventralen Medialen Geniculatum (vMGB), terminieren (Ojima, 1994; He et al., 2002), welche aufgrund ihrer synaptischen Feinstruktur eine direkte exzitatorische Transmission erlauben (Rouiller & Durif, 2004; Winer et al., 2005). Weiterhin mehren sich auch elektrophysiologische Befunde, welche direkte exzitatorische Wechselwirkungen zwischen topographisch eng verbundenen corticalen und thalamischen Bereichen beschreiben (He et al., 2002; Yu et al., 2004; West et al., 2006; Briggs & Usrey, 2008). Auf rein theoretischer Ebene wurde argumentiert, dass im Falle direkter erregender *Feedback*-Einflüsse das Risiko unkontrollierter corticaler Oszillationen durch rekurrente Exzitation bestünde (Crick & Koch, 1995). Dennoch ist bislang unklar, ob solche direkten exzitatorischen und lokalen corticothalamischen Schleifen ausgeschlossen werden können (West et al., 2006; Cappe et al., 2009; Zhou et al., 2010), oder welche möglichen Funktionen diese bei der dynamischen Regulation der corticothalamischen Interaktionen übernehmen könnten.

Aus dem hier skizzierten Bild resultiert, dass die lokalen corticalen Module eingebunden sind in lokale, intraareale, sowie weitreichende verschiedene *Feedforward*- und *Feedback*-Netzwerke, so dass die lokale corticale Prozessierung zum einen als direkter Vermittler akkurater Stimulus-bezogener Informationen oder globaler, Kontext-

abhängiger Modulationen fungieren kann (Logothetis, 2008). In diesem Zusammenhang bleibt dennoch offen, wie auf mechanistischer Ebene die *Bottom-up*- und *Top-down*-Prozesse im primären sensorischen Cortex voneinander separiert werden, was als „Dualitätsproblem primärer sensorischer Cortices“ formuliert wurde (Scheich et al., 2006). Für die Untersuchung dieser Fragestellung bietet das auditorische thalamocorticale System aufgrund seiner gut erforschten funktionellen Organisation ein ideales Modell.

1.1.3 Das auditorische thalamocorticale System der Mongolischen Wüstenrennmaus als Modellsystem

Wie bereits erwähnt, erhalten primäre sensorische Areale im Cortex topographisch organisierte Eingänge aus subcorticalen Kerngebieten, als Resultat der biophysikalischen Gegebenheiten des Signaltransduktionsprozesses und der nachfolgenden neuronalen Verarbeitungen (Toga & Thompson, 2001; Chklovskii & Koulakov, 2004). Im Falle des auditorischen Systems ist der Spektralgehalt akustischer Signale ein solcher Parameter (Ehret, 1997; Schreiner & Winer, 2007). Das daraus resultierende konservative Organisationsprinzip der Tonotopie findet sich auf allen Ebenen der auditorischen Verarbeitung und reflektiert die Ortskodierung verschiedener Frequenzkanäle von der Ebene der Cochlea bis hin zum primären auditorischen Cortex (AI, Merzenich et al., 1975; Scheich et al., 1993; Thomas et al., 1993; Budinger & Scheich, 2009). Die Topologie dieser *Bottom-up*-vermittelten Repräsentation auf corticaler Ebene wird bestimmt durch einen tonotopen Gradienten, in welchem Neurone, entsprechend ihrer höchsten Sensitivität („Charakteristische Frequenz“; CF) oder höchsten Entladungsrate („Bestfrequenz“; BF) auf systematisch variierte Reintonstimulation reagieren. Am Beispiel der Mongolischen Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*) zeigt sich dies anhand einer rostrocaudalen Ausrichtung absteigender Bestfrequenzen im Feld AI (siehe Abbildung 1.2B, aus: Budinger & Scheich, 2009). In orthogonaler Ausrichtung zum tonotopen Gradienten liegen entsprechend Neurone, welche näherungsweise ähnliche Frequenzpräferenzen besitzen, weshalb man

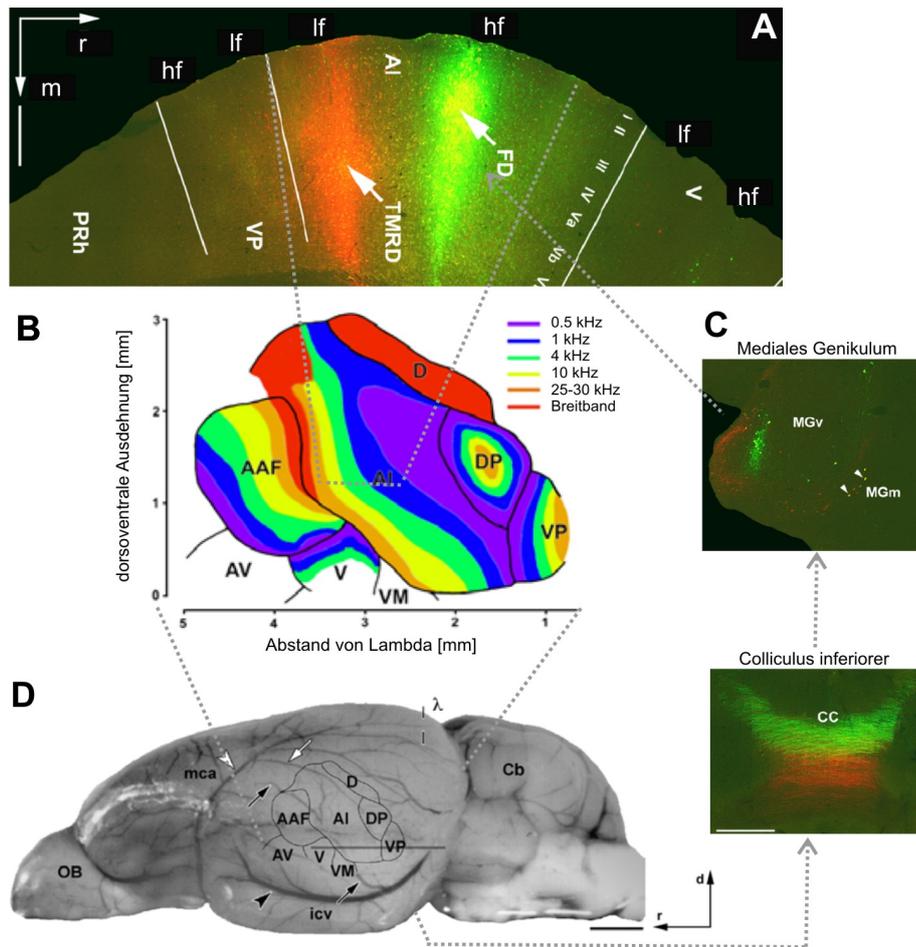


Abbildung 1.2: Funktionelle Organisation des auditorischen Cortex der Mongolischen Wüstenrennmaus. A. Distinkte Bereiche des auditorischen Cortex (ACx) erhalten separierte afferente Eingänge, welche entlang der Hörbahn die tonotop organisierte Ordnung spektraler Eingänge beibehalten (Tonotopie). B. Diese Bereiche charakterisieren die Isofrequenzkolumnen der primären und sekundären Areale des auditorischen Cortex: So zeigen sich Felder mit rostrocaudalem Frequenzgradient (AI) oder spiegelverkehrtem (AAF, VP), sowie zirkulären (DP) oder breitbandigen Gradienten. C. Durch Injektion entsprechender axonal transportiert Fluoreszenz-Farbstoffe (hier FD und TMRD) können diese topologischen Verbindungen entlang des gesamten Hörsystems kartiert werden. D. Aufsicht auf die rechte Seite des Gehirns der Mongolischen Wüstenrennmaus. Auf dem Gehirn ist die Lage des auditorischen Cortex skizziert, was die charakteristische Lage relativ zum Aderbild verdeutlicht. Modifiziert nach Scheich et al. (1993); Thomas et al. (1993); Budinger & Scheich (2009). AAF - anteriores, auditorisches Feld, DP - dorsoposteriores Feld, VP - ventroposteriores Feld, lf - *low frequency*, hf - *high frequency*. Weitere Abkürzungen siehe Text und Abkürzungsverzeichnis.

diese als sogenannte Isofrequenzkolumnen zusammenfasst (siehe Abbildung 1.2AB, Ehret, 1997). Anatomisch korreliert diese Gliederung mit gemeinsamen dominanten subcorticalen Eingängen sowie mit stärkeren intracorticalen Verbindungen, im Vergleich zu Nachbarkolumnen (Budinger et al., 2000a,b; Schreiner & Winer, 2007).

Die systematische *Bottom-up*-Repräsentation spektraler Relationen entlang der Isofrequenzkonturen in AI erlaubt darüber hinaus spektrale Integrationsprozesse bei der corticalen Prozessierung komplexer akustischer Reize, wie beispielsweise Sprachlaute (Ohl & Scheich, 1997b) oder Spezies-spezifischer Kommunikationslaute, welche eine fundamentale Rolle bei der Wahrnehmung, z.B. der Gruppierung spektraler Formanten zu einem Höreindruck, spielen (Ehret & Riecke, 2002; Geissler & Ehret, 2002). Dennoch zeigt die hohe funktionelle Diversität einzelner Neurone innerhalb einer Isofrequenzkolumne auf bestimmte spektrale, wie zeitliche akustische Parameter, dass das analytische Potential corticaler Neurone nicht allein durch die afferenten Eingänge bestimmt wird (Ohl & Scheich, 1997a; Schreiner, 1998; Schulze et al., 2002). Der primäre auditorische Cortex ist involviert und notwendig für die Lokalisation von Schallquellen (Bajo et al., 2010), die Diskrimination von frequenzmodulierten oder amplitudenmodulierten Tönen (Ohl et al., 1999; Deutscher et al., 2006), sowie für die Auswertung Spezies-spezifischer Vokalisationen im Verhaltenskontext, auditorischem Lernen und Gedächtnisbildung (Ohl et al., 2001; Weinberger, 2004; Ohl & Scheich, 2005; Eliades & Wang, 2008), was seine integrative Rolle bei der Verarbeitung afferenter und höherer, kognitiver Informationen unterstreicht (Scheich et al., 2006, 2007).

Doch wie konkret die Konvergenz der subcortical vermittelten, vornehmlich Stimulus-bezogenen Eingänge und der weitreichenden intracorticalen Interaktionen auf Ebene der corticalen Mikroarchitektur vonstatten geht, ist bislang nur in wenigen Beispielen untersucht (Kaur et al., 2005; Lakatos et al., 2007). Dabei bleibt die zentrale Frage, welche Rolle thalamocorticale Eingänge und intracorticale Wechselwirkungen für die Repräsentation physikalischer Stimulusparameter spielen (Miller et al., 2002; Kaur et al., 2004). Die Untersuchung dieser Frage verlangt eine Erweiterung des funktionell-anatomischen Modells der Frequenzintegration im auditorischen thalamocorticalen System (Metherate et al., 2005; Winer et al., 2005).

1.1.4 Spektrale Integration als Modell thalamocorticaler Interaktionen

Neurone im primären auditorischen Cortex AI erhalten Eingänge, welche entweder thalamocorticalen Ursprungs sein können oder von anderen intracorticalen Neuronen stammen. Beide Eingangssysteme können unterschiedliche Anteile der spektralen Struktur akustischer Stimuli an bestimmten Bereichen innerhalb des tonotopen Gradienten repräsentieren (Schreiner et al., 2000; Kadia & Wang, 2003; Metherate et al., 2005; Liu et al., 2007). Auf diese Weise können Informationen aus unterschiedlichen Bereichen des Signalspektrums miteinander integriert werden, was als spektrale Integration bezeichnet wird. Dieser Prozess wird als wichtiger Bestandteil der Prozessierung und Perzeption spektrot temporal komplexer Reize, wie beispielsweise Sprache, angesehen (Schreiner et al., 2000; Geissler & Ehret, 2002; Metherate et al., 2005). Elektrophysiologische Studien haben hierbei die Integrationen überschwelliger Eingänge auf Aktionspotential-Ebene (Ohl & Scheich, 1997a; Schreiner et al., 2000; Miller et al., 2001c; Kadia & Wang, 2003) oder unterschwellige Modulationen durch intrazelluläre (Wehr & Zador, 2003; Liu et al., 2007; Wu et al., 2008) oder Feldpotential-Ableitungen (Kaur et al., 2004, 2005; Metherate et al., 2005) untersucht. Als Gemeinsamkeit konnten diese Studien feststellen, dass die hoch aufgelöste, tonotope Repräsentation spektraler Informationen (Bitterman et al., 2008) nicht auf einer reinen *Bottom-up*-vermittelten stringenten Punkt-zu-Punkt-Verbindung thalamocorticaler Projektionen basiert (Miller et al., 2001c; Edeline, 2003; Winer et al., 2005), sondern durch verschiedene lokale und weitreichende Interaktionen innerhalb des corticalen Netzwerkes beeinflusst wird (Metherate et al., 2005; Liu et al., 2007; Bandyopadhyay et al., 2010; Rothschild et al., 2010). Das Ausmaß der spektralen Integration von Neuronen in AI ist dabei kein statischer Zustand, sondern kann mit dem Vigilanzstatus variieren (Edeline et al., 2001), unterliegt lernabhängigen Änderungen (Ohl & Scheich, 1997a, 2005; Weinberger, 2004) und kann durch neuromodulatorische Systeme beeinflusst werden (Edeline, 2003).

In zwei der zuvor genannten Arbeiten (Kaur et al., 2004; Liu et al., 2007) wurden

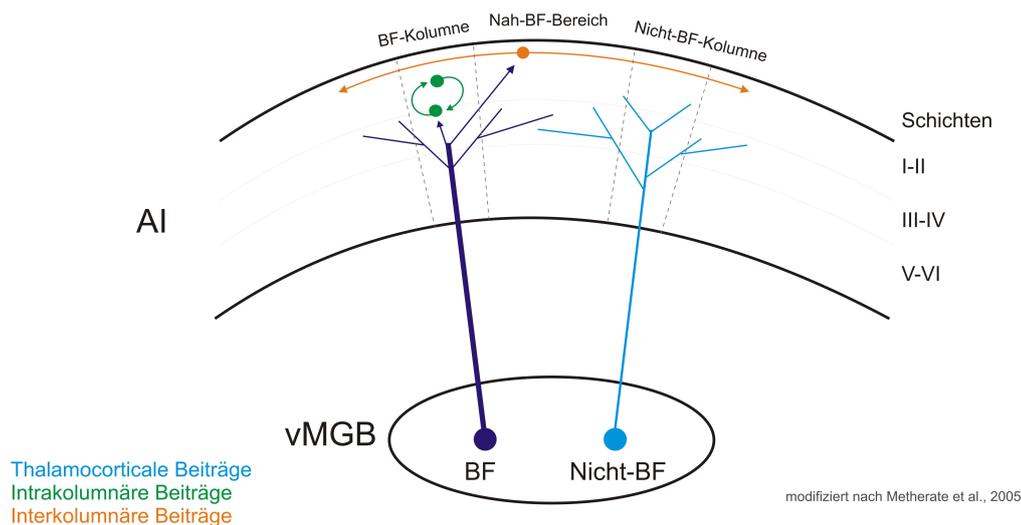


Abbildung 1.3: Spektrale Integration als Modellmechanismus für lokale und weitreichende corticale Verabreichung. Die Mikroarchitektur des primären auditorischen Cortex (AI) bestimmt die Beiträge thalamocorticaler und intracorticaler Eingänge zur initialen corticalen Antwort. Lokal werden die sensorischen Eingänge thalamocorticaler Projektionen (blau) durch intrakolumnäre, rekurrente exzitatorische Mikrokreisläufe (grün) amplifiziert (Liu et al., 2007). Weitreichende intracorticale Projektionen (orange) hingegen erweitern die unterschwellige spektrale Antwortbandbreite corticaler Bereiche über die direkten afferente spektrale Eingänge hinaus (Kaur et al., 2004). Wie diese beiden Eingangssysteme im Nah-BF-Bereich interagieren ist bislang unklar. Verändert nach Metherate et al. (2005).

pharmakologische Techniken verwendet (siehe Abschnitt 1.2.1), die durch Inhibition corticaler Verarbeitung eine Separierung thalamocorticaler Beiträge zur spektralen Integration erlauben. Kaur et al. (2004) konnten zeigen, dass weitreichende horizontale Verbindungen das Abstimmverhalten corticaler Regionen auf spektrale Bereiche ausdehnen, welche keine direkten afferenten Informationen dieser sogenannten Nicht-Bestfrequenzen (Nicht-BF) erhalten. Solche interkolumnären Wechselwirkungen haben vor allem modulatorische Einflüsse auf das spektrale Abstimmverhalten unterschwelliger Antworten (siehe orange Pfeile in Abbildung 1.3, Kadia & Wang, 2003; Metherate et al., 2005; Kurt et al., 2008). Liu et al. (2007) haben hingegen einen Mechanismus beschrieben, bei welchem afferente Eingänge intrakolumnäre rekurrente Verstärkerschaltkreise (nach Douglas & Martin, 2004) rekrutieren und so durch die lokale Amplifizierung überschwelliger Antworten (bei BF-Stimulation) das corticale Abstimmverhalten verschärfen (siehe grüne Pfeile in Abbildung 1.3). In beiden Studien wurden allerdings vornehmlich die Beiträge der lokalen afferenten oder

der weitreichenden intracorticalen Projektionen zur spektralen Integration auf corticaler Ebene untersucht. Wie jedoch eine präzise Integration der afferenten und intrinsischen, interkolumnären Eingänge im Nah-BF-Bereich, wo die Überlappung spektraler Eingänge aus beiden Systemen am stärksten ist, vonstatten geht (siehe Abbildung 1.3), ist bislang Gegenstand von Spekulationen (Metherate et al., 2005).

1.2 Methodische Ansätze zur Examination corticaler Funktionen

Ein zentrales Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, corticale Funktionen mit den raumzeitlichen Aktivierungsmustern der intrinsischen corticalen Mikroarchitektur zu korrelieren. Dabei werden diese Muster durch den „Operationsradius“ der beteiligten Eingangssysteme generiert (wie am Beispiel der spektralen Integration gezeigt), welche entsprechend auch die zeitliche Entwicklung der Muster bedingen. Um ein Verständnis dieser hoch komplexen raumzeitlichen corticalen Aktivierung zu erlangen, bietet die sogenannte Strom-Quellen-Dichte Analyse (engl. *current-source-density*, CSD) eine ideale Möglichkeit (zur Einführung siehe Abschnitt 2.4.2).

Die grundlegende Idee der vorliegenden Arbeit ist es, in elektrophysiologischen Verfahren, in Kombination mit corticaler Deaktivierung, die relativen Beiträge der thalamocorticalen Eingänge und der intracorticalen vertikalen, wie lateralen Mikroschaltkreise zur Stimulus-bezogenen Repräsentation im Cortex methodisch voneinander zu separieren und so die zu Grunde liegenden funktionellen neuronalen Architekturen der Interaktion zu identifizieren (Abschnitt 1.2.1). Durch Verhaltensexperimente sollen schließlich die neuronalen Dynamiken innerhalb dieser Architekturen, im Verhaltenskontext beschreibbar werden. Hierzu werden verschiedene Subsysteme unterschiedlicher Prozessierungshierarchien durch kontrollierte elektrische Mikrostimulation selektiv angeregt (Abschnitt 1.2.2). Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten methodischen Ansätze genauer vorgestellt werden.

1.2.1 Corticale Deaktivierung: Pharmakologische Trennung thalamocorticaler und intracorticaler Interaktionen

Die Beiträge verschiedener auf corticaler Ebene konvergierender Subsysteme können durch selektive pharmakologische Manipulation der intracorticalen Verarbeitung zum Teil dissoziiert werden. Um, wie hier erwünscht, die Beiträge thalamocorticaler Eingänge von denen intracorticaler zu separieren und zu charakterisieren, werden inhibitorische Pharmaka, welche nach ausreichender Diffusion im corticalen Gewebe die intracorticale Verarbeitung über alle Schichten hinweg blockieren, topisch auf den Cortex appliziert (Edeline et al., 2002). Zur akuten und reversiblen pharmakologischen Blockade der gesamten intracorticalen Verarbeitung in AI wurde in dieser Arbeit der nicht-kompetitive GABA_A-Agonist Muscimol als potenter neuronaler Inhibitor verwendet. Muscimol ist ein Isoxazol aus dem Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) und hat eine ähnliche chemische Struktur wie γ -Aminobuttersäure (GABA). Das Prinzip basiert auf der Grundlage, dass eine experimentell erzeugte Hyperpolarisation neuronaler Populationen verhindert, dass die Neuronen eigene Aktionspotentiale generieren und so die gesamte intrinsische Verarbeitung ausgeschaltet wird. Die axonale Leitfähigkeit wird hingegen nicht beeinträchtigt (Martin & Ghez, 1999; Edeline et al., 2002). Demnach sollten postsynaptische Eingänge aus unbeeinflussten Gebieten, wie den sensorischen Kernen des Thalamus, weiterhin zu einer relativen Depolarisation der hyperpolarisierten Zellen führen (McCormick et al., 2003). Durch die hier genutzte CSD-Analyse sollten die bestehenden postsynaptischen Aktivierungen detektiert werden (siehe Abschnitt 2.4.2), so dass die unbeeinflussten thalamocorticalen Projektionen und ihre Terminationsorte in den corticalen Schichten nachgewiesen werden können. Somit können anhand der CSD-Analyse genauere Aussagen über die Projektionsgebiete thalamocorticaler Eingänge getroffen und die oben aufgeworfene Frage der möglichen Interaktion mit intracorticalen Prozessen untersucht werden. Die methodischen Details zur corticalen Deaktivierung werden im Methodenteil in Abschnitt 2.4.3 vorgestellt.

1.2.2 Funktionelle Elektrostimulation: Korrelation von corticalen Erregungsmustern und Perzeption

Die Stimulation corticalen Gewebes durch elektrische Pulse hat eine lange Tradition in der Grundlagen- und klinisch motivierten, angewandten Forschung (Ohl & Scheich, 2007) und wird bis heute verwendet, um kausale Zusammenhänge zwischen perzeptuellen Effekten und neuronalen Aktivitäten im Cortex zu etablieren (Cohen & Newsome, 2004). Die Frage, in wie weit sich Perzeption durch elektrische Stimulation artifiziell auslösen lässt, geht dabei bis in die Zeit zurück, wo die tragende Rolle elektrischer Erregung im Nervensystem generell entdeckt wurde (Galvani, 1791; DuBois-Raymond, 1849). Schon 1755 wurden Versuche unternommen, durch elektrische Stimulation der Oberfläche des Cortex bei blinden Patienten Seheindrücke hervorzurufen (LeRoy, 1755). Corticale Mikrostimulation war damit eines der ersten Verfahren der Neurowissenschaften, welches ermöglichte, eine Beziehung zwischen der corticalen Physiologie und der Wahrnehmung herzustellen.

Neuere Arbeiten zeigen sehr deutlich, dass durch fokale elektrische Stimulation distinkte perzeptuelle Effekte ausgelöst werden können (Tehovnik et al., 2005b), wobei die spezifischsten Erregungen durch intracorticale Mikrostimulation (ICMS) evoziert werden (Schmidt et al., 1996). Traditionell wurde durch die elektrische Reizung spezifischer Bereiche im sensorischen Cortex versucht, entsprechend der topographischen Repräsentationen, lokalisierte Kontrolle über die evozierten Perzepte zu erlangen (Romo et al., 1998; Bartlett et al., 2005; Otto et al., 2005). Um verloren gegangene sensorische Informationen auf klinischer Ebene, im Sinne corticaler Neuroprothesen, zu substituieren, ist dieser unidirektionale Kodierungs-Ansatz jedoch bislang gescheitert (Troyk et al., 2003). Offensichtlich missachtet dieser unidirektionale, rein corticale Ansatz die bidirektionale Organisation der rekurrenten Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen lokalen und weitreichenden corticalen und subcorticalen Netzwerken (Deliano et al., 2009; Masse & Cook, 2010). Weiterhin sind die evozierten perzeptuellen Effekte stark von der corticalen Tiefe der Stimulation abhängig. Infragranuläre Schichten im Cortex scheinen dabei die sensitivste

Region zur elektrischen Evozierung von Perzepten zu bieten (Tehovnik et al., 2005a; Tehovnik & Slocum, 2009), was die Hypothese der direkten Erregung corticofugaler Verbindungen und möglicher rekurrenter *Feedback*-Schleifen aufwarf (DeYoe et al., 2005). Ein Hindernis, um kausale Zusammenhänge zwischen sensorischer, corticaler Aktivität und Perzeption aufzudecken, sind die bislang ungeklärten funktionellen corticalen Mikroschaltkreise, welche der Generierung elektrisch evozierter Perzepte unterliegen (DeYoe et al., 2005; Histed et al., 2009).

Die beiden zuvor genannten Projektionssysteme, intracorticale *Feedforward*- und corticofugale *Feedback*-Pfade, gehen dabei von dem gleichen neuronalen Substrat aus, nämlich der intracorticalen Mikroarchitektur. Hinsichtlich der schichtspezifischen vertikalen und horizontalen Organisation verschiedener corticaler Projektionssysteme (Abschnitt 1.1.1) wäre es zunächst interessant, ob sich die Aktivierung beider Subsysteme tatsächlich durch schichtspezifische ICMS voneinander separieren lässt. Des Weiteren ließen sich Rückschlüsse auf die funktionellen Schaltkreise ziehen, auf welchen die elektrische Evozierung von Perzepten beruht. Daraus ließen sich schlussendlich generelle Aussagen zur perzeptuellen Relevanz von *Feedforward*- und *Feedback*-Prozessierungen auf primärer corticaler Ebene treffen.

1.3 Fragestellungen der vorliegenden Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist es, raumzeitliche Aktivierungsmuster der corticalen Mikroarchitektur in primären sensorischen Arealen des Cortex zu beschreiben und daraus funktionelle Mechanismen der Repräsentation physikalischer Stimulusparameter, sowie neuronale Dynamiken während der Generierung spezifischer lernabhängiger und perzeptuell relevanter corticaler Aktivierung zu abzuleiten. Im Zentrum steht dabei die Charakterisierung der funktionellen Mikroarchitektur der primären sensorischen corticalen Netzwerke, welche die Konvergenz afferenter *Bottom-up*-Eingänge, lokaler intrakolumnärer Prozessierungen, sowie interkolumnärer Interaktionen und *Feedback*-Modulationen afferenter Eingänge über lokale corticofugale Schaltkreise ermöglicht. Die Integration dieser Subsysteme generiert dabei die raumzeitlichen Ak-

tivierungsmustern des sensorischen Cortex. Obgleich diesen Subsystemen verschiedene Funktionen zugeschrieben wurden, sind deren spezifische Funktionen für die Repräsentation physikalischer Stimulusparameter und ihre Rolle bei der Wahrnehmung immer noch Gegenstand kontroverser Diskussionen. Durch die Vielfältigkeit der modernen Verfahren der *in vivo*-Elektrophysiologie können solche Fragen auf verschiedenen Observationsebenen adressiert werden. Die vorliegende Arbeit gliedert sich dazu in drei Teile:

1. Im ersten Teil soll die corticale *Bottom-up*-Repräsentation physikalischer Reizparameter auf der Ebene der funktionellen Mikroarchitektur thalamocorticaler und intracorticaler Projektionssysteme untersucht werden. Dazu soll die Aktivierung beider Systeme im auditorischen Cortex von Mongolischen Wüstenrennmäusen nach Reinton-Stimulation durch eine pharmakologische corticale Deaktivierung separiert und anhand laminarer Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen ihre Interaktionen auf funktionell-anatomischer Ebene untersucht werden. So sollen Rückschlüsse auf die räumliche und zeitliche Organisation der Beiträge beider Systeme, also die Verteilung synaptischer Populationen auf den Dendritenbäumen der Pyramidalneuronen, zur Repräsentation des Stimulusspektrums gewonnen werden. Die zentrale Frage dabei ist, ob die Arbeitsteilung beider Systeme, wie sie die lokalen, beziehungsweise weitreichenden Prozessierungen vorschlagen, auch in den Übergangsbereichen aufrecht erhalten werden kann, wo die spektralen Eingänge aus beiden Systemen am stärksten überlappen (Nah-BF-Bereich).
2. Im zweiten Teil sollen die zuvor identifizierten verschiedenen thalamocorticalen und intracorticalen Subsysteme durch intracorticale Mikrostimulation (ICMS) in den verschiedenen Schichten des Cortex selektiv angeregt werden. Durch Kombination mit den methodischen Ansätzen aus dem ersten Teil können eventuelle Beiträge direkt angeregter rekurrenter exzitatorischer subcorticaler *Feedback*-Schleifen detektiert werden, deren Existenz bislang noch strittig ist. Letztendlich sollen ICMS-Protokolle entwickelt werden, welche präferenziell

weitreichende intracorticale *Feedforward*-Aktivierungen oder lokale rekurrente corticothalamische *Feedback*-Aktivierungen anregen. Dazu werden die elektrisch evozierten Aktivierungen der lokalen (intrakolumnären), wie distalen (interkolumnären) corticalen Netzwerke nach schichtspezifischer ICMS untersucht.

3. Im letzten Abschnitt sollen die zuvor entwickelten Stimulationsstrategien zur differenziellen Rekrutierung der *Feedforward*- oder *Feedback*-Projektionen corticaler Netzwerke in einem parallelen Verhaltensexperiment (Detektionskontext) als konditionierte Stimuli genutzt werden. Anhand der psychometrischen Analyse der Detektionsleistung können so unterschiedliche Beiträge der verschiedenen neuronalen Schaltkreise zur Generierung von Perzepten untersucht werden. Im Fokus steht dabei die Frage, ob perzeptuelle Effekte der Mikrostimulation präferenziell auf der Aktivierung von *Feedforward*-Prozessierungen basieren (im Sinne des klassischen Kodierungs-Ansatzes), oder ob diese durch die Rekrutierung corticothalamischer *Feedback*-Interaktionen präzisiert werden können.
4. Durch die hier vorgeschlagenen Experimente ließen sich, neben den oben dargestellten grundlegenden drei Fragestellungen über corticale Funktionsprinzipien, auch mögliche anwendungsorientierte Technologietransfers im Bereich der Medizintechnik diskutieren. Direkte corticale Mikrostimulation ist in der klinischen Anwendung bislang nur wenig verbreitet, jedoch werden einige Implikationen diskutiert: beispielsweise bei der Entwicklung von sensorischen Cortexprouthesen oder als therapeutische Maßnahme zur Behandlung von thalamocorticalen Dysrhythmien, welche bei verschiedenen neurologischen Krankheitsbildern eine Rolle zu spielen scheinen (z.B. Epilepsie, Morbus Parkinson, Tinnitus, etc.). Die Ergebnisse dieser Arbeit haben direkte Implikationen für die kausalen Zusammenhänge der elektrisch evozierten neuronalen Mechanismen und möglicher therapeutischer Wirkweisen.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsdesign

Die zuvor genannten Fragestellungen der Arbeit sollten methodisch durch einen dreigliedrigen Experimentalansatz aus elektrophysiologischen und Verhaltensexperimenten untersucht werden. Für die elektrophysiologischen *in-vivo*-Versuche am primären auditorischen Cortex der Mongolischen Wüstenrennmaus wurden zunächst Ableitungen elektrischer Feldpotentiale mit laminarer Auflösung und deren Überführung in Strom-Quellen-Dichte-Profile in der akuten und narkotisierten Präparation unternommen. Die pharmakologische Beeinflussung der intracorticalen Informationsverarbeitung sollte es erlauben, thalamische und intracorticale Generatoren der Strom-Quellen-Dichten voneinander zu unterscheiden. In einem zweiten Teil wurde versucht, durch intracorticale Mikrostimulation die verschiedenen Subsysteme der intracorticalen Mikroarchitektur selektiv anzuregen. Die gewonnenen Ergebnisse sollten schließlich ausgenutzt werden, um in einem Detektions-Verhaltensparadigma die unterschiedlichen Beiträge der verschiedenen Subsysteme zur Generierung von perzeptueller Wahrnehmung zu untersuchen. Die verschiedenen methodischen Ansätze werden im Folgenden detailliert vorgestellt.

2.2 Design der Elektroden für Ableitung und Stimulation

2.2.1 Maßfertigung von Multikanal-Schaftelektroden

Zur elektrophysiologischen Charakterisierung corticaler Netzwerke mit der hier verwendeten laminaren Strom-Quellen-Dichte-Analyse (CSD-Analyse; siehe Abschnitt 2.4.2), bedarf es der parallelen Ableitung von lokalen Feldpotentialen (LFP) über alle Schichten des Cortex hinweg. Hierzu wurde eine sogenannte Multikanal-Schaftelektrode eigens in unserer Arbeitsgruppe entwickelt. Die Elektroden wurden auf der Grundlage eines Protokolls von Jellema & Weijnen (1991) gebaut und weiterentwickelt. Die Prüfung eines Deutschen Gebrauchsmuster-Schutzes wurde beantragt¹. Der Bau der Elektrode setzt sich aus drei Teilschritten zusammen. Im ersten Schritt wurden in einen etwa 2 cm langen Teflonschlauch (Innendurchmesser 300 μm , Reichelt Chemietechnik GmbH) mit Hilfe einer stereotaktisch geführten Wolfram-Elektrode (TM31A10, World Precision Instruments) unter mikroskopischer Kontrolle Löcher mit einem Durchmesser von etwa 30 μm in einem Abstand von 60-75 μm gestanzt (Abbildung 2.1A). In diese wurden schließlich Teflon-isolierte Stahldrähte (Drahtdurchmesser 25 μm , FHC Inc.) eingeführt, welche am anderen Ende mit einer Quetschverbindung (Molex Holding) versehen waren. Danach wurde der Teflonschlauch mit einem durch Hitze aushärtenden Epoxidharz (INDUSTRIA M. Oberländer Ingenieurgesellschaft mbH Co. KG) gefüllt und bei 140-170°C für mindestens 4 Stunden ausgehärtet. Anschließend wurden die Stift-Enden der Drähte anhand einer Farbmarkierung in die Steckergehäuse (Molex Holding, Rastermaß 1.25 mm) geschoben. Der Teflonschlauch wurde nun vorsichtig von dem Epoxidharz entfernt und das Steckergehäuse und die in Epoxidharz vergossenen Stahldrähte mit Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer) vergossen. Durch Anbringen eines Blumendraht-Bügels wurde die spätere Handhabung mit Mikromanipulatoren ermöglicht (Abbildung 2.1B). Zuletzt wurden die aus dem Epoxidharz überstehenden Teile der Drähte

¹Erfindungsmeldung vom 09.07.2010/21-00003

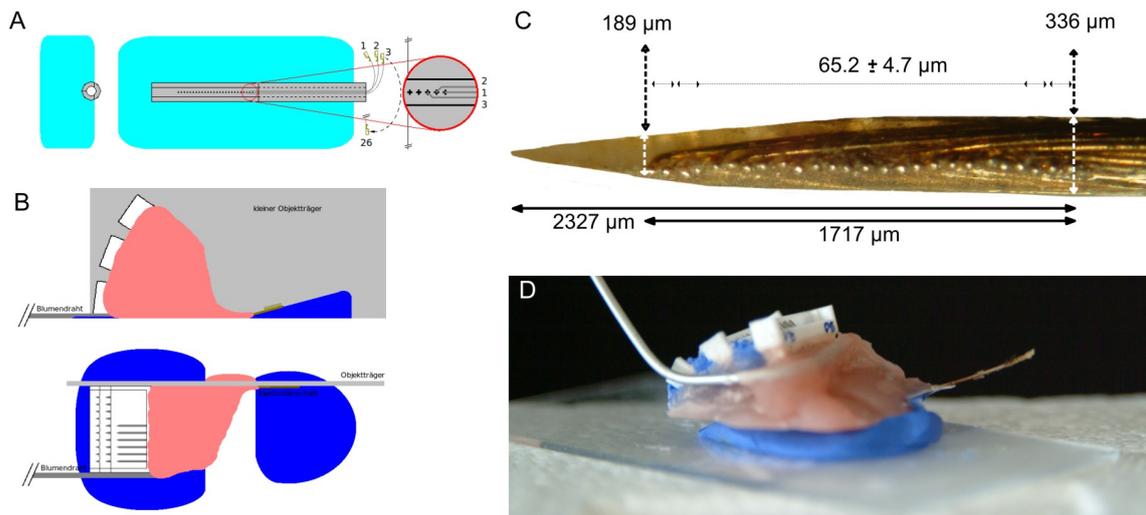


Abbildung 2.1: Multikanal-Schaftelektrode. A. Perforierter Teflonschlauch als Matrix für lineare Anordnung der Drähte. B. Schematischer Aufbau der Elektrode C. Nahaufnahme des Schaftees in 5-facher Vergrößerung. D. Die fertige Elektrode, in welcher der mit Epoxyd-Harz vergossene Schaft mit Zahnzement (Paladur) und Knetmasse (Fimo) zusammengehalten wird.

entfernt und der Schaft der Multikanal-Elektrode abgeschliffen und angespitzt. Die fertigen Multikanal-Schaftelektroden besaßen zwischen 20 und 28 Kanäle in linearer Anordnung (Inter-Kanalabstand zwischen 60 und 75 μm) und überspannten so etwa 1700 μm (Abbildung 2.1C). Für Feldpotentialableitungen ist eine stabile und möglichst geringe Impedanz der einzelnen Ableitelektroden wichtig. Die Widerstände aller Elektroden wurden daher kontrolliert und lagen im Bereich unter 1 M Ω . Die durchschnittliche Kontaktfläche pro Kanal mit dem Gewebe betrug etwa 80 μm^2 .

2.2.2 Tiefen-Elektroden-Array für die intracorticale Mikrostimulation

Bei der elektrischen Reizung des Cortex ist die Schicht, in welcher die Ströme appliziert werden, entscheidender Parameter für die jeweils aktivierten neuronalen Populationen. In dieser Arbeit wurden aus diesem Grunde zwei unterschiedliche räumliche Anordnungen der Stimulations-Arrays entwickelt. Um eine schichtspezifische Applikation der elektrischen Stimuli zu ermöglichen, wurde ein vertikales Stimulations-Array aus jeweils drei Drähten in kontrolliertem Abstand von 500 μm (zwischen

Kanal 1 und 2), bzw. $600\ \mu\text{m}$ (zwischen Kanal 2 und 3) zusammengesetzt und durch Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer) fixiert (Abbildung 2.2A). Um eine Applikation von Strömen in der gleichen corticalen Tiefe, aber über weite Bereiche des auditorischen Cortex zu erlauben, wurde ein laterales Stimulations-Array verwendet, bei welchem 5 Kanäle mit jeweils $300\ \mu\text{m}$ Abstand befestigt wurden. Beide Designs wurden aus Teflon-isolierten Stahldrähten (California Fine Wire Company) mit einem Stahldurchmesser von $50\ \mu\text{m}$ und einem Gesamtdurchmesser von $75\ \mu\text{m}$ gefertigt, welche jeweils mit Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer) und Blumendraht als Halterung vergossen wurden. Die Stiftenden der Drähte wurden ebenfalls in ein Steckergehäuse (Molex Holding GmbH, Rastermass $1.25\ \text{mm}$) geschoben. Bei der chronischen Implantation (Abschnitt 2.3) konnte die Elektrode komplett auf dem Schädel vergossen werden und nach der Aushärtung des Zahnzementes der Blumendraht mit einem Kabelschneider abgeknipst werden. Um eine ausreichende Stromapplikation zu ermöglichen, muss der Widerstand der Stimulationslektroden unter $1\ \text{M}\Omega$ liegen. Dies wurde vor den Experimenten kontrolliert.

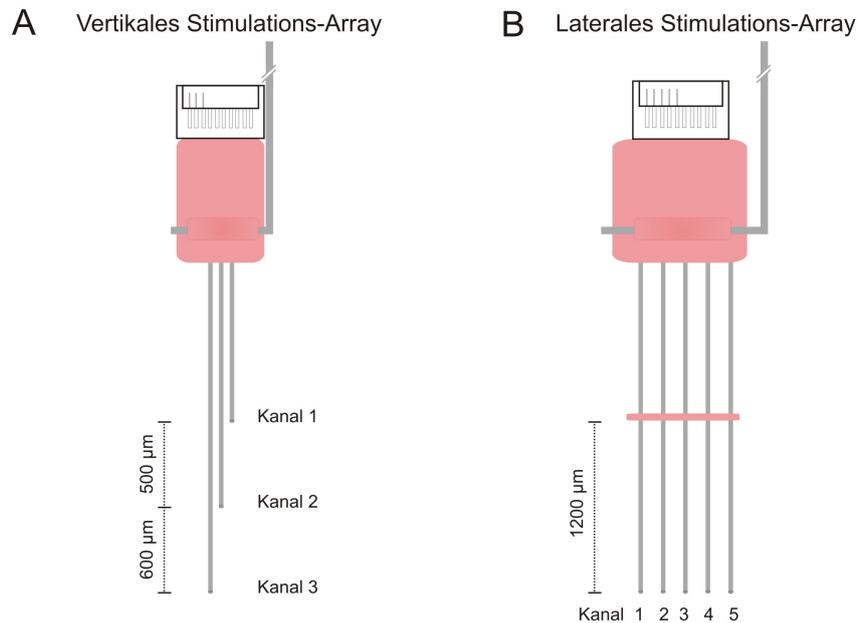


Abbildung 2.2: Design der Tiefen-Elektroden-Arrays für die intracorticale Mikrostimulation. A. Vertikales Stimulations-Array bestehend aus drei Stimulationsdrähten mit definierten Abständen zur Implantation in verschiedenen corticalen Schichten. B. Laterales Stimulations-Array zur Implantation von fünf Kanälen in den unteren corticalen Schichten (Tiefe: $1200\ \mu\text{m}$).

2.3 Chirurgische Präparation der Versuchstiere

Die chirurgische Vorbereitung der Tiere war für die akuten elektrophysiologischen, wie chronischen Implantationen weitgehend identisch. Die Tiere wurden zunächst initial durch 4-minütige Begasung mit 4% Halothan (Sigma Aldrich Chemie GmbH) narkotisiert und anschließend über eine intraperitoneale Injektion von 0.2 ml eines Narkosegemisches bestehend aus 45% Ketamin-Hydrochlorid-Lösung (50 mg/ml, ratiopharm GmbH), 5% Rompun (2%, Bayer Vital GmbH), sowie 50% einer 0,9% NaCl-Lösung (B. Braun AG) auf eine Injektionsnarkose umgesetzt. Die Narkosetiefe wurde durch Applikation von 0.02-0.04 ml des Narkosegemisches in Abständen von ca. 20 min aufrechterhalten und anhand der Atmung und des Rückzieh-Reflexes der Hinterpfote kontrolliert. Entlang der Achse der Sutura interparietoparietalis wurde vom dorso-rostralen Ansatz der Halsmuskeln bis ca. 1 cm rostral von Bregma die Kopfhaut insiziert und diese von Fettresten und Knochenhaut befreit. Der obere Teil des Musculus temporalis wurde von ca. 0.5 mm rostral der Sutura frontoparietalis bis zur Sutura mediana und ventral bis über den Temporalknochen abgetrennt. Anschließend wurde eine nierenförmige Trepanation des Temporalknochens durchgeführt. So wurde der gesamte Bereich des primären auditorischen Cortex freigelegt (siehe Abbildung 1.2D). Kontralateral wurde eine Referenzelektrode (Amphenol-Stecker, Wallingford) mit oberflächlichem Kontakt zur Dura mater befestigt und zusammen mit einem ca. 3 cm langen Aluminiumstab als Kopfhalter durch Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer) auf dem Schädel vergossen.

Für die chronische Implantation der vertikalen Stimulations-Arrays wurde versucht, die Trepanation über dem auditorischen Cortex so klein wie möglich zu halten. Nach der Freilegung des Temporalknochens kann durch Bewässern mit NaCl-Lösung das Vaskularisationsbild durch den Knochen hindurch begutachtet werden. So wurde die Lokalisation des primären auditorischen Feldes AI vorgenommen und ein kleines Loch (Durchmesser etwa 400 μm) gebohrt, durch welches das Stimulations-Array nach Anschneiden der Dura mater unter stereotaktischer Kontrolle implantiert wurde, so dass der oberste Kanal etwa 100 μm tief im Cortex lokalisiert war. Danach

wurde das Stimulation-Array mit Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer) auf dem Schädelknochen fixiert. Nach einer postoperativen Ruhephase von 4-5 Tagen wurde mit dem Verhaltensexperiment begonnen. Zuvor wurde die genaue Elektrodenposition innerhalb des tonotop organisierten Feldes mithilfe eines Reinton-Experimentes kontrolliert.

2.4 Elektrophysiologische Untersuchungen

2.4.1 Elektrophysiologisches Multikanal-Ableitsystem

Die elektrophysiologischen Messungen wurden in einer akustisch und elektrisch abgeschirmten Kammer durchgeführt. Neuronale Aktivitäten wurden mit einem Multikanal-Ableitsystem aufgenommen (Multichannel Acquisition Processor, Plexon Inc.), welches die gemessenen Potentiale 500-fach vorverstärkt, über einen Bandpaß zwischen 3-170 Hz (3-dB *cut-off*-Frequenz) gefiltert und mit 2 kHz digitalisiert hat. Nachträglich wurden die Signale digital um den Faktor 20.000 verstärkt.

Die Tiere wurden über den Kopfhalter fixiert und auf einer Heizmatte inklusive Temperaturmessfühler gelagert. Ableitungen erfolgten ausschließlich im Feld AI des primären auditorischen Cortex. Anhand des Vaskularisationsmusters kann die Lage zuverlässig bestimmt werden (Thomas et al., 1993). Zusätzlich wurden an ausgewählten Ableitpositionen zunächst mit Tungsten-Mikroelektroden (TM31A10, World Precision Instruments) klassische elektrophysiologische Parameter bestimmt, um zu verifizieren, dass die Ableitung im auditorischen Feld AI stattfand (Onset-Latenzen, Antwortbandbreiten, Antwortschwellen; Thomas et al., 1993; Schulze et al., 1997). Die Multikanal-Elektrode wurde anschließend nach Inzision der Dura mater per Mikromanipulator orthogonal zur corticalen Oberfläche in das Feld AI eingefahren. Es wurden 1-2 Kanäle über der Dura frei gelassen, so dass nach Ausdehnung des corticalen Gewebes der oberste Kanal 1 direkt auf der Oberfläche zum Liegen kam.

2.4.1.1 Stimulation mit akustischen Reizen

Akustische Stimuli wurden digital synthetisiert und über die Programmierumgebung Matlab (The MathWorks, Inc.) kontrolliert. Die Stimuli wurden dabei über eine Signalprozessorkarte (NI-DAQ, National Instruments), einen Abschwächer (g.PAH, Guger Technologies) und einen Verstärker-gekoppelten elektrostatischen Freifeldlautsprecher (STAX Ltd.), ca. 3 cm vom Kopf des Tieres entfernt platziert, abgespielt. In der Nähe des Freifeldlautsprechers wurde ein Kondensatormikrofon (Bruel & Kjaer) zur Kontrolle des Schalldruckpegels angebracht.

Als akustische Signale dienten pseudorandomisierte Serien von Reintönen mit logarithmischem Frequenzabstand in einem Frequenzbereich von 125 Hz bis 16 kHz. Reintonfrequenzen wurden für 200 ms mit jeweils 5 ms Sinus-Quadrat-förmigem An- und Abstieg (Rampe) präsentiert. Die Interstimulusintervalle wurden von 0.8 bis 1.2 s variiert. Stimulusintensitäten wurden zunächst in 10 dB-Schritten von 25 bis 85 db SPL variiert. Es wurde die Intensität bestimmt, welche Ton-evozierte Antworten zwei Standardabweichungen (2-SD) über dem Schwellenwert hervorrief und als 2-SD-Schwelle bezeichnet. Die in dieser Arbeit gezeigten Daten wurden schließlich alle mit Intensitäten von 20 dB über diesem Schwellenkriterium gemessen (65 oder 75 db SPL).

2.4.1.2 Intracorticale Mikrostimulation

Elektrische Ströme werden in Geweben in aller Regel biphasisch appliziert, da monophasische Pulse zur Akkumulation von elektrischer Ladung in der Elektrode und im Gewebe führen können. Bei biphasischer Applikation spricht man daher von ladungsneutralem Transfer (z.B. Tehovnik, 1996). Biphasische Pulse können als Einzelpulse oder in Pulszügen appliziert werden. Biphasische Einzelpulse werden durch die Stimulationsamplitude, die Phasendauer und das Interphasenintervall charakterisiert (siehe Abbildung 2.3). Bei Stimulation mit Pulszügen ist zudem noch das Interpulsintervall eine charakteristische Größe. Weiterhin ist entscheidend, ob der kathodische oder anodische Strompuls zuerst geschaltet wird: so werden Membranen durch kathodische Pulse über den resultierenden auswärts gerichteten Strom

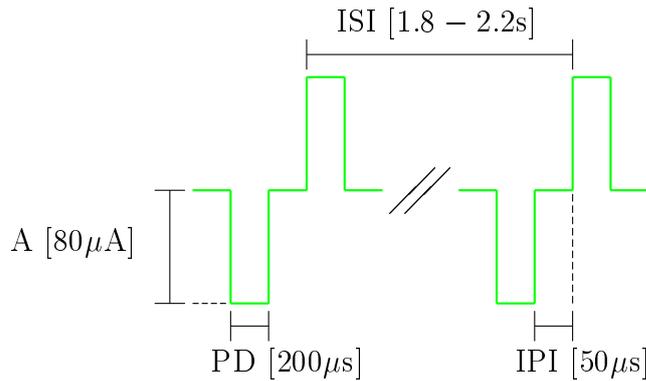


Abbildung 2.3: Einzelpuls-Stimulusparameter der corticalen Mikrostimulation. Die genutzten Einzelpulse hatten eine Phasendauer (PD) von $200 \mu\text{s}$, ein Interphasenintervall (IPI) von $50 \mu\text{s}$, ein Interstimulusintervall (ISI) von $1.8\text{--}2.2 \text{ s}$ und eine Stimulusamplitude (A) von $80 \mu\text{A}$. Übernommen aus (Jeschke, 2006).

depolarisiert und durch anodische Pulse hyperpolarisiert (Tehovnik et al., 2005a). Elektrophysiologische Versuche haben mehrfach gezeigt, dass biphasische Pulse mit einem kathodischen Beginn besser geeignet sind, um axonale Strukturen zu erregen, also Aktionspotentiale zu evozieren (Tehovnik & Slocum, 2003; Histed et al., 2009). Elektrische Reize wurden ebenfalls über Matlab-Programme digital generiert und über ein 8-Kanal-Elektrostimulator-System (MCS STG2000, Multichannel Systems) präsentiert. In den elektrophysiologischen Experimenten wurden biphasische Rechteck-Einzelpulse mit führender kathodischer Phase und $80 \mu\text{A}$ Stimulationsamplitude in pseudorandomisierter Reihenfolge dargeboten (Deliano et al., 2009). Die Phasendauer betrug $200 \mu\text{s}$ mit $50 \mu\text{s}$ Interphasenintervall, was im Bereich der Chronaxie von corticalen Neuronen liegt (Nowak & Bullier, 1998). Das Interstimulusintervall wurde zwischen 1.8 und 2.2 s randomisiert, bei jeweils 50 Repetitionen. In den Verhaltensexperimenten wurden zur elektrischen Stimulation Pulszüge verwendet, welche aus Einzelpulsen mit den gleichen Parametern, wie in den Akutexperimenten, bestanden (Details siehe Abschnitt 2.6).

Um die Position der Stimulationselektroden histologisch nachvollziehen zu können, wurde nach jedem Experiment an jedem Stimulationskanal ein anodischer Strom von $5 \mu\text{A}$ für 25 s appliziert. Hohe Ströme ohne Ausgleichsphase sollten für eine massive Eisenabscheidung sorgen, welche histologisch durch eine Berliner Blau-Färbung nachgewiesen werden kann (siehe Abschnitt 2.5).

2.4.2 Grundlagen der Strom-Quellen-Dichte-Analyse

Neuronale Aktivität basiert generell auf der Verschiebung von Ladungsträgern über die Zellmembran von Nervenzellen. Solche transmembranalen Ionenströme entstehen beispielsweise bei der postsynaptischen Aktivierung durch erregende oder hemmende Synapsen sowie bei der Auslösung und Fortleitung von Aktionspotentialen. Neben dem transmembranalen Strom fließt im Zellinneren zugleich ein longitudinaler Strom, welcher die Zelle in Abhängigkeit von passiven elektrischen Membraneigenschaften an bestimmten Abschnitten verlässt und durch den Extrazellulärraum zum Ursprung des Transmembranstromes zurückfließt. Diese sogenannten Kreisstromprozesse erzeugen im Extrazellulärraum elektrische Felder mit unterschiedlicher Dichte positiver und negativer Ladungen, welche man als Stromquellen und Stromsenken bezeichnet (siehe Abbildung 2.4, rechts). Die Stromquellen und -senken sind die physikalische Ursache des lokalen Feldpotentials, welches mit einer Elektrode als Potentialdifferenz gegen einen Referenzort elektrophysiologisch gemessen werden kann. Die extrazellulären Ströme gehorchen dabei den physikalischen Gesetzmäßigkeiten der Superposition, also der räumlichen und zeitlichen Überlagerung von Strömen unterschiedlicher neuronaler Aktivitäten. Durch additive oder subtraktive Strom-Quelldichten kann es so zu Auslöschungsphänomenen kommen. Entsprechend basiert das messbare LFP auf einer synchronen Aktivierung einer Vielzahl von gleichgerichteten Generatoren (Synapsenpopulationen), so dass sich resultierende Stromquellen und -senken aufsummieren. Eine solche Überlagerung der Ströme wird durch eine parallele Anordnung neuronaler Elemente erreicht, wie dies beispielsweise in der palisadenförmigen Anordnung der Pyramidalneurone des Cortex gegeben ist (Douglas & Martin, 2004). Doch gerade die Summation der Ströme über weitreichende Bereiche macht eine Interpretation der genauen zu Grunde liegenden neuronalen Strukturen allein anhand des lokalen Feldpotentials oftmals schwierig (Bullock, 1997; Katzner et al., 2009).

Letztlich könnte eine genauere Kenntnis der lokalen Transmembranströme genauere Aussagen über die lokalen Phänomene und somit über die Lage aktiver Synapsenpopulationen, als Verteilung über die Dendritenbäume, erlauben. Das dies mit einer

genaueren Analyse der Stromquellen- und -senken möglich wäre, erkannte der Mathematiker Walter Pitts. Pitts (1952) schlug dazu im Rahmen der sogenannten *Macy-Konferenzen* die Analyse von extrazellulären Feldpotentialen anhand der Methode der Strom-Quellen-Dichte-Analyse vor. Die Analyse der Strom-Quellen-Dichte (im Folgenden CSD aus dem Englischen: *current-source-density*) berechnet dabei Stromquellen und -senken im Extrazellulärraum als Indikatoren für neuronale Aktivität aus hoch aufgelösten Feldpotentialen (in Form der zweiten räumlichen Ableitung, siehe folgender Abschnitt). Bei einem Einwärtsstrom positiver Ladung kommt es so zu einer extrazellulären Stromsenke (z.B. durch eine exzitatorische Synapsenpopulation: $CSD < 0$) und bei Auswärtstrom positiver Ladung zu einer extrazellulären Stromquelle (z.B. Ausgleich des Stromdefizits über Kationenaustrom: $CSD > 0$). Transmembranströme negativer Ionen tragen entsprechend umgekehrt zur Strom-Quellen-Dichte bei. Bereits Pitts (1952) erkannte, dass die CSD-Transformation der lokalen Feldpotentiale eine Auflösung der Aktivierung synaptischer Populationen mit bisher nicht erreichter räumlicher und zeitlicher Präzision erlaubte.

2.4.2.1 Physikalische Grundlagen und mathematische Berechnung

Die Elektrostatik klärt den Zusammenhang zwischen der Verteilung elektrischer Ladung und dem dazugehörigen Potential durch die Poisson'sche Gleichung (siehe Gleichung 2.1). Nach der Poisson'schen Gleichung ist die zweite räumliche Ableitung des Potentials ϕ proportional zur Dichte der elektrischen Ladung (CSD):

$$-CSD = \nabla \sigma \cdot \nabla \phi \quad (2.1)$$

Die Poisson'sche Gleichung verlangt dabei die Kenntnis des Potentials ϕ , sowie des Leitfähigkeitstensors σ an allen Punkten im Raum. Jedoch kann das Medium des Cortex in der lateralen Ausdehnung (y-Achse) und über die corticalen Schichten hinweg (z-Achse) als weitgehend homogen (isotrop) angesehen werden. Neuere Arbeiten bestärken diese Auffassung eines quasi-ohmschen corticalen Impedanzspektrums (Logothetis et al., 2007). Über die Berechnung eines Differenzenquotienten

der Potentiale entlang der x-Achse kann demnach die zweite räumliche Ableitung näherungsweise auch bestimmt werden, wenn nur abschnittsweise das Potential bekannt ist.

Basierend auf dem laminaren Profil der lokalen Feldpotentiale, welches mit den oben vorgestellten linearen Ableit-Arrays gemessen wird, kann somit die ein-dimensionale CSD, als die zweite räumliche Ableitung dieser, wie folgt berechnet werden:

$$-CSD \approx \frac{\phi(z + n\Delta z) - 2\phi(z) + \phi(z - n\Delta z)}{n\Delta z^2} \quad (2.2)$$

wobei ϕ das LFP, z die räumliche Koordinate senkrecht zur corticalen Schichtung, Δz das Abtastintervall (Inter-Kanalabstand) und n die Größe des räumlichen Filters darstellt, über welchen der jeweilige CSD-Wert berechnet wird (Nicholson & Freeman, 1975; Mitzdorf, 1985, 1986; Steinschneider et al., 1992). Zur Berechnung der CSD wurden die LFP-Profile mit einer gewichteten Mittelung (Hamming-Fensterung) über 5 Ableitkanäle (korrespondierend mit einem räumlichen Filter-Kernel von maximal 300 μm) geglättet. Um dadurch die oberen und unteren Messpunkte nicht zu verlieren, wurde zuvor eine entsprechende lineare Extrapolationsmethode angewandt, welche davon ausgeht, dass durch lineare Gradienten keine weiteren Veränderungen der zweiten räumlichen Ableitung der Feldpotentiale entsteht (Tenke et al., 1993; Jeschke, 2006; Happel et al., 2010b).

2.4.2.2 Interpretation von Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen

Die Vorteile der CSD-Transformation laminarer Feldpotentiale liegt in einer referenzfreien und räumlich hoch aufgelösten Repräsentation der Richtung, Lokalisation, sowie Intensität transmembranaler Ströme, welche dem evozierten LFP unterliegen (Nicholson & Freeman, 1975; Mitzdorf, 1985, 1986). Klassischerweise kann anhand von Stromsenken auf depolarisierende synaptische Prozesse rückgeschlossen werden (siehe Abbildung 2.4), welche vornehmlich auf exzitatorische Synapsenpopulationen zurückzuführen sind (Mitzdorf, 1985, 1986). Stromquellen werden weitgehend als passive Rückstromprozesse angesehen (Mitzdorf, 1985; Schroeder et al., 1998).

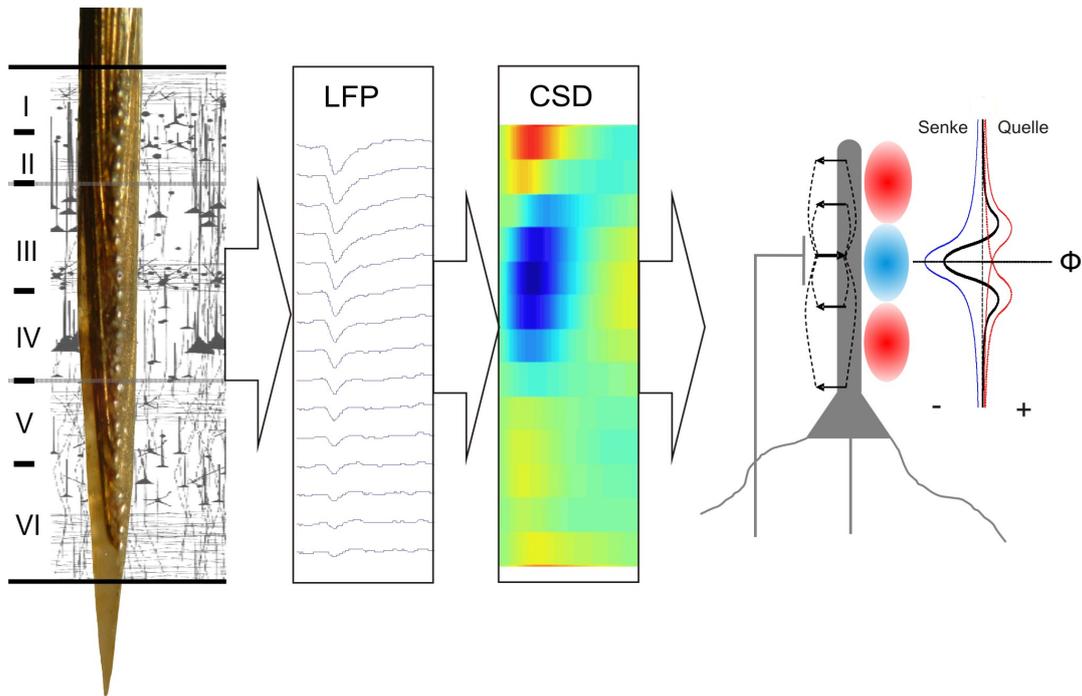


Abbildung 2.4: Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen und Rückschlüsse auf die Lokalisation synaptischer Aktivitäten. Durch Ableiten der laminaren Feldpotentiale über alle Schichten hinweg kann die zweite räumliche Ableitung gebildet werden. Die daraus resultierende Strom-Quellen-Dichte-Verteilung (CSD) zeigt in der farbcodierten Darstellung Senken in blau und Quellen in rot. Diese geben Rückschlüsse auf die laminare Lokalisation postsynaptischer Aktivitäten (weitgehend) exzitatorischer synaptischer Populationen. Die entsprechenden Kreisströme sind durch die gestrichelten Pfeile gekennzeichnet (links).

Aufgrund der Superposition, also der räumlichen und zeitlichen Überlagerung von Stromquellen und -senken, müssen mögliche Auslöschungsphänomene aktiver Prozesse berücksichtigt werden. Demnach berücksichtigt man bei der Interpretation der Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen immer die anatomischen Grundkenntnisse der jeweiligen Struktur. Bis auf wenige Ausnahmen (Kaur et al., 2005; Lakatos et al., 2005) wurde die CSD-Analyse bislang weitgehend qualitativ genutzt. Aus diesem Grund sollen die verwendeten quantitativen Auswertungsstrategien im Folgenden ausführlich erläutert werden.

2.4.2.3 Bestimmung der Latenzen und Amplituden einzelner CSD-Komponenten

Die Bestimmung der Latenzen und Amplituden einzelner Senken und Quellen wurde zunächst für jeden einzelnen Ableitkanal über automatisierte Algorithmen in Matlab vollzogen und gegebenenfalls per Hand korrigiert. Die Extremwerte der Senken und Quellen wurden als Peak-Amplitude bestimmt (Kaur et al., 2004). Gleichzeitig wurde auch die Latenz der Extremwerte bestimmt (Peak-Latenz). Die Bestimmung von Onset-Latenzen wurde ebenfalls über einen automatisierten Prozess vollzogen. Dabei ist die einfache Bestimmung des Schnittpunktes mit einem Schwellenkriterium, z.B. der dreifachen Standardabweichung der Grundlinie (3-SD-Kriterium), kein Amplituden-unabhängiges Maß (siehe Kaur et al., 2004). Um die tatsächlichen Onset-Latenzen genauer zu bestimmen, wurde daher in der vorliegenden Arbeit eine lineare Regressionsgerade durch den Schnittpunkt mit der 3-SD-Schwelle gezogen und deren Schnittpunkt mit der Grundlinie als Onset-Latenz definiert. So werden unterschiedlich steile Anstiege der Deflektion ausgeglichen und der tatsächliche Beginn der Deflektion unabhängig von der Amplitude bestimmt. Das Fenster für die Berechnung der Regressionsgeraden betrug 2 ms. Die folgende Deflektion musste dabei mindestens 5 ms überschwellig sein.

Für die Bestimmung der Bestfrequenzen (BF) anhand von Strom-Quellen-Dichten können verschiedene Kriterien angewendet werden. So lassen sich Abstimmkurven anhand von Peak-Amplituden und Peak-Latenzen bestimmen, genauso wie anhand von Onset-Latenzen. Alle Kriterien lieferten übereinstimmende Daten, so dass die BF letztlich als die Frequenz der Reinton-Stimulation definiert wurde, welche die höchste Peak-Amplitude der granulären Senke evozierte.

2.4.2.4 Analyse der gleichgerichteten CSD und der relativen Residuen

Summiert man die gemittelten Absolutbeträge der Stromquellen und -senken, so ergibt sich ein Maß des transmembranalen Gesamtladungsflusses über die corticalen Schichten hinweg. Da nur die Absolutbeträge der Strom-Quellen-Dichte berücksichtigt werden, spricht man von der gemittelten, gleichgerichteten Strom-Quellen-

Dichte. Diese Form der Berechnung wird im Folgenden konform der englischsprachigen Literatur mit AVREC (*averaged rectified CSD*) bezeichnet (Givre et al., 1994; Schroeder et al., 1998). Die AVREC wurde zunächst wie folgt auf Einzeltrial-Basis berechnet und schließlich über die Trials gemittelt:

$$AVREC(t) = \frac{\sum_{i=1}^n |CSD_n|(t)}{n} \quad (2.3)$$

n sei hierbei und in der folgenden Gleichung 2.4 die Anzahl der Kanäle entlang der Ableitachse. Die Reizfrequenzen, welche die höchste Peak-Amplitude der AVREC(t) evozierten, waren in den meisten Fällen identisch mit der BF nach zuvor beschriebener Definition oder wichen wenn, nur um eine Oktave von der BF ab.

Nach den Gesetzen der Elektrostatik ist es eine physikalische Notwendigkeit, dass sich Senken und Quellen zu Null aufsummieren und eine Ladungsausgeglichenheit herrscht. Die CSD-Transformation laminarer Feldpotential-Ableitungen reflektiert dabei weitgehend die lokalen Stromquellen und -senken, welche innerhalb eines Zylinders um die Ableitachse herum auftreten, in welchem die extrazellulären Ströme maßgeblich das LFP bestimmen (siehe Katzner et al., 2009). Demnach sollte eine Ladungsausgeglichenheit nur dann erwartet werden, wenn die ihnen zugrunde liegenden neuronalen Quellen innerhalb dieses Zylinders entlang der Ableitachse liegen. Diese Art der ausgeglichenen Ladungsverteilung der lokalen Feldpotentiale entlang der Ableitachse kann mit einer Analyse der relativen Residuen der CSD untersucht werden. Die relativen Residuen der CSD berechnen sich aus der Summierung der vorzeichenbehafteten Amplitudenwerte der einzelnen Quellen und Senken über alle Kanäle hinweg, welche anschließend durch die Summe aller Absolut-Amplitudenwerte zu gegebenem Zeitpunkt t dividiert werden (Harding, 1992). Dadurch sind die relativen Residuen ein dimensionsloses Maß, der durch den lokalen Poisson-Ansatz nicht aufgeklärten Strom-Quellen-Dichte. Auch hier wurde die Berechnung zunächst auf Einzeltrial-Ebene durchgeführt und anschließend über alle Trials gemittelt:

$$RelResid(t) = \frac{\sum_{i=1}^n CSD_n(t)}{\sum_{i=1}^n |CSD_n|(t)} \quad (2.4)$$

Für die quantitative Auswertung der AVREC und der relativen Residuen wurden die Einzeltrial-CSD-Wellenformen ohne räumliche Filterung verwendet. Zur Bestimmung der Onset-Latenzen der AVREC und relativen Residuen wurden die Zeitpunkte bestimmt, an welchen die Wellenformen einen Schwellenwert drei Standardabweichungen über der Grundlinie für mindestens 5 ms überschritten haben.

2.4.3 Pharmakologische Deaktivierung corticaler Aktivität

Zur pharmakologischen Deaktivierung corticalen Gewebes wurde der nicht-kompetitive GABA_A-Agonist Muscimol-Hydrobromid (Sigma Aldrich) verwendet. Dabei wurden Volumina von 20 μ l mit Konzentrationen von 0.2 bis 1.0 μ g/ μ l (maximal 8.4 mM) topisch auf die Dura mater des Cortex appliziert (exponierte Oberfläche: 3x4 mm, 12 mm^2). Der Diffusions-Gradient von Muscimol liegt bei dieser Dosierung etwa im Bereich von 1.5-2 mm, so dass Muscimol über alle corticalen Schichten hinweg diffundiert ohne dabei subcorticale Bereiche zu beeinflussen (Martin & Ghez, 1999; Talwar & Gerstein, 2001; Edeline et al., 2002). In 10 Experimenten wurde ausschließlich Muscimol in verschiedenen Konzentrationen appliziert (1 μ g/1 μ l (n=5), 0.5 μ g/ μ l (n=3), 0.2 μ g/ μ l (n=2)). In drei weiteren Experimenten wurde das Muscimol zusammen mit dem kompetitiven GABA_B-Antagonist (+)-5,5-Dimethyl-2-Morpholin-Essigsäure (SCH50911, Schering-Plough Corp.) appliziert, um mögliche Nebeneffekte des Muscimol auf präsynaptische GABA_B-Rezeptoren zu unterbinden (ED₅₀ = 25 μ M, Yamauchi et al., 2000), welche über präsynaptische Inhibition die thalamocorticalen exzitatorischen postsynaptischen Potentiale (EPSPs) minimieren könnten. Hierzu wurde ein Cocktail bestehend aus 6 mM SCH50911 (20 μ l) und 4 mM Muscimol (20 μ l) verwendet, welcher eine Reduktion der corticalen Aktionspotential-Rate um über 95% gewährleistet (Liu et al., 2007).

2.5 Histochemische Verfahren

Nach Beendigung des Versuchs wurden die Ketamin-anästhesierten Tiere mit einer intrakardialen Injektion von 100 mg Embutramid (0.5 ml T61, Intervet) getötet und das Gehirn aus dem Schädel präpariert. Das Gehirn wurde mit erwärmter 8%iger Gelatinelösung (40°C) übergossen und anschließend in -50°C kaltem Isopentan schockgefrostet. Im Bereich des primären auditorischen Cortex wurden 40 μm dicke Horizontalschnitte am Cryotom angefertigt. Die Schnitte wurden dann zur Anfärbung von Zellkörpern einer Kresyl-Violett-Färbung (Nissl-Färbung), sowie einer Berliner Blau-Färbung (bei Experimenten mit Mikrostimulation) unterzogen. Die Berliner Blau-Reaktion diente hierbei der spezifischen Färbung von Eisenpartikeln nach Elektrodenabscheidung. Die Protokolle der FärbeprozEDUREN und hierfür verwendete Chemikalien sind im Anhang A.2 angeführt. Die Schnitte wurden mikroskopisch analysiert und digital mit eingeblendetem Maßstab fotografiert. Die orthogonale Ausrichtung der Ableitelektrode zur corticalen Struktur wurde durch eine verminderte Zelldichte, anhand reduzierter Nissl-Färbung, identifiziert.

2.6 Verhaltensexperimente

Die Verhaltensexperimente wurden alle in einer elektrisch, sowie akustisch geschirmten Kammer durchgeführt. Darin befand sich die Versuchsvorrichtung, welche aus zwei Kompartimenten (Grundfläche jeweils: 18x18 cm) bestand, die durch eine etwa 3 cm hohe Hürde voneinander getrennt waren (Shuttle-Box, Hasomed). Über einen Gitterboden konnten schwache Stromimpulse als Fußschock über einen externen Stimulator (Isolated Pulse Stimulator, Model 2100, A-M Systems) appliziert werden. Diese Strompulse bestanden aus biphasischen Strompulsen mit einer Amplitude von 300-600 μA , einer Phasendauer von 1 ms und einer Pulsrate von 333 Hz (Ohl et al., 1999). Die Generierung elektrischer Pulszüge zur intracorticalen Stimulation erfolgte über ein per USB-Schnittstelle angesteuertes 8-Kanal-Elektrostimulator-System (MCS STG2000, Multichannel Systems), welches über Matlab-Programme kontrolliert wurde. Die Pulszüge wurden mit 100 Hz und 300 ms Länge präsentiert (700 ms

Pause) und bestanden aus biphasischen Einzelpulsen mit den gleichen Parametern, wie in den elektrophysiologischen Experimenten (siehe Abschnitt 2.4.1.2).

Nach 4-5 Tagen postoperativer Erholung wurde das Verhaltenstraining kontinuierlich einmal am Tag (maximal 2 Tage Pause pro Woche) durchgeführt. Das Training begann jeweils mit einer dreiminütigen Habituationsphase in der Kammer. Die Tiere wurden darauf trainiert, die elektrischen Impulse an den Stimulationselektroden als konditionierte Stimuli (CS^+) zu detektieren und anschließend in das benachbarte Kompartiment innerhalb des Observationsfensters (4 s) zu wechseln. Wenn innerhalb dieser Zeit das Kompartiment nicht gewechselt wurde, so wurde ein Fußschock als unkonditionierter, aversiver Stimulus (US) dargeboten. Das Erlernen der Assoziation zwischen dem CS^+ und dem US basiert auf dem Vermeidungsverhalten. Ein erfolgreiches Vermeiden durch Überqueren der Hürde innerhalb des Observationsfenster wird als konditionierte Reaktion (CR) bezeichnet. Bei einem erfolgreichen Treffer („hit“) wurde die CS^+ -Stimulation abgeschaltet. Falls das Überqueren der Hürde bei CS^+ -Stimulation gar nicht oder außerhalb des Beobachtungszeitfensters und somit als Reaktion auf den US erfolgte, wurde ein Fehler („miss“) protokolliert. Der US wurde für 6 s präsentiert und konnte vom Tier durch Wechsel des Kompartimentes vorzeitig abgeschaltet werden. Die Stärke des US wurde an das Verhalten des jeweiligen Tieres angepasst und ausgehend von einer Amplitude von 300 μA in 50 μA Schritten in den ersten 20 Trials des ersten Trainingsdurchganges erhöht, bis das Tier eine zuverlässige Fluchtreaktion auf den US zeigte (Ohl et al., 1999). An jedem Trainingstag wurden 60 oder 96 Stimuli dargeboten, welche in pseudorandomisierter Reihenfolge präsentiert wurden. Das Interstimulusintervall variierte dabei zufällig zwischen 15 und 19 s.

2.6.1 Block-Design der Verhaltensexperimente

Im ersten Block (Trainingstage 1-12) wurde die Detektion der monopolen Stimulation initial mit perzeptuell überschwelligen Amplituden von 80 μA antrainiert, welche pseudorandomisiert am jeweils ausgewählten Stimulationskanal (Stimulationstiefe im Cortex) präsentiert wurden (20 Stimuli je Stimulationstiefe) (Initiallernen,

Deliano et al., 2009). Nach erfolgreicher Assoziation des CS^+ und des US wurde im zweiten Block die präsentierte Stromstärke der monopolen Stimulation variiert, um die Detektionssensitivität als Funktion der Stimulusstärke zu bestimmen. Stimulationsamplituden wurden dazu variiert zwischen 5 und 100 μA (5, 7, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 und 100 μA). Die verschiedenen Stimulationsamplituden und der jeweils ausgewählte Stimulationskanal wurden dabei in pseudorandomisierter Reihenfolge dargeboten. Innerhalb eines Trainingstages wurden dabei jeweils Subsets von variierten Amplituden zwischen 14 und 18 mal pro Training präsentiert (siehe Tabelle 2.1). Für die psychometrische Analyse der Detektionssensitivität wurden 10 weitere Trainings durchgeführt (siehe unten). Im letzten Block wurde die Art der elektrischen Applikation variiert. Dabei wurde die Architektur des vertikalen Stimulations-Arrays ausgenutzt, um zwischen jeweils zwei Stimulationskanälen lokale bipolare Felder anzulegen. Dabei wurde die bipolare ICMS (BP-ICMS) jeweils zwischen der mittleren Elektrode und der oberen (supragranuläre BP-ICMS) oder der unteren (infragranuläre BP-ICMS) Elektrode angelegt. Durch zusätzliche Variation der Polaritäten der Führungs- und Folgephase zwischen kathodisch und anodisch ergaben sich vier ICMS-Konfigurationen (zur weiteren Illustration siehe Abbildung 3.21B). In acht weiteren Trainings (je 96 Stimuli) wurden für jede der vier Konfigurationen 12 bis 18 Stimuli mit acht verschiedenen Stimulationsamplituden zwischen 5 und 100 μA (5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 und 100 μA) in Subsets präsentiert (siehe Tabelle 2.1). Dabei wurde auf eine pseudorandomisierte Variation der BP-ICMS-Konfigurationen und der Stimulusstärke geachtet. In beiden Testblöcken wurden die einzelnen Subsets an 2 oder 3 verschiedenen Trainingstagen präsentiert. Um ein Extinktionslernen zu vermeiden, wurden in jedem Subset mindestens Amplituden mit 60 μA präsentiert. In fünf Tieren wurden zusätzlich Stimuli ohne Stimulationspuls („*catch-trial*“) und ohne US eingestreut, um die spontanen Sprungraten, sowie mögliche zeitlich mit der Stimulation korrelierte höhere Sprungraten zu beurteilen.

Block	Subsets					
Initiallernen	alle 80 μA					
MP-ICMS						
1:	5, 30, 50, 80 μA	2:	20, 40, 60, 70 μA	3:	7, 15, 60, 100 μA	
4:	15, 30, 50, 80 μA	5:	7, 20, 40, 60 μA	6:	5, 20, 70, 100 μA	
BP-ICMS						
1:	5, 20, 40, 80 μA	2:	10, 30, 60, 100 μA	3:	5, 20, 30, 60 μA	
4:	10, 40, 60, 100 μA	5:	10, 30, 40, 80 μA	6:	5, 20, 80, 100 μA	

Tabelle 2.1: Block-Design der Verhaltensexperimente: Das Initiallernen wurde mit 80 μA pseudorandomisiert über die drei Stimulationstiefen antrainiert. Nach erfolgreichem Vermeidungslernen wurden Subsets der pseudorandomisierten Amplitudenvariationen bei der monopolaren (MP-ICMS) und anschließend der bipolaren (BP-ICMS) intracorticalen Elektrostimulation präsentiert. Die Sets wurden jeweils für die drei Stimulationstiefen (MP-ICMS), beziehungsweise für die vier Konfigurationen (BP-ICMS) pseudorandomisiert dargeboten. Erläuterungen siehe Text.

2.6.2 Analyse der Verhaltensdaten

Für jedes Tier wurde die Rate der konditionierten Reaktionen (CR), also der Treffer, für jedes einzelne Training separat protokolliert. Basierend auf diesen Daten wurde die Lernleistung der Einzel-Tiere ermittelt und mithilfe von gemittelten Lernkurven dargestellt. Für die psychometrische Analyse der monopolaren und bipolaren Stimulationen wurde für jedes Tier einzeln die CR -Raten für jede Stimulusstärke und Stimulationstiefe, beziehungsweise -konfiguration, über alle Trainings hinweg gemittelt bestimmt. Um die Detektionsleistung unabhängig von den Experimentalbedingungen zu quantifizieren, welche die Antworten beeinflussen könnten, wurde der sogenannte d' -Wert bestimmt, welcher basierend auf der Signal-Detektions-Theorie ein unabhängiges Maß der Lernleistung liefert (Green & Swets, 1966). Der d' -Wert berechnet sich dabei aus der CR -Rate, sowie einer Fehler-Rate, welche die Sprungwahrscheinlichkeit in einem Intervall vor dem CS reflektiert (4 s; gleiche Länge wie $CS - US$ -Intervall). Die so ermittelten Fehler-Raten wurden weiterhin mit den Sprungraten während der zuvor beschriebenen „*catch-trials*“ verglichen ($n=5$) und waren jeweils nicht signifikant unterschiedlich (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, MP-ICMS, $p=0.15$; BP-ICMS, $p=0.34$). Die d' -Werte wurden für jedes Tier und jedes Training bestimmt, indem die z -Transformationen der Treffer- und Fehler-Raten,

als inverse Funktion der standardisierten Normalverteilung, voneinander abgezogen wurden (Deliano et al., 2009):

$$d' = z(\textit{Tref fer} - \textit{Rate}) - z(\textit{Fehler} - \textit{Rate}) \quad (2.5)$$

Für die psychometrische Analyse der Detektionssensitivität wurden die d' -Werte als Funktion der Stimulusstärke betrachtet. Als Schwellenkriterium wurde ein d' -Wert von 1.0 gewählt, was einer Signalstärke von einer Standardabweichung über der Schwelle entspricht. Die Schwellenwerte wurden auf Einzel-Tier-Basis jeweils für alle Variationen der monopolaren oder bipolare Stimulation bestimmt. Da die jeweiligen Schrittweiten zwischen den applizierten Stromstärken nicht identisch waren, wurden die Antwort-Kurven mit einer gewichteten Mittelung der beiden umliegenden d' -Werte geglättet ($k=3$). Bei Randwerten wurde nur jeweils der Nachbarwert zur Glättung verwendet ($k=2$). Dabei wurden die d' -Werte proportional zu den relativen Unterschieden der Stimulationsamplituden zueinander gewichtet (Faktor 0.33 für 10 μA Differenz). Der tatsächliche Strom-Schwellenwert für Antwortraten mit $d' \geq 1.0$ bestimmte sich nun anhand einer linearen Extrapolation zwischen dem ersten d' -Wert über 1.0 und dem davor liegenden. Einzelbeispiel siehe Ergebnisse (Abschnitt 3.4).

2.7 Statistische Analysen

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene statistische Tests genutzt. An allen Stellen beziehen sich die p-Werte auf den zuletzt genannten statistischen Test. Klassischerweise wurde der gepaarte Student's t-Test genutzt, um einfache Unterschiede zwischen zwei Gruppen auf Signifikanz zu testen. Zur Bestimmung der Signifikanz wurden apriorische p-Werte von 0.05* oder 0.01** als Kriterium gewählt.

Für statistische Tests multi-faktorieller Vergleiche wurde eine Varianzanalyse mit Meßwiederholungen (*repeated measures* ANOVA, rmANOVA) angewendet (mithilfe von SPSS 8.0). Falls notwendig wurden Huynh-Feldt-Korrekturen der Sphärität durchgeführt (Huynh & Feldt, 1976). Als Kriterium der Signifikanz wurde

generell $\alpha = 0.05$ angenommen. Da klassischerweise post-hoc durchgeführte Vergleiche bei rmANOVAs nicht zulässig sind, wurden nachfolgend spezifische Post-hoc-Tests durch restriktive rmANOVAs mit Bonferroni-korrigiertem Signifikanz-Level ($\alpha^* = \alpha/n_{Test}$) durchgeführt. Der F-Wert wird stets angegeben mit dem Freiheitsgrad (df) und dem Fehler des Freiheitsgrades (ef): $F_{df,ef}$.

3 Ergebnisse

3.1 Physiologische Strom-Quellen-Dichteverteilungen im auditorischen Cortex

Durch die Ableitung laminarer CSD-Profile im primären auditorischen Cortex (AI) nach Reinton-Stimulation sollte die laminare Organisation afferenter thalamocorticaler Eingänge und konvergierender intracorticaler Eingänge untersucht werden. Um die Beiträge des sensorischen *Bottom-up*-Eingangs zu separieren, wurde in 10 Experimenten der GABA_A-Agonist Muscimol in verschiedenen Konzentrationen (0.2-1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$; max. 8.4 mM) topisch auf den Cortex appliziert (Krupa et al., 1999; Talwar et al., 2001; Kaur et al., 2004; Andolina et al., 2007; Liu et al., 2007). In drei weiteren Experimenten wurde zusätzlich der GABA_B-Antagonist SCH50911 (6 mM, 20 μl) im Konzentrationsverhältnis 1:1.5 mit Muscimol (4 mM, 20 μl) appliziert, um eine mögliche präsynaptische GABA_B-vermittelte Inhibition der afferenten Eingänge zu unterbinden (Yamauchi et al., 2000; Liu et al., 2007). Durch eine quantitative Analyse der Änderungen der CSD-Profile wurden die relativen Beiträge und die Interaktionen beider Eingangssysteme auf laminarer Verarbeitungsebene untersucht.

3.1.1 Dissoziation thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Eingänge in AI

Das laminare CSD-Profil im naiven primären auditorischen Cortex bei Mongolischen Wüstenrennmäusen zeigte nach Stimulation mit Reinton-Frequenzen ein charakteristisches raumzeitliches Muster, welches im Zuge der corticalen Verarbeitung

als *Feedforward*-Muster bezeichnet wurde (Abbildung 3.1, links oben; Barth & Di, 1990; Schroeder et al., 1998; Hirsch & Martinez, 2006; Sakata & Harris, 2009; Szymanski et al., 2009). Die Aktivierung nach Stimulation mit der Bestfrequenz (BF) war dabei charakterisiert durch initiale synaptische Aktivierungen in den granulären Eingangsschichten III/IV, sowie nachfolgende Aktivierungen über alle corticale Schichten hinweg, welche hier entsprechend als crosslaminare Prozessierungen beschrieben werden sollen (zur histologischen Einteilung der corticalen Schichten siehe Abschnitt 3.2.1). Die BF wurde definiert, als die Ton-Frequenz, welche die stärkste granuläre Peak-Amplitude evozierte (Abschnitt 3.1.3). Um die jeweiligen Beiträge der verschiedenen Eingangssysteme auf Ebene der laminaren CSD-Profil-Struktur zu untersuchen, wurde nun die corticale Deaktivierung durch topische Applikation des Muscimols herbei geführt.

Zunächst wurden prominente Komponenten des raumzeitlichen *Feedforward*-CSD-Profiles charakterisiert, um diese schichtspezifisch beschreiben zu können (Abbildung 3.1A). Die initiale Senke in granulären Schichten wurde als S1 bezeichnet, die folgende supragranuläre Senke als S2, sowie die infragranuläre als S3. In manchen Fällen wurde eine zusätzliche kurz-latente Aktivierung in den infragranulären Schichten gefunden, welche vermutlich die Aktivierung von Kollateralen thalamocorticaler Projektionen widerspiegelt. Diese Senke wurde deshalb als iS1 (infragranuläre S1) bezeichnet. Zusätzlich zu den Senken-Strukturen wurden die entsprechenden Quellen nach ihrer laminaren Lage benannt und entsprechend die supragranuläre Quelle als Q1, die granuläre als Q2 und die infragranuläre als Q3 bezeichnet.

In Abbildung 3.1B-D ist der zeitliche Verlauf der Diffusion des Pharmakons nach epiduraler Applikation über die corticalen Schichten hinweg verdeutlicht. Die experimentell induzierte Hyperpolarisation corticaler Neurone verhindert die Generierung von Aktionspotentialen ohne die postsynaptischen Eingänge, welche von unbeeinflussten Bereichen eintreffen, zu beeinflussen (McCormick et al., 2003), so dass die afferenten Eingänge weiterhin zu Stimulus-evozierten Senken in den CSD-Profilen führen. Anhand der substantiellen Reduktion der evozierten CSD-Amplituden (siehe Skalierungsbalken zu den verschiedenen Zeitpunkten) wird deutlich, dass sich

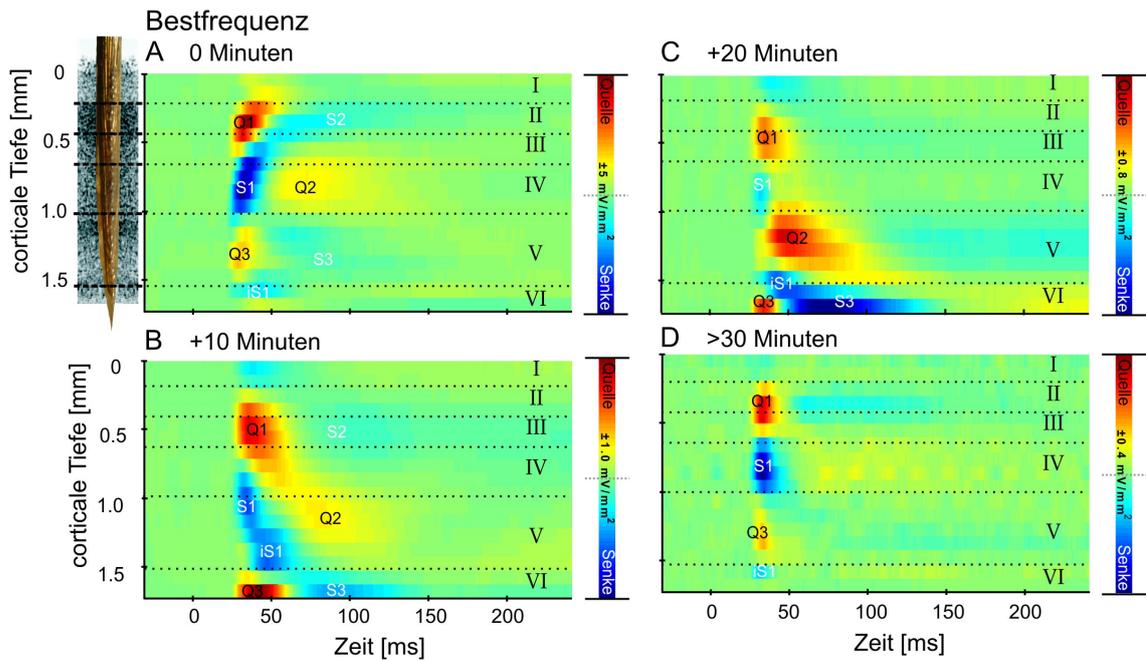


Abbildung 3.1: Zeitlicher Verlauf der Deaktivierung intracorticaler Beiträge Ton-evozierter laminarer CSD-Profile. A. Das CSD-Profil nach BF-Stimulation zeigt vor der pharmakologischen Deaktivierung ein *Feedforward*-Muster, welches durch Aktivierungen über alle corticalen Schichten (I-VI) hinweg geprägt ist. Prominente Senken (S1-S3, iS1) sind in blau, die Quellen (Q1-Q3) in rot gekennzeichnet. Links ist die laminare Position der Multikanal-Ableitелеktrode verdeutlicht. B-D. Im zeitlichen Verlauf der Diffusion des Pharmakons (Muscimol oder Cocktail) über die Schichten hinweg, werden die evozierten Amplituden nach 10 Minuten auf etwa 20% reduziert (B). Nach 30 Minuten ist das robuste Senke-Quelle-Senke-Triplett (Q1-S1-Q3) und die infragranuläre Senke iS1 auf unter 10% der Ausgangswerte der CSD-Maxima und -Minima gesunken (vergleiche Skalierungsbalken). Die corticale Schichtung wurde entsprechend der histologischen Analyse dieser Ableitposition eingeteilt (siehe Abschnitt 3.2.1). Weitere Erläuterungen siehe Text.

mit der CSD-Analyse sehr kleine synaptische Eingänge noch reliabel detektieren lassen. 20 Minuten nach Applikation hat das Muscimol bereits Schicht IV erreicht und die Senke S1 drastisch in ihrer raumzeitlichen Ausdehnung minimiert. Gleichzeitig könnte die Inhibition granulärer Schaltkreise eine Disinhibition der Schicht V-Pyramidalneurone verursacht haben, welche die starke Ausdehnung der infragranulären S3 erklären könnte (S3 ist stärker, als 10 Minuten nach Applikation). Die S3 wurde nach Diffusion des Muscimols über alle corticale Schichten komplett blockiert (nach 30 Minuten), so dass nur noch ein kurz-latentes und robustes Senke-Quelle-Senke Triplett bestehen blieb. Die Lokalisation der robusten Senke S1 weist darauf hin, dass aktive Synapsen weitgehend nur noch in der Schicht IV, und zum Teil in

Schicht IIIb, zu finden waren, welche die Haupt-Eingangs-Schichten der tonotop organisierten Eingänge aus dem ventralen Medialen Geniculatum (vMGB) darstellen (Budinger et al., 2000a; Hackett, 2010). Die Ausdehnung der Aktivierungen in die oberen Schichten IIIa und II wird durch die Deaktivierung unterbunden, so dass diese auf intracorticale Verbindungen zurückzuführen sind. Die in einigen Fällen gefundene initiale Senke iS1 in den tiefen Schichten blieb ebenfalls nach Muscimol-Applikation bestehen, was auf den oben erwähnten separaten Eingang afferenter Eingänge in Schicht V/VI durch Kollateralen der thalamocorticalen Projektionen hinweist, welche in anatomischen (Budinger et al., 2000a; Huang & Winer, 2000; Linden & Schreiner, 2003), sowie in einer physiologischen Arbeit (Szymanski et al., 2009) beschrieben wurden. Somit sind alle späteren Komponenten (S2, S3) der corticalen Aktivierung durch Muscimol blockiert worden und entsprechend auf intracorticale und crosslaminare Verarbeitung zurückzuführen (Kaur et al., 2004). Nur die früh-latenten, initialen Eingänge (S1, iS1) können entsprechend auf thalamocorticale Projektionen zurückgeführt werden. Diese Resultate zeigen, dass die pharmakologische corticale Deaktivierung eine geeignete Methode ist, um akustisch evozierte Beiträge der intracorticalen Eingangssysteme von den afferenten Eingängen zu trennen und so die relativen Anteile beider Systeme zum laminaren *Feedforward*-CSD-Muster zu beschreiben.

3.1.2 Aquirierung afferenter und intrinsischer synaptischer Populationen in Abhängigkeit des Spektralgehaltes

Im Folgenden sollen mit dieser Methode die Beiträge beider Eingangssysteme zur corticalen Aktivierung mit unterschiedlichen Stimulationsfrequenzen untersucht werden. Stimulationsfrequenzen ± 2 Oktaven von der BF entfernt wurden als Nah-BF bezeichnet, solche mit größerer Distanz (≥ 3 Oktaven) als Nicht-BF. Repräsentative Beispiele der jeweils evozierten CSD-Profile sind in Abbildung 3.2A gezeigt. Dabei fanden sich schon bei Frequenzunterschieden von 1 Oktave erhebliche Unterschiede der evozierten CSD-Profile, welches einen deutlichen Hinweis auf differentielle Re-

krutierung synaptischer Populationen liefert. Die Aktivierung nahm mit spektralem Abstand zur BF (hier 1 kHz) in allen Schichten ab. Die spektrale Abstimmbreite der granulären S1 und der supragranulären S2, gemessen an signifikanten Deflektionen der CSD, zeigte keine signifikanten Unterschiede und lag im Bereich von 6.38 ± 0.92 Oktaven (S1) und 6.8 ± 0.45 Oktaven (S2). In einigen Beispielen wurden Aktivierungen über den gesamten präsentierten Reinton-Bereich von 8 Oktaven verzeichnet (bis zu 4 Oktaven von der BF entfernt). Die infragranuläre Senke S3 zeigte hingegen ein schmaleres Abstimmverhalten von 4.8 ± 1.82 Oktaven. Ebenfalls geringer war die Bandbreite der frühen Senke iS1 (2.8 ± 0.93 Oktaven). Die S1 zeigte die kürzesten Onset-Latenzen nach BF-Stimulation (graue gestrichelte Linie in Abbildung 3.2A) und längere Latenzen mit größerem Abstand zur BF (Nah-BF- und Nicht-BF-Stimulation). Demnach muss die Aktivierung granulärer Schichten kein Alleinstellungsmerkmal der durch thalamocorticale Projektionen evozierten CSD-Profile sein (wie vorgeschlagen von Chen et al., 2007), sondern könnte auch durch ausreichend starke laterale Verschaltungen evoziert werden.

Um dieser Frage nachzugehen, wurden die jeweiligen CSD-Profile nach Deaktivierung verglichen (Abbildung 3.2B). Es zeigte sich, dass alle späteren Komponenten (S2, S3) unabhängig von der Stimulationsfrequenz durch intracorticale Prozesse generiert wurden. Robuste Aktivierungen der thalamocortical-rezipienten Eingangsschichten wurden des Weiteren durch Reinton-Frequenzen über maximal 5 Oktaven, also BF- und Nah-BF-Frequenzen, evoziert. Die S1 zeigte nach Deaktivierung eine reduzierte mittlere Antwortbandbreite von 3.26 ± 1.36 Oktaven (vergleichbar mit: Kaur et al., 2004) und sehr ähnliche, kurz-latente laminare Triplett-Strukturen. Nicht-BF-Stimulation evozierte keine Antworten über dem Schwellenkriterium von ± 0.005 mV/mm². Daraus lässt sich ableiten, dass nach Stimulation mit Nicht-BF-Frequenzen keine afferenten Eingänge aktiviert wurden (siehe Nicht-BF-Antwort nach Deaktivierung, Abbildung 3.2). Die reduzierte Bandbreite zeigt, dass die afferenten Eingänge durch horizontale, transsynaptische Weiterleitung in weitere corticale Bereiche verschaltet wurden und dort in den granulären Eingangsschichten terminieren. Weiterhin zeigte sich, dass die Onset-Latenz der S1 nach Nah-BF-

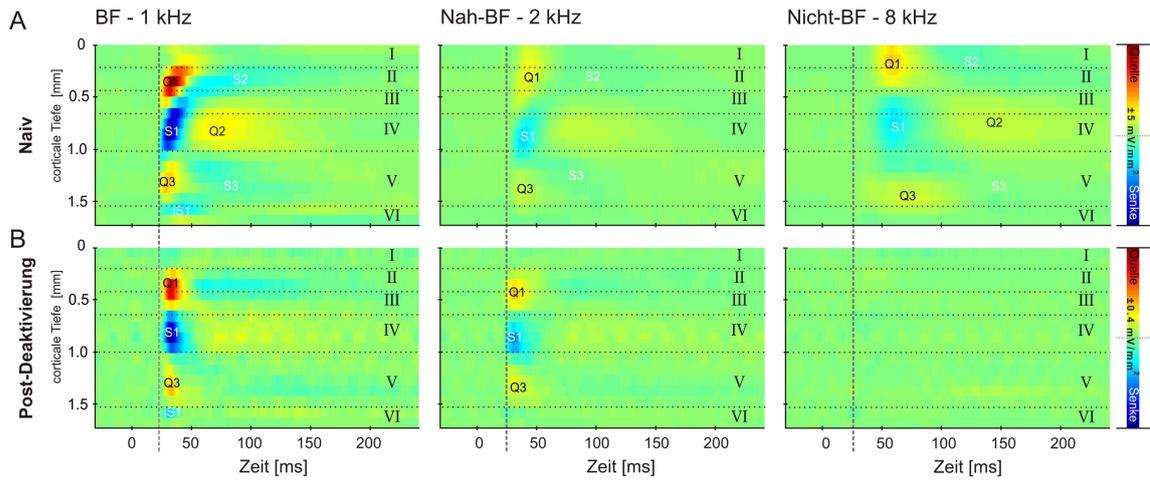


Abbildung 3.2: Separierung thalamocorticaler und intracorticaler Beiträge zum Ton-evozierten laminaren CSD-Profil. A. CSD-Muster zeigen, dass die laminare Verarbeitung in AI mit der Stimulationsfrequenz variiert (BF-, Nah-BF- und Nicht-BF-Stimulation). B. Nach der corticalen Deaktivierung (>30 min., siehe Abbildung 3.1) zeigt sich das robuste Quelle-Senke-Quelle-Triplett nur nach Stimulation mit BF- oder Nah-BF-Frequenzen, variiert aber dabei nicht in Abhängigkeit mit der Stimulationsfrequenz. Nicht-BF-evozierte Aktivitäten sind vollständig inhibiert. Zu beachten ist, dass nach der pharmakologischen Manipulation die Onset-Latenz der granulären Senke nach Nah-BF-Stimulation verkürzt war, sich jedoch kein Effekt auf die Latenz nach BF-Stimulation feststellen ließ (siehe graue gestrichelte Linie als Referenz). Weitere Erläuterungen siehe Text.

Stimulation durch Blockade der intracorticalen Verarbeitung verkürzt wurde, sowie auch die entsprechenden Quellen Q1 und Q3 (zum Vergleich graue Linie, Abbildung 3.2AB). Die Onset-Latenz der BF-evozierten S1 wurde hingegen nicht beeinflusst. Die Deaktivierung der intracorticalen Verarbeitung hat entsprechend unterschiedliche Einflüsse auf die evozierten Antworten nach BF- beziehungsweise Nah-BF-Stimulation. Die Onset-Latenz der monosynaptischen afferenten Eingänge scheint hingegen weitgehend unabhängig von der Stimulationsfrequenz zu sein. In diesem Zusammenhang soll erwähnt werden, dass die afferenten Eingänge aus dem vMGB in AI nur etwa 10-20% der Synapsen in den granlären Schichten darstellen (Benshalom & White, 1986; Ahmed et al., 1997). Entsprechend scheinen die starken intracorticalen Verbindungen die Antworteigenschaften maßgeblich zu beeinflussen. Zur weiteren Quantifizierung dieser Effekte wurden die Peak-Amplituden und die Onset-Latenzen der granulären Senke S1 vor und nach Deaktivierung nach verschiedenen Stimulationsfrequenzen weiter analysiert.

3.1.3 Quantifizierung thalamocorticaler und intracorticaler Anteile der corticalen laminaren Aktivierungen

Zunächst wurden die Onset-Latenzen und die Peak-Amplituden aller CSD-Parameter vor der Deaktivierung in Abhängigkeit des spektralen Eingangs quantifiziert. Die größten mittleren Peak-Amplituden wurden nach BF-Stimulation in granulären Schichten gefunden (-1.11 ± 0.21 mV/mm²). Supragranuläre Aktivierungen lagen im Mittel bei -0.37 ± 0.05 mV/mm² und infragranuläre bei -0.20 ± 0.02 mV/mm². Nach corticaler Deaktivierung mit Muscimol oder Muscimol+SCH50911 lagen die Amplituden der späteren Komponenten (S2, S3) unterhalb des Schwellenkriteriums von 0.005 mV/mm², was darauf hinweist, dass extragranuläre Schichten in anästhesierten Tieren weitgehend intracorticale Eingänge erhalten. Die granuläre Senke hingegen wurde durch intracorticale, wie thalamocorticale Eingänge evoziert und zeigte entsprechend unterschiedliche Änderungen. Die mittlere Peak-Amplitude der S1 reduzierte sich bei beiden Deaktivierungsmethoden um etwa 88% nach BF- und etwa 83-96% bei Nah-BF-Stimulation (siehe Tabelle 3.1A). Dieses Ergebnis ist konsistent mit intrazellulären Ableitungen, welche zeigten, dass pharmakologisch isolierte thalamocortical evozierte postsynaptische Potentiale relativ unabhängig von der Stimulationsfrequenzen sind (Liu et al., 2007). Die evozierte S1 nach Deaktivierung zeigte entsprechend ähnliche Amplituden nach BF- und Nah-BF-Stimulation, vor allem bei Applikation von Muscimol+SCH50911 (siehe Abbildung 3.3A). Für die Änderungen der Onset-Latenz ergeben sich im Gegensatz dazu allerdings deutliche Unterschiede zwischen der BF- und Nah-BF-evozierten S1. Nach BF-Stimulation zeigte sich, wie in Abbildung 3.2 gezeigt, kein Unterschied (gepaarter t-Test, $p=0.92$). Bei Nah-BF-Stimulation, was entsprechend dem Randbereich des thalamocorticalen Einganges entspricht, wurden die Onset-Latenzen jedoch signifikant kürzer ($p>0.001$, siehe Abbildung 3.3B). Der selektive Effekt auf die Onset-Latenz der Nah-BF-evozierten Antworten weist entsprechend auf eine unterschiedliche Rekrutierung thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Populationen an den entsprechenden corticalen Bereichen vor und nach der Deaktivierung hin.

A. Relative Reduktion der S1-Amplitude			
Muscimol , 0.2-1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Naiv	Post-Deakt.	% Reduktion
BF	- 1.111	-0.134	87.9
\pm 1-2 Oktaven	-0.677	-0.05	92.6
\pm 1-2 Oktaven	-0.233	-0.041	82.5
Muscimol+SCH50911 , [1:1.5]	Naiv	Post-Deakt.	% Reduktion
BF	-1.044	-0.103	89.74
\pm 1-2 Oktaven	-0.796	-0.107	86.51
\pm 1-2 Oktaven	-0.621	-0.079	87.24
B. Differenz der Quellen-Amplituden Q1 und Q3			
Amplituden-Differenz (Q3-Q1)	BF	\pm1 Okt.	\pm2 Okt.
Naiv	0.740	0.485	0.280
Post-Deaktivierung	0.022	0.001	-0.006

Tabelle 3.1: A. Vergleich der mittleren Peak-Amplituden [mV/mm^2] und der relativen Reduktion der granulären Senke nach den verschiedenen Deaktivierungsmethoden. Zu beachten ist, dass die relative Reduktion in beiden Fällen ähnlich war, aber im Falle der Applikation von Muscimol+SCH50911 die evozierten Amplituden noch unabhängiger von der Stimulationsfrequenz waren (Liu et al., 2007). B. Vergleicht man die Differenz der mittleren Peak-Amplituden [mV/mm^2] der Quellen Q1 und Q3 vor und nach der Deaktivierung, so wird deutlich, dass die Amplitudenunterschiede der Q1 und Q3 durch die Deaktivierung aufgehoben wurden.

3.1.4 Laminare Konvergenz afferenter und intracorticaler synaptischer Eingänge

Die zeitlich, wie räumlich hohe Auflösung laminarer synaptischer Prozesse anhand der CSD-Analyse ermöglicht, die zuvor beschriebenen Effekte auf der Ebene der corticalen Mikroarchitektur zu untersuchen. Hierzu wurden die mittleren Onset-Latenzen (\pm SEM) der verschiedenen Senken-Komponenten schichtspezifisch ausgewertet. Abbildung 3.4A zeigt die laminare Organisation der mittleren Onset-Latenzen der Senken S1 bis S3 nach Stimulation mit verschiedenen Reinton-Frequenzen. Wie bereits gezeigt, war die Aktivierung der granulären Schicht nach BF-Stimulation die schnellste Aktivierung im primären auditorischen Cortex. Die granuläre S1 wies dabei identische Onset-Latenzen in corticalen Tiefen von 600 μm bis 1100 μm auf. Die S1 nach Nah-BF- oder Nicht-BF-Stimulation hingegen hatte zum einen längere Onset-Latenzen und zeigte des Weiteren die initialen Aktivierungen in der Schicht III, sowie oberen Schicht IV, und einen zeitlichen Verzug der Aktivierungen in Richtung der tieferen Schicht V. Im Detail erstreckte sich die S1

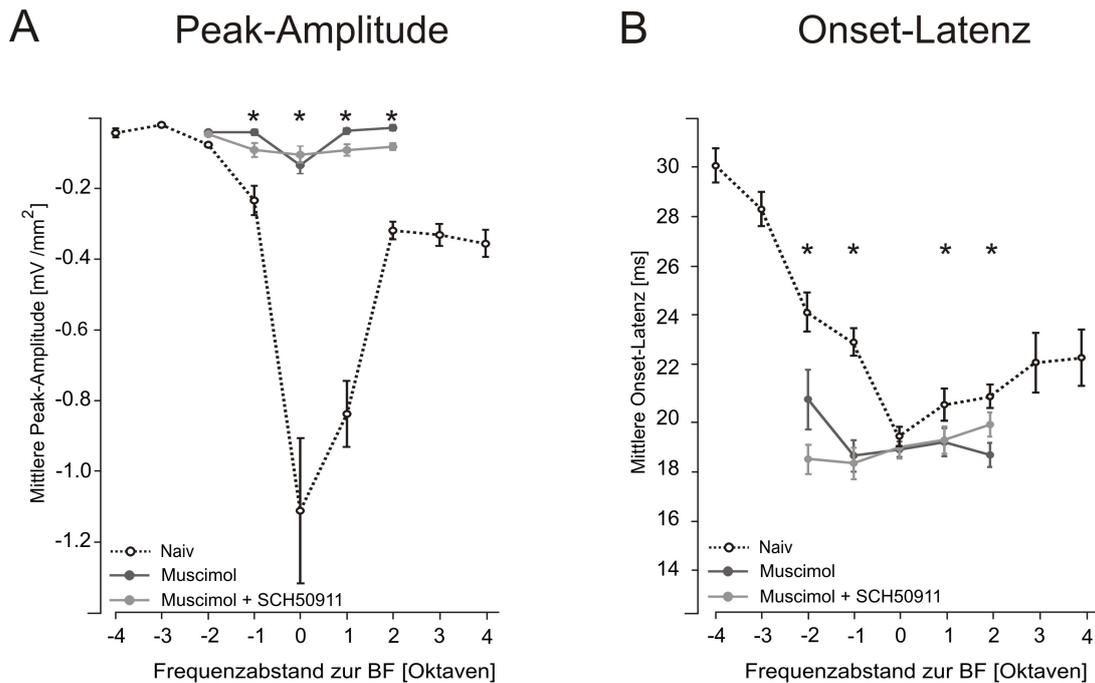


Abbildung 3.3: Quantitativer Vergleich der Effekte beider Deaktivierungsmethoden auf die granuläre Senke. Die Gegenüberstellung beider Deaktivierungsmethoden, Applikation des GABA_A-Agonisten Muscimol alleine (schwarz) oder durch zusätzliche Applikation des GABA_B-Antagonisten SCH50911 (grau), sollten mögliche Nebeneffekte des Muscimol auf präsynaptische Prozesse des thalamocorticalen Einganges ausschließen. A. Mittlere Peak-Amplituden (\pm SEM) der granulären Senke nach Reinton-Stimulation unterschiedlicher Frequenzen zeigten, dass die Antworten im naiven Zustand (gestrichelt) im BF- und Nah-BF-Bereich durch beide Methoden drastisch reduziert, und im Nicht-BF-Bereich gänzlich geblockt wurden (siehe auch Tabelle 3.1A). B. Mittlere Onset-Latenzen (\pm SEM) der S1 wurden nach Deaktivierung selektiv im Nah-BF-Bereich beeinflusst. Effekte zwischen den Deaktivierungsmethoden waren dabei in beiden Fällen nicht signifikant. Erläuterungen siehe Text. *gepaarter t-Test, $p < 0.01$

nach Nah-BF-Stimulation über corticale Tiefen von 500 μ m bis 1000 μ m, wobei die initiale Aktivierung in Schicht III begann und die Schichten VI und V etwa 1-5 ms später aktiviert wurden, im Vergleich zur BF-Stimulation. Granuläre Aktivierungen nach Nicht-BF-Stimulation zeigten einen ähnlichen laminaren Latenzverlauf: die Nicht-BF-evozierte S1 begann in Schicht III etwa 2 ms später als die BF-evozierte Antwort und hatte in Schicht IV entsprechend etwa 2-4 ms längere Latenzen. Die Aktivierungen erstreckten sich nicht bis in Schicht V (Ausdehnung von 400 μ m bis 900 μ m corticaler Tiefe).

Diese Befunde zeigen, dass unterschiedliche synaptische Populationen für die granuläre Aktivierungen nach BF-, Nah-BF und Nicht-BF-Stimulation verantwortlich

sind. Dabei könnten horizontale Verschaltungen, welche in benachbarten Bereichen in den oberen granulären Bereichen terminieren, die beschriebenen Unterschiede erklären, in Übereinstimmung mit anatomischen Befunden, die zeigen, dass prominente lokale horizontale Verbindungen über Schicht II/III projizieren (Ojima et al., 1991; Budinger et al., 2000a; Dantzker & Callaway, 2000). Die Schichten II/III würden entsprechend einen wichtigen Beitrag zur interkolumnären Integration breiter spektraler Informationen leisten. Hierauf wird im folgenden Abschnitt 3.1.5 weiter eingegangen.

Neben der initialen Senke S1 zeigten auch die nachfolgenden späteren Komponenten Unterschiede in Abhängigkeit der Stimulationsfrequenz. Entsprechend der zeitlichen laminaren Latenzverläufe können Rückschlüsse auf die Generatoren der corticalen Mikroschaltkreise geschlossen werden, welche die crosslaminären Prozessierung ermöglichen. Nach BF-Stimulation wurden die oberen Schichten durch direkte intrakolumnäre Verbindungen aktiviert (Bannister, 2005; Sakata & Harris, 2009), was anhand der gleichförmigen Latenz in Richtung oberer Schichten der S2 deutlich wird (Abbildung 3.4A). Bei Stimulation mit Nah-BF/Nicht-BF-Frequenzen zeigte sich hingegen ein entgegengesetzter laminarer zeitlicher Verlauf der S2 (kürzere Latenzen in Schicht I/II), welcher unterschiedliche Eingänge in oberen Schichten vermuten lässt. Diese Eingänge müssten demnach von corticalen Bereichen stammen, für welche die präsentierte Frequenz die BF darstellt, und wären demnach unabhängig von der intrakolumnären kaskadischen Weiterleitung von granulären Schichten in die oberen Schichten. Diese Hypothese ist in Einklang mit dem Befund, dass die mittleren Peak-Amplituden der Senke S2 weniger stark durch die Stimulationsfrequenz beeinflusst wurden, als die der S1 (mittlere Peak-Amplitude (\pm SEM) der S2 nach Stimulation mit der BF: -0.37 ± 0.05 mV/mm², Nah-BF: -0.31 ± 0.1 mV/mm² und Nicht-BF: -0.28 ± 0.02 mV/mm²; vergleiche mit Abbildung 3.3). Die Aktivierung der infragranulären Schicht V und VI (S3) wurde ausschließlich bei BF- und Nah-BF-Stimulation gefunden, wenn sich die granuläre Senke S1 bis in die obere Schicht V ausdehnte, was auf intrakolumnäre Generatoren hinweist (Budinger et al., 2000a; Bannister, 2005).

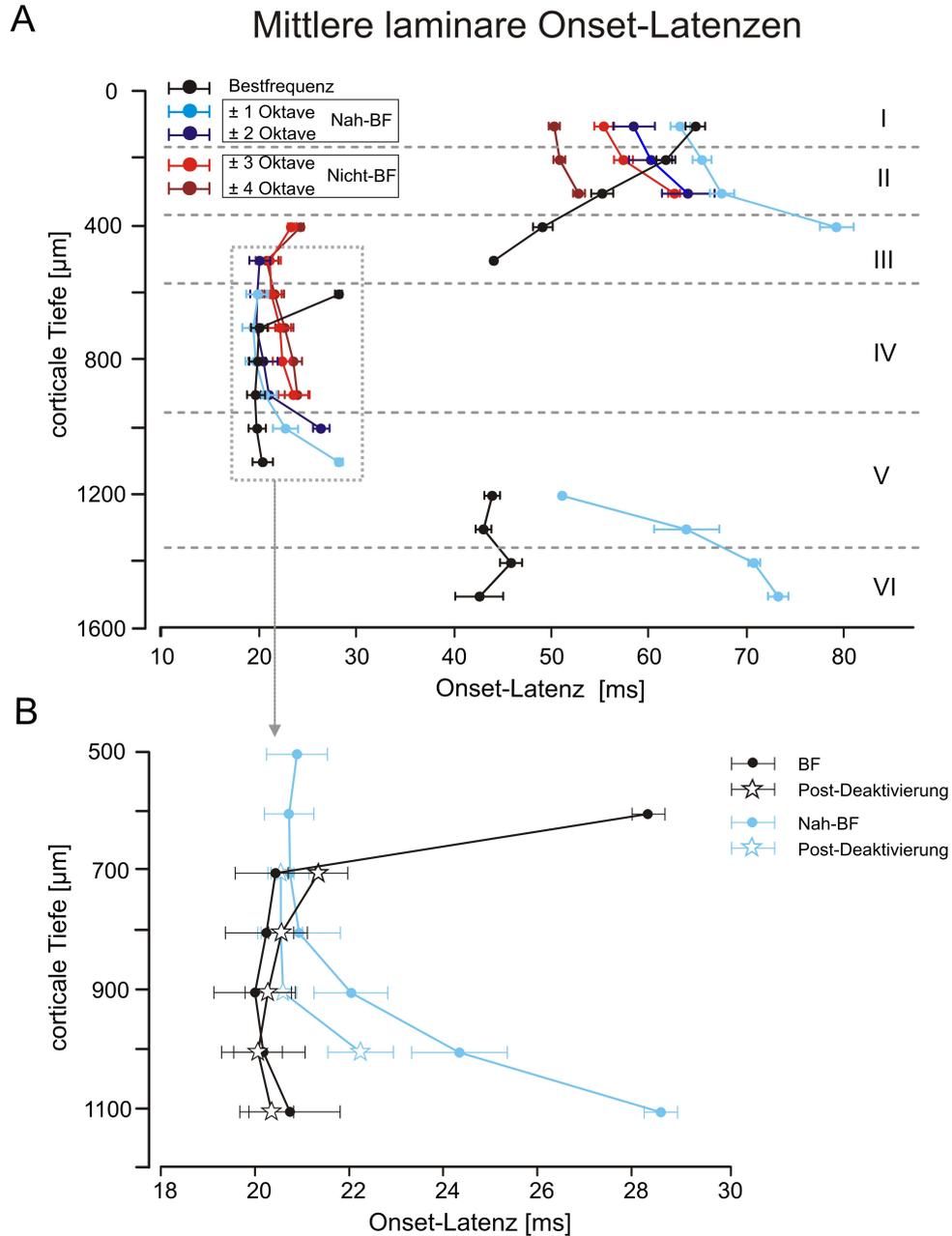


Abbildung 3.4: Laminare Verarbeitung konvergierender thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Populationen. A. Mittlere Onset-Latenzen (\pm SEM) der drei Hauptbestandteile des corticalen CSD-Profiles ($S1 = 400-1100 \mu\text{m}$, $S2 = 0-500 \mu\text{m}$, $S3 = 1200-1600 \mu\text{m}$) nach BF-, Nah-BF- und Nicht-BF-Stimulation. B. Detaillierte Darstellung der Pharmaka-induzierten Effekte auf die mittleren Onset-Latenzen (\pm SEM) der robusten Senke S1 nach BF- und Nah-BF-Stimulation (gemittelte Resultate aus $\pm 1-2$ Oktaven Abstand zur BF). Die corticale Deaktivierung beeinflusste die räumliche und zeitliche Struktur der granulären Senke nur nach Stimulation mit Nah-BF-Frequenzen. Die corticale Schichtung wurde entsprechend einer histologischen Populations-Analyse eingeteilt ($n=5$, siehe Abschnitt 3.2.1)

Dennoch ist bislang unklar, wie intrakolumnäre und horizontale Beiträge mit direkten afferenten Eingängen auf laminarer Ebene in den granulären Eingangsschichten konvergieren. Um dieser Frage nachzugehen wurden die Pharmaka-induzierten Effekte auf die mittleren laminaren Onset-Latenzen der granulären Senke ausgewertet. Abbildung 3.4B zeigt den entsprechenden Bereich der S1 im Detail. Nach BF-Stimulation zeigte die S1 keine Änderung des laminaren Latenz-Profiles (schwarz, gepaarter t-Test, $p=0.92$), jedoch eine reduzierte vertikale Ausdehnung auf corticale Bereiche von $700 \mu\text{m}$ bis $1100 \mu\text{m}$. Dieser Befund, und die starke Reduktion der evozierten Amplituden der S1 (siehe Tabelle 3.1) weisen darauf hin, dass die Hyperpolarisation der Neurone in den granulären Schichten eine effektive Rekrutierung rekurrenter exzitatorischer Verstärkerschaltkreise zwischen den Schichten IV und III/II durch afferente Eingänge verhindert (Douglas & Martin, 2004; Liu et al., 2007). Nach der Deaktivierung zeigte sich allerdings bei Nah-BF-Stimulation (hellblau), dass sich die laminare Position der initialen Antwort von der oberen Schicht IV und IIIb ($450\text{-}700 \mu\text{m}$) in die tiefere Schicht IV und Va ($700\text{-}1000 \mu\text{m}$) verschob, wobei die kurz-latente Aktivierung der oberen Schicht IV und IIIb gänzlich wegfiel und sich die Latenz in den tieferen Schichten IV und Va um 2 ms verkürzte. Dadurch ähnelten sich nun die laminaren Profile der robusten S1 nach BF- und Nah-BF-Stimulation stark. Nicht-BF-evozierte Antworten sind in Abbildung 3.4B nicht gezeigt.

Daraus resultiert, dass die granuläre Senke nach BF-Stimulation initial hauptsächlich auf der Aktivierung thalamocorticaler Synapsenpopulationen beruhte. Im Gegensatz dazu wurden die granulären Schichten nach Nicht-BF-Stimulation ausschließlich durch horizontale Eingänge angeregt, da keine verbleibenden Eingänge nach Deaktivierung zu finden waren. Für dazwischen liegende spektrale Distanzen zur BF scheinen in den corticalen Tiefen von $700 \mu\text{m}$ bis $900 \mu\text{m}$ zeitlich hoch präzise thalamocorticale und intracorticale Eingänge zu konvergieren, welche die initiale Aktivierung der corticalen Kolumne modulieren, in dem eine räumlich und zeitlich präzise Aktivierung bestimmter synaptischer Populationen ermöglicht wird.

3.1.5 Analyse der zeitlichen Struktur konvergenter Eingangssysteme im auditorischen Cortex

Wie eingangs erläutert, schlägt die bestehende Literatur eine Arbeitsteilung zwischen thalamocorticalen und horizontalen Eingängen zur Prozessierung von BF-beziehungsweise Nicht-BF-Informationen vor. Dennoch ist unklar, wie die beiden Eingangssysteme dort interagieren, wo die spektralen Beiträge aus beiden Systemen am stärksten überlappen (Nah-BF-Bereich). Im vorigen Abschnitt wurde gezeigt, dass die initialen Antworten nach Stimulation mit Frequenzen nahe der BF tatsächlich durch eine zeitlich hoch präzise Konvergenz der afferenten mit intracorticalen Eingängen moduliert wird. Es bleibt jedoch offen, ob dabei horizontale Verbindungen mit den afferenten Eingängen konvergieren, oder ob die initialen Aktivierungen durch intrakolumnäre Schaltkreise verstärkt werden (Liu et al., 2007). Aufgrund der Superposition von CSD-Komponenten wäre es prinzipiell möglich, dass sehr schwache afferente Eingänge nach Nah-BF-Stimulation intrakolumnäre Verstärkerschaltkreise aktivieren, so dass die Überlagerung beider synaptischer Prozesse die charakteristischen Latenz-Gradienten der CSD-Profile erklärten. Allerdings sprechen die ähnlichen Amplituden afferenter Eingänge über verschiedene Stimulationsfrequenzen hinweg eher für eine Beteiligung lokaler horizontaler Verbindungen zwischen den granulären Schichten corticaler Kolumnen. Diese Hypothese soll anhand einer von uns erstmals entwickelten Analysemethode für laminare CSD-Profile überprüft werden (Happel et al., 2010b, Jeschke und Ohl, in Vorber.).

Dabei soll eine vergleichende Analyse der gemittelten, gleichgerichteten CSD (AV-REC), als Maß für den zeitlichen Verlauf des transmembranalen Gesamt Ladungsflusses über die corticalen Schichten hinweg (Givre et al., 1994; Schroeder et al., 1998), und der relativen Residuen der CSD (Harding, 1992, ; siehe Abschnitt 2.4.2.4), die Untersuchung der Konvergenz thalamocorticaler und spezifisch der horizontalen Verbindungen ermöglichen. Die Idee basiert dabei auf folgender Überlegung: präsynaptische Aktivierungen verursachen einen massiven Kalzium-Ionen-Einstrom, welcher sich zu einem signifikanten Anteil des lokalen Feldpotentials aufsummiert (Tenke

et al., 1993; Stölzel et al., 2008). Aufgrund der weitgehenden orthogonalen Ausrichtung der thalamocorticalen und der horizontalen, interkolumnären Verbindungen (Abbildung 3.5A, rechts), sollten diese unterschiedliche Beiträge zu den relativen Residuen der CSD liefern, welche durch lineare Ableit-Arrays orthogonal zur corticalen Oberfläche gemessen werden. Das LFP wird innerhalb eines Zylinders um die Ableitachse herum gemessen (etwa 250 μm im Durchmesser; Katzner et al., 2009), so dass sich ausgleichende Senken und Quellen bei Aktivierung lateraler Verbindungen eher außerhalb dieses Zylinders befinden. So sollten bei einer Gesamtaktivierung, gemessen anhand der AVREC, die Beiträge lateraler Verbindungen stärker zu den relativen Residuen beitragen, als die parallel zur Ableitachse liegenden thalamocorticalen Synapsenpopulationen (siehe schematische Darstellung in Abbildung 3.5A, links).

Die Analyse der zeitlichen Beziehung der Ton-evozierten AVREC und der relativen Residuen der CSD zeigte vor der Deaktivierung ein charakteristisch unterschiedliches Latenzprofil in Abhängigkeit der Stimulationsfrequenz (siehe Abbildung 3.5B). Bei BF-Stimulation (hier 0.5-1 kHz, gemessen an der maximalen AVREC-Amplitude) war die Onset-Latenz der AVREC-Wellenform am kürzesten (graue gestrichelte Linie) und zeigte einen Latenzverschub mit Entfernung zur BF (rote Punkte zeigen Schnittpunkt mit dem 3-SD-Schwellenwert der Prästimulus-Grundlinie an). Im Gegensatz dazu wiesen die relativen Residuen kürzere Latenzen bei Nicht-BF-Stimulation (0.25 und 2-16 kHz) auf und waren signifikant länger nach BF-Stimulation (vergleiche graue gestrichelte Linie). Zuvor wurde gezeigt, dass die Aktivierung nach BF-Stimulation weitgehend auf thalamocorticalen Eingang beruht, wobei Nicht-BF-Aktivierungen ausschließlich über horizontale Verbindungen getragen werden, was der skizzierten Situation in Abbildung 3.5A (links) entspricht. Entsprechend waren im Falle der BF-Stimulation die Onset-Latenzen der AVREC kürzer, als die der relativen Residuen. Bei Stimulation abseits der BF zeigten beide Parameter hingegen einen gleichen zeitlichen Beginn. Der kritische Test, um zu zeigen, dass die relativen Residuen tatsächlich nur auf der Aktivierung intracorticaler horizontaler Prozesse, und nicht etwa auf möglichen Kollateralen thalamocorticaler

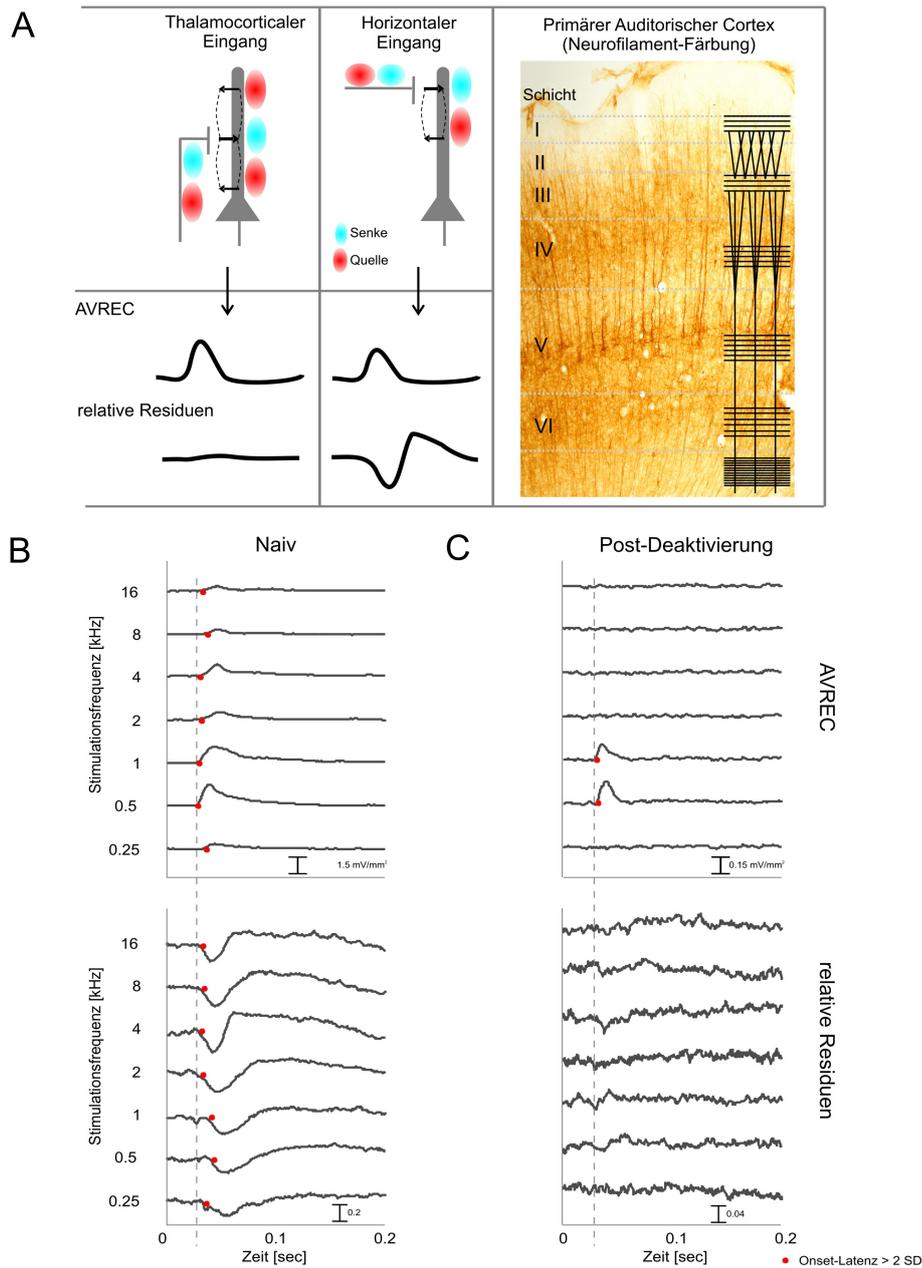


Abbildung 3.5: Analyse der zeitlichen Struktur horizontaler Eingänge anhand absoluter und relativer Ladungsverschiebungen. A. Die AVREC reflektiert den zeitlichen Verlauf des gesamten Ladungsflusses an einer Messposition, während die relativen Residuen der CSD Aufschluss über die momentane Unausgeglichenheit der Senken und Quellen geben. Die weitgehend orthogonale Orientierung thalamocorticaler und intracorticaler Faserverbindungen entspricht den kanonischen Faserorientierungen im sensorischen Cortex (schwarze Schematisierung übernommen aus: Creutzfeldt, 1983) und kann anhand einer Neurofilament-Färbung (SMI32-Färbung) nachvollzogen werden (mit freundlicher Genehmigung von Dr. Eike Budinger). So kann die vergleichende Analyse der absoluten Ladungsverschiebung (AVREC) und der relativen Ausgeglichenheit der Senken und Quellen (relative Residuen der CSD) Rückschlüsse auf die zeitliche Integration beider Subsysteme liefern. B. AVREC und relative Residuen nach Reinton-Stimulation in AI (naiv). Rote Punkte markieren die Onset-Latenzen ($>3SD$ -Schwellenkriterium) C. Nach pharmakologischer Blockade aller intracorticaler Aktivierungen konnten keine signifikanten Ton-evozierten relativen Residuen gemessen werden. Die AVREC-Wellenform zeigte die thalamocorticale Restaktivierung bei BF-Stimulation an. Nähere Erläuterungen siehe Text.

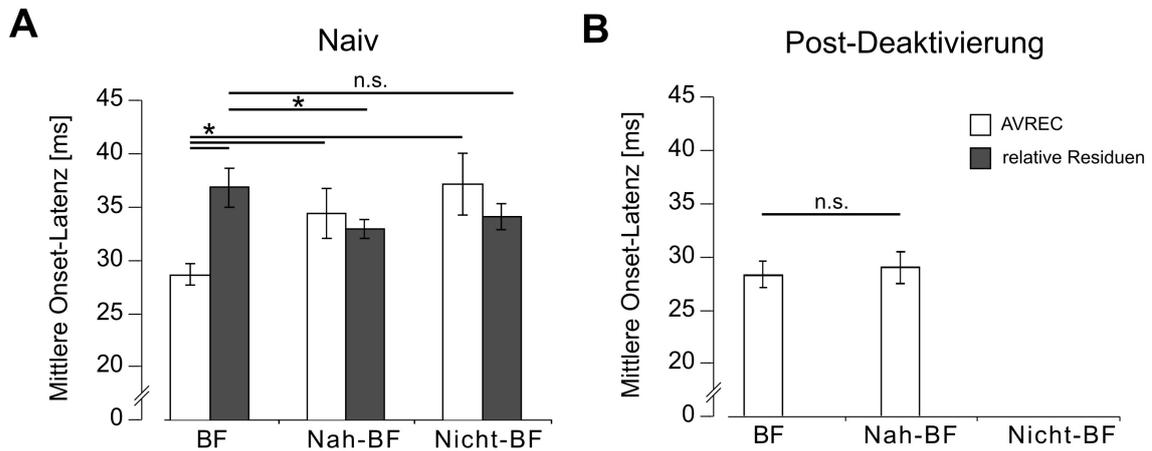


Abbildung 3.6: Quantitative Auswertung der Onset-Latenzen der AVREC und relativen Residuen. A. Der Vergleich der mittleren Onset-Latenzen (\pm SEM) beider Parameter zeigte, dass nach BF-Stimulation die AVREC signifikant kürzere Latenzen aufwies, als die relativen Residuen (gepaarter t-Test, $p=0.0006$), sich aber keine signifikanten Unterschiede bei Nah-BF/Nicht-BF-Stimulation ergaben. Mittlere Onset-Latenzen (\pm SEM) der relativen Residuen zeigten signifikante Unterschiede nach BF- und Nah-BF-Stimulation ($p=0.023$), aber keinen Unterschied zwischen BF- und Nicht-BF-Stimulation (n.s.; $p=0.173$). B. Die corticale Deaktivierung blockierte alle Ton-evozierten relativen Residuen. Die AVREC zeigte hingegen keine Ton-evozierten Deflektionen nach Nicht-BF-Stimulation. Nach BF- und Nah-BF-Stimulation waren die Onset-Latenzen hingegen nicht signifikant unterschiedlich (n.s.; $p=0.43$).

Äste beruht, ist die komplette Reduktion signifikanter Deflektionen der Residuen nach corticaler Deaktivierung (siehe Abbildung 3.5C). Die AVREC-Wellenform war zwar schwächer in Amplitude und Bandbreite, doch war der verbleibende Eingang thalamocorticaler Projektionen nach BF-Stimulation noch signifikant vorhanden.

Abbildung 3.6A zeigt eine quantitative Analyse der Latenzbezüge zwischen AVREC und relativen Residuen, basierend auf dem gesamten Datensatz ($n=13$). Die mittleren Onset-Latenzen (\pm SEM) der AVREC waren nach BF-Stimulation signifikant kürzer, als die der relativen Residuen (um 7.75 ± 0.55 ms; gepaarter t-Test, $p=0.0006$), aber nicht signifikant unterschiedlich nach Nah-BF- ($p=0.38$) und Nicht-BF-Stimulation ($p=0.58$). Demnach existiert nur bei Stimulation mit der BF ein kurzes Zeitfenster, in welchem die corticale Aktivierung ausschließlich auf thalamocorticalen oder lokalen intrakolumnären synaptischen Verbindungen beruht. Entsprechend zeigte die AVREC nach BF-Stimulation signifikant kürzere Latenzen, als nach Nah-BF- ($p=0.001$) und Nicht-BF-Stimulation ($p=0.0007$). Die Onset-Latenzen der relativen Residuen hingegen waren nach Nah-BF-Stimulation signifikant kürzer, als

nach BF-Stimulation ($p=0.024$), aber nicht signifikant unterschiedlich nach Nicht-BF-Stimulation ($p=0.173$, siehe Abbildung 3.6A). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass horizontale Verbindungen tatsächlich zeitlich hoch präzise zur initialen Aktivierung einer corticalen Kolumne beitragen, wenn die Stimulationsfrequenz nicht genau der BF entspricht. So zeigte sich nach der Deaktivierung (>60 Minuten nach Applikation) keine signifikante Änderung der Onset-Latenzen der AVREC nach BF-Stimulation ($p=0.71$), sowie keine signifikanten Unterschiede zwischen BF- und Nah-BF-Stimulation ($p=0.43$, siehe Abbildung 3.6B). Die Blockade intracorticaler Aktivierungen verhinderte Ton-evozierten AVREC-Deflektionen nach Nicht-BF-Stimulation, sowie Deflektionen der relativen Residuen generell.

Schlussfolgernd konnte somit die oben geäußerte Hypothese der Interaktion potentiell anatomisch überlappender thalamocorticaler und horizontaler Eingangssysteme entsprechend der präsentierten Reinton-Frequenz bestätigt werden. Zusammengekommen zeigen die Ergebnisse, dass lokale horizontale Verbindungen, welche in den oberen granulären Schichten terminieren direkt mit afferenten Eingängen konvergieren und die initiale Antwort im auditorischen Cortex bei Stimulationen mit Nicht-BF-Frequenzen bedingen. Kurzgefasst tragen so verschiedene Eingangssysteme im primären auditorischen Cortex zur spektralen Integration von Frequenzinformationen bei: (1) thalamocorticale Eingänge terminieren in granulären Bereichen über einzelne Isofrequenzkolumnen hinaus (Budinger et al., 2000a; Huang & Winer, 2000). (2) Diese rekrutieren intrakolumnär die rekurrenten exzitatorischen Verstärkerschaltkreise (Douglas & Martin, 2004; Liu et al., 2007), sowie (3) lokale horizontale Verbindungen zwischen corticalen Kolumnen mit benachbarten Frequenzpräferenzen (Nah-BF-Bereich; Ojima et al., 1991; Budinger et al., 2000a). (4) Zusätzlich tragen weitreichende horizontale Verbindungen zu den Randbereichen der spektral verfügbaren Informationen an einer corticalen Stelle bei (Kadia & Wang, 2003; Metherate et al., 2005; Möller et al., 2010). Eine genauere Diskussion der verschiedenen Projektionssysteme zur spektralen Integration findet sich in der Diskussion in Abschnitt 4.1.4.

Zwar verliert man durch die Rektifizierung der CSD-Werte bei der Berechnung der

AVREC die Information über die Richtung des Ladungsflusses über die Membranen, doch hat der oben angestrengte Vergleich der zeitlichen Struktur der Wellenformen der AVREC und der relativen Residuen der CSD gezeigt, dass bei Stimulation mit der BF zunächst lokale, intrakolumnäre Prozesse aktiviert werden, und horizontale Eingänge mit einem Latenzverzug von etwa 8 ms integriert werden. Vergleicht man die AVREC-Wellenform mit dem jeweilig evozierten CSD-Muster, so fällt auf, dass die AVREC im auditorischen Cortex durch mehrere Phasen charakterisiert ist, wie bereits im visuellen Cortex beschrieben (siehe Abbildung 3.7; Givre et al., 1994; Schroeder et al., 1998). Die initiale Phase (1) zeigt dabei die höchste Amplitude (1.48 mV/mm^2) und überlappt mit einer zweiten Phase (2). Die folgende Phase (3) ist deutlich kleiner und spät-latent. Die Phase (1) korreliert zeitlich mit starken Aktivierungen in den granulären Schichten. Phase (2) und (3) korrelieren mit Aktivierungen der extragranulären Schichten. Durch die corticale Deaktivierung können diese Phasen erstmals bestimmten Generatoren der intracorticalen Mikroarchitektur zugeordnet werden. Muscimol blockiert die Phasen (2) und (3) gänzlich und reduziert die Amplitude der Phase (1) um das etwa 10-fache (0.14 mV/mm^2). Diese Reduktion, sowie eine zeitliche Verkürzung der Peak-Latenz der Phase (1) spiegeln dabei die effektive Rekrutierung rekurrenter exzitatorischer Mikroschaltkreise zwischen den Schichten IV und III/II durch afferente Eingänge vor der Deaktivierung wider. Eine Separierung der Phase (1) und (2) wurde allerdings nur nach BF-Stimulation festgestellt, so dass diese erste Phase als Anzeichen starker lokaler intrakolumnärer Rekurrenz angesehen werden kann. Dies wird im weiteren Verlauf noch von Wichtigkeit sein.

3.1.6 Weitreichende intracorticale Projektionen und ihr spektraler Beitrag

Um die Beiträge der oben beschriebenen weitreichenden intracorticalen Projektionen zur Repräsentation der spektralen Stimulus-Energie an einem bestimmten corticalen Bereich genauer zu bestimmen, wurden die mittleren spektralen Bandbreiten

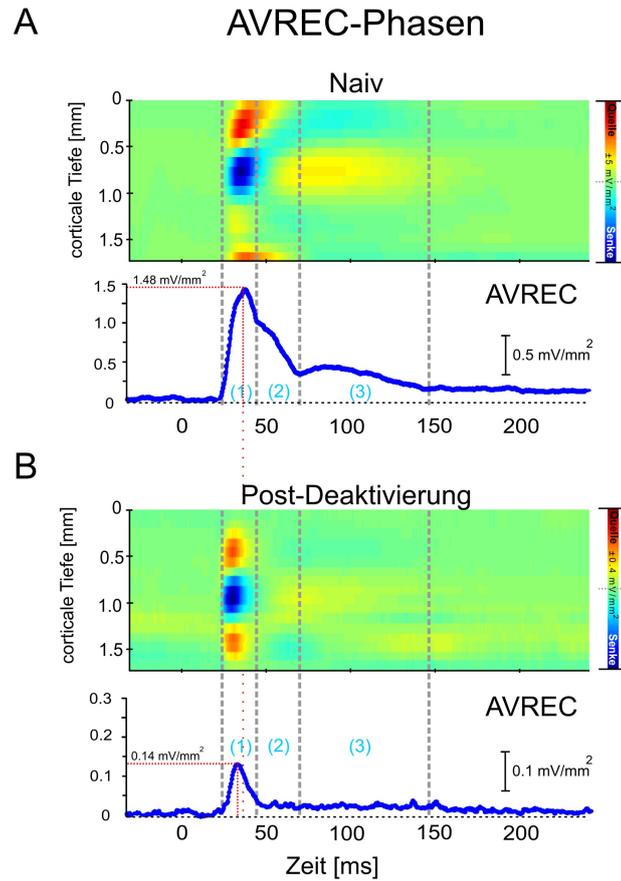


Abbildung 3.7: Generatoren verschiedener zeitlicher AVREC-Komponenten. A. Repräsentatives Beispiel einer triphasischen AVREC-Wellenform und zugehörigem CSD-Profil nach Stimulation mit der BF. Die Phase (1) kann der starken granulären Aktivierung zugeordnet werden. Phasen (2) und (3) spiegeln extragranuläre Aktivierungen wider B. Nach der Deaktivierung blieb einzig die erste Phase (1) bestehen, jedoch deutlich reduziert. Die tatsächliche Separierung der überlagerten Phasen (1) und (2) war nur nach BF-Stimulation zu sehen und reflektiert die starken intrakolumnären rekurrenten Exzitierungen.

corticaler Antworten in AI in Oktaven (\pm SEM) von verschiedenen Parametern verglichen (bei akustischer Stimulation mit 20 dB SPL über dem 2-SD-Schwellenwert; siehe Methoden). Im naiven Cortex zeigten sich vergleichbare Antwortbandbreiten der granulären S1 (6.38 ± 0.92 Oktaven), sowie der AVREC (6.66 ± 1.08 Oktaven) und der relativen Residuen der CSD (6.79 ± 1.25 Oktaven; Abbildung 3.8; $p > 0.05$). Die unbeeinflussten mittleren Antwortbandbreiten ($n=13$) wurden verglichen mit Bandbreiten nach Muscimol-Applikation (BW_M , $n=10$) und Muscimol+SCH50911-Applikation (BW_C , $n=3$). Beide Deaktivierungsmethoden verursachten eine gleich starke Verringerung der Bandbreiten (in Oktaven) der S1 (BW_M : 3.29 ± 1.49 , BW_C :

3.16 ± 0.98 , $p=0.64$) und der AVREC ($BW_M: 2.88 \pm 0.52$, $BW_C: 3.25 \pm 0.88$, $p=0.48$). Dieses Ergebnis zeigt, dass weitreichende intracorticale Projektionen tatsächlich Spektralinformationen im auditorischen Cortex über weite Bereiche distribuieren und so die mittlere Antwortbandbreite zumindest im unter-schweligen Bereich vergrößern (Kadia & Wang, 2003; Metherate et al., 2005; Möller et al., 2010). Da keine Unterschiede der beiden Deaktivierungsansätze gefunden wurden, kann ausgeschlossen werden, dass die $GABA_B$ -vermittelte Inhibition drastische Einflüsse auf die Abstimmbandbreiten im primären auditorischen Cortex hat.

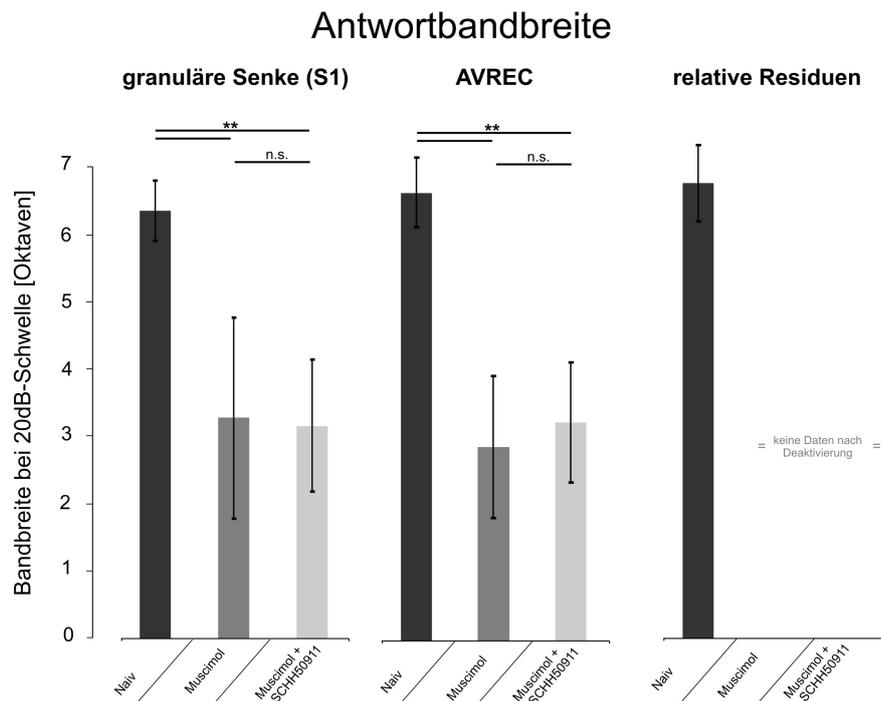


Abbildung 3.8: Reduzierte Antwortbandbreite nach corticaler Deaktivierung. Die mittlere Antwortbandbreite in Oktaven (\pm SEM) bei Stimulation mit 20 dB SPL über der 2-SD-Schwelle zeigte im naiven Cortex vergleichbare Werte der granulären S1, der AVREC, sowie der relativen Residuen der CSD. Nach corticaler Deaktivierung waren die Bandbreiten der S1 und der AVREC signifikant verringert, jedoch ohne Unterschied zwischen den beiden verschiedenen pharmakologischen Ansätzen (n.s.; Muscimol oder Muscimol+SCH50911). ** $p < 0.01$.

3.2 Histochemische und metabolische Verfahren

3.2.1 Histochemie und Histologie

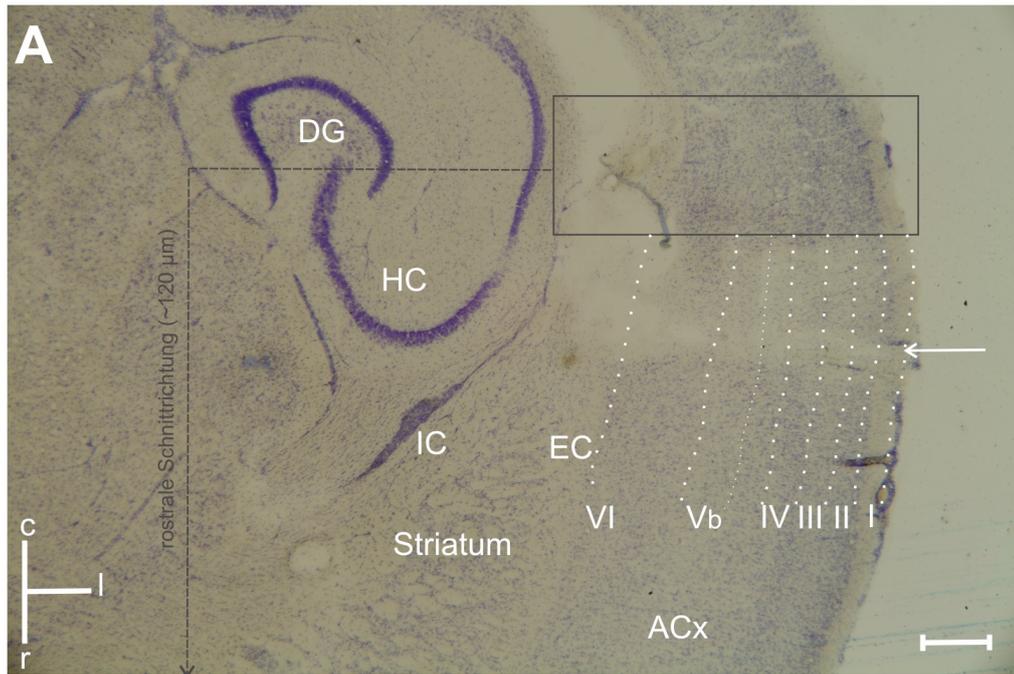
Die dargestellten Befunde des ersten Teils wurden auf dem Hintergrund der schichtspezifischen corticalen Schaltkreise diskutiert. Hierzu müssen die CSD-Profile der histologisch bestimmbaren corticalen Schichtung zugeordnet werden. Anhand der histochemischen Analyse von Kresylviolett-Färbungen (siehe Abschnitt 2.5 und Anhang A.2) wurden die corticalen Schichten auf der Basis vorheriger anatomischer Arbeiten bestimmt (Abbildung 3.9A; Budinger et al., 2000b). Bei 5 Tieren wurde eine detaillierte Analyse der Schichtdicken entsprechend dieser histologischen Aufarbeitung durchgeführt (siehe Tabelle 3.2). Die mittleren Schichtdicken wurden in Abbildung 3.4 zur Einteilung der corticalen Schichtung genutzt. Es zeigte sich anhand der reduzierten Zelldichte weiterhin, dass die Multikanal-Schaftelektrode orthogonal zur corticalen Oberfläche inseriert wurde (Abbildung 3.9A).

Des Weiteren wurden anhand dieser Daten auch die Schichttiefen der elektrischen Stimulation für den folgenden zweiten Teil ausgewählt, um eine möglichst schichtspezifische Aktivierung im Cortex zu erlauben. So wurden, wie in Abschnitt 2.2.2 dargestellt, die Stimulationstiefen gewählt mit 100 μm (Schicht I/II), 600 μm (Schicht III/IV) und 1200 μm (Schicht V/VI). Nach den Experimenten mit elektrischer Stimulation wurden monophasische, anodische Strompulse (5 μA) für 25 Sekunden appliziert, um in der späteren histologischen Analyse die Lokalisation der Elektroden anhand der Eisenabscheidung über eine Berliner Blau-Reaktion nachzuweisen (siehe Abbildung 3.9B).

3.2.2 Autometallographische Analyse der corticalen Deaktivierung

In Kollaboration mit der Gruppe „Funktionelle Neuroanatomie“ des Leibniz-Institutes konnten wir gemeinsam mit Dr. Jürgen Goldschmidt in einer separaten Studie einen Nachweis auf zellulär-metabolischer Ebene erbringen, dass die pharmakologische De-

Insertion der Multikanal-Schaftelektrode



Crosslaminare Positionierung der Stimulations-Elektroden

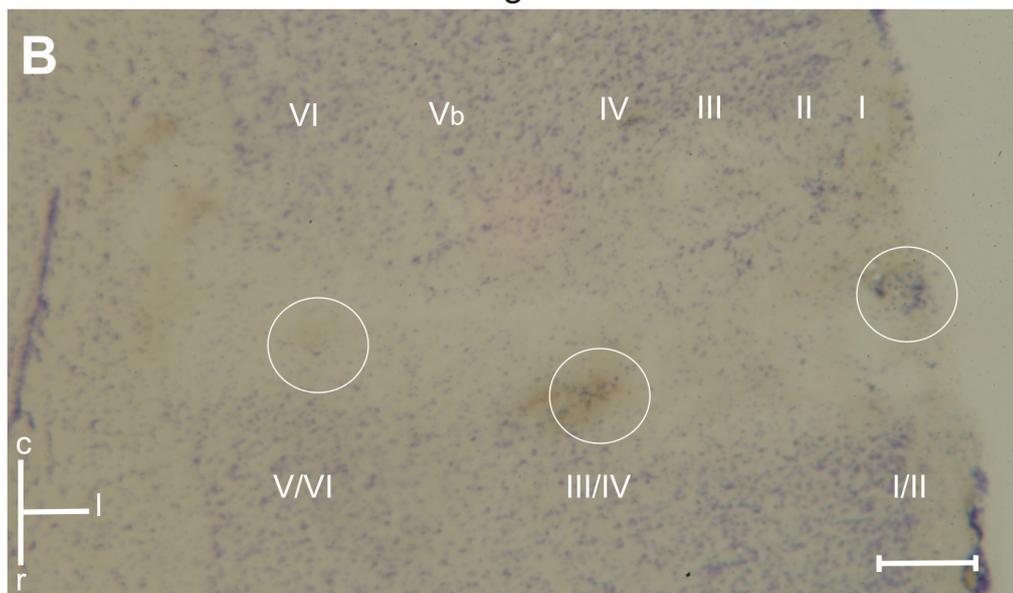


Abbildung 3.9: Histochemische Analyse der Positionierung der implantierten Ableit- und Stimulations-Elektroden. A. Beispiel der histochemischen Analyse einer Kresylviolett-Färbung anhand welcher die gemessenen CSD-Profile den corticalen Schichten zugeordnet wurden. Die Insertion der Multikanal-Ableitelektrode (weißer Pfeil) kann anhand der reduzierten Zelldichte (verminderte Nissl-Färbung) begutachtet werden. Entsprechende Schichtdicken wurden anhand des Nissl-Bildes nach anatomischen Kriterien (Budinger et al., 2000a) bestimmt. Skalierungsbalken entspricht 400 μm . B. Detaillierte Aufsicht auf den in A. gekennzeichneten Ausschnitt in etwa 120 μm rostraler Distanz (Schnittdicke etwa 40 μm) mit Markierung der inserierten Stimulationskanäle. Anhand der Eisenabscheidung konnten diese durch die Berliner-Blau-Färbung den jeweiligen Schichttiefen zugeordnet werden. Skalierungsbalken entspricht 200 μm . ACx - auditorischer Cortex, HC - Hippocampus, DG - Gyrus Dentatus des HC, EC - Capsula Externa. IC - Capsula Interna. I-VI - Corticale Schichten. Weitere Erläuterungen siehe Text.

Relative Schichtdicken im Cortex (AI) - [μm]								
Tier	Cortex	LI	LII	LIII	LIV	LV	LVI	S1
1	1697	144	154	156	388	612	243	375
2	1560	69	106	107	151	547	622	195
3	1618	127	227	289	166	300	488	180
4	1714	135	246	381	168	244	531	180
5	1593	91	127	161	209	485	520	160
MW	1636 \pm 30	113 \pm 14	172 \pm 28	219 \pm 51	216 \pm 44	438 \pm 71	481 \pm 64	238 \pm 37

Tabelle 3.2: Die histologische Analyse der corticalen Schichtdicken in fünf Tieren zeigte trotz inter-individueller Unterschiede ähnliche Bezüge der relativen Schichtdicken zueinander. Dabei konnte die laminare Ausdehnung der robusten Senke S1 nach Deaktivierung korreliert werden mit der Dicke der granulären Schicht IV (Einseitiger Rang-Korrelations-Koeffizient nach Pearson zwischen Schicht IV-Dicke und S1-Ausdehnung (Post-Deaktivierung): $R = 0.972$). Entsprechend der Ausdehnung thalamocorticaler Projektionen über Schicht IV hinaus (zum Teil bis in IIIb oder Va; Hackett, 2010), ist die mittlere Ausdehnung der S1 etwas größer, als die mittlere Schichtdicke IV. Schichtrelationen in Abbildung 3.4 entsprechen den hier dargestellten gemittelten Populationsdaten.

aktivierung tatsächlich über alle Schichten hinweg die Stimulus-evozierte Aktivität der Neurone blockiert, ohne sich auf die subcorticalen Bereiche auszuwirken. Diese Resultate sind bereits publiziert, so dass für methodische Details der Studie und der Methode darauf verwiesen werden kann (Goldschmidt et al., 2010). Grundlegernd basiert die Thallium-Autometallographie auf der gesteigerten intrazellulären Aufnahme des Kations K^+ bei gesteigerter neuronaler Aktivität. Durch die Zugabe des metallographisch nachweisbaren Schwermetall-Ions Thallium (Tl^+) kann dieses, als K^+ -Analogon ebenfalls aufgenommene Ion, als Nachweis für neuronale Aktivität dienen. In vier weiteren Tieren wurde die experimentelle Prozedur der unilateralen corticalen Deaktivierung (mit 20 μl Muscimol; 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) wiederholt und nach etwa 60-90 Minuten Einwirkzeit das Thallium-Ion, in Form eines lipophilen Chelat-Komplexes (TIDDC), über einen Jugularisvenen-Katheter während der Präsentation von Reinton-Frequenzen appliziert (350-425 μl 0.05% TIDDC in 0.9% NaCl).

Abbildung 3.10A zeigt den Vergleich der ipsilateralen (links) und kontralateralen (rechts) Seite nach Applikation des Pharmakons. Unterschiedliche Effekte fanden sich auf kolumnärer, wie zellulärer Ebene. Auf der unbeeinflussten kontralateralen Seite fanden sich aktivierte Neuronen über alle Schichten hinweg. Prominenteste Färbungen lagen in den tiefen Schichten (V/VI) und in den Eingangsschichten III/IV. Ipsilateral hingegen fanden sich keine kolumnären Aktivierungen, sondern

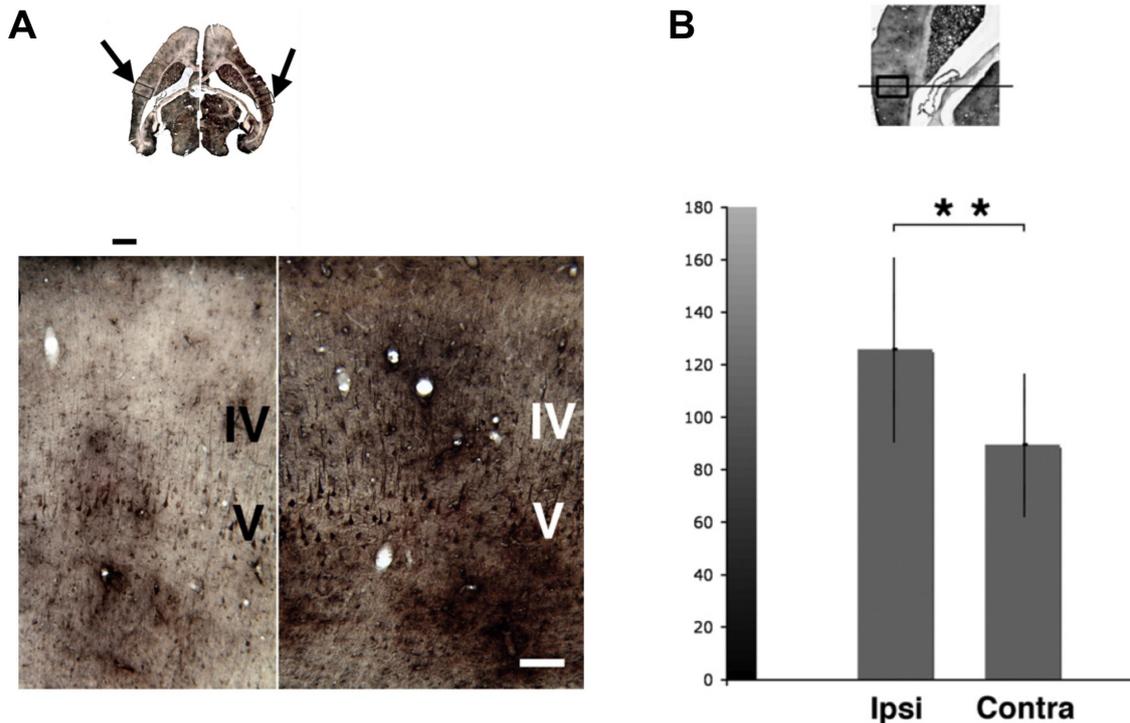


Abbildung 3.10: Statistische Auswertung der corticalen Deaktivierung anhand von reduzierter Thallium-Aufnahme. A. Der Vergleich der Thallium-Aufnahme in der ipsilateralen (links) und kontralateralen (rechts) Seite des primären auditorischen Cortex nach corticaler Deaktivierung zeigte eine drastische Reduzierung der kolumnären und zellulären Aktivität nach Muscimol-Behandlung. B. Die statistische Analyse der Grauwerte (\pm SEM) bestimmter „ROI's“ ($100 \times 500 \mu\text{m}$ orthogonal ausgerichtet zu den corticalen Schichten, s. Einschub oben) zeigte die signifikanten Unterschiede der beiden Seiten ($p < 0.01$). Kontralateral waren die Grauwerte signifikant kleiner, was mit einer höheren Thalliumaufnahme korrespondiert. Abbildung aus Goldschmidt et al. (2010).

nur eine stark reduzierte Aktivität der Pyramidalneurone in den afferenten Eingangsschichten IV, und etwas geringer in V (Goldschmidt et al., 2010). Eine quantitative Analyse der mittleren Grauwerte der ipsi- und kontralateralen Seite aus korrespondierenden Abschnitten (*Regions of interest*, „ROI“) zeigte, dass die Inaktivierung durch Muscimol hoch signifikant war ($p < 0.01$; Abbildung 3.10B). Dieser Befund ist damit in direktem Einklang mit den zuvor gezeigten elektrophysiologischen Befunden der CSD-Analyse.

3.3 Corticale Netzwerkaktivierungen nach intracorticaler Mikrostimulation

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, dass auf corticaler Ebene komplexe raumzeitliche Interaktionen thalamocorticaler und horizontaler intracorticaler Eingänge das laminare Erregungsmuster im auditorischen Cortex bestimmen. Dabei haben die lokalen und weitreichenden intracorticalen Projektionssysteme unterschiedliche Funktionen bei der Repräsentation der Stimuluseigenschaften. Nun soll die Elektrostimulation corticalen Gewebes als Werkzeug für die Korrelation von Perzeption und neuronaler Aktivität genutzt werden, um mögliche unterschiedliche Beiträge verschiedener Subsysteme zur Generierung bedeutungsrelevanter corticaler Aktivierungsmuster zu detektieren. Dabei soll in diesem zweiten Teil zunächst evaluiert werden, ob sich die verschiedenen Projektionssysteme durch schichtspezifische intracorticale Mikrostimulation (ICMS) der Eingangs- oder Ausgangs-Schichten des Cortex separiert voneinander anregen lassen (Abbildung 3.11A). Methodisch soll dies durch die gleichen experimentellen Ansätze der CSD-Analyse in Kombination mit pharmakologischer Deaktivierung geschehen (Abbildung 3.11B). Dazu wurden die laminaren CSD-Profile in AI nach elektrischer Stimulation mit Einzelpulsen ($80 \mu\text{A}$, kathodisch-anodisch, siehe Methoden) in verschiedenen Schichten und verschiedenen Distanzen gemessen ($n=12$). Die vertikalen Stimulations-Arrays erlaubten die Stimulation der Schichten I/II ($100 \mu\text{m}$ Tiefe, $\text{ICMS}_{I/II}$), III/IV ($600 \mu\text{m}$ Tiefe, $\text{ICMS}_{III/IV}$) und V/VI ($1200 \mu\text{m}$ Tiefe, $\text{ICMS}_{V/VI}$), welche in $300 \mu\text{m}$ Entfernung (proximale Stimulation) oder in $1200 \mu\text{m}$ (distale Stimulation) zur Ableitachse implantiert wurden. Mit Hilfe der lateralen Stimulations-Arrays wurden die tieferen Schichten ($\text{ICMS}_{V/VI}$) in variierten Abständen von $300 \mu\text{m}$ bis $1500 \mu\text{m}$ stimuliert. Die so entwickelten Stimulationsprotokolle wurden schließlich im dritten Teil als konditionierte Stimuli in einem Detektionskontext genutzt (Abbildung 3.11C).

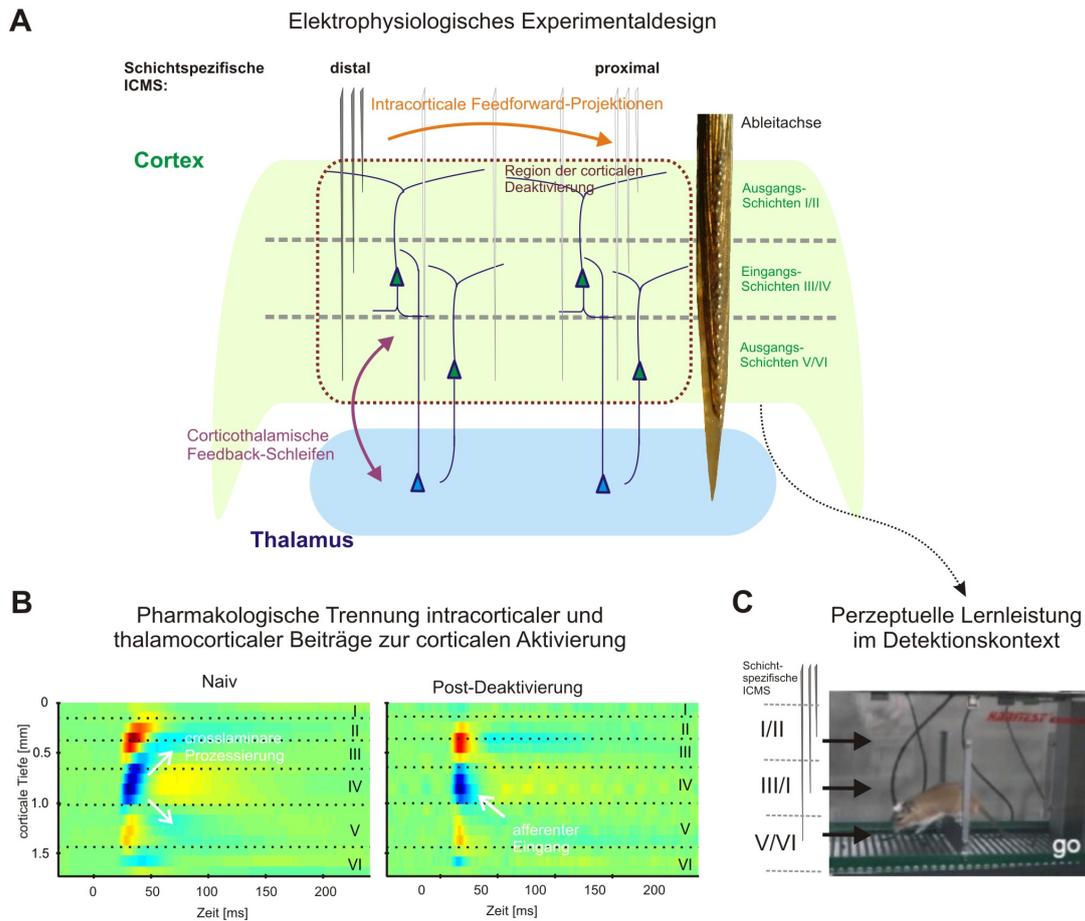


Abbildung 3.11: Schematische Übersicht des Experimentaldesigns. A. Laminare CSD-Ableitungen zur Charakterisierung elektrisch evozierter Antworten lokaler und weitreichender Projektionssysteme im Cortex nach schichtspezifischer Mikrostimulation an verschiedenen Bereichen. B. Durch die corticale Deaktivierung sollen rekurrente Erregungen subcorticaler Eingangssysteme von Erregungen intracorticaler Generatoren getrennt werden. C. Durch Nutzen der entwickelten Stimulationsprotokolle in einem Detektionskontext soll die perzeptuelle Relevanz der unterschiedlichen Subsysteme evaluiert werden.

3.3.1 Lokale Netzwerkaktivierung nach schichtspezifischer Stimulation

Zunächst wurden die elektrisch evozierten Antworten nach lokaler, also proximaler Stimulation ($300 \mu\text{m}$) in allen drei corticalen Tiefen charakterisiert ($n=4$). Die laminaren CSD-Profile nach granulärer (ICMS_{III/IV}) und infragranulärer (ICMS_{V/VI}) Stimulation zeigten ein sehr ähnliches raumzeitliches Erregungsmuster mit einer prominenten initialen Senke in den granulären Schichten (G) unmittelbar gefolgt von

extragranulären Senken in supragranulären (SG) und infragranulären (IG) Schichten (Abbildung 3.12, links). Die elektrisch evozierten CSD-Profile ähnelten damit stark dem laminaren *Feedforward*-Profil nach akustischer Stimulation mit Reintönen (Abschnitt 3.1). Wie im ersten Teil gezeigt, können diese Muster jedoch nicht nur durch subcorticale Eingänge evoziert, sondern auch durch rein intracorticale laterale Projektionen hervorgerufen werden. Nach Stimulation der oberen Schichten (ICMS_{I/II}) wurden nur schwache Senken in den oberen und mittleren Schichten gemessen, ohne dass nachfolgende crosslaminare kolumnäre Prozesse aktiviert wurden. Um zu betonen, dass die elektrisch evozierten Muster demnach nicht zwangsläufig den gleichen neuronalen Generatoren unterliegen müssen, wurden die zuvor gewählten Termini S1-S3 für die Senken-Komponenten hier bewusst vermieden.

Ein Vergleich der elektrisch evozierten mittleren Peak-Amplituden (\pm SEM) zeigte, dass die Stimulation in den tiefen Schichten die stärksten Aktivierungen in den granulären und infragranulären Schichten evozierte. Nach supragranulärer Stimulation waren die evozierten Amplituden über alle Schichten hinweg am kleinsten. Entsprechend wurden die supragranulären Schichten am effektivsten durch Stimulation der granulären Schichten aktiviert (siehe Abbildung 3.14A, links; **SG**: ICMS_{I/II}: 0.22 ± 0.02 mV; ICMS_{III/IV}: 1.38 ± 0.08 mV; ICMS_{V/VI}: 0.67 ± 0.11 mV; **G**: ICMS_{I/II}: 0.65 ± 0.04 mV; ICMS_{III/IV}: 1.63 ± 0.12 mV; ICMS_{V/VI}: 2.66 ± 0.49 mV; **IG**: ICMS_{I/II}: 0.08 ± 0.01 mV; ICMS_{III/IV}: 1.61 ± 0.08 mV; ICMS_{V/VI}: 2.41 ± 0.18 mV) Eine rmANOVA der Peak-Amplituden (Huynh-Feldt-korrigiert; $\alpha=0.5$) zeigte entsprechend signifikante Haupteffekte der Faktoren „Schicht“ ($F_{2,8.19} = 73.09$; $p < 0.001$), „Stimulationstiefe“ ($F_{1,41,9.89} = 48.15$; $p < 0.001$), und eine signifikante Interaktion beider Faktoren ($F_{2,46,17.26} = 713.35$; $p < 0.001$). Der dritte Faktor „Deaktivierung“ wird weiter unten berücksichtigt. Vergleicht man die mittleren Onset-Latenzen, so zeigt sich, dass nach granulärer und infragranulärer Stimulation die granuläre Senke immer die kürzeste Onset-Latenz aufwies (ICMS_{III/IV}: 2.5 ± 0.5 ms; ICMS_{V/VI}: 5.5 ± 1.1 ms, Abbildung 3.14A, rechts). Folgende extragranuläre Aktivierungen in oberen und unteren Schichten zeigten in etwa gleiche Latenzen. Entsprechend ergab eine multi-faktorielle rmANOVA der Onset-Latenzen signifi-

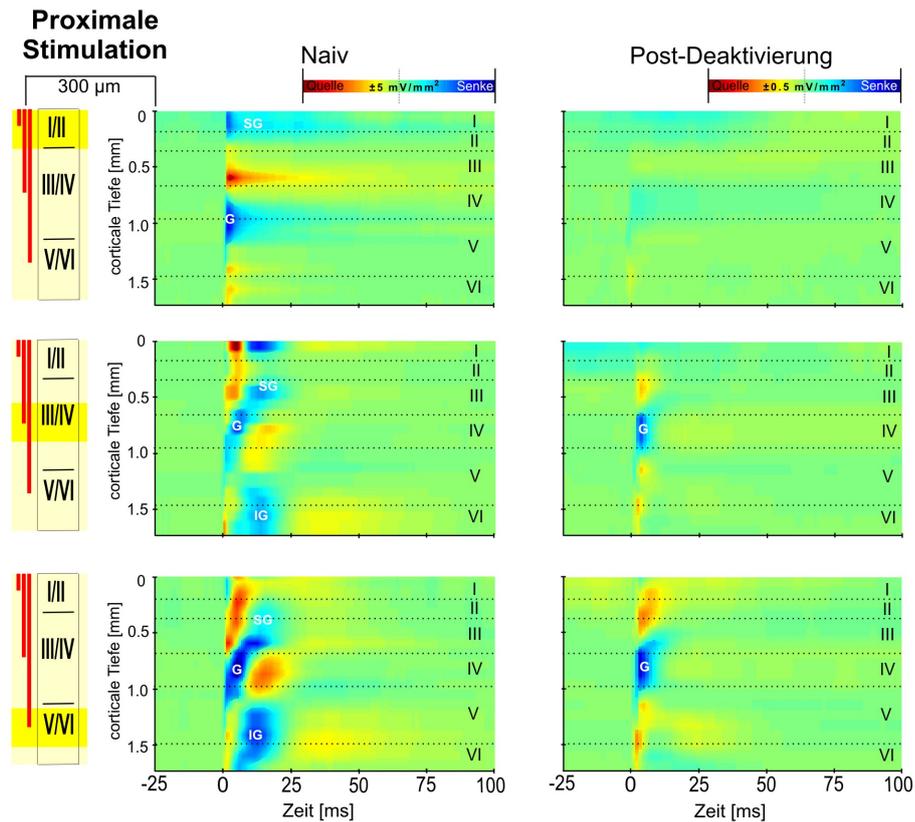


Abbildung 3.12: Trennung intracorticaler polysynaptischer und monosynaptischer Eingänge nach proximaler ICMS. Links; Proximale Stimulation ($300\ \mu\text{m}$ Entfernung zur Ableitachse) evozierte ähnliche laminare *Feedforward*-Muster nach granulärer und infragranulärer Stimulation. Hier folgten der initialen granulären Senke (G) extragranuläre Senken in den oberen (SG) und unteren (IG) Schichten. Stimulation der oberen Schichten evozierte monophasische Erregungen weitgehend der oberen und granulären Schichten ohne crosslaminare, kolumnäre Interaktionen zu evozieren. Rechts; Robuste Aktivierungen nach corticaler Deaktivierung fanden sich ausschließlich in thalamocortical-rezipienten Eingangsschichten (vor allem IV) nach granulärer und infragranulärer Stimulation. Aktivierungen waren auf etwa 20% der naiven Amplituden reduziert (siehe Skalierungsbalken). Das monophasische CSD-Profil nach supragranulärer Stimulation war gänzlich blockiert und demnach nicht auf ein Stimulationsartefakt zurückzuführen.

kante Effekte des Hauptfaktors „Schicht-(Aktivierung)“ (SG, G, IG; $F_{1,67,11.70} = 58.91$; $p < 0.001$), jedoch keine signifikanten Effekte der „Stimulationstiefe“ ($\text{ICMS}_{I/II} - \text{ICMS}_{V/VI}$; $F_{1,82,12.76} = 0.72$; $p = 0.495$). Interaktionen beider Faktoren waren ebenfalls nicht signifikant ($F_{2,74,19,20} = 1.55$; $p = 0.235$). Insgesamt wiesen die elektrisch evozierten CSD-Profile damit höhere mittlere Amplituden, sowie eine deutlich schnellere laminare Kaskade der Senken-Komponenten auf, als nach akustischer Stimulation (vergleiche Abbildung 3.14 und 3.3). Beides ist auf die hoch synchrone Aktivierung der beteiligten Synapsenpopulationen zurückzuführen.

Durch elektrische Felder lassen sich vornehmlich axonale neuronale Elemente anregen (Nowak & Bullier, 1998; Butovas & Schwarz, 2003; Histed et al., 2009). Die initialen granulären postsynaptischen Effekte der Stimulation können entsprechend von der Aktivierung intracorticaler synaptischer Populationen stammen, oder durch Erregung exzitatorischer rekurrenter *Feedback*-Kreisläufe subcorticalen Ursprungs sein (Tehovnik et al., 2005b). Um die Beiträge intracorticaler Aktivierungen nach ICMS von möglichen Eingängen aus subcorticalen Kerngebieten zu separieren, wurde ebenfalls der zuvor verwendete corticale Deaktivierungsansatz angewandt. Auch hier konnten keine Unterschiede zwischen der Applikation von Muscimol oder Muscimol+SCH50911 festgestellt werden, so dass Einflüsse der GABA_B-vermittelten Inhibition auf die direkt Stimulus-evozierten, frühen Antworten nach ICMS mit den hier gewählten Stimulationsparametern weitgehend ausgeschlossen werden können. In allen Fällen wurde die kolumnäre Aktivierung über die Schichten hinweg blockiert. Bestehen blieb lediglich ein robustes Senke-Quelle-Senke-Triplett nach granulärer und infragranulärer Stimulation, dessen Senke ihre maximale Peak-Amplitude in der granulären Schicht IV hatte (Abbildung 3.12A, rechts). Räumlich überlagerte sich die Senke stark mit der granulären Senke G vor der Deaktivierung, sowie mit der robusten Senke nach akustischer Stimulation (Abschnitt 3.1.1). Die evozierten mittleren Peak-Amplituden der Senke G waren dabei nach der Deaktivierung signifikant reduziert (ICMS_{III/IV}: 0.69 ± 0.15 mV; ICMS_{V/VI}: 0.85 ± 0.13 mV; Abbildung 3.14A, links). Der zusätzliche Faktor „Deaktivierung“ in der multi-faktoriellen rmANOVA zeigte entsprechend auch signifikante Haupteffekte ($F_{1,7} = 198.10$; $p < 0.001$), sowie signifikante Interaktionen mit den Faktoren „Schicht“ ($F_{1,7} = 26.32$; $p < 0.001$) und „Stimulationstiefe“ ($F_{1,28,8.94} = 8.44$; $p = 0.014$). Die Interaktion aller drei Faktoren war ebenfalls signifikant ($F_{2,1.20} = 73.092$; $p = 0.009$). Um zusätzlich zu überprüfen, dass ausschließlich die granulären Schichten synaptische Eingänge nach der Deaktivierung erhalten, wurden die mittleren Peak-Amplituden aller Schichten nach Deaktivierung separat miteinander verglichen. Eine post-hoc durchgeführte zweifaktorielle rmANOVA zeigte hoch signifikante Werte (Bonferroni-korrigiertes Signifikanzniveau: $\alpha^* = \alpha/n_{Test} = 0.017$, $n_{test} = 3$) für die beiden Hauptfaktoren „Schicht

($F_{1,07,7.47} = 92.8$; $p < 0.001$) und „Stimulationstiefe“ ($F_{1.5,10.59} = 32.98$; $p < 0.001$), so wie für deren Interaktion ($F_{2.13,14.91} = 16.96$; $p < 0.001$). Weiterhin verlängerte sich die mittlere Onset-Latenz (\pm SEM) der robusten granulären Senke ausschließlich nach granulärer Stimulation (6.25 ± 1.55 ms, gepaarter t-Test: $p = 0.03$), allerdings nicht nach infragranulärer Stimulation (6.56 ± 1.39 ms, $p = 0.48$; Abbildung 3.12A, rechts).

Nach der pharmakologischen Blockade müssen die persistenten Eingänge in der granulären Eingangsschicht IV auf einer monosynaptischen Aktivierung beruhen. Zwar könnten prinzipiell monosynaptische Eingänge durch die Aktivierung intracorticaler Kollateralen evoziert werden, doch aufgrund der bekannten Leitungsgeschwindigkeiten intracorticaler Fasern (ca. 0.3-5mm/ms, Tsumoto & Suda, 1982; Luhmann et al., 1990) scheint dies unwahrscheinlich zu sein. Die granuläre Aktivierung zeigt eine mittlere Onset-Latenzen von >6 ms. Die Aktivierung rekurrenter exzitatorischer *Feedback*-Verbindungen aus subcorticalen Kerngebieten, angeregt durch facilitatorische corticofugale Projektionen, könnte hingegen genau solche Latenzbezüge erklären (Tsumoto & Suda, 1978; Sillito & Jones, 2002; Briggs & Usrey, 2007). Vergleicht man nun die laminare Lage der robusten elektzrisch evozierten Senke mit der granulären Senke nach akustischer Stimulation, so überlagern sich beide Senken in ihrer räumlichen Ausdehnung. Aus diesem Grund ist die Rekrutierung direkter thalamocorticaler Projektionen aus dem lemniskalen Thalamus (vMGB) nach Anregung corticothalamischer Fasern die plausibelste Erklärung für die robuste granuläre Aktivierung. Entsprechend werden die lokalen Mikroschaltkreise vor der Deaktivierung durch überlagerte Aktivierungen intracorticaler und afferenter synaptischer Populationen angeregt, welche die initiale Antwort in den granulären Schichten bestimmen. Nähere Erläuterungen dazu siehe Diskussion Abschnitt 4.2.1.

3.3.2 Weitreichende polysynaptische Aktivierungen nach schichtspezifischer Stimulation

Wie einige Studien gezeigt haben, können durch intracorticale Mikrostimulation lokal unspezifische exzitatorische und inhibitorische synaptische Prozesse angeregt werden (Chung & Ferster, 1998; Butovas & Schwarz, 2003). Prinzipiell könnten diese lokalen inhibitorischen Netzwerke, trotz starker dendritischer Aktivierungen der lokalen Schaltkreise, den gesamten *Feedforward*-Ausgang durch Blockade der Aktionspotentialgenerierung aller lokalen exzitatorischen Projektionsneurone (z.B. durch Hyperpolarisation oder sogenannte Kurzschluss-Inhibition („*shunting inhibition*“)) (Chung & Ferster, 1998; Logothetis et al., 2010). Zwar werden nachweislich auch weitreichende intracorticale Netzwerke nach ICMS angeregt (Butovas & Schwarz, 2003; Deliano et al., 2009), doch könnte dafür auch die zuvor nachgewiesene Rekrutierung rekurrenter corticothalamischer Schleifen eine alternative Erklärung liefern (Tehovnik et al., 2005b; Logothetis et al., 2010). Diese Form der transthalammischen *Feedforward*-Informationsweitergabe konnte bei der Verarbeitung sensorischer Informationen bereits nachgewiesen werden (Guillery & Sherman, 2002; Lee & Murray Sherman, 2010; Theyel et al., 2010). Um direkt zu überprüfen, ob sich durch ICMS intracorticale *Feedforward*-Anregungen über corticale Kolumnen hinweg anregen lassen oder ob die Aktivierung weitreichender intracorticaler Netzwerke auf der Rekrutierung weitreichender rekurrenter transthalammischer Schleifen beruht, wurde das vertikale Stimulations-Array im nächsten Schritt etwa 1200 μm distal von der Ableitachse positioniert (n=4). Damit befand sich die Ableitachse außerhalb des effektiven Stromflusses (Deliano et al., 2009), so dass Aktivierungen weitgehend auf transsynaptischen Prozessen beruhen sollten (Tehovnik et al., 2006). Stimulations- und Ableitachse wurden zudem in rostrocaudaler Orientierung zueinander in unterschiedlichen Bereichen des tonotopen Gradienten implantiert (Budinger et al., 2000b).

Im naiven Cortex evozierte ICMS an distalen corticalen Bereichen das kanonische Muster der crosslaminaren *Feedforward*-Verarbeitung nach Stimulation in allen Tie-

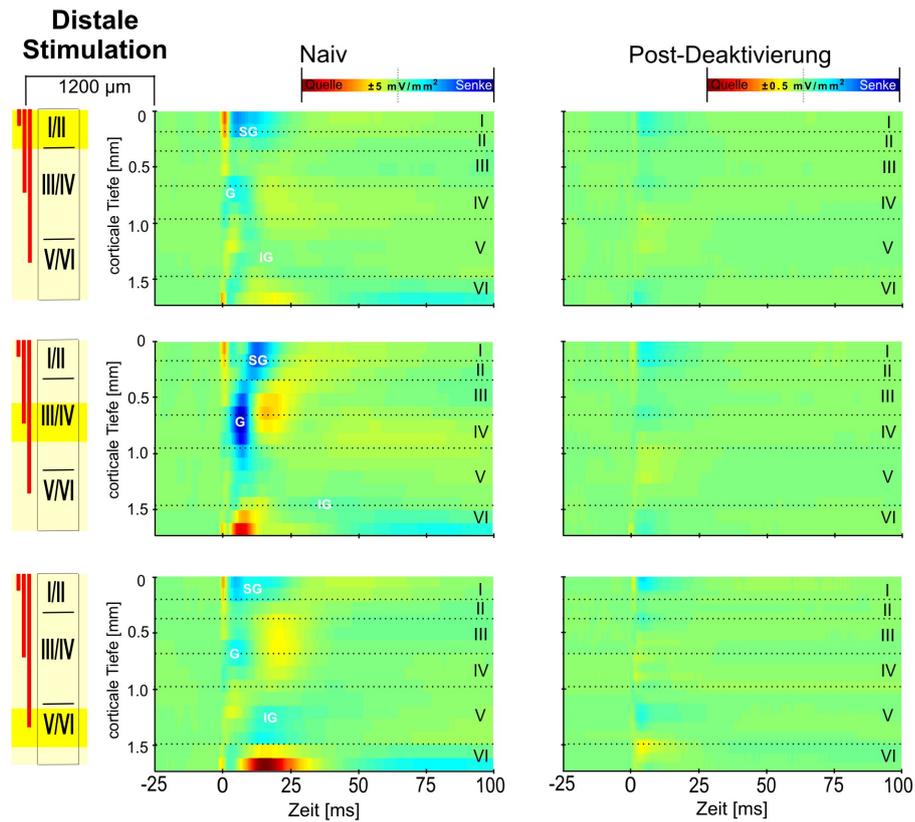


Abbildung 3.13: Rekrutierung weitreichender intracorticaler polysynaptischer Eingänge nach schichtspezifischer ICMS. Links; Distal zur Stimulationsachse ($1200\ \mu\text{m}$) aktivierte die Stimulation in allen drei Tiefen die corticalen Mikrokreisläufe nach dem kanonischen laminaren Muster. In Abhängigkeit der Stimulationstiefe ergaben sich allerdings erhebliche Unterschiede der Effektivität: die Stimulation der granulären Eingangsschichten evozierte die stärkste Aktivierung distaler, corticaler Kolumnen. Aktivierungen nach Stimulation der oberen und unteren Ausgangsschichten waren deutlich schwächer und gleichwertig. In allen Fällen wurde jedoch deutlich, dass die infragranulären Aktivierungen an distalen corticalen Bereichen deutlich schwächer ausfallen, als nach proximaler Stimulation. Rechts; Der komplette Verlust synaptischer Aktivität nach Deaktivierung zeigt, dass die distale corticale Aktivierung ausschließlich auf polysynaptischen intracorticalen Eingängen beruhte, welche am effektivsten durch Stimulation der Eingangsschichten angeregt wurden. Aufgrund der Ähnlichkeit der relativen Bezüge der CSD-Komponenten in allen drei Fällen ist zu vermuten, dass die Stimulation der oberen und unteren Schichten die gleichen Projektionssysteme rekrutierte, jedoch mit geringerer Effektivität, im Vergleich mit der Stimulation der Eingangsschichten.

fen (siehe Abbildung 3.13, links). Die Stimulation in den granulären Eingangsschichten evozierte dabei die höchsten mittleren Peak-Amplituden ($\pm\text{SEM}$) in allen Schichten, was die effektive Aufrechterhaltung der kolumnären Aktivierung über weite laterale Bereiche verdeutlicht (G: $1.73 \pm 0.07\ \text{mV}/\text{mm}^2$, SG: $1.30 \pm 0.08\ \text{mV}^2$, IG: $0.45 \pm 0.025\ \text{mV}^2$; Abbildung 3.14B, links). Dies steht im Gegensatz zu der zuvor beschriebenen effektiven Aktivierung corticalen Schaltkreise proximal zur Stimula-

tionsachse durch Stimulation der tiefen Schichten. Auch wenn die Aktivierung der distalen Netzwerke nach Stimulation in oberen und unteren Schichten schwächer war, so variierte die relative Aktivierung der Schichten nicht mit der Stimulationstiefe, wie nach proximaler Stimulation (ICMS_{V/VI}; SG: 0.70 ± 0.11 mV/mm² G: 0.78 ± 0.32 mV/mm²; IG: 0.45 ± 0.25 mV/mm²; ICMS_{I/II}; SG: 0.50 ± 0.14 mV/mm² G: 0.63 ± 0.05 mV/mm²; IG: 0.31 ± 0.19 mV/mm²). Entsprechend zeigte eine multi-faktorielle rmANOVA signifikante Haupteffekte der „Schicht“ ($F_{2,14} = 15.67$; $p < 0.001$), sowie der „Stimulationstiefe“ ($F_{2,14} = 53.91$; $p < 0.001$), aber keine signifikante Interaktion zwischen beiden ($F_{2.58,18.08} = 1.17$; $p = 0.35$).

Blockiert man die intracorticale Weiterleitung, so konnten keine robusten Aktivierungen der distalen corticalen Schaltkreise nachgewiesen werden (Abbildung 3.13, rechts). Diese Befunde verdeutlichen, dass die elektrisch evozierten corticalen Netzwerk-Aktivierungen in 1200 μ m Entfernung zum Stimulationsort im naiven Cortex ausschließlich durch polysynaptische intracorticale Projektionen hervorgerufen wurden, so dass sich intracorticale *Feedforward*-Ausgänge tatsächlich durch ICMS anregen lassen. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass sich in Abhängigkeit der Stimulationstiefe die Effektivität der Anregung deutliche Unterschiede ergeben (Abbildung 3.14B). Jedoch konnten, unabhängig von der Stimulationstiefe, keine zusätzlichen Beiträge weitreichender transthalamischer Eingänge über rekurrente *Feedback*-Schleifen detektiert werden, welche zur distalen Aktivierung beitragen. Dies verdeutlicht, dass durch Stimulation der corticalen Eingangsschichten polysynaptische, interkolumnäre Projektionen am effektivsten angeregt werden, welche auf den rekurrenten exzitatorischen Mikroschaltkreisen entfernter corticaler Bereiche terminieren (Ojima et al., 1991; Dantzker & Callaway, 2000), wie dies bereits bei der Stimulation mit akustischen Reizen weit außerhalb des afferenten spektralen Eingangs (Nicht-BF) gezeigt wurde. In Abbildung 3.14B sind zum quantitativen Vergleich die mittleren Peak-Amplituden (\pm SEM) aller Senken nach Deaktivierung (grau) für das gleiche Zeitfenster, wie vor der Applikation (blau) gezeigt. Die multi-faktorielle rmANOVA der Peak-Amplituden zeigte entsprechend signifikante Haupteffekte des Faktors „Deaktivierung“ ($F_{1,7} = 103.44$; $p < 0.001$), aber keine signifikante Interakti-

Vergleich laminarer Antworten

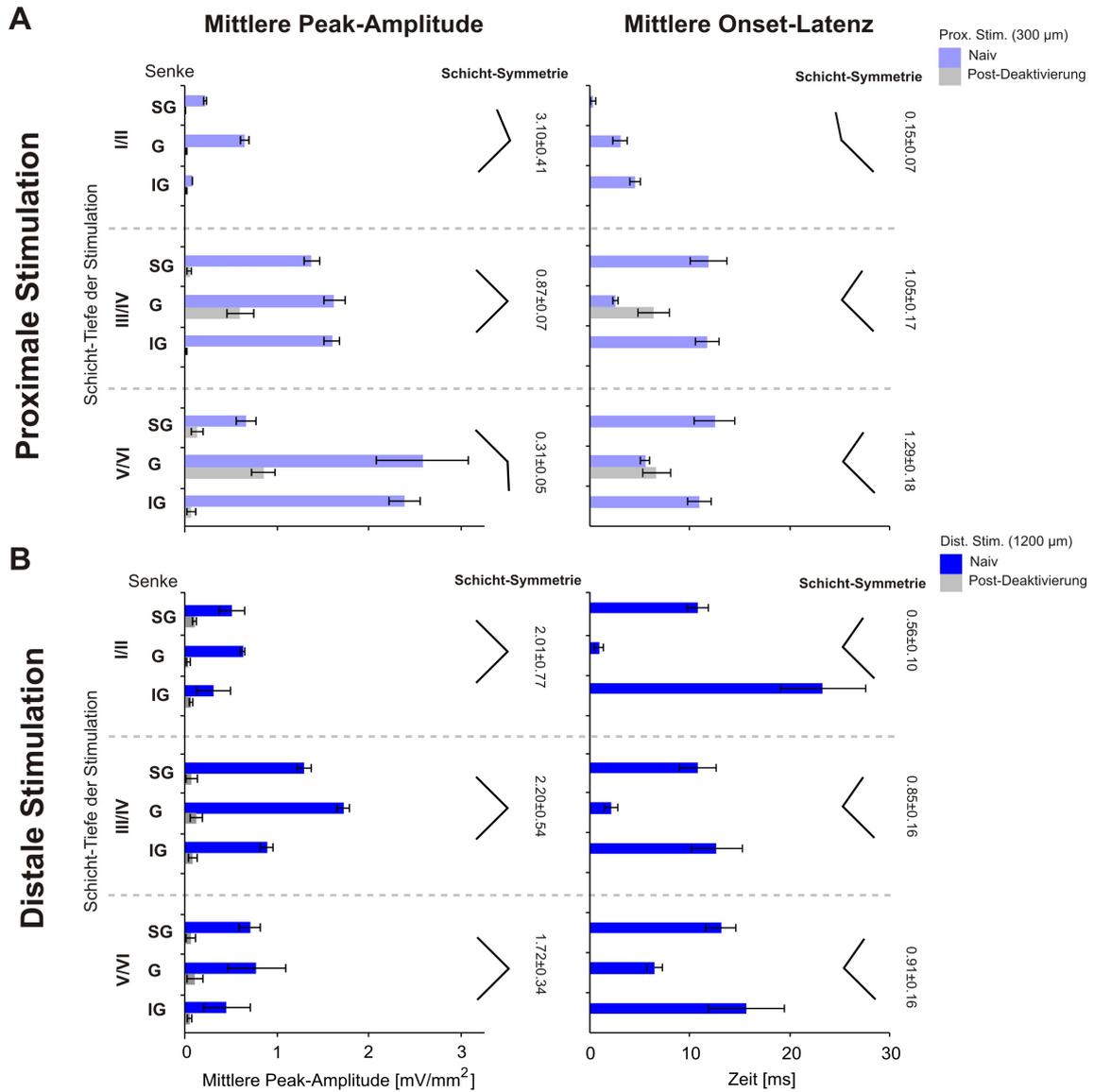


Abbildung 3.14: Quantitative Analyse laminarer Antworten nach proximaler oder distaler schichtspezifischer ICMS. Vergleich der mittleren Peak-Amplituden ($\pm\text{SEM}$) und mittleren Onset-Latenzen ($\pm\text{SEM}$) der supragranulären (SG), granulären (G) und infragranulären (IG) Senken vor und nach der corticalen Deaktivierung evoziert durch schichtspezifische proximale (A) und distale (B) ICMS. Jeweils rechts ist die Schicht-Symmetrie und der jeweilige Schicht-Symmetrie-Index (SSIdx) gezeigt, welcher später eingeführt wird (siehe Abschnitt 3.3.4.1). Für weitere Erläuterungen und statistische Tests siehe Text.

on mit den Faktoren „Schicht×Stimulationstiefe“ ($F_{2,52,17.62} = 2.725$; $p=0.083$). Eine post-hoc durchgeführte zwei-faktorielle rmANOVA der mittleren Peak-Amplituden nach Deaktivierung zeigte zudem, dass keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Schichten zu finden waren (Hauptfaktoren „Schicht“ $F_{1,76,12.34} = 0.87$; $p=0.43$; „Stimulationstiefe“: $F_{2,14} = 0.178$; $p=0.84$; Interaktion: $F_{3,2,22.46} = 0.53$; $p=0.68$).

3.3.3 Reichweite der corticothalamischen Aktivierung rekurrenter Feedback-Kreisläufe

Die beschriebene lokale rekurrente subcorticale Aktivierung nach Anregung der corticofugalen Ausgangs-Schichten V/VI (Abschnitt 3.3.1), basiert höchstwahrscheinlich auf thalamocorticalen Schaltkreisen und reflektiert die afferenten synaptischen Populationen in Schicht IV (Budinger et al., 2000b; Huang & Winer, 2000; Hackett, 2010). Entsprechend der Ergebnisse nach akustischer Stimulation (Abschnitt 3.1.6) und unter Berücksichtigung der topographischen bidirektionalen Organisation des auditorischen thalamocorticalen Systems (He et al., 1997, 2002; Zhang et al., 2004; Lee et al., 2004), sollten lokale, räumlich eingeschränkte rekurrente corticothalamische Aktivierungen erwartet werden.

Um dies zu testen, wurden in den folgenden Experimenten systematisch die Distanzen zwischen der Ableitung und der Stimulation in den tieferen Ausgangs-Schichten von proximalen ($300 \mu\text{m}$) bis zu distalen ($1500 \mu\text{m}$) Stimulationsorten in Schrittweiten von $300 \mu\text{m}$ entlang dem rostrocaudalen tonotopen Gradienten variiert ($n=4$). Abbildung 3.15A zeigt, dass proximale, wie distale corticale Kolumnen vor der Applikation effektiv aktiviert wurden (oben). Konsistent mit den zuvor beschriebenen Ergebnissen, hatte die corticale Deaktivierung unterschiedliche Effekte auf die Aktivierungen der proximalen und distalen Bereiche. Eine robuste Aktivierung der granulären Schichten konnte bis zu einem lateralen Abstand von $600 \mu\text{m}$ zwischen Stimulation und Ableitung detektiert werden. Erregungen in $900 \mu\text{m}$ Entfernung oder mehr wurden vollständig blockiert (keine Deflektionen über $\pm 0.005 \text{ mV/mm}^2$ von der Grundlinie; Abbildung 3.15A, unten). Um zu testen, ob dieser

Befund tatsächlich einen eingeschränkten effektiven transsynaptischen Erregungsradius reflektiert oder einer generellen Suppression der corticalen Schaltkreise zu Grunde liegt, wurden die normalisierten mittleren Peak-Amplituden der granulären CSD-Wellenformen als Funktion des Stimulationsabstandes verglichen (Abbildung 3.15B). Dazu wurden die Amplituden auf die jeweils höchste evozierte mittlere Amplitude vor, beziehungsweise nach Deaktivierung normalisiert. Die normalisierten Amplituden-Distanz-Funktionen überlagerten sich im Bereich 300-600 μm , zeigten für weitere Distanzen aber einen signifikant schnelleren Abfall nach Deaktivierung (zwei-faktorielle rmANOVA: signifikante Haupteffekte „Deaktivierung“: $F_{1,2} = 76.36$; $p=0.013$, „Distanz“: $F_{4,8} = 27.50$; $p<0.001$, aber keine signifikante Interaktion: $F_{1,96,3,92} = 0.49$; $p=0.642$). Demnach erweiterten die horizontalen Verbindungen den lateralen Aktivierungsradius nach Mikrostimulation, während rekurrente corticothalamische *Feedback*-Schleifen in einem lokalen Bereich bis 600 μm rekrutiert wurden. Innerhalb dieses lokalen Bereiches konnten keine signifikanten Änderungen der mittleren Onset-Latenzen nach $\text{ICMS}_{V/VI}$ festgestellt werden (Abbildung 3.15C); siehe auch Abschnitt 3.3.1).

Daraus lässt sich schlussfolgern, dass ICMS lokal intrakolumnäre Prozesse der Mikroarchitektur aktiviert, welche zusätzlich mit rekurrenten corticothalamischen Aktivierungen afferenter Eingangssysteme interagieren. Distal werden corticale Bereiche durch horizontale, also interkolumnäre Projektionen erregt. Im Folgenden soll die vergleichende Analyse des absoluten zeitlichen Gesamtstromfluss (AVREC) und der relativen laminaren Ausgeglichenheit der Ströme (relative Residuen), genutzt werden, um intrakolumnäre Prozesse, inklusive der Aktivierung afferenter Synapsenpopulationen, von den Beiträgen lateraler Projektionen der elektrisch evozierten Antworten voneinander zu separieren (siehe Abschnitt 3.1.5).

3.3.4 Trennung lokaler und weitreichender synaptischer Beiträge

Wie zuvor in Abschnitt 3.1.5 beschrieben, ist die AVREC nach physiologischer Stimulation charakterisiert durch mehrere Phasen (Schroeder et al., 1998). Erhält ein corticaler Bereich dabei direkten afferenten Eingang, so zeigt die AVREC eine frü-

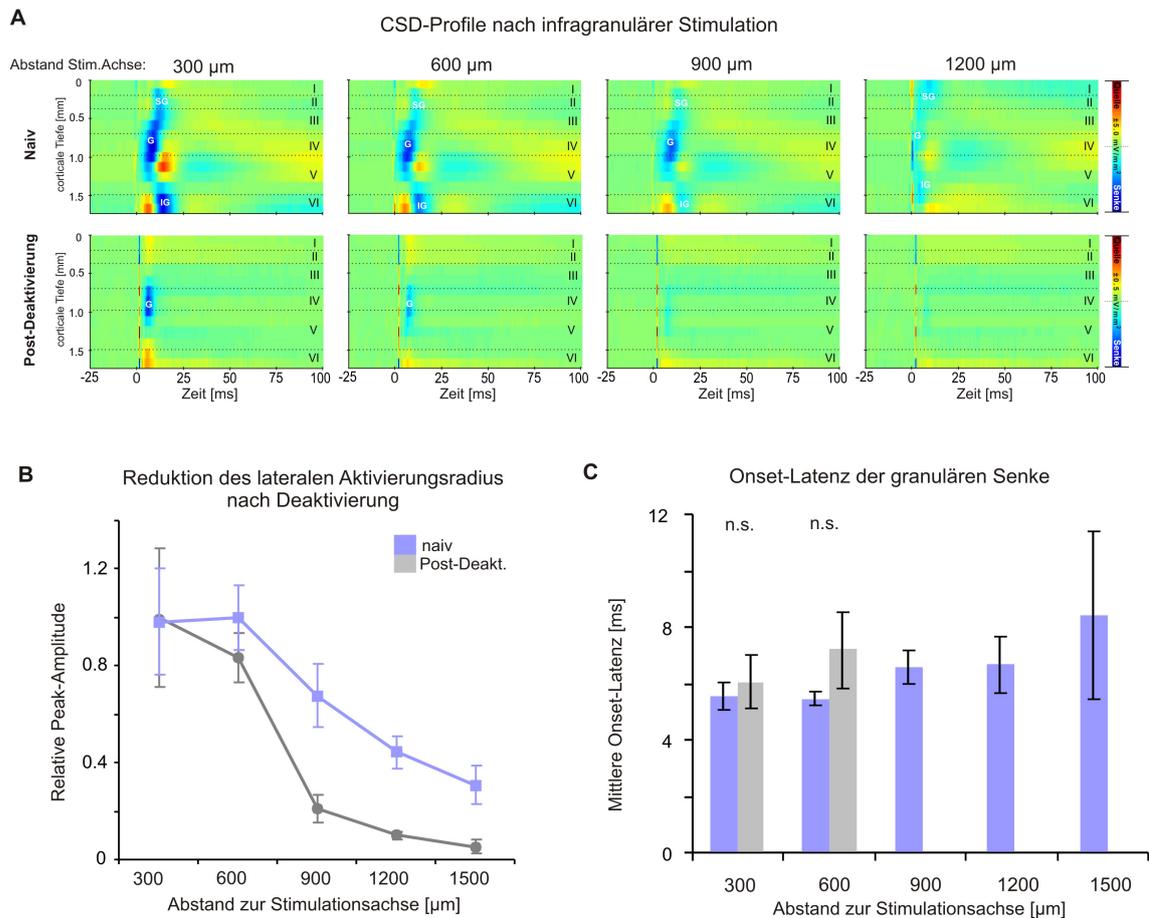


Abbildung 3.15: Rekrutierung lokaler rekurrenter corticofugaler Schaltkreise durch infragranuläre ICMS. A. Im naiven Cortex lassen sich durch ICMS_{V/VI} die corticalen Netzwerke effektiv über laterale Bereiche im Abstand von über 1200 μm anregen. Nach der Deaktivierung zeigen die CSD-Profile persistente Eingänge in den granulären Schichten im lokalen Umkreis von 600 μm . B. Ein Vergleich der normalisierten Amplituden zeigte einen reduzierten lateralen Aktivierungsradius nach der Deaktivierung. Entsprechend bestimmen intracorticale polysynaptische Prozesse die laterale Ausdehnung elektrisch evozierter Antworten im Cortex. C. Die Onset-Latenzen der granulären Senke veränderten sich nicht signifikant nach der corticalen Deaktivierung (n.s.).

he initiale Phase (1) und weitere folgende spätere Phasen (Phasen 2 und 3), welche entsprechend die intrakolumnären, beziehungsweise die interkolumnären Prozesse widerspiegeln (Abbildung 3.7). Evoziert die Stimulation weitgehend laterale intracorticale Eingänge (wie bei Nicht-BF-Stimulation), so zeigte die AVREC ausschließlich die späteren Phasen. Entsprechend der Hypothese zeigte die elektrisch evozierte AVREC nach proximaler Stimulation die frühe und die folgenden späteren Komponenten, die AVREC nach distaler Stimulation hingegen hauptsächlich die späteren Komponenten (Abbildung 3.16A, blaue Kurven). Die späteren Kom-

ponenten wurden durch die Deaktivierung blockiert und nur nach proximaler Stimulation (300-600 μm) blieb eine robuste initiale Phase (1) bestehen (graue Kurven). Abbildung 3.16B zeigt die pharmakologisch induzierte Reduktion der mittleren Integrale ($\pm\text{SEM}$) der AVREC-Wellenformen für die drei verschiedenen Phasen. Die Fensterung wurde entsprechend der Wellenform nach proximaler Stimulation wie folgt gewählt: 1-8 ms (Phase 1, 0-1 ms wurde zur Artefaktreduktion ausgelassen), 9-20 ms (Phase 2) und 21-50 ms (Phase 3, siehe Einschub in Abbildung 3.16B). Die mittleren Integrale ($\pm\text{SEM}$) der drei Phasen (unterschiedliche Blautöne) wurden durch die Deaktivierung alle signifikant reduziert (jeweils in grau rechts dargestellt). Dennoch ergaben sich nach der Deaktivierung signifikant höhere Integrale der Phase (1) bei proximaler Stimulation (300-600 μm) verglichen mit distaleren Abständen (900-1200 μm). Diese Befunde wurde getestet durch eine multi-faktorielle rmANOVA (Huynh-Feldt-korrigiert) mit signifikanten Haupteffekten „Distanz“ ($F_{4,8} = 118.39$; $p < 0.001$), „Phase“ ($F_{1,0,2,1} = 26.90$; $p = 0.033$) und „Deaktivierung“ ($F_{1,2} = 392,48$; $p = 0.003$), sowie einer signifikanten Interaktion aller Kombinationen („Distanz \times Phase“: $F_{4,9,9,8} = 19.86$; $p < 0.001$; „Distanz \times Deaktivierung“: $F_{1,6,3,3} = 21.62$; $p = 0.013$; „Phase \times Deaktivierung“: $F_{2,4} = 27.88$; $p = 0.004$; „Distanz \times Phase \times Deaktivierung“: $F_{7,45,14,91} = 13.09$; $p < 0.001$). Elektrisch evozierte relative Residuen zeigten bei allen Stimulationsabständen starke Unausgeglichenheiten im naiven Cortex, als Hinweis auf starke laterale Beiträge zur corticalen Aktivierung (blaue Kurven, Abbildung 3.16C). Im Gegensatz zu den AVREC-Wellenformen wurden die relativen Residuen der CSD nach der Deaktivierung jedoch gänzlich blockiert (graue Kurven). Dieser Befund schließt weitgehend aus, dass die robuste Aktivierung in granulären Schichten auf monosynaptischem Eingang langsamer horizontaler Kollateralen intracorticaler Neurone beruht, wie dies auch schon die Überlegungen der intracorticalen Leitungsgeschwindigkeiten gezeigt haben (siehe Abschnitt 3.3.1). Mit der vorgeschlagenen Aktivierung afferenter Projektionen nach fazillitatorischer corticothalamischer Anregung ist dieser Befund im Einklang.

Zuletzt sollten die mittleren Peak-Latenzen ($\pm\text{SEM}$) beider Parameter als Funktion

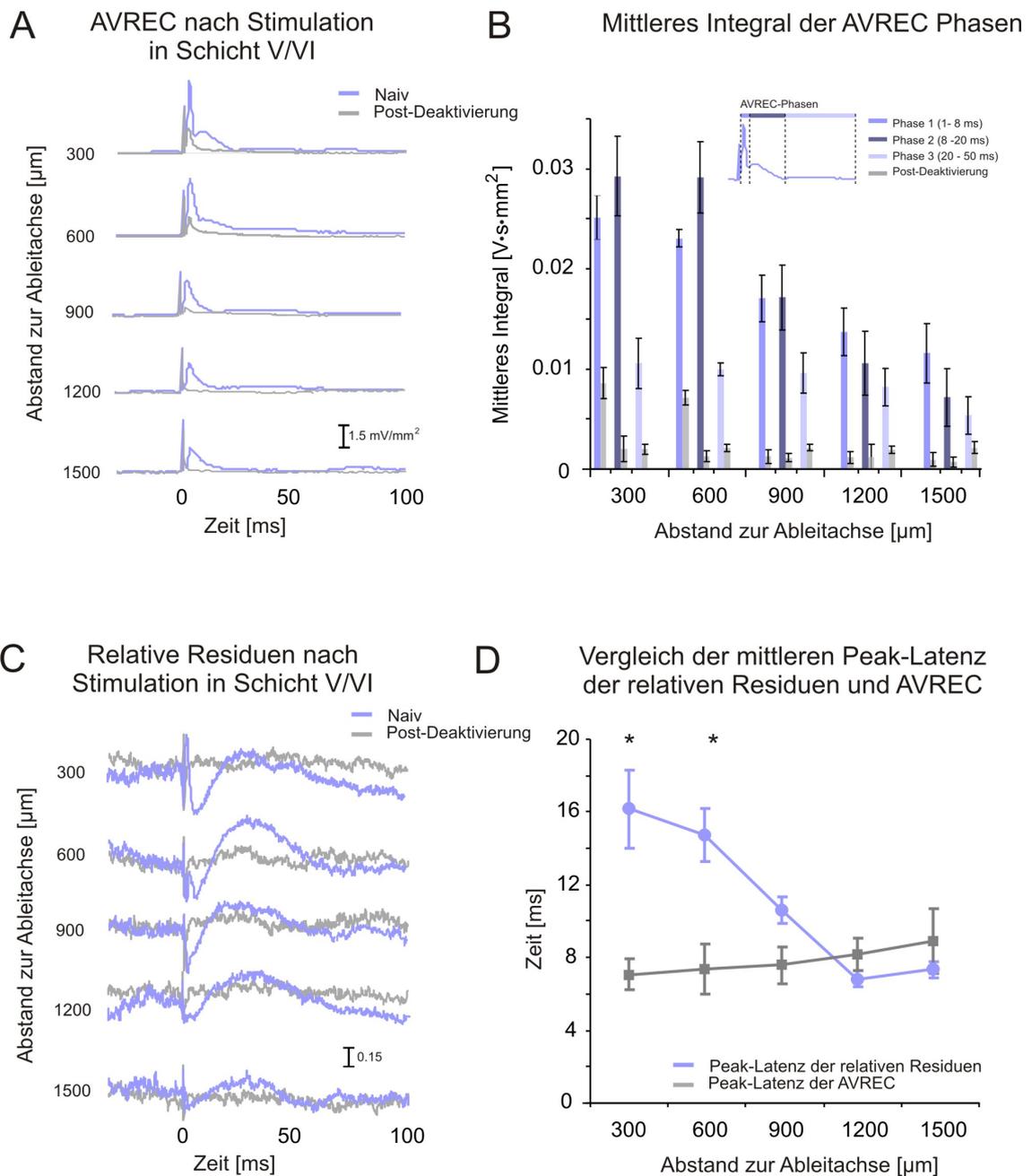


Abbildung 3.16: Vergleich der AVREC und relativen Residuen der CSD erlaubt Trennung lokaler und weitreichender synaptischer Beiträge elektrisch evozierter Antworten. A. AVREC-Wellenform nach infragranulärer Stimulation in unterschiedlichen Abständen vor (blau) und nach (grau) der corticalen Deaktivierung. B. Mittlere Integrale (\pm SEM) der drei verschiedenen Phasen (1)-(3) der AVREC-Wellenform (entsprechend der AVREC nach proximaler Stimulation, siehe Einschub). Gezeigt sind die Werte vor (Blautöne) und nach (grau) Deaktivierung. C. Entsprechende Wellenform der relativen Residuen der CSD vor (blau) und nach (grau) der corticalen Deaktivierung. D. Vergleich der mittleren Peak-Latenzen (\pm SEM) der AVREC und der relativen Residuen als Funktion des Stimulationsabstandes zur Ableitachse. Statistische Ergebnisse siehe Text.

des Stimulationsabstandes betrachtet werden, um so Aussagen über den zeitlichen Verlauf der Beiträge aus intrakolumnären und interkolumnären Eingängen zur corticalen Aktivierung zu erlauben (Abbildung 3.16D). Hierbei wurde die mittlere Latenz des ersten Maximums der AVREC-Wellenform mit der mittleren Latenz des ersten Minimums der relativen Residuen verglichen (siehe auch Abschnitt 3.1.5). Nach proximaler ICMS zeigte die AVREC-Wellenform eine signifikant kürzere mittlere Peak-Latenz (7.08 ± 0.87 ms), im Vergleich zu den relativen Residuen (16.16 ± 2.16 ms; gepaarter t-Test, $p=0.019$). Nach distaler ICMS hingegen waren die Peak-Latenzen beider Wellenformen zeitlich korreliert (AVREC: 8.92 ± 1.8 ms; relative Residuen: 7.33 ± 0.44 ms; $p=0.28$). Entsprechend basieren elektrisch evozierte Antworten lokal zunächst auf intrakolumnären Prozessen, wohingegen die initiale Aktivierung distaler corticaler Bereiche auf der Aktivität lateraler Eingänge beruht. Entsprechend zeigte eine zwei-faktorielle rmANOVA nur signifikante Effekte des Hauptfaktors „Wellenform“ (AVREC, relative Residuen): $F_{1,2} = 98.27$; $p=0.01$), aber nicht für den Faktor „Distanz“ ($F_{1,13,2,26} = 5.38$; $p=0.133$) oder deren Interaktion ($F_{1,5,3,05} = 8.60$; $p=0.057$).

3.3.4.1 Schicht-Symmetrie-Index

Es konnte gezeigt werden, dass weitreichende intracorticale *Feedforward*-Projektionen am effektivsten nach Stimulation der granulären Eingangsschichten aktiviert wurden. Entsprechende CSD-Profile zeigten starke initiale granuläre Aktivierungen ohne substanziellen Amplitudenverlust über weite laterale corticale Bereiche und nachfolgend effektive Aktivierungen vor allem der oberen Schichten (Abbildung 3.14). Werden hingegen durch ICMS_{V/VI} infragranuläre Pyramidalneurone stark angeregt (entsprechend der Amplitude der infragranulären Senke), so werden durch fazilitatorische corticothalamische Projektionen rekurrente *Feedback*-Schleifen aktiviert, welche wieder lokal in die Eingangsschichten des corticalen Bereiches zurück projizieren und so die Aktivierungen lokal im Cortex verstärken. Diese Befunde legen nahe, dass durch die schichtspezifische Stimulation hervorgerufene unterschiedliche relative crosslaminare Prozessierungen zur Aktivierung unterschiedlicher Subsysteme führen,

so dass die lokale Aktivierungsstärke intracorticaler Schaltkreise nicht immer zu einer proportionalen Aktivierung weitreichender intracorticaler *Feedforward*-Projektionen auf benachbarte corticale Bereiche führt.

Um diese unterschiedlichen relativen Aktivierungen der einzelnen Schichten zu quantifizieren, wurde ein sogenannter Schicht-Symmetrie-Index für die mittleren Peak-Amplituden (*SSIdx*) berechnet. Dabei wurde der *SSIdx* jeweils anhand der Werte der drei Hauptkomponenten SG, G und IG wie folgt berechnet: $SSIdx = \frac{SG}{G} / \frac{IG}{G}$. Anhand des *SSIdx* können die Aktivierungen der oberen und unteren Schichten in Relation zur initialen granulären Aktivierung unabhängig von den absoluten Amplituden-Werten abgeschätzt werden (Abbildung 3.17; *SSIdx* = 1.0 zeigt gleiche Peak-Amplituden der supragranulären und infragranulären Senken an; *SSIdx* > 1.0; höhere supragranuläre Amplituden; *SSIdx* < 1.0: höhere infragranuläre Amplituden; siehe gestrichelte Linie). Abbildung 3.17 zeigt Unterschiede des *SSIdx* der proximalen (oben) und distalen (unten) corticalen Aktivierungen nach schichtspezifischer ICMS. Lokale Netzwerkaktivierungen nach proximaler Stimulation zeigten eine graduell stärkere Erregung der jeweils stimulierten Schicht (Proximale Stimulation: $SSIdx_{I/II}$: 3.10 ± 0.42 ; $SSIdx_{III/IV}$: 0.87 ± 0.07 ; $SSIdx_{V/VI}$: 0.31 ± 0.05). So zeigte einzig das Erregungsmuster nach ICMS_{V/VI} eine deutlich stärkere Erregung der tiefen corticofugalen Ausgangs-Schichten an. Nach granulärer Stimulation wurden die tiefen und oberen Schichten gleichermaßen stark erregt. Die Erregungen weiter entfernter corticaler Bereiche hingegen zeigten alle eine Tendenz hin zu stärkeren supragranulären Aktivierungen. Entsprechend gab es keine signifikanten Unterschiede der Schicht-Symmetrien in Abhängigkeit der Stimulationstiefe (Distale Stimulation: $SSIdx_{I/II}$: 2.01 ± 0.77 ; $SSIdx_{III/IV}$: 2.20 ± 0.54 ; $SSIdx_{V/VI}$: 1.72 ± 0.34). Die Befunde zeigen, dass die lokale Aktivierung der corticalen Schaltkreise stärker von der Schichttiefe der Stimulation abhängig ist, während die Aktivierung der distalen Netzwerke, im Einklang mit den zuvor dargestellten Befunden, weitgehend auf dem gleichen lateralen Eingang beruhen. Eine zwei-faktorielle rmANOVA (Huynh-Feldt-korrigiert) zeigte entsprechend hoch signifikante Effekte des Hauptfaktors „Stimulationstiefe“ ($F_{1,95,13.65} = 9.14$; $p=0.003$), aber keine signifikanten Effekte

Schicht-Symmetrie-Index der mittleren Peak-Amplituden

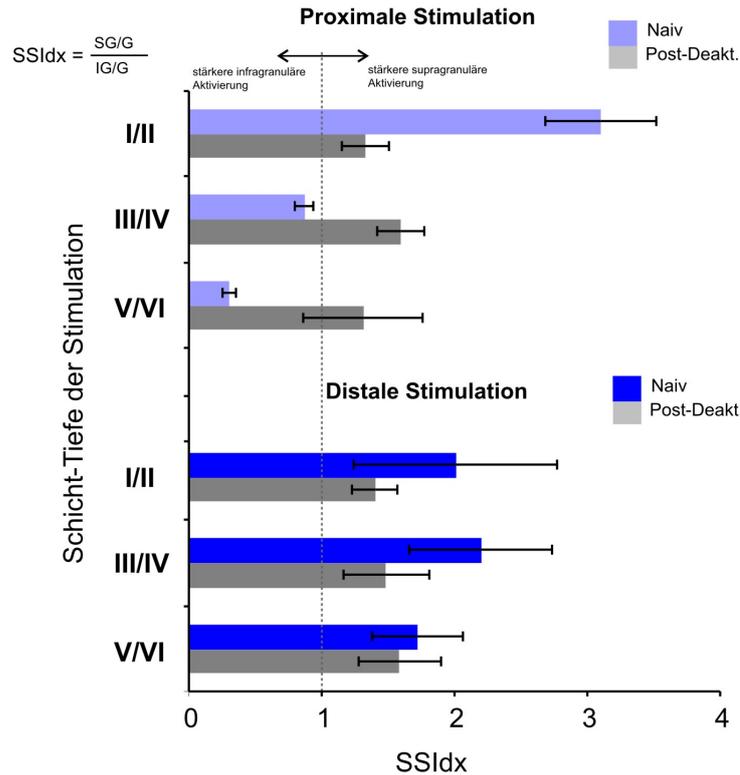


Abbildung 3.17: Schicht-Symmetrie-Index (SSIdx) lokaler und distaler Aktivierungen
 Oben, Proximal zur Stimulationsachse zeigten die CSD-Profile stärkere Aktivierungen der jeweils stimulierten Schichten. Unten, Für distale Netzwerkaktivierungen zeigten die Schicht-Symmetrien unabhängig von der Stimulationstiefe gleiche crosslaminare Prozessierungen mit tendenziell stärkeren supragranulären Aktivierungen an. Statistische Ergebnisse siehe Text.

des Faktors „Distanz“ ($F_{1,7} = 0.007$; $p=0.935$). Die Interaktion zwischen beiden Faktoren war hingegen wieder hoch signifikant ($F_{2,14} = 20.75$; $p<0.001$). Diese Befunde sind zusätzlich in Abbildung 3.14 durch die verschiedenen Schicht-Symmetrie-Profile verdeutlicht (jeweils rechts).

Weiterhin wurden auch die mittleren Onset-Latenzen anhand des SSIdx verglichen, um mögliche zeitliche Unterschiede der kaskadischen Abfolgen der extragranulären Senken zur initialen granulären Senke zu beschreiben (Daten nicht in Abbildung 3.17; siehe jedoch Abbildung 3.14, rechts). Der SSIdx der Onset-Latenzen zeigte keine Abhängigkeit von der lateralen „Distanz“ ($F_{1,3} = 0.148$; $p=0.55$). Eine Abhängigkeit von der Stimulationstiefe wurde durch die asymmetrische Kaskade nach supragranulärer Stimulation verursacht ($F_{2,6} = 11.481$; $p=0.009$). Die Interaktion bei-

der Faktoren war entsprechend nicht signifikant ($F_{1,05,3,16} = 2.412$; $p=0.215$). Demnach verläuft die zeitlich evozierte Kaskade granulärer und nachfolgender extragranulärer Senken nach einem kanonischen zeitlichen Muster: der *SSIdx* der Onset-Latenzen war zumeist niedriger oder gleich 1.0 (außer nach proximaler ICMS_{V/VI}), so dass supragranuläre Aktivierungen generell kürzere oder gleiche Latenzen aufwiesen, wie die infragranulären Aktivierungen (verdeutlicht anhand der identischen Schicht-Symmetrie, siehe Abbildung 3.14). Dies spiegelt eine mögliche kaskadische Reihenfolge der crosslaminaren Aktivierungen wider, welche ausgehend von granulären Schichten zunächst supragranuläre Schichten aktiviert und anschließend in infragranuläre Schichten verschaltet wird. Entsprechend scheinen die elektrischen Aktivierungen funktionellen Gesetzmäßigkeiten der lokalen intracorticalen Mikroarchitektur zu folgen, welche auch für physiologische Stimuli gezeigt wurden (siehe Abschnitt 3.1.4, sowie Sakata & Harris, 2009; Atencio & Schreiner, 2010).

3.4 Verhaltensexperimente zum Detektionslernen

Im zweiten Teil dieser Arbeit konnten wesentliche Unterschiede der elektrisch evozierten corticalen Aktivierung in Abhängigkeit der Stimulationstiefe nachgewiesen werden. Dabei konnten die unterschiedlichen Aktivierungen den individuellen corticalen Schaltkreisen zugeordnet werden, die in den jeweiligen Schichten präferenziell angeregt werden. Auch wenn alle CSD-Profile einer kanonischen Kaskade crosslaminarer Prozessierungen folgten (ausgenommen der lokalen monophasischen Aktivierung nach supragranulärer Stimulation), so konnten die weitreichenden polysynaptischen horizontalen Projektionen am effektivsten durch granuläre Stimulation angeregt werden. Nach Stimulation der tiefen Schichten hingegen war die laterale Ausbreitung eingeschränkter, jedoch die lokale, vertikale Aktivierung innerhalb einer Kolumne am stärksten (Abschnitt 3.3.4.1). Hierfür konnten die rekurrenten exzitatorischen corticothalamischen Schaltkreise verantwortlich gemacht werden. Studien legen nahe, dass corticothalamische Interaktionen die sensorische Verarbeitung in Abhängigkeit des Verhaltenskontext optimieren können (Nicoletis & Fanselow,

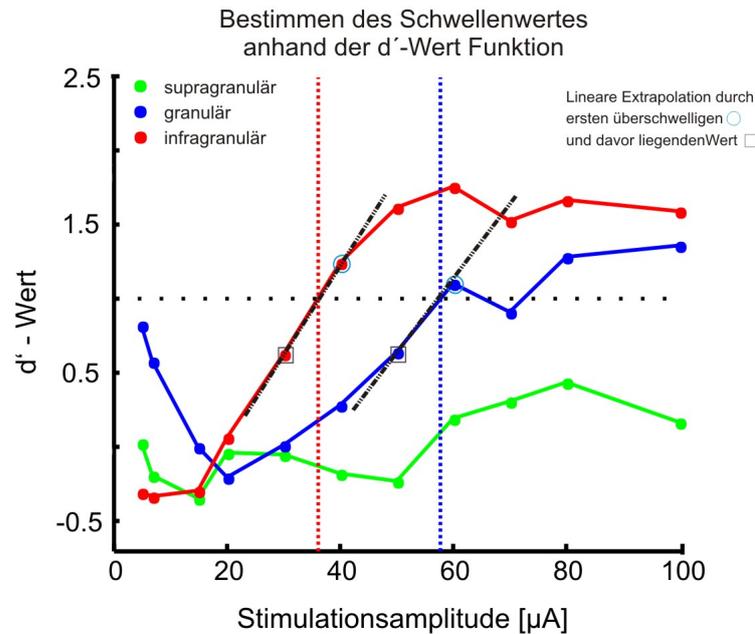


Abbildung 3.18: Beispiel der Bestimmung des Detektionsschwellenwertes der d' -Funktion auf Einzeltier-Basis. Die d' -Funktion wurde entsprechend der Glättungsmethode aus den CR -Raten berechnet (siehe Methoden). Der Schwellenwert entsprach dabei dem Schnittpunkt einer linearen Extrapolation durch den ersten Datenpunkt mit $d' \geq 1$ (blauer Kreis) und dem davor liegenden (braunes Quadrat) mit der $d'=1.0$ -Geraden. In diesem Beispiel erreichte die Detektionsleistung das Schwellenkriterium nur nach granulärer und infragranulärer ICMS.

2002). Aus diesem Grund ist es interessant zu untersuchen, ob sich durch die Rekrutierung der corticothalamischen *Feedback*-Schleifen die perzeptuelle Interpretation corticaler Mikrostimulation verbessern lässt. Ob und in welcher Form perzeptuelle Effekte nach intracorticaler Mikrostimulation tatsächlich auf subcorticalen Schaltkreisen beruhen wird bislang kontrovers diskutiert (DeYoe et al., 2005; Tehovnik et al., 2005b; Logothetis et al., 2010). Um diese Frage zu testen, wurden die zuvor beschriebenen Stimulationsprotokolle als konditionierte Stimuli in einem Detektionskontext genutzt. Eine Signal-Detektions-Analyse sollte dann Rückschlüsse auf die perzeptuelle Relevanz der verschiedenen oben genannten Subsysteme erlauben. In Abschnitt 2.6.2 wurde erläutert, dass, ausgehend von den Raten der konditionierten Reaktionen (CR) der Einzel-Tiere, die Detektionsleistung als unabhängiges Maß von den Experimentalbedingungen in Form des d' -Wertes bestimmt wurde (Green & Swets, 1966). Als perzeptuelles Schwellenkriterium galt $d'=1.0$. Die einzelnen d' -Werte wurden zunächst durch eine gewichtete Mittelung der beiden umliegenden

d' -Werte geglättet (siehe Abschnitt 2.6.2). Für die psychometrische Analyse der perceptuellen Schwellenwerte wurde der Strom-Schwellenwert bestimmt, für welchen die Antwortraten $d' \geq 1.0$ lagen. Dieser wurde bestimmt anhand einer linearen Extrapolation zwischen dem ersten d' -Wert über 1.0 und dem davor liegenden. Abbildung 3.18 zeigt ein Einzelbeispiel der Schwellenwertbestimmung anhand der entsprechenden d' -Funktion.

3.4.1 Schichtabhängigkeit des überschwelligen Initiallernens

Im ersten Block wurden die Tiere in 12 Trainings initial auf die Detektion der monopolen ICMS in drei corticalen Tiefen trainiert ($n=10$). Die verwendeten Pulszüge (300 ms, 100 Hz, Einzelpulse $80 \mu\text{A}$) wurden pseudorandomisiert präsentiert (siehe Methoden). Die Lernleistung, in Form der gemittelten konditionierten Antwortraten (CR) über alle Tiere, zeigte signifikant höhere Erfolge nach granulärer und infragranulärer Stimulation, im Vergleich zur supragranulären Stimulation (Abbildung 3.19A). Die psychometrische Analyse der Detektionsleistung anhand der d' -Werte ergab, dass die Tiere im Mittel bei Stimulation in den granulären und infragranulären Schichten den Schwellenwert von $d'=1.0$ innerhalb von vier Trainingstagen erreichten. Nach 12 Trainings erreichten die Tiere dann bei $\text{ICMS}_{III/IV}$ und $\text{ICMS}_{V/VI}$ ein Plateau von etwa $d'=1.7$. Supragranuläre Stimulation führte hingegen nur zu einem leichten Anstieg der Detektionsleistung ohne Erreichen des Schwellenwertes von $d'=1.0$ (Abbildung 3.19B). Eine zwei-faktorielle *rmANOVA* (Huynh-Feldt-korrigiert) der d' -Werte ergab signifikante Effekte der Hauptfaktoren „Trainingstag“ ($F_{6.0,53.97} = 10.07, p < 0.001$) und „Stimulationstiefe“ ($F_{1.53,13.76} = 13.75, p = 0.01$), sowie eine signifikante Interaktion ($F_{14.19,127.70} = 2.91, p = 0.001$). Ein Post-hoc-t-Test (Bonferroni-korrigiertes Signifikanzniveau: $\alpha^* = \alpha/n_{Test} = 0.017, n_{test} = 3$) der d' -Werte des letzten Trainingstages zeigte signifikante Lernleistungen nach granulärer ($1.81 \pm 0.28, p = 0.016$) und infragranulärer ($1.69 \pm 0.19, p = 0.006$), nicht aber nach supragranulärer Stimulation ($0.49 \pm 0.39, p = 0.225$).

Initiale Lernkurve

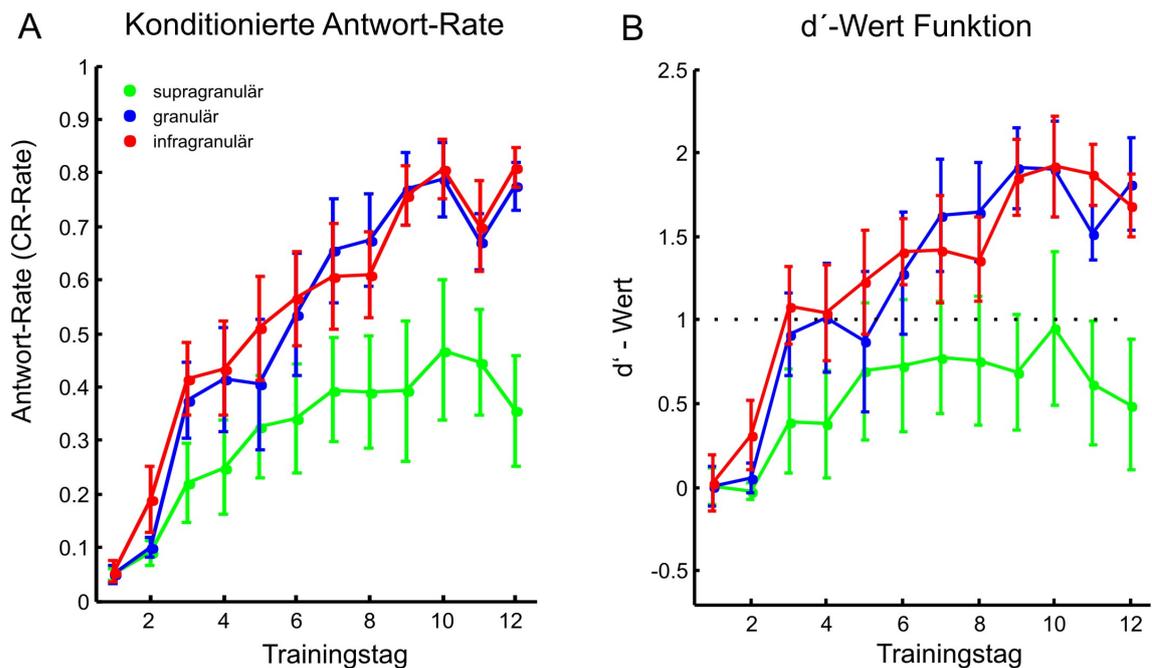


Abbildung 3.19: Initiale Lernkurve nach schichtspezifischer Stimulation mit überschwelligen Reizen (80 µA). A. Konditionierte Antwortraten als Funktion der Trainingstage. B. Analyse der Detektionsleistung anhand der d'-Wert Funktionen.

3.4.2 Psychometrische Funktionen: Schichtabhängigkeit des Detektionsschwellenwertes

Nach erfolgreicher Assoziation des CS^+ mit dem US , wurden die Amplituden der applizierten Ströme systematisch variiert (5-100 µA), um die Detektionssensitivität als Funktion der ICMS-Stärke zu bestimmen. Die konditionierten Antwortraten zeigten, dass die Detektion mit den niedrigsten Amplituden nach infragranulärer Stimulation erreicht wurde. Mit leicht höheren Amplituden stieg dann auch die Detektionsleistung nach granulärer Stimulation an (Abbildung 3.20A). Die psychometrische Analyse der d'-Werte zeigte, dass im Bereich der getesteten Amplitudenvariationen der Schwellenwert entsprechend zunächst nach infragranulärer Stimulation und dann nach granulärer Stimulation erreicht wurde. Die Detektionsleistung nach supragranulärer Stimulation zeigte nur einen leichten Trend höherer Detektionsleistungen mit Zunahme der Stimulationsstärke, erreichte den Schwellenwert im Mittel aller-

dings nicht (Abbildung 3.20B). Eine zwei-faktorielle rmANOVA zeigte entsprechend hoch signifikante Effekte der Hauptfaktoren „Stimulationsstärke“ ($F_{7,07,63,63} = 24.08$, $p < 0.001$) und „Stimulationstiefe“ ($F_{1,58,14,18} = 26.98$, $p < 0.001$), sowie eine hoch signifikante Interaktion ($F_{15,04,135,36} = 5.57$, $p < 0.001$). Zur weiteren psychometrischen Analyse wurden nun die genauen Stromstärken beim Erreichen des Schwellenwertes nach der oben erläuterten Methode auf Einzeltier-Basis bestimmt und anschließend gemittelt. Da nur 3 der 10 Tiere den Schwellenwert nach supragranulärer Stimulation erreicht haben, wurden diese von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die Schwellenwert-Bestimmung ergab die sensitivste Detektionsschwelle nach infragranulärer Stimulation mit Amplituden von $35.60 \pm 2.88 \mu\text{A}$, während nach granulärer Stimulation im Mittel Stimulationsstärken von $50.18 \pm 4.05 \mu\text{A}$ zur Detektion nötig waren (siehe Abbildung 3.22; gepaarter t-Test, $p < 0.001$).

Monopolare Stimulation

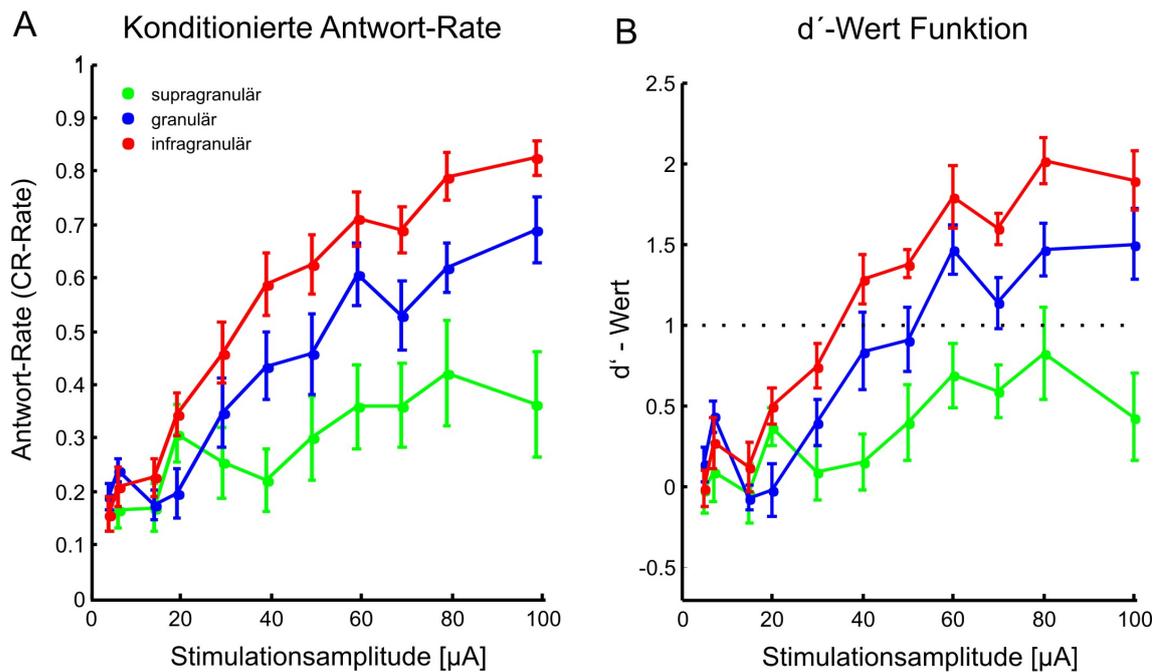


Abbildung 3.20: Psychometrische Analyse der Detektionsleistung nach monopolarer Stimulation. A. Konditionierte Antwortraten als Funktion der Stimulationsstärke nach monopolarer Stimulation. B. Psychometrische Analyse der Detektionsleistung anhand der d' -Werte als Funktionen der Stimulationsstärke. Als perzeptuelles Schwellenkriterium wurde $d' = 1.0$ festgelegt. Erläuterungen siehe Text.

3.4.3 Psychometrische Funktionen nach bipolarer Stimulation

Die Befunde zeigen, dass die infragranuläre Mikrostimulation am effektivsten ist, um perzeptuelles Lernen zu gewährleisten, während die elektrophysiologischen Untersuchungen gezeigt haben, dass ICMS_{V/VI} einhergeht mit einer starken lokalen (vertikalen) corticalen Aktivierung und der effektiven Rekrutierung corticothalamischer rekurrenter *Feedback*-Schleifen. Um die Hypothese zu überprüfen, dass diese corticothalamischen Interaktionen eine notwendige Voraussetzung für die Evozierung von Perzepten mit niedrigen Amplituden darstellen, wurde die Architektur des vertikalen Stimulations-Arrays ausgenutzt, um bipolar zwischen der granulären und der supragranulären (supragranuläre BP-ICMS), sowie infragranulären (infragranuläre BP-ICMS) Elektrode zu stimulieren. Bipolare Felder sind (1) räumlich kondensierter, als monopolare Felder und (2) erlauben sie eine präferenziell richtungsselektive Anregung der Axone (Nowak & Bullier, 1998) in Richtung des kathodischen Pols, also longitudinal zum elektrischen Feld, und inhibieren horizontale Fasern, welche orthogonal zum Feld verlaufen (Ranck, 1975; Yeomans, 1990). Durch zusätzliche Variation der Polarität der Führungs- und Folgephase der Einzelpulse wurden so vier Konfigurationen der BP-ICMS getestet, welche präferenziell die vertikalen, intrakolumnären Netzwerke im Cortex mit spezieller Richtungsselektivität anregen. Durch die entsprechenden Konfigurationen wurden Axone vornehmlich in Richtung der oberen Ausgangs-Schichten (supragranuläre kathodische (SK) BP-ICMS), in Richtung der Eingangsschichten (supragranuläre anodische (SA) BP-ICMS und infragranuläre anodische (IA) BP-ICMS) oder in Richtung der corticofugalen Ausgangs-Schichten (infragranuläre kathodische (IK) BP-ICMS) angeregt. Zur graphischen Illustration der vier BP-ICMS-Konfigurationen und ihrer präferenziellen Aktivierungsrichtung siehe Abbildung 3.21C.

Die Detektionsleistung in Abhängigkeit der Stimulationsstärke auf diese vier Konfigurationen wurde anhand der gleichen Amplituden-Variationen von 5-100 μ A getestet. Zunächst zeigten die Raten der konditionierten Antworten, dass mit allen vier Konfigurationen niedrigere Stromamplituden zur Detektion ausreichend waren, verglichen mit der monopolaren Stimulation (Abbildung 3.21A). Die psychometrische

Bipolare Stimulation

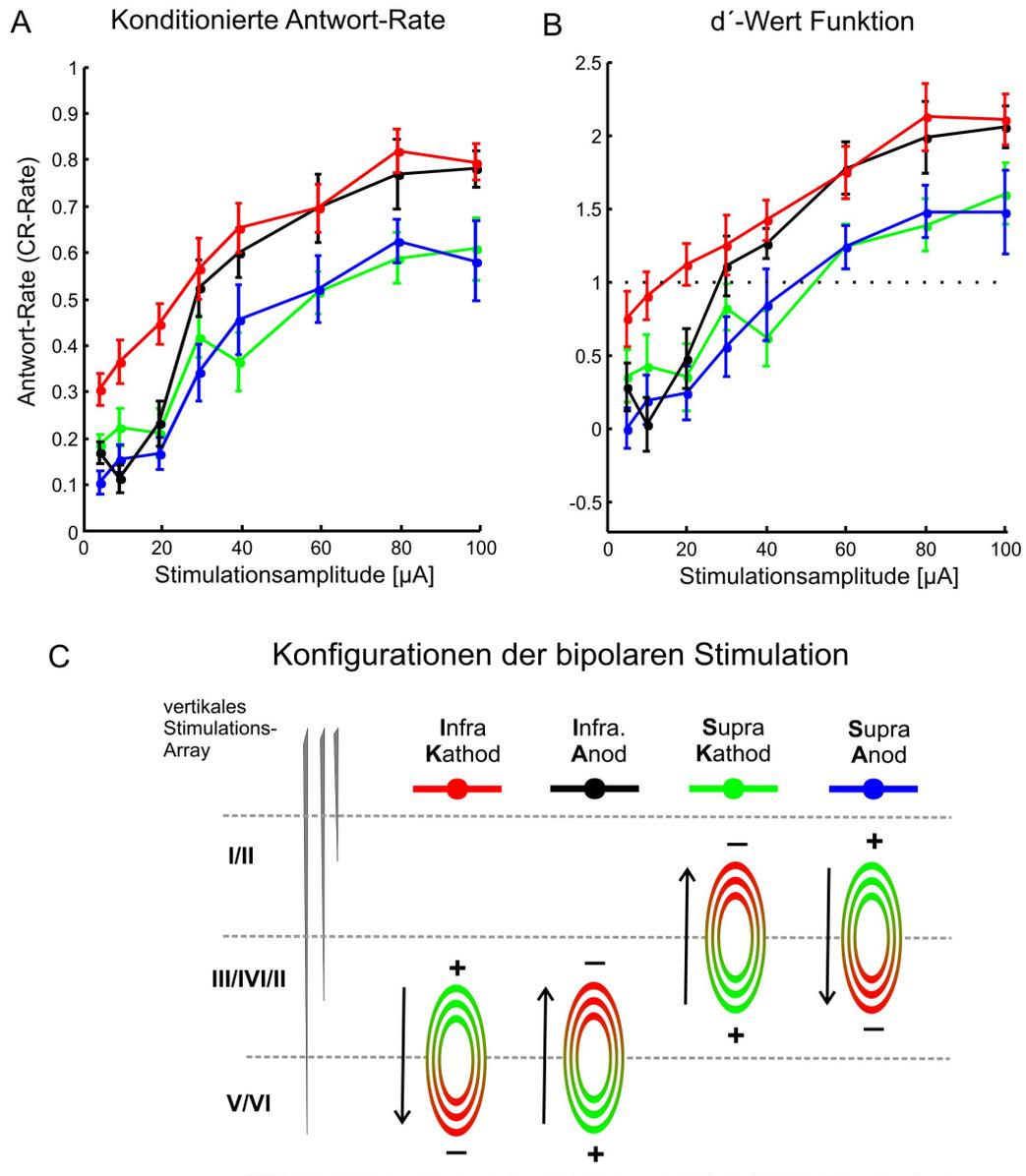


Abbildung 3.21: Psychometrische Analyse der Detektionsleistung nach bipolarer Stimulation. A. Raten der konditionierten Antworten als Funktion der Stimulationsstärke nach bipolarer Stimulation (BP-ICMS). B. Psychometrische Analyse der Detektionsleistung anhand der d' -Werte als Funktionen der Stimulationsstärke. Als perzeptuelles Schwellenkriterium wurde $d'=1.0$ festgelegt. C. Graphische Erläuterung der vier möglichen Konfigurationen nach BP-ICMS unter Ausnutzung der vertikalen Stimulationsarrays. Dazu wurde jeweils an der oberen (I/II) und der mittleren (III/IV) Elektrode oder an der mittleren und der tiefen (V/VI) Elektrode Strom appliziert. Durch Variation der Polarität der Führungsphase (anodisch/kathodisch) wurde zudem die Orientierung des elektrischen Feldes verändert. Die jeweils resultierenden elektrischen Felder sind entsprechend durch die Lage der Kathode (in rot und mit „-“ markiert) und der Anode (in grün und mit „+“ markiert) dargestellt. Die schwarzen Pfeile markieren die präferenzielle Richtung der Aktivierung neuronaler Fasern entsprechend der Lage des kathodischen, depolarisierenden Pols. IK = infragranuläre kathodische BP-ICMS; IA = infragranuläre anodische BP-ICMS; SK = supra-granuläre kathodische BP-ICMS; SA = supra-granuläre anodische BP-ICMS. Erläuterungen siehe Text.

Psychometrische Schwellenwerte

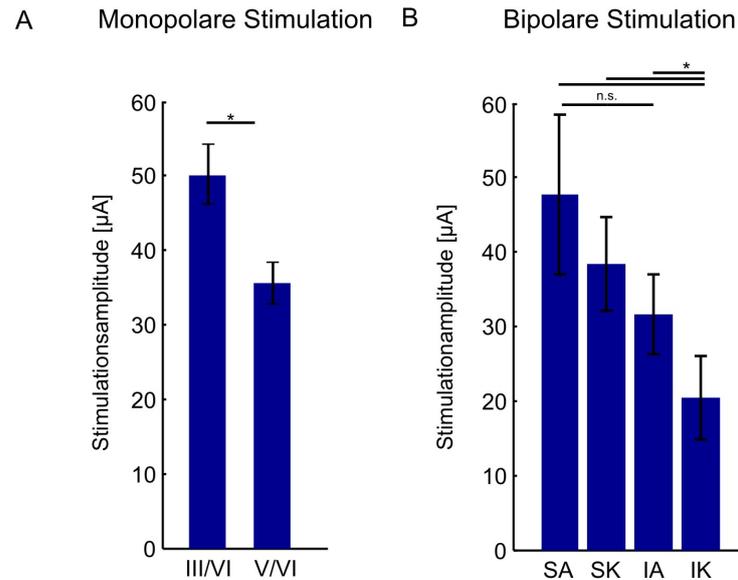


Abbildung 3.22: Psychometrische Analyse der perzeptuellen Schwellenwerte der verschiedenen Stimulationskonfigurationen. A. Perzeptuelle Schwellenwerte nach monopolarer Stimulation waren nach infragranulärer (V/VI) Stimulation signifikant niedriger als nach granulärer (III/VI) Stimulation ($p < 0.001$). B. Nach bipolarer Stimulation und schichtspezifischer Variation der Polaritäten zeigte sich, dass die präferenzielle Stimulation der corticofugalen Projektionen durch infragranuläre kathodische BP-ICMS (IK) am effektivsten bei der Generierung von Perzepten war ($p \leq 0.008$). Alle anderen Konfigurationen (IA, SK, SA) zeigten zwar einen Trend unterschiedlicher Effektivität, waren allerdings nicht signifikant unterschiedlich ($p > 0.008$).

Analyse der d' -Werte zeigte, dass das Schwellenkriterium $d' = 1.0$ mit allen vier Konfigurationen mit den verwendeten Amplituden erreicht wurde (Abbildung 3.21B). Ähnlich zur monopolarer Stimulation führte allerdings die Stimulation an der mittleren und tiefen Elektrode (infragranuläre BP-ICMS) zu einem höheren Plateau der mittleren CR -Rate von etwa 0.8 (korrespondierend mit einem d' -Wert von 2.2). Die psychometrische Analyse der d' -Werte zeigte weiter, dass nach infragranulärer BP-ICMS mit kathodischem Pol in den tiefen Schichten, welche zu einer effektiven Anregung corticothalamischer Projektionen führen sollte, der Anstieg über den Schwellenwert von $d' = 1.0$ mit den geringsten Stromstärken gefunden wurde. Eine zwei-faktorielle $rmANOVA$ zeigte signifikante Effekte der Hauptfaktoren „Stimulationsstärke“ ($F_{7,63} = 30.76$, $p < 0.001$); „BP-ICMS-Konfiguration“ ($F_{2,53,22.74} = 41.05$; $p < 0.001$), sowie deren Interaktion ($F_{17,12,154.08} = 2.10$, $p = 0.009$).

Die Analyse der Detektionsschwellenwerte auf Einzeltier-Basis ergab entsprechend

die niedrigsten perzeptuellen Schwellen bei IK-BP-ICMS ($20.50 \pm 5.60 \mu\text{A}$), so dass der Detektionsschwellenwert von der richtungsselektiven Aktivierung corticothalamischer Projektionen abhängig war. Alle anderen Konfigurationen zeigten signifikant höhere Schwellenwerte (siehe Abbildung 3.22B; IA-BP-ICMS: $31.61 \pm 5.32 \mu\text{A}$, SK-BP-ICMS: $38.43 \pm 6.29 \mu\text{A}$ und SA-BP-ICMS: $47.77 \pm 10.67 \mu\text{A}$) Ein paarweise post-hoc durchgeführter Vergleich (gepaarter t-Test, Bonferroni-korrigiertes Signifikanz-Niveau $\alpha^* = 0.008$, $n_{test} = 6$) zeigte, dass die Schwellenwerte der infragranulären, anodischen BP-ICMS signifikant niedriger waren, als alle anderen Konfigurationen ($p \leq 0.008$), sich die drei weiteren jedoch nicht signifikant voneinander unterschieden ($p > 0.008$).

4 Diskussion

Schon Platon stellte in dem eingangs erwähnten „*Höhlengleichnis*“ fest, dass die physikalischen Gegebenheiten der äußeren Welt mit unseren inneren subjektiven Empfindungen und Wahrnehmungen nicht unmittelbar zusammenfallen. Im Zentralen Nervensystem könnte sich eine solche Transformation der neuronalen Information schon auf der Ebene des primären sensorischen Cortex ergeben, welcher als Nexus zwischen subcorticalen, afferenten Eingängen und weitreichenden intracorticalen Verbindungen eine übergreifende Integration von *Bottom-up*- und *Top-down*-Prozessen erlaubt (Scheich et al., 2006). Dennoch sind diesbezügliche operative Mechanismen auf der Ebene der lokalen Funktionseinheiten, der corticalen Mikroschaltkreise, trotz der Kenntnisse über ihre strukturelle Organisation, bislang nur unzureichend verstanden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in drei Schritten die Integration physikalischer Stimulusparameter und die daraus abgeleitete Generierung lokaler corticaler Aktivierungsmuster, durch welche Stimuli letztlich perzeptuelle Relevanz erlangen, auf der Ebene der funktionellen Mikroarchitektur intracorticaler und corticothalamischer Interaktionen, zu untersuchen.

Die in dieser Arbeit vorgestellten elektrophysiologischen Experimente konnten anhand der Kombination von CSD-Analyse und pharmakologischer corticaler Deaktivierung zeigen, dass innerhalb des primären auditorischen Cortex verschiedene lokale, intrakolumnäre, sowie weitreichende, interkolumnäre Subsysteme parallel operieren. Es konnte gezeigt werden, dass bereits auf der Ebene der Repräsentation physikalischer Stimulusparameter, kompetitive Wechselwirkungen zwischen benachbarten corticalen Kolumnen die Verarbeitung der *Bottom-up*-Informationen zu einem raumzeitlich hoch integrierten Prozess aus konvergenten thalamocorticalen und lokalen,

wie weitreichenden, intracorticalen Eingängen machen (Happel et al., 2010b). Im zweiten Teil wurde zusätzlich die schichtabhängige Organisation intracorticaler und corticothalamischer Verbindungen ausgenutzt, um durch schichtspezifische Mikrostimulation weitreichende polysynaptische *Feedforward*-Aktivierungen von der Aktivierung lokaler corticothalamischer *Feedback*-Schleifen zu separieren. Dabei konnte die Existenz eines schnellen und lokalen exzitatorischen cortico-thalamocorticalen rekurrenten Schaltkreises zwischen den infragranulären Ausgangs- und den granulären Eingangsschichten nachgewiesen werden, welcher am effektivsten durch Stimulation in den tiefen Ausgangsschichten aktiviert wurde. Im Gegensatz dazu konnten weitreichende Aktivierungen im Cortex über Kolumnen hinweg am effektivsten durch Stimulation der Eingangsschichten hervorgerufen werden. In einem parallelen Detektionsexperiment wurden die Beiträge dieser Subsysteme zur Generierung von Perzepten untersucht. Es zeigte sich, dass die Rekrutierung der lokalen, rekurrenten *Feedback*-Schleifen am effektivsten zur Generierung von Perzepten führte, während die Aktivierung weitreichender horizontaler *Feedforward*-Pfade über corticale Kolumnen hinweg zu keiner erhöhten Stimulusdetektion beitrugen (Happel et al., 2010a). Zusätzlich zeigte sich, dass die lokalen corticothalamischen Schleifen nach Stimulation in den oberen Schichten gänzlich umgangen wurden und trotz Aktivierungen lateraler intracorticaler Netzwerke eine Detektion der ICMS nur schwer erreicht wurde. Die Befunde der vorliegenden Arbeit zeigen, dass eine lokale rekurrente Signalverarbeitung in corticothalamischen Schaltkreisen die lokale Aktivierung im Cortex durch Wiedereinführung neuronaler Information verstärken können. Diese corticothalamischen Interaktionen können so möglicherweise an der Generierung perzeptuell detektierbarer corticaler Aktivierungsmuster beteiligt sein, welche eine Auslese durch nachfolgende weitreichende *Feedforward*-Prozessierungen ermöglichen. Im Folgenden sollen diese Befunde und weitere Implikationen detaillierter diskutiert werden.

4.1 Laminare Verarbeitung akustischer Reize im primären auditorischen Cortex

Im primären auditorischen Cortex terminieren tonotop organisierte afferente Eingänge aus dem lemniskalen Thalamus (Merzenich et al., 1975; Lee & Winer, 2005), welche jedoch keine strikten Punkt-zu-Punkt-Projektionen darstellen (Miller & Schreiner, 2000; Winer et al., 2005). Vielmehr sind die Verbindungen zwischen vMGB und AI viel breiter, als die schmalbandigen überschwelligigen Abstimmeeigenschaften corticaler Bereiche vermuten lassen (Bitterman et al., 2008; Bandyopadhyay et al., 2010; Rothschild et al., 2010). Thalamocortical-rezipiente Neurone verteilen spektrale Information am stärksten innerhalb einer Isofrequenzkolumne, was die lokale Konservierung funktionaler Eigenschaften inklusive modularer Subdivisionen erlaubt (Ehret, 1997; Budinger et al., 2000a; Schreiner et al., 2000; Read et al., 2001; Linden & Schreiner, 2003). Nichtsdestotrotz werden die spektralen Abstimmeeigenschaften im Cortex nicht ausschließlich durch afferente *Bottom-up*-Eingänge vermittelt, sondern basieren auf zusätzlichen intracorticalen Eingängen, welche weitere Informationen über die spektrale Struktur eines akustischen Stimulus beitragen (Wallace et al., 1991; Miller et al., 2001a; Kadia & Wang, 2003; Edeline, 2003; Metherate et al., 2005; Liu et al., 2007). Dieses Phänomen der spektralen Integration in AI wurde eingangs in Abschnitt 1.1.4 als Modellmechanismus beschrieben, an welchem die Integration und Interaktion thalamocorticaler und verschiedener intracorticaler Eingänge in primären sensorischen Cortices untersucht werden kann. Dennoch erklären die bisherigen Studien vornehmlich die Arbeitsteilung der afferenten Eingänge und der intracorticalen Beiträge. Einerseits existieren weitreichende horizontale Projektionen, welche die spektralen Antworteigenschaften weit entfernter corticaler Bereiche modulieren, welche keinen korrespondierenden afferenten Eingang erhalten (Nicht-BF-Interaktion, Kaur et al., 2004; Metherate et al., 2005). Thalamocorticaler Eingänge hingegen rekrutieren intrakolumnäre Schaltkreise, welche lokal durch rekurrente exzitatorische Verschaltungen selektiv die überschwelligigen Antworten thalamocortical-rezipienter Neurone verstärken, so dass dadurch das cor-

ticale Abstimmverhalten verschärft wird (Liu et al., 2007).

Doch liegen die corticalen Bereiche, in denen vornehmlich eines der beiden Projektionssysteme die Abstimmereigenschaften auf eine bestimmte Frequenz prägt, weit auseinander. Bislang offen blieb die Frage, wie in den Bereichen, wo die Überlappung spektraler Eingänge aus beiden Systemen am stärksten ist, eine präzise raumzeitliche Integration der Informationen über das Stimulusspektrum durch die synaptischen Verteilungen afferenter und intrinsischer, interkolumnärer Eingänge über die Dendritenbäume der corticalen Neurone, vonstatten geht. In der vorliegenden Arbeit wurden zur Klärung dieser Frage laminare CSD-Profile nach Reinton-Stimulation analysiert und durch eine Kombination mit pharmakologischer Deaktivierung der intracorticalen Schaltkreise, die Beiträge thalamocorticaler Projektionen zum laminaren Aktivierungsmuster separiert (siehe auch Happel et al., 2010b).

4.1.1 Zeitliche Präzision horizontaler und afferenter Eingänge in granulären Schichten

Die Befunde des ersten Teils der vorliegenden Arbeit haben gezeigt, dass afferente und konvergierende intracorticale Synapsenpopulationen eine voneinander unterscheidbare laminare Organisation besitzen und dass sie, in Abhängigkeit der spektralen Eingänge, zeitlich unterschiedlich aktiviert werden (Abbildung 3.2 und 3.4). Die Befunde konnten bestätigen, dass die initiale Aktivierung einer corticalen Kolumne durch Stimulation mit einer Tonfrequenz, welcher der jeweiligen BF entspricht, durch thalamocorticale Eingänge geprägt ist und überschwellige Antworten durch lokale intracorticale Prozesse amplifiziert werden (siehe Abschnitt 3.1.3 und siehe Liu et al., 2007). Weiterhin erhalten corticale Bereiche spektrale Eingänge über weitreichende horizontale Projektionen, welche nicht durch die thalamocorticalen Projektionen abgedeckt werden (siehe Abschnitt 3.1.6 und siehe Metharate et al., 2005). Die Analyse der pharmakologisch manipulierten laminaren CSD-Profile deckte auf, dass zusätzlich zu diesen beiden Eingangssystemen lokale horizontale Verschaltungen die raumzeitlichen Antworteigenschaften eines corticalen Bereiches komplementieren. Es

konnte gezeigt werden, dass die Repräsentation von Frequenzen in der spektralen Nachbarschaft der BF (Nah-BF), auf einer zeitlich hoch präzisen Integration afferenter und lokaler horizontaler Eingangssysteme basiert, deren Interaktion das laminare CSD-Aktivierungsprofil prägen (Abbildung 3.4A). Prinzipiell können bei Nah-BF-Stimulation die afferenten und die lokalen horizontalen Eingänge mit den gleichen Onset-Latenzen operieren (siehe Abbildung 3.4B). Doch erst die vergleichende Analyse der AVREC und der relativen Residuen der CSD konnte nachweisen, dass exzitatorische horizontale Eingänge tatsächlich zur initialen Aktivierung einer corticalen Kolumne nach Nah-BF-Stimulation beitragen (Abbildung 3.6). Entsprechend können diese horizontalen Eingänge maßgeblich die Latenz überschwelliger Antworten der benachbarten Bereiche auf ebenfalls einlaufende afferente Nah-BF-Informationen beeinflussen (Abbildung 3.3). Dass diese exzitatorischen horizontalen Eingänge zudem tatsächlich eine von den afferenten Synapsenpopulationen unterscheidbare laminare Organisation aufwiesen, konnte durch die pharmakologische Deaktivierung gezeigt werden (Abbildung 3.4B): Der Beginn der granulären Senke nach Stimulation mit Nah-BF-Frequenzen lag vor der Deaktivierung in der oberen granulären Schicht III. Entsprechend unterschiedlich zeigte sich die Lokalisation der separierten thalamocorticalen Synapsenpopulationen, die hauptsächlich in Schicht IV lagen (Tabelle 3.2 und vergleiche mit Hackett, 2010). Demnach kann ausgeschlossen werden, dass die initiale Aktivierung in der oberen Schicht III nach Nah-BF-Stimulation auf einer räumlich strukturierten Verschiebung der afferenten Synapsenpopulationen basiert. Da beide Projektionssysteme in den granulären Schichten konvergieren (Ojima et al., 1991; Budinger et al., 2000b), könnten sie auf den gleichen neuronalen Populationen oder zumindest an strategisch vorteilhaften Positionen der gleichen corticalen Mikroschaltkreise terminieren.

Neben den direkten exzitatorischen lateralen Eingängen, müssen auch modulato-
risch wirkende Eingänge von einer Kolumne in die andere existieren, welche eine
zeitlich präzise Modulation zwischen corticalen Bereichen erlauben. Ob diese late-
ralen Wechselwirkungen zwangsläufig inhibitorischer synaptischer Natur, im Sinne
einer lateralen Inhibition, sein müssen, kann anhand der CSD-Profile jedoch nicht

direkt gemessen werden. Denn Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen werden vorwiegend im Zusammenhang mit extrazellulären Strömen diskutiert, welche auf exzitatorischen postsynaptischen Potentialen beruhen (Mitzdorf, 1985, 1986). Dennoch erlaubt die CSD-Analyse zumindest eine indirekte Begutachtung inhibitorischer Prozesse, da das CSD-Profil durch die raumzeitliche Interaktion exzitatorischer und inhibitorischer synaptischer Populationen entsteht. Die räumliche, wie zeitliche Überlagerung der Senken und Quellen gehorcht den Gesetzen der Superposition. Entsprechend können Änderungen der Frequenz des Reiztones zu relativen Änderungen der Aktivierungen spezifischer exzitatorischer und inhibitorischer Synapsenpopulationen führen, welche zu graduellen Verschiebungen der resultierenden Senke-Quelle-Komponenten führen könnten. Im Falle des primären auditorischen Cortex der Mongolischen Wüstenrennmaus existieren weitreichende horizontale Verbindungen, welche einerseits auf lokalen exzitatorischen, sowie inhibitorischen Neuronen terminieren (Kurt et al., 2008) und so zwischen Kolumnen inhibitorische oder facilitatorische Wechselwirkungen vermitteln können (Möller et al., 2010). Entsprechend könnte sich die unterschiedliche relative Lage und Latenz zwischen Senken und Quellen mit Variation der Reizfrequenzen (siehe Abbildung 3.2) durch unterschiedliche Exzitations-Inhibitions-Interaktionen erklären. Solche prominenten Unterschiede der Senke-Quelle-Relationen in den CSD-Profilen zeigten sich vor allem in dem inversen Gradienten der laminaren Onset-Latenz der supragranulären S2 (Abbildung 3.4), welcher entsprechend auf unterschiedliche intrakolumnäre (bei BF-Stimulation) und interkolumnäre Eingänge in Abhängigkeit der Stimulationsfrequenz hinweist. Des Weiteren zeigten auch die kürzeren Latenzen der granulären Senke nach der Deaktivierung bei Stimulation mit Nah-BF-Frequenzen, dass in den granulären Schichten exzitatorische und inhibitorische Komponenten das Aktivierungsmuster bedingen. Welche Rolle die Inhibition für die corticale Prozessierung und Repräsentation physikalischer Stimuluseigenschaften spielt, wird bislang immer noch kontrovers diskutiert. Die vorgestellten Befunde zur zeitlichen Modulation der Verarbeitung afferenter Eingänge zwischen Kolumnen durch horizontale Verschaltungen könnten dabei prinzipiell auf verschiedenen intracorticalen Mechanismen beruhen. So wird bei-

spielsweise im Zusammenhang mit thalamocorticaler Transmission die sogenannte *Feedforward*-Inhibition diskutiert (Swadlow et al., 2002; Swadlow, 2002; Cruikshank et al., 2007), welche die sensorische Integration der verschiedenen Eingangssysteme kontrollieren kann (Gabernet et al., 2005). Dieser Prozess basiert darauf, dass thalamocorticale Projektionen prinzipiell auf granulären exzitatorischen Pyramidalneuronen, wie auch inhibitorischen Interneuronen („*fast-spiking cells*“) terminieren (Miller et al., 2001b). Entsprechend könnte die *Feedforward*-Inhibition in Abhängigkeit der Reizfrequenz thalamocorticale EPSPs durch zeitlich präzise IPSPs mehr oder weniger stark ausgleichen. So könnten nach BF-Stimulation hoch synchronisierte afferente EPSPs eine überschwellige Erregung thalamocortical-rezipienter Neurone erlauben (siehe auch Diskussion in Bruno & Sakmann, 2006), wobei an benachbarten Bereichen weniger synchronisierte afferente Eingänge durch zeitlich präzise IPSPs moduliert werden könnten. Dieses Phänomen der direkten Überlagerung exzitatorischer und inhibitorischer spektraler Abstimmkurven konnte in intrazellulären Ableitungen bereits gezeigt werden und wurde als sogenannte „*balanced inhibition*“ beschrieben (Wehr & Zador, 2003; Tan et al., 2004). Zunächst wurden diese zeitlich präzisen Interaktionen exzitatorischer und inhibitorischer Eingänge als lokales Phänomen verstanden, da morphologisch weitreichende inhibitorische Projektionen im Cortex selten sind (Prieto et al., 1994). Doch im Zusammenhang mit der funktionellen Struktur weitreichender horizontaler Projektionen, welche auf inhibitorischen Komponenten benachbarter lokaler Schaltkreise terminieren können (Kurt et al., 2008), wurde erst kürzlich auch anhand intrazellulärer Ableitungen gezeigt, dass solche horizontalen Schaltkreise tatsächlich inhibitorische Ausgleichsströme entsprechend der „*balanced inhibition*“ in lokalen Neuronen vermitteln und so das laterale spektrale Abstimmverhalten schärfen können (Wu et al., 2008). Dass solche funktionell-inhibitorischen Projektionen tatsächlich die lokale Balance der Exzitation und Inhibition über weite corticale Bereiche in AI hinweg differenziell beeinflussen können, konnte kürzlich nachgewiesen werden (Möller et al., 2010, Näheres siehe Abschnitt 4.1.4). Ein verwandtes Problem wird im visuellen System schon seit Jahren kontrovers diskutiert. Bislang konnten intrazelluläre Ableitungen keine konsistenten

Resultate dazu liefern, wie laterale Inhibition die Orientierungsselektivität einzelner Neurone im visuellen Cortex beeinflusst (Priebe & Ferster, 2008). Einerseits werden intracorticale exzitatorische und inhibitorische Eingänge für die Selektivität in den Orientierungskolumnen verantwortlich gemacht, was anhand mikroiontophoretischer Applikationen bestimmter Transmitter-Agonisten und Antagonisten gezeigt werden konnte (Toth et al., 1997). Dabei wurde zum einen vorgeschlagen, dass corticale inhibitorische synaptische Eingänge breiter abgestimmt sind, als die exzitatorischen Eingänge und diese somit über weite Bereiche hin ausgleichen können (Anderson et al., 2000). Des Weiteren wurde gezeigt, dass, bei entsprechender intracorticaler rekurrenter Verschaltung, direkt ausgleichende exzitatorische und inhibitorische Eingänge ebenfalls die Orientierungsselektivität einzelner Neurone im visuellen Cortex erklären könnten (Marino et al., 2005). Andererseits konnten Studien zeigen, dass die Inaktivierung der gesamten corticalen Verarbeitung durch elektrisch induzierte Suppression (der exzitatorischen, wie inhibitorischen Komponenten Chung & Ferster, 1998) oder durch pharmakologische Manipulation (Nelson et al., 1994) die Orientierungsselektivität der Eingangsneurone nicht vermindert, so dass diese rein auf der *Feedforward*-Verarbeitung thalamocorticaler Eingänge basieren könnte. Zur Lösung dieser Kontroverse wurden verschiedene Modelle vorgeschlagen, welche durch intrinsische nicht-lineare neuronale Eigenschaften (wie zum Beispiel Feuer-Schwellenwert, Saturierung, etc.) der Eingangsneurone ohne direkte laterale inhibitorische Wechselwirkungen solche Formen der Selektivität ergeben könnten (Überblick in Priebe & Ferster, 2008). In diesem Zusammenhang könnten die oben erwähnten Befunde aus intrazellulären Ableitungen im auditorischen Cortex einen Beitrag liefern, wie solche intrinsischen nicht-linearen Eigenschaften das Antwortverhalten beeinflussen könnten. Die direkte Überlagerung der Abstimmeeigenschaften exzitatorischer und inhibitorischer Eingänge auf bestimmte Reizfrequenzen sorgt dafür, dass die intrazellulären Eingänge deutlich breiter sind, als die tatsächlich überschwelligen Antwortcharakteristiken der Eingangsneurone (Wehr & Zador, 2003; Tan et al., 2004). Doch dabei ist des Weiteren zu beachten, dass sich nicht zwangsläufig auch der zeitliche Verlauf der Exzitation und Inhibition direkt überlagert: bei Stimulation

mit Reintonfrequenzen laufen intrazellulär gemessene inhibitorische postsynaptische Ströme (IPSPs) in etwa 1-4 Millisekunden nach den EPSPs ein (Wehr & Zador, 2003; Zhang et al., 2003). Entsprechend könnten zeitlich präzise Abfolgen verschiedener thalamocorticaler und intracorticaler Eingänge durch den Versatz der inhibitorischen und exzitatorischen Anteile sehr scharf abgestimmte überschwellige Antwortcharakteristiken ohne eine direkte laterale Inhibition zwischen benachbarten Kolumnen erlauben. Dazu trägt vermutlich bei, dass inhibitorische Neurone eine niedrigere Feuerschwelle und eine höhere spektrale Bandbreite aufweisen, als die umliegenden exzitatorischen Neurone (Wu et al., 2008). Zuletzt kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass solche modulatorischen Einflüsse auf die Erregbarkeit benachbarter corticaler Bereiche ohne direkte ausgleichende inhibitorische Wechselwirkungen, sondern durch kombinatorische exzitatorische Verschaltungen vermittelt werden, wie dies bei der spektralen Integration im auditorischen Cortex von Fledermäusen gezeigt werden konnte (Razak & Fuzessery, 2008). Dabei wurden Neurone beschrieben, welche nur schwach auf bestimmte Tonfrequenzen reagierten, jedoch durch eine Kombination von Reizfrequenzen mit spezifischen spektralen und zeitlichen Intervallen überschwellig angeregt werden konnten, was im Zusammenhang mit der Kodierung aufsteigender und absteigender frequenzmodulierter Töne diskutiert wurde. Ähnlich könnten auch kombinierte rein exzitatorische thalamocorticale und intracorticale Eingänge mit spezifischen zeitlichen Bezügen zur Aktivierung einer corticalen Kolumne führen.

Schlußendlich kann die Frage, ob tatsächlich horizontale inhibitorische Verschaltungen an der Vermittlung der hier beschriebenen interkolumnären modulatorischen Effekte beteiligt sind, vor allem hinsichtlich ihrer laminaren Lokalisation, mit den klassischen CSD-Methoden nur schwer beantwortet werden. Dennoch zeigen die Befunde der Kombination aus CSD- und Residualanalyse, dass die funktionelle Organisation der primären auditorischen thalamocortical-rezipienten Schichten eine laterale Interaktion verschiedener konvergenter exzitatorischer und inhibitorischer Eingänge erlaubt, welche die raumzeitliche Integration präziser sensorischer Information zwischen direkt benachbarten granulären Schichten ermöglicht (siehe Abschnitt 4.1.4).

Erst diese zeitlich hoch präzise Modulation der Sensitivität benachbarter Bereiche durch laterale Schaltkreise ermöglicht es, den zeitlichen Beginn der initialen crosslaminaren Prozessierung einer corticalen Kolumne (Schroeder et al., 1998; Sakata & Harris, 2009) in Abhängigkeit zum eigentlichen afferenten Eingang zu kontrollieren, wenn dieser nicht der BF entspricht.

4.1.2 Lokale intrakolumnäre Prozessierung amplifiziert sensorische Eingänge

Durch die pharmakologische Deaktivierung intracorticaler Mikroschaltkreise wurden Ton-evozierte Aktivierungen weitgehend auf Schicht IV beschränkt (siehe Abbildung 3.2 und Abschnitt 3.2.1) und die Amplitude sowie die zeitliche Ausdehnung der granulären Senke stark reduziert (Abbildung 3.3). Entsprechend ermöglichen intracorticale Mikroschaltkreise eine Amplifizierung des sensorischen Eingangs auf corticaler Ebene und eine nachfolgende Aktivierung, die sich über alle Schichten des Cortex hinweg fortsetzt. Die corticale Amplifizierung des sensorischen Eingangs durch lokale rekurrente Exzitation wurde zunächst im visuellen Cortex beschrieben (Douglas et al., 1995; Stratford et al., 1996; Douglas & Martin, 2007) und involviert intrakolumnäre synaptische Populationen in Schicht II/III (Feldmeyer et al., 2002). Die starke Amplitudenreduktion der granulären Senke (siehe Abbildung 3.3 und Tabelle 3.1) bestätigte die Befunde von Liu et al. (2007), welche ebenfalls eine lokale Amplifizierung afferenter Eingänge durch rekurrente, exzitatorische Schaltkreise im primären auditorischen Cortex nachgewiesen haben. In diesem Zusammenhang zeigten die höheren Ausgleichsströme der granulären Senke S1 in den oberen Schichten (Q1) eine multiple Überlagerung intracortical generierter CSD-Komponenten in den Schichten II/III an, welche nach der Deaktivierung weitgehend denen der tieferen Schichten (Q3) entsprachen (Tabelle 3.1B). Dabei sind die in dieser Arbeit beschriebenen Amplitudenreduktionen corticaler Antworten durch die pharmakologische Behandlung (zwischen 82.5% und 92.6%) jedoch nur schwer zu vergleichen mit der von Liu et al. (2007) beschriebenen Reduktion der afferenten EPSPs thalamocortical-

rezipienter Neurone nach sehr spezifischer lokaler, intrakolumnärer pharmakologischer Deaktivierung um etwa 40 % (siehe dazu auch folgender Abschnitt 4.1.3). Die Analyse der zeitlichen Struktur der AVREC-Wellenform hat gezeigt, dass Ton-evozierte Antworten nach BF-Stimulation durch drei prominente Phasen geprägt sind, welche zunächst die intrakolumnären Prozesse, inklusive der rekurrenten Verstärkungen, reflektieren (Phase 1), in denen jedoch laterale Verschaltungen keinen Beitrag liefern (keine relativen Residuen; Abschnitt 3.1.5). Die maximalen CSD-Amplituden werden jedoch auch durch die danach folgenden Phasen (2,3), welche ebenso interkolumnäre Prozesse reflektieren, mit beeinflusst (siehe Abbildung 3.7).

4.1.3 Vergleich unterschiedlicher pharmakologischer Deaktivierungsmethoden

Die pharmakologische Deaktivierung der intracorticalen Verarbeitung wurde durch epidurale Applikation des GABA_A-Agonisten Muscimol (0.2 - 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, maximal 8.4 mM) erreicht. Da mögliche Nebeneffekte des Muscimol auf präsynaptische GABA_B-Rezeptoren thalamocorticale EPSPs durch präsynaptische Inhibition minimieren könnten ($\text{ED}_{50} = 25 \mu\text{M}$, Yamauchi et al., 2000), wurde zusätzlich in einigen Fällen der GABA_B-Antagonist SCH50911 appliziert (n=3). Dazu wurden Konzentrationsverhältnisse genutzt (6 mM SCH50911 und 4 mM Muscimol), welche eine Reduktion corticaler Aktionspotentiale um über 95% gewährleisten (Liu et al., 2007). Etwa 30 Minuten nach der topischen Applikation war das Pharmakon über alle corticalen Schichten (1.5 mm) hinweg diffundiert (Abbildung 3.1). Bei einer Diffusionsfläche von etwa 12 mm² (Craniotomie: 3x4 mm) wurden somit ungefähr 18 mm³ des corticalen Gewebes beeinflusst. In einer separaten Studie konnten wir auf zellulär-metabolischer Ebene durch Thallium-autometallographische Verfahren zeigen, dass die pharmakologische Deaktivierung tatsächlich über alle Schichten hinweg die Stimulus-evozierte Aktivität der Neurone blockiert, ohne sich auf die subcorticalen Bereiche auszuwirken (siehe Abschnitt 3.2.2; sowie Goldschmidt et al., 2010). Der Vergleich der Deaktivierung mit oder ohne Blockade der GABA_B-Rezeptoren

ergab weder signifikante Unterschiede bei der Antwortsuppression der verschiedenen CSD-Komponenten (Tabelle 3.1, Abbildung 3.3), noch unterschiedliche spektrale Antwortbandbreiten (Abbildung 3.8). Unterschiede konnten allerdings im zeitlichen Verlauf der Pharmakokinetik festgestellt werden. Die intracorticale Deaktivierung nach Muscimol-Applikation dauerte länger als 10 Stunden an (n=5), während die CSD-Profile nach zusätzlicher Blockade der GABA_B-vermittelten Inhibition nach etwa 2-4 Stunden wieder vollständig die späteren Antwortkomponenten aufwiesen (n=3). Entscheidend für die Beurteilung der pharmakologischen Wirkung ist die lokale Konzentration im Gewebe, welche stark von der Diffusionsgeschwindigkeit und dem -radius abhängt. Aus diesem Grund wurden die Daten vor der Applikation verglichen mit Daten, die mindestens 30 Minuten nach Applikation aufgezeichnet wurden (siehe Abbildung 3.1). In der zuvor genannten Studie von Liu et al. (2007) wurde der Pharmaka-Cocktail durch intracorticale Mikroinjektion appliziert und hatte einen radialen Diffusionsradius von etwa 600 μm , so dass das Volumen des beeinflussten Gewebes etwa 1.0 mm³ entsprach. Weiterhin wurden die Experimente bei Liu et al. (2007) innerhalb von 30 Minuten durchgeführt, so dass die Konzentrationen der Pharmaka *in situ* deutlich von denen in dieser Arbeit abweichen können. Dies mag auch die unterschiedlichen relativen Amplitudenreduktionen (siehe oben), sowie die längere Erholungsphase der intracorticalen Antwortkomponenten von etwa 7 Stunden in der Studie von Liu et al. (2007) erklären. Für zukünftige Studien kann daraus resultierend die Verwendung einer Kombination aus Muscimol und SCH50911 vorgeschlagen werden, da sich so eine zeitlich begrenzte, reversible Deaktivierung der intracorticalen Verarbeitung erreichen lässt, was den Vergleich der Messungen vor, während und nach der Behandlung ermöglicht. Nichtsdestotrotz machen die Befunde dieser Arbeit deutlich, dass die Schlussfolgerungen aus bisherigen Studien, welche nur die Muscimol-Applikation genutzt haben, weiterhin als gültig anzusehen sind.

4.1.4 Spektrale Integration: Modellsystem der zeitlich präzisen Interaktion thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Eingänge

Anhand der präsentierten Ergebnisse zur räumlichen (laminaren) und zeitlichen Organisation synaptischer Eingänge im primären auditorischen Cortex wurde, in Kombination mit bestehenden physiologischen und anatomischen Modellen, eine vereinheitlichte funktionelle Modellvorstellung der beteiligten Eingangssysteme vorgeschlagen, welche die Integration verschiedener spektraler Eingänge ermöglicht (Happel et al., 2010b). In diesem Modell basiert die corticale Repräsentation des Energie-Spektrums akustischer Signale auf mindestens vier unterscheidbaren Eingangssystemen (siehe Abbildung 4.1). Dabei kooperieren verschiedene intracorticale Eingänge (lokal/weitreichend; überschwellig erregend/modulatorisch) mit den afferenten Eingängen in der folgenden Art und Weise: An einer spezifischen Stelle in AI terminieren breit abgestimmte thalamocorticale Eingänge aus dem vMGB ($\pm 3-4$ Oktaven, Abbildung 3.8) mit relativ ähnlichen synaptischen Stärken (Tabelle 3.1, Liu et al., 2007). Mit der spektralen Distanz zur BF werden die entsprechenden Eingänge durch eine geringere Synapsenanzahl etwas schwächer (Wang, 2007). Die stärksten afferenten Eingänge kommen entsprechend von vMGB-Neuronen mit gleicher BF (blaue Pfeile, Abbildung 4.1). Zwei orthogonal zueinander operierende intracorticale *Feedforward*-Systeme wurden zuvor beschrieben: (1) intrakolumnäre exzitatorische rekurrente Mikroschaltkreise zwischen den thalamocortical-rezipienten Neuronen und Neuronen (ohne afferente Eingänge) in Schicht II/III verstärken die überschwellig afferenten Eingänge. Je stärker der afferente Eingang, desto stärker die lokale Amplifizierung (grüne Kreise), so dass diese intracorticale Verschaltungsstruktur das corticale Abstimmverhalten verschärft (Liu et al., 2007). (2) Weitreichende horizontale Projektionen stellen (unterschwellige) spektrale Informationen außerhalb des afferenten Eingangsbereiches zur Verfügung (lange orange Pfeile Kaur et al., 2004; Metherate et al., 2005), welche entsprechend durch exzitatorische Synapsen erregende oder, durch Rekrutierung lokaler inhibitorischer Schaltkreise, funktionell-

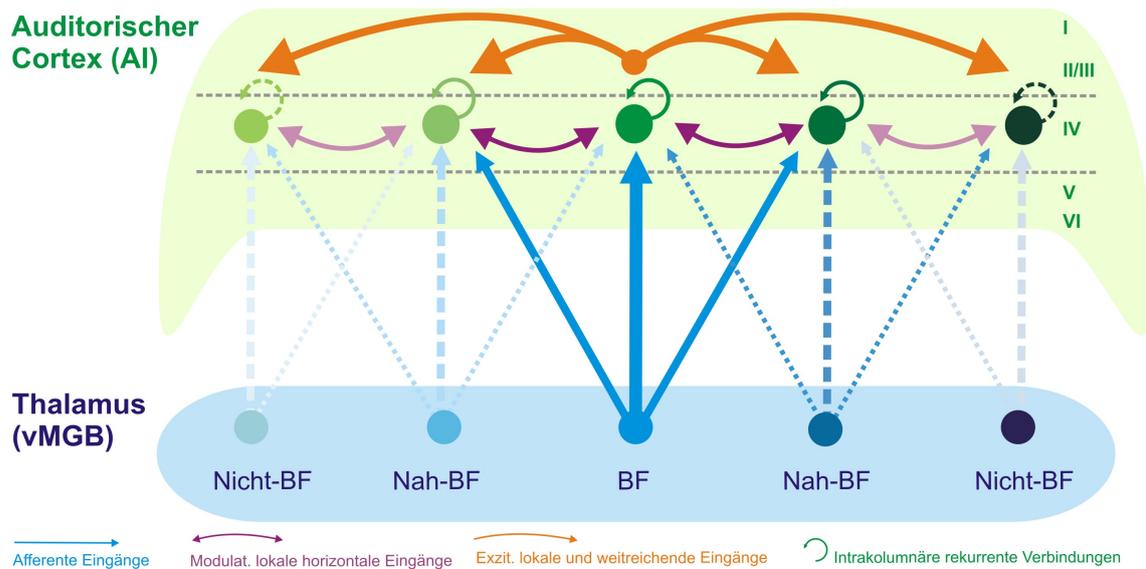


Abbildung 4.1: Vereinheitlichte funktionelle Modellvorstellung der spektralen Integration im primären auditorischen Cortex. Bei Stimulation mit der Bestfrequenz werden zunächst nur thalamocorticalen Synapsen aktiviert (blau). Durch intrakolumnäre rekurrente Exzitation über lokalen Mikroschaltkreise (grün) werden die Eingänge amplifiziert und die überschwellige Antwortstärke einer Kolumne definiert. Weitreichende horizontale Projektionen terminieren in den oberen Schichten und erlauben effektive Verschaltung topographisch organisierter spektraler Informationen über einen Großteil des audiblen Spektrums (lange orange Pfeile). Ein zusammenhängendes Netzwerk lokaler exzitatorischer und modulatorischer interkolumnärer Verschaltungen ermöglicht die Integration der Frequenz-Repräsentation verschiedener benachbarter corticaler Bereiche und kontrolliert die zeitlich präzisen interkolumnären Wechselwirkungen (orange und lila). Schlussendlich wird die spektrale Abstimmungscharfe (lokal) und die -bandbreite (global) im primären auditorischen Cortex durch die Interaktionen dieser (mindestens) vier verschiedenen Subsysteme bestimmt. Übernommen aus Happel et al. (2010b).

inhibitorische Wirkungen haben können (Kurt et al., 2008). Diese weitreichenden Projektionen erlauben eine effektive Verschaltung breiter spektraler Informationen der topographisch organisierten afferenten Eingänge, welche in den höheren Schichten (Senke S2) der angrenzenden corticalen Bereiche terminieren. In einer weiteren Studie konnten wir zeigen, dass diese weitreichenden Wirkungen, welche die spektrale Energie der Stimuli abseits der BF repräsentieren, weniger systematisch in ihrer Wirkung auf entferntere corticale Bereiche sind (Möller et al., 2010). Durch lokale mikroiontophoretische Applikation von GABA-Agonisten oder -Antagonisten konnten wir feststellen, dass weitreichende Verbindungen in AI unterschiedliche fazilitatorische, sowie inhibitorische Einflüsse auf entfernte Kolumnen haben können. Diese Effekte wurden auf Feldpotential- und auf Aktionspotential-Ebene beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit konnte zudem gezeigt werden, dass die beiden beschriebenen Systeme ergänzt werden durch Beiträge lokaler horizontaler Verschaltungen. Bei der Repräsentation spektraler Informationen nahe der BF konvergieren afferente Eingänge zeitlich hoch präzise mit horizontalen Eingängen aus den Nachbarbereichen (deren BF der Stimulationsfrequenz entspricht). Diese interkolumnären Wechselwirkungen zwischen den corticalen Eingangs-Schichten (lila Pfeile) modulieren die zeitliche Aktivierung der corticalen Nachbarbereiche entweder durch exzitatorisch-inhibitorische Wechselwirkungen (z.B. *Feedforward*-Inhibition oder „*balanced inhibition*“, Swadlow, 2002; Wehr & Zador, 2003) oder durch kombinatorische exzitatorische Eingänge (Razak & Fuzessery, 2008; Priebe & Ferster, 2008, Diskussion siehe oben). Daraus resultiert, dass das corticale spektrale Abstimmverhalten bestimmt wird durch lokale intracorticale Verbindungen innerhalb einer Kolumne (rekurrente Verstärkung), sowie zwischen Kolumnen (horizontale Verbindungen), die afferente Eingänge erhalten. Entsprechend führen thalamocorticale Eingänge, je nach Aktivierungsstärke, zu unterschiedlichen lokalen, wie auch weitreichenden Prozessen im Cortex, deren Wechselwirkungen die hoch aufgelösten spektralen Abstimmeigenschaften corticaler Neurone ermöglichen (Bitterman et al., 2008; Bandyopadhyay et al., 2010; Rothschild et al., 2010). All dies demonstriert, dass die komplexe funktionelle Organisation der intracorticalen Netzwerke im auditorischen Cortex eine weitreichende Modulation der prinzipiellen lokalen Antwortbereitschaft corticaler Bereiche erlaubt (siehe auch Haider & McCormick, 2009). Diese Art der Interkonnektivität stellt eine mögliche Grundlage für die corticale Prozessierung komplexer spektraler Energie-Verteilungen dar, welche in mehreren Regionen über das gesamte Areal des auditorischen Cortex hinweg analysiert und integriert werden müssen, wie dies beispielsweise im Zusammenhang mit der Stimulussegregation in sogenannten Cocktail-Party Situationen gezeigt wurde (Kurt et al., 2008).

4.2 Effekte der schichtspezifischen intracorticalen

Mikrostimulation

Die Aktivierung von Neuronen durch elektrische Felder basiert auf der Umpolarisation der Zellmembranen (Ranck, 1975). Dabei werden vornehmlich axonale Strukturen angeregt (Nowak & Bullier, 1998). Axone können so in der physiologischen Erregungsrichtung (orthodrom) oder entgegengesetzt (antidrom) angeregt werden (Godschalk et al., 1984). Für eine transsynaptische Weiterleitung der Anregung bedarf es der Stimulation mit höheren Stimulationsamplituden (z.B. $80 \mu\text{A}$, siehe Butovas et al., 2006; Histed et al., 2009). Welche potentiell unterschiedlichen Effekte die elektrische Reizung corticalen Gewebes mit solchen Stimulationsstärken auf die lokalen und weitreichenden Netzwerke hat, wird bislang kontrovers diskutiert (Chung & Ferster, 1998; Butovas et al., 2006; Tehovnik et al., 2006; Deliano et al., 2009; Histed et al., 2009; Logothetis et al., 2010). So konnten einige Studien nach ICMS weitreichende polysynaptische Aktivierungen über mehrere Millimeter Reichweite im Cortex feststellen (Butovas & Schwarz, 2003; Deliano et al., 2009), andere hingegen beschrieben eine Schicht-übergreifende Aktivierung inhibitorischer Netzwerke, welche die Aktionspotential-Generierung lokaler Neurone stark einschränkt (Chung & Ferster, 1998; Butovas et al., 2006) und so mögliche Ausgänge der lokalen corticalen Netzwerke stark minimieren könnte (Logothetis et al., 2010). Als Lösungsvorschlag dieser widersprüchlichen Befunde wurde zudem vorgeschlagen, dass die weitreichenden Anregungen corticaler Netzwerke nach ICMS auf der Rekrutierung subcorticaler Relay-Schaltkreise beruht, welche in weite Bereiche des Cortex zurückprojizieren (Tehovnik et al., 2005b, 2006; Logothetis et al., 2010).

Um die Beteiligung dieser verschiedenen neuronalen Netzwerke genauer zu untersuchen, wurde in dieser Arbeit die räumliche Spezifität der Stimulationsorte variiert. Mit Hilfe der CSD-Analyse konnten im Folgenden die postsynaptischen Effekte der schichtspezifischen ICMS, also der orthodromen, wie transsynaptischen Aktivierungen der corticalen Netzwerke mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung untersucht werden. Es zeigte sich, dass sich weitreichende corticale Areale mit lateralen

Reichweiten von mindestens 1.5 mm oder mehr am effektivsten durch Stimulation in den granulären Eingangsschichten anregen lassen (Abbildung 3.13). Diese laterale Ausbreitung der Erregung wurde durch die pharmakologische Deaktivierung stark eingeschränkt, woraus zu schlussfolgern ist, dass diese weitreichenden Aktivierungen auf der Anregung polysynaptischer, intracorticaler Netzwerke beruhen (Abbildung 3.15). Bei Stimulation der supragranulären Schichten wurde jedoch das lokale Netzwerk nicht entsprechend der physiologischen, crosslaminaren Kaskade angeregt (Abbildung 3.12). Intrazelluläre Ableitungen lokaler Neurone im visuellen Cortex haben gezeigt, dass es durch supragranuläre Mikrostimulation zu einer Schicht-übergreifenden Aktivierung inhibitorischer Netzwerke kommt Chung & Ferster (1998). Dies könnte die Aktionspotentialgenerierung in allen lokalen exzitatorischen Neuronen verhindern (z.B. durch Hyperpolarisation oder sogenannte Kurzschluss-Inhibition („*shunting inhibition*“) und so das Unterbleiben crosslaminarer Prozessierungen der lokalen Netzwerke sowie die deutlich abgeschwächte polysynaptische Weiterleitung innerhalb des Cortex im Vergleich zur granulären Stimulation erklären (siehe auch Logothetis et al., 2010). Die Beteiligung subcorticaler Schaltkreise wurde durch die corticale Deaktivierung untersucht. Innerhalb des Areals AI des primären auditorischen Cortex konnten nach der Deaktivierung signifikante Senkenkomponenten nur nach proximaler ICMS in den corticalen Eingangsschichten festgestellt werden (Abbildung 3.12). Zudem wurden diese robusten granulären Senken nur durch Stimulation in den infragranulären Schichten und etwas schwächer durch Stimulation in den granulären Schichten evoziert. Grundlegend könnten die robusten monosynaptischen Eingänge im Cortex nach der pharmakologischen Blockade polysynaptischer Erregungen auf verschiedenen Mechanismen beruhen. Aufgrund der Schicht-Abhängigkeit der Stimulation wurde die Hypothese aufgestellt (Abschnitt 3.3.3), dass diese robusten Aktivierungen auf einer effektiven Rekrutierung exzitatorischer corticothalamischer Projektionen basieren, welche im Thalamus zu einer ausreichend starken Aktivierung afferenter thalamocorticaler Projektionen führen, die zurück in die corticalen Eingangsschichten projizieren. Im Folgenden sollen die Argumente für diese Hypothese diskutiert werden.

4.2.1 Rekurrente corticothalamische Interaktionen als Ursprung lokaler corticaler Aktivierungsmuster

Durch Stimulation in den infragranulären Ausgangs-Schichten wurde nach der Deaktivierung die stärkste robuste Senke in den Eingangs-Schichten evoziert. Entsprechend sind die Axone der infragranulären Pyramidalneurone der wahrscheinlichste Vermittler dieser elektrisch evozierten monosynaptischen Eingänge. Einerseits könnten durch die Anregung der infragranulären Neurone die erwähnten rekurrenten Schleifen über subcorticale Relay-Stationen aktiviert worden sein. Da die infragranulären Neurone allerdings auch monosynaptische Verbindungen zu granulären Schichten über Axon-Kollateralen bilden, könnten die Erregungen auch auf intracorticale Fasern zurückzuführen sein. Für die ausschließliche Beteiligung direkter exzitatorischer rekurrenter corticothalamischer *Feedback*-Schleifen sprechen jedoch mehrere Überlegungen. Als wichtigstes Argument sollen die Latenzbezüge herangezogen werden. Die robuste Senke in den Eingangs-Schichten hat nach der corticalen Deaktivierung eine mittlere Onset-Latenz von 6.25 ± 1.55 ms und ist zudem unabhängig von der Stimulationstiefe (granulär/infragranulär; Abbildung 3.14). Die axonalen Leitungsgeschwindigkeiten im Cortex liegen allerdings im Bereich von 0.3 bis 5 mm/ms (Tsumoto & Suda, 1982; Luhmann et al., 1990). Entsprechend müssten monosynaptische Eingänge über Kollateralen, selbst wenn diese dünn und unmyelinisiert sind, im Abstand von 300 - 600 μm zur Ableitachse spätestens nach 2 ms auftreten. Im Gegensatz dazu konnten, basierend auf Latenz-Messungen im visuellen System von Katzen und Primaten, die Leitungsgeschwindigkeiten corticothalamocorticaler rekurrenter Interaktionen auf etwa 3.5 - 8 ms abgeschätzt werden (Tsumoto & Suda, 1978; Sillito & Jones, 2002; Briggs & Usrey, 2007). Des Weiteren konnten *in vivo*-Studien im auditorischen thalamocorticalen System zeigen, dass die beteiligten rekurrenten Verbindungen zumindest teilweise direkt exzitatorische Wirkungen vermitteln, da die elektrische Stimulation corticothalamischer Fasern in den Neuronen des vMGB fast ausschließlich EPSPs generieren (He et al., 2002; Yu et al., 2004).

Um die vorgeschlagenen rekurrenten Schleifen zu realisieren, müssten die corticothalamischen *Feedback*-Projektionen entsprechend lokal zu einer überschweligen Aktivierung der Neurone im korrespondierenden Teil des vMGB sorgen. Als entscheidendes anatomisches Kriterium, ob eine corticothalamische Projektion direkt überschwellige Anregungen vermitteln kann (*driver*) oder modulatorischen (*modulator*) Charakter hat, wurde die Größe der synaptischen Terminalien herangezogen (Rouiller & Welker, 2000; Guillery & Sherman, 2002). Dabei wird den Schicht V-Pyramidalneuronen, aufgrund ihrer großen Terminalien ($\varnothing = 2-6 \mu\text{m}$, Ojima, 1994; Rouiller & Welker, 2000; Rouiller & Durif, 2004) auf den proximalen Dendriten thalamischer Neurone, vornehmlich die Vermittlung direkt anregender, starker EPSPs zugeschrieben (Yu et al., 2004; Winer et al., 2005), während Pyramidalneurone aus Schicht VI mit kleineren Terminalien ($\varnothing = 1 \mu\text{m}$, Ojima, 1994; Rouiller & Welker, 2000; Rouiller & Durif, 2004) weitgehend modulatorische Einflüsse auf thalamischer Ebene haben (Ojima, 1994; He et al., 1997; Zhang et al., 2004; Winer et al., 2005). Zwar existieren Studien, welche keine direkten Schicht-V-Projektionen aus AI im vMGB nachweisen konnten (Llano & Sherman, 2008). Doch zeigen andere Studien, dass, neben Spezies-spezifischen Unterschieden, Schicht-V-Projektionen aus AI in Randbereiche des vMGB und des dorsalen Anteiles des MGB projizieren (Rouiller & Durif, 2004). Entscheidend dürfte sein, dass im hier verwendeten Tiermodell, dem Mongolischen Gerbil, die synaptischen Terminalien der corticothalamischen Projektionen im vMGB aus AI alle Größenvariationen von 1 bis 6 μm aufweisen (Budinger et al., 2006), auch wenn die großen Endigungen ($>4 \mu\text{m}$) in Übereinstimmung mit der Literatur weniger zahlreich sind (Rouiller & Welker, 2000). Anhand anatomischer Gesichtspunkte ist eine überschwellige Anregung der Neurone im lemniskalen Thalamus durch corticothalamische Projektionen der korrespondierenden corticalen Bereiche in AI demnach zulässig.

Aufgrund der Dicke der myelinisierten und vertikal orientierten Axone haben die Schicht V-Neurone einen niedrigen Schwellenwert für die elektrische Anregung durch ICMS (Tehovnik et al., 2005b). Entsprechend zeigte auch die infragranuläre Stimulation die effektivste Rekrutierung der rekurrenten Schleifen und daraus resultierender

thalamocorticaler Eingänge. Diese cortico-thalamocorticalen Schleifen könnten zusätzlich durch eine hoch synchrone Anregung der Axone modulatorischer Schicht VI-Neurone verstärkt worden sein, da auch diese Neurone ebenfalls in präzise räumliche Wechselwirkungen zwischen Cortex und Thalamus eingebunden sind (West et al., 2006). Durch die artifizielle Stimulation mit Einzelpulsen könnte sogar die hoch synchrone Aktivierung eigentlich modulatorischer corticothalamischer Transmission in eine direkt anregende transformiert werden (Hefti & Smith, 2000; Bruno & Sakmann, 2006).

Weiterhin kann auch der Vergleich der Onset-Latenzen vor und nach der Deaktivierung herangezogen werden, um die Beteiligung corticothalamischer *Feedback*-Schleifen plausibel zu machen. Im unbehandelten Cortex war die Onset-Latenz der persistenten Senke nach granulärer ICMS (2.5 ± 0.5 ms) signifikant kürzer, als nach der Deaktivierung (Abbildung 3.14). Entsprechend wurden durch die granuläre ICMS schnellere polysynaptische Eingänge zusätzlich zum rekurrenten thalamocorticalen Eingang aktiviert (synaptische Verzögerung im Cortex: 0.8-1 ms/Synapse; Tsumoto & Suda, 1982). Bei Stimulation in den tiefen Schichten scheint dieser intracorticale Pfad in der Form nicht angeregt zu werden, da die Onset-Latenzen vor und nach der Deaktivierung sich nicht signifikant unterscheiden (Abbildung 3.14). Dabei ist zu beachten, dass die Ausbreitung und Richtung elektrisch evozierte Aktivitäten vielmehr von den Mustern der axonalen Verknüpfungen und der verteilten synaptischen Kontakte abhängen, als vom passiven Stromfluss (Tehovnik et al., 2005b; Histed et al., 2009). Entsprechend zeigte die signifikant reduzierte laterale transsynaptische Ausbreitung elektrisch evozierter Antworten nach der Deaktivierung (Abbildung 3.15), dass die Ausbreitung im Cortex über exzitatorische horizontale Fasersysteme am effektivsten durch Stimulation der Eingangsschichten rekrutiert wurde, welche eben solche starken lateralen Faser-Verbindungen zu Nachbarkolumnen beinhalten (Budinger et al., 2000a; Thomson & Bannister, 2003; Thomson, 2005). Im Gegensatz dazu entspringen infragranulären Pyramidalneuronen corticofugale, und vor allem starke corticothalamische Projektionen (Rouiller & Welker, 2000; Cappe et al., 2007), welche durch lokale elektrische Anregung eine direkte rekurrente Exzi-

tation thalamocorticaler Projektionen in Schicht IV initiieren. Nach Stimulation in supragranulären Schichten hingegen konnten lokal die corticalen Mikroschaltkreise nicht aktiviert werden, was vermutlich auf eine Schicht-übergreifende Aktivierung lokaler inhibitorischer Interneurone zurückzuführen ist, wie dies nach oberflächiger Stimulation zuvor gezeigt wurde (Chung & Ferster, 1998).

Die hier vorgestellten Befunde weisen entsprechend die Existenz eines direkten rekurrenten erregenden Schaltkreises zwischen dem primären auditorischen Cortex und spezifischen Bereichen des Thalamus nach, welcher seit Längerem kontrovers diskutiert wurde (Crick & Koch, 1998; Cappe et al., 2009; Tehovnik & Slocum, 2009; Lee & Murray Sherman, 2010; Zhou et al., 2010). Obwohl darauf hingewiesen wurde, dass eine solche direkte gegenseitige Erregung theoretisch zu unkontrollierten Oszillationen führen könnte (Crick & Koch, 1998), so können diese durch lokale inhibitorische Schaltkreise kontrolliert (Lamme et al., 1998) oder durch entsprechende Refraktärperioden interagierender Neurone verhindert werden (Freeman, 2000a). Ein solcher Schaltkreis würde jedoch den Vorteil einer lokalen Amplifikation corticaler Aktivierungen erlauben, welche räumlich hoch strukturiert und unabhängig von der Rekrutierung von *Bottom-up*-Eingängen verlaufen kann, sowie unabhängig von weitreichenden intracorticalen *Feedforward*-Projektionen ist. Entsprechend zeigte auch die Auswertung des Schicht-Symmetrie-Index, dass durch Rekrutierung infragranulärer Schaltkreise die lokale corticale Aktivierung verstärkt wird, ohne weitreichende Projektionen stärker zu aktivieren (siehe Abschnitt 3.3.4.1). Auf diese Weise scheinen im Cortex die *Feedback*- und *Feedforward*-Systeme durch die schichtspezifische Organisation unabhängig voneinander modulierbar zu sein (siehe Abbildung 4.2).

4.3 Perzeptuelle Effekte der intracorticalen

Mikrostimulation

Die elektrische Reizung corticalen Gewebes ist eine traditionelle Methode der Neurowissenschaften, um kausale Zusammenhänge zwischen neuronaler Aktivität und der Generierung von Perzepten oder bestimmten Verhaltensweisen abzuleiten (Co-

funktionieren (Troyk et al., 2003). Vielmehr ist bislang immer noch unklar, welche funktionellen Schaltkreise tatsächlich der Generierung elektrisch evozierter Perzepte unterliegen (siehe hierzu auch die Ergebnisse von Libet et al., 1967, , Abschnitt 4.3.2.2). Die komplexe bidirektionale corticale Netzwerkarchitektur bedingt, dass die elektrische Reizung im Cortex Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen lokalen und weitreichenden corticalen und subcorticalen Netzwerken evoziert (Butovas & Schwarz, 2003; Tehovnik et al., 2006; Deliano et al., 2009; Histed et al., 2009). Entsprechend konnten Studien zeigen, dass die perzeptuellen Schwellenwerte, die Antwort-Latenzen auf ICMS, sowie die Chronaxie, also die Zeitdauer eines Reizes zur Evozierung eines Perzeptes, stark abhängig von der corticalen Tiefe der Stimulation sind (DeYoe et al., 2005; Tehovnik et al., 2005a; Tehovnik & Slocum, 2009). Dadurch entfachten kontroverse Diskussionen darüber, ob die elektrische Evozierung von Perzepten auf der Aktivierung rein corticaler *Feedforward*-Systeme oder auf der Rekrutierung corticofugaler *Feedback*-Systeme beruht (Bartlett et al., 2005; DeYoe et al., 2005; Tehovnik & Slocum, 2009; Logothetis et al., 2010).

Im zweiten Teil dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich diese beiden Projektionssysteme, intracorticale *Feedforward*- und corticothalamische *Feedback*-Schaltkreise, aufgrund der unterschiedlichen vertikalen und horizontalen anatomischen Organisation tatsächlich durch schichtspezifische ICMS präferenziell anregen lassen. In den folgenden Verhaltensexperimenten zeigte sich, dass diese Subsysteme unterschiedliche Beiträge zur elektrischen Evozierung von Perzepten liefern. In Kombination zeigen die Daten, dass die Aktivierung lokaler rekurrenter cortico-thalamocorticaler Wechselwirkungen den hauptsächlichen Beitrag zur Detektierbarkeit und perzeptuellen Verwertbarkeit der corticalen Stimulation liefert.

4.3.1 Rekurrente corticothalamische Interaktionen als Grundlage der Perzeption

Die biologischen Grundlagen der Perzeption werden traditionell als corticozentrisch angesehen, wobei der Thalamus klassischerweise als Vorschaltstelle und Filter einge-

hender sensorischer Informationen angesehen wird. Sensorische Informationen werden dabei im Cortex weiter ausgewertet, integriert und führen schließlich zur Wahrnehmung (zur Übersicht siehe Parvizi, 2009). Allerdings zeigen Studien der letzten Jahre in verschiedenen Spezies und sensorischen Modalitäten, dass die Funktion primärer thalamischer Kerne und primärer sensorischer Cortices nicht als eine ausschließlich unidirektionale Verschaltung sensorischer Information angesehen werden kann (Alitto & Usrey, 2003; Sillito et al., 2006; Briggs & Usrey, 2008). Vielmehr sind die Kerne des Thalamus eingebettet in ein dynamisches corticothalamisches Netzwerk, welches die Analyse und die Abstimmung der corticalen Eingangsinformationen hinsichtlich der Veränderungen der externen Umgebung (*Bottom-up*: Ghazanfar et al., 2001; Andolina et al., 2007; Briggs & Usrey, 2008), sowie der Variationen interner Verhaltenszustände (*Top-down*: Fanselow et al., 2001; Nicolelis & Fanselow, 2002; McAlonan et al., 2008) ermöglicht. Wie eingangs erläutert, unterteilt man dabei bislang zwei Kategorien der corticothalamischen *Feedback*-Prozessierung (Abschnitt 1.1.2). So können corticothalamische *Feedback*-Einflüsse einerseits selektiv die Antwortigenschaften thalamischer Neurone auf eingehende sensorische Informationen spezifizieren (Zhang et al., 1997; Ghazanfar et al., 2001), sowie andererseits die thalamocorticale Transmission verstärken und dadurch lokale corticale Antworten in Abhängigkeit auf vorherige Stimuli modulieren (Alitto & Usrey, 2003; Andolina et al., 2007). Vor allem die zweite Kategorie vereinheitlicht verschiedene Mechanismen der wechselseitigen Beeinflussung von Cortex und Thalamus. So konnte gezeigt werden, dass direkte *Feedback*-Interaktionen die Reliabilität afferenter Eingänge durch eine Reduzierung der zeitlichen Variation der thalamocorticalen Transmission erhöhen (He, 1997; Wörgötter et al., 1998). Ebenso werden wechselseitige hochfrequente oszillatorische Aktivitäten in thalamocorticalen Kreisläufen initiiert, moduliert oder synchronisiert (Barth & MacDonald, 1996; Llinas & Steriade, 2006), was diskutiert wurde im Zusammenhang mit Vigilanz-Kontrolle (Destexhe, 2000), raumzeitlicher corticaler Musterbildung durch corticale und thalamische Inhibition (Llinas et al., 1999), sowie corticaler synaptischer Kurzzeit-Gedächtnis-Mechanismen (Froemke et al., 2007).

Zwar spricht man der corticothalamischen *Feedback*-Prozessierung grundlegend modulatorischen Charakter zu (Briggs & Usrey, 2008), doch die tatsächlichen zellulären und Netzwerk-Mechanismen, welchen die zuvor genannten Prozesse zu Grunde liegen, sind bislang wenig verstanden. Im Gegensatz zu klassischen *Feedback*-Mechanismen, welche auf der Richtung der Modulation beruhen (Felleman & Van Essen, 1991), implizieren die in dieser Arbeit beschriebenen direkten und überschweligen exzitatorischen corticothalamischen Projektionen einen unterschiedlichen Mechanismus. Dieser ermöglicht durch die bidirektionale überschwellige Anregung eine rekurrente Interaktion zwischen Cortex und Thalamus. Die artifizielle Anregung dieses Schaltkreises ausgehend vom Cortex zeigt zudem, dass solche rekurrenten Wechselwirkungen zwischen neuronalen Gruppen ohne definierte Eingangs- und Ausgangs-Seite aktiviert werden können, was sie von klassischen *Feedback*-Modulationen unterscheidet, welche durch eine einseitige modulatorische Wirkung auf die Eingangsseite charakterisiert sind (vergleiche auch Edelman, 1993). Wie im vorherigen Abschnitt diskutiert, erlauben die lokalen rekurrenten exzitatorischen corticothalamischen Schaltkreise, eine raumzeitliche Organisation der Aktivitätsmuster durch eine Wiedereinführung neuronaler Informationen in die lokale corticale Prozessierung (Abschnitt 4.2.1). Basierend auf der Wiedereinführung der Ausgangs-Informationen aus infragranulären Schichten in die corticalen Eingangsschichten, können so die corticalen Anaktivierungen lokal amplifiziert werden (Abschnitt 3.3.4.1). Diese Form der corticalen Amplifizierung über rekurrente Wiedereinführung besteht entsprechend unabhängig zu den im ersten Teil beschriebenen intrakolumnären Verstärkerschaltkreisen zwischen granulären und supragranulären Schichten (Abschnitt 4.1.2). Die hier beschriebenen exzitatorischen rekurrenten corticothalamischen Schaltkreise erlauben eine unmittelbare Adaption des momentanen corticalen Prozessierungsstatus hinsichtlich der externen, wie internen Einflüsse, wie dies in dem oben skizzierten Modell corticothalamischer Modulationen vorgeschlagen wurden.

Dass diese rekurrenten corticothalamischen Interaktionen tatsächlich eine tragende Rolle bei der Anpassungsfähigkeit corticaler Aktivierungsmuster im Verhaltenskon-

text spielen, konnte anhand der psychometrischen Analyse der Detektionsleistung der schichtspezifisch applizierten ICMS überprüft werden. Die Verhaltensexperimente zeigten, dass eine bedeutungsvolle Interpretation elektrischer Stimuli generell nur dann möglich erscheint, wenn die evozierten corticalen Muster, welche anhand der CSD-Analyse bestimmt wurden, die physiologische crosslaminare Aktivierung der lokalen corticalen Mikroschaltkreise widerspiegelt (vergleiche Abbildung 3.12 und 3.2). Die Detektionssensitivität der ICMS, gemessen anhand des d' -Wertes, war entsprechend nach granulärer und infragranulärer Stimulation signifikant höher, als nach Stimulation der oberen Schichten. Des Weiteren nahm die Detektionssensitivität nach infragranulärer Stimulation mit niedrigeren Stromamplituden zu, als nach granulärer Stimulation (Abbildung 3.22). Elektrophysiologisch korrelierte dies mit einer stärkeren lokalen Rekrutierung exzitatorischer corticothalamischer Interaktionen (Abschnitt 3.3.3). Eine Aktivierung weitreichender interkolumnärer Schaltkreise allein führte zu keiner detektierbaren, perzeptuell interpretierbaren Aktivierung, wenn die rekurrenten *Feedback*-Schleifen gänzlich umgangen wurden, wie nach supragranulärer Stimulation (vergleiche Abbildung 3.13 und 3.20). Darüber hinaus ermöglichte die richtungsselektive Anregung der vertikalen Fasersysteme im Cortex in corticofugaler Richtung (IK-BP-ICMS) die effektivste Evozierung von detektierbaren Perzepten (Vergleiche Schwellenwerte nach infragranulärer MP-ICMS: $35.60 \pm 2.88 \mu\text{A}$; IK-BP-ICMS: $20.50 \pm 5.60 \mu\text{A}$; Abbildung 3.22). Entsprechend lässt sich aus den Befunden dieser Arbeit herleiten, dass die verhaltensrelevanten und perzeptuell interpretierbaren corticalen Aktivierungsmuster durch die Rekrutierung der lokalen exzitatorischen corticothalamischen Schaltkreise entstanden, während die Anregung polysynaptischer weitreichender *Feedforward*-Netzwerke die Stimulusdetektion nicht verstärken konnten.

Doch wie gliedern sich diese lokalen rekurrenten Schaltkreise in die bestehende Vorstellung corticothalamischer *Feedback*-Prozessierung ein und welchen möglichen mechanistischen Erklärungen liegt die Verbesserung des perzeptuellen Lernens zu Grunde? Die rekurrente Wiedereinführung der corticalen Aktivierung erlaubt es, die initiale Anregung im Cortex zeitlich länger aufrecht erhalten zu können. Auf diese

Weise wird das Zusammenwirken zeitlich versetzter Eingänge ermöglicht, was die corticale Responsivität („*cortical gain*“) lokal erhöhen und *Feedforward*-Information im Sinne der synaptischen Übertragung zu assoziativen postsynaptischen Zellensembles verstärken könnte (Fuster, 2003; Froemke et al., 2007). Corticothalamische Modulationen regulieren zudem die zeitliche Synchronisation der thalamocorticalen Transmission (He, 1997; Wörgötter et al., 1998). Die lokalen wechselseitigen Interaktionen zwischen Cortex und Thalamus könnten so an der Initiierung und Synchronisation thalamocorticaler Rhythmen beteiligt sein und erlauben diese tatsächlich räumlich zu modulieren (Barth & MacDonald, 1996). Solche lokalisierten Modulationen der hochfrequenten Rhythmen scheinen auch an der Erzeugung sogenannter corticaler „*Up-states*“ beteiligt zu sein (McCormick et al., 2003; Harris, 2005). Corticale „*Up-states*“ basieren weitgehend auf verstärkt synchronen synaptischen Aktivitäten in rekurrenten Netzwerken, die das Ruhemembranpotential aller beteiligter Zellen modulieren können (Steriade, 2001; McCormick et al., 2003; McCormick & Yuste, 2006). Da diese Zustände erhöhter corticaler Responsivität im Zusammenhang mit höher kognitiven Prozessen diskutiert werden (Dehaene et al., 2003; Changeux & Michel, 2006), könnte die Generierung bedeutungsrelevanter Perzepte durch rekurrente corticothalamische Schaltkreise tatsächlich für deren Beteiligung an der Generierung corticaler „*Up-states*“ sprechen. Zudem wurde erst kürzlich vorgeschlagen, dass die tiefen Schichten des Cortex eine tragende Rolle bei der Generierung der corticalen „*Up-states*“ spielen (Harris et al., 2010; Saleem et al., 2010).

Basierend auf diesen Überlegungen scheint es fraglich, ob die ursprünglich getroffene Unterscheidung von modulatorischen und direkt exzitatorischen Wirkungen funktionell-anatomischen Kriterien überhaupt standhält (vergleiche auch Hefti & Smith, 2000), wie dies oft vorgeschlagen wird (siehe zum Beispiel Sherman & Guillery, 2002; Cappe et al., 2009). So legen die Ergebnisse dieser Arbeit nahe, dass corticothalamische Projektionen nicht ausschließlich klassische *Feedback*-Modulationen thalamischer Neurone vermitteln, sondern dynamische cortico-thalamocorticale Wechselwirkungen initiieren können, die direkte bidirektionale Einflüsse auf die Feuerraten thalamischer, wie corticaler Neurone erlauben. Die gleichen neuronalen Schalt-

kreise könnten durch eine feinere und ausgewogenere Balance zwischen Exzitation und Inhibition auch lediglich die Sensitivität der beteiligten Neurone modulieren. Diese Modellvorstellung erweitert entsprechend die bestehenden Kategorien cortico-thalamischer Prozessierung und betont zudem die dynamische und adaptive Natur der Interaktion zwischen Cortex und Thalamus.

4.3.1.1 Dualität im sensorischen Cortex

Die beschriebenen rekurrenten Schaltkreise zwischen Cortex und Thalamus beeinflussen durch ihre lokale Architektur vornehmlich die intrakolumnäre corticale Prozessierung, wie dies anhand der elektrophysiologischen Charakterisierung der relativen Residuen der CSD gezeigt wurde (Abschnitt 3.3.4). Dennoch kommen auch den weitreichenden horizontalen Netzwerken im Cortex wichtige Funktionen bei der Stimulusdetektion und -diskrimination zu (Lamme et al., 1998; Deliano et al., 2009). Um eine Detektions- oder Diskriminationsaufgabe zu bewerkstelligen, müssen die Informationen, welche die corticalen Bereiche erreichen, in einen Verhaltenskontext eingebunden und entsprechend ausgewertet werden (Scheich et al., 2006). So wurde gezeigt, dass durch die corticale Deaktivierung des auditorischen Cortex bei Ratten das Detektions- und Diskriminationsverhalten auf akustische Reize unterbunden werden kann (Talwar et al., 2001; Gerstein et al., 2002). Entsprechend müssen die lokalen Aktivierungen corticaler Netzwerke nachfolgende Auslese-Mechanismen rekrutieren, welche weitreichende horizontale intraareale (Callaway, 2004; Deliano et al., 2009; Adesnik & Scanziani, 2010) und interareale (Lamme & Roelfsema, 2000), sowie transthalamische (Theyel et al., 2010) *Feedforward*-Prozessierungssysteme involvieren. Entsprechend könnten die rekurrenten corticothalamischen Schaltkreise die lokalen Prozessierungen im Cortex durch die Wiedereinführung von Ausgangsinformationen effektiv in globalere dynamische Wechselwirkungen mit verteilten Auslese-Netzwerken, welche auf anderen Hirnsystemen und nachgeschalteten Assoziationsarealen, inklusive dem Präfrontalen Cortex, aufbauen, einbinden (Stark et al., 2001; Rothe et al., 2009). Durch diese schichtspezifischen Schaltkreise könnten lokale Prozesse im Cortex in globale corticale Aktivierungsmuster eingebunden

werden, welche im Zusammenhang mit kognitiven Funktionen, wie Aufmerksamkeit und Gedächtnis, für das assoziative Detektionslernen notwendig sind (Edelman, 1993; Dehaene et al., 2003).

In Kombination mit anderen Studien legen diese Befunde nahe, dass die lokalen rekurrenten corticothalamischen Schaltkreise - ausgehend von den tiefen Schichten - die Enkodierung der Information auf corticaler Ebene massgeblich beeinflussen, während die horizontalen globaleren Netzwerke - ausgehend von höheren Schichten - für die dekodierenden Prozessierungen eine zentrale Rolle spielen (Deliano et al., 2009; Adesnik & Scanziani, 2010). Eine solche „orthogonale“ Organisation der schichtspezifischen corticalen Verarbeitung könnte einer Interferenz der corticalen Eingangs-Verarbeitung und folgender Auslese- und Integrationsmechanismen entgegenwirken (siehe auch Abbildung 4.2). Ein verwandtes Problem auf theoretischer Ebene ist die Implementierung neuronaler Netzwerke zur Modellierung perzeptueller Lernprozesse. Klassischerweise unterscheidet man zwei Klassen von Netzwerkstrategien, welche entweder die Eingangs-Informationen adaptieren (*Feedback*-basierte Netzwerke) oder die Ausgangs-Informationen anpassen (*Feedforward*-basierte Netzwerke). Bislang ist jedoch unklar, wie sich Netzwerke so adaptieren können, dass sich bereits enkodierte Prozesse weiterhin repräsentieren und auslesen lassen, wenn neue Inhalte hinzukommen. Als Lösungsansatz wurden hier Netzwerk-Architekturen vorgeschlagen, welche durch rekurrente Prozessierung eine Aufrechterhaltung von Eingangs-Information gewährleisten, da solche Architekturen die biologischen Netzwerke tatsächlich besser reflektieren (Tsodyks & Gilbert, 2004). Abgeleitet aus dieser Hypothese könnte eine Trennung von Verarbeitungshierarchien durch orthogonale Prozessierungen in den gleichen corticalen Modulen auch einen möglichen Lösungsansatz für das eingangs formulierte „Dualitätsproblem sensorischer Cortices“ erlauben (siehe Abschnitt 1.1.2, Scheich et al., 2006). Ob die Integration von *Bottom-up*- und *Top-down*-Signalen im Cortex tatsächlich durch eine solche Trennung von Eingangs- und Ausgangs-Prozessierung basierend auf der orthogonalen Organisation schichtspezifischer horizontaler und vertikaler Schaltkreise gewährleistet wird, muss durch weitere experimentelle Befunde geklärt werden (siehe hierzu Abschnitt 4.4).

Allerdings schlägt eine aktuelle Studie von Adesnik & Scanziani (2010) tatsächlich vor, dass eine Integration Kontext-spezifischer Informationen im Cortex durch kompetitive Wechselwirkungen horizontaler Netzwerke entsteht, welche die Aktivität der lokalen corticalen Ausgangs-Schaltkreise in schichtspezifischer Weise modulieren. Anhand der hier vorgestellten Befunde konnte die zentrale Rolle rekurrenter cortico-thalamischer Schaltkreise für die Generierung raumzeitlich hoch strukturierter corticaler Erregungen und deren perzeptuelle Relevanz herausgearbeitet werden. Entsprechend ließen sich die raumzeitlichen Aktivierungsmuster lokaler Schaltkreise im sensorischen Cortex mit Mustern der Wahrnehmung und Perzeption korrelieren. Die hier beschriebene rekurrente Signalverarbeitung stellt auch einen zentralen Mechanismus in den selektionistischen Modellen der Funktionsweise des Cortex dar, welchen die von Edelman (1987) formulierte „Neuronale Gruppierungs-Selektionstheorie“ zu Grunde liegt. Edelman betont dabei, dass nur durch die Rekurrenz von Information in einem Netzwerk, raumzeitliche Muster generiert werden können, die letztendlich die perzeptuelle Kategorisierung erlauben. Dabei betont Edelman allerdings, dass diese rekurrenten Netzwerke sich nicht auf einzelne sensorische Areale beschränken, welche anschließend eventuelle exekutive Reaktionen initiieren, sondern dass die rekurrenten Verschaltungen viele verschiedene sensorische und motorische Karten miteinander in Verbindung bringen, was er als „*global mappings*“ bezeichnet hat (Edelman, 1993). Diese Idee ist in Einklang mit Ergebnissen aus dem visuellen System, welche zeigen, dass Hierarchie-übergreifende rekurrente Verarbeitungen notwendig sind, bevor Stimuluseigenschaften gruppiert und wahrgenommen werden können (Lamme & Roelfsema, 2000). Entsprechend zeigen auch die hier vorgestellten Befunde, dass rekurrente Interaktionen zwischen Cortex und Thalamus an der Generierung spezifischer Perzepte beteiligt sind. Die rekurrente Signalverarbeitung resultierte in einer lokalen Verstärkung der corticalen Aktivierungen, so dass die schichtspezifischen Schaltkreise die Generierung bedeutungsrelevanter Muster erlauben, welche auch auf einer Art topologischem Prinzip auf der Ebene des primären sensorischen Cortex basieren, welches sich aber aufgrund der Integration interner Prozesse durch die rekurrenten Interaktionen von der klassischen *Bottom-*

up-vermittelten corticalen Topographie physikalischer Reizparameter unterscheidet. Diese Hypothese ist in Einklang mit aktuellen Befunden von Atencio et al. (2009); Atencio & Schreiner (2010), welche ebenfalls schichtspezifische Unterschiede topographischer Abbildungen im primären auditorischen Cortex vorschlagen und die Generierung nicht-linearer Antworteneigenschaften durch schichtspezifische Prozessierung im Cortex erklären (Ehret, 2009). Perzeptuelle Kategorisierungen könnten so tatsächlich auf der erwähnten „orthogonalen“ Organisation corticaler *Bottom-up* und *Top-down*-Netzwerke beruhen, welche durch die hier erstmals nachgewiesene Existenz überschwelliger rekurrenter corticothalamischer Schleifen ermöglicht werden könnte. Aufgrund der Diversität der folgenden Auslese-Mechanismen (intracorticale, sowie transthalamische Netzwerke) ist diese Form der relationalen Topologie auf der Ebene des primären sensorischen Cortex im Einklang mit der grundlegenden Vorstellung eines nicht-lokalisierten, verteilten „kognitiven neuronalen Codes“ (Freeman, 2000b; Fuster, 2003).

4.3.2 Implikationen für medizintechnische Anwendungen

4.3.2.1 Thalamocorticale Dysrhythmien

Die sensorischen Cortices und primären thalamischen Kerne sind durch komplexe Schaltkreise miteinander verbunden, deren wechselseitige Beeinflussungen für die perzeptuelle Verarbeitung sensorischer Informationen entscheidend ist. Ein Ungleichgewicht dieses dynamischen Wechselspiels zwischen Cortex und Thalamus kann entsprechend dramatische Auswirkungen haben. Eine bislang wenig verstandene, aber dennoch für einige Krankheitsbilder relevante pathologische Ursache, sind sogenannte thalamocorticale Dysrhythmien, welche sich durch eine verminderte Synchronisation hochfrequenter Oszillationen zwischen Cortex und Thalamus auszeichnen und entsprechend mit sensorischen oder kognitiven Einbußen verbunden sind (Llinas et al., 1998). Diese Form des Ungleichgewichtes wurde mit verschiedenen neurologischen Defiziten, wie Morbus Parkinson, Tinnitus, Epilepsie und Depression in Zusammenhang gebracht (Llinas et al., 1998, 1999; Llinas & Steriade, 2006).

Als Ursache solcher Dysrhythmien wird ein Ungleichgewicht lokaler inhibitorischer Schaltkreise auf thalamischer, oder auf corticaler Ebene verantwortlich gemacht. So schlagen Llinas und Kollegen vor, dass ein lokales Ungleichgewicht exzitatorischer und inhibitorischer Eingänge, zum Beispiel durch Deafferenzierung spezifischer Eingänge, die dynamischen thalamocorticalen Wechselwirkungen dramatisch beeinflussen kann. Es wird vermutet, dass deafferenzierte Bereiche im Cortex durch Reorganisation des Netzwerkes vornehmlich verstärkte exzitatorische Eingänge aus corticalen Nachbarbereichen erhalten, welche so der verminderten Aktivierung durch Sensitivierung der Neurone entgegenwirken (Llinas & Steriade, 2006). So reagieren die Neurone in den deafferenzierten Bereichen nicht mehr sensitiv auf die eigentlichen afferenten Eingänge, werden aber durch die afferenten Eingänge der Nachbarbereiche mit angeregt, was im Einklang mit den Ergebnissen des ersten Teils dieser Arbeit ist. Es bilden sich so Übergangsbereiche, welche durch verminderte laterale inhibitorische Wechselwirkungen ausgeprägt sind und in denen abnorme neuronale Oszillationen entstehen können (Llinas et al., 1998; Llinas & Steriade, 2006).

Ein hierfür oft herangezogenes Beispiel ist Tinnitus. Tinnitus kann initial beispielsweise durch eine Zerstörung von Haarsinneszellen in der Peripherie ausgelöst werden. Die daraus resultierende Deafferenzierung kann sich dann durch eben solche Reorganisationen im thalamocorticalen System zentralisiert manifestieren (Eggermont, 2003). Die Hypothese, dass eine Disinhibition der deafferenzierten Bereiche die Perception eines Tones ohne äußeren Reiz verursacht, wird gestützt durch Befunde die zeigen, dass Tinnitus vorübergehend durch Präsentation bestimmter Maskierungsreize vermindert werden kann (Eggermont & Roberts, 2004). Diese Idee wurde zur Entwicklung einer neuen Klangtherapie gegen Tinnitus auf der Grundlage dieser lateralen Wechselwirkungen und der Plastizität des auditorischen Cortex genutzt (Okamoto et al., 2010; Wilson et al., 2010). Dabei kann eine nachhaltige Verbesserung subjektiver Tinnitus-Eindrücke erreicht werden, indem Patienten über Monate hinweg Musik hören, deren spektrale Zusammensetzung um genau die Tinnitusfrequenzen reduziert wurde, um der lateralen Disinhibition auf die deafferenzierten Bereiche im Cortex durch kompetitive Erregungen der Nachbarbereiche entgegen-

zuwirken. Eine weitere Methode zur Behandlung von Tinnitus versucht die pathologischen Auffälligkeiten der hochfrequenten Rhythmen im auditorischen Cortex bei Tinnitus durch corticale Elektrostimulation auszugleichen (van der Loo et al., 2009; Llinas, 2010). Durch Reizung der Bereiche des Hörcortex, welche topographisch benachbarten Frequenzen zum auftretenden Tinnitus entsprechen (De Ridder et al., 2006, 2007), könnte die hoch synchrone Aktivierung corticaler Netzwerke eine Art Zurücksetzen thalamocorticaler Dysrhythmien erlauben (Llinas & Steriade, 2006; Llinas, 2010). Dadurch könnten die lateralen Effekte zwischen intakten und deafferenzierten Bereichen diese wieder stärker synchronisieren und so der verminderten lateralen Inhibition entgegenwirken (Llinas, 2010).

Die Befunde dieser Arbeit zeigen, dass eine solche therapeutische Wirkung der corticalen Stimulation auf thalamocorticale Dysrhythmien vornehmlich nach Stimulation der tieferen Ausgangs-Schichten zu erwarten sein sollte. Des Weiteren finden sich bei Tinnitus zumeist nur sehr lokale deafferenzierte Bereiche, so dass die plastische Reorganisationen bei der Behandlung durch Elektrostimulation ebenfalls so lokal wie möglich vorgenommen werden sollten. Entsprechend könnten bipolare Applikationsformen in den tiefen Schichten zur möglichst fokalen, und richtungsselektiven Anregung corticothalamischer *Feedback*-Schaltkreise bei der therapeutischen Behandlung Vorteile bieten im Gegensatz zu den bislang verwendeten monopolaren Reizen, welche vornehmlich in den höheren Schichten appliziert werden (De Ridder et al., 2006). Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen zudem vermuten, dass die bisherigen therapeutischen Effekte nach Stimulation der oberen corticalen Schichten eher auf der transienten Anregung lokaler inhibitorischer Netzwerke basieren (siehe Abschnitt 4.2.1) und nicht auf der von Llinas vorgeschlagenen Re-Synchronisation thalamocorticaler Rhythmien.

4.3.2.2 Entwicklung sensorischer Cortexprothesen

Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern ein grundlegend neues Verständnis der funktionellen Schaltkreise, welche der Generierung elektrisch evozierter Perzepte nach direkter corticaler Stimulation unterliegen. Im Rahmen der Befunde lassen sich so auch bishe-

rige Probleme und Limitationen bei der Entwicklung sensorischer Cortexprothesen erklären und neue Lösungsansätze vorschlagen. Bislang wurde versucht den Verlust peripherer sensorischer Informationen durch direkte Stimulation corticaler distinkter topographisch organisierter Netzwerke zu ersetzen, welche spezifische physikalische Stimulusparameter repräsentieren. Dabei wurde zumeist auf die Stimulation der corticalen Eingangsschichten abgezielt, um die entsprechenden corticalen *Feedforward*-Systeme anzuregen. Doch dieser klassische, rein corticale Kodierungsansatz ist weitgehend daran gescheitert, dass sich so keine entsprechend zuverlässigen und kontrollierten Perzepte evozieren lassen (Troyk et al., 2003). Zwar konnten tierexperimentelle, wie humane Studien zeigen, dass die Generierung distinkter und unterscheidbarer Perzepte durch eine möglichst fokale Anregung verbessert werden kann (Schmidt et al., 1996; Romo et al., 2000; Tehovnik et al., 2005b; Leal-Campanario et al., 2006), dennoch besteht weiterhin das Problem, dass selbst mit kleinen Stimulationsamplituden weite Bereiche im Cortex aktiviert werden können (Butovas & Schwarz, 2003; Deliano et al., 2009) und zumeist nur unspezifische und stereotype perzeptuelle Eindrücke generiert werden (Masse & Cook, 2010; Selimbeyoglu & Parvizi, 2010). Entsprechend weisen die Befunde dieser Arbeit darauf hin, dass die Stimulation der corticalen Eingangsschichten eine fokale Anregung corticaler Netzwerke gar nicht erlaubt und entsprechend nachfolgende neuronale Interaktionen stärker stört (auch durch mögliche Anregung weitreichender inhibitorischer Netzwerke; Butovas et al., 2006), welche eine Transformation der lokalen corticalen Aktivierungen in globalere und perzeptuell interpretierbare Muster erlaubt.

Berücksichtigt man die dynamischen corticothalamischen Interaktionen, welche sich durch die schichtspezifische Applikationen in den tiefen Schichten anregen lassen, so könnte die effektivere Generierung von perzeptuellen Eindrücken zwei entscheidenden Vorteilen zu Grunde liegen: zum einen erlaubt die Anregung rekurrenter Schaltkreise räumlich hoch präzise corticale Aktivierungsmuster. Zum anderen können durch die rekurrenten Prozessierungen die folgenden corticalen Auslese-Mechanismen aufgrund der zeitlich verlängerten Aktivierung effektiver bedient werden. Diese Idee geht darauf zurück, dass eine Limitation der Evozierung von Perzepten durch cor-

ticale Stimulation die Dauer des elektrischen Reizes ist. Rein corticale Stimulationsansätze sorgen im corticalen Netzwerk nicht für eine ausreichende Amplifikation und Aufrechterhaltung der Erregung. So haben Experimente von Libet gezeigt, dass perzeptuelle Eindrücke nach oberflächiger ICMS im somatosensorischen Cortex beim Menschen erst bei Stimulationspulsdauern von etwa 500 ms auftreten (Libet, 1965; Libet et al., 1967). Nutzt man periphere elektrische Stimuli, so reichen Zeitdauern unter 100 ms aus, um von Probanden wahrgenommen zu werden. Allerdings korrelieren diese dann auch mit entsprechenden EEG-Aktivitäten von mindestens 500 ms, was Libet als den sogenannten „*Cortical Time-on*“-Faktor beschrieb (Libet et al., 1967). Daraus hat Libet (2004) abgeleitet, dass es auf subcorticaler Ebene zu einer Informationstransformation kommt, welche die neuronalen Informationen durch rekurrente Verarbeitung ausreichend verstärken. Die hier vorgestellten Versuche zeigen, dass mit schichtspezifischer infragranulärer ICMS corticothalamische rekurrente exzitatorische Schaltkreise angeregt werden können, welche eine ähnliche Informationstransformation der corticalen Antworten erlauben könnten.

Die passiven Kodierungsansätze für corticale Neuroprothesen leiteten sich letztendlich aus Stimulationsstrategien für periphere und subcorticale sensorische Stationen ab, welche eine ausreichende Integration und Konvergenz von *Bottom-up*- und *Top-down*-Prozessen vor der corticalen Prozessierung erlauben. Doch bei direkter Stimulation des Cortex selbst negiert der passive Kodierungsansatz den Fakt, dass im Cortex nicht ausschließlich nur die physikalischen Stimulusparameter repräsentiert werden (siehe Abschnitt 4.3, sowie Ohl et al., 2001; Scheich et al., 2007). In diesem Zusammenhang könnte die Wiedereinspeisung neuronaler Information in die lokale corticale Prozessierung über rekurrente exzitatorische corticothalamische Kreisläufe die oben erwähnten relationalen Topologien sensorischer Cortices ausnutzen, anstatt die klassischen *Bottom-up*-vermittelten Repräsentation physikalischer Reizparameter zur Perzeptkontrolle zu nutzen. Die durch infragranuläre Stimulation erreichten raumzeitlich hoch strukturierten und vor allem lokalen Aktivierungsmuster im sensorischen Cortex (siehe Abschnitt 3.3.4.1) könnten eine effektivere Ausnutzung der topographischen Repräsentationen und die Generierung differenzierter Perzepte

erlauben, welche nicht nur für das Detektionslernen elektrischer Stimuli von Bedeutung sein könnten. In diesem Sinne unterstreichen die Befunde die Kritik an dem reinen „corticalen Kodierungs-Ansatz“ als Grundlage neuroprothetischer Applikationen (Masse & Cook, 2010). Ansätze der rekurrenten Anregung, wie hier vorgeschlagen, sind in der aktuellen Literatur zu humanen Anwendungen sensorischer Cortexprouthesen bislang nicht diskutiert worden (zur Übersicht siehe Selimbeyoglu & Parvizi, 2010).

Schlussendlich basieren prothetische Applikationen grundsätzlich auf der Fähigkeit des Gehirns, die neuartigen, artifiziellen Aktivierungsmuster zu interpretieren und ihnen eine Bedeutungshaftigkeit zuzuordnen (Jackson et al., 2006; Fitzsimmons et al., 2007; Deliano et al., 2009). Entsprechend sind plastische Reorganisationen zur bedeutungsrelevanten Interpretation sensorischer Substitutionen im Generellen (Bach-y Rita, 1990) und für direkte corticale Stimulation im Speziellen notwendig (Fernandez et al., 2005). Längerfristige corticale Stimulationen verursachen eine Reorganisation corticaler topographischer Karten beruhend auf einer Balance zwischen lokalen, wie globalen exzitatorischen und inhibitorischen Mechanismen (Kalarickal & Marshall, 2002; Benali et al., 2008). So verursachen längere ICMS-Perioden (>2 Stunden) in granulären Schichten des somatosensorischen Cortex der Ratte eine massive Verbreiterung der corticalen Repräsentationen der stimulierten Bereiche (Benali et al., 2008). Entsprechend könnten die deutlich fokaleren Aktivierungsmuster nach infragranulärer Stimulation auch die Verbesserung von Lernprozesse, aufgrund einer Aufrechterhaltung und Ausnutzung bestehender topographischer Karten im Cortex, erlauben. Die tragende Rolle cortico-thalamocorticaler Interaktionen für die effektive Etablierung perzeptueller Lernprozesse verdeutlicht zudem auch die dynamische und plastische Anpassungsfähigkeit der corticofugalen *Feedback*-Prozessierungen mit subcorticalen Strukturen (Suga et al., 2003; Yan et al., 2005; Bajo et al., 2010).

4.4 Abschließende Beurteilung und Ausblick

In dieser Arbeit konnte deutlich gemacht werden, dass lokale Aktivitäten im primären sensorischen Cortex durch topographisch geprägte raumzeitliche Muster charakterisiert sind, welche durch ein dynamisches Wechselspiel aus eingehenden *Bottom-up*- und *Top-down*-Informationen beeinflusst werden können. Durch die elektrophysiologische Charakterisierung der mesoskopischen Funktionsweise der Mikroarchitektur corticaler Netzwerke anhand der Analyse laminarer CSD-Profile konnten Prozessierungen in schichtspezifischen Schaltkreisen beschrieben werden, welche die physikalischen Reizparameter repräsentieren, sowie spezifische perzeptuell interpretierbare, bedeutungsrelevante Muster organisieren. Dabei konnten vor allem zwei neue Mechanismen corticaler Prozessierungen beschrieben werden. Im ersten Teil wurde dargelegt, dass die anatomische Organisation des auditorischen thalamocorticalen Systems eine strikte Arbeitsteilung thalamocorticaler und intracorticaler Eingangssysteme für die hoch aufgelöste Repräsentation spektraler Reizparameter im auditorischen Cortex nicht zulässt. Durch die methodische Kombination von pharmakologischer corticaler Deaktivierung und einer neuen Form der vergleichenden laminaren CSD- und Residualanalyse konnte die Interaktionen beider Eingangssysteme auf funktionell-anatomischer Ebene untersucht und so Rückschlüsse auf die räumliche und zeitliche Organisation der thalamocorticalen und intracorticalen synaptischen Populationen auf den Dendritenbäumen der Pyramidalneuronen gewonnen werden. Die vorgestellten Ergebnisse konnten erstmals aufzeigen, dass Nah-BF-Informationen (± 2 Oktaven) an corticalen Bereichen durch eine zeitlich präzise Konvergenz thalamocorticaler und lokaler horizontaler Eingänge in den granulären Eingangsschichten integriert werden. Dabei tragen intrakolumnäre Schaltkreise zur Verstärkung afferenter Eingänge bei, wohingegen horizontale interkolumnäre Prozesse durch eine Balance an erregenden und hemmenden Einflüssen eine zeitlich präzise Abstimmung der lokalen Verstärkermechanismen der Nachbarkolumnen vermitteln. Im zweiten und dritten Teil konnten, durch Erweiterung des methodischen Spektrums um funktionelle Elektrostimulation in Kombination mit Verhaltens-

perimenten, die bislang ungeklärten funktionellen Schaltkreise aufgedeckt werden, welche der Generierung durch ICMS evozierter Perzepte unterliegen. Dabei konnte ein bislang kontrovers diskutierter Schaltkreis nachgewiesen werden, der eine direkte rekurrente Exzitation in lokalen corticothalamischen Schleifen erlaubt. Dieser Schaltkreis ermöglicht einen Mechanismus, welcher die bisherigen Vorstellungen corticothalamischer Modulationen erweitert. Es konnte gezeigt werden, dass die bidirektionale Interaktion zwischen Cortex und Thalamus eine Wiedereinführung („*re-entrance*“) lokaler corticaler Ausgangs-Informationen ermöglicht und so eine dynamische Verknüpfung der Eingangs- und Ausgangs-Verarbeitung corticaler Mikroschaltkreise erreicht wird. Diese rekurrente Informationsprozessierung scheint indes an der Generierung perzeptuell bedeutungsrelevanter corticaler Aktivierungsmuster beteiligt zu sein, wie aus den Detektionsexperimenten geschlussfolgert werden konnte.

Die Arbeit verdeutlicht, dass die neuronale Phänomenologie einer bedeutungsrelevanten, neuronalen Information, beziehungsweise Perzeption, nicht auf der Aktivierung eines isolierten corticalen Areales beruht, sondern dazu eine dynamische und nachhaltige Interaktion verschiedener *Feedforward*- und *Feedback*-Prozesse zwischen Arealen, sowie intrinsischer Kreisläufe notwendig ist (Sigman et al., 2005). In wie fern dabei die beschriebene „orthogonale“ Organisation der lokalen vertikalen und der globaleren horizontalen Schaltkreise tatsächlich die vorgeschlagene funktionelle Trennung der *Bottom-up*- und *Top-down*-Prozessierung erlaubt, muß durch weitere experimentelle Ansätze überprüft werden. Des Weiteren wurde betont, dass bedeutungsrelevante Informationen durch die konnektive Architektur des corticalen Netzwerkes kodiert werden. Entsprechend müssen plastische Prozesse im Cortex, welche im Zuge der durch Lernprozesse initiierten Reorganisationen vonstatten gehen, eben diese Mikroarchitektur modular anpassen. Um diese Fragestellungen eingehender zu untersuchen, bieten sich verschiedene geeignete Versuchsansätze an.

So sollen zukünftige Experimente vor allem zwei konkrete Fragestellungen verfolgen: Zum einen soll die Relevanz infragranulärer Schaltkreise und die Rolle der beschriebenen corticothalamischen Schleifen bei der Generierung bedeutungsrelevanter corticaler Aktivierungsmuster auch bei physiologisch (akustisch) evozierten Aktivitäten

nachgewiesen werden. Elektrophysiologisch ließe sich dieser Schaltkreis möglicherweise durch pharmakologische Applikation eines Dopamin-Agonisten aufdecken, wodurch Kontext-abhängige *Top-down*-Signale im sensorischen Cortex simuliert werden können. Dies legt eine Studie nahe, in welcher gezeigt werden konnte, dass sich durch intracorticale Applikation eines Dopamin-Agonisten Lerneffekte direkt nach einmaliger Behandlung verstärken lassen (Schicknick et al., 2008). Tatsächlich scheint dieser Mechanismus vornehmlich auf der Beeinflussung der infragranulären Pyramidalneurone zu beruhen, welche die höchste Dichte der corticalen Dopaminrezeptoren im primären auditorischen Cortex präsentieren (Schicknick et al., 2008). Entsprechend könnte durch eine elektrophysiologische Charakterisierung des Dopamineffekts auf die Prozessierung der intracorticalen Mikroschaltkreise die Funktion der infragranulären Schaltkreise weiter aufgedeckt werden. Durch eine anschließende Kombination elektrophysiologischer und verhaltensexperimenteller Methoden sollen die eigens entwickelten Multikanal-Schaftelektroden chronisch in primären Arealen des Cortex implantiert werden und die Prozesse der Reorganisationen der Mikroarchitektur durch tatsächliche Lernprozesse anhand der CSD-Charakteristiken dokumentiert werden. Wie in Abschnitt 3.1.5 gezeigt, lässt die Methode der CSD- und Residualanalyse eine Trennung der Beiträge „orthogonaler“ Prozessierungssysteme zu, so dass eventuelle Anpassungen der horizontalen, sowie vertikalen Schaltkreise im Lernkontext differenziert ausgewertet werden könnten. Solche schichtspezifischen Reorganisationen lokaler corticaler Schaltkreise im Lernkontext würden die tragende Rolle der crosslaminaeren corticalen Prozessierung für die Transformation der *Bottom-up*-Information in einen internalen Kode reflektieren (siehe auch Ehret, 2009). Eine solche Anpassung würde zudem dem hier vorgeschlagenen Konzept der relationalen Topologie bedeutungsrelevanter Inhalte in globaleren corticalen Karten entsprechen („*global mappings*“, siehe Edelman, 1993).

Weiterhin sollen durch spezifische Manipulationen an einzelnen Stellen der hier beschriebenen corticothalamischen Schaltkreise die neuronalen Grundlagen perzeptueller Lernprozesse genauer untersucht werden. Zum einen sollen die auditorischen Kerne des Thalamus durch chemische Mikroläsionen mit zytotoxischen Konzentrationen

von NMDA oder Ibotensäure zerstört werden (Luhmann et al., 1990; McCabe et al., 1993). Entsprechend der in dieser Arbeit herausgearbeiteten Befunde, sollte sich die Tiefenabhängigkeit der Detektionsleistung nach elektrischer Stimulation aufgrund der Unterbindung der lokalen Wiedereinführung corticaler Ausgangs-Informationen, signifikant verringern. Des Weiteren sollen die corticalen Anteile dieser corticothalamischen Schleifen selektiv inaktiviert werden, was durch eine zellspezifische Apoptose der infragranulären Pyramidalneurone erreicht werden kann, welche in die auditorischen Teile des Thalamus projizieren. Eine solche zellspezifische Manipulation des corticalen Netzwerkes kann durch eine Laser-induzierte Neurodegeneration erreicht werden. Die Methode basiert dabei auf der photolytischen Aktivierung einer retrograd transportierten Substanz (Bajo et al., 2010), welche entsprechend in die thalamischen Kerne injiziert werden müsste. In diesem Tiermodell könnten durch Charakterisierung der Defizite des perzeptuellen Lernens in Verhaltensexperimenten (Detektion, Diskrimination) die genauere Funktion der rekurrenten Schaltkreise auf bestimmte Lernphasen ermöglicht werden. Diese Ergebnisse hätten weitreichende Implikationen dafür, wie grundlegend plastische Prozesse im Cortex im Zuge komplexer Lernstrategien auf einer intakten Kommunikation mit den entsprechenden Thalamuskernen beruhen.

A Anhang

A.1 Materialien und Geräte

Geräte	Hersteller
Messplätze	
Mikroelektrodenverstärker	FHC Inc., Bowdoinham, Maine, USA
Audio-Analysator	FHC Inc., Bowdoinham, Maine, USA
Impedanzwandler HST/16o25 oder HST/32o25	Plexon Inc., Dallas, Texas, USA
Vorverstärker PBX/32sp/32fp	Plexon Inc., Dallas, Texas, USA
Multichannel Acquisition Processor	Plexon Inc., Dallas, Texas, USA
Signalprozessor-Karte NI-DAQ	National Instruments, Austin, Texas, USA
Lab Standard™ Stereotaxic Instrument + Binokular OPmi-1	Stoelting Co., Wood Dale, Illinois, USA Carl Zeiss AG, Jena, Deutschland
Piezomanipulator PM10	Märzhäuser Wetzlar GmbH & Co. KG, Wetzlar-Steindorf, Deutschland
Frequenzgenerator HP33120A	Agilent Technologies, Palo Alto, California, USA
Stimulator MCS STG2000	MCS GmbH, Reutlingen, Deutschland
Oszilloskop HM407-2	HAMEG Instruments GmbH, Mainhausen, Deutschland
Abschwächer	g.PAH, Guger Technologies, Graz, Österreich
Freifeldlautsprecher Lambda Nova Classic	STAX Limited, Japan
Verstärker SRM-3	STAX Limited, Japan
Kondensatormikrophon 4133 1/2	Bruel & Kjaer, Nærum, Dänemark
Meßverstärker 2610	Bruel & Kjaer, Nærum, Dänemark
Isolierter Puls-Stimulator Modell 2100	A-M Systems, Carlsborg, USA
Shuttle-Box	Hasomed, Magdeburg, Germany
Wärmeplatte MH 6616	Electrothermal Engineering Ltd., Southend on Sea, Essex, England
Gleichstromtemperaturkontrollmodul & Heizdecke	FHC Inc., Bowdoinham, Maine, USA

Materialien	Hersteller
Chirurgische Vorbereitung und Narkose	
Elektrolyt-Infusionslösung 77 mit Glucose 5	Serum-Werk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland
Gelastypt D1/2	Hoechst AG, Frankfurt am Main, Deutschland
Gingicain D	Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland
Halothane	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Insektennadeln 0,3 mm	Emil Arlt, Wien, Österreich
Ketamin-ratiopharm 500mg/10ml Injektionslös.	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
NaCl 0.9% 10ml Injektionslös.	B. Braun AG, Melsungen, Deutschland
Neo-Kodan	Schülke + Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Rompun 2% 25ml Injektionslösung	Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland
Paladur	Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland
Sugi REF 31603	Kettenbach GmbH & Co.KG, Eschenburg, Deutschland
T61	Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland
Halothan Verdampfer	Dräger Medical AG & Co. KGaA, Lübeck
Handbohrer GG12	PROXXON GmbH, Niersbach, Deutschland
Histologische Aufarbeitung	
Cryotom CM3050 S	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland
Binokular M420	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland

Materialien	Hersteller
Histologische Aufarbeitung	
Wild Microscope	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland
Mikroskop Leitz DMRXE	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland
CCD-Kamera FA 87 digital	Grundig Intermedia GmbH, Nürnberg Deutschland
Digitalkamera FinePix S2Pro	Fujifilm Photo Film (Europe) GmbH, Düsseldorf, Deutschland
Pharmakologische Experimente	
Muscimol M1523-10MG	SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
SCH-50911	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, New Jersey
Elektrodenbau	
EpoxyLite T1100S	INDUSTRIA M. Oberländer Ingenieur- gesellschaft mbH & Co. KG, Stuttgart, Deutschland
FIMO soft	Eberhardt Faber GmbH, Herstedt, Deutschland
Fotostrip	Tesa AG, Hamburg, Deutschland
PTFE-Chemieschlauch 0.3x0.76 gmm	Reichelt Chemietechnik GmbH, Heidelberg, Deutschland
Pin-Kontakte 1.5 mm ²	Amphenol, Wallingford, Connecticut, USA
Steckverbindingssystem Rastermaß 1.25 mm	Molex Holding GmbH, München, Deutschland
Wolfram-Elektrode	World Precision Instruments, Berlin, Deutschland
Teflon-isolierter Stahldraht, $\varnothing=25\mu\text{m}$	FHC Inc., Bowdoinham, Maine, USA
Teflon-isolierter Stahldraht, $\varnothing=50\mu\text{m}$	California Fine Wire, Grover Beach, USA
Spezialquetschzange	Molex Holding GmbH, München, Deutschland

A.2 Protokolle

A.2.1 Nissl-Färbung

1. Gegenfärbung mit Kresylviolett

0.05M Natriumacetatpuffer 5 min

0.5% Kresylviolett 5 min

2. Differenzieren und Entwässern

0,05M Natriumacetatpuffer 3 min

50% Ethanol 2 min

70% Ethanol 2 min

95% Ethanol 2 min

3. Klären der Schnitte

Isopropanol:96% Ethanol (2:1) 2 x 5min

Roticlear 3 x 5min

4. Eindeckeln mit Merkgolass

Verwendete Lösungen:

0.05M Natriumacetatpuffer: 6.8 g Natriumacetat in 1 l Aqua dest. lösen und den pH-Wert mit Eisessig auf 4-4.2 einstellen.

0.5% Kresylviolett: 0.5 g Kresylviolett in 100 ml 0.05 M Natriumacetatpuffer lösen.

A.2.2 Berliner Blau-Färbung

1. Färbung im Wärmeschrank

0.05M Natriumacetatpuffer 5 min

Aqua dest. 10min

Berliner-Blau-Lösung 10 min

0.1 M Phosphatpuffer 2 x 10 min

Aqua dest. 3 x 5 min

2. Eindeckeln mit Merkgolass

Verwendete Lösungen:

Berliner-Blau-Lösung: 2 g Kaliumhexacyanoferrat(II)-3-hydrat in 200ml 1% Salzsäure lösen.

0.1M Phosphatpuffer: 8.544 g Natriumdihydrogenphosphat-2-Hydrat und 1.92g Kaliumdihydrogenphosphat in 200 ml Aqua dest. lösen und mit Natriumhydroxid auf pH 7.4 einstellen.

A.3 Abkürzungsverzeichnis

Abk.	Bedeutung
A	Stimulationsamplitude
AAF	anteriores auditorisches Feld
ACx	Auditorischer Cortex
AI	Zentrales Feld im primären auditorischen Cortex
AVREC	gemittelte gleichgerichtete Strom-Quellen-Dichte (englisch: <i>Averaged rectified current-source-density</i>)
BF	Bestfrequenz
BP-ICMS	Bipolare intracorticale Mikrostimulation
BW	Bandbreite
CF	Charakteristische Frequenz
CR	Konditionierte Antwort
CS	Konditionierter Stimulus
CSD	Strom-Quellen-Dichte (englisch: <i>current-source-density</i>)
dB SPL	Schalldruckpegel in Dezibel (englisch: <i>Sound Pressure Level</i>)
DG	Gyrus dentatus des Hippocampus
DP	dorso-posteriores Feld im primären auditorischen Cortex
EC	Capsula externa
ED ₅₀	mittlere effektive Dosis
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potential
FD	Fluoreszin-markiertes Dextran
GABA	γ -Aminobuttersäure
HC	Hippocampus-Formation
hf	hochfrequent
IA, IK, SA, SK	Konfigurationen der BP-ICMS, s. Seite 90
IC	Capsula interna
icv	Vena cerebri inferior
ICMS	Intracorticale Microstimulation
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
IPI	Inter-Phasen-Intervall
ISI	Inter-Stimulus-Intervall
kHz	Kilo-Hertz
lf	niedersfrequent
LFP	lokales Feldpotential

Abk.	Bedeutung
mca	Arteria cerebri media
vMGB	ventraler Teil des Medialen Geniculatum
MP-ICMS	Monopolare intracorticale Mikrostimulation
NaCl	Natrium-Chlorid
Nah-BF	Nah-Bestfrequenz
Nicht-BF	Nicht-Bestfrequenz
PD	Phasendauer
Q1-Q3	akustisch evozierte Quellen
rmANOVA	Varianzanalyse mit Meßwiederholungen (englisch: <i>repeated measures ANOVA</i>)
ROI	<i>Region of interest</i>
S1-S3, iS1	akustisch evozierte Senken
SEM	Standard-Fehler (englisch <i>standard error of mean</i>)
SG, G, IG	elektrisch evozierte Senken
SD	Standardabweichung
SSIdx	Schicht-Symmetrie-Index
TIDDC	Thallium-Diethyldithiocarbamat
TMRD	Tetra-Methylrhodamin-markiertes Dextran
US	Unkonditionierter Stimulus
VP	Ventro-posteriore Feld im primären auditorischen Cortex

Stichwortverzeichnis

- '*Cortical Time-on*'-Faktor, 127
'*fast-spiking cells*', 99
- Adaptive Filter-Theorie, 8
- Berliner Blau-Reaktion, 36, 62
- Bestfrequenz, 10, 43, 105
- Charakteristische Frequenz, 10
- Cortex
- Feedforward/Feedback*, 2, 7, 105, 110
 - Feedforward-Inhibition*, 99, 107
 - '*Up-states*', 119
 - '*balanced inhibition*', 99, 107
 - '*shunting inhibition*', 72, 109
 - auditorisch, 10, 95, 105
 - Deaktivierung, 3, 16, 35, 42, 59, 103, 120
 - Dualitätsproblem, 10, 121
 - Leitungsgeschwindigkeit, 71, 110
 - Mikroarchitektur, 5, 102
 - Schichtung, 62
 - thalamocortical, 5, 12, 42, 48, 64, 96
 - Topographie, 1, 10, 123
 - visuell, 100
 - Corticothalamischer *Feedback*, 7, 76, 77, 110, 115, 123
 - Rekurrente Schleifen, 9, 19, 71, 84, 110, 118, 130
 - Crosslaminare Prozessierung, 45, 102, 118
 - CSD, *siehe* Strom-Quellen-Dichte
 - Detektionslernen, 37, 84, 121
 - Schichtabhängigkeit, 86
 - Dopamin, 131
 - Egozentrische Selektion, 8
 - Histochemie, 36, 62
 - Intracorticale Mikrostimulation, 27, 66, 108
 - bipolar, 89, 118, 125
 - Perzeption, 17, 84, 113, 125
 - Isofrequenzkolumne, 11, 58, 95
 - Kant, 1

Konditionierte Reaktion, CS^+ , 37, 85
 lokales Feldpotential, 22, 29, 55
 Mediales Geniculatum, ventral; (vMGB),
 9, 45, 71, 95, 105, 110
 Mongolische Wüstenrennmaus (*Meriones
 unguiculatus*), 10
 Multikanal-Schaftelektrode, 22
 Muscimol, 35, 59, 103
 Neuronale Gruppierungs-Selektions-Theorie,
 122
 Neuroprothesen
 cortical, 17, 126
 Orientierungsselektivität, 100
 Platon, 1, 93
 Psychometrische Analyse, 39, 85, 118
 d'-Wert, 39, 87, 118
 Schwellenwertbestimmung, 40, 86
 Pyramidalneuron, 6, 29, 44, 65, 99, 110,
 111
 Schicht-Symmetrie-Index; *SSIdx*, 81, 113
 Spektrale Integration, 13, 95, 105
 Antwortbandbreite, 59, 104
 Laminare Organisation, 49, 97
 Stimulationen-Array, 23, 66, 89
 Strom-Quellen-Dichte, 29
 relative Residuen, 34, 54, 77
 akustisch, 42
 AVREC, 33, 54, 77
 elektrisch, 66
 Interpretation, 31, 98
 Stromquelle, 29
 Stromsenke, 29
 Thalamocorticale Dysrhythmie, 123
 Thalamus, 6, 7, 109, 115
 Thallium-Autometallographie, 62, 103
 Tinnitus, 123
 Tonotopie, 10, 45, 95
 Transmembranstrom, 29
 Transsynaptische Aktivierung, 72, 77, 108
 Unkonditionierter Stimulus, *US*, 37

Abbildungsverzeichnis

1.1	Die funktionelle Organisation der kanonischen corticalen Mikroarchitektur	6
1.2	Funktionelle Organisation des auditorischen Cortex der Mongolischen Wüstenrennmaus	11
1.3	Spektrale Integration als Modellmechanismus für lokale und weitreichende corticale Verabreichung	14
2.1	Multikanal-Schaftelektrode	23
2.2	Design der Tiefen-Elektroden-Arrays für die intracorticale Mikrostimulation	24
2.3	Einzelpuls-Stimulusparameter der corticalen Mikrostimulation	28
2.4	Strom-Quellen-Dichte-Verteilungen und Rückschlüsse auf die Lokalisation synaptischer Aktivitäten	32
3.1	Zeitlicher Verlauf der Deaktivierung intracorticaler Beiträge Ton-evozierter laminarer CSD-Profilen	44
3.2	Separierung thalamocorticaler und intracorticaler Beiträge zum Ton-evozierten laminaren CSD-Profil	47
3.3	Quantitativer Vergleich der Effekte beider Deaktivierungsmethoden auf die granuläre Senke	50
3.4	Laminare Verarbeitung konvergierender thalamocorticaler und intracorticaler synaptischer Populationen	52

3.5	Analyse der zeitlichen Struktur horizontaler Eingänge anhand absoluter und relativer Ladungsverschiebungen	56
3.6	Quantitative Auswertung der Onset-Latenzen der AVREC und relativen Residuen	57
3.7	Generatoren verschiedener zeitlicher AVREC-Komponenten	60
3.8	Reduzierte Antwortbandbreite nach corticaler Deaktivierung	61
3.9	Histochemische Analyse der Positionierung der implantierten Ableit- und Stimulations-Elektroden	63
3.10	Statistische Auswertung der corticalen Deaktivierung anhand von reduzierter Thallium-Aufnahme	65
3.11	Schematische Übersicht des Experimentaldesigns	67
3.12	Trennung intracorticaler polysynaptischer und monosynaptischer Eingänge nach proximaler ICMS	69
3.13	Rekrutierung weitreichender intracorticaler polysynaptischer Eingänge nach schichtspezifischer ICMS	73
3.14	Quantitative Analyse der evozierten CSD-Verteilungen nach proximaler oder distaler schichtspezifischer ICMS	75
3.15	Rekrutierung lokaler rekurrenter corticofugaler Schaltkreise durch infragranuläre ICMS	78
3.16	Vergleich der AVREC und relativen Residuen der CSD erlaubt Trennung lokaler und weitreichender synaptischer Beiträge elektrisch evozierter Antworten	80
3.17	Schicht-Symmetrie-Index (<i>SSIdx</i>) proximaler und distaler Aktivierungen	83
3.18	Beispiel der Bestimmung des Detektionsschwellenwertes der d'-Funktion auf Einzeltier-Basis	85
3.19	Initiale Lernkurve nach schichtspezifischer Stimulation mit überschweligen Reizen (80 μ A)	87
3.20	Psychometrische Analyse der Detektionsleistung nach monopolarer Stimulation	88

3.21 Psychometrische Analyse der Detektionsleistung nach bipolarer Stimulation	90
3.22 Psychometrische Analyse der perzeptuellen Schwellenwerte der verschiedenen Stimulationskonfigurationen	91
4.1 Vereinheitlichte funktionelle Modellvorstellung der spektralen Integration im primären auditorischen Cortex	106
4.2 Separierung lokaler und weitreichender Schaltkreise im Cortex und Thalamus durch schichtspezifische ICMS	114

Tabellenverzeichnis

2.1	Block-Design der Verhaltensexperimente	39
3.1	Vergleich der mittleren Peak-Amplituden und der relativen Reduktion der granulären Senke und der korrespondierenden Quellen	49
3.2	Histologische Populations-Analyse der corticalen Schichtdicken	64

Literaturverzeichnis

- Adesnik, H. & Scanziani, M. Lateral competition for cortical space by layer-specific horizontal circuits. *Nature*, Band 464(7292): 1155–1160, 2010.
- Ahmed, B., Anderson, J., Martin, K., & Nelson, J. Map of the synapses onto layer 4 basket cells of the primary visual cortex of the cat. *J.Comp.Neurol.*, Band 380(2): 230–242, 1997.
- Alitto, H. & Usrey, W. Corticothalamic feedback and sensory processing. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 13(4): 440–445, 2003.
- Anderson, J., Carandini, M., & Ferster, D. Orientation tuning of input conductance, excitation, and inhibition in cat primary visual cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 84(2): 909–926, 2000.
- Andolina, I., Jones, H., Wang, W., & Sillito, A. Corticothalamic feedback enhances stimulus response precision in the visual system. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 104(5): 1685–1690, 2007.
- Arieli, A., Sterkin, A., Grinvald, A., & Aertsen, A. Dynamics of ongoing activity: explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science*, Band 273(5283): 1868–1871, 1996.
- Atencio, C. & Schreiner, C. Laminar diversity of dynamic sound processing in cat primary auditory cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 103(1): 192–205, 2010.
- Atencio, C., Sharpee, T., & Schreiner, C. Hierarchical computation in the canonical auditory cortical circuit. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 106(51): 21.894–21.899, 2009.

- Bach-y Rita, P. Brain plasticity as a basis for recovery of function in humans. *Neuropsych.*, Band 28(6): 547–554, 1990.
- Bajo, V., Nodal, F., Moore, D., & King, A. The descending corticocollicular pathway mediates learning-induced auditory plasticity. *Nat.Neurosci.*, Band 13(2): 253–260, 2010.
- Bandyopadhyay, S., Shamma, S., & Kanold, P. Dichotomy of functional organization in the mouse auditory cortex. *Nat.Neurosci.*, Band 13(3): 361–368, 2010.
- Bannister, A. Inter- and intra-laminar connections of pyramidal cells in the neocortex. *Neurosci.Res.*, Band 53(2): 95–103, 2005.
- Barth, D. & Di, S. Three-dimensional analysis of auditory-evoked potentials in rat neocortex. *J.Neurophysiol.*, Band 64(5): 1527–1536, 1990.
- Barth, D. & MacDonald, K. Thalamic modulation of high-frequency oscillating potentials in auditory cortex. *Nature*, Band 383(6595): 78–81, 1996.
- Bartlett, J., DeYoe, E., Doty, R., Lee, B., Lewine, J., Negrao, N., & Overman Jr., W. Psychophysics of electrical stimulation of striate cortex in macaques. *J.Neurophysiol.*, Band 94(5): 3430–3442, 2005.
- Benali, A., Weiler, E., Benali, Y., Dinse, H., & Eysel, U. Excitation and inhibition jointly regulate cortical reorganization in adult rats. *J.Neurosci.*, Band 28(47): 12.284–12.293, 2008.
- Benshalom, G. & White, E. Quantification of thalamocortical synapses with spiny stellate neurons in layer IV of mouse somatosensory cortex. *J.Comp.Neurol.*, Band 253(3): 303–314, 1986.
- Bitterman, Y., Mukamel, R., Malach, R., Fried, I., & Nelken, I. Ultra-fine frequency tuning revealed in single neurons of human auditory cortex. *Nature*, Band 451(7175): 197–201, 2008.
- Briggs, F. & Usrey, W. A fast, reciprocal pathway between the lateral geniculate nucleus and visual cortex in the macaque monkey. *J.Neurosci.*, Band 27(20): 5431–5436, 2007.

- Briggs, F. & Usrey, W. Emerging views of corticothalamic function. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 18(4): 403–407, 2008.
- Bruno, R. & Sakmann, B. Cortex is driven by weak but synchronously active thalamo-cortical synapses. *Science*, Band 312(5780): 1622–1627, 2006.
- Budinger, E., Heil, P., Hess, A., & Scheich, H. Multisensory processing via early cortical stages: Connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems. *Neurosci.*, Band 143(4): 1065–1083, 2006.
- Budinger, E., Heil, P., & Scheich, H. Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*meriones unguiculatus*). III. Anatomical subdivisions and corticocortical connections. *Eur.J.Neurosci.*, Band 12(7): 2425–2451, 2000a.
- Budinger, E., Heil, P., & Scheich, H. Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*meriones unguiculatus*). IV. Connections with anatomically characterized subcortical structures. *Eur.J.Neurosci.*, Band 12(7): 2452–2474, 2000b.
- Budinger, E. & Scheich, H. Anatomical connections suitable for the direct processing of neuronal information of different modalities via the rodent primary auditory cortex. *Hear.Res.*, Band 258(1-2): 16–27, 2009.
- Bullock, T. Signals and signs in the nervous system: The dynamic anatomy of electrical activity is probably information-rich. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 94(1): 1–6, 1997.
- Butovas, S., Hormuzdi, S., Monyer, H., & Schwarz, C. Effects of electrically coupled inhibitory networks on local neuronal responses to intracortical microstimulation. *J.Neurophysiol.*, Band 96(3): 1227–36, 2006.
- Butovas, S. & Schwarz, C. Spatiotemporal effects of microstimulation in rat neocortex: A parametric study using multielectrode recordings. *J.Neurophysiol.*, Band 90(5): 3024–3039, 2003.
- Callaway, E. Feedforward, feedback and inhibitory connections in primate visual cortex. *Neural Net.*, Band 17(5-6): 625–632, 2004.

- Cappe, C., Morel, A., Barone, P., & Rouiller, E. The thalamocortical projection systems in primate: An anatomical support for multisensory and sensorimotor interplay. *Cereb.Cortex*, Band 19(9): 2025–2037, 2009.
- Cappe, C., Morel, A., & Rouiller, E. Thalamocortical and the dual pattern of corticothalamic projections of the posterior parietal cortex in macaque monkeys. *Neurosci.*, Band 146(3): 1371–1387, 2007.
- Changeux, J. & Michel, C. *Mechanisms of neural integration at the brain-scale level. in: Microcircuits - The Interface between Neurons and Global Brain Functions.* MIT Press, 2006.
- Chen, C.-M., Lakatos, P., Shah, A., Mehta, A., Givre, S., Javitt, D., & Schroeder, C. Functional anatomy and interaction of fast and slow visual pathways in macaque monkeys. *Cereb.Cortex*, Band 17(7): 1561–1569, 2007.
- Chklovskii, D. & Koulakov, A. Maps in the brain: What can we learn from them? *Ann.Rev.Neurosci.*, Band 27: 369–392, 2004.
- Chung, S. & Ferster, D. Strength and orientation tuning of the thalamic input to simple cells revealed by electrically evoked cortical suppression. *Neuron*, Band 20(6): 1177–1189, 1998.
- Cohen, M. & Newsome, W. What electrical microstimulation has revealed about the neural basis of cognition. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 14(2): 169–177, 2004.
- Creutzfeldt, O. *Cortex Cerebri - Leistung, strukturelle und funktionelle Organisation der Hirnrinde.* Springer-Verlag, 1983.
- Crick, F. & Koch, C. Are we aware of neural activity in primary visual cortex? *Nature*, Band 375(6527): 121–123, 1995.
- Crick, F. & Koch, C. Constraints on cortical and thalamic projections: The no-strong-loops hypothesis. *Nature*, Band 391(6664): 245–250, 1998.
- Cruikshank, S., Lewis, T., & Connors, B. Synaptic basis for intense thalamocortical activation of feedforward inhibitory cells in neocortex. *Nat.Neurosci.*, Band 10(4): 462–468, 2007.

- Dantzker, J. & Callaway, E. Laminar sources of synaptic input to cortical inhibitory interneurons and pyramidal neurons. *Nat.Neurosci.*, Band 3(7): 701–707, 2000.
- De Ridder, D., De Mulder, G., Menovsky, T., Sunaert, S., & Kovacs, S. Electrical stimulation of auditory and somatosensory cortices for treatment of tinnitus and pain. *Prog.Brain Res.*, Band 166: 377–388, 2007.
- De Ridder, D., De Mulder, G., Verstraeten, E., Van Der Kelen, K., Sunaert, S., Smits, M., Kovacs, S., Verlooy, J., Van De Heyning, P., & Moller, A. Primary and secondary auditory cortex stimulation for intractable tinnitus. *ORL*, Band 68(1): 48–54, 2006.
- Dehaene, S., Sergent, C., & Changeux, J.-P. A neuronal network model linking subjective reports and objective physiological data during conscious perception. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 100(14): 8520–8525, 2003.
- Deliano, M., Scheich, H., & Ohl, F. Auditory cortical activity after intracortical microstimulation and its role for sensory processing and learning. *J.Neurosci.*, Band 29(50): 15.898–15.909, 2009.
- Destexhe, A. Modelling corticothalamic feedback and the gating of the thalamus by the cerebral cortex. *J.Physiol.Paris*, Band 94(5-6): 391–410, 2000.
- Deutscher, A., Kurt, S., Scheich, H., & Schulze, H. Cortical and subcortical sides of auditory rhythms and pitches. *NeuroReport*, Band 17(9): 853–856, 2006.
- DeYoe, E., Lewine, J., & Doty, R. Laminar variation in threshold for detection of electrical excitation of striate cortex by macaques. *J.Neurophysiol.*, Band 94(5): 3443–3450, 2005.
- Douglas, R., Koch, C., Mahowald, M., Martin, K., & Suarez, H. Recurrent excitation in neocortical circuits. *Science*, Band 269(5226): 981–985, 1995.
- Douglas, R. & Martin, K. Neuronal circuits of the neocortex. *Ann.Rev.Neurosci.*, Band 27: 419–451, 2004.
- Douglas, R. & Martin, K. Recurrent neuronal circuits in the neocortex. *Curr.Biol.*, Band 17(13): R496–R500, 2007.

- DuBois-Raymond, E. Untersuchungen über thierische Elektrizität. *Berlin: G. Reimer*, 1849.
- Edeline, J., Hars, B., Hennevin, E., & Cotillon, N. Muscimol diffusion after intracerebral microinjections: A reevaluation based on electrophysiological and autoradiographic quantifications. *Neurobiol.Learn.Mem.*, Band 78(1): 100–124, 2002.
- Edeline, J.-M. The thalamo-cortical auditory receptive fields: Regulation by the states of vigilance, learning and the neuromodulatory systems. *Exp.Brain Res.*, Band 153(4): 554–572, 2003.
- Edeline, J.-M., Dutrieux, G., Manunta, Y., & Hennevin, E. Diversity of receptive field changes in auditory cortex during natural sleep. *Eur.J.Neurosci.*, Band 14(11): 1865–1880, 2001.
- Edelman, G. *Group selection and phasic reentrant signalling: a theory of higher brain function. in: The Mindful Brain.* Basic Books, 1987.
- Edelman, G. Neural darwinism: Selection and reentrant signaling in higher brain function. *Neuron*, Band 10(2): 115–125, 1993.
- Eggermont, J. Central tinnitus. *Aur.Nas.Laryn.*, Band 30: S7–S12, 2003.
- Eggermont, J. & Roberts, L. The neuroscience of tinnitus. *Trends Neurosci.*, Band 27(11): 676–682, 2004.
- Ehret, G. The auditory cortex. *J.Comp Physiol [A]*, Band 181(6): 547–557, 1997.
- Ehret, G. New perspectives of information transformation through the auditory cortical layers. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 106(51): 21.463–21.464, 2009.
- Ehret, G. & Riecke, S. Mice and humans perceive multiharmonic communication sounds in the same way. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 99(1): 479–482, 2002.
- Eliades, S. & Wang, X. Neural substrates of vocalization feedback monitoring in primate auditory cortex. *Nature*, Band 453(7198): 1102–1106, 2008.

- Fanselow, E., Sameshima, K., Baccala, L., & Nicolelis, M. Thalamic bursting in rats during different awake behavioral states. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 98(26): 15.330–15.335, 2001.
- Feldmeyer, D., Lübke, J., Silver, R., & Sakmann, B. Synaptic connections between layer IV spiny neurone-layer II/III pyramidal cell pairs in juvenile rat barrel cortex: Physiology and anatomy of interlaminar signalling within a cortical column. *J.Physiol.*, Band 538(3): 803–822, 2002.
- Felleman, D. & Van Essen, D. Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb.Cortex*, Band 1(1): 1–47, 1991.
- Fernandez, E., Pelayo, F., Romero, S., Bongard, M., Marin, C., Alfaro, A., & Merabet, L. Development of a cortical visual neuroprosthesis for the blind: The relevance of neuroplasticity. *J.Neural Engin.*, Band 2(4): R1–R12, 2005.
- Fitzsimmons, N., Drake, W., Hanson, T., Lebedev, M., & Nicolelis, M. Primate reaching cued by multichannel spatiotemporal cortical microstimulation. *J.Neurosci.*, Band 27(21): 5593–5602, 2007.
- Freeman, W. Mesoscopic neurodynamics: From neuron to brain. *J.Physiol.Paris*, Band 94(5-6): 303–322, 2000a.
- Freeman, W. *Neurodynamics - An Exploration in Mesoscopic Brain Dynamics*. Springer, 2000b.
- Friston, K. A theory of cortical responses. *Phil.Trans.Royal Soc. B: Biol.Sci.*, Band 360(1456): 815–836, 2005.
- Froemke, R., Merzenich, M., & Schreiner, C. A synaptic memory trace for cortical receptive field plasticity. *Nature*, Band 450(7168): 425–429, 2007.
- Fuster, J. *Cortex and Mind - Unifying Cognition*. Oxford University Press, 2003.
- Gabernet, L., Jadhav, S., Feldman, D., Carandini, M., & Scanziani, M. Somatosensory integration controlled by dynamic thalamocortical feed-forward inhibition. *Neuron*, Band 48(2): 315–327, 2005.

- Galvani, L. *De viribus electricitatis in motu musculari commentarius*. Vol.VII, Bononiae, Ex Typographia Institutii Scientiarum, 1791.
- Geissler, D. & Ehret, G. Time-critical integration of formants for perception of communication calls in mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 99(13): 9021–9025, 2002.
- Gerstein, G., Kirkland, K., Musial, P., & Talwar, S. Recordings, behaviour and models related to corticothalamic feedback. *Phil.Trans.Royal Soc.B: Biol.Sci.*, Band 357(1428): 1835–1841, 2002.
- Ghazanfar, A., Krupa, D., & Nicolelis, M. Role of cortical feedback in the receptive field structure and nonlinear response properties of somatosensory thalamic neurons. *Exp.Brain Res.*, Band 141(1): 88–100, 2001.
- Gilbert, C. & Sigman, M. Brain states: Top-down influences in sensory processing. *Neuron*, Band 54(5): 677–696, 2007.
- Givre, S., Schroeder, C., & Arezzo, J. Contribution of extrastriate area V4 to the surface-recorded flash VEP in the awake macaque. *Vis.Res.*, Band 34(4): 415–428, 1994.
- Godschalk, M., Lemon, R., Kuypers, H., & Ronday, H. Cortical afferents and efferents of monkey postarcuate area: An anatomical and electrophysiological study. *Exp.Brain Res.*, Band 56(3): 410–424, 1984.
- Goldschmidt, J., Wanger, T., Engelhorn, A., Friedrich, H., Happel, M., Ilango, A., Engelmann, M., Stuermer, I., Ohl, F., & Scheich, H. High-resolution mapping of neuronal activity using the lipophilic thallium chelate complex TIDDC: Protocol and validation of the method. *NeuroImage*, Band 49(1): 303–315, 2010.
- Green, D. & Swets, J. *Signal detection theory and psychophysics*. Wiley, New York, 1966.
- Guillery, R. & Sherman, S. Thalamic relay functions and their role in corticocortical communication: Generalizations from the visual system. *Neuron*, Band 33(2): 163–175, 2002.
- Hackett, T. Information flow in the auditory cortical network. *Hear.Res.*, Band doi: 10.1016/j.heares.2010.01.011: 1–14, 2010.

- Haider, B. & McCormick, D. Rapid neocortical dynamics: Cellular and network mechanisms. *Neuron*, Band 62(2): 171–189, 2009.
- Happel, M., Deliano, M., & Ohl, F. Functional microcircuitry and perceptual relevance of recurrent corticothalamic loops. *Eingereicht*, 2010a.
- Happel, M., Jeschke, M., & Ohl, F. Spectral integration in primary auditory cortex attributable to temporally precise convergence of thalamocortical and intracortical input. *J.Neurosci.*, Band 30(33): 11.114–11.127, 2010b.
- Harding, G. The currents that flow in the somatosensory cortex during the direct cortical response. *Exp.Brain Res.*, Band 90(1): 29–39, 1992.
- Harris, K. Neural signatures of cell assembly organization. *Nat.Rev.Neurosci.*, Band 6(5): 399–407, 2005.
- Harris, K., Bartho, P., Chadderton, P., Curto, C., de la Rocha, J., Hollender, L., Itskov, V., Luczak, A., Marguet, S., Renart, A., & Sakata, S. How do neurons work together? Lessons from auditory cortex. *Hear.Res.*, Band doi:10.1016/j.heares.2010.06.006: 1–17, 2010.
- He, J. Modulatory effects of regional cortical activation on the onset responses of the cat medial geniculate neurons. *J.Neurophysiol.*, Band 77(2): 896–908, 1997.
- He, J., Hashikawa, T., Ojima, H., & Kinouchi, Y. Temporal integration and duration tuning in the dorsal zone of cat auditory cortex. *J.Neurosci.*, Band 17(7): 2615–2625, 1997.
- He, J., Yu, Y.-Q., Xiong, Y., Hashikawa, T., & Chan, Y.-S. Modulatory effect of cortical activation on the lemniscal auditory thalamus of the guinea pig. *J.Neurophysiol.*, Band 88(2): 1040–1050, 2002.
- Hefti, B. & Smith, P. Anatomy, physiology, and synaptic responses of rat layer v auditory cortical cells and effects of intracellular gaba(a) blockade. *J.Neurophysiol.*, Band 83(5): 2626–2638, 2000.
- Hirsch, J. & Martinez, L. Laminar processing in the visual cortical column. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 16(4): 377–384, 2006.

- Histed, M., Bonin, V., & Reid, R. Direct activation of sparse, distributed populations of cortical neurons by electrical microstimulation. *Neuron*, Band 63(4): 508–522, 2009.
- Huang, C. & Winer, J. Auditory thalamocortical projections in the cat: Laminar and areal patterns of input. *J.Comp.Neurol.*, Band 427(2): 302–331, 2000.
- Hubel, D. & Wiesel, T. Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex. *J.Physiol.*, Band 148: 574–591, 1959.
- Hubel, D. & Wiesel, T. Uniformity of monkey striate cortex: A parallel relationship between field size, scatter, and magnification factor. *J.Comp.Neurol.*, Band 158(3): 295–306, 1974.
- Huynh, H. & Feldt, L. Estimation of the box correction for degrees of freedom from sample data in randomised block and split-plot designs. *J.Stat.Edu.*, Band 1: 69–82, 1976.
- Jackson, A., Mavoori, J., & Fetz, E. Long-term motor cortex plasticity induced by an electronic neural implant. *Nature*, Band 444(7115): 56–60, 2006.
- Jellema, T. & Weijnen, J. A slim needle-shaped multiwire microelectrode for intracerebral recording. *J.Neurosci.Meth.*, Band 40(2-3): 203–209, 1991.
- Jeschke, M. *Untersuchungen zur laminaren Strom-Quellen-Dichte-Verteilung im primären auditorischen Kortex der Wüstenrennmaus nach akustischer oder intrakortikaler elektrischer Stimulation*. Diplomarbeit, Otto-von-Guericke-University, Magdeburg, 2006.
- Kadia, S. & Wang, X. Spectral integration in A1 of awake primates: Neurons with single- and multipeaked tuning characteristics. *J.Neurophysiol.*, Band 89(3): 1603–1622, 2003.
- Kalarickal, G. & Marshall, J. Rearrangement of receptive field topography after intracortical and peripheral stimulation: The role of plasticity in inhibitory pathways. *Net.Comp.Neural Sys.*, Band 13(1): 1–40, 2002.
- Katzner, S., Nauhaus, I., Benucci, A., Bonin, V., Ringach, D., & Carandini, M. Local origin of field potentials in visual cortex. *Neuron*, Band 61(1): 35–41, 2009.
- Kaur, S., Lazar, R., & Metherate, R. Intracortical pathways determine breadth of subthreshold frequency receptive fields in primary auditory cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 91(6): 2551–2567, 2004.

- Kaur, S., Rose, H., Lazar, R., Liang, K., & Metherate, R. Spectral integration in primary auditory cortex: Laminar processing of afferent input, in vivo and in vitro. *Neurosci.*, Band 134(3): 1033–1045, 2005.
- King, A. Signal selection by cortical feedback. *Curr.Biol.*, Band 7(2): R85–R88, 1997.
- King, A. Auditory neuroscience: Activating the cortex without sound. *Curr.Biol.*, Band 16(11): R410–R411, 2006.
- Kosslyn, S., Ganis, G., & Thompson, W. Neural foundations of imagery. *Nat.Rev.Neurosci.*, Band 2(9): 635–642, 2001.
- Krupa, D., Ghazanfar, A., & Nicolelis, M. Immediate thalamic sensory plasticity depends on corticothalamic feedback. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 96(14): 8200–8205, 1999.
- Kurt, S., Deutscher, A., Crook, J., Ohl, F., Budinger, E., Moeller, C., Scheich, H., & Schulze, H. Auditory cortical contrast enhancing by global winner-take-all inhibitory interactions. *PLoS One*, Band 3(3) - e1735: doi:10.1371/journal.pone.0001.735, 2008.
- Lakatos, P., Chen, C.-M., O’Connell, M., Mills, A., & Schroeder, C. Neuronal oscillations and multisensory interaction in primary auditory cortex. *Neuron*, Band 53(2): 279–292, 2007.
- Lakatos, P., Shah, A., Knuth, K., Ulbert, I., Karmos, G., & Schroeder, C. An oscillatory hierarchy controlling neuronal excitability and stimulus processing in the auditory cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 94(3): 1904–1911, 2005.
- Lamme, V. & Roelfsema, P. The distinct modes of vision offered by feedforward and recurrent processing. *Trends Neurosci.*, Band 23(11): 571–579, 2000.
- Lamme, V., Super, H., & Spekreijse, H. Feedforward, horizontal, and feedback processing in the visual cortex. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 8(4): 529–535, 1998.
- Lamme, V., Zipser, K., & Spekreijse, H. Masking interrupts figure-ground signals in V1. *J.Cognit.Neurosci.*, Band 14(7): 1044–1053, 2002.
- Leal-Campanario, R., Delgado-García, J., & Gruart, A. Microstimulation of the somatosensory cortex can substitute for vibrissa stimulation during Pavlovian conditioning. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 103(26): 10.052–10.057, 2006.

- Lee, C. & Murray Sherman, S. Topography and physiology of ascending streams in the auditory tectothalamic pathway. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 107(1): 372–377, 2010.
- Lee, C., Schreiner, C., Imaizumi, K., & Winer, J. Tonotopic and heterotopic projection systems in physiologically defined auditory cortex. *Neurosci.*, Band 128(4): 871–887, 2004.
- Lee, C. & Winer, J. Principles governing auditory cortex connections. *Cereb.Cortex*, Band 15(11): 1804–1814, 2005.
- LeRoy, C. Où l'on rend compte de quelques tentatives que l'on a faites pour guérir plusieurs maladies par l'électricité. *Hist.Acad.Roy.Sciences (Paris) M'emoires Math.Phys.*, Seiten 87–95., 1755.
- Libet, B. Cortical activation in conscious and unconscious experience. *Persp.Biol.Med.*, Band 9(1): 77–86, 1965.
- Libet, B. *Mind Time. The Temporal Factor in Consciousness*. Harvard University Press, Cambridge. MA., 2004.
- Libet, B., Alberts, W., Wright Jr., E., & Feinstein, B. Responses of human somatosensory cortex to stimuli below threshold for conscious sensation. *Science*, Band 158(808): 1597–1600, 1967.
- Linden, J. & Schreiner, C. Columnar transformations in auditory cortex? A comparison to visual and somatosensory cortices. *Cereb.Cortex*, Band 13(1): 83–89, 2003.
- Liu, B.-H., Wu, G., Arbuckle, R., Tao, H., & Zhang, L. Defining cortical frequency tuning with recurrent excitatory circuitry. *Nat.Neurosci.*, Band 10(12): 1594–1600, 2007.
- Llano, D. & Sherman, S. Evidence for nonreciprocal organization of the mouse auditory thalamocortical-corticothalamic projection systems. *J.Comp.Neurol.*, Band 507(2): 1209–1227, 2008.
- Llinas, R. Central tinnitus as prime example of thalamocortical dysrhythmia. In: *33rd Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, Anaheim, USA*, Band 33. 2010.

- Llinas, R., Ribary, U., Contreras, D., & Pedroarena, G. The neuronal basis for consciousness. *Phil.Trans.Royal Soc.B: Biol.Sci.*, Band 353(1377): 1841–1849, 1998.
- Llinas, R., Ribary, U., Jeanmonod, D., Kronberg, E., & Mitra, P. Thalamocortical dysrhythmia: A neurological and neuropsychiatric syndrome characterized by magnetoencephalography. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 96(26): 15.222–15.227, 1999.
- Llinas, R. & Steriade, M. Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *J.Neurophysiol.*, Band 95(6): 3297–3308, 2006.
- Logothetis, N. What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, Band 453(7197): 869–878, 2008.
- Logothetis, N., Augath, M., Murayama, Y., Rauch, A., Sultan, F., Goense, J., Oeltermann, A., & Merkle, H. The effects of electrical microstimulation on cortical signal propagation. *Nat.Neurosci.*, Band 13(10): 1283–1291, 2010.
- Logothetis, N., Kayser, C., & Oeltermann, A. In vivo measurement of cortical impedance spectrum in monkeys: Implications for signal propagation. *Neuron*, Band 55(5): 809–823, 2007.
- Lomber, S. & Galuske, R., Herausgeber. *Virtual Lesions - Examining cortical functions with reversible deactivation*. Oxford University Press, 2002.
- Luhmann, H., Greuel, J., & Singer, W. Horizontal interactions in cat striate cortex: II. A current source-density analysis. *Eur.J.Neurosci.*, Band 2(4): 358–368, 1990.
- Macdonald, K., Fifkova, E., Jones, M., & Barth, D. Focal stimulation of the thalamic reticular nucleus induces focal gamma waves in cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 79(1): 474–477, 1998.
- Marino, J., Schummers, J., Lyon, D., Schwabe, L., Beck, O., Wiesing, P., Obermayer, K., & Sur, M. Invariant computations in local cortical networks with balanced excitation and inhibition. *Nat.Neurosci.*, Band 8(2): 194–201, 2005.
- Martin, J. & Ghez, C. Pharmacological inactivation in the analysis of the central control of movement. *J.Neurosci.Meth.*, Band 86(2): 145–159, 1999.

- Masse, N. & Cook, E. Behavioral time course of microstimulation in cortical area MT. *J.Neurophysiol.*, Band 103(1): 334–345, 2010.
- Maunsell, J. & Newsome, W. Visual processing in monkey extrastriate cortex. *Ann.Rev.Neurosci.*, Band Vol. 10: 363–401, 1987.
- McAlonan, K., Cavanaugh, J., & Wurtz, R. Guarding the gateway to cortex with attention in visual thalamus. *Nature*, Band 456(7220): 391–394, 2008.
- McCabe, P., McEchron, M., Green, E., & Schneiderman, N. Electrolytic and ibotenic acid lesions of the medial subnucleus of the medial geniculate prevent the acquisition of classically conditioned heart rate to a single acoustic stimulus in rabbits. *Brain Res.*, Band 619(1-2): 291–298, 1993.
- McCormick, D., Shu, Y., & Hasenstaub, A. *Balanced recurrent excitation and inhibition in local cortical networks. in: Excitatory-Inhibitory Balance: Synapses, Circuits, Systems.* Kluver Academic Press, New York, 2003.
- McCormick, D. & Yuste, R. *Up states and Cortical Dynamics. in: Microcircuits - The Interface between Neurons and Global Brain Functions.* MIT Press, 2006.
- Merzenich, M., Knight, P., & Roth, G. Representation of cochlea within primary auditory cortex in the cat. *J.Neurophysiol.*, Band 38(2): 231–249, 1975.
- Metherate, R., Kaur, S., Kawai, H., Lazar, R., Liang, K., & Rose, H. Spectral integration in auditory cortex: Mechanisms and modulation. *Hear.Res.*, Band 206(1-2): 146–158, 2005.
- Miller, C., Robinson, B., Rubinstein, J., Abbas, P., & Runge-Samuelson, C. Auditory nerve responses to monophasic and biphasic electric stimuli. *Hear.Res.*, Band 151(1-2): 79–94, 2001a.
- Miller, K., Pinto, D., & Simons, D. Processing in layer IV of the neocortical circuit: New insights from visual and somatosensory cortex. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 11(4): 488–497, 2001b.
- Miller, L., Escabi, M., Read, H., & Schreiner, C. Functional convergence of response properties in the auditory thalamocortical system. *Neuron*, Band 32(1): 151–160, 2001c.

- Miller, L., Escabi, M., Read, H., & Schreiner, C. Spectrotemporal receptive fields in the lemniscal auditory thalamus and cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 87(1): 516–527, 2002.
- Miller, L. & Schreiner, C. Stimulus-based state control in the thalamocortical system. *J.Neurosci.*, Band 20(18): 7011–7016, 2000.
- Mitzdorf, U. Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiol.Rev.*, Band 65(1): 37–100, 1985.
- Mitzdorf, U. *The physiological causes of VEP: current source density analysis of electrically and visually evoked potentials*, in: *Evoked Potentials*. New York, Allan R. Liss., 1986.
- Möller, C., Kurt, S., Happel, M., & Schulze, H. Long-range effects of GABAergic inhibition in gerbil primary auditory cortex. *Eur.J.Neurosci.*, Band 31(1): 49–59, 2010.
- Nelken, I. Processing of complex stimuli and natural scenes in the auditory cortex. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 14(4): 474–480, 2004.
- Nelken, I. Processing of complex sounds in the auditory system. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 18(4): 413–417, 2008.
- Nelson, S., Toth, L., Sheth, B., & Sur, M. Orientation selectivity of cortical neurons during intracellular blockade of inhibition. *Science*, Band 265(5173): 774–777, 1994.
- Nicholson, C. & Freeman, J. Theory of current source-density analysis and determination of conductivity tensor for anuran cerebellum. *J.Neurophysiol.*, Band 38(2): 356–368, 1975.
- Nicolelis, M. & Fanselow, E. Thalamocortical optimization of tactile processing according to behavioral state. *Nat.Neurosci.*, Band 5(6): 517–523, 2002.
- Nowak, L. & Bullier, J. Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. ii. evidence from selective inactivation of cell bodies and axon initial segments. *Exp.Brain Res.*, Band 118(4): 489–500, 1998.
- Ohl, F. & Scheich, H. Learning-induced dynamic receptive field changes in primary auditory cortex of the unanaesthetized Mongolian gerbil. *J.Comp.Physiol.*, Band 181(6): 685–696, 1997a.

- Ohl, F. & Scheich, H. Orderly cortical representation of vowels based on formant interaction. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 94(17): 9440–9444, 1997b.
- Ohl, F. & Scheich, H. Learning-induced plasticity in animal and human auditory cortex. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 15(4): 470–477, 2005.
- Ohl, F. & Scheich, H. Chips in your head. *Sci.Am.Mind*, Band April/May: 64–69, 2007.
- Ohl, F., Scheich, H., & Freeman, W. Change in pattern of ongoing cortical activity with auditory category learning. *Nature*, Band 412(6848): 733–736, 2001.
- Ohl, F., Wetzel, W., Wagner, T., Rech, A., & Scheich, H. Bilateral ablation of auditory cortex in Mongolian gerbil affects discrimination of frequency modulated tones but not of pure tones. *Learn.Mem.*, Band 6(4): 347–362, 1999.
- Ojima, H. Terminal morphology and distribution of corticothalamic fibers originating from layers V and VI of cat primary auditory cortex. *Cereb.Cortex*, Band 4(6): 646–663, 1994.
- Ojima, H., Honda, C., & Jones, E. Patterns of axon collateralization of identified supragranular pyramidal neurons in the cat auditory cortex. *Cereb.Cortex*, Band 1(1): 80–94, 1991.
- Okamoto, H., Stracke, H., Stoll, W., & Pantev, C. Listening to tailor-made notched music reduces tinnitus loudness and tinnitus-related auditory cortex activity. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 107(3): 1207–1210, 2010.
- Otto, K., Rousche, P., & Kipke, D. Cortical microstimulation in auditory cortex of rat elicits best-frequency dependent behaviors. *J.Neural Eng.*, Band 2(2): 42–51, 2005.
- Parvizi, J. Corticocentric myopia: old bias in new cognitive sciences. *Trends Cogn.Sci.*, Band 13(8): 354–359, 2009.
- Payne, B., Lomber, S., Villa, A., & Bullier, J. Reversible deactivation of cerebral network components. *Trends Neurosci.*, Band 19(12): 535–542, 1996.
- Pitts, W. Investigations on synaptic transmission. *Cybernetics - Transactions of the 9th Conference of the Josiah Macy Foundation, New York*, Band 159-166, 1952.

- Priebe, N. & Ferster, D. Inhibition, spike threshold, and stimulus selectivity in primary visual cortex. *Neuron*, Band 57(4): 482–497, 2008.
- Prieto, J., Peterson, B., & Winer, J. Morphology and spatial distribution of GABAergic neurons in cat primary auditory cortex (AI). *J.Comp.Neurol.*, Band 344(3): 349–382, 1994.
- Ranck, J., J.B. Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: A review. *Brain Res.*, Band 98(3): 417–440, 1975.
- Rauschecker, J. Cortical control of the thalamus: Top-down processing and plasticity. *Nat.Neurosci.*, Band 1(3): 179–180, 1998.
- Razak, K. & Fuzessery, Z. Facilitatory mechanisms underlying selectivity for the direction and rate of frequency modulated sweeps in the auditory cortex. *J.Neurosci.*, Band 28(39): 9806–9816, 2008.
- Read, H., Winer, J., & Schreiner, C. Modular organization of intrinsic connections associated with spectral tuning in cat auditory cortex. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 98(14): 8042–8047, 2001.
- Romo, R., Hernandez, A., Zainos, A., Brody, C., & Lemus, L. Sensing without touching: Psychophysical performance based on cortical microstimulation. *Neuron*, Band 26(1): 273–278, 2000.
- Romo, R., Hernandez, A., Zainos, A., & Salinas, E. Somatosensory discrimination based on cortical microstimulation. *Nature*, Band 392(6674): 387–390, 1998.
- Rothe, T., Deliano, M., Scheich, H., & Stark, H. Segregation of task-relevant conditioned stimuli from background stimuli by associative learning. *Brain Res.*, Band 1297: 143–159, 2009.
- Rothschild, G., Nelken, I., & Mizrahi, A. Functional organization and population dynamics in the mouse primary auditory cortex. *Nat.Neurosci.*, Band 13(3): 353–360, 2010.
- Rouiller, E. & Durif, C. The dual pattern of corticothalamic projection of the primary auditory cortex in macaque monkey. *Neurosci.Lett.*, Band 358(1): 49–52, 2004.

- Rouiller, E. & Welker, E. A comparative analysis of the morphology of corticothalamic projections in mammals. *Brain Res.*, Band 53(6): 727–741, 2000.
- Sakata, S. & Harris, K. Laminar structure of spontaneous and sensory-evoked population activity in auditory cortex. *Neuron*, Band 64(3): 404–418, 2009.
- Saleem, A., Chadderton, P., Apergis-Schoute, J., Harris, K., & Schultz, S. Methods for predicting cortical up and down states from the phase of deep layer local field potentials. *J.Comp.Neurosci.*, Band 29(1-2): 49–62, 2010.
- Scheich, H., Brechmann, A., Brosch, M., Budinger, E., & Ohl, F. The cognitive auditory cortex: Task-specificity of stimulus representations. *Hear.Res.*, Band 229(1-2): 213–224, 2007.
- Scheich, H., Heil, P., & Langner, G. Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). II. Tonotopic 2-deoxyglucose. *Eur.J.Neurosci.*, Band 5(7): 898–914, 1993.
- Scheich, H., Ohl, F., Schulze, H., Hess, A., & Brechmann, A. *What is reflected in Sensory Neocortical Activity: External Stimuli or what the Cortex does with them?* in: 23 Problems in Neuroscience, Oxford University Press, 2006.
- Schäfer, R., Vasilaki, E., & Senn, W. Perceptual learning via modification of cortical top-down signals. *PLoS Comp.Biol.*, Band 3(8): –, 2007.
- Schicknick, H., Schott, B., Budinger, E., Smalla, K.-H., Riedel, A., Seidenbecher, C., Scheich, H., Gundelfinger, E., & Tischmeyer, W. Dopaminergic modulation of auditory cortex-dependent memory consolidation through mTOR. *Cereb.Cortex*, Band 18(11): 2646–2658, 2008.
- Schmidt, E., Bak, M., Hambrecht, F., Kufta, C., O’Rourke, D., & Vallabhanath, P. Feasibility of a visual prosthesis for the blind based on intracortical microstimulation of the visual cortex. *Brain*, Band 119(2): 507–522, 1996.
- Schreiner, C. Spatial distribution of responses to simple and complex sounds in the primary auditory cortex. *Audiol.Neuro-Otol.*, Band 3(2-3): 104–122, 1998.

- Schreiner, C., Read, H., & Sutter, M. Modular organization of frequency integration in primary auditory cortex. *Annu.Rev.Neurosci.*, Band 23: 501–529, 2000.
- Schreiner, C. & Winer, J. Auditory cortex mapmaking: Principles, projections, and plasticity. *Neuron*, Band 56: 356–366, 2007.
- Schroeder, C., Mehta, A., & Givre, S. A spatiotemporal profile of visual system activation revealed by current source density analysis in the awake macaque. *Cereb.Cortex*, Band 8(7): 575–592, 1998.
- Schroeder, C., Wilson, D., Radman, T., Scharfman, H., & Lakatos, P. Dynamics of active sensing and perceptual selection. *Curr.Opin.Neurobiol.*, Band 20(2): 172–176, 2010.
- Schulze, H., Hess, A., Ohl, F., & Scheich, H. Superposition of horseshoe-like periodicity and linear tonotopic maps in auditory cortex of the Mongolian gerbil. *Eur.J.Neurosci.*, Band 15(6): 1077–1084, 2002.
- Schulze, H., Ohl, F., Heil, P., & Scheich, H. Field-specific responses in the auditory cortex of the unanaesthetized mongolian gerbil to tones and slow frequency modulations. *J.Comp.Physiol*, Band 181(6): 573–589, 1997.
- Selimbeyoglu, A. & Parvizi, J. Electrical stimulation of the human brain: perceptual and behavioral phenomena reported in the old and new literature. *Front.Hum.Neurosci.*, Band 4(46): 1–11, 2010.
- Sherman, S. & Guillery, R. On the actions that one nerve cell can have on another: Distinguishing 'drivers' from 'modulators'. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, Band 95(12): 7121–7126, 1998.
- Sherman, S. & Guillery, R. The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. *Phil.Trans.Royal Soc.B: Biol.Sci.*, Band 357(1428): 1695–1708, 2002.
- Sigman, M., Pan, H., Yang, Y., Stern, E., Silbersweig, D., & Gilbert, C. Top-down reorganization of activity in the visual pathway after learning a shape identification task. *Neuron*, Band 46(5): 823–835, 2005.
- Sillito, A., Cudeiro, J., & Jones, H. Always returning: Feedback and sensory processing in visual cortex and thalamus. *Trends Neurosci.*, Band 29(6): 307–316, 2006.

- Sillito, A. & Jones, H. Corticothalamic interactions in the transfer of visual information. *Phil.Trans.Royal Soc.B: Biol.Sci.*, Band 357(1428): 1739–1752, 2002.
- Stark, H., Bischof, A., Wagner, T., & Scheich, H. Activation of the dopaminergic system of medial prefrontal cortex of gerbils during formation of relevant associations for the avoidance strategy in the shuttle-box. *Pro.Neuro-Psychopharmacol.Biol.Psych.*, Band 25(2): 409–426, 2001.
- Steinschneider, M., Tenke, C., Schroeder, C., Javitt, D., Simpson, G., Arezzo, J., & Vaughan Jr., H. Cellular generators of the cortical auditory evoked potential initial component. *Electroencephal.Clin.Neurophysiol. - Evoked Potentials*, Band 84(2): 196–200, 1992.
- Steriade, M. Impact of network activities on neuronal properties in corticothalamic systems. *J.Neurophysiol.*, Band 86(1): 1–39, 2001.
- Steriade, M. Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neurosci.*, Band 137(4): 1087–1106, 2006.
- Stölzel, C., Bereshpolova, Y., Gusev, A., & Swadlow, H. The impact of an LGNd impulse on the awake visual cortex: Synaptic dynamics and the sustained/transient distinction. *J.Neurosci.*, Band 28(19): 5018–5028, 2008.
- Stratford, K., Tarczy-Hornoch, K., Martin, K., Bannister, N., & Jack, J. Excitatory synaptic inputs to spiny stellate cells in cat visual cortex. *Nature*, Band 382(6588): 258–261, 1996.
- Suga, N. Role of corticofugal feedback in hearing. *J.Comp.Physiol.*, Band 194(2): 169–183, 2008.
- Suga, N. & Ma, X. Multiparametric corticofugal modulation and plasticity in the auditory system. *Nat.Rev.Neurosci.*, Band 4(10): 783–794, 2003.
- Suga, N., Ma, X., Gao, E., Sakai, M., & Chowdhury, S. Descending system and plasticity for auditory signal processing: Neuroethological data for speech scientists. *Speech Commun.*, Band 41(1): 189–200, 2003.

- Suga, N., Yan, J., & Zhang, Y. Cortical maps for hearing and egocentric selection for self-organization. *Trends Cogn.Sci.*, Band 1(1): 13–20, 1997.
- Swadlow, H. Thalamocortical control of feed-forward inhibition in awake somatosensory 'barrel' cortex. *Phil.Trans.Royal Soc.B: Biol.Sci.*, Band 357(1428): 1717–1727, 2002.
- Swadlow, H., Gusev, A., & Bezdudnaya, T. Activation of a cortical column by a thalamocortical impulse. *J.Neurosci.*, Band 22(17): 7766–7773, 2002.
- Szentagothai, J. The 'module-concept' in cerebral cortex architecture. *Brain Res.*, Band 95(2-3): 475–496, 1975.
- Szymanski, F., Garcia-Lazaro, J., & Schnupp, J. Current source density profiles of stimulus-specific adaptation in rat auditory cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 102(3): 1483–1490, 2009.
- Talwar, S. & Gerstein, G. Reorganization in awake rat auditory cortex by local microstimulation and its effect on frequency-discrimination behavior. *J.Neurophysiol.*, Band 86(4): 1555–1572, 2001.
- Talwar, S., Musial, P., & Gerstein, G. Role of mammalian auditory cortex in the perception of elementary sound properties. *J.Neurophysiol.*, Band 85(6): 2350–2358, 2001.
- Tan, A., Zhang, L., Merzenich, M., & Schreiner, C. Tone-evoked excitatory and inhibitory synaptic conductances of primary auditory cortex neurons. *J.Neurophysiol.*, Band 92(1): 630–643, 2004.
- Tehovnik, E. Electrical stimulation of neural tissue to evoke behavioral responses. *J.Neurosci.Methods*, Band 65(1): 1–17, 1996.
- Tehovnik, E. & Slocum, W. Microstimulation of macaque V1 disrupts target selection: Effects of stimulation polarity. *Exp.Brain Res.*, Band 148(2): 233–237, 2003.
- Tehovnik, E. & Slocum, W. Depth-dependent detection of microampere currents delivered to monkey V1. *Eur.J.Neurosci.*, Band 29(7): 1477–1489, 2009.
- Tehovnik, E., Slocum, W., Carvey, C., & Schiller, P. Phosphene induction and the generation of saccadic eye movements by striate cortex. *J.Neurophysiol.*, Band 93(1): 1–19, 2005a.

- Tehovnik, E., Slocum, W., & Schiller, P. Delaying visually guided saccades by microstimulation of macaque V1: Spatial properties of delay fields. *Eur.J.Neurosci.*, Band 22(10): 2635–2643, 2005b.
- Tehovnik, E., Tolias, A., Sultan, F., Slocum, W., & Logothetis, N. Direct and indirect activation of cortical neurons by electrical microstimulation. *J.Neurophysiol.*, Band 96(2): 512–521, 2006.
- Tenke, C., Schroeder, C., Arezzo, J., & Vaughan, J., H.G. Interpretation of high-resolution current source density profiles: a simulation of sublaminar contributions to the visual evoked potential. *Exp.Brain Res.*, Band 94(2): 183–192, 1993.
- Theyel, B., Llano, D., & Sherman, S. The corticothalamocortical circuit drives higher-order cortex in the mouse. *Nat.Neurosci.*, Band 13(1): 84–88, 2010.
- Thomas, H., Tillein, J., Heil, P., & Scheich, H. Functional organization of auditory cortex in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). I. Electrophysiological mapping of frequency representation and distinction of fields. *Eur.J.Neurosci.*, Band 5(7): 882–897, 1993.
- Thomson, A. Local circuit connections in thalamo-recipient layers. *Thal.Relat.Sys.*, Band 3(3): 217–226, 2005.
- Thomson, A. & Bannister, A. Interlaminar connections in the neocortex. *Cereb.Cortex*, Band 13(1): 5–14, 2003.
- Toga, A. & Thompson, P. Maps of the brain. *Anat.Rec.*, Band 265(2): 37–53, 2001.
- Toth, L., Kim, D.-S., Chenchal Rao, S., & Sur, M. Integration of local inputs in visual cortex. *Cerebral Cortex*, Band 7(8): 703–710, 1997.
- Troyk, P., Bak, M., Berg, J., Bradley, D., Cogan, S., Erickson, R., Kufta, C., McCreery, D., Schmidt, E., & Towle, V. A model for intracortical visual prosthesis research. *Artif.Organs*, Band 27(11): 1005–1015, 2003.
- Tsodyks, M. & Gilbert, C. Neural networks and perceptual learning. *Nature*, Band 431(7010): 775–781, 2004.

- Tsumoto, T. & Suda, K. Evidence for excitatory connections from the deprived eye to the visual cortex in monocularly deprived kittens. *Brain Res.*, Band 153(1): 150–156, 1978.
- Tsumoto, T. & Suda, K. Effects of stimulation of the dorsocaudal claustrum on activities of striate cortex neurons in the cat. *Brain Res.*, Band 240(2): 345–349, 1982.
- van der Loo, E., Gais, S., Congedo, M., Vanneste, S., Plazier, M., Menovsky, T., Van de Heyning, P., & De Ridder, D. Tinnitus intensity dependent gamma oscillations of the contralateral auditory cortex. *PLoS ONE*, Band 4(10): e7396, 2009.
- Villa, A., Rouiller, E., Simm, G., Zurita, P., De Ribaupierre, Y., & De Ribaupierre, F. Corticofugal modulation of the information processing in the auditory thalamus of the cat. *Exp.Brain Res.*, Band 86(3): 506–517, 1991.
- Wallace, M., Kitzes, L., & Jones, E. Intrinsic inter- and intralaminar connections and their relationship to the tonotopic map in cat primary auditory cortex. *Exp.Brain Res.*, Band 86(3): 527–544, 1991.
- Wang, X. A sharper view from the top. *Nat.Neurosci.*, Band 10(12): 1509–1510, 2007.
- Wehr, M. & Zador, A. Balanced inhibition underlies tuning and sharpens spike timing in auditory cortex. *Nature*, Band 426(6965): 442–446, 2003.
- Weinberger, N. Specific long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nat.Rev.Neurosci.*, Band 5(4): 279–290, 2004.
- West, D., Mercer, A., Kirchhecker, S., Morris, O., & Thomson, A. Layer VI cortico-thalamic pyramidal cells preferentially innervate interneurons and generate facilitating EPSPs. *Cereb.Cortex*, Band 16(2): 200–211, 2006.
- Wilson, E., Schlaug, G., & Pantev, C. Listening to filtered music as a treatment option for tinnitus: A review. *Music Percept.*, Band 27(4): 327–330, 2010.
- Winer, J., Miller, L., Lee, C., & Schreiner, C. Auditory thalamocortical transformation: Structure and function. *Trends Neurosci.*, Band 28(5): 255–263, 2005.

- Wörgötter, F., Nelle, E., Li, B., & Funke, K. The influence of corticofugal feedback on the temporal structure of visual responses of cat thalamic relay cells. *J.Physiol.*, Band 509(3): 797–815, 1998.
- Wu, G., Arbuckle, R., Liu, B.-h., Tao, H., & Zhang, L. Lateral sharpening of cortical frequency tuning by approximately balanced inhibition. *Neuron*, Band 58(1): 132–143, 2008.
- Yamauchi, T., Hori, T., & Takahashi, T. Presynaptic inhibition by muscimol through GABA_B receptors. *Eur.J.Neurosci.*, Band 12(9): 3433–3436, 2000.
- Yan, J. & Ehret, G. Corticofugal modulation of midbrain sound processing in the house mouse. *Eur.J.Neurosci.*, Band 16(1): 119–128, 2002.
- Yan, J., Zhang, Y., & Ehret, G. Corticofugal shaping of frequency tuning curves in the central nucleus of the inferior colliculus of mice. *J.Neurophysiol.*, Band 93(1): 71–83, 2005.
- Yeomans, J. *Principles of Brain Stimulation*. Oxford University Press, New York, 1990.
- Yu, Y.-Q., Xiong, Y., Chan, Y.-S., & He, J. Corticofugal gating of auditory information in the thalamus: An in vivo intracellular recording study. *J.Neurosci.*, Band 24(12): 3060–3069, 2004.
- Zhang, L., Tan, A., Schreiner, C., & Merzenich, M. Topography and synaptic shaping of direction selectivity in primary auditory cortex. *Nature*, Band 424(6945): 201–205, 2003.
- Zhang, Y., Suga, N., & Yan, J. Corticofugal modulation of frequency processing in bat auditory system. *Nature*, Band 387(6636): 900–903, 1997.
- Zhang, Z., Chan, Y.-S., & He, J. Thalamocortical and corticothalamic interaction in the auditory system. *Neuroembryol.Aging*, Band 3(4): 239–248, 2004.
- Zhou, Y., Liu, B.-h., Wu, G., Kim, Y.-J., Xiao, Z., Tao, H., & Zhang, L. Preceding inhibition silences layer VI neurons in auditory cortex. *Neuron*, Band 65(5): 706–717, 2010.

Danksagung

Drei Jahre lang durfte ich in dem für mich spannendsten Gebiet wissenschaftlicher Forschung arbeiten. In dieser Zeit haben mir zahlreiche Leute tatkräftig geholfen und ohne ihre Hilfe wäre diese Arbeit in der vorliegenden Form sicher nicht zustande gekommen. Frank Ohl möchte ich danken für die nun schon jahrelange Zusammenarbeit und Betreuung der Arbeit. Seine Unterstützung hat mir viele Türen geöffnet und seine Art und Weise Wissenschaft zu verstehen mich immer wieder inspiriert und geprägt. Des Weiteren gilt mein Dank Marcus Jeschke, der mich noch zu Zeiten meiner Diplomarbeit in die Grundlagen der Elektrophysiologie und in die CSD-Datenanalyse eingeführt hat. Matthias Deliano möchte ich danken für seine tatkräftige Unterstützung bei unserem gemeinsamen Projekt der Verhaltensexperimente. Seine Expertise in der Verhaltensforschung und der Datenanalyse haben maßgeblich zu dieser Arbeit beigetragen. Kathrin Ohl möchte ich für ihre Unterstützung bei zahlreichen Operationen und der histologischen Aufbereitung danken. Auch bedanken möchte ich mich bei Kentaro Takagaki und Michael Lippert, mit denen ich seit zwei Jahren das elektrophysiologische Labor teilen konnte und die sehr dazu beigetragen haben, dass dieses nicht im entropischen Chaos versinkt. Von diesen Kollegen und allen weiteren Arbeitsgruppenmitgliedern habe ich in meiner fachlichen Ausbildung sehr profitiert. Professor Günther Ehret danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Des Weiteren möchte ich mich auch bei Herrn Professor Henning Scheich und der gesamten Abteilung „ALS“ des „IfN's“ bedanken. Es ist Herrn Scheich gelungen eine sehr kollegiale und interaktive Atmosphäre zu schaffen, die immer wieder für das tägliche Arbeiten und das gemeinsame Lehren und Lernen motiviert. Das solche Strukturen letztendlich auch die Produktivität steigern können, konnte ich durch wertvolle Zusammenarbeiten innerhalb der Abteilung erfahren. Hervorheben möchte ich dabei vor allem die Zusammenarbeit mit Jürgen Goldschmidt und Holger Schulze, welche es mir ermöglicht haben zu tollen wissenschaftlichen Arbeiten einen kleinen Teil beizutragen.

Enge Zusammenarbeit fördert manchmal jedoch nicht nur berufliche Erfahrungen. In meiner Zeit am „IfN“ habe ich einige wichtige Freunde gefunden, die mir in lustigen, wie in nicht so lustigen Zeiten immer mit Witz und Rat zur Seite standen. Vor allem

möchte ich Christoph Möller, Holger Schulze und Marcus Jeschke für die Erfahrungen danken, die ich mit Ihnen teilen durfte. Christoph Möller möchte ich auch dafür danken, dass er Teile der Arbeit gelesen hat und, dank seines Enthusiasmus alles verstehen zu wollen, an einigen Stellen zur Leserlichkeit und Allgemeinverständlichkeit beigetragen hat.

Ein wichtiger Dank gilt auch meiner Familie, allen voran meinen Eltern Volker und Rosemarie Happel, für ihre immer währende Unterstützung in allen Belangen. Ohne sie wäre alles sicher bedeutend schwieriger und definitiv auch weniger spannend. Sie sind wunderbare Großeltern und bieten meinen Kindern den gleichen „sicheren Hafen“, wie ich ihn einst hatte. Meine beiden Töchtern Angelina Josphine und Philine Mailey haben in den letzten Jahren eine beeindruckende Entwicklung gemacht - ich danke ihnen, dass sie mich mit so überzeugender Liebe und Vertrauen an ihrem Leben teilhaben lassen und mich immer wieder mit ihrer Neugierde faszinieren und herausfordern.

Solche Danksagungen haben ja oft die Dramaturgie, dass man sich zunächst an offizieller Stelle bedankt und dann zu den immer persönlicheren und intimeren Personen kommt, denen man Danke sagen möchte. Deshalb gilt der letzte, aber mir wichtigste Dank meiner Lebensgefährtin Juliane. Ich hätte diese 100 Seiten über *Feedback-* und *Top-down* von einem deutlich reduzierteren Standpunkt aus geschrieben, wenn ich nicht immer wieder die Dynamik des *Vor* und *Zurück* des Lebens mit ihr so konstruktiv aufgearbeitet hätte. Nicht zuletzt muss ich ihr auch dafür danken, dass der dritte Teil dieser Arbeit „datentechnisch“ so unglaublich glatt wirkt. Die Verhaltensresultate sind der absolute Knaller. Sie weiss eben, wie man mit Gerbils umzugehen hat... (Fritz und Jacob können ein Lied davon singen). Ohne ihr *female-handling* hätte ich diese Daten womöglich völlig versaut. Ich danke Dir, Zuckerpo, für Deine Unterstützung und Liebe.

Max Happel

Curriculum Vitae

Persönliche Daten Max Fabian Karl Happel
Arndtstrasse 11
39108 Magdeburg
geboren: 12. April 1982 in Heidelberg

Aktuelle berufliche Adresse

Institution Leibniz Institut für Neurobiologie
Abteilung Systemische Physiologie des Lernens
Leitung Prof. Dr. Frank W. Ohl
Adresse Brenneckestr. 6
39118 Magdeburg
Deutschland
Telefon +49391/6263-94 411 **Telefax** +49391/6263-95 489
E-mail mhappel@lin-magdeburg.de

Schulische Ausbildung

1988 - 2001 Allgemeine Hochschulreife, Kurt-Schumacher Gesamt-Schule, Karben
2002 - 2004 Vordiplom in Biologie
Johann-Wolfgang-Goethe Universität, Frankfurt a.M.
2003 - 2004 Wiss.Hilfskraft, Abt. Molekulare Zellbiologie (Prof. Dr. Lutz Nover)
Johann-Wolfgang-Goethe Universität, Frankfurt a.M.

2004 - 2007	Diplom in Neurobiologie, Abschlussnote: 1.0 Otto-von-Guericke Universität, Magdeburg
April 2006 - Dez.2007	Wiss. Hilfskraft, BioFuture Research Group (Prof. Dr. Frank W. Ohl) Leibniz Institut für Neurobiologie, Magdeburg
Jan.2007 - Sept.2007	Diplomarbeit, Betreuer: Prof. Dr. Frank W. Ohl Abschlussnote: 1.0
seit Okt.2007	Doktorand in der AG Neuroprothesen (Prof. Dr. Frank W. Ohl) Leibniz Institut für Neurobiologie, Magdeburg

Akademische Preise und Stipendien

Sept.2004	Fakultätspreis der Fakultät für Naturwissenschaften für das beste Vordiplom Johann-Wolfgang-Goethe Universität, Frankfurt a.M.
Okt.2005	Aufnahme in die "Studienstiftung des Deutschen Volkes"
Okt.2007	Fakultätspreis der Fakultät für Naturwissenschaften Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
Sept.2008	„Student Travel Grant“ für die Teilnahme an der „Interspeech 2008“, Brisbane, Australien
Jun.2010	Einladung zum „60 th Lindau Nobel Laureate Meeting 2010“, Lindau
Nov.2010	„Student/Postdoctoral Fellow Travel Award“ für die Teilnahme am „34. ARO-Midwinter Meeting“, Baltimore, USA
Jan.2011	NWG-Reisestipendium für die „9. Göttinger Tagung der Deutschen Gesellschaft für Neurowissenschaften (NWG)“

Lehre und Organisation wissenschaftlicher Tagungen

seit 2006	Kurs „Systemische Neurophysiologie“, Studiengang „Integrative Neuroscience“ Vorlesung und Betreuung des Praktikums Fakultät für Naturwissenschaften, Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
Okt.2009	Organisation Symposium "Funktionelle Elektrostimulation" <i>Retreat</i> des Leibniz-Instituts für Neurobiologie, 2009, Freyburg

Eigene Publikationen

- Happel, MFK., Jeschke, M., & Ohl, FW. Spectral integration in primary auditory cortex attributable to temporally precise convergence of thalamocortical and intracortical input. *J.Neurosci.*, Band 30(33): 11.114-11.127, 2010
- Happel, MFK., Deliano, M., Handschuh, J., Ohl, FW. Functional microcircuitry of corticothalamic interactions and their perceptual relevance. *Eingereicht*
- Möller, CK., Kurt, S., Happel, MFK., Schulze, H. Long-range effects of GABAergic inhibition in gerbil primary auditory cortex. *Eur.J.Neurosci.*, Band 31(1): 49-59, 2010
- Goldschmidt, J., Wanger, T., Engelhorn, A., Friedrich, H., Happel, MFK., Ilango, A., Engelmann, M., Ohl, FW., Stürmer, I., & Scheich, H. High-resolution mapping of neuronal activity using the lipophilic thallium chelate complex TlDDC: protocol and validation of the method. *NeuroImage*, Band 49(1): 303-315, 2010